

ส่วนที่ 2

รายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์
โครงการวิจัยทุนอุดหนุนวิจัย มก. ปีงบประมาณ 2557

โครงการวิจัยรหัส ว-ท(ด)139.57

การใช้สารเคลือบผิวไคโตซานร่วมกับการฉายรังสียูวีซีต่อการรักษาคุณภาพและความปลอดภัยจากเชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp. ที่ปนเปื้อนในหน่อไม้ฝรั่ง

Combined treatment of chitosan coating with UV-C irradiation to improve quality and microbial safety of *Escherichia coli* and *Salmonella* sp. contaminated on asparagus spears

จุฑาทิพย์ โพธิ์อุบล⁽¹⁾ พริมา พิริยางกูร⁽²⁾)

Jutatip Poubol⁽¹⁾ Pharima Phiriyangkul⁽²⁾)

บทคัดย่อ

Escherichia coli และ *Salmonella* sp. เป็นแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรคระบบทางเดินอาหารซึ่งพบได้ในหน่อไม้ฝรั่ง (*Asparagus officinalis* L.) มีรายงานว่า การใช้สารเคลือบผิวไคโตซานและการฉายรังสียูวีซีสามารถช่วยลดจำนวนจุลินทรีย์สาเหตุโรคระบบทางเดินอาหารได้ งานวิจัยนี้จึงสนใจการใช้สารเคลือบผิวไคโตซานร่วมกับการฉายรังสียูวีซีต่อการลดปริมาณเชื้อสาเหตุโรค โดยนำหน่อไม้ฝรั่งไปจุ่มลงในสารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 แล้วนำไปจุ่มในสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคระบบทางเดินอาหารทั้ง 2 สายพันธุ์ จากนั้นนำไปฉายรังสียูวีซีที่ปริมาณรังสี 1.2 กิโลจูลต่อตารางเมตร แล้วบรรจุหน่อไม้ฝรั่งลงในถาดโฟมหุ้มด้วยฟิล์มพลาสติกชนิดพีวีซีที่มีความหนา 14 ไมครอนเมตร เก็บรักษาหน่อไม้ฝรั่งไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ทำการตรวจวัดปริมาณ *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. จุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และราในหน่อไม้ฝรั่งที่ทำการเก็บรักษา จากการทดลองพบว่าการฉายรังสียูวีซีเพียงอย่างเดียวสามารถช่วยลดปริมาณ *Escherichia coli* ได้ในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ในขณะที่การใช้สารเคลือบผิวไคโตซาน การฉายรังสียูวีซี และการใช้สารเคลือบผิวไคโตซานร่วมกับการฉายรังสียูวีซี สามารถช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในหน่อไม้ฝรั่งที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา (วันที่ 6) พบว่าหน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในสารเคลือบผิวไคโตซานร่วมกับการฉายรังสียูวีซีมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดต่ำที่สุด เมื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณ *Salmonella* sp. ยีสต์และรา พบว่าในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษา *Salmonella* sp. ยีสต์และรา มีปริมาณต่ำกว่า 2.4 log CFU/g ซึ่งเป็นปริมาณจุลินทรีย์ต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส พบว่า *Salmonella* sp. ยีสต์และรา มีปริมาณสูงขึ้น สำหรับการเปลี่ยนคุณภาพพบว่าหน่อไม้ฝรั่งมีอาการฉ่ำน้ำเกิดขึ้นบริเวณส่วน

ยอดของหน่อ โดยหน่อไม่ฝังที่จุ่มในสารเคลือบผิวไคโตซานร่วมกับการฉายรังสียูวีซีมีอายุการจำหน่ายต่ำที่สุด และมีอายุการเก็บรักษานาน 6 วัน

คำสำคัญ: ไคโตซาน, ยูวีซี, อี โคไล, ซาลโมเนลลา

ABSTRACT

Escherichia coli and *Salmonella* sp. are two bacterial pathogens that cause foodborne diseases in asparagus (*Asparagus officinalis* L.). It has been reported that chitosan coating and ultraviolet C (UV-C) irradiation may reduce foodborne pathogen. This research was focus on the combination of chitosan coating and UV-C irradiation on the reduction of bacterial pathogen. Asparagus were coated with 0.5 % chitosan solution and inoculated with two bacterial pathogens, then irradiated with UV-C at a dose of 1.2 kJ/m². They were packed in foam tray, wrapped with 14 µm polyvinyl chloride film and stored at 10°C. *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., total microbial and fungi counts were enumerated during storage. UV-C irradiation alone significantly reduced *Escherichia coli* at the initial day of storage ($p < 0.05$). Chitosan coating, UV-C irradiation and the combination of chitosan and UV-C were significantly reduced total microbial count on asparagus during storage at 10°C. At the end of storage (6th day), the lowest total microbial count was found in sample coated with chitosan and irradiated with UV-C. *Salmonella* sp. and fungi count were below to the detection level ($< 2.4 \log \text{CFU/g}$) at the initial day of storage, but there after the count were increased during storage. Asparagus had water soaking on the tip of asparagus spears with the lowest water soaking was found in asparagus coated with chitosan combined with UV-C irradiation. The shelf life of asparagus spear was 6 days.

Key words: Chitosan, UV-C, *E. coli*, *Salmonella* sp.

บทนำ

สินค้าเกษตรกรรมประเภทพืชผักสด เป็นหนึ่งในสินค้าส่งออกที่สำคัญของประเทศไทย โดยมีตลาดต่างประเทศที่สำคัญ ได้แก่ สหรัฐอเมริกา กลุ่มสหภาพยุโรป ญี่ปุ่น เนเธอร์แลนด์ และ จีน เป็นต้น โดยมีปริมาณการส่งออกในปี พ.ศ. 2548 และ 2549 ประมาณ 2,146.1 และ 2,330.1 พันตัน คิดเป็นมูลค่าการส่งออกประมาณ 185.8 และ 187.2 ล้านดอลลาร์สหรัฐ ตามลำดับ (ธนาคารเพื่อการส่งออกและนำเข้าแห่งประเทศไทย, 2550) ซึ่งเป็นมูลค่าการส่งออกที่สูงมาก

นัก ทั้งนี้เนื่องจากในช่วงปี พ.ศ. 2548 ประเทศไทยได้ประสบปัญหาในด้านการส่งออก พืชผักสดไปจำหน่ายยังสหภาพยุโรป ราชอาณาจักรนอร์เวย์ และสาธารณรัฐไอร์แลนด์ เนื่องจากการตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค ได้แก่ อี.โคไล (*Escherichia coli*) และซาลโมเนลลา (*Salmonella* sp.) ที่ประเทศปลายทาง จากปัญหาที่เกิดขึ้นดังกล่าวทำให้ประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรปโดยเฉพาะประเทศนอร์เวย์ สั่งห้ามนำเข้าสินค้าพืชผักและสมุนไพรจากประเทศไทยเป็นการชั่วคราวตั้งแต่เดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2548 เป็นต้นมา (กรมวิชาการเกษตร, 2549)

จากปัญหาที่เกิดขึ้นกรมการค้าต่างประเทศ (2550) ได้ยกเลิกประกาศกรมการค้าต่างประเทศฉบับเก่า เรื่องกำหนดชนิดหรือประเภทของผักและผลไม้ที่ต้องมีหนังสือรับรองในการส่งออก พ.ศ. 2549 ลงวันที่ 22 มีนาคม พ.ศ. 2549 และได้ประกาศฉบับใหม่ในราชกิจจานุเบกษา เรื่องกำหนดชนิดหรือประเภทของผักและผลไม้ที่ต้องมีหนังสือรับรองในการส่งออก พ.ศ. 2550 ลงวันที่ 1 พฤษภาคม 2550 เพื่อให้เหมาะสมสอดคล้องกับมาตรการของประเทศผู้นำเข้าในปัจจุบัน โดยได้ประกาศให้สินค้าผักสดจำนวน 23 ชนิด คือ ผักชีไทย ผักชีฝรั่ง ใบกะเพรา ใบโหระพา ผักแขยง ใบสาระแหน่ ผักแพรว ต้นหอม ผักคื่นช่าย ใบกุยช่าย ดอกกุยช่าย ชะอม ตะไคร้ ผักบุ้ง ผักแว่น ผักกระเฉด ใบบัวบก ใบชะพลู ผักโขมแดง ถั่วฝักยาว พริกขี้หนู ผักปลัง และหน่อไม้ฝรั่ง ที่ส่งออกไปจำหน่ายยังราชอาณาจักรนอร์เวย์ สาธารณรัฐไอร์แลนด์ และสหภาพยุโรป เป็นสินค้าที่ต้องมีหนังสือรับรองสารตกค้างจากกรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ไปแสดงต่อกรมศุลกากรประกอบพิธีการส่งออกสินค้าไปนอกราชอาณาจักร ซึ่งสารตกค้างที่ต้องตรวจสอบในสินค้าผักสดดังกล่าว คือ เชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp.

หน่อไม้ฝรั่ง (*Asparagus officinalis* L.) เป็นพืชผักที่ใช้อยอดอ่อนของลำต้นในการบริโภค มีรสชาติหวานกรอบ มีคุณค่าทางอาหารสูง (กรมอนามัย, 2530) และสามารถปลูกได้ตลอดทั้งปี การส่งออกหน่อไม้ฝรั่งนิยมส่งออกในรูปของหน่อไม้ฝรั่งสด หน่อไม้ฝรั่งแช่แข็ง และหน่อไม้ฝรั่งบรรจุกระป๋อง โดยมีตลาดหลักที่สำคัญ คือ ประเทศญี่ปุ่น ออสเตรเลีย เม็กซิโก ฟิลิปปินส์ และสหรัฐอเมริกา ตามลำดับ (จิรภา, 2549) การขยายตลาดหน่อไม้ฝรั่งของประเทศไทยไปจำหน่ายยังต่างประเทศยังมีความเป็นไปได้สูง แต่เนื่องจากหน่อไม้ฝรั่งที่ส่งออกเมื่อไปถึงยังประเทศปลายทางนั้นมีความไม่ดีพอ เพราะมีการเน่าเสียเกิดขึ้น ซึ่งการเน่าเสียที่เกิดขึ้นมีสาเหตุมาจากการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในแปลงปลูก ในระหว่างขั้นตอนการคัดคุณภาพ การตัดแต่ง รวมถึงการฆ่าเชื้อหน่อไม้ฝรั่งที่ผ่านการตัดแต่งแล้วบริเวณโคนหน่อ (พนิดา และคณะ, 2548) การบรรจุหีบห่อ การขนส่ง การตรวจสอบสินค้า หรือการขนถ่ายสินค้าเข้าสู่ตู้คอนเทนเนอร์ซึ่งต้องใช้เวลาอันยาวนาน นอกจากนี้ยังอาจเกิดจากการปนเปื้อนข้ามของเชื้อจุลินทรีย์ในภาชนะบรรจุหน่อไม้ฝรั่ง ไปยังภาชนะบรรจุอื่นหรือผลิตผลทางการเกษตรชนิดอื่นที่ขนส่งอยู่ภายในตู้คอนเทนเนอร์เดียวกัน จากปัญหาที่เกิดขึ้นทำให้หน่อไม้ฝรั่งสูญเสียคุณภาพอย่างรวดเร็ว เกิดการเน่าเสียและมีอายุการวางจำหน่ายสั้น

เนื่องจากหน่อไม้ฝรั่งเป็นพืชผักที่มีเยื่ออ่อน จึงเกิดความเสียหายทางกลและเน่าเสียได้ง่าย ทำให้การกำจัดหรือลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับหน่อไม้ฝรั่งเป็นไปได้ค่อนข้างยาก ปัจจุบันวิธีการที่ผู้ประกอบการธุรกิจส่งออกนิยมใช้ในการกำจัดหรือลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในหน่อไม้ฝรั่ง คือการจุ่มบริเวณโคนของหน่อไม้ฝรั่งที่ผ่านการตัดแต่งแล้วลงในน้ำที่เติมสารละลายคลอรีน ซึ่งการจุ่มบริเวณโคนของหน่อไม้ฝรั่งนั้น ไม่สามารถกำจัดหรือลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่อาจปนเปื้อนบริเวณส่วนยอดหรือส่วนกลางของหน่อได้ วิธีการหนึ่งที่จะสามารถช่วยรักษาคุณภาพและลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับหน่อไม้ฝรั่งนั้นทำได้โดยการเคลือบผิวหน่อไม้ฝรั่งด้วยสารเคลือบผิวชนิดที่รับประทานได้ (edible coating) เช่น สารเคลือบผิวไคโตซาน และ/หรือการฉายรังสีอัลตราไวโอเลตชนิดซี (Ultraviolet-C) ซึ่งรู้จักกันดีในชื่อของรังสียูวีซี (UV-C) บริเวณพื้นผิวของหน่อไม้ฝรั่ง ซึ่งทั้งสองวิธีสามารถทำได้ง่าย และไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค อีกทั้งต้นทุนในการผลิตก็ไม่สูงมากนัก ซึ่งเกษตรกรและผู้ประกอบการธุรกิจส่งออกหน่อไม้ฝรั่งยังสามารถทำได้ภายในโรงคัดบรรจุของเกษตรกรหรือโรงงาน แต่อย่างไรก็ตามการเลือกใช้สารเคลือบผิวไคโตซานและ/หรือการฉายรังสี UV-C จะสามารถช่วยรักษาคุณภาพและลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ รวมไปถึงลดการเน่าเสียหรือชะลอการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีที่จะเกิดขึ้นนั้น จะต้องมีการศึกษาถึงความเข้มข้นของสารเคลือบผิวไคโตซาน และระยะเวลาในการรังสี UV-C จึงจะทำให้วิธีการดังกล่าวมีประสิทธิภาพและใช้ได้ผลดี

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลของสารเคลือบผิวไคโตซาน ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp.
2. เพื่อศึกษาผลของการฉายรังสี UV-C ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp.
3. เพื่อศึกษาผลของการใช้สารเคลือบผิวไคโตซานร่วมกับการฉายรังสี UV-C ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพ และการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp. ที่ปนเปื้อนในหน่อไม้ฝรั่ง

ขอบเขตของโครงการวิจัย

1. ศึกษาการใช้สารเคลือบผิวไคโตซานที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.5 1.0 และ 1.5 ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp. (in vitro study)
2. ศึกษาระยะเวลาในการฉายรังสี UV-C ที่ความยาวคลื่น 253.7 นาโนเมตร นาน 5, 10 และ 15 นาที ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp. (in vitro study)

3. ศึกษาการใช้สารเคลือบผิวไคโตซานร่วมกับการฉายรังสี UV-C ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพและการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* และ *Salmonella sp.* ที่ปนเปื้อนในหน่อไม้ฝรั่ง (in vivo study)

การตรวจเอกสาร

ไคโตซาน (poly β -(1 $\rightarrow$ 4) N-acetyl-D-glucosamine) เป็นอนุพันธ์ของไคตินซึ่งพบในโครงสร้างแข็งของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง เช่น กุ้ง ปู และปลาหมึก นอกจากนี้ยังสามารถสังเคราะห์ได้จากเชื้อราบางสายพันธุ์ เช่น *Aspergillus niger*, *Mucor rouxii* และ *Penicillium notatum* (Tan และคณะ, 1996; Knorr, 1984) ไคโตซานเป็นสารที่ได้จากธรรมชาติ ไม่เป็นพิษต่อมนุษย์ สามารถย่อยสลายได้ และมีคุณสมบัติในการต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ จึงนิยมใช้ในการเคลือบผิวของผักและผลไม้สด (Devlieghere และคณะ, 2004; El-Ghaouth และคณะ, 1991; El-Ghaouth และคณะ, 1992; Li และ Yu, 2001; Romanazzi และคณะ, 2002) นอกจากนี้ยังพบว่าไคโตซานสามารถช่วยกระตุ้นให้เกิดกระบวนการป้องกันตนเองของเนื้อเยื่อพืช (El-Ghaouth และคณะ, 1992; Fisk และคณะ, 2008) ช่วยยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ต่าง ๆ (Young และคณะ, 1982) ช่วยชะลอการเน่าเสียและยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์สด เช่น สตอเบอรี่ (El-Ghaouth และคณะ, 1991) พืช (Du และคณะ, 1997) องุ่น (Romanazzi และคณะ, 2002) และเชอร์รี่ (Romanazzi และคณะ, 2003) แต่อย่างไรก็ตามการใช้สารเคลือบผิวไคโตซานที่ระดับความเข้มข้นสูงมีผลทำให้คะแนนการยอมรับของผู้บริโภคในด้านสี กลิ่น และความกรอบลดลงมากกว่าการใช้สารเคลือบผิวไคโตซานที่ระดับความเข้มข้นต่ำกว่า (จุฑาทิพย์ และพนิดา, 2554a)

แต่อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพในการต่อต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานที่ใช้และชนิดของผลิตภัณฑ์ (Devlieghere และคณะ, 2004; Badawy และ Rabea, 2009) Devlieghere และคณะ (2004) พบว่าการใช้สารละลายไคโตซานที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.004-0.75 สามารถต่อต้านการเจริญของยีสต์สายพันธุ์ *Candida lambica* และ *Cryptococcus humiculus* แบคทีเรียสายพันธุ์ *Photobacterium phosphoreum*, *Pseudomonas fluorescens*, *Enterobacter aeromonas*, *Bacillus cereus*, *Brochothrix thermosphacta*, *Listeria monocytogenes*, *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus curvatus* และ *Pediococcus acidilactici* ที่เลี้ยงในหลอดทดลองที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส ได้ และพบว่าผักสลัดผสมตัดแต่งพร้อมบริโภค (20% Endive, 20% curled endive, 20% radicchio lettuce, 20% lollo rosso และ 20% lollo bionta lettuce) ที่เคลือบด้วยสารเคลือบผิวไคโตซานที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 สามารถลดการปนเปื้อนของ Total aerobic psychrotrophic และยีสต์ โดยสามารถยืดอายุการเก็บรักษาผักสลัดผสมตัดแต่งพร้อมบริโภคได้นาน 4 วัน ในขณะที่ยืดอายุการเก็บรักษาสตอเบอรี่ได้นานถึง 12 วัน Badawy และ Rabea

(2009) ศึกษาการใช้สารเคลือบผิวโคโตซานที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.5-4 ในผลมะเขือเทศที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2 และ 25 องศาเซลเซียส โดยพบว่าผลมะเขือเทศที่เคลือบด้วยสารเคลือบผิวโคโตซานทุกระดับความเข้มข้นสามารถยับยั้งเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *Botrytis cinerea* ที่ปนเปื้อนบนผลมะเขือเทศได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มผลมะเขือเทศลงในน้ำกลั่น โดยพบว่าความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายโคโตซานให้สูงขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้สารเคลือบผิวโคโตซานที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ร้อยละ 2 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์บนผลมะเขือเทศที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้ 3 วัน ในขณะที่การใช้สารเคลือบผิวโคโตซานที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ร้อยละ 2 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์บนผลมะเขือเทศที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส โดยสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้นานถึง 21 วัน ในขณะที่ยูทาทิพย์ และพนิดา (2554b) รายงานว่าการใช้สารเคลือบผิวโคโตซานที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 สามารถช่วยลดปริมาณยีสต์และราที่ปนเปื้อนในหน่อไม้ฝรั่งที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 9 วัน ได้ประมาณ 0.5 log CFU/g

การฉายรังสี UV-C ในช่วงระยะเวลาสั้นเป็นวิธีการหนึ่งที่ใช้ได้ผลและมีประสิทธิภาพในการกำจัดหรือลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนบริเวณผิวของผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร แสง UV-C เป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า ที่มีความยาวคลื่นอยู่ระหว่างแถบสีน้ำเงินของสเปกตรัมแสงกับแถบของรังสีเอ็กซ์ (X-ray) เป็นรังสีที่มีความยาวคลื่นสั้นโดยมีความยาวอยู่ในช่วง 200-280 นาโนเมตร (Gomez-Lopez และคณะ, 2007) เป็นรังสีที่มีคุณสมบัติเป็น germicidal จึงสามารถใช้ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรียทั้งแกรมลบและแกรมบวก รวมทั้งสปอร์ของเชื้อรา (Rowan และคณะ, 1999; Anderson และคณะ, 2000) อีกทั้งยังสามารถยับยั้งกิจกรรมของเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคระบบทางเดินอาหาร เช่น *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* Enteritidis และ *Pseudomonas aureginosa* เป็นต้น (Rowan และคณะ, 1999) Poubol และคณะ (2010a) รายงานว่าการฉายรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสี 3.6 kJ/m² สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp. ที่ปนเปื้อนในใบสะระแหน่ ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส นาน 4 วัน

มีรายงานว่าการฉายรังสี UV-C บนผิวของฟักทอง (*Zucchini squash*) ที่ผ่านการตัดแต่งแล้ว เป็นเวลานาน 10 นาที (4.93 kJ/m²) สามารถลดปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ได้ (Erkan และคณะ, 2001) Fonseca และ Rushing (2006) พบว่าการฉายรังสี UV-C ที่ความปริมาณแสง 4.1 kJ/m² สามารถลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ของแตงโมตัดแต่งพร้อมบริโภคได้มากกว่า 1 log CFU/g โดยที่ไม่ส่งผลเสียต่อการเปลี่ยนแปลงสี การร่วงไหลของสารภายในเซลล์ และลักษณะปรากฏ ในขณะที่การฉายรังสี UV-C ที่ความปริมาณแสง 7.11 kJ/m² มีผลทำให้ผักสลัด ('Red Oak Leaf' lettuce) เกิดการอ่อนนุ่มและเกิดสีน้ำตาลขึ้นภายหลังจากที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศา

เซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน (Allende และคณะ, 2006) และการฉายรังสี UV-C ที่ความปริมาณแสง 0.3 J/cm^2 ทำให้ผักสลัด (iceberg lettuce) เกิดการเปลี่ยนแปลงสีขึ้นภายหลังจากที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 2 วัน (Hoorstra และคณะ, 2002) นอกจากนี้การฉายรังสี UV-C นาน 10 นาที (4.93 kJ/m^2) และ 20 นาที (9.86 kJ/m^2) ส่งผลให้เกิดจุดสีน้ำตาลแดงขึ้นบน zucchini squash ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 12 วัน (Erkan และคณะ, 2001) Poubol และคณะ (2010b) พบว่าการฉายรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสี 1.2 2.4 และ 3.6 kJ/m^2 สามารถช่วยลดการผลิตก๊าซ ethylene และลดการสูญเสียปริมาณวิตามินซี แต่ส่งผลในการเพิ่มอัตราการหายใจของหน่อไม้ฝรั่งที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส

จากที่กล่าวมาการใช้สารเคลือบผิวโคโตซานและการฉายรังสี UV-C อาจสามารถช่วยรักษาคุณภาพและความปลอดภัยจากเชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp. ที่ปนเปื้อนในหน่อไม้ฝรั่ง ดังนั้นเพื่อให้ได้ผลดีจึงควรศึกษาถึงความเข้มข้นของสารเคลือบผิวโคโตซานและระยะเวลาในการฉายรังสี UV-C ที่เหมาะสม ซึ่งจะสามารถช่วยกำจัดหรือลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ รวมถึงช่วยรักษาคุณภาพของหน่อไม้ฝรั่ง และยืดอายุการวางจำหน่ายของหน่อไม้ฝรั่งในตลาดต่างประเทศ อันจะเป็นการลดการสูญเสียคุณภาพของหน่อไม้ฝรั่ง และส่งเสริมการส่งออกหน่อไม้ฝรั่งที่มีคุณภาพของไทยให้มีปริมาณและมูลค่าที่สูงขึ้นซึ่งจะส่งผลให้เกษตรกรและผู้ประกอบการธุรกิจส่งออกมีรายได้เพิ่มมากขึ้น

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงความเข้มข้นของสารเคลือบผิวโคโตซานที่เหมาะสม ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp. ซึ่งผลสำเร็จของงานวิจัยนี้เป็นผลสำเร็จเบื้องต้น (P)
2. ทราบถึงระยะเวลาที่เหมาะสมในการฉายรังสี UV-C ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp. ซึ่งผลสำเร็จของงานวิจัยนี้เป็นผลสำเร็จเบื้องต้น (P)
3. ทราบถึงความเข้มข้นของสารเคลือบผิวโคโตซาน และระยะเวลาที่เหมาะสมในการฉายรังสี UV-C ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพ และการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp. ในหน่อไม้ฝรั่ง ซึ่งผลสำเร็จของงานวิจัยนี้เป็นผลสำเร็จกึ่งกลาง (I)
4. ได้ข้อมูลพื้นฐานที่สามารถกำจัดหรือยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp. ที่ปนเปื้อนในหน่อไม้ฝรั่ง ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรชนิดอื่น ซึ่งจะสามารถลดข้อกีดกันทางการค้าและช่วยส่งเสริมการส่งออก ซึ่งผลสำเร็จของงานวิจัยนี้เป็นผลสำเร็จกึ่งกลาง (I)

5. สามารถตีพิมพ์ และเผยแพร่ผลงานวิจัยในวารสารและแหล่งความรู้ต่าง ๆ อันเป็นการบริการความรู้แก่เกษตรกรและผู้ประกอบการธุรกิจสินค้าเกษตร อันจะนำไปสู่การผลิตในเชิงพาณิชย์เพื่อการจำหน่ายผลิตผลทางการเกษตรที่มีคุณภาพ และมีปลอดภัยทั้งในประเทศและต่างประเทศ ซึ่งผลสำเร็จของงานวิจัยนี้เป็นผลสำเร็จเบื้องต้น (I)

6. สามารถช่วยแก้ปัญหาเบื้องต้น ในเรื่องของผลกระทบจากการส่งออกหน่อไม้ฝรั่ง และผลิตผลทางการเกษตรที่ส่งไปจำหน่ายยังตลาดต่างประเทศ ซึ่งผลสำเร็จของงานวิจัยนี้เป็นผลสำเร็จตามประสงค์ (G)

สมมุติฐานและกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

หน่อไม้ฝรั่งเป็นพืชที่ปลูกบนดิน ดังนั้นจึงเกิดการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ที่มากับแปลงปลูกได้ง่าย อีกทั้งขั้นตอนของการเก็บเกี่ยว การคัดคุณภาพ การตัดแต่ง และการบรรจุหีบห่อหน่อไม้ฝรั่ง ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทั้งทางด้านชีวเคมี การเน่าเสียและการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค ซึ่งการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นดังกล่าวส่งผลให้หน่อไม้ฝรั่งสูญเสียคุณภาพและมีความไม่ปลอดภัยอันเนื่องมาจากเชื้อจุลินทรีย์ ทำให้ไม่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค มีอายุการวางจำหน่ายสั้น และยังก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจ

การใช้สารเคลือบผิวโคโตซานเป็นวิธีการหนึ่งที่ทำได้ง่ายและใช้งบลงทุนไม่สูง ส่วนใหญ่นิยมใช้ในการเคลือบผิวและกำจัดหรือลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับผลิตผลสดทางการเกษตร ซึ่งการใช้เคลือบผิวโคโตซานกับหน่อไม้ฝรั่งจะสามารถใช้ได้ผลดี มีประสิทธิภาพสูง และไม่ส่งผลเสียต่อคุณภาพของหน่อไม้ฝรั่ง อีกทั้งยังสามารถลดหรือกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ได้นั้น จะต้องศึกษาถึงความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโคโตซานที่จะใช้ โดยไม่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาหรือการสูญเสียคุณภาพของหน่อไม้ฝรั่ง ซึ่งจะทำให้สามารถยืดอายุการวางจำหน่ายได้อีกด้วย นอกจากการใช้สารเคลือบผิวโคโตซานแล้ว การใช้รังสี UV-C ก็เป็นอีกวิธีการหนึ่งที่ทำได้ง่าย ลงทุนไม่สูง และเป็นวิธีที่ไม่ใช้สารเคมีที่มีประสิทธิภาพวิธีหนึ่ง ส่วนใหญ่นิยมใช้ในการกำจัดหรือลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมาในผลิตผลสด โดยเฉพาะผลิตผลที่บอบช้ำและเน่าเสียง่าย แต่อย่างไรก็ตามวิธีการดังกล่าวจะสามารถใช้ได้ผลดีและไม่ส่งผลเสียต่อคุณภาพของหน่อไม้ฝรั่งนั้น จะต้องศึกษาถึงระยะเวลาในการฉายรังสี UV-C ที่เหมาะสม โดยไม่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา ชีวเคมี หรือการสูญเสียคุณภาพของหน่อไม้ฝรั่ง ซึ่งการฉายรังสี UV-C สามารถทำได้โดยการฉายรังสี UV-C บนหน่อไม้ฝรั่งก่อนที่จะบรรจุลงในภาชนะบรรจุซึ่งพร้อมสำหรับการส่งออก

ปัจจุบันยังไม่มีรายงานการใช้สารเคลือบผิวโคโตซานร่วมกับการฉายรังสี UV-C ซึ่งหากนำทั้งสองวิธีมาใช้ร่วมกัน อาจช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษาคุณภาพและ/หรือกำจัดหรือยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยเฉพาะเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค เช่น *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp. อันจะทำให้หน่อไม้ฝรั่งที่ส่งออกมีคุณภาพดีเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

ปลอดภัยจากสารเคมี และเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคและก่อให้เกิดการเน่าเสีย ทำให้สามารถรักษาคุณภาพและช่วยยืดอายุการวางจำหน่ายได้อีกด้วย ซึ่งทั้งสองวิธีเป็นทางเลือกหนึ่งในการลดหรือไม่ใช้สารเคมีซึ่งจะช่วยให้ต้นทุนในการผลิตลดต่ำลง และยังเป็นการช่วยส่งเสริมการส่งออกหน่อไม้ฝรั่งที่มีคุณภาพให้มีปริมาณและมูลค่าที่สูงขึ้น อันเป็นการสร้างงานและส่งเสริมตลาดการส่งออกหน่อไม้ฝรั่งของไทยให้มีคุณภาพดี ทัดเทียม และสามารถแข่งขันกับประเทศคู่ค้าที่สำคัญอื่นๆ ได้อีกด้วย

วิธีวิจัย

งานวิจัยนี้แบ่งออกเป็น 7 การทดลอง โดยการทดลองที่ 1 และ 2 เป็นการศึกษาถึงความเข้มข้นของสารเคลือบผิวโคโตซานต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp. บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (In vitro study) โดยเฉพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* ลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ Eosin Methylene Blue (EMB) agar และเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Salmonella* sp. ลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) agar การทดลองที่ 3 และ 4 เป็นการศึกษาถึงระยะเวลาในการฉายรังสี UV-C ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* และ *Salmonella* spp. โดยเฉพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 และ 2 สำหรับการทดลองที่ 5 เป็นการศึกษาถึงผลของการใช้สารเคลือบผิวโคโตซานต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพ และการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp. ที่ปนเปื้อนในหน่อไม้ฝรั่ง โดยเลือกใช้วิธีการที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 1-2 มาใช้ในการทดลองที่ 5 ส่วนการทดลองที่ 6 เป็นการศึกษาถึงระยะเวลาในการฉายรังสี UV-C ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพและการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp. ที่ปนเปื้อนในหน่อไม้ฝรั่ง โดยเลือกใช้วิธีการที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 3-4 มาใช้ในการทดลองที่ 6 สำหรับการทดลองที่ 7 เป็นการศึกษาผลของการใช้สารเคลือบผิวโคโตซานร่วมกับการฉายรังสี UV-C ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพและการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp. ที่ปนเปื้อนในหน่อไม้ฝรั่ง โดยเลือกใช้วิธีการที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 5 และ 6 มาใช้ในการทดลองที่ 7

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของสารเคลือบผิวโคโตซาน ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* (In vitro study)

ในการทดลองนี้ใช้เชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* โดยปลูกเซลล์แขวนลอยของเชื้อ *Escherichia coli* ในรูป cocktail suspension ให้ได้ความเข้มข้นประมาณ 10^5 CFU/ml แล้วดูด cocktail suspension ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เทใส่ให้ทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ EMB agar จากนั้นวาง filter paper disc ซึ่งหยดด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อปริมาตร 10 ไมโครลิตร

(control) หรือหอยดสารเคลือบผิวโคโตซานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 10 ไมโครลิตร วางลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ EMB agar วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ โดยแบ่งวิธีการทดลองออกเป็นดังนี้

- | | |
|--------------|--|
| วิธีการที่ 1 | น้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ (control) |
| วิธีการที่ 2 | สารเคลือบผิวโคโตซานความเข้มข้นร้อยละ 0.5 |
| วิธีการที่ 3 | สารเคลือบผิวโคโตซานความเข้มข้นร้อยละ 1.0 |
| วิธีการที่ 4 | สารเคลือบผิวโคโตซานความเข้มข้นร้อยละ 1.5 |

จากนั้นนำจานอาหารเลี้ยงเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ± 3 ชั่วโมง แล้วตรวจวัดความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* โดยวัดขนาดของวงใสรอบแผ่น filter paper disc (inhibition zone) อ้างอิงตาม Ponce และคณะ (2003) ดังนี้

- | | | |
|----|--------------------------|-----------------------|
| 1. | Inhibition zone < 8 mm | = not sensitive |
| 2. | Inhibition zone 9-14 mm | = sensitive |
| 3. | Inhibition zone 15-19 mm | = very sensitive |
| 4. | Inhibition zone > 20 mm | = extremely sensitive |

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของเคลือบผิวโคโตซาน ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *Salmonella* sp. (In vitro study)

ในการทดลองนี้ใช้เชื้อจุลินทรีย์ *Salmonella* sp. โดยปลูกเซลล์แขวนลอยของเชื้อ *Salmonella* sp. ในรูป cocktail suspension ให้ได้ความเข้มข้นประมาณ 10^5 CFU/ml แล้วดูด cocktail suspension ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD agar จากนั้นวาง filter paper disc ซึ่งหยดด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อปริมาตร 10 ไมโครลิตร (control) หรือหอยดสารเคลือบผิวโคโตซานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 10 ไมโครลิตร วางลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD agar วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ โดยแบ่งวิธีการทดลองออกเป็นดังนี้

- | | |
|--------------|--|
| วิธีการที่ 1 | น้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ (control) |
| วิธีการที่ 2 | สารเคลือบผิวโคโตซานความเข้มข้นร้อยละ 0.5 |
| วิธีการที่ 3 | สารเคลือบผิวโคโตซานความเข้มข้นร้อยละ 1.0 |
| วิธีการที่ 4 | สารเคลือบผิวโคโตซานความเข้มข้นร้อยละ 1.5 |

จากนั้นนำจานอาหารเลี้ยงเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ± 3 ชั่วโมง แล้วตรวจวัดความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *Salmonella* sp. โดยวัดขนาดของวงใสรอบแผ่น filter paper disc (inhibition zone) เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของการฉายรังสี UV-C ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* (In vitro study)

ในการทดลองนี้ใช้เชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* โดยปลูกเซลล์แขวนลอยของเชื้อ *Escherichia coli* ในรูป cocktail suspension ให้ได้ความเข้มข้นประมาณ 10^5 CFU/ml แล้วดูด cocktail suspension ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เกลี่ยให้ทั่วผิวน้ำอาหารเลี้ยงเชื้อ EMB agar จากนั้นเปิดฝาจานอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วทำการฉายรังสีในตู้ฉายรังสี UV-C (Forma Scientific; USA) ซึ่งติดตั้งด้วย GERMICIDAL LAMP ยี่ห้อ Sylvania โดยมีความยาวคลื่น (wavelength) เท่ากับ 253.7 nm เป็นระยะเวลาต่าง ๆ กัน จากนั้นวัดปริมาณรังสี UV-C ด้วยเครื่อง UV meter รุ่น 8.0 UVC (Solartech Inc., USA) โดยคำนวณปริมาณรังสี UV-C ในหน่วยกิโลจูลต่อตารางเมตร (kJ/m^2) โดยเปรียบเทียบกับวิธีการที่ไม่ฉายรังสี UV-C (control) วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ โดยแบ่งวิธีการทดลองออกเป็นดังนี้

วิธีการที่ 1	ไม่ฉายรังสี UV-C (control) (0 kJ/m^2)
วิธีการที่ 2	ฉายรังสี UV-C นาน 1 นาที (1.2 kJ/m^2)
วิธีการที่ 3	ฉายรังสี UV-C นาน 3 นาที (2.4 kJ/m^2)
วิธีการที่ 4	ฉายรังสี UV-C นาน 5 นาที (3.6 kJ/m^2)

จากนั้นนำจานอาหารเลี้ยงเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ± 3 ชั่วโมง แล้วตรวจนับจำนวนโคโลนีของ *Escherichia coli* ที่พบในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยรายงานเป็น colony forming unit (CFU) ต่อมิลลิลิตร ($\log \text{ CFU/ml}$)

การทดลองที่ 4 ศึกษาผลของการฉายรังสี UV-C ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *Salmonella* sp. (In vitro study)

ในการทดลองนี้ใช้เชื้อจุลินทรีย์ *Salmonella* sp. โดยปลูกเซลล์แขวนลอยของเชื้อ *Salmonella* sp. ในรูป cocktail suspension ให้ได้ความเข้มข้นประมาณ 10^5 - 10^6 แล้วดูด cocktail suspension ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เกลี่ยให้ทั่วผิวน้ำอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD agar

จากนั้นเปิดฝาจานอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วทำการฉายรังสีในตู้ฉายรังสี UV-C (Forma Scientific; USA) ซึ่งติดตั้งด้วย GERMICIDAL LAMP ยี่ห้อ Sylvania โดยมีความยาวคลื่น (wavelength) เท่ากับ 253.7 nm เป็นระยะเวลาต่าง ๆ กัน จากนั้นวัดปริมาณรังสี UV-C ด้วยเครื่อง UV meter รุ่น 8.0 UVC (Solartech Inc., USA) โดยคำนวณปริมาณรังสี UV-C ในหน่วยกิโลจูลต่อตารางเมตร (kJ/m^2) วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ โดยแบ่งวิธีการทดลองออกเป็นดังนี้

วิธีการที่ 1	ไม่ฉายรังสี UV-C (control) (0 kJ/m^2)
วิธีการที่ 2	ฉายรังสี UV-C นาน 1 นาที (1.2 kJ/m^2)
วิธีการที่ 3	ฉายรังสี UV-C นาน 3 นาที (2.4 kJ/m^2)
วิธีการที่ 4	ฉายรังสี UV-C นาน 5 นาที (3.6 kJ/m^2)

จากนั้นนำจานอาหารเลี้ยงเชื้อไปปั่นที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ± 3 ชั่วโมง แล้วตรวจนับจำนวนโคโลนีของ *Salmonella* sp. ที่พบในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยรายงานเป็นค่า log CFU/ml

การทดลองที่ 5 ผลของสารเคลือบผิวโคโตซานต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพ และการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp. ในหน่อไม้ฝรั่ง (In vivo study)

ในการทดลองครั้งนี้ใช้หน่อไม้ฝรั่ง ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 เซนติเมตร (เกรดเอ) ซึ่งปลูกในเขตพื้นที่จังหวัดนครปฐม จากนั้นคัดเลือกคุณภาพของหน่อไม้ฝรั่ง โดยเลือกหน่อที่มีลักษณะปลายหน่อตั้งตรง ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางและความยาวใกล้เคียงกัน ปราศจากตำหนิ โรคและแมลง แล้วนำหน่อไม้ฝรั่งที่ได้มาล้างทำความสะอาดบริเวณโคนหน่อด้วยน้ำประปา เพื่อล้างเอาเศษดินและสิ่งแปลกปลอมออกและล้างให้สะอาดดีน้ำ จากนั้นตัดโคนของหน่อไม้ฝรั่งเพื่อให้ได้หน่อไม้ฝรั่งที่มีความยาว 12 เซนติเมตร ซึ่งเป็นความยาวที่ใช้ในการส่งออกหน่อไม้ฝรั่ง จากนั้นนำหน่อไม้ฝรั่งไปจุ่มด้วยสารเคลือบผิวโคโตซานตามวิธีการที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 1 และ 2 แล้วทิ้งไว้ให้แห้งในตู้ Biohazard laminar flow จากนั้นนำหน่อไม้ฝรั่งบรรจุลงในถาดโฟม ถาดละ 15 หน่อ แล้วหุ้มเชลล์แขวนลอยของเชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* หรือ *Salmonella* sp. ที่ความเข้มข้น 10^5 CFU/ml ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร เกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าหน่อไม้ฝรั่ง แล้วทิ้งไว้ให้แห้งในตู้ Biohazard laminar flow จากนั้นหุ้มถาดโฟมด้วยฟิล์ม

พลาสติกชนิด PVC ความหนา 14 μm วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ โดยแบ่งออกเป็น 2 การทดลองย่อย ดังนี้

การทดลองที่ 5.1 ผลของสารเคลือบผิวไคโตซานต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพ และการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* ในหน่อไม้ฝรั่ง

วิธีการที่ 1	จุ่มน้ำกลั่น (control)
วิธีการที่ 2	หน่อไม้ฝรั่ง + <i>Escherichia coli</i>
วิธีการที่ 3	หน่อไม้ฝรั่ง + ไคโตซานที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 1 + <i>Escherichia coli</i>

การทดลองที่ 5.2 ผลของสารเคลือบผิวไคโตซานต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพ และการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *Salmonella* sp. ในหน่อไม้ฝรั่ง

วิธีการที่ 1	จุ่มน้ำกลั่น (control)
วิธีการที่ 2	หน่อไม้ฝรั่ง + <i>Salmonella</i> sp.
วิธีการที่ 3	หน่อไม้ฝรั่ง + ไคโตซานที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 2 + <i>Salmonella</i> sp.

นำถาดโฟมที่บรรจุหน่อไม้ฝรั่งไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่ใช้ในการวางจำหน่าย ตรวจวัดผลการทดลองทุก ๆ 3 วัน โดยตรวจหาเชื้อจุลินทรีย์ในหน่อไม้ฝรั่ง ทำโดยนำตัวอย่างมา 25 กรัม ใส่ในถุง stomacher ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นเติม peptone water ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ปริมาตร 225 มิลลิลิตร นำไปตีปั่นด้วยเครื่อง stomacher นาน 1 นาที แล้วนำสารละลายที่ได้ปริมาตร 1 มิลลิลิตร มาทำ serial dilution เพื่อให้ได้ความเข้มข้นของเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสมสำหรับเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ EMB agar (สำหรับตรวจหา *Escherichia coli*) อาหาร XLD agar (สำหรับตรวจหา *Salmonella* sp.) plate count agar (PCA) (สำหรับตรวจหา total bacteria count) และอาหาร potato dextrose agar (PDA สำหรับตรวจหาเชื้อยีสต์และรา)

โดยดูสารละลายตัวอย่างที่เจือจางแล้วปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วเทอาหารเลี้ยงเชื้อลงไปผสมให้เข้ากัน (pour plate technique) สำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA EMB และ XLD agar นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ± 3 ชั่วโมง และสำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5-7 วัน จากนั้น ตรวจนับ

จำนวนโคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และลักษณะอาการผิดปกติของ
หน่อไม้ฝรั่ง ดังนี้

1. *Escherichia coli*
2. *Salmonella* sp.
3. Total bacteria count
4. Yeast and molds
5. ลักษณะอาการผิดปกติ เช่น การเกิดสีน้ำตาล การเหี่ยว และความเสียหาย
อื่น ๆ โดยให้คะแนนในช่วง 1-5 (1 = excellent, 2 = very good, 3 = good
(limit of marketability), 4 = fairly good และ 5 = poor)
6. อายุการวางจำหน่าย

**การทดลองที่ 6 ผลของการฉายรังสี UV-C ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพ และการ
ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* และ
Salmonella sp. ในหน่อไม้ฝรั่ง (In vivo study)**

ในการทดลองครั้งนี้ใช้หน่อไม้ฝรั่งที่ผ่านการล้างทำความสะอาดเช่นเดียวกับการทดลอง
ที่ 5 จากนั้นนำหน่อไม้ฝรั่งบรรจุลงในภาชนะปิด ภาชนะ 15 หน่อ แล้วดูดเซลล์แขวนลอยของ
เชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp. ที่ความเข้มข้นประมาณ 10^5 CFU/ml
ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร เกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าหน่อไม้ฝรั่ง แล้วทิ้งไว้ให้แห้งในตู้ Biohazard laminar
flow จากนั้นนำไปฉายรังสี UV-C โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized
Design (CRD) ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ โดยแบ่งออกเป็น 2 การทดลองย่อยดังนี้

**การทดลองที่ 6.1 ผลของการฉายรังสี UV-C การเปลี่ยนแปลงคุณภาพ และการ
ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* ในหน่อไม้ฝรั่ง**

- | | |
|--------------|---|
| วิธีการที่ 1 | ไม่ฉายรังสี UV-C (control) |
| วิธีการที่ 2 | หน่อไม้ฝรั่ง + <i>Escherichia coli</i> |
| วิธีการที่ 3 | หน่อไม้ฝรั่ง + UV-C ที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 3 + <i>Escherichia coli</i> |

การทดลองที่ 6.2 ผลของการฉายรังสี UV-C ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพ และการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *Salmonella* sp. ในหน่อไม้ฝรั่ง

- วิธีการที่ 1 ไม่ฉายรังสี UV-C (control)
- วิธีการที่ 2 หน่อไม้ฝรั่ง + *Salmonella* sp.
- วิธีการที่ 3 หน่อไม้ฝรั่ง + UV-C ที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 4 + *Salmonella* sp.

จากนั้นหุ้มถาดโพลีเอทิลีนที่บรรจุหน่อไม้ฝรั่งด้วยฟิล์มพลาสติกชนิด PVC ความหนา 14 μm นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ตรวจสอบผลการทดลองทุก ๆ 3 วัน โดยบันทึกผล เช่นเดียวกับการทดลองที่ 5 ดังนี้

1. *Escherichia coli*
2. *Salmonella* sp.
3. Total bacteria count
4. Yeast and molds
5. ลักษณะอาการผิดปกติ เช่น การเกิดสีน้ำตาล การเหี่ยว และความเสียหายอื่น ๆ โดยให้คะแนนเช่นเดียวกับการทดลองที่ 5
6. อายุการวางจำหน่าย

การทดลองที่ 7 ผลของการสารเคลือบผิวไคโตซานร่วมกับการฉายรังสี UV-C ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพ และการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp. ในหน่อไม้ฝรั่ง (Invivo study)

ในการทดลองครั้งนี้ใช้หน่อไม้ฝรั่งที่ผ่านการล้างทำความสะอาดเช่นเดียวกับการทดลองที่ 5 และ 6 โดยเลือกวิธีการที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 5 และ 6 วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ โดยแบ่งวิธีการทดลองซึ่งทำตามลำดับขั้นตอนออกเป็นดังนี้

- วิธีการที่ 1 จุ่มน้ำกลั่น + ไม่ฉายรังสี UV-C (control)
- วิธีการที่ 2 หน่อไม้ฝรั่ง + ไคโตซานที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 5 + *Escherichia coli* + *Salmonella* sp.
- วิธีการที่ 3 หน่อไม้ฝรั่ง + *Escherichia coli* + *Salmonella* sp. + UV-C ที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 6

วิธีการที่ 4 หน่อไม้ฝรั่ง + ไคโตซานที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 5 + *Escherichia coli* + *Salmonella* sp. + UV-C ที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 6

จากนั้นหุ้มถาดโฟมที่บรรจุหน่อไม้ฝรั่งด้วยฟิล์มพลาสติกชนิด PVC ความหนา 14 μm นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ตรวจวัดผลการทดลองทุก ๆ 3 วัน โดยบันทึกผลการทดลองดังนี้

1. *Escherichia coli*
2. *Salmonella* sp.
3. Total bacteria count
4. Yeast and molds
5. ลักษณะอาการผิดปกติ เช่น การเกิดสีน้ำตาล การเหี่ยว และความเสียหายอื่น ๆ โดยให้คะแนนเช่นเดียวกับการทดลองที่ 5
6. ปริมาณลิกนิน (Doster and Bostock, 1988)
7. ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และบี
8. ปริมาณวิตามินซี
9. อายุการวางจำหน่าย

ผลและวิจารณ์

การทดลองที่ 1 และ 2 ผลของสารเคลือบผิวไคโตซานต่อการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp.

จากการใช้สารเคลือบผิวไคโตซานที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp. พบว่าการใช้สารเคลือบผิวไคโตซานที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp. ได้ดีที่สุด โดยมีขนาดของ inhibition diameter ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp. กว้างที่สุด (Fig. 1) คือเท่ากับ 10.11 และ 4.75 มิลลิเมตร (Table 1) ตามลำดับ รองลงมาคือการใช้สารเคลือบผิวไคโตซานที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1.0 และ 1.5 ตามลำดับ โดยมีขนาดของ inhibition diameter ในการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* เท่ากับ 7.41 และ 3.24 มิลลิเมตร ตามลำดับ ในขณะที่มีขนาดของ inhibition diameter ในการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* sp. เท่ากับ 3.24 และ 2.00 มิลลิเมตร ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าสารเคลือบผิวไคโตซานมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* ได้ดีกว่าเชื้อ *Salmonella* sp.

จากการทดลองพบว่าการไม่ใช้สารเคลือบผิวไคโตซาน (0%, control) ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp. ได้ ในขณะที่การใช้สารเคลือบผิวไคโตซานสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้เนื่องจากโมเลกุลของไคโตซานมีประจุเป็นบวก ในขณะที่ cell membrane ของจุลินทรีย์มีประจุเป็นลบ ดังนั้นจึงทำให้ไคโตซานซึ่งมีประจุบวกจับกับประจุลบที่ cell membrane ของจุลินทรีย์ และรวมตัวกันเป็นก้อน (agglutination) จึงทำให้โปรตีนและสารต่าง ๆ ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์เกิดการรั่วไหลทำให้จุลินทรีย์ตายได้ (Seo, et al., 1992) เมื่อเปรียบเทียบผลของสารเคลือบผิวไคโตซานต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 2 สายพันธุ์ (Figure 1) จะพบว่า *Escherichia coli* เป็นจุลินทรีย์ที่มีการตอบสนอง (sensitive) ต่อสารเคลือบผิวไคโตซานได้มากกว่า *Salmonella* sp. โดย *Escherichia coli* จะไม่สามารถเจริญเข้าไปในบริเวณรอบแผ่นกระดาษตาปลาซึ่งมีสารเคลือบผิวไคโตซานอยู่ได้เมื่อเทียบกับการเจริญของเชื้อ *Salmonella* sp. ดังนั้นจึงทำให้ขนาด inhibition diameter ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปลูกเชื้อ *Escherichia coli* กว้างกว่าจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปลูกเชื้อ *Salmonella* sp. ดังนั้นเพื่อให้ได้ประสิทธิภาพของไคโตซานในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในผักและผลไม้สด จึงควรศึกษาชนิดของสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในผักและผลไม้สดแต่ละชนิดด้วย

Table 1 Inhibition diameter (mm) of chitosan solutions at 0, 0.5, 1.0 and 1.5% against *Escherichia coli* and *Salmonella* sp.

Chitosan concentrations (%)	Inhibition diameter* (mm)	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella</i> sp.
0	0	0
0.5	10.11 ^a	4.75 ^a
1.0	7.41 ^b	3.25 ^b
1.5	3.24 ^c	2.00 ^c

* Data having a same letter within each microbial species are not significantly different ($p \leq 0.05$).

มีรายงานว่า การใช้สารละลายไคโตซานความเข้มข้นร้อยละ 2 สามารถยับยั้งการเจริญของ total mesophilic, psychrotrophic bacteria และ coliforms ที่ปนเปื้อนในบร็อคโคลี่ตัดแต่งพร้อมบริโภคที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5-7 องศาเซลเซียส (Moreira et al., 2011) การเพิ่มประสิทธิภาพของไคโตซานสามารถทำได้โดย การใช้ประยุกต์ใช้สารเคลือบผิวไคโตซานกับสารที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ โดยมีรายงานว่า การเติมสารที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ เช่น allyl isothiocyanate และ/หรือ nisin ลงในสารละลายไคโตซานความเข้มข้นร้อยละ 2 สามารถช่วยยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella* ที่ปนเปื้อนในผลแคนตาลูปได้ โดยพบว่าการผสม nisin ลงในสารละลายไคโตซานจะช่วยยับยั้งเชื้อ *Salmonella* ได้ดีกว่าการผสม allyl isothiocyanate ลงในสารละลายไคโตซาน (Chen et al., 2012) นอกจากนี้ยังพบว่า

การประสิทธิภาพในการลดปริมาณ *Salmonella* ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของ nisin ที่ใช้ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าการใช้ essential oil (tea tree, rose mary, clove, lemon, oreganum calendula และ aloe vera) และ/หรือ bioactive compound (bee pollen, ethanolic extract of propolis, pomegranate dried extract) ผสมกับสารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 ช่วยลดปริมาณเชื้อ *Escherichia coli* O157:H7 และ *Listeria monocytogenes* ที่ปนเปื้อนในบรีดโคลิสดัดแต่งพร้อมบริโภคที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5-7 องศาเซลเซียสได้ (Alvarez et al., 2013)

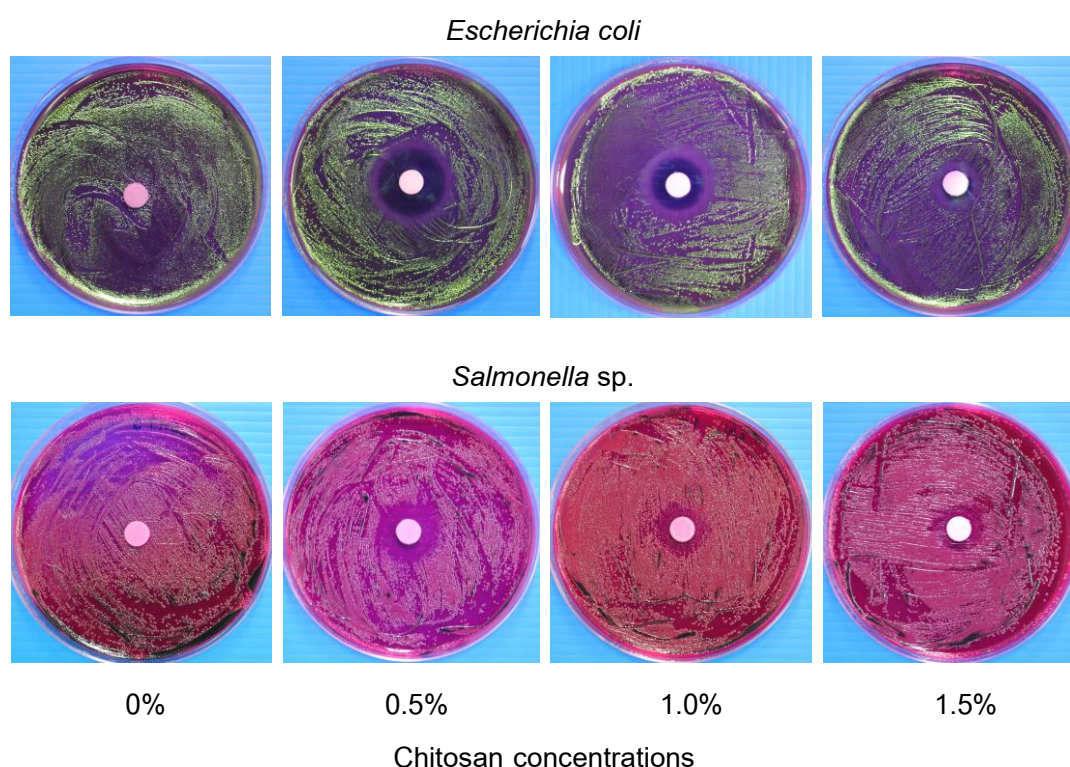


Figure 1 Inhibition zone of 0, 0.5, 1.0 and 1.5% chitosan on *Escherichia coli* (up) and *Salmonella* sp. (down) growths on agar surfaces. Petri dishes were incubated at $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ for 48 ± 3 hr.

การทดลองที่ 3 และ 4 ผลของการฉายรังสี UV-C ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp.

จากการฉายรังสี UV-C เป็นระยะเวลา 0 (0 kJ/m^2), 1 (1.2 kJ/m^2), 3 (2.4 kJ/m^2) และ 5 (3.6 kJ/m^2) นาที ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp. พบว่าการไม่ฉายรังสี UV-C (0 นาที) มีการเจริญของ *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp. เท่ากับ 2.35 และ 2.28 log CFU/ml ตามลำดับ ในขณะที่การฉายรังสี UV-C เป็นระยะเวลาตั้งแต่ 1 นาที (1.2 kJ/m^2) ขึ้นไปสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* และ

Salmonella sp. ได้อย่างสมบูรณ์ (Table 2) ดังนั้นจึงเลือกการฉายรังสี UV-C ที่ระยะเวลา 1 นาที ซึ่งมีปริมาณรังสี UV-C เท่ากับ 1.2 kJ/m^2 ไปใช้ในการทดลองต่อไป

Table 2 UV-C irradiation for 0 (0 kJ/m^2), 1 (1.2 kJ/m^2), 3 (2.4 kJ/m^2) and 5 (3.6 kJ/m^2) minutes against *Escherichia coli* and *Salmonella* sp. on agar plates.

UV-C irradiation (min)	Microbial count* (Log CFU/ml)	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella</i> sp.
0	2.35 ^a	2.28 ^a
1	0 ^b	0 ^b
3	0 ^b	0 ^b
5	0 ^b	0 ^b

* Data having a same letter within each microbial species are not significantly different ($p \leq 0.05$).

ประสิทธิภาพของรังสี UV-C ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์แตกต่างกันไปตามชนิดจุลินทรีย์ สายพันธุ์ของจุลินทรีย์ และปริมาณรังสีที่ได้รับ Alegria et al. (2012) รายงานว่าการฉายรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสี 0.36 kJ/m^2 สามารถช่วยลดปริมาณ total mesophilic aerobic ที่ปนเปื้อนในแครอทตัดแต่งพร้อมบริโภคได้ประมาณ $1.7 \log \text{ CFU/g}$ ซึ่งให้ผลในการลดปริมาณจุลินทรีย์เช่นเดียวกับที่ใช้สารละลายคลอรีน ($1.9 \log \text{ CFU/g}$) ความเข้มข้น 200 ppm ในขณะที่ Kim et al. (2009) พบว่าการฉายรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสี $1-10 \text{ kJ/m}^2$ ช่วยลด total aerobic bacteria ที่ปนเปื้อนใน alfalfa และ clover sprout ได้ประมาณ $1.03-1.45 \log \text{ CFU/g}$ นอกจากนี้ยังพบว่าการฉายรังสี UV-C สามารถช่วยลดจำนวน *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium* และ *Listeria monocytogenes* ได้ 1.02 , 1.06 และ $0.87 \log \text{ CFU/g}$ ตามลำดับ เมื่อเทียบกับการไม่ฉายรังสี UV-C การฉายรังสี UV-C สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้เนื่องจากรังสี UV-C ไปมีผลทำให้ DNA ได้รับความเสียหาย จึงทำให้เกิดการเชื่อมต่อกันของพันธะระหว่าง pyrimidine bases ที่อยู่ข้างเคียง ซึ่งก็คือ thymine และ cytosine ในสาย DNA (Sastry et al., 2000) และทำให้การจับกันของ purine bases ไม่สามารถจับกันได้ด้วยพันธะ hydrogen เป็นผลให้การแปลและการเพิ่มจำนวน DNA ไม่สามารถทำได้ ดังนั้นจึงทำให้เซลล์จุลินทรีย์ตายได้ (Unluturk et al., 2008)

การประยุกต์ใช้การฉายรังสี UV-C ในการลดการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ทางเกษตรหลายชนิด เช่น การฉายรังสี UV-C กับแครอทพร้อมบริโภค (Alegria et al., 2012), spearmint (Poubol et al., 2010) alfalfa และ clover sprouts (Kim et al., 2009) โดยพบว่าการฉายรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสี 0.36 kJ/m^2 ช่วยลดปริมาณ mesophilic aerobic bacteria ที่ปนเปื้อนในแครอทพร้อมบริโภคได้ประมาณ $1 \log \text{ CFU/g}$ เมื่อเทียบกับการไม่ฉายรังสี UV-C (Alegria et al., 2012) ในขณะที่ยังพบว่าการฉายรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสี $1-10 \text{ kJ/m}^2$ ช่วยลดปริมาณ

aerobic bacteria ที่ปนเปื้อนใน alfalfa และ clover sprouts ได้ประมาณ 1.03-1.45 log CFU/g (Kim et al., 2009) และการฉายรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสี 3.6 kJ/m² สามารถลดปริมาณ *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp. ที่เลี้ยงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อได้ แต่ไม่สามารถลดปริมาณ *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp. ที่ปนเปื้อนใน spearmint ได้ (Poubol et al., 2010) ดังนั้นจึงมีการศึกษาประสิทธิภาพของการฉายรังสี UV-C ต่อการลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร เมื่อเร็ว ๆ นี้มีรายงานว่า การฉายรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสี 3.6 kJ/m² สามารถลดปริมาณเชื้อ *Escherichia coli* O157:H7 และ *Salmonella typhimurium* ที่ปนเปื้อนใน buckwheat sprouts ได้ 3.0 และ 2.3 log CFU/g ตามลำดับ (Chun and Song, 2013)

การทดลองที่ 5 ผลของสารเคลือบผิวโคโตซานต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพ และการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp. ในหน่อไม้ฝรั่ง (In vivo study)

5.1 ผลของสารเคลือบผิวโคโตซานต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในหน่อไม้ฝรั่งที่ปนเปื้อนด้วย *Escherichia coli*

ในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษาหน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในน้ำเกลือ (ชุดควบคุม) มีปริมาณเชื้อ *Escherichia coli* เท่ากับ 1.6 log CFU/g (Fig. 2A) ซึ่งมีค่าต่ำกว่าปริมาณจุลินทรีย์ต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (2.4 log CFU/g) ในขณะที่มีปริมาณเชื้อ *Salmonella* sp. เท่ากับ 3.1 log CFU/g ซึ่งสูงกว่าปริมาณจุลินทรีย์ต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (Fig. 2B). ในขณะที่หน่อไม้ฝรั่งที่ผ่านการจุ่มในสารเคลือบผิวโคโตซานที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 แล้วผสมด้วยเชื้อ *Escherichia coli* มีปริมาณ *Escherichia coli* count เท่ากับ 2.4 log CFU/g ซึ่งมีค่าต่ำกว่าหน่อไม้ฝรั่งที่ไม่ได้จุ่มในสารเคลือบผิวโคโตซานแล้วผสมด้วยเชื้อ *Escherichia coli* ซึ่งมีปริมาณ *Escherichia coli* เท่ากับ 3.1 log CFU/g (Fig. 2A). จากการทดลองพบว่าสารละลายโคโตซานช่วยลดการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* ที่ปนเปื้อนในหน่อไม้ฝรั่งได้ โดยสามารถลดปริมาณเชื้อ *Escherichia coli* ในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษาได้ประมาณ 0.6 log CFU/g ภายหลังจากที่เก็บรักษาหน่อไม้ฝรั่งที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน จะพบว่าสารเคลือบผิวโคโตซานสามารถลดปริมาณเชื้อ *Escherichia coli* ได้ประมาณ 0.4 log CFU/g แต่เมื่อเก็บรักษาหน่อไม้ฝรั่งเป็นเวลา 6 วัน จะพบว่าเชื้อ *Escherichia coli* มีปริมาณเพิ่มสูงขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากจากการยับยั้งกิจกรรมของแบคทีเรียแกรมลบ (Gram-negative bacteria) ซึ่งเกี่ยวข้องกับคุณสมบัติในด้านโครงสร้างของโคโตซาน (structural properties) (Raybaudi-Massilia, et al., 2009) ซึ่งโคโตซานไม่สามารถซึมผ่านเข้าสู่ผนังเซลล์ชั้นนอก (outer membrane) ของ

แบคทีเรียแกรมลบได้ (Nikaido, 1996) แต่เมื่อเก็บรักษาหน่อไม้ฝรั่งเป็นเวลานาน 9 วัน จะตรวจไม่พบเชื้อ *Escherichia coli* ในตัวอย่างหน่อไม้ฝรั่งในทุกวิธีการทดลอง ยกเว้นหน่อไม้ฝรั่งในชุดควบคุม

จากการตรวจวัดปริมาณเชื้อ *Salmonella* sp. ในหน่อไม้ฝรั่ง พบว่าตรวจพบเชื้อ *Salmonella* sp. เฉพาะหน่อไม้ฝรั่งในชุดควบคุม โดยเชื้อ *Salmonella* sp. มีปริมาณเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 3 วัน หลังจากนั้นปริมาณเชื้อ *Salmonella* sp. จะมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อยและค่อนข้างคงที่ตลอดอายุการเก็บรักษา (Fig. 2B) ในขณะที่ตรวจไม่พบเชื้อ *Salmonella* sp. ในตัวอย่างหน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในสารเคลือบผิวไคโตซานความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และผสมด้วยเชื้อ *Escherichia coli* และในตัวอย่างหน่อไม้ฝรั่งที่ผสมด้วยเชื้อ *Escherichia coli* เพียงอย่างเดียว

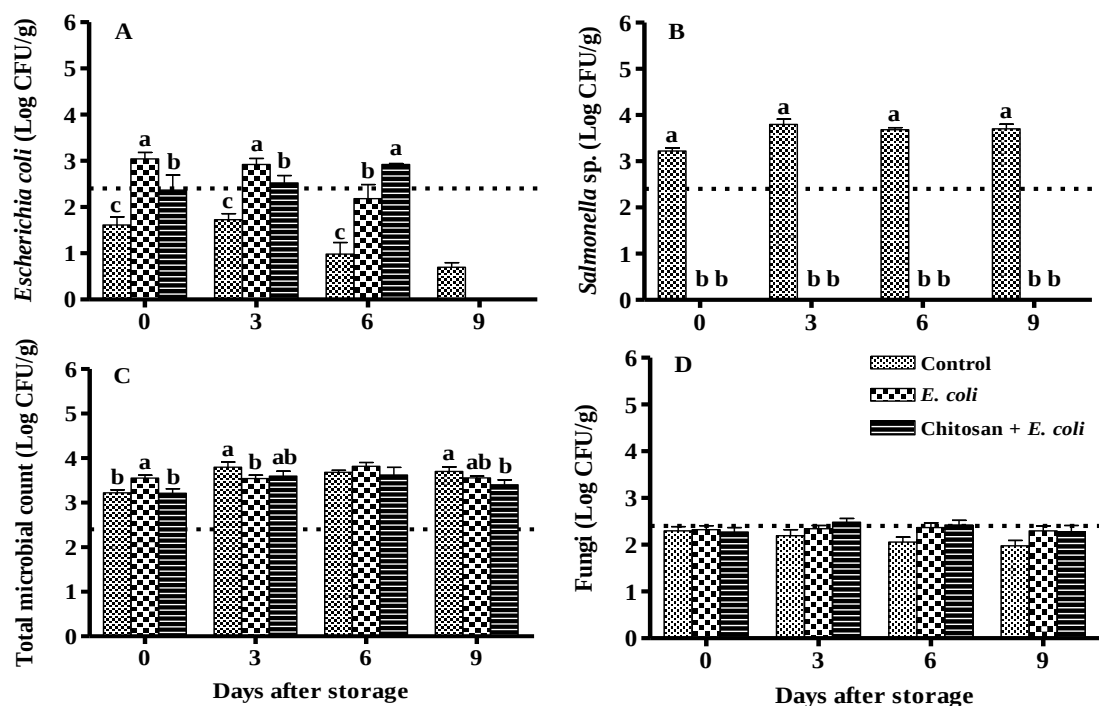


Figure 2 *Escherichia coli* (A), *Salmonella* sp. (B), total microbial (C), and fungi counts (D) of asparagus spear coated with 0.5% chitosan solution and inoculated with *Escherichia coli*, then stored at 10°C for 9 days. Dotted line represents microbial counts were below the detection level.

จากการตรวจวัดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และราในตัวอย่างหน่อไม้ฝรั่งในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษา พบว่าหน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในน้ำกัลัน (ชุดควบคุม) มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ 3.1 log CFU/g (Fig. 2C) และมีปริมาณยีสต์และราเท่ากับ 2.3 log CFU/g (Fig.

2D) ในขณะที่หน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในสารเคลือบผิวโคโตซานความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และผสมด้วยเชื้อ *Escherichia coli* มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และราต่ำกว่าหน่อไม้ฝรั่งที่ไม่ได้จุ่มในสารเคลือบผิวโคโตซานเพียงเล็กน้อย (Fig. 2C, D) เมื่อเก็บรักษาหน่อไม้ฝรั่งไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส จะพบว่าหน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในสารเคลือบผิวโคโตซานมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดต่ำกว่าหน่อไม้ฝรั่งที่ไม่ได้จุ่มในสารเคลือบผิวโคโตซานเล็กน้อย สำหรับการเปลี่ยนแปลงปริมาณยีสต์และราจะพบว่ามีความลดลงเล็กน้อย แต่อย่างไรก็ตามยีสต์และราที่ตรวจวัดได้มีปริมาณต่ำกว่าปริมาณจุลินทรีย์ต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ ($\leq 2.4 \log \text{CFU/g}$) แต่อย่างไรก็ตามปริมาณยีสต์และราที่ตรวจพบ มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติจากปริมาณยีสต์และราที่ตรวจพบในตัวอย่างหน่อไม้ฝรั่งอื่น (Fig. 1D) ซึ่งการเลือกใช้สารเคลือบผิวโคโตซานมีผลในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์แตกต่างกันไปตามชนิดและสายพันธุ์ของจุลินทรีย์

5.2 ผลของสารเคลือบผิวโคโตซานต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในหน่อไม้ฝรั่งที่ปนเปื้อนด้วย *Salmonella* sp.

ในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษาหน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) มีปริมาณ *Escherichia coli* เท่ากับ $1.6 \log \text{CFU/g}$ ซึ่งมีปริมาณต่ำกว่าปริมาณจุลินทรีย์ต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ ($2.4 \log \text{CFU/g}$) ในขณะที่ตรวจไม่พบ *Escherichia coli* ในตัวอย่างหน่อไม้ฝรั่งที่ผสมด้วยเชื้อ *Salmonella* sp. และตัวอย่างหน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในสารละลายโคโตซานและผสมด้วยเชื้อ *Salmonella* sp. (Fig. 3A) จากการตรวจวัดปริมาณ *Salmonella* sp. พบว่าหน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในน้ำกลั่นมีปริมาณ *Salmonella* sp. เท่ากับ $3.1 \log \text{CFU/g}$ ซึ่งมีปริมาณเชื้อที่สูงกว่าปริมาณจุลินทรีย์ต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (Fig. 3B) ในขณะที่หน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในสารละลายโคโตซานความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และผสมด้วยเชื้อ *Salmonella* sp. มีปริมาณ *Salmonella* sp. ต่ำกว่าเพียงเล็กน้อยคือเท่ากับ $2.9 \log \text{CFU/g}$ ซึ่งต่ำกว่าหน่อไม้ฝรั่งที่ผสมด้วยเชื้อ *Salmonella* sp. แต่ไม่ได้จุ่มในสารละลายโคโตซานเพียงเล็กน้อย ($3.0 \log \text{CFU/g}$) ซึ่งสารเคลือบผิวโคโตซานสามารถลดปริมาณ *Salmonella* sp. ที่ปนเปื้อนในหน่อไม้ฝรั่งได้ประมาณ $0.1 \log \text{CFU/g}$ แต่อย่างไรก็ตามปริมาณ *Salmonella* sp. ที่ตรวจพบมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ภายหลังจากที่เก็บรักษาหน่อไม้ฝรั่งที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส พบว่าตรวจพบเชื้อ *Escherichia coli* เฉพาะในตัวอย่างหน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในน้ำกลั่น ในขณะที่ตรวจไม่พบเชื้อ *Escherichia coli* ในตัวอย่างหน่อไม้ฝรั่งในชุดการทดลองอื่น (Fig. 3A) สำหรับการเปลี่ยนแปลงปริมาณ *Salmonella* sp. พบว่าหน่อไม้ฝรั่งในชุดควบคุมมีปริมาณเชื้อ *Salmonella* sp. เพิ่มขึ้นเป็น $3.7 \log \text{CFU/g}$ ในวันที่ 3 ของการเก็บรักษา (Fig. 3B) ซึ่งมีปริมาณเชื้อ *Salmonella* sp. สูงที่สุด ในขณะที่หน่อไม้ฝรั่งที่ผสมด้วยเชื้อ *Salmonella* sp. มีปริมาณเชื้อเท่ากับ $2.6 \log \text{CFU/g}$

ซึ่งลดลงจากวันเริ่มต้นของการเก็บรักษาประมาณ 0.5 log CFU/g ในขณะที่หน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในสารละลายไคโตซานและผสมด้วยเชื้อ *Salmonella* sp. มีปริมาณ *Salmonella* sp. ต่ำกว่า คือ ปริมาณ *Salmonella* sp. เท่ากับ 0.9 log CFU/g ซึ่งลดลงจากวันเริ่มต้นของการเก็บรักษาประมาณ 2.1 log CFU/g โดยปริมาณเชื้อ *Salmonella* sp. ที่ตรวจพบในหน่อไม้ฝรั่งในแต่ละชุดการทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และเมื่อเก็บรักษานานขึ้นจะพบว่าตรวจพบเชื้อ *Salmonella* sp. เฉพาะในตัวอย่างหน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในน้ำกลั่น การที่สารละลายไคโตซานสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ อาจเนื่องมาจากคุณสมบัติในด้านโครงสร้างของไคโตซานซึ่งมีประจุบวก จึงสามารถทำปฏิกิริยาได้ดีกับเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membranes) ของแบคทีเรียซึ่งมีประจุลบ ดังนั้นจึงทำให้เซลล์ของจุลินทรีย์เกิดการรั่วไหล (Dutta et al., 2009) และทำให้จุลินทรีย์ตายได้

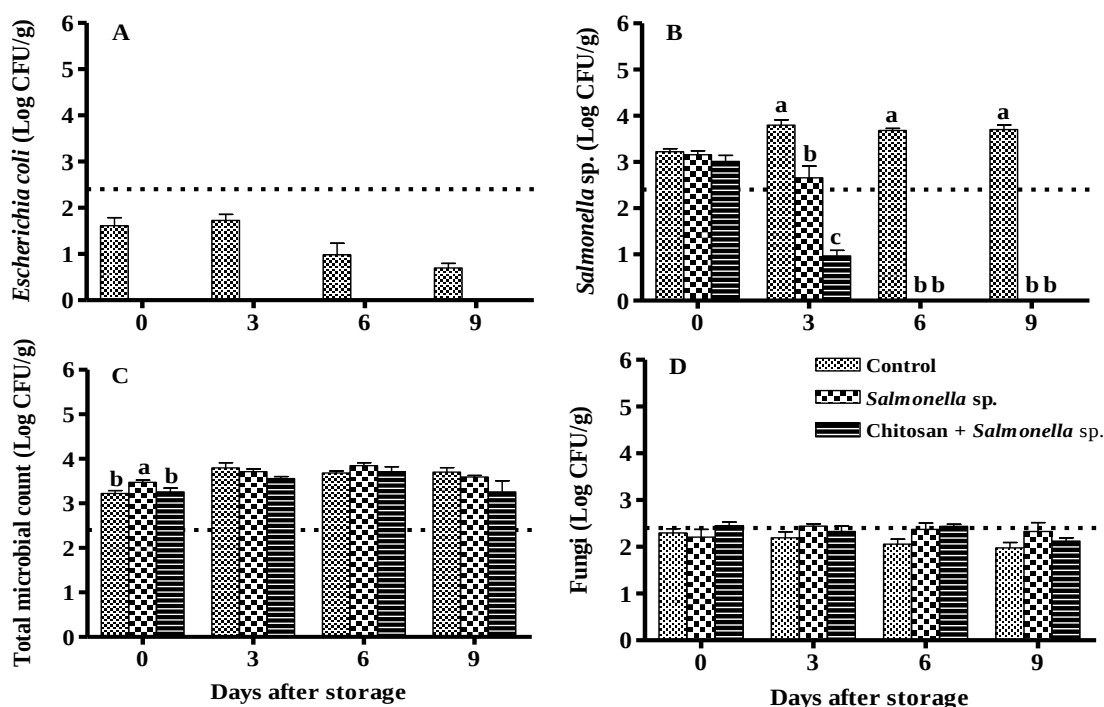


Figure 3 *Escherichia coli* (A), *Salmonella* sp. (B), total microbial (C), and fungi counts (D) of asparagus spear coated with 0.5% chitosan solution and inoculated with *Salmonella* sp., then stored at 10°C for 9 days. Dotted line represents microbial counts were below the detection level.

เมื่อพิจารณาถึงการเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และรา จะเห็นได้ว่าในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษาหน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในน้ำกลั่นมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ 3.2 log CFU/g (Fig. 3C) ในขณะที่มีปริมาณยีสต์และราเท่ากับ 2.3 log CFU/g (Fig. 3D) ซึ่งต่ำกว่า

ปริมาณจุลินทรีย์ต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ และเมื่อเก็บรักษาหน่อไม้ฝรั่งที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส จะพบว่าหน่อไม้ฝรั่งในทุกชุดการทดลองมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มสูงขึ้นเพียงเล็กน้อยและค่อนข้างคงที่ตลอดอายุการเก็บรักษา โดยมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา (วันที่ 9) อยู่ในช่วง 3.1-3.8 log CFU/g ในขณะที่ยีสต์และราที่มีปริมาณไม่เกิน 2.4 log CFU/g และมีปริมาณค่อนข้างคงที่ตลอดอายุการเก็บรักษา (Fig. 3D)

5.3 ผลของสารเคลือบผิวไคโตซาน ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของหน่อไม้ฝรั่งที่ปนเปื้อนด้วยเชื้อ *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp.

ในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษา หน่อไม้ฝรั่งที่ผสมด้วยเชื้อ *Escherichia coli* (Fig. 4A, C) และ *Salmonella* sp. (Fig. 4B, D) ในทุกวิธีการทดลองมีคุณภาพดี (excellent) โดยหน่อไม้ฝรั่งไม่มีอาการฉ่ำน้ำและไม่มีอาการเหี่ยวเกิดขึ้น ซึ่งกำหนดให้หน่อไม้ฝรั่งที่มีคุณภาพในระดับดีไม่มีอาการผิดปกติเกิดขึ้นได้คะแนนการยอมรับจากผู้บริโภคเท่ากับ 1 คะแนน แต่เมื่อเก็บรักษาหน่อไม้ฝรั่งที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส จะพบว่าหน่อไม้ฝรั่งในทุกวิธีการทดลองไม่มีอาการฉ่ำน้ำและอาการเหี่ยวเกิดขึ้นในช่วง 3 วันแรกของการเก็บรักษา แต่เมื่อเก็บรักษาหน่อไม้ฝรั่งเป็นเวลา 6 วัน จะพบว่าหน่อไม้ฝรั่งในทุกวิธีการทดลองมีอาการฉ่ำน้ำเกิดขึ้นบริเวณส่วนยอดของหน่อ และอาการฉ่ำน้ำจะเพิ่มสูงขึ้นในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา (วันที่ 9) แต่อย่างไรก็ตามหน่อไม้ฝรั่งในทุกวิธีการทดลองมีคะแนนการเกิดอาการฉ่ำน้ำไม่เกิน 3 คะแนน ซึ่งแสดงถึงคุณภาพของหน่อไม้ฝรั่งที่ยังสามารถวางจำหน่ายได้ (Fig. 4A, B)

สำหรับอาการเหี่ยวที่เกิดขึ้นบริเวณหน่อของหน่อไม้ฝรั่ง จะพบว่าหน่อไม้ฝรั่งในทุกวิธีการทดลองมีอาการเหี่ยวเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วในวันที่ 6 ของการเก็บรักษา และเพิ่มขึ้นสูงสุดในวันที่ 9 ของการเก็บรักษา (Fig. 4C, D) โดยมีคะแนนเพิ่มสูงกว่า 3 คะแนน แต่ไม่เกิน 3.5 คะแนน จึงทำให้หน่อไม้ฝรั่งมีอายุการวางจำหน่ายได้เพียง 6 วัน

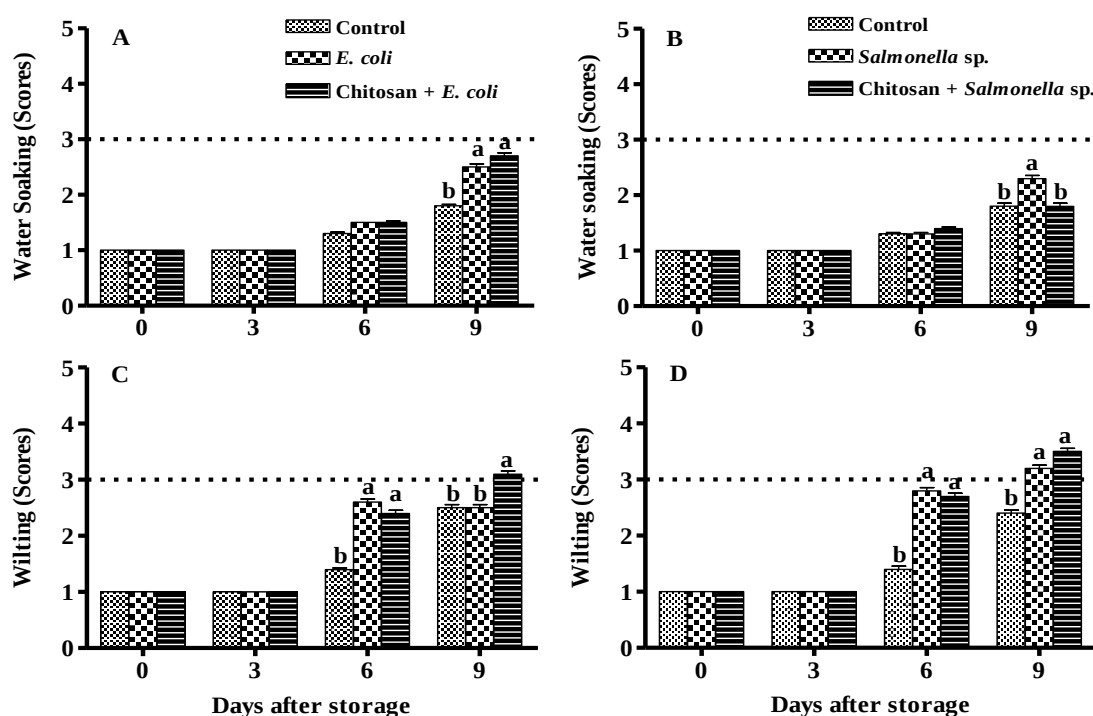


Figure 4 Water soaking and wilting of asparagus spear coated with 0.5% chitosan solution and inoculated with *Escherichia coli* (A and C) or *Salmonella* sp. (B and D). The spears were stored at 10°C for 9 days. Dotted line represents

6 ผลของการฉายรังสี UV-C ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพ และการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp. ในหน่อไม้ฝรั่ง (In vivo study)

6.1 ผลของการฉายรังสี UV-C ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในหน่อไม้ฝรั่งที่ปนเปื้อนด้วย *Escherichia coli*

ในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษาหน่อไม้ฝรั่งที่ไม่ได้ฉายรังสี UV-C (ชุดควบคุม) มีปริมาณเชื้อ *Escherichia coli* เท่ากับ 2.5 log CFU/g ซึ่งสูงกว่าปริมาณจุลินทรีย์ต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้เพียงเล็กน้อย (Fig. 5A) ในขณะที่ตรวจพบเชื้อ *Salmonella* sp. เท่ากับ 1.8 log CFU/g ซึ่งมีปริมาณต่ำกว่าจุลินทรีย์ต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (Fig. 5B) หน่อไม้ฝรั่งที่ผสมเชื้อ *Escherichia coli* มีปริมาณเชื้อ *Escherichia coli* เท่ากับ 1.6 log CFU/g ซึ่งมีค่าต่ำกว่าหน่อไม้ฝรั่งที่ผสมเชื้อ *Escherichia coli* แล้วฉายรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสี 1.2 kJ/m² ซึ่งตรวจพบ *Escherichia coli* เท่ากับ 2.4 log CFU/g เมื่อเก็บรักษาหน่อไม้ฝรั่งที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียสพบว่าหน่อไม้ฝรั่งในชุดควบคุมมีปริมาณ *Escherichia coli* ค่อนข้างคงที่ในช่วง 6 วันแรกของการเก็บรักษา และเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 9 วัน จะพบว่าหน่อไม้ฝรั่งในทุกวิธีการทดลองตรวจไม่พบ

Escherichia coli ในขณะที่หน่อไม้ฝรั่งที่ผสมเชื้อ *Escherichia coli* และหน่อไม้ฝรั่งที่ผสมเชื้อ *Escherichia coli* ร่วมกับการฉายรังสี UV-C มีปริมาณเชื้อ *Escherichia coli* เพิ่มขึ้นโดยมีปริมาณเชื้อเท่ากันคือเท่ากับ 2.7 log CFU/g แต่เมื่อเปรียบเทียบปริมาณเชื้อ *Escherichia coli* ที่เพิ่มขึ้นจะพบว่าหน่อไม้ฝรั่งที่ผสมเชื้อ *Escherichia coli* แต่ไม่ได้ผ่านการฉายรังสี UV-C มีปริมาณเชื้อ *Escherichia coli* เพิ่มขึ้นประมาณ 0.9 log CFU/g ซึ่งสูงกว่าปริมาณเชื้อ *Escherichia coli* ที่ตรวจพบในหน่อไม้ฝรั่งที่ผสมเชื้อ *Escherichia coli* และผ่านการฉายรังสี UV-C โดยมีปริมาณเชื้อ *Escherichia coli* เพิ่มขึ้นเพียง 0.3 log CFU/g และเมื่อเก็บรักษาหน่อไม้ฝรั่งไว้นานขึ้นจะพบว่าปริมาณ *Escherichia coli* ในตัวอย่างหน่อไม้ฝรั่งมีค่าลดลง และมีปริมาณ *Escherichia coli* ต่ำกว่าปริมาณจุลินทรีย์ต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (Fig. 5A) ซึ่งการฉายรังสี UV-C ช่วยชะลอการเพิ่มจำนวน *Escherichia coli* ได้เมื่อเปรียบเทียบกับหน่อไม้ฝรั่งที่ผสมเชื้อ *Escherichia coli* เพียงอย่างเดียว แต่ไม่ได้ผ่านการฉายรังสี UV-C สำหรับการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อ *Salmonella* sp. ในหน่อไม้ฝรั่งพบว่าตลอดอายุการเก็บรักษาตรวจพบ *Salmonella* sp. เฉพาะในตัวอย่างหน่อไม้ฝรั่งในชุดควบคุมซึ่งไม่ได้ผ่านการฉายรังสี UV-C แต่อย่างไรก็ตามปริมาณ *Salmonella* sp. ที่ตรวจพบมีค่าไม่เกิน 2.4 log CFU/g (Fig. 5B)

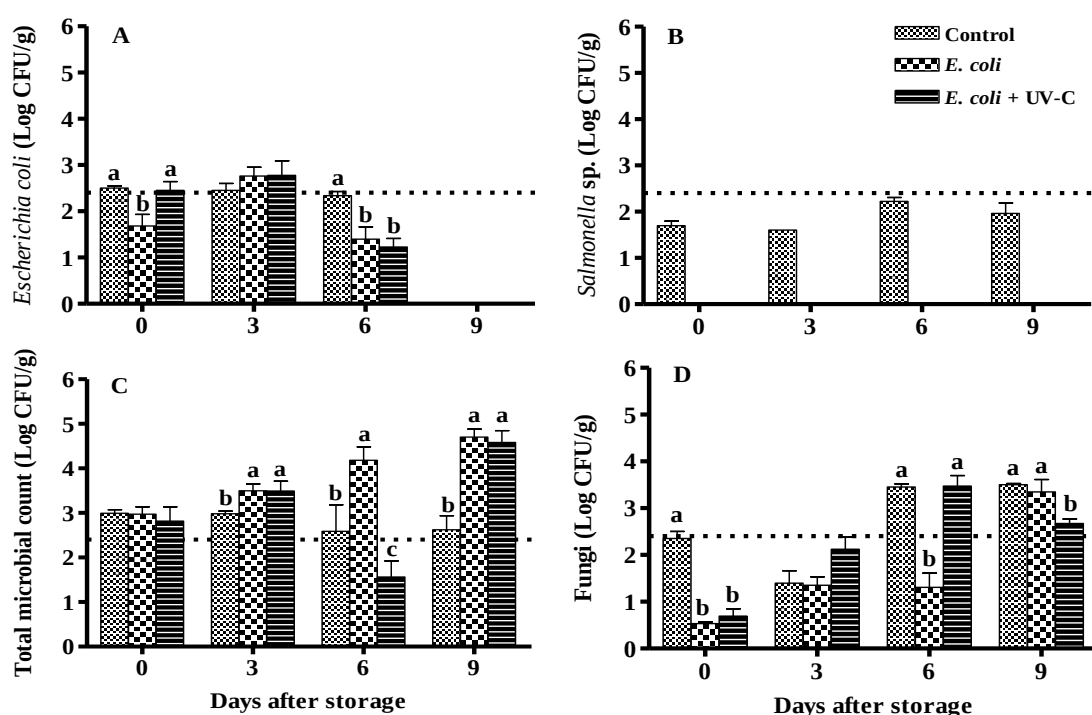


Figure 5 *Escherichia coli* (A), *Salmonella* sp. (B), total microbial (C), and fungi counts (D) of asparagus spear inoculated with *Escherichia coli* and irradiated with UV-C, then stored at 10°C for 9 days. Dotted line represents microbial

จากการตรวจวัดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และรา จะพบว่าในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษาหน่อไม้ฝรั่งในชุดควบคุมมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ 3 log CFU/g ซึ่งมีค่าสูงกว่าหน่อไม้ฝรั่งที่ผสมเชื้อ *Escherichia coli* และผ่านการฉายรังสี UV-C ประมาณ 0.2 log CFU/g (Fig. 5C) หน่อไม้ฝรั่งในชุดควบคุมมีปริมาณยีสต์และราเท่ากับ 2.4 log CFU/g ในขณะที่หน่อไม้ฝรั่งที่ผสม *Escherichia coli* ร่วมกับการฉายและไม่ฉายรังสี UV-C มีปริมาณยีสต์และราใกล้เคียงกันคือเท่ากับ 0.5 และ 0.6 log CFU/g ตามลำดับ (Fig. 5D) เมื่อเก็บรักษาหน่อไม้ฝรั่งที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส จะพบว่าหน่อไม้ฝรั่งในทุกชุดการทดลองมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มสูงขึ้น (Fig. 5C) แต่เมื่อเก็บรักษาหน่อไม้ฝรั่งเป็นเวลา 6 วัน จะพบว่าหน่อไม้ฝรั่งที่ผสมเชื้อ *Escherichia coli* และผ่านการฉายรังสี UV-C มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดลดลงต่ำที่สุด (1.5 log CFU/g) จะเห็นได้ว่าการฉายรังสี UV-C ช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดได้ประมาณ 2.5 log CFU/g เมื่อเปรียบเทียบกับหน่อไม้ฝรั่งที่ผสมเชื้อ *Escherichia coli* เพียงอย่างเดียวแต่ไม่ได้ผ่านการฉายรังสี UV-C และเมื่อเก็บรักษาหน่อไม้ฝรั่งเป็นเวลานานขึ้นจะพบว่าในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา (วันที่ 9) พบว่าหน่อไม้ฝรั่งที่ผสมเชื้อ *Escherichia coli* ทั้งในตัวอย่างที่ผ่านและไม่ผ่านการฉายรังสี UV-C มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับหน่อไม้ฝรั่งในชุดควบคุม ซึ่งการเพิ่มขึ้นของจุลินทรีย์ทั้งหมดภายหลังจากที่ฉายรังสี UV-C อาจเนื่องมาจากเซลล์ของจุลินทรีย์สามารถฟื้นคืนสภาพจากสภาวะที่เซลล์ได้รับความเสียหาย อันเนื่องมาจากการฉายรังสี UV-C (UV-injury) ได้ เช่นเดียวกับที่มีในรายงานการศึกษาความเสียหายของ cell membrane ของเชื้อ *Escherichia coli* เมื่อได้รับการฉายรังสี UV-C (Todo et al., 1983) และเมื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณยีสต์และราจะพบว่า หน่อไม้ฝรั่งในทุกวิธีการทดลองมีปริมาณยีสต์และราเพิ่มสูงขึ้นในตลอดอายุการเก็บรักษา แต่อย่างไรก็ตามพบว่าในวันสุดท้ายของการเก็บรักษาหน่อไม้ฝรั่งที่ผสมเชื้อ *Escherichia coli* และผ่านการฉายรังสี UV-C มีปริมาณยีสต์และราต่ำกว่าหน่อไม้ฝรั่งที่ไม่ได้ผ่านการฉายรังสี UV-C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Fig. 5D)

6.2 ผลของการฉายรังสี UV-C ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในหน่อไม้ฝรั่งที่ปนเปื้อนด้วย *Salmonella* sp.

ในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษา หน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) มีปริมาณเชื้อ *Escherichia* เท่ากับ 2.5 log CFU/g (Fig. 6A) ในขณะที่มีปริมาณเชื้อ *Salmonella* sp. เท่ากับ 1.8 log CFU/g (Fig. 6B) เมื่อตรวจวัดปริมาณ *Salmonella* sp. ในตัวอย่างหน่อไม้ฝรั่งที่ผสมด้วยเชื้อ *Salmonella* sp. จะพบว่าปริมาณ *Salmonella* sp. เท่ากับ 2.1 log CFU/g ซึ่งต่ำกว่าหน่อไม้ฝรั่งที่ผสมด้วยเชื้อ *Salmonella* sp. และผ่านการฉายรังสี UV-C (2.6 log CFU/g) ภายหลังจากที่เก็บรักษาหน่อไม้ฝรั่งที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส พบว่าหน่อไม้ฝรั่งมีปริมาณ

Salmonella sp. ลดลงตลอดอายุการเก็บรักษาและต่ำกว่าปริมาณจุลินทรีย์ต่ำสุดที่จะสามารถตรวจวัดได้ โดยหน่อไม้ฝรั่งที่ผสมด้วยเชื้อ *Salmonella* sp. และฉายรังสี UV-C มีปริมาณ *Salmonella* sp. ลดลงมากที่สุด ซึ่งมีปริมาณ *Salmonella* sp. ต่ำกว่าปริมาณ *Salmonella* sp. ที่ตรวจพบในหน่อไม้ฝรั่งในวิธีการอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากการทดลองพบว่าการฉายรังสี UV-C สามารถช่วยลดปริมาณ *Salmonella* sp. ได้ประมาณ 1 log CFU/g

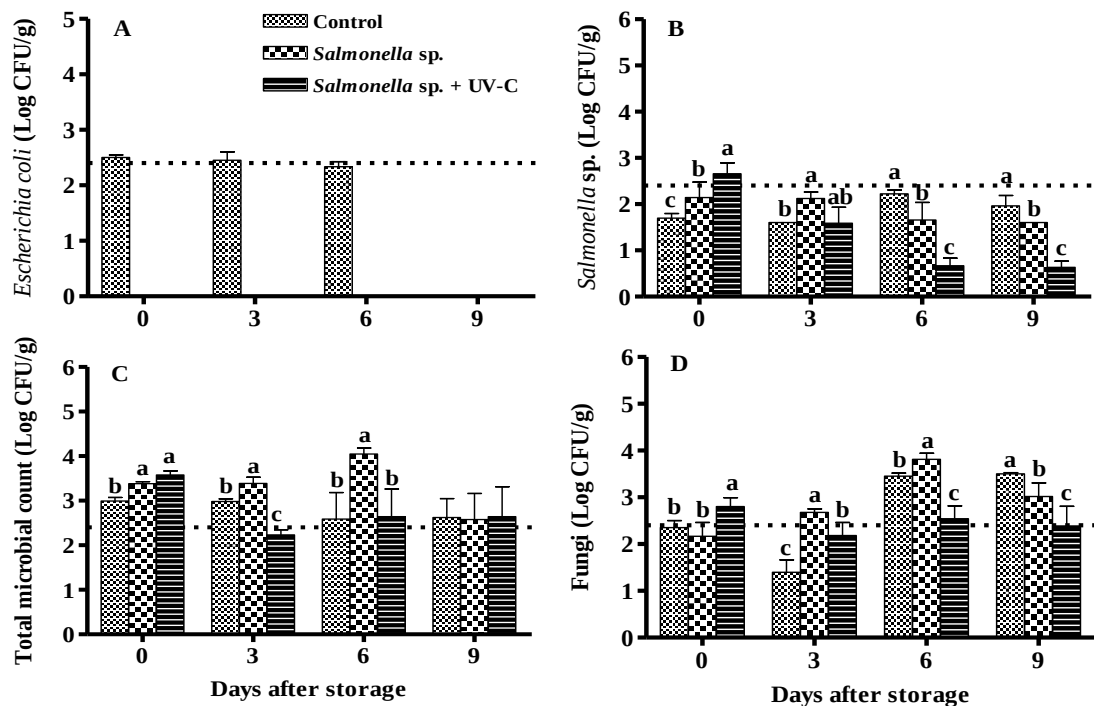


Figure 6 *Escherichia coli* (A), *Salmonella* sp. (B), total microbial (C), and fungi counts (D) of asparagus spear inoculated with *Salmonella* sp. and irradiated with UV-C, then stored at 10°C for 9 days. Dotted line represents microbial

หน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในน้ำกลั่นมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และราเริ่มต้นเท่ากับ 3.1 และ 2.3 log CFU/g ตามลำดับ (Fig. 6C และ D) เมื่อเก็บรักษาหน่อไม้ฝรั่งที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส จะพบว่าหน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในน้ำกลั่น และหน่อไม้ฝรั่งที่ผสม *Salmonella* sp. และผ่านการฉายรังสี UV-C มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดลดลง ในขณะที่หน่อไม้ฝรั่งที่ผสมด้วยเชื้อ *Salmonella* sp. แต่ไม่ได้ผ่านการฉายรังสี UV-C มีปริมาณ *Salmonella* sp. เพิ่มขึ้นในช่วง 6 วันแรกของการเก็บรักษา (Fig. 6C) และลดลงในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา (วันที่ 9) แต่เมื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณยีสต์และราจะเห็นได้ว่าหน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในน้ำกลั่น และหน่อไม้ฝรั่งที่ผสมด้วยเชื้อ *Salmonella* sp. และผ่านการฉายรังสี UV-C ปริมาณยีสต์และราลดลง (Fig. 6D) โดยการฉายรังสี UV-C ช่วยลดจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และราได้ประมาณ 1-1.5 log CFU/g เมื่อ

เปรียบเทียบกับหน่อไม้ฝรั่งที่ไม่ได้ผ่านการฉายรังสี UV-C มีรายงานว่า การฉายรังสี UV-C สามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ได้เนื่องมาจากรังสี UV-C มีผลในการทำให้ DNA ของจุลินทรีย์ได้รับความเสียหาย จึงทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถเพิ่มจำนวน DNA ได้ ดังนั้นจึงไม่สามารถเพิ่มจำนวนเซลล์จุลินทรีย์ได้ (Sharma, 1999) นอกจากนี้การฉายรังสี UV-C ยังมีผลทำให้เกิดการเชื่อมต่อระหว่างเบส pyrimidine ที่อยู่ข้างเคียงภายในสาย DNA จึงทำให้เซลล์จุลินทรีย์ตายได้ (Artes et al., 2009).

6.3 ผลของการฉายรังสี UV-C ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของหน่อไม้ฝรั่งที่ปนเปื้อนด้วยเชื้อ *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp.

ในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษา หน่อไม้ฝรั่งที่ผสมด้วยเชื้อ *Escherichia coli* (Fig. 7A, C) และ *Salmonella* sp. (Fig. 7B, D) ในทุกวิธีการทดลองมีคุณภาพดี (excellent) โดยไม่มีอาการฉ่ำน้ำและอาการเหี่ยวเกิดขึ้น ซึ่งกำหนดให้หน่อไม้ฝรั่งที่ไม่มีอาการผิดปกติได้คะแนนการยอมรับจากผู้บริโภคเท่ากับ 1 คะแนน เมื่อเก็บรักษาหน่อไม้ฝรั่งที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส จะพบว่าหน่อไม้ฝรั่งในทุกวิธีการทดลองมีอาการฉ่ำน้ำและการเหี่ยวเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อยในวันที่ 6 ของการเก็บรักษา โดยมีคะแนนการเกิดอาการฉ่ำน้ำและการเหี่ยวต่ำกว่า 2 คะแนน ซึ่งคุณภาพของหน่อไม้ฝรั่งจัดอยู่ในระดับดี (very good) เมื่อเก็บรักษาหน่อไม้ฝรั่งเป็นเวลานาน 9 วัน จะพบว่าหน่อไม้ฝรั่งในทุกวิธีการทดลองมีอาการฉ่ำน้ำและการเหี่ยวเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย โดยหน่อไม้ฝรั่งยังคงมีคะแนนการเกิดอาการฉ่ำน้ำและการเหี่ยวไม่เกิน 3 คะแนน ซึ่งแสดงถึงคุณภาพของหน่อไม้ฝรั่งที่ยังสามารถวางจำหน่ายได้ (Fig. 7A, B) จึงทำให้หน่อไม้ฝรั่งมีอายุการวางจำหน่ายได้นานถึง 9 วัน

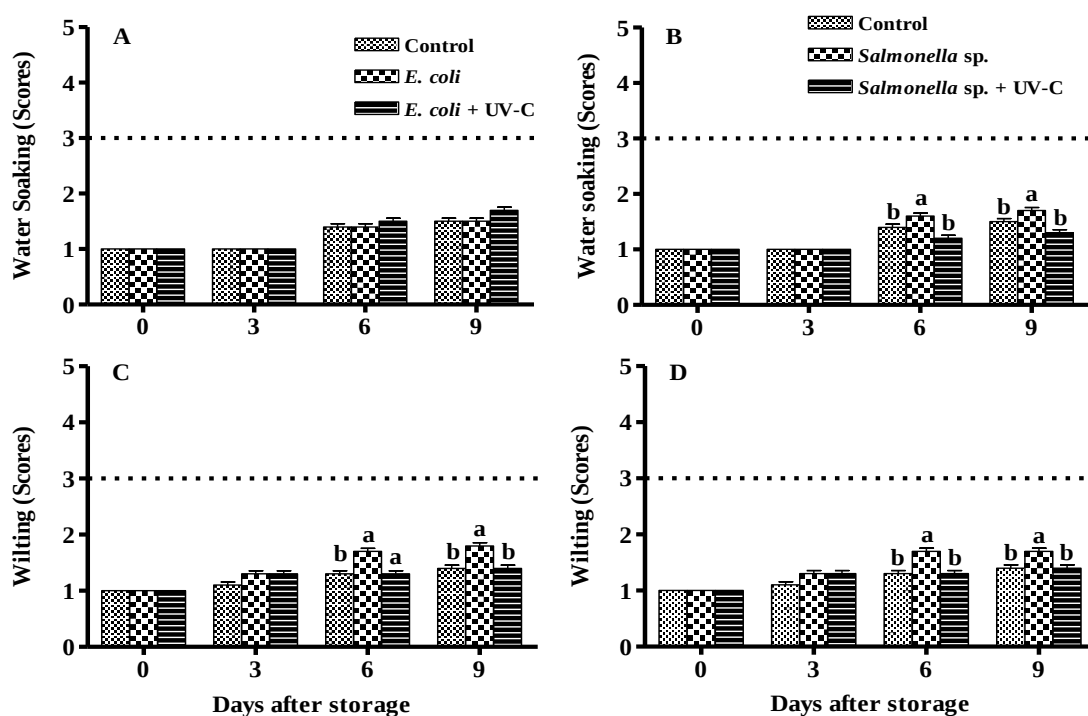


Figure 7 Water soaking and wilting of asparagus spear inoculated with *Escherichia coli* (A and C) or *Salmonella* sp. (B and D) and irradiated with UV-C. The spears were stored at 10°C for 9 days. Dotted line represents consumer

7 ผลของการใช้สารเคลือบผิวไคโตซานร่วมกับการฉายรังสี UV-C ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพ และการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp. ในหน่อไม้ฝรั่ง (Invivo study)

7.1 ผลของการใช้สารเคลือบผิวไคโตซานร่วมกับการฉายรังสี UV-C ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในหน่อไม้ฝรั่งที่ปนเปื้อนด้วย *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp.

ในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษาหน่อไม้ฝรั่งที่ไม่ได้ฉายรังสี UV-C (ชุดควบคุม) มีปริมาณเชื้อ *Escherichia coli* เท่ากับ 2.3 log CFU/g (Fig. 8A) ซึ่งต่ำกว่าปริมาณจุลินทรีย์ต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (2.4 log CFU/g) เพียงเล็กน้อย ในขณะที่ตรวจไม่พบเชื้อ *Escherichia coli* ในตัวอย่างหน่อไม้ฝรั่งที่ผ่านการฉายรังสี UV-C ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการฉายรังสี UV-C ช่วยลดปริมาณเชื้อ *Escherichia coli* ได้ภายหลังจากที่ฉายรังสี UV-C มีรายงานว่า การฉายรังสี UV-C มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนบริเวณพื้นผิวของอาหาร (surface disinfestations) ซึ่งการฉายรังสี UV-C ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร สามารถช่วย

ลดปริมาณแบคทีเรียก่อโรคและแบคทีเรียที่ก่อโรคที่สร้างเอนโดสปอร์ ซึ่งปนเปื้อนในแครอท พร้อมบริโภคและในผักสลัด (lettuce) ได้ (Alegria et. al., 2012; Allende and Artes, 2003) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า การฉายรังสี UV-C ช่วยลดกิจกรรมของเอนไซม์ catalase จึงทำให้เอนไซม์ catalase ไม่สามารถป้องกันการทำงานของอนุมูลอิสระภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ได้ (Apel and Hirt, 2004) จากการทดลองนี้พบว่าหน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในสารละลายไคโตซานมีปริมาณเชื้อ *Escherichia coli* เท่ากับ 3.1 log CFU/g ซึ่งสูงกว่าปริมาณจุลินทรีย์ต่ำสุดที่จะสามารถตรวจวัดได้ (2.4 log CFU/g) ในขณะเดียวกันหน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในสารละลายไคโตซานและผ่านการฉายรังสี UV-C มีปริมาณเชื้อ *Escherichia coli* เท่ากันคือเท่ากับ 3.2 log CFU/g

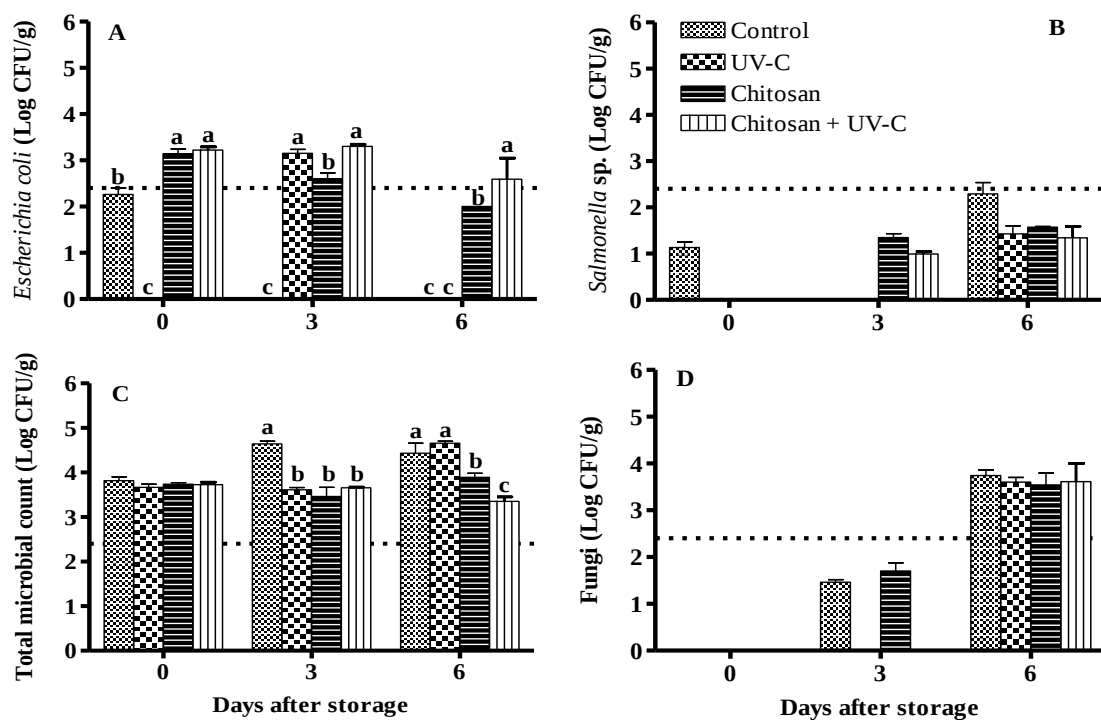


Figure 8 *Escherichia coli* (A), *Salmonella* sp. (B), total microbial (C), and fungi counts (D) of asparagus spear inoculated with a mixed culture of *Escherichia coli* and *Salmonella* sp., then coated with chitosan and/or irradiated with UV-C. Asparagus were stored at 10°C for 9 days. Dotted line represents microbial counts were below the detection level. Dotted line represents microbial

เมื่อเก็บรักษาหน่อไม้ฝรั่งที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส จะพบว่าตรวจไม่พบเชื้อ *Escherichia coli* ในตัวอย่างหน่อไม้ฝรั่ง ในขณะที่หน่อไม้ฝรั่งที่ผ่านการฉายรังสี UV-C หน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในสารละลายไคโตซาน และหน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในสารละลายไคโตซานร่วมกับการฉายรังสี UV-C มีปริมาณเชื้อ *Escherichia coli* ค่อนข้างคงที่ โดยมีเชื้อ *Escherichia coli* อยู่

ในช่วง 2.5-3.3 log CFU/g ในวันที่ 3 ของการเก็บรักษา (Fig. 8A) จากการทดลองพบว่า หน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในสารละลายไคโตซานมีปริมาณเชื้อ *Escherichia coli* count เท่ากับ 2.5 log CFU/g ซึ่งต่ำกว่าหน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในสารละลายไคโตซานร่วมกับการฉายรังสี UV-C ซึ่งมีปริมาณเชื้อ *Escherichia coli* สูงกว่าคือเท่ากับ 3.3 log CFU/g เช่นเดียวกับที่ตรวจพบในหน่อไม้ฝรั่งที่ผ่านการฉายรังสี UV-C เพียงอย่างเดียว 3.2 log CFU/g ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา (วันที่ 6) ตรวจไม่พบเชื้อ *Escherichia coli* ในตัวอย่างหน่อไม้ฝรั่งในชุดควบคุมและในตัวอย่างหน่อไม้ฝรั่งที่ผ่านการฉายรังสี UV-C ในขณะที่หน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในสารละลายไคโตซาน และหน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในสารละลายไคโตซานร่วมกับการฉายรังสี UV-C มีปริมาณเชื้อ *Escherichia coli* ลดลงเหลือประมาณ 2 และ 2.5 log CFU/g ตามลำดับ

สำหรับการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อ *Salmonella* sp. พบว่าในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษา หน่อไม้ฝรั่งในชุดควบคุมมีปริมาณเชื้อ *Salmonella* sp. เท่ากับ 1.1 log CFU/g (Fig. 8B) ซึ่งต่ำกว่าปริมาณจุลินทรีย์ต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ ในขณะที่ตรวจไม่พบเชื้อ *Salmonella* sp. ในตัวอย่างหน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในสารละลายไคโตซาน และหน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในสารละลายไคโตซานและผ่านการฉายรังสี UV-C เมื่อเก็บรักษาหน่อไม้ฝรั่งที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส จะพบว่า หน่อไม้ฝรั่งมีปริมาณเชื้อ *Salmonella* sp. เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยตลอดอายุการเก็บรักษา โดยในวันสุดท้ายของการเก็บรักษาพบว่าหน่อไม้ฝรั่งในชุดควบคุมมีปริมาณเชื้อ *Salmonella* sp. เพิ่มขึ้นเป็น 2.3 log CFU/g ในขณะที่หน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในสารละลายไคโตซาน และหน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในสารละลายไคโตซานและผ่านการฉายรังสี UV-C มีปริมาณเชื้อ *Salmonella* sp. เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย โดยมีปริมาณเชื้อ *Salmonella* sp. อยู่ในช่วง 1.4-1.6 log CFU/g จะเห็นได้ว่าการใช้สารเคลือบผิวไคโตซาน การฉายรังสี UV-C และการใช้สารเคลือบผิวไคโตซานร่วมกับการฉายรังสี UV-C ช่วยชะลอการเพิ่มปริมาณเชื้อ *Salmonella* sp. ได้เมื่อเทียบกับชุดควบคุม แต่อย่างไรก็ตามปริมาณ *Salmonella* sp. ที่ตรวจวัดได้ในตัวอย่างหน่อไม้ฝรั่งในทุกวิธีการทดลอง มีปริมาณเชื้อ *Salmonella* sp. ต่ำกว่าปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ และมีปริมาณเชื้อไม่แตกต่างกันทางสถิติ

เมื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด จะเห็นได้ว่าในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษา หน่อไม้ฝรั่งในทุกวิธีการทดลองมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดอยู่ในช่วง 3.7-3.8 log CFU/g (Fig.8C) ซึ่งมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดสูงกว่าปริมาณจุลินทรีย์ต่ำสุดที่จะสามารถตรวจวัดได้ ภายหลังจากที่เก็บรักษาหน่อไม้ฝรั่งที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส พบว่าในวันที่ 3 ของการเก็บรักษาหน่อไม้ฝรั่งในชุดควบคุมมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นเป็น 4.6 log CFU/g ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 จากหน่อไม้ฝรั่งในชุดการ

ทดลองอื่น ซึ่งปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ตรวจพบในหน่อไม้ฝรั่งที่ผ่านการฉายรังสี UV-C หน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในสารละลายไคโตซาน และหน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในสารละลายไคโตซานร่วมกับการฉายรังสี UV-C มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดลดลงเล็กน้อย โดยมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดอยู่ในช่วง 3.4-3.6 log CFU/g และเมื่อเก็บรักษาหน่อไม้ฝรั่งเป็นเวลานาน 6 วัน จะพบว่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างหน่อไม้ฝรั่งในทุกวิธีการทดลอง ยกเว้นตัวอย่างหน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในสารละลายไคโตซานร่วมกับการฉายรังสี UV-C มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มขึ้น โดยมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดอยู่ในช่วง 3.8-4.6 log CFU/g จากการทดลองพบว่าหน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในสารละลายไคโตซานร่วมกับการฉายรังสี UV-C มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดลดลงต่ำที่สุด คือ มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ 3.2 log CFU/g ซึ่งการใช้สารเคลือบไคโตซานร่วมกับการฉายรังสี UV-C สามารถช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์ได้ดีกว่าการใช้สารเคลือบผิวไคโตซานเพียงอย่างเดียว แต่อย่างไรก็ตามการฉายรังสี UV-C เพียงอย่างเดียวไม่สามารถช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดได้ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา (วันที่ 6) เมื่อเทียบกับในวันที่ 3 ของการเก็บรักษา ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากการฉายรังสี UV-C เพียงอย่างเดียวมีผลทำให้เซลล์ที่บริเวณพื้นผิวของเนื้อเยื่อพืชเกิดความเสียหาย จึงทำให้เชื้อจุลินทรีย์ใช้สารอาหารจากเนื้อเยื่อพืชจึงทำให้เชื้อจุลินทรีย์สามารถเพิ่มจำนวนได้ ด้วยเหตุนี้การใช้สารเคลือบผิวไคโตซานร่วมกับการฉายรังสี UV-C จึงสามารถช่วยรักษาเซลล์บริเวณพื้นผิวของเนื้อเยื่อพืชไม่ได้รับความเสียหาย อันเนื่องมาจากการฉายรังสี UV-C

สำหรับการเปลี่ยนแปลงปริมาณยีสต์และรา จะพบว่าในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษา ตรวจไม่พบยีสต์และราในหน่อไม้ฝรั่งในทุกวิธีการทดลอง (Fig.8D) แต่เมื่อเก็บรักษาหน่อไม้ฝรั่งที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน จะตรวจไม่พบยีสต์และราในตัวอย่างหน่อไม้ฝรั่งที่ผ่านการฉายรังสี UV-C และหน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในสารละลายไคโตซานร่วมกับการฉายรังสี UV-C ในขณะที่ตรวจพบยีสต์และราในหน่อไม้ฝรั่งในชุดควบคุมและหน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในสารละลายไคโตซาน โดยมีปริมาณยีสต์และราต่ำกว่าปริมาณจุลินทรีย์ต่ำสุดที่จะสามารถตรวจวัดได้ ($2.4 \log \text{CFU/g}$) ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษาพบว่ายีสต์และราที่ตรวจวัดได้ในหน่อไม้ฝรั่งในทุกวิธีการทดลองมีปริมาณเชื้อเพิ่มสูงขึ้น โดยมีปริมาณยีสต์และราอยู่ในช่วง 3.4-3.6 log CFU/g ซึ่งสูงกว่าปริมาณจุลินทรีย์ต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ แต่อย่างไรก็ตามปริมาณยีสต์และราที่ตรวจวัดได้มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ จากการทดลองจะเห็นได้ว่าการฉายรังสี UV-C ช่วยยับยั้งการเจริญของยีสต์และราในหน่อไม้ฝรั่งได้ในช่วง 3 วันแรกของการเก็บรักษา นอกจากการฉายรังสี UV-C แล้วการที่สารเคลือบผิวไคโตซานสามารถยับยั้งกิจกรรมของจุลินทรีย์ได้ยังขึ้นอยู่กับ ชนิดของไคโตซาน ปริมาณ polymer ของไคโตซาน ชนิดของตัวอย่างที่ใช้ สารอาหารที่มีอยู่ตามธรรมชาติ

สารเคมีหรือส่วนประกอบของอาหารที่ใช้เป็นสารตั้งต้น และสภาพแวดล้อม เช่น ปริมาณน้ำที่ใช้ ในกิจกรรมต่าง ๆ ของจุลินทรีย์ และความชื้นในตัวอย่างอาหาร (Rabea et. al., 2003) โดยประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อราของไคโตซานขึ้นอยู่กับ ความเข้มข้นของไคโตซานที่ต่ำที่สุดซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา (minimum inhibitory concentrations: MIC) ค่าความเป็นกรด-ด่าง และสารที่มีผลในการรบกวนการทำงานของไคโตซาน เช่น ไขมัน และโปรตีน (Knowles and Roller, 2011)

7.2 ผลของการใช้สารเคลือบผิวไคโตซานร่วมกับการฉายรังสี UV-C ต่อคุณภาพของหน่อไม้ฝรั่งที่ปนเปื้อนด้วย *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp.

เมื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของหน่อไม้ฝรั่ง จะพบว่าในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษาหน่อไม้ฝรั่งในทุกวิธีการทดลองไม่มีการผิดปกติเกิดขึ้น ซึ่งหน่อไม้ฝรั่งยังมียุณภาพดีมากจึงได้คะแนนการยอมรับจากผู้บริโภคในด้านการไม่เกิดอาการผิดปกติเท่ากับ 1 คะแนน (Fig.9A) เมื่อเก็บรักษาหน่อไม้ฝรั่งที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส จะพบว่าหน่อไม้ฝรั่งมีอาการฉ่ำน้ำเกิดขึ้นเล็กน้อยบริเวณส่วนยอดของหน่อ ทำให้คะแนนการเกิดอาการฉ่ำน้ำเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยจาก 1 คะแนน เป็น 1.1-1.3 คะแนน ในวันที่ 3 ของการเก็บรักษา โดยหน่อไม้ฝรั่งยังมีคุณภาพอยู่ในระดับที่ดีมาก และเมื่อเก็บรักษาหน่อไม้ฝรั่งนาน 6 วัน จะพบว่าหน่อไม้ฝรั่งเกิดอาการฉ่ำน้ำเพิ่มสูงขึ้น โดยมีคะแนนการเกิดอาการฉ่ำน้ำอยู่ในช่วง 2-3 คะแนน ซึ่งหน่อไม้ฝรั่งยังมีคุณภาพอยู่ในระดับที่ดี-ดีมาก จากการทดลองพบว่าหน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในสารละลายไคโตซานร่วมกับการฉายรังสี UV-C มีการเกิดอาการฉ่ำน้ำต่ำที่สุด เมื่อเทียบกับหน่อไม้ฝรั่งในวิธีการอื่นๆ ในขณะที่หน่อไม้ฝรั่งที่ผ่านการฉายรังสี UV-C เพียงอย่างเดียวมีการเกิดอาการฉ่ำน้ำสูงที่สุด รองลงมาคือหน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในสารละลายไคโตซาน จากการทดลองพบว่าการใช้สารเคลือบผิวไคโตซานร่วมกับการฉายรังสี UV-C สามารถชะลอการเกิดอาการฉ่ำน้ำในหน่อไม้ฝรั่งได้ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารเคลือบผิวไคโตซานหรือการฉายรังสี UV-C เพียงอย่างเดียว

นอกจากอาการฉ่ำน้ำที่ตรวจพบบริเวณส่วนยอดของหน่อไม้ฝรั่งแล้ว ยังพบว่ามีอาการเหี่ยวเกิดขึ้นบริเวณหน่อของหน่อไม้ฝรั่ง โดยในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษาพบว่าหน่อไม้ฝรั่งในชุดควบคุมและหน่อไม้ฝรั่งที่ผ่านการฉายรังสี UV-C เพียงอย่างเดียว ไม่มีอาการเหี่ยวเกิดขึ้น จึงได้รับคะแนนการยอมรับของผู้บริโภคเท่ากับ 1 คะแนน (หน่อไม้ฝรั่งมีคุณภาพดีมาก) ในขณะที่หน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในสารละลายไคโตซาน และหน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในสารละลายไคโตซานร่วมกับการฉายรังสี UV-C มีอาการเหี่ยวเกิดขึ้น โดยมีคะแนนคุณภาพในด้านการเกิดอาการเหี่ยวเท่ากับ 1.4 และ 1.6 คะแนน ตามลำดับ (Fig.9B) ซึ่งอาการเหี่ยวที่เกิดขึ้นบริเวณหน่อของ

หน่อไม้ฝรั่งจะสัมพันธ์กับการสูญเสีย น้ำที่เนื้อเยื่อพืช เป็นผลให้เกิดการเพิ่มขึ้นของปริมาณลิกนิน (lignin) ทำให้หน่อไม้ฝรั่งเกิดการเหี่ยวมากยิ่งขึ้น เช่นเดียวกับที่มีรายงานการเพิ่มขึ้นของปริมาณลิกนินในหน่อไม้ฝรั่ง (Tzoumaki et. al., 2009) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าการใช้สารเคลือบผิวชนิดที่สามารถรับประทานได้ เช่น carboxymethyl-cellulose และ sucrose fatty acid esters กับหน่อไม้ฝรั่งขาว (white asparagus) สามารถช่วยลดการสูญเสีย น้ำหนักของหน่อไม้ฝรั่งได้ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างหน่อไม้ฝรั่งที่ไม่ได้ใช้สารเคลือบผิว (Tzoumaki et. al., 2009) แต่อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้พบว่าการใช้สารเคลือบผิวไคโตซานร่วมกับการฉายรังสี UV-C ไม่สามารถชะลอการเกิดการเหี่ยวในหน่อไม้ฝรั่งได้ ซึ่งปกติการใช้สารเคลือบผิวไคโตซานจะสามารถช่วยลดการสูญเสีย น้ำหนัก (weight loss) ในผลิตภัณฑ์ได้ โดยสารเคลือบผิวไคโตซานทำหน้าที่เป็นเสมือนเยื่อปกป้องทางธรรมชาติ (physical barrier) ซึ่งสามารถช่วยป้องกันการสูญเสียความชื้น จึงทำให้ป้องกันการสูญเสีย น้ำหนักและการเหี่ยวในหน่อไม้ฝรั่งได้ (Qiu et al., 2013) แต่อย่างไรก็ตามการเลือกใช้สารเคลือบผิวไคโตซานจะให้ผลดีกับผลิตภัณฑ์แต่ละชนิดขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของไคโตซานที่ใช้ มีรายงานว่าการใช้สารเคลือบผิวไคโตซานช่วยควบคุมการสูญเสีย น้ำหนักของหน่อไม้ฝรั่ง (Qiu et al., 2013) แตงกวา และพริกหวาน (El Ghaouth, et al., 1991b)

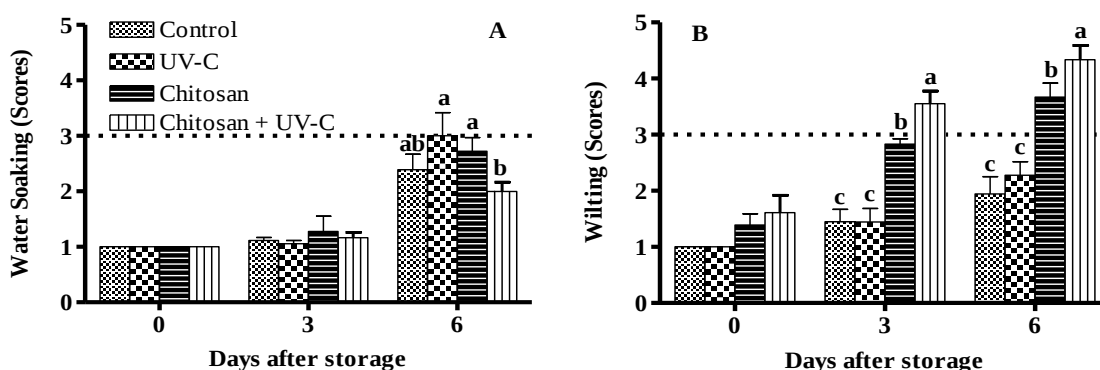


Figure 9 Water soaking (A) and wilting (B) of asparagus spear inoculated with *Escherichia coli* and *Salmonella* sp., then coated with chitosan and/or irradiated with UV-C. The spears were stored at 10°C for 9 days. Dotted line

เมื่อเก็บรักษาหน่อไม้ฝรั่งที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส จะพบว่าหน่อไม้ฝรั่งในชุดควบคุม และหน่อไม้ฝรั่งที่ผ่านการฉายรังสี UV-C มีอาการเหี่ยวเกิดขึ้นเล็กน้อย โดยมีคะแนนการเกิดอาการเหี่ยวเพิ่มขึ้นเท่ากับเป็น 1.5 คะแนน ในวันที่ 3 ของการเก็บรักษา ในขณะที่หน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในสารละลายไคโตซานและหน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในสารละลายไคโตซานร่วมกับการฉายรังสี UV-C

มีอัตราการเหี่ยวเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยมีคะแนนของการเกิดอาการเหี่ยวเท่ากับ 2.8 และ 3.5 คะแนน ตามลำดับ ซึ่งแสดงถึงหน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในสารละลายไคโตซานยังมีคุณภาพดีสามารถวางจำหน่ายได้ ในขณะที่หน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในสารละลายไคโตซานร่วมกับการฉายรังสี UV-C มีคุณภาพพอใช้ไม่สามารถวางจำหน่ายได้ และเมื่อเก็บรักษาหน่อไม้ฝรั่งเป็นเวลานาน 6 วัน จะพบว่าหน่อไม้ฝรั่งในชุดควบคุมและหน่อไม้ฝรั่งที่ผ่านการฉายรังสี UV-C มีอาการเหี่ยวเพิ่มขึ้นเป็น 1.8 และ 2.2 คะแนน ตามลำดับ ซึ่งแสดงถึงหน่อไม้ฝรั่งยังมีคุณภาพดีสามารถวางจำหน่ายได้ แต่เมื่อพิจารณาถึงหน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในสารละลายไคโตซาน และหน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในสารละลายไคโตซานร่วมกับการฉายรังสี UV-C มีอาการเหี่ยวเพิ่มสูงขึ้นเป็น 3.6 และ 4.4 คะแนน ตามลำดับ ซึ่งแสดงถึงหน่อไม้ฝรั่งมีคุณภาพไม่ดีไม่สามารถวางจำหน่ายได้ จากการทดลองแสดงให้เห็นว่า การใช้สารละลายไคโตซานเพียงอย่างเดียว และการใช้สารเคลือบผิวไคโตซานร่วมกับการฉายรังสี UV-C ไม่สามารถชะลอการเกิดอาการเหี่ยวของหน่อไม้ฝรั่งได้เมื่อเปรียบเทียบกับ การฉายรังสี UV-C เพียงอย่างเดียว ซึ่งหน่อไม้ฝรั่งในชุดควบคุมและหน่อไม้ฝรั่งที่ผ่านการฉายรังสี UV-C เพียงอย่างเดียว มีอายุการเก็บรักษานาน 6 วัน

7.3 ผลของการใช้สารเคลือบผิวไคโตซานร่วมกับการฉายรังสี UV-C ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณลิกนิน คลอโรฟิลล์ และวิตามินซี ของหน่อไม้ฝรั่งที่ปนเปื้อนด้วย *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp.

จากการวัดปริมาณลิกนินในหน่อไม้ฝรั่ง จะพบว่าในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษาลำต้นของหน่อไม้ฝรั่งมีปริมาณลิกนินเท่ากับ 2.2 มิลลิกรัมต่อกรัม (Fig. 10 A) ในขณะที่ส่วนยอดของหน่อไม้ฝรั่งมีปริมาณลิกนินต่ำกว่าคือเท่ากับ 1.1 มิลลิกรัม (Fig. 10 B) ภายหลังจากที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณลิกนินในส่วนของลำต้นมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเล็กน้อย โดยในวันสุดท้ายของการเก็บรักษาพบว่าหน่อไม้ฝรั่งในส่วนของลำต้นมีปริมาณลิกนิน อยู่ในช่วง 2.15-3.2 มิลลิกรัมต่อกรัม หน่อไม้ฝรั่งที่จุ่มในสารละลายไคโตซานร่วมกับการฉายรังสี UV-C มีปริมาณลิกนินเพิ่มขึ้นสูงสุด เมื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณลิกนินในส่วนยอดของหน่อไม้ฝรั่งจะพบว่าหน่อไม้ฝรั่งในชุดควบคุมมีปริมาณลิกนินเพิ่มขึ้นในวันที่ 3 ของการเก็บรักษา และลดลงเล็กน้อยในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา (วันที่ 6) แต่ยังมีปริมาณลิกนินสูงสุด (1.8 มิลลิกรัมต่อกรัม) ในขณะที่ปริมาณลิกนินในส่วนยอดของหน่อไม้ฝรั่งในวิธีการอื่น ๆ มีปริมาณลิกนินเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย โดยในวันสุดท้ายของการเก็บรักษาพบว่าหน่อไม้ฝรั่งมีปริมาณลิกนิน อยู่ในช่วง 1.2-1.8 มิลลิกรัมต่อกรัม

ซึ่งการเพิ่มขึ้นของปริมาณลิกนินเกิดจากกลไกในการต้านทานต่อการเกิดโรคในพืช ดังมีรายงานการตรวจพบการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมของเอนไซม์ peroxidase (POX) และ

phenylalanine ammonia-lyase (PAL) (Kombrink and Somssich, 1995) ในช่วงที่มีการเพิ่มขึ้นของปริมาณลิกนินในหน่อไม้ฝรั่ง ซึ่งส่งผลทำให้หน่อไม้ฝรั่งมีลักษณะเนื้อสัมผัสที่แข็งขึ้นจากการทดลองพบว่าการใช้สารเคลือบผิวไคโตซาน การฉายรังสี UV-C และการใช้สารเคลือบผิวไคโตซานร่วมกับการฉายรังสี UV-C ช่วยชะลอการเพิ่มขึ้นปริมาณลิกนินในส่วนยอดของหน่อไม้ฝรั่งได้เมื่อเทียบกับชุดควบคุม สอดคล้องกับงานวิจัยของ Qiu et al. (2013) ที่พบว่าการใช้สารเคลือบผิวไคโตซานที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 และ 0.5 ช่วยชะลอการเพิ่มปริมาณลิกนินได้เมื่อเทียบกับหน่อไม้ฝรั่งในชุดควบคุมที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส โดยพบว่าการใช้ไคโตซานช่วยยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ phenylalanine ammonia-lyase ซึ่งเป็นเอนไซม์ชนิดหนึ่งที่มีผลต่อการกระบวนการสร้างลิกนินในหน่อไม้ฝรั่ง

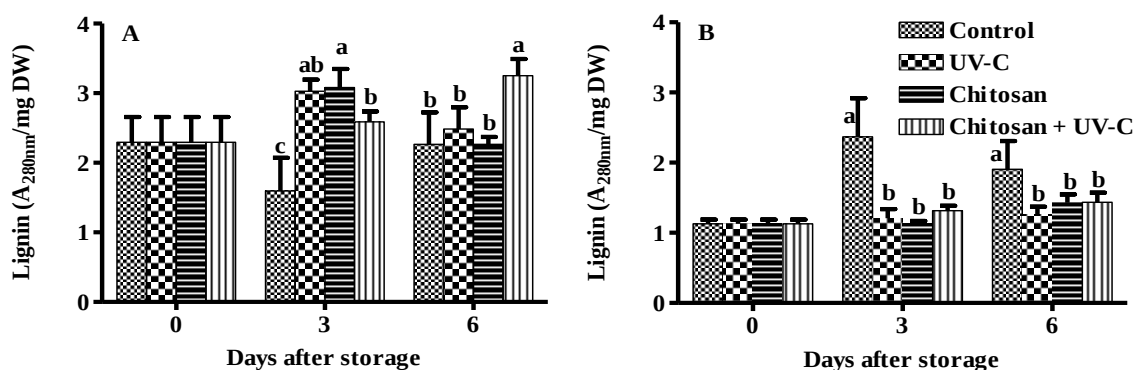


Figure 10 Lignin content of asparagus spear (A) and asparagus tip (B) inoculated with *Escherichia coli* and *Salmonella* sp., then coated with chitosan and/or irradiated with UV-C. The spears were stored at 10°C for 9 days. Dotted line

จากการศึกษาปริมาณคลอโรฟิลล์ จะพบว่าหน่อไม้ฝรั่งในส่วนของลำต้นมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และคลอโรฟิลล์ บี เท่ากับ 6.8 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม (Fig. 11 A) และ 2.0 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม (Fig. 11 C) ตามลำดับ ในขณะที่ส่วนยอดของหน่อไม้ฝรั่งมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และคลอโรฟิลล์ บี น้อยกว่าคือเท่ากับ 2.4 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม (Fig. 11 B) และ 0.9 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม (Fig. 11 D) ตามลำดับ ภายหลังจากการที่เก็บรักษาหน่อไม้ฝรั่งที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส พบว่าหน่อไม้ฝรั่งในส่วนของลำต้นมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และบี ลดลงเล็กน้อย ในขณะที่ส่วนยอดของหน่อไม้ฝรั่งมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และบี ค่อนข้างคงที่ตลอดอายุการเก็บรักษา ซึ่งการใช้สารเคลือบผิวไคโตซาน การฉายรังสี UV-C และการใช้สารเคลือบผิวไคโตซานร่วมกับการฉายรังสี UV-C ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณคลอโรฟิลล์ a

และ b ในหน่อไม้ฝรั่งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Figure 11 A-D) เมื่อเปรียบเทียบกับ การทดลองของ Qiu et al. (2013) ที่ใช้สารเคลือบผิวไคโตซานที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 และ 0.5 จะพบว่าหน่อไม้ฝรั่งมีการลดลงของปริมาณคลอโรฟิลล์ แต่ช้ากว่าหน่อไม้ฝรั่งที่ไม่ได้ใช้สารเคลือบผิวไคโตซาน (ชุดควบคุม) ซึ่ง Qiu et al. (2013) พบว่าการใช้สารเคลือบผิวไคโตซานสามารถช่วยลดการเปลี่ยนแปลงสีของหน่อไม้ฝรั่งได้เมื่อเทียบกับชุดควบคุม นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า การใช้สารเคลือบผิวไคโตซานที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 สามารถช่วยรักษาสีเขียวในส่วนยอดของบร็อคโคลี่ได้ดี โดยไม่ก่อให้เกิดกลิ่นและรสที่ผิดปกติ (Moreira et al., 2011) ในขณะที่การใช้สารเคลือบผิวไคโตซานที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 ช่วยชะลอการเปลี่ยนแปลงสีเขียวของผลฝรั่งได้ดีกว่าการใช้สารเคลือบผิวไคโตซานที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 และ 0.5 (Hong et al., 2012)

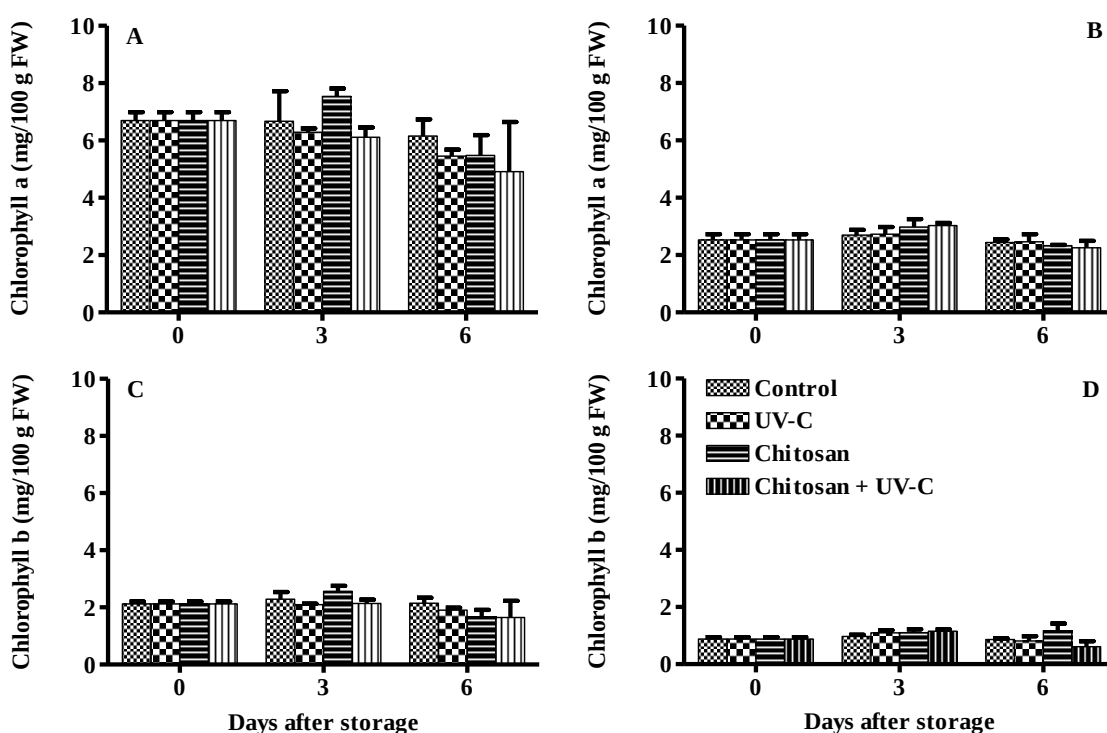


Figure 11 Chlorophyll a and b of asparagus spear (A, C) and asparagus tip (B, D) inoculated with *Escherichia coli* and *Salmonella* sp., then coated with chitosan and/or irradiated with UV-C. The spears were stored at 10°C for 9 days. Dotted line represents consumer acceptability score.

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินซีในรูปของ ascorbic acid พบว่าหน่อไม้ฝรั่งในส่วนของลำต้นมีปริมาณวิตามินซีเท่ากับ 0.026 มิลลิกรัมต่อกรัม (Fig. 12 A)

ในขณะที่หน่อไม้ฝรั่งในส่วนของยอดมีปริมาณวิตามินซีสูงกว่าเล็กน้อยคือเท่ากับ 0.03 มิลลิกรัมต่อกรัม (Fig. 12 B) ภายหลังจากการที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส พบว่าหน่อไม้ฝรั่งในส่วนของลำต้นมีปริมาณวิตามินซีลดลงอย่างรวดเร็วในวันที่ 3 ของการเก็บรักษา และมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา โดยมีปริมาณวิตามินซีอยู่ในช่วง 0.024-0.028 มิลลิกรัมต่อกรัม ในขณะที่หน่อไม้ฝรั่งในส่วนยอดมีปริมาณวิตามินซีลดลงตลอดอายุการเก็บรักษา โดยมีปริมาณวิตามินซีอยู่ในช่วง 0.012-0.025 มิลลิกรัมต่อกรัม ซึ่งการใช้สารเคลือบผิวโคไโตซานเพียงอย่างเดียวสามารถช่วยชะลอการลดลงของปริมาณวิตามินซีในส่วนยอดได้ มีรายงานว่า การใช้สารเคลือบผิวโคไโตซานที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 และ 0.5 ช่วยชะลอการลดลงของ ascorbic acid ได้ดีกว่าการไม่ใช้สารเคลือบผิวโคไโตซาน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสารเคลือบผิวโคไโตซานช่วยป้องกันไม่ให้ ascorbic acid ทำปฏิกิริยากับ O_2 ดังนั้นจึงช่วยชะลอการเสื่อมสภาพของหน่อไม้ฝรั่งได้ (Qiu et al., 2013) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า การใช้สารเคลือบผิวโคไโตซานที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 และ 2 ช่วยชะลอการสูญเสียปริมาณวิตามินซีในผลฝรั่งที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 11 องศาเซลเซียส ได้ดีกว่าการไม่ใช้สารเคลือบผิวโคไโตซานที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และการไม่ใช้สารเคลือบผิวโคไโตซาน (Hong et al., 2012) Jiang et al (2012) รายงานว่า การใช้สารเคลือบผิวโคไโตซานที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 สามารถช่วยชะลอการสูญเสียวิตามินซีของเห็ด shiitake ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ได้ดีกว่าการไม่ใช้สารเคลือบผิวโคไโตซาน นอกจากนี้ยังพบว่าการประยุกต์ใช้สารเคลือบผิวโคไโตซานโดยผสมกับกลูโคสความเข้มข้นร้อยละ 1 จะช่วยชะลอการสูญเสียวิตามินซีได้ดีกว่าการใช้สารเคลือบผิวโคไโตซานเพียงอย่างเดียว ทั้งนี้เนื่องมาจากสารเคลือบผิวที่ผสมกลูโคสทำหน้าที่เสมือน antioxidant activity ดังนั้นจึงช่วยยับยั้งการสูญเสียวิตามินซีได้ดีกว่า

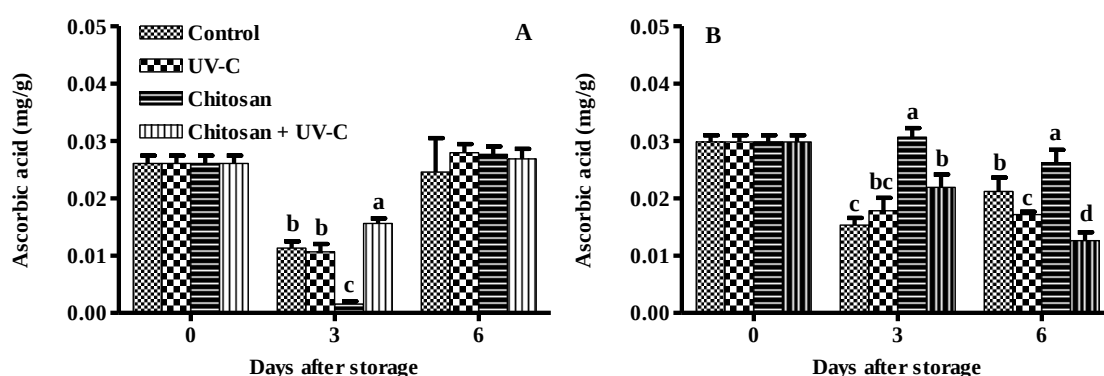


Figure 12 Ascorbic acid content of asparagus spear (A) and asparagus tip (B) inoculated with *Escherichia coli* and *Salmonella* sp., then coated with chitosan and/or irradiated with UV-C. The spears were stored at 10°C for 9 days. Dotted line represents consumer acceptability score.

สรุปและเสนอแนะ

1. การใช้สารเคลือบผิวโคโตซานที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.5 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp. ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อได้ดีที่สุด รองลงมาคือการใช้สารเคลือบผิวโคโตซานที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1.0 และ 1.5 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามการเลือกใช้สารเคลือบผิวโคโตซานเพื่อให้ได้ประสิทธิภาพสูงสุดยังขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของเชื้อจุลินทรีย์ สำหรับการฉายรังสี UV-C พบว่าเมื่อฉายรังสี UV-C เป็นระยะเวลาสั้นเพียง 1 นาทีสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 2 สายพันธุ์ได้อย่างสมบูรณ์
2. การใช้สารเคลือบผิวโคโตซานช่วยชะลอการลดลงของปริมาณวิตามินซีในส่วนยอดของหน่อไม้ฝรั่ง และช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์ในหน่อไม้ฝรั่งที่ปนเปื้อนเชื้อ *Escherichia coli* หรือ *Salmonella* sp.
3. การฉายรังสี UV-C ช่วยลดปริมาณ *Escherichia coli* ได้ประมาณ 0.1 log CFU/g ในขณะที่ช่วยลดปริมาณ *Salmonella* sp. ที่ปนเปื้อนในหน่อไม้ฝรั่งได้ประมาณ 1.0 log CFU/g และช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และราได้เมื่อเทียบกับการไม่ฉายรังสี UV-C
4. การฉายรังสี UV-C เพียงอย่างเดียว ช่วยยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* และจุลินทรีย์ทั้งหมดได้
5. การฉายรังสี UV-C การใช้สารเคลือบผิวโคโตซาน และการใช้สารเคลือบผิวโคโตซานร่วมกับการฉายรังสี UV-C ช่วยยับยั้งเชื้อ *Salmonella* sp. จุลินทรีย์ทั้งหมด และช่วยลดการเกิดอาการฉ่ำน้ำในหน่อไม้ฝรั่ง
6. การฉายรังสี UV-C และการใช้สารเคลือบผิวโคโตซาน ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของยีสต์และราในหน่อไม้ฝรั่งได้

เอกสารอ้างอิง

- กรมการค้าต่างประเทศ. 2550. ประกาศกรมการค้าต่างประเทศ เรื่อง กำหนดชนิดหรือประเภทของผักและผลไม้ที่ต้องมีหนังสือรับรองในการส่งออก พ.ศ. 2550. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 124 ตอนพิเศษ 55 ง. หน้า 22-24.
- กรมวิชาการเกษตร. 2549. งานวิจัยดีเด่น: แก้ปัญหาพืชผักที่ถูกกักกัน. ผลิใบ ปีที่ 9 ฉบับที่ 4. <http://www.doa.go.th/th/ShowArticles.aspx?id=2299>
- กรมอนามัย, กองโภชนาการ. 2530. ตารางแสดงคุณค่าทางอาหารไทยในส่วนที่กินได้ 100 กรัม. กระทรวงสาธารณสุข, โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก. 48 หน้า.
- จุฑาทิพย์ โพธิ์อุบล และพนิดา บุญฤทธิ์ธงชัย. 2554a. สารเคลือบผิวโคโตซานต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาและคุณภาพของหน่อไม้ฝรั่ง. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 42: 2 (พิเศษ) 569-572.

- จุฑาทิพย์ โพธิ์อุบล และพนิดา บุญฤทธิ์ธงไชย. 2554b. ผลของสารเคลือบผิวไคโตซานที่มีต่อ
จุลินทรีย์หน่อไม้ฝรั่ง. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 42: 3 (พิเศษ) 283-286.
- จิรภา จอมโธสง. 2549. หน่อไม้ฝรั่ง. จดหมายข่าว ส่วนส่งเสริมการผลิตผัก ไม้ดอกไม้ประดับและ
สมุนไพร. ปีที่ 3 ฉบับที่ 11 เดือน มกราคม พ.ศ. 2549.
- ธนาคารเพื่อการส่งออกและนำเข้าแห่งประเทศไทย, 2550. ปริมาณและมูลค่าการส่งออกสินค้า
เกษตรกรรมประเภทพืชผักสด. <http://www.exim.go.th/>
- พนิดา ภาควินต์, จริญญา ศิริพานิช, ปราโมทย์ สฤษดิ์นิรันดร์ และรุ่งนภา ก่อประดิษฐ์สกุล. 2548.
การวิเคราะห์ความเสี่ยงจากการปนเปื้อนจุลินทรีย์ Coliform และ *Escherichia coli* ใน
แปลงหน่อไม้ฝรั่ง. เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่
43: สาขาพืช, หน้า 650-657.
- Alegria, C., Pinheiro, J., Duthoit, M., Goncalves, E.M., Moldao-Martins, M. and Abreu,
M. 2012. Fresh-cut carrot (cv. Nantes) quality as affected by abiotic stress (heat
shock and UV-C irradiation) pre-treatments. LWT-Food Science and
Technology. 48:197-203.
- Allende, A. and Artes, F. 2003. UV-C radiation as a novel technique for keeping quality
of fresh processed 'Lollo Rosso' lettuce. Food Research International. 36:739-
746.
- Allende, A., McEvoy, J.L., Luo, Y., Artes, F. And Wang, C.Y. 2006. Effectiveness of two-
sides UV-C treatments in inhibiting natural microflora and extending the shelf
life of minimally processed 'Red Oak Leaf' lettuce. Food Microbiology. 23:241-
249.
- Anderson, J.G., Rowan, N.J., MacGregor, S.J., Fouracre, R.A. and Farish, O. 2000.
Inactivation of food-borne enteropathogenic bacteria and spoilage fungi using
pulsed-light. IEEE Transactions on Plasma Science. 28:83-88.
- Apel, K. and Hirt, H. 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and
signal transduction. Annual Review of Plant Biology. 55:373-399.
- Artes, F., Gomez, P., Aguayo, E., Escalona, V. and Artes-Hernandez, F. 2009.
Sustainable sanitation techniques for keeping quality and safety of fresh-cut
plant commodities. Postharvest Biology and Technology. 51:287-296.

- Badawy, M.E.I. and Rabea, E.I., 2009. Potential of the biopolymer chitosan with different molecular weights to control postharvest gray mold of tomato fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 51: 110-117.
- Chen, W., Jin, T.Z., Gurtler, J.B., Geveke, D.J. and Fan, X. 2012. Inactivation of *Salmonella* on whole cantaloupe by application of an antimicrobial coating containing chitosan and allyl isothiocyanate. *International Journal of Food Microbiology*. 155:165-170.
- Chun, H.H. and Song, K.B. 2013. The combined effects of aqueous chloride dioxide, fumaric acid, and ultraviolet-C with modified atmosphere packaging enriched in CO₂ for inactivating preexisting microorganisms and *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium* inoculated on buckwheat sprouts. *Postharvest Biology and Technology*. 86:118-124.
- Danyluk, M. D., Goodrich-Schneider, R. M., Schneider, K. R., Harris, L. J. and Worobo, R. W. 2012. Outbreaks of Foodborne Disease Associated with Fruit and Vegetable Juices, 1922–2010. <http://edis.ifas.ufl.edu/pdf/FS/FS18800.pdf>
- Devlieghere, F., Vermeulen, A. and Debevere, J. 2004. Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. *Food Microbiology*. 21: 703-714.
- Doster, M.A. and Bostock, R.M. 1988. Quantification of lignin formation in almond bark in response to wounding and infection by *Phytophthora infestans*. *Phytopathology*. 78:473-477.
- Du, J. M., Gemma, H. and Iwahori, S., 1997. Effects of chitosan coating on the storage of peach, Japanese pear, and kiwifruit. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*. 66:15–22.
- Dutta, P., Tripathi, S., Mehrotra, G. and Dutta, J. 2009. Review: perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. *Food Chemistry*. 114:1173-1182.
- El Ghaouth, A., Arul, J., Grenier, J. and Asselin, A., 1992. Antifungal activity of chitosan on two postharvest pathogens of strawberry fruits. *Journal of Phytopathology*. 82:398–402.

- El Ghaouth, A., Arul, J., Ponnampalam, R. and Boulet, M., 1991a. Chitosan coating effect on storability and quality of fresh strawberries. *Journal of Food Science*. 56:1618–1620.
- El Ghaouth, A., Arul, J., Ponnampalam, R. and Boulet, M., 1991b. Use of chitosan coating to reduce water-loss and maintain quality of cucumber and bell pepper fruits. *Journal of Food Processing and Preservation*. 15:359-368.
- Erkan, M., Wang, C.Y. and Krizek, D.T. 2001. UV-C irradiation reduces microbial populations and deterioration in *Cucurbita pepo* fruit tissue. *Environmental and Experimental Botany*. 45:1-9.
- Fisk, C.L., Silver, A.M., Strik, B.C. and Zhao, Y., 2008. Postharvest quality of hardy kiwifruit (*Actinidia arguta* 'Ananasnaya') associated with packaging and storage conditions. *Postharvest Biology and Technology*. 47: 338-345.
- Fonseca, J.M. and Rushing, J.W. 2006. Effect of ultraviolet-C light on quality and microbial population of fresh-cut watermelon. *Postharvest Biology and Technology*. 40:256-261.
- Gomez-Lopez, V.M. Ragaert, P., Debevere, J. and Devlieghere, F. 2007. Pulsed light for food decontamination: a review. *Trends in Food Science and Technology*. 18:464-473.
- Hong, K., Xie, J., Zhang, L., Sun, D. and Gong, D. 2012. Effects of chitosan coating on postharvest life and quality of guava (*Psidium guajava* L.) fruit during cold storage. *Scientia Horticulturae*. 144:172-178.
- Hoornstra, E., deJong, G. and Notermans, S. 2002. Preservation of vegetables by light. In *Society for Applied Microbiology (Ed.). Frontiers in Microbial Fermentation and Preservation*. Wageningen, Netherlands. pp.75-77.
- Jahid, I.K., Han, N.R., Srey, S. and Ha, S.D. 2014. Competitive interactions inside mixed-culture biofilms of *Salmonella* Typhimurium and cultivable indigenous microorganisms on lettuce enhance microbial resistance of their sessile cells to ultraviolet C (UV-C irradiation. *Food Research International*. 55:445-454.

- Jiang, T., Feng, L. and Li, J. 2012. Changes in microbial and postharvest quality of shiitake mushroom (*Lentinus edodes*) treated with chitosan-glucose complex coating under cold storage. Food Chemistry. 131:780-786.
- Kim, Y., Kim, M. and Song, K.B. 2009. Combined treatment of fumaric acid with aqueous chlorine dioxide or UV-C irradiation to inactivate *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* enteric serovar *Typhimurium*, and *Listeria monocytogenes* inoculated on alfalfa and clover sprouts. LWT-Food Science and Technology. 42:1654-1658.
- Knorr, D., 1984. Use of chitinous polymers in food-Achallenge for food research and development. Food Technology. 38: 85-97.
- Knowles, J.R. and Roller, S. 2011. Efficacy of chitosan, carvacrol, and a hydrogen peroxide-based biocide against foodborne microorganisms in suspension and adhered to stainless steel. Journal of Food Protection. 64:1542–1548.
- Kombrink, E. and Somssich, I.E. 1995. Defense responses of plants to pathogens. In: Callow, J.A. Ed. Advances in Botanical Research. Vol. 21. London, UK: Academic Press. 1-34.
- Li, H. and Yu, T., 2001. Effect of chitosan on incidence of brown rot, quality and physiological attributes of postharvest peach fruit, Journal of the Science of Food and Agriculture. Vol. 81:269–274.
- Martinez-Hernandez, G.B., Huertas, J.P., Navarro-Rico, J., Gomez, P.A., Artes, F., Palop, A. and Artes-Hernandez, F. 2015. Inactivation kinetic of foodborne pathogens by UV-C radiation and its subsequent growth in fresh-cut kalia-hybrid broccoli. Food Microbiology. 45:263-271.
- Moreira, M. R., Roura, S.I. and Ponce, A. 2011. Effectiveness of chitosan edible coatings to improve microbiological and sensory quality of fresh cut broccoli. LWT-Food Science and Technology. 44:2335-2341.
- Mukhopadhyay, S., Ukuku, D.O., Juneja, V. and Fan, X. 2014. Effects of UV-C treatment on inactivation of *Salmonella* enteric and *Escherichia coli* O157:H7 on grape tomato surface and stem scars, microbial loads, and quality. Food Control. 44:110-117.

- Nikaido, H. 1996. Outer membrane. In: Neidhardt F.C., editor. *Escherichia coli* and *Salmonella* cellular and molecular biology. Washington, D.C.: ASM Press. P29-47.
- Ponce, A., Fritz, R., Del Valle, C., Roura, S., 2003. Antimicrobial activities of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. LWT. Vol. 36:359-364.
- Poubol, J., Kukeeratikul, K. and Jitareerat, P., 2010. Ultraviolet-C treatments for spearmint decontamination of *Salmonella* sp. and *Escherichia coli*. Acta Horticulturae. 875:263-268.
- Poubol, J., Lichanporn, I., Puthmee, T. and Kanlayanarat, S., 2010. Effect of ultraviolet-C irradiation on quality and natural microflora of asparagus spears. Acta Horticulturae. 875:257-262.
- Poubol, J., Lichanporn, I., Puthmee, T. and Kanlayanarat, S. 2012. Quality and microbiological changes of asparagus spear packaged in polyvinylchloride film and treated with ultraviolet-C. Acta Horticulturae. 943:235-240.
- Qiu, M., Jiang, H., Ren, G., Huang, J, Wang, X. 2013. Effect of chitosan coatings on postharvest green asparagus quality. Carbohydrate Polymers. 92:2027-2032.
- Qiu, M., Wu, C., Ren, G., Liang, X., Wang, X. and Huang, J. 2014. Effect of chitosan and its derivatives as antifungal and preservative agents on postharvest green asparagus. Food Chemistry. 155:105-111.
- Rabea, E.I., Badawy, M.E.T., Stevens, C. V., Smagghe, G. and Steurbaut, W. 2003. Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. BioMacromolecules. 4:1457-1465.
- Ramos, B., Miller, F.A., Brandao, T.R.S., Teixeira, P. and Silva, C.L.M. 2013. Fresh fruits and vegetables-An overview on applied methodologies to improve its quality and safety. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 20:1-15.
- Raybaudi-Massilia, R.M., Mosqueda-Melgar, J., Soliva-Fortuny, R. and Martin-Belloso, O. 2009. Control of pathogenic and spoilage microorganisms in fresh-cut fruits and fruit juices by traditional and alternative natural antimicrobials. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 8:157-180.

- Rhoades, J. and Roller, S. 2000. Antimicrobial actions of degraded and native chitosan against spoilage organisms in laboratory media and foods. *Applied and Environmental Microbiology*. 66:80-86.
- Romanazzi, G., Nigro, F. and Ippolito, A., 2003. Short hypobaric treatments potentiate the effect of chitosan in reducing storage decay of sweet cherries. *Postharvest Biology and Technology*. Vol. 29:73–80.
- Romanazzi, G., Nigro, F., Ippolito, A., Di Venere, D. and Salerno, M., 2002. Effects of pre- and postharvest chitosan treatments to control storage grey mold of table grapes. *Journal of Food Science*. Vol. 67:1862–1867.
- Rowan, N.J., MacGregor, S.J., Anderson, J.G., fouracre, R.A., McIlvaney, L. and Farish, O. 1999. Pulsed-light inactivation of food-related microorganisms. *Applied and Environmental Microbiology*. 65:1312-1315.
- Sastry, S.K., Datta, A.k, and Worobo, R.W. 2000. Ultraviolet light. *Journal of Food Science Supplement*. 65:90-92.
- Seo, H.J., Mitsuhashi, K. and Tanibe, H. 1992. Antibacterial and antifungal fiber blended by chitosan. In: Brine, C.J., Standford, P.A. and Zikakis, J.P. (eds.). *Advances in Chitin and Chitosan*. Elsevier Applied Science, New York, p. 34-40.
- Sharma, G. 1999. Ultraviolet light. In Robinson, R.K., Batt, C. and Patel, P. (Eds.). *Encyclopedia of food microbiology*. Vol. 3, pp. 2208-2214. Academic Press, London.
- Song, K.B. and Chun, H.H. 2013. The combined effects of aqueous chlorine dioxide, fumaric acid, and ultraviolet-C with modified atmosphere packaging enriched in CO₂ for inactivating preexisting microorganisms and *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium* inoculated on buckwheat sprouts. *Postharvest Biology and Technology*. 86:118-124.
- Tan, S.C., Tan, T.K., Wong, S.M., Khor, E., 1996. The chitosan yield of Zygomycetes at their optimum harvesting time. *Carbohydrate Polymer*. 30: 239-242.

- Todo, T., Yonei, S. and Kato, M. 1983. The modulating influence of the fluidity of cell membrane of excision repair of DNA in UV-irradiated *Escherichia coli*. Biochemical and Biophysical Research Communications. 110:609-615.
- Tzoumaki, M.V., Biliaderis, C.G. and Vasilakakis, M. 2009. Impact of edible coatings and packaging on quality of white asparagus (*Asparagus officinalis*, L.) during cold storage. Food Chemistry. 117:55-63.
- Unluturk, S., Atilgan, M.R., Baysal, A.H. and Tari, C. 2008. Use of UV-C irradiation as a non-thermal process for liquid egg products (LEP). Journal of Food Engineering. 85:561-568.
- Alvarez, M.V., Ponce, A.G. and Moreira, M.R. 2013. Antimicrobial efficiency of chitosan coating enriched with bioactive compounds to improve the safety of fresh cut broccoli. LWT-Food Science and Technology. 50:78-87.
- Young, D.H., Kohle, H., Kauss, H., 1982. Effect of chitosan on membrane permeability of suspension cultured Glycine max and Phaseolus vulgaris cells. Plant Physiology. 70: 1449-1454.

⁽¹⁾ สาขาวิชาจุลชีววิทยา สายวิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

Division of Microbiology, Department of Science, Faculty of Liberal Arts and Science, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140

⁽²⁾ สาขาวิชาชีวเคมี สายวิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

Division of Biochemistry, Department of Science, Faculty of Liberal Arts and Science, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140