

การทำนายจุลินทรีย์ทั้งหมด โคลิฟอร์ม และ *Escherichia coli* ระหว่างการเตรียมและ  
การจัดเก็บอาหารบริการประเภทสไลด์



นาย อภินิหาร ฝิวพรรณ

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

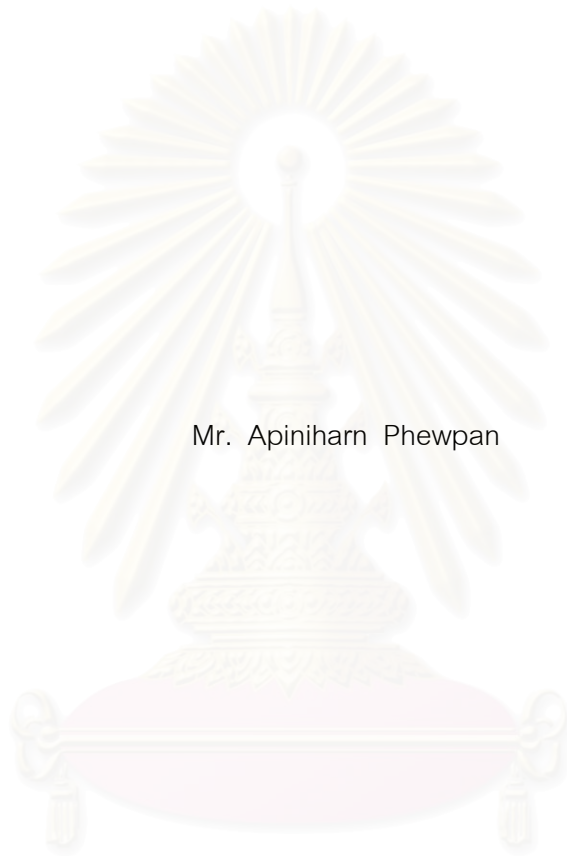
สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2551

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

PREDICTION OF TOTAL BACTERIA COLIFORMS AND *Escherichia coli* DURING  
PREPARATION AND STORAGE OF SALAD FOOD SERVICE



Mr. Apiniharn Phewpan

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science Program in Food Technology

Department of Food Technology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2008

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์

การทำนายจุลินทรีย์ทั้งหมด โคลิฟอร์ม และ  
*Escherichia coli* ระหว่างการเตรียมและการจัดเก็บอาหาร  
บริการประเภทสลัด

โดย

นาย อภินิหาร ผิวพรรณ

สาขาวิชา

เทคโนโลยีทางอาหาร


อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

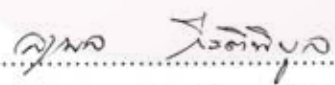
รองศาสตราจารย์ ดร.สุวิมล กิริติพิบูล


คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยเป็นส่วนหนึ่ง  
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

  
..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์  
(ศาสตราจารย์ ดร.สุพจน์ นารหนองบัว)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

  
..... ประธานกรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รมณี สงวนดีกุล)

  
..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก  
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุวิมล กิริติพิบูล)

  
..... กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชื่นจิต ประภิตชัยวัฒนา)

  
..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย  
(ดร. สุมาลิน เล็กเริงสินธุ์)

อกินิทาร ผิวพรรณ : การทำนายจุลินทรีย์ทั้งหมด โคลิฟอร์ม และ *Escherichia coli* ระหว่าง การเตรียมและการจัดเก็บอาหารบริการประเภทสลัด. (PREDICTION OF TOTAL BACTERIA COLIFORMS AND *Escherichia coli* DURING PREPARATION AND STORAGE OF SALAD FOOD SERVICE) อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก:

รศ. ดร. สุวิมล กิรติพิบูล, 202 หน้า.

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาผลของสารฆ่าเชื้อ สองชนิด ได้แก่ คลอรีน และกรดเปอร์อะซิติก ต่อการปูดของจุลินทรีย์โดยรวม (Total plate count ; TPC) โคลิฟอร์ม (Coliforms) และ *Escherichia coli* ในผักสองชนิด (มะเขือเทศราชินี และ ผักกาดหอม) ซึ่งนิยมใช้เป็นผักสลัด และนำข้อมูลที่ได้มาสร้างแบบจำลองเพื่อทำนายการปูดของจุลินทรีย์ โดยใช้ระบบข่ายงานประสาทเทียม (Artificial Neural Networks; ANNs) ในชั้นแรกเดิมจุลินทรีย์ (TPC Coliforms และ *E. coli*) ลงบนใบผักกาดและมะเขือเทศราชินี เพื่อให้เชื้อเริ่มต้นมีปริมาณใกล้เคียงกัน วางทิ้งให้แห้ง ในห้องสะอาดซึ่งควบคุมคุณภาพจุลินทรีย์ นำไปแช่ในสารฆ่าเชื้อ คลอรีนและกรดเปอร์อะซิติก โดยแปรความเข้มข้นของ คลอรีน เป็น 25 50 และ 75 ppm และ กรดเปอร์อะซิติก เป็น 30 40 และ 50 ppm ใช้เวลาในการแช่ 10 นาที ทดลอง 30 ซ้ำ ผลการทดลองพบว่า เมื่อแช่มะเขือเทศราชินี ในคลอรีนความเข้มข้น 25 50 และ 75 ppm TPC ลดลงจากปริมาณเริ่มต้นที่เดิมลงไปประมาณ 6.0 log<sub>10</sub>cfu/g เหลือประมาณ 3.84 - 3.67 log<sub>10</sub>cfu/g แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) ในระดับทุกความเข้มข้นของคลอรีนที่ใช้ ในขณะที่กรดเปอร์อะซิติก จุลินทรีย์โดยรวม ลดลงเหลือประมาณ 3.16 - 2.27 log<sub>10</sub>cfu/g อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) เมื่อแช่ในคลอรีน Coliforms ลดลงจากปริมาณเริ่มต้นที่เดิมลงไปประมาณ 6.3 log<sub>10</sub>cfu/g เหลือประมาณ 3.71 - 3.22 log<sub>10</sub>cfu/g (p<0.05) และ เมื่อแช่ในกรดเปอร์อะซิติก Coliforms ลดลงเหลือประมาณ 2.66 - 2.30 log<sub>10</sub>cfu/g (p>0.05) ส่วน *E. coli* เมื่อแช่ในคลอรีนลดลงจากปริมาณเริ่มต้นที่เดิมประมาณ 6.2 log<sub>10</sub>cfu ลดลงเหลือประมาณ 3.96 - 3.16 log<sub>10</sub>cfu/g (p<0.05) และ เมื่อแช่ในกรดเปอร์อะซิติก ลดลงเหลือประมาณ 2.37 - 1.75 log<sub>10</sub>cfu/g (p>0.05) ผลการศึกษาการแช่ผักกาดหอมใน คลอรีนและกรดเปอร์อะซิติกที่ความเข้มข้นดังกล่าวข้างต้นพบว่า เมื่อแช่ในคลอรีน และกรดเปอร์อะซิติก TPC ลดลงจากปริมาณเริ่มต้นประมาณ 6.8 log<sub>10</sub>cfu เหลือประมาณ 6.38 - 6.21 log<sub>10</sub>cfu/g (p<0.05) และประมาณ 5.65 - 5.43 log<sub>10</sub>cfu/g (p>0.05) ตามลำดับ Coliforms ลดลงจาก ปริมาณเริ่มต้นประมาณ 6.9 log<sub>10</sub>cfu/g เหลือประมาณ 6.07 - 5.59 log<sub>10</sub>cfu/g (p<0.05) และประมาณ 4.92 - 4.57 log<sub>10</sub>cfu/g (p>0.05) ตามลำดับ ส่วน *E. coli* ลดลงจากปริมาณเริ่มต้นประมาณ 6.9 log<sub>10</sub>cfu เหลือประมาณ 5.95 - 5.67 log<sub>10</sub>cfu/g (p>0.05) และประมาณ 4.83 - 4.49 log<sub>10</sub>cfu/g (p<0.05) ตามลำดับ นอกจากนี้ผลการทดลองยังพบว่าคลอรีนความเข้มข้น 75 ppm และกรดเปอร์อะซิติกที่ความเข้มข้น 40 ppm เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดในการฆ่าเชื้อทั้งสามประเภท จากนั้นสร้างความสัมพันธ์ของ ปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น ชนิดผัก ชนิดสารฆ่าเชื้อ ความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ และ ปริมาณ จุลินทรีย์สุดท้าย โดยใช้ ANNs และสร้างเป็นแบบจำลองการทำนายปริมาณจุลินทรีย์ที่เหลือรอดหลังการ แช่สารฆ่าเชื้อ พบว่าจำนวน Hidden layer ใช้เพียง 1 layer โดย Hidden node ที่เหมาะสมสำหรับการให้ผลค่าความแตกต่างกำลังสอง (Sum Square Error; SSE) ของค่าที่ทำนายได้จากระบบ ANNs กับค่าที่ได้จากการทดลองจริง ของ TPC, Coliforms และ *E. coli* เป็น 4 3 และ 5 ตามลำดับ ซึ่งให้ค่า SSE เท่ากับ 0.72, 0.50 และ 0.83 ตามลำดับ และได้ค่าความสัมพันธ์เชิงเส้น (R<sup>2</sup>) ระหว่างค่าจริงและค่าทำนายจากแบบจำลอง ANNs เป็น 0.76, 0.85 และ 0.72 ตามลำดับ เมื่อนำแบบจำลอง ANNs มาพิสูจน์ความใช้ได้ พบว่าได้ค่า R<sup>2</sup> ของ TPC เท่ากับ 0.78 Coliforms เท่ากับ 0.77 และ *E. coli* เท่ากับ 0.73 เมื่อแช่มะเขือเทศราชินีและผักกาดหอมในคลอรีน ความเข้มข้น 75 ppm และในกรดเปอร์อะซิติกความเข้มข้น 40 ppm เป็นเวลา 10 นาที เดิมเชื้อจุลินทรีย์ TPC, Coliforms และ *E. coli* ประมาณ 3 - 4 log<sub>10</sub>cfu นอกจากนี้ยังได้ทดลองเดิมจุลินทรีย์ ดังกล่าวปริมาณ 3 - 4 log<sub>10</sub>cfu ในแก้วแดงหลวง และ ข้าวโพดอ่อน ซึ่งนิยมใช้ในสลัดผักด้วย นำไปตั้งทิ้งไว้ ที่อุณหภูมิ 10 และ 22 °C เป็นระยะเวลา 2, 4 และ 8 ชั่วโมง ทำการทดลอง 10 ซ้ำ เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ระหว่างการจัดเก็บสลัดผัก พบว่าที่อุณหภูมิ 10°C จุลินทรีย์ (TPC, Coliforms และ *E. coli*) ในมะเขือเทศราชินีและผักกาดหอม ไม่พบการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ(p>0.05) ส่วน ที่อุณหภูมิ 22 °C พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งสามประเภทมีจำนวนเพิ่มขึ้นประมาณ 0.6 - 1 log<sub>10</sub>cfu/g (p<0.05) สำหรับแก้วแดงหลวง และ ข้าวโพดอ่อน ซึ่งเป็นผักสลัดที่ผ่านการให้ความร้อนแล้วพบว่า ในกรณีแก้วแดงหลวง ที่อุณหภูมิ 10°C TPC, Coliforms และ *E. coli* ไม่มีการเพิ่ม จำนวน (p>0.05) ตลอดระยะเวลาการเก็บ 8 ชั่วโมง ในขณะที่ ข้าวโพดอ่อนซึ่งเก็บที่อุณหภูมิ 10°C TPC และ Coliforms ไม่มีการเพิ่มจำนวน (p>0.05) แต่ *E. coli* มีปริมาณเพิ่มขึ้นประมาณ 0.24 log<sub>10</sub>cfu/g (p<0.05) เมื่อเก็บแก้วแดงหลวงและข้าวโพดอ่อนที่อุณหภูมิ 22 °C พบว่า TPC, Coliforms และ *E. coli* มีจำนวนเพิ่มขึ้นประมาณ 0.7 - 1.3 log<sub>10</sub>cfu/g (p<0.05) จากนั้นสร้างความสัมพันธ์ของ จุลินทรีย์เริ่มต้น ชนิดสารฆ่าเชื้อ ชนิดผัก อุณหภูมิ เวลา และ ปริมาณจุลินทรีย์สุดท้าย พบว่าจำนวน Hidden layer ใช้เพียง 1 layer โดย Hidden node ที่เหมาะสมสำหรับการ แบบจำลอง ANNs ของ TPC, Coliforms และ *E. coli* เป็น 8 6 และ 5 ตามลำดับ ซึ่งให้ค่า SSE เท่ากับ 0.22, 0.24 และ 0.22 ตามลำดับ และได้ ค่า R<sup>2</sup> เป็น 0.94, 0.92 และ 0.95 ตามลำดับ เมื่อนำแบบจำลอง ANNs มาพิสูจน์ความใช้ได้ พบว่าได้ค่า R<sup>2</sup> ของ TPC เท่ากับ 0.95 Coliform เท่ากับ 0.91 และ *E. coli* เท่ากับ 0.90

ภาควิชา.....เทคโนโลยีทางอาหาร..... ลายมือชื่อนิสิต.....อกินิทาร.....Dinisa..... สาขาวิชา.....เทคโนโลยีทางอาหาร..... ลายมือชื่อ อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....สุวิมล กิรติพิบูล..... ปีการศึกษา.....2551.....



## 4972564423 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY

KEYWORDS : LETTUCE / TOMATO / SANITIZING / ARTIFICIAL NEURAL NETWORK /  
ESCHERICHIA COLI

APINIHARN PHEWPAN : PREDICTION OF TOTAL BACTERIA COLIFORMS AND  
*Escherichia coli* DURING PREPARATION AND STORAGE OF SALAD FOOD  
SERVICE. ADVISOR : SUWIMON KEERATIPIBUL, Ph.D., 202 pp.

The objectives of this study were to investigate the efficacy of two sanitizers, i.e. hypochlorous and peracetic acid, in reducing total bacteria (TPC), coliforms and *Escherichia coli* levels in tomato and lettuce and to mathematically predict the relationship among the initial load, types of vegetable, types and concentration of sanitizer, and residual micro-organism levels after the washing and sanitization processes by applying a set of artificial neural networks (ANNs). Tomato fruits and lettuce leaves were inoculated with bacteria, dried and then soaked in the sanitizers for 10 minutes, in 30 repetitions. The concentrations used were 25, 50 and 75 ppm for hypochlorous and 30, 40 and 50 ppm for peracetic acid. In tomato, hypochlorous at all concentrations reduced TPC load from an initial  $-6.0 \log_{10}$  cfu/g to a residual level of  $3.84 - 3.67 \log_{10}$  cfu/g ( $p > 0.05$ ); while peracetic acid reduced TPC to  $3.16 - 2.27 \log_{10}$  cfu/g ( $p \leq 0.05$ ). Under the same conditions, coliforms showed a reduction from an initially higher level of  $-6.3 \log_{10}$  cfu/g to residual levels of  $3.71 - 3.22 \log_{10}$  cfu/g ( $p \leq 0.05$ ) by hypochlorous; and  $2.66 - 2.30 \log_{10}$  cfu/g ( $p > 0.05$ ) by peracetic acid. The same treatments reduced *E. coli* from  $-6.2 \log_{10}$  cfu/g to  $3.96 - 3.16$  ( $p \leq 0.05$ ) and  $2.37 - 1.75 \log_{10}$  cfu/g ( $p > 0.05$ ), respectively. Whereas in lettuce samples, hypochlorous and peracetic acid gave TPC reductions from  $-6.8 \log_{10}$  cfu/g initial load to a residual level of  $6.38 - 6.21 \log_{10}$  cfu/g ( $p \leq 0.05$ ) and  $5.65 - 5.43 \log_{10}$  cfu/g ( $p > 0.05$ ), respectively. Coliforms were reduced from  $-6.9 \log_{10}$  cfu/g to  $6.07 - 5.59 \log_{10}$  cfu/g ( $p \leq 0.05$ ) and  $4.92 - 4.57 \log_{10}$  cfu/g ( $p > 0.05$ ), respectively. Likewise, *E. coli* on lettuce leaves was reduced from  $-6.9 \log_{10}$  cfu/g to a residual level of  $5.95 - 5.67 \log_{10}$  cfu/g ( $p > 0.05$ ) by hypochlorous and  $4.83 - 4.49 \log_{10}$  cfu/g ( $p \leq 0.05$ ) by peracetic acid. The results also indicated that 75 ppm hypochlorous and 40 ppm peracetic acid were the most efficient concentrations for reduction of the 3 types of microorganism. The best sum square error from the artificial neural prediction of residual TPC, coliforms and *E. coli* were 0.72, 0.50 and 0.83, respectively, and the maximum  $R^2$  of residual TPC, coliforms and *E. coli* were 0.76, 0.85 and 0.72, respectively. Only one hidden layer and four, three or five hidden neurons were respectively required for TPC, coliforms and *E. coli*. Factor analysis in the ANNs models supported intuition in that the residual microorganism level depends upon the initial load of microorganism, type of vegetable, type and concentration of the sanitizer used. When using 75 ppm hypochlorous and 40 ppm peracetic acid treatments on lettuce and tomato, then storing at 10 °C and 22 °C, there was significant difference ( $p \leq 0.05$ ) between the two sanitizers. On the other hand, when tomato, lettuce, kidney bean and baby corn were stored at different temperatures, it was found that at 10 °C, there was no significant difference ( $p \leq 0.05$ ) at any time (2, 4 and 8 hours); with the exception of *E. coli* in baby corn, which showed an increase of around  $0.24 \log_{10}$  cfu/g. Whilst at 22 °C, there was significant difference ( $p \leq 0.05$ ) at any time, and all types of microorganism increased around  $0.7 - 1.3 \log_{10}$  cfu/g. The best sum square error from the artificial neural prediction of residual TPC, coliforms and *E. coli* were 0.22, 0.24 and 0.22, respectively, and the maximum  $R^2$  of residual TPC, coliforms and *E. coli* were 0.94, 0.92 and 0.95 respectively. Only one hidden layer and eight, six or five hidden neurons were respectively required for TPC, coliforms and *E. coli*. Factor analysis in the ANNs models confirmed that the final microorganism level depends on the initial load of microorganism, type of salad vegetable, type of sanitizer, temperature and time used.

Department :.....Food Technology..... Student's Snature.....  
Field of Study :...Food Technology..... Advisor's Signature.....  
Academic Year :.....2008.....

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ได้ โดยความกรุณาและความช่วยเหลืออย่างดียิ่งจาก รองศาสตราจารย์ ดร. สุวิมล กীরติพิบูล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้กรุณาใช้เวลาอันมีค่าเพื่อให้คำปรึกษา คำแนะนำ ตลอดจนความเอาใจใส่ดูแลและให้ความช่วยเหลืออย่างใกล้ชิดมาโดยตลอด รวมถึงกรุณาช่วยตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รมณี สงวนดีกุล ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชื่นจิต ประกิจชัยวัฒนา และ ดร. สุมาลิน เล็กเริ่งสิน กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ เป็นอย่างสูงที่กรุณาเสียสละเวลาตรวจสอบ พร้อมทั้งชี้แนะแนวทางในการปรับปรุงวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ขอกราบขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร. ชิตชนก เหลือสินทรัพย์, ดร. กชกร ณ นครพนม แห่ง Advance Virtual and Intelligent Computing (AVIC) Research Center. ภาควิชาคณิตศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สำหรับที่อนุญาตให้ใช้โปรแกรมการใช้งานและคำปรึกษาการใช้ ระบบข่ายงานประสาทเทียม (Artificial Neural Networks; ANNs) จนสามารถสรุปผลงานวิจัยได้อย่างสมบูรณ์ ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่อนุมัติเงินสนับสนุนในการทำวิจัย

ขอขอบคุณบริษัท ฟู้ดแลนด์ซูเปอร์มาเก็ต จำกัดสำหรับ วัตถุดิบและอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่ใช้ในการวิจัย

ขอขอบคุณบริษัท โรงงานผลิตภัณฑ์อาหารไทยจำกัด คุณปรีชา นภาพฤกษ์ชาติ กรรมการผู้จัดการ สำหรับความเอื้อเฟื้ออนุญาตให้ใช้ห้องทดลอง คุณกนกทิพย์ พวงจันทร์ ผู้อำนวยการฝ่ายควบคุมคุณภาพโรงงาน 1 และบะหมี่และวิจัยและพัฒนาธุรกิจ 2 สำหรับการจัดการห้องทดลอง อุปกรณ์ และอำนวยความสะดวกในการวิจัย คุณอุรวรรณ คำล้วน (เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์) ที่ช่วยเหลือในการปฏิบัติการวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ คุณณรีญาภา รื่นกลิ่น (เจ้าหน้าที่ฝ่ายจัดซื้อ) ที่ช่วยเหลือในการขอตัวอย่างอุปกรณ์ทางวิทยาศาสตร์

ขอบคุณพี่ น้องและเพื่อนๆ ปริญญาโท ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร โดยเฉพาะอย่างยิ่ง นางสาวจันวิภา ภูมรินทร์ ที่ให้ความช่วยเหลือแนะนำขั้นตอนด้านเอกสารการสอบวิทยานิพนธ์เป็นอย่างดี, นายดำรงค์ ศักดิ์วิสุทธิชัย ที่กรุณาช่วยเหลือด้านพาหนะขนส่ง

ท้ายสุดนี้ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณมารดาที่ให้โอกาสในการศึกษา รวมถึงคำสั่งสอนให้ผู้วิจัยมีความอดทน ให้กำลังใจ และความห่วงใยพร้อมทั้งสนับสนุนในด้านทุนทรัพย์ให้แก่ผู้วิจัยเสมอมาจนสำเร็จการศึกษา ขอกราบขอบพระคุณบิดา ผู้ให้กำเนิด และพี่ชายผู้เสียสละตลอดมา

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฎ
สารบัญภาพ.....	ท
บทที่	
1 บทนำ.....	1
2 วารสารปริทัศน์.....	3
2.1 การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารบริการพร้อมบริโภค.....	3
2.2 จุลชีววิทยาในสลัดผัก จุลินทรีย์กลุ่ม coliforms และจุลินทรีย์ก่อโรค <i>Escherichia coli</i> .....	7
2.2.1 จุลชีววิทยาผักสด.....	7
2.2.2 ความสำคัญของจุลินทรีย์กลุ่ม coliforms.....	8
2.2.3 ความสำคัญของจุลินทรีย์ก่อโรค <i>E. coli</i> .....	8
2.2.3.1 Enterotoxigenic <i>E. coli</i> (ETEC).....	10
2.2.3.2 Enteropathogenic <i>E. coli</i> (EPEC).....	11
2.2.3.3 Enterohemorrhagic <i>E. coli</i> (EHEC).....	11
2.2.3.4 Enter aggregative <i>E. coli</i> (EAEC).....	12
2.2.3.5 Enteroinvasive <i>E. coli</i> (EIEC).....	12
2.2.3.6 Diffusely adherent <i>E. coli</i> (DAEC).....	12
2.3 การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ลงสู่ผักและผลไม้.....	13
2.4 สรีรวิทยาของพืชผักและผลไม้สด.....	19
2.4.1 เนื้อเยื่อพื้นผิว.....	20
2.4.2 ปากใบ.....	20
2.4.3 ขนของพืช.....	21
2.4.4 Cuticle.....	22

บทที่	หน้า
2.5 ผักที่นิยมใช้เป็นส่วนประกอบในสลัด.....	23
2.5.1 มะเขือเทศ.....	23
2.5.2 ผักกาดหอม.....	24
2.6 การควบคุมและลดการปนเปื้อน.....	25
2.7 การกำจัดจุลินทรีย์ก่อโรคในผักและผลไม้ .....	27
2.7.1 สารฆ่าหรือลดปริมาณจุลินทรีย์.....	27
2.7.2 คลอรีน.....	28
2.7.3 กรดเปอร์อะซิติก.....	30
2.8 ธุรกิจของอาหารบริการ .....	31
2.9 การประเมินความเสี่ยง.....	32
2.10 การประมาณค่าทางจุลชีววิทยา โดยใช้สมการทางคณิตศาสตร์.....	33
2.11 หลักการทำงานของระบบข่ายงานประสาทเทียม.....	33
3. การดำเนินงานวิจัย.....	41
3.1 วัตถุประสงค์.....	41
3.2 สารเคมีและอาหารวิเคราะห์จุลินทรีย์.....	41
3.3 อุปกรณ์ในการทดลอง.....	41
3.4 อุปกรณ์ในการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์.....	42
3.5 สถานที่ทำการทดลอง.....	43
3.6 วิธีการทดลอง.....	43
3.6.1 การศึกษาการอยู่รอดของจุลินทรีย์บนผัก หลังการแช่ในสารฆ่าเชื้อ.....	43
3.6.1.1 การแยกจุลินทรีย์ Total plate count, Coliform, <i>E. coli</i> จากผักกาดหอมและผลมะเขือเทศราชินี.....	43
3.6.1.2 การเตรียมตัวอย่างผัก.....	44
3.6.1.3 การเติมจุลินทรีย์ลงบนใบผักกาดหอมและผลมะเขือเทศราชินี..	44
3.6.1.4 การเตรียมสารฆ่าเชื้อ.....	45
3.6.1.5 การศึกษาการอยู่รอดของจุลินทรีย์หลังการแช่สารฆ่าเชื้อ.....	45
3.6.1.6 การประมาณค่าจุลินทรีย์ที่อยู่รอดหลังการแช่ในสารฆ่าเชื้อ โดยใช้ ANNs.....	46
3.6.2 การศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์	46



3.6.2.1 การแยกจุลินทรีย์ TPC, Coliform, E. coli จากผักข้าวโพด อ่อน.....	46
3.6.2.2 การเตรียมตัวอย่างผัก.....	47
3.6.2.3 การเติมจุลินทรีย์ลงในตัวอย่างผัก.....	48
3.6.2.4 การศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาต่อการเจริญเติบโตของ จุลินทรีย์.....	49
3.6.2.5 การประมาณค่าจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตในตัวอย่างผักสด โดยใช้ ANNs.....	50
4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง.....	51
4.1 ผลการศึกษาการอยู่รอดของจุลินทรีย์บนผักหลังแช่ในสารฆ่าเชื้อ.....	51
4.1.1 ผลจากการแช่ผักในสารฆ่าเชื้อ.....	51
4.1.2 ผลจากการประมาณค่าจุลินทรีย์ที่อยู่รอดหลังการแช่ในสารฆ่าเชื้อโดย ใช้ ANNs.....	60
4.1.2.1 แบบจำลอง ANNs สำหรับการประมาณค่าจุลินทรีย์ทั่วไป (TPC) ที่หลงเหลือในผัก.....	61
4.1.2.2 แบบจำลอง ANNs สำหรับการประมาณค่า coliforms ที่หลง เหลือในผัก.....	62
4.1.2.3 แบบจำลอง ANNs สำหรับการประมาณค่า E. coli ที่หลง เหลือในผัก.....	64
4.1.3 ผลจากการพิสูจน์ความใช้ได้ของระบบ ANNs.....	66
4.1.3.1 ANNs ของจุลินทรีย์ทั่วไป (TPC).....	66
4.1.3.2 ANNs ของจุลินทรีย์กลุ่ม Coliforms.....	67
4.1.3.3 ANNs ของจุลินทรีย์กลุ่ม E. coli.....	68
4.2 ผลการการศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์.....	72
4.2.1 ผลจากอุณหภูมิและเวลาในการเก็บผักสด.....	72
4.2.1.1 ผลการศึกษานมมะเขือเทศราชนี.....	73
4.2.1.1.1 ปริมาณจุลินทรีย์โดยรวม(TPC).....	73
4.2.1.1.2 ปริมาณจุลินทรีย์กลุ่ม Coliforms.....	77
4.2.1.1.3 ปริมาณจุลินทรีย์ E. coli.....	81

บทที่	หน้า
4.2.1.2 ผลการศึกษาบนผักกาดหอม.....	86
4.2.1.2.1 ปริมาณจุลินทรีย์โดยรวม(TPC).....	86
4.2.1.2.2 ปริมาณจุลินทรีย์กลุ่ม Coliforms .....	90
4.2.1.2.3 ปริมาณจุลินทรีย์กลุ่ม <i>E. coli</i> .....	94
4.2.2 ผลจากอุณหภูมิและเวลาในการเก็บรักษา ถั่วแดงกระป๋องและ ข้าวโพดอ่อน.....	99
4.2.2.1 ปริมาณจุลินทรีย์โดยรวม(TPC) ของถั่วแดงและข้าวโพดอ่อน.	100
4.2.2.2 ปริมาณจุลินทรีย์กลุ่ม Coliforms ถั่วแดงและข้าวโพดอ่อน....	104
4.2.2.3 ปริมาณจุลินทรีย์กลุ่ม <i>E. coli</i> ถั่วแดงและข้าวโพดอ่อน.....	108
4.2.3 ผลจากการประมาณค่าจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตบนสลัดผัก โดยใช้ ANNs.....	112
4.2.3.1 แบบจำลอง ANNs ในการประมาณค่าจุลินทรีย์สุดท้ายที่มีใน ตัวอย่างอาหารสลัด (TPC) .....	113
4.2.3.2 แบบจำลอง ANNs ในการประมาณค่าจุลินทรีย์กลุ่ม Coliforms สุดท้ายที่มีในตัวอย่างอาหารสลัด.....	116
4.2.3.3 แบบจำลอง ANNs ในการประมาณค่าจุลินทรีย์ <i>E. coli</i> สุดท้ายที่มีในตัวอย่างอาหารสลัด.....	118
4.2.4 ผลจากการพิสูจน์ความใช้ได้ของ ระบบ ANNs (Validation ANNs).....	120
4.2.4.1 ANNs ของจุลินทรีย์ทั่วไป (TPC)	120
4.2.4.2 ANNs ของจุลินทรีย์กลุ่ม Coliforms	121
4.2.4.3 ANNs ของจุลินทรีย์กลุ่ม <i>E. coli</i>	123
5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	126
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	126
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	127
รายการอ้างอิง.....	128
ภาคผนวก.....	143
ภาคผนวก ก วิธีการวิเคราะห์จุลินทรีย์.....	144
ภาคผนวก ข วิธีการเตรียมอาหารวิเคราะห์จุลินทรีย์.....	152
ภาคผนวก ค วิธีการเตรียมสารเคมีที่ใช้กำจัดจุลินทรีย์.....	155



## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1.1	รายงานผลการเกิดโรคทางอาหารในประเทศไทย ปี ค.ศ. 2003 (พ.ศ. 2546)	2
2.1	ตัวอย่างการตรวจพบจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารพร้อมบริโภค ในประเทศต่างๆ	4
2.2	รายงานการตรวจสอบจุลินทรีย์ก่อโรค <i>E. coli</i> O157:H7 ที่ปนเปื้อนในผัก หรือ ผลไม้สด หรือ สลัด ที่ทำให้เป็นสาเหตุของโรคท้องร่วง.....	6
2.3	คุณค่าทางอาหารของมะเขือเทศ.....	24
2.4	คุณค่าทางอาหารของผักกาดหอม.....	25
4.1	ผลการทดลองแช่ มะเขือเทศ ในสารฆ่าเชื้อทั้งสองชนิดที่ความเข้มข้นที่แตกต่าง กัน.....	52
4.2	ผลการทดลองแช่ ผักกาดหอม ในสารฆ่าเชื้อทั้งสองชนิดที่ความเข้มข้นที่ แตกต่างกัน.....	56
4.3	เปรียบเทียบ SSE และ $R^2$ ของการ Train และ Test ของข้อมูล TPC (บนผักทั้ง 2 ชนิด) ที่ได้จากระบบ ANNs ที่แปร Hidden node และ transfer function โดยการ Run Program Matlab ที่ Learning Rate = 0.1.....	61
4.4	เปรียบเทียบผล SSE และ $R^2$ ของการ Train และ Test ของข้อมูล Coliforms (บนผักทั้ง 2 ชนิด) ที่ได้จากระบบ ANNs ที่แปร Hidden node และ transfer function โดยการ Run Program Matlab ที่ Learning Rate = 0.001.....	63
4.5	เปรียบเทียบผล SSE และ $R^2$ ของการ Train และ Test ของข้อมูล <i>E. coli</i> (บน ผักทั้ง 2 ชนิด) ที่ได้จากระบบ ANNs ที่แปร Hidden node และ transfer function โดยการ Run Program Matlab ที่ Learning Rate = 0.1.....	64
4.6	ผลของการเจริญของจุลินทรีย์โดยรวม (TPC) ณ อุณหภูมิ และเวลาที่แตกต่างกันบนผลมะเขือเทศ.....	73
4.7	ผลของการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่ม Coliforms ณ อุณหภูมิ และเวลาที่แตกต่างกันบนผลมะเขือเทศ.....	77
4.8	ผลของการเจริญของจุลินทรีย์ <i>E. coli</i> ณ อุณหภูมิ และเวลาที่แตกต่างกันบน ผลมะเขือเทศ.....	81



ตารางที่	หน้า
4.9 ผลของการเจริญของจุลินทรีย์โดยรวม (TPC) ณ อุณหภูมิ และเวลาที่แตกต่างกันบนใบผักกาดหอม.....	86
4.10 ผลของการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่ม Coliforms ณ อุณหภูมิ และเวลาที่แตกต่างกันบนใบผักกาดหอม.....	90
4.11 ผลของการเจริญของจุลินทรีย์ <i>E. coli</i> ณ อุณหภูมิ และเวลาที่แตกต่างกันบนใบผักกาดหอม.....	94
4.12 ผลของการเจริญของจุลินทรีย์โดยรวม (TPC) ณ อุณหภูมิ และเวลาที่แตกต่างกันในถั้วแดง และ ข้าวโพดอ่อน.....	100
4.13 ผลของการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่ม Coliforms ณ อุณหภูมิ และเวลาที่แตกต่างกันในถั้วแดง และ ข้าวโพดอ่อน.....	104
4.14 ผลของการเจริญของจุลินทรีย์ <i>E. coli</i> ณ อุณหภูมิ และเวลาที่แตกต่างกันในถั้วแดง และ ข้าวโพดอ่อน.....	108
4.15 เปรียบเทียบ SSE และ $R^2$ ของการ Train และ Test ของข้อมูล TPC (บนผักสลัดทั้ง 4 ชนิด) ที่ได้จากระบบ ANNs ที่แปร Hidden node และ transfer function โดยการ Run Program Matlab ที่ Learning Rate = 0.001.....	113
4.16 เปรียบเทียบ SSE และ $R^2$ ของการ Train และ Test ของข้อมูล coliforms (บนผักสลัดทั้ง 4 ชนิด) ที่ได้จากระบบ ANNs ที่แปร Hidden node และ transfer function โดยการ Run Program Matlab ที่ Learning Rate = 0.1.....	116
4.17 เปรียบเทียบ SSE และ $R^2$ ของการ Train และ Test ของข้อมูล <i>E. coli</i> (บนผักสลัดทั้ง 4 ชนิด) ที่ได้จากระบบ ANNs ที่แปร Hidden node และ transfer function โดยการ Run Program Matlab ที่ Learning Rate = 0.1.....	118
ง. 1 เปรียบเทียบราคาในการใช้สารฆ่าเชื้อคลอรีนที่ระดับความเข้มข้น 25 50 และ 75 ppm ต่อการล้างผักปริมาณ 1 กิโลกรัม (หน่วย : บาท).....	157
ง. 2 เปรียบเทียบราคาในการใช้สารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติกที่ระดับความเข้มข้น 30 40 และ 50 ppm ต่อการล้างผักปริมาณ 1 กิโลกรัม (หน่วย : บาท).....	158
ข.1 ผลชุดควบคุมที่ไม่ได้เติมจุลินทรีย์ลงไปในตัวอย่งในถั้วแดงและข้าวโพดอ่อน (ในการศึกษาการเจริญของจุลินทรีย์).....	180

ตารางที่	หน้า
ช. 1 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน (25, 50 และ 75 ppm) ต่อจุลินทรีย์ TPC บนผลมะเขือเทศ.....	181
ช. 2 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของสารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติก (Peracetic acid) ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน (30, 40 และ 50 ppm)ต่อจุลินทรีย์ TPC บนผลมะเขือเทศ.....	181
ช. 3 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) และกรดเปอร์อะซิติก (Peracetic acid) ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันต่อจุลินทรีย์ TPC บนผลมะเขือเทศ.....	181
ช. 4 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน (25, 50 และ 75 ppm) ต่อจุลินทรีย์ Coliforms บนผลมะเขือเทศ.....	182
ช. 5 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของสารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติก (Peracetic acid) ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน (30, 40 และ 50 ppm)ต่อจุลินทรีย์ Coliforms บนผลมะเขือเทศ.....	182
ช. 6 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) และกรดเปอร์อะซิติก (Peracetic acid) ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันต่อจุลินทรีย์ Coliforms บนผลมะเขือเทศ.....	182
ช. 7 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน (25, 50 และ 75 ppm) ต่อจุลินทรีย์ <i>E. coli</i> บนผลมะเขือเทศ.....	183
ช. 8 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของสารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติก (Peracetic acid) ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน (30, 40 และ 50 ppm)ต่อจุลินทรีย์ <i>E. coli</i> บนผลมะเขือเทศ.....	183
ช. 9 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) และกรดเปอร์อะซิติก (Peracetic acid) ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันต่อจุลินทรีย์ <i>E. coli</i> บนผลมะเขือเทศ.....	183

ตารางที่	หน้า
ช.10 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน (25, 50 และ 75 ppm) ต่อจุลินทรีย์ TPC บนใบผักกาดหอม.....	184
ช.11 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของสารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติก (Peracetic acid) ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน (30, 40 และ 50 ppm)ต่อจุลินทรีย์ TPC บนใบผักกาดหอม.....	184
ช.12 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) และกรดเปอร์อะซิติก (Peracetic acid) ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันต่อจุลินทรีย์ TPC บนใบผักกาดหอม.....	184
ช.13 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน (25, 50 และ 75 ppm) ต่อจุลินทรีย์ Coliforms บนใบผักกาดหอม.....	185
ช.14 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของสารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติก (Peracetic acid) ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน (30, 40 และ 50 ppm)ต่อจุลินทรีย์ Coliforms บนใบผักกาดหอม.....	185
ช.15 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) และกรดเปอร์อะซิติก (Peracetic acid) ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันต่อจุลินทรีย์ Coliforms บนใบผักกาดหอม.....	185
ช.16 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน (25, 50 และ 75 ppm) ต่อจุลินทรีย์ <i>E. coli</i> บนใบผักกาดหอม.....	186
ช.17 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของสารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติก (Peracetic acid) ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน (30, 40 และ 50 ppm)ต่อจุลินทรีย์ <i>E. coli</i> บนใบผักกาดหอม.....	186
ช.18 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) และกรดเปอร์อะซิติก (Peracetic acid) ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันต่อจุลินทรีย์ <i>E. coli</i> บนใบผักกาดหอม.....	186

ตารางที่	หน้า
ช.19 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมผักสลัดด้วยสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) ที่ระดับความเข้มข้น 75 ppm ต่อจุลินทรีย์ TPC บนผลมะเขือเทศ ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน.....	187
ช.20 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมผักสลัดด้วยสารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติก (Peractic acid) ที่ระดับความเข้มข้น 40 ppm ต่อจุลินทรีย์ TPC บนผลมะเขือเทศ ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน.....	187
ช.21 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมผักสลัดด้วยสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) ที่ระดับความเข้มข้น 75 ppm และกรดเปอร์อะซิติก (Peractic acid) ที่ระดับความเข้มข้น 40 ppm ต่อ จุลินทรีย์ TPC บนผลมะเขือเทศ ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน.....	188
ช.22 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมผักสลัดด้วยสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) ที่ระดับความเข้มข้น 75 ppm ต่อจุลินทรีย์ Coliforms บนผลมะเขือเทศ ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน.....	188
ช.23 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมผักสลัดด้วยสารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติก (Peractic acid) ที่ระดับความเข้มข้น 40 ppm ต่อจุลินทรีย์ Coliforms บนผลมะเขือเทศ ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน.....	189
ช.24 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมผักสลัดด้วยสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) ที่ระดับความเข้มข้น 75 ppm และกรดเปอร์อะซิติก (Peractic acid) ที่ระดับความเข้มข้น 40 ppm ต่อ จุลินทรีย์ Coliforms บนผลมะเขือเทศ ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน.....	189



ตารางที่	หน้า
ข.25 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมผักสลัดด้วยสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) ที่ระดับความเข้มข้น 75 ppm ต่อจุลินทรีย์ <i>E. coli</i> บนผลมะเขือเทศ ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน.....	190
ข.26 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมผักสลัดด้วยสารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติก (Peractic acid) ที่ระดับความเข้มข้น 40 ppm ต่อจุลินทรีย์ <i>E. coli</i> บนผลมะเขือเทศ ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน.....	190
ข.27 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมผักสลัดด้วยสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) ที่ระดับความเข้มข้น 75 ppm และกรดเปอร์อะซิติก (Peractic acid) ที่ระดับความเข้มข้น 40 ppm ต่อ จุลินทรีย์ <i>E. coli</i> บนผลมะเขือเทศ ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน.....	191
ข.28 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมผักสลัดด้วยสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) ที่ระดับความเข้มข้น 75 ppm ต่อจุลินทรีย์ TPC บนใบผักกาดหอม ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน.....	191
ข.29 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมผักสลัดด้วยสารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติก (Peractic acid) ที่ระดับความเข้มข้น 40 ppm ต่อจุลินทรีย์ TPC บนใบผักกาดหอม ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน.....	192
ข.30 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมผักสลัดด้วยสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) ที่ระดับความเข้มข้น 75 ppm และกรดเปอร์อะซิติก (Peractic acid) ที่ระดับความเข้มข้น 40 ppm ต่อ จุลินทรีย์ TPC บนใบผักกาดหอม ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน.....	192

ตารางที่	หน้า
<p>ช.31 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมผักสลัดด้วยสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) ที่ระดับความเข้มข้น 75 ppm ต่อจุลินทรีย์ Coliforms บนใบผักกาดหอม ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน.....</p>	193
<p>ช.32 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมผักสลัดด้วยสารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติก (Peractic acid) ที่ระดับความเข้มข้น 40 ppm ต่อจุลินทรีย์ Coliforms บนใบผักกาดหอม ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน.....</p>	193
<p>ช.33 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมผักสลัดด้วยสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) ที่ระดับความเข้มข้น 75 ppm และกรดเปอร์อะซิติก (Peractic acid) ที่ระดับความเข้มข้น 40 ppm ต่อ จุลินทรีย์ Coliforms บนใบผักกาดหอม ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน.....</p>	194
<p>ช.34 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมผักสลัดด้วยสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) ที่ระดับความเข้มข้น 75 ppm ต่อจุลินทรีย์ <i>E. coli</i> บนใบผักกาดหอม ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน.....</p>	194
<p>ช.35 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมผักสลัดด้วยสารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติก (Peractic acid) ที่ระดับความเข้มข้น 40 ppm ต่อจุลินทรีย์ <i>E. coli</i> บนใบผักกาดหอม ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน.....</p>	195
<p>ช.36 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมผักสลัดด้วยสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) ที่ระดับความเข้มข้น 75 ppm และกรดเปอร์อะซิติก (Peractic acid) ที่ระดับความเข้มข้น 40 ppm ต่อ จุลินทรีย์ <i>E. coli</i> บนใบผักกาดหอม ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน.....</p>	195

ตารางที่	หน้า
ข.37 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมถั่วแดง ต่อ การเจริญของ จุลินทรีย์ TPC ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน.....	196
ข.38 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมข้าวโพดอ่อน ต่อ การ เจริญของจุลินทรีย์ TPC ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน.....	196
ข.39 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมถั่วแดงและข้าวโพดอ่อน ต่อการเจริญของจุลินทรีย์ TPC ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและ อุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน.....	197
ข.40 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมถั่วแดง ต่อ การเจริญของ จุลินทรีย์ Coliforms ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน.....	197
ข.41 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมข้าวโพดอ่อน ต่อ การ เจริญของจุลินทรีย์ Coliforms ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและ อุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน.....	198
ข.42 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมถั่วแดงและข้าวโพดอ่อน ต่อการเจริญของจุลินทรีย์ Coliforms ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บ และอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน.....	198
ข.43 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมถั่วแดง ต่อ การเจริญของ จุลินทรีย์ <i>E. coli</i> ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน.....	199
ข.44 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมข้าวโพดอ่อน ต่อ การ เจริญของจุลินทรีย์ <i>E. coli</i> ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและ อุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน.....	199
ข.45 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมถั่วแดงและข้าวโพดอ่อน ต่อการเจริญของจุลินทรีย์ <i>E. coli</i> ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและ อุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน.....	200

## สารบัญภาพ

รูปที่		หน้า
1.1	อัตราการเจ็บป่วย ด้วยโรคทางอาหารในประเทศไทยในช่วงปี ค.ศ. 1992 – 2003 (พ.ศ. 2535 – 2546).....	1
2.1	แบคทีเรีย <i>E. coli</i> ในผนังลำไส้มนุษย์.....	9
2.2	กลไกการเข้าทำร้ายเซลล์แบบต่างๆ ของแบคทีเรียในสายพันธุ์ <i>E. coli</i> .....	10
2.3	วิธีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์เข้าสู่กระบวนการผลิตผักหรือผลไม้สด.....	14
2.4	ขั้นตอนการควบคุมการปนเปื้อนทางจุลินทรีย์ลงสู่ผลผลิตการเกษตร.....	15
2.5	การใช้กล้อง photomicrograph ในการตรวจดู colony บนพื้นผิวของผักกาดที่มีปลุกได้ 3 วัน (ในดินที่มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ <i>E. coli</i> O157:H7 ~ 10 <sup>6</sup> cfu/g) โดยเซลล์มีลักษณะเกาะตัวกันบริเวณรอยต่อของเนื้อเยื่อผักกาด โดยถูกครีที่ชี้แสดงถึงกลุ่มเซลล์ของ <i>E. coli</i> O157:H7.....	16
2.6	ขั้นตอนการเกิด Biofilm บนพื้นผิวอาหาร.....	17
2.7	Biofilm บนพื้นผิวของผักกาดที่ถ่ายด้วยกล้อง Zeiss confocal microscope โดยจุดสีเขียว-เหลือง แสดงถึง biofilm ที่ยังคงมีชีวิตอยู่ในขณะที่พื้นที่จุดสีแดงแสดงถึง biofilm ที่ตายแล้ว.....	17
2.8	การเกาะติดของ cell <i>E. coli</i> O157:H7 บนพื้นผิวของพริกไทยเขียว (a) cell <i>E. coli</i> O157:H7 เข้ายึดเกาะบริเวณที่เกิดความเสียหายของพริกไทย(ลูกครีชี้) (b) cell <i>E. coli</i> O157:H7 มีการเจริญตรงบริเวณที่เสียหายของพื้นผิว (c) cell <i>E. coli</i> O157:H7 มีการเจริญและเริ่มเกาะติดบริเวณที่ชั้น cuticle ของผิวพริกไทยที่เสียหาย (d) cell <i>E. coli</i> O157:H7 มีการสร้าง EPS ออกมายึดติดบริเวณผิว (e) cell <i>E. coli</i> O157:H7 เจริญเติบโตและเกาะติดบริเวณพื้นผิวที่เสียหาย (f) cell <i>E. coli</i> O157:H7 เจริญเติบโตและเกาะติดบริเวณพื้นผิวที่เสียหาย หลังการล้างด้วยน้ำ.....	18
2.9	การเจริญจากเนื้อเยื่อของดอกที่พัฒนาไปเป็นผลของพืช.....	19
2.10	การเจริญจากเนื้อเยื่อต่างๆของต้นพืชที่ใช้เป็นผัก.....	20
2.11	ภาพตัดตามขวางแสดงลักษณะปากใบ และโครงสร้างของใบ.....	21
2.12	ลักษณะของ Trichome ของพืชที่มีลักษณะต่างๆ.....	22



รูปที่		หน้า
2.13	ลักษณะผนังเซลล์ด้านนอกของ epidermis.....	23
2.14	กระบวนการผลิตผัก / ผลไม้หลังจากการเก็บเกี่ยว.....	27
2.15	การใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์เพื่อทำนายความเสี่ยงและการจัดการความเสี่ยง.....	32
2.16	โครงสร้างเซลล์ประสาท(a) และ จุดประสานประสาท(b).....	35
2.17	เปรียบเทียบลักษณะเซลล์ประสาท และ ช่างงานประสาทเทียม(ANNs).....	35
2.18	การทำงานของระบบช่างงานประสาทเทียม.....	36
2.19	การทำงานของระบบ ANNs เมื่อพิจารณาทีละ unit ของ Hidden node.....	37
2.20	รูปแบบ Back-propagation neural network ขั้นตอนของ Back-propagation Algorithm.....	38
4.1	ระบบ ANNs สำหรับการทำนายจุลินทรีย์ TPC ของผักทั้งสองชนิด.....	63
4.2	ระบบ ANNs สำหรับการทำนายจุลินทรีย์กลุ่ม Coliforms ของผักทั้งสองชนิด	65
4.3	ระบบ ANNs สำหรับการทำนายจุลินทรีย์กลุ่ม <i>E. coli</i> ของผักทั้งสองชนิด....	66
4.4	ความสัมพันธ์ระหว่างค่าจริงและค่าทำนายของระบบ ANNs –ที่ได้จากการพิสูจน์ความใช้ได้ของระบบ ANNs-ของชนิดจุลินทรีย์โดยรวม (TPC).....	67
4.5	ความสัมพันธ์เชิงเส้นของ ค่าจริงและค่าทำนายที่ได้จากการพิสูจน์ความใช้ได้ของระบบ ANNs-ของชนิดจุลินทรีย์โดยรวม (TPC) .....	67
4.6	ความสัมพันธ์ระหว่างค่าจริงและค่าทำนายของระบบ ANNs –ที่ได้จากการพิสูจน์ความใช้ได้ของระบบ ANNs-ของชนิดจุลินทรีย์กลุ่มโคลิฟอร์ม (Coliforms).....	68
4.7	ความสัมพันธ์เชิงเส้นของ ค่าจริงและค่าทำนายที่ได้จากการพิสูจน์ความใช้ได้ของระบบ ANNs-ของชนิดจุลินทรีย์กลุ่มโคลิฟอร์ม (Coliforms).....	68
4.8	ความสัมพันธ์ระหว่างค่าจริงและค่าทำนายของระบบ ANNs –ที่ได้จากการพิสูจน์ความใช้ได้ของระบบ ANNs-ของชนิดจุลินทรีย์ <i>E. coli</i> .....	69
4.9	ความสัมพันธ์เชิงเส้นของ ค่าจริงและค่าทำนายที่ได้จากการพิสูจน์ความใช้ได้ของระบบ ANNs-ของชนิดจุลินทรีย์ <i>E. coli</i> .....	70

รูปที่		หน้า
4.10	ผลเปรียบเทียบการเจริญของจุลินทรีย์ TPC ระหว่างการใช้สารฆ่าเชื้อ คลอรีน และกรดเปอร์อะซิติก ณ อุณหภูมิ 10 และ 22 °C (โดย CI10, PA10 หมายถึง เชื้อบนผลมะเขือเทศที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยคลอรีน และกรดเปอร์อะซิติกและเก็บ ณ อุณหภูมิ 10 °C ขณะที่ CI22, PA22 จะหมายถึงเชื้อบนผลมะเขือเทศที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยคลอรีน และกรดเปอร์อะซิติกและเก็บ ณ อุณหภูมิ 22 °C) .....	75
4.11	ผลเปรียบเทียบการเจริญของจุลินทรีย์ coliforms ระหว่างการใช้สารฆ่าเชื้อ คลอรีนและกรดเปอร์อะซิติก ณ อุณหภูมิ 10 และ 22 °C (โดย CI10, PA10 หมายถึงเชื้อบนผลมะเขือเทศที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยคลอรีน และกรดเปอร์อะซิติกและเก็บ ณ อุณหภูมิ 10 °C ขณะที่ CI22, PA22 จะหมายถึงเชื้อบนผลมะเขือเทศที่ผ่าน การฆ่าเชื้อโดยคลอรีน และกรดเปอร์อะซิติกและเก็บ ณ อุณหภูมิ 22 °C).....	79
4.12	ผลเปรียบเทียบการเจริญของจุลินทรีย์ <i>E. coli</i> ระหว่างการใช้สารฆ่าเชื้อ คลอรีนและกรดเปอร์อะซิติก ณ อุณหภูมิ 10 และ 22 °C (โดย CI10, PA10 หมายถึงเชื้อบนผลมะเขือเทศที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยคลอรีน และกรดเปอร์อะซิติกและเก็บ ณ อุณหภูมิ 10 °C ขณะที่ CI22, PA22 จะหมายถึงเชื้อบนผลมะเขือเทศที่ผ่าน การฆ่าเชื้อโดยคลอรีน และกรดเปอร์อะซิติกและเก็บ ณ อุณหภูมิ 22 °C).....	83
4.13	ผลเปรียบเทียบการเจริญของจุลินทรีย์ TPC ระหว่างการใช้สารฆ่าเชื้อ คลอรีน และกรดเปอร์อะซิติก ณ อุณหภูมิ 10 และ 22 °C (โดย CI10, PA10 หมายถึง เชื้อบนใบผักกาดหอมที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยคลอรีน และกรดเปอร์อะซิติกและ เก็บ ณ อุณหภูมิ 10 °C ขณะที่ CI22, PA22 จะหมายถึงเชื้อบนใบผักกาดหอม ที่ผ่าน การฆ่าเชื้อโดยคลอรีน และกรดเปอร์อะซิติกและเก็บ ณ อุณหภูมิ 22 °C).....	88

รูปที่		หน้า
4.14	ผลเปรียบเทียบการเจริญของจุลินทรีย์ coliforms ระหว่างการใช้สารฆ่าเชื้อ คลอรีนและกรดเปอร์อะซิติก ณ อุณหภูมิ 10 และ 22 °C (โดย CI10, PA10 หมายถึงเชื้อบนใบผักกาดหอมที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยคลอรีน และกรดเปอร์อะซิติกและเก็บ ณ อุณหภูมิ 10 °C ขณะที่ CI22, PA22 จะหมายถึงเชื้อบนใบผักกาดหอมที่ผ่าน การฆ่าเชื้อโดยคลอรีน และกรดเปอร์อะซิติกและเก็บ ณ อุณหภูมิ 22 °C).....	92
4.15	ผลเปรียบเทียบการเจริญของจุลินทรีย์ <i>E. coli</i> ระหว่างการใช้สารฆ่าเชื้อ คลอรีนและกรดเปอร์อะซิติก ณ อุณหภูมิ 10 และ 22 °C (โดย CI10, PA10 หมายถึงเชื้อบนใบผักกาดหอมที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยคลอรีน และกรดเปอร์อะซิติกและเก็บ ณ อุณหภูมิ 10 °C ขณะที่ CI22, PA22 จะหมายถึงเชื้อบนใบผักกาดหอมที่ผ่าน การฆ่าเชื้อโดยคลอรีน และกรดเปอร์อะซิติกและเก็บ ณ อุณหภูมิ 22 °C) .....	96
4.16	ผลเปรียบเทียบการเจริญของจุลินทรีย์ TPC บนถั่วแดง และ ข้าวโพดอ่อน ณ อุณหภูมิ 10 และ 22 °C (โดย KB10, BC10 หมายถึงเชื้อจุลินทรีย์บนถั่วแดง และข้าวโพดอ่อนที่เก็บ ณ อุณหภูมิ 10 °C ขณะที่ KB22, BC22 จะหมายถึงเชื้อจุลินทรีย์บนถั่วแดงและข้าวโพดอ่อนที่เก็บ ณ อุณหภูมิ 22 °C).....	102
4.17	ผลเปรียบเทียบการเจริญของจุลินทรีย์ coliforms บนถั่วแดง และ ข้าวโพดอ่อน ณ อุณหภูมิ 10 และ 22 °C (โดย KB10, BC10 หมายถึงเชื้อจุลินทรีย์บนถั่วแดงและข้าวโพดอ่อนที่เก็บ ณ อุณหภูมิ 10 °C ขณะที่ KB22, BC22 จะหมายถึงเชื้อจุลินทรีย์บนถั่วแดงและข้าวโพดอ่อนที่เก็บ ณ อุณหภูมิ 22 °C).....	106
4.18	ผลเปรียบเทียบการเจริญของจุลินทรีย์ <i>E. coli</i> บนถั่วแดง และ ข้าวโพดอ่อน ณ อุณหภูมิ 10 และ 22 °C (โดย KB10, BC10 หมายถึงเชื้อจุลินทรีย์บนถั่วแดง และข้าวโพดอ่อนที่เก็บ ณ อุณหภูมิ 10 °C ขณะที่ KB22, BC22 จะหมายถึงเชื้อจุลินทรีย์บนถั่วแดงและข้าวโพดอ่อนที่เก็บ ณ อุณหภูมิ 22 °C).....	110
4.19	ระบบ ANNs สำหรับการทำนายจุลินทรีย์ TPC ของสลัดตัวอย่างทั้งสี่ชนิด.....	114
4.20	ระบบ ANNs สำหรับการทำนายจุลินทรีย์ Coliforms ของสลัดตัวอย่างทั้งสี่ชนิด.....	116
4.21	ระบบ ANNs สำหรับการทำนายจุลินทรีย์ <i>E. coli</i> ของสลัดตัวอย่างทั้งสี่ชนิด..	118

รูปที่	หน้า
4.22	ความสัมพัทธ์ระหว่างค่าจริงและค่าทำนายของระบบ ANNs –ที่ได้จากการพิสูจน์ความใช้ได้ของระบบ ANNs ในการประมาณค่าจุลินทรีย์สุดท้ายที่มีในตัวอย่างสลัดผัก (TPC)..... 119
4.23	ความสัมพัทธ์เชิงเส้นของ ค่าจริงและค่าทำนายที่ได้จากการพิสูจน์ความใช้ได้ของระบบ ANNs ในการประมาณค่าจุลินทรีย์สุดท้ายที่มีในตัวอย่างอาหารสลัด (TPC)..... 120
4.24	ความสัมพัทธ์ระหว่างค่าจริงและค่าทำนายของระบบ ANNs –ที่ได้จากการพิสูจน์ความใช้ได้ของระบบ ANNs ในการประมาณค่าจุลินทรีย์สุดท้ายที่มีในตัวอย่างอาหารสลัด (Coliforms)..... 121
4.25	ความสัมพัทธ์เชิงเส้นของ ค่าจริงและค่าทำนายที่ได้จากการพิสูจน์ความใช้ได้ของระบบ ANNs ในการประมาณค่าจุลินทรีย์สุดท้ายที่มีในตัวอย่างอาหารสลัด (Coliforms)..... 121
4.26	ความสัมพัทธ์ระหว่างค่าจริงและค่าทำนายของระบบ ANNs –ที่ได้จากการพิสูจน์ความใช้ได้ของระบบ ANNs ในการประมาณค่าจุลินทรีย์สุดท้ายที่มีในตัวอย่างอาหารสลัด ( <i>E. coli</i> )..... 122
4.27	ความสัมพัทธ์เชิงเส้นของ ค่าจริงและค่าทำนายที่ได้จากการพิสูจน์ความใช้ได้ของระบบ ANNs ในการประมาณค่าจุลินทรีย์สุดท้ายที่มีในตัวอย่างอาหารสลัด ( <i>E. coli</i> )..... 122
จ. 1	ตัวอย่างการสร้างระบบข่ายงานประสาทเทียม..... 158
ฉ. 1	ตัวอย่างการป้อนข้อมูลในโปรแกรม Excels..... 161
ฉ. 2	ตัวอย่างการ Randomized ข้อมูลในโปรแกรม Excels..... 162
ฉ. 3	ตัวอย่างการ Normalized ข้อมูลในโปรแกรม Excels..... 163
ฉ. 4	ตัวอย่างการ ส่งข้อมูลที่จัดการเรียบร้อยแล้วไปสู่โปรแกรม Note pat..... 164
ฉ. 5	ตัวอย่างการเข้าสู่โปรแกรม MATLAB..... 165
ฉ. 6	ตัวอย่างการเปิดโปรแกรมใน MATLAB..... 165
ฉ. 7	ตัวอย่างการเขียนโปรแกรมใน MATLAB..... 166
ฉ. 8	ตัวอย่างการ Run โปรแกรมที่เขียนเสร็จแล้วใน MATLAB..... 170
ฉ. 9	ตัวอย่างการ Run โปรแกรมใน MATLAB ระหว่างการ Learning..... 170

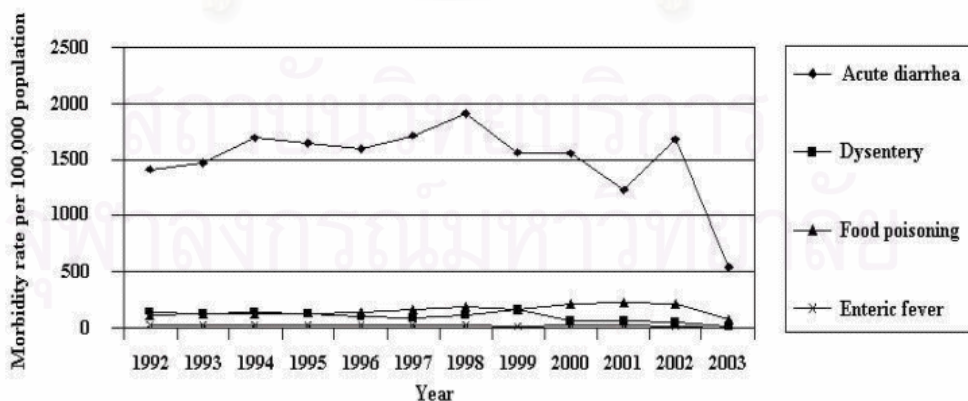


รูปที่	หน้า
ด.10	ตัวอย่างการ Run โปรแกรมใน MATLAB โดยโปรแกรมแสดงผลการ Train ระบบ ANNs ที่สร้างขึ้น..... 171
ด.11	ตัวอย่างการ Run โปรแกรมใน MATLAB โดยโปรแกรมแสดงผลการ Test ระบบ ANNs ที่สร้างขึ้น..... 172
ด.12	โปรแกรมแสดงผลการ Test ระบบ ANNs ที่สร้างขึ้นในรูปของค่า MSE, SSE และ $R^2$ ..... 173
ด.13	ตัวอย่างระบบ ANNs ที่สร้างขึ้น..... 174
ด.14	ตัวอย่างการเรียกระบบขึ้นมาอ่านค่า Weight และ Bias ของระบบ ANNs ที่สร้างขึ้นในชั้น input - hidden..... 175
ด.15	ตัวอย่างการเรียกระบบขึ้นมาอ่านค่า Weight และ Bias ของระบบ ANNs ที่สร้างขึ้นในชั้น hidden – output ..... 175
ด.16	ตัวอย่างการเรียกระบบขึ้นมาเพื่อทำนายค่า..... 177

# บทที่ 1

## บทนำ

ความปลอดภัยของอาหารถือเป็นสิ่งสำคัญ และเป็นสิ่งที่มีการกล่าวถึงอยู่ในช่วงหลายปีที่ผ่านมา รายงานการประชุมของ FAO/WHO ในปี 2004 และ 2008 ก็ยังคงมีการกล่าวถึงอันตรายทางชีวภาพ และการเจ็บป่วยเนื่องจากอาหาร โดยส่วนใหญ่รายงานว่าสาเหตุมาจากจุลินทรีย์ก่อโรค เช่น *E. coli* , *Salmonella* spp. ซึ่งส่งผลกระทบต่อ สุขภาพของประชากร (Public Health) และมีผลกระทบในเชิงเศรษฐศาสตร์ (Economic Impact) ในส่วนของประเทศไทยนั้นได้มีรายงานของกองควบคุมโรคระบาด (Bureau of Epidemiology) เมื่อปี ค.ศ. 2003 (พ.ศ.2546) เกี่ยวกับการสำรวจและรายงานการเจ็บป่วยเนื่องจากโรคทางอาหาร (Food borne disease) ซึ่งมีรายงานว่า การเกิดอาหารเป็นพิษ (Food poisoning) มีถึง 126,185 ราย เสียชีวิต 11 ราย คิดเป็นอัตราการเจ็บป่วย(หรือคิดเป็นอัตราการเกิดโรค; Morbidity rate) ที่ 67.79 ราย ต่อประชากรแสนราย โดยมีรายงานเกี่ยวกับโรคท้องร่วงเฉียบพลัน (Acute diarrhea) ถึง 956,313 ราย และเสียชีวิต 146 ราย คิดเป็นอัตราการเจ็บป่วย 541.26 รายต่อประชากรแสนราย และ อัตราการเสียชีวิต (Mortality rate) คิดเป็น 0.05 ราย ต่อ ประชากรแสนราย นอกจากนี้ยังมีรายงานการเกิดโรคบิด (Dysentery) ซึ่งทำให้เกิดการเจ็บป่วย 23,113 ราย และเสียชีวิต 3 ราย คิดเป็นอัตราการเจ็บป่วย 12.44 ราย ต่อประชากรแสน และ การเจ็บป่วยอันเนื่องมาจากโรคไข้รากสาด (Enteric fever) 9,633 ราย เสียชีวิต 3 ราย คิดเป็นอัตราการเจ็บป่วยที่ 3.57 รายต่อประชากรแสนราย (รูปที่ 1.1 และ ตารางที่ 1.1) (FAO/WHO, 2004)



รูปที่ 1.1 อัตราการเจ็บป่วย ด้วยโรคทางอาหารในประเทศไทยในช่วงปี ค.ศ. 1992 – 2003 (พ.ศ. 2535 – 2546)

ที่มา : FAO/WHO (2004)

ตารางที่ 1.1 รายงานผลการเกิดโรคทางอาหารในประเทศไทย ปี ค.ศ. 2003 (พ.ศ. 2546)

Diarrheal Diseases	Reported Cases (persons)	Deaths (persons)	Morbidity Rate (per 100,000 population)	Mortality Rate (per 100,000 population)
Acute diarrhea	956,313	146	541.26	0.05
Dysentery	23,113	3	12.44	0
Food poisoning	126,185	11	67.79	0
Enteric fever	9,633	3	3.57	0

ที่มา: FAO/WHO, 2004

ในปัจจุบันจะพบว่ามีการเพิ่มมากขึ้นของร้านอาหารบริการ ซึ่งมีเมนูอาหารที่มีของสด ไม่ผ่านกระบวนการให้ความร้อน เช่น ผักและผลไม้สดเป็นส่วนประกอบ เพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ ตัวอย่าง เช่นสลัดผักสด ผักและผลไม้สดนั้นจัดว่าเป็นอาหารที่มีความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคเช่น *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp. *Listeria* spp. ในปี 1995 Ng และ Seah ตรวจพบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรค *Listeria* spp. ในสลัดผักรวม และ Coleslaw ในประเทศสิงคโปร์ Lin (1996) ตรวจพบ *E. coli* O157:H7 ในสลัดผักที่จำหน่ายในFlorida ประเทศสหรัฐอเมริกา และ Salleh *et al.* (2003) ตรวจพบจุลินทรีย์ *Salmonella* spp. ในสลัดผัก ที่จำหน่ายในประเทศมาเลเซีย การปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคต่างๆ ดังกล่าวนี้อาจมีสาเหตุหลักจากการปนเปื้อนมาที่วัตถุดิบ กระบวนการล้างที่ไม่เหมาะสมซึ่งไม่สามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ก่อโรคให้อยู่ในระดับที่ยอมรับได้ เกิดการปนเปื้อนข้าม (Cross contamination) หรือการปนเปื้อนหลังการล้าง (Post contamination) รวมถึงการจับเก็บที่ไม่เหมาะสม

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อ เพื่อลดปริมาณจุลินทรีย์โดยรวม (Total plate count) coliforms และ *E. coli* ในผัก 2 ชนิด คือ มะเขือเทศราชินี (ตัวแทนของผักที่เป็นผล) และผักกาดหอม (ตัวแทนของผักใบ) และสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์โดยใช้ ระบบข่ายงานประสาทเทียม (Artificial Neural Networks; ANNs) เพื่อทำนายปริมาณจุลินทรีย์ที่เหลือรอดหลังการฆ่าเชื้อ และศึกษาการเจริญของจุลินทรีย์ดังกล่าวข้างต้น ที่อุณหภูมิในการจับเก็บสลัดผัก 10 °C และ 22 °C และสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ ANNs เพื่อทำนายปริมาณจุลินทรีย์ในสลัดผัก และประเมินความเสี่ยงของการบริโภคสลัดผัก

## บทที่ 2

### วารสารปริทัศน์

#### 2.1 การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารบริการพร้อมบริโภค

WHO / FAO (1984) กล่าวว่าไว้ว่าแหล่งสำคัญของการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารคือ ภัตตาคาร ร้านอาหารบริการ ร้านสะดวกซื้อ และโรงอาหาร ( เช่น ภายใน โรงเรียน โรงพยาบาล สถานอนุบาลเด็ก ในคุก เป็นต้น)

การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคมีสาเหตุหลัก 3 ประการคือ

1. การให้ความร้อนไม่เพียงพอ
2. การให้ความเย็นไม่เพียงพอ
3. การเตรียมอาหารทิ้งไว้นานหลายชั่วโมงก่อนการบริโภค

ในการสำรวจและตรวจสอบอาหารพร้อมบริโภคที่ผลิตขายทั่วไปพบว่ามี การปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรค เช่น *Listeria* spp., *E. coli*, *Staphylococcus aureus* เป็นต้นเช่น Ng และ Seah (1995) ได้รายงานการตรวจพบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรค *Listeria* spp. ในตัวอย่างอาหารสลัดผักรวม และ Coleslaw ในประเทศสิงคโปร์ตรวจพบ 4% (พบ 2 ตัวอย่างจากตัวอย่างทั้งสิ้น 50 ตัวอย่าง) Guerra, McLauchlin and Bernardo, (2001) ตรวจพบ *Listeria* spp. ในผลิตภัณฑ์เนื้อพร้อมบริโภคในประเทศโปรตุเกส ตรวจพบ 7% (พบ 31 ตัวอย่างจากตัวอย่างทั้งสิ้น 429 ตัวอย่าง) Lin (1996) ตรวจพบ *E. coli* O157:H7 ในสลัดผัก(Vegetable salad) Florida ประเทศสหรัฐอเมริกา โดยตรวจพบ 25% (พบ 2 ตัวอย่างจาก 8 ตัวอย่าง) ทั้ง Salleh *et al.* (2003) ยังตรวจพบ *Salmonella* spp. อีกด้วย โดยตรวจพบสูงถึง 35% ของสลัดผัก (พบ 40 ตัวอย่างจากตัวอย่างทั้งสิ้น 112 ตัวอย่าง) ในประเทศมาเลเซียอีกด้วย นอกจากนี้ยังมีรายงานการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคหลายชนิดอื่นๆอีกอันได้แก่ *Bacillus* spp., *Staphylococcus* spp. และ *E. coli* O157 (ในตารางที่ 2.1) ซึ่งจุลินทรีย์ก่อโรคที่พบดังกล่าวนี้ มีศักยภาพในการก่อให้เกิดการเจ็บป่วยจัดเป็น Food borne illness (Beuchat, 2003)

ตารางที่ 2.1 ตัวอย่างการตรวจพบจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารพร้อมบริโภค ในประเทศต่างๆ

ชนิดจุลินทรีย์ ก่อโรคที่ตรวจพบ	ประเภทอาหาร พร้อมบริโภคที่สุ่ม	% ที่ตรวจพบ (ตัวอย่างที่พบ / จำนวนที่สุ่ม ทั้งหมด)	ประเทศ	หมายเหตุ : ที่มา
<i>Listeria</i> spp.	Coleslaw / vegetable salad	4 (2/50)	Singapore	Ng and Seah, (1995)
	Ready to eat meats	7 (31/429)	Portugal	Guerra <i>et al.</i> , (2001)
<i>E. coli</i> O157:H7	Vegetable salad	25 (2/8)	United State of America (Florida; USA)	Lin (1996)
<i>E. coli</i> O157	Hamburgers	3.7 (NR)	United Kingdom(UK)	Ansay and Kaspar, (1997)
	Sausages	4.1 (NR)		
<i>E. coli</i> O157	Hamburgers	8.7 (NR)	Colombia	Mattar and Vasquez, (1998)
<i>Bacillus</i> spp.	Prepared salad	46 (121/264)	South Africa	Mosupye and Holy (2000)
	Cooked gravy	77 (203/264)		
<i>Staphylococcus</i> spp.	Prepared salad	6 (16/264)		
	Cooked gravy	6 (16/264)		
<i>Salmonella</i> spp.	Salad (Raw vegetable)	35 (40/112)	Malaysia	Salleh <i>et al.</i> , (2003)

หมายเหตุ : NR หมายถึง ไม่มีการรายงาน

(/) หมายถึง จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบ / จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ

จากตาราง 2.1 พบว่าผักสดพร้อมบริโภค หรือ สลัดผักมีรายงานการตรวจพบการปนเปื้อน  
จากจุลินทรีย์ก่อโรคหลากหลายชนิด



Su และ Arab (2006) รายงานว่าประชากรในแถบประเทศ ยุโรป และสหรัฐอเมริกา มีแนวโน้มในการบริโภคอาหารประเภทสไลด์สูงขึ้นอันเนื่องมาจากผลการวิจัยต่างๆ สนับสนุนว่าการบริโภคผักและผลไม้สดจะช่วยลดความเสี่ยงต่อการเป็นโรคมะเร็ง ช่วยในกระบวนการเผาผลาญพลังงาน ลดความเสี่ยงต่อโรคกระดูกพรุนในสตรีวัยหมดประจำเดือน และยังช่วยลดอัตราการติดเชื้อ ด้วย

จากความนิยมในการบริโภค ผักและผลไม้สด หรือ สไลด์ผักมากขึ้นนี้เอง จึงได้มีการศึกษาถึงความปลอดภัยของอาหารประเภทนี้ ในปี 2003 Buck, Beuchat and Walcott 2003 ได้กล่าวอ้างรายงานการระบาดของ *E. coli* O157:H7 ในประเทศญี่ปุ่นเมื่อปี 1996 ซึ่งทำให้เกิดการระบาดของโรคท้องร่วงในประชากรประมาณ 6,000 ราย และในประเทศ สหรัฐอเมริกา ในช่วงปี 1995 – 1998 ที่มีการรายงานการระบาดถึง 1,234 ราย โดยมีการรายงานสาเหตุของแหล่งการปนเปื้อนจุลินทรีย์ดังกล่าวว่าสามารถที่จะปนเปื้อนมาจากอุจจาระของมนุษย์ และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ผ่านมายังดินที่ใช้ปลูก และ น้ำที่ใช้ในการเกษตร จนกระทั่งเข้าสู่ต้นผักกาดและมีการกระจายไปทั่วไปของผักกาด (Solomon, Yaron and Matthews, 2002; Wachtel, Whitehand and Mandrell, 2002) จุลินทรีย์ก่อโรค กลุ่ม *E. coli* นี้เป็นสาเหตุทำให้เกิดการเจ็บป่วยและนำไปสู่การเสียชีวิตในเด็ก (Mead, 1999) ซึ่งจากรายงานของ Nguyen และ Carlin ปี 2000 ได้รายงานการตรวจพบ *E. coli* O157:H7 สูงถึง 19 % (ตรวจพบ 17 จากทั้งสิ้น 89 ตัวอย่าง) และรายงานของ Beuchat ในปี 1996 พบที่ 18.8 % (ตรวจพบ 16 จากทั้งสิ้น 85 ตัวอย่าง) ในประเทศ Mexico

สำหรับการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคโดยเฉพาะ *E. coli* O157:H7 พบว่ามีรายงานการเจ็บป่วยในประเทศแคนาดาตั้งแต่ ปี 1980 โดย Steele *et al.* (1982) รายงานว่ามีผู้เจ็บป่วย 14 คนและเสียชีวิต 1 คน และต่อมาได้เกิดการระบาดครั้งใหญ่ในปี 1996 ที่ประเทศญี่ปุ่น โดยมีรายงานว่ามีผู้ป่วยทั้งสิ้น 6,561 รายและ เสียชีวิต 2 ราย (WHO, 1996) ดังตารางที่ 2.2 นี้ สรุปข้อมูลการระบาดของ *E. coli* O157:H7 ที่เกิดจากการบริโภคผลไม้ หรือ ผักสด

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2.2 รายงานการตรวจสอบจุลินทรีย์ก่อโรค *E. coli* O157:H7 ที่ปนเปื้อนในผัก หรือ ผลไม้สด หรือ สลัด ที่ทำให้เป็นสาเหตุของโรคท้องร่วง

ปีที่เกิดการระบาด	ประเทศ	จำนวนผู้เจ็บป่วย	จำนวนผู้เสียชีวิต	หมายเหตุ : ที่มา
1980	Canada (Toronto)	14	1	Steele <i>et al.</i> , 1982
1991	USA (Masseuses)	23	0	Besser <i>et al.</i> , 1993
1992	India	6	0	Sing, Kulshreshlha, and Kapoor, 1995
1993	USA	121	0	CDC, 1994
1996	USA (Washington)	6	0	Farber, 2000
1995	USA (Connecticut)	14	0	CDC, 1997
1995	USA (Idaho)	21	0	CSPI, 2000
1995	USA (Minnesota)	30	0	CSPI, 2000
1995	USA (Montana)	70	0	Ackers <i>et al.</i> , 1998
1996	USA (Connecticut & Illinois)	49	0	Tauxe, 1997
1996	USA (California, Colorado and Washington)	70	1	CDC, 1996; Cody <i>et al.</i> , 1999
1996	Japan	6,561	2	WHO, 1996
1998	Canada (Ontario)	14	0	Tamblyn, 1999
1998	USA (California)	2	0	Griffin and Tauxe, 1999
1998	USA (Wisconsin)	47	0	Griffin and Tauxe, 1999
1999	USA (Oklahoma)	7	0	Farber, 2000

จากการรายงานการเจ็บป่วยเนื่องจากจุลินทรีย์ *E. coli* O157:H7 ในผักและผลไม้สดนี้ทำให้ FAO/WHO (2008) ต้องทบทวนและสรุป ระดับความสำคัญ (Level) ของปัญหาจากการบริโภคผัก/ผลไม้สด หรือ ผักสลัด และทำให้เกิดการเจ็บป่วยจากอาหารโดยได้แบ่งระดับออกเป็น 3 ระดับ ดังนี้

ความสำคัญระดับที่ 1 (Level 1 Priorities) – คือ พืช และ ผักใบเขียว (Leafy green vegetable) เช่น ผักขม(Spinach) กะหล่ำ(Cabbage) วอเตอร์เครส(Watercress) ผักกาด (Lettuce) และผักใบต่างๆ ที่ใช้ในการประกอบการทำสลัด(Salad leaves; all varieties) สาเหตุที่มีการจัดระดับให้มีความสำคัญเป็นลำดับแรกเพราะเนื่องจาก มีรายงานการเกิดโรคระบาดจากส่วนต่างๆ ของโลก ได้แก่ ASIA, Europe, Latin America and Caribbean และ North America ซึ่งมีการผลิตและส่งออกไปยังแพร่หลายในหลายพื้นที่ และแหล่ง รวมทั้งมีระบบในการผลิตหลากหลาย

ความสำคัญระดับที่ 2 (Level 2 Priorities) – คือ ผลไม้ ได้แก่ ผลเบอร์รี่(Berries) หัวหอมเขียว แตงโม(Melon) พืชเมล็ดงอก(Sprouted seeds) ผลมะเขือเทศ(Tomatoes) การที่จัดความสำคัญเป็นระดับที่ 2 เนื่องจากมีการรายงานการระบาดในผลิตภัณฑ์กลุ่มนี้และมีการผลิตเพื่อส่งออกด้วย แต่ยังไม่มีการให้ข้อมูลแหล่งที่มาของการปนเปื้อน

ความสำคัญระดับที่ 3 – ได้แก่ผักและผลไม้อื่นๆที่ใช้ในการประกอบเป็นสลัดผัก เช่น แครอท แตงกวา ข้าวโพดอ่อน แอลมอนต์ ฯลฯ เนื่องจากกลุ่มนี้มีรายงานการระบาดต่ำ และปริมาณการส่งออกไม่มากนัก อีกทั้งการผลิตก็ไม่สูงมากและมีเพียงบางพื้นที่เท่านั้น

## 2.2 จุลชีววิทยาในสลัดผัก จุลินทรีย์กลุ่ม Coliforms และจุลินทรีย์ก่อโรค *Escherichia coli*

### 2.2.1 จุลชีววิทยาสลัดผัก (เจนจิรา เจริญยิ่ง, 2544)

การแบ่งจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับสลัดผักสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มคือ

- 1) จุลินทรีย์ที่ทำให้เป็นโรคพืช (Plant pathogenic microorganism) พวกนี้จะ มีบทบาทในระยะเริ่มแรกภายหลังการเก็บเกี่ยวและสามารถทำลายทุกส่วนของพืช ซึ่งโดยส่วนใหญ่แล้วจะเป็นแบคทีเรีย และ รา ประมาณ 20% ของการสูญเสียผลผลิตทางการเกษตรมาจากจุลินทรีย์เหล่านี้
- 2) จุลินทรีย์กลุ่มแซปโรไฟต์ (Saprophyte) ส่วนใหญ่เป็นพวก แบคทีเรียและ จะเข้าทำลายผลผลิตเกษตรเมื่อมีการติดโรคแล้ว
- 3) จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค (Pathogens) เกิดจากการปนเปื้อนและทำให้เกิดโรคในคน ซึ่งอาจมีการปนเปื้อนมาจาก คน สัตว์ สิ่งแวดล้อม ภาชนะและอุปกรณ์ต่างๆ ที่ใช้ รวมถึงขั้นตอนการเพาะปลูกหรือการเกษตรที่ไม่ได้มีการจัดการที่ดีเกี่ยวกับระบบ GAP (Good Agriculture Practices) โดยจุลินทรีย์ที่อาจปนเปื้อนมา เช่น *E. coli*, Coliforms, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp. เป็นต้น

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (พ.ศ. 2536) ได้มีการกำหนดมาตรฐานของจุลินทรีย์ของอาหารดิบที่เตรียมหรือปรุงในสภาพบริโภคได้ทันที เช่น ผัก ผลไม้ที่ล้างแล้ว สลัด ส้มตำ เป็นต้น โดยมีการกำหนดดังนี้

จุลินทรีย์โดยรวม / กรัม	น้อยกว่า	$1 \times 10^6$
ยีสต์ / กรัม	น้อยกว่า	$1 \times 10^4$
รา / กรัม	น้อยกว่า	500
<i>E. coli</i> (MPN)	น้อยกว่า	10
<i>Salmonella</i> / 25 กรัม	ไม่พบ	

จะเห็นว่ามีการกำหนดให้พบจุลินทรีย์ก่อโรค *E. coli* ได้ 10 MPN เนื่องจากอาหารสลัดเป็นของสดซึ่งยังสามารถพบ *E. coli* ได้ จึงต้องมีการควบคุมขั้นตอนการผลิตให้สามารถลด *E. coli* ให้อยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด

### 2.2.2 ความสำคัญของจุลินทรีย์กลุ่ม coliforms (Andrew *et al.*, 1981)

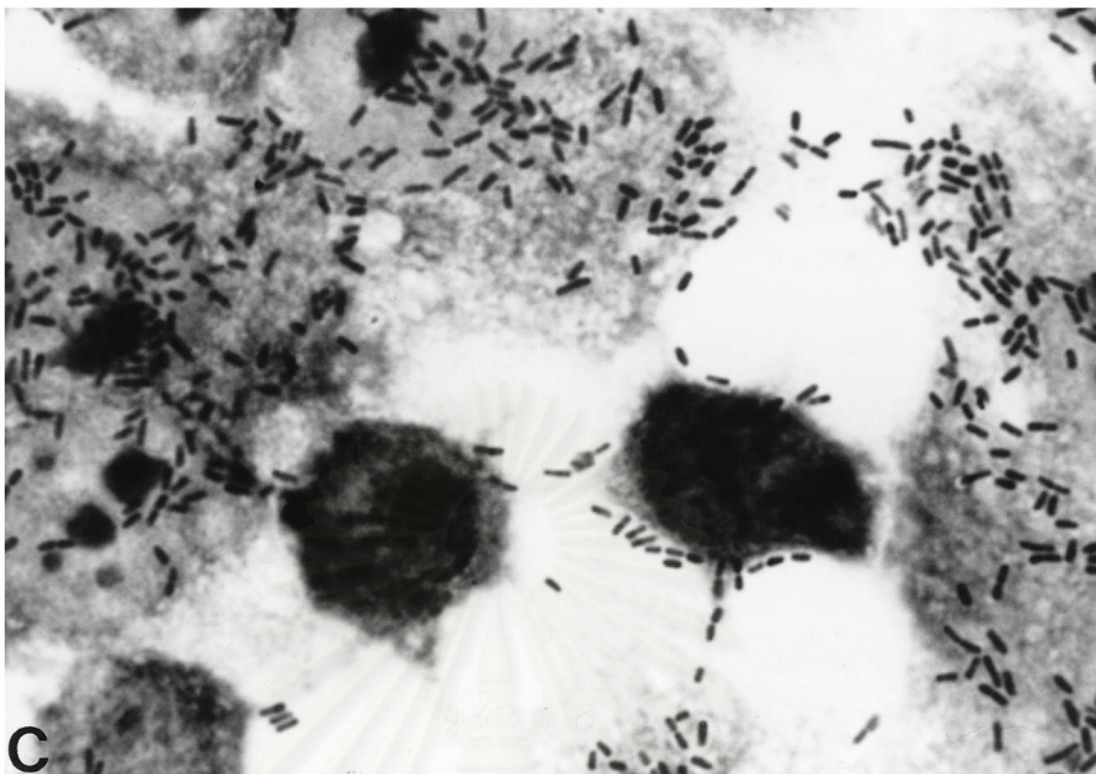
จุลินทรีย์กลุ่มโคลิฟอร์ม เป็นจุลินทรีย์ที่รวมแบคทีเรียในกลุ่ม aerobic และ facultative anaerobic แกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ และสามารถดำเนินกิจกรรมหมักน้ำตาล lactose ได้ สามารถสร้างกรดและแก๊ส ได้ในเวลา 48 ชม. ที่ 35 °C โดยเมื่อกล่าวถึงจุลินทรีย์กลุ่ม coliforms นี้ จะอาจกล่าวรวมถึงกลุ่ม Enterobacter สามารถพบจุลินทรีย์ชนิดนี้ได้ตาม พื้นดิน แหล่งน้ำสกปรก พืช สัตว์ และ มนุษย์

ซึ่งในการตรวจพบแบคทีเรียกลุ่ม coliforms นี้จะเป็นการบ่งบอกถึงสุขลักษณะที่ไม่ดีของการสุขาภิบาลอาหาร

### 2.2.3 ความสำคัญของจุลินทรีย์ก่อโรค *E. coli* (Nataro and Kaper, 1998)

*E. coli* เป็นแบคทีเรียในกลุ่ม facultative anaerobe genus *Escherichia* family *Enterobacteriaceae* ที่อาศัยอยู่ในลำไส้ของมนุษย์โดยอยู่ในผนังลำไส้ (รูปที่ 2.1) มีลักษณะเซลล์เป็น rod (bacilli) แกรมลบ โดยปกติเมื่ออยู่ในลำไส้มนุษย์ แบคทีเรียนี้จะไม่ทำให้เกิดอาการเจ็บป่วยในมนุษย์ การติดเชื้อ (Infection) ของจุลินทรีย์ก่อโรคในกลุ่มของ *E. coli* อาจไม่ได้จำกัดอยู่ที่ mucosal ของลำไส้เท่านั้น แต่ยังสามารถแพร่กระจายไปทั่วทุกส่วนของร่างกายได้ ซึ่งอาการที่แสดงออกถึงการติดเชื้อของ แบคทีเรีย *E. coli* นี้สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 อาการคือ

- (1) ทำให้บริเวณกระเพาะปัสสาวะอักเสบ (Urinary tract infection)
- (2) การติดเชื้อ และหรือ เยื่อหุ้มสมองอักเสบ (Sepsis / meningitis)
- (3) ลำไส้อักเสบ และหรือ ท้องร่วง (enteric / diarrheal disease)



รูปที่ 2.1 แบคทีเรีย *E. coli* ในผนังลำไส้มนุษย์

ที่มา : Nataro and Kaper (1998)

การแบ่งกลุ่มของ *E. coli* สามารถแบ่งออกได้เป็น 6 สายพันธุ์ดังต่อไปนี้ (Nataro and Kaper, 1998)

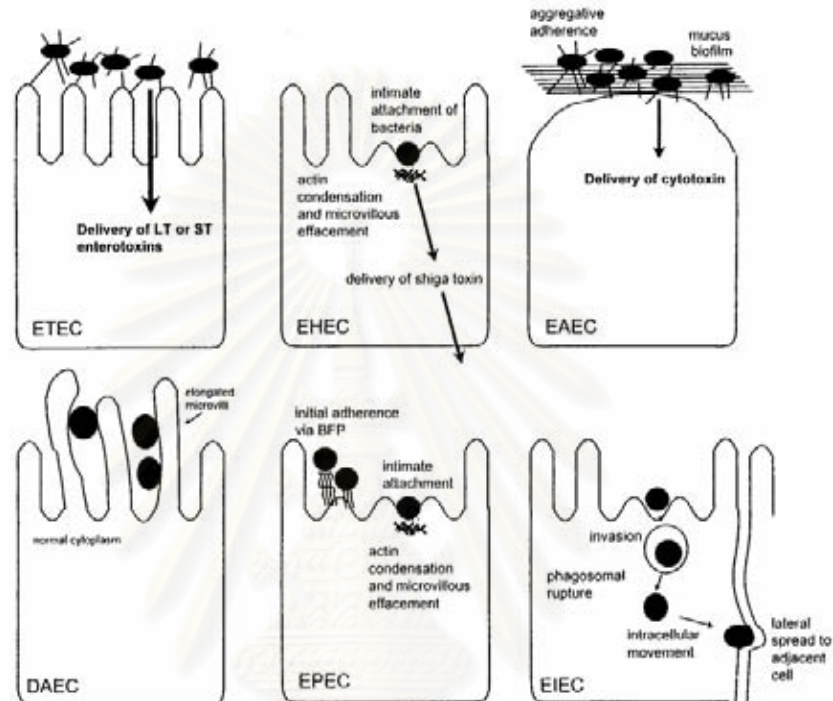
- (1) Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC)
- (2) Enteropathogenic *E. coli* (EPEC)
- (3) Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC)
- (4) Enteraggregative *E. coli* (EAEC)
- (5) Enteroinvasive *E. coli* (EIEC)
- (6) Diffusely adherent *E. coli* (DAEC)

กลไกพื้นฐานของการทำให้เกิดโรค สามารถอธิบายได้ 4 ขั้นตอนดังนี้

- |              |  |
|--------------|--|
| ขั้นตอนที่ 1 | คือ จับและอาศัยบริเวณ mucosal (Colonization of a mucosal site) |
| ขั้นตอนที่ 2 | คือ การหลบเข้าสู่เซลล์ผู้อาศัย (Evasion of host defenses)      |
| ขั้นตอนที่ 3 | คือ เพิ่มจำนวน (Multiplication)                                |
| ขั้นตอนที่ 4 | คือ ทำลายเซลล์ที่เข้าอาศัย (Host damage)                       |



การเข้าทำร้ายเซลล์ของผู้ที่ *E. coli* อาศัยอยู่(host) ของจุลินทรีย์ *E. coli* นั้นอาจแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ เช่น ETEC มักจะมีการจับตัวอยู่ที่บริเวณ mucosal แล้วปล่อยสารพิษออกมาจากเซลล์ก่อให้เกิดการระคายเคืองและเจ็บป่วยหรือท้องร่วง ในขณะที่ EIEC นั้นจะต้องแฝงตัวเข้าไปในเซลล์ก่อนแล้วจึงก่อให้เกิดอาการเจ็บป่วยหรือท้องร่วง รูปที่ 2.2 แสดงกลไกการเข้าทำร้ายเซลล์ host ของแบคทีเรีย *E. coli* แบบต่างๆ



รูปที่ 2.2 กลไกการเข้าทำร้ายเซลล์แบบต่างๆ ของแบคทีเรียในสายพันธุ์ *E. coli*

ที่มา : Nataro and Kaper (1998)

2.2.3.1 Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) - แบคทีเรียชนิดนี้ได้เริ่มมีการรู้จักครั้งแรกเนื่องจากพบว่าเป็นตัวการที่ทำให้เกิดโรคท้องร่วงในหมู่วัยเด็ก (Diarrheal disease in penguins) และ ส่งผลให้เกิดการเสียชีวิตของสัตว์ที่เกิดใหม่ด้วย(Alexander, 1994) ซึ่งการวินิจฉัยอาการสามารถระบุได้ 2 แบบ คือ ทำให้เกิดอาการท้องเสียอ่อนๆ (weanling diarrhea) ในเด็ก (ที่เพิ่งหย่านม) ที่อยู่ในประเทศที่กำลังพัฒนา และ ทำให้เกิดอาการท้องร่วงในนักท่องเที่ยว (Traveler's diarrhea) ซึ่งการแพร่ระบาดของ ETEC นี้มีอยู่มากเนื่องจากมีปัจจัยต่างๆดังนี้คือ

- i) ระบบภูมิคุ้มกันของเซลล์ในลำไส้ (mucosal) ต่อ ETEC นั้นจะมีความต้านทานเฉพาะผู้ที่เคยติดโรคนี้แล้วเท่านั้น
- ii) ผู้ที่มีภูมิหรือหายจากการติดเชื้อ ETEC นี้แล้วยังคงมีเชื้ออยู่ในอุจจาระ ที่อาจแพร่ระบาดต่อไปอีกได้โดยผ่านทางน้ำดื่มและอาหารที่ปนเปื้อน
- iii) ผู้ที่จะติดเชื้อ ETEC ได้และเจ็บป่วย นั้นต้องได้รับ ETEC ในปริมาณที่สูง ( $\sim 10^8$  cell)

ซึ่งสาเหตุส่วนใหญ่ในการติดเชื้อ ETEC นั้นมาจากการปนเปื้อนของอาหารและน้ำดื่ม (Black *et al.*, 1981; Long *et al.*, 1994; Wood *et al.*, 1983)

2.2.3.2 Enteropathogenic *E. coli* (EPEC) – เป็นแบคทีเรียอีกชนิดที่อยู่ในกลุ่มก่อให้เกิดโรคท้องร่วงในเด็กในประเทศที่กำลังพัฒนา โดยมีกลไกในการทำให้เกิดอาการท้องเสียคือ เมื่อเกิดการติดเชื้อ EPEC ที่เยื่อบุผิวลำไส้แล้วจะทำให้เนื้อเยื่อบริเวณนั้นมีความต้านทานต่ำลง ทำให้หน้าที่ของเซลล์ในลำไส้ในการให้สารต่างๆ ผ่านเข้าออกเปลี่ยนแปลงไปจึงนำไปสู่อาการท้องร่วงหรือท้องเสียได้ ซึ่งการแพร่ระบาดนั้นสามารถเกิดได้ใน

- i) เด็กที่ติดเชื้อ EPEC ที่อาจมีอายุมากกว่า 2 ปี และยังสามารถทำให้ผู้ใหญ่ที่ได้รับเชื้อในปริมาณที่สูง ( $\sim 10^8$ - $10^{10}$  cell) แสดงอาการท้องร่วง หรือ ท้องเสียได้
- ii) ผู้ที่ติดเชื้อ EPEC แต่ยังไม่แสดงอาการและส่งผ่านทาง น้ำและอาหารที่ปนเปื้อน (Levine and Edelman, 1984)
- iii) ประเทศที่พัฒนาแล้วเช่น ประเทศอังกฤษและสหรัฐอเมริกา อันเนื่องมาจากการติดเชื้อจากอาหารในร้านบริการทั่วไป (Bower *et al.*, 1989)
- iv) ประเทศที่กำลังพัฒนา ซึ่งมีการพบว่าสามารถแยกแบคทีเรีย EPEC จากเด็กอายุ แรกเกิด – 6 เดือนและ EPEC นั้นสามารถพบได้ใน น้ำนมของมารดาช่วงแรกของการให้กำเนิดทารก (Colostrum) ของมนุษย์ และ ในน้ำนม (Camara *et al.*, 1994; Cravioto *et al.*, 1991)

2.2.3.3 Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) – จุลินทรีย์ EHEC นี้เป็นที่รู้จักกันดีในกลุ่มของ *E. coli* เนื่องจากเกิดการระบาดใหญ่ 2 ครั้งในประวัติศาสตร์คือ ครั้งแรกในปี 1983 (Riley *et al.*, 1983) ซึ่งพบว่าลักษณะการเจ็บป่วยนั้นค่อนข้างรุนแรง เริ่มจากการเจ็บท้องเล็กน้อย จากนั้นจะขับถ่ายน้ำออกมา และ เริ่มการถ่ายออกมาเป็นเลือดแบบไม่หยุด โดยปราศจากไข้ หรือ ผู้ป่วยอาจมีไข้เพียงเล็กน้อยซึ่ง สามารถมีอาการ ถ่ายเป็นเลือด (Hemorrhagic colitis; HC) ต่อมา มีการแยกเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* จากอุจจาระของผู้ป่วยที่มีอาการดังกล่าวนี้ พบว่ามี *E. coli* serotype O157:H7 อยู่ในปริมาณที่ต่ำมาก โดยสาเหตุการแพร่ระบาดนั้นพบ่าเกิดจากการรับประทาน hamburger ที่ผ่านการให้ความร้อนไม่เพียงพอในร้านอาหารบริการ (Fast food restaurant chain) ส่วนการระบาดครั้งที่ 2 นั้นเกิดขึ้นในปีเดียวกันคือปี ค.ศ. 1983 โดย Karmali *et al.*, ได้รายงานการเกิดอาการตกเลือดในไต (Hemolytic uremic syndrome; HUS) ของผู้ป่วยที่ติดเชื้อแบคทีเรีย โดยพบพิษของ *E. coli* และ *E. coli* ที่สร้างสารพิษในอุจจาระ (cytotoxin and cytotoxin producing *E. coli*) ซึ่งการเกิดอาการ HUS จากการติดเชื้อ EHEC นั้น จะหมายความถึงอาการที่มี 3 ลักษณะคือ อาการไตวายเฉียบพลัน (Acute renal failure) อาการเกล็ดเลือดไม่แข็งตัว (Thrombocytopenia) และ อาการเลือดออกในเส้นโลหิตฝอย

(Microangiopathic hemolytic anemia) Nataro and Kaper, (1998) ได้จัดให้กลุ่มของ 'Verotoxigenic *E. coli*' หรือ 'Verocytotoxin-producing *E. coli*' (VTEC) นั้นเป็นกลุ่มเดียวกันกับ EHEC เนื่องจากมีการสร้างพิษ cytotoxin และ กลุ่มของ EHEC เองนั้นมีลักษณะของพิษเหมือนกับ 'Shiga toxin-producing *E. coli*' (STEC) ซึ่งเป็น พิษของแบคทีเรีย *Shigella dysenteriae* ที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคบิดซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มของ EHEC เช่นเดียวกัน (O'Brien and Holmes, 1987; O'Brien and Holmes, 1996; O'Brien *et al.*, 1992; Sears and Kaper, 1996; Tesh and O'Brien, 1991) โดยการระบาดของ EHEC นั้นสามารถติดต่อได้จากสัตว์ที่มี EHEC เป็น Normal flora อยู่แล้วได้แก่ ปศุสัตว์การเลี้ยง แกะ แพะ หมู แมว หมา ไก่ และ สัตว์ตระกูลเป็ด (gull) และสามารถติดต่อได้จาก คนสู่คนได้เช่นเดียวกัน การติดเชื้อ EHEC เริ่มต้นจากการบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อน ที่อาจมาจากร้านอาหารบริการ จากรายงานช่วง เดือน ธันวาคม 1992 – มกราคม 1993 พบว่ามีผู้ป่วยสูงถึง 732 รายในรัฐ Washington, Idaho, Nevada และ California โดยในจำนวนนี้มี 195 รายที่ป่วยและเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล ส่วนอีก 4 รายเสียชีวิต (Bell *et al.*, 1994; Griffin, 1995)

2.2.3.4 Enteraggative *E. coli* (EAEC) – จุลินทรีย์ EAEC นั้นสามารถก่อโรคในคนโดยการเข้าไปจับตัวที่เยื่อบุผิวลำไส้หรือผนังลำไส้ และสร้าง biofilm ที่หนาмаปกคลุมทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพของเซลล์เยื่อเกิดการขับเมือกออกมามากกว่าปกติ ทำให้มีลักษณะเหมือนการติดเชื้อจาก EHEC (EHEC สร้างพิษไปกระตุ้นให้ เซลล์เยื่อสร้างเมือกออกมา) กล่าวคือทำให้ท้องเสีย ซึ่งอาการที่เด่นของการติดเชื้อจากแบคทีเรีย EAEC นี้คือมีอาการท้องเสียยาวนานมากกว่า 14 วัน (Donnenberg *et al.*, 1992; Henry *et al.*, 1996)

2.2.3.5 Enteroinvasive *E. coli* (EIEC) – แบคทีเรีย EIEC นี้มีความใกล้เคียงกับ *Shigella* spp. เมื่อทดสอบคุณสมบัติทางด้านชีวเคมี โดยกลไกการทำให้เกิดอาการเจ็บป่วยเริ่มจาก EIEC จะแทรกตัวเข้าไปตาม เยื่อผนังเซลล์ ทำให้เซลล์ของ vacuole แตกออก แบ่งตัว และเข้าสู่ cytoplasm ของเซลล์ จากนั้นจะทำให้เซลล์เยื่อผนังลำไส้ขยายตัวออกเกิดการเจ็บท้อง และท้องร่วงอย่างรุนแรง ลักษณะการถ่ายจะเป็นการถ่ายเหลวเป็นน้ำออกมา (Goldberg and Sansonetti, 1993; Sansonetti, 1992) การระบาดนั้นเกิดจากการรับประทานอาหารและดื่มน้ำที่มีการปนเปื้อนจุลินทรีย์ EIEC และบางส่วนมีการติดต่อโดยตรงจากคนสู่คนด้วย (Snyder *et al.*, 1984; Harris *et al.*, 1985)

2.2.3.6 Diffusely adherent *E. coli* (DAEC) – เป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดอาการท้องร่วงได้ในเด็กที่มีอายุระหว่าง 1 ถึง 4-5 ปี (Levine *et al.*, 1993) โดย DAEC จะแทรกตัวเข้าไปในผนังลำไส้และขับเมือกออกมาทำให้เกิดการขับถ่ายออกมาเป็นน้ำ ยังพบการระบาดของเชื้ออยู่บ้างแต่ไม่มากนัก (Yamamoto, 1994)

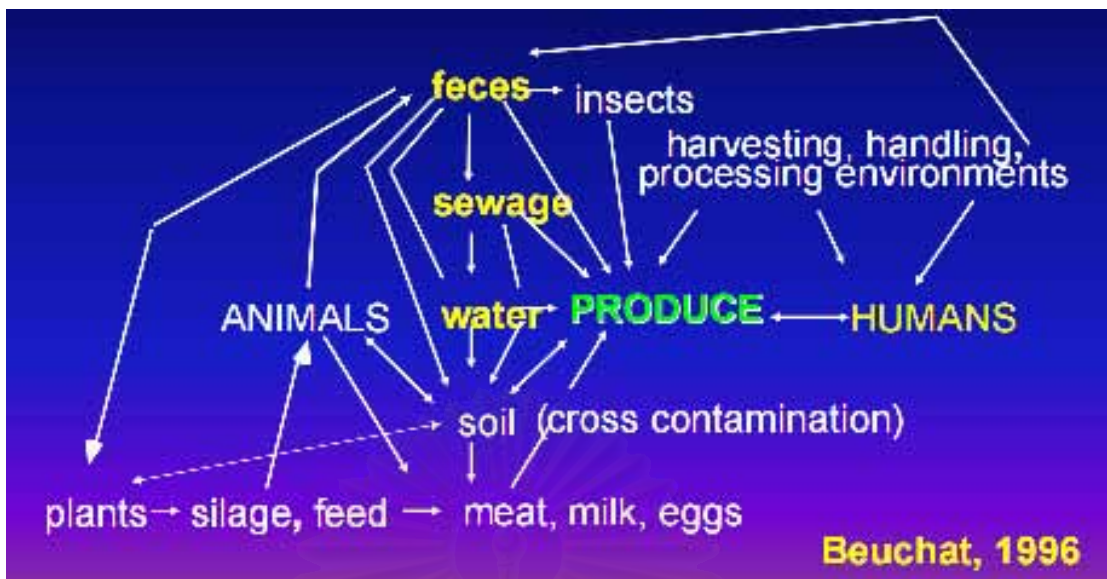
## 2.3 การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ลงสู่ผักและผลไม้

FAO/WHO ได้กล่าวไว้ในรายงานการประชุมปี 2008 เมื่อประมาณเดือนมีนาคม ว่า สาเหตุการปนเปื้อนของจุลินทรีย์สู่ผลผลิตทางการเกษตรที่เป็นผักและผลไม้สด (Fresh produce) นั้นเกิดจากระบบการผลิตที่แตกต่างกัน อันได้แก่

- กระบวนการหลังการเก็บเกี่ยวที่แตกต่างกัน - ซึ่งเกี่ยวข้องกับระบบการขนส่ง การจัดการกับการจัดการด้านต่างๆ ที่แตกต่างกันไม่มีหลักปฏิบัติที่เป็นแบบแผน
- น้ำที่ใช้ในการผลิต - ซึ่งเกี่ยวข้องกับระบบการบำบัดน้ำ การปนเปื้อนจากแหล่งที่มีจุลินทรีย์ต่างๆ ลงสู่ น้ำที่ใช้เพื่อการผลิต หรือ เพาะปลูก
- สิ่งแวดล้อมในพื้นที่เพาะปลูก - เช่นพื้นที่การเกษตรอยู่ใกล้กับแหล่งปศุสัตว์ ซึ่งอาจทำให้มีการปนเปื้อนทั้งดินเพาะปลูก และ แหล่งน้ำที่ใช้ในการเพาะปลูกด้วย อีกทั้งยังมีโอกาสในการปนเปื้อนข้ามในขั้นตอนหลังการเก็บเกี่ยวและขนส่งอีกด้วย
- การปนเปื้อนจากปุ๋ยที่มาจากมนุษย์และสัตว์ - การใช้ปุ๋ยคอกที่มาจากมนุษย์และสัตว์ ซึ่งเป็นแหล่งของอันตรายชีวภาพ
- สุขอนามัยของผู้ปฏิบัติงาน - เป็นการปนเปื้อนในผลผลิตหลังจากการเก็บเกี่ยวที่มาจากผู้ปฏิบัติงานซึ่งอาจจะป่วยและการปนเปื้อนข้ามจาก ผู้ปฏิบัติงานจากส่วนต่างๆ เช่น นำผู้ปฏิบัติงานในส่วนผลิตปุ๋ย มาปฏิบัติงานในส่วนงานหลังการเก็บเกี่ยว เป็นต้น
- นิสัยการบริโภคและระเบียบปฏิบัติ - เป็นนิสัยและลักษณะการบริโภคที่แตกต่างกัน เช่น ในการบริโภคข้าวโพดอ่อนของประเทศไทยจะต้องทำให้สุกก่อน ในขณะที่ประเทศแถบทางตะวันตกนิยมในการบริโภคแบบดิบๆ และ ผักโขมอ่อนซึ่งนิยมรับประทานแบบดิบๆ ในประเทศทางอเมริกาเหนือ ในขณะที่หลายๆ ประเทศอาจจะมีการปรุงให้สุกก่อนรับประทาน

วิถีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์เข้าสู่กระบวนการผลิตผักและผลไม้ นั้น อาจเริ่มต้นจากสิ่งปนเปื้อน ที่มีการปล่อยทิ้งไว้และไม่มีการจัดการดูแล กระทั่งมีการปนเปื้อนลงสู่แหล่งน้ำที่ใช้เพาะปลูก หรือ ใช้ในกระบวนการผลิตผักหรือผลไม้ หรืออาจมีการปนเปื้อนได้จากแมลง หรือ ปนเปื้อนโดยตรง เข้าสู่กระบวนการผลิตผักหรือผลไม้ได้ (Beuchat, 1996) ดังรูปที่ 2.3





รูปที่ 2.3 วิธีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์เข้าสู่กระบวนการผลิตผักหรือผลไม้สด  
ที่มา : Beuchat (1996)

Suslow *et al.* (2003) ได้แสดงขั้นตอน พร้อมทั้งสาเหตุที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ลงสู่ผักและผลไม้ได้ โดยขั้นตอนที่จะมีการปนเปื้อน มีได้ตั้งแต่ พื้นที่ในการเพาะปลูก ซึ่งต้องเลือกโดย คำนึงถึง ลักษณะ / คุณภาพของดิน แหล่งน้ำ สัตว์ป่าหรือ สัตว์ท้องถิ่น แหล่งปล่อยน้ำเสียจากฟาร์ม และ ช่วงของพื้นที่รวมถึงประวัติพื้นที่ที่จะใช้ในการเพาะปลูก ลำดับต่อมาได้แก่การให้ปุ๋ยและการเตรียมดิน (Pre-plant fertilization) ซึ่งสิ่งที่จะต้องคำนึงถึงคือชนิดของดิน และ ปุ๋ยคอก (Manure) และลำดับต่อมาคือ แหล่งน้ำ และการจัดการระบบชลประทานน้ำ ที่นำมาใช้ในการเพาะปลูก (Irrigation) ลำดับถัดมาคือการให้ปุ๋ยในช่วงฤดูปลูก ซึ่งสิ่งที่จะต้องคำนึงถึงได้แก่ คุณภาพน้ำ และ วิธีการนำปุ๋ยต่างๆ มาใช้ ลำดับถัดมาคือการควบคุมแมลง ซึ่งต้องคำนึงถึงสัตว์ที่มีในท้องถิ่นนั้น สัตว์กัดแทะ และ การควบคุมหรือกำจัดฝูงละออง และสิ่งสุดท้ายที่ต้องพิจารณาคือ ระบบการให้น้ำกับผลผลิตเกษตร ซึ่งคุณภาพของน้ำที่จะใช้ต้องมีคุณภาพที่ดี รูปที่ 2.4 แสดงการควบคุมการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในขั้นตอนต่างๆ ตามที่กล่าวข้างต้น

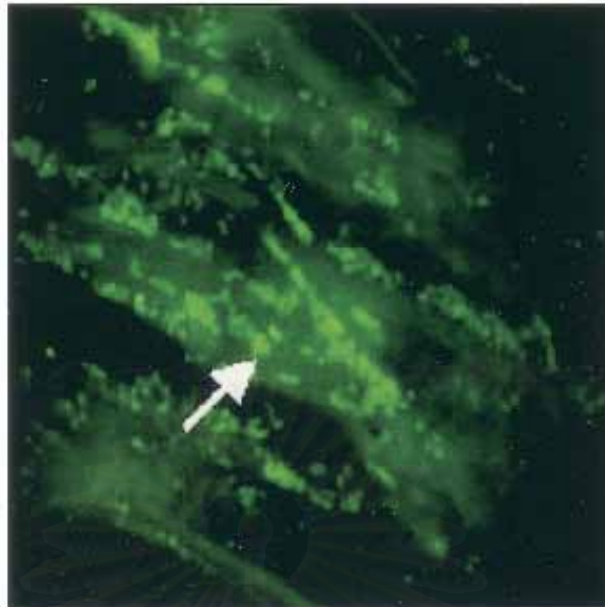


Field Operation	Potential Risk-Reducing Control Point
Crop site selection	Soil, water, wild and domestic animals, drift and runoff from adjacent farms, prior land-use history
↓	
Land preparation	
↓	
Pre-plant fertilization	Biosolids/manure
↓	
Planting	
↓	
Irrigation	Irrigation water, irrigation method
↓	
In-season fertilization	Foliar applications: water quality
↓	
Irrigation	Irrigation water, irrigation method
↓	
Pest Control	Wild and domestic animals, vermin habitat/attractant removal, foliar application: water quality
↓	
Dust control: spraying roads and paths with water	Water quality

รูปที่ 2.4 ขั้นตอนการควบคุมการปนเปื้อนทางจุลินทรีย์ลงสู่ผลผลิตการเกษตร

ที่มา : Suslow *et al.* (2003)

ในปี 2002 Solomon *et al.* ได้สนับสนุน ทฤษฎีการปนเปื้อนจุลินทรีย์จากสิ่งแวดล้อมที่มาจากน้ำและดิน โดยได้ศึกษาถึง การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรค *E. coli* O157:H7 ในใบผักกาดและพบว่าการปลูกพืชในแหล่งที่มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์สูง ไม่ว่าจะมาจาก ดินที่ใช้ในการปลูก หรือ แหล่งน้ำที่มีการปนเปื้อนนั้นจะเป็นสาเหตุที่ทำให้พบจุลินทรีย์ *E. coli* O157:H7 ในใบผักกาด โดยสามารถพบได้ในบริเวณ เนื้อเยื่ออ่อนของพืช (Cotyledons) ลำต้นส่วนของ hypocotyls ดังภาพที่ 2.5



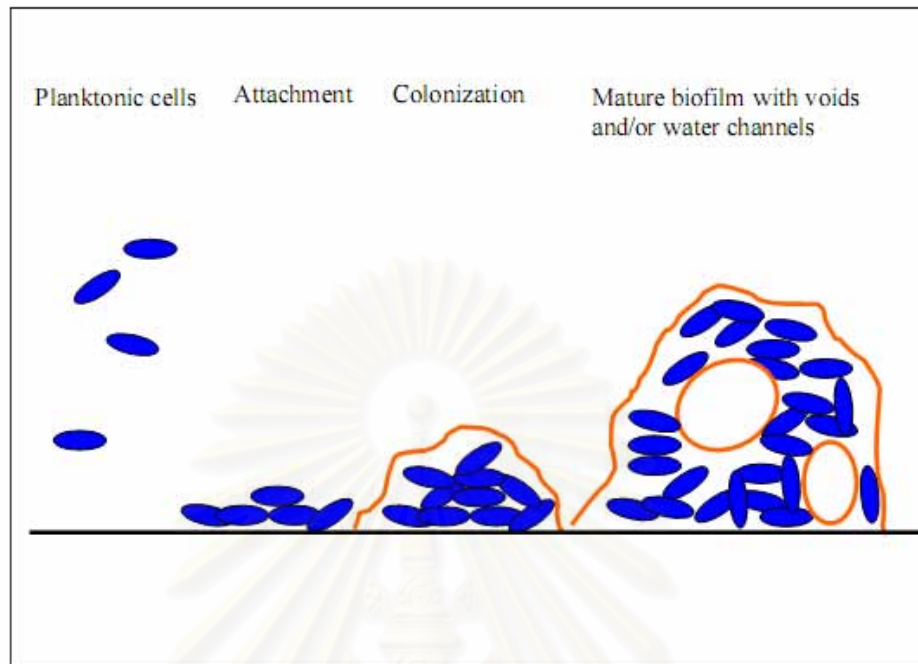
รูปที่ 2.5 การใช้กล้อง photomicrograph ในการตรวจดู colony บนพื้นผิวของผักกาดที่มีปลูกได้ 3 วัน (ในดินที่มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ *E. coli* O157:H7 ~  $10^6$  cfu/g) โดยเซลล์มีลักษณะเกาะตัวกันบริเวณรอยต่อของเนื้อเยื่อผักกาด โดยลูกศรที่ชี้แสดงถึงกลุ่มเซลล์ของ *E. coli* O157:H7

ที่มา: Solomon *et al.* (2002)

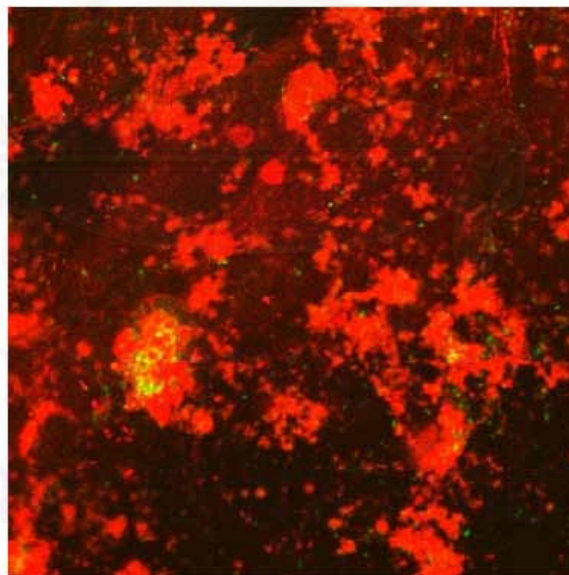
เมื่อจุลินทรีย์ปนเปื้อนลงในผักแล้วจะมีการเพิ่มจำนวนมากจนกระทั่งเกิดเป็น “แผ่นชีวภาพ” (Biofilm) ปิดบนพื้นผิวของผัก (Frank, 2001; Burnett and Beuchat, 2001; Burnett, Chen and Beuchat, 2000; Takeuchi and Frank, 2000) ในปัจจุบันเป็นที่ทราบกันดีว่าแผ่นชีวภาพนั้นเป็นสิ่งที่จุลินทรีย์สร้างขึ้น มีลักษณะเป็นเมือก (slime) ที่เป็น matrix ของกลุ่มแบคทีเรียเกาะ/ยึดติดอยู่บนพื้นผิวซึ่งประกอบไปด้วย polysaccharides, protein, nucleic acid หรือ polymer แบบอื่นๆ Forsythe, (2000); Fu *et al.* (2004) ได้อธิบายขั้นตอนการเกิด Biofilm บนพื้นผิว ไว้ดังนี้

- 1) เริ่มต้นจากการที่จุลินทรีย์เกาะติด (Attachment) ที่บริเวณพื้นผิวที่มีความเปียกชื้น จากนั้นจะสร้างสารที่มีลักษณะเหมือนกาว (glue-like substance) ที่เรียกว่า EPS (Extracellular polymeric substance) เพื่อสำหรับยึดติดบนพื้นผิวต่างๆ
- 2) เพิ่มจำนวน (Colonization)
- 3) จุลชีพเจริญเติบโต (Growth) ซึ่งจะเป็นพื้นที่ๆ ปกป้องจุลินทรีย์จากน้ำหรือสารทำความสะอาดอื่นๆ (Costerton *et al.*, 1995)

ดังในรูปที่ 2.6 แสดงการเกิด Biofilm บนอาหาร และรูปที่ 2.7 แสดงลักษณะ biofilm บนพื้นผิวของใบผักกาด



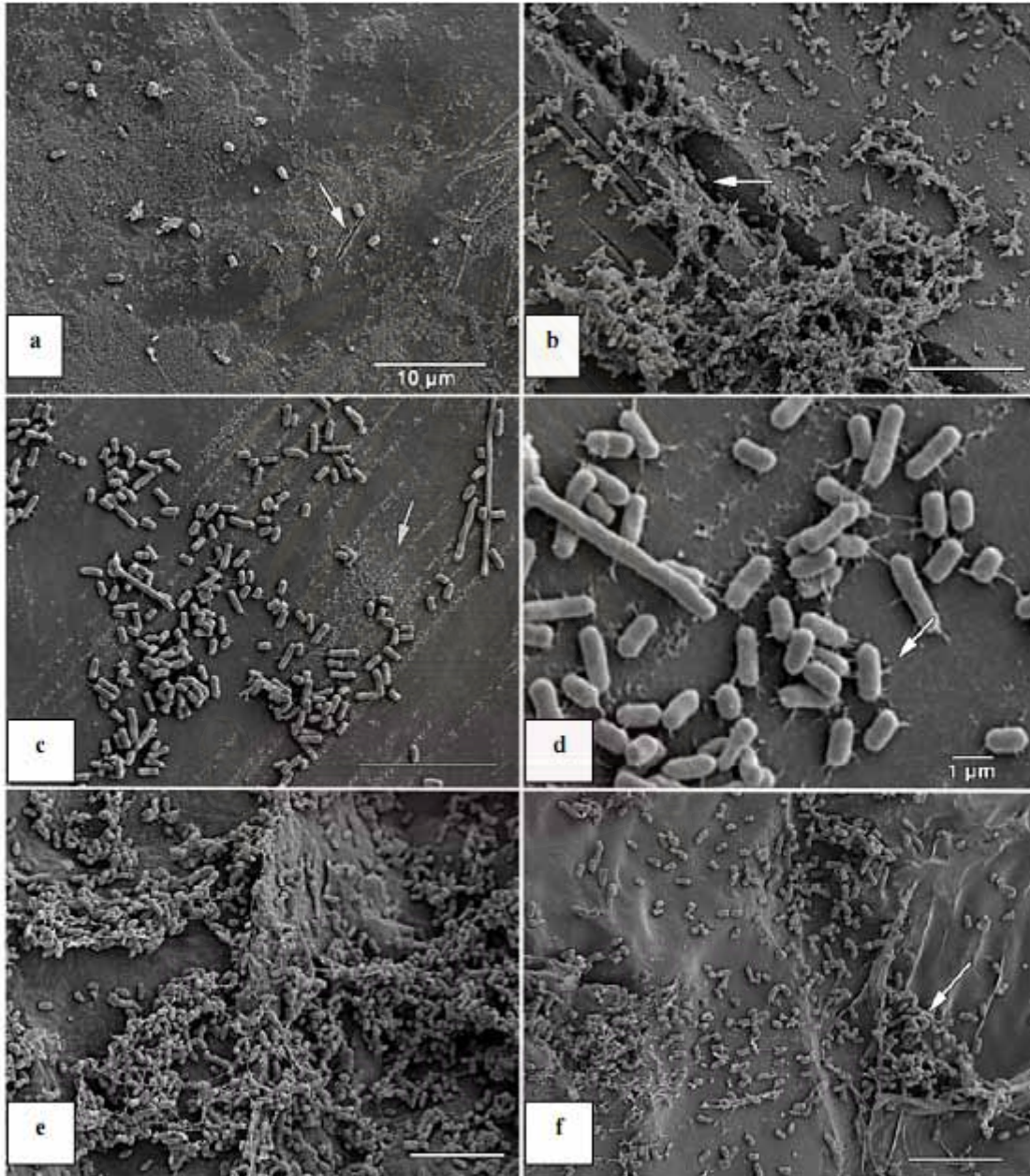
รูปที่ 2.6 ขั้นตอนการเกิด Biofilm บนพื้นผิวอาหาร  
ที่มา : Kumar and Anand (1998)



รูปที่ 2.7 Biofilm บนพื้นผิวของผักกาดที่ถ่ายด้วยกล้อง Zeiss confocal microscope โดยจุดสีเขียว-เหลือง แสดงถึง biofilm ที่ยังคงมีชีวิตอยู่ในขณะที่พื้นที่จุดสีแดงแสดงถึง biofilm ที่ตายแล้ว  
ที่มา : Decho and Kawaguchi (1999)



ในปี 2000 Han *et al.* ได้ศึกษาการเกาะติดของจุลชีพบนพื้นผิว โดยแสดงให้เห็นการเกาะติดของ cell *E. coli* O157:H7 บนพื้นผิวของพริกไทยเขียว ซึ่งพบว่าจุลินทรีย์จะเข้ายึดเกาะบริเวณที่เกิดความเสียหาย เช่น บริเวณ cuticle ของพริกไทย จากนั้นเริ่มการสร้าง EPS ออกมายึดติดบริเวณผิว แล้วจึงแบ่งเซลล์และเริ่มการเจริญตรงบริเวณที่เสียหายของพื้นผิว (ดังแสดงได้ดังรูปที่ 2.8)



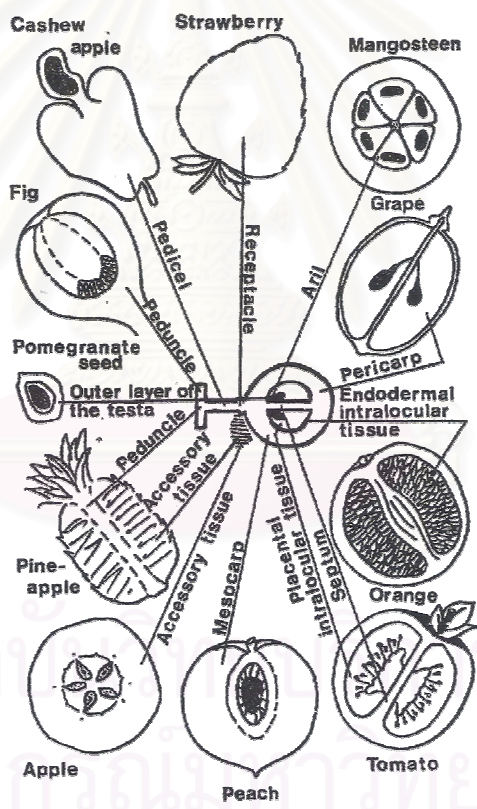
รูปที่ 2.8 การเกาะติดของ cell *E. coli* O157:H7 บนพื้นผิวของพริกไทยเขียว (a) cell *E. coli* O157:H7 เข้ายึดเกาะบริเวณที่เกิดความเสียหายของพริกไทย(ลูกศรชี้) (b) cell *E. coli* O157:H7 มีการเจริญตรงบริเวณที่เสียหายของพื้นผิว (c) cell *E. coli* O157:H7 มีการเจริญและเริ่มเกาะติดบริเวณที่ชั้น cuticle ของผิวพริกไทยที่เสียหาย (d) cell *E. coli* O157:H7 มีการสร้าง EPS ออกมา

ยีสต์ติดบริเวณผิว (e) cell *E. coli* O157:H7 เจริญเติบโตและเกาะติดบริเวณพื้นผิวที่เสียหาย (f) cell *E. coli* O157:H7 เจริญเติบโตและเกาะติดบริเวณพื้นผิวที่เสียหาย หลังการล้างด้วยน้ำ

ที่มา : Han *et al.* (2000)

### 2.4 สรีรวิทยาของพืชผักและผลไม้สด

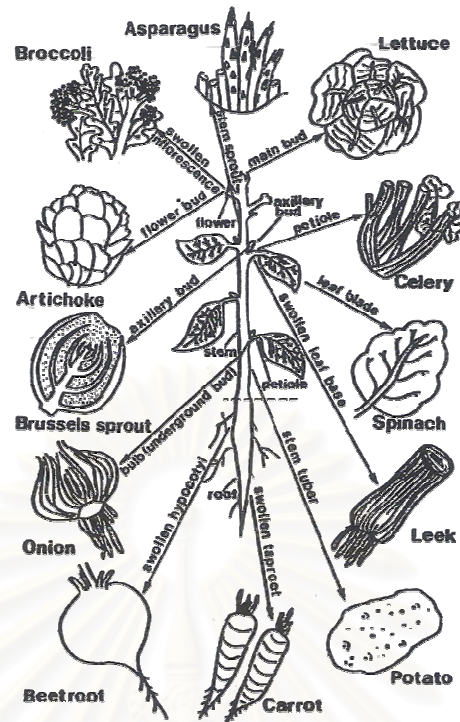
ผักสดและผลไม้ไม่มีการเจริญและการพัฒนาจากเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ ของดอก และ ส่วนของพืชที่แตกต่างกัน กล่าวคือผลไม้ จะมีการเจริญและพัฒนาจากเนื้อเยื่อของดอก ในขณะที่ผักนั้นจะเจริญและพัฒนาจากเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ ของต้นพืช ดังแสดงได้ในรูปที่ 2.9 และ 2.10 ที่แสดงให้เห็นถึงโครงสร้างของ ผล หรือ ใบ ที่พัฒนามาจากส่วนที่แตกต่างกัน ซึ่งจะส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงหลังการเก็บเกี่ยวที่แตกต่างกันและทำให้การเกาะติดของจุลินทรีย์บนผล หรือ ใบของพืชที่นำมาเป็นอาหารแตกต่างกันด้วย (จริงแท้ ศิริพานิช, 2541)



รูป 2.9 การเจริญจากเนื้อเยื่อของดอกที่พัฒนาไปเป็นผลของพืช

ที่มา : Wills *et al.* (1981)





รูปที่ 2.10 การเจริญจากเนื้อเยื่อต่างๆของต้นพืชที่ใช้เป็นผัก

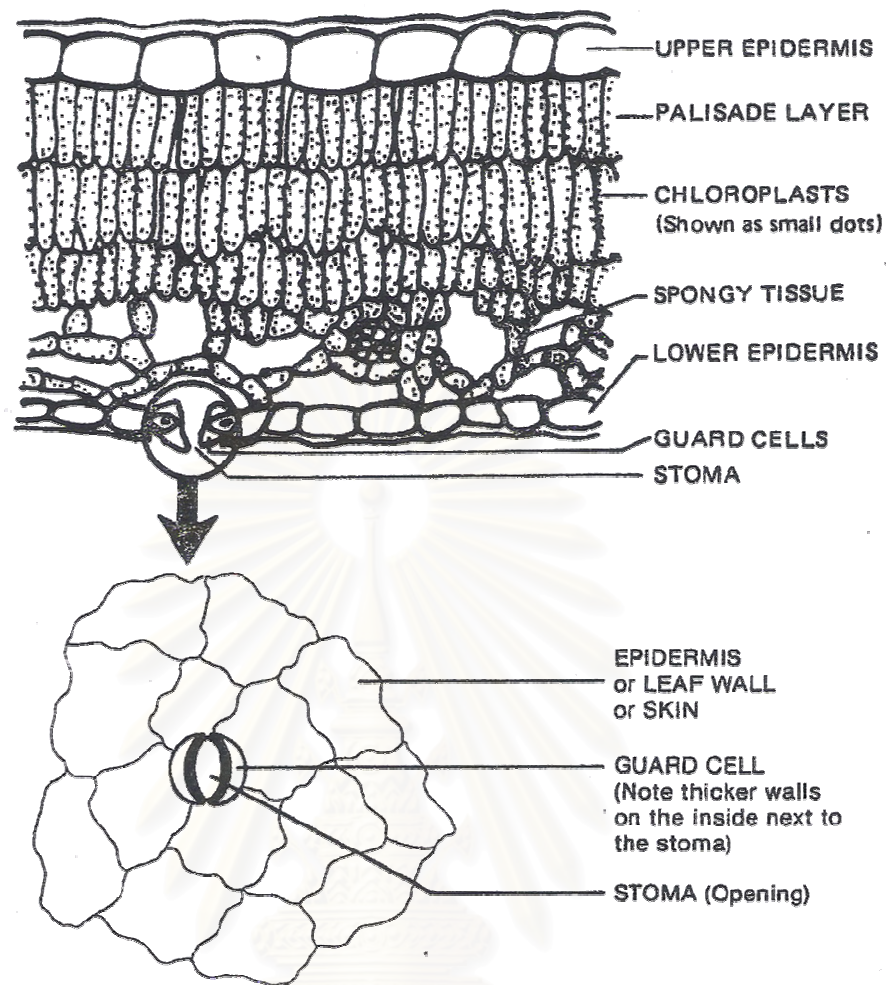
ที่มา : Wills *et al.* (1981)

#### 2.4.1 เนื้อเยื่อพื้นผิว (Dermal tissue)

เป็นเนื้อเยื่อที่อยู่ชั้นนอกสุดของพืชได้แก่ epidermis และ periderm ซึ่งเนื้อเยื่อทั้งสองนี้มีหน้าที่สำคัญในการปกป้องหรือป้องกัน เนื้อเยื่อภายในจากการสูญเสียน้ำและการสัมผัสกับจุลินทรีย์ต่างๆ

#### 2.4.2 ปากใบ (Stomata)

ปากใบของพืชเป็นช่องที่พืชใช้ในการคายน้ำเพื่อระบายความร้อน และในขณะเดียวกันก็ใช้เป็นช่องรับเอาคาร์บอนไดออกไซด์และออกซิเจนที่จำเป็นสำหรับการสังเคราะห์แสงและการหายใจด้วย ปากใบจะมีมากอยู่ที่ส่วนของใบ ส่วน ผล ก็มีอยู่บ้างแต่ไม่มากนัก โดยกลไกในการควบคุมการปิดเปิดปากใบคือ guard cell ซึ่งมีลักษณะดังแสดงในรูปที่ 2.11

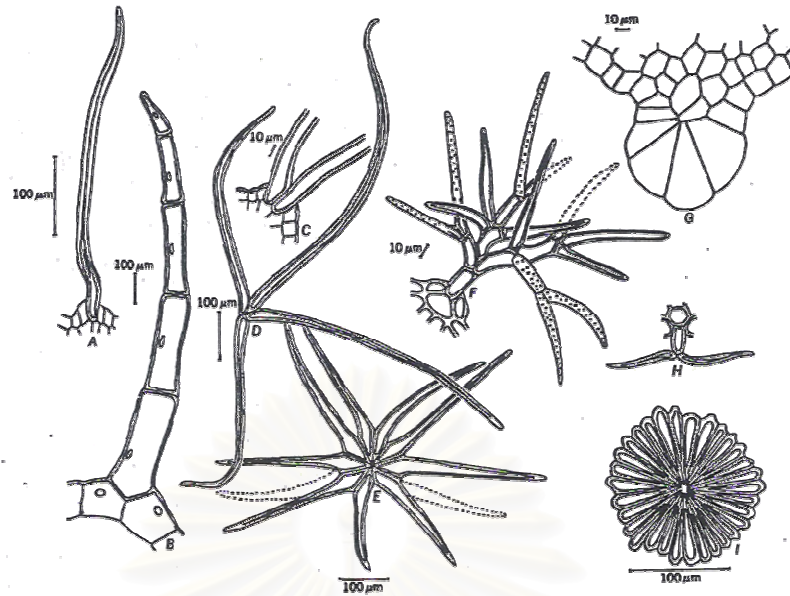


รูปที่ 2.11 ภาพตัดตามขวางแสดงลักษณะปากใบ และโครงสร้างของใบ

ที่มา : ธีรชัย ชินวงศ์ (2541)

#### 2.4.3 ขนของพืช (Trichome)

Trichome หมายถึงเนื้อเยื่อส่วนที่เจริญมาจากชั้นของ epidermis ซึ่งอาจมีเพียงเซลล์เดี่ยวๆ หรือ หลายๆ เซลล์ก็ได้ มีรูปร่างที่แตกต่างกันออกไป เช่น มีลักษณะเป็นขน หรือเป็นเกล็ด(scale) หรือโครงสร้างอื่นๆ ดังภาพ 2.12



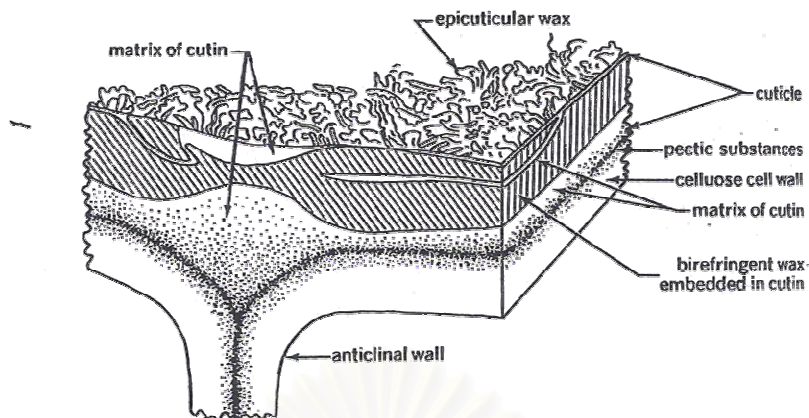
รูปที่ 2.12 ลักษณะของ Trichome ของพืชที่มีลักษณะต่างๆ

ที่มา : Esau (1977)

#### 2.4.4 Cuticle

บนผนังเซลล์ด้านนอกของเนื้อเยื่อ epidermis มีชั้นของ cuticle ปกคลุมอยู่เป็น เครื่องกีดขวางการผ่านเข้าออกของน้ำเป็นอย่างดี (รูปที่ 2.13) เนื่องจากชั้นนี้จะประกอบด้วยสาร ประเภทไข ได้แก่ wax และ cutin ซึ่งมีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) โดยการขัดขวางการ เคลื่อนที่ของโมเลกุลของน้ำนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของ wax และลักษณะทางกายภาพของ wax มากกว่า ความหนาของชั้น wax wax ที่มีลักษณะเป็นแผ่นหรือเกล็ดเล็กๆ เรียงซ้อนกัน จะป้องกันน้ำได้ มากกว่า wax ที่ไม่มีลักษณะพิเศษแต่อัดตัวเป็นชั้นหนา เพราะโมเลกุลของน้ำจะต้องผ่านชั้นของ wax และช่องว่างที่เป็นอากาศหลายชั้นกว่าจะออกไปถึงผิวของผลผลิตสำหรับชนิดของ wax ที่มี ลักษณะเป็น soft wax ให้คุณสมบัติในการลดการคายน้ำดีกว่า hard wax ซึ่งให้ความเป็นมันเงา มากกว่า

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 2.13 ลักษณะผนังเซลล์ด้านนอกของ epidermis

ที่มา : Esau (1977)

## 2.5 ผักที่นิยมใช้เป็นส่วนประกอบในสลัด

### 2.5.1 มะเขือเทศ (Tomato)

มะเขือเทศเป็นมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Lycopersicon esculentum* Mill. อยู่ในวงศ์ Solanaceae มะเขือเทศเป็นพืชล้มลุก ปลูกได้ตลอดปี ชอบอากาศอบอุ่นและชอบแสงแดดและมักจะออกลูกในช่วงฤดูหนาว

มะเขือเทศมีสารไลโคปีน (lycopene) ที่สามารถช่วยลดการเกิดมะเร็งในลำไส้ มะเร็งต่อมลูกหมาก ส่วนสารที่เป็นสีอยู่ในมะเขือเทศ จัดเป็นสารพวก carotenoid ซึ่ง สุทธิลักษณ์ สมิตะสิริ และ คณะ (2545) ได้กล่าวอ้างรายงานการศึกษาจาก Harvard school of public health พบว่าการกินมะเขือเทศ 10 ครั้งต่อสัปดาห์จะช่วยลดอัตราการเกิดมะเร็งที่ต่อมลูกหมากในเพศชายได้มากกว่าร้อยละ 45 นอกจากนี้ ไลโคปีนที่เป็นสาร antioxidant แล้วยังมีสารอาหารมากมาย เช่น เบต้าแคโรทีน ฟอสฟอรัส สาเหตุที่มะเขือเทศมีรสอร่อย เพราะมีกรดอะมิโนที่ชื่อ กลูตามิก (glutamic) สูง ซึ่งเป็นกรดอะมิโนตัวเดียวกับผงชูรส ซึ่งอยู่ในรูปของ monosodium glutamate นอกจากนี้มะเขือเทศยังเป็นแหล่งของ วิตามิน C เบต้าแคโรทีน และ ฟอสฟอรัสด้วย ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 คุณค่าทางอาหารของมะเขือเทศ

ตารางแสดงคุณค่าอาหารส่วนที่กินได้ 100 กรัม												
พลังงาน	โปรตีน	ไขมัน	คาร์โบไฮเดรต	แคลเซียม	ฟอสฟอรัส	เหล็ก	วิตามินบี 1	วิตามินบี 2	ไนอาซิน	วิตามินซี	เบต้า-แคโรทีน	ใยอาหาร
KCal	g			mg							RE	g
22	1.1	0.3	3.6	9	31	0.48	0.09	0.04	0.9	32	65.30	1.7

ที่มา : สุทธิลักษณ์ สมิตะสิริ (2545)

### 2.5.2 ผักกาดหอม (Lettuce)

ผักกาดหอมมีชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Lactuca sativa* Linn. อยู่ในวงศ์ Asteraceae

ผักกาดหอมมีสารเบต้าแคโรทีนอยู่มาก โดย สุทธิลักษณ์ สมิตะสิริ และคณะ (2545) ได้กล่าวอ้างในรายงานของ Jean ว่าได้ใช้เวลาถึง 12 ปีในการศึกษาเลือดของผู้ชายชาวสวิสเซอร์แลนด์ จำนวน 3,000 คนและพบว่าผู้ที่มีวิตามินเอ และแคโรทีน(ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอตัว) มีแนวโน้มที่จะตายด้วยโรคมะเร็งทุกชนิด ซึ่งยังมีรายงานอีกว่า John Potter แห่งมหาวิทยาลัยมินเนโซต้าระบุว่าผักกาดหอม หอมใหญ่ มะเขือเทศ เมื่อกินสดๆ จะต่อต้านโรคมะเร็งในกระเพาะอาหารได้ นอกจากเบต้าแคโรทีนที่มีอยู่มากแล้วยังมี กรดโฟลิกและลูทีน (lutin) ที่ช่วยป้องกันและต้านมะเร็งได้ด้วย ซึ่งมีรายงานว่า ชาลส์ แห่งมหาวิทยาลัยแห่งอลาบามา ได้ศึกษาพบว่าในผู้หญิง 464 คนที่ติดเชื้อไวรัส นั้น คนที่มีกรดโฟลิกน้อยจะมีโอกาสเผชิญการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ที่อาจกลายเป็นมะเร็งที่เส้นประสาทคอ มากกว่าคนที่มีความสูงถึง 5 เท่า โดยผักกาดหอมนั้นจะมีคุณค่าทางโภชนาการต่างๆ มากมาย ที่สำคัญคือเป็นแหล่งของสารเบต้า-แคโรทีนที่เป็นสารตั้งต้นของวิตามิน A อีกทั้งยังเป็นแหล่งของฟอสฟอรัส และ แคลเซียม รวมถึงวิตามิน C ด้วย ดังแสดงในตารางที่ 2.4



## ตารางที่ 2.4 คุณค่าทางอาหารของผักกาดหอม

ตารางแสดงคุณค่าอาหารส่วนที่กินได้ 100 กรัม												
พลังงาน	โปรตีน	ไขมัน	คาร์โบไฮเดรต	แคลเซียม	ฟอสฟอรัส	เหล็ก	วิตามินบี 1	วิตามินบี 2	ไนอาซิน	วิตามินซี	เบต้า-แคโรทีน	ใยอาหาร
KCal	g			mg							RE	g
24	2	0.4	3	16	39	4.9	0.06	0.18	0.6	9.00	173.17	1.8

ที่มา : สุทธิลักษณ์ สมิตะสิริ (2545)

จากที่ได้กล่าวมาข้างต้นนั้นจะพบว่าผักสดมีคุณค่าทางโภชนาการมากมาก เพราะนอกจากจะเป็นแหล่งของวิตามิน และ แร่ธาตุที่สำคัญต่อกระบวนการ Metabolism ของร่างกายมนุษย์แล้วยังเป็นแหล่งสำคัญของ ใยอาหารที่มีส่วนช่วยในกระบวนการกำจัดของเสียออกจากร่างกายด้วย ดังนั้นถ้าบริโภคผักที่ปราศจากจุลินทรีย์ก่อโรค ก็จะสามารถทำให้มีสุขภาพที่ดีได้ยาวนาน

## 2.6 การควบคุมและลดการปนเปื้อน

การนำระบบประกันคุณภาพต่างๆมาใช้ เช่น GMP, HACCP มีส่วนช่วยให้อาหารนั้นมีความปลอดภัยมากขึ้น

**ระบบ GMP** (Good Manufacturing Practices) คือ หลักเกณฑ์ที่ดีในการผลิตอาหารซึ่งประกอบไปด้วยมาตรการต่าง ๆ (สุวิมล กิริติพิบูล, 2543) เช่น

- การออกแบบสถานที่การผลิตที่เหมาะสมกับการผลิตอาหาร
- การทำความสะอาดบริเวณผลิต โรงงาน เครื่องมือ และ อุปกรณ์ต่างๆ
- การควบคุมสุขลักษณะส่วนบุคคล
- การควบคุมแมลงและสัตว์พาหะนำโรค เช่น หนู นก ฯลฯ
- การควบคุมระบบน้ำใช้
- การควบคุมการกำจัดขยะ เป็นต้น

การนำระบบ GMP มาใช้ในการควบคุมกระบวนการผลิตผักและผลไม้สดจะต้องเน้น การควบคุมคุณภาพน้ำที่ใช้ในการล้างผัก ควบคุมบุคลากร หรือผู้ปฏิบัติการ เป็นต้น

**ระบบ HACCP** (Hazard Analysis and Critical Control Point) คือ ระบบประกันคุณภาพด้านความปลอดภัยของอาหาร ประกอบไปด้วย 7 (สุวิมล กิริติพิบูล, 2543) ขั้นตอนได้แก่

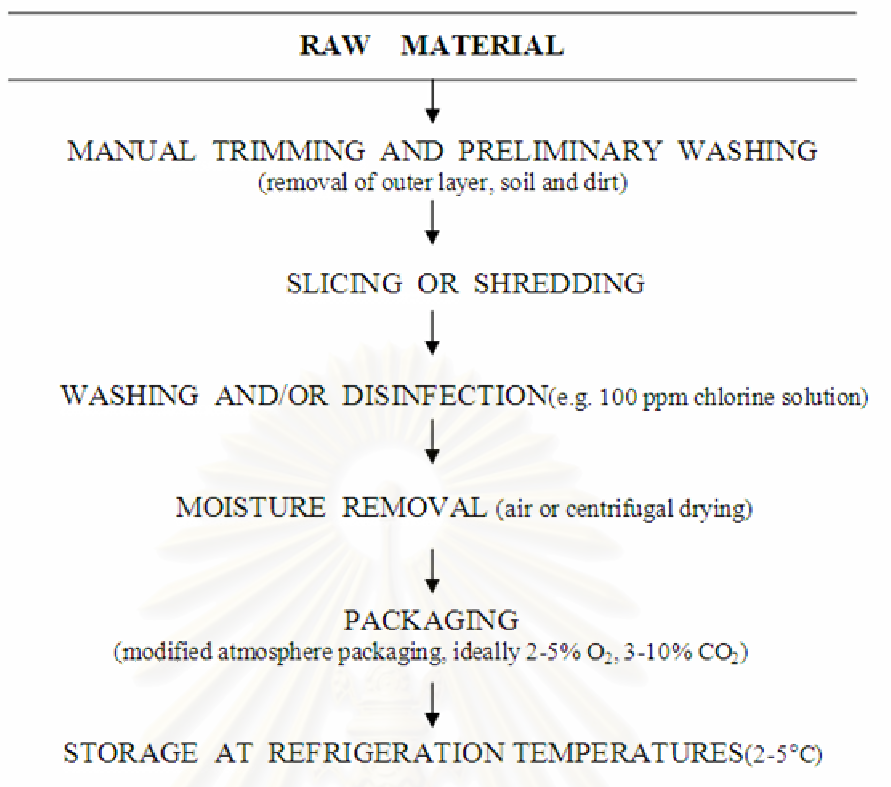
1. การวิเคราะห์อันตราย

2. การกำหนดจุดวิกฤติที่ต้องควบคุม
3. การกำหนดค่าวิกฤติ
4. การกำหนดระบบการตรวจติดตาม ณ จุดวิกฤติที่ต้องควบคุม
5. การกำหนดวิธีการแก้ไข
6. การกำหนดระบบทวนสอบเพื่อยืนยันความถูกต้องของระบบ HACCP
7. การกำหนดระบบเอกสารและการจัดเก็บบันทึก

การนำระบบ HACCP ไปใช้ควบคุมกระบวนการผลิตผัก และผลไม้ นั้นจะต้องเน้น การควบคุม ณ ขั้นตอนการล้างผัก โดยต้องกำหนดวิธีการล้าง ชนิดของสารฆ่าเชื้อ และความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ เป็นต้น

Murcia, Martinez-Tome and Vera (2000) ได้ศึกษาผลของการนำระบบ GMP และ HACCP ไปใช้ในการควบคุมกระบวนการผลิตอาหารสดในโรงงาน 4 แห่ง พบว่าหลังจากมีการนำระบบ GMP และ HACCP ไปใช้ สามารถลดปริมาณการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในอาหารสดได้อย่างมีนัยสำคัญ

ในขณะที่ Francis, Thomas and O'Beirne (1999) ได้กล่าวถึงการจัดการหลังการเก็บเกี่ยวผักหรือ ผลไม้สดไว้ ว่าวัตถุดิบ (ผักหรือผลไม้สด) ต้องผ่านกระบวนการล้าง และตัดแต่งก่อนเพื่อกำจัดความสกปรกจากนั้นนั้น แล้วจึงล้างหรือแช่ในสารฆ่าเชื้อ เช่น คลอรีนความเข้มข้น 100 ppm ใช้น้ำออก บรรจุในบรรจุภัณฑ์ที่อาจปรับสภาพอากาศภายในหีบห่อเพื่อให้ผลผลิตอยู่ได้นาน แล้วจึงเก็บไว้ในอุณหภูมิที่เหมาะสมเช่น 2 – 5 °C (ดังรูป 2.14)



รูปที่ 2.14 กระบวนการผลิตผัก / ผลไม้หลังจากการเก็บเกี่ยว  
ที่มา : Francis *et al.* (1999)

ในรายงานดังกล่าวได้ระบุไว้ว่าขั้นตอนที่สำคัญในกระบวนการหลังการเก็บเกี่ยวคือ กระบวนการล้าง เพราะในขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนที่จะลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ติดมากับผักหรือผลไม้ให้เหลือน้อยที่สุด ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านั้นอาจจะเป็นจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในผลไม้หรือ อาจจะเป็นจุลินทรีย์ก่อโรคในมนุษย์ก็ได้ ซึ่งในการล้างนั้นจำเป็นต้องใช้สารกำจัดจุลินทรีย์ด้วย (antimicrobials or sanitizer)

## 2.7 การกำจัดจุลินทรีย์ก่อโรคในผักและผลไม้

### 2.7.1 สารฆ่าเชื้อ (Sanitizer หรือ Disinfectants)

ได้มีการศึกษาการใช้สารเคมีฆ่าเชื้อ ในผักและผลไม้ไว้โดยใช้สารเคมีชนิดต่างๆ มากมาย เช่น คลอรีน คลอรีนไดออกไซด์ กรดเปอร์อะซิติก กรดอะซิติก แอลกอฮอล์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และ โอโซน เป็นต้น (Beuchat, 1998; U.S. FDA, 2001a; Hilgren and Salverda, 2000; Suslow, 2000)

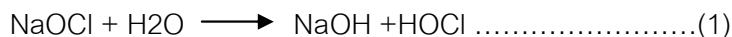
ปัจจัยที่มีผลต่อการฆ่าเชื้อ ของสารฆ่าเชื้อ ได้แก่ สารฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ (สุวิมล กীরติพิบูล, 2543)

- 1) ระยะเวลาที่สารเคมีนั้นสัมผัสกับจุลินทรีย์ (Contact time) - จุลินทรีย์แต่ละชนิดมีความไวต่อสารเคมีที่ใช้ไม่เท่ากัน ขึ้นกับ ช่วงของการเจริญ การสร้างสปอร์ และปัจจัยอื่นๆ จึงส่งผลให้การใช้เวลาในการฆ่าหรือลดปริมาณจุลินทรีย์ไม่เท่ากันในแต่ละชนิด
- 2) อุณหภูมิ (Temperature) - สารละลายที่มีอุณหภูมิสูงขึ้นจะลดแรงตึงผิวทำให้ประสิทธิภาพของการทำลายสูงด้วย
- 3) ความเป็นกรด-ด่าง (pH) – ปกติประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อ ไม่ขึ้นกับความ เป็นกรด-ด่างของสารละลาย แต่จะมีสารฆ่าเชื้อบางชนิดเท่านั้น เช่น สารประกอบ ไอโอดีนและคลอรีน จะมีประสิทธิภาพลดลงเมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างสูงขึ้น
- 4) ความกระด้างของน้ำ (Hardness) – ความกระด้างของน้ำมีส่วนทำให้ ประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อลดลง เช่น สารกลุ่ม Quaternary ammonium compounds จะไม่ออกฤทธิ์เมื่อมีเกลือ แคลเซียมและแมกนีเซียมอยู่มากกว่า 200 ppm
- 5) ความเข้มข้นที่ใช้ (Concentration) - ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันจะ ส่งผลถึงการฆ่าหรือลด ปริมาณจุลินทรีย์ที่แตกต่างกันด้วย

สารเคมีฆ่าเชื้อที่นิยมใช้คือ คลอรีน และ กรดเปอร์อะซิติก (Kim, Ryu and Beuchat , 2006) เนื่องจาก หาซื้อสะดวก ราคาถูก มีประสิทธิภาพสูงในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ และไม่มีผลต่อ ลักษณะปรากฏหลังล้างของผักหรือผลไม้

**2.7.2 คลอรีน** – สารประกอบประเภทคลอรีนเป็นสารเคมีที่ทำหน้าที่เป็นสารฆ่าหรือลด ปริมาณจุลินทรีย์ ทั้งนี้เนื่องจาก ที่ pH ต่ำๆ สารประกอบคลอรีนจะแตกตัวให้กรดไฮโปคลอรัสใน ปริมาณสูง ซึ่งจะเพิ่มประสิทธิภาพของสารคลอรีนในการฆ่าจุลินทรีย์ ในขณะ pH สูงๆ สารประกอบ ประเภทคลอรีนจะแตกตัวให้กรดไฮโปคลอไรด์มากซึ่งไม่มีฤทธิ์ในการทำละลายจุลินทรีย์ โดยปกติสาร จำพวกคลอรีนและสารประกอบที่มีคลอรีนรวมอยู่ได้แก่พวก ไฮโปคลอไรต์ (Hypochlorite) [ที่นิยมใช้ได้แก่ แบบผงคือ แคลเซียมไฮโปคลอไรต์ (Calcium hypochlorite) แบบน้ำคือ โซเดียมไฮโปคลอไรต์ (Sodium hypochlorite)] สารอนินทรีย์คลอรามิน (Inorganic chloramines) สารอินทรีย์คลอรามิน (Organic chloramines) และ คลอรีนไดออกไซด์ (Chlorinedioxide) ซึ่งสารที่ออกฤทธิ์ในการทำละลายจุลินทรีย์คือ กรดไฮโปคลอรัส (Hypochlorous

acid; HOCl) โดยเมื่อสารประกอบคลอรีนผสมกับน้ำจะได้กรดไฮโปคลอรัสซึ่งสลายตัวให้ไฮโดรเจนไอออน (Hydrogen ion ; H<sup>+</sup>) และ ไฮโปคลอไรต์ไอออน (Hypochlorite ion; OCl<sup>-</sup>) ดังสมการต่อไปนี้



หน้าที่หลักของสารประกอบคลอรีนคือ (Adams *et al.*, 1989; Brackett, 1992)

- 1) ทำลายการสังเคราะห์โปรตีนของแบคทีเรีย
- 2) ทำปฏิกิริยาออกซิเดชันกับกลุ่มคาร์บอกซิลของกรดอะมิโนแล้วเปลี่ยนเป็น ไนไตรท์
- 3) ทำปฏิกิริยากับกรดนิวคลีอิก ไพรีน และ ไพรีนีน
- 4) ทำลายเอนไซม์ที่สำคัญทำให้กระบวนการเมตาบอลิซึมของแบคทีเรียหยุดลงและนำไปสู่การตายของเซลล์ในที่สุด
- 5) การออกฤทธิ์ทำลายได้ทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและลบ

#### ข้อดีและข้อเสียของสารประกอบคลอรีน

##### ข้อดี

- 1) ออกฤทธิ์ได้รวดเร็ว
- 2) สามารถทำลายเซลล์จุลินทรีย์ที่มีชีวิตได้ (Vegetative cell)
- 3) ราคาถูก
- 4) ไม่ต้องล้างออกด้วยน้ำเมื่อใช้ความเข้มข้นต่ำๆ

##### ข้อเสีย

- 1) ไม่คงตัว สลายตัวง่ายเมื่อถูกความร้อน หรือ มีสารอินทรีย์ในน้ำที่ปริมาณสูง
- 2) กัดกร่อนเหล็ก และ โลหะอื่นๆ
- 3) หากใช้ในปริมาณสูงอาจก่อให้เกิดปัญหาแก่ผู้บริโภคได้
- 4) ถ้าใช้ในปริมาณที่สูง จะทำให้สีของผลิตภัณฑ์เปลี่ยนไป

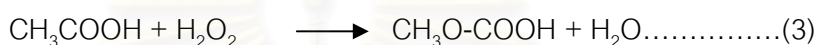
อย่างไรก็ตามการใช้คลอรีนในการล้างผักสามารถฆ่าหรือลด ปริมาณจุลินทรีย์ได้เพียงบางส่วนเท่านั้น ไม่สามารถกำจัดให้หมดไปได้ (Garg, Churey and Splittstoesser, 1990; Nguyen and Carlin, 1994)



**2.7.3 กรดเปอร์อะซิติก** – เป็นสารประกอบที่มีคุณสมบัติเป็น Strong oxidizing agent เป็นสารประกอบที่ทาง US FDA อนุญาตให้ใช้ในการทำความสะอาด และสัมผัสกับอุปกรณ์ที่สัมผัสกับอาหารได้ เนื่องจากเป็นสารที่ปลอดภัยต่อผู้ใช้ และ สิ่งแวดล้อม ไม่เกิดสารตกค้าง เพราะเมื่อเกิดการสลายตัวจะได้น้ำ ออกซิเจน และ กรดอะซิติก (กิตติกานต์ บุญประสิทธิ์, 2548)

กรดเปอร์อะซิติกสามารถปลดปล่อยอนุมูลอิสระได้อย่างรวดเร็วโดยสามารถ ออกซิไดซ์ สารพวกโปรตีน ไขมัน ทั้งภายในและภายนอกของจุลินทรีย์

การสังเคราะห์ กรดเปอร์อะซิติกสามารถพิจารณาได้ดังต่อไปนี้ (Pan, Spencer and Leary, 1999)



หน้าที่หลักของกรดเปอร์อะซิติก คือ (Arturo-Schaan *et al.*, 1996; Denyer and Stewart, 1998)

- 1) ทำลายการสังเคราะห์โปรตีนของแบคทีเรีย
- 2) ทำลาย membrane ของเซลล์แบคทีเรีย
- 3) ทำลาย Spore และ Endospores ของแบคทีเรีย
- 4) ทำปฏิกิริยากับ DNA ทำให้หยุดกระบวนการ Replication
- 5) ทำลายเอนไซม์ที่สำคัญ และ ขัดขวางกระบวนการส่งผ่าน electron transfer ทำให้กระบวนการเมแทบอลิซึมของแบคทีเรียหยุดลงและนำไปสู่การตายของเซลล์ในที่สุด
- 6) ทำให้สารภายในเซลล์เสียสภาพและตกตะกอน

#### ข้อดีและข้อเสียของกรดเปอร์อะซิติก

##### ข้อดี

- 1) ออกฤทธิ์ได้รวดเร็ว มีประสิทธิภาพสูง
- 2) ออกฤทธิ์กว้างขวาง สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้หลายชนิด
- 3) ออกฤทธิ์ได้ดีแม้สภาวะที่มีปริมาณสารอินทรีย์ในน้ำสูง
- 4) ออกฤทธิ์ได้ดีที่ช่วงอุณหภูมิกว้างหรือ pH ที่เป็นกรดหรือ ด่างสูง
- 5) ไม่ต้องล้างออกด้วยน้ำเมื่อใช้ความเข้มข้นต่ำๆ
- 6) ไม่กัดกร่อนวัสดุที่สัมผัส
- 7) ประหยัดเวลา สะดวก และ มีความปลอดภัยสูง

### ข้อเสีย

- 1) มีกลิ่นฉุนถ้าใช้ในปริมาณที่เข้มข้น
- 2) ราคาแพง

## 2.8 ธุรกิจอาหารบริการ

ธุรกิจร้านอาหารบริการมีหลายประเภทเช่น ภัตตาคารอาหารไทยหรือจีน ร้านอาหารจานด่วน ร้านกาแฟฟรีเมียม ร้านเบเกอรี่ ร้านแซนด์วิช และสลัด เป็นต้น และ มีการเติบโตอย่างต่อเนื่องซึ่งคาดว่าในปี 2550 จะมีมูลค่าการตลาดสูงถึง 21,000 ล้านบาทและ เมื่อเปรียบเทียบกับปี 2549 แล้วพบว่าเพิ่มขึ้นร้อยละ 8.0” (ศูนย์วิจัยกสิกรไทย, 2549)

ธุรกิจร้านอาหารบริการแบ่งออกเป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ ดังนี้

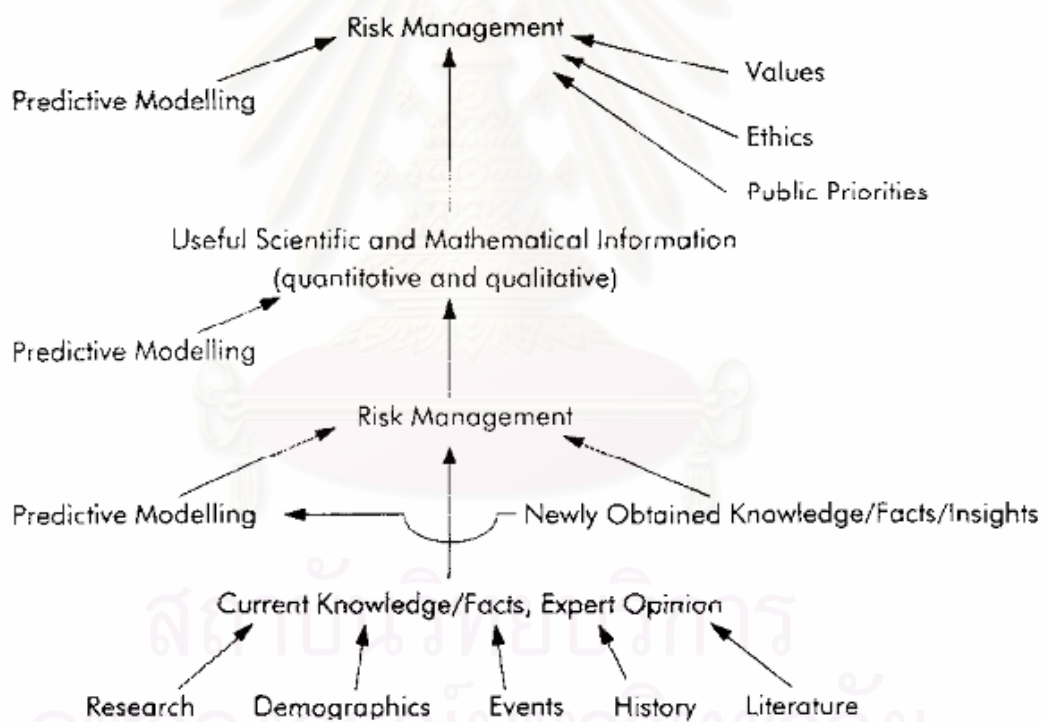
1. ธุรกิจร้านอาหารประเภท fast foods เช่น KFC, Pizza, McDonald และ Sizzler เป็นต้น - ธุรกิจประเภทนี้ปัจจุบันการแข่งขันรุนแรง จึงต้องปรับตัวตอบสนองความต้องการของผู้บริโภคที่มีพฤติกรรมที่เปลี่ยนแปลงไป โดยสนใจในเรื่องของความเร็ว รวมทั้งโภชนาการและคุณค่าของอาหาร จึงหันไปในการปรับเมนูอาหารเพื่อสุขภาพมากขึ้น ซึ่งเป็นที่คาดกันว่ามูลค่าตลาดธุรกิจ fast foods ในปี 2550 นี้จะมีมูลค่า 14,000 ล้านบาท (คิดเป็น 67% ของอาหารบริการ) ซึ่งปัจจุบันสีสันการแข่งขันอยู่ที่ fast foods ประเภทไก่และ พิซซ่า
2. ร้านอาหารบริการที่มีจุดเด่นเฉพาะตัว เช่น ร้านอาหารไทยหรือจีน ร้านกาแฟ ร้านจำหน่ายเฉพาะ เบเกอรี่ เค้ก และ แซนด์วิช ร้านจำหน่ายสเต็ก ฯลฯ – คาดกันว่ามูลค่าตลาดธุรกิจนี้ในปี 2550 จะมีมูลค่า 7,000 ล้านบาท(คิดเป็น 33% ของอาหารบริการ) ธุรกิจกลุ่มนี้แม้มูลค่าจะน้อยกว่าธุรกิจร้านอาหารประเภท fast foods แต่นับว่าน่าจับตามองเพราะว่ามีอัตราการขยายตัวเฉลี่ยอยู่ในเกณฑ์สูง คือประมาณ 15% อย่างต่อเนื่องตลอดระยะเวลา 5 ปีที่ผ่านมา ซึ่งนับว่าสูงกว่าอัตราการขยายตัวของธุรกิจ fast foods ซึ่งธุรกิจร้านอาหารบริการที่มีจุดเด่นเฉพาะตัวที่มีแนวโน้มเติบโตในปี 2550 ได้แก่ ร้านกาแฟฟรีเมียม ที่หันมาเพิ่มเมนูประเภทเบเกอรี่ แซนด์วิช และสลัด ต่างๆ

เมื่อธุรกิจอาหารจานด่วนเพิ่มขึ้น ผลกระทบที่ตามมาคือคุณภาพของอาหารจานด่วน ซึ่งได้มีรายงานพบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรค(Pathogens) ในอาหารพร้อมบริโภคต่างๆมากมายตามที่ได้กล่าวมาข้างต้น

## 2.9 การประเมินความเสี่ยง

National Academy of Sciences ได้กล่าวไว้ว่า “การประเมินความเสี่ยงคือ ขั้นตอนหนึ่งของการวิเคราะห์ความเสี่ยง ซึ่งรวมถึงการจัดการความเสี่ยงและ การสื่อสารความเสี่ยงด้วย (National Research Council, 1983) โดยการประเมินความเสี่ยงนี้จะทำบนพื้นฐานทางวิทยาศาสตร์และการจัดการที่มีเหตุมีผล ซึ่งมีแนวความคิดและพัฒนามาร่วมกับ สภาพทาง เศรษฐกิจ จริยธรรม วิทยาศาสตร์ สาธารณสุข กฎหมาย และการเมือง ให้บรรลุวัตถุประสงค์ เพื่อความเข้าใจอย่างแท้จริงของความเสี่ยงนั้นๆ (Foegeding, 1997)

การจัดการความเสี่ยงนั้นสามารถที่จะใช้สมการทางคณิตศาสตร์ หรือ แบบจำลองทางคณิตศาสตร์มาร่วมในการวิเคราะห์เพื่อดำเนินการให้สอดคล้องกับเป้าหมายในการทำให้อาหารนั้นปลอดภัย เช่น การนำแบบจำลองทางคณิตศาสตร์มาใช้ในการประมาณ ปริมาณ และ คุณภาพของความเสี่ยง ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภคหรือผู้ผลิต (รูปที่ 2.15)



รูปที่ 2.15 การใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์เพื่อทำนายความเสี่ยงและการจัดการความเสี่ยง  
ที่มา : Foegeding (1997)

จากรูปที่ 2.15 สามารถที่จะกล่าวได้ว่าการใช้แบบจำลองเพื่อทำนายสิ่งต่างๆ สำหรับความปลอดภัยของอาหารนั้นสามารถที่จะใช้ได้ในทุกๆ ขั้นตอน เพื่อการจัดการความเสี่ยงและนำไปสู่ความปลอดภัย และ คุณภาพที่ดีของอาหารด้วย (Foegeding, 1997)

## 2.10 การประมาณค่าทางจุลชีววิทยา (Predictive Microbiology) โดยใช้สมการทางคณิตศาสตร์

การประมาณค่าจุลินทรีย์โดยใช้สมการทางคณิตศาสตร์มีใช้กันอย่างกว้างขวางในการทำนายการเจริญเติบโต หรือประมาณค่า ของจุลินทรีย์ในสภาวะแวดล้อมต่างๆ Viswanathan and Kaur (2001) ทำนายการเติบโตของจุลินทรีย์ *S. aureus* และ *Salmonella* spp. ในตัวอย่างผักและผลไม้ที่เป็นส่วนประกอบของสลัดซึ่งได้แก่ แตงกวา ผักกาด มะเขือเทศ และ แครอท ส่วนในผลไม้แห้งได้แก่ แอปเปิ้ล สับปะรด และ แคนตาลูป Lekreongsin, Keeratipibul, and Trakoonlersswilai (2006) ได้ใช้ RSM (Response Surface Model Methodology) ทำนายการตรวจพบจุลินทรีย์ *L. monocytogenes* ในพื้นผิวสัมผัสอาหารต่อการปนเปื้อนลงสู่ตัวอย่างไก่พร้อมบริโภค ตั้งแต่ปี 2001 เป็นต้นมาเริ่มมีวิธีการใหม่มาใช้ในการทำนายหรือ ประมาณค่าจุลินทรีย์ในตัวอย่างอาหาร คือ Artificial Neural Networks (ANNs) หรือ เรียกว่า ระบบข่ายงานประสาทเทียม เพื่อใช้ในการทำนายจุลินทรีย์ Lou and Nakai (2001) ได้นำ ANNs มาใช้ในการทำนายอุณหภูมิในการฆ่า จุลินทรีย์ *E. coli* ใน Phosphate buffer medium โดยมีปัจจัยร่วมคือ ค่า Water activity ค่าความเป็นกรด-ด่าง และ ปริมาณเกลือ และแปรอุณหภูมิที่แตกต่างกันในการฆ่าจุลินทรีย์

## 2.11 หลักการทำงานของระบบข่ายงานประสาทเทียม (ANNs)

Artificial Neural Networks(ANNs) – คือ ข่ายงานประสาทเทียม (neural network หรือ neural net) เป็นแบบจำลองสำหรับการประมวลผลสารสนเทศด้วยการคำนวณแบบ คอนเนคชันนิสต์ (connectionist) และเป็นเครื่องมือสำหรับการสร้างแบบจำลองโดยใช้คอมพิวเตอร์ (Computational modeling tools) (Basheer and Hajmeer, 2000)

สิ่งที่น่าสนใจสำหรับ ANNs คือ

- 1) เหมาะสำหรับข้อมูลที่ไม่มีความสัมพันธ์กันในระบบเชิงเส้น (non-linear)
- 2) ให้ผลการทำนายที่แม่นยำ
- 3) ให้ผลการทำนายที่รวดเร็ว
- 4) สามารถเรียนรู้และปรับระบบได้อย่างรวดเร็ว
- 5) สามารถปรับระบบกับข้อมูลใหม่ๆ ได้อย่างดี

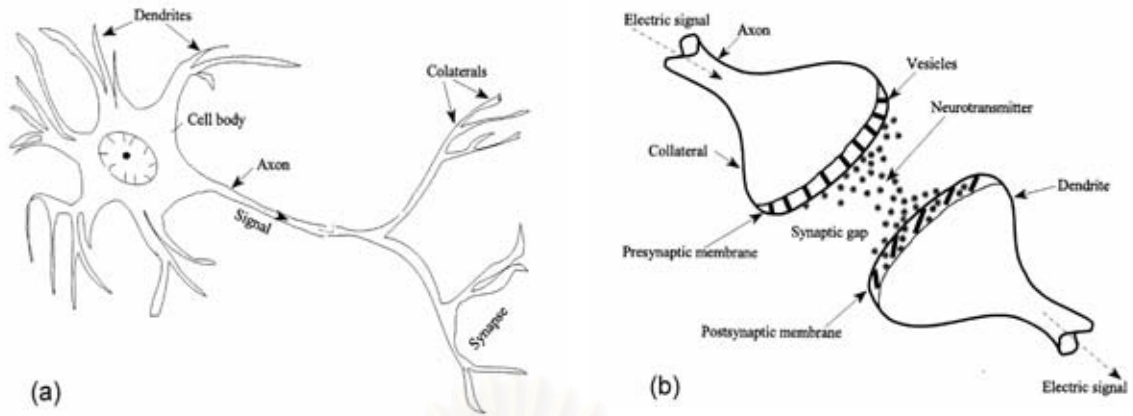
วัตถุประสงค์หลักของการนำระบบ ANNs มาใช้คือเพื่อพัฒนาระบบการแก้ปัญหาอย่างเป็นขั้นตอนในการประมวลผลทางคอมพิวเตอร์ ซึ่งเป็นการเลียนแบบระบบการเรียนรู้ในสมองมนุษย์

ในงานทางด้านจุลชีววิทยา ANNs ถูกนำมาใช้เพื่อ วิเคราะห์ข้อมูลที่มีหลายๆ ตัวแปร และสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ เพื่อประมวลผลความหลากหลายทางชีววิทยา โดยตัวอย่างการใช้งานของ ANNs เช่น การแปรผลการวิเคราะห์จาก Gas Chromatography (GC) และ High Performances Liquid Chromatography (HPLC) โดยใช้ในลักษณะข้อมูล input เป็นชนิดของสาร ประเภทคอลลอยด์ที่ใช้ Carrierที่ใช้ อุณหภูมิ และเวลา เป็นต้น อีกทั้งยังมีการใช้ ANNs เพื่อการจดจำรูปแบบโครงสร้างของโปรตีนของ DNA, RNA (กลุ่มอะมิโนที่เรียงต่อกันในสายของ DNA หรือ RNA) และ รูปแบบภาพ จาก microscope เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีการใช้ ANNs เพื่อการทำนายการเติบโตของจุลินทรีย์ การเพิ่มมวล อายุการเก็บของผลิตภัณฑ์อาหาร และ ใช้ระบุชนิด หรือประเภทจุลชีพ โดยมีปัจจัยมาจาก สารอาหาร สูตรอาหาร และ ความเป็นกรด - ด่าง เป็นต้น

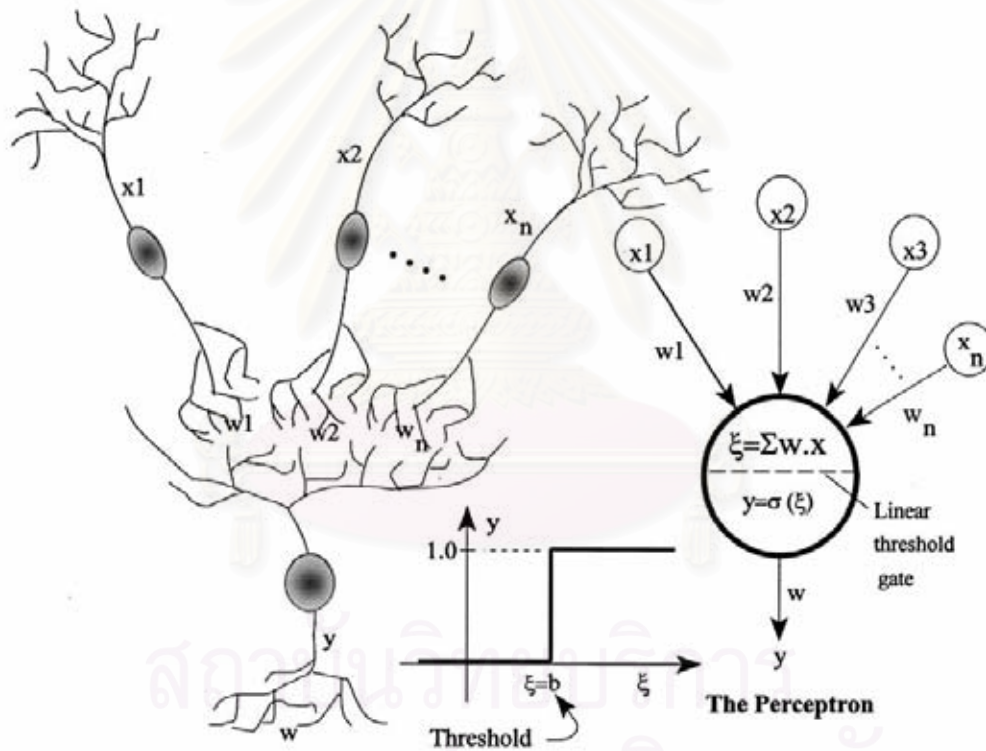
ANNs มีแนวคิดเริ่มต้นของเทคนิคนี้ได้มาจากการศึกษาข่ายงานไฟฟ้าชีวภาพ (bioelectric network) ในสมอง ซึ่งประกอบไปด้วย

- i ) เซลล์ประสาท หรือ นิวรอน (Neurons หรือ Cell body) – ซึ่งมี Dendrites , Cell body หรือ Soma และ Axon (ดังแสดงในรูป 2.16 (a))
- ii ) จุดประสานประสาท (Synapses) – ที่จะมี synaptic gap ให้ Neurotransmitter ผ่านจากเซลล์ประสาทหนึ่งไปยังอีกเซลล์ประสาทหนึ่ง (ดังแสดงในรูป 2.16 (b))
- iii) ข่ายงานประสาทที่เกิดจากการเชื่อมต่อระหว่างเซลล์ประสาท (ดังแสดงในรูปที่ 2.17)





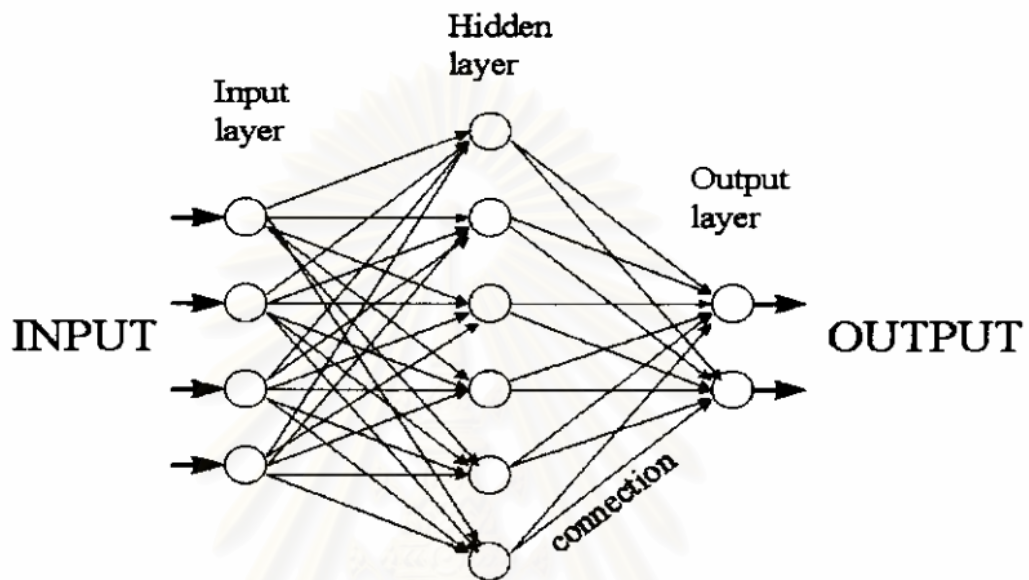
รูปที่ : 2.16 โครงสร้างเซลล์ประสาท(a) และ จุดประสานประสาท(b)  
ที่มา : Basheer and Hajmeer (2000)



รูปที่ : 2.17 เปรียบเทียบลักษณะเซลล์ประสาท และ ข่ายงานประสาทเทียม(ANNs)  
ที่มา : Basheer and Hajmeer, (2000)

จากรูปที่ 2.17 แสดงถึงลักษณะการทำงานของเซลล์ประสาทเปรียบเทียบกับระบบ  
ข่ายงานประสาทเทียม สามารถเปรียบเทียบได้ว่า เมื่อเซลล์ประสาทรับสัญญาณมาทาง  
เส้นประสาท Axon ส่งผ่านไปยัง ตัวเซลล์ Soma(แสดงด้วยสัญลักษณ์วงกลม) และ ส่งผ่าน

ออกไปยังเซลล์ต่อไปคือ dendrite ไปยังเซลล์ ต่อไป ในขณะที่ ANNs นั้นมีการรับตัวแปรที่เป็น  $X_1, X_2, \dots, X_n$  เข้ามา และผ่านไปยังตัว node ประสาทเทียม ซึ่งมีการรวบรวมตัวแปรที่ปรับด้วย Weight ต่างๆ ( $W_1, W_2, W_3, \dots, W_n$ ) แล้วส่งไปผ่าน Transfer function เพื่อแปลงค่าแล้วส่งออกไปยัง node อื่นต่อไป ดังรูปที่ 2.18



รูปที่ 2.18 การทำงานของระบบข่ายงานประสาทเทียม

ที่มา : Brion and Lingireddy, (1999)

โดยระบบนี้เป็นการจัดเรียงตัวกันโดยลักษณะที่เป็นอนุกรมเซลล์ประสาท ประกอบไปด้วยสามส่วนหลักๆ คือ

ระบบประสาทในชั้นแรก (Input layer)

ทำหน้าที่ ต่อเชื่อมกับตัวแปรต่าง ๆ (เช่น ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH), อุณหภูมิ, เกลือ)

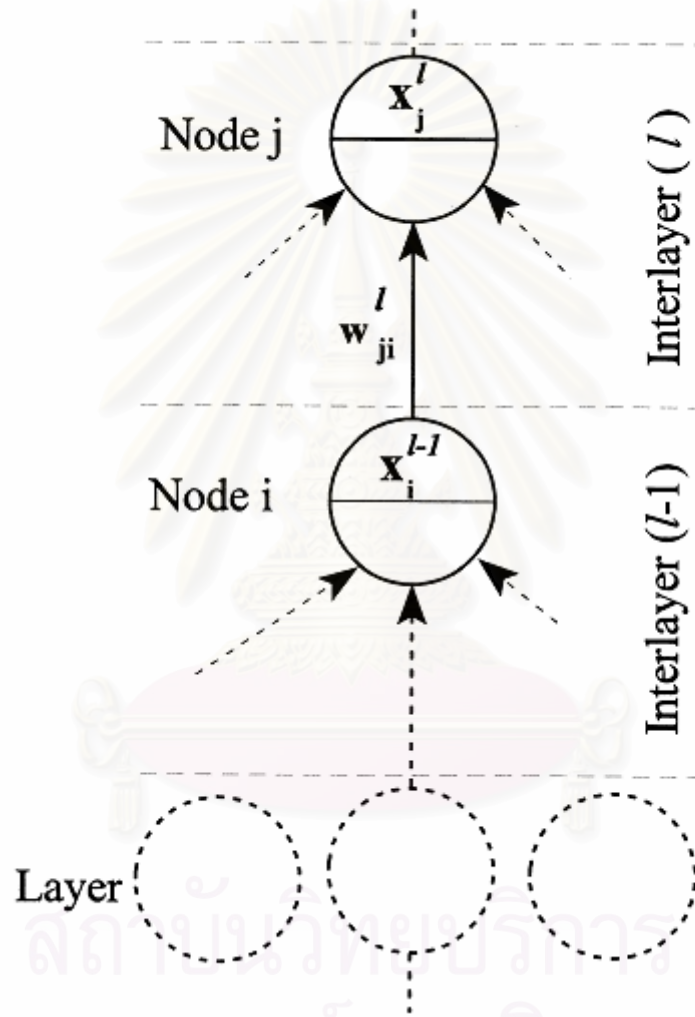
ระบบประสาทในชั้นที่สอง (hidden layer)

ทำหน้าที่ รับตัวแปลงข้อมูล โดยผ่านฟังก์ชัน (function) ในชั้นนี้จะมีการรับเข้ามาของข้อมูล และ ส่งต่อออกไปโดยมีการใช้ฟังก์ชัน (เรียกว่า Transfer function หรือ Activation function) เช่น

- sigmoidal function
- arch-tangent (hyperbolic) function
- step function เป็นต้น

ระบบประสาทในชั้นที่สาม (output layer)

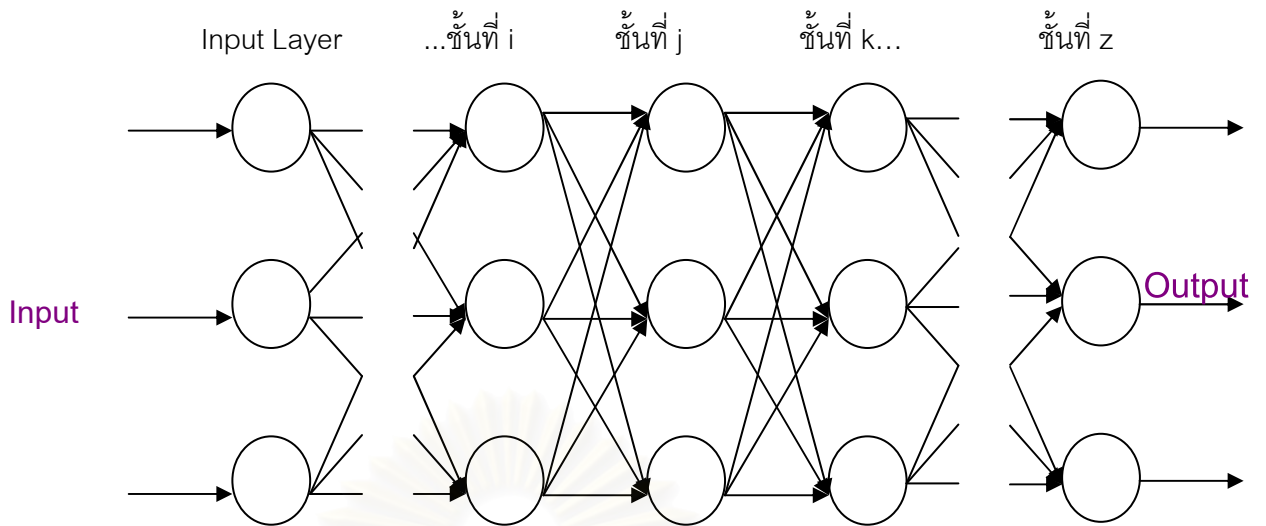
มีหน้าที่รวมค่าต่างๆ แล้วใช้ activation function แปลงเป็นค่าผลลัพธ์ออกมา โดย ในระหว่างชั้นของตัวแปรที่แตกต่างกัน มีการเชื่อมต่อโดยมีตัวแปรหรือ weight ที่เป็นสัมประสิทธิ์ในแบบจำลองทางคณิตศาสตร์เมื่อเริ่มรับตัวแปรตลอดจนประมวลผลให้ได้ผลลัพธ์ ดังรูปที่ 2.19 ซึ่งค่า weight นั้น คือ  $w_{ji}$  ที่เป็นค่าสัมประสิทธิ์ของการส่งผ่านข้อมูลเข้าสู่ตัวแปรชุดต่อไป (ตัวอย่างการสร้างระบบข่ายประสาทเทียมพิจารณาได้ดัง ภาคผนวก จ.)



รูปที่ : 2.19 การทำงานของระบบ ANNs เมื่อพิจารณาทีละ unit ของ Hidden node

ที่มา : Basheer และ Hajmeer, (2000)

เมื่อรวมเป็นหลายๆ unit และมีการทำงานกันอย่างเป็นระบบจะเรียกว่าเป็นการใช้ลักษณะแบบ backpropagation algorithm. (Garcia-Gimeno, Hervas-Martinez and de Silloniz, 2002; Zhang, Patuwo and Hu, 1995) ดังรูปที่ 2.20



รูปที่ 2.20 รูปแบบ Back-propagation neural network ขั้นตอนของ Back-propagation

Algorithm

ที่มา : ดัดแปลงจาก Brion and Lingireddy, (1999)

ระบบข่ายงานประสาทเทียมแบบ Backpropagation (BP) นั้นเป็นแบบ Multilayer propagation ที่ประกอบด้วย 3 ชั้น(ตามที่ได้กล่าวมาข้างต้น) เป็นระบบที่นิยมนำมาใช้ในการสร้างแบบจำลองข่ายงานประสาทเทียมจากข้อมูลที่มีหลายปัจจัยหรือ หลายตัวแปร (Rumelhart, Hinton and Williams, 1986; Hassoun, 1995)

การสร้างระบบ BP นั้นจะต้องมีขั้นตอนดังนี้

1) การ Normalized data - เป็นการจัดการข้อมูลเบื้องต้นเพื่อให้อยู่ในช่วงค่าที่กำหนดทั้งนี้เพราะเป็นการป้องกันไม่ให้ค่าตัวแปรที่มีค่ามากกว่ามีความสำคัญกว่าค่าตัวแปรที่น้อยกว่า (Overriding) ซึ่งการ Normalized data นั้นจะเป็นการแปลงค่าให้อยู่ในช่วงที่กำหนด ดังสูตรตัวอย่างนี้

$$X_i = \lambda_1 + (\lambda_2 - \lambda_1) \left( \frac{Z_i - Z_{i-min}}{Z_{i-max} - Z_{i-min}} \right) \dots\dots\dots(4)$$

- เมื่อ  $X_i$  = ค่าตัวแปร i แปลงค่า
- $\lambda_1$  และ  $\lambda_2$  = ช่วงค่าที่ต้องการแปลง เช่น [0,1]
- $Z_i$  = ค่าตัวแปร i ที่ต้องการแปลงค่า
- $Z_{i-min}$  = ค่าตัวแปรที่ต่ำที่สุดที่ตัวแปร i
- $Z_{i-max}$  = ค่าตัวแปรที่มากที่สุดที่ตัวแปร i

2) การกำหนด Learning rate - เป็นการกำหนดอัตราการเรียนรู้ของระบบ ข่ายงานประสาทเทียมเพื่อให้ระบบมีเวลาในการเรียนรู้กับข้อมูลและตัวแปรที่ป้อนเข้าสู่ระบบโดยปกติจะมีการกำหนดให้อยู่ที่ระดับ 0.0 – 1.0 (Fu, 1995)

3) การใช้ Transfer (หรือ activation) function – เป็นสิ่งจำเป็นในการรวมค่า weight ที่ได้จากตัวแปรต่างๆ ส่งผ่านระบบประสาทแต่ละส่วน และส่งต่อไปยัง output layer โดย activation function นั้นมีอยู่มากมายจึงจำเป็นต้องเลือกให้เหมาะกับลักษณะของข้อมูลที่มี เช่น

i ) Sigmoid : เป็นฟังก์ชันที่เหมาะสมกับข้อมูลที่ไม่มีค่าติดลบ โดยมีช่วงการแปลงข้อมูลอยู่ระหว่าง 0 และ 1

$$f(x) = \left( \frac{1}{1+e^{-x}} \right) \dots\dots\dots(5)$$

ii ) Tanh หรือ Hyperbolic tangents : เป็นฟังก์ชันที่เหมาะสมกับข้อมูลที่มีทั้งค่าบวกและลบ โดยมีช่วงการแปลงข้อมูลอยู่ระหว่าง -1 และ 1

$$f(x) = \left( \frac{e^x - e^{-x}}{e^x + e^{-x}} \right) \dots\dots\dots(6)$$

iii ) Sine หรือ cosine : เป็นฟังก์ชันที่เหมาะสมกับข้อมูลที่มีลักษณะเป็นรอบ (cycle)

$$f(x) = \sin(x) \text{ หรือ } f(x) = \cos(x) \dots\dots(7)$$

iv ) Linear : เป็นฟังก์ชันที่เหมาะสมกับข้อมูลที่มีลักษณะการแปรผันโดยตรง

$$f(x) = x \dots\dots\dots(8)$$

4) การกำหนด Hidden node – มีความสำคัญต่อการสร้างระบบเพราะมีผลต่อค่าความแตกต่าง (error) จากค่าทำนายและค่าจริงที่ใช้ในการทำนาย โดยถ้าค่า hidden node มีค่าสูงอาจทำให้การทำนายค่าของระบบข่ายประสาทเทียมมี error สูง

5) การกำหนด criteria ของ out put – เป็นการประเมิน performance ของระบบข่ายประสาทเทียมที่สร้างขึ้นซึ่งเป็นการพิจารณา error ที่เกิดขึ้นจากค่าจริงและค่าทำนายที่ได้ซึ่งมีอยู่ด้วยกันหลายแบบเช่น ให้ค่าความแตกต่างน้อยกว่า 0.001 หรือ 0.01 จากผลการคำนวณโดยใช้สมการทางคณิตศาสตร์ดังต่อไปนี้

$$i ) \text{ Sum Square Error (SSE)} = \sum (e_i)^2 \dots\dots\dots(9)$$



$$\text{ii) Mean Square Error (MSE)} = \sum [(e_i)^2 / N] \dots(10)$$

$$\text{iii) Root Mean Square Error (RMSE)} = \sqrt{\text{MSE}} \dots\dots(11)$$

$$\text{iv) Regression (R}^2\text{)} = 1 - \sum \left\{ \frac{[e_i]^2}{(X_o - \bar{X}_o)^2} \right\} \dots\dots\dots(12)$$

เมื่อ  $e_i$  = ผลต่างระหว่างค่าจริงและค่าทำนายจากระบบ

$X_o$  = ค่าจากการสังเกต

$\bar{X}_o$  = ค่าเฉลี่ยจากค่าการสังเกต

$N$  = จำนวนข้อมูล

6) กำหนดสัดส่วนข้อมูลระหว่างข้อมูลที่ใช้เพื่อทำการ Train (สร้างระบบ ANNs) และ Test (ทดสอบระบบ ANNs) – เนื่องจากระบบ ANNs นี้เป็นการสร้างแบบจำลองที่มาจากข้อมูลและตัวแปรที่กำหนดเป็น Input ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการกำหนดช่วงข้อมูลที่จะให้ระบบสร้างขึ้นโดยส่วนใหญ่สัดส่วนข้อมูลที่ใช้ของการ Train ต่อ การ Test นั้นจะใช้ที่สัดส่วน 70 : 30 หรือ 80 : 20 แล้วจึงพิจารณาผล SSE ที่เป็นค่าความแตกต่าง (Error) ระหว่างค่าจริงหรือค่าสังเกตที่ได้จากการทดลอง (หรือ Observe) และ ค่าที่ได้จากการทำนายด้วยระบบ ANNs (หรือ Predict) นั้นจะต้องมีค่าที่ต่ำที่สุด (โดยขึ้นกับการยอมรับของแต่ละงานวิจัย) และหรือค่า  $R^2$  ที่เป็นการบ่งบอกความสัมพันธ์ระหว่างค่าจริง และ ค่าจากการทำนาย ในเชิงเส้นตรงโดยค่า  $R^2$  นั้นจะต้องมีค่าที่สูงที่สุดที่ได้จากทั้งส่วน Train และ Test (Basheer and Hajmeer, 2000)

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## บทที่ 3

### การดำเนินงานวิจัย

#### 3.1 วัตถุประสงค์

ผักสลัดที่ใช้ในการศึกษานั้นมีทั้งสิ้น 4 ชนิดได้แก่ ผักกาดหอม(Lettuce) มะเขือเทศราชินี(Tomato) ข้าวโพดอ่อน(Baby corn) และ ถั่วแดงหลวง(Kidney bean) ซึ่งเก็บตัวอย่างจาก Supermarket แห่งหนึ่งในประเทศไทย โดยควบคุมอุณหภูมิให้ต่ำกว่าที่  $< 10^{\circ}\text{C}$  (ในกล่องโฟม) ส่วนถั่วแดงหลวงนั้นอยู่ในกระป๋องปิดสนิทเก็บ ณ อุณหภูมิห้องปกติ (ประมาณ  $25-30^{\circ}\text{C}$ ) โดยในขั้นตอนการศึกษากการอยู่รอดของจุลินทรีย์หลังการแช่ผักนั้นจะเลือกผักมาศึกษา 2 ชนิด ได้แก่ ผักกาดหอม และ มะเขือเทศ ส่วนในขั้นตอนการศึกษากการเติบโตของจุลินทรีย์นั้นจะศึกษาในตัวอย่างผักสลัดทั้งสิ้น 4 ชนิดอันได้แก่ ผักกาดหอม มะเขือเทศ ข้าวโพดอ่อน และ ถั่วแดงหลวง

#### 3.2 สารเคมีและอาหารวิเคราะห์จุลินทรีย์

- 3.2.1 Sodium hypochlorite (10% w/w NaOCl; Vittayasom Sriracha Co., Ltd.)
- 3.2.2 Pexania 2005 (5% w/w Peracetic acid; Prematech Co., Ltd.)
- 3.2.3 Butterfield's phosphate buffered water ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$  pH~7.2; Merck)
- 3.2.4 Plate count agar (PCA; Merck)
- 3.2.5 Lauryl sulphate broth (Merck)
- 3.2.6 Brilliant green lactose bile broth (BGLB; Oxoid)
- 3.2.7 Nutrient agar (NA; Meeck)
- 3.2.8 *Escherichia coli* broth (EC broth; Merck)
- 3.2.9 Eosin methylene blue agar (EMB; Merck)
- 3.2.10 Tryptic soy broth (TSB; Oxoid)
- 3.2.11 Peptone water (Merck)
- 3.2.12 Violet red bile agar (VRBA; Oxoid)
- 3.2.13 Violet red bile agar with 4-methyl-umbelliferyl- $\beta$ -D-glucuronide (VRBA-MUG; Oxoid)

#### 3.3 อุปกรณ์ในการทดลอง

- 3.3.1 บีเปตขนาด 5 ml.

- 3.3.2 กาละมังขนาด บรรจุน้ำ 1 Liter
- 3.3.3 ถูงพลาสติก
- 3.3.4 ถูงพลาสติกวิเคราะห์ตัวอย่าง (Sterilized plastic bag; Bangkok Sciences Co.,Ltd.)
- 3.3.5 หม้อสำหรับต้มน้ำขนาด ความจุ 1 Liter
- 3.3.6 มีด
- 3.3.7 เขียง
- 3.3.8 ตู้เย็นควบคุมอุณหภูมิ (ช่วง 5 – 25 °C)
- 3.3.9 เครื่องชั่งน้ำหนัก (Mettler Toledo AG2000)
- 3.3.10 เครื่องวัดอุณหภูมิแบบปากกา (Thermometer รุ่น TG01)
- 3.3.11 เครื่องติดตามความชื้นสัมพัทธ์และอุณหภูมิ (Data logger ยี่ห้อ 'Wire' รุ่น DS140D-DR8)

### 3.4 อุปกรณ์ในการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์

- 3.4.1 Autoclave (Hirayama ; HVE-50)
- 3.4.2 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven; Memmert; ULM500)
- 3.4.3 ตู้บ่มจุลินทรีย์ (Incubator; Incubator; Memmert 600)
- 3.4.4 เครื่อง Microwave (Panasonic, NN-S215MF)
- 3.4.5 ช้อนตักสาร (Spatula)
- 3.4.6 ขวดปรับปริมาตร ขนาด 1,000 ml (Volumetric flask)
- 3.4.7 กระบอกตวงขนาด 100 ml (Cylinders )
- 3.4.8 บีกเกอร์ขนาด 100 และ 50 ml (Beaker)
- 3.4.9 แท่งแก้ว (Stiring rod)
- 3.4.10 หลอดทดลองและฝาปิด ขนาด 20 ml (Test tube)
- 3.4.11 แท่งเหล็กปลายเข็มสำหรับเขี่ยจุลินทรีย์ (Needle)
- 3.4.12 แท่งเหล็กปลายกลมสำหรับเขี่ยจุลินทรีย์ (Loop)
- 3.4.13 ปิเปต(Pipette) ขนาด 1 5 และ 10 ml
- 3.4.14 ขวดรูปชมพู่(Erlenmeyer flask) ขนาด 500 ml
- 3.4.15 สำลี (Cotton)
- 3.4.16 กระดาษฟอยล์ (Foil)
- 3.4.17 จานเพาะจุลินทรีย์ (Petridish หรือ Plate)

- 3.4.18 ขวดสเปรย์แอลกอฮอล์ (Spray alcohol bottle)
- 3.4.19 ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Alcohol lamp)
- 3.4.20 ปากคีบ (Forceps)
- 3.4.21 กระบอกน้ำกลั่น หรือ ขวดฉีดน้ำกลั่น (Distilled water inject bottle)
- 3.4.22 เครื่องผสมสารให้เป็นเนื้อเดียวกัน (Vortex)
- 3.4.23 Micro- pipette 1000 – 1 ไมโครลิตร (Mettler Toledo)
- 3.4.24 Waterbath (FENWAL; AR-L) ช่วงอุณหภูมิ 35 – 45 °C
- 3.4.25 หลอด UV ที่ให้ช่วงคลื่นแสง 366 นาโนเมตร (Merck)
- 3.4.26 ตู้ปลอดเชื้อ Vertical Laminar Flow (Bosstech; HV120s)

### 3.5 สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการเคมี กายภาพ และ จุลชีววิทยา บริษัทโรงงานผลิตภัณฑ์อาหารไทย จำกัด, จ. นครปฐม.

### 3.6 วิธีการทดลอง

#### 3.6.1 การศึกษาการอยู่รอดของจุลินทรีย์บนผัก หลังการแช่ในสารฆ่าเชื้อ

##### 3.6.1.1 การแยกจุลินทรีย์ TPC, Coliform และ *E. coli* จากผักกาดหอมและผลมะเขือเทศราชินี

- 1) ชั่งตัวอย่างผักกาดหอม หรือ มะเขือเทศราชินี  $25 \pm 1$  กรัม ใส่ลงในถุง (Sterilized plastic bag) ใส่ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate buffer) 225 ml เขย่าขัดถูทั่วผิวนาน 2-3 นาที (Rinsing Method)
- 2) ปิเปตสารละลายในข้อ 1) ปริมาตร 1 ml ใส่ใน PCA สำหรับการวิเคราะห์ จุลินทรีย์โดยรวม (Total Plate Count) แล้วบ่มที่ 35 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และ 1 ml ใส่ใน Lauryl sulfate broth สำหรับการวิเคราะห์จุลินทรีย์โคลิฟอร์ม (Coliforms) และ *E. coli* แล้วบ่มที่ 35 °C 48 ชั่วโมง โดยเมื่อเกิดฟองก๊าซในหลอด durham tube นั้น Coliforms จะต้องยีสันผลโดยใช้ BGLB ส่วน *E. coli* ยีสันผลโดยใช้ EC broth (ดังวิธีการของ US FDA (2001b) ซึ่งมีรายละเอียดการวิเคราะห์ภาคผนวก ก. )

- 3) เมื่อได้จุลินทรีย์โดยรวม (TPC) จึงเลือก colony ที่มีลักษณะหรือสีที่แตกต่างกัน 10 colony มา Streak ลงใน Nutrient agar slant (NA slant) ส่วน Coliforms และ *E. coli* นั้นสามารถ inoculate จาก Media BGLB และ EC broth แล้ว Streak ลงใน NA slant ได้ทันที
- 4) นำ NA slant ของ TPC, coliforms และ *E. coli* ที่ Streak เรียบร้อยแล้วไปบ่มในตู้บ่มจุลินทรีย์ ที่อุณหภูมิ  $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 24 – 48 ชั่วโมง ก่อนนำไปเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ  $\leq 10^{\circ}\text{C}$  เพื่อใช้เป็น Stock culture ต่อไป
- 5) จุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดก่อนนำไปใช้ทดลองจะต้องมีการเลี้ยงให้เจริญใน TSB ก่อน โดยการเติมจุลินทรีย์ลงไป ใน sterilized TSB 50 ml และบ่มที่  $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 24 – 48 ชั่วโมง ซึ่งจุลินทรีย์จะมีปริมาณ  $10^6 - 10^7$  cfu/ml

#### 3.6.1.2 การเตรียมตัวอย่างผัก

- 1) การคัดเลือกผักตัวอย่าง - ผักกาดหอม คัดเลือกเฉพาะใบที่มีลักษณะดี คือ ไม่แก่ ไม่ช้ำ ไม่อ่อนมาก และเอาแกนกลางออก  
- มะเขือเทศราชินี คัดเลือกผลที่ดี คือ ไม่มีร่องรอยการถูกกัด เจาะด้วยแมลง และเด็ดขั้วออก
- 2) การล้างผักตัวอย่าง - นำใบผักกาดหอมและ ผลมะเขือเทศราชินี ล้างน้ำประปาด้วยอัตราเร็ว 0.1 ลิตร ต่อ นาที และสะบัดน้ำออกให้น้ำออกมาที่สุด และปล่อยให้แห้งอย่างน้อย 60 นาที
- 3) ชั่งตัวอย่าง ผักกาดหอม หรือ มะเขือเทศราชินี  $50 \pm 1$  กรัม สำหรับเติมจุลินทรีย์ต่อไป โดยมะเขือเทศ และ ใบผักกาดหอมสามารถหั่นใส่ถุงพลาสติกที่ปราศจากจุลินทรีย์เตรียมไว้หรือเติมเชื้อต่อไป

#### 3.6.1.3 การเติมจุลินทรีย์ลงบนใบผักกาดหอมและผลมะเขือเทศราชินี

- 1) นำ loop เชี่ยวลงไป ใน NA-slant จุลินทรีย์ TPC แล้ว inoculate ลงไป ใน TSB แล้วจึงนำไปบ่ม ที่อุณหภูมิ  $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 24 – 48 ชั่วโมง ใส่ในหลอดทดลอง หลอดละ 2 ml สำหรับที่จะใส่ในผักกาด ส่วนมะเขือเทศนั้นสามารถบีบเปิด จุลินทรีย์ใส่ลงในถุงใส่ตัวอย่างได้ทันที และเขย่าให้จุลินทรีย์กระจายโดยทั่วผิวของผลมะเขือเทศราชินี



- 2) ปิเปต Peptone water (sterilized) 8 ml ใส่ลงไปในหลอดทดลองที่มีจุลินทรีย์ TPC อยู่แล้ว 2 ml จากนั้นนำไปทำให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วย เครื่องผสม Vortex
- 3) เมื่อสารละลายในข้อ 2) เป็นเนื้อเดียวกันให้ใส่ลงไปในขวดหัวฉีด Spray และ ฉีดพ่นจุลินทรีย์ลงไปให้ทั่วใบทั้ง 50 กรัม ของใบผักกาด แล้วทิ้งไว้ให้แห้งประมาณ 60 นาทีก่อนนำไปแช่สารฆ่าเชื้อ สำหรับมะเขือเทศราชินีให้ เปิดถุงปล่อยให้แห้ง อย่างน้อย 60 นาทีเช่นกันจึงนำไปแช่ในสารฆ่าเชื้อ ต่อไป
- 4) ตรวจสอบปริมาณจุลินทรีย์ที่อยู่ใน TSB ด้วยดั่งข้อ 3.6.1.5 โดยใช้สารละลายใน TSB ปริมาณ 1 ml
- 5) สำหรับจุลินทรีย์ coliforms และ *E. coli* ก็ปฏิบัติเช่นเดียวกัน

#### 3.6.1.4 การเตรียมสารฆ่าเชื้อ

- 1) คลอรีน เตรียมจากสารละลาย โซเดียมไฮโปคลอไรท์ ที่มีคามเข้มข้นเริ่มต้น 10% (w/w) (เทียบเท่า 100,000 ppm) ให้มีความเข้มข้นเป็น 25 50 และ 75 ppm โดยแต่ละความเข้มข้นเตรียมในปริมาณ 500 ml
- 2) กรดเปอร์อะซิติก เตรียมจากสารละลาย Perxania 2005 ที่มีความเข้มข้นเริ่มต้น 5% (w/w)(เทียบเท่า 50,000 ppm) ของกรดเปอร์อะซิติกโดยทำให้มีความเข้มข้นเป็น 30 40 และ 50 ppm โดยแต่ละความเข้มข้นเตรียมปริมาณ 500 ml

#### 3.6.1.5 การศึกษาการอยู่รอดของจุลินทรีย์หลังการแช่สารฆ่าเชื้อ

- 1) นำผักที่เติมจุลินทรีย์แล้วมาแช่ในสารฆ่าเชื้อ ข้อ 3.6.1.4 และจับเวลา 10 นาที
- 2) เมื่อครบเวลา 10 นาที นำตัวอย่างออกมา สะบัดน้ำให้แห้ง
- 3) สำหรับ TPC วิเคราะห์โดยใช้ PCA (ตามภาคผนวก ก.)
- 4) สำหรับ Coliforms วิเคราะห์โดยใช้ VRBA (ตามภาคผนวก ก.)
- 5) สำหรับ *E. coli* วิเคราะห์โดยใช้ VRBA-MUG (ตามภาคผนวก ก.)

ออกแบบการทดลองแบบ CRD (Complete Randomized Designs) โดยทำการทดลอง 30 ซ้ำ รายงานผลการทดลองเป็น  $\log_{10}$  cfu/g วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ(ANOVA) และทดสอบความแตกต่างโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS

### 3.6.1.6 การประมาณค่าจุลินทรีย์ที่อยู่รอดหลังการแช่ในสารฆ่าเชื้อ โดยใช้ ANNs

- 1) กำหนดรูปแบบการทำนาย และการประมาณค่า และข้อมูลเข้า (Input) และ ข้อมูลขาออก (Output) เช่น ต้องการให้จุลินทรีย์สุดท้าย (Output) ขึ้นกับ ความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ ชนิดของสารฆ่าเชื้อ หรือ และ ชนิดของผักที่ใช้ทดลอง (Input) เป็นต้น
- 2) แปลงค่าเชิงปริมาณเป็นค่าทางตรรกะ เช่น ชนิดของผัก โดยผักกาดให้ = 1 มะเขือเทศให้ = 2 เป็นต้น
- 3) แปลงค่าข้อมูลให้อยู่ในระดับเดียวกัน หรือ การ Normalized data ตามสูตร ที่ (4) ในบทที่ 2
- 4) เขียนโปรแกรมโดยใช้โปรแกรม MATLAB V2007b โดยกำหนด Hidden node, Activation function แบ่งสัดส่วนข้อมูลซึ่งในการศึกษานี้ใช้สัดส่วนข้อมูล 70 : 30 สำหรับการ Train และ Test ตามลำดับ (ตามภาคผนวก ฉ)
- 5) RUN โปรแกรมโดยเลือกค่า  $R^2$  (Regression) ที่สูงที่สุด และ MSE (Mean square error), SSE (Sum square error) ที่ได้จากการ TEST แล้วได้ค่าต่ำที่สุด แล้วจึงเก็บ net work นั้นไว้เพื่อใช้ในการพิสูจน์ระบบต่อไป
- 6) พิสูจน์ความใช้ได้ของ ระบบข่ายงานประสาทเทียม (Validation ANNs model) โดยทำการทดลองซ้ำ 2 ซ้ำในแต่ละชนิดจุลินทรีย์ (24 ข้อมูล)

### 3.6.2 การศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาต่อการเจริญของจุลินทรีย์

3.6.2.1 การแยกจุลินทรีย์ TPC, Coliform และ *E. coli* จาก ผักข้าวโพดอ่อน (ส่วน ผักกาด และ มะเขือเทศ นั้นใช้จุลินทรีย์ชุดเดิมจากการศึกษาในข้อ 3.6.1)

- 1) ชั่งตัวอย่างข้าวโพดอ่อน  $25 \pm 1$  กรัม ใส่ลงในถุง (Sterilized plastic bag) ใส่บัฟเฟอร์ (Phosphate buffer) 225 ml เขย่าขจัดฟุ้งัวพื้นผิว นาน 2-3 นาที
- 2) บีบสารละลายในข้อ 1) ปริมาตร 1 ml สำหรับการวิเคราะห์ จุลินทรีย์โดยรวม (Total Plate Count) และ 1 ml สำหรับการวิเคราะห์ จุลินทรีย์โคลิฟอร์ม (Coliforms) และ *E. coli* (ดั่งวิธีการของ US FDA (2001b) ซึ่งมีรายละเอียดการวิเคราะห์ ภาคผนวก ก.)
- 3) เมื่อได้จุลินทรีย์โดยรวม (TPC) จึงเลือกลักษณะ colony หรือ สี colony ที่แตกต่างกัน 10 colony มา Streak ลงใน Nutrient agar slant (NA slant) ส่วน coliforms และ *E. coli* นั้นสามารถ inoculation จาก Media BGLB และ EC broth แล้ว Streak ลงใน NA slant ได้ทันที
- 4) นำ NA slant ของ TPC, coliforms และ *E. coli* ที่ Streak เรียบร้อย แล้วไปบ่มในตู้บ่มจุลินทรีย์ ที่อุณหภูมิ  $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 24 – 48 ชั่วโมง ก่อนนำไปเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ  $\leq 10^{\circ}\text{C}$
- 5) จุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดก่อนนำไปใช้ทดลองจะต้องมีการเลี้ยงให้เจริญเติบโตใน TSB ก่อน โดยการเติมจุลินทรีย์ลงไป ใน sterilized TSB 50 ml และบ่มที่  $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 24 – 48 ชั่วโมง ซึ่งจุลินทรีย์จะมีปริมาณ  $10^6 - 10^7$  CFU/ml

### 3.6.2.2 การเตรียมตัวอย่างผัก

- 1) การคัดเลือกผักตัวอย่าง - ผักกาดหอม คัดเลือกเฉพาะใบที่มีลักษณะดี คือ ไม่แก่ ไม่ช้ำ ไม่อ่อนมาก และเอาแกนกลางออก
  - มะเขือเทศราชินี คัดเลือกผลที่ดี คือ ไม่มีร่องรอยการถูกกัด เจาะด้วยแมลง และเด็ดขั้วออก
  - ข้าวโพดอ่อน ตัดแต่งผักข้าวโพดอ่อน โดยตัดขั้วปลายด้านล่างและปลายยอดฝักออก แล้วผ่าครึ่ง
  - ถั่วแดงหลวง เป็นถั่วแดงในกระป๋องแช่น้ำเกลือ จึงต้องเปิดกระป๋องด้วยวิธี Aseptic (ระวังการปนเปื้อนจุลินทรีย์จากอุปกรณ์และมือที่ใช้เปิด)

2) การล้างผักตัวอย่าง - ผักกาดหอม มะเขือเทศราชินี และ ข้าวโพดอ่อน ปฏิบัติตามขั้นตอน 3.6.1.2

- ถั่วแดงหลวง ให้ถ่ายออกใส่กะละมังล้างน้ำประปา ด้วยอัตราเร็ว 0.1 ลิตร เป็นเวลาประมาณ 5 นาที (หรือจนกว่าจะหมดฟองและน้ำในกะละมังใสไม่ขุ่น) จากนั้นผึ่งให้แห้ง (ระวังการปนเปื้อน ควรอยู่ในห้องที่สะอาด)

3) การเตรียมตัวอย่าง – ผักกาดหอมให้ปฏิบัติตามข้อ 3.6.1.3 แล้วจึงแช่ในสารฆ่าเชื้อ คลอรีนที่ความเข้มข้น 75 ppm และกรดเปอร์อะซิติกที่ความเข้มข้น 40 ppm เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นจึงนำมาสะบัดให้น้ำออกมาที่สุด แล้วผึ่งให้แห้ง(อย่างน้อย 60 นาที) ชั่ง  $50 \pm 1$  กรัม เตรียมไว้ใส่จุลินทรีย์ต่อไป

- ผลมะเขือเทศราชินี ให้ปฏิบัติตามข้อ 3.6.1.3 เช่นกันแล้วแช่ในสารฆ่าเชื้อ คลอรีนที่ความเข้มข้น 75 ppm และกรดเปอร์อะซิติก ที่ความเข้มข้น 40 ppm เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นจึงนำมาสะบัดให้น้ำออกมาที่สุด แล้วผึ่งให้แห้ง(อย่างน้อย 60 นาที) ชั่ง  $50 \pm 1$  กรัม เตรียมไว้ใส่จุลินทรีย์ต่อไป

- ถั่วแดงหลวง ให้เตรียมชั่งใส่ถุงที่ปราศจากจุลินทรีย์น้ำหนัก  $50 \pm 1$  กรัม สำหรับทดลอง และ อีก  $50 \pm 1$  กรัม สำหรับชุดควบคุม

- ข้าวโพดอ่อน หลังจากการล้างให้นำไปต้มที่อุณหภูมิน้ำเดือด ( $100^{\circ}\text{C}$ ) จับเวลา 5 นาที แล้วจึงนำไปแช่ในน้ำเย็น 3 ลิตร ที่ปราศจากจุลินทรีย์และใส่เกลือปริมาณ 15 กรัม แล้วจึงสะเด็ดน้ำออก ผึ่งให้แห้ง ก่อนชั่งใส่ถุงพลาสติกที่ปราศจากจุลินทรีย์ โดยแบ่ง  $50 \pm 1$  กรัม สำหรับทดลอง และ อีก  $50 \pm 1$  กรัม สำหรับชุดควบคุม

### 3.6.2.3 การเติมจุลินทรีย์ลงในตัวอย่างผัก

1) นำ loop เขี่ยลงไปใน NA-slant จุลินทรีย์ TPC แล้ว inoculate ลงไปใน TSB แล้วจึงนำไปบ่ม ที่อุณหภูมิ  $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 24 – 48 ชั่วโมงแล้วมาใส่ในหลอดทดลอง หลอดละ 1 ml สำหรับที่จะใส่ในผักกาด มะเขือเทศ และ ข้าวโพดอ่อน ส่วน ถั่วแดงหลวง นั้น (ให้ใช้ Mix-culture ของจุลินทรีย์จากมะเขือเทศราชินี ผักกาดหอมและ

ข้าวโพดอ่อน inoculated ลง TSB และบ่มตามวิธีข้างต้น) สามารถ  
 ปิเปต จุลินทรีย์ใส่ลงในถุงใส่ตัวอย่างได้ทันที และเขย่าให้จุลินทรีย์  
 กระจายโดยหัวผิวของผลมะเขือเทศราชินี

- 2) ปิเปต Peptone water (sterilized) 9 ml ใส่ลงไปในหลอดทดลองที่มี  
 จุลินทรีย์ TPC อยู่แล้ว 1 ml จากนั้นนำไปทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน  
 ด้วย เครื่องผสม Vortex
- 3) เมื่อสารละลายในข้อ 2) เป็นเนื้อเดียวกันให้ใส่ลงไปในขวดหัวฉีด  
 Spray และ ฉีดพ่นจุลินทรีย์ลงไปให้ทั่วใบทั้ง 50 กรัม ของใบผักกาด  
 แล้วทิ้งไว้สักพัก (ประมาณ 15 นาที) ก่อนแยกตัวอย่างไปเก็บที่  
 อุณหภูมิ 10 °C และ 22 °C
- 4) สำหรับชุดควบคุมของถั่วแดงหลวงและข้าวโพดอ่อนไม่ต้องเติม  
 จุลินทรีย์ลงไป (และให้ระวังการปนเปื้อน)
- 5) สำหรับจุลินทรีย์ coliforms และ *E. coli* ก็ปฏิบัติเช่นกัน

#### 3.6.2.4 การศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาต่อการเจริญของจุลินทรีย์

- 1) นำผักที่ใส่จุลินทรีย์แล้วไปแยกเก็บที่ อุณหภูมิ 10 °C และ 22 °C
- 2) สำหรับชั่วโมงแรก (ชั่วโมงที่ 0) จะเก็บตัวอย่างทันทีหลังจากใส่  
 จุลินทรีย์ลงในผักชนิดต่างๆ แล้ว
- 3) เก็บตัวอย่างที่เวลา 2 4 และ 8 ชั่วโมงของทุกตัวอย่าง รวมทั้งชุด  
 ควบคุมที่ไม่ได้เติมจุลินทรีย์ด้วย
- 3) สำหรับ TPC วิเคราะห์โดยใช้ media PCA (ตามภาคผนวก ก.)
- 4) สำหรับ Coliforms วิเคราะห์โดยใช้ media VRBA (ตามภาคผนวก  
 ก.)
- 5) สำหรับ *E. coli* วิเคราะห์โดยใช้ media VRBA-MUG (ตาม  
 ภาคผนวก ก.)
- 6) สำหรับมะเขือเทศราชินีและผักกาดหอมออก แบบการทดลองแบบ  
 แฟคทอเรียล ออกแบบการทดลองแบบแฟคทอเรียล 2x2x4 ใน  
 แผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (2x2x4  
 Factorial in CRD) ปัจจัยในการทดลอง คือ 1) วิธีการเตรียมผัก  
 โดยใช้สารฆ่าเชื้อ 2 ชนิด อุณหภูมิการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ 2  
 ระดับ และ 3) เวลาที่แตกต่างกัน 4 เวลา ทำการทดลอง 10 ซ้ำ  
 สำหรับถั่วแดงหลวงและข้าวโพดอ่อน ออกแบบการทดลองแบบ



แพคทอเรียล  $2 \times 2 \times 4$  ในแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design ( $2 \times 2 \times 4$  Factorial in CRD) ปัจจัยในการทดลอง คือ 1) วิธีการเตรียมผักสลัด 2 ทั้งชนิด 2) อุณหภูมิในการเติบโตของจุลินทรีย์ 2 ระดับ และ 3) เวลาที่แตกต่างกัน 4 เวลาทำการทดลอง 10 ชั่วโมง รายงานผลการทดลองเป็น  $\log_{10}$  cfu/g จากนั้นวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS

### 3.6.2.5 การประมาณค่าจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตในตัวอย่างผักสลัด โดยใช้ ANNs

- 1) กำหนดรูปแบบการทำงาน และการประมาณค่า และข้อมูลเข้า (Input) และ ข้อมูลขาออก (Output) เช่น ต้องการให้จุลินทรีย์สุดท้าย (Output) ขึ้นกับ อุณหภูมิ เวลา ชนิดของสารฆ่าเชื้อ หรือ และ ชนิดของผักที่ใช้ทดลอง (Input) เป็นต้น
- 2) แปลงค่าเชิงปริมาณเป็นค่าทางตรรกะ เช่น ชนิดของผัก โดยผักกาดให้ = 1 มะเขือเทศให้ = 2 ถั่วแดงหลวง = 3 และ หรือ ข้าวโพดอ่อน = 4 เป็นต้น
- 3) แปลงค่าข้อมูลให้อยู่ในระดับเดียวกัน หรือ การ Normalized data ตามสูตร ที่ (4) ในบทที่ 2
- 4) เขียนโปรแกรมโดยใช้โปรแกรม MATLAB V2007b โดยกำหนด Hidden node, Activation function และ แบ่งสัดส่วนข้อมูลซึ่งในการศึกษานี้ใช้สัดส่วนข้อมูล 70 : 30 สำหรับการ Train และ Test ตามลำดับ (ตามภาคผนวก ฉ)
- 5) RUN โปรแกรมโดยเลือกค่า  $R^2$  (Regression) ที่สูงที่สุด และ MSE (Mean square error), SSE (Sum square error) ที่ได้จากการ TEST แล้วได้ค่าต่ำที่สุด แล้วจึงเก็บ net work นั้นไว้เพื่อใช้ในการพิสูจน์ระบบต่อไป
- 6) พิสูจน์ความใช้ได้ของ ระบบข่ายงานประสาทเทียม (Validation ANNs model) โดยทดลองซ้ำ 1 ชั่วโมงในแต่ละชนิดจุลินทรีย์ (48 ชั่วโมง)

## บทที่ 4

### ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

#### 4.1 ผลการศึกษาการอยู่รอดของจุลินทรีย์บนผัก หลังการแช่ในการฆ่าเชื้อ (Effect of sanitizer)

เนื่องจากปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นของผักกาดหอมและมะเขือเทศราชินีมีความแตกต่างกัน ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องมีการล้างในน้ำที่ไหลผ่าน (running water) เพื่อเป็นการชะล้างสิ่งสกปรก และ ลดปริมาณจุลินทรีย์ลงไประดับหนึ่งก่อน โดยในน้ำที่ใช้ล้างนั้นจำเป็นต้องมีปริมาณจุลินทรีย์น้อยที่สุดเพื่อป้องกันการปนเปื้อน จึงต้องตรวจจุลินทรีย์ในน้ำประปาพบว่าไม่พบจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำประปา กล่าวคือ  $TPC = 0 \pm 0$  cfu/ml ,  $Coliforms = 0 \pm 0$  cfu/ml และ  $E. coli = 0 \pm 0$  cfu/ml (จากจำนวนทั้งสิ้น 45 ซ้อมูล) ในขณะที่คุณสมบัติทางด้านเคมีนั้นมีดังนี้ Residual Chlorine (Cl) =  $0.00 \pm 0.00$  ppm , Residual Ferric (Fe) =  $0.01 \pm 0.01$  ppm, Total Hardness =  $0.00 \pm 0.00$  ppm และ Total Dissolved Solid =  $306 \pm 63$  ppm เมื่อพิจารณาถึงประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อพบว่าเมื่อนำผลมะเขือเทศและใบผักกาดที่เติมจุลินทรีย์ลงไปแล้วและแช่ลงในน้ำเปล่าเพื่อเป็นชุดควบคุมนั้นพบว่าไม่มีความแตกต่างจากจุลินทรีย์เริ่มต้น (ดังแสดงใน ภาคผนวก ข.)

ปริมาณจุลินทรีย์ที่เติมลงไป (TPC, Coliforms, *E. coli*) มีประมาณ  $10^6$  cfu ( $6 \log_{10}$  cfu) โดยการใส่ จุลินทรีย์โดยรวม coliform และ *E. coli* ที่ปริมาณ  $10^6$  cfu ซึ่งถือได้ว่าเป็นปริมาณปกติที่สามารถพบได้ตามธรรมชาติของผักสดที่มีการรายงานอยู่ในช่วงระหว่าง  $10^5$ - $10^9$  cfu (Viswanathan และ Kaur, 2001)

##### 4.1.1 ผลการแช่ผักในสารฆ่าเชื้อ

เมื่อแช่ผักใน สารฆ่าเชื้อคลอรีน ที่ความเข้มข้น 25, 50 และ 75 ppm และ กรดเปอร์อะซิติก ที่ความเข้มข้น 30, 40 และ 50 ppm เป็นเวลา 10 นาที พบว่าจุลินทรีย์ TPC, Coliforms และ *E. coli* มีปริมาณที่ลดลง ดังผลแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ผลการทดลองแช่ **มะเขือเทศ** ในสารฆ่าเชื้อทั้งสองชนิดที่ความเข้มข้นที่ต่างกัน

Group of microorganism / Initial load ( $\log_{10}$ cfu/g) <sup>a</sup>	Type of sanitizing	concentration (ppm)	Residual microorganism ( $\log_{10}$ cfu/g)	Notice : compare all treatment with in group of microorganism
TPC 6.02 ± 0.67	Cl <sub>2</sub>	25	3.84 ± 0.57 <sub>a</sub>	a
		50	3.64 ± 0.70 <sub>a</sub>	a
		75	3.67 ± 0.80 <sub>a</sub>	a
	Peracetic acid	30	3.16 ± 1.11 <sub>a</sub>	b
		40	2.72 ± 1.04 <sub>ab</sub>	bc
		50	2.27 ± 1.13 <sub>b</sub>	c
Coliforms 6.34 ± 0.67	Cl <sub>2</sub>	25	3.71 ± 0.65 <sub>a</sub>	a
		50	3.22 ± 0.66 <sub>b</sub>	b
		75	3.22 ± 0.66 <sub>b</sub>	b
	Peracetic acid	30	2.66 ± 1.18 <sub>a</sub>	c
		40	2.30 ± 0.99 <sub>a</sub>	c
		50	2.41 ± 1.11 <sub>a</sub>	c
<i>E. coli</i> 6.23 ± 0.39	Cl <sub>2</sub>	25	3.96 ± 0.53 <sub>a</sub>	a
		50	3.56 ± 0.67 <sub>b</sub>	ab
		75	3.16 ± 0.76 <sub>c</sub>	b
	Peracetic acid	30	2.37 ± 1.17 <sub>a</sub>	c
		40	1.84 ± 1.46 <sub>a</sub>	cd
		50	1.75 ± 1.39 <sub>a</sub>	d

หมายเหตุ : a = ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ตัวอักษรที่แตกต่างกันใน column (แถบสีเดียวกัน) แสดงถึงระดับความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากตารางพบว่าในส่วนของจุลินทรีย์ทั่วไป (TPC) เมื่อใช้สารฆ่าเชื้อคลอรีนนั้นจุลินทรีย์ทั่วไปจะมีปริมาณลดลงจากปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นกล่าวคือลดลงจากประมาณ 6.0  $\log_{10}$  cfu/g เหลือเพียง ประมาณ 3.8 – 3.6  $\log_{10}$  cfu/g (ลดลง 2.1 - 2.3  $\log_{10}$  cfu/g) คือเมื่อใช้สารฆ่าเชื้อคลอรีนความเข้มข้น 25 ppm จะลดจุลินทรีย์จากปริมาณ 6.02 ± 0.67  $\log_{10}$  cfu/g เหลือ

ประมาณ  $3.84 \pm 0.57 \log_{10}$  cfu/g เมื่อใช้สารฆ่าเชื้อคลอรีนความเข้มข้น 50 ppm จะลด จุลินทรีย์จากจำนวนเริ่มต้น เหลือประมาณ  $3.64 \pm 0.70 \log_{10}$  cfu/g และเมื่อใช้สารฆ่าเชื้อ คลอรีนความเข้มข้น 75 ppm จะลด จุลินทรีย์เริ่มต้นเหลือประมาณ  $3.67 \pm 0.80 \log_{10}$  cfu/g ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) ต่อความเข้มข้นของคลอรีนที่ใช้ เมื่อใช้สาร ฆ่าเชื้อ กรดเปอร์อะซิติค TPC จะมีปริมาณลดลงจากปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นประมาณ  $6.0 \log_{10}$  cfu/g เหลือเพียง ประมาณ  $2.2 - 3.1 \log_{10}$  cfu/g (ลดลง  $2.8 - 3.7 \log_{10}$  cfu/g) กล่าวคือเมื่อ ใช้สารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติคความเข้มข้น 30 ppm จะลดจุลินทรีย์จากปริมาณ  $6.02 \pm 0.67 \log_{10}$  cfu/g เหลือประมาณ  $3.16 \pm 1.11 \log_{10}$  cfu/g เมื่อใช้สารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติค ความ เข้มข้น 40 ppm จะลดจุลินทรีย์จากจำนวนเริ่มต้นเหลือประมาณ  $2.72 \pm 1.04 \log_{10}$  cfu/g และ เมื่อใช้สารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติคความเข้มข้น 50 ppm จะลดจุลินทรีย์จากจำนวนเริ่มต้น เหลือ ประมาณ  $2.27 \pm 1.13 \log_{10}$  cfu/g ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมี ( $p \leq 0.05$ ) ต่อความเข้มข้น ของกรดเปอร์อะซิติคที่ใช้

เมื่อใช้สารฆ่าเชื้อ คลอรีน จุลินทรีย์กลุ่ม Coliforms จะมีปริมาณลดลงจากปริมาณ จุลินทรีย์เริ่มต้นประมาณ  $6.3 \log_{10}$  cfu/g เหลือเพียง ประมาณ  $3.7 - 3.2 \log_{10}$  cfu/g (ลดลง  $2.6 - 3.1 \log_{10}$  cfu/g) กล่าวคือเมื่อใช้สารฆ่าเชื้อคลอรีนความเข้มข้น 25 ppm จะลดจุลินทรีย์ จากปริมาณ  $6.34 \pm 0.67 \log_{10}$  cfu/g เหลือประมาณ  $3.71 \pm 0.65 \log_{10}$  cfu/g เมื่อใช้สารฆ่า เชื้อคลอรีนความเข้มข้น 50 ppm จะลดจุลินทรีย์จากจำนวนเริ่มต้น เหลือประมาณ  $3.22 \pm 0.66 \log_{10}$  cfu/g และเมื่อใช้สารฆ่าเชื้อคลอรีนความเข้มข้น 75 ppm จะลดจุลินทรีย์จากจำนวนเริ่มต้น เหลือประมาณ  $3.22 \pm 0.66 \log_{10}$  cfu/g ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ต่อ ความเข้มข้นของคลอรีนที่ใช้ เมื่อใช้สารฆ่าเชื้อ กรดเปอร์อะซิติค จุลินทรีย์กลุ่ม Coliforms จะมี ปริมาณลดลงจากปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นประมาณ  $6.3 \log_{10}$  cfu/g เหลือเพียง ประมาณ  $2.6 - 2.4 \log_{10}$  cfu/g (ลดลง  $3.7 - 4.0 \log_{10}$  cfu/g) กล่าวคือเมื่อใช้สารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติคความ เข้มข้น 30 ppm จะลดจุลินทรีย์จากปริมาณ  $6.34 \pm 0.67 \log_{10}$  cfu/g เหลือประมาณ  $2.66 \pm 1.18 \log_{10}$  cfu/g เมื่อใช้สารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติค ความเข้มข้น 40 ppm จะลดจุลินทรีย์จาก จากจำนวนเริ่มต้นเหลือประมาณ  $2.30 \pm 0.99 \log_{10}$  cfu/g และเมื่อใช้สารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะ ซิติคความเข้มข้น 50 ppm จะลดจุลินทรีย์จากจำนวนเริ่มต้นเหลือประมาณ  $2.41 \pm 1.11 \log_{10}$  cfu/g ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) ต่อความเข้มข้นของกรด เปอร์อะซิติคที่ใช้

ส่วนของ *E. coli* เมื่อใช้สารฆ่าเชื้อ คลอรีน จุลินทรีย์จะมีปริมาณลดลงจากปริมาณ จุลินทรีย์เริ่มต้นประมาณ  $6.2 \log_{10}$  cfu/g เหลือเพียง ประมาณ  $3.1 - 3.9 \log_{10}$  cfu/g (ลดลง  $2.3 - 3.1 \log_{10}$  cfu/g) คือเมื่อใช้สารฆ่าเชื้อคลอรีนความเข้มข้น 25 ppm จะลดจุลินทรีย์จากปริมาณ

6.23 ± 0.39 log<sub>10</sub> cfu/g เหลือประมาณ 3.96 ± 0.53 log<sub>10</sub> cfu/g เมื่อใช้สารฆ่าเชื้อคลอรีน ความเข้มข้น 50 ppm จะลดจุลินทรีย์จากจำนวนเริ่มต้นเหลือประมาณ 3.56 ± 0.67 log<sub>10</sub> cfu/g และเมื่อใช้สารฆ่าเชื้อคลอรีนความเข้มข้น 75 ppm จะลดจุลินทรีย์จากจำนวนเริ่มต้นเหลือประมาณ 3.16 ± 0.75 log<sub>10</sub> cfu/g ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ต่อความเข้มข้นของคลอรีนที่ใช้ เมื่อใช้สารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติก จุลินทรีย์จะมีปริมาณลดลงจากประมาณ 6.2 log<sub>10</sub> cfu/g เหลือเพียง ประมาณ 2.2 – 3.1 log<sub>10</sub> cfu/g (ลดลง 4.1 – 4.5 log<sub>10</sub> cfu/g) กล่าวคือเมื่อใช้สารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติกความเข้มข้น 30 ppm จะลดจุลินทรีย์จากปริมาณ 6.23 ± 0.39 log<sub>10</sub> cfu/g เหลือประมาณ 2.37 ± 1.17 log<sub>10</sub> cfu/g เมื่อใช้สารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติก ความเข้มข้น 40 ppm จะลดจุลินทรีย์จากจำนวนเริ่มต้นเหลือประมาณ 1.84 ± 1.46 log<sub>10</sub> cfu/g และเมื่อใช้สารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติกความเข้มข้น 50 ppm จะลดจุลินทรีย์จากจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นเหลือประมาณ 1.75 ± 1.39 log<sub>10</sub> cfu/g ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) ต่อความเข้มข้นของกรดเปอร์อะซิติกที่ใช้

โดยสรุปจากการทดลองนี้จะพบว่าสารฆ่าเชื้อคลอรีน จะลดปริมาณจุลินทรีย์ลงไปได้ประมาณ 2 – 3 log<sub>10</sub> cfu/g และกรดเปอร์อะซิติกนั้นจะลดจุลินทรีย์ลงไปได้ประมาณ 2 – 4 log<sub>10</sub> cfu/g ซึ่งมีงานวิจัยอื่นๆ ที่ได้ศึกษาไว้ดังนี้

จากงานทดลองของ Kim *et al.*(2006) ซึ่งได้ทดลองใช้สารฆ่าเชื้อคลอรีนที่ระดับความเข้มข้น 10 50 และ 100 ppm ในการลดปริมาณจุลินทรีย์ *Enterobacter sakazakii* บนผลมะเขือเทศพบว่าสามารถที่จะลดจุลินทรีย์ดังกล่าวได้ประมาณ 1 – 3 log<sub>10</sub> cfu/g และ Lang, Harris and Beuchat (2004) ได้ทดลองลดจำนวนจุลินทรีย์ *E. coli* O157:H7, *Salmonella* and *L. monocytogenes* บนผลมะเขือเทศ โดยใช้สารฆ่าเชื้อคลอรีนที่มีความเข้มข้น 200 ppm พบว่าสามารถลดจุลินทรีย์ดังกล่าวได้ >3.04, 4.00 และ >4.83 log<sub>10</sub> cfu/g ตามลำดับ Beuchat *et al.* (2001) พบว่าการใช้สารฆ่าเชื้อคลอรีน 200 ppm สามารถฆ่าจุลินทรีย์ *Salmonella* บนผลมะเขือเทศได้ถึง 3.07 log<sub>10</sub> cfu/g Zhuang *et al.* (1995) ได้อภิปรายผลไว้ว่าการใช้สารฆ่าเชื้อคลอรีนที่ความเข้มข้นมากกว่าหรือเท่ากับ 60 ppm จะสามารถลดจำนวนของ *Salmonella* Montevideo ได้อย่างมีนัยสำคัญ

ในขณะที่การใช้สารฆ่าเชื้อ ที่มีส่วนผสมของ กรดเปอร์อะซิติกนั้น ได้มีการทดลองไว้โดย Kim *et al.* (2006) ได้ทดลองใช้กรดเปอร์อะซิติกความเข้มข้น 40 และ 80 ppm ในการลดปริมาณจุลินทรีย์ *Enterobacter sakazakii* บนผลมะเขือเทศพบว่าสามารถลดจุลินทรีย์ดังกล่าวลงไปได้ 2.9 – 3.7 log<sub>10</sub> cfu/g Gonzalez *et al.* (2004) ได้ใช้กรดเปอร์อะซิติกความเข้มข้น 80 ppm ดจำนวนจุลินทรีย์ *E. coli* O157:H7 ในแครอทพบว่าสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ได้อย่างมีนัยสำคัญ และ Hilgren และ Salverda (2000) ได้ทดลองลดจุลินทรีย์ที่ใช้อากาศโดยใช้สารฆ่า



เชื้อชนิดนี้ ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกันในการลดจุลินทรีย์ในผัก คื่นช่าย (Celery), กะหล่ำปลี (Cabbage) และ มันฝรั่ง (Potatoes) พบว่าลดลงไปได้ 1.07, 0.84 และ 1.54  $\log_{10}$  cfu/g ตามลำดับ

ดังนั้นในรายงานการวิจัยต่างๆ ที่ได้กล่าวมา จะพบว่ามีการศึกษาการฆ่าเชื้อในผักหรือผลไม้ที่ต่างชนิดกันนั้นก็ลดปริมาณจุลินทรีย์ได้ในระดับที่แตกต่างกัน เช่นในการทดลองแช่มะเขือเทศในสารฆ่าเชื้อ คลอรีนและกรดเปอร์อะซิติกนี้ ก็พบว่าสามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ได้อยู่ในช่วง 2 - 4  $\log_{10}$  cfu/g ซึ่งพบว่าเป็นไปในทิศทางเดียวกัน

เมื่อแช่ผักกาดหอม สารฆ่าเชื้อคลอรีน ที่ความเข้มข้น 25, 50 และ 75 ppm และ กรดเปอร์อะซิติกความเข้มข้น 30, 40 และ 50 ppm ตามลำดับ เป็นเวลา 10 นาที พบว่าจุลินทรีย์ TPC, Coliforms และ *E. coli* มีปริมาณที่ลดลง ดังผลแสดงในตารางที่ 4.2



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.2 ผลการทดลองแช่ ผักกาดหอม ในสารฆ่าเชื้อทั้งสองชนิดที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน

Group of microorganism / Initial load ( $\log_{10}$ cfu/g) <sup>a</sup>	Type of sanitizing	concentration (ppm)	Residual microorganism ( $\log_{10}$ cfu/g)	Notice : compare all treatment with in group of microorganism
TPC 6.87 ± 0.24	Cl <sub>2</sub>	25	6.38 ± 0.27 <sub>a</sub>	a
		50	6.21 ± 0.23 <sub>b</sub>	a
		75	6.24 ± 0.28 <sub>b</sub>	a
	Peracetic acid	30	5.65 ± 0.46 <sub>a</sub>	b
		40	5.54 ± 0.42 <sub>a</sub>	bc
		50	5.43 ± 0.55 <sub>a</sub>	c
Coliforms 6.97 ± 0.65	Cl <sub>2</sub>	25	6.07 ± 0.35 <sub>a</sub>	a
		50	5.82 ± 0.37 <sub>b</sub>	ab
		75	5.59 ± 0.53 <sub>c</sub>	b
	Peracetic acid	30	4.92 ± 0.65 <sub>a</sub>	c
		40	4.69 ± 0.63 <sub>b</sub>	cd
		50	4.57 ± 0.47 <sub>b</sub>	d
<i>E. coli</i> 6.96 ± 0.39	Cl <sub>2</sub>	25	5.95 ± 0.39 <sub>a</sub>	a
		50	5.91 ± 0.34 <sub>a</sub>	ab
		75	5.67 ± 0.48 <sub>b</sub>	b
	Peracetic acid	30	4.83 ± 0.66 <sub>a</sub>	c
		40	4.63 ± 0.45 <sub>ab</sub>	cd
		50	4.49 ± 0.65 <sub>b</sub>	d

หมายเหตุ : a = ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ตัวอักษรที่แตกต่างกันใน column (แถบสีเดียวกัน) แสดงถึงระดับความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากตารางที่ 4.2 พบว่า TPC เมื่อใช้สารฆ่าเชื้อคลอรีนนั้นจุลินทรีย์ จะมีปริมาณลดลงจาก ปริมาณประมาณ 6.8  $\log_{10}$  cfu/g เหลือเพียง ประมาณ 6.2 – 6.3  $\log_{10}$  cfu/g (ลดลง 0.5 – 0.6  $\log_{10}$  cfu/g) คือเมื่อใช้สารฆ่าเชื้อคลอรีนความเข้มข้น 25 ppm จะลดจุลินทรีย์จากปริมาณ 6.87 ± 0.24  $\log_{10}$  cfu/g เหลือประมาณ 6.38 ± 0.27  $\log_{10}$  cfu/g เมื่อใช้สารฆ่าเชื้อคลอรีน

ความเข้มข้น 50 ppm จะลดจุลินทรีย์จากจำนวนเริ่มต้นเหลือประมาณ  $6.21 \pm 0.233 \log_{10}$  cfu/g และเมื่อใช้สารฆ่าเชื้อคลอรีนความเข้มข้น 75 ppm จะลดจุลินทรีย์จากจำนวนเริ่มต้นเหลือประมาณ  $6.24 \pm 0.28 \log_{10}$  cfu/g ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ต่อความเข้มข้นของคลอรีนที่ใช้ เมื่อใช้สารฆ่าเชื้อ กรดเปอร์อะซิติก TPC จะมีปริมาณลดลงจากปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นจากประมาณ  $6.8 \log_{10}$  cfu/g เหลือเพียง ประมาณ  $5.6 - 5.4 \log_{10}$  cfu/g (ลดลง  $1.2 - 1.4 \log_{10}$  cfu/g) กล่าวคือเมื่อใช้สารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติกความเข้มข้น 30 ppm จะลดจุลินทรีย์จากปริมาณ  $6.87 \pm 0.24 \log_{10}$  cfu/g เหลือประมาณ  $5.65 \pm 0.46 \log_{10}$  cfu/g เมื่อใช้สารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติก ความเข้มข้น 40 ppm จะลดจุลินทรีย์จากจำนวนเริ่มต้นเหลือประมาณ  $5.54 \pm 0.42 \log_{10}$  cfu/g และเมื่อใช้สารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติกความเข้มข้น 50 ppm จะลดจุลินทรีย์จากจำนวนเริ่มต้น เหลือประมาณ  $5.43 \pm 0.55 \log_{10}$  cfu/g ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ต่อความเข้มข้นของกรดเปอร์อะซิติกที่ใช้

เมื่อใช้สารฆ่าเชื้อคลอรีน จุลินทรีย์กลุ่ม Coliforms จะมีปริมาณลดลงจากปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นประมาณ  $6.9 \log_{10}$  cfu/g เหลือเพียง ประมาณ  $5.5 - 6.0 \log_{10}$  cfu/g (ลดลง  $0.9 - 1.4 \log_{10}$  cfu/g) กล่าวคือเมื่อใช้สารฆ่าเชื้อคลอรีนความเข้มข้น 25 ppm จะลดจุลินทรีย์จากปริมาณ  $6.97 \pm 0.65 \log_{10}$  cfu/g เหลือประมาณ  $6.07 \pm 0.35 \log_{10}$  cfu/g เมื่อใช้สารฆ่าเชื้อคลอรีนความเข้มข้น 50 ppm จะลดจุลินทรีย์จากจำนวนเริ่มต้นเหลือประมาณ  $5.82 \pm 0.37 \log_{10}$  cfu/g และเมื่อใช้สารฆ่าเชื้อคลอรีนความเข้มข้น 75 ppm จะลดจุลินทรีย์จากจำนวนเริ่มต้นเหลือประมาณ  $5.59 \pm 0.53 \log_{10}$  cfu/g ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ต่อความเข้มข้นของคลอรีนที่ใช้ เมื่อใช้สารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติกจุลินทรีย์กลุ่ม Coliforms จะมีปริมาณลดลงจากปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นประมาณ  $6.9 \log_{10}$  cfu/g เหลือเพียง ประมาณ  $4.9 - 4.5 \log_{10}$  cfu/g (ลดลง  $2.0 - 2.4 \log_{10}$  cfu/g) กล่าวคือเมื่อใช้สารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติกความเข้มข้น 30 ppm จะลดจุลินทรีย์จากปริมาณ  $6.97 \pm 0.65 \log_{10}$  cfu/g เหลือประมาณ  $4.92 \pm 0.65 \log_{10}$  cfu/g เมื่อใช้สารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติก ความเข้มข้น 40 ppm จะลดจุลินทรีย์จากจำนวนเริ่มต้น เหลือประมาณ  $4.69 \pm 0.63 \log_{10}$  cfu/g และเมื่อใช้สารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติกความเข้มข้น 50 ppm จะลดจุลินทรีย์จากจำนวนเริ่มต้นเหลือประมาณ  $4.57 \pm 0.47 \log_{10}$  cfu/g ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ต่อความเข้มข้นของกรดเปอร์อะซิติกที่ใช้

ส่วนของ *E. coli* เมื่อใช้สารฆ่าเชื้อ คลอรีน จุลินทรีย์จะมีปริมาณลดลงจากปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นกล่าวคือลดลงจากประมาณ  $6.9 \log_{10}$  cfu/g เหลือเพียง ประมาณ  $5.6 - 5.9 \log_{10}$  cfu/g (ลดลง  $1.0 - 1.3 \log_{10}$  cfu/g) กล่าวคือเมื่อใช้สารฆ่าเชื้อคลอรีนความเข้มข้น 25 ppm จะลดจุลินทรีย์จากปริมาณ  $6.96 \pm 0.39 \log_{10}$  cfu/g เหลือประมาณ  $5.95 \pm 0.39 \log_{10}$

cfu/g เมื่อใช้สารฆ่าเชื้อคลอรีนความเข้มข้น 50 ppm จะลดจุลินทรีย์จากจำนวนเริ่มต้น เหลือประมาณ  $5.91 \pm 0.34 \log_{10}$  cfu/g และเมื่อใช้สารฆ่าเชื้อคลอรีนความเข้มข้น 75 ppm จะลดจุลินทรีย์จากจำนวนเริ่มต้น เหลือประมาณ  $5.67 \pm 0.48 \log_{10}$  cfu/g ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ต่อความเข้มข้นของคลอรีนที่ใช้ เมื่อใช้สารฆ่าเชื้อ กรดเปอร์อะซิติก จุลินทรีย์จะมีปริมาณลดลงจากปริมาณประมาณ  $6.9 \log_{10}$  cfu/g เหลือเพียง ประมาณ  $4.4 - 4.8 \log_{10}$  cfu/g (ลดลง  $2.1 - 2.5 \log_{10}$  cfu/g) กล่าวคือเมื่อใช้สารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติกความเข้มข้น 30 ppm จะลดจุลินทรีย์จากปริมาณ  $6.96 \pm 0.39 \log_{10}$  cfu/g เหลือประมาณ  $4.83 \pm 0.66 \log_{10}$  cfu/g เมื่อใช้สารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติก ความเข้มข้น 40 ppm จะลดจุลินทรีย์จากจำนวนเริ่มต้นเหลือประมาณ  $4.63 \pm 0.45 \log_{10}$  cfu/g และเมื่อใช้สารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติกความเข้มข้น 50 ppm จะลดจุลินทรีย์จากจำนวนเริ่มต้นเหลือประมาณ  $4.49 \pm 0.65 \log_{10}$  cfu/g ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ต่อความเข้มข้นของกรดเปอร์อะซิติกที่ใช้

โดยสรุปจากการทดลองนี้จะพบว่าสารฆ่าเชื้อคลอรีน จะลดปริมาณจุลินทรีย์ลงไปได้ประมาณ  $0.4 - 1 \log_{10}$  cfu/g และกรดเปอร์อะซิติกนั้นจะลดจุลินทรีย์ลงไปได้ประมาณ  $1 - 2 \log_{10}$  cfu/g ซึ่งมีงานวิจัยอื่นๆ ที่ได้ศึกษาใกล้เคียงไว้ดังนี้

Kim et al. (2006) ซึ่งได้ทดลองใช้สารฆ่าเชื้อคลอรีนที่ระดับความเข้มข้น 10 50 และ 100 ppm ในการลดปริมาณจุลินทรีย์ *Enterobacter sakazakii* บนใบผักกาดหอมพบว่าสามารถที่จะลดจุลินทรีย์ดังกล่าวได้ประมาณ  $1 - 4 \log_{10}$  cfu/g Beuchat et al. (2004) ได้รายงานการใช้สารคลอรีนความเข้มข้น 100 ppm ในการลดจุลินทรีย์ *L. monocytogenes* บนผักกาด ซึ่งสามารถลดได้ถึง  $0.86 \log_{10}$  cfu/g Delaquis et al. (2002) ได้ศึกษาการล้างผักกาดหอมที่ผ่านการตัดแต่งแล้วในน้ำที่มีคลอรีน 100 ppm ต่อการกำจัด *E. coli* O157:H7 พบว่าสามารถปริมาณลงได้  $1 - 2 \log_{10}$  cfu/g และ Singh et al. (2002) ได้อภิปรายผลการทดลองไว้ว่าการล้างผักกาดด้วยน้ำที่มีสารคลอรีน ที่เวลา 10 นาทีจะทำให้ *Salmonella* ลดปริมาณลงถึง  $1.6 \log_{10}$  cfu/g ทั้งนี้ Beuchat (1999) ได้อภิปรายผลการทดลองไว้ว่าเมื่อนำจุลินทรีย์ *E. coli* O157:H7 ใส่ลงไปในผักกาดแล้วใช้สารคลอรีนที่มีความเข้มข้น 200 ppm ในการแช่ผักมากกว่า 1 นาทีจะทำให้ลดจุลินทรีย์ลงได้อย่างมีนัยสำคัญ

โดยในกรณีที่มีการใช้กรดเปอร์อะซิติกนั้น Kim et al. (2006) ได้ทดลองใช้ที่ระดับความเข้มข้น 40 และ 80 ppm (ณ เวลา 1 และ 5 นาที) ในการลดปริมาณจุลินทรีย์ *Enterobacter sakazakii* บนใบผักกาดหอมพบว่าสามารถที่จะลดจุลินทรีย์ดังกล่าวได้ประมาณ  $2 - 5 \log_{10}$  cfu/g โดย Beuchat, Adler and Lang (2004) พบว่าเมื่อใช้คลอรีนที่มีความเข้มข้นน้อยกว่า 100 ppm หรือ กรดเปอร์อะซิติกน้อยกว่าหรือเท่ากับ 80 ppm จะไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญต่อการลดลงของจำนวนจุลินทรีย์ ซึ่ง ได้ทดลองในการลดจุลินทรีย์ *L. monocytogenes*

ในผักตระกูลผักกาด ได้แก่ iceberg lettuce, shredded iceberg lettuce และ romaine lettuce. และ Smith *et al.*(2003) ได้ศึกษาผลการล้างด้วยสารฆ่าเชื้อที่มีส่วนผสมของกรดเปอร์อะซิติก ความเข้มข้น ประมาณ 60 ppm พบว่าสามารถลดจำนวน TPC ลงไปได้ประมาณ  $1-3 \log_{10}$  cfu/g ดังนั้นในรายงานการวิจัยต่างๆ ที่ได้กล่าวมา จะพบว่ามีการศึกษาการฆ่าเชื้อในผักหรือผลไม้ที่ต่างชนิดกันนั้นก็จะได้ลดปริมาณจุลินทรีย์ได้ในระดับที่แตกต่างกัน เช่นในการทดลองแช่ใบผักกาดหอมในสารฆ่าเชื้อ คลอรีนและกรดเปอร์อะซิติกนี้ ก็พบว่าสามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ได้อยู่ในช่วง  $0.4 - 2 \log_{10}$  cfu/g ซึ่งพบว่าเป็นไปในทิศทางเดียวกัน

จากการทดลองดังที่ผ่านมาจะพบว่าเมื่อเปรียบเทียบการใช้สารฆ่าเชื้อฆ่าเชื้อทั้งสามประเภทกับ สองชนิดสารฆ่าเชื้อที่แตกต่างกัน จะพบว่าสารฆ่าเชื้อ กรดเปอร์อะซิติกจะสามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ได้มากกว่าสารฆ่าเชื้อ คลอรีนอยู่ประมาณ 1 log.

จากการทดลองดังกล่าวจะพบว่าการที่ปริมาณจุลินทรีย์ที่หลงเหลือมีปริมาณที่แตกต่างกันบนผลมะเขือเทศ และผักกาดหอม นั้นเนื่องมาจากสาเหตุ สองประการคือ คุณลักษณะของผักที่แตกต่างกัน และชนิดสารฆ่าเชื้อที่ใช้ ซึ่งจะพบว่าเมื่อใช้สารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติกจะสามารถลดจุลินทรีย์ได้มากกว่าสารฆ่าเชื้อคลอรีน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากกลไกการทำงานของสารฆ่าเชื้อที่แตกต่างกัน โดยคลอรีนนั้นจะแทรกซึมและเข้าไปทำลายในส่วนของกลุ่มกรดอะมิโนในสายโปรตีนของเซลล์แบคทีเรียยังผลให้กระบวนการเมตาโบลิซึมของเซลล์เสื่อมสภาพไม่สามารถทำงานได้ทำให้เซลล์ตายในที่สุด ในขณะที่กรดเปอร์อะซิติกนั้นจะเข้าตรงทำลายในส่วนของโปรตีน และเอนไซม์ในเซลล์ ยังผลให้กระบวนการเมตาโบลิซึมของเซลล์หยุดลงไม่สามารถทำงานได้และเซลล์ตายในที่สุด (Denyer และ Stewart, 1998) อีกทั้งกรดเปอร์อะซิติกที่มีคุณสมบัติเป็น Strong oxidizing ยังสามารถทำลายชั้นผนังเซลล์ ไขมัน และโปรตีนของแบคทีเรียซึ่งเป็นอีกสาเหตุที่ทำให้เซลล์แบคทีเรียเกิดความเสียหาย (Ozkanca and Flint, 2002) โดย Denyer และ Stewart (1998) ยังให้การสนับสนุนถึงความสามารถของกรดเปอร์อะซิติกว่าสามารถที่จะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่สำคัญในกระบวนการเมตาโบลิซึม ยังผลให้เซลล์แบคทีเรียตายในที่สุด

เมื่อพิจารณาตามชนิดของผักพบว่าอาจจะเป็นในส่วนของพืชที่ไม่ชอบน้ำของใบผัก (hydrophobic) เช่นในส่วนที่มีพื้นผิวที่เรียบมัน (waxy) ซึ่งในส่วนนี้อาจจะมีผลต่อการแทรกซึมของสารละลายทำความสะอาดที่เข้าไปไม่ถึงทำให้จุลินทรีย์ยังคงอยู่รอดได้ (Adams, Hartlry and Cox, 1989, ; Beuchat, 1998) โดย Han *et al.*(2000) ได้กล่าวสรุปไว้ว่าการที่จุลินทรีย์ *E. coli* O157:H7 ได้ยึดเกาะอยู่บนพื้นผิวของผักนั้นเป็นผลมาจาก กลไกการเกิดการยึดติดที่มีผลมาจากส่วนที่ชอบน้ำของบริเวณที่เกิดความเสียหายของใบ (hydrophilic properties of the injured surfaces) โดยในส่วนที่เกิดความเสียหายนี้จะมี ความดึงดูดต่อบริเวณที่ชอบน้ำของเซลล์แบคทีเรียเช่นกัน จึงทำให้เกิดผลดีของการยึดติดของจุลินทรีย์ โดย Gleeson และ O'Beirne (2005) ได้



กล่าวไว้ว่าในหลายงานวิจัยได้มีการแสดงให้เห็นถึงว่า จุลินทรีย์ *E. coli* O157:H7 และ *Salmonella chester* จะเกาะบริเวณพื้นผิวที่มีการตัด หรือเนื้อเยื่อผักที่ถูกทำลายเป็นส่วนใหญ่ และพบน้อยมากที่บริเวณที่ไม่มีความเสียหายของพืชใบนั้นเพราะการที่มีสารอาหารและความชื้นเป็นสิ่งสำคัญต่อการเจริญของจุลินทรีย์ซึ่งสามารถพบได้ในส่วนของพื้นผิวที่เสียหายหรือถูกทำลายของพืชผักและผลไม้

#### 4.1.2 ผลจากการประมาณค่าจุลินทรีย์ที่อยู่รอดหลังการแช่ในสารฆ่าเชื้อ โดยใช้ ANNs

ผลจากการทดลอง Run Program Matlab เพื่อสร้างระบบ ANNs พบว่าได้ matrix ที่เหมาะสมสำหรับสร้างระบบเพื่อการทำนายค่าปริมาณจุลินทรีย์ที่เหลือรอดจากการแช่ผักในสารฆ่าเชื้อ คือ  $[360 \times 5]$  โดยได้ ความสัมพันธ์ ดังนี้

จุลินทรีย์สุดท้าย ขึ้นกับ จุลินทรีย์เริ่มต้น ชนิดผัก ชนิดสารฆ่าเชื้อ และ ความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ

หรือ

$$f(\text{จุลินทรีย์สุดท้าย}) = \left\{ \begin{array}{l} \text{จุลินทรีย์เริ่มต้น ชนิดผัก ชนิดสารฆ่าเชื้อ} \\ \text{ความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ} \end{array} \right\}$$

สามารถสร้างแบบจำลองได้ 3 แบบคือ

- แบบจำลอง ANNs สำหรับการประมาณค่าจุลินทรีย์ทั่วไปที่หลงเหลือในผัก (TPC)
- แบบจำลอง ANNs สำหรับการประมาณค่าจุลินทรีย์กลุ่มโคลิฟอร์มที่หลงเหลือในผัก (Coliforms)
- แบบจำลอง ANNs สำหรับการประมาณค่า *E. coli* ที่หลงเหลือในผัก

จากการทดลอง Run Program MATLAB เพื่อสร้างระบบข่ายงานประสาทเทียม(ANNs) โดยการทดลองแปร Hidden node กับ transfer function (หรือ activation function) ซึ่งผลการ Run Program ที่สร้างระบบ ANNs เพื่อเปรียบเทียบค่าที่ได้ระหว่างค่าจริงกับค่าจากการทำนายของระบบ ANNs นั้นสามารถแสดงและอธิบายผลได้ดังต่อไปนี้

#### 4.1.2.1 แบบจำลอง ANNs สำหรับการประมาณค่าจลนศาสตร์ทั่วไป (TPC) ที่หลงเหลือในผัก

จากการทดลองสร้างระบบ ANNs โดยแปร activation function และ Hidden node ได้ผลของค่า SSE ระหว่างค่าจริงและค่าทำนาย และ  $R^2$  ระหว่างค่าจริงและค่าทำนาย ของการ Train และ Test ด้วยข้อมูลจาก TPC ได้ผลดังตาราง 4.3 ต่อไปนี้

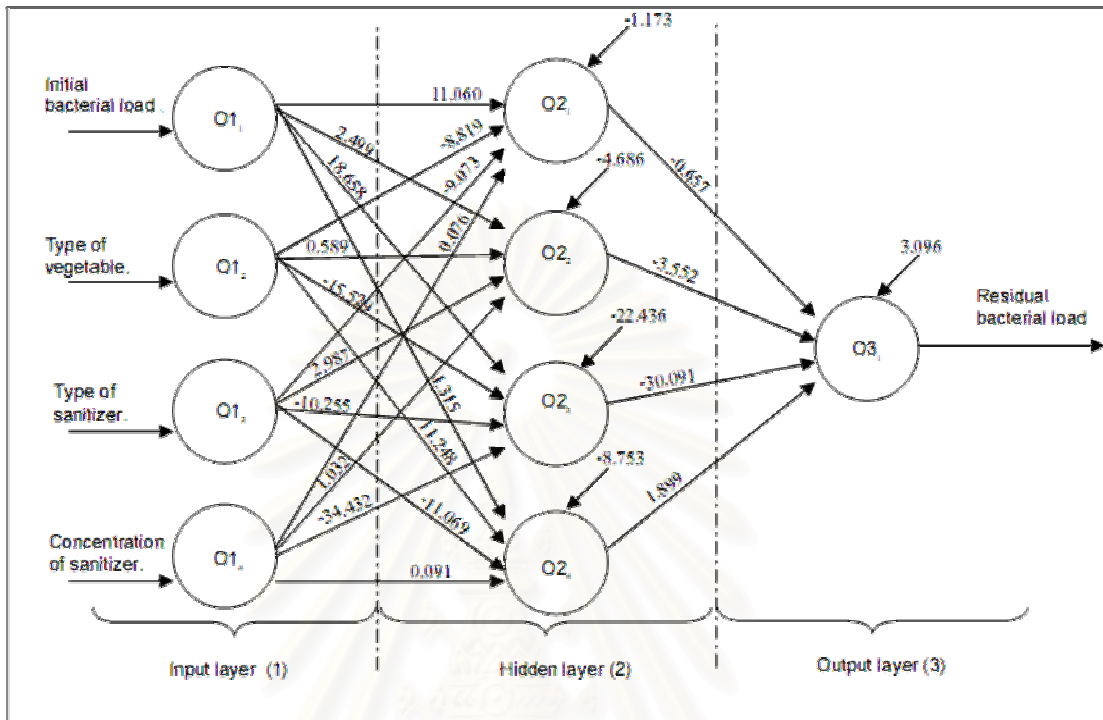
ตารางที่ 4.3 เปรียบเทียบ SSE และ  $R^2$  ของการ Train และ Test ของข้อมูล TPC (บนผักทั้ง 2 ชนิด) ที่ได้จากระบบ ANNs ที่แปร Hidden node และ transfer function โดยการ Run Program Matlab ที่ Learning Rate = 0.1

Hiden node	SSE				$R^2$			
	TRAIN		TEST		TRAIN		TEST	
	Tanh- Sigmoid	Sigmoid- Sigmoid	Tanh- Sigmoid	Sigmoid- Sigmoid	Tanh- Sigmoid	Sigmoid- Sigmoid	Tanh- Sigmoid	Sigmoid- Sigmoid
3	1.4520	1.2006	0.8134	0.8852	0.8623	0.8559	0.7373	0.7128
4	1.0966	1.4375	0.9864	<b>0.7226*</b>	0.8700	0.8304	0.6814	<b>0.7666*</b>
5	1.0863	1.4520	1.1994	0.8134	0.8718	0.8286	0.6126	0.7375

หมายเหตุ : \*ค่า SSE ที่ต่ำที่สุด และ ค่า  $R^2$  ที่สูงที่สุด

จากตาราง พบว่า SSE และ  $R^2$  ของข้อมูลช่วง Train และ Test เมื่อแปร transfer function และ จำนวน hidden node สามารถพิจารณาได้ดังนี้ คือในส่วนของการ Train โดยเปรียบเทียบระหว่าง transfer function ที่เป็น tanh- sigmoid และ sigmoid- sigmoid พบว่าค่า SSE ของทั้งสองฟังก์ชันอาจมีความแตกต่างกันอยู่บ้างเพียงเล็กน้อย (ประมาณ 0.2 – 0.3) แต่เมื่อพิจารณาที่ผลการ Test ซึ่งเป็นส่วนที่ network ไม่เคยพบมาก่อนปรากฏว่าค่า transfer function ของ sigmoid- sigmoid ให้ค่า SSE ที่ต่ำกว่า ค่า SSE ของ tanh- sigmoid ซึ่งอาจกล่าวได้ว่า เมื่อ network (Model) ถูกสร้างในขั้นตอน Train แล้ว นำมา Test กับข้อมูลที่ระบบไม่เคยพบมาก่อนนั้น สามารถทำนายได้โดยมีค่าความแตกต่างระหว่างค่าจริงและค่าทำนายโดยรวม (SSE) ต่ำที่สุด กล่าวคือมีความแม่นยำมากที่สุด โดยเมื่อเปรียบเทียบแล้วพบว่า sigmoid- sigmoid function จะให้ค่าที่มีค่าต่ำกว่า tanh-sigmoid function และเมื่อพิจารณาจาก Hidden node 3, 4 และ 5 จะพบว่าที่ Hidden node = 4 มีค่า SSE ของการ Test ต่ำที่สุดคือ 0.7226 และเมื่อพิจารณาค่า  $R^2$  (Linear regression - ซึ่งแสดงถึงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่าจริงและค่าทำนาย) จะพบว่าที่

Hidden node = 4 ของ sigmoid- sigmoid function จะให้ค่าที่ดีที่สุด หรือ สูงที่สุด คือ  $R^2 = 0.7666$  รูปที่ 4.1 แสดงระบบ ANNs สำหรับการทำนาย TPC ในผักตัวอย่างทั้งสองชนิด



รูปที่ 4.1 ระบบ ANNs สำหรับการทำนายจุลินทรีย์ TPC ของผักทั้งสองชนิด

#### 4.1.2.2 แบบจำลอง ANNs สำหรับการประมาณค่า coliforms ที่หลงเหลือในผัก

จากการทดลองสร้างระบบ ANNs โดยแปร activation function และ Hidden node ได้ผลของค่า SSE ระหว่างค่าจริงและค่าทำนาย และ  $R^2$  ระหว่างค่าจริงและค่าทำนาย ของการ Train และ Test ด้วยข้อมูลจาก Coliforms ได้ผลดังตาราง 4.4 ต่อไปนี้

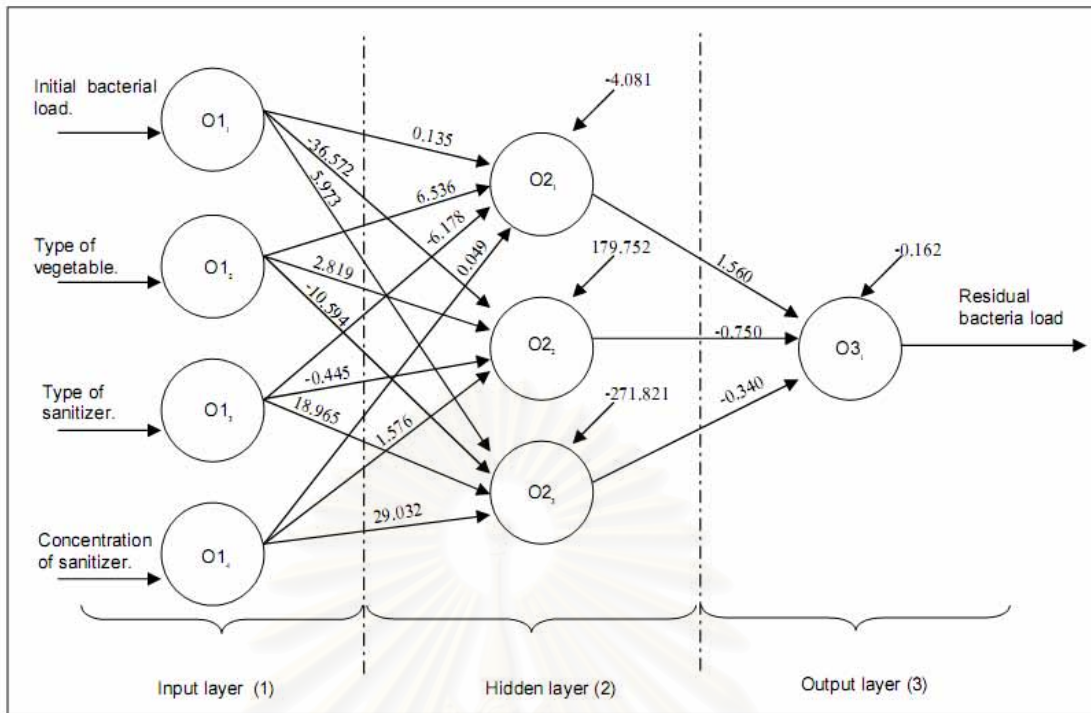
สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.4 เปรียบเทียบผล SSE และ  $R^2$  ของการ Train และ Test ของข้อมูล Coliforms (บนผัก ทั้ง 2 ชนิด) ที่ได้จากระบบ ANNs ที่แปร Hidden node และ transfer function โดยการ Run Program Matlab ที่ Learning Rate = 0.001

Hiden node	SSE				$R^2$			
	TRAIN		TEST		TRAIN		TEST	
	Tanh- Sigmoid	Sigmoid- Sigmoid	Tanh- Sigmoid	Sigmoid- Sigmoid	Tanh- Sigmoid	Sigmoid- Sigmoid	Tanh- Sigmoid	Sigmoid- Sigmoid
3	1.7686	1.6856	0.6195	<b>0.5040*</b>	0.7521	0.7638	0.8176	<b>0.8516*</b>
4	1.7384	1.6965	0.7385	0.6990	0.7564	0.7622	0.7826	0.7942
5	1.5707	1.6317	2.4830	0.9498	0.7799	0.7713	0.2689	0.7203

หมายเหตุ : \*ค่า SSE ที่ต่ำที่สุด และ ค่า  $R^2$  ที่สูงที่สุด

ตาราง 4.4 แสดงค่า SSE และ  $R^2$  ของข้อมูลช่วง Train และ Test เมื่อแปร transfer function และ จำนวน hidden node พบว่าผลจากการ Run ANNs ในส่วนของการ Train โดยเปรียบเทียบระหว่าง transfer function ที่เป็น tanh- sigmoid และ sigmoid- sigmoid พบว่าค่า SSE ของทั้งสองฟังก์ชันอาจมีความแตกต่างกันอยู่บ้างเพียงเล็กน้อย (ประมาณ 0.1 – 0.2) แต่เมื่อพิจารณาที่ผลการ Test ซึ่งเป็นส่วนที่ network ไม่เคยพบมาก่อนปรากฏว่าค่า transfer function ของ sigmoid- sigmoid ให้ค่า SSE ที่ต่ำกว่า ค่า SSE ของ tanh- sigmoid โดยเมื่อเปรียบเทียบแล้วพบว่า sigmoid- sigmoid function จะให้ค่าที่มีค่าต่ำกว่า tanh-sigmoid function และเมื่อพิจารณาจาก Hidden node 3, 4 และ 5 จะพบว่าที่ Hidden node = 3 มีค่า SSE ของการ Test ต่ำที่สุดคือ 0.5040 และเมื่อพิจารณาค่า  $R^2$  (Linear regression - ซึ่งแสดงถึงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่าจริงและค่าทำนาย) จะพบว่าที่ Hidden node = 3 ของ sigmoid- sigmoid function จะให้ค่าที่ดีที่สุดหรือสูงที่สุด คือ  $R^2 = 0.8516$  รูปที่ 4.2 แสดงระบบ ANNs สำหรับการทำนาย Coliform ในผักตัวอย่างทั้ง 2 ชนิด



รูปที่ 4.2 ระบบ ANNs สำหรับการทำนายจุลินทรีย์กลุ่ม Coliforms ของผักทั้งสองชนิด

4.1.2.3 แบบจำลอง ANNs สำหรับการประมาณค่า E. coli ที่หลงเหลือในผัก

จากการทดลองสร้างระบบ ANNs โดยแปร activation function และ Hidden node ได้ผลของค่า SSE ระหว่างค่าจริงและค่าทำนาย และ R<sup>2</sup> ระหว่างค่าจริงและค่าทำนาย ของการ Train และ Test ด้วยข้อมูลจาก E. coli ได้ผลดังตาราง 4.5 ต่อไปนี้

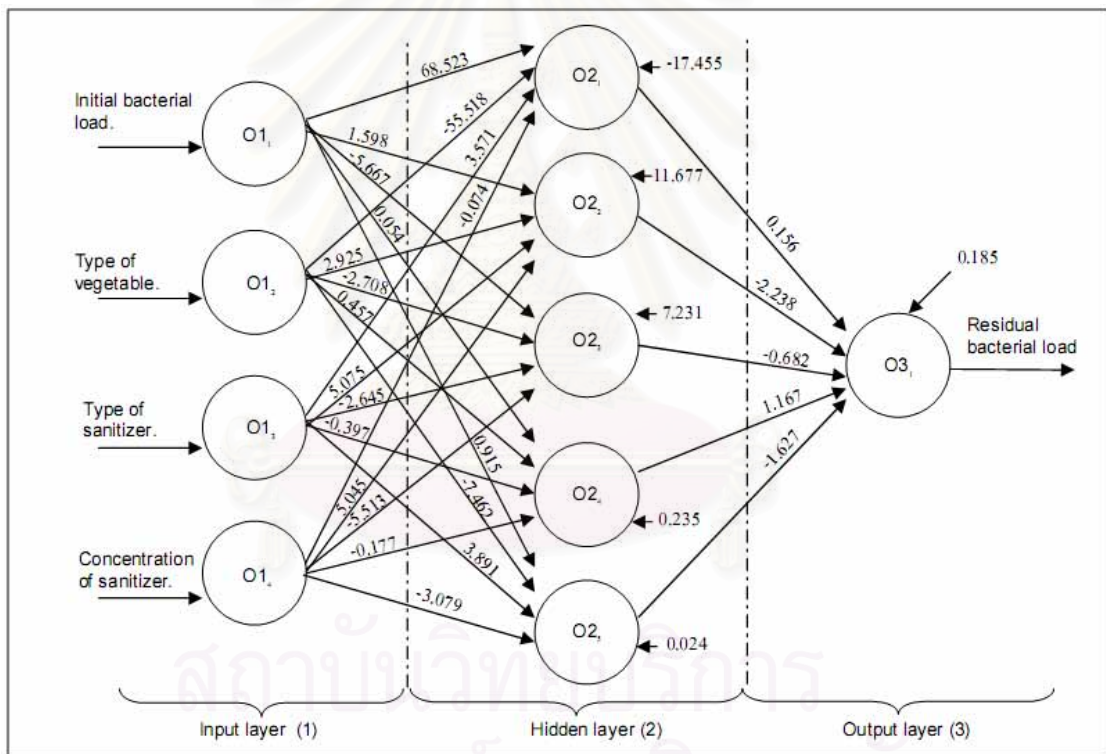
ตารางที่ 4.5 เปรียบเทียบผล SSE และ R<sup>2</sup> ของการ Train และ Test ของข้อมูล E. coli (บนผักทั้ง 2 ชนิด) ที่ได้จากระบบ ANNs ที่แปร Hidden node และ transfer function โดยการ Run Program Matlab ที่ Learning Rate = 0.1

Hiden node	SSE				R <sup>2</sup>			
	TRAIN		TEST		TRAIN		TEST	
	Tanh-Sigmoid	Sigmoid-Sigmoid	Tanh-Sigmoid	Sigmoid-Sigmoid	Tanh-Sigmoid	Sigmoid-Sigmoid	Tanh-Sigmoid	Sigmoid-Sigmoid
3	0.9260	0.9600	0.8533	0.8415	0.8199	0.8133	0.7205	0.7243
4	0.8363	0.9056	0.9203	0.8860	0.8374	0.8239	0.6985	0.7098
5	0.9466	0.7181	<b>0.8392*</b>	1.2595	0.8159	0.8604	<b>0.7251*</b>	0.5874

หมายเหตุ : \*ค่า SSE ที่ต่ำที่สุด และ ค่า R<sup>2</sup> ที่สูงที่สุด



ตาราง 4.5 แสดงค่า SSE และ  $R^2$  ของข้อมูลช่วง Train และ Test เมื่อแปร transfer function และ จำนวน hidden node พบว่าผลจากการ Run ANNs ในส่วนของการ Train โดยเปรียบเทียบระหว่าง transfer function ที่เป็น tanh- sigmoid และ sigmoid- sigmoid พบว่าค่า SSE เมื่อพิจารณาที่ผลการ Test ซึ่งเป็นส่วนที่ network ไม่เคยพบมาก่อนปรากฏว่าค่า transfer function ของ sigmoid- sigmoid ให้ค่า SSE ที่สูงกว่า ค่า SSE ของ tanh- sigmoid และเมื่อพิจารณาจาก Hidden node 3, 4 และ 5 จะพบว่าที่ Hidden node = 5 มีค่า SSE ของการ Test ต่ำที่สุดคือ 0.8392 และเมื่อพิจารณาค่า  $R^2$  (Linear regression - ซึ่งแสดงถึงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่าจริงและค่าทำนาย) จะพบว่าที่ Hidden node = 5 ของ sigmoid- sigmoid function จะให้ค่าที่ดีที่สุด(สูงที่สุด) คือ  $R^2 = 0.7251$  ดังรูปที่ 4.3 แสดงระบบ ANNs สำหรับการทำนาย *E. coli* ในผักตัวอย่างทั้งสองชนิด



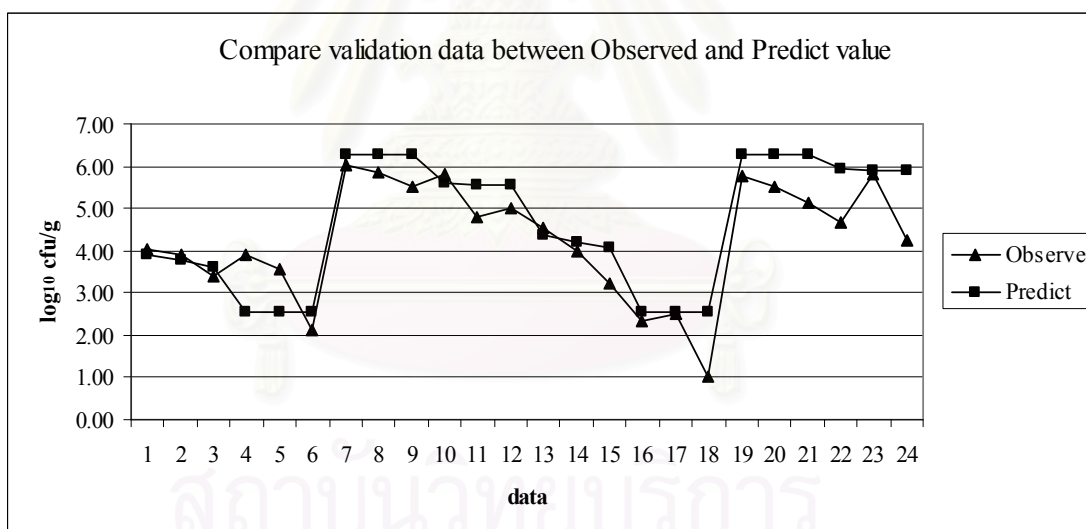
รูปที่ 4.3 ระบบ ANNs สำหรับการทำนายจุลินทรีย์กลุ่ม *E. coli* ของผักทั้งสองชนิด

#### 4.1.3 ผลการพิสูจน์ความใช้ได้ของ ระบบ ANNs (Validation ANNs)

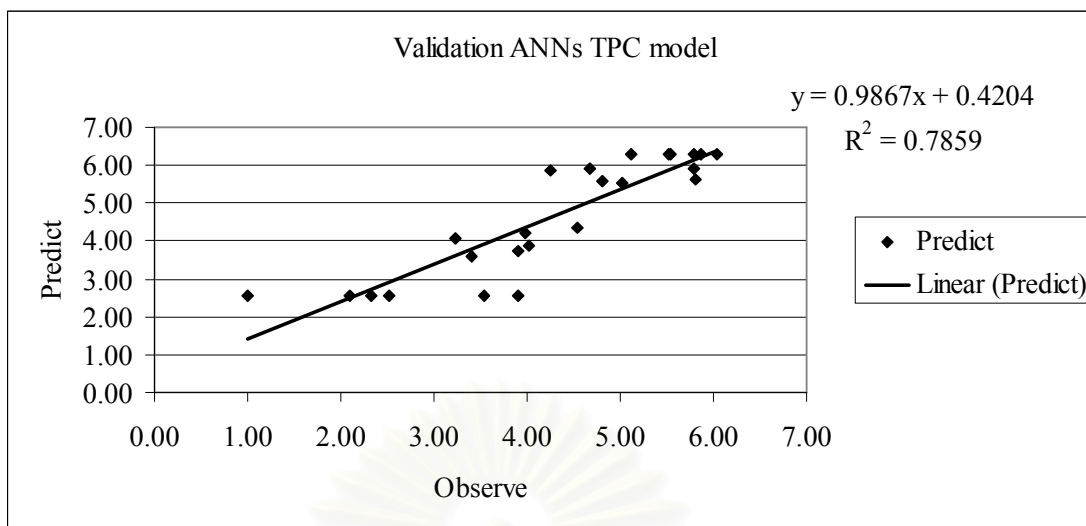
การพิสูจน์ความใช้ได้ของระบบ ANNs ที่สร้างขึ้นนั้นสามารถทำได้โดยการทำการทดลองทำซ้ำอีก 2 ซ้ำ (จะได้ 24 ข้อมูล) โดยการเติมเชื้อจุลินทรีย์ลงในผักกาดหอมและผลมะเขือเทศราชินี จากนั้นนำไปแช่ในสารฆ่าเชื้อที่ความเข้มข้นต่างๆ (ดังวิธีการในบทที่ 3 ข้อ 3.6.1.2 – 3.6.1.6) เพื่อนำมาเปรียบเทียบกับการทำนายของระบบ ANNs ที่สร้างขึ้นจากขั้นตอนที่ 4.1.2 ว่าสามารถที่จะทำนายได้ใกล้เคียงกับความเป็นจริงหรือไม่ โดยสามารถพิจารณาในลักษณะของกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นได้ดังต่อไปนี้

##### 4.1.3.1 ANNs ของจุลินทรีย์ทั่วไป (TPC)

ความสัมพันธ์ระหว่างค่าจริง(ที่ได้จากการทดลองซ้ำ) และค่าทำนาย(ที่ได้จากระบบ ANNs ที่สร้างขึ้น) แสดงในรูปที่ 4.4 โดยค่าเฉลี่ยที่ได้จากการทดลอง 24 ข้อมูลนั้นมีค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน =  $4.27 \pm 1.36 \log_{10} \text{ cfu/g}$  ส่วนค่าทำนายนั้นมีค่า =  $4.64 \pm 1.51 \log_{10} \text{ cfu/g}$  ตามลำดับ และรูปที่ 4.5 แสดงให้เห็นว่าเมื่อ plot กราฟเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าจริงและค่าจากการทำนาย พบว่ามีความสัมพันธ์เชิงเส้นไปในแนวทางเดียวกัน โดยมีค่า  $R^2 = 0.7859$



รูปที่ 4.4 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าจริงและค่าทำนายของระบบ ANNs –ที่ได้จากการพิสูจน์ความใช้ได้ของระบบ ANNs-ของชนิดจุลินทรีย์โดยรวม (TPC)

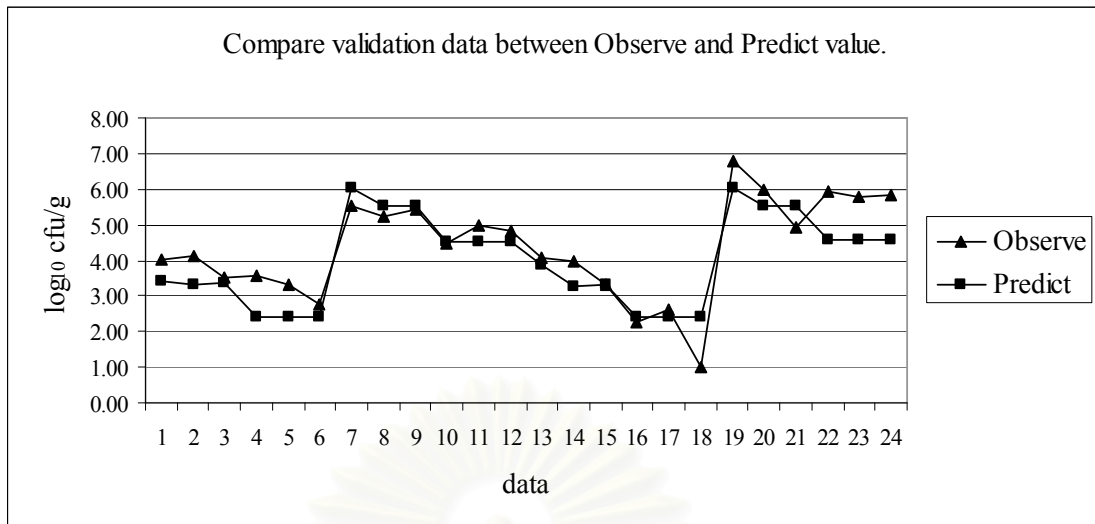


รูปที่ 4.5 ความสัมพันธ์เชิงเส้นของ ค่าจริงและค่าทำนายที่ได้จากการพิสูจน์ความใช้ได้ของระบบ ANNs-ของชนิดจุลินทรีย์โดยรวม (TPC)

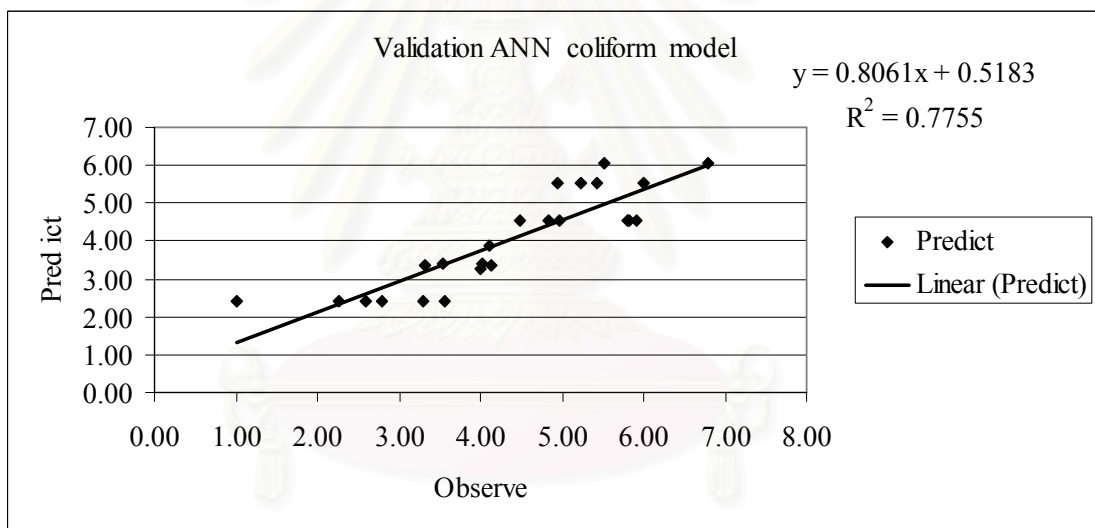
เมื่อเปรียบเทียบค่า  $R^2$  ในขั้นตอนการสร้างระบบ ANNs (ดังข้อ 4.1.2.1) กับค่า  $R^2$  ที่ได้จากการพิสูจน์ความใช้ได้ของสมการ ซึ่งให้ค่า 0.7666 และ 0.7859 ตามลำดับ พบว่ามีความใกล้เคียงกันและเป็นไปในทิศทางเดียวกัน

#### 4.1.3.2 ANNs ของจุลินทรีย์กลุ่ม Coliforms

ความสัมพันธ์ระหว่างค่าจริง(ที่ได้จากการทดลองซ้ำ) และค่าทำนาย(ที่ได้จากระบบ ANNs ที่สร้างขึ้น) แสดงในรูปที่ 4.6 โดยค่าเฉลี่ยที่ได้จากการทดลอง 24 ข้อมูลนั้นมีค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน =  $4.34 \pm 1.39 \log_{10}$  cfu/g ส่วนค่าทำนายนั้นมีค่า =  $4.02 \pm 1.27 \log_{10}$  cfu/g ตามลำดับ และรูปที่ 4.7 แสดงให้เห็นว่าเมื่อ plot กราฟเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าจริงและค่าจากการทำนาย พบว่ามีความสัมพันธ์เชิงเส้นไปในแนวทางเดียวกัน โดยมีค่า  $R^2 = 0.7755$



รูปที่ 4.6 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าจริงและค่าทำนายของระบบ ANNs -ที่ได้จากการพิสูจน์ความใช้ได้ของระบบ ANNs-ของชนิดจุลินทรีย์กลุ่มโคลิฟอร์ม (Coliforms)



รูปที่ 4.7 ความสัมพันธ์เชิงเส้นของ ค่าจริงและค่าทำนายที่ได้จากการพิสูจน์ความใช้ได้ของระบบ ANNs-ของชนิดจุลินทรีย์กลุ่มโคลิฟอร์ม (Coliforms)

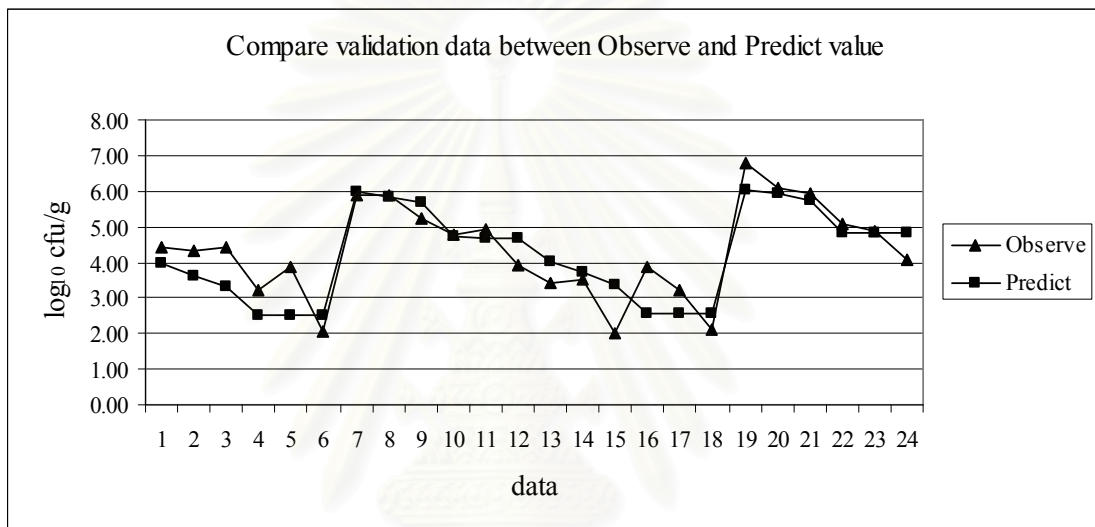
เมื่อเปรียบเทียบค่า  $R^2$  ในขั้นตอนการสร้างระบบ ANNs (ดังข้อ 4.1.2.2) กับค่า  $R^2$  ที่ได้จากการพิสูจน์ความใช้ได้ของสมการ ซึ่งให้ค่า 0.8516 และ 0.7755 ตามลำดับ พบว่ามีความใกล้เคียงกันและเป็นไปในทิศทางเดียวกัน

#### 4.1.3.3 ANNs ของจุลินทรีย์ *E. coli*

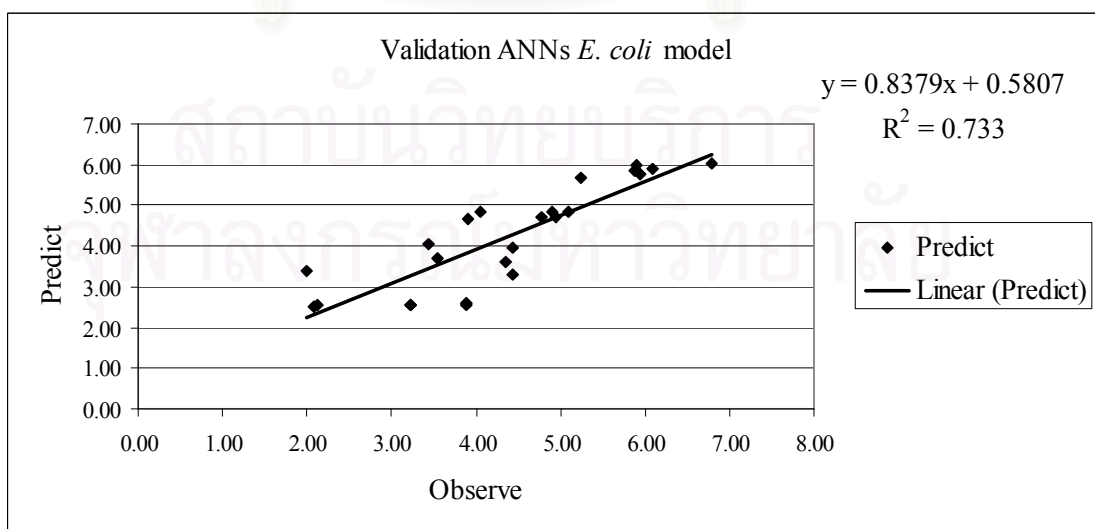
ความสัมพันธ์ระหว่างค่าจริงและค่าทำนายที่ได้จากระบบสามารถพิจารณาได้ดังรูปที่ 4.8 โดยค่าเฉลี่ยที่ได้จากการทดลอง 24 ข้อมูลนั้นมีค่า เฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน =  $4.33 \pm 1.29$

$\log_{10}$  cfu/g ส่วนค่าทำนายนั้นมีค่า =  $4.21 \pm 1.27 \log_{10}$  cfu/g. โดยที่ที่มีความสัมพันธ์เชิงเส้น ดังรูป 4.9 ซึ่งมีค่า  $R^2 = 0.7330$

ความสัมพันธ์ระหว่างค่าจริง(ที่ได้จากการทดลองซ้ำ) และค่าทำนาย(ที่ได้จากระบบ ANNs ที่สร้างขึ้น) แสดงในรูปที่ 4.8 โดยค่าเฉลี่ยที่ได้จากการทดลอง 24 ข้อมูลนั้นมีค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน =  $4.33 \pm 1.29 \log_{10}$  cfu/g ส่วนค่าทำนายนั้นมีค่า =  $4.21 \pm 1.27 \log_{10}$  cfu/g ตามลำดับ และรูปที่ 4.9 แสดงให้เห็นว่าเมื่อ plot กราฟเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าจริงและค่าจากการทำนาย พบว่ามีความสัมพันธ์เชิงเส้นไปในแนวทางเดียวกัน โดยมีค่า  $R^2 = 0.7330$



รูปที่ 4.8 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าจริงและค่าทำนายของระบบ ANNs -ที่ได้จากการพิสูจน์ความใช้ได้ของระบบ ANNs-ของชนิดจุลินทรีย์ *E. coli*



รูปที่ 4.9 ความสัมพันธ์เชิงเส้นของ ค่าจริงและค่าทำนายที่ได้จากการพิสูจน์ความใช้ได้ของระบบ ANNs-ของชนิดจุลินทรีย์ *E. coli*



เมื่อเปรียบเทียบค่า  $R^2$  ในขั้นตอนการสร้างระบบ ANNs (ดังข้อ 4.1.2.3) กับค่า  $R^2$  ที่ได้จากการพิสูจน์ความใช้ได้ของสมการ ซึ่งให้ค่า 0.7251 และ 0.7330 ตามลำดับ พบว่ามีความใกล้เคียงกันและเป็นไปในทิศทางเดียวกัน

จากผลการทดลอง Run Program เพื่อสร้างระบบ ANNs จะพบว่าปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อการสร้าง Model ในการทำนายให้ได้ผลที่ใกล้เคียงกับความเป็นจริง จะมีปัจจัยมาจาก Transfer function และจำนวน Hidden node ซึ่ง Transfer function ที่นิยมกันในตอนเริ่มของระบบ ANNs ส่วนมากคือ sigmoidal function, linear และ tanh function เพราะฟังก์ชันเหล่านี้จะเป็นตัวแปรสัญญาณ ของตัวแปรต้นต่างๆ ที่เป็น input ของระบบที่เกี่ยวข้องกับสิ่งมีชีวิตเช่น จุลินทรีย์ เป็นต้น และจำนวน Hidden node ที่สูงขึ้น นั้นจะไม่สามารถทำให้ระบบ ANNs นั้น เป็น แบบจำลองที่ใช้ในการทำนายที่ดีได้ เพราะเมื่อพิจารณาจากทั้ง 3 model จะพบว่า Transfer function ทั้ง sigmoid และ tanh นั้นสามารถให้ผลที่ใกล้เคียงกันในช่วงของการ Train ระบบและเมื่อพิจารณาจำนวน hidden node ที่สูงขึ้นนั้นค่า SSE ก็ไม่ได้ลดลงทั้งในช่วงของการ Train และ Test ในทุกชุดข้อมูล โดยจากผลการทดลองนี้ พบว่าจำนวนที่เหมาะสมของ Hidden neurons อยู่ระหว่าง 3-5 neurons โดยที่จำนวนที่มากขึ้นของ neurons ไม่ได้หมายถึงความแม่นยำของระบบ ANNs จะสูงขึ้น ทั้งยังอาจจะทำให้เกิดความผิดพลาดมากขึ้นด้วยระหว่างการ Train และ Test ของระบบ ซึ่งการได้มาของจำนวนที่ hidden neurons ที่เหมาะสมนั้นขึ้นอยู่กับลักษณะการกระจายของข้อมูลที่น่ามาใช้ โดยเหตุผลทั้งหมดนี้สอดคล้องกับที่ Najjar, Basheer and Hajmeer (1997) ที่ได้กล่าวอ้างในการ review งานวิจัย

ทั้งนี้งานอ้างอิงทางด้านการทำนายปริมาณจุลินทรีย์ที่หลงเหลือในผักหลังการล้างยังคงมีอยู่น้อยที่จะให้เปรียบเทียบค่า SSE และ  $R^2$  ทั้งในการ TRAIN และ TEST รวมถึงในการพิสูจน์ความใช้ได้ของระบบ ANNs ดังนั้นในการศึกษานี้ ที่ใช้ตัวแปร 4 ชนิด (ได้แก่ ปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น ชนิดของผัก ชนิดของสารฆ่าเชื้อ และ ความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ) เพื่อทำนายปริมาณจุลินทรีย์ที่หลงเหลือหลังการล้าง จึงยอมรับค่าความสัมพันธ์เชิงเส้น ( $R^2$ ) ที่ระดับ 0.7 ของระบบ ANNs ในการทำนายเพื่อเป็นการป้องกันและระวังในการประเมินความปลอดภัยทางด้านอาหาร

อย่างไรก็ตามการที่ระบบ ANNs จะให้ผลเป็นที่น่าพอใจต้องขึ้นกับลักษณะข้อมูลที่นำมาใช้ทดสอบโดยจะให้ค่าที่ดีทั้งขั้นตอนการ Train และ Test ซึ่งจากการศึกษาที่มีลักษณะคล้ายคลึงกันนี้โดย Hajmeer *et al.* (1997), Specht, (1991) และ Baranyi and Roberts, (1995) ได้กล่าวว่าการทำนายของระบบ ANNs นั้นเป็นระบบการทำนายที่ดีเพราะสามารถที่จะทำนายค่าในส่วนของตัวเลขที่ไม่พบหรือผ่านระบบมาก่อนได้อย่างแม่นยำ ซึ่งอย่างไรก็ตามการ

ทำนายในส่วนของข้อมูลทีระบบ ไม่ได้พบเห็นมาก่อนนั้นก็ไม่สามารถที่จะทำนายได้ถูกต้องทั้งหมด Mori *et al.* (2007) ได้รายงานผลการทำนายด้วยระบบ ANNs ในการจัดเรียงตัวของ genomic gene ในจุลินทรีย์ *E. coli* โดยได้ผลการทำนายโดยมีค่า  $R^2 = 0.78$  และค่า SSE ประมาณ 4.7 (mean square error; MSE ประมาณ 0.0303) ในชุดข้อมูลที่ใช้ทดสอบ Test และในการพัฒนา Model ในการทำนายจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดความเสื่อมเสียของอาหารและ จุลินทรีย์ก่อโรคนั้นยังคงต้องมีข้อมูลที่จำเพาะด้านของจุลินทรีย์ ชนิดนั้นๆ รวมถึงอายุการเก็บของอาหารชนิด นั้นๆ ร่วมด้วย ซึ่งจะทำให้ Model ที่จะใช้ในการทำนายนั้นจะมีความถูกต้องมากขึ้นเมื่อนำไปใช้งานจริง โดยการประยุกต์ใช้ระบบ ANNs นั้นถือเป็นเครื่องมือที่คืออย่างหนึ่งในการทำนายปริมาณจุลินทรีย์ที่มีและหรือเติบโตของจุลินทรีย์ในอาหาร ทั้งนี้เพื่อประยุกต์ใช้ในงานสำหรับการประเมินความเสี่ยงทางด้านอาหาร

การนำ ANNs มาใช้ในการทำนายปริมาณจุลินทรีย์ดังกล่าวการทดลองนี้ถือเป็นสิ่งหนึ่งที่ น่าสนใจในความเป็นไปได้ของการพัฒนาระบบ ANNs เพื่อทำนายจำนวน จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิด ความเสื่อมเสียในอาหารและหรือจุลินทรีย์ก่อโรคในมนุษย์ ทั้งนี้อาจจะมีการนำไปใช้เพื่อประเมิน การปนเปื้อนหรือปริมาณจุลินทรีย์ในอาหารที่มีลักษณะคล้ายคลึงกัน ซึ่งอาจจะช่วยในการ ประมาณอายุของผลิตภัณฑ์อาหาร และหรือเพื่อเป็นการพัฒนาระบบ ANNs ให้มีความใกล้เคียง ในการทำนายมากขึ้นด้วย

## 4.2 ผลการศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาต่อการเจริญของจุลินทรีย์

### 4.2.1 ผลจากอุณหภูมิและเวลาในการเก็บรักษาผักสลัด

จากการทดลองตอนที่ 1 พบว่าความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อคลอรีนที่ระดับความเข้มข้น 75 ppm มีความสามารถในการทำลาย จุลินทรีย์ได้ทั้ง TPC, Coliforms และ *E. coli* ได้อย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) จึงเลือกความเข้มข้นดังกล่าว เพื่อศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยเวลาและอุณหภูมิที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์เมื่อมีการจัดเก็บ ในขณะที่การฆ่าเชื้อ TPC, Coliforms และ *E. coli* ด้วยกรดเปอร์อะซิติกที่ความเข้มข้น ระดับ 40 และ 50 ppm นั้นสามารถที่จะลดหรือฆ่าจุลินทรีย์ได้แตกต่าง อย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) จากระดับความเข้มข้น 30 ppm แต่เมื่อพิจารณาที่ความเข้มข้น ระดับ 40 และ 50 ppm พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน ( $p > 0.05$ ) จึงเลือกที่ระดับความเข้มข้น 40 ppm มาศึกษาปัจจัยเวลาและอุณหภูมิที่มีผลต่อการเจริญเติบโตเมื่อมีการจัดเก็บ และเมื่อพิจารณาถึงราคาในการใช้สารฆ่าเชื้อในเชิงพาณิชย์แล้วพบว่า คลอรีนที่ความเข้มข้น 75 ppm นั้นจะทำให้เพิ่มค่าใช้จ่ายในการล้างผักอยู่ที่ 0.37 บาทต่อกิโลกรัม (ดังกล่าวคำนวณเปรียบเทียบใน ภาคผนวก ง) และ กรดเปอร์อะซิติกที่ความเข้มข้น 40 และ 50 ppm นั้นจะทำให้เพิ่มค่าใช้จ่ายเป็น 0.8 และ 1.00 บาท ต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ด้วยเหตุผลดังกล่าวนี้ จึงเลือกใช้กรดเปอร์อะซิติกที่ระดับความเข้มข้น 40 ppm ในการศึกษาผลของการจัดเก็บต่อไปเพราะนอกจากจะช่วยประหยัดค่าใช้จ่ายแล้ว ยังสามารถฆ่าหรือลดปริมาณจุลินทรีย์ได้ดีด้วย Ashenafi และ Eribo (2003) ได้รายงานว่ามีผลต่อการล้างผัก หรือ ทำความสะอาด แล้วอาจมีการปนเปื้อนหลังจากที่ผ่านกระบวนการลดจำนวนจุลินทรีย์แล้ว (Post contamination) โดยมีแหล่งการปนเปื้อนมาจาก คน เขียง มีด ภาชนะ และพื้นผิวต่างๆ ลงสู่ผักสดหรือผักสลัด ในปริมาณ  $10^3 - 10^4$  cfu ( $3 - 4 \log_{10}$  cfu) ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องมีการเติมจุลินทรีย์โดยรวม(TPC) Coliforms และ *E. coli* กลับลงไปเพื่อจำลองสภาวะการเกิดการปนเปื้อนหลังการฆ่าเชื้อ และเพื่อปรับให้ปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นในตัวอย่างให้มีค่าใกล้เคียงกัน ในศึกษานี้ได้เลือกอุณหภูมิโดยเฉลี่ยของการวางขายสลัดบาร์ที่ต่ำที่สุดคือ  $10^\circ\text{C}$  และสูงที่สุดคือ  $22^\circ\text{C}$  ใน supermarket 11 แห่ง ซึ่งในการทดลองได้ใช้เครื่องทำความเย็นที่ควบคุมอุณหภูมิ ซึ่งมีอุณหภูมิ  $9.77 \pm 0.69^\circ\text{C}$ , และความชื้นสัมพัทธ์ (Relative Humidity; %RH) =  $89.98 \pm 4.71$  สำหรับที่  $10^\circ\text{C}$  และอุณหภูมิ  $22.7 \pm 1.11$ , Relative Humidity(%RH) =  $90.05 \pm 4.51$  สำหรับที่  $22^\circ\text{C}$  (ดังแสดงในภาคผนวก ข. 3) ในชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมจุลินทรีย์ของข้าวโพดอ่อนและถั่วแดงนั้นพบว่าถ้าไม่มีการปนเปื้อนจุลินทรีย์กลับเข้ามาหรือมีจุลินทรีย์เริ่มต้นเป็น 0 แล้วก็จะไม่พบการเจริญของจุลินทรีย์เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น (ตามตารางแสดงในภาคผนวก ข.4)

#### 4.2.1.1 ผลการศึกษาบนมะเขือเทศราชินี – (TOMATO)

4.2.1.1.1 ปริมาณจุลินทรีย์โดยรวม (TPC) - ตารางที่ 4.6 แสดงผลของวิธีการเตรียมผักโดยใช้สารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) และกรดเปอร์อะซิติก (Peracetic acid) ต่อการเพิ่มขึ้นของจุลินทรีย์เมื่อจัดเก็บที่อุณหภูมิ 10 °C และ 22 °C ณ เวลาที่แตกต่างกัน

ตารางที่ 4.6 ผลของการเจริญของจุลินทรีย์โดยรวม (TPC) ณ อุณหภูมิ และเวลาที่แตกต่างกันบนผลมะเขือเทศ

Method of preparation	Temperature (°C)	Time (Hours)	Microorganism (Log <sub>10</sub> cfu /g) <sup>1</sup>	Compare all treatment in group of sanitizer	Notice: treatment
Chlorine (Cl)	10	0	4.06 ± 0.39 <sub>a</sub>	cd	Trt1
		2	4.20 ± 0.60 <sub>ab</sub>	d	Trt2
		4	3.95 ± 0.47 <sub>a</sub>	cd	Trt3
		8	4.09 ± 0.48 <sub>a</sub>	cd	Trt4
	22	0	4.06 ± 0.39 <sub>a</sub>	cd	Trt5
		2	4.54 ± 0.14 <sub>bc</sub>	e	Trt6
		4	4.71 ± 0.45 <sub>c</sub>	e	Trt7
		8	4.81 ± 0.14 <sub>c</sub>	e	Trt8
Peracetic acid (PA)	10	0	3.16 ± 0.29 <sub>b</sub>	a	Trt9
		2	2.85 ± 0.18 <sub>a</sub>	a	Trt10
		4	3.00 ± 0.28 <sub>ab</sub>	a	Trt11
		8	3.06 ± 0.27 <sub>ab</sub>	a	Trt12
	22	0	3.16 ± 0.29 <sub>b</sub>	a	Trt13
		2	3.51 ± 0.35 <sub>c</sub>	b	Trt14
		4	3.59 ± 0.14 <sub>cd</sub>	b	Trt15
		8	3.76 ± 0.16 <sub>d</sub>	c	Trt16

หมายเหตุ : 1 = ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยตัวอักษรแตกต่างกันใน column (แถบสีเดียวกัน) แสดงถึงระดับความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากตารางที่ 4.6 จะเห็นว่าที่อุณหภูมิ 10 °C TPC ที่ปริมาณเริ่มต้นประมาณ  $4.06 \pm 0.39 \log_{10} \text{ cfu/g}$  (0 ชั่วโมง) เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 2 4 และ 8 ชั่วโมง พบว่ามีปริมาณจุลินทรีย์ TPC มีอยู่ประมาณ  $4.20 \pm 0.60$ ,  $3.95 \pm 0.47$  และ  $4.09 \pm 0.48 \log_{10} \text{ cfu/g}$  ตามลำดับ แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) แสดงว่าอุณหภูมิ ที่ 10 °C สามารถชลอหรือระงับ การเจริญของจุลินทรีย์โดยรวมได้ ในขณะที่การเก็บที่อุณหภูมิ 22 °C นั้น เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 2 4 และ 8 ชั่วโมง พบว่าปริมาณจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้นไปเป็นประมาณ  $4.54 \pm 0.14$ ,  $4.71 \pm 0.45$  และ  $4.81 \pm 0.14 \log_{10} \text{ cfu/g}$  ตามลำดับ โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) กับปริมาณ จุลินทรีย์เริ่มต้น (0 ชั่วโมง) ซึ่งมีประมาณ  $4.06 \pm 0.39 \log_{10} \text{ cfu/g}$  แสดงว่าจุลินทรีย์ TPC นั้นมีความสามารถในการเจริญได้ ณ อุณหภูมิ 22 °C เมื่อเปรียบเทียบระหว่างอุณหภูมิ 10 °C และ 22 °C ณ เวลาที่ 2 4 และ 8 ชั่วโมงของการจัดเก็บ พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ TPC ที่อุณหภูมิ 22 °C มีมากกว่า จุลินทรีย์ TPC ที่ อุณหภูมิ 10 °C ซึ่งความแตกต่างกันนี้เป็นความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อพิจารณาผลวิเคราะห์ทางสถิติแบบ Factorial 2x4 in CRD พบว่า มี Main Effect จาก ปัจจัยของอุณหภูมิ และ ปัจจัยของเวลา ซึ่งบ่งบอกว่า อุณหภูมิที่สูงและที่ต่ำ นั้นจะมีความแตกต่างกันต่อการเจริญของจุลินทรีย์ กล่าวคือการเติบโตของจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ 10 °C และ 22 °C มีความแตกต่างกันนอกจากนี้ เวลาการจัดเก็บที่ยาวนานขึ้น ( 2, 4 และ 8 ชม) ที่อุณหภูมิ 22 °C จะมีผลต่อการเพิ่มจำนวน (การเจริญ) ของจุลินทรีย์ TPC ในขณะที่ 10 °C ไม่พบการเพิ่มจำนวน และยังพบว่ามี interaction ระหว่างปัจจัยอุณหภูมิ\*เวลา ซึ่งหมายความว่าอุณหภูมิและเวลามีผลต่อการสนับสนุนการเจริญของจุลินทรีย์ด้วย

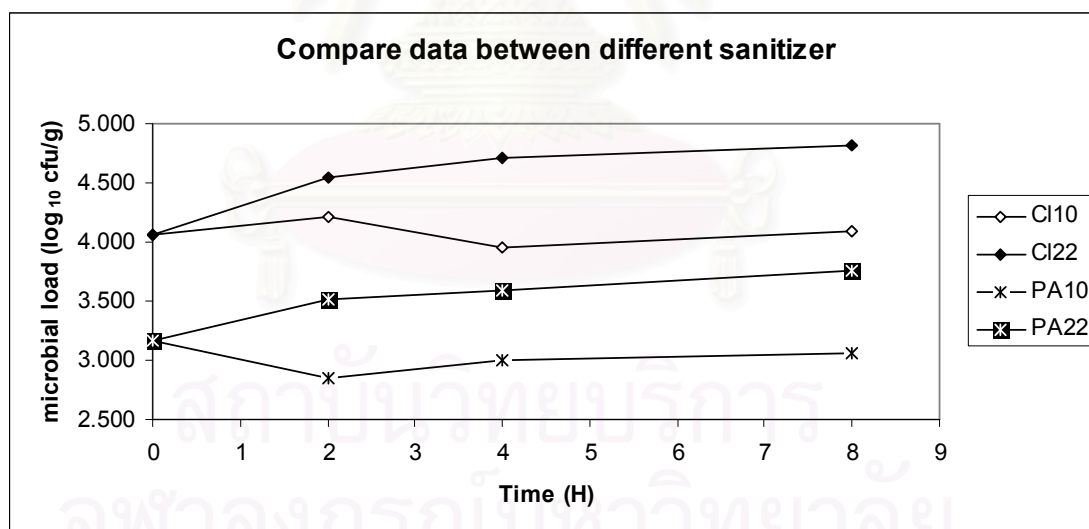
เมื่อพิจารณาในส่วนของวิธีการเตรียมผักโดยสารฆ่าเชื้อ Peracetic acid (PA) เมื่อเติมจุลินทรีย์และเก็บที่อุณหภูมิ 10 °C และ 22 °C ณ เวลาที่แตกต่างกัน พบว่าที่อุณหภูมิ 10 °C จุลินทรีย์ TPC ที่ปริมาณเริ่มต้นที่ประมาณ  $3.16 \pm 0.29 \log_{10} \text{ cfu/g}$  (0 ชั่วโมง) เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 2 4 และ 8 ชั่วโมง พบว่ามีจุลินทรีย์ TPC อยู่ที่ประมาณ  $2.85 \pm 0.18$ ,  $3.00 \pm 0.28$  และ  $3.06 \pm 0.27 \log_{10} \text{ cfu/g}$  ตามลำดับแต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) แสดงว่าอุณหภูมิ ที่ 10 °C สามารถชลอ การเจริญของจุลินทรีย์โดยรวมได้ ในขณะที่การเก็บที่อุณหภูมิ 22 °C นั้นเมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 2 4 และ 8 ชั่วโมง พบว่าปริมาณจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้นไปเป็นประมาณ  $3.51 \pm 0.35$ ,  $3.59 \pm 0.14$  และ  $3.76 \pm 0.16 \log_{10} \text{ cfu/g}$  จากปริมาณเริ่มต้นประมาณ  $3.16 \pm 0.29 \log_{10} \text{ cfu/g}$  (0 ชั่วโมง) อย่างมีนัยสำคัญที่ ( $p \leq 0.05$ ) แสดงว่าจุลินทรีย์ TPC นั้นมีความสามารถในการเจริญได้ ณ อุณหภูมิ 22 °C นี้ เมื่อเปรียบเทียบ



ระหว่างอุณหภูมิ 10 °C และ 22 °C ณ เวลาที่ 2 4 และ 8 ชั่วโมงของการจัดเก็บ พบว่า ปริมาณจุลินทรีย์ TPC ที่อุณหภูมิ 22 °C มีมากกว่าจุลินทรีย์ TPC ที่ อุณหภูมิ 10 °C ซึ่งความแตกต่างกันนี้เป็นความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อพิจารณาผลวิเคราะห์ทางสถิติแบบ Factorial 2x4 in CRD พบว่า มี Main Effect จาก ปัจจัยของอุณหภูมิ และ ปัจจัยของเวลา ซึ่งบ่งบอกว่า อุณหภูมิที่สูงและที่ต่ำ นั้นจะมีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ กล่าวคือการเติบโตของจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ 10 °C และ 22 °C มีความแตกต่างกัน นอกจากนี้ เวลาการจัดเก็บที่ยาวนานขึ้น (2, 4 และ 8 ชม) ที่อุณหภูมิ 22 °C จะมีผลต่อการเพิ่มจำนวน (การเจริญ) ของจุลินทรีย์ TPC ในขณะที่ 10 °C ไม่พบการเพิ่มจำนวน และยังพบว่ามี interaction ระหว่างปัจจัยอุณหภูมิ\*เวลา ซึ่งหมายความว่าอุณหภูมิและเวลามีผลต่อการสนับสนุนการเจริญของจุลินทรีย์ด้วย

ผลการทดลองของสารฆ่าเชื้อ ทั้งสองนี้ สอดคล้องกันและมีแนวทางไปในทิศทางเดียวกัน กล่าวคืออุณหภูมิ และ เวลา มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์โดยรวม (TPC) ซึ่งมี main effect และ interaction เช่นเดียวกัน

เมื่อพิจารณาถึงวิธีการเตรียมผักโดยแช่ในสารฆ่าเชื้อ คลอรีนและกรดเปอร์อะซิติก ณ อุณหภูมิที่แตกต่างกัน และ เวลาที่แตกต่างกันพบว่า เมื่อจัดเก็บผักไว้ที่อุณหภูมิ 22 °C จุลินทรีย์จะสามารถเจริญได้ ดังแสดงในรูปที่ 4.10



รูปที่ 4.10 ผลเปรียบเทียบการเจริญของจุลินทรีย์ TPC ระหว่างการใช้สารฆ่าเชื้อ คลอรีนและกรดเปอร์อะซิติก ณ อุณหภูมิ 10 และ 22 °C (โดย CI10, PA10 หมายถึงเชื้อบนผลมะเขือเทศที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยคลอรีน และกรดเปอร์อะซิติกและเก็บ ณ อุณหภูมิ 10 °C ขณะที่ CI22, PA22 จะหมายถึงเชื้อบนผลมะเขือเทศที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยคลอรีน และกรดเปอร์อะซิติกและเก็บ ณ อุณหภูมิ 22 °C)

เมื่อวิเคราะห์ผลแบบ Factorial 2x2x4 in CRD ระหว่าง วิธีการเตรียมผักทั้ง สอง ชนิดสารฆ่าเชื้อ ณ อุณหภูมิ 10 °C เวลา 0, 2, 4 และ 8 ชั่วโมง และ อุณหภูมิ 22 °C เวลา 0, 2, 4 และ 8 ชั่วโมง พบว่าปริมาณ จุลินทรีย์ TPC ที่เจริญเติบโตนั้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) และพบว่า มี Main Effect จาก วิธีการเตรียมผัก อุณหภูมิ และ เวลา จากผลการวิเคราะห์ทางสถิติแบบ Factorial ยังพบว่ามี interaction ระหว่างปัจจัย อุณหภูมิ\*เวลา ทั้งนี้ผลยังคงสอดคล้องและสืบเนื่องมาจากการทดลองในขั้นตอนการศึกษาผลของสารฆ่าเชื้อ ที่บ่งชี้ว่าการใช้สารฆ่าเชื้อ กรดเปอร์อะซิติกจะทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ที่หลงเหลือมีปริมาณน้อยกว่า จุลินทรีย์ที่ผ่านการแช่สารฆ่าเชื้อคลอรีน จึงทำให้ปริมาณเริ่มต้นของจุลินทรีย์บนผลมะเขือเทศที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนและกรดเปอร์อะซิติกมีความแตกต่างกัน ซึ่งทำให้ปริมาณสุดท้ายเมื่อเวลาผ่านไป 8 ชั่วโมง จุลินทรีย์ TPC จึงมีปริมาณที่ต่างกันด้วย เมื่อพิจารณาความแตกต่างของจุลินทรีย์เริ่มต้นและจุลินทรีย์สุดท้ายของการใช้สารฆ่าเชื้อที่แตกต่างกันจะพบว่ามีค่าแตกต่างกันเพียงเล็กน้อยในการเจริญของจุลินทรีย์บนผลมะเขือเทศ โดยเมื่อใช้คลอรีน จุลินทรีย์ TPC จะเพิ่มขึ้นประมาณ 0.7 cfu/g/8 h หรือ ประมาณ 0.087  $\log_{10}$  cfu/g/h (เริ่มต้นที่อุณหภูมิ 22 °C อยู่ที่ประมาณ 4.068  $\log_{10}$  cfu/g และที่เวลา 8 ชั่วโมงมีปริมาณจุลินทรีย์สุดท้ายอยู่ที่ประมาณ 4.818  $\log_{10}$  cfu/g) ในขณะที่ เมื่อใช้กรดเปอร์อะซิติกจุลินทรีย์ TPC จะเพิ่มขึ้น ประมาณ 0.6  $\log_{10}$  cfu/g/8 h หรือ ประมาณ 0.075  $\log_{10}$  cfu/g/h (เริ่มต้นอยู่ที่ประมาณ 3.168  $\log_{10}$  cfu/g และที่เวลา 8 ชั่วโมงมีปริมาณจุลินทรีย์สุดท้ายอยู่ที่ประมาณ 3.761  $\log_{10}$  cfu/g)

4.2.1.1.2 ปริมาณจุลินทรีย์กลุ่ม Coliforms - ตารางที่ 4.7 แสดงผลของวิธีการเตรียมผักโดยใช้สารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) และกรดเปอร์อะซิติก (Peracetic acid) ต่อการเพิ่มขึ้นของจุลินทรีย์เมื่อจัดเก็บที่อุณหภูมิ 10 °C และ 22 °C ณ เวลาที่แตกต่างกัน

ตารางที่ 4.7 ผลของการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่ม Coliforms ณ อุณหภูมิ และเวลาที่แตกต่างกันบนผลมะเขือเทศ

Method of preparation	Temperature (°C)	Time (Hours)	Microorganism (Log <sub>10</sub> cfu /g) <sup>1</sup>	Compare all treatment in group of sanitizer	Notice: treatment
Chlorine (Cl)	10	0	3.49 ± 0.66 <sub>a</sub>	b	Trt1
		2	3.81 ± 0.43 <sub>ab</sub>	bc	Trt2
		4	3.65 ± 0.45 <sub>a</sub>	bc	Trt3
		8	3.51 ± 0.77 <sub>a</sub>	b	Trt4
	22	0	3.49 ± 0.66 <sub>a</sub>	b	Trt5
		2	4.18 ± 0.36 <sub>bc</sub>	cd	Trt6
		4	4.35 ± 0.34 <sub>c</sub>	d	Trt7
		8	4.66 ± 0.41 <sub>c</sub>	d	Trt8
Peracetic acid (PA)	10	0	2.44 ± 0.85 <sub>a</sub>	a	Trt9
		2	2.70 ± 0.39 <sub>a</sub>	a	Trt10
		4	2.67 ± 0.49 <sub>a</sub>	a	Trt11
		8	2.52 ± 0.64 <sub>a</sub>	a	Trt12
	22	0	2.44 ± 0.29 <sub>a</sub>	a	Trt13
		2	3.39 ± 0.26 <sub>b</sub>	b	Trt14
		4	3.30 ± 0.41 <sub>b</sub>	b	Trt15
		8	3.77 ± 0.33 <sub>b</sub>	bc	Trt16

หมายเหตุ : 1 = ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ตัวอักษรที่แตกต่างกันใน column (แถบสีเดียวกัน) แสดงถึงระดับความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากตารางที่ 4.7 จะเห็นว่าที่อุณหภูมิ 10 °C coliforms ที่ปริมาณเริ่มต้นประมาณ 3.49 ± 0.66 log<sub>10</sub> cfu/g (0 ชั่วโมง) เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 2 4 และ 8 ชั่วโมง พบว่ามีปริมาณจุลินทรีย์

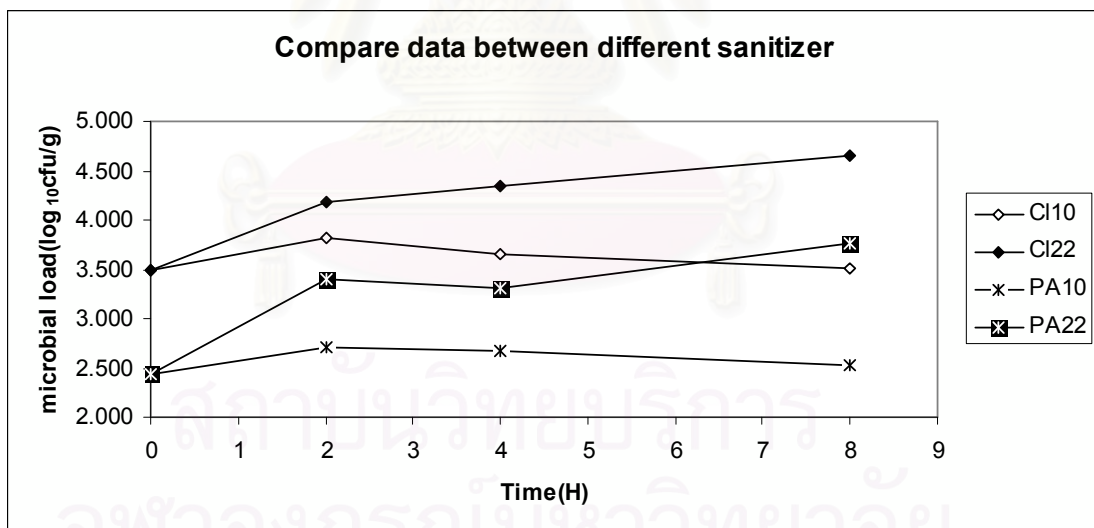
coliforms มีอยู่ประมาณ  $3.81 \pm 0.43$ ,  $3.65 \pm 0.45$  และ  $3.51 \pm 0.77 \log_{10}$  cfu/g ตามลำดับ แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) แสดงว่าอุณหภูมิ ที่  $10^{\circ}\text{C}$  สามารถชลดหรือระงับ การเจริญของจุลินทรีย์ coliforms ได้ ในขณะที่ การเก็บที่อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  นั้น เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 2 4 และ 8 ชั่วโมง พบว่าปริมาณจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้นไปเป็นประมาณ  $4.18 \pm 0.36$ ,  $4.35 \pm 0.34$  และ  $4.66 \pm 0.41 \log_{10}$  cfu/g ตามลำดับ โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) กับปริมาณ จุลินทรีย์เริ่มต้น (0 ชั่วโมง) ซึ่งมีประมาณ  $3.49 \pm 0.66 \log_{10}$  cfu/g แสดงว่าจุลินทรีย์ coliforms นั้นมีความสามารถในการเจริญได้ ณ อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  เมื่อเปรียบเทียบระหว่างอุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  และ  $22^{\circ}\text{C}$  ณ เวลาที่ 2 4 และ 8 ชั่วโมง ของการจกเก็บ พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ coliforms ที่อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  มีมากกว่า จุลินทรีย์ coliforms ที่อุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  ซึ่งความแตกต่างกันนี้เป็นความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อพิจารณาผลวิเคราะห์ทางสถิติแบบ Factorial  $2 \times 4$  in CRD พบว่า มี Main Effect จาก ปัจจัยของอุณหภูมิ และ ปัจจัยของเวลา ซึ่งบ่งบอกว่า อุณหภูมิที่สูงและที่ต่ำ นั้นจะมีความแตกต่างกันต่อการเจริญของจุลินทรีย์ กล่าวคือการเติบโตของจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  และ  $22^{\circ}\text{C}$  มีความแตกต่างกันนอกจากนี้ เวลาการจกเก็บที่ยาวนานขึ้น ( 2, 4 และ 8 ชม) ที่อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  จะมีผลต่อการเพิ่มจำนวน (การเจริญ) ของจุลินทรีย์ coliforms ในขณะที่  $10^{\circ}\text{C}$  ไม่พบการเพิ่มจำนวน และยังพบว่ามี interaction ระหว่างปัจจัยอุณหภูมิ\*เวลา ซึ่งหมายความว่าอุณหภูมิและเวลามีผลต่อการสนับสนุนการเจริญของจุลินทรีย์ด้วย

เมื่อพิจารณาในส่วนของวิธีการเตรียมผักโดยสารฆ่าเชื้อ Peracetic acid (PA) เมื่อเติมจุลินทรีย์และจกเก็บที่อุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  และ  $22^{\circ}\text{C}$  ณ เวลาที่แตกต่างกัน พบว่าที่อุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  จุลินทรีย์ coliforms ที่ปริมาณเริ่มต้นที่ประมาณ  $2.44 \pm 0.85 \log_{10}$  cfu/g ( 0 ชั่วโมง) เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 2 4 และ 8 ชั่วโมง พบว่ามีจุลินทรีย์ coliforms อยู่ที่ประมาณ  $2.70 \pm 0.39$ ,  $2.67 \pm 0.49$  และ  $2.52 \pm 0.64 \log_{10}$  cfu/g ตามลำดับแต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) แสดงว่าอุณหภูมิ ที่  $10^{\circ}\text{C}$  สามารถชลด การเจริญของจุลินทรีย์ coliforms ได้ ในขณะที่การจกเก็บที่อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  นั้นเมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 2 4 และ 8 ชั่วโมง พบว่าปริมาณจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้นไปเป็นประมาณ  $3.39 \pm 0.26$ ,  $3.30 \pm 0.41$  และ  $3.77 \pm 0.33 \log_{10}$  cfu/g จากปริมาณเริ่มต้นประมาณ  $2.44 \pm 0.85 \log_{10}$  cfu/g ( 0 ชั่วโมง) อย่างมีนัยสำคัญที่ ( $p \leq 0.05$ ) แสดงว่าจุลินทรีย์ coliforms นั้นมีความสามารถในการเจริญได้ ณ อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  นี้ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างอุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  และ  $22^{\circ}\text{C}$  ณ เวลาที่ 2 4 และ 8 ชั่วโมงของการจกเก็บ พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ coliforms ที่อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  มีมากกว่า จุลินทรีย์ coliforms ที่

อุณหภูมิ 10 °C ซึ่งความแตกต่างกันนี้เป็นความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อพิจารณาผลวิเคราะห์ทางสถิติแบบ Factorial 2x4 in CRD พบว่า มี Main Effect จาก ปัจจัยของอุณหภูมิ และ ปัจจัยของเวลา ซึ่งบ่งบอกว่า อุณหภูมิที่สูงและที่ต่ำ นั้นจะมีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ กล่าวคือการเติบโตของจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ 10 °C และ 22 °C มีความแตกต่างกัน นอกจากนี้ เวลาการจัดเก็บที่ยาวนานขึ้น( 2, 4 และ 8 ชม) ที่อุณหภูมิ 22 °C จะมีผลต่อการเพิ่มจำนวน (การเจริญ) ของจุลินทรีย์ coliforms ในขณะที่ 10 °C ไม่พบการเพิ่มจำนวน และยังพบว่ามี interaction ระหว่างปัจจัยอุณหภูมิ\*เวลา ซึ่งหมายความว่าอุณหภูมิและเวลาที่มีผลต่อการสนับสนุนการเจริญของจุลินทรีย์ด้วย

ผลการทดลองของสารฆ่าเชื้อ ทั้งสองนี้ สอดคล้องกันและมีแนวทางไปในทิศทางเดียวกัน กล่าวคืออุณหภูมิ และ เวลา มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ coliforms ซึ่งมี main effect และ interaction เช่นเดียวกัน

เมื่อพิจารณาถึงวิธีการเตรียมผักโดยแช่ในสารฆ่าเชื้อ คลอรีนและกรดเปอร์อะซิติก ณ อุณหภูมิที่แตกต่างกัน และ เวลาที่แตกต่างกันพบว่า เมื่อจัดเก็บผักไว้ที่อุณหภูมิ 22 °C จุลินทรีย์จะสามารถเจริญได้ ดังแสดงในรูปที่ 4.11



รูปที่ 4.11 ผลเปรียบเทียบการเจริญของจุลินทรีย์ coliforms ระหว่างการใช้สารฆ่าเชื้อ คลอรีนและกรดเปอร์อะซิติก ณ อุณหภูมิ 10 และ 22 °C (โดย CI10, PA10 หมายถึงเชื้อบนผลมะเขือเทศที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยคลอรีน และกรดเปอร์อะซิติกและเก็บ ณ อุณหภูมิ 10 °C ขณะที่ CI22, PA22 จะหมายถึงเชื้อบนผลมะเขือเทศที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยคลอรีน และกรดเปอร์อะซิติกและเก็บ ณ อุณหภูมิ 22 °C)



เมื่อวิเคราะห์ผลแบบ Factorial 2x2x4 in CRD ระหว่าง วิธีการเตรียมผักทั้ง สอง ชนิดสารฆ่าเชื้อ ณ อุณหภูมิ 10 °C เวลา 0, 2, 4 และ 8 ชั่วโมง และ อุณหภูมิ 22 °C เวลา 0, 2, 4 และ 8 ชั่วโมง พบว่าปริมาณ จุลินทรีย์ coliforms ที่เจริญเติบโตนั้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) และพบว่า มี Main Effect จาก วิธีการเตรียมผัก อุณหภูมิ และ เวลา จากผลการวิเคราะห์ทางสถิติแบบ Factorial ยังพบว่ามี interaction ระหว่างปัจจัย อุณหภูมิ\*เวลา ทั้งนี้ผลยังคงสอดคล้องและสืบเนื่องมาจากการทดลองในขั้นตอนการศึกษาผลของสารฆ่าเชื้อ ที่บ่งชี้ว่าการใช้สารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติก จะทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ที่หลงเหลือมีปริมาณน้อยกว่า จุลินทรีย์ที่ผ่านการแช่สารฆ่าเชื้อคลอรีน จึงทำให้ปริมาณเริ่มต้นของจุลินทรีย์บนผลมะเขือเทศที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนและกรดเปอร์อะซิติกมีความแตกต่างกัน ซึ่งทำให้ปริมาณสุดท้ายเมื่อเวลาผ่านไป 8 ชั่วโมง จุลินทรีย์ coliforms จึงมีปริมาณที่แตกต่างกันด้วย เมื่อพิจารณาความแตกต่างของจุลินทรีย์เริ่มต้นและจุลินทรีย์สุดท้ายของการใช้สารฆ่าเชื้อที่แตกต่างกันจะพบว่ามี ความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อยในการเจริญของจุลินทรีย์บนผลมะเขือเทศ โดยเมื่อใช้คลอรีน จุลินทรีย์ coliforms จะเพิ่มขึ้น ประมาณ  $1.17 \log_{10} \text{ cfu/g/8 h}$  หรือ ประมาณ  $0.14 \log_{10} \text{ cfu/g/h}$  (เริ่มต้นที่อุณหภูมิ 22 °C อยู่ที่ประมาณ  $3.49 \log_{10} \text{ cfu/g}$  และที่เวลา 8 ชั่วโมงมีปริมาณจุลินทรีย์สุดท้ายอยู่ที่ประมาณ  $4.66 \log_{10} \text{ cfu/g}$ ) ในขณะที่ เมื่อใช้กรดเปอร์อะซิติกจุลินทรีย์ coliform เพิ่มขึ้น ประมาณ  $1.33 \log_{10} \text{ cfu/g/8 h}$  หรือ ประมาณ  $0.16 \log_{10} \text{ cfu/g/h}$  (จุลินทรีย์เริ่มต้นอยู่ที่ประมาณ  $2.44 \log_{10} \text{ cfu/g}$  และที่เวลา 8 ชั่วโมงมีปริมาณจุลินทรีย์สุดท้ายอยู่ที่ประมาณ  $3.77 \log_{10} \text{ cfu/g}$ )

4.2.1.1.3 ปริมาณจุลินทรีย์ *E. coli* - ตารางที่ 4.8 แสดงผลของ วิธีการเตรียมผักโดยใช้สารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) และกรดเปอร์อะซิติก (Peracetic acid) ต่อการเพิ่มขึ้นของจุลินทรีย์เมื่อจัดเก็บที่อุณหภูมิ 10 °C และ 22 °C ณ เวลาที่แตกต่างกัน

ตารางที่ 4.8 ผลของการเจริญของจุลินทรีย์ *E. coli* ณ อุณหภูมิ และเวลาที่แตกต่างกันบนผลมะเขือเทศ

Method of preparation	Temperature (°C)	Time (Hours)	Microorganism (Log <sub>10</sub> cfu /g) <sup>1</sup>	Compare all treatment in group of sanitizer	Notice: treatment
Chlorine (Cl)	10	0	3.76 ± 0.42 <sub>a</sub>	bc	Trt1
		2	3.87 ± 0.32 <sub>a</sub>	c	Trt2
		4	3.61 ± 0.57 <sub>a</sub>	bc	Trt3
		8	3.76 ± 0.40 <sub>a</sub>	bc	Trt4
	22	0	3.76 ± 0.42 <sub>a</sub>	bc	Trt5
		2	4.57 ± 0.18 <sub>b</sub>	d	Trt6
		4	4.61 ± 0.26 <sub>b</sub>	d	Trt7
		8	4.89 ± 0.19 <sub>b</sub>	d	Trt8
Peracetic acid (PA)	10	0	2.73 ± 0.27 <sub>a</sub>	a	Trt9
		2	2.62 ± 0.50 <sub>a</sub>	a	Trt10
		4	2.92 ± 0.29 <sub>a</sub>	a	Trt11
		8	2.66 ± 0.48 <sub>a</sub>	a	Trt12
	22	0	2.73 ± 0.27 <sub>a</sub>	a	Trt13
		2	3.51 ± 0.19 <sub>b</sub>	b	Trt14
		4	3.67 ± 0.10 <sub>bc</sub>	bc	Trt15
		8	3.92 ± 0.22 <sub>c</sub>	c	Trt16

หมายเหตุ : 1 = ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ตัวอักษรที่แตกต่างกันใน column (แถบสีเดียวกัน) แสดงถึงระดับความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

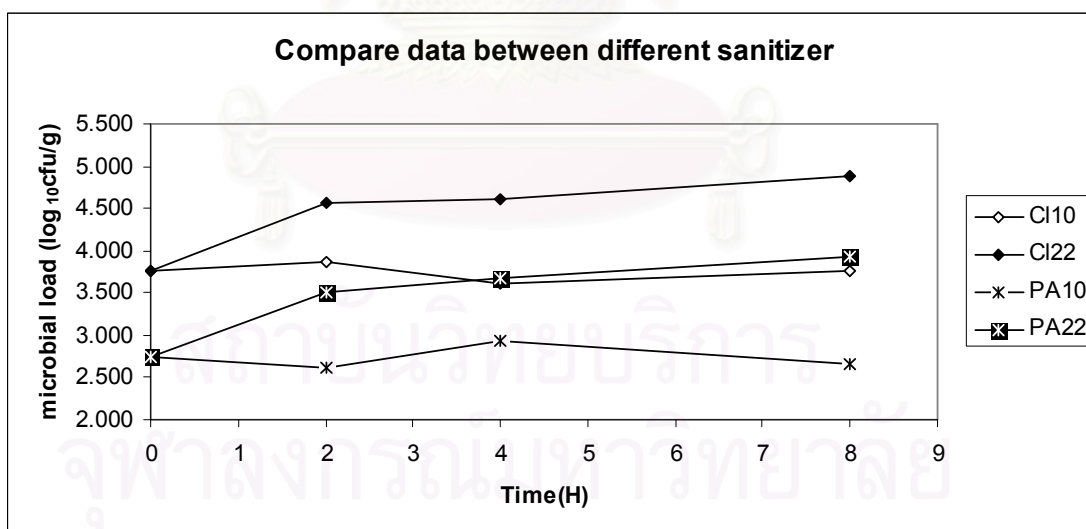
จากตารางที่ 4.8 จะเห็นว่าที่อุณหภูมิ 10 °C *E. coli* ที่ปริมาณเริ่มต้นประมาณ  $3.76 \pm 0.42 \log_{10} \text{ cfu/g}$  (0 ชั่วโมง) เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 2 4 และ 8 ชั่วโมง พบว่ามีปริมาณจุลินทรีย์ *E. coli* มีอยู่ประมาณ  $3.87 \pm 0.32$ ,  $3.61 \pm 0.57$  และ  $3.76 \pm 0.40 \log_{10} \text{ cfu/g}$  ตามลำดับ แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) แสดงว่าอุณหภูมิ ที่ 10 °C สามารถชลอหรือระงับ การเจริญของจุลินทรีย์ *E. coli* ได้ ในขณะที่ การเก็บที่อุณหภูมิ 22 °C นั้น เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 2 4 และ 8 ชั่วโมง พบว่าปริมาณจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้นไปเป็นประมาณ  $4.57 \pm 0.18$ ,  $4.61 \pm 0.26$  และ  $4.89 \pm 0.19 \log_{10} \text{ cfu/g}$  ตามลำดับ โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) กับปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น (0 ชั่วโมง) ซึ่งมีประมาณ  $3.76 \pm 0.42 \log_{10} \text{ cfu/g}$  แสดงว่าจุลินทรีย์ *E. coli* นั้นมีความสามารถในการเจริญได้ ณ อุณหภูมิ 22 °C เมื่อเปรียบเทียบกับระหว่างอุณหภูมิ 10 °C และ 22 °C ณ เวลาที่ 2 4 และ 8 ชั่วโมงของการจัดเก็บ พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ *E. coli* ที่อุณหภูมิ 22 °C มีมากกว่า จุลินทรีย์ *E. coli* ที่อุณหภูมิ 10 °C ซึ่งความแตกต่างกันนี้เป็นความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อพิจารณาผลวิเคราะห์ทางสถิติแบบ Factorial 2x4 in CRD พบว่า มี Main Effect จาก ปัจจัยของอุณหภูมิ และ ปัจจัยของเวลา ซึ่งบ่งบอกว่า อุณหภูมิที่สูงและที่ต่ำ นั้นจะมีความแตกต่างกันต่อการเจริญของจุลินทรีย์ กล่าวคือการเติบโตของจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ 10 °C และ 22 °C มีความแตกต่างกัน นอกจากนี้ เวลาการจัดเก็บที่ยาวนานขึ้น ( 2, 4 และ 8 ชม) ที่อุณหภูมิ 22 °C จะมีผลต่อการเพิ่มจำนวน (การเจริญ) ของจุลินทรีย์ *E. coli* ในขณะที่ 10 °C ไม่พบการเพิ่มจำนวน และยังพบว่ามี interaction ระหว่างปัจจัยอุณหภูมิ\*เวลา ซึ่งหมายความว่าอุณหภูมิและเวลามีผลต่อการสนับสนุนการเจริญของจุลินทรีย์ด้วย

เมื่อพิจารณาในส่วนของวิธีการเตรียมผักโดยสารฆ่าเชื้อ Peracetic acid (PA) เมื่อเติมจุลินทรีย์และเก็บที่อุณหภูมิ 10 °C และ 22 °C ณ เวลาที่แตกต่างกัน พบว่าที่อุณหภูมิ 10 °C จุลินทรีย์ *E. coli* ที่ปริมาณเริ่มต้นที่ประมาณ  $2.73 \pm 0.27 \log_{10} \text{ cfu/g}$  (0 ชั่วโมง) เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 2 4 และ 8 ชั่วโมง พบว่ามีจุลินทรีย์ *E. coli* อยู่ที่ประมาณ  $2.62 \pm 0.50$ ,  $2.92 \pm 0.29$  และ  $2.66 \pm 0.48 \log_{10} \text{ cfu/g}$  ตามลำดับแต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) แสดงว่าอุณหภูมิ ที่ 10 °C สามารถชลอ การเจริญของจุลินทรีย์ *E. coli* ได้ ในขณะที่ การเก็บที่อุณหภูมิ 22 °C นั้นเมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 2 4 และ 8 ชั่วโมง พบว่าปริมาณจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้นไปเป็นประมาณ  $3.51 \pm 0.19$ ,  $3.67 \pm 0.10$  และ  $3.92 \pm 0.22 \log_{10} \text{ cfu/g}$  จากปริมาณเริ่มต้นประมาณ  $2.73 \pm 0.27 \log_{10} \text{ cfu/g}$  (0 ชั่วโมง) อย่างมีนัยสำคัญที่ ( $p \leq 0.05$ ) แสดงว่าจุลินทรีย์ *E. coli* นั้นมีความสามารถในการเจริญได้ ณ อุณหภูมิ 22 °C นี้ เมื่อ

เปรียบเทียบระหว่างอุณหภูมิ 10 °C และ 22 °C ณ เวลาที่ 2 4 และ 8 ชั่วโมงของการจัดเก็บ พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ *E. coli* ที่อุณหภูมิ 22 °C มีมากกว่า จุลินทรีย์ *E. coli* ที่ อุณหภูมิ 10 °C ซึ่งความแตกต่างกันนี้เป็นความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อพิจารณาผลวิเคราะห์ทางสถิติแบบ Factorial 2x4 in CRD พบว่ามี Main Effect จาก ปัจจัยของอุณหภูมิ และ ปัจจัยของเวลา ซึ่งบ่งบอกว่า อุณหภูมิที่สูงและที่ต่ำ นั้นจะมีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ กล่าวคือการเติบโตของจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ 10 °C และ 22 °C มีความแตกต่างกัน นอกจากนี้ เวลาการจัดเก็บที่ยาวนานขึ้น( 2, 4 และ 8 ชม) ที่อุณหภูมิ 22 °C จะมีผลต่อการเพิ่มจำนวน (การเจริญ) ของจุลินทรีย์ *E. coli* ในขณะที่ 10 °C ไม่พบการเพิ่มจำนวน และยังพบว่ามี interaction ระหว่าง ปัจจัยอุณหภูมิ\*เวลา ซึ่งหมายความว่าอุณหภูมิและเวลามีผลต่อการสนับสนุนการเจริญของจุลินทรีย์ด้วย

ผลการทดลองของสารฆ่าเชื้อ ทั้งสองนี้ สอดคล้องกันและมีแนวทางไปในทิศทางเดียวกัน กล่าวคืออุณหภูมิ และ เวลา มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ *E. coli* ซึ่งมี main effect และ interaction เช่นเดียวกัน

เมื่อพิจารณาถึงวิธีการเตรียมผักโดยแช่ในสารฆ่าเชื้อ คลอรีนและกรดเปอร์อะซิติก ณ อุณหภูมิที่แตกต่างกัน และ เวลาที่แตกต่างกันพบว่า เมื่อจัดเก็บผักไว้ที่อุณหภูมิ 22 °C จุลินทรีย์ จะสามารถเจริญได้ ดังแสดงในรูปที่ 4.12



รูปที่ 4.12 ผลเปรียบเทียบการเจริญของจุลินทรีย์ *E. coli* ระหว่างการใช้สารฆ่าเชื้อ คลอรีนและกรดเปอร์อะซิติก ณ อุณหภูมิ 10 และ 22 °C (โดย CI10, PA10 หมายถึงเชือบนผลมะเขือเทศที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยคลอรีน และกรดเปอร์อะซิติกและเก็บ ณ อุณหภูมิ 10 °C ขณะที่ CI22, PA22 จะหมายถึงเชือบนผลมะเขือเทศที่ผ่าน การฆ่าเชื้อโดยคลอรีน และกรดเปอร์อะซิติกและเก็บ ณ อุณหภูมิ 22 °C)

เมื่อวิเคราะห์ผลแบบ Factorial 2x2x4 in CRD ระหว่าง วิธีการเตรียมผักทั้ง สอง ชนิดสารฆ่าเชื้อ ณ อุณหภูมิ 10 °C เวลา 0, 2, 4 และ 8 ชั่วโมง และ อุณหภูมิ 22 °C เวลา 0, 2, 4 และ 8 ชั่วโมง พบว่าปริมาณ จุลินทรีย์ *E. coli* ที่เจริญเติบโตนั้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) และพบว่า มี Main Effect จาก วิธีการเตรียมผัก อุณหภูมิ และ เวลา จากผลการวิเคราะห์ทางสถิติแบบ Factorial ยังพบว่ามี interaction ระหว่างปัจจัย อุณหภูมิ\*เวลา ทั้งนี้ผลยังคงสอดคล้องและสืบเนื่องมาจากการทดลองในขั้นตอนการศึกษาผลของสารฆ่าเชื้อ ที่บ่งชี้ว่าการใช้สารฆ่าเชื้อ กรดเปอร์อะซิติกจะทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ที่หลงเหลือมีปริมาณน้อยกว่าจุลินทรีย์ที่ผ่านการแช่สารฆ่าเชื้อคลอรีน จึงทำให้ปริมาณเริ่มต้นของจุลินทรีย์บนใบผักกาดหอมที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนและกรดเปอร์อะซิติกมีความแตกต่างกัน ซึ่งทำให้ปริมาณสุดท้ายเมื่อเวลาผ่านไป 8 ชั่วโมง จุลินทรีย์ *E. coli* จึงมีปริมาณที่แตกต่างกันด้วย เมื่อพิจารณาความแตกต่างของจุลินทรีย์เริ่มต้นและจุลินทรีย์สุดท้ายของการใช้สารฆ่าเชื้อที่แตกต่างกันจะพบว่ามี ความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อยในการเจริญของจุลินทรีย์บนใบผักกาดหอม โดยเมื่อใช้คลอรีน จุลินทรีย์ *E. coli* เพิ่มขึ้น ประมาณ 1.12 log<sub>10</sub> cfu/g/8 h หรือ ประมาณ 0.14 log<sub>10</sub> cfu/g/h (เริ่มต้นที่อุณหภูมิ 22 °C อยู่ที่ประมาณ 3.76 log<sub>10</sub> cfu/g และที่เวลา 8 ชั่วโมงมีปริมาณจุลินทรีย์สุดท้ายอยู่ที่ประมาณ 4.89 log<sub>10</sub> cfu/g ) ในขณะที่ เมื่อใช้กรดเปอร์อะซิติกจุลินทรีย์ *E. coli* เพิ่มขึ้น ประมาณ 1.18 log<sub>10</sub> cfu/g/8 h หรือ ประมาณ 0.14 log<sub>10</sub> cfu/g/h (จุลินทรีย์เริ่มต้นอยู่ที่ประมาณ 2.73 log<sub>10</sub> cfu/g และที่เวลา 8 ชั่วโมงมีปริมาณจุลินทรีย์สุดท้ายอยู่ที่ประมาณ 3.92 log<sub>10</sub> cfu/g)

จากการทดลองข้างต้นในการศึกษาการเก็บมะเขือเทศที่ผ่านการฆ่าจุลินทรีย์มาแล้ว จะพบว่าทั้งสามประเภทจุลินทรีย์ที่เก็บในอุณหภูมิ 10 °C นั้น ปริมาณจุลินทรีย์สุดท้ายจะมีปริมาณที่มากกว่าเล็กน้อยหรือน้อยกว่าปริมาณเริ่มต้นเล็กน้อยเท่านั้น แต่เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 22 °C นั้น จะพบว่าปริมาณจุลินทรีย์สุดท้ายจะมีปริมาณสูงกว่าปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น ของจุลินทรีย์ทั้งสามประเภทที่ศึกษา โดยจะมีปริมาณจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นประมาณ 0.7 – 1.33 log<sub>10</sub> cfu/g/8h โดย Iturriaga, Tamplin and Escartin (2007) ได้ศึกษาการอยู่รอดของจุลินทรีย์ *Salmonella* Montevideo บนผลมะเขือเทศ ที่อุณหภูมิ 22 °C พบว่ามีอัตราการเติบโตเช่นกันแต่เป็นไปอย่างช้าๆ ในขณะที่อุณหภูมิ 30 °C จะมีการเติบโตที่เร็วมากเมื่อเวลาผ่านไป 10 ชั่วโมง (เพิ่มขึ้นโดยประมาณ ประมาณ 1 log) Weissinger, Chantarapanont and Beuchat (2000) ได้ทดลองอิทธิพลของอุณหภูมิต่อการอยู่รอดของจุลินทรีย์ *Salmonella baidon* บนมะเขือเทศนั้น ซึ่ง



พบว่า เมื่อเติมจุลินทรีย์ที่ปริมาณ  $0.79 \log_{10} \text{ cfu/g}$  และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ  $21^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 24, 28 และ 72 ชั่วโมงจะพบว่าปริมาณจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นเป็น 5.32, 7.60 และ  $8.10 \log_{10} \text{ cfu/g}$  ตามลำดับ ในขณะที่ การเก็บไว้ที่อุณหภูมิ  $30^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 24, 28 และ 72 ชั่วโมงจะพบว่าปริมาณจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นเป็น 7.0, 8.73 และ  $8.55 \log_{10} \text{ cfu/g}$  ตามลำดับ ในขณะที่มีการเติมจุลินทรีย์ที่ปริมาณสูงที่ประมาณ  $3.46 \log_{10} \text{ cfu/g}$  และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ  $21^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 24, 28 และ 72 ชั่วโมงจะพบว่าปริมาณจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นเป็น 7.30, 8.39 และ  $8.06 \log_{10} \text{ cfu/g}$  ตามลำดับ ในขณะที่ การเก็บไว้ที่อุณหภูมิ  $30^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 24, 28 และ 72 ชั่วโมงจะพบว่าปริมาณจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นเป็น 7.30, 7.90 และ  $7.94 \log_{10} \text{ cfu/g}$  ตามลำดับ Bharathi et al. (2001) ได้รายงานผลการเติบโตของจุลินทรีย์เมื่อเติมลงไป  $4.3 \log_{10} \text{ cfu}$  ที่อุณหภูมิ  $16^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 2 วันนั้นจุลินทรีย์จะเติบโตขึ้น อีกประมาณ  $3 \log_{10} \text{ cfu/g}$  ในขณะที่อุณหภูมิ  $9^{\circ}\text{C}$  จะมีปริมาณเพิ่มขึ้นเล็กน้อย (ประมาณ  $0.2 \log_{10} \text{ cfu/g}$ ) Asplund และ Nurmi (1991) รายงานผลการศึกษา *Salmonella infantis* ที่เก็บไว้ ณ อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 24 ชั่วโมงจะมีปริมาณ จุลินทรีย์เพิ่มขึ้นประมาณ  $4 \log_{10} \text{ cfu/g}$  และในการศึกษา *E. coli* บนพื้นผิวมะเขือเทศโดย Eribo และ Ashenafi (2003) รายงานการอยู่รอดและเติบโตของจุลินทรีย์ *E. coli* O157:H7 บนพื้นผิวของมะเขือเทศว่าเมื่อเก็บมะเขือเทศไว้ที่อุณหภูมิ 4 และ  $25^{\circ}\text{C}$  ที่มีจุลินทรีย์ที่ปริมาณ  $3-4 \log_{10} \text{ cfu/g}$  ณ อุณหภูมิ  $4^{\circ}\text{C}$  นั้นช่วงวันแรกของการทดลอง (24 ชม) จุลินทรีย์จะมีปริมาณคงที่ ในขณะที่เก็บ ณ อุณหภูมิ  $25^{\circ}\text{C}$  นั้นจุลินทรีย์จะมีปริมาณเพิ่มขึ้น ประมาณ  $1 \log_{10} \text{ cfu/g}$  เมื่อมีการเติมเชื้อจุลินทรีย์ที่ปริมาณ  $6-7 \log_{10} \text{ cfu/g}$  ที่เวลา 10 วัน จุลินทรีย์นั้นจะมีปริมาณลดลง (แต่ไม่ถึง 1 log) ซึ่งรายงานผลการวิจัยดังกล่าวนี้ค่อนข้างสอดคล้องและมีแนวทางไปในทิศทางเดียวกันกับการทดลองข้างต้น แต่ในขณะที่ Kim et al. (2006) ได้ศึกษาการอยู่รอด และการเติบโตของจุลินทรีย์ *Enterobacter sakazakii* บนผลมะเขือเทศ ที่เก็บไว้ ณ อุณหภูมิ 4 และ  $12^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 1 วันพบว่าจุลินทรีย์มีปริมาณลดลงเล็กน้อยโดยลดลงจาก  $8.6 \log_{10} \text{ cfu/g}$  เหลือ  $8.3 \log_{10} \text{ cfu/g}$  และ  $8.6 \log_{10} \text{ cfu/g}$  เหลือ  $8.2 \log_{10} \text{ cfu/g}$  ตามลำดับ (ลดลง ประมาณ  $0.3 - 0.4 \log_{10} \text{ cfu/g}$ ) ซึ่งจะพบว่าลดลงเพียงเล็กน้อยเท่านั้น แต่เมื่อเก็บไว้เป็นเวลานานขึ้นถึง 28 วันจะพบว่าจุลินทรีย์จะมีปริมาณลดลงอีกประมาณ  $1 - 0.6 \log_{10} \text{ cfu/g}$  แต่ในขณะที่ และ Guo et al. (2002) อภิปรายผลการ เติมจุลินทรีย์ *Salmonella* ลงบนผลมะเขือเทศแล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ  $20^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 14 วัน พบว่าจำนวนจุลินทรีย์มีปริมาณลดลงอย่างมีนัยสำคัญ

## 4.2.1.2 ผลการศึกษาบนผักกาดหอม - Lettuce

4.2.1.2.1 ปริมาณจุลินทรีย์โดยรวม (TPC) - ตารางที่ 4.9 แสดงผลของวิธีการเตรียมผักโดยใช้สารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) และกรดเปอร์อะซิติก (Peracetic acid) ต่อการเพิ่มขึ้นของจุลินทรีย์เมื่อจัดเก็บที่อุณหภูมิ 10 °C และ 22 °C ณ เวลาที่แตกต่างกัน

ตารางที่ 4.9 ผลของการเจริญของจุลินทรีย์โดยรวม (TPC) ณ อุณหภูมิ และเวลาที่แตกต่างกันบนใบผักกาดหอม

Method of preparation	Temperature (°C)	Time (Hours)	Microorganism (Log <sub>10</sub> cfu /g) <sup>1</sup>	Compare all treatment in group of sanitizer	Notice: treatment
Chlorine (Cl)	10	0	7.17 ± 0.17 <sub>ab</sub>	ef	Trt1
		2	7.30 ± 0.17 <sub>b</sub>	fg	Trt2
		4	7.04 ± 0.16 <sub>a</sub>	e	Trt3
		8	7.07 ± 0.16 <sub>a</sub>	ef	Trt4
	22	0	7.17 ± 0.17 <sub>ab</sub>	ef	Trt5
		2	7.46 ± 0.23 <sub>c</sub>	g	Trt6
		4	7.79 ± 0.17 <sub>d</sub>	h	Trt7
		8	7.89 ± 0.17 <sub>d</sub>	h	Trt8
Peracetic acid (PA)	10	0	6.15 ± 0.26 <sub>ab</sub>	ab	Trt9
		2	6.10 ± 0.30 <sub>ab</sub>	a	Trt10
		4	6.15 ± 0.38 <sub>ab</sub>	ab	Trt11
		8	6.08 ± 0.36 <sub>a</sub>	a	Trt12
	22	0	6.15 ± 0.26 <sub>ab</sub>	ab	Trt13
		2	6.38 ± 0.26 <sub>bc</sub>	bc	Trt14
		4	6.52 ± 0.19 <sub>cd</sub>	c	Trt15
		8	6.78 ± 0.27 <sub>d</sub>	d	Trt16

หมายเหตุ : 1 = ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ตัวอักษรที่แตกต่างกันใน column (แถบสีเดียวกัน) แสดงถึงระดับความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

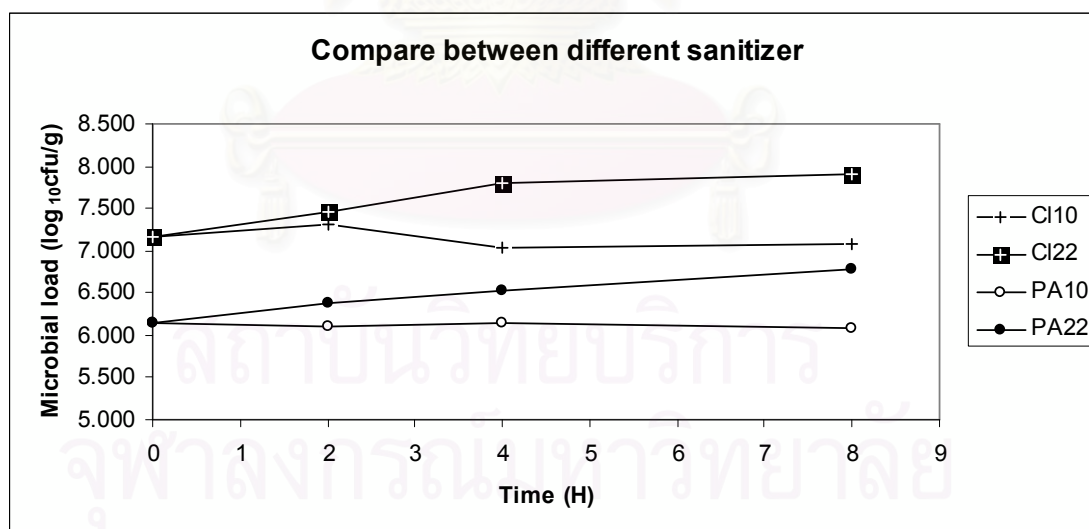
จากตารางที่ 4.9 จะเห็นว่าที่อุณหภูมิ 10 °C TPC ที่ปริมาณเริ่มต้นประมาณ  $7.17 \pm 0.17 \log_{10} \text{ cfu/g}$  (0 ชั่วโมง) เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 2 4 และ 8 ชั่วโมง พบว่ามีปริมาณจุลินทรีย์ TPC มีอยู่ประมาณ  $7.30 \pm 0.17$ ,  $7.04 \pm 0.16$  และ  $7.07 \pm 0.16 \log_{10} \text{ cfu/g}$  ตามลำดับ แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) แสดงว่าอุณหภูมิ ที่ 10 °C สามารถชลอหรือระงับ การเจริญของจุลินทรีย์โดยรวมได้ ในขณะที่ การเก็บที่อุณหภูมิ 22 °C นั้น เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 2 4 และ 8 ชั่วโมง พบว่าปริมาณจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้นไปเป็นประมาณ  $7.46 \pm 0.23$ ,  $7.79 \pm 0.17$  และ  $7.89 \pm 0.17 \log_{10} \text{ cfu/g}$  ตามลำดับ โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) กับปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น (0 ชั่วโมง) ซึ่งมีประมาณ  $7.17 \pm 0.17 \log_{10} \text{ cfu/g}$  แสดงว่าจุลินทรีย์ TPC นั้นมีความสามารถในการเจริญได้ ณ อุณหภูมิ 22 °C เมื่อเปรียบเทียบระหว่างอุณหภูมิ 10 °C และ 22 °C ณ เวลาที่ 2 4 และ 8 ชั่วโมงของการจัดเก็บ พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ TPC ที่อุณหภูมิ 22 °C มีมากกว่า จุลินทรีย์ TPC ที่ อุณหภูมิ 10 °C ซึ่งความแตกต่างกันนี้เป็นความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อพิจารณาผลวิเคราะห์ทางสถิติแบบ Factorial 2x4 in CRD พบว่า มี Main Effect จาก ปัจจัยของอุณหภูมิ และ ปัจจัยของเวลา ซึ่งบ่งบอกว่า อุณหภูมิที่สูงและที่ต่ำ นั้นจะมีความแตกต่างกันต่อการเจริญของจุลินทรีย์ กล่าวคือการเติบโตของจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ 10 °C และ 22 °C มีความแตกต่างกันนอกจากนี้ เวลาการจัดเก็บที่ยาวนานขึ้น ( 2, 4 และ 8 ชม) ที่อุณหภูมิ 22 °C จะมีผลต่อการเพิ่มจำนวน (การเจริญ) ของจุลินทรีย์ TPC ในขณะที่ 10 °C ไม่พบการเพิ่มจำนวน และยังพบว่ามี interaction ระหว่างปัจจัยอุณหภูมิ\*เวลา ซึ่งหมายความว่าอุณหภูมิและเวลามีผลต่อการสนับสนุนการเจริญของจุลินทรีย์ด้วย

เมื่อพิจารณาในส่วนของวิธีการเตรียมผักโดยสารฆ่าเชื้อ Peracetic acid (PA) เมื่อเติมจุลินทรีย์และเก็บที่อุณหภูมิ 10 °C และ 22 °C ณ เวลาที่แตกต่างกัน พบว่าที่อุณหภูมิ 10 °C จุลินทรีย์ TPC ที่ปริมาณเริ่มต้นที่ประมาณ  $6.15 \pm 0.26 \log_{10} \text{ cfu/g}$  (0 ชั่วโมง) เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 2 4 และ 8 ชั่วโมง พบว่ามีจุลินทรีย์ TPC อยู่ที่ประมาณ  $6.10 \pm 0.30$ ,  $6.15 \pm 0.38$  และ  $6.08 \pm 0.36 \log_{10} \text{ cfu/g}$  ตามลำดับแต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) แสดงว่าอุณหภูมิ ที่ 10 °C สามารถชลอ การเจริญของจุลินทรีย์โดยรวมได้ ในขณะที่ การเก็บที่อุณหภูมิ 22 °C นั้นเมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 2 4 และ 8 ชั่วโมง พบว่าปริมาณจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้นไปเป็นประมาณ  $6.38 \pm 0.26$ ,  $6.52 \pm 0.19$  และ  $6.78 \pm 0.27 \log_{10} \text{ cfu/g}$  จากปริมาณเริ่มต้นประมาณ  $6.15 \pm 0.26 \log_{10} \text{ cfu/g}$  (0 ชั่วโมง) อย่างมีนัยสำคัญที่ ( $p \leq 0.05$ ) แสดงว่าจุลินทรีย์ TPC นั้นมีความสามารถในการเจริญได้ ณ อุณหภูมิ 22 °C นี้ เมื่อเปรียบเทียบ

ระหว่างอุณหภูมิ 10 °C และ 22 °C ณ เวลาที่ 2 4 และ 8 ชั่วโมงของการจัดเก็บ พบว่า ปริมาณจุลินทรีย์ TPC ที่อุณหภูมิ 22 °C มีมากกว่า จุลินทรีย์ TPC ที่ อุณหภูมิ 10 °C ซึ่งความแตกต่างกันนี้เป็นความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อพิจารณาผลวิเคราะห์ทางสถิติแบบ Factorial 2x4 in CRD พบว่า มี Main Effect จาก ปัจจัยของอุณหภูมิ และ ปัจจัยของเวลา ซึ่งบ่งบอกว่า อุณหภูมิที่สูงและที่ต่ำ นั้นจะมีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ กล่าวคือการเติบโตของจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ 10 °C และ 22 °C มีความแตกต่างกัน นอกจากนี้ เวลาการจัดเก็บที่ยาวนานขึ้น (2, 4 และ 8 ชม) ที่อุณหภูมิ 22 °C จะมีผลต่อการเพิ่มจำนวน (การเจริญ) ของจุลินทรีย์ TPC ในขณะที่ 10 °C ไม่พบการเพิ่มจำนวน และยังพบว่ามี interaction ระหว่างปัจจัยอุณหภูมิ\*เวลา ซึ่งหมายความว่าอุณหภูมิและเวลามีผลต่อการสนับสนุนการเจริญของจุลินทรีย์ด้วย

ผลการทดลองของสารฆ่าเชื้อ ทั้งสองนี้ สอดคล้องกันและมีแนวทางไปในทิศทางเดียวกัน กล่าวคืออุณหภูมิ และ เวลา มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์โดยรวม (TPC) ซึ่งมี main effect และ interaction เช่นเดียวกัน

เมื่อพิจารณาถึงวิธีการเตรียมผักโดยแช่ในสารฆ่าเชื้อ คลอรีนและกรดเปอร์อะซิติก ณ อุณหภูมิที่แตกต่างกัน และ เวลาที่แตกต่างกันพบว่า เมื่อจัดเก็บผักไว้ที่อุณหภูมิ 22 °C จุลินทรีย์จะสามารถเจริญได้ ดังแสดงในรูปที่ 4.13



รูปที่ 4.13 ผลเปรียบเทียบการเจริญของจุลินทรีย์ TPC ระหว่างการใช้สารฆ่าเชื้อ คลอรีนและกรดเปอร์อะซิติก ณ อุณหภูมิ 10 และ 22 °C (โดย CI10, PA10 หมายถึงเชื้อบนใบผักกาดหอมที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยคลอรีน และกรดเปอร์อะซิติกและเก็บ ณ อุณหภูมิ 10 °C ขณะที่ CI22, PA22 จะหมายถึงเชื้อบนใบผักกาดหอมที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยคลอรีน และกรดเปอร์อะซิติกและเก็บ ณ อุณหภูมิ 22 °C)

เมื่อวิเคราะห์ผลแบบ Factorial 2x2x4 in CRD ระหว่าง วิธีการเตรียมผักทั้ง สอง ชนิดสารฆ่าเชื้อ ณ อุณหภูมิ 10 °C เวลา 0, 2, 4 และ 8 ชั่วโมง และ อุณหภูมิ 22 °C เวลา 0, 2, 4 และ 8 ชั่วโมง พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ TPC ที่เจริญเติบโตนั้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) และพบว่า มี Main Effect จาก วิธีการเตรียมผัก อุณหภูมิ และ เวลา จากผลการวิเคราะห์ทางสถิติแบบ Factorial ยังพบว่ามี interaction ระหว่างปัจจัย อุณหภูมิ\*เวลา ทั้งนี้ผลยังคงสอดคล้องและสืบเนื่องมาจากการทดลองในขั้นตอนการศึกษาผลของสารฆ่าเชื้อ ที่บ่งชี้ว่าการใช้สารฆ่าเชื้อ กรดเปอร์อะซิติกจะทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ที่หลงเหลือมีปริมาณน้อยกว่าจุลินทรีย์ที่ผ่านการแช่สารฆ่าเชื้อคลอรีน จึงทำให้ปริมาณเริ่มต้นของจุลินทรีย์บนใบผักกาดหอมที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนและกรดเปอร์อะซิติกมีความแตกต่างกัน ซึ่งทำให้ปริมาณสุดท้ายเมื่อเวลาผ่านไป 8 ชั่วโมง จุลินทรีย์ TPC จึงมีปริมาณที่แตกต่างกันด้วย เมื่อพิจารณาความแตกต่างของจุลินทรีย์เริ่มต้นและจุลินทรีย์สุดท้ายของการใช้สารฆ่าเชื้อที่แตกต่างกันจะพบว่า มีความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อยในการเจริญของจุลินทรีย์บนใบผักกาดหอม โดยเมื่อใช้คลอรีน จุลินทรีย์ TPC จะเพิ่มขึ้น ประมาณ 0.72  $\log_{10}$  cfu/g/8 h หรือ ประมาณ 0.09  $\log_{10}$  cfu/g/h (เริ่มต้นที่อุณหภูมิ 22 °C อยู่ที่ประมาณ 7.17  $\log_{10}$  cfu/g และที่เวลา 8 ชั่วโมงมีปริมาณจุลินทรีย์สุดท้ายอยู่ที่ประมาณ 7.89  $\log_{10}$  cfu/g) ในขณะที่ เมื่อใช้กรดเปอร์อะซิติกจุลินทรีย์ TPC จะเพิ่มขึ้น ประมาณ 0.63  $\log_{10}$  cfu/g/8 h หรือ ประมาณ 0.08  $\log_{10}$  cfu/g/h (เริ่มต้นอยู่ที่ประมาณ 6.15  $\log_{10}$  cfu/g และที่เวลา 8 ชั่วโมงมีปริมาณจุลินทรีย์สุดท้ายอยู่ที่ประมาณ 6.78  $\log_{10}$  cfu/g)



4.2.1.2.2 ปริมาณจุลินทรีย์กลุ่ม Coliforms - ตารางที่ 4.10 แสดงผลของวิธีการเตรียมผักโดยใช้สารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) และกรดเปอร์อะซิติก (Peracetic acid) ต่อการเพิ่มขึ้นของจุลินทรีย์เมื่อจัดเก็บที่อุณหภูมิ 10 °C และ 22 °C ณ เวลาที่แตกต่างกัน

ตารางที่ 4.10 ผลของการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่ม Coliforms ณ อุณหภูมิ และเวลาที่แตกต่างกัน บนใบผักกาดหอม

Method of preparation	Temperature (°C)	Time (Hours)	Microorganism (Log <sub>10</sub> cfu /g) <sup>1</sup>	Compare all treatment in group of sanitizer	Notice: treatment
Chlorine (Cl)	10	0	6.88 ± 0.46 <sub>a</sub>	e	Trt1
		2	6.91 ± 0.51 <sub>a</sub>	e	Trt2
		4	6.82 ± 0.43 <sub>a</sub>	e	Trt3
		8	6.79 ± 0.59 <sub>a</sub>	de	Trt4
	22	0	6.88 ± 0.46 <sub>a</sub>	e	Trt5
		2	7.13 ± 0.50 <sub>ab</sub>	ef	Trt6
		4	7.35 ± 0.34 <sub>b</sub>	f	Trt7
		8	7.96 ± 0.19 <sub>c</sub>	g	Trt8
Peracetic acid (PA)	10	0	6.17 ± 0.18 <sub>c</sub>	bc	Trt9
		2	5.93 ± 0.29 <sub>ab</sub>	ab	Trt10
		4	5.81 ± 0.18 <sub>a</sub>	a	Trt11
		8	6.03 ± 0.19 <sub>bc</sub>	ab	Trt12
	22	0	6.17 ± 0.18 <sub>c</sub>	bc	Trt13
		2	6.12 ± 0.13 <sub>c</sub>	ab	Trt14
		4	6.49 ± 0.17 <sub>d</sub>	cd	Trt15
		8	6.84 ± 0.17 <sub>e</sub>	e	Trt16

หมายเหตุ : 1 = ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ตัวอักษรที่แตกต่างกันใน column (แถบสีเดียวกัน) แสดงถึงระดับความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากตารางที่ 4.10 จะเห็นว่าที่อุณหภูมิ 10 °C coliforms ที่ปริมาณเริ่มต้นประมาณ 6.88 ± 0.46 log<sub>10</sub> cfu/g (0 ชั่วโมง) เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 2 4 และ 8 ชั่วโมง พบว่ามีปริมาณจุลินทรีย์

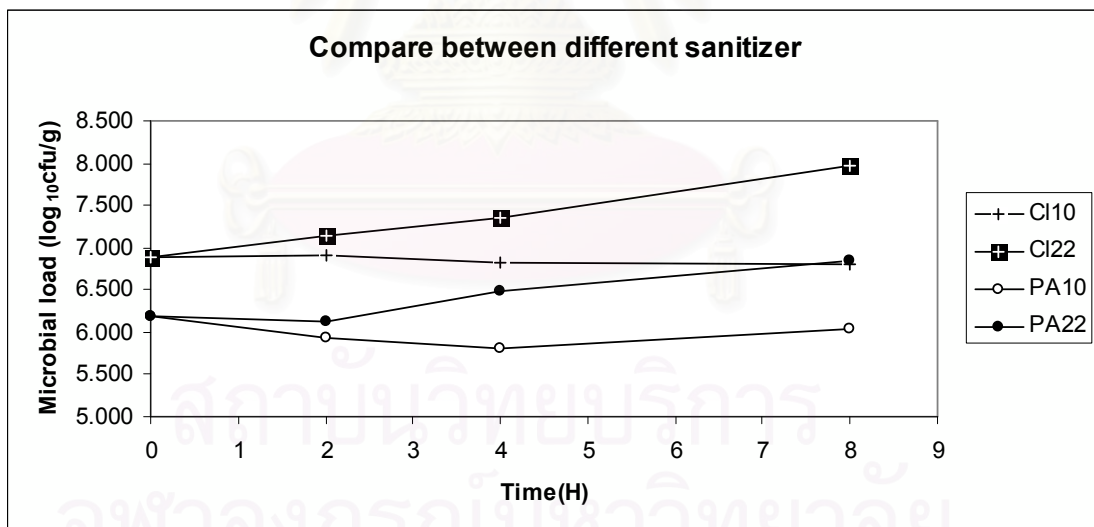
coliforms มีอยู่ประมาณ  $6.91 \pm 0.51$ ,  $6.82 \pm 0.43$  และ  $6.79 \pm 0.59 \log_{10}$  cfu/g ตามลำดับ แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) แสดงว่าอุณหภูมิ ที่  $10^{\circ}\text{C}$  สามารถชลอหรือระงับ การเจริญของจุลินทรีย์ coliforms ได้ ในขณะที่ การเก็บที่อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  นั้น เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 2 4 และ 8 ชั่วโมง พบว่าปริมาณจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้นไปเป็นประมาณ  $7.13 \pm 0.50$ ,  $7.35 \pm 0.34$  และ  $7.96 \pm 0.19 \log_{10}$  cfu/g ตามลำดับ โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) กับปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น (0 ชั่วโมง) ซึ่งมีประมาณ  $6.88 \pm 0.46 \log_{10}$  cfu/g แสดงว่าจุลินทรีย์ coliforms นั้นมีความสามารถในการเจริญได้ ณ อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  เมื่อเปรียบเทียบระหว่างอุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  และ  $22^{\circ}\text{C}$  ณ เวลาที่ 2 4 และ 8 ชั่วโมงของการจัดเก็บ พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ coliforms ที่อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  มีมากกว่า จุลินทรีย์ coliforms ที่อุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  ซึ่งความแตกต่างกันนี้เป็นความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อพิจารณาผลวิเคราะห์ทางสถิติแบบ Factorial  $2 \times 4$  in CRD พบว่า มี Main Effect จาก ปัจจัยของอุณหภูมิ และ ปัจจัยของเวลา ซึ่งบ่งบอกว่า อุณหภูมิที่สูงและที่ต่ำ นั้นจะมีความแตกต่างกันต่อการเจริญของจุลินทรีย์ กล่าวคือการเติบโตของจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  และ  $22^{\circ}\text{C}$  มีความแตกต่างกันนอกจากนี้ เวลาการจัดเก็บที่ยาวนานขึ้น ( 2, 4 และ 8 ชม) ที่อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  จะมีผลต่อการเพิ่มจำนวน (การเจริญ) ของจุลินทรีย์ coliforms ในขณะที่  $10^{\circ}\text{C}$  ไม่พบการเพิ่มจำนวน และยังพบว่ามี interaction ระหว่างปัจจัยอุณหภูมิ\*เวลา ซึ่งหมายความว่าอุณหภูมิและเวลามีผลต่อการสนับสนุนการเจริญของจุลินทรีย์ด้วย

เมื่อพิจารณาในส่วนของวิธีการเตรียมผักโดยสารฆ่าเชื้อ Peracetic acid (PA) เมื่อเติมจุลินทรีย์และเก็บที่อุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  และ  $22^{\circ}\text{C}$  ณ เวลาที่แตกต่างกัน พบว่าที่อุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  จุลินทรีย์ coliforms ที่ปริมาณเริ่มต้นที่ประมาณ  $6.17 \pm 0.18 \log_{10}$  cfu/g ( 0 ชั่วโมง) เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 2 4 และ 8 ชั่วโมง พบว่ามีจุลินทรีย์ coliforms อยู่ที่ประมาณ  $5.93 \pm 0.29$ ,  $5.81 \pm 0.18$  และ  $6.03 \pm 0.19 \log_{10}$  cfu/g ตามลำดับแต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) แสดงว่าอุณหภูมิ ที่  $10^{\circ}\text{C}$  สามารถชลอ การเจริญของจุลินทรีย์ coliforms ได้ ในขณะที่ การเก็บที่อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  นั้นเมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 2 4 และ 8 ชั่วโมง พบว่าปริมาณจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้นไปเป็นประมาณ  $6.12 \pm 0.13$ ,  $6.49 \pm 0.17$  และ  $6.84 \pm 0.17 \log_{10}$  cfu/g จากปริมาณเริ่มต้นประมาณ  $6.17 \pm 0.18 \log_{10}$  cfu/g ( 0 ชั่วโมง) อย่างมีนัยสำคัญที่ ( $p \leq 0.05$ ) แสดงว่าจุลินทรีย์ coliforms นั้นมีความสามารถในการเจริญได้ ณ อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  นี้ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างอุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  และ  $22^{\circ}\text{C}$  ณ เวลาที่ 2 4 และ 8 ชั่วโมงของการจัดเก็บ พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ coliforms ที่อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  มีมากกว่า จุลินทรีย์

coliforms ที่ อุณหภูมิ 10 °C ซึ่งความแตกต่างกันนี้เป็นความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อพิจารณาผลวิเคราะห์ทางสถิติแบบ Factorial 2x4 in CRD พบว่า มี Main Effect จาก ปัจจัยของอุณหภูมิ และ ปัจจัยของเวลา ซึ่งบ่งบอกว่า อุณหภูมิที่สูงและที่ต่ำ นั้นจะมีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ กล่าวคือการเติบโตของจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ 10 °C และ 22 °C มีความแตกต่างกัน นอกจากนี้ เวลาการจับเก็บที่ยาวนานขึ้น ( 2, 4 และ 8 ชม) ที่อุณหภูมิ 22 °C จะมีผลต่อการเพิ่มจำนวน (การเจริญ) ของจุลินทรีย์ coliforms ในขณะที่ 10 °C ไม่พบการเพิ่มจำนวน และยังพบว่า มี interaction ระหว่างปัจจัยอุณหภูมิ\*เวลา ซึ่งหมายความว่าอุณหภูมิและเวลามีผลต่อการสนับสนุนการเจริญของจุลินทรีย์ด้วย

ผลการทดลองของสารฆ่าเชื้อ ทั้งสองนี้ สอดคล้องกันและมีแนวทางไปในทิศทางเดียวกัน กล่าวคืออุณหภูมิ และ เวลา มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ coliforms ซึ่งมี main effect และ interaction เช่นเดียวกัน

เมื่อพิจารณาถึงวิธีการเตรียมผักโดยแช่ในสารฆ่าเชื้อ คลอรีนและกรดเปอร์อะซิติก ณ อุณหภูมิที่แตกต่างกัน และ เวลาที่แตกต่างกันพบว่า เมื่อจับเก็บผักไว้ที่อุณหภูมิ 22 °C จุลินทรีย์จะสามารถเจริญได้ ดังแสดงในรูปที่ 4.14



รูปที่ 4.14 ผลเปรียบเทียบการเจริญของจุลินทรีย์ coliforms ระหว่างการใช้สารฆ่าเชื้อ คลอรีนและกรดเปอร์อะซิติก ณ อุณหภูมิ 10 และ 22 °C (โดย CI10, PA10 หมายถึงเชือบนใบผักกาดหอมที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยคลอรีน และกรดเปอร์อะซิติกและเก็บ ณ อุณหภูมิ 10 °C ขณะที่ CI22, PA22 จะหมายถึงเชือบนใบผักกาดหอมที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยคลอรีน และกรดเปอร์อะซิติกและเก็บ ณ อุณหภูมิ 22 °C)

เมื่อวิเคราะห์ผลแบบ Factorial 2x2x4 in CRD ระหว่าง วิธีการเตรียมผักทั้ง สอง ชนิดสารฆ่าเชื้อ ณ อุณหภูมิ 10 °C เวลา 0, 2, 4 และ 8 ชั่วโมง และ อุณหภูมิ 22 °C เวลา 0, 2, 4 และ 8 ชั่วโมง พบว่าปริมาณ จุลินทรีย์ coliforms ที่เจริญเติบโตนั้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) และพบว่า มี Main Effect จาก วิธีการเตรียมผัก อุณหภูมิ และ เวลา จากผลการวิเคราะห์ทางสถิติแบบ Factorial ยังพบว่ามี interaction ระหว่างปัจจัย อุณหภูมิ\*เวลา ทั้งนี้ผลยังคงสอดคล้องและสืบเนื่องมาจากการทดลองในขั้นตอนการศึกษาผลของสารฆ่าเชื้อ ที่บ่งชี้ว่าการใช้สารฆ่าเชื้อ กรดเปอร์อะซิติกจะทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ที่หลงเหลือมีปริมาณน้อยกว่า จุลินทรีย์ที่ผ่านการแช่สารฆ่าเชื้อคลอรีน จึงทำให้ปริมาณเริ่มต้นของจุลินทรีย์บนใบผักกาดหอมที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนและกรดเปอร์อะซิติกมีความแตกต่างกัน ซึ่งทำให้ปริมาณสุดท้ายเมื่อเวลาผ่านไป 8 ชั่วโมง จุลินทรีย์ coliforms จึงมีปริมาณที่แตกต่างกันด้วย เมื่อพิจารณาความแตกต่างของจุลินทรีย์เริ่มต้นและจุลินทรีย์สุดท้ายของการใช้สารฆ่าเชื้อที่แตกต่างกันจะพบว่ามี ความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อยในการเจริญของจุลินทรีย์บนใบผักกาดหอม โดยเมื่อใช้คลอรีน จุลินทรีย์ coliforms จะเพิ่มขึ้น ประมาณ  $1.08 \log_{10} \text{ cfu/g/8 h}$  หรือ ประมาณ  $0.13 \log_{10} \text{ cfu/g/h}$  (เริ่มต้นที่อุณหภูมิ 22 °C อยู่ที่ประมาณ  $6.88 \log_{10} \text{ cfu/g}$  และที่เวลา 8 ชั่วโมงมีปริมาณจุลินทรีย์สุดท้ายอยู่ที่ประมาณ  $7.96 \log_{10} \text{ cfu/g}$ ) ในขณะที่ เมื่อใช้กรดเปอร์อะซิติกจุลินทรีย์ coliform เพิ่มขึ้น ประมาณ  $0.67 \log_{10} \text{ cfu/g/8 h}$  หรือ ประมาณ  $0.08 \log_{10} \text{ cfu/g/h}$  (เริ่มต้นอยู่ที่ประมาณ  $6.17 \log_{10} \text{ cfu/g}$  และที่เวลา 8 ชั่วโมงมีปริมาณจุลินทรีย์สุดท้ายอยู่ที่ประมาณ  $6.84 \log_{10} \text{ cfu/g}$ )

4.2.1.2.3 ปริมาณจุลินทรีย์กลุ่ม *E. coli* -ตารางที่ 4.11 แสดงผลของวิธีการเตรียมผักโดยใช้สารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) และกรดเปอร์อะซิติก (Peracetic acid) ต่อการเพิ่มขึ้นของจุลินทรีย์เมื่อจัดเก็บที่อุณหภูมิ 10 °C และ 22 °C ณ เวลาที่แตกต่างกัน

ตารางที่ 4.11 ผลของการเจริญของจุลินทรีย์ *E. coli* ณ อุณหภูมิ และเวลาที่แตกต่างกันบนใบผักกาดหอม

Method of Preparation	Temperature (°C)	Time (Hours)	Microorganism (Log <sub>10</sub> cfu /g) <sup>1</sup>	Compare all treatment in group of sanitizing	Notice: treatment
Chlorine (Cl)	10	0	7.01 ± 0.18 <sub>a</sub>	c	Trt1
		2	7.00 ± 0.22 <sub>a</sub>	c	Trt2
		4	6.99 ± 0.14 <sub>a</sub>	c	Trt3
		8	7.12 ± 0.28 <sub>a</sub>	c	Trt4
	22	0	7.01 ± 0.18 <sub>a</sub>	c	Trt5
		2	7.13 ± 0.25 <sub>a</sub>	c	Trt6
		4	7.52 ± 0.24 <sub>b</sub>	d	Trt7
		8	7.97 ± 0.18 <sub>c</sub>	e	Trt8
Peracetic acid (PAA)	10	0	6.13 ± 0.23 <sub>ab</sub>	a	Trt9
		2	6.13 ± 0.24 <sub>ab</sub>	a	Trt10
		4	6.08 ± 0.23 <sub>ab</sub>	a	Trt11
		8	6.00 ± 0.29 <sub>a</sub>	a	Trt12
	22	0	6.13 ± 0.23 <sub>ab</sub>	a	Trt13
		2	6.25 ± 0.25 <sub>b</sub>	a	Trt14
		4	6.50 ± 0.26 <sub>c</sub>	b	Trt15
		8	6.99 ± 0.18 <sub>d</sub>	c	Trt16

หมายเหตุ : 1 = ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ตัวอักษรที่แตกต่างกันใน column (แถบสีเดียวกัน) แสดงถึงระดับความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากตารางที่ 4.11 จะเห็นว่าที่อุณหภูมิ 10 °C *E. coli* ที่ปริมาณเริ่มต้นประมาณ 7.01 ± 0.18 log<sub>10</sub> cfu/g (0 ชั่วโมง) เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 2 4 และ 8 ชั่วโมง พบว่ามีปริมาณจุลินทรีย์



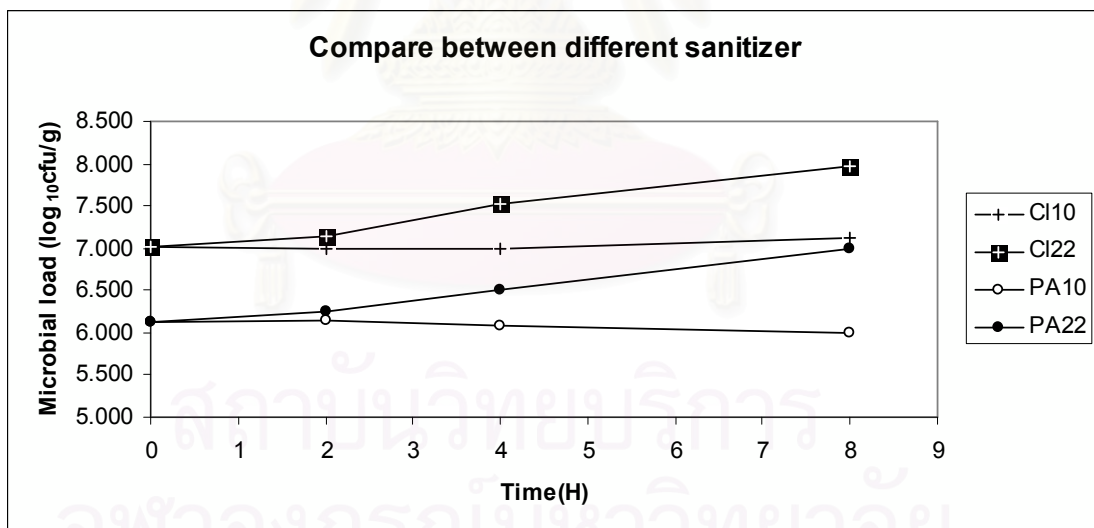
*E. coli* มีอยู่ประมาณ  $7.00 \pm 0.22$ ,  $6.99 \pm 0.14$  และ  $7.12 \pm 0.28 \log_{10}$  cfu/g ตามลำดับ แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) แสดงว่าอุณหภูมิ ที่  $10^{\circ}\text{C}$  สามารถชลอหรือระงับ การเจริญของจุลินทรีย์ *E. coli* ได้ ในขณะที่ การเก็บที่อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  นั้น เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 2 4 และ 8 ชั่วโมง พบว่าปริมาณจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้นไปเป็นประมาณ  $7.13 \pm 0.25$ ,  $7.52 \pm 0.24$  และ  $7.97 \pm 0.18 \log_{10}$  cfu/g ตามลำดับ โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) กับปริมาณ จุลินทรีย์เริ่มต้น (0 ชั่วโมง) ซึ่งมีประมาณ  $7.01 \pm 0.18 \log_{10}$  cfu/g แสดงว่าจุลินทรีย์ *E. coli* นั้นมีความสามารถในการเจริญได้ ณ อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  เมื่อเปรียบเทียบระหว่างอุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  และ  $22^{\circ}\text{C}$  ณ เวลาที่ 2 4 และ 8 ชั่วโมงของการจัดเก็บ พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ *E. coli* ที่อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  มีมากกว่า จุลินทรีย์ *E. coli* ที่อุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  ซึ่งความแตกต่างกันนี้เป็นความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อพิจารณาผลวิเคราะห์ทางสถิติแบบ Factorial 2x4 in CRD พบว่า มี Main Effect จาก ปัจจัยของอุณหภูมิ และ ปัจจัยของเวลา ซึ่งบ่งบอกว่า อุณหภูมิที่สูงและที่ต่ำ นั้นจะมีความแตกต่างกันต่อการเจริญของจุลินทรีย์ กล่าวคือการเติบโตของจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  และ  $22^{\circ}\text{C}$  มีความแตกต่างกันนอกจากนี้ เวลาการจัดเก็บที่ยาวนานขึ้น (2, 4 และ 8 ชม) ที่อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  จะมีผลต่อการเพิ่มจำนวน (การเจริญ) ของจุลินทรีย์ *E. coli* ในขณะที่  $10^{\circ}\text{C}$  ไม่พบการเพิ่มจำนวน และยังพบว่ามี interaction ระหว่างปัจจัยอุณหภูมิ\*เวลา ซึ่งหมายความว่าอุณหภูมิและเวลามีผลต่อการสนับสนุนการเจริญของจุลินทรีย์ด้วย

เมื่อพิจารณาในส่วนของวิธีการเตรียมผักโดยสารฆ่าเชื้อ Peracetic acid (PA) เมื่อเติมจุลินทรีย์และเก็บที่อุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  และ  $22^{\circ}\text{C}$  ณ เวลาที่แตกต่างกัน พบว่าที่อุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  จุลินทรีย์ *E. coli* ที่ปริมาณเริ่มต้นที่ประมาณ  $6.13 \pm 0.23 \log_{10}$  cfu/g (0 ชั่วโมง) เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 2 4 และ 8 ชั่วโมง พบว่ามีจุลินทรีย์ *E. coli* อยู่ที่ประมาณ  $6.13 \pm 0.24$ ,  $6.08 \pm 0.23$  และ  $6.00 \pm 0.29 \log_{10}$  cfu/g ตามลำดับแต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) แสดงว่าอุณหภูมิ ที่  $10^{\circ}\text{C}$  สามารถชลอ การเจริญของจุลินทรีย์ *E. coli* ได้ ในขณะที่ การเก็บที่อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  นั้นเมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 2 4 และ 8 ชั่วโมง พบว่าปริมาณจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้นไปเป็นประมาณ  $6.25 \pm 0.25$ ,  $6.50 \pm 0.26$  และ  $6.99 \pm 0.18 \log_{10}$  cfu/g จากปริมาณเริ่มต้นประมาณ  $6.13 \pm 0.23 \log_{10}$  cfu/g (0 ชั่วโมง) อย่างมีนัยสำคัญที่ ( $p \leq 0.05$ ) แสดงว่าจุลินทรีย์ *E. coli* นั้นมีความสามารถในการเจริญได้ ณ อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  นี้ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างอุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  และ  $22^{\circ}\text{C}$  ณ เวลาที่ 2 4 และ 8 ชั่วโมงของการจัดเก็บ พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ *E. coli* ที่อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  มีมากกว่า จุลินทรีย์ *E. coli* ที่ อุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$

ซึ่งความแตกต่างกันนี้เป็นความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อพิจารณาผลวิเคราะห์ทางสถิติแบบ Factorial 2x4 in CRD พบว่า มี Main Effect จาก ปัจจัยของอุณหภูมิ และ ปัจจัยของเวลา ซึ่งบ่งบอกว่า อุณหภูมิที่สูงและที่ต่ำ นั้นจะมีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ กล่าวคือการเติบโตของจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ 10 °C และ 22 °C มีความแตกต่างกัน นอกจากนี้ เวลาการจับเก็บที่ยาวนานขึ้น ( 2, 4 และ 8 ชม) ที่อุณหภูมิ 22 °C จะมีผลต่อการเพิ่มจำนวน (การเจริญ) ของจุลินทรีย์ *E. coli* ในขณะที่ 10 °C ไม่พบการเพิ่มจำนวน และยังพบว่า มี interaction ระหว่าง ปัจจัยอุณหภูมิ\*เวลา ซึ่งหมายความว่าอุณหภูมิและเวลามีผลต่อการสนับสนุนการเจริญของจุลินทรีย์ด้วย

ผลการทดลองของสารฆ่าเชื้อ ทั้งสองนี้ สอดคล้องกันและมีแนวทางไปในทิศทางเดียวกัน กล่าวคืออุณหภูมิ และ เวลา มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ *E. coli* ซึ่งมี main effect และ interaction เช่นเดียวกัน

เมื่อพิจารณาถึงวิธีการเตรียมผักโดยแช่ในสารฆ่าเชื้อ คลอรีนและกรดเปอร์อะซิติก ณ อุณหภูมิที่แตกต่างกัน และ เวลาที่แตกต่างกันพบว่า เมื่อจับเก็บผักไว้ที่อุณหภูมิ 22 °C จุลินทรีย์จะสามารถเจริญได้ ดังแสดงในรูปที่ 4.15



รูปที่ 4.15 ผลเปรียบเทียบการเจริญของจุลินทรีย์ *E. coli* ระหว่างการใช้สารฆ่าเชื้อ คลอรีนและกรดเปอร์อะซิติก ณ อุณหภูมิ 10 และ 22 °C (โดย CI10, PA10 หมายถึงเชือบนใบผักกาดหอมที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยคลอรีน และกรดเปอร์อะซิติกและเก็บ ณ อุณหภูมิ 10 °C ขณะที่ CI22, PA22 จะหมายถึงเชือบนใบผักกาดหอมที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยคลอรีน และกรดเปอร์อะซิติกและเก็บ ณ อุณหภูมิ 22 °C)

เมื่อวิเคราะห์ผลแบบ Factorial 2x2x4 in CRD ระหว่าง วิธีการเตรียมผักทั้ง สอง ชนิดสารฆ่าเชื้อ ณ อุณหภูมิ 10 °C เวลา 0, 2, 4 และ 8 ชั่วโมง และ อุณหภูมิ 22 °C เวลา 0, 2, 4 และ 8 ชั่วโมง พบว่าปริมาณ จุลินทรีย์ *E. coli* ที่เจริญเติบโตนั้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) และพบว่า มี Main Effect จาก วิธีการเตรียมผัก อุณหภูมิ และ เวลา จากผลการวิเคราะห์ทางสถิติแบบ Factorial ยังพบว่ามี interaction ระหว่างปัจจัย อุณหภูมิ\*เวลา ทั้งนี้ผลยังคงสอดคล้องและสืบเนื่องมาจากการทดลองในขั้นตอนการศึกษาผลของสารฆ่าเชื้อ ที่บ่งชี้ว่าการใช้สารฆ่าเชื้อ กรดเปอร์อะซิติกจะทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ที่หลงเหลือมีปริมาณน้อยกว่า จุลินทรีย์ที่ผ่านการแช่สารฆ่าเชื้อคลอรีน จึงทำให้ปริมาณเริ่มต้นของจุลินทรีย์บนใบผักกาดหอมที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนและกรดเปอร์อะซิติกมีความแตกต่างกัน ซึ่งทำให้ปริมาณสุดท้ายเมื่อเวลาผ่านไป 8 ชั่วโมง จุลินทรีย์ *E. coli* จึงมีปริมาณที่แตกต่างกันด้วย เมื่อพิจารณาความแตกต่างของจุลินทรีย์เริ่มต้นและจุลินทรีย์สุดท้ายของการใช้สารฆ่าเชื้อที่แตกต่างกันจะพบว่ามี ความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อยในการเจริญของจุลินทรีย์บนใบผักกาดหอม โดยเมื่อใช้คลอรีน จุลินทรีย์ *E. coli* เพิ่มขึ้นประมาณ  $0.97 \log_{10} \text{ cfu/g/8 h}$  หรือ ประมาณ  $0.12 \log_{10} \text{ cfu/g/h}$  (เริ่มต้นที่อุณหภูมิ 22 °C อยู่ที่ประมาณ  $7.01 \log_{10} \text{ cfu/g}$  และที่เวลา 8 ชั่วโมงมีปริมาณจุลินทรีย์สุดท้าย อยู่ที่  $7.97 \log_{10} \text{ cfu/g}$ ) ในขณะที่ เมื่อใช้กรดเปอร์อะซิติกจุลินทรีย์ *E. coli* เพิ่มขึ้นประมาณ  $0.86 \log_{10} \text{ cfu/g/8 h}$  หรือ ประมาณ  $0.11 \log_{10} \text{ cfu/g/h}$  (จุลินทรีย์เริ่มต้นอยู่ที่ประมาณ  $6.13 \log_{10} \text{ cfu/g}$  และที่เวลา 8 ชั่วโมงมีปริมาณ จุลินทรีย์สุดท้ายอยู่ที่ประมาณ  $6.99 \log_{10} \text{ cfu/g}$ )

จากการทดลองข้างต้นในการศึกษาการเก็บมะเขือเทศที่ผ่านการฆ่าจุลินทรีย์มาแล้ว จะพบว่าทั้งสามประเภทจุลินทรีย์ที่เก็บในอุณหภูมิ 10 °C นั้น ปริมาณจุลินทรีย์สุดท้ายจะมีปริมาณที่มากกว่าเล็กน้อยหรือน้อยกว่าปริมาณเริ่มต้นเล็กน้อยเท่านั้น แต่เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 22 °C นั้น จะพบว่าปริมาณจุลินทรีย์สุดท้ายจะมีปริมาณสูงกว่าปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น ของจุลินทรีย์ทั้งสามประเภทที่ศึกษา โดยจะมีปริมาณจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นประมาณ  $0.63 - 1.08 \log_{10} \text{ cfu/g/8h}$

Koseki และ Isobe (2005) ที่ได้ศึกษาการเติบโตของจุลินทรีย์ *E. coli* O157:H7 บน iceberg lettuce ณ เวลา ประมาณ 8 ซม ที่อุณหภูมิ 10 และ 20 °C พบว่าจุลินทรีย์มีปริมาณเพิ่มขึ้น ประมาณ 0.2 และ ประมาณ  $2 \log_{10} \text{ cfu/g}$  ตามลำดับ ในขณะที่จุลินทรีย์ *Salmonella* spp. สามารถอยู่รอดและเจริญเติบโตที่อุณหภูมิ 10 และ 20 °C ซึ่งพบว่ามีปริมาณเพิ่มขึ้น ประมาณ 0.1 และ ประมาณ  $2 \log_{10} \text{ cfu/g}$  ตามลำดับ Chang และ Fang (2007) ได้ทดลองเติมจุลินทรีย์ *E. coli* O157:H7 บนใบผักกาดและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 22 °C เป็นเวลา 2 วันพบว่า ปริมาณจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้น ประมาณ  $2.1 \log_{10} \text{ cfu/g}$  และ เพิ่มขึ้นอีก ประมาณ  $2.7 \log_{10} \text{ cfu/g}$  (จากวันแรก) เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 3 วัน และเมื่อ Chang และ Fang (2007) ศึกษาจุลินทรีย์

*Salmonella* Typhimurium โดยจัดเก็บไว้ ณ อุณหภูมิ 22 °C เป็นเวลา 2 และ 3 วันปริมาณ จุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้น ประมาณ 2.3 log<sub>10</sub> cfu/g และ ประมาณ 2.9 log<sub>10</sub> cfu/g ตามลำดับ Islam, Hasan and Khan (1993) ได้กล่าวไว้ว่า จุลินทรีย์ก่อโรคสามารถเจริญได้บนตัวอย่างผัก หลายๆ ชนิดเช่นผักกาด มะเขือเทศ แคนตาลูป ซึ่งสามารถเพิ่มจาก 5 log<sub>10</sub> cfu/g เป็น 8 log<sub>10</sub> cfu/g ในเวลา 18 ชั่วโมงหลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 °C แต่ในรายงานของ Chang และ Fang (2007) ได้ทดลองเติมจุลินทรีย์ *E. coli* O157:H7 บนใบผักกาดและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4°C พบว่า เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 3 วันปริมาณจุลินทรีย์จะลดลง ประมาณ 0.2 log<sub>10</sub> cfu/g และลดลงอีก ประมาณ 1.4 log<sub>10</sub> cfu/g (จากวันแรก) เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 14 วัน และเมื่อ Chang และ Fang (2007) ศึกษาจุลินทรีย์ *Salmonella* Typhimurium บนใบผักกาดและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C และ พบว่าเมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 3 วัน และ 14 วัน ปริมาณจุลินทรีย์จะลดลง ประมาณ 0.7 log<sub>10</sub> cfu/g และ ประมาณ 1.1 log<sub>10</sub> cfu/g ตามลำดับ Weissinger et al. (2000) รายงานผลการอยู่รอด ของจุลินทรีย์ *Salmonella bairdson* ที่อุณหภูมิ 12 °C พบว่ามีปริมาณลดลง ประมาณ 0.8 log<sub>10</sub> cfu/g ขณะที่ Kim et al. (2006) รายงานว่าจุลินทรีย์ *Enterobacter sakazakii* สามารถอยู่รอด และเจริญบนผักกาด ที่อุณหภูมิ 12 และ 25 °C ที่เวลา 24 ชั่วโมงมีปริมาณลดลงเล็กน้อยเพียง ประมาณ 0.02 log<sub>10</sub> cfu/g

จากการศึกษาทดลองเติมจุลินทรีย์ลงบนผักใบและผลของผักนั้นจะพบว่าอุณหภูมิและเวลา มีผลกับการอยู่รอดและเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ทั้งจากการทดลองนี้และจากรายงานการทดลอง ของนักวิจัยท่านอื่นๆ ที่ได้กล่าวมา มีความสอดคล้องกัน

#### 4.2.2 ผลของอุณหภูมิและเวลาในการเก็บรักษา ถั่วแดงกระป๋องและ ข้าวโพดอ่อน

เมื่อเติมจุลินทรีย์ลงไปประมาณ  $10^3 - 10^4$  cfu ( $3 - 4 \log_{10}$  cfu) โดยการเติมจุลินทรีย์โดยรวม(TPC) Coliforms และ *E. coli* ที่ปริมาณ นี้ถือได้ว่าเป็นปริมาณปกติที่เกิดจากการปนเปื้อนหลังจากที่ผ่านกระบวนการลดจำนวนจุลินทรีย์แล้ว (Post contamination) โดยมีแหล่งการปนเปื้อนมาจาก คน เขียง มีด ภาชนะ และพื้นผิวต่างๆ ลงสู่อาหารประเภทสลัด (Ashenafi and Eribo, 2003) ในการศึกษานี้ได้เลือกศึกษาถั่วแดงกระป๋อง และ ข้าวโพดอ่อนต้มซึ่งเป็นตัวแทนของอาหารสลัดที่ผ่านการให้ความร้อนแล้วและจำลองการปนเปื้อนตามที่อธิบายข้างต้นซึ่งพบว่าในชุดควบคุมที่ไม่ได้มีการเติมจุลินทรีย์ลงไปเมื่อเก็บไว้ ณ อุณหภูมิ และเวลาที่แตกต่างกัน จะไม่พบการเปลี่ยนแปลงหรือไม่พบการเจริญของจุลินทรีย์ทุกชนิด (ดังภาคผนวก ข.4) ส่วนของตัวอย่างที่เติม จุลินทรีย์นั้นได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.12



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



4.2.2.1 ปริมาณจุลินทรีย์โดยรวม (TPC) ของ ถั่วแดง และ ข้าวโพดอ่อน ตารางที่ 4.12 แสดงให้เห็นว่าในถั่วแดง และ ข้าวโพดอ่อน เมื่อเติมจุลินทรีย์และเก็บที่อุณหภูมิ 10 °C และ 22 °C ณ เวลาที่แตกต่างกัน สามารถพิจารณาผลการศึกษาดังนี้

ตารางที่ 4.12 ผลของการเจริญของจุลินทรีย์โดยรวม (TPC) ณ อุณหภูมิ และเวลาที่แตกต่างกันใน ถั่วแดง และ ข้าวโพดอ่อน

Method of preparation	Temperature (°C)	Time (Hours)	Microorganism (Log <sub>10</sub> cfu /g) <sup>1</sup>	Compare all treatment in group of salads	Notice: treatment
Kidney bean	10	0	3.20 ± 0.11 <sub>ab</sub>	ab	Trt1
		2	3.16 ± 0.28 <sub>a</sub>	a	Trt2
		4	3.27 ± 0.15 <sub>abc</sub>	abc	Trt3
		8	3.31 ± 0.16 <sub>abc</sub>	abcd	Trt4
	22	0	3.20 ± 0.11 <sub>ab</sub>	ab	Trt5
		2	3.34 ± 0.12 <sub>bc</sub>	bcd	Trt6
		4	3.41 ± 0.15 <sub>c</sub>	cd	Trt7
		8	4.05 ± 0.05 <sub>d</sub>	e	Trt8
Baby corn	10	0	3.28 ± 0.16 <sub>a</sub>	abc	Trt9
		2	3.33 ± 0.15 <sub>ab</sub>	abcd	Trt10
		4	3.42 ± 0.11 <sub>ab</sub>	cd	Trt11
		8	3.34 ± 0.18 <sub>ab</sub>	bcd	Trt12
	22	0	3.28 ± 0.16 <sub>a</sub>	abc	Trt13
		2	3.39 ± 0.13 <sub>ab</sub>	cd	Trt14
		4	3.48 ± 0.17 <sub>b</sub>	d	Trt15
		8	4.02 ± 0.23 <sub>c</sub>	e	Trt16

หมายเหตุ : 1 = ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ตัวอักษรที่แตกต่างกันใน column (แถบสีเดียวกัน) แสดงถึงระดับความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

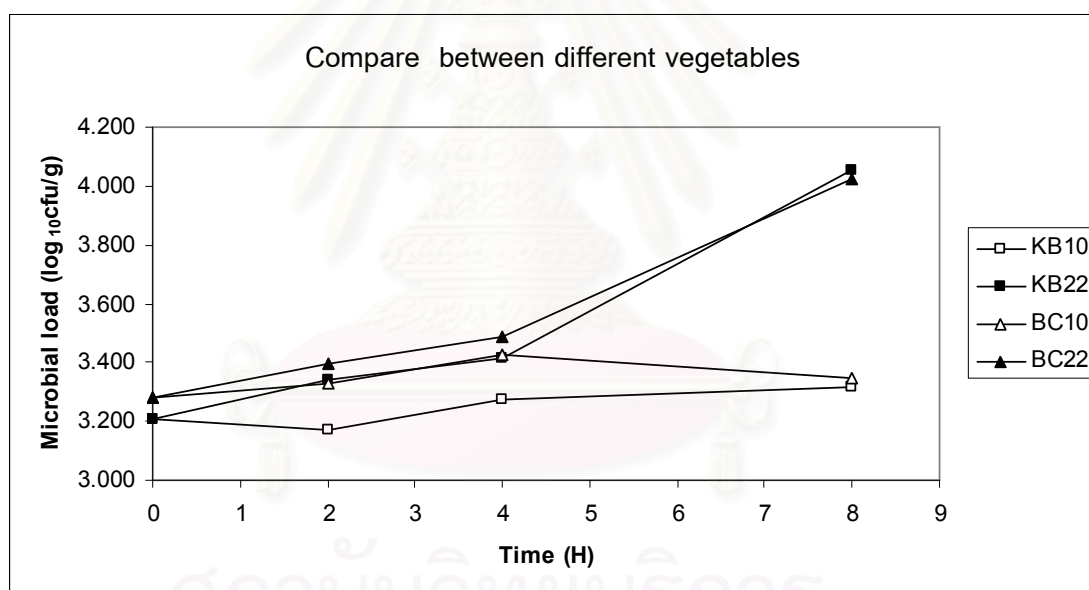
จากตารางที่ 4.12 จะพบว่าถั่วแดงจัดเก็บที่อุณหภูมิ 10 °C นั้นจุลินทรีย์ TPC ที่ปริมาณเริ่มต้นประมาณ 3.20 ± 0.11 log<sub>10</sub> cfu/g (0 ชั่วโมง) เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 2 4 และ 8 ชั่วโมง

พบว่าปริมาณจำนวนจุลินทรีย์ TPC เป็นประมาณ  $3.16 \pm 0.28$ ,  $3.27 \pm 0.15$  และ  $3.31 \pm 0.16 \log_{10} \text{ cfu/g}$  ตามลำดับแต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) แสดงว่าอุณหภูมิที่  $10^{\circ}\text{C}$  สามารถชลอหรือระงับ การเจริญของจุลินทรีย์โดยรวมได้ ในขณะที่ การเก็บที่อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  นั้นเมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 2 4 และ 8 ชั่วโมง พบว่าปริมาณจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้นไปเป็นประมาณ  $3.34 \pm 0.12$ ,  $3.41 \pm 0.15$  และ  $4.05 \pm 0.05 \log_{10} \text{ cfu/g}$  ตามลำดับและพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ ( $p \leq 0.05$ ) กับปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น (0 ชั่วโมง) ซึ่งมีประมาณ  $3.20 \pm 0.11 \log_{10} \text{ cfu/g}$  แสดงว่าจุลินทรีย์ TPC นั้นมีความสามารถในการเจริญได้ ณ อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  เมื่อเปรียบเทียบระหว่างอุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  และ  $22^{\circ}\text{C}$  ณ เวลาที่ 2 4 และ 8 ชั่วโมงของการจัดเก็บ พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ TPC ที่อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  มีมากกว่าจุลินทรีย์ TPC ที่ อุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  ซึ่งความแตกต่างกันนี้เป็นความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อพิจารณาผลวิเคราะห์ทางสถิติแบบ Factorial 2x4 in CRD (อุณหภูมิ และเวลา) พบว่า มี Main Effect จาก ปัจจัยของอุณหภูมิ และเวลา ปัจจัยของเวลา ซึ่งบ่งบอกว่า อุณหภูมิที่สูงและที่ต่ำ นั้น จะมีความแตกต่างกันต่อการเจริญของจุลินทรีย์ กล่าวคือการเติบโตของจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  และ  $22^{\circ}\text{C}$  มีความแตกต่างกัน นอกจากนี้ เวลาการจัดเก็บที่ยาวนานขึ้น (2, 4 และ 8 ชม) ก็มีผลต่อการเพิ่มจำนวน (การเจริญ) ของจุลินทรีย์ TPC เช่นกัน กล่าวคือ ณ อุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  ไม่พบการเจริญ หรือเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ ในขณะที่อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  พบการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ และยังพบว่า มี interaction ระหว่างปัจจัยอุณหภูมิ\*เวลา ซึ่งหมายความว่าอุณหภูมิและเวลามีผลต่อการสนับสนุนการเจริญของจุลินทรีย์ด้วย

เมื่อพิจารณาในส่วนของการฆ่าไฟต์ก่อน เมื่อเติมจุลินทรีย์และเก็บที่อุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  และ  $22^{\circ}\text{C}$  ณ เวลาที่แตกต่างกัน พบว่าที่อุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  จุลินทรีย์ TPC ที่ปริมาณเริ่มต้นที่ประมาณ  $3.28 \pm 0.16 \log_{10} \text{ cfu/g}$  (0 ชั่วโมง) เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 2 4 และ 8 ชั่วโมง พบว่ามีปริมาณจำนวนจุลินทรีย์ TPC เป็นประมาณ  $3.33 \pm 0.15$ ,  $3.42 \pm 0.11$  และ  $3.34 \pm 0.18 \log_{10} \text{ cfu/g}$  ตามลำดับแต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) แสดงว่าอุณหภูมิที่  $10^{\circ}\text{C}$  สามารถชลอ การเจริญของจุลินทรีย์โดยรวมได้ ในขณะที่ การเก็บที่อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 2 4 และ 8 ชั่วโมง พบว่าปริมาณจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้นไปเป็น  $3.39 \pm 0.13$ ,  $3.48 \pm 0.17$  และ  $4.02 \pm 0.23 \log_{10} \text{ cfu/g}$  จากปริมาณเริ่มต้นประมาณ  $3.28 \pm 0.16 \log_{10} \text{ cfu/g}$  (0 ชั่วโมง) ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญที่ ( $p \leq 0.05$ ) แสดงว่าจุลินทรีย์ TPC นั้นมีความสามารถในการเจริญได้ ณ อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  นี้ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างอุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  และ  $22^{\circ}\text{C}$  ณ เวลาที่ 2 4 และ 8 ชั่วโมงของการจัดเก็บ พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ TPC ที่อุณหภูมิ

22 °C มีมากกว่า จุลินทรีย์ TPC ที่ อุณหภูมิ 10 °C ซึ่งความแตกต่างกันนี้เป็นความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อพิจารณาผลวิเคราะห์ทางสถิติแบบ Factorial 2x4 in CRD (อุณหภูมิและเวลา) พบว่า มี Main Effect จาก ปัจจัยของอุณหภูมิและปัจจัยของเวลา ซึ่งบ่งบอกว่า อุณหภูมิที่สูงและที่ต่ำ นั้นจะมีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ กล่าวคือการเติบโตของจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ 10 °C และ 22 °C มีความแตกต่างกัน นอกจากนี้ เวลาการจับเก็บที่ยาวนานขึ้น ( 2, 4 และ 8 ชม) ก็มีผลต่อการเพิ่มจำนวน (การเจริญ) ของจุลินทรีย์ TPC เช่นกัน กล่าวคือ ณ อุณหภูมิ 10 °C ไม่พบการเจริญ หรือเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ ในขณะที่อุณหภูมิ 22 °C พบการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ และยังพบว่า มี interaction ระหว่างปัจจัยอุณหภูมิ\*เวลา ซึ่งหมายความว่า อุณหภูมิและเวลามีผลต่อการสนับสนุนการเจริญของจุลินทรีย์ด้วย

เมื่อพิจารณาถึง ชนิดของสลัด (ถั่วแดงและข้าวโพดอ่อน) พบว่า ณ อุณหภูมิที่แตกต่างกันและเวลาที่แตกต่างกันพบว่าปริมาณ TPC จะเพิ่มจำนวนขึ้นโดยแสดงได้ดังรูปที่ 4.16



รูปที่ 4.16 ผลเปรียบเทียบการเจริญของจุลินทรีย์ TPC บนถั่วแดง และ ข้าวโพดอ่อน ณ อุณหภูมิ 10 และ 22 °C (โดย KB10, BC10 หมายถึงเชื้อจุลินทรีย์บนถั่วแดงและข้าวโพดอ่อนที่เก็บ ณ อุณหภูมิ 10 °C ขณะที่ KB22, BC22 จะหมายถึงเชื้อจุลินทรีย์บนถั่วแดงและข้าวโพดอ่อนที่เก็บ ณ อุณหภูมิ 22 °C)

เมื่อวิเคราะห์ผลแบบ Factorial 2x2x4 in CRD ระหว่าง วิธีการเตรียมผักสลัดทั้งสอง ชนิด นั้น ณ อุณหภูมิ 10 °C เวลา 0, 2, 4 และ 8 ชั่วโมง และ อุณหภูมิ 22 °C เวลา 2, 4 และ 8 ชั่วโมง พบว่าปริมาณ จุลินทรีย์ TPC ที่เจริญเติบโตนั้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

และพบว่า มี Main Effect จากวิธีการเตรียมผักสลัด อุณหภูมิ และ เวลา จากผลการวิเคราะห์ทางสถิติแบบ Factorial ยังพบว่ามี interaction ระหว่างปัจจัย อุณหภูมิ\*เวลา เมื่อพิจารณาปริมาณของจุลินทรีย์เริ่มต้นและจุลินทรีย์สุดท้ายของผักสลัดที่แตกต่างกันจะพบว่ามีค่าแตกต่างกันเพียงเล็กน้อยในการเจริญของจุลินทรีย์ในถั่วแดง และข้าวโพดอ่อน โดยในถั่วแดงมีปริมาณ TPC เพิ่มขึ้น ประมาณ  $0.84 \log_{10} \text{ cfu/g/8 h}$  หรือ ประมาณ  $0.10 \log_{10} \text{ cfu/g/h}$  (เริ่มต้นที่อุณหภูมิ  $22 \text{ }^{\circ}\text{C}$  อยู่ที่ประมาณ  $3.20 \log_{10} \text{ cfu/g}$  และที่เวลา 8 ชั่วโมงมีปริมาณจุลินทรีย์สุดท้ายอยู่ที่ประมาณ  $4.05 \log_{10} \text{ cfu/g}$ ) ในขณะที่ ข้าวโพดอ่อน จุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้น ประมาณ  $0.74 \log_{10} \text{ cfu/g/8 h}$  หรือ ประมาณ  $0.09 \log_{10} \text{ cfu/g/h}$  (จุลินทรีย์เริ่มต้นอยู่ที่ประมาณ  $3.28 \log_{10} \text{ cfu/g}$  และที่เวลา 8 ชั่วโมงมีปริมาณจุลินทรีย์สุดท้ายอยู่ที่ประมาณ  $4.02 \log_{10} \text{ cfu/g}$ )



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.2.2.2 ปริมาณจุลินทรีย์กลุ่ม Coliforms ถั่วแดง และ ข้าวโพดอ่อน ตารางที่ 4.13 แสดงให้เห็นว่าในถั่วแดง และ ข้าวโพดอ่อน เมื่อเติมจุลินทรีย์และเก็บที่อุณหภูมิ 10 °C และ 22 °C ณ เวลาที่แตกต่างกัน สามารถพิจารณาผลการศึกษาดังนี้

ตารางที่ 4.13 ผลของการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่ม Coliforms ณ อุณหภูมิ และเวลาที่แตกต่างกันใน ถั่วแดง และ ข้าวโพดอ่อน

Method of Preparation	Temperature (°C)	Time (Hours)	Microorganism (Log <sub>10</sub> cfu /g) <sup>1</sup>	Compare all treatment in group of salads	Notice: treatment
Kidney bean	10	0	3.24 ± 0.09 <sub>a</sub>	a	Trt1
		2	3.22 ± 0.12 <sub>a</sub>	a	Trt2
		4	3.16 ± 0.13 <sub>a</sub>	a	Trt3
		8	3.22 ± 0.10 <sub>a</sub>	a	Trt4
	22	0	3.24 ± 0.09 <sub>a</sub>	a	Trt5
		2	3.39 ± 0.19 <sub>b</sub>	bc	Trt6
		4	3.48 ± 0.21 <sub>b</sub>	c	Trt7
		8	4.06 ± 0.05 <sub>c</sub>	d	Trt8
Baby corn	10	0	3.30 ± 0.14 <sub>ab</sub>	ab	Trt9
		2	3.18 ± 0.13 <sub>a</sub>	a	Trt10
		4	3.28 ± 0.10 <sub>ab</sub>	ab	Trt11
		8	3.38 ± 0.16 <sub>b</sub>	bc	Trt12
	22	0	3.30 ± 0.14 <sub>ab</sub>	ab	Trt13
		2	3.39 ± 0.17 <sub>b</sub>	bc	Trt14
		4	3.41 ± 0.16 <sub>b</sub>	bc	Trt15
		8	4.05 ± 0.06 <sub>c</sub>	d	Trt16

หมายเหตุ : 1 = ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ตัวอักษรที่แตกต่างกันใน column (แถบสีเดียวกัน) แสดงถึงระดับความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากตารางที่ 4.13 จะพบว่าถั่วแดงจัดเก็บที่อุณหภูมิ 10 °C นั้นจุลินทรีย์ coliforms ที่ปริมาณเริ่มต้นประมาณ 3.24 ± 0.09 log<sub>10</sub> cfu/g ( 0 ชั่วโมง) เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 2 4 และ 8

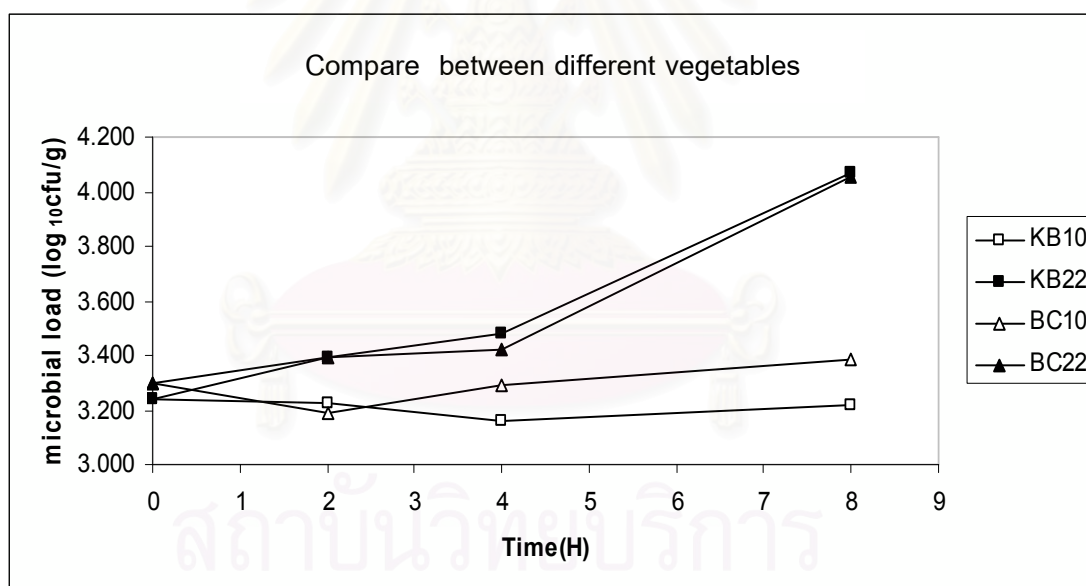


ชั่วโมง พบว่ามีปริมาณจำนวนจุลินทรีย์ coliforms เป็นประมาณ  $3.22 \pm 0.12$ ,  $3.16 \pm 0.13$  และ  $3.22 \pm 0.10 \log_{10} \text{ cfu/g}$  ตามลำดับแต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) แสดงว่าอุณหภูมิ ที่  $10^{\circ}\text{C}$  สามารถชลดหรือระงับ การเจริญของจุลินทรีย์โดยรวมได้ ในขณะที่ การเก็บที่อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  นั้นเมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 2 4 และ 8 ชั่วโมง พบว่าปริมาณจุลินทรีย์จะ เพิ่มขึ้นไปเป็นประมาณ  $3.39 \pm 0.19$ ,  $3.48 \pm 0.21$  และ  $4.06 \pm 0.05 \log_{10} \text{ cfu/g}$  ตามลำดับและพบว่ามี ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ ( $p \leq 0.05$ ) กับปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น (0 ชั่วโมง) ซึ่งมีประมาณ  $3.24 \pm 0.09 \log_{10} \text{ cfu/g}$  แสดงว่าจุลินทรีย์ coliforms มีความสามารถในการเจริญได้ ณ อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  เมื่อเปรียบเทียบระหว่างอุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  และ  $22^{\circ}\text{C}$  ณ เวลาที่ 2 4 และ 8 ชั่วโมงของการจัดเก็บ พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ coliforms ที่อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  มีมากกว่าจุลินทรีย์ coliforms ที่ อุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  ซึ่งความแตกต่างกันนี้เป็นความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อพิจารณาผลวิเคราะห์ทางสถิติแบบ Factorial 2x4 in CRD (อุณหภูมิ และเวลา) พบว่า มี Main Effect จาก ปัจจัยของอุณหภูมิ และเวลา ปัจจัยของเวลา ซึ่งบ่งบอกว่า อุณหภูมิที่สูงและที่ต่ำ นั้นจะมีความแตกต่างกันต่อการเจริญของจุลินทรีย์ กล่าวคือการเติบโตของ จุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  และ  $22^{\circ}\text{C}$  มีความแตกต่างกัน นอกจากนี้ เวลาการจัดเก็บที่ยาวนาน ขึ้น ( 2, 4 และ 8 ชม) ก็มีผลต่อการเพิ่มจำนวน (การเจริญ) ของจุลินทรีย์ coliforms เช่นกัน กล่าวคือ ณ อุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  ไม่พบการเจริญ หรือเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ ในขณะที่อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  พบการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ และยังพบว่ามี interaction ระหว่างปัจจัยอุณหภูมิ\*เวลา ซึ่ง หมายความว่าอุณหภูมิและเวลามีผลต่อการสนับสนุนการเจริญของจุลินทรีย์ด้วย

เมื่อพิจารณาในส่วนของข้าวโพดอ่อน เมื่อเติมจุลินทรีย์และเก็บที่อุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  และ  $22^{\circ}\text{C}$  ณ เวลาที่แตกต่างกัน พบว่าที่อุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  จุลินทรีย์ coliforms ที่ปริมาณเริ่มต้นที่ประมาณ  $3.30 \pm 0.14 \log_{10} \text{ cfu/g}$  ( 0 ชั่วโมง) เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 2 4 และ 8 ชั่วโมง พบว่ามีปริมาณ จำนวนจุลินทรีย์ coliforms เป็นประมาณ  $3.18 \pm 0.13$ ,  $3.28 \pm 0.10$  และ  $3.38 \pm 0.16 \log_{10} \text{ cfu/g}$  ตามลำดับแต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) แสดงว่าอุณหภูมิ ที่  $10^{\circ}\text{C}$  สามารถชลด การเจริญของจุลินทรีย์ coliforms ได้ ในขณะที่ การเก็บที่อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 2 4 และ 8 ชั่วโมง พบว่าปริมาณจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้นไปเป็น  $3.39 \pm 0.17$ ,  $3.41 \pm 0.16$  และ  $4.05 \pm 0.06 \log_{10} \text{ cfu/g}$  จากปริมาณเริ่มต้นประมาณ  $3.30 \pm 0.14 \log_{10} \text{ cfu/g}$  (0 ชั่วโมง) ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญที่ ( $p \leq 0.05$ ) แสดงว่าจุลินทรีย์ coliforms นั้นมี ความสามารถในการเจริญได้ ณ อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  นี้ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างอุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  และ  $22^{\circ}\text{C}$  ณ เวลาที่ 2 4 และ 8 ชั่วโมงของการจัดเก็บ พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ coliforms ที่

อุณหภูมิ 22 °C มีมากกว่า จุลินทรีย์ coliforms ที่ อุณหภูมิ 10 °C ซึ่งความแตกต่างกันนี้เป็นความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อพิจารณาผลวิเคราะห์ทางสถิติแบบ Factorial 2x4 in CRD (อุณหภูมิ และเวลา) พบว่า มี Main Effect จาก ปัจจัยของอุณหภูมิและปัจจัยของเวลา ซึ่งบ่งบอกว่า อุณหภูมิที่สูงและที่ต่ำ นั้นจะมีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ กล่าวคือการเติบโตของจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ 10 °C และ 22 °C มีความแตกต่างกัน นอกจากนี้ เวลาการจัดเก็บที่ยาวนานขึ้น ( 2, 4 และ 8 ชม) ก็มีผลต่อการเพิ่มจำนวน (การเจริญ) ของจุลินทรีย์ coliforms เช่นกัน กล่าวคือ ณ อุณหภูมิ 10 °C ไม่พบการเจริญ หรือเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ ในขณะที่อุณหภูมิ 22 °C พบการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ และยังพบว่ามี interaction ระหว่างปัจจัยอุณหภูมิ\*เวลา ซึ่งหมายความว่าอุณหภูมิและเวลามีผลต่อการสนับสนุนการเจริญของจุลินทรีย์ด้วย

เมื่อพิจารณาถึง ชนิดของสลัด (ถั่วแดงและข้าวโพดอ่อน) พบว่า ณ อุณหภูมิที่แตกต่างกันและเวลาที่แตกต่างกันพบว่าปริมาณ coliforms จะเพิ่มจำนวนขึ้นโดยแสดงได้ดังรูปที่ 4.17



รูปที่ 4.17 ผลเปรียบเทียบการเจริญของจุลินทรีย์ coliforms บนถั่วแดง และ ข้าวโพดอ่อน ณ อุณหภูมิ 10 และ 22 °C (โดย KB10, BC10 หมายถึงเชื้อจุลินทรีย์บนถั่วแดงและข้าวโพดอ่อนที่เก็บ ณ อุณหภูมิ 10 °C ขณะที่ KB22, BC22 จะหมายถึงเชื้อจุลินทรีย์บนถั่วแดงและข้าวโพดอ่อนที่เก็บ ณ อุณหภูมิ 22 °C)

เมื่อวิเคราะห์ผลแบบ Factorial 2x2x4 in CRD ระหว่าง วิธีการเตรียมผักสลัดทั้งสอง ชนิด นั้น ณ อุณหภูมิ 10 °C เวลา 0, 2, 4 และ 8 ชั่วโมง และ อุณหภูมิ 22 °C เวลา 2, 4 และ 8 ชั่วโมง

พบว่าปริมาณ จุลินทรีย์ coliforms ที่เจริญเติบโตนั้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) และพบว่า มี Main Effect จากอุณหภูมิ และ เวลา จากผลการวิเคราะห์ทางสถิติแบบ Factorial ยังพบว่ามี interaction ระหว่างปัจจัย อุณหภูมิ\*เวลา เมื่อพิจารณาปริมาณของจุลินทรีย์เริ่มต้นและจุลินทรีย์สุดท้ายของผักสลัดที่แตกต่างกันจะพบว่ามีความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อยในการเจริญของจุลินทรีย์ในถั่วแดง และข้าวโพดอ่อน โดยในถั่วแดงมีปริมาณ coliforms เพิ่มขึ้น เพิ่มขึ้น ประมาณ  $0.83 \log_{10} \text{ cfu/g/8 h}$  หรือ ประมาณ  $0.10 \log_{10} \text{ cfu/g/h}$  (เริ่มต้นที่อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  อยู่ที่ประมาณ  $3.24 \log_{10} \text{ cfu/g}$  และที่เวลา 8 ชั่วโมงมีปริมาณจุลินทรีย์สุดท้ายอยู่ที่ประมาณ  $4.06 \log_{10} \text{ cfu/g}$ ) ในขณะที่ ข้าวโพดอ่อน จุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้น ประมาณ  $0.75 \log_{10} \text{ cfu/g/8 h}$  หรือ ประมาณ  $0.09 \log_{10} \text{ cfu/g/h}$  (จุลินทรีย์เริ่มต้นอยู่ที่ประมาณ  $3.30 \log_{10} \text{ cfu/g}$  และที่เวลา 8 ชั่วโมงมีปริมาณจุลินทรีย์สุดท้ายอยู่ที่ประมาณ  $4.05 \log_{10} \text{ cfu/g}$ )



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.2.2.3 ปริมาณจุลินทรีย์กลุ่ม *E. coli* ถั่วแดง และ ข้าวโพดอ่อน ตารางที่ 4.14 แสดงให้เห็นว่าในถั่วแดง และ ข้าวโพดอ่อน เมื่อเติมจุลินทรีย์และเก็บที่อุณหภูมิ 10 °C และ 22 °C ณ เวลาที่แตกต่างกัน สามารถพิจารณาผลการศึกษาดังนี้

ตารางที่ 4.14 ผลของการเจริญของจุลินทรีย์ *E. coli* ณ อุณหภูมิ และเวลาที่แตกต่างกันในถั่วแดง และ ข้าวโพดอ่อน

Method of preparation	Temperature (°C)	Time (Hours)	Microorganism (Log <sub>10</sub> cfu /g) <sup>1</sup>	Compare all treatment in group of salads	Notice: treatment
Kidney bean	10	0	3.23 ± 0.17 <sub>a</sub>	ab	Trt1
		2	3.20 ± 0.11 <sub>a</sub>	ab	Trt2
		4	3.29 ± 0.15 <sub>a</sub>	abc	Trt3
		8	3.30 ± 0.21 <sub>a</sub>	abc	Trt4
	22	0	3.23 ± 0.17 <sub>a</sub>	ab	Trt5
		2	3.33 ± 0.21 <sub>a</sub>	bc	Trt6
		4	3.55 ± 0.16 <sub>b</sub>	d	Trt7
		8	4.07 ± 0.08 <sub>c</sub>	e	Trt8
Baby corn	10	0	3.16 ± 0.05 <sub>a</sub>	a	Trt9
		2	3.23 ± 0.10 <sub>ab</sub>	ab	Trt10
		4	3.33 ± 0.15 <sub>bc</sub>	bc	Trt11
		8	3.41 ± 0.18 <sub>c</sub>	c	Trt12
	22	0	3.16 ± 0.05 <sub>a</sub>	a	Trt13
		2	3.43 ± 0.17 <sub>c</sub>	cd	Trt14
		4	3.57 ± 0.15 <sub>d</sub>	d	Trt15
		8	4.15 ± 0.09 <sub>e</sub>	e	Trt16

หมายเหตุ : 1 = ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ตัวอักษรที่แตกต่างกันใน column (แถบสีเดียวกัน) แสดงถึงระดับความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากตารางที่ 4.14 จะพบว่าถั่วแดงจัดเก็บที่อุณหภูมิ 10 °C นั้นจุลินทรีย์ *E. coli* ที่ปริมาณเริ่มต้นประมาณ 3.23 ± 0.17 log<sub>10</sub> cfu/g ( 0 ชั่วโมง) เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 2 4 และ 8 ชั่วโมง

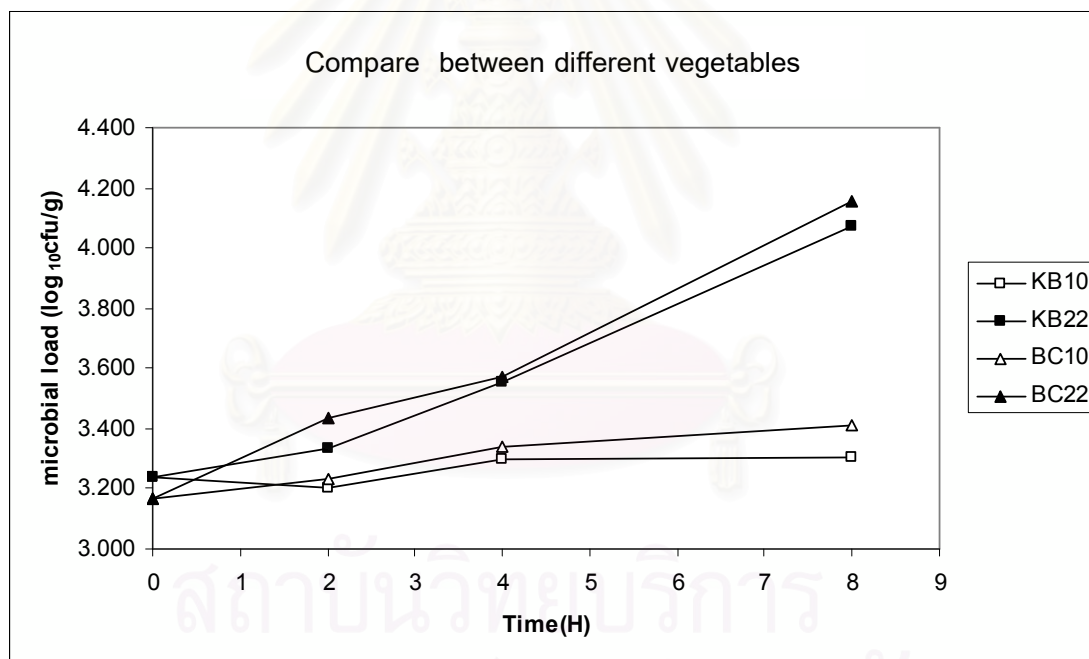
พบว่าปริมาณจำนวนจุลินทรีย์ *E. coli* เป็นประมาณ  $3.20 \pm 0.11$ ,  $3.29 \pm 0.15$  และ  $3.30 \pm 0.21 \log_{10}$  cfu/g ตามลำดับแต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) แสดงว่า อุณหภูมิ ที่  $10^{\circ}\text{C}$  สามารถชลอหรือระงับ การเจริญของจุลินทรีย์โดยรวมได้ ในขณะที่ การเก็บที่ อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  นั้นเมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 2 4 และ 8 ชั่วโมง พบว่าปริมาณจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้นไป เป็นประมาณ  $3.33 \pm 0.21$ ,  $3.33 \pm 0.15$  และ  $3.41 \pm 0.18 \log_{10}$  cfu/g ตามลำดับและ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ ( $p \leq 0.05$ ) กับปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น (0 ชั่วโมง) ซึ่ง มีประมาณ  $3.23 \pm 0.17 \log_{10}$  cfu/g แสดงว่าจุลินทรีย์ *E. coli* มีความสามารถในการเจริญได้ ณ อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  เมื่อเปรียบเทียบระหว่างอุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  และ  $22^{\circ}\text{C}$  ณ เวลาที่ 2 4 และ 8 ชั่วโมงของการจัดเก็บ พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ *E. coli* ที่อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  มีมากกว่า จุลินทรีย์ *E. coli* ที่ อุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  ซึ่งความแตกต่างกันนี้เป็นความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อพิจารณาผลวิเคราะห์ทางสถิติแบบ Factorial 2x4 in CRD พบว่า มี Main Effect จาก ปัจจัยของอุณหภูมิ และเวลา ปัจจัยของเวลา ซึ่งบ่งบอกว่า อุณหภูมิที่สูงและที่ต่ำ นั้นจะมีความแตกต่างกันต่อการเจริญของจุลินทรีย์ กล่าวคือการเติบโตของจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  และ  $22^{\circ}\text{C}$  มีความแตกต่างกัน นอกจากนี้ เวลาการจัดเก็บที่ยาวนานขึ้น (2, 4 และ 8 ชม) ก็มีผลต่อการเพิ่มจำนวน (การเจริญ) ของจุลินทรีย์ *E. coli* เช่นกัน กล่าวคือ ณ อุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  ไม่พบ การเจริญ หรือเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ ในขณะที่อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  พบการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ และยังพบว่า มี interaction ระหว่างปัจจัยอุณหภูมิ\*เวลา ซึ่งหมายความว่าอุณหภูมิและเวลามีผลต่อการสนับสนุนการเจริญของจุลินทรีย์ด้วย

เมื่อพิจารณาในส่วนของข้าวโพดอ่อน เมื่อเติมจุลินทรีย์และจัดเก็บที่อุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  และ  $22^{\circ}\text{C}$  ณ เวลาที่แตกต่างกัน พบว่าที่อุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  จุลินทรีย์ *E. coli* ที่ปริมาณเริ่มต้นที่ ประมาณ  $3.16 \pm 0.05 \log_{10}$  cfu/g (0 ชั่วโมง) เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 2 4 และ 8 ชั่วโมง พบว่ามี ปริมาณจำนวนจุลินทรีย์ *E. coli* เพิ่มจำนวนขึ้นเป็นประมาณ  $3.23 \pm 0.10$ ,  $3.33 \pm 0.15$  และ  $3.41 \pm 0.18 \log_{10}$  cfu/g ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) แสดง ว่าอุณหภูมิ ที่  $10^{\circ}\text{C}$  นี้ไม่สามารถหยุด การเจริญของจุลินทรีย์ *E. coli* บนข้าวโพดอ่อนได้ ในขณะที่ การเก็บที่อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  นั้นมีจุลินทรีย์เริ่มต้นที่ประมาณ  $3.16 \pm 0.05 \log_{10}$  cfu/g (0 ชั่วโมง) เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 2 4 และ 8 ชั่วโมง พบว่าปริมาณจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้นไปเป็น ประมาณ  $3.43 \pm 0.17$ ,  $3.57 \pm 0.15$  และ  $4.15 \pm 0.09 \log_{10}$  cfu/g ตามลำดับ และพบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ ( $p \leq 0.05$ ) กับปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น แสดงว่าจุลินทรีย์ *E. coli* นั้นมีความสามารถในการเจริญได้ ณ อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  ด้วย เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง



อุณหภูมิ 10 °C และ 22 °C ณ เวลาที่ 2 4 และ 8 ชั่วโมงของการเก็บ พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ *E. coli* ที่อุณหภูมิ 22 °C มีมากกว่า จุลินทรีย์ *E. coli* ที่ อุณหภูมิ 10 °C ซึ่งความแตกต่างกันนี้ เป็นความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อพิจารณาผลวิเคราะห์ทางสถิติแบบ Factorial 2x4 in CRD พบว่า มี Main Effect จาก ปัจจัยของอุณหภูมิ และ ปัจจัยของเวลา ซึ่งบ่งบอกว่า อุณหภูมิสูงและต่ำ นั้นจะมีความแตกต่างกันต่อการเจริญของจุลินทรีย์ *E. coli* ดังเช่นในการ ทดลองนี้ที่ศึกษาการเติบโตของจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ 10 °C และ 22 °C มีความแตกต่างกัน เล็กน้อย และ เวลาที่ยาวนานขึ้น ( 2, 4 และ 8 ชม) นั้นก็มีผลต่อการเพิ่มจำนวน (การเจริญ) ของ จุลินทรีย์ *E. coli* เช่นกัน และยังพบว่ามี interaction ระหว่างปัจจัยอุณหภูมิ\*เวลา ซึ่งสามารถ ตีความหมายได้ว่าอุณหภูมิและเวลามีผลต่อการสนับสนุนการเจริญของจุลินทรีย์

เมื่อพิจารณาถึง ชนิดของสลัด (ถั่วแดงและข้าวโพดอ่อน) พบว่า ณ อุณหภูมิที่แตกต่างกันและเวลาที่แตกต่างกันพบว่าปริมาณ *E. coli* จะเพิ่มจำนวนขึ้นโดยแสดงได้ดังรูปที่ 4.18



รูปที่ 4.18 ผลเปรียบเทียบการเจริญของจุลินทรีย์ *E. coli* บนถั่วแดง และ ข้าวโพดอ่อน ณ อุณหภูมิ 10 และ 22 °C (โดย KB10, BC10 หมายถึงเชื้อจุลินทรีย์บนถั่วแดงและข้าวโพดอ่อนที่ เก็บ ณ อุณหภูมิ 10 °C ขณะที่ KB22, BC22 จะหมายถึงเชื้อจุลินทรีย์บนถั่วแดงและข้าวโพดอ่อน ที่เก็บ ณ อุณหภูมิ 22 °C)

เมื่อวิเคราะห์ผลแบบ Factorial 2x2x4 in CRD ระหว่าง วิธีการเตรียมผักสลัดทั้งสอง ชนิด นั้น ณ อุณหภูมิ 10 °C เวลา 0, 2, 4 และ 8 ชั่วโมง และ อุณหภูมิ 22 °C เวลา 2, 4 และ 8 ชั่วโมง

พบว่าปริมาณ จุลินทรีย์ *E. coli* ที่เจริญเติบโตนั้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) และพบว่า มี Main Effect จากอุณหภูมิ และ เวลา จากผลการวิเคราะห์ทางสถิติแบบ Factorial ยังพบว่า มี interaction ระหว่างปัจจัย อุณหภูมิ\*เวลา เมื่อพิจารณาปริมาณของจุลินทรีย์เริ่มต้น และจุลินทรีย์สุดท้ายของผักสลัดที่แตกต่างกันจะพบว่ามีความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อยในการเจริญของจุลินทรีย์บนถั่วงอก และข้าวโพดอ่อน โดยในถั่วงอกปริมาณ *E. coli* เพิ่มขึ้น ประมาณ  $0.83 \log_{10} \text{ cfu/g/8 h}$  หรือ ประมาณ  $0.10 \log_{10} \text{ cfu/g/h}$  (เริ่มต้นที่อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  อยู่ที่ประมาณ  $3.23 \log_{10} \text{ cfu/g}$  และที่เวลา 8 ชั่วโมงมีปริมาณจุลินทรีย์สุดท้ายอยู่ที่ประมาณ  $4.07 \log_{10} \text{ cfu/g}$ ) ในขณะที่ ข้าวโพดอ่อนมี ณ อุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  เพิ่มขึ้น ประมาณ  $0.24 \log_{10} \text{ cfu/g/8 h}$  หรือ ประมาณ  $0.03 \log_{10} \text{ cfu/g/h}$  (จุลินทรีย์เริ่มต้นอยู่ที่ประมาณ  $3.16 \log_{10} \text{ cfu/g}$  และที่เวลา 8 ชั่วโมงมีปริมาณจุลินทรีย์สุดท้ายอยู่ที่ประมาณ  $3.41 \log_{10} \text{ cfu/g}$ ) ขณะที่ อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  เพิ่มขึ้น ประมาณ  $0.99 \log_{10} \text{ cfu/g/8 h}$  หรือ ประมาณ  $0.12 \log_{10} \text{ cfu/g/h}$  (จุลินทรีย์เริ่มต้นอยู่ที่ประมาณ  $3.16 \log_{10} \text{ cfu/g}$  และที่เวลา 8 ชั่วโมงมีปริมาณจุลินทรีย์สุดท้ายอยู่ที่ประมาณ  $4.15 \log_{10} \text{ cfu/g}$ )

จากการทดลองข้างต้นในการศึกษาการเก็บผักสลัดที่ผ่านการฆ่าจุลินทรีย์มาแล้ว จะพบว่า จุลินทรีย์ส่วนใหญ่ (TPC และ coliforms) ที่เก็บในอุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  นั้น ปริมาณจุลินทรีย์สุดท้ายจะมีปริมาณที่มากกว่าเล็กน้อยหรือน้อยกว่าปริมาณเริ่มต้นเล็กน้อยเท่านั้น ยกเว้นจุลินทรีย์ *E. coli* ที่เจริญบนข้าวโพดอ่อนจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นมากกว่าปริมาณเริ่มต้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) และเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  นั้นจะพบว่าปริมาณจุลินทรีย์สุดท้ายจะมีปริมาณสูงกว่าปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น ของจุลินทรีย์ทั้งสามประเภทที่ศึกษา โดยจะมีปริมาณจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น ประมาณ  $0.74 - 0.99 \log_{10} \text{ cfu/g/8h}$

จากผลการศึกษา ในมะเขือเทศ ผักกาดหอม ถั่วงอก และข้าวโพดซึ่งเป็นส่วนประกอบของสลัดบาร์ ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ TPC Coliforms และ *E. coli* คือ อุณหภูมิ เวลา และอิทธิพลร่วมระหว่าง อุณหภูมิและเวลา ทั้งนี้ผลการทดลองทั้งหมดนี้สอดคล้องตามรายงานผลของ Ukuku และ Sapers (2007) ที่พบว่าจุลินทรีย์แบคทีเรียกลุ่ม mesophile สามารถที่จะเจริญได้ ณ อุณหภูมิ  $22^{\circ}\text{C}$  โดยมีปริมาณเพิ่มขึ้นประมาณ  $1 \log_{10} \text{ cfu/g}$  และการอยู่รอดและเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ต่างๆ บนส่วนประกอบต่างๆของสลัดนั้นมาจากประสิทธิภาพของกระบวนการเมตาโบลิซึมของเซลล์แบคทีเรียแต่ละชนิด ที่สามารถทนทานต่อปัจจัยต่างๆจากสิ่งแวดล้อมทั้ง ภายนอกและภายในเซลล์ (Iturriaga *et al.*, 2007) ซึ่งนักวิจัยอีกหลายท่านได้มีรายงานผลการวิจัยตรงกันว่าในส่วนของความสามารถในการเจริญของ จุลินทรีย์ *E. coli* ณ

อุณหภูมิต่างๆ ไม่สามารถที่จะอ้างอิงถึงอัตราการเติบโตที่คงที่ได้ เมื่อเวลาเปลี่ยนแปลงไป ทั้งนี้ เนื่องจากความซับซ้อนของการตอบสนองของจุลินทรีย์ต่อสิ่งแวดล้อมที่แตกต่างกันนั่นเอง ดังเช่น ในการทดลองนี้ที่พบว่า จุลินทรีย์ *E. coli* สามารถเจริญเติบโตได้ ณ อุณหภูมิ 10 °C ในข้าวโพดอ่อนต้มในขณะที่ ไม่สามารถเติบโตได้อย่างมีนัยสำคัญบนมะเขือเทศและใบผักกาดหอม ซึ่งสอดคล้องกับ Jones, Gill and McMullen (2002, 2003) ได้อ้างไว้ว่าอุณหภูมิที่ต่ำที่สุดที่จุลินทรีย์ *E. coli* จะสามารถเติบโตได้คือที่ 8 องศาเซลเซียส ซึ่งที่อุณหภูมิที่ต่ำกว่าหรือเท่ากับ 7 °C จุลินทรีย์ *E. coli* จะหยุดการเติบโต งานวิจัยของ Manuel *et al.*(2003) ก็สนับสนุนว่าไม่พบการเจริญของจุลินทรีย์ *E. coli* ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 8 °C ในขณะที่ WHO(2005) ได้แจ้งเตือนว่าจุลินทรีย์ Enterohaemorrhagic *E. coli* (EHEC) สามารถเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิ 7 – 50 °C และสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุด(Optimum temperature) ที่อุณหภูมิ 37 °C ทั้งนี้ Kim *et al.* (2006) ได้ยืนยันว่าการเก็บอาหารไว้ที่อุณหภูมิต่ำ (<12 °C) ยังเสี่ยงต่อการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค พอๆกับการเก็บอาหารไว้ที่อุณหภูมิห้องปกติ (25 °C) ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการควบคุมและดูแลอาหารที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนแล้วไม่ให้มีการปนเปื้อนจุลินทรีย์กลับมาอีกและต้องมีการควบคุมอุณหภูมิการจัดเก็บด้วย

#### 4.2.3 ผลการประมาณค่าการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตบนสลัดผักโดยใช้ ANNs

ผลจากการทดลอง Run Program Matlab เพื่อสร้างระบบ ANNs พบว่าได้ matrix ที่เหมาะสมคือ [480 x 6] โดยได้ ความสัมพันธ์ดังนี้

จุลินทรีย์สุดท้าย ณ อุณหภูมิและเวลาต่างๆ ขึ้นกับ จุลินทรีย์เริ่มต้น ชนิดของผักสลัด ชนิดสาร Sanitizing อุณหภูมิ และ เวลา หรือเขียนเป็นสมการได้ดังนี้

$$f(\text{จุลินทรีย์สุดท้าย}) = \left\{ \begin{array}{l} \text{จุลินทรีย์เริ่มต้น ชนิดของผักสลัด ชนิดสาร Sanitizer อุณหภูมิ} \\ \text{เวลา} \end{array} \right\}$$

สามารถสร้างแบบจำลองได้ 3 แบบคือ

- แบบจำลอง ANNs ในการประมาณค่าจุลินทรีย์ TPC สุดท้ายที่มีในตัวอย่างอาหารสลัด

- แบบจำลอง ANNs ในการประมาณค่าจุลินทรีย์กลุ่ม coliform ที่มีในตัวอย่างอาหารสลัด
- แบบจำลอง ANNs ในการประมาณค่า *E. coli* ที่มีอยู่ในตัวอย่างอาหารสลัด

จากการทดลอง Run Program MATLAB เพื่อสร้างระบบข่ายงานประสาทเทียม(ANNs) โดยการทดลองแปร Hidden node กับ transfer function ในการเปรียบเทียบผลการ Run Program และ ระบบ ANNs ที่สร้างขึ้นมานั้นสามารถแสดงและอธิบายผลได้ดังต่อไปนี้

#### 4.2.3.1 แบบจำลอง ANNs ในการประมาณค่าจุลินทรีย์ TPC สูดทำยที่มีในตัวอย่างอาหารสลัด

จากการทดลองสร้างระบบ ANNs ของชุดข้อมูล TPC ที่นำมา Train และ Test โดยประเมินผลด้วยค่า SSE และ  $R^2$  ดังแสดงในตารางที่ 4.15

ตารางที่ 4.15 เปรียบเทียบ SSE และ  $R^2$  ของการ Train และ Test ของข้อมูล TPC (บนผักสลัดทั้ง 4 ชนิด) ที่ได้จากระบบ ANNs ที่แปร Hidden node และ transfer function โดยการ Run Program Matlab ที่ Learning Rate = 0.001

Hiden node	SSE				$R^2$			
	TRAIN		TEST		TRAIN		TEST	
	Tanh- Sigmoid	Sigmoid- Sigmoid	Tanh- Sigmoid	Sigmoid- Sigmoid	Tanh- Sigmoid	Sigmoid- Sigmoid	Tanh- Sigmoid	Sigmoid- Sigmoid
8	0.2744	0.2816	1.2927	<b>0.2227*</b>	0.9863	0.9859	0.6841	<b>0.9464*</b>
6	0.3068	0.3333	0.2925	0.2765	0.9846	0.9833	0.9297	0.9335
5	0.3259	0.3278	0.2821	0.2953	0.9837	0.9836	0.9321	0.9290

หมายเหตุ : \*ค่า SSE ที่ต่ำที่สุด และ ค่า  $R^2$  ที่สูงที่สุด

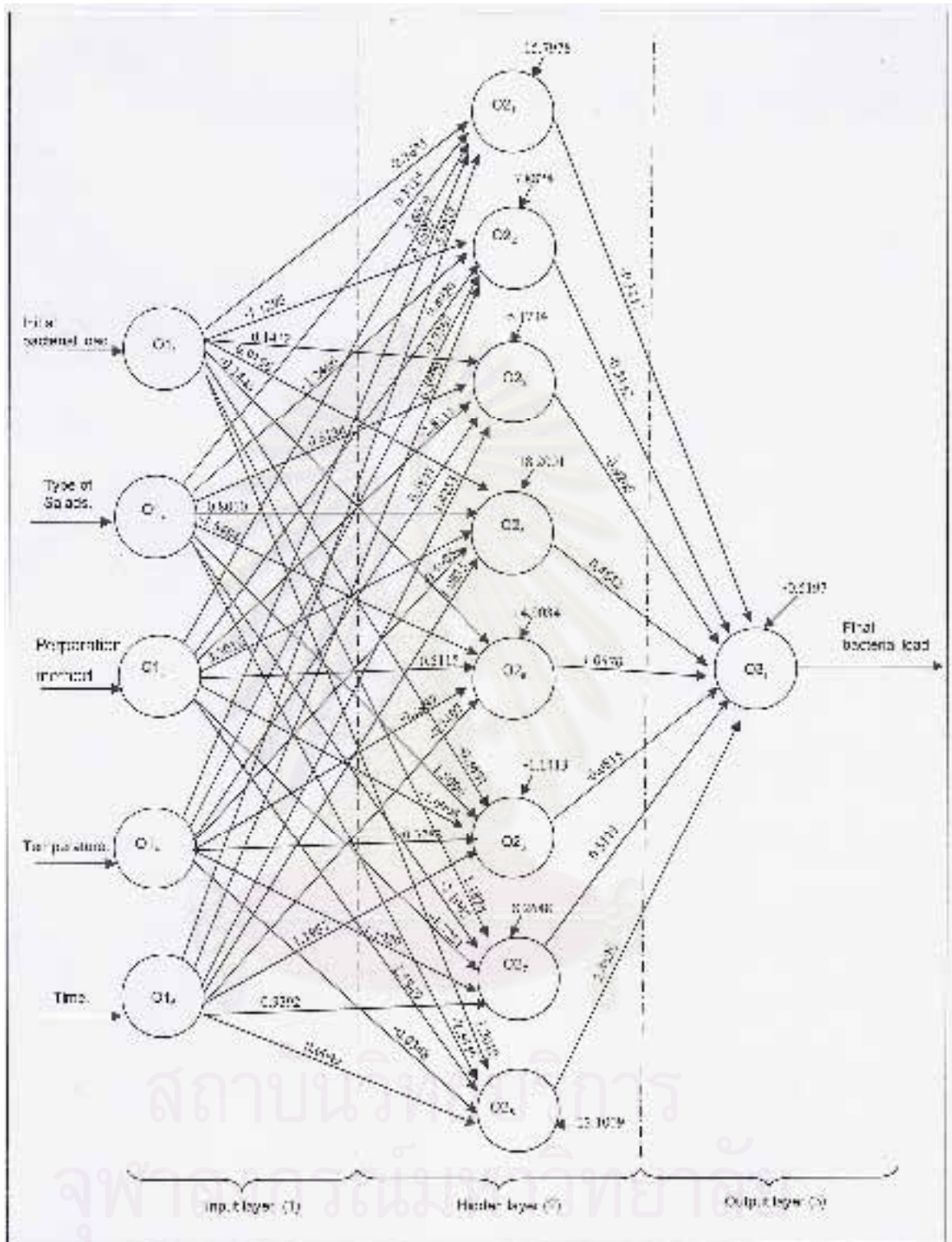
จะพบว่าผลจากการ Run ANNs เมื่อพิจารณาในส่วนของ Train โดยเปรียบเทียบระหว่าง Transfer function ที่เป็น tanh- sigmoid และ sigmoid- sigmoid พบว่าค่า SSE ของทั้งสองฟังก์ชันอาจมีความแตกต่างกัน แต่เมื่อพิจารณาที่ผลการ Test ซึ่งเป็นส่วนที่ network ไม่เคยพบมาก่อนปรากฏว่าค่า Transfer function ของ sigmoid- sigmoid ให้ค่า SSE ที่ต่ำกว่า ค่า SSE ของ tanh- sigmoid ซึ่งอาจกล่าวได้ว่า เมื่อ Network (Model) ถูกสร้างในขั้นตอน Train แล้ว นำมา Test กับข้อมูลที่ระบบไม่เคยพบมาก่อนนั้นสามารถทำนายได้โดยมีค่า SSE ต่ำที่สุด กล่าวคือมี

ความแม่นยำมาก โดยเมื่อเปรียบเทียบแล้วพบว่า sigmoid- sigmoid function จะให้ค่าที่ต่ำกว่า tanh-sigmoid function และเมื่อพิจารณาจาก Hidden node 5, 6 และ 8 จะพบว่าที่ Hidden node = 8 มีค่า Test - SSE ต่ำที่สุดคือ 0.2227 และเมื่อพิจารณาค่า  $R^2$  จะพบว่าที่ Hidden node = 8 ของ sigmoid- sigmoid function จะให้ค่าที่ดีที่สุดหรือสูงที่สุด คือ  $R^2 = 0.9464$  แสดงระบบ ANNs สำหรับการทำนาย TPC ในสไลด์ตัวอย่างทั้งสี่ชนิด ดังรูปที่ 4.19



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย





รูปที่ 4.19 ระบบ ANNs สำหรับการทำนายจุลินทรีย์ TPC ของสลัดตัวอย่างทั้งสิ้นชนิด

#### 4.2.3.2 แบบจำลอง ANNs ในการประมาณค่าจุลินทรีย์กลุ่ม Coliforms สูดทำยที่มีในตัวอย่างอาหารสลัด

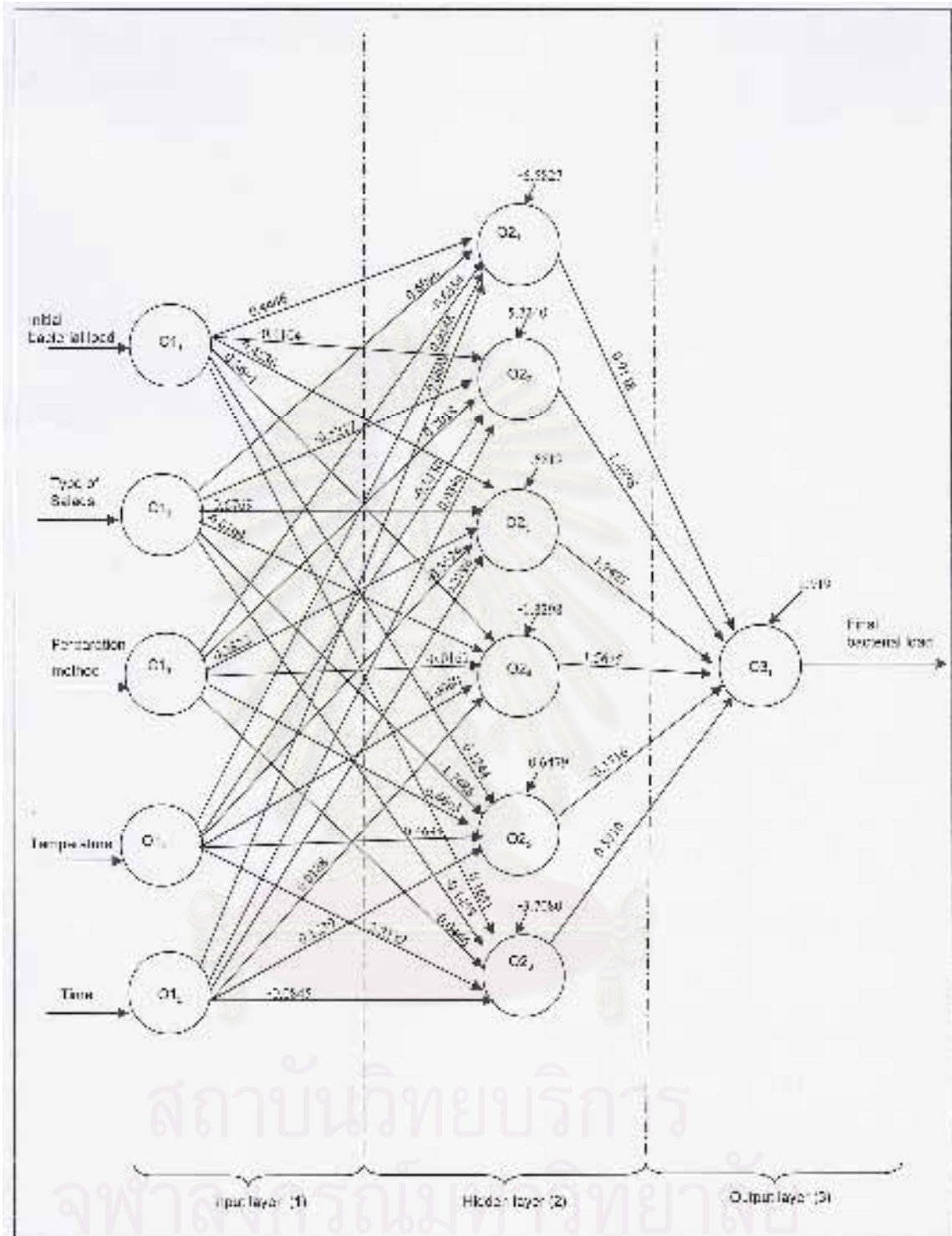
จากการทดลองสร้างระบบ ANNs ของชุดข้อมูล coliforms ที่นำมา Train และ Test โดยประเมินผลด้วยค่า SSE และ  $R^2$  ดังแสดงในตารางที่ 4.16

ตารางที่ 4.16 เปรียบเทียบ SSE และ  $R^2$  ของการ Train และ Test ของข้อมูล coliforms (บนผักสลัดทั้ง 4 ชนิด) ที่ได้จากระบบ ANNs ที่แปร Hidden node และ transfer function โดยการ Run Program Matlab ที่ Learning Rate = 0.1

Hidden node	SSE				$R^2$			
	TRAIN		TEST		TRAIN		TEST	
	Tanh-Sigmoid	Sigmoid-Sigmoid	Tanh-Sigmoid	Sigmoid-Sigmoid	Tanh-Sigmoid	Sigmoid-Sigmoid	Tanh-Sigmoid	Sigmoid-Sigmoid
8	0.3044	0.3182	0.3700	0.3210	0.9736	0.9724	0.8850	0.9003
6	0.2992	0.2767	0.3199	<b>0.2475*</b>	0.9741	0.9760	0.9006	<b>0.9231*</b>
5	0.3336	0.3342	0.3089	0.3655	0.9711	0.9711	0.9040	0.8865

หมายเหตุ : \*ค่า SSE ที่ต่ำที่สุด และ ค่า  $R^2$  ที่สูงที่สุด

จะพบว่าผลจากการ Run ANNs เมื่อพิจารณาในส่วนของการ Train โดยเปรียบเทียบระหว่าง Transfer function ที่เป็น tanh- sigmoid และ sigmoid- sigmoid พบว่าค่า Sum Square Error (SSE) ของทั้งสองฟังก์ชันอาจมีความแตกต่างกัน แต่เมื่อพิจารณาที่ผลการ Test ซึ่งเป็นส่วนที่ network ไม่เคยพบมาก่อนปรากฏว่าค่า Transfer function ของ sigmoid- sigmoid ให้ค่า SSE ที่ต่ำกว่า ค่า SSE ของ tanh- sigmoid ซึ่งอาจกล่าวได้ว่า เมื่อ Network (Model) ถูกสร้างในขั้นตอน Train แล้ว นำมา Test กับข้อมูลที่ระบบไม่เคยพบมาก่อนนั้นสามารถทำนายและให้ค่า SSE ต่ำที่สุด กล่าวคือมีความแม่นยำมาก โดยเมื่อเปรียบเทียบแล้วพบว่า sigmoid- sigmoid function จะให้ค่าที่ต่ำกว่า tanh-sigmoid function และเมื่อพิจารณาจาก Hidden node 5, 6 และ 8 จะพบว่าที่ Hidden node = 6 มีค่า Test - SSE ต่ำที่สุดคือ 0.2475 และเมื่อพิจารณาค่า  $R^2$  จะพบว่าที่ Hidden node = 6 ของ sigmoid- sigmoid function จะให้ค่าที่ดีที่สุดหรือสูงที่สุดคือ  $R^2 = 0.9231$  แสดงระบบ ANNs สำหรับการทำนาย coliforms ในสลัดตัวอย่างทั้งสิ้นชนิด ดังรูปที่ 4.20



รูปที่ 4.20 ระบบ ANNs สำหรับการทำนายจุลินทรีย์ Coliforms ของสลัดตัวอย่างทั้งสี่ชนิด

#### 4.2.3.3 แบบจำลอง ANNs ในการประมาณค่าจุลินทรีย์ *E. coli* สูดทำยที่มีในตัวอย่างอาหารสลด

จากการทดลองสร้างระบบ ANNs ของชุดข้อมูล *E. coli* ที่นำมา Train และ Test โดยประเมินผลด้วยค่า SSE และ  $R^2$  ดังแสดงในตารางที่ 4.17

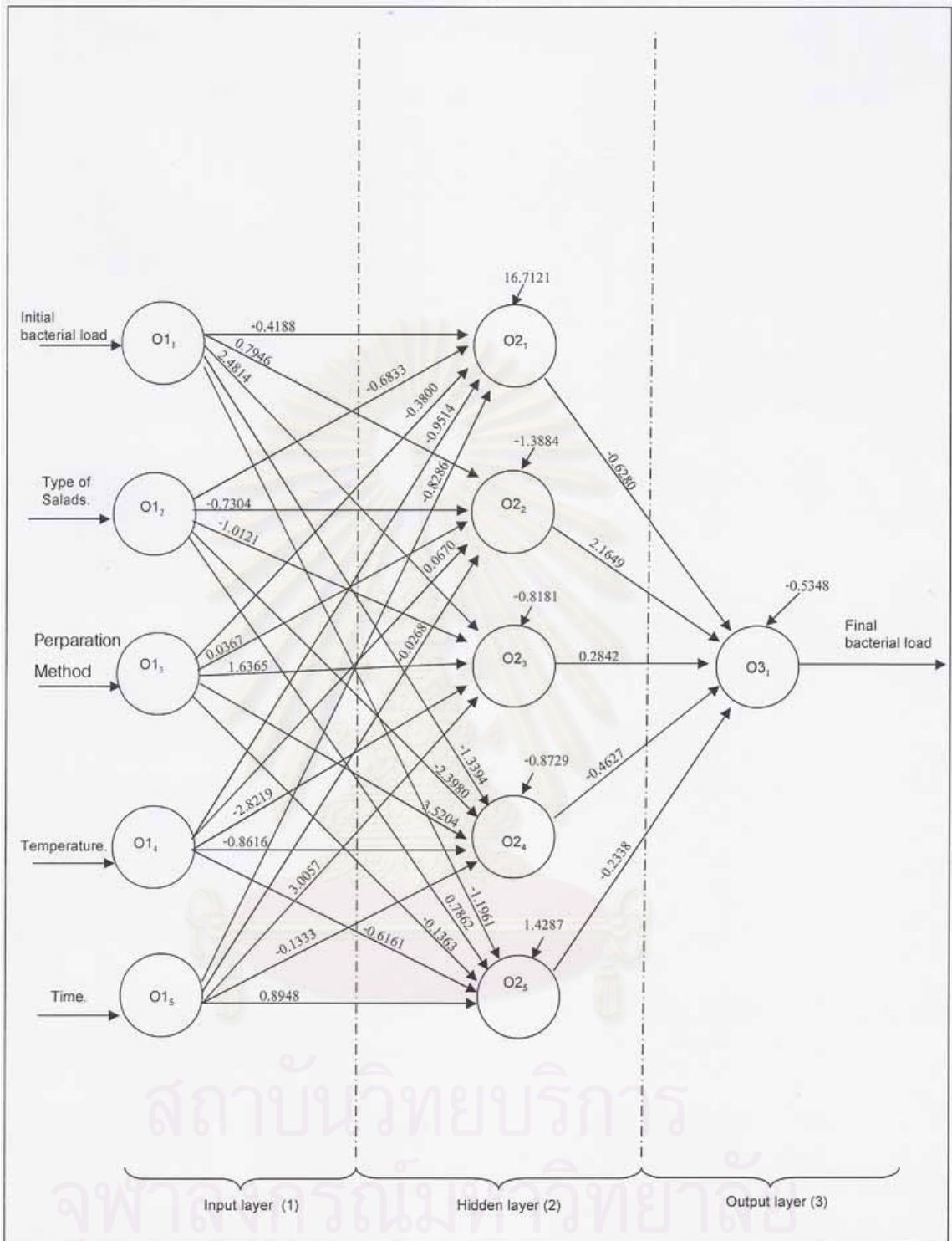
ตารางที่ 4.17 เปรียบเทียบ SSE และ  $R^2$  ของการ Train และ Test ของข้อมูล *E. coli* (บนผักสลด) ทั้ง 4 ชนิด ที่ได้จากระบบ ANNs ที่แปร Hidden node และ transfer function โดยการ Run Program Matlab ที่ Learning Rate = 0.1

Hidden node	SSE				$R^2$			
	TRAIN		TEST		TRAIN		TEST	
	Tanh-Sigmoid	Sigmoid-Sigmoid	Tanh-Sigmoid	Sigmoid-Sigmoid	Tanh-Sigmoid	Sigmoid-Sigmoid	Tanh-Sigmoid	Sigmoid-Sigmoid
8	0.3309	0.2677	0.3845	0.4501	0.9783	0.9824	0.9256	0.9129
6	0.3149	0.3351	0.3132	0.3389	0.9793	0.9780	0.9394	0.9344
5	0.2758	0.2606	0.3363	<b>0.2243*</b>	0.9819	0.9829	0.9349	<b>0.9566*</b>

หมายเหตุ : \*ค่า SSE ที่ต่ำที่สุด และ ค่า  $R^2$  ที่สูงที่สุด

จะพบว่าผลจากการ Run ANNs เมื่อพิจารณาในส่วนของการ Train โดยเปรียบเทียบระหว่าง Transfer function ที่เป็น tanh- sigmoid และ sigmoid- sigmoid พบว่าค่า Sum Square Error (SSE) ของทั้งสองฟังก์ชันอาจมีความแตกต่างกัน แต่เมื่อพิจารณาที่ผลการ Test ซึ่งเป็นส่วนที่ network ไม่เคยพบมาก่อนปรากฏว่าค่า Transfer function ของ sigmoid- sigmoid ให้ค่า SSE ที่ต่ำกว่า ค่า SSE ของ Tanh- sigmoid ซึ่งอาจกล่าวได้ว่า เมื่อ Network (Model) ถูกสร้างในขั้นตอน Train แล้ว นำมา Test กับข้อมูลที่ระบบไม่เคยพบมาก่อนนั้นสามารถทำนายได้โดยมีค่า SSE ต่ำที่สุดกล่าวคือมีความแม่นยำมาก โดยเมื่อเปรียบเทียบแล้วพบว่า sigmoid- sigmoid function จะให้ค่าที่ต่ำกว่า tanh-sigmoid function ซึ่งสอดคล้องกับกรณีที่เป็น ANNs ของ TPC และ Coliforms เมื่อพิจารณาจาก Hidden node 5, 6 และ 8 จะพบว่าที่ Hidden node = 5 มีค่า Test - SSE ต่ำที่สุดคือ 0.2243 และเมื่อพิจารณาค่า  $R^2$  จะพบว่าที่ Hidden node = 5 ของ sigmoid- sigmoid function จะให้ค่าที่ดีที่สุดหรือสูงที่สุด คือ  $R^2 = 0.9566$  แสดงระบบ ANNs สำหรับการทำนาย TPC ในสลดตัวอย่างทั้งสี่ชนิด ดังรูปที่ 4.21





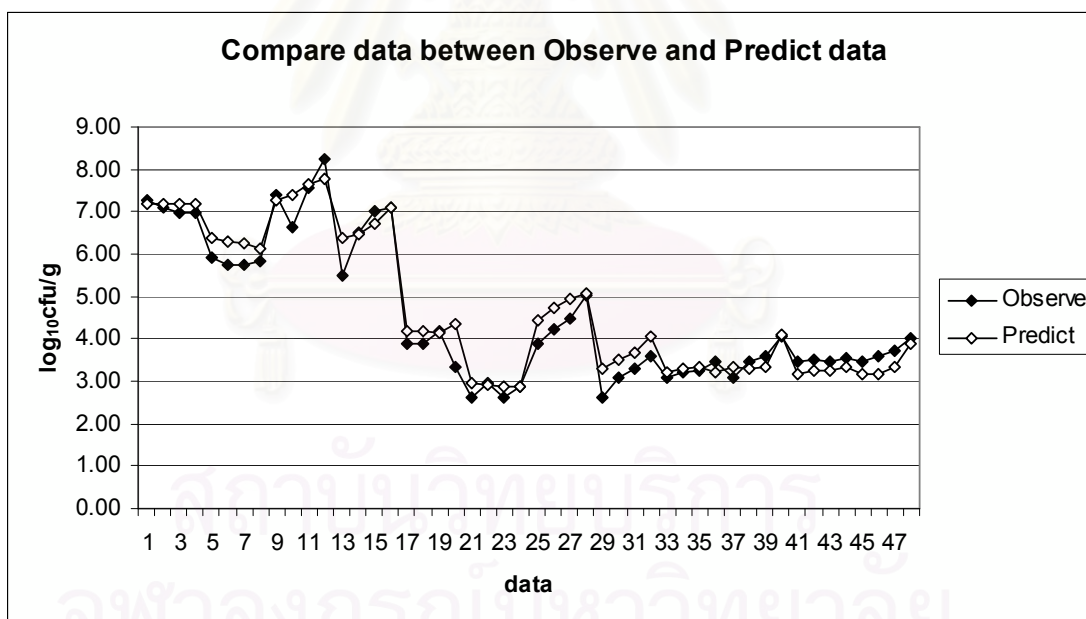
รูปที่ 4.21 ระบบ ANNs สำหรับการทำนายจุลินทรีย์ *E. coli* ของสลัดตัวอย่างทั้งสี่ชนิด



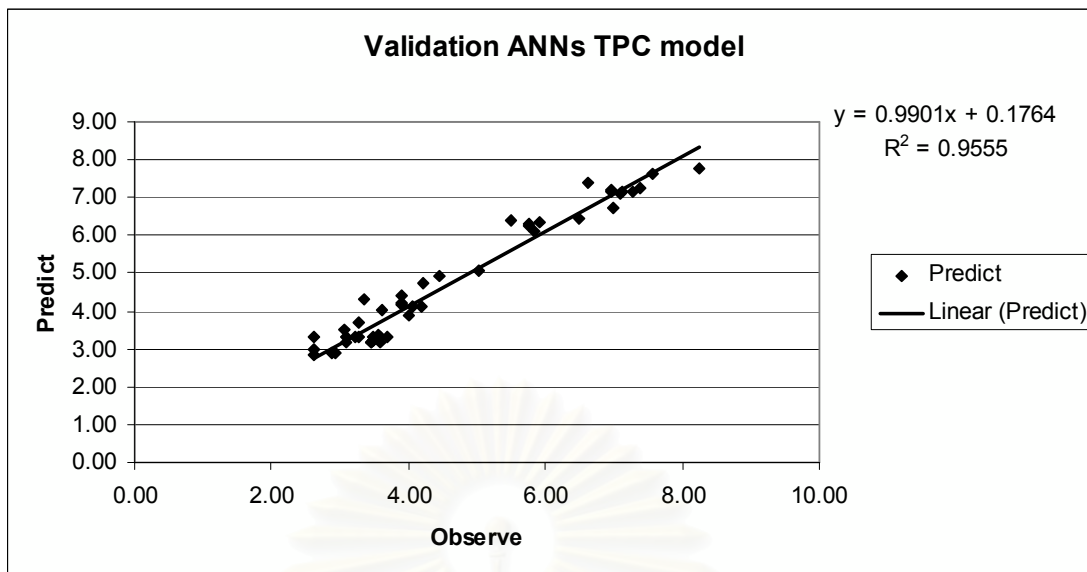
#### 4.2.4 ผลของการพิสูจน์ความใช้ได้ของ ระบบ ANNs (Validation ANNs)

การพิสูจน์ความใช้ได้ของระบบ ANNs ที่สร้างขึ้นนั้นสามารถทำได้โดยการทำการทดลองทำซ้ำอีก 2 ซ้ำ (จะได้ 48 ข้อมูล) โดยการเติมเชื้อจุลินทรีย์ลงในผักกาดหอมและผลมะเขือเทศราชินี จากนั้นนำไปแช่ในสารฆ่าเชื้อที่ความเข้มข้นต่างๆ (ดังวิธีการในบทที่ 3 ข้อ 3.6.2.2 – 3.6.2.6) เพื่อนำมาเปรียบเทียบกับการทำนายของระบบ ANNs ที่สร้างขึ้นจากขั้นตอนที่ 4.2.2 ว่าสามารถที่จะทำนายได้ใกล้เคียงกับความเป็นจริงหรือไม่ โดยสามารถพิจารณาในลักษณะของกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นได้ดังต่อไปนี้

4.2.4.1 ANNs ของจุลินทรีย์ทั่วไป (TPC) - ความสัมพันธ์ระหว่างค่าจริงและค่าทำนายที่ได้จากระบบแสดงในรูปที่ 4.22 โดยค่าเฉลี่ยที่ได้จากการทดลอง 48 ข้อมูลนั้นมีค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน =  $4.58 \pm 1.64 \log_{10} \text{ cfu/g}$  ส่วนค่าทำนายนั้นมีค่า =  $4.71 \pm 1.66 \log_{10} \text{ cfu/g}$  ตามลำดับ รูปที่ 4.22 แสดงให้เห็นความสัมพันธ์ระหว่างค่าจริงและค่าทำนายโดยมีค่า  $R^2 = 0.9555$  ดังรูปที่ 4.23



รูปที่ 4.22 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าจริงและค่าทำนายของระบบ ANNs –ที่ได้จากการพิสูจน์ความใช้ได้ของระบบ ANNs ในการประมาณค่าจุลินทรีย์สุดท้ายที่มีในตัวอย่างสลัดผัก (TPC)

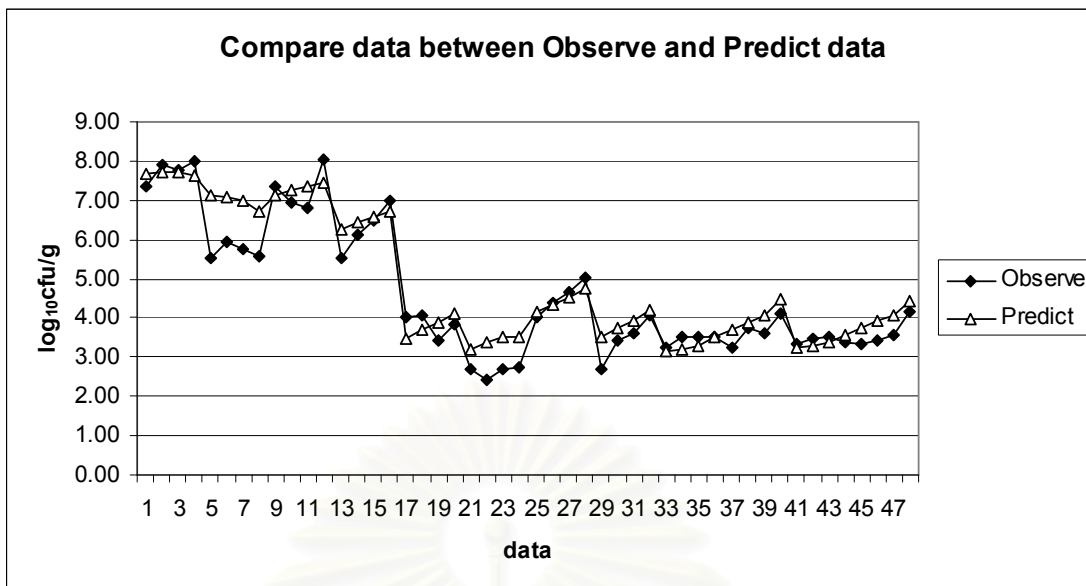


รูปที่ 4.23 ความสัมพันธ์เชิงเส้นของ ค่าจริงและค่าทำนายที่ได้จากการพิสูจน์ความใช้ได้ของระบบ ANNs ในการประมาณค่าจุลินทรีย์สุดท้ายที่มีในตัวอย่างอาหารสลด (TPC)

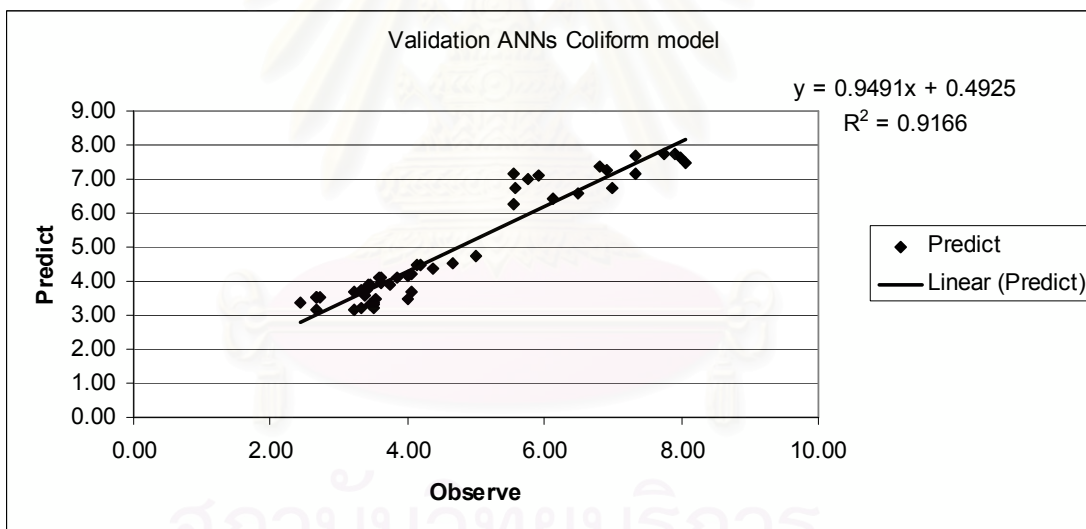
เมื่อเปรียบเทียบค่า  $R^2$  ในขั้นตอนการสร้างระบบ ANNs กับค่า  $R^2$  ที่ได้จากการพิสูจน์ความใช้ได้ของสมการ ซึ่งให้ค่า 0.9464 และ 0.9555 ตามลำดับพบว่ามีความใกล้เคียงกันและเป็นไปในทิศทางเดียวกัน

4.2.4.2 ANNs ของจุลินทรีย์กลุ่ม *Coliforms* - ความสัมพันธ์ระหว่างค่าจริงและค่าทำนายที่ได้จากระบบแสดงในรูปที่ 4.24 โดยค่าเฉลี่ยที่ได้จากการทดลอง 48 ข้อมูลนั้นมีค่าเฉลี่ยส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน =  $4.63 \pm 1.66 \log_{10} \text{ cfu/g}$  ส่วนค่าทำนายนั้นมีค่า =  $4.89 \pm 1.65 \log_{10} \text{ cfu/g}$  ตามลำดับ รูปที่ 4.24 นั้นแสดงให้เห็นถึงลักษณะข้อมูลที่มีความสัมพันธ์ไปในแนวทางเดียวกัน โดยมีค่า  $R^2 = 0.9166$  ดังรูปที่ 4.25

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



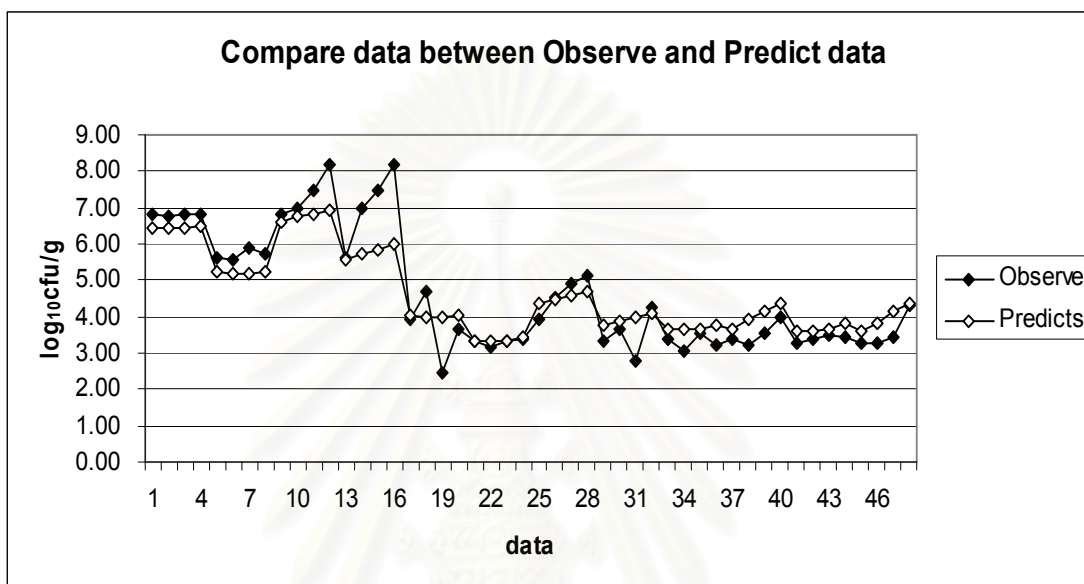
รูปที่ 4.24 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าจริงและค่าทำนายของระบบ ANNs -ที่ได้จากการพิสูจน์ความใช้ได้ของระบบ ANNs ในการประมาณค่าจุลินทรีย์สุดท้ายที่มีในตัวอย่างอาหารสลด (Coliforms)



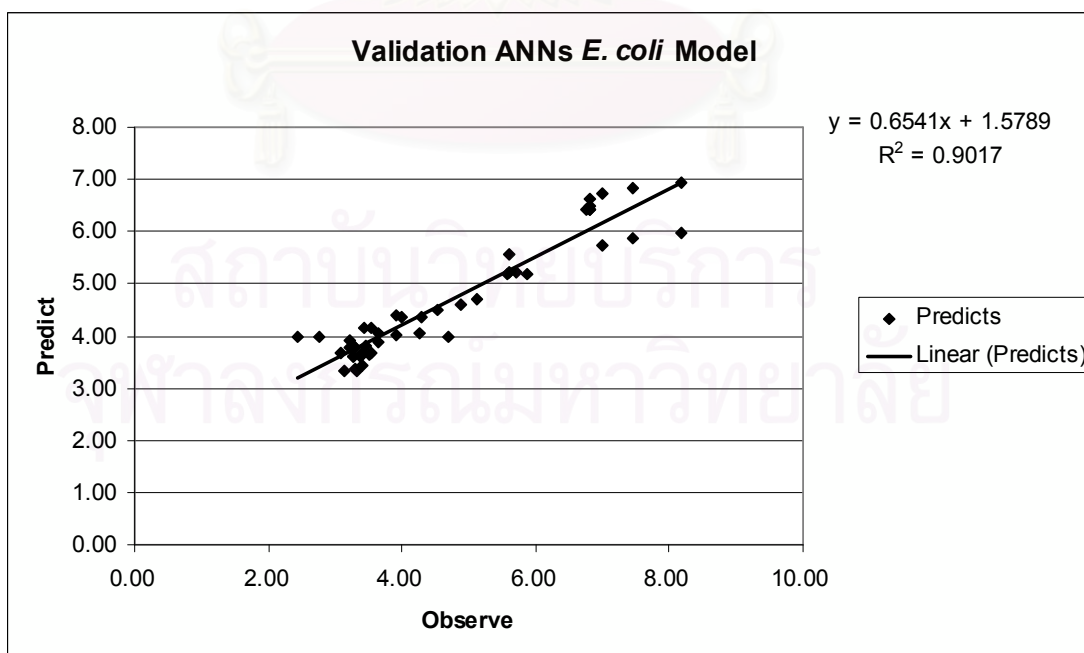
รูปที่ 4.25 ความสัมพันธ์เชิงเส้นของ ค่าจริงและค่าทำนายที่ได้จากการพิสูจน์ความใช้ได้ของระบบ ANNs ในการประมาณค่าจุลินทรีย์สุดท้ายที่มีในตัวอย่างอาหารสลด (Coliforms)

เมื่อเปรียบเทียบค่า  $R^2$  ในขั้นตอนการสร้างระบบ ANNs กับค่า  $R^2$  ที่ได้จากการพิสูจน์ความใช้ได้ของสมการ ซึ่งให้ค่า 0.9231 และ 0.9166 ตามลำดับ ซึ่งพบว่ามีความใกล้เคียงกัน และเป็นไปในทิศทางเดียวกัน

4.2.4.3 ANNs ของจุลินทรีย์กลุ่ม *E. coli* - ความสัมพันธ์ระหว่างค่าจริงและค่าทำนายที่ได้จากระบบแสดงในรูปที่ 4.26 โดยค่าเฉลี่ยที่ได้จากการทดลอง 48 ข้อมูลนั้นมีค่าเฉลี่ยส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน =  $4.64 \pm 1.63 \log_{10} \text{ cfu/g}$  ส่วนค่าทำนายนั้นมีค่า =  $4.62 \pm 1.12 \log_{10} \text{ cfu/g}$  ตามลำดับ รูปที่ 4.22 แสดงให้เห็นความสัมพันธ์ระหว่างค่าจริงและค่าทำนายโดยมีค่า  $R^2 = 0.9077$  ดังรูปที่ 4.27



รูปที่ 4.26 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าจริงและค่าทำนายของระบบ ANNs - ที่ได้จากการพิสูจน์ความใช้ได้ของระบบ ANNs ในการประมาณค่าจุลินทรีย์สุดท้ายที่มีในตัวอย่างอาหารสลด (*E. coli*)



รูปที่ 4.27 ความสัมพันธ์เชิงเส้นของ ค่าจริงและค่าทำนายที่ได้จากการพิสูจน์ความใช้ได้ของระบบ ANNs ในการประมาณค่าจุลินทรีย์สุดท้ายที่มีในตัวอย่างอาหารสลด (*E. coli*)

เมื่อเปรียบเทียบค่า  $R^2$  ในขั้นตอนการสร้างระบบ ANNs กับค่า  $R^2$  ที่ได้จากการพิสูจน์ความใช้ได้ของสมการ ซึ่งให้ค่า 0.9566 และ 0.9017 ตามลำดับ ซึ่งพบว่ามีความใกล้เคียงกันและเป็นไปในทิศทางเดียวกัน

จากผลการทดลองนี้ พบว่าจำนวนที่เหมาะสมของ Hidden neurons (node) อยู่ระหว่าง 5-8 neurons โดยที่จำนวนที่มากขึ้นของ neurons ไม่ได้หมายความว่าความแม่นยำของระบบ ANNs จะสูงขึ้น แต่อาจจะทำให้เกิดความผิดพลาดมากขึ้นระหว่างการ Train และ Test ของระบบ ซึ่งการได้มาของจำนวน hidden neurons ที่เหมาะสมนั้นขึ้นอยู่กับลักษณะการกระจายของข้อมูลที่น่ามาใช้ โดยยังไม่มีการอ้างอิงทางด้านการทำนายปริมาณจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตในผักหลังการล้างด้วยสารฆ่าเชื้อ จึงไม่มีข้อมูลที่จะให้เปรียบเทียบค่า SSE และ  $R^2$  ในการพิสูจน์ความใช้ได้ของระบบ ANNs

จากการศึกษาโดย Yang (2003) ได้ทดลองใช้ ANNs สำหรับการหา Dose-response ของจุลินทรีย์ *Salmonella flexneri* และ *Salmonella typhosa* พบว่าระบบ ANNs ที่ใช้ Activation function เป็น Tanh และใช้ Hidden neuron = 3 นั้นให้ค่า  $R^2$  เป็น 0.92 และ 0.94 ตามลำดับ ในขณะที่ Lou และ Nakai (2001) ได้รายงานผลการศึกษาระบบยับยั้งจุลินทรีย์ *E. coli* ภายใต้สภาวะการให้ความร้อนโดยมีปัจจัยร่วมคือ water activity และ ความเป็นกรดต่าง และเปรียบเทียบการทำนายปริมาณจุลินทรีย์ด้วยวิธี ANNs (ใช้ 3 hidden neuron) และ RSM (Response Surface Model) พบว่าการใช้ ANNs ให้ความแม่นยำมากกว่าเพราะให้ค่า  $R^2$  ที่สูงถึง 0.95 ส่วนวิธี RSM ให้ค่า  $R^2$  ที่ 0.87 จะพบว่าการทำนายของระบบ ANNs นั้นเป็นระบบการทำนายที่ดีเมื่อเปรียบเทียบกับการทำนายด้วย Model แบบอื่นๆ Yu, Davidson and Yang (2006) ได้ทดลองสร้างระบบ ANNs เพื่อทำนายการเจริญและไม่เจริญเติบโตของ *E. coli* O157:H7 โดยใช้ 1 Hidden layer และ 30 Hidden neuron พบว่าสามารถที่จะใช้ทำนายการเจริญและไม่เจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้อย่างแม่นยำโดยมี  $R^2$  ประมาณ 0.95 Geeraerd *et al.* (1998) ได้เคยรายงานผลการทดลองใช้ ANNs ในการทำนายค่า Growth rate ( $\mu_{max}$ ) ของ *Bacillus thermosphacta* โดยใช้ sigmoid function และปัจจัยนำเข้า (input) ได้แก่ อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง และ %เกลือ(NaCl) ซึ่งได้ค่า SSE ประมาณ 0.15 ในขณะที่ สามารถทำนายค่า Growth rate ของ *E. coli* โดยใช้ sigmoid function เปรียบเทียบกับ tanh function โดยใช้ปัจจัยที่นำเข้าเป็น อุณหภูมิและ ความเป็นกรดต่าง(pH) พบว่าได้ค่า SSE ประมาณ 0.233 และ ประมาณ 0.532 ตามลำดับ โดยเปรียบเทียบกับ Model ของ Zwietering *et al.* (1991) กับ Rosso *et al.* (1995) ซึ่งทำนายการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ *E. coli* และใช้ปัจจัยเดียวกันทำนาย พบว่าได้ค่า SSE ประมาณ 0.664 และ ประมาณ 0.643 ตามลำดับ ดังที่ให้เห็นในหลายๆ



งานวิจัยที่ได้กล่าวมานั้นการใช้ระบบ ANNs ถูกเลือกมาใช้เพื่อเป็นเครื่องมือในการทำนายมากกว่า Model อื่นๆ(เช่น RSM, polynomial) เพราะ ANNs ให้ค่าความแตกต่างระหว่างค่าจริงและค่าในการทำนายต่ำ (Error ต่ำ) อีกทั้งยังมีความสมบูรณ์ในการทำนายโดยให้ค่าที่เหมาะสมกับ ข้อมูลที่นำมาพิสูจน์ความใช้ได้(Validation)ด้วย (Hajmeer *et al.*, 1997; Garcia-Gimeno *et al.*, 2002; 2003) แต่ทั้งนี้สิ่งที่จะต้องระวังสำหรับการสร้างระบบ ANNs คือชนิดของอาหารและสภาวะสิ่งแวดล้อม หรือ ตัวแปร หรือ ปัจจัย ต่างๆ ที่นอกเหนือจากที่ใช้ในการ Train ระบบนั้น จะต้องเป็นสภาวะเดียวกันกับการนำไปใช้งานถึงจะยังผลให้เกิดการทำนายที่แม่นยำ (Yu *et al.*, 2006; Lou and Nakai, 2001; Basheer and Hajmeer, 2000; Buchanan and Doyle, 1997 )

ในการศึกษานี้ที่ใช้ตัวแปร 5 ตัวแปร (ได้แก่ ปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น ชนิดของผักชนิดของสารฆ่าเชื้อ อุณหภูมิการเก็บ และ เวลาในการเก็บ) เพื่อทำนายปริมาณจุลินทรีย์ที่อยู่รอดและเจริญเติบโต จึงยอมรับค่าความสัมพันธ์เชิงเส้น( $R^2$ ) ที่ระดับ 0.9 ของระบบ ANNs ในการทำนาย เพื่อเป็นการป้องกันและระวังในการประเมินความปลอดภัยทางด้านอาหาร

ดังนั้นในการบริโภคผักและผลไม้สดให้ปลอดภัยนั้นจำเป็นต้องพิจารณาปัจจัยหลายอย่าง ได้แก่ การลดการปนเปื้อนระหว่างการปลูก การเลือกใช้สารฆ่าเชื้อและความเข้มข้นที่เหมาะสมที่ใช้ในการลดปริมาณจุลินทรีย์ลงจนถึงระดับที่ยอมรับได้ โดยผักและผลไม้ยังได้รับการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัส (Beuchat, 1996; Francis *et al.*,1999; Bharathi, Ramesh and Varadaraj, 2001; Chang และ Fang, 2007) นอกจากนี้การจับเก็บผลิตภัณฑ์อาหารยังต้องคำนึงถึงปัจจัยต่างๆ ได้แก่ การปนเปื้อนหลังการกำจัดเชื้อ อุณหภูมิ และเวลาในการจับเก็บด้วย (Ukuku และ Sapers, 2007; Iturriaga *et al.*, 2007; Jones *et al.*, 2003 Jeyamkondan, Jayas and Holley, 2001)

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการวิจัย

จากงานวิจัยสามารถสรุปได้ว่า

- ปัจจัยที่มีผลต่อการล้างผักคือ
  - i) ชนิดผัก ที่มีพื้นที่ผิวที่มีลักษณะแตกต่างกัน
  - ii) ชนิดของสารฆ่าเชื้อ
  - iii) ความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ
  - iv) ปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น
- สารฆ่าเชื้อที่ดีที่สุดที่ใช้ในการทดลองนี้คือ กรดเปอร์อะซิติก
- ปัจจัยที่มีผลต่อการจัดเก็บผักและอาหารสดได้แก่
  - i) อุณหภูมิในการจัดเก็บ
  - ii) ระยะเวลาในการจัดเก็บ
  - iii) ปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น
  - iv) ชนิดของสลัดผัก
- อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการจัดเก็บสำหรับการทดลองนี้คือ  $10^{\circ}\text{C}$  และไม่เกิน 8 ชั่วโมงในการเก็บรักษา เนื่องจากผักสลัดที่วางขายจะถูกขายหมดภายในระยะเวลา 8 ชั่วโมง (จากการตรวจสอบผักสลัดที่วางขายใน Supermarket 11 แห่ง) ซึ่งจะทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นนั้นมีไม่มากนัก แต่ทั้งนี้ควรพิจารณาถึงปริมาณการปนเปื้อนเริ่มต้น รวมถึงการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรครดงเช่น *E. coli* ด้วยเพราะถ้าปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นก่อนการเก็บมีจำนวนมากก็จะทำให้จุลินทรีย์เพิ่มปริมาณจนถึงระดับที่เป็นอันตรายได้ นอกจากนี้ *E. coli* สามารถเจริญเติบโตได้ที่ อุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  จึงควรบริโภคอาหารให้หมดภายในระยะเวลาสั้นๆ
- การทำนายจุลินทรีย์ที่หลงเหลือในผักหลังล้างด้วยสารฆ่าเชือนั้นสามารถใช้ในแบบจำลอง ANNs สำหรับการประมาณค่า โดยกำหนด Hidden layer = 1 Hidden neuron หรือ Hidden node อยู่ระหว่าง 3-5 Transfer function ที่เหมาะสมคือ hyperbolic tangent (tanh) และ sigmoid ซึ่งมีความแม่นยำในระดับค่า  $R^2$  ประมาณ 0.7

- สำหรับการทำนายจุลินทรีย์สุดท้ายหลังการเก็บ ณ อุณหภูมิและเวลาที่แตกต่างกันนั้น สามารถใช้ในการทำนายเพื่อบอกความเสี่ยงต่อปริมาณจุลินทรีย์ได้ดี โดยใช้แบบจำลอง ANNs สำหรับการประมาณค่า โดยกำหนด Hidden layer = 1 Hidden neuron หรือ Hidden node อยู่ระหว่าง 5-8 Transfer function ที่เหมาะสมคือ Sigmoid และ sigmoid sigmoid ซึ่งมีความแม่นยำในระดับค่า  $R^2$  ประมาณ 0.9
- การใช้ระบบ ANNs มาทำเป็น Model ในการทำนายปริมาณจุลินทรีย์นั้นมีข้อดีคือ
  - i) ไม่จำกัดตัวแปรในการศึกษา
  - ii) ทำนายได้แม้ความสัมพันธ์ของตัวแปรต่างๆ เป็นแบบ non-linear
  - iii) สามารถแปลงตัวแปรที่เป็นเชิงคุณภาพวิเคราะห์(Qualitative) เป็นตัวแปรเชิงปริมาณวิเคราะห์(Quantitative) ได้เพื่อใช้เป็นข้อมูลขาเข้า (input layer) สำหรับการทำนาย
  - iv) สามารถทำนายได้อย่างรวดเร็ว

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

จากการทดลองนี้เป็นการทดลองภายในห้องปฏิบัติการที่สร้างขึ้นเพื่อให้ใกล้เคียงกับการปฏิบัติการเชิงพาณิชย์ (การวางขายสลัดในร้านอาหารบริการทั่วไป) ดังนั้นเพื่อให้การประเมินความเสี่ยงจริงมากที่สุดควรที่จะมีการเก็บตัวอย่าง ณ จุดวางขายจริงและใช้สภาวะจริงในการเก็บตัวอย่างเพื่อหาการปนเปื้อนที่แท้จริงของตัวอย่างผักสลัด และใช้ข้อมูลดังกล่าวมาสร้างแบบจำลองเพื่อการทำนายที่ถูกต้องและแม่นยำมากยิ่งขึ้น ทั้งนี้เพื่อให้การทำนายมีความสมบูรณ์แบบมากขึ้นจึงควรสร้างระบบข่ายงานประสาทเทียมที่สามารถทำนายได้ทั้งระบบ ANNs โดยเริ่มจาก จุลินทรีย์เริ่มต้นที่ผ่านการล้างและแช่สารฆ่าเชื้อต่างๆ จนกระทั่งผ่านการเก็บอุณหภูมิและเวลาที่แตกต่างกัน จนได้มาเป็นปริมาณจุลินทรีย์สุดท้าย และควรทดลองอุณหภูมิที่สามารถระงับการเจริญของจุลินทรีย์ได้เช่น อุณหภูมิที่ต่ำกว่า  $7^{\circ}\text{C}$  เป็นต้น แต่ทั้งนี้ จะต้องคำนึงถึงช่วงต่อของระบบ ANNs การเก็บตัวอย่าง รวมถึงระยะเวลาในการทำวิจัยด้วย

## รายการอ้างอิง

### ภาษาไทย

- กิตติกานต์ บุญประสิทธิ์. 2548. ผลของโซเดียมไฮโปคลอไรท์, สารประกอบควอดเทอร์นารี แอมโมเนียมและเปอร์ซาวเนี่ยม 2505<sup>®</sup> สำหรับฆ่าเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในโรงงาน ชำแหละไก่. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต. สาขาวิชาสุขาภิบาลอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- จริงแท้ สิริพานิช. 2541. สรีรวิทยาและเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวผักและผลไม้. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- เจนจิรา เจริญยิ่ง. 2544. ปัจจัยที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษาของสัสดักซึ่งผ่านการแปรรูปเบื้องต้น. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- ธวัชชัย ชินวงศ์. 2541. วิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวผลผลิตผลสดทางพืชสวน. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์ดอกหญ้า.
- วิทยาศาสตร์การแพทย์, กรม. 2536. เอกสารอ้างอิงกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. กรุงเทพมหานคร: ฝ่ายวิเคราะห์อาหารทางจุลชีววิทยา. กองวิเคราะห์อาหาร. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์.
- ศูนย์วิจัยกสิกรรมไทย. 2549. ธุรกิจร้านอาหารบริการด่วนปีกุน : เงินสะพัด 21,000 ล้านบาท.  
[ออนไลน์]: <http://library.dip.go.th/multim6/edoc/16693.pdf> [23 มิถุนายน 2550]
- สุวิมล กীরติพิบูล. 2543. ระบบประกันคุณภาพด้านความปลอดภัยของอาหาร HACCP. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์ ส.ส.ท.
- สุทธิลักษณ์ สมิตะสิริ. 2525. มหัศจรรย์ผัก 108. พิมพ์ครั้งที่ 8. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์คบไฟ.
- สำราญ ทั้งทอง. 2526. หัวใจเคมี 1. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์โรงพิมพ์เจริญธรรม.

### ภาษาอังกฤษ

- Ackers, M., Mahon B. E., Leahly, E., Goode, B., Damrow, T., Hayes, P. S., Bibb, W. F., Rice, D. H., Barrett, T. J., Hutwagner, L. 1998. An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with leaf lettuce consumption. Journal Infection Disease. 177: 93-1588.

- Adams, M. R., Hartlry, A. D., Cox, L. J. 1989. Factors affecting the efficacy of washing procedures used in the production of prepared salads. Food Microbiology. 6: 69-77.
- Alexander, T. J. L. 1994. Neonatal diarrhea in pig, pp. 151-170. United Kingdom: CAB International, Wallingford.
- Andrew, W. H., Wilson, C. R., Poelma, P. L., Bullock, L. K., McClure, F. D., Gentile, D. E. 1981. Interlaboratory evaluation of the AOAC method and the A-1 procedure for recovery of fecal coliforms from foods. Journal of Association Official Analytical Chemistry. 64 :1116.
- Ansary, S. E., Kaspar, C. W., 1997. Survey of retail cheeses, dairy processing environments and raw milk for *Escherichia coli* O157:H7. Letter Applied Microbiology. 25: 131-134.
- Arturo-Schaan, M., Sauveger, F., Mamez, C., Gougeon, A., Cormier, M. 1996. Use of peracetic acid as a disinfectant in water-treatment plant: Effect on the plasmid contents of *Escherichia coli* strain. Current Microbiology. 32:43-47.
- Ashenafi, M., Eribo, B. 2003. Behavior of *Escherichia coli* O157:H7 in tomato and processed tomato products. Food Research International. 36: 823-830.
- Asplund, K., Nurmi, E. 1991. The growth of *Salmonellae* in tomatoes. International Journal of Food Microbiology. 13: 177-182.
- Baranyi, J., Roberts, T. A. 1995. Mathematics of predictive food microbiology. International Journal of Food Microbiology. 26: 199-218.
- Basheer, I. A., Hajmeer, M. 2000. Artificial neural network: fundamentals, computing, design and application. Journal of Microbiological Methods. 43: 3-31.
- Bell, B. P., Goldoft, P. M., Griffin, P. M., Davis, M. A., Gordon, D. C., Tarr, P. I., Bartleleson, C. A., Lewis, J. H., Barrett, T. J., Well, R., Baron, K. J. 1994. A multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 associated bloody diarrhea and hemolytic uremic syndrome from hamburgers. Journal of the American Medical Association. 272: 1349-1353.
- Besser, R. E. S., Lett, S. M., Weber, J. T., Doyle, M. P., Barrett, T. J., Wells, J. G., Griffin, P. M. 1993. An outbreak of diarrhea and hemolytic uremic syndrome from



- Escherichia coli* O157:H7 in fresh-pressed apple cider. Journal of American Medicine Association. 269: 10-2217.
- Beuchat, L. R. 1996. Pathogenic microorganisms associated with fresh produce. Journal of Food Production. 59(2): 204-206.
- Beuchat, L. R. 1999. Survival of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in bovine feces applied to lettuce and the effectiveness of chlorinated water as a disinfectant. Journal of Food Protection. 62: 845-849.
- Beuchat, L. R., Harris, L. J., Ward, T. E., Kajs, T. M. 2001. Development of a proposed standard method for assessing the efficacy of fresh produce sanitizers. Journal of Food Protection. 64: 1103-1109.
- Beuchat, L. R., Harris, L. J., Farber, J. N., Parish, M. E., Suslow, T. V., Garrett, E. H., Busta, F. F. 2003. Outbreaks associated with fresh produce: incidence, growth, and survival of pathogens in fresh and fresh cut produce. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2:78-141.
- Beuchat, L. R., Adler, B. B., Lang, M. M. 2004. Efficacy of chlorine and peroxyacetic acid sanitizer in killing *Listeria monocytogenes* on iceberg and romaine lettuce using simulated commercial processing conditions. Journal of Food Protection. 67: 1238-1242.
- Bharathi, S., Ramesh, M. N., Varadaraj, M. C. 2001. Predicting the behavioural pattern of *Escherichia coli* in minimally processed vegetables. Food Controls. 12: 275-284.
- Black, R. E., Merson, M. H., Rowe, B., Taylor, P. R., Abdul-Alim, A. R. M., Gross, R. J., Sack, D. A. 1981. Enteropathogenic *Escherichia coli* diarrhea acquired immunity and transmission in an endemic area. WHO. 59: 263-268.
- Bower, J. R., Congeni, T. G., Cleary, R. T., Stone, R. T., Wanger, A., Murray, B. E., Mathewson, J. J., Pickering, L. K. 1989. *Escherichia coli* O114: nonmotile as a pathogen in an outbreak of severe diarrhea associated with a day care center. Journal of Infection Disease. 160:243-247.
- Brackett, R. E. 1992. Shelf stability and safety of fresh produce as influenced by sanitation and disinfection. Journal of Food Protection. 55: 808-814.

- Brackett, R. E., Splittstoesser, D. F. 1992. Fruits and vegetable. In: Compendium of Methods of Microbiological Examination of Foods, pp. 919-927 Washington, D.C.: APHA.
- Brion, G. M., Lingireddy, S. 1999. A neural network approach to identifying non-point sources of microbial contamination. Water Resource. 33(14): 3099-3106.
- Buchanan, R. L. 1995. The role of microbiological criteria and risk assessment in HACCP. Food Microbiology. 12: 421-424.
- Buchanan, R. L., Doyle, M. P. 1997. Foodborne disease: significance of *Escherichia coli* O157:H7 and other enterohemorrhagic *E. coli*. Food Technology. 51: 69-76.
- Buck, J. W., Beuchat, L. R., Walcott., R. 2003. Recent Trends in Microbiological Safety of Fruit and Vegetables[Online]. Available form: <http://www.aspnet.org/online/feature/safety/> [2008, September 29]
- Burnett, S. L., Beuchat, L. R. 2001. Human pathogens associated with raw produce and unpasteurized juice, and difficulties in decontamination. Journal Industries Microbiology Biotechnology. 27: 104-110.
- Burnett, S. L., Chen, J., Beuchat, L. R. 2000. Attachment of *Escherichia coli* O157:H7 to the surfaces and internal structures of apples as detected by confocal scanning laser microscopy. Applied Environment Microbiology. 66:4679-4687.
- Camara, L. M., Carbonare, S. B., Silva, M. L. M., Carneiro-Sampalo, M. M. S. 1994. Inhibition of enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) adhesion to HeLa cells by human colostrums:detection of specific sIgA related to EPEC outer-membrane proteins. International Archeology Allergy Immunology. 103:307-310.
- CDC. 1994. Foodborne outbreak of enterotoxigenic *Escherichia coli*. Rhode island and new Hampshire. Morbidity and Mortality Weekly Report. 43(81): 7-8.
- CDC. 1996. Outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection associated with drinking unpasteurized commercial apple juice-British Columbia, California, Colorado and washington. Morbidity and Mortality Weekly Report. 45(44): 975.
- CDC. 1997. Outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection associated with eating alfalfa sprouts Michigan and Verginia June-July. Morbidity and Mortality Weekly Report. 46(32): 4-741.

- Chang, J. M., Fang, T. J. 2007. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* serovars Typhimurium in iceberg lettuce and the antimicrobial effect of rice vinegar against *E. coli* O157:H7. Food Microbiology. 24: 745-751.
- Cheroutre-Vialette, M., Lebert, A. 2002. Application of recurrent neural network to predict bacterial growth in dynamic condition. International Journal of Food Microbiology. 73: 107-118.
- Cody, S. H., Glynn, K., Farrar, J. A., Cairns, K. L., Griffin, P. M., Kobayashi, J., Fyfe, M., Hoffman, R., King, A. S., Lewis, J. H. 1999. An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection from unpasteurized commercial apple juice. An International Medicine. 130: 9-130.
- Costerton, J. W., Lewandowski, Z., Caldwell, D. E., Korber, D. R., Lappin-Scott, H. M. 1995. Microbial biofilm. Annual Research Microbiology. 49:711-745.
- Cravioto, A., Tello, A., Villafan, H., Ruiz, J., Del-Vedovo, S., Neeser, J. R. 1991. Inhibition of localized adhesion of enteropathogenic *Escherichia coli* to HEp-2 cells by immunoglobulin and oligosaccharide fraction of human colostrums and breast milk. Journal of Infection Disease. 163: 1247-1255.
- CSPI; Center for Science in the Public Interest. 2000. Outbreak alert[Online]. Available form: <http://www.cspinet/reports/index.html>[2001, August 20]
- Delaquis, P., Stewart, S., Cazaux, S., Toivonen, P. 2002. Survival and growth of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 in ready-to-eat iceberg lettuce washed in warm chlorinated water. Journal of Food Protection. 65: 459-464.
- Denyer, S. P., Stewart, G. S. A. B., 1998. Mechanisms of action of disinfectants. International Biodeterioration and Biodegradation. 41: 261-268.
- Decho, A. W., Kawaguchi, T. 1999. Control image of *in situ* natural microbial communities and their extracellular polymeric secretions using Nanoplast® resin. Biotechniques. 27: 1246-1252.
- Donnenberg, M. S., Giron, J. A., Nataro., J. P., Kaper, J. B. 1992. A plasmid-encoded type IV fimbrial gene of enteropathogenic *Escherichia coli* associated with localized adherence. Molecular Microbiology. 6:3427-3437.
- Esau, K. 1977. Anatomy of seed plant. 1<sup>st</sup> ed., New York: John Wiley and Sons, Inc.

- FAO/WHO. 2004. Country report foodborne diseases: situation of diarrheal diseases in Thailand[Online]. Available from:  
<http://www.fao.org/docrep/meeting/600/ad703e/ad703e00.htm>. [2008, July 18]
- FAO/WHO. 2008. Meeting: Microbiological hazards in fresh fruits and vegetables[Online]. Available at:  
[http://www.fao.org/ag/agn/files/FFV\\_2007\\_Final.pdf](http://www.fao.org/ag/agn/files/FFV_2007_Final.pdf)[2008, October 17]
- Farber, J. M. 2000. Qualitative risk assessment unpasteurized fruit juice/cider Ottawa, Ontario. 1<sup>st</sup> ed. Canada: Food Directorate. Health Products and Food Branch.
- Foegeding, P. M. 1997. Driving predictive modeling on a risk assessment path for enhanced food safety. International Journal of Food Microbiology. 36: 87-95.
- Forsythe, S. J. 2000. The microbiology of safe food. 1<sup>st</sup> ed. London: Blackwell Science.
- Francis, G. A., Thomas, C., O'Beirne, D. 1999. Review article: The microbiological safety of minimally processed vegetables. International Journal of Food Science and Technology. 34: 1-22.
- Frank, J. F. 2001. Microbial attachment to food and food contact surface. Advance Food Nutrition Research. 43: 319-369.
- Fu, L. 1995. Neural networks in computer intelligence. 1<sup>ed</sup> ed. New York :Mc-Graw-Hill.
- Fu, Y., Schreuders, P. D., Lomander, A., Lee, S. J. 2004. Biofilm: What are they and why are they of concern. University of Maryland[Online]. Available form:  
<http://www.ibeweb.org/elif/newletters/v8i1.pdf>[2008, October 28]
- Garcia-Gimeno, R. M., Hervas-Martinez, C., de Silloniz, M. I. 2002. Improving artificial neural networks with a pruning methodology and genetic algorithms for their application in microbial growth prediction in food. International Journal of Food Microbiology. 72: 19-30.
- Garcia-Gimeno, R. M., Hervas-Martinez, C., Barco-Alcala, E., Zurera-Cosano, G., Sanz-Tapia, E. 2003. An artificial neural network approach to *Escherichia coli* O157:H7 growth estimation. Journal of Food Science. 68: 639-645.
- Garg, N., Churey, J. J., Splittstoesser, A. 1990. Effect of processing condition on the microflora of fresh cut vegetable. Journal of Food Protection. 53(8): 707-703.
- Geeraerd, A. H., Herremans, C. H., Cennens, C., Van Impe, J. F. 1998a. Application of Artificial neural networks as non-linear modular modeling technique to describe

- bacterial growth in chilled food products. International Journal of Food Microbiology. 44: 49-68.
- Geeraerd, A. H., Herremans, C. H., Ludikhuyze, L. R., Hendrickx, M. E., Van Impe, J. F. 1998b. Modeling the kinetics of isobaric-isothermal inactivation of *Bacillus subtilis*  $\alpha$ -amylase with artificial neural network. Journal of Food Engineering. 36: 263-279.
- Geeraerd, A. H., Valdramidis, V. P., Devlieghere, F., Bemaert, H., Debevere, J., and Van Impe, J. F. 2004. Development of a novel approach for secondary modeling in predictive microbiology; incorporation of microbiological knowledge in black box polynomial modeling. International Journal of Food Microbiology. 91: 229-244.
- Gleeson, E., O'Beirne, D. 2005. Effects of process severity on survival and growth of *Escherichia coli* and *Listeria innocua* on minimally processed vegetables. Food Control. 16: 677-685.
- Goldberg, M. B., Sansonetti, P. J. 1993. *Shigella* subversion of the cellular cytoskeleton: a strategy for epithelial colonization. Infection Immunology. 61:4941-4946.
- Gonzalez, R. J., Luo, Y., Ruiz-Cruz, S., McEvoy, J. I. 2004. Efficacy of sanitizers to inactivate *Escherichia coli* O157:H7 on fresh-cut carrot shreds under simulated process water conditions. Journal of Food Protection. 67: 2375-2380.
- Griffin, P. M. 1995. Infections of the gastrointestinal tract. 1<sup>ed</sup> edition. New York: Raven Press.
- Griffin, P. M., Tauxe, R. V. 1999. Surveillance for outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection summary of 1998 data[Online]. Available form: <http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/csfeec98.pdf>[2001, August 19]
- Guerra, M. M., McLauchlin, J., Bernardo, F. A. 2001. *Listeria* in ready-to-eat and unprocessed foods produced in Portugal. Food Microbiology. 18: 423-429.
- Hajmeer, M. H., Basheer, I. A., Najjar, Y. 1997. Computational neural network for predictive microbiology:II application to microbial growth. International Journal of Food Microbiology. 34: 51-66.
- Hajmeer, M. H., Basheer, I. A. 2003. A hybrid Bayesian-neural network approach for probabilistic modeling of bacterial growth/ no growth interface. International Journal of Food Microbiology. 82: 233-243.



- Han, Y., Sherman, D. M., Linton, R. H., Nielson, S. S., 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. Food Microbiology. 17: 521-533.
- Harris, J. R., Mariano, J., Wells, J. G., Payne, B. S., Donnel, H. D., Cohen, M. L. 1985. Person-to-person transmission in an outbreak of enteroinvasive *Escherichia coli*. American Journal of Epidemiology. 122: 245-252.
- Hassoun, M. H. 1995. Fundamentals of artificial neural networks. 1<sup>ed</sup> edition. United Kingdom: MIT Press.
- Henry, F. J., Udoy, A. S., Wanke, C. A., Aziz, M. A. 1996. Epidemiology of persistent diarrhea and etiologic agent in Mirzapur, Bangladesh Acta Paediatr. 381: 27-31.
- Islam, M. S., Hasan, M. K., Khan, S. I. 1993. Growth and survival of *Shigella flexneri* in common Bangladeshi foods under various conditions of time and temperature. Applied Environment Microbiology. 59: 652-654.
- Iturriaga, M. H., Tamplin, M. L., Escartin, E. F. 2007. Colonization of tomatoes by *Salmonella* Montevideo is affected by relative humidity and storage temperature. Journal of Food Protection. 70(1): 30-34.
- Jeyamkondan, J., Jayas, D. S., Holley, R. A. 2001. Microbial growth modeling with artificial neural networks. International Journal of Food Microbiology. 64: 343-354.
- Jones, T., Gill, C. O., McMullen, L. M. 2002. The behavior of log phase *Escherichia coli* at temperatures below the minimum for sustained growth. Food Microbiology. 19: 83-90.
- Jones, T., Gill, C. O., McMullen, L. M. 2003. Behavior of log phase *Escherichia coli* at temperatures below the minimum for sustained growth. International Journal of Food Microbiology. 88: 55-61.
- Karmali, M. A., Steele, B. T., Petric, M., Lim, C. 1983. Sporadic cases of hemolytic uremic syndrome associated with faecal cytotoxin and cytotoxin-producing *Escherichia coli* in stools. Lancet . 1:619-620.
- Kim, H., Ryu, J. H., 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.

- Koseki, S., Isobe, S. 2005. Prediction of pathogen growth on iceberg lettuce under real temperature history during distribution from farm to table. International Journal of Food Microbiology. 104: 239-248.
- Kumar, C. G., Anand, S. K. 1998. Significance of microbial biofilm in food industry: A review. International Journal of Food Protection. 58(1): 24-28.
- Lammerding, A. M., Fazil, A. 2000. Hazard identification and exposure assessment for microbial food safety risk assessment. International Journal of Food Microbiology. 58: 147-157.
- Lang, M. M., Harris, L. J., Beuchat, L. R. 2004. Evaluation of inoculation method and inoculum drying time for their effects on survival and efficiency of recovery of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella*, and *Listeria monocytogenes* inoculated on the surface of tomatoes. Journal of Food Protection. 67: 732-741.
- Lekreongsin, S., Keeratipibul, S., Trakoonlersswilai, K. 2006. Contamination profile of *Listeria* spp. in three types of RTE chicken meat product. Journal of Food Protection. 70(1): 85-89.
- Levine, M. M., Ferreccio, Prado, V., Cayazzo, M., Abrego, P., Martinez, J., Maggi, L., Baldini, M. M., Martin, W., Maneval, D., Kay, B., Guers, L., Lior, H., Wasserman, S. S., Nataro, J. P. 1983. Epidemiologic studies of *Escherichia coli* diarrheal infections in a low socioeconomic level peri-urban community in Santiago, Chile. American Journal of Epidemiology. 138: 849-869.
- Lin, C., Fernando, S., Huang, T., Wei, C. 1996. Occurrence of *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* and *Escherichia coli* O157:H7 in vegetable salads. Journal of Food Protection. 7:135-140.
- Long, K. Z., Wood, J. W., Vasquez-Gariby, E., Weiss, K. M., Mathewson, J. J., de la Cabada, F. J., DuPont, H. L., Wilson, R. A. 1994. Proportional hazards analysis of diarrhea due to enterotoxigenic *Escherichia coli* and breast feeding in a cohort of urban Mexican children. American Journal of Epidemiology. 139: 193-205.
- Lou, W., Nakai, S., 2001. Application of artificial neural network for predicting the thermal inactivation of bacteria: a combined effect of temperature, pH and water activity. Food Research International. 34: 573-579.

- Manuel, F., Chernikova, T. N., Yakimov, M. M., Golyshin, P. N., Timmis, K. N. 2003. Chaperonins govern growth of *Escherichia coli* at low temperatures. Nature Biotechnology. 21(11): 1266-1267.
- Mattar, S., Vasquez, E., 1998. *Escherichia coli* O157:H7 in Colombia. Emergency Infection Diseases. 4: 126-127.
- Mead, P. S., Slutsker, L. Dietz, V., McCaig, L. F., Bresee, J. S., Shapiro, C., Griffin, P. M., Tauxe, R.V., 1999. Food-related illness and death in the United States. Emergency Infection Disease. 5, 607-625.
- Mittal, G. S., Zhang, J., 2002. Prediction of food thermal process evaluation parameters using neural networks, International Journal of Food Microbiology. 79: 153-159.
- Mori, K., Saito, R., Kikuchi, S., Tomita, M. 2007. Inferring rule of *Escherichia coli* translational efficiency using an artificial neural network. Biosystems. 90: 414-420.
- Mosupye, F. M., Holy, A. V. 2000. Microbiological hazard identification and exposure assessment of street food vending in Johannesburg, South Africa. International Journal of Food Microbiology. 61: 137-145.
- Murcia, M. A., Martinez-Tome, M., Vera, A. M. 2000. Improving the control of food production in catering establishments with particular reference to the safety of salads. Food Control. 11:437-445.
- Najjar, Y. M., Basheer, I. A, Hajmeer, M. N. 1997. Computational neural networks for predictive microbiology: I. methodology. International Journal of Food Microbiology. 34: 27-49.
- Nataro, J. P., Kaper, J. B. 1998. Diarrheagenic *Escherichia coli*. Clinical Microbiology Reviews. 11(1):142-201.
- National Research Council. 1983. Risk-assessment in the federal government: managing the process. 1<sup>ed</sup> edition. Washington, D. C: National Academy Press.
- Nauta, M. J. 2002. Modelling bacterial growth in quantitative microbiological risk assessment: is it possible?. International Journal of Food Microbiology. 73: 297-304.
- Ng, D. L. K., Seah, H. L. 1995. Isolation and identification of *Listeria monocytogenes* from a range of foods in Singapore. Food Control. 6(3): 171-173.

- Nguyen, C., Carlin., F. 1994. The microbiology of minimally processed fresh fruits and vegetable. Citation Review: Food Science and Nutrition. 34(4): 371-401.
- Nguyen, C., Carlin, F. 2000. The microbiological safety and quality of food. p. 620-684. 1<sup>st</sup> ed. Gaithersburg, MD USA: Aspen Published Inc.
- Notermans, S., Gallhoff, G., Zwietering, M. H., Mead, G. C. 1996. The HACCP concept : specification or criteria using quantitative risk assessment. Food Microbiology. 12: 81-91.
- O'Brien, A. D., Holmes, R. K. 1987. Shiga and Shiga-like toxins. Microbiology Review. 51: 206-220.
- O'Brien, A. D., Holmes, R. K. 1996. Escherichia coli and Salmonella: cellular and molecular biology, p.2788-2802. 2<sup>nd</sup> ed. Washington, D. C.: ASM Press.
- O'Brien, A. D., Tesh, V. L., Donohue, A., Jackson, M. P., Olsnes, S., Sandvig, K., Lindberg, A. A., Keusch G. T. 1992. Shiga toxin: biochemistry, genetics, mode of action, and role in pathogenesis. Current Tropical Microbiology Immunology. 180: 65-94.
- Ozkanca, R., Flint, K.P. 2002. The effect of starvation stress on the porin protein expression of *Escherichia coli* in lake water. Letter of Applied Microbiology. 35: 533-537.
- Pan, G. X., Spencer, L., Leary, G. J. 1999. Reactivity of ferulic acid and its derivatives toward hydrogen peroxide and peracetic acid. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 47: 3325-3331.
- Riley, L. W., Remis, R. S., Helgerson, S. D., McGee, H. B., Wells, J. G., Davis, B. R., Hebert, R. J., Olcott, E. S., Johnson, L. M., Hargrett, N. T., Blake, P. A., Cohen, M. L. 1983. Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. National English Journal of Medicine. 308: 681-685.
- Rosso, L. Lobry, L. R., Bajard, S., Flandrois, J. P. 1995. Convenient model to describe the combined effect of temperature and pH on microbial growth. Applied Environmental Microbiology. 61: 610-616.
- Ross, T., McMeekin, T. A. 2003. Modeling Microbial Growth With in Food Safety Risk Assessment. Risk Analysis. 23(1): 179-197.

- Rumelhart, D. E., Hinton, G. E., Williams, R. J. 1986. Parallel distributed processing: Exploration in the microstructure of cognition. 1<sup>st</sup> ed. United Kingdom: MIT Press.
- Salleh, N. A., Rusul, G., Hassan, Z., Reezal, A., Isa, S. H., Nishibuchi, M., Radu., S. 2003. Incidence of *Sallmonella* spp. In raw vegetable in Selangor, Malaysia. Food Control. 14: 475-479.
- Sansonetti, P. J. 1992. Molecular and cellular biology of *Shigella flexneri* invasiveness: form cell assay systems to shigellosis. Current Tropical Microbiology Immunology. 180:1-19.
- Sears, C. L., Kaper, J. B. 1996. Enteric bacterial toxins: mechanisms of action and linkage to intestinal secretion. Microbiology Review. 60: 167-215.
- Sing, B. R., Kulshreshlha, S. B., Kapoor, K. N. 1995. An orange juice borne diarrhoeal outbreak due to enterotoxigenic *Escherichia coli*. Journal of Food Science and Technology. 32: 6-504.
- Singh, N., Sing, R. K., Bhunia, A. K., Stroshine, R. L. 2002. Effect of inoculation and washing methods on the efficacy of different sanitizers against *Escherichia coli* O157:H7 on lettuce. Food Microbiology. 19: 183-193.
- Smith, S., Dunbar, M., Tucker, D., 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.
- Snyder, J. D., Wells, J. G., Yashuk, J., Puhr, N., Blake, P. A. 1984. Outbreak of invasive *Escherichia coli* gastroenteritis on a cruise ship. American Journal of Tropical Medicine Hygiene. 139: 193-205.
- Solomon, E. B., Yaron, S., Matthews, K. R., 2002. Transmission of *Escherichia coli* O157:H7 from contaminated manure and irrigation water to lettuce plant tissue and its subsequent internalization. Applied Environmental Microbiology. 68:397-400.
- Specht, D. F. 1991. A general regression neural network. IEEE Trans. Neural Networks. 2: 568-576.
- Steele, B. T., Murphy N., Arbus, G. S., Rance, C. P. 1982. An outbreak of hemolytic uremic syndrome associated with ingestion of fresh apple juice. Journal of Pediatrics. 101: 5-963.



- Su, L. J., Arab, L. 2006. Salad and raw vegetable consumption and nutritional status in the adult US population: Results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. Journal of the American Dietetic Association. 106(9): 1394-1404.
- Suslow, T. 2000. Postharvest handling for organic crops. University of California. Division of Agriculture and Natural Resources. Publication 7214[Online]. Available from: <http://anrcatalog.ucdavis.edu>. [2007, September 27]
- Suslow, T. V., Beuchat, L. R., Harris, L. J., Farber, J. N., Parish, M. E., Garrett, E. H., Busta, F. F. 2003. Outbreaks associated with fresh produce: incidence, growth, and survival of pathogens in fresh and fresh cut produce. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2:78-141.
- Takeuchi, K., Frank, J. F. 2000. Penetration of *Escherichia coli* O157:H7 into lettuce tissue as affected by inoculum size and temperature and the effect of chlorine treatment on cell viability. Journal of Food Protection. 63: 434-440.
- Tamblyn, S., deGrosbois, J., Taylor, D., Stratton, J. 1999. An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection associated with unpasteurized non-commercial, custompressed apple cider-Ontario 1998. Canada Communities Diseases Report. 25: 7-113.
- Tauxe, R. V. 1997. Emerging foodborne diseases: an evolving public health challenge dairy. Food Environment Sanitation. 17(12):95-788.
- Tesh, V. L., O'Brien, A. D. 1991. The pathogenic mechanism of Shiga toxin and the Shiga-like toxins. Molecular Microbiology. 5: 1817-1822.
- Ukuku, D. O., Sapers, G. M. 2007. Effect of time before storage and storage temperature on survival of *Salmonella* inoculated on fresh-cut melons. Food Microbiology. 24: 288-295.
- U.S. FDA. 2001a. 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.cfsan.fda.gov/~comm/ift3-toc.html> [2007, October 24]
- US FDA, 2001b. Bacteriological Analytical Manual Online [Online]. Available from: <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-toc.html> [2007, January 5]

- Viswanathan, P., Kaur, R. 2001. Prevalence and growth of pathogens on salad vegetables, fruits and sprouts. International Journal of Hygiene and Environmental Health. 203: 205-213.
- Wachtel, M. R., Whitehand, L. C., Mandrell, R. E. 2002. Association of *Escherichia coli* O157:H7 with preharvest leaf lettuce upon exposure to contaminated irrigation water. Journal of Food Protection. 65: 18-25.
- Wade, W. N., Beuchat, L. R. 2003. Metabiosis of proteolytic moulds and *Salmonella* in raw ripe tomato. Journal of Applied Microbiology. 95: 437-450.
- Weissinger, W. R., Chantarapanont, W., Beuchat, L. R. 2000. Survival and growth of *Salmonella* bairdii in shredded lettuce and diced tomatoed and effectiveness of chlorinated water as a sanitizer. International Journal of Food Microbiology. 62: 123-131.
- WHO. 1984. The Role of food safety in health and development. Report of a Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Safety WHO Technical Report Series. 705. Geneva: WHO.
- WHO. 1996. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* infection. Weekly Epidemiol Records 30: 30-229.
- WHO. 1997. Guidelines on exposure assessment of microbiology hazards in food and water [Online]. Available from: <http://apps.fao.org/page/collection?subset=nutrition.html> [2007, February 28]
- WHO. 2005. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC), Media center. Available from: <http://www.who.int/mediacenter/factsheets/fs125/en/> [2008, October 15]
- Wills, R. H. H., Lee T. H., Graham D., McGlasson, W. B., Hall, E. G. 1981. Postharvest: An Introduction to the physiology and handling of fruit and vegetable. Australia: New South Wales University Press, N.S.W.
- Wood, L. V., Ferguson, E. L., Hogan, P., Thurman, D., Morgan, D., DuPont, H. L., Ericsson, C. D. 1983. Incidence of bacterial enteropathogenes in foods from Mexico. Applied Environment Microbiology. 46: 328-332.
- Yamamoto, T., Kaneko, M., Changchawalit, S., Serichantalergs, O., Ijuin, S., Echeverria, P. 1994. Actin accumulation associated with clustered and localized adherence

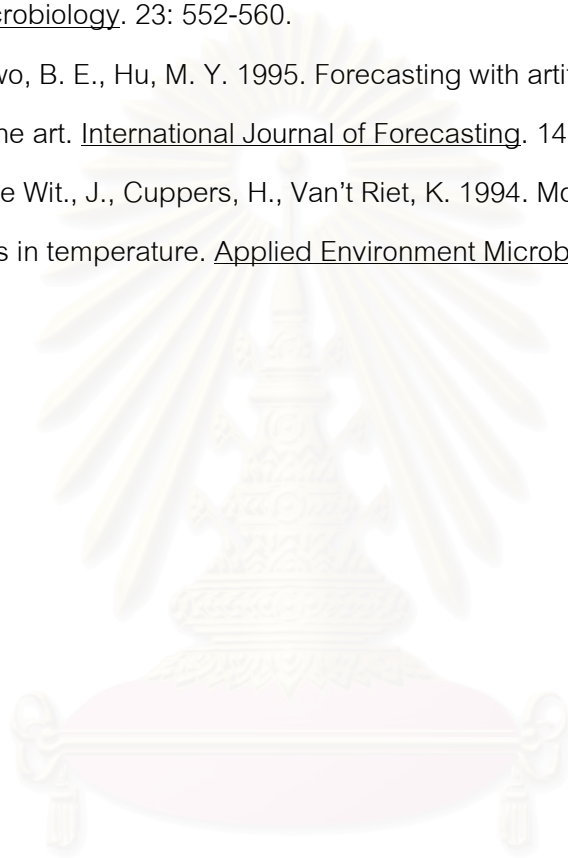
in *Escherichia coli* isolated from patients with diarrhea. Infection Immunology. 62: 2917-2929.

Yang, S. X. 2003. A neural network model for dose-response of foodborne pathogens. Applied Soft Computing. 3: 85-96.

Yu, C., Davidson, V. J., Yang, S. X. 2006. A neural network approach to predict survival/death and growth/no-growth interfaces for *Escherichia coli* O157:H7. Food Microbiology. 23: 552-560.

Zhang, G., Patuwo, B. E., Hu, M. Y. 1995. Forecasting with artificial neural network: The state of the art. International Journal of Forecasting. 14: 35-62.

Zwietering, M., de Wit., J., Cuppers, H., Van't Riet, K. 1994. Modeling of bacterial growth with shifts in temperature. Applied Environment Microbiology. 60: 204-213.



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**ภาคผนวก ก**  
**วิธีการวิเคราะห์**

**ก. การวิเคราะห์จุลินทรีย์ (US FDA, 2001b)**

**ก.1 การวิเคราะห์จุลินทรีย์โดยรวม (Total Plate Count; TPC)**

**อุปกรณ์และเครื่องมือ**

1. Autoclave (Hirayama ;HVE-50)
2. ตู้บ่มจุลินทรีย์ (Incubator; Memmert 600)
3. ช้อนตักสาร (Spatula)
4. กระจกตวงขนาด 100 และ 1,000 ml (Cylinders )
5. เข็มเหล็กปลายเข็มสำหรับเขี่ยจุลินทรีย์ (Needle)
6. เข็มเหล็กปลายกลมสำหรับเขี่ยจุลินทรีย์ (Loop)
7. ปิเปต ขนาด 1 5 และ 10 ml (Pipette)
8. ขวดรูปชมพู่ขนาด 500 ml (Erlenmeyer flask)
9. สำลี (Cotton)
10. กระดาษฟอล์ย (Foil)
11. จานเพาะจุลินทรีย์ (Petridish หรือ Plate)
12. ขวดสเปรย์แอลกอฮอล์ (Spray alcohol bottle)
13. ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Alcohol lemp)
14. ปากคีบ (Forceps)
15. กระจกน้ำกลั่น หรือ ขวดฉีดน้ำกลั่น (Distilled water inject bottle)
16. เครื่องผสมสารให้เป็นเนื้อเดียวกัน (Vortex, fuse-T)
17. Micro- pipette 1000 – 1 ไมโครลิตร (Mettler Toledo)
18. Sterilized plastic bag
19. ตู้ Microwave (Panasonic, NN-S215MF)
20. หลอดทดลอง (พร้อมฝาปิด)
21. Durham tube
22. หลอด UV ที่ให้ช่วงความยาวคลื่นแสง 366 นาโนเมตร (Merck, D64271)



### สารเคมี / อาหารวิเคราะห์จุลินทรีย์

1. Butterfield's phosphate buffered water ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$  pH 7.2; Merck)
2. Plate Count Agar (PCA; Merck)

### วิธีการเตรียมอาหารวิเคราะห์จุลินทรีย์

1. ชั่งอาหารวิเคราะห์จุลินทรีย์ผง PCA 22.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 ml ( หรือ 6.75 กรัมต่อน้ำ 300 ml ) แบ่งใส่ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 500 ml แล้วปิดจุกด้วยสำลี (อย่าปิดฟอลด์)
2. เขย่าเพื่อละลายอาหารวิเคราะห์จุลินทรีย์ผงจนกระทั่งละลายหมดจึงนำเข้าตู้ Microwave เพื่อทำให้อุ่นในอาหารวิเคราะห์จุลินทรีย์ละลายจนใส นำออกมาจากตู้ และปิดด้วยกระดาษฟอลด์ทับอีกครั้งก่อนนำเข้าเครื่อง Autoclave
3. นำเข้าเครื่อง Autoclave ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ( $\text{lb/in.}^2$ ) เป็นเวลา 15 นาที (เพื่อ Sterilized อาหารเลี้ยงจุลินทรีย์)
4. ควบคุมเวลานำออกมาตั้งทิ้งไว้ให้อุ่นตัว อุณหภูมิประมาณ  $40 - 45^\circ\text{C}$  ก่อนเทลงจานอาหารเลี้ยงจุลินทรีย์ (Plate)

### วิธีการวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่าง  $25 \pm 1$  กรัม ใส่ใน Sterilized plastic bag
2. ใส่ Buffer 225 ml และเขย่า ถู ขัดที่ บริเวณผิวของตัวอย่างจนทั่ว เป็นเวลา 2-3 นาที ปิเปตสารละลายจากถุงจะได้เป็นสารละลายตัวอย่างที่มีความเจือจางเป็น  $10^{-1}$
3. ทำ dilution โดยการ ปิเปตส่วนที่เป็น สารละลายจากข้อ 2 ใส่ในหลอดทดลองที่บรรจุ Buffer (Sterilized) 9 ml จนได้ระดับความเจือจางที่ต้องการ (เช่น  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  เป็นต้น) โดยทุกครั้งที่ทำการเจือจางสารละลายจะต้องปั่นสารละลายในหลอดให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่อง Vortex
4. ปิเปตระดับความเจือจางของตัวอย่างที่ต้องการ 1 ml ใส่ลงใน Plate (ทำ 2 ซ้ำ ภายใต้ laminar hood ที่ปราศจากจุลินทรีย์)
5. เมื่ออุณหภูมิของอาหารสำหรับวิเคราะห์จุลินทรีย์อุ่นตัว จึงเทอาหารใส่ลงใน plate และวน plate จนอาหารและตัวอย่างกระจายทั่วถึงกัน และตั้งทิ้งไว้อาหารแข็งตัว (ประมาณ  $\frac{1}{2}$  ชั่วโมง)
6. นำเข้าตู้บ่มจุลินทรีย์ โดยบ่มที่อุณหภูมิ  $35 \pm 1^\circ\text{C}$  เป็นเวลา 48 ชั่วโมงก่อนอ่านผล

7. เมื่อครบ 48 ชั่วโมงจึงรายงานผลจุลินทรีย์โดยรวมโดยตรวจนับ colony ที่ขึ้นบนอาหาร วิเคราะห์จุลินทรีย์ และรายงานผลโดยคำนวณปริมาณจุลินทรีย์ดังนี้

$$\text{จำนวนจุลินทรีย์โดยรวม (Total Microorganism)} = \frac{\text{จำนวน colony ที่นับได้}}{\text{ระดับความเจือจาง}}$$

โดยผลที่ได้รายงานเป็น Colony forming unit / gram (cfu / g)

### ก.2 การวิเคราะห์จุลินทรีย์กลุ่ม Coliforms

#### อุปกรณ์และเครื่องมือ

ดังข้อ ก. 1

#### สารเคมี / อาหารวิเคราะห์จุลินทรีย์

1. Butterfield's phosphate buffered water ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$  pH 7.2; Merck)
2. Lauryl sulfate broth (Merck)
3. Brilliant Green Lactose Bile broth (BGLB; Oxoid)
4. Violet Red Bile Agar (VRBA; Oxoid)

#### วิธีการเตรียมอาหารวิเคราะห์จุลินทรีย์ และการวิเคราะห์

##### A. สำหรับการวิเคราะห์ผลแบบ MPN (Most Probability Number)

##### การเตรียม Lauryl sulfate broth (Merck)

1. ชั่งอาหารวิเคราะห์จุลินทรีย์ Lauryl sulfate broth 35.6 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ใส่ลงใน Beaker แล้วคนให้ละลาย
2. เมื่ออาหารวิเคราะห์จุลินทรีย์ละลายหมดจึงนำเข้าตู้ Microwave เพื่อทำให้อาหาร วิเคราะห์จุลินทรีย์ละลายจนหมด(ใส) นำออกมาจากตู้
3. นำหลอดทดลองมาใส่ durham tube ก่อน ปิดสารละลายในข้อ 2. ใส่ โดยใส่หลอด ทดลอง หลอดละ 9 ml เมื่อครบจำนวนที่ต้องการแล้วปิดฝา
4. นำเข้าเครื่อง Autoclave ที่ความดัน  $15 \text{ lb/in.}^2$  เป็นเวลา 15 นาที (เพื่อ Sterilized อาหารเลี้ยงจุลินทรีย์)
5. ครบเวลานำออกมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็นตัวก่อน ปิดต้วอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ให้ลงไป

##### การเตรียม Brilliant Green Lactose Bile broth (BGLB; Oxoid)

1. ชั่งอาหารวิเคราะห์จุลินทรีย์ BGLB 40 กรัม และละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ใส่ลงใน Beaker และปฏิบัติตามการเตรียม Lauryl sulfate broth ข้อ 2-5

#### วิธีการวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่าง 25 ± 1 กรัม ใส่ใน Sterilized plastic bag
2. ใส่ Buffer 225 ml และเขย่า ๓ นาที บริเวณผิวของตัวอย่างจนทั่ว เป็นเวลานาน 2 - 3 นาที ปิเปิดสารละลายนั้นจะได้เป็นสารละลายตัวอย่างที่มีความเจือจางเป็น 10<sup>-1</sup>
3. ทำ dilution โดยการ ปิเปิดส่วนที่เป็น สารละลายจากข้อ 2 ใส่ในหลอดทดลองที่บรรจุ Buffer (Sterilized) 9 ml จนได้ระดับความเจือจางที่ต้องการ (เช่น 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup> เป็นต้น) โดยทุกครั้งที่ทำ การเจือจางสารละลายจะต้องปั่นสารละลายในหลอดให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่อง Vortex
4. ปิเปิดระดับความเจือจางของตัวอย่างที่ต้องการ 1 ml ใส่ลงในหลอดที่มี Lauryl sulfate broth อยู่ในหลอดแล้ว (ทำภายใต้ laminar hood ที่ปราศจากจุลินทรีย์)
5. นำเข้าตูบ่มจุลินทรีย์ โดยบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 1 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมงก่อนอ่านผล
6. เมื่อครบ 48 ชั่วโมงตรวจดูหลอดทดลองที่เกิดฟองก๊าซใน durham tube (positive)
7. ทำการวิเคราะห์ต่อเพื่อยืนยันผล (Confirmed test) โดยนำ loop มาเผาไฟก่อน inoculate ลงไปในหลอดทดลองที่ positive แล้วใส่ลงไปในหลอดที่มี BGLB อยู่
8. นำเข้าตูบ่มจุลินทรีย์ โดยบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 1 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมงก่อนอ่านผล
9. เมื่อครบ 48 ชั่วโมงตรวจดูหลอดทดลองที่เกิดฟองก๊าซใน durham tube (positive) แล้วจึงอ่านเทียบผลจากตารางที่ MPN (US FDA, 2001b)

#### B. สำหรับการวิเคราะห์ผลแบบ Colony Forming Unit

##### การเตรียม Violet Red Bile Agar (VRBA; Oxoid)

1. ชั่งอาหารวิเคราะห์จุลินทรีย์ VRBA 38.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร (หรือ 11.55 ต่อน้ำกลั่น 300 ml) ใส่ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 500 ml แล้วปิดจุกด้วยสำลี (อย่าปิดฟอลล์)
2. เขย่าเพื่อละลายอาหารวิเคราะห์จุลินทรีย์ผงจนกระทั่งละลายหมดจึงนำเข้าตู้ Microwave เพื่อทำให้อุ่นในอาหารวิเคราะห์จุลินทรีย์ละลายจนเดือด
3. นำ VRBA ที่เดือดแล้วออกมาตั้งทิ้งไว้ให้อุ่นตัว อุณหภูมิประมาณ 40 – 45 °C ก่อนเทลงจานอาหารเลี้ยงจุลินทรีย์ (Plate)

#### วิธีการวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่าง 25 ± 1 กรัม ใส่ใน Sterilized plastic bag

2. ใส่ Buffer 225 ml และเขย่า ๓ นาที บริเวณผิวของตัวอย่างจนทั่ว 2-3 นาที ปิเปตสารละลายนั้นจะได้เป็นสารละลายตัวอย่างที่มีความเจือจางเป็น  $10^{-1}$
  3. ทำ dilution โดยการ ปิเปตส่วนที่เป็น สารละลายจากข้อ 2 ใส่ในหลอดทดลองที่บรรจุ Buffer (Sterilized) 9 ml จนได้ระดับความเจือจางที่ต้องการ (เช่น  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  เป็นต้น) โดยทุกครั้งที่ทำการเจือจางสารละลายจะต้องปั่นสารละลายในหลอดให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่อง Vortex
  4. ปิเปตระดับความเจือจางของตัวอย่างที่ต้องการ 1 ml ใส่ลงใน Plate (ทำภายใต้ laminar hood ที่ปราศจากจุลินทรีย์)
  5. เมื่ออุณหภูมิของอาหารสำหรับวิเคราะห์จุลินทรีย์อุ่นตัว จึงเทอาหารใส่ลงใน plate และวน plate จนอาหารและตัวอย่างกระจายทั่วถึงกัน และตั้งทิ้งไว้ให้อาหารแข็งตัว (ประมาณ ½ ชั่วโมง)
  6. นำเข้าตู้บ่มจุลินทรีย์ โดยบ่มที่อุณหภูมิ  $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 48 ชั่วโมงก่อนอ่านผล
  7. เมื่อครบ 48 ชั่วโมงจึงตรวจผลจุลินทรีย์ โดยตรวจนับ colony ที่ขึ้นบนอาหารที่มีลักษณะสีแดง-ชมพู ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร จากนั้นทำการยืนยันผลต่อ
  8. ทำการวิเคราะห์ต่อเพื่อยืนยันผล (Confirmed test) โดยนำ needle มาเผาไฟก่อน inoculate ลงไปตรง colony ที่สุ่ม (สุ่มอย่างน้อย 10 colony)
  9. inoculate colony ที่สุ่ม (ลักษณะดังอธิบายในข้อ 7) ใส่ลงในหลอดทดลองที่มี BGLB อยู่ (โดย 1 colony ที่สุ่ม ต่อ 1 หลอด BGLB) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ  $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 48 ชั่วโมงก่อนอ่านผลโดยตรวจดูฟองก๊าซใน durham tube (positive) และนับหลอดที่มีฟองก๊าซอยู่
- รายงานผลโดยคำนวณปริมาณจุลินทรีย์ดังนี้

$$\text{จำนวนจุลินทรีย์กลุ่ม Coliform} = \left( \frac{\text{จำนวน colony ที่นับได้}}{\text{ระดับความเจือจาง}} \right) \times \left( \frac{\text{จำนวนหลอดที่ Positive}}{\text{จำนวนหลอดที่สุ่ม}} \right)$$

โดยผลที่ได้รายงานเป็น cfu/g

### ก.3 การวิเคราะห์จุลินทรีย์ *E. coli*

#### อุปกรณ์และเครื่องมือ

ดังข้อ ก.1

#### สารเคมี / อาหารวิเคราะห์จุลินทรีย์

1. Butterfield's phosphate buffered water ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$  pH 7.2; Merck)
2. Lauryl sulfate broth (Merck)
3. Brilliant Green Lactose Bile broth (BGLB; Oxoid)
4. *Escherichia coli* broth (EC broth; Merck)
5. Eosin Methylene Blue agar (EMB; Merck)
6. Violet Red Bile Agar with 4-methyl-umbelliferyl- $\beta$ -D-glucuronide (VRBA-MUG; Oxoid)

### วิธีการเตรียมอาหารวิเคราะห์จุลินทรีย์ และการวิเคราะห์

#### A. สำหรับการวิเคราะห์ผลแบบ MPN (Most Probability Number)

##### การเตรียม Lauryl sulfate broth (Merck)

ตั้งชื่อ ก.1

##### การเตรียม *Escherichia coli* broth (EC broth; Merck) และ Eosin Methylene Blue agar (EMB; Merck)

1. ชั่งอาหารวิเคราะห์จุลินทรีย์ EC broth 37 กรัม และละลายในน้ำกลั่น ปริมาตร 1 ลิตร ใส่ลงใน Beaker และปฏิบัติตามวิธีการเตรียม Lauryl sulfate broth ชื่อ 2-5
2. ชั่งอาหารวิเคราะห์จุลินทรีย์ EMB 36 กรัม และละลายในน้ำกลั่น ปริมาตร 1 ลิตร ใส่ลงใน flask และปฏิบัติตามวิธีการเตรียม Lauryl sulfate broth ชื่อ 2-5

### วิธีการวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่าง  $25 \pm 1$  กรัม ใส่ใน Sterilized plastic bag
2. ใส่ Buffer 225 ml และเขย่า ถู ชัดที่ บริเวณผิวของตัวอย่างจนทั่วเป็นเวลา 2-3 นาที ปิเปตสารละลายนั้นจะได้เป็นสารละลายตัวอย่างที่มีความเจือจางเป็น  $10^{-1}$
3. ทำ dilution โดยการ ปิเปตส่วนที่เป็น สารละลายจากข้อ 2 ใส่ในหลอดทดลองที่บรรจุ Buffer (Sterilized) 9 ml จนได้ระดับความเจือจางที่ต้องการ (เช่น  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  เป็นต้น) โดยทุกครั้งที่ทำ การเจือจางสารละลายจะต้องปั่นสารละลายในหลอดให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่อง Vortex
4. ปิเปตระดับความเจือจางของตัวอย่างที่ต้องการ 1 ml ใส่ลงในหลอดที่มี Lauryl sulfate broth อยู่ในหลอดแล้ว (ทำภายใต้ laminar hood ที่ปราศจากจุลินทรีย์)
5. นำเข้าตู้บ่มจุลินทรีย์ โดยบ่มที่อุณหภูมิ  $35 \pm 1$  °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมงก่อนอ่านผล
6. เมื่อครบ 48 ชั่วโมงตรวจดูหลอดทดลองที่เกิดฟองก๊าซใน durham tube (positive)
7. ทำการวิเคราะห์ต่อเพื่อยืนยันผล (Confirmed test) โดยนำ loop มาเผาไฟก่อน inoculate ลงไปในหลอดทดลองที่ positive แล้วใส่ลงไปในหลอดที่มี EC broth อยู่



8. นำไปบ่มใน Water bath โดยบ่มที่อุณหภูมิ  $44.5 \pm 0.5$  °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมงก่อนอ่านผล
9. เมื่อครบ 48 ชั่วโมงตรวจดูหลอดทดลองที่เกิดฟองก๊าซใน durham tube (positive) แล้วจึงอ่านเทียบผลจากตารางที่ MPN
10. นำหลอด EC broth ที่ให้ผล positive ไปทดสอบกับ EMB โดย Sterilized loop (เผาไฟจนร้อนแดง) ก่อน inoculate ลงไปในหลอด EC broth ที่ให้ผลทดสอบ positive แล้วจึง Streak ลงไปบน EMB บ่มที่  $37 \pm 1$  °C 24-48 ชั่วโมงแล้วตรวจการเกิด Metallic sheen บน EMB จึง confirm ผลที่อ่านได้จากตารางที่ MPN (US FDA, 2001b)

#### B. สำหรับการวิเคราะห์ผลแบบ Colony Forming Unit

การเตรียม Violet Red Bile Agar with 4-methyl-umbelliferyl- $\beta$ -D-glucuronide (VRBA-MUG; Oxoid)

1. ชั่งอาหารวิเคราะห์จุลินทรีย์ผง VRBA with MUG 38.6 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร (หรือ 10.68 กรัมละลายในน้ำกลั่น 300 ml) ใส่ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 500 ml แล้วปิดจุกด้วยสำลี (อย่าปิดฟอลด์)
2. เขย่าเพื่อละลายอาหารวิเคราะห์จุลินทรีย์ผงจนกระทั่งละลายหมดจึงนำเข้าตู้ Microwave เพื่อทำให้ร้อนในอาหารวิเคราะห์จุลินทรีย์ละลายจนเดือด
3. นำ VRBA-MUG ที่เดือดแล้วออกมาตั้งทิ้งไว้ให้อุ่นตัว อุณหภูมิประมาณ  $40 - 45$  °C ก่อนเทลงจานอาหารเลี้ยงจุลินทรีย์ (Plate)

#### วิธีการวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่าง  $25 \pm 1$  กรัม ใส่ใน Sterilized plastic bag
2. ใส่ Buffer 225 ml และเขย่า ถู ชัดที่ บริเวณผิวของตัวอย่างจนทั่วนาน 2-3 นาที ปิเปตสารละลายดังกล่าวจะได้เป็นสารละลายตัวอย่างที่มีความเจือจางเป็น  $10^{-1}$
3. ทำ dilution โดยการ ปิเปตส่วนที่เป็น สารละลายจากข้อ 2 ใส่ในหลอดทดลองที่บรรจุ Buffer (Sterilized) 9 ml จนได้ระดับความเจือจางที่ต้องการ (เช่น  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  เป็นต้น) โดยทุกครั้งที่ทำการเจือจางสารละลายจะต้องปั่นสารละลายในหลอดให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่อง Vortex
4. ปิเปตระดับความเจือจางของตัวอย่างที่ต้องการ 1 ml ใส่ลงใน Plate (ทำภายใต้ laminar hood ที่ปราศจากจุลินทรีย์)

5. เมื่ออุณหภูมิของอาหารสำหรับวิเคราะห์จุลินทรีย์อุณหภูมิตัว จึงเทอาหารใส่ลงใน plate และ  
วน plate จนอาหารและตัวอย่างกระจายทั่วถึงกัน และตั้งทิ้งไว้อาหารแข็งตัว  
(ประมาณ 1/2 ชั่วโมง)
6. นำเข้าตู้บ่มจุลินทรีย์ โดยบ่มที่อุณหภูมิ  $35 \pm 1$  °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมงก่อนอ่านผล
7. เมื่อครบ 48 ชั่วโมงจึงตรวจผลจุลินทรีย์ โดยตรวจนับ colony ที่เรืองแสงภายใต้หลอด  
UV ช่วงความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร

$$\text{จำนวนจุลินทรีย์กลุ่ม } E. coli = \left( \frac{\text{จำนวน colony ที่เรืองแสง}}{\text{ระดับความเจือจาง}} \right)$$

โดยผลที่ได้รายงานเป็น cfu/g

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ภาคผนวก ข

### วิธีการเตรียมอาหารวิเคราะห์จุลินทรีย์

#### ข.1 การเตรียม Nutrient Agar (NA)

##### อุปกรณ์และเครื่องมือ

ตั้งภาคผนวก ก.1

##### สารเคมี / อาหารวิเคราะห์จุลินทรีย์

1. Nutrient agar

##### วิธีการเตรียม

1. ชั่งอาหาร NA 20 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร (หรือ 6 กรัมละลายในน้ำกลั่น 300 ml) ใส่ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 500 ml แล้วปิดจุกด้วยสำลี (อย่าปิดฟอลด์)
2. เขย่าเพื่อละลายอาหารวิเคราะห์จุลินทรีย์ผงจนกระทั่งละลายหมดจึงนำเข้าตู้ Microwave เพื่อทำให้ร้อนในอาหารวิเคราะห์จุลินทรีย์ละลายจนใส
3. นำเข้าเครื่อง Autoclave ที่ความดัน 15 lb/in.<sup>2</sup> เป็นเวลา 15 นาที (เพื่อ Sterilized อาหารเลี้ยงจุลินทรีย์)
4. เมื่อครบเวลานำออกมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็นลงเล็กน้อย ปิด NA ที่ละลายอยู่ในหลอด ทดลอง และรอให้เย็นตัวอีกครั้ง จนกระทั่งอุณหภูมิประมาณ 40 – 45 °C จึงเอียงหลอดให้ได้ลักษณะเฉียง (ทำภายใน hood laminar flow)
5. รวจนอาหารแข็งตัวจึงเก็บไว้เป็น NA slant เพื่อใช้ในการเก็บจุลินทรีย์ต่อไป

#### ข.2 การเตรียม Butterfield's phosphate buffered water (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> pH 7.2; Merck)

##### อุปกรณ์และเครื่องมือ

ตั้งภาคผนวก ก.1

##### สารเคมี / อาหารวิเคราะห์จุลินทรีย์

1. KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>
2. น้ำกลั่น

##### วิธีการเตรียม

1. ชั่งสารเคมี KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 34 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 500 ml วัด pH และปรับ pH ให้ได้เป็น 7.1-7.2 โดยใช้ NaOH เป็นตัวปรับ (ใช้ประมาณ 175 ml) จากนั้นเติมน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 ml ในขวดปรับปริมาตร (สำหรับเป็น Stock Solution)

2. แบ่งสารละลายจากข้อ 1. นำเข้าเครื่อง Autoclave ที่ความดัน 15 lb/inch.<sup>2</sup> เป็นเวลา 15 นาที (เพื่อ Sterilized จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมาให้หมดไป)
3. เมื่อใช้งาน จึงปิเปตสารละลายจากข้อ 2. มา 1.25 ml เติมน้ำให้ได้ปริมาตร 1,000 ml จะได้เป็น สารละลาย Buffer สำหรับใช้ในการวิเคราะห์จุลินทรีย์ต่อไป โดยก่อนใช้งาน จะต้อง Sterilized อีกครั้ง

### ข.3 การเตรียม Tryptic Soy Broth (TSB)

#### อุปกรณ์และเครื่องมือ

ดั่งภาคผนวก ก.1

#### สารเคมี / อาหารวิเคราะห์จุลินทรีย์

1. Tryptic Soy Broth (TSB; Oxoid)

#### วิธีการเตรียม

1. ชั่งอาหารวิเคราะห์จุลินทรีย์ผง TSB 30 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร (หรือ 9 กรัม ละลายน้ำกลั่น 300 ml) ใส่ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 500 ml แล้วปิดจุกด้วยสำลี (อย่าปิดฟอล์ย)
2. เขย่าเพื่อละลายอาหารวิเคราะห์จุลินทรีย์ผงจนกระทั่งละลายหมดจึงนำเข้าตู้ Microwave เพื่อทำให้อาหารวิเคราะห์จุลินทรีย์ละลายจนใส
3. อาจแบ่งตัวอย่างเป็นขวดหรือ flask เล็กๆ ขนาดประมาณ 50 ml ก่อนนำเข้าเครื่อง Autoclave ที่ความดัน 15 lb/in.<sup>2</sup> เป็นเวลา 15 นาที (เพื่อ Sterilized อาหารเลี้ยงจุลินทรีย์)
4. นำออกมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็นตัวก่อน inoculation จุลินทรีย์ลงไป

### ข.4 การเตรียม Peptone water

#### อุปกรณ์และเครื่องมือ

ดั่งภาคผนวก ก.1

#### สารเคมี / อาหารวิเคราะห์จุลินทรีย์

1. Peptone water (Merck)

#### วิธีการเตรียม

1. ชั่งอาหารวิเคราะห์จุลินทรีย์ผง Peptone 25.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร (หรือ 7.65 กรัมละลายในน้ำกลั่น 300 ml) ใส่ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 500 ml แล้วปิดจุกด้วยสำลี (อย่าปิดฟอล์ย)

2. เขย่าเพื่อละลายอาหารวิเคราะห์จุลินทรีย์ผงจนกระทั่งละลายหมดจึงนำเข้าตู้ Microwave เพื่อทำให้อาหารวิเคราะห์จุลินทรีย์ละลายจนใส
3. นำเข้าเครื่อง Autoclave ที่ความดัน 15 lb/in.<sup>2</sup> เป็นเวลา 15 นาที (เพื่อ Sterilized อาหารเลี้ยงจุลินทรีย์)
4. นำออกมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็นตัวก่อนใช้เป็นตัวเจือจางเพื่อ inoculation จุลินทรีย์ลงไปบน ตัวอย่างที่ต้องการศึกษา



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## ภาคผนวก ค

### วิธีการเตรียมสารเคมี

#### ค.1 การเตรียม คลอรีน

##### อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. กาละมัง

##### สารเคมี / อาหารวิเคราะห์จุลินทรีย์

1. น้ำประปา (ผลวิเคราะห์ค่าทางเคมีและจุลินทรีย์ แสดงดัง ภาคผนวก ง.)
2. Sodiumhypochlorite (จากบริษัท วิทยาศาสตร์โดยมีองค์ประกอบคือ Chlorine น้ำความเข้มข้น 10%)

##### วิธีการเตรียม (เตรียมความเข้มข้น 25 50 และ 75 มิลลิกรัมต่อลิตร(ppm))

1. คำนวณปริมาณคลอรีนที่ต้องการโดย 10% (w/w)คลอรีนคิดเป็น 100,000 ppm ดังนั้นจึงคำนวณตามสูตร

$$C_1V_1 = C_2V_2 \quad (\text{สำราญ, 2526})$$

จึงได้ว่า

$$100,000 \times V_1 = 25 \times 500$$

$$V_1 = 0.125 \text{ ml}$$

ดังนั้นปิเปต Sodiumhypochlorite (10% Chlorine) มา 0.125 ml ในการคำนวณลักษณะเดียวกันนี้จะได้ปริมาตรที่ต้องปิเปตมาใช้คือ

$$50 \text{ ppm} = 0.250 \text{ ml}$$

$$75 \text{ ppm} = 0.375 \text{ ml}$$

2. ปิเปตคลอรีนปริมาตรที่ต้องการแล้วเติมน้ำให้ได้ปริมาตร 500 ml
3. ถ่ายใส่กะละมังแล้วรีบนำฝักมาแช่

#### ค.2 การเตรียม กรดเปอร์อะซิติก

##### อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. กะละมัง

##### สารเคมี / อาหารวิเคราะห์จุลินทรีย์

1. น้ำประปา (ผลวิเคราะห์ค่าทางเคมีและจุลินทรีย์ แสดงดัง ภาคผนวก ง.)
2. Peracetic acid (จาก บริษัท พรีเมาเทค มีองค์ประกอบคือ กรดเปอร์อะซิติก 5%, ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 20% และ กรดอะซิติก 10%)

วิธีการเตรียม (เตรียมความเข้มข้น 30 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร(ppm))

1. คำนวณปริมาณกรดเปอร์อะซิติกที่ต้องการโดย 5%(w/w) กรดเปอร์อะซิติก คิดเป็น 50,000 ppm ดังนั้นจึงคำนวณตามสูตร

$$C_1V_1 = C_2V_2 \quad (\text{สำราญ, 2526})$$

จึงได้ว่า

$$50,000 \times V_1 = 30 \times 500$$

$$V_1 = 0.3 \text{ ml}$$

ดังนั้นปิเปตสารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติก(5% peracetic acid) มา 0.3 ml  
ในการคำนวณลักษณะเดียวกันนี้จะได้ปริมาตรที่ต้องปิเปตมาใช้คือ

$$40 \text{ ppm} = 0.4 \text{ ml}$$

$$50 \text{ ppm} = 0.5 \text{ ml}$$

2. ปิเปตสารฆ่าเชื้อเปอร์ซอร์ชาเนียตามปริมาตรที่ต้องการแล้วเติมน้ำให้ได้ปริมาตร 500 ml
3. ถ่ายใส่กะละมังแล้วรีบนำผ้ามาแช่

## ภาคผนวก ง.

## วิธีการคำนวณราคาค่าใช้จ่ายของสารฆ่าเชื้อในการล้างผัก

## ง.1 สารฆ่าเชื้อประเภท คลอรีน (Sodium hypochlorite)

Basis : ราคา 48.75 บาท ต่อ ลิตร (ราคาสอบถามเมื่อวันที่ 12 / 7 / 2550)

สารละลาย 500 ml ล้างผักได้ 50 กรัม (ควรใช้ครั้งเดียวเนื่องจากความเข้มข้นจะลดลงตามปริมาณของสารอินทรีย์ที่อยู่บนใบผักและผลไม้)

ตัวอย่างการคำนวณ

ราคาสารฆ่าเชื้อ = 0.04875 บาท ต่อ มิลลิลิตร

ถ้าล้างผักด้วยสารฆ่าเชื้อคลอรีนที่ความเข้มข้น 25 ppm ต้องใช้ สารละลาย 10% คลอรีน 0.125 ml (จากภาคผนวก ค.)

ดังนั้นคิดเป็นเงิน = 0.04875 x 0.125  
= 0.000609375 บาทต่อผัก 50 กรัม

ถ้าต้องการล้างผัก 1 กิโลกรัม ด้วยสารฆ่าเชื้อคลอรีน 25 ppm จะคิดเป็นเงิน

=  $\frac{0.000609375 \times 1,000}{50}$   
= 0.1219 บาท

ตารางที่ ง.1 เปรียบเทียบราคาในการใช้สารฆ่าเชื้อคลอรีนที่ระดับความเข้มข้น 25 50 และ 75 ppm ต่อการล้างผักปริมาณ 1 กิโลกรัม (หน่วย : บาท)

ประเภทสารฆ่าเชื้อ	ระดับความเข้มข้น (ppm)		
	25	50	75
ราคา (บาท)	0.1219	0.2437	0.3656

## ง.2 สารฆ่าเชื้อประเภท กรดเปอร์อะซิติก (Pexania 2005)

Basis : ราคา 100 บาท ต่อ ลิตร (ราคาสอบถามเมื่อวันที่ 12 / 7 / 2550)

สารละลาย 500 ml ล้างผักได้ 50 กรัม

### ตัวอย่างการคำนวณ

ราคาสารฆ่าเชื้อ = 0.10 บาท ต่อ มิลลิลิตร

ถ้าล้างผักด้วยสารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติกที่ความเข้มข้น 30 ppm ต้องใช้ สารละลาย

Pexania 2005 0.3 ml (จากภาคผนวก ค.)

ดังนั้นคิดเป็นเงิน = 0.10 x 0.3

= 0.03 บาทต่อผัก 50 กรัม

ถ้าต้องการล้างผัก 1 กิโลกรัม ด้วยสารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติก 30 ppm จะคิดเป็นเงิน

=  $\frac{0.03 \times 1,000}{50}$

50

= 0.6 บาท

ตารางที่ ง.2 เปรียบเทียบราคาในการใช้สารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติกที่ระดับความเข้มข้น 30 40 และ 50 ppm ต่อการล้างผักปริมาณ 1 กิโลกรัม (หน่วย : บาท)

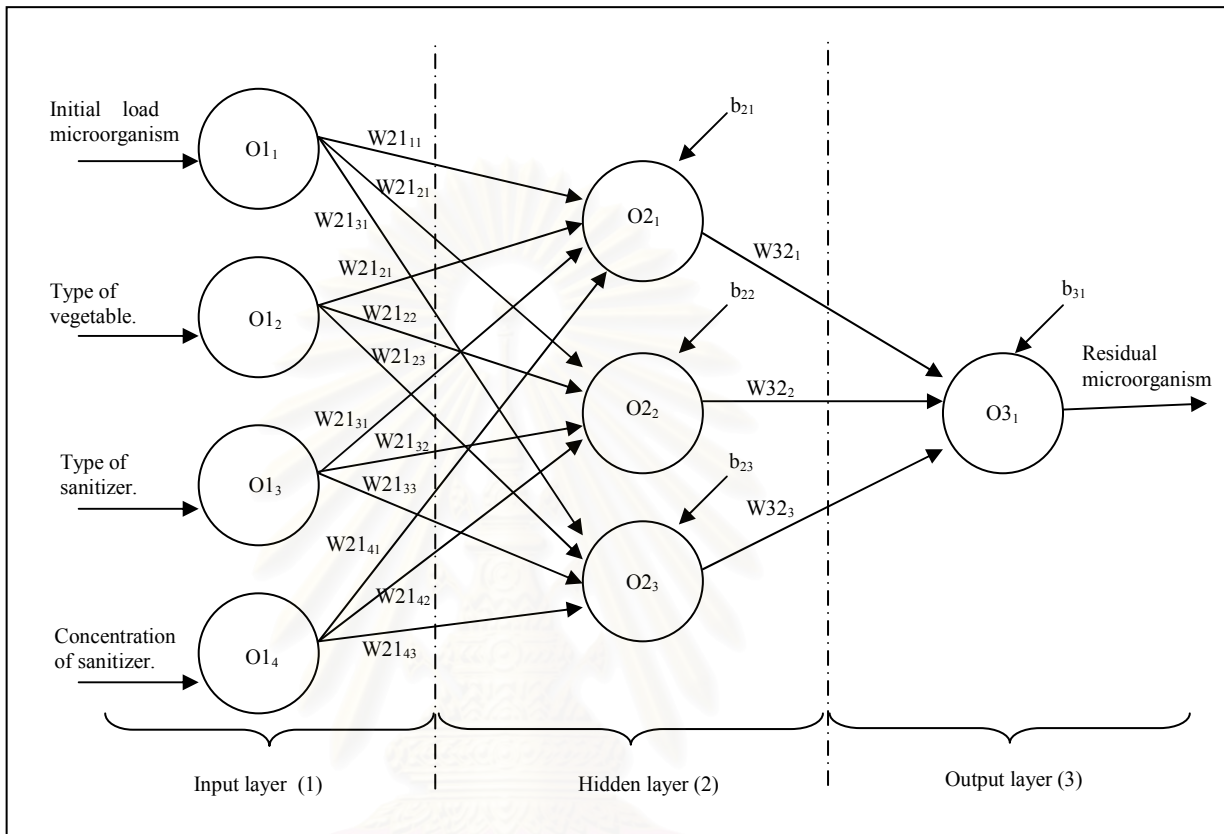
ประเภทสารฆ่าเชื้อ	ระดับความเข้มข้น (ppm)		
	30	40	50
ราคา (บาท)	0.6	0.8	1.0

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก จ.

ตัวอย่างของระบบข่ายงานประสาทเทียม

ตัวอย่างการสร้างระบบของ ANNs



รูปที่ จ.1 ตัวอย่างการสร้างระบบข่ายงานประสาทเทียม

$$O_{2j} = [ \sum (W_{21_{jk}} \cdot O_{1_k}) ] + b_{2j}$$

$$O_{2_1} = [W_{21_{11}} \cdot O_{1_1} + W_{21_{12}} \cdot O_{1_2} + W_{21_{13}} \cdot O_{1_3} + W_{21_{14}} \cdot O_{1_4}] + b_{21}$$

$$O_{2_2} = [W_{21_{21}} \cdot O_{1_1} + W_{21_{22}} \cdot O_{1_2} + W_{21_{23}} \cdot O_{1_3} + W_{21_{24}} \cdot O_{1_4}] + b_{22}$$

$$O_{2_3} = [W_{21_{31}} \cdot O_{1_1} + W_{21_{32}} \cdot O_{1_2} + W_{21_{33}} \cdot O_{1_3} + W_{21_{34}} \cdot O_{1_4}] + b_{23}$$

จากนั้น นำ Summation เหล่านี้ไปผ่าน Transfer function ใน Hidden layer ในกรณีนี้ tanh มีลักษณะ Function เป็น

$$f(x) = \frac{[e^{(x)} + e^{(-x)}]}{[e^{(x)} - e^{(-x)}]}$$

สามารถเขียนได้คือ  $f(O_{2_1}) = \frac{[e^{(O_{2_1})} + e^{(-O_{2_1})}]}{[e^{(O_{2_1})} - e^{(-O_{2_1})}]}$



$$f(O_{2_2}) = \frac{[e^{(O_{2_2})} + e^{-(O_{2_2})}]}{[e^{(O_{2_2})} - e^{-(O_{2_2})}]}$$

$$f(O_{2_3}) = \frac{[e^{(O_{2_3})} + e^{-(O_{2_3})}]}{[e^{(O_{2_3})} - e^{-(O_{2_3})}]}$$

แล้วจึงส่งต่อไปยัง summation ในส่วนของ Output

$$O_{3_j} = [\sum (W_{3j} \cdot f(O_{2_j}))] + b_{3j}$$

$$O_{3_1} = [W_{31} \cdot f(O_{2_1}) + W_{32} \cdot f(O_{2_2}) + W_{33} \cdot f(O_{2_3})] + b_{31}$$

จากนั้น นำ Summation เหล่านี้ไปผ่าน Transfer function ใน Output layer ในกรณี linear มีลักษณะ Function เป็น

$$f(x) = x$$

สามารถเขียนได้คือ  $f(O_{3_1}) = O_{3_1}$

## ภาคผนวก จ.

### การจัดการข้อมูลและการเขียนโปรแกรมสำหรับระบบข่ายงานประสาทเทียม

#### วิธีการใช้โปรแกรมสำเร็จรูป MATLAB ในการสร้างระบบ Artificial Neural Networks (ANNs)

หลักการ การเตรียมตัวเขียนโปรแกรม ANNs นั้นต้องประกอบด้วย 2 ส่วนหลักๆ คือ

1. การเตรียมข้อมูล – เป็นการเตรียมข้อมูลสำหรับการใช้ Run ในโปรแกรม โดยสามารถจัดการข้อมูลใน Excel แล้ว Implied ลงใน Notepads เพื่อใช้ประกอบการ Run ANNs
2. การเขียนโปรแกรมใน MATLAB – เป็นการเขียนเพื่อให้โปรแกรม Run ตาม สัดส่วน % Train , %Test, Activation function, Hidden node, Learning rate ที่เรากำหนดได้ โดยสามารถอธิบายรายละเอียดได้ดังต่อไปนี้

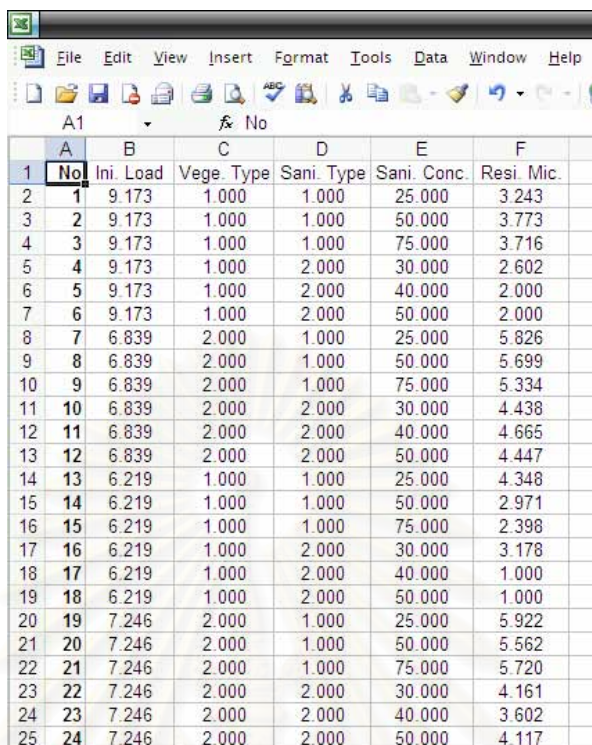
#### จ. 1 การเตรียมข้อมูล

ในการสร้างระบบ ANNs นั้นจำเป็นจะต้องเข้าใจระบบพื้นฐานของระบบก่อนเนื่องจาก ระบบ ANNs นั้นเป็นการจำลองแบบความคิดของสมองมนุษย์ให้สามารถที่จะมีการเรียนรู้ด้วยตัวเองดังนั้นโปรแกรมจะมีการปรับค่าสมการต่างๆ ด้วยตัวเองจนได้ผลลัพธ์ที่ใกล้เคียงกับความ ต้องการมากที่สุด ซึ่งเหมาะกับความสัมพันธ์แบบ non-linear ที่มีหลายๆ ตัวแปร แต่ต้องการ output เพียงหนึ่งหรือสองตัวเท่านั้นในกรณีศึกษานี้จะยกตัวอย่างการสร้างระบบ ANNs ของการทำนายการล้างผักของจุลินทรีย์กลุ่ม TPC โดยสามารถปฏิบัติได้ดังต่อไปนี้

1.1) หาความสัมพันธ์ในรูปแบบที่ต้องการ เช่น ในการทดลองของเราทั้งหมดมี ทั้งสิ้น 5 ปัจจัยและ 1 ผลลัพธ์ออกมาได้แก่ ประเภทผัก, ชนิดสารฆ่าเชื้อ, ความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ, ปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น และ ผลลัพธ์คือจุลินทรีย์สุดท้ายที่เหลือจากการล้างผัก ดังนั้นในการสร้างความสัมพันธ์จะเป็นลักษณะของ Function หรือความสัมพันธ์เชิงคณิตศาสตร์ เช่น  $y$  ขึ้นกับ ตัวแปรต่างๆ แต่ในกรณีนี้ เราต้องการสร้างความสัมพันธ์ในลักษณะของ

ผลลัพธ์ (จุลินทรีย์สุดท้าย) ขึ้นกับ {ตัวแปร(ปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น), ตัวแปร(ประเภทผัก),  
ตัวแปร(ชนิดสารฆ่าเชื้อ), ตัวแปร(ความเข้มข้นของ  
สารฆ่าเชื้อ)}

## 1.2) สร้างข้อมูลใน Excel แบบตัวอย่างนี้



	A	B	C	D	E	F
	No	Ini. Load	Vege. Type	Sani. Type	Sani. Conc.	Resi. Mic.
1	1	9.173	1.000	1.000	25.000	3.243
2	2	9.173	1.000	1.000	50.000	3.773
3	3	9.173	1.000	1.000	75.000	3.716
4	4	9.173	1.000	2.000	30.000	2.602
5	5	9.173	1.000	2.000	40.000	2.000
6	6	9.173	1.000	2.000	50.000	2.000
7	7	6.839	2.000	1.000	25.000	5.826
8	8	6.839	2.000	1.000	50.000	5.699
9	9	6.839	2.000	1.000	75.000	5.334
10	10	6.839	2.000	2.000	30.000	4.438
11	11	6.839	2.000	2.000	40.000	4.665
12	12	6.839	2.000	2.000	50.000	4.447
13	13	6.219	1.000	1.000	25.000	4.348
14	14	6.219	1.000	1.000	50.000	2.971
15	15	6.219	1.000	1.000	75.000	2.398
16	16	6.219	1.000	2.000	30.000	3.178
17	17	6.219	1.000	2.000	40.000	1.000
18	18	6.219	1.000	2.000	50.000	1.000
19	19	7.246	2.000	1.000	25.000	5.922
20	20	7.246	2.000	1.000	50.000	5.562
21	21	7.246	2.000	1.000	75.000	5.720
22	22	7.246	2.000	2.000	30.000	4.161
23	23	7.246	2.000	2.000	40.000	3.602
24	24	7.246	2.000	2.000	50.000	4.117

รูปที่ ๑. 1 ตัวอย่างการป้อนข้อมูลในโปรแกรม Excels

1.3) เนื่องจากในการป้อนข้อมูลเข้าระบบจำเป็นต้องมีการสุ่ม โดยการสุ่มสามารถทำได้ โดยการสร้างโปรแกรมให้ Run โดยสุ่มหรือสามารถ สุ่มได้โดยการสลับ Data ด้วยตัวเอง เช่น ในการ Run data ทั้งหมดที่ใช้มี 360 ข้อมูลเราต้องการแบ่ง % การ Train และ Test เป็น 70 : 30 ดังนั้นสัดส่วนข้อมูลที่เราต้องการที่จะใช้ในการ Train คือ 252 ข้อมูลและ ข้อมูลสำหรับการ Test คือ 108 ข้อมูล โดยทำการสุ่มให้ข้อมูลชุด Train มีทั้งค่าสูงสุดและต่ำสุดของแต่ละตัวแปรที่เรา ต้องการเมื่อสลับข้อมูลจะได้ข้อมูลหน้าตาดังนี้

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

	n	Load	Weight	Type	Size	Type	Size	Conc	H2O	Mic
1	5.773	1.000	1.000	25.000	3.773					
2	5.773	1.000	1.000	50.000	3.773					
3	5.773	1.000	1.000	75.000	3.773					
4	5.029	2.000	2.000	30.000	4.439					
5	5.859	2.000	2.000	40.000	5.859					
6	5.029	2.000	2.000	50.000	4.439					
7	5.249	1.000	2.000	30.000	3.173					
8	5.249	1.000	2.000	40.000	5.000					
9	5.249	1.000	2.000	50.000	5.000					
10	5.249	1.000	2.000	50.000	5.000					
11	7.320	2.000	1.000	20.000	9.011					
12	7.328	2.000	1.000	50.000	6.035					
13	7.320	2.000	1.000	70.000	9.694					
14	5.658	1.000	2.000	30.000	0.000					
15	5.658	1.000	2.000	40.000	0.000					
16	5.658	1.000	2.000	50.000	5.658					
17	1.429	1.000	1.000	20.000	2.443					
18	5.455	1.000	1.000	50.000	5.534					
19	1.429	1.000	1.000	70.000	5.101					
20	5.449	2.000	2.000	30.000	7.501					
21	5.442	2.000	2.000	40.000	4.395					
22	5.449	2.000	2.000	50.000	5.477					
23	7.246	2.000	2.000	30.000	4.161					
24	7.246	2.000	2.000	40.000	3.507					
25	7.246	2.000	2.000	50.000	4.117					
26	5.313	1.000	2.000	30.000	3.595					
27	5.313	1.000	2.000	40.000	7.105					
28	5.313	1.000	2.000	50.000	5.005					

รูปที่ ๑. 2 ตัวอย่างการ Randomized ข้อมูลในโปรแกรม Excels

1.4) Normalized data – คือการปรับค่าข้อมูลให้อยู่ในช่วงเดียวกันเพราะถ้านำข้อมูลเหล่านี้ไป Run โปรแกรมจะทำให้ Weight ของระบบ ANNs ปรับค่าได้ยาก และ ทำให้ network โดจจนทำให้ค่าต่างๆ เพี้ยนไป และจะส่งผลถึงโครงสร้างระบบ ANNs ที่ได้จะทำนายค่าได้ไม่แม่นยำ โดยการ Normalized data คือการแปลงข้อมูลโดยใช้สูตร ด้านล่าง ซึ่งจะแปลงข้อมูลตั้งแต่ Column ที่ 2 ถึง คอลัมน์ที่ 4 ดังนี้ แต่ทั้งนี้ช่วงข้อมูลของ column แรกและ column สุดท้ายจะต้องอยู่ใน Range ที่ใกล้เคียงกัน

$$X_i = \lambda_1 + (\lambda_2 - \lambda_1) \left\{ \frac{Z_i - Z_{i-min}}{Z_{i-max} - Z_{i-min}} \right\} \dots\dots\dots(4)$$

ซึ่งจะหมายถึง

ค่าที่ Normalized = ค่าต่ำสุดใน columnแรก +  $\left\{ \frac{(\text{ค่า ณ Row, Column นั้น} - \text{ค่าต่ำสุดใน column})}{(\text{ค่าสูงที่สุด} - \text{ค่าต่ำสุดใน column})} \right\} \times \{ \text{ค่าสูงที่สุดใน Column แรก} - \text{ค่าต่ำสุดใน Column ที่สอง} \}$

โดยค่าที่ได้จะเป็นในลักษณะดังนี้

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P
1		n	Load	Vocals	Type	Gen.	Type	Start	End	Max	Min					
2	5.173	1.000	1.000	95.000	3.795	5.173	5.173	1.426	1.426	7.426	1.426					
3	5.173	1.000	1.000	75.000	3.795	5.173	5.173	5.155	5.155	5.149	5.146					
4	5.019	2.000	2.000	70.000	4.476	5.019	5.442	5.442	5.442	5.017	4.420					
5	5.879	2.000	2.000	40.000	1.565	5.879	5.442	5.442	5.442	6.551	4.655					
6	5.019	2.000	2.000	90.000	4.447	5.019	5.442	5.442	5.442	7.426	4.447					
7	5.249	1.000	2.000	30.000	3.175	5.249	5.155	5.149	5.149	5.557	5.178					
8	5.219	1.000	2.000	40.000	1.200	5.219	1.426	5.442	5.442	6.017	1.020					
9	5.249	1.000	2.000	50.000	1.200	5.249	5.155	5.149	5.149	7.426	1.020					
10	7.310	2.000	1.000	20.000	9.271	7.310	5.442	1.426	1.426	1.426	1.011					
11	7.378	2.000	1.000	50.000	6.035	7.378	5.149	5.155	5.155	7.426	3.053					
12	7.310	2.000	1.000	70.000	9.994	7.310	5.442	1.426	1.426	5.442	1.924					
13	5.658	1.000	2.000	30.000	0.200	5.658	5.155	5.149	5.149	5.557	0.200					
14	5.658	1.000	2.000	40.000	0.200	5.658	1.426	5.442	5.442	6.017	0.200					
15	5.658	1.000	2.000	50.000	1.315	5.658	5.155	5.149	5.149	7.426	1.815					
16	1.426	1.000	1.000	20.000	2.249	1.426	1.426	1.426	1.426	1.426	2.249					
17	5.155	1.000	1.000	50.000	1.531	5.155	5.155	5.155	5.155	7.426	1.931					
18	1.426	1.000	1.000	70.000	1.201	1.426	1.426	1.426	1.426	5.442	1.021					
19	5.149	2.000	2.000	30.000	4.501	5.149	5.149	5.149	5.149	5.557	4.321					
20	5.442	2.000	2.000	40.000	4.395	5.442	5.442	5.442	5.442	6.017	4.919					
21	5.149	2.000	2.000	50.000	4.477	5.149	5.149	5.149	5.149	7.426	4.177					
22	7.246	2.000	2.000	70.000	4.161	7.246	5.442	5.442	5.442	9.017	4.161					
23	7.246	2.000	2.000	40.000	3.907	7.246	5.149	5.149	5.149	6.551	5.629					
24	7.246	2.000	2.000	90.000	4.177	7.246	5.442	5.442	5.442	7.426	4.177					
25	5.313	1.000	2.000	30.000	3.895	5.313	5.155	5.149	5.149	5.557	5.655					
26	5.313	1.000	2.000	40.000	7.100	5.313	1.426	5.442	5.442	6.017	1.620					
27	5.313	1.000	2.000	50.000	1.205	5.313	5.155	5.149	5.149	7.426	4.049					
28																
29																
30	Max	5.149	2.000	2.000	75.000	6.035										
31	Min	1.426	1.000	1.000	20.000	0.200										
32																

รูปที่ ๓ ตัวอย่างการ Normalized ข้อมูลในโปรแกรม Excels

จากนั้นสามารถนำค่าที่ Normalized แล้วนี้ไปเป็นข้อมูลที่ใช้ Run กับโปรแกรม MATLAB เพื่อสร้างระบบ ANNs โดย Copy แล้วนำไป Paste ลงไปใน Notepads ดังรูปด้านล่าง นี้ จากนั้น Save File เก็บไว้เพื่อดำเนินการต่อ



File	Edit	Format	View	Help
7.265	7.265	4	4	6.639
7.265	7.265	4	5.6325	6.21
7.265	7.265	4	7.265	6.316
4.813	4	4	4	3.352
4.813	4	4	5.6325	3.041
4.813	4	4	7.265	2
7.143	7.265	4	4	6.102
7.143	7.265	4	5.6325	5.785
7.143	7.265	4	7.265	6.256
4	4	4	4	2.916
4	4	4	5.6325	1.875
4	4	4	7.265	2.477
7.158	7.265	7.265	4.3265	5.751
7.158	7.265	7.265	4.9795	5.579
7.158	7.265	7.265	5.6325	5.378
5.748	4	7.265	4.3265	1
5.748	4	7.265	4.9795	1.477
5.748	4	7.265	5.6325	1
6.76	7.265	7.265	4.3265	5.255
6.76	7.265	7.265	4.9795	4.968
6.76	7.265	7.265	5.6325	4.525
5.279	4	7.265	4.3265	4.729
5.279	4	7.265	4.9795	3.504
5.279	4	7.265	5.6325	2.866
7.158	7.265	4	4	6.228
7.158	7.265	4	5.6325	6.474
7.158	7.265	4	7.265	6.305
6.344	4	7.265	4.3265	2.13
6.344	4	7.265	4.9795	2.498
6.344	4	7.265	5.6325	0
6.865	7.265	7.265	4.3265	5.598
6.865	7.265	7.265	4.9795	5.702
6.865	7.265	7.265	5.6325	5.253
5.279	4	4	4	3.164
5.279	4	4	5.6325	2.712
5.279	4	4	7.265	3.002
7.109	7.265	4	4	6.22
7.109	7.265	4	5.6325	5.86

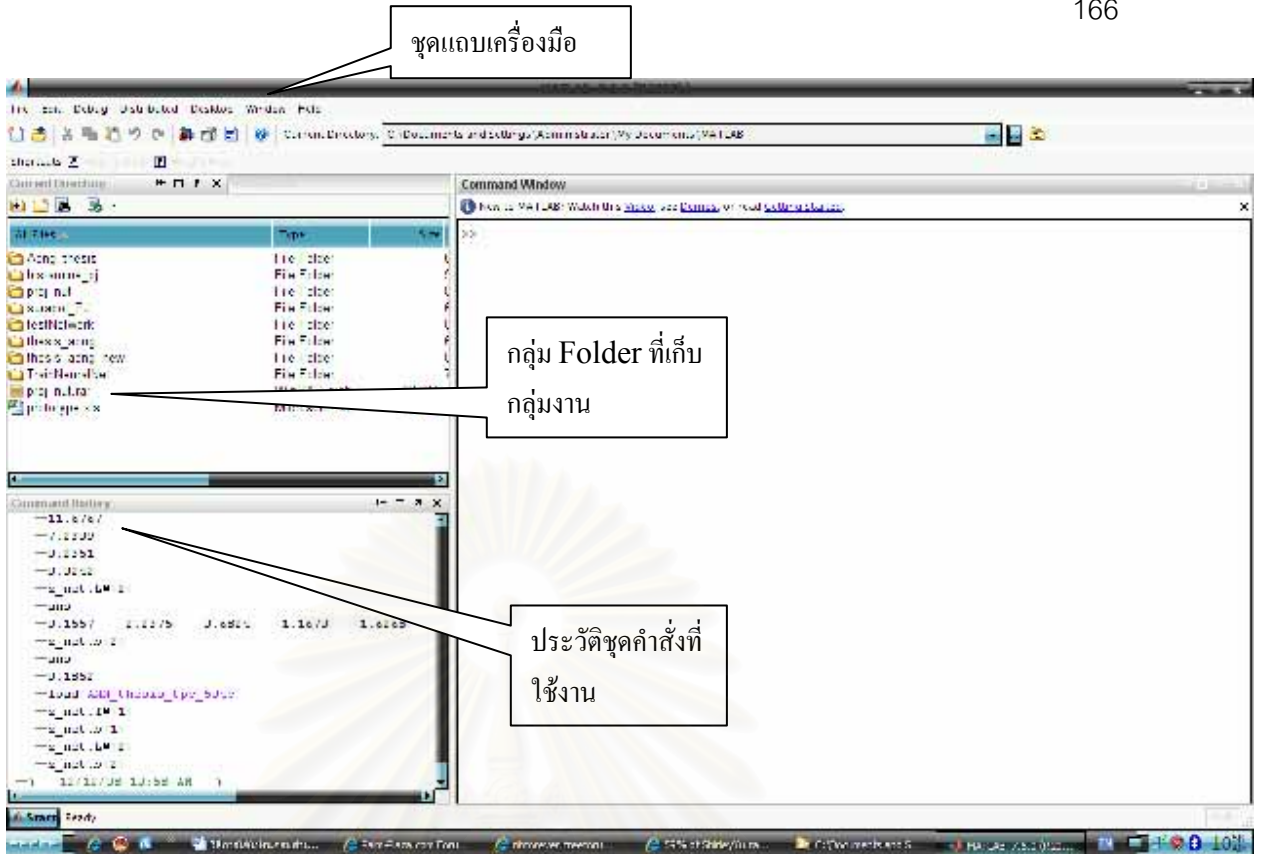
รูปที่ ๑. 4 ตัวอย่างการ ส่งข้อมูลที่จัดการเรียบร้อยแล้วไปสู่โปรแกรม Note pat

## ๑.2. การเขียนโปรแกรมใน MATLAB

ในการเขียนโปรแกรม เพื่อสร้างระบบ ANNs นั้นจะประกอบไปด้วย 3 โปรแกรม คือ โปรแกรมสำหรับ Train, โปรแกรม สำหรับ Test และโปรแกรมสำหรับทำนายค่าหลังจากที่ได้ระบบ ANNs ที่พอใจแล้วสามารถดำเนินการได้ดังต่อไปนี้

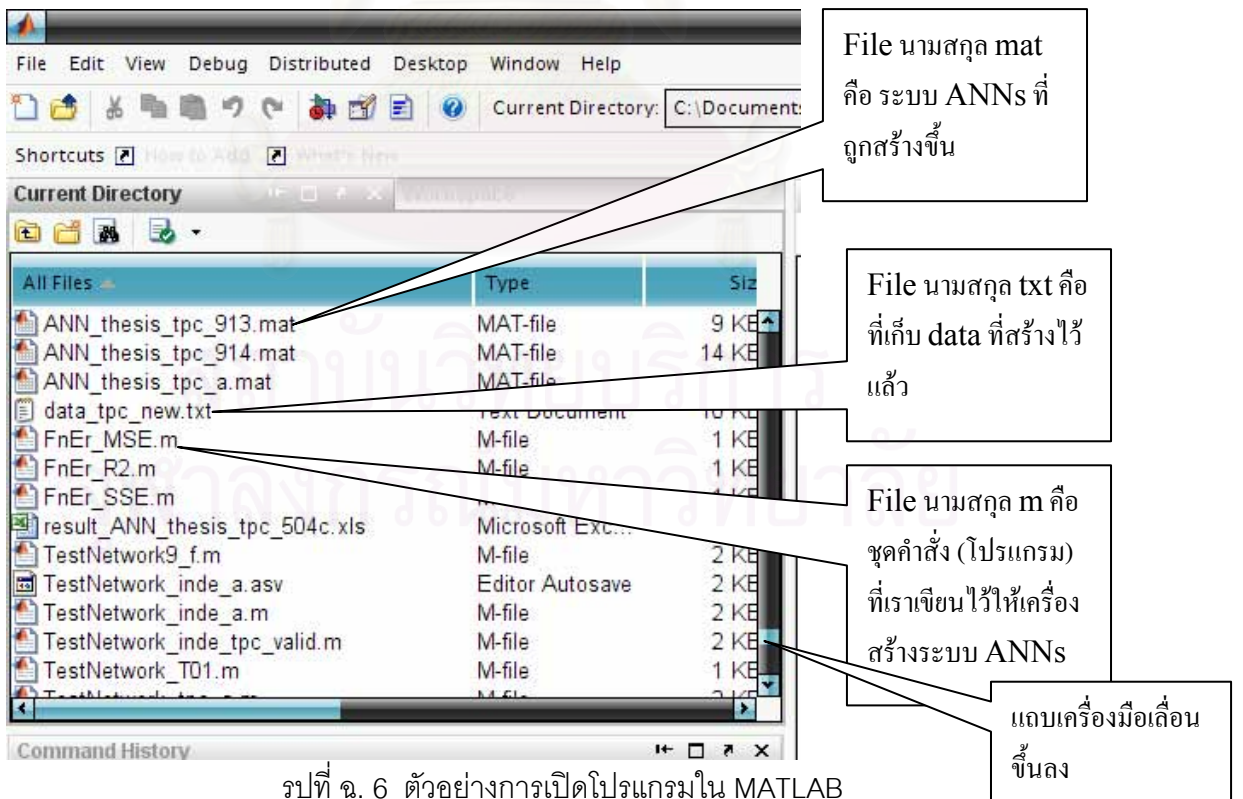
2.1) การใช้โปรแกรม MATLAB สำหรับเขียนโปรแกรม TRAIN NETWORK เมื่อเปิดเข้าโปรแกรมจะพบหน้าต่าง windows ดังนี้

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ ๕. ตัวอย่างการเข้าสู่โปรแกรม MATLAB

ให้เข้าไปที่ folder ที่เก็บงานไว้ เมื่อเข้าไปจะพบกับ file งานต่างๆ ดังรูปด้านล่างนี้



รูปที่ ๖. ตัวอย่างการเปิดโปรแกรมใน MATLAB



o1 =Data(1:InputUnitNo,1:4); % Copy all input datas to o1.= กำหนดตัวแปรโดยให้ตัวแปร o1 นั้น load ข้อมูลมาเก็บไว้ตั้งแต่ตัวแปรที่ 1-4 (Column ที่ 1-4)ซึ่งคือความล้มพันธ์ที่เราต้องการสร้างตั้งแต่แรก

t =Data(1:InputUnitNo,5); % Copy all target datas to t.= กำหนดตัวแปร t ให้เป็น column สุดท้าย (ค่า residual micro.)

mint=min(Data(:,5)); %find the minimum value of the tragets as an mint.=กำหนดตัวแปร

mint = ค่าที่ต่ำที่สุดใน 5 column นั้น

maxt=max(Data(:,5)); %find the maximum value of the tragets as an maxt. .=กำหนดตัวแปร

maxt = ค่าที่สูงที่สุดใน 5 column นั้น

%Normalize target data by using the mint and maxt values.

t= (0.1)+((t(:)-mint)/(maxt-mint))\*(0.9-(0.1)); =เริ่มการ Normalized data ที่จะเป็นผลลัพธ์โดยในที่นี้เราต้องการแปลงค่าให้อยู่ในช่วง 0.1-0.9 เพราะการใช้ activation function ที่เป็น sigmoid นั้นช่วงค่าข้อมูลจะอยู่ในระหว่าง 0 – 1 โดยเราต้องการให้การแปลงค่าข้อมูลให้อยู่ในช่วงไม่เกินไปจาก ช่วงของ Activation function นั้นๆ (ถ้ากรณีใช้เป็น Tanh จะต้องแปลงค่าให้อยู่ในช่วง -0.9 ถึง 0.9)

%transpose the matrix for trainlm

o1 =o1'; = การ นำค่าตัวแปรต่างๆ ที่ได้ไปเก็บไว้ในลักษณะของ Transpost matrix

t =t';

%Training

z\_net = newff(minmax(o1),[HiddenUnitNo OutputUnitNo],{'logsig','logsig'},'trainlm'); =

เป็นการนำค่าตัวแปรต่างๆที่กำหนดผ่าน activation function ที่กำหนด โดยในกรณีนี้เป็น sigmoid – Sigmoid

%z\_net = newff(minmax(o1),[HiddenUnitNo OutputUnitNo],{'purelin','purelin'},'traincgf');

%z\_net = newff(minmax(o1),[HiddenUnitNo OutputUnitNo],{'tansig','purelin'},'trainlm');

z\_net.trainParam.show = 100;= กำหนดให้แสดงค่า ทุกๆ 100 ครั้งที่ผ่านมาการ Train (ซึ่งจะมีกราฟแสดง)

z\_net.trainParam.lr = 0.001;=กำหนด Learning rate (อัตราการเรียนรู้ของระบบในการปรับระบบ)



```

z_net.trainParam.epochs = 5000;=กำหนดให้เรียนรู้ถึง 5,000 รอบ
z_net.trainParam.goal = 0.001;=กำหนดเป้าหมายความแตกต่างของค่าที่ทำนายผิดพลาดไป
ให้ต่างกันเพียง 0.001

%Training the network
[z_net,z_tr,o3,z_error] = train(z_net,o1,t); =กำหนดให้มีการเก็บค่าตัวแปรไว้ในระบบ ANNs

%Saving the trained network datas as the Network9.mat name.
save('ANN_thesis_tpc_507hh','z_net','mint','maxt') =กำหนดให้เก็บตัวแปรต่างๆ ไว้ใน File
ANN_thesis_tpc_507hh
%z_net is the trained network name.
%mint and maxt are the minimum and maximum values of the input data which using in
the TestNetwork9.m file.

%ploting the results
figure(400); =กำหนดการแสดงผล กราฟระหว่างการ Train
hold on; =สั่งให้กราฟแสดงรูป
plot(t(:),'*-r'); = ค่าที่ระบบอ่านไปจากข้อมูลที่ train
plot(o3(:),'-g'); = ค่าที่ระบบได้จากการสร้างระบบ ANNs

%to define mean_square_error
MSE = FnEr_MSE(t,o3)=กำหนดค่าตัวแปร MSE = Mean square error ที่ได้จากค่าจริงกับค่า
ทำนายที่ระบบสร้างขึ้นเพื่อเปรียบเทียบความแตกต่าง

%to define r-square
R_sq = FnEr_R2(t,o3) =กำหนดค่าตัวแปร R_sq = regression ที่ได้จากค่าจริงกับค่าทำนายที่
ระบบสร้างขึ้นเพื่อเปรียบเทียบความแตกต่าง

SSE1 = FnEr_SSE(t,o3); =กำหนดค่าตัวแปร SSE1 = Sum square error ที่ได้จากค่าจริงกับค่า
ทำนายที่ระบบสร้างขึ้นเพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างโดยแสดงค่าแบบค่าต่อค่าที่แตกต่างกัน
SSE =sum(SSE1)= กำหนดค่าตัวแปร SSE = รวมค่า Error ที่ได้จากทุกพจน์ที่มีความแตกต่างกัน

TestNetwork_tpc_sigm_sigm_01 = คำสั่งให้เรียกโปรแกรม TestNetwork ขึ้นมา Run ต่อไป

```



เมื่อโปรแกรม Train network ได้ดำเนินการสิ้นสุดแล้วจะเป็นโปรแกรมส่วนต่อไป คือ โปรแกรมสำหรับการเรียก Test Network มาทำงานต่อ โดยจะใช้ระบบ ANNs ที่สร้างขึ้นมา ทำนายค่าเปรียบเทียบกับค่าข้อมูลในชุดที่ 253-360 โดยในชุดคำสั่งต่างๆนั้นสามารถพิจารณา และ อธิบายได้ดังต่อไปนี้

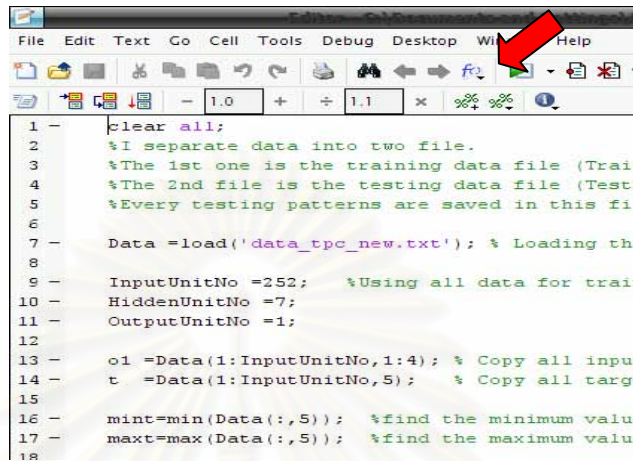
```

TestPattern = 253; %Start testing pattern = เรียก data ที่ต่อเนื่องมาจากโปรแกรมข้างต้น
('data_tpc_new.txt')แล้ว เริ่ม Test ตั้งแต่ data ที่ 253 เป็นต้นไป
[p d]=size(Data); = กำหนด Matrix ในระบบสำหรับการ Test เปรียบเทียบกัน
o1 = Data(TestPattern:p,1:4); = กำหนดการรับเข้าข้อมูลตัวแปร o1 ให้เก็บข้อมูล ที่แตกต่าง
ออกไปจาก 252 ชุดเดิมที่มีให้เป็นชุดใหม่ โดยอ่านจาก Column ที่ 1-4
t = Data(TestPattern:p,5); = กำหนดการรับเข้าข้อมูลตัวแปร t ให้เก็บข้อมูล ที่แตกต่างออกไป
จาก 252 ชุดเดิมที่มีให้เป็นชุดใหม่ โดยอ่านจาก Column ที่ 5
%Normalize target data
%t= (-0.9)+((t(:)-mint)/(maxt-mint))*(0.9-(-0.9));
t= (0.1)+((t(:)-mint)/(maxt-mint))*(0.9-(0.1)); =Normalized data ชุดใหม่ให้เป็นไปตาม
activation functionที่กำหนด
%Testing network
o3 = sim(z_net,o1); = นำ network ANNs ที่สร้างได้แล้ว มาทดสอบเปรียบเทียบ
%o3=o3(:)
figure(500); = กำหนดให้แสดงกราฟ out put หลังการ test
hold on; = ให้กราฟแสดงตลอดเวลา
plot(t(:),'-r'); = ค่าที่ได้จากค่าจริง
plot(o3(:),'-g'); = ค่าที่ได้จากการทำนาย
%title(['Testing']);
%to define Mean_square_error
MSE = FnEr_MSE(t,o3)= กำหนดให้แสดงค่า MSE
%to define r-square
R_sq = FnEr_R2(t,o3) = กำหนดให้แสดงค่า R2
SSE1 = FnEr_SSE(t,o3);
SSE = sum(SSE1)= กำหนดให้แสดงค่า SSE

```

เมื่อเขียนโปรแกรมเสร็จแล้ว และเช็คความชื่อที่ใช้เป็น file ANNs ไม่ซ้ำกัน ก็สามารถ RUN program ได้

### 2.3 การ Run Program สามารถทำได้โดยกดปุ่มสีเขียวดังภาพในหน้าต่าง Program file



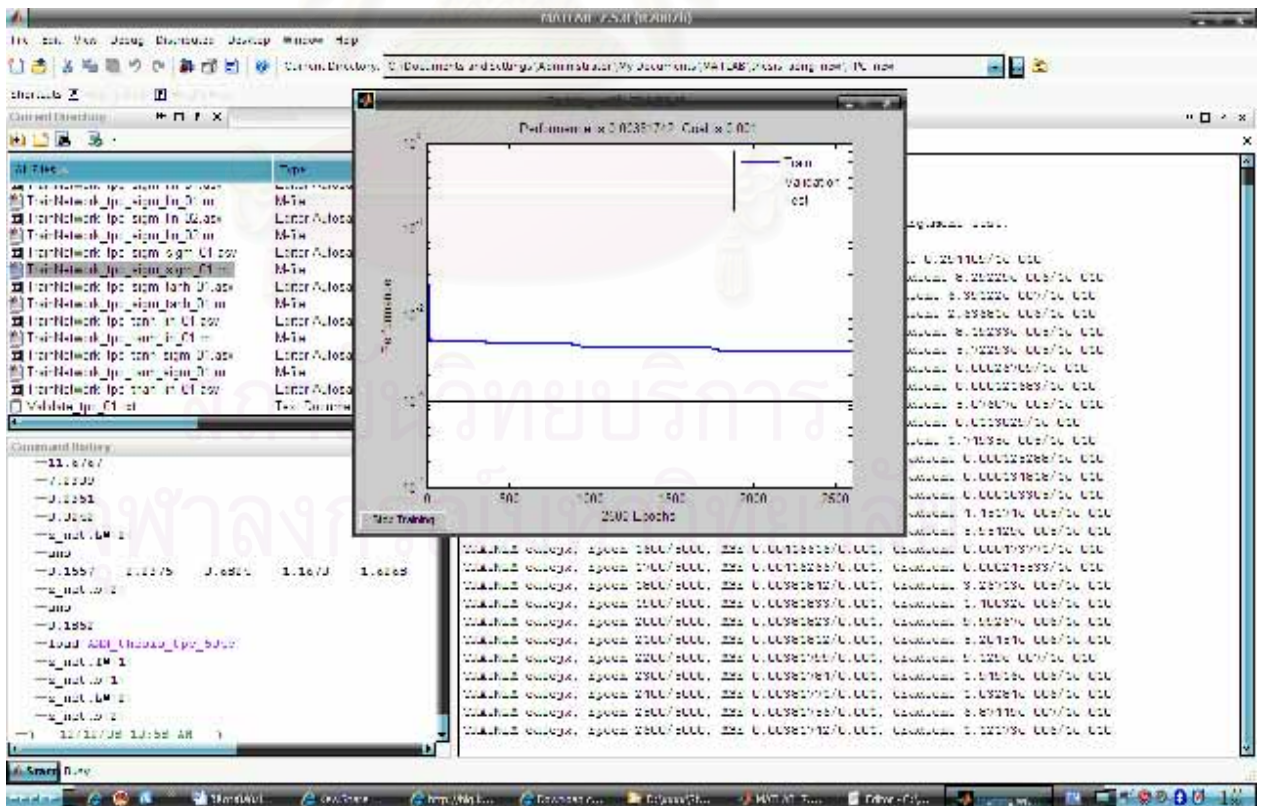
```

1 - clear all;
2 - %I separate data into two file.
3 - %The 1st one is the training data file (Train:
4 - %The 2nd file is the testing data file (Test:
5 - %Every testing patterns are saved in this fi
6 -
7 - Data =load('data_tpc_new.txt'); % Loading th
8 -
9 - InputUnitNo =252; %Using all data for trai
10 - HiddenUnitNo =7;
11 - OutputUnitNo =1;
12 -
13 - o1 =Data(1:InputUnitNo,1:4); % Copy all input
14 - t =Data(1:InputUnitNo,5); % Copy all targ
15 -
16 - mint=min(Data(:,5)); %find the minimum valu
17 - maxt=max(Data(:,5)); %find the maximum valu
18 -

```

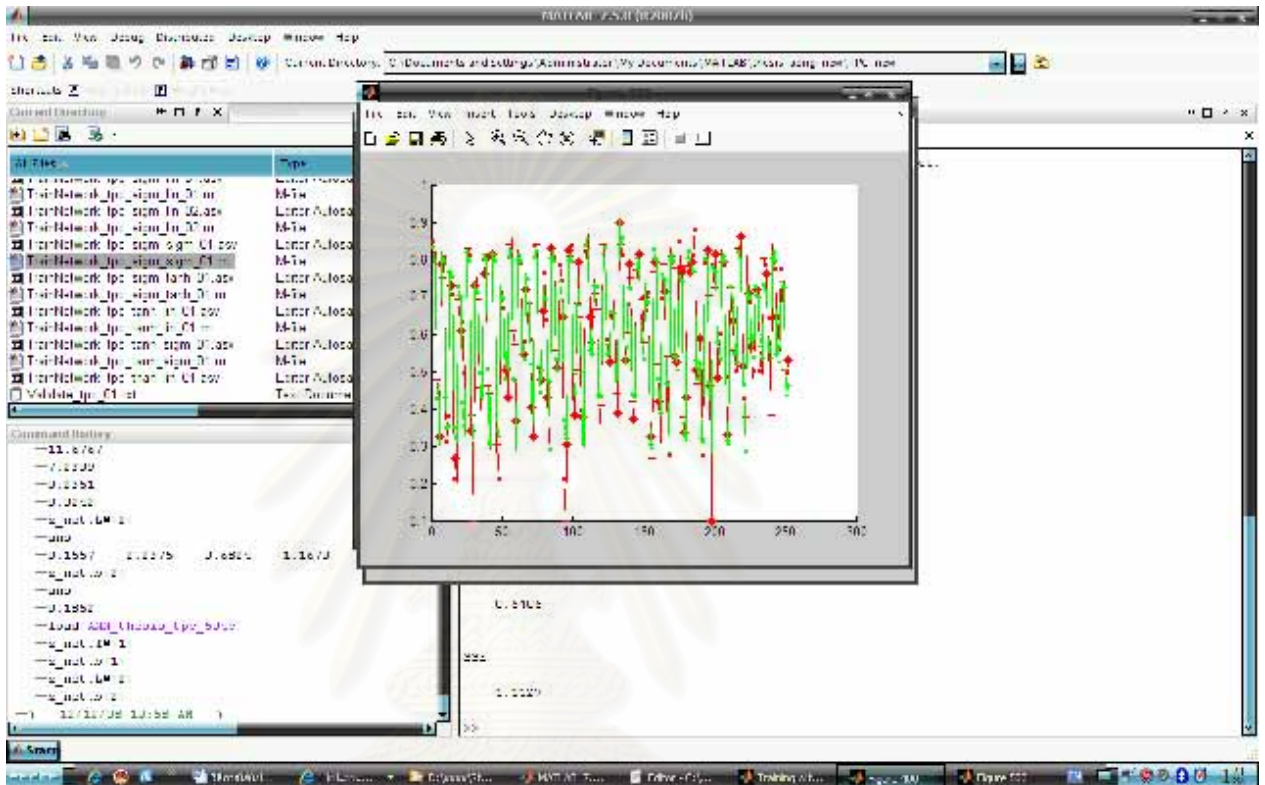
รูปที่ ๘.8 ตัวอย่างการ Run โปรแกรมที่เขียนเสร็จแล้วใน MATLAB

หน้าจอจะปรากฏดังภาพด้านล่างซึ่งเป็นการแสดงการ Train ของโปรแกรมกับข้อมูลที่มี โดยจะแสดงค่า Error ที่ระบบ Train ได้กับค่าเป้าหมายที่เรา SET ไว้



รูปที่ ๘.9 ตัวอย่างการ Run โปรแกรมใน MATLAB ระหว่างการ Learning

เมื่อระบบดำเนินไปครบ 5,000 Epochs (เป็นค่าที่ set ไว้) จะหยุดการ Train ระบบ และแสดงความ fit ของ data ระหว่างค่าจริงและค่าทำนายของ ANNs ในการ Train ระบบ (252 data) ดังรูปด้านล่างนี้ (เส้นสีเขียวแสดงค่าจริง, เส้นสีแดงหาค่าจาก ANNs ที่ทำนายไว้) โดยถ้าเส้นทั้งสองยิ่งทับซ้อนกันยิ่งมากยิ่งดี

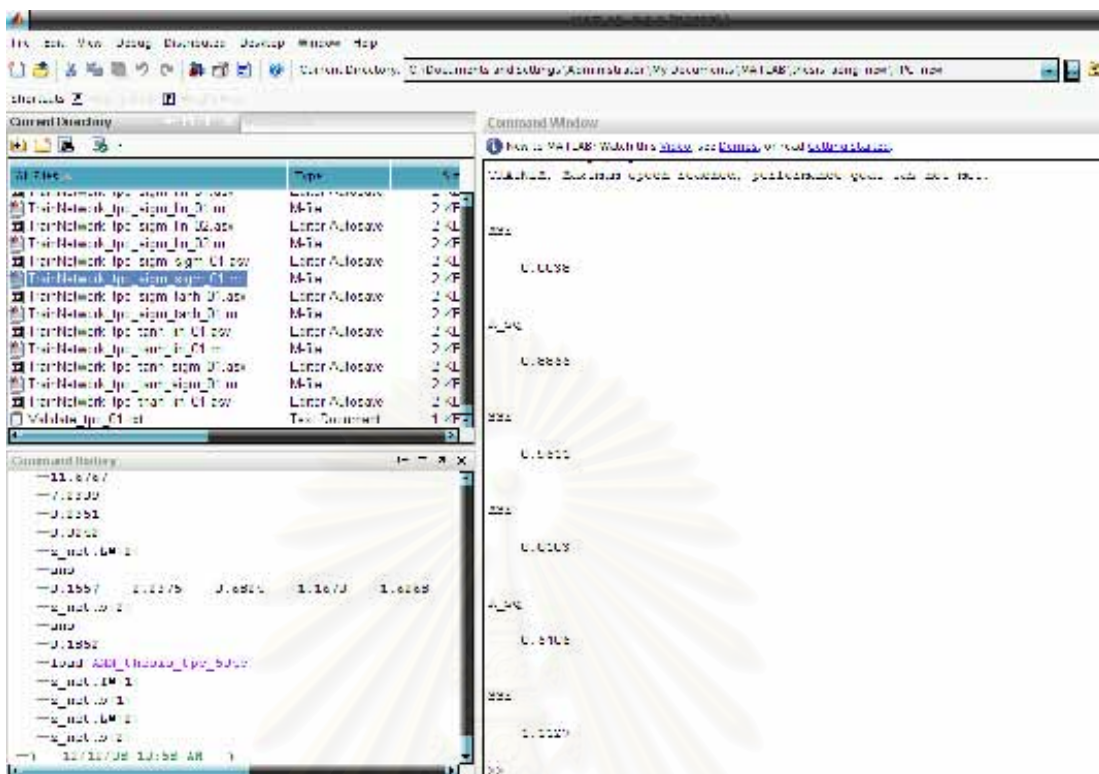


รูปที่ ๑.10 ตัวอย่างการ Run โปรแกรมใน MATLAB โดยโปรแกรมแสดงผลการ Train ระบบ ANNs ที่สร้างขึ้น

และเมื่อ เครื่องแสดงผลของการ Train เรียบร้อยแล้วจากนั้นจึงแสดง ผลของการ Test ข้อมูลอีกชุด (108 data) โดยแสดงกราฟความ fit ของ data ระหว่างค่าจริงและค่าทำนายของ ANNs ในการ Test ระบบ (108 data) ดังรูปด้านล่างนี้ (เส้นสีเขียวแสดงค่าจริง, เส้นสีแดงหาค่าจาก ANNs ที่ทำนายไว้) โดยถ้าเส้นทั้งสองยิ่งทับซ้อนกันยิ่งมากยิ่งดี





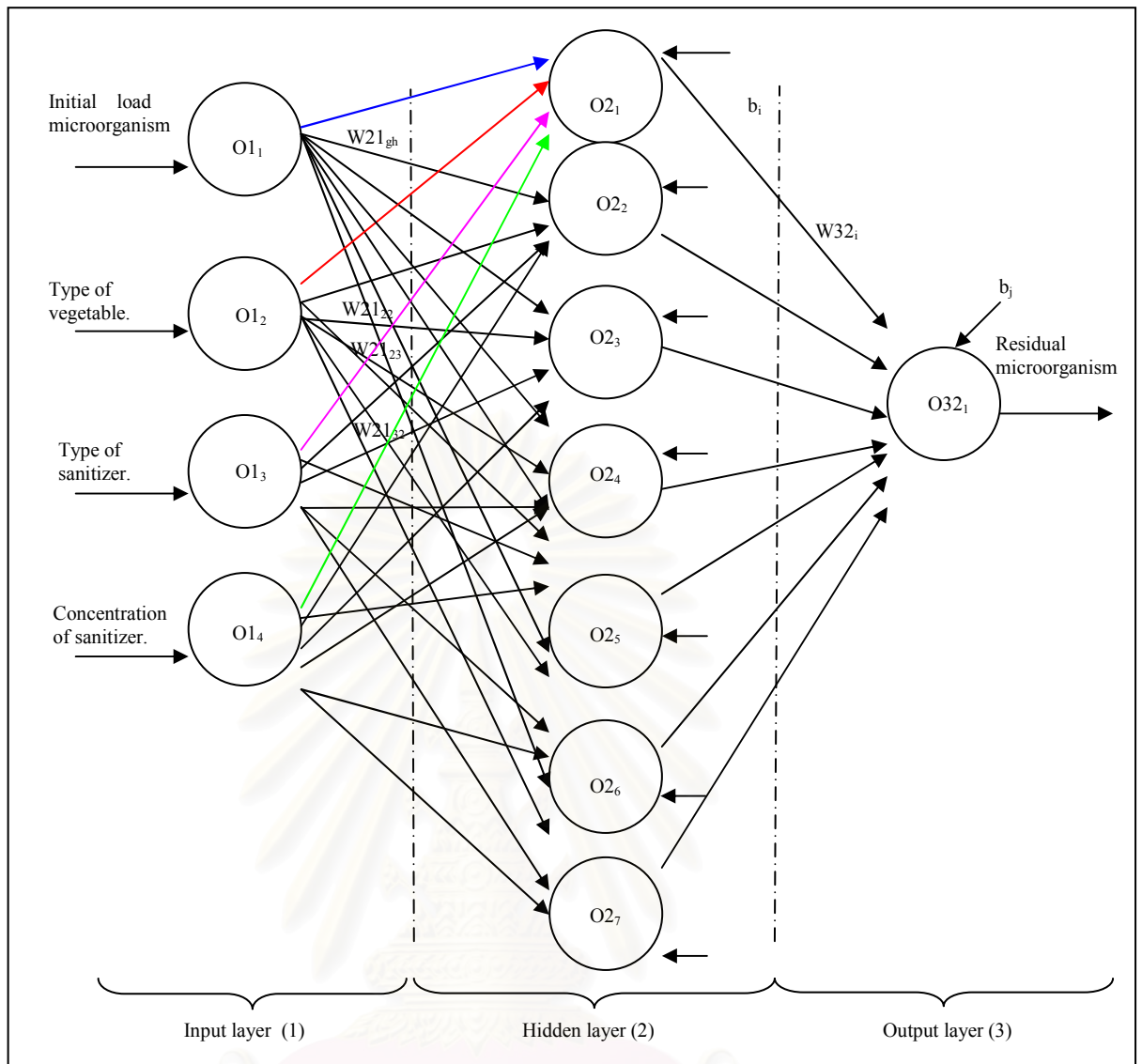


ค่า HiddenUnitNo โดยสามารถแปรไปได้ตามความเหมาะสม (ซึ่งพิจารณาเปรียบเทียบกันที่ค่า Hidden ที่น้อยกว่าหรือมากกว่า โดยเลือกค่า Hidden ที่ดีที่สุดคือให้ค่า MSE และ SSE ต่ำที่สุด ส่วน  $R^2$  ต้องสูงที่สุด)

2.4 การตรวจค่า weight และ bias ใน ระบบ ANNs – เมื่อทดลอง Run โปรแกรมเสร็จเป็นที่เรียบร้อยแล้วจะต้องมีการตรวจสอบค่าต่างๆ ในระบบ ซึ่งในกรณีตัวอย่างนี้เราใช้ 7 Hidden node (1 hidden layer) และใช้ Sigmoid – Sigmoid เป็น function ดังนั้น สามารถเขียนเป็น schema ได้ดังนี้

สถานวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

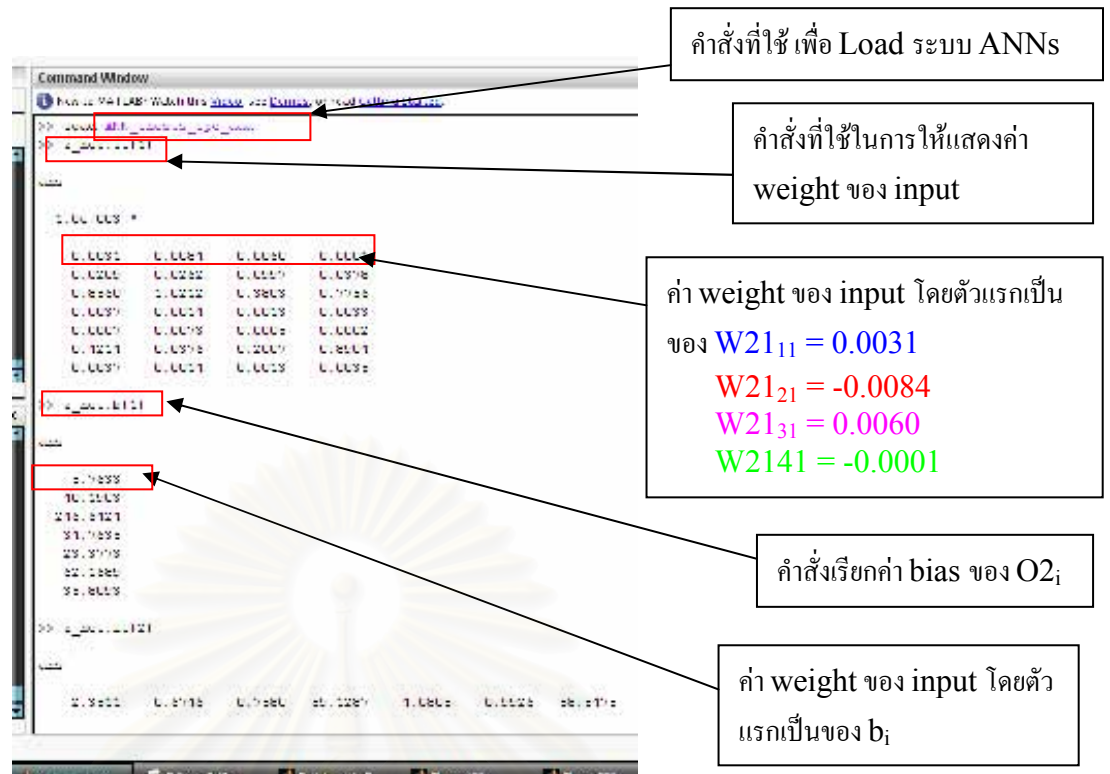




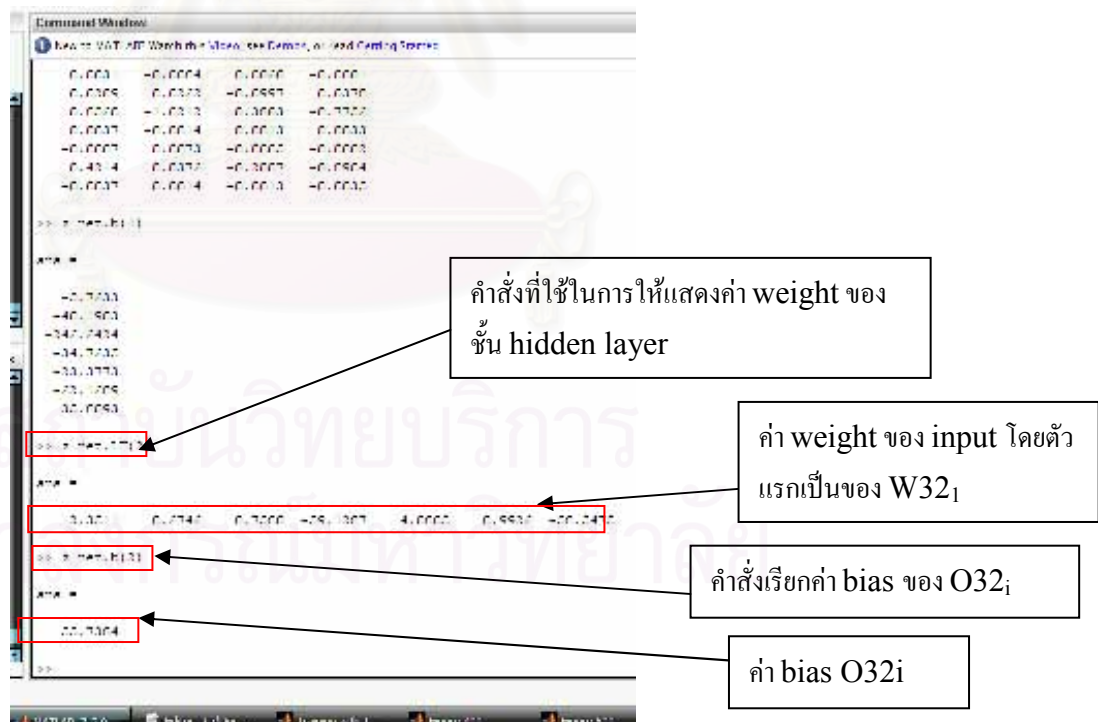
รูปที่ ๑.13 ตัวอย่างระบบ ANNs ที่สร้างขึ้น

โดยค่า  $W$  หมายถึง Weight และ  $b$  คือ ค่า Bias

สถาบันนวัตกรรมการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ ๑.14 ตัวอย่างการเรียกระบบขึ้นมาอ่านค่า Weight และ Bias ของระบบ ANNs ที่สร้างขึ้นในชั้น input - hidden



รูปที่ ๑.15 ตัวอย่างการเรียกระบบขึ้นมาอ่านค่า Weight และ Bias ของระบบ ANNs ที่สร้างขึ้นในชั้น hidden - output

2.5 การ Run ANNs – เมื่อได้ระบบ ANNs ที่ดีแล้วต้องมีการนำไป plot graph เปรียบเทียบระหว่างค่าจริงและค่าทำนายโดยต้องมีอีกหนึ่งโปรแกรมในการทำนายสามารถพิจารณาได้ดังต่อไปนี้

เรียก โปรแกรมที่เขียนไว้ขึ้นมา edit ในหน้า editor จะพบชุดคำสั่ง Program ดังนี้

```
clear all; %Clear all data = clear ค่าตัวแปรที่มีก่อนหน้าทั้งหมด
%Loading the saved data
load('ANN_thesis_tpc_504c'); = เรียกระบบ ANNs ที่สร้างไว้ขึ้นมา

Data =load('data_tpc_new.txt'); =เรียกข้อมูลที่เราใช้ในการ Train และ Test หรือเป็นข้อมูลชุดที่
เราต้องการทราบค่าทำนาย
InputUnitNo = 360; = ให้นำข้อมูลทั้งหมด 360 ข้อมูลใส่เข้าไปในตัวแปร
% Copy all input datas to o1.
o1 =Data(1:InputUnitNo,1:4)'; = กำหนดค่าตัวแปร o1 เป็นตัวแปรสำหรับเก็บค่าข้อมูลเข้าระบบ

o3 = sim(z_net,o1); = กำหนดตัวแปร o3 เป็นค่าที่ได้จากการทำนายด้วยระบบ ANNs ที่เรียก
ขึ้นมา

%Normalize target data
o3(:)=(((o3-0.1)*(maxt-mint))/(0.9-0.1))+mint; = ทำ data ให้กลับไปเป็นเหมือนเดิมก่อนที่จะ
Normalized

o3=o3(:) = ให้แสดงค่า o3 ที่ได้จากการทำนาย
%END
```

เมื่อกด Run Program จะปรากฏค่า o3 ดังรูปด้านล่าง



**ภาคผนวก ข.**  
**ข้อมูลพื้นฐานของการตรวจสอบ**

**ข.1 ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางเคมี (จำนวน 183 ข้อมูล)**

Item	Result (unit - ppm) (Average $\pm$ Std)
Residual Chlorine (Cl)	= 0.00 $\pm$ 0.00
Residual Ferric (Fe)	= 0.01 $\pm$ 0.01
Total Hardness	= 0.00 $\pm$ 0.00
Total Dissolved Solid	= 306 $\pm$ 63
Item	Result (Average $\pm$ Std)
pH	= 7.0 $\pm$ 0.1

**ข.2 ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางจุลินทรีย์ (จำนวน 45 ข้อมูล)**

TPC	=	0 $\pm$ 0	cfu/ml
Coliforms	=	0 $\pm$ 0	cfu/ml
<i>E. coli</i>	=	0 $\pm$ 0	cfu/ml

**ข.4 ผลการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ในชุดควบคุม(แช่ในน้ำปกติ) ในการศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อ**

ผลมะเขือเทศ (10 ซ้ำ)

TPC	= 5.906 $\pm$ 0.636	log <sub>10</sub> cfu/g	not significant (n.s.) with initial load
Coliforms	= 6.534 $\pm$ 0.334	log <sub>10</sub> cfu/g	n.s. with initial load
<i>E. coli</i>	= 6.502 $\pm$ 0.504	log <sub>10</sub> cfu/g	n.s. with initial load

ผลใบผักกาดหอม (10 ซ้ำ)

TPC	= 6.771 $\pm$ 0.291	log <sub>10</sub> cfu/g	n.s. with initial load
Coliforms	= 7.012 $\pm$ 0.316	log <sub>10</sub> cfu/g	n.s. with initial load
<i>E. coli</i>	= 6.921 $\pm$ 0.454	log <sub>10</sub> cfu/g	n.s. with initial load



### ข.3 ผลของอุณหภูมิ และ % ความชื้นสัมพัทธ์ ในการศึกษา (จำนวน 32 ข้อมูล)

Temperature (°C)	=	9.77 ± 0.69	สำหรับที่ 10 °C
Relative Humidity(%RH)	=	89.98 ± 4.71	สำหรับที่ 10 °C
Temperature (°C)	=	22.7 ± 1.11	สำหรับที่ 22 °C
Relative Humidity(%RH)	=	90.05 ± 4.51	สำหรับที่ 22 °C

หมายเหตุ : เครื่องมือ/ อุปกรณ์ที่ใช้ เป็นของบริษัทโรงงานผลิตภัณฑ์อาหารไทยจำกัดซึ่งบริษัทได้รับการรับรองระบบ GMP, HACCP และ ISO:9001:2000 จึงมีระบบการควบคุมน้ำ และ Calibration Program ของอุปกรณ์ทางวิทยาศาสตร์ต่างๆ

### ข.4 ผลการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ในชุดควบคุมอาหารที่ผ่านการให้ความร้อนแล้วไม่มีการเติมจุลินทรีย์ (ถั่วแดง และ ข้าวโพดอ่อน) (จำนวน 30 ข้อมูล)

ตารางที่ ข.1 ผลชุดควบคุมที่ไม่ได้เติมจุลินทรีย์ลงไปในตัวอย่างในถั่วแดงและข้าวโพดอ่อน(ในการศึกษาการเจริญของจุลินทรีย์)

ประเภทจุลินทรีย์	เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนจุลินทรีย์ในสไลด์บาร์			
		ถั่วแดง		ข้าวโพดอ่อน	
		10 °C	22 °C	10 °C	22 °C
TPC	0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	2	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	4	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	8	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Coliforms	0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	2	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	4	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	8	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
E. coli	0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	2	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	4	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	8	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0

**ภาคผนวก ซ.**  
**สรุปผลตารางที่ วิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA)**

**ซ.1** ตอนที่ 1 ศึกษาผลของชนิดสารฆ่าเชื้อ ระดับความเข้มข้น และ ชนิดผัก

ตารางที่ ซ.1 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน (25, 50 และ 75 ppm) ต่อจุลินทรีย์ TPC บนผลมะเขือเทศ

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	0.703	2	0.351	0.723	0.488
Error	42.256	87	0.486		
Total	1283.710	90			

ตารางที่ ซ.2 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของสารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติก (Peracetic acid) ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน (30, 40 และ 50 ppm) ต่อจุลินทรีย์ TPC บนผลมะเขือเทศ

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	11.850	2	5.925	4.959*	0.009
Error	103.948	87	1.195		
Total	780.632	90			

หมายเหตุ : \* Significant at 95% level ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ ซ.3 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) และ กรดเปอร์อะซิติก (Peracetic acid) ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันต่อจุลินทรีย์ TPC บนผลมะเขือเทศ

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	57.109	5	11.422	13.593*	0.000
Error	146.204	174	0.840		
Total	2064.341	180			

หมายเหตุ : \* Significant at 95% level ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ ๔.4 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน (25, 50 และ 75 ppm) ต่อจุลินทรีย์ Coliforms บนผลมะเขือเทศ

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	4.897	2	2.449	5.705*	0.005
Error	37.342	87	0.429		
Total	1073.595	90			

หมายเหตุ : \* Significant at 95% level ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ ๔.5 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของสารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติก (Peracetic acid) ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน (30, 40 และ 50 ppm) ต่อจุลินทรีย์ Coliforms บนผลมะเขือเทศ

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	2.033	2	1.016	0.845	0.433
Error	104.661	87	1.203		
Total	649.922	90			

ตารางที่ ๔.6 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) และ กรดเปอร์อะซิติก (Peracetic acid) ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันต่อจุลินทรีย์ Coliforms บนผลมะเขือเทศ

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	45.716	5	9.143	11.203*	0.000
Error	142.003	174	0.816		
Total	1723.516	180			

หมายเหตุ : \* Significant at 95% level ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ ๗.7 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน (25, 50 และ 75 ppm) ต่อจุลินทรีย์ *E. coli* บนผลมะเขือเทศ

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	9.515	2	4.757	10.941*	0.000
Error	37.830	87	0.435		
Total	1188.766	90			

หมายเหตุ : \* Significant at 95% level ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ ๗.8 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของสารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติก (Peracetic acid) ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน (30, 40 และ 50 ppm) ต่อจุลินทรีย์ *E. coli* บนผลมะเขือเทศ

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	6.716	2	3.358	1.850	0.163
Error	157.902	87	1.815		
Total	520.207	90			

ตารางที่ ๗.9 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) และ กรดเปอร์อะซิติก (Peracetic acid) ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันต่อจุลินทรีย์ *E. coli* บนผลมะเขือเทศ

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	127.650	5	25.530	22.695*	0.000
Error	195.732	174	1.125		
Total	1708.973	180			

หมายเหตุ : \* Significant at 95% level ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ ข.10 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน (25, 50 และ 75 ppm) ต่อจุลินทรีย์ TPC บนใบผักกาดหอม

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	0.518	2	0.259	3.786*	0.027
Error	5.950	87	0.068		
Total	3558.222	90			

หมายเหตุ : \* Significant at 95% level ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ ข.11 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของสารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติก (Peracetic acid) ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน (30, 40 และ 50 ppm) ต่อจุลินทรีย์ TPC บนใบผักกาดหอม

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	0.770	2	0.385	1.641	0.200
Error	20.413	87	0.235		
Total	2787.063	90			

ตารางที่ ข.12 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) และ กรดเปอร์อะซิติก (Peracetic acid) ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันต่อจุลินทรีย์ TPC บนใบผักกาดหอม

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	25.823	5	5.165	34.087*	0.000
Error	26.363	174	0.152		
Total	6345.285	180			

หมายเหตุ : \* Significant at 95% level ( $p \leq 0.05$ )



ตารางที่ ข.13 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน (25, 50 และ 75 ppm) ต่อจุลินทรีย์ Coliforms บนใบผักกาดหอม

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	3.490	2	1.745	9.419*	0.000
Error	16.117	87	0.185		
Total	3081.640	90			

หมายเหตุ : \* Significant at 95% level ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ ข.14 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของสารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติก (Peracetic acid) ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน (30, 40 และ 50 ppm) ต่อจุลินทรีย์ Coliforms บนใบผักกาดหอม

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	1.892	2	0.946	2.668*	0.045
Error	30.848	87	0.355		
Total	2047.048	90			

หมายเหตุ : \* Significant at 95% level ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ ข.15 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) และ กรดเปอร์อะซิติก (Peracetic acid) ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันต่อจุลินทรีย์ Coliforms บนใบผักกาดหอม

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	60.031	5	12.006	44.483*	0.000
Error	46.964	174	0.270		
Total	5128.688	180			

หมายเหตุ : \* Significant at 95% level ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ ข.16 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน (25, 50 และ 75 ppm) ต่อบริเวณที่ E. coli บนใบผักกาดหอม

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	1.441	2	0.721	4.398*	0.015
Error	14.255	87	0.164		
Total	3095.873	90			

หมายเหตุ : \* Significant at 95% level ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ ข.17 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของสารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติก (Peracetic acid) ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน (30, 40 และ 50 ppm)ต่อบริเวณที่ E. coli บนใบผักกาดหอม

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	1.716	2	0.858	2.401*	0.047
Error	31.082	87	0.357		
Total	1982.293	90			

หมายเหตุ : \* Significant at 95% level ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ ข.18 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) และ กรดเปอร์อะซิติก (Peracetic acid) ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันต่อบริเวณที่ E. coli บนใบผักกาดหอม

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Treatment	67.525	5	13.505	51.832*	0.000
Error	45.336	174	0.261		
Total	5078.166	180			

หมายเหตุ : \* Significant at 95% level ( $p \leq 0.05$ )

๓.2 ผลศึกษาการเจริญของจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ 10 และ 20 °C ในช่วงเวลาที่แตกต่างกันคือ 0, 2, 4 และ 8 ชั่วโมง

ตารางที่ ๓.19 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมผักสลัดด้วยสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) ที่ระดับความเข้มข้น 75 ppm ต่อจุลินทรีย์ TPC บนผลมะเขือเทศ ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Temperature	4.155	1	4.155	24.083*	0.000
Time	1.701	3	0.567	3.285*	0.026
Temperature*Time	1.960	3	0.653	3.787*	0.014
Error	12.422	72	0.173		
Total	1505.085	80			

หมายเหตุ : \* Significant at 95% level ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ ๓.20 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมผักสลัดด้วยสารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติก (Peractic acid) ที่ระดับความเข้มข้น 40 ppm ต่อจุลินทรีย์ TPC บนผลมะเขือเทศ ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Temperature	4.759	1	4.759	70.257*	0.000
Time	0.784	3	0.261	3.856*	0.013
Temperature*Time	1.615	3	0.538	7.948*	0.000
Error	4.877	72	0.063		
Total	864.774	80			

หมายเหตุ : \* Significant at 95% level ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ ข.21 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมผักสลัดด้วยสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) ที่ระดับความเข้มข้น 75 ppm และกรดเปอร์อะซิติก (Peractic acid) ที่ระดับความเข้มข้น 40 ppm ต่อ จุลินทรีย์ TPC บนผลมะเขือเทศ ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Method of preparation(Prep.)	43.543	1	43.543	362.458*	0.000
Temperature	8.904	1	8.904	74.116*	0.000
Time	2.051	3	0.684	5.691*	0.001
Perp.*Temperature	0.010	1	0.010	0.085	0.771
Perp.*Time	0.433	3	0.144	1.202	0.311
Temperature*Time	3.239	3	1.080	8.988*	0.000
Perp.*Temperature*Time	0.336	3	0.112	0.932	0.427
Error	17.299	144	0.120		
Total	2369.859	160			

หมายเหตุ : \* Significant at 95% level ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ ข.22 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมผักสลัดด้วยสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) ที่ระดับความเข้มข้น 75 ppm ต่อจุลินทรีย์ Coliforms บนผลมะเขือเทศ ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Temperature	6.138	1	6.138	21.300*	0.000
Time	4.492	3	1.497	5.196*	0.003
Temperature*Time	3.559	3	1.186	4.116*	0.009
Error	20.749	72	0.288		
Total	1248.994	80			

หมายเหตุ : \* Significant at 95% level ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ ข.23 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมผักสลัดด้วยสารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติก (Peractic acid) ที่ระดับความเข้มข้น 40 ppm ต่อจุลินทรีย์ Coliforms บนผลมะเขือเทศ ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Temperature	8.264	1	8.264	25.033*	0.000
Time	5.992	3	1.997	6.050*	0.001
Temperature*Time	3.916	3	1.305	3.954*	0.011
Error	23.770	72	0.330		
Total	718.408	80			

หมายเหตุ : \* Significant at 95% level ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ ข.24 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมผักสลัดด้วยสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) ที่ระดับความเข้มข้น 75 ppm และกรดเปอร์อะซิติก (Peractic acid) ที่ระดับความเข้มข้น 40 ppm ต่อ จุลินทรีย์ Coliforms บนผลมะเขือเทศ ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Method of preparation(Prep.)	39.023	1	39.023	126.222*	0.000
Temperature	14.324	1	14.324	46.332*	0.000
Time	10.407	3	3.469	11.221*	0.000
Perp.*Temperature	0.079	1	0.079	0.255	0.614
Perp.*Time	0.077	3	0.026	0.083	0.969
Temperature*Time	7.275	3	2.425	7.844*	0.000
Perp.*Temperature*Time	0.199	3	0.066	0.215	0.886
Error	44.519	144	0.309		
Total	1967.402	160			

หมายเหตุ : \* Significant at 95% level ( $p \leq 0.05$ )



ตารางที่ ข.25 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมผักสลัดด้วยสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) ที่ระดับความเข้มข้น 75 ppm ต่อจุลินทรีย์ *E. coli* บนผลมะเขือเทศ ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Temperature	10.022	1	10.022	71.986*	0.000
Time	3.550	3	1.183	8.500*	0.000
Temperature*Time	3.828	3	1.276	9.164*	0.000
Error	10.024	72	0.139		
Total	1378.152	80			

หมายเหตุ : \* Significant at 95% level ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ ข.26 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมผักสลัดด้วยสารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติก (Peractic acid) ที่ระดับความเข้มข้น 40 ppm ต่อจุลินทรีย์ *E. coli* บนผลมะเขือเทศ ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Temperature	10.513	1	10.513	101.675*	0.000
Time	4.165	3	1.388	13.427*	0.000
Temperature*Time	4.214	3	1.405	13.585*	0.000
Error	7.444	72	0.103		
Total	795.160	80			

หมายเหตุ : \* Significant at 95% level ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ ข.27 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมผักสลัดด้วยสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) ที่ระดับความเข้มข้น 75 ppm และกรดเปอร์อะซิติก (Peracetic acid) ที่ระดับความเข้มข้น 40 ppm ต่อ จุลินทรีย์ *E. coli* บนผลมะเขือเทศ ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Method of preparation(Prep.)	40.721	1	40.721	335.676*	0.000
Temperature	20.532	1	20.532	169.251*	0.000
Time	7.102	3	2.367	19.516*	0.000
Perp.*Temperature	0.003	1	0.003	0.024	0.877
Perp.*Time	0.613	3	0.204	1.683	0.173
Temperature*Time	7.735	3	2.578	21.253*	0.000
Perp.*Temperature*Time	0.307	3	0.102	0.843	0.473
Error	17.469	144	0.121		
Total	2173.312	160			

หมายเหตุ : \* Significant at 95% level ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ ข.28 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมผักสลัดด้วยสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) ที่ระดับความเข้มข้น 75 ppm ต่อจุลินทรีย์ TPC บนใบผักกาดหอม ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Temperature	3.793	1	3.793	116.382*	0.000
Time	1.077	3	0.359	11.015*	0.000
Temperature*Time	2.581	3	0.860	26.392*	0.000
Error	2.347	72	0.033		
Total	4349.049	80			

หมายเหตุ : \* Significant at 95% level ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ ข.29 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมผักสลัดด้วยสารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติก (Peractic acid) ที่ระดับความเข้มข้น 40 ppm ต่อจุลินทรีย์ TPC บนใบผักกาดหอม ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Temperature	2.310	1	2.310	26.415*	0.000
Time	0.879	3	0.293	3.349*	0.024
Temperature*Time	1.265	3	0.422	4.820*	0.004
Error	6.297	72	0.087		
Total	3179.390	80			

หมายเหตุ : \* Significant at 95% level ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ ข.30 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมผักสลัดด้วยสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) ที่ระดับความเข้มข้น 75 ppm และกรดเปอร์อะซิติก (Peractic acid) ที่ระดับความเข้มข้น 40 ppm ต่อ จุลินทรีย์ TPC บนใบผักกาดหอม ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Method of preparation(Prep.)	45.911	1	45.911	764.828*	0.000
Temperature	6.012	1	6.012	100.156*	0.000
Time	1.870	3	0.623	10.386*	0.000
Perp.*Temperature	0.091	1	0.091	1.523	0.219
Perp.*Time	0.085	3	0.028	0.474	0.701
Temperature*Time	3.519	3	1.173	19.539*	0.000
Perp.*Temperature*Time	0.327	3	0.109	1.814	0.147
Error	8.644	144	0.060		
Total	7528.439	160			

หมายเหตุ : \* Significant at 95% level ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ ข.31 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมผักสลัดด้วยสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) ที่ระดับความเข้มข้น 75 ppm ต่อจุลินทรีย์ Coliforms บนใบผักกาดหอม ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Temperature	4.625	1	4.625	22.540*	0.000
Time	2.631	3	0.877	4.273*	0.008
Temperature*Time	3.896	3	1.299	6.329*	0.001
Error	14.775	72	0.205		
Total	4054.071	80			

หมายเหตุ : \* Significant at 95% level ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ ข.32 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมผักสลัดด้วยสารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติก (Peractic acid) ที่ระดับความเข้มข้น 40 ppm ต่อจุลินทรีย์ Coliforms บนใบผักกาดหอม ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Temperature	3.516	1	3.516	91.723*	0.000
Time	1.810	3	0.603	15.740*	0.000
Temperature*Time	2.227	3	0.742	19.365*	0.000
Error	2.760	72	0.038		
Total	3086.666	80			

หมายเหตุ : \* Significant at 95% level ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ ข.33 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมผักสลัดด้วยสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) ที่ระดับความเข้มข้น 75 ppm และกรดเปอร์อะซิติก (Peractic acid) ที่ระดับความเข้มข้น 40 ppm ต่อ จุลินทรีย์ Coliforms บนใบผักกาดหอม ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Method of preparation(Prep.)	32.022	1	32.022	262.981*	0.000
Temperature	8.103	1	8.103	66.547*	0.000
Time	3.936	3	1.312	10.774*	0.000
Perp.*Temperature	0.038	1	0.038	0.312	0.577
Perp.*Time	0.505	3	0.168	1.382	0.251
Temperature*Time	5.778	3	1.926	15.817*	0.000
Perp.*Temperature*Time	0.345	3	0.115	0.945	0.421
Error	17.534	144	0.122		
Total	7140.736	160			

หมายเหตุ : \* Significant at 95% level ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ ข.34 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมผักสลัดด้วยสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) ที่ระดับความเข้มข้น 75 ppm ต่อจุลินทรีย์ *E. coli* บนใบผักกาดหอม ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Temperature	4.186	1	4.186	50.925*	0.000
Time	3.526	3	1.175	14.300*	0.000
Temperature*Time	2.308	3	0.769	9.359*	0.000
Error	5.918	72	0.082		
Total	4144.999	80			

หมายเหตุ : \* Significant at 95% level ( $p \leq 0.05$ )



ตารางที่ ข.35 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมผักสลัดด้วยสารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติก (Peractic acid) ที่ระดับความเข้มข้น 40 ppm ต่อจุลินทรีย์ *E. coli* บนใบผักกาดหอม ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Temperature	2.880	1	2.880	47.582*	0.000
Time	1.507	3	0.502	8.300*	0.000
Temperature*Time	2.936	3	0.979	16.166*	0.000
Error	4.359	72	0.061		
Total	3166.553	80			

หมายเหตุ : \* Significant at 95% level ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ ข.36 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมผักสลัดด้วยสารฆ่าเชื้อคลอรีน (Chlorine) ที่ระดับความเข้มข้น 75 ppm และกรดเปอร์อะซิติก (Peractic acid) ที่ระดับความเข้มข้น 40 ppm ต่อ จุลินทรีย์ *E. coli* บนใบผักกาดหอม ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Method of preparation(Prep.)	32.720	1	32.720	458.502*	0.000
Temperature	7.005	1	7.005	98.163*	0.000
Time	4.819	3	1.606	22.509*	0.000
Perp.*Temperature	0.061	1	0.061	0.852	0.358
Perp.*Time	0.214	3	0.071	1.001	0.394
Temperature*Time	5.161	3	1.720	24.104*	0.000
Perp.*Temperature*Time	0.083	3	0.028	0.388	0.762
Error	10.276	144	0.071		
Total	7311.552	160			

หมายเหตุ : \* Significant at 95% level ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ ข.37 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมแก้วแดง ต่อ การเจริญของจุลินทรีย์ TPC ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Temperature	1.370	1	1.370	54.268*	0.000
Time	2.788	3	0.929	36.822*	0.000
Temperature*Time	1.574	3	0.525	20.783*	0.000
Error	1.817	72	0.025		
Total	917.773	80			

หมายเหตุ : \* Significant at 95% level ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ ข.38 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมข้าวโพดอ่อน ต่อ การเจริญของจุลินทรีย์ TPC ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Temperature	0.806	1	0.806	27.587*	0.000
Time	1.822	3	0.607	20.774*	0.000
Temperature*Time	1.512	3	0.504	17.237*	0.000
Error	2.105	72	0.029		
Total	956.155	80			

หมายเหตุ : \* Significant at 95% level ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ ๓.39 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมแก้วแดงและข้าวโพดอ่อน ต่อ การเจริญของจุลินทรีย์ TPC ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Method of preparation(Perp.)	0.212	1	0.212	7.773*	0.006
Temperature	2.139	1	2.139	78.538*	0.000
Time	4.530	3	1.510	55.436*	0.000
Perp.*Temperature	0.037	1	0.037	1.362	0.245
Perp.*Time	0.080	3	0.027	0.985	0.402
Temperature*Time	3.070	3	1.023	37.576*	0.000
Perp.*Temperature*Time	0.015	3	0.005	0.185	0.907
Error	3.922	144	0.027		
Total	1873.928	160			

หมายเหตุ : \* Significant at 95% level ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ ๓.40 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมแก้วแดง ต่อ การเจริญของจุลินทรีย์ Coliforms ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Temperature	2.213	1	2.213	117.617*	0.000
Time	1.956	3	0.652	34.651*	0.000
Temperature*Time	2.016	3	0.672	35.705*	0.000
Error	1.355	72	0.019		
Total	920.937	80			

หมายเหตุ : \* Significant at 95% level ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ ข.41 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมข้าวโพดอ่อน ต่อ การเจริญของจุลินทรีย์ Coliforms ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Temperature	1.253	1	1.253	63.651*	0.000
Time	2.516	3	0.839	42.590*	0.000
Temperature*Time	1.253	3	0.418	21.214*	0.000
Error	1.418	72	0.020		
Total	939.821	80			

หมายเหตุ : \* Significant at 95% level ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ ข.42 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมถั่วแดงและข้าวโพดอ่อน ต่อ การเจริญของจุลินทรีย์ Coliforms ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Method of preparation(Perp.)	0.054	1	0.054	2.808	0.096
Temperature	3.399	1	3.399	176.525*	0.000
Time	4.420	3	1.473	76.533*	0.000
Perp.*Temperature	0.068	1	0.068	3.520	0.063
Perp.*Time	0.051	3	0.017	0.889	0.449
Temperature*Time	3.160	3	1.053	54.710*	0.000
Perp.*Temperature*Time	0.109	3	0.036	1.881	0.135
Error	2.772	144	0.019		
Total	1860.758	160			

หมายเหตุ : \* Significant at 95% level ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ ข.43 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมตัวแดง ต่อ การเจริญของจุลินทรีย์ *E. coli* ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Temperature	1.670	1	1.670	58.432*	0.000
Time	2.554	3	0.851	29.784*	0.000
Temperature*Time	1.698	3	0.566	19.805*	0.000
Error	2.058	72	0.029		
Total	935.822	80			

หมายเหตุ : \* Significant at 95% level ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ ข.44 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมข้าวโพดอ่อน ต่อ การเจริญของจุลินทรีย์ *E. coli* ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Temperature	1.754	1	1.754	103.872*	0.000
Time	4.091	3	1.364	80.748*	0.000
Temperature*Time	1.512	3	0.504	29.841*	0.000
Error	1.216	72	0.017		
Total	952.189	80			

หมายเหตุ : \* Significant at 95% level ( $p \leq 0.05$ )



ตารางที่ ข.45 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของการเตรียมแก้วแดงและข้าวโพดอ่อน ต่อการเจริญของจุลินทรีย์ *E. coli* ที่เวลา 0 2 4 และ 8 ชั่วโมงในการเก็บและอุณหภูมิ 10 และ 22 °C ที่แตกต่างกัน

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig.
Method of preparation(Perp.)	0.033	1	0.033	1.462	0.229
Temperature	3.424	1	3.424	150.596*	0.000
Time	6.491	3	2.164	95.161*	0.000
Perp.*Temperature	0.001	1	0.001	0.023	0.880
Perp.*Time	0.155	3	0.052	2.267	0.083
Temperature*Time	3.194	3	1.065	46.822*	0.000
Perp.*Temperature*Time	0.017	3	0.006	0.244	0.866
Error	3.274	144	0.023		
Total	1888.011	160			

หมายเหตุ : \* Significant at 95% level ( $p \leq 0.05$ )

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ฅ  
ผลงานวิจัยที่ได้นำเสนอในงานประชุม

อภินิหาร ฝิวพรรณ, สุวิมล กีรติพิบูล. 2551. ผลของสารฆ่าเชื้อและประเภทของผัก ต่อการอยู่รอด  
ของจุลินทรีย์ หลังการล้าง. การประชุมวิชาการ งานเกษตรแห่งชาติ ครั้งที่ 7. 8-10  
กันยายน 2551. มหาวิทยาลัยนเรศวร.



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นายอภินิหาร ผิวพรรณ เกิดเมื่อวันที่ 22 กันยายน พ.ศ. 2520 ที่จังหวัด กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิตจาก ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2541 เมื่อจบการศึกษาได้เข้าทำงานที่บริษัท โรงงานผลิตภัณฑ์อาหารไทย จำกัด (ผู้ผลิตและจำหน่ายบะหมี่กึ่งสำเร็จรูปยี่ห้อ “ไวไว” และ “ควิก”) ในปี พ.ศ. 2543 จนกระทั่งขอเวลาเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2549 ปัจจุบันยังคงปฏิบัติงาน ณ บริษัทโรงงานผลิตภัณฑ์อาหารไทยจำกัด ตำแหน่ง ผู้จัดการฝ่ายควบคุมคุณภาพและพัฒนาธุรกิจ 2



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย