

ผลของกรดอินทรีย์และโซเดียมโอดีเตซิลซัลเฟตในการกำจัดแบคทีเรีย  
บนพื้นผิวชนิดต่างๆ



ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ  
มหาวิทยาลัยแม่โจ้  
พ.ศ. 2567

ผลของกรตอินทรีย์และโซเดียมโตะเดซิลซัลเฟตในการกำจัดแบคทีเรีย  
บนพื้นผิวชนิดต่างๆ



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ  
สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้  
พ.ศ. 2567

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้

ผลของกรตอินทรีย์และโซเดียมโตะเดซัลเฟตในการกำจัดแบคทีเรีย  
บนพื้นผิวชนิดต่างๆ

ศิริพร คำปุ่น

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษา  
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษา

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก .....

(อาจารย์ ดร.พิชามณูช ลิ้มเจริญชาติ)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ. ....

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

(อาจารย์ ดร.จุฑามาศ มณีวงศ์)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ. ....

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิยะนุช เนียมทรัพย์)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ. ....

ประธานอาจารย์ผู้รับผิดชอบหลักสูตร .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิยะนุช เนียมทรัพย์)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ. ....

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการรับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.ชัยยศ สัมฤทธิ์สกุล)

รักษาการแทนรองอธิการบดี

วันที่.....เดือน.....พ.ศ. ....

ชื่อเรื่อง	ผลของกรดอินทรีย์และโซเดียมโอดีเตซิลซัลเฟตในการกำจัดแบคทีเรียบนพื้นผิวชนิดต่างๆ
ชื่อผู้เขียน	นางสาวศิริพร คำปัน
ชื่อปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	อาจารย์ ดร.พิชามณูชู่ ลิ้มเจริญชาติ

### บทคัดย่อ

การปนเปื้อนข้ามเป็นสาเหตุหลักที่ก่อให้เกิดการระบาดของเชื้อก่อโรคในอาหาร การทำความสะอาดพื้นผิวจึงมีความสำคัญในการปรับปรุงความปลอดภัยในอาหาร งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลกระทบของการใช้กรดอินทรีย์และโซเดียมโอดีเตซิลซัลเฟตในการลดปริมาณเชื้อ *Escherichia coli* O157:H7 และ *Staphylococcus aureus* บนพื้นผิว (กระเบื้อง สแตนเลสไม้ และพลาสติก) เชื้อก่อโรคทั้งสองชนิดถูกแยกเพาะเลี้ยงใน Tryptic soy broth บ่มที่อุณหภูมิ 37°C (24 ชั่วโมง) ทำการถ่ายเชื้อและบ่มอีกครั้ง เชื้อถูกนำไปปั่นเหวี่ยงละลายด้วย 0.1% peptone water ปริมาณ 250 µl นำเชื้อหยดลงบนพื้นผิวที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ทิ้งให้แห้งในอุณหภูมิห้อง จากนั้นทำความสะอาดด้วยน้ำกลั่น (5-25 ml) วิธีการทำความสะอาด (เท และฟน) และ กรดฟอร์มิก (0.1-5%, 5 ml) กรดอะซิติก (1-5%, 5 ml) กรดอินทรีย์ที่ความเข้มข้นที่คัดเลือกพร้อมกับโซเดียมโอดีเตซิลซัลเฟต (0.5 และ 1%) ทำการเก็บตัวอย่างบนพื้นผิว และสารล้างหลังทำความสะอาดและบ่มเพื่อตรวจสอบปริมาณเชื้อ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ปริมาณน้ำไม่ส่งผลต่อการทำความสะอาดเมื่อมีปริมาณมากกว่า 15 ml เชื้อ *S. aureus* มีความต้านทานสูงกว่าเชื้อ *E. coli* O157:H7 เนื่องจากเชื้อ *S. aureus* ยึดเกาะเป็นกลุ่มก้อนในขณะที่เชื้อ *E. coli* O157:H7 กระจายตัวอยู่ตามพื้นผิว เมื่อเปรียบเทียบวิธีการทำความสะอาดด้วยการฟนและการเท พบว่า วิธีการฟนส่งผลให้ปริมาณเชื้อ *E. coli* O157:H7 ลดลงมากกว่าการเท ( $P < 0.05$ ) ในขณะที่วิธีการทำความสะอาดไม่ส่งผลต่อการลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* ( $P > 0.05$ ) การใช้กรดอะซิติกและกรดฟอร์มิกความเข้มข้น 5% สามารถลดปริมาณเชื้อ *E. coli* O157:H7 และ *S. aureus* ได้มากกว่า 5 log การใช้กรดอินทรีย์ความเข้มข้นต่ำร่วมกับโซเดียมโอดีเตซิลซัลเฟตไม่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการทำความสะอาด ( $P > 0.05$ ) ความเข้มข้นของกรดอินทรีย์ที่เหมาะสมในการใช้ร่วมกับสารลดแรงตึงผิว ได้แก่ 3% ประเภทของพื้นผิวส่งผลต่อการฆ่าเชื้อ ในการทำความสะอาด พื้นผิวกระเบื้องทำความสะอาดได้ง่ายที่สุด และพื้นผิวไม้ทำความสะอาดได้ยากที่สุด เนื่องจากความขรุขระและโครงสร้างของพื้นผิว กล่าวโดยสรุป กรดฟอร์มิกและกรดอะซิติกสามารถพัฒนาเป็นสารฆ่าเชื้อบนพื้นผิวได้

คำสำคัญ : E. coli O157:H7, S. aureus, กรดอินทรีย์, โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต, ฟีนอล



<b>Title</b>	EFFECTS OF ORGANIC ACID AND SODIUM DODECYL SULFATE IN REMOVING BACTERIA ON DIFFERENT SURFACES
<b>Author</b>	Miss Siriporn Kampan
<b>Degree</b>	Master of Science in Biotechnology
<b>Advisory Committee Chairperson</b>	Dr. Pichamon Limcharoenchat

### ABSTRACT

Cross-contamination is a major case of foodborne disease outbreaks. Cleaning methods are important to improve the food safety. The objective of this research is to evaluate the effect of organic acid and sodium dodecyl sulfate for inactivating *Escherichia coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus* on surfaces (Tile, Stainless steel, Wood and Plastic). *E. coli* O157:H7 and *S. aureus* was separated transferred and incubated twice to tryptic soy broth (37°C for 24 h), centrifuged, and re-suspended with 0.1% peptone water (250 µl). Re-suspended inoculum (250 µl) was dropped on a sterilized surfaces and dried at room temperature. Distilled water with different volumes (5-25 ml) and different methods (pouring and spraying), formic acid (0.1-5%; 5 ml), and acetic acid (1-5%; 5 ml), the selected organic acid combine sodium dodecyl sulfate (0.5 and 1%) were applied to clean the inoculated surfaces. Samples were collected by swab test, diluted, and plated to enumerate survivors (37°C, 24 h). Results showed that the amount of water did not impact ( $P > 0.05$ ) the reductions when volume was more than 15 ml. *S. aureus* has higher resistance than *E. coli* O157:H7 due to *S. aureus* was flock attached to the surfaces, but *E. coli* O157:H7 was spread around the surfaces. Spraying method showed greater reduction ( $P < 0.05$ ), for *E. coli* O157:H7, but suggested the same results ( $p > 0.05$ ) for *S. aureus*. Acetic acid and formic acid 5 % reduced *E. coli* O157:H7 and *S. aureus* for  $> 5$  log reduction. Organic acid with low concentration plus SDS did not show different efficacy ( $P > 0.05$ ). Recommended concentration in this combination was at least 3% of organic acid. Types of surfaces affected the sanitation. Tile and wood were the

best and worst surfaces for cleaning because of the roughness and structure. In conclusion, formic acid and acetic acid have the ability to be used as disinfection substances.

Keywords : E. coli O157:H7, S. aureus, Organic acid, Sodium dodecyl sulfate,  
Surfaces



## กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. พิชามญช์ ลิ้มเจริญชาติประธานกรรมการที่ปรึกษา ที่ให้คำแนะนำในการวางแผนการทดลอง ตลอดจนช่วยสนับสนุนทุนวิจัยและวัสดุอุปกรณ์สำหรับใช้ในการดำเนินการวิจัยจนกระทั่งดำเนินการทดลองแล้วเสร็จ และได้ตรวจทานแก้ไขจนได้วิทยานิพนธ์ฉบับสมบูรณ์นี้

ขอขอบพระคุณอาจารย์ จุฑามาศ มณีวงศ์ กรรมการที่ปรึกษาร่วมที่ได้ให้คำแนะนำในการดำเนินงานวิจัยตลอดจนตรวจสอบแก้ไขเป็นวิทยานิพนธ์อย่างสมบูรณ์ ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปิยะนุช เนียมทรัพย์ ที่ได้ให้ความกรุณาให้ตัวอย่างเชื้อก่อโรคเพื่อนำมาดำเนินงานวิจัย ให้คำปรึกษาเกี่ยวกับการทดลอง และช่วยตรวจสอบแก้ไขจนกระทั่งเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณการสนับสนุนจากสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.)

ขอขอบคุณศูนย์บริการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ให้คำแนะนำและความกรุณาปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ ในการวิเคราะห์ตัวอย่างภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ทุกท่าน ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่และอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

นอกจากนี้ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณครอบครัวและผู้มีพระคุณทุกท่านที่คอยช่วยเหลือสนับสนุนค่าใช้จ่ายในการเรียน อบรม สั่งสอน และเป็นกำลังใจให้ตลอดระยะเวลาในการศึกษา

ศิริพร คำปัน



## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ช
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญภาพ.....	ญ
บทนำ.....	1
บทที่ 2.....	5
ทฤษฎีและการตรวจเอกสาร.....	5
บทที่ 3.....	19
อุปกรณ์และวิธีการวิจัย.....	19
บทที่ 4.....	28
ผลการวิจัยและวิจารณ์.....	28
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ.....	44
บรรณานุกรม.....	45
ภาคผนวก.....	51
ภาคผนวก.....	52
อุปกรณ์และสารเคมีสำหรับเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์.....	52
ประวัติผู้วิจัย.....	57

## สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 ความเข้มข้นของกรดอินทรีย์ร่วมกับโซเดียมโตะเดซิลซัลเฟต.....	27
ตารางที่ 2 ปริมาณความเข้มข้นของเชื้อเริ่มต้นที่ปนเปื้อนบนพื้นผิว 4 ชนิด.....	28
ตารางที่ 3 ปริมาณเชื้อที่ลดลง (log reduction) ของ <i>E. coli</i> O157:H7 และ <i>S. aureus</i> หลังการทำ ความสะอาดด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 5-25 ml.....	30
ตารางที่ 4 ปริมาณเชื้อที่ลดลง (log reduction) ของ <i>E. coli</i> O157:H7 และ <i>S. aureus</i> หลังการทำ ความสะอาดด้วยวิธีการที่ต่างกัน.....	31
ตารางที่ 5 ปริมาณเชื้อที่ลดลง (log reduction) ของ <i>E. coli</i> O157:H7 หลังการทำความสะอาดด้วย กรดอินทรีย์ที่เหมาะสมร่วมกับโซเดียมโตะเดซิลซัลเฟตบนพื้นผิว 4 ชนิด.....	38
ตารางที่ 6 ปริมาณเชื้อที่ลดลง (log reduction) ของ <i>S. aureus</i> หลังการทำความสะอาดด้วยกรด อินทรีย์ที่เหมาะสมร่วมกับโซเดียมโตะเดซิลซัลเฟตบนพื้นผิว 4 ชนิด.....	39



## สารบัญญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 รูปร่างลักษณะของเชื้อ <i>E. coli</i> O157:H7 บนพื้นผิวกระเบื้อง.....	6
ภาพที่ 2 ห่วงโซ่อาหารและการปนเปื้อนของแบคทีเรียที่อาจเกิดขึ้น (Yang และคณะ 2017).....	7
ภาพที่ 3 รูปร่างลักษณะของเชื้อ <i>S. aureus</i> บนพื้นผิวกระเบื้อง .....	8
ภาพที่ 4 องค์ประกอบของผนังเซลล์แบคทีเรีย (ORAPI).....	14
ภาพที่ 5 การทำงานของสารลดแรงตึงผิว (LifeCanvas Technologies) .....	16
ภาพที่ 6 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) .....	18
ภาพที่ 7 การทำให้พื้นผิวทั้ง 4 ชนิด ปนเปื้อนด้วยเชื้อ <i>E.coli</i> O157:H7 และ <i>S. aureus</i> .....	23
ภาพที่ 8 ปริมาณเชื้อที่ลดลง (log reduction) ของ <i>E. coli</i> O157:H7 และ <i>S. aureus</i> บนพื้นผิว 4 ชนิด หลังการทำความสะอาดด้วยกรดอินทรีย์.....	32
ภาพที่ 9 ปริมาณเชื้อที่ลดลง (log reduction) ของ <i>E. coli</i> O157:H7 และ <i>S. aureus</i> บนพื้นผิว 4 ชนิด หลังการทำความสะอาดด้วยกรดอินทรีย์.....	33
ภาพที่ 10 การยึดเกาะของเชื้อ <i>E. coli</i> O157:H7 และ <i>S. aureus</i> บนพื้นผิว 4 ชนิดด้วยกล้อง อิเล็กตรอนแบบส่องกราดที่กำลังขยาย 4X .....	35
ภาพที่ 11 ลักษณะของเชื้อ <i>E.coli</i> O157:H7 บนพื้นผิว 4 ชนิด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน แบบส่องกราดที่กำลังขยาย 4X และ 20X หลังการทำความสะอาดด้วยกรดอินทรีย์ .....	42
ภาพที่ 12 ลักษณะของเชื้อ <i>S. aureus</i> บนพื้นผิว 4 ชนิด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่อง กราดที่กำลังขยาย 4X และ 20X หลังการทำความสะอาดด้วยกรดอินทรีย์ .....	43

## บทนำ

### ความสำคัญและที่มาของปัญหา

อาหารปนเปื้อนเป็นปัญหาด้านสุขภาพที่สำคัญเนื่องจาก ส่งผลทำให้เกิดการเจ็บป่วยและเสียชีวิต ในปี พ.ศ. 2561 ศูนย์ควบคุมและป้องกันโรคแห่งสหรัฐอเมริกา (Centers for disease control and prevention, CDC) ได้มีการประมาณการสัดส่วนผู้ป่วยจากโรคอาหารเป็นพิษ พบว่าชาวอเมริกันประมาณ 1 ใน 6 คน หรือประมาณ 48 ล้านคน เกิดการเจ็บป่วยจากอาหารเป็นพิษ โดยที่ 128,000 คน เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล และ 3,000 คน เสียชีวิตจากโรคที่เกิดจากอาหาร ((CDC). 2018) เมื่อทำการตรวจสอบสาเหตุหลักของการปนเปื้อน จะพบว่าเกิดจากการปนเปื้อนข้าม (cross-contamination) กล่าวคืออาหารถูกปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ต่าง ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งจุลินทรีย์ที่ก่อโรค จากการสัมผัสกับอาหารทั้งทางตรงและทางอ้อม ในประเทศไทยพบผู้ป่วยจากโรคอาหารเป็นพิษจำนวน 115,095 ราย จาก 77 จังหวัด คิดเป็นอัตรา 175.9 ต่อแสนประชากร เสียชีวิต 0 ราย กลุ่มอายุที่พบมากที่สุด คือ 15-24 ปี คิดเป็นร้อยละ 4.69 ในปี พ.ศ. 2561 (กลุ่มระบาดวิทยาและข่าวกรอง, 2561) แนวโน้มอาหารเป็นพิษในสภาพอากาศเขตร้อนชื้นมีมากกว่าเขตอื่น เนื่องจากสภาพอากาศส่งผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อและการเน่าเสีย อีกทั้งยังเพิ่มโอกาสการปนเปื้อนข้าม

จากรายงานจุลินทรีย์ก่อโรคที่เป็นสาเหตุของการปนเปื้อนในอาหารและทำให้เกิดการเจ็บป่วย ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium*, *Listeria monocytogenes* เป็นต้น (FDA, 2019) ซึ่งแบคทีเรียก่อโรคนี้นำไปสู่ผู้ป่วยมีอาการใช้ปวดศีรษะ ปวดมวนท้อง คลื่นไส้ อาเจียน ถ่ายเป็นน้ำ อาจมีมูกเลือดปนอาการภายหลังรับประทานอาหารปนเปื้อน ในปี พ.ศ. 2564 เกิดการระบาดของเชื้อ *E.coli* ในประเทศอังกฤษ พบผู้ป่วยถึง 200 ราย (FSN, 2022a) ในขณะที่เชื้อ *S. aureus* เกิดการระบาดในประเทศสวีเดนในปี พ.ศ. 2565 ผู้ป่วย 80 คนเกิดการเจ็บป่วยหลังจากรับประทานพาสต้าที่ปนเปื้อน (FSN, 2022b) ดังนั้น การป้องกันไม่ให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษจึงมีความจำเป็นอย่างมาก

ปัจจุบันผู้บริโภคเริ่มให้ความสำคัญด้านสุขภาพมากขึ้นโดยเลือกรับประทานอาหารเพื่อสุขภาพที่มีประโยชน์และปลอดภัยโดยเลือกผักและผลไม้สด ซึ่งมีโอกาสปนเปื้อนสูง กระบวนการการผลิตจึงต้องผ่านวิธีการที่ทำให้มั่นใจว่าสะอาดและปลอดภัยต่อการบริโภค การพัฒนา

กระบวนการทำความสะอาดและกระบวนการผลิตในระดับอุตสาหกรรมจึงมุ่งเน้นไปที่ความปลอดภัยด้านอาหาร ซึ่งหน่วยงานทั้งภาครัฐและเอกชนให้ความสำคัญเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ยิ่งไปกว่านั้น รายงานสถานการณ์คุณภาพอาหารโลก ได้ระบุว่า สินค้าจากประเทศในทวีปเอเชียมีปัญหาด้านความปลอดภัยอาหารมากที่สุด ผู้ผลิตจึงจำเป็นต้องพัฒนาการผลิตอาหารปลอดภัย เพื่อสร้างความมั่นใจให้แก่ผู้บริโภค

การปนเปื้อนข้าม (cross contamination) สามารถเกิดได้ทั้งในระดับครัวเรือน ร้านค้า และอุตสาหกรรม ในปี พ.ศ. 2564 สรรุณญา และคณะ (2564) ตรวจสอบการปนเปื้อนของ Coliform *E. coli* และ *S. aureus* ในเนื้อโคและตับจากตลาดสด อำเภอเมือง จังหวัดเลย โดยตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อทั้งสามชนิดในตัวอย่างเนื้อโคและตับในร้านที่จำหน่ายจำนวน 5 ร้าน แสดงให้เห็นว่า การปฏิบัติที่ไม่ถูกสุขลักษณะก่อให้เกิดการปนเปื้อนได้ นอกจากนี้ ยังมีการตรวจสอบการปนเปื้อนในระดับอุตสาหกรรมของจุลินทรีย์ก่อโรค โดยเฉพาะการเกิดฟิล์มชีวภาพ (biofilm) บนพื้นผิวอุปกรณ์เครื่องมือและเครื่องจักรที่ใช้ในกระบวนการผลิต ซึ่งก่อให้เกิดการปนเปื้อนข้ามในระดับอุตสาหกรรม (Mazaheri, 2021)

การป้องกันการปนเปื้อนข้ามทั้งในครัวเรือนและอุตสาหกรรม มุ่งเน้นที่การทำความสะอาด (cleaning) และการสุขาภิบาล (sanitation) เพื่อให้พื้นผิวที่สัมผัสกับอาหารทั้งทางตรงและทางอ้อมปราศจากเชื้อก่อโรค การขจัดเชื้อจุลินทรีย์ที่นิยมใช้ในปัจจุบัน ได้แก่ การให้ความร้อน (thermal treatment) การใช้รังสี UV และการใช้สารเคมี ซึ่งสารเคมีที่นิยมใช้มักมีฤทธิ์กัดกร่อน หรือประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อสูง เช่น สารฟอกขาว (bleach) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ หรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ เป็นต้น สารเคมีที่กล่าวมานี้ถูกใช้เป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์ในหลากหลายยี่ห้อ อย่างไรก็ตาม สารฆ่าเชื้อเหล่านี้ หากสัมผัสโดนผิว จะก่อให้เกิดการระคายเคือง และมีความเป็นพิษต่อผิวหนัง (ศรีสุคนธ์รัตน์, 2558) ส่งผลต่อสุขภาพของผู้บริโภค และอาจปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อมจากการชะล้างปล่อยน้ำเสียลงสู่แหล่งน้ำ ด้วยเหตุนี้เอง การพัฒนาการใช้กรดอินทรีย์ทดแทนสารเคมี จึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการเพิ่มความปลอดภัยให้แก่ผู้บริโภคที่อ่อนไหวต่อสารเคมี เช่น เด็กหรือคนชรา อีกทั้งยังสามารถลดการปนเปื้อนต่อสิ่งแวดล้อมอีกด้วย

การทดสอบการใช้กรดอินทรีย์ในการยับยั้งเชื้อก่อโรคมิมาอย่างต่อเนื่อง ในปี พ.ศ. 2564 Seo และคณะได้รายงานการใช้กรดซิตริก กรดมาลิก และกรดไฟติกในการทำความสะอาดพื้นผิวเพื่อยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* ซึ่งการใช้กรดทั้งสามชนิดร่วมกันมีประสิทธิภาพในการ

ขจัดเชื้อสูงถึง 99.99% ภายในเวลา 10 นาที (Seo และคณะ, 2021) ในขณะที่ Lepaus และคณะ พบว่าการใช้กรดอะซิติกและกรดแลคติกในการทำความสะอาดสตรอว์เบอร์รี่ แต่งกวา และผักสลัดซึ่งสามารถลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* ในสตรอว์เบอร์รี่ได้เป็นอย่างดี (Lepaus และคณะ, 2020) นอกจากนี้ ยังมีงานวิจัยที่กล่าวถึงการใช้กรดอะซิติกร่วมกับเกลือสามารถยับยั้งเชื้อ *E.coli* O157:H7 ในแต่งกวาบดได้ (Lee และคณะ, 2010) และในการศึกษาการฆ่าเชื้อ *S. aureus* บนพื้นผิวที่สัมผัสอาหารใน meat-based broth โดยใช้สารฆ่าเชื้อโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 25m/L และกรดเปอร์อะซิติก 30g/l พบว่า *S. aureus* ที่ยึดเกาะบนโพลีโพรพิลีน และ พื้นผิวสแตนเลส หลังการฆ่าเชื้อด้วยกรดเปอร์อะซิติกสามารถลดปริมาณเชื้อได้ 2.6-3.7 log CFU/cm<sup>2</sup> ในขณะที่โซเดียมไฮโปคลอไรต์สามารถลดปริมาณเชื้อได้ 1.9-2.7 log CFU/cm<sup>2</sup> อย่างไรก็ตามสารฆ่าเชื้อทั้ง 2 ชนิด สามารถลดปริมาณเชื้อลงได้อย่างมากเมื่อทำการตรวจจำนวนเซลล์ที่เกาะติดกับพื้นผิว (Souza, 2014)

อย่างไรก็ตาม กรดอินทรีย์เพียงอย่างเดียว บางครั้งไม่สามารถลดปริมาณเชื้อได้มาก สารลดแรงตึงผิวจึงถูกนำมาผสมเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ จากงานวิจัยของ Zhou และคณะ (2017) พบว่า การใช้กรดเลวูลินิก ร้อยละ 0.5 ร่วมกับสารลดแรงตึงผิวโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (sodium dodecyl sulfate, SDS) ร้อยละ 0.5 สามารถลดปริมาณเชื้อ *E.coli*, *Salmonella* และ *Listeria monocytogenes* บนผิวสตรอว์เบอร์รี่ ได้มากกว่า 2 log CFU/ml อีกทั้ง ในงานวิจัยของ Webb และคณะ (2013) พบว่าการใช้กรดลูวินิก ร้อยละ 2 ร่วมกับ SDS ร้อยละ 0.2 มีประสิทธิภาพในการลดเชื้อ *Salmonella* บนผิวเปลือกแคนตาลูปได้ 3.37 log reduction และสามารถลดเชื้อ *Salmonella* บนเนื้อเยื่อของลำต้นได้ 1.37 log reduction เมื่อเทียบกับสารละลายคลอรีน 120 ppm จะเห็นได้ว่า การใช้สารลดแรงตึงผิวจึงมีส่วนช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการขจัดเชื้อก่อโรค (Webb, 2013) นอกจากนี้ Maktabi และคณะ (2023) ศึกษาการฆ่าเชื้อบนพื้นผิวสแตนเลส พลาสติก และเซรามิกโดยพบว่าการใช้โซเดียมเดซิลซัลเฟตร่วมกับกรดแลคติก หรือกรดซิตริก พบว่า 0.5% SDS ร่วมกับ 0.02% กรดแลคติก ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส มีประสิทธิภาพที่ดีที่สุดสามารถขจัดหรือลดปริมาณ *S. Typhimurium* บนทั้ง 3 ชนิด ได้ 2.5 log reduction และ 0.009% SDS ร่วมกับ ร้อยละ 0.03 กรดแลคติก ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส สามารถลดเชื้อ *L. monocytogenes* ได้ประมาณ 2.5-3.5 log reduction (Maktabi, 2023) การใช้สารลดแรงตึงผิวจึงมีส่วนช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการขจัดเชื้อก่อโรค แนวทางการใช้กรดอินทรีย์ที่กล่าวมาข้างต้น แสดงให้เห็นว่า การพัฒนาการใช้กรดอินทรีย์ร่วมกับสารลดแรงตึงผิวในการทำความสะอาดมีความ

เป็นไปได้ ดังนั้น วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้คือ การศึกษาการใช้กรดอินทรีย์ร่วมกับสารลดแรงตึงผิว ในการขจัดเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคบนพื้นผิวชนิดต่าง

### วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลกระทบของการใช้กรดฟอร์มิก กรดอะซิติก และโซเดียมโอดีเตซิลซัลเฟต ในการฆ่าเชื้อ *E.coli* O157:H7 บนพื้นผิวกระเบื้อง ไม้ สแตนเลส และพลาสติก
2. เพื่อศึกษาผลกระทบของการใช้กรดฟอร์มิก กรดอะซิติก และโซเดียมโอดีเตซิลซัลเฟต ในการฆ่าเชื้อ *Staphylococcus aureus* บนพื้นผิวกระเบื้อง ไม้ สแตนเลส และพลาสติก

### ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบถึงผลกระทบของการใช้กรดฟอร์มิก กรดอะซิติก และ โซเดียมโอดีเตซิลซัลเฟส ในการ ทำความสะอาดพื้นผิวกระเบื้อง ไม้ สแตนเลส และพลาสติก ในการฆ่าเชื้อ *E.coli* O157:H7 และ *Staphylococcus aureus*

## บทที่ 2

### ทฤษฎีและการตรวจเอกสาร

#### 1. แบคทีเรียก่อโรคที่ปนเปื้อนในอาหาร (Foodborne pathogen)

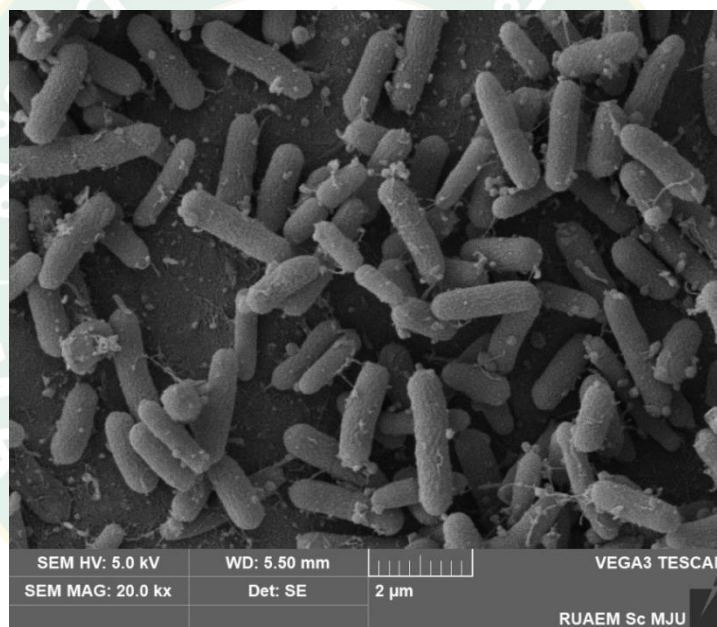
เชื้อแบคทีเรียสามารถเข้าสู่ร่างกายได้หลายวิธี เช่นการรับประทานที่มีเชื้อปนเปื้อน การหายใจ รวมไปถึงการสัมผัสกับเชื้อทั้งทางตรงและทางอ้อม ซึ่งเชื้อโรคอาจถูกแพร่จากผู้ติดเชื้อโดยตรงหรือจากตัวกลาง เช่น ลม น้ำ และแมลง เป็นต้น โดยเชื้อก่อโรคที่มักพบมาก ตัวอย่างเช่น *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium*, *Listeria monocytogenes* เป็นต้น (FDA, 2019)

#### *Escherichia coli*

*Escherichia coli* หรือ *E. coli* (ภาพที่ 1) เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีลักษณะรูปร่างแท่งไม่สร้างสปอร์ เจริญได้ในสภาวะที่มีออกซิเจนหรือไม่มีออกซิเจน เจริญได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เชื้อ *E. coli* ส่วนใหญ่ พบได้ในระบบทางเดินอาหารโดยเฉพาะลำไส้ใหญ่ (Nataro และ Kaper, 1998) (ภาพที่ 2) เป็นแบคทีเรียที่จัดอยู่ในกลุ่มโคลิฟอร์ม (coliform) ประเภท fecal coliform ซึ่งพบในอุจจาระของมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่นจึงใช้เป็นตัวชี้วัดคุณภาพของอาหารและน้ำ เชื้อ *E. coli* สายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดการระบาด แพร่ระบาดทั้งในคนและสัตว์หลายชนิด พิษที่สร้างโดย *E. coli* O157:H7 เป็นประเภท verotoxin ที่คล้ายกับ shigatoxin ที่สร้างโดย *Shigella dysenteriae* ทำให้เกิดความเสียหายที่เยื่อลำไส้ อาจส่งผลให้ลำไส้ใหญ่อักเสบจนตกเลือด (hemorrhagic colitis) อาจเกิดอาการปวดท้องรุนแรง อุจจาระร่วง อุจจาระเป็นมูกเลือด อาเจียนหรือเกิดอาการไข้ อาหารที่เกี่ยวข้องได้แก่ เนื้อดิบ อาหารปรุงไม่สุก ผักกาดหอม ผลไม้ และน้ำนมดิบ (Nguyen และ Sperandio, 2012) การแพร่กระจายของการติดเชื้อ Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) ส่วนใหญ่เกิดจากการรับประทานอาหารหรือสัมผัสอาหารที่ปนเปื้อน และการสัมผัสกับสัตว์ที่ติดเชื้อ การติดเชื้อ STEC ส่วนใหญ่เกิดจากอาหาร และแหล่งอาหารที่หลากหลาย เช่น เนื้อดิบ นมดิบ สลัด ต้นหอมดิบและมันฝรั่ง ผัก ผลไม้ และอาหารอื่นๆ มีส่วนเกี่ยวข้องในการระบาด (Feng, 2014) ในช่วงปี พ.ศ. 2554-2563 ที่ผ่านมา การระบาดของเชื้อ *E. coli* O157:H7 จากการปนเปื้อนของแบคทีเรียที่อาจเกิดขึ้นในระหว่างขั้นตอนการปรุงอาหาร อาหารที่ปนเปื้อนแบ่งออกเป็น



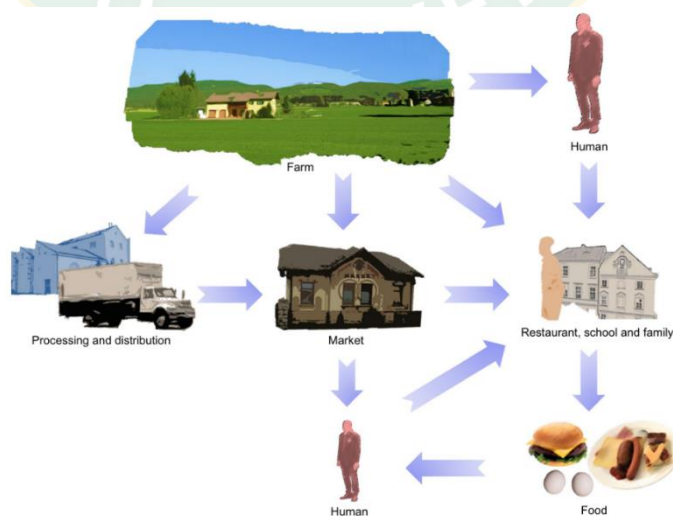
ผักและผลไม้ เช่นผักกาดโรเมน แตงกวา ต้นหอม และผักโขมเป็นต้น รวมไปถึง เนื้อสัตว์ ผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ เนื้อบด (CDC, 2020) แหล่งที่มาของเชื้ออาจมาจากสภาพแวดล้อมที่มีการปนเปื้อน น้ำ และดิน หรือ ผู้สัมผัสอาหาร ส่วนใหญ่มักเกิดจากการบริโภคอาหารที่ไม่ปรุงสุก เช่น แฮมเบอร์เกอร์ที่มีผักสดและเนื้อบด (S. C. Yang, 2017) โรคอุจจาระร่วงที่เกิดจากแบคทีเรียนี้ เป็นปัญหาสำคัญในทวีปอเมริกาเหนือ ยุโรป ปลายคาบสมุทรของทวีปอเมริกาใต้ อเมริกาใต้ ญี่ปุ่น และออสเตรเลีย มีการระบาดหลายครั้งในสหรัฐอเมริกาที่ค่อนข้างรุนแรง มีผู้ป่วยถ่ายเป็นเลือดจากอาการลำไส้ใหญ่อักเสบ ภาวะไตวายจากเม็ดเลือดแดงแตก (HUS) และบางรายเสียชีวิต สาเหตุจากการรับประทานแฮมเบอร์เกอร์ที่สุกไม่พอ นมที่ไม่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ และ น้ำแอปเปิลที่ปนเปื้อนปุ๋ยคอก เป็นต้น (กรมควบคุมโรค)



ภาพที่ 1 รูปร่างลักษณะของเชื้อ *E. coli* O157:H7 บนพื้นผิวกระเบื้อง

การระบาดส่วนใหญ่สามารถเกิดขึ้นได้ทั้งในระดับครัวเรือน ภายในโรงเรียน ชุมชน และภายในโรงงานอุตสาหกรรมที่ผลิตอาหารซึ่งแบคทีเรียตัวบ่งชี้การปนเปื้อนในอาหารที่เป็นจุลินทรีย์ในลำไส้ เช่นโคลิฟอร์ม และ *E. coli* จึงเป็นตัวบ่งชี้การปนเปื้อนจากอุจจาระ ดังนั้นการตรวจปริมาณเชื้อ *E. coli* O157:H7 ในอาหารต้องน้อยกว่า 10 กรัม จากรายงานการระบาดโรคอุจจาระร่วงจากเชื้อ *E. coli* ในโรงเรียนทหาร จังหวัดประจวบคีรีขันธ์พบผู้ป่วย 55 รายจากนักเรียนทั้งหมด 1,330 ราย อาการที่พบได้แก่ถ่ายเหลว ปวดท้อง คลื่นไส้ อ่อนเพลีย และถ่ายเป็นน้ำ โดยสาเหตุของการระบาดในครั้งนี้อาจจะเกิดจากน้ำดื่มที่ไม่สะอาด ตั้งแต่กระบวนการทำน้ำประปา และการขนส่งน้ำดื่ม

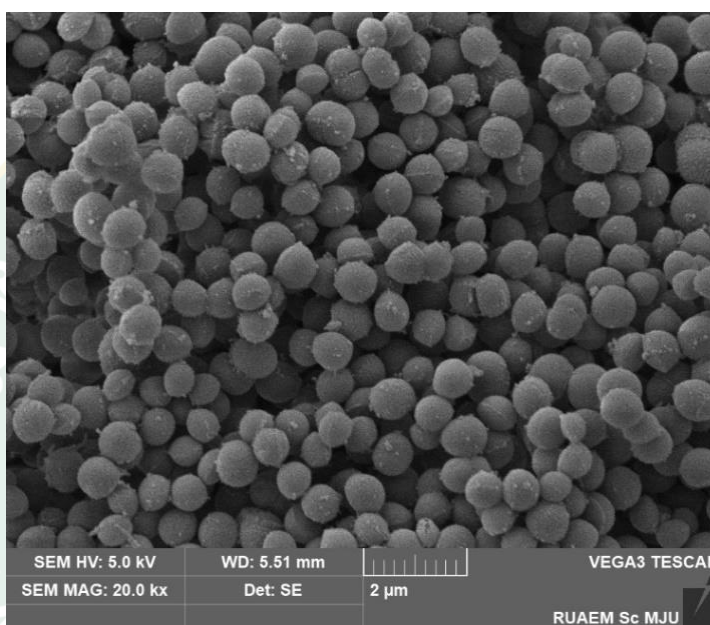
(จันทิรา, 2561) ในเดือนกุมภาพันธ์ ปี 2024 พบการระบาดของเชื้อ *E.coli* ในเขตคาร์ซีดดิบ ยี่ห้อ Raw Farm พบผู้ป่วย 11 ราย จะเห็นได้ว่าผลิตภัณฑ์นมที่ไม่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์มีแนวโน้มทำให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อก่อโรคได้ (CDC, 2024a) นอกจากนี้ในช่วง 5 ปีที่ผ่านมา มีการระบาดของเชื้อ *E.coli* จากหลายแหล่ง เช่นการปนเปื้อนในบรรจุภัณฑ์ใส่สลัด ปนเปื้อนในผักผลไม้สดที่พร้อมทาน (ready to eat) ปนเปื้อนเนื้อสดเนื่องจากการรับประทานแบบดิบ และไม่ทราบแหล่งที่มาของการปนเปื้อน (CDC, 2024b) นอกจากนี้เชื้อ *E.coli* สามารถพบได้จากการปนเปื้อนจากสิ่งของส่วนบุคคล ในการสำรวจการปนเปื้อนแบคทีเรียก่อโรคในบริเวณบ้าน พบว่า มีการตรวจพบเชื้อ *E.coli* ในปริมาณสูงบริเวณส่วนบนของเคาท์เตอร์ในครัว อ่างล้างจาน ฟองน้ำ และผ้าเช็ดจาน (Medrano-Félix, 2011) การระบาดของโรคที่เกิดจากอาหารโดยเชื้อ *E.coli* การปนเปื้อนของแบคทีเรียสามารถเกิดขึ้นในระหว่างขั้นตอนต่างๆอย่างต่อเนื่องจากวัตถุดิบ โต๊ะ สิ่งแวดล้อม สัตว์ หรือมนุษย์ การระบาดของโรคที่เกิดจากอาหารที่เกี่ยวข้องกับผักผลไม้สดมีอัตราเพิ่มมากขึ้น (ภาพที่ 2) จากรายงานของศูนย์ควบคุมและป้องกันโรกระหว่างปี พ.ศ. 2516 และ พ.ศ. 2555 ในสหรัฐอเมริกา พบการระบาดจากใบผักจำนวน 606 ครั้ง โดยมีรายงานการเจ็บป่วย 20,003 ครั้ง รักษาตัวที่โรงพยาบาล 1,030 ราย เสียชีวิต 19 ราย สาเหตุของการระบาดเกิดจาก *E.coli* (STEC) *Salmonella* และ สิ่งอำนวยความสะดวก (Herman, 2015) นอกจากนี้ในปี พ.ศ. 2539 พบการระบาดของเชื้อ *E. coli* O157:H7 ที่เกิดขึ้นในกลุ่มของเด็กนักเรียนในเมืองซาโก โอซาก้า ประเทศญี่ปุ่น โดยสาเหตุของการระบาดในครั้งนี้เกิดจากการรับประทานหัวไชเท้าจากฟาร์มแห่งเดียวกัน (Michino, 1999)



ภาพที่ 2 ห่วงโซ่อาหารและการปนเปื้อนของแบคทีเรียที่อาจเกิดขึ้น (Yang และคณะ 2017)

### *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* เป็นแบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญในอาหาร เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีรูปร่างเป็นทรงกลม ขนาด 0.5-1.0 ไมครอนเรียงตัวกันเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น (ภาพที่ 3) ลักษณะโคโลนิกรวม ขอบเรียบ สีเหลืองหรือส้ม ไม่สร้างสปอร์เจริญได้ในที่มีอากาศและไม่มีอากาศ แต่เจริญได้ดีกว่าในสภาวะที่มีอากาศ ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ได้แก่ 30-37 องศาเซลเซียส เจริญได้อยู่ในช่วงค่า พีเอช 4.0-10.0 โดยมีช่วงที่เหมาะสมคือ 7.0-7.5



ภาพที่ 3 รูปร่างลักษณะของเชื้อ *S. aureus* บนพื้นผิวกระเบื้อง

เชื้อ *S. aureus* สามารถพบได้ในอากาศ ขยะมูลฝอย ผิวหนัง ทางเดินปัสสาวะ โดยทั่วไป จะพบการปนเปื้อนในอาหารที่แปรรูปมาจากเนื้อสัตว์หรือจากการสัมผัสจากมนุษย์ *S. aureus* จะสร้างสารพิษชนิดเอนทีโรทอกซิน (Enterotoxin) ได้ที่อุณหภูมิสูงกว่า 10 องศาเซลเซียส โดยสารพิษดังกล่าวจะมีคุณสมบัติพิเศษ คือ ทนความร้อน ทำให้ผู้บริโภคเกิดโรคทางเดินอาหารเป็นพิษ มีอาการคลื่นไส้ อาเจียน เวียนศีรษะและอ่อนเพลีย (Foster, 2002) ในเดือนกุมภาพันธ์ ปี 2023 มีรายงานการระบาดของโรคกระเพาะและลำไส้อักเสบเฉียบพลันที่โรงเรียนมัธยมในเมืองชินเฟยส์ ประเทศโปรตุเกส ส่งผลกระทบต่อนักเรียน 52 รายที่รับประทานอาหารกลางวันในโรงอาหาร จากการตรวจสอบพบว่ามีผู้ป่วยรับประทานอาหารที่เหลือในมือกลางวัน ได้แก่ ข้าวเนื้อสัตว์ปิ้ง ข้าวเหนียว และครีมแครอท ผลการทดสอบเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcal enterotoxin* พบว่ามีเชื้อของผู้สัมผัสอาหารคนหนึ่งมีผลการทดสอบเชื้อ *Staphylococcal enterotoxin* ในขณะที่ผลการ

ตรวจสอบบนพื้นผิวมีผลเป็นลบ จึงสรุปว่าการระบาดมีสาเหตุมาจากเชื้อ *Staphylococcus* ซึ่งเกิดจากมือที่ปนเปื้อนของผู้สัมผัสอาหาร โดยมีอาหารกลางวันเป็นพาหะ (FSN, 2024)

ในกระบวนการอุตสาหกรรมการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* อยู่ในระหว่างขั้นตอนการผลิตจนสามารถสร้างสารพิษได้ เมื่อผ่านกระบวนการผลิตปริมาณเชื้อจะลดลงจนมีปริมาณเหลือเล็กน้อย ทำให้ตรวจไม่พบ แต่สารพิษยังคงอยู่ ดังนั้นการผลิตอาหารจึงต้องมีการควบคุมสุขลักษณะการผลิตให้ดี หากการบริโภคอาหารที่มีสารพิษเพียงเล็กน้อย (1 ไมโครกรัม) สามารถทำให้ผู้บริโภคเกิดอาการเป็นพิษ แม้อาจตรวจไม่พบ นอกจากนี้การพบเชื้อปริมาณเล็กน้อยก็ถือว่ามี การปนเปื้อนเช่นกัน อีกทั้ง *S. aureus* สามารถผลิตไบโอฟิล์มบนพื้นผิวของวัสดุที่สัมผัสอาหาร

เมื่อทำการฆ่าเชื้อ *S. aureus* บนพื้นผิวสแตนเลส แก้ว โพรพิลีน และโพลีเอทิลีน ด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อ อันได้แก่ เอทานอล ร้อยละ 70 และคลอรีน 200 ppm พบว่า น้ำยาฆ่าเชื้อสามารถลดปริมาณเชื้อก่อโรคบนพื้นผิวสแตนเลสและแก้ว ได้ดีกว่าโพรพิลีน และโพลีเอทิลีน นอกจากนี้ ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อของเอทานอลยังดีกว่าคลอรีนอีกด้วย (Kim และคณะ, 2017) เมื่อทำการสำรวจเชื้อ *S. aureus* ในครัวเรือน พบว่า *S. aureus* ถูกตรวจพบในปริมาณที่สูงบริเวณ โถปัสสาวะ และที่นั่งปัสสาวะ (Medrano-Félix, 2011) นอกจากนี้เชื้อ *S. aureus* เป็นจุลินทรีย์ตัวบ่งชี้ ซึ่งนำไปใช้ประเมินความปลอดภัยของอาหารการพบเชื้อ *S. aureus* ในอาหารแสดงว่ามีการปนเปื้อนจากผิวหนัง ปาก และจมูกของผู้ผลิต เครื่องมือที่ไม่สะอาด และในวัตถุบิจากสัตว์อาจเป็นแหล่งปนเปื้อนด้วย โดยปริมาณเชื้อต้องน้อยกว่า  $10^5$  กรัม ในอาหาร จากรายงานวิจัยของ Castro และคณะ (2016) การประเมินของอาสาสมัคร 162 คน พบเชื้อ *S. aureus* อยู่ที่มือและจมูก โดย *S. aureus* ส่วนใหญ่อยู่ที่ จมูก ร้อยละ 19.8 และ ร้อยละ 11.1 (Castro, 2016)

## 2. พื้นผิวที่สัมผัสอาหาร (Food contact surfaces)

การปนเปื้อนข้ามเป็นการปนเปื้อนจากสิ่งแปลกปลอมหนึ่งไปสู่อีกที่หนึ่ง เช่น การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์จากมิดไปยังวัตถุบิจในการผลิต หรือการปนเปื้อนสารก่อภูมิแพ้จากผิวของถาดไปยังอาหาร เป็นต้น การปนเปื้อนสามารถเกิดขึ้นได้ในทุกขั้นตอนของห่วงโซ่อุปทานอาหาร ทั้งการผลิต การเก็บเกี่ยว การขนส่งและการจัดเก็บวัตถุบิจ โดยอาจเกิดปนเปื้อนโดยตรงจากจุลินทรีย์หรือการปนเปื้อนข้ามจากอุปกรณ์เครื่องมือหรือสิ่งอำนวยความสะดวกต่างๆ (DeFlorio, 2021)

พื้นผิวที่สัมผัสแต่ละชนิดมีความขรุขระ (roughness) ของพื้นผิวที่แตกต่างกัน หากมีการปนเปื้อนบนพื้นผิว ส่งผลให้พื้นผิวที่สัมผัสอาจเป็นแหล่งพาหะของการปนเปื้อนข้ามเพราะมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ตกค้างอยู่บนพื้นผิวเนื่องจากทำความสะอาดไม่ดีพอ พื้นผิวที่มีค่าความขรุขระ (Arithmetical Roughness mean: Ra) สูง จะมีเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคตกค้างอยู่มากกว่า ความขรุขระจึงเป็นปัจจัยหนึ่งที่สามารถส่งผลต่อการทำความสะอาด

พื้นผิวที่ใช้ในงานวิจัยนี้ได้แก่ กระจก เบื้อง สแตนเลส ไม้ และพลาสติก โดยมีความขรุขระต่างกัน เป็นพื้นผิวที่พบประจำในครัวเรือน และระดับอุตสาหกรรม เช่น การใช้เชียงไม้ในบ้าน หรือจานไม้ในร้านอาหาร หรือการใช้กระจกสำหรับพื้นบ้าน และพื้นห้องน้ำ เป็นต้น

สำหรับระดับอุตสาหกรรม มีการใช้ทั้งพลาสติกและสแตนเลส โดยเฉพาะการใช้สแตนเลสในเครื่องจักรผลิตอาหาร การทำความสะอาดด้วยสารเคมีจำนวนมาก จะส่งผลต่อผิวของสแตนเลสทำให้มีความขรุขระมากขึ้น และอาจส่งผลต่อการสะสมของแบคทีเรียก่อโรคได้

### 3. สารฆ่าเชื้อ (Sanitizer)

ในการทำความสะอาดในอุตสาหกรรมสารฆ่าเชื้อที่นิยมใช้ได้แก่ Sodium hypochlorite, Iodophor, คลอรีน และ กรดเปอร์อะซิติก เป็นต้น (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข, 2566) สารฆ่าเชื้อ (sanitizer) หรือ sanitizing agent หรือ disinfectant หมายถึง สารที่ใช้เพื่อลดปริมาณจุลินทรีย์บนพื้นผิวที่สัมผัส โดยเฉพาะจุลินทรีย์ก่อโรค (pathogen) เช่น พื้นผิวสัมผัสอาหาร เครื่องจักรในโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร ซึ่งการฆ่าเชือนี้ มุ่งเน้นไปที่การปริมาณเชื้อในอยู่ในระดับที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภค มาตรฐานของสารฆ่าเชื้อที่ในอุตสาหกรรมที่ใช้ลดจุลินทรีย์ปนเปื้อนบนพื้นผิวนั้น จะต้องสามารถลดปริมาณเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ได้ถึง 99.999% ลดลงมากกว่า 5 log reduction ภายในเวลา 30 วินาที ที่อุณหภูมิ 25°C สำหรับสารฆ่าเชื้อพื้นผิวที่ไม่สัมผัสกับอาหารต้องลดการปนเปื้อนลง 99.9% หรือ 3 log ในเวลา 5 นาที (หน่วยทดสอบมาตรฐานสุขลักษณะเครื่องจักรแปรรูปอาหาร, 2556) ปัจจุบันมีการใช้สารเคมี เช่น โซเดียมไฮโปคลอไรท์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ไอโอโอฟอร์ และ คลอรีนไดออกไซด์ เป็นต้น ซึ่งมีงานวิจัยของ (López-Cuevas และคณะ, 2021) ได้ศึกษาการจำลองกระบวนการฉีดพ่นฆ่าเชื้อโรงบรรจุหีบห่อเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของคลอรีนไดออกไซด์และโซเดียมไฮโปคลอไรท์ในการลด *E. coli* O157:H7 บนผิวพริกหยวก โดยทำการปนเปื้อนเชื้อ *E. coli* บนผิวพริกหยวก (7.74 log CFU/g) จากนั้นฉีดพ่นด้วยคลอรีนไดออกไซด์ ที่ pH เท่ากับ 6 และ 8 เป็นเวลา 10 วินาที พบว่า เชื้อ *E. coli* ลดลงเหลือ 4.25 และ 3.90 log CFU/g ตามลำดับ ในขณะที่

โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 200 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ที่ พีเอช เท่ากับ 6 สามารถลดปริมาณเชื้อลงเหลือ 2.89, 3.25 และ 3.54 log CFU/g ที่เวลา 10, 20 และ 30 วินาที ตามลำดับ ดังนั้น การใช้คลอรีนไดออกไซด์จึงเป็นทางเลือกที่มีประสิทธิภาพในการลด *E. coli* O157:H7 บนผิวพริกหยวก งานวิจัยของ Joseph และคณะ (2001) ได้กล่าวถึงการฆ่าเชื้อ *Salmonella* บนพื้นผิวพลาสติก ซีเมนต์ และสแตนเลส พบว่าไฮโปคลอไรท์ที่ความเข้มข้น 100 ppm สามารถลดปริมาณเชื้อ ได้ 5 log reduction ในเวลา 20 นาที เช่นเดียวกับ ไอโอดีนที่ความเข้มข้น 50 ppm ตรวจไม่พบเชื้อเมื่อเวลาผ่านไป 20 นาที (Joseph, 2001) Cabeça และคณะ (2012) ศึกษาการฆ่าเชื้อ *E. coli*, *S. aureus* และ *L. monocytogenes* บนพื้นผิวสแตนเลสด้วยสารเคมีที่ใช้ฆ่าเชื้อ คือ ไอโอดีน ไบท์วไนต์ ควอเทอนารี แอมโมเนียม กรดเปอร์อะซิติก และ โซเดียมไฮโปคลอไรท์ พบว่า โซเดียมไฮโปคลอไรท์มีประสิทธิภาพสามารถลดปริมาณเชื้อ *E. coli*, *S. aureus* และ *L. monocytogenes* ได้ดีที่สุด ได้เท่ากับ 4.4 log CFU/cm<sup>2</sup>, 5.7 log CFU/cm<sup>2</sup> และ 5.3 log CFU/cm<sup>2</sup> ตามลำดับ (Cabeça, 2012) ดังนั้นการใช้สารเคมีในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคเพื่อลดการปนเปื้อนในอาหารมีประสิทธิภาพดีในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ แต่อย่างไรก็ตามในการใช้สารเคมีส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมเนื่องจากปล่อยของเสียสู่ภายนอก และสุขภาพของผู้บริโภคเป็นอย่างมาก

#### 4. กรดอินทรีย์ (Organic acid)

กรดอินทรีย์หรือกรดคาร์บอกซิลิก (carboxylic acid) เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีหมู่คาร์บอนิลเป็นหมู่ฟังก์ชันนัล มีสูตรทั่วไปคือ R-COOH เช่น กรดอะซิติก (CH<sub>3</sub>COOH), กรดฟอร์มิก (HCOOH), กรดบิวทิริก (CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>COOH) เป็นต้น กรดอินทรีย์เป็นสารประกอบมีขั้ว (Polar compound) ทำให้กรดอินทรีย์สามารถละลายน้ำได้ (รัตนวุฒิ, 2549) กรดอินทรีย์เป็นสารประกอบธรรมชาติสามารถพบได้ในอาหารทั่วไปหรือเกิดจากการหมักจากจุลินทรีย์ กรดอินทรีย์ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียมีการใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อใช้ในการถนอมอาหารเพื่อปรับค่าพีเอชในอาหาร หรือใช้เป็นสารกันเสียป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย และจุลินทรีย์ก่อโรค (มหาวิทยาลัยรามคำแหง) ในงานวิจัยนี้จึงเลือกกรดอะซิติกและกรดฟอร์มิก ในการทำความสะอาดพื้นผิวที่ปนเปื้อนเชื้อก่อโรค เพื่อทดแทนการใช้สารเคมีในการฆ่าเชื้อบนพื้นผิว

#### 4.1 กรดอะซิติก (acetic acid)

กรดอะซิติกหรือกรดน้ำส้ม เป็นกรดอินทรีย์ มีสูตรโมเลกุลคือ  $\text{CH}_3\text{COOH}$  เป็นของเหลวไม่มีสี การผลิตกรดอะซิติกสามารถผลิตได้จากกระบวนการหมักเอทิลแอลกอฮอล์ด้วยแบคทีเรียอะซิโตแบคเตอร์ (Acetobacter) หรือเกิดจากการสังเคราะห์ทางเคมี กรดอะซิติกใช้เพื่อปรุงแต่งกลิ่นรสของอาหาร หรือวัตถุเจือปนอาหาร ถูกใช้เป็นส่วนผสมในอาหารเพื่อป้องกันการเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุทำให้อาหารบูดเน่า ใช้เพื่อปรับความเป็นกรด-ด่างของอาหาร และช่วยยืดอายุการเก็บรักษาอาหาร นอกจากนี้ ยังใช้เพื่อการเพิ่มรสเปรี้ยวในอาหารซึ่งทั้งนี้ ขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารที่ต้องการรสเปรี้ยวมากหรือน้อย หากใช้ความเข้มข้นมากจะทำให้เกิดรสเปรี้ยวมาก อาหารที่มีการใช้กรดอะซิติก ได้แก่ น้ำสลัด ผักดอง ผลไม้ดอง และซอสชนิดต่างๆ เป็นต้น ซึ่งการปริมาณของกรดอะซิติกที่ใช้ในการเติมแต่งอาหาร มีค่าไม่เกินร้อยละ 9 ขึ้นอยู่กับชนิดของอาหาร (USFDA, 1982) อีกทั้งยังมีการประยุกต์ใช้กรดอะซิติกในหลายด้าน เช่น การทำความสะอาดสถานที่ปฏิบัติงานนอกชายฝั่ง เนื่องจากเป็นสารทำความสะอาดที่เป็นธรรมชาติ การนำมาใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางโดยใช้เป็นตัวควบคุม อุตสาหกรรมสิ่งทอนำมาประยุกต์ใช้ในการย้อมผ้า อุตสาหกรรมเคมีใช้ในการผลิตสารทำความสะอาดซึ่งผลิตภัณฑ์ล้างและทำความสะอาดเกือบทั้งหมดมีกรดอะซิติกในระดับความเข้มข้นต่ำถึงปานกลาง อย่างไรก็ตามค่าจำกัดที่จะไม่ทำให้เกิดผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์ ไม่เกิน 10 ppm (ฐานข้อมูลความปลอดภัยด้านสารเคมี, 2546a)

งานวิจัยของ Lepaus และคณะ (2020) แสดงให้เห็นว่าการใช้กรดอะซิติก ร้อยละ 1 กรดแลคติก ร้อยละ 2 ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ร้อยละ 3 โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 200 มก./ลิตร และโซเดียมไดคลอโรไอโซไซยานูเรต 200 มก./ลิตร สามารถลดการปนเปื้อนเชื้อตามธรรมชาติ ลดปริมาณเชื้อ *Salmonella enterica enteritidis* ที่บนพื้นผิวของสตรอเบอร์รี่ แดงกว่า และใบผักสลัดร็อกเก็ต ลดแบคทีเรียเมโซฟิลิก ยีสต์และราได้ 1.67 – 2.73 และ 0.61 – 1.46 log CFU/g ในสตรอเบอร์รี่ 1.48 – 2.19 และ 1.02 – 2.01 log CFU/g บนใบผักสลัดร็อกเก็ต และ 1.10 – 2.08 และ 0.88 – 1.58 log CFU/g ในแดงกว่าตามลำดับ ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนถึงศักยภาพของกรดอินทรีย์ในการทดแทนสารประกอบคลอรีนในขั้นตอนการฆ่าเชื้อของผักผลไม้สด (Lepaus และคณะ, 2020) นอกจากนี้ งานวิจัยของ Seo และคณะ (2021) ได้รายงานประสิทธิภาพของการใช้กรดอินทรีย์ อันได้แก่ กรดซิตริก กรดมาลิก และกรดไฟติก ในการยับยั้งเชื้อ *E.coli* และ *S. aureus* พบว่า ปัจจัยที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพได้แก่ ความเข้มข้น และเวลา การผสมกรดทั้งสามชนิดเข้าด้วยกัน สามารถลดปริมาณเชื้อก่อโรคได้ถึง 99.9% (3 log reduction) ภายในเวลา 10 นาที การใช้กรดทั้งสามชนิด

ร่วมกันได้ประสิทธิผลดีกว่าการใช้กรดเพียงชนิดเดียว (Seo และคณะ, 2021) ซึ่งในประเทศไทยมีน้ำส้มสายชูกลั่นที่จำหน่ายในท้องตลาดปริมาณความเข้มข้นคือ ร้อยละ 5 งานวิจัยนี้จึงทำการทดสอบการฆ่าเชื้อด้วยสารละลายกรดอินทรีย์ความเข้มข้นสูงสุดเท่ากับน้ำส้มสายชูที่จำหน่ายในท้องตลาด

#### 4.2 กรดฟอร์มิก (formic acid)

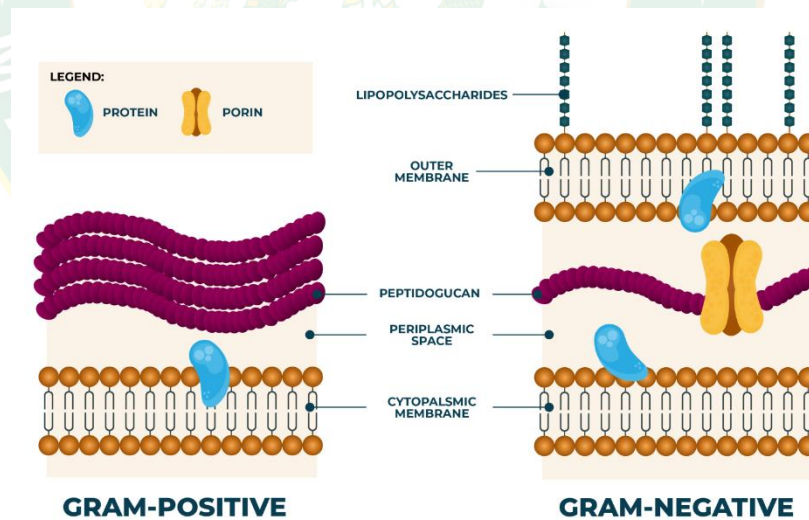
กรดฟอร์มิก (formic acid) หรือกรดมด เป็นกรดอินทรีย์ชนิดหนึ่ง มีสูตรโมเลกุลคือ HCOOH กรดฟอร์มิกอาจเกิดจากการสังเคราะห์โดยจุลินทรีย์ในกระบวนการหมัก กรดฟอร์มิกใช้เป็นวัตถุเจือปนอาหาร (food additive) เพื่อเป็นสารกันเสีย (preservative) (E-number, INS 236 ) (Hietala, 2016) กรดฟอร์มิกถูกประยุกต์ใช้ในหลายด้าน อาทิเช่น เป็นสารตัวกลางสำหรับการทำความสะอาด ฟอก หรือที่เรียกว่าการเตรียมกรด ใช้เป็นน้ำยาทำความสะอาดที่ใช้ล้างสิ่งติดตั้งทางอุตสาหกรรมประเภทต่างๆ ส่วนผสมของยารักษาโรคข้อหรือยาตีบตัน สารเติมแต่งสำหรับอาหารสัตว์และสารฆ่าเชื้อรา และเป็นส่วนผสมของเครื่องสำอางสำหรับการดูแลร่างกายและการฟื้นฟูทางด้านปศุสัตว์มีการศึกษาการใช้กรดฟอร์มิกและกรดบิวไทรกเพื่อผลของการเสริมสุขภาพทางเดินอาหารและสมรรถนะการผลิตของลูกสุกรหย่านม (เข็มพะกา, 2558) นอกจากนี้การปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* ในกลุ่มของสัตว์ปีกก็นับเป็นปัญหาใหญ่อีกเช่นเดียวกัน ในการใช้สารปฏิชีวนะในอาหารของสัตว์เป็นที่ถูกนำมาใช้กันอย่างกว้างขวาง แต่อย่างไรก็ตามการใช้สารปฏิชีวนะอาจส่งผลกระทบต่อตัวยาของเชื้อก่อโรคในงานวิจัยของ (นิยมเดชา, 2558) จึงมีการศึกษาการใช้กรดอินทรีย์เพื่อทดแทนการใช้สารปฏิชีวนะและลดความเสี่ยงในการดื้อยาของเชื้อก่อโรค ศุภชาติ และคณะ (2566) ทำการศึกษาประสิทธิภาพของกรดอินทรีย์ 4 ชนิด (กรดฟอร์มิก กรดแลกติก กรดมาลิก และกรดซิตริก) ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคเต้านมอักเสบในโคนม (ศุภชาติ, 2566)

กรดฟอร์มิกยังมีการประยุกต์ใช้กรดฟอร์มิกกับนิซิน (Nisin) ในการยับยั้งเชื้อ *Bacillus subtilis* ในมันฝรั่งเพื่อป้องกันการเน่าเสีย ในประเทศสหรัฐอเมริกา มีการใช้กรดฟอร์มิกเพื่อปรับค่า pH ในฟางที่ใช้เป็นอาหารสัตว์ โดยกำหนดปริมาณกรดไว้ไม่เกิน ร้อยละ 1.2 ของอาหารทั้งหมด (Ruengvisesh และคณะ, 2020) นอกจากนี้กรดฟอร์มิกใช้ในกระบวนการผลิตกระดาษและหนัง การชุบเคลือบโลหะไฟฟ้า การต้มกลั่นเหล้า การตกแต่งสิ่งทอ กรดฟอร์มิกมีกลิ่นฉุน ทำให้ระคายเคืองผิวหนังหากสัมผัสที่ความเข้มข้นสูง ดังนั้น ค่าจำกัดที่จะไม่ทำให้เกิดผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์ไม่เกิน 5 ppm (ฐานข้อมูลความปลอดภัยด้านสารเคมี, 2546b)



#### 4.3 กลไกในการออกฤทธิ์ทำลายจุลินทรีย์

การทำลายเซลล์จุลินทรีย์ด้วยกรดอินทรีย์ จะเริ่มด้วยทำลายผนังเซลล์ของจุลินทรีย์เป็นอันดับแรก ซึ่งผนังเซลล์เป็นโครงสร้างสำคัญที่ช่วยรักษาแรงดันออสโมติก รูปร่าง ความสมบูรณ์ของเซลล์ Periplasmic space เป็นพื้นที่ระหว่างเยื่อหุ้มชั้นนอกกับผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบ (ภาพที่ 4) กรดอินทรีย์จะแพร่กระจายผ่านผนังเซลล์ เข้าไปภายในเซลล์ของแบคทีเรียได้โดยเฉพาะกรดอินทรีย์สายโซ่สั้น เช่น กรดฟอร์มิก กรดอะซิติก และกรดแลคติก ปรับค่าพีเอช ของแบคทีเรียจากสภาพเป็นกลางให้กลายเป็นกรด โดยกรดอินทรีย์แตกตัวเป็นแอนไอออน ( $R-OO^-$ ) และ โปรตอน ( $H^+$ ) ส่งผลให้โปรตอนอยู่ในเซลล์เป็นจำนวนมาก แบคทีเรียจึงใช้พลังงานมากเพื่อการกำจัดโปรตอนออกจากเซลล์ส่งผลให้แบคทีเรียตาย อีกทั้งกรดอินทรีย์จะไปรบกวนการสังเคราะห์สารพันธุกรรม (DNA) (รัตนวุฒิ, 2549) อาจส่งผลต่อโปรตีนภายในเซลล์โดยการทำลายหรือยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนทำลายโปรตีนที่สัญญาณวิทยาของเซลล์ เช่น chaperonin และ peptidoglycan ใน periplasmic ของ ทั้งในแบคทีเรียแกรมลบและแกรมบวก (Ji, 2023)



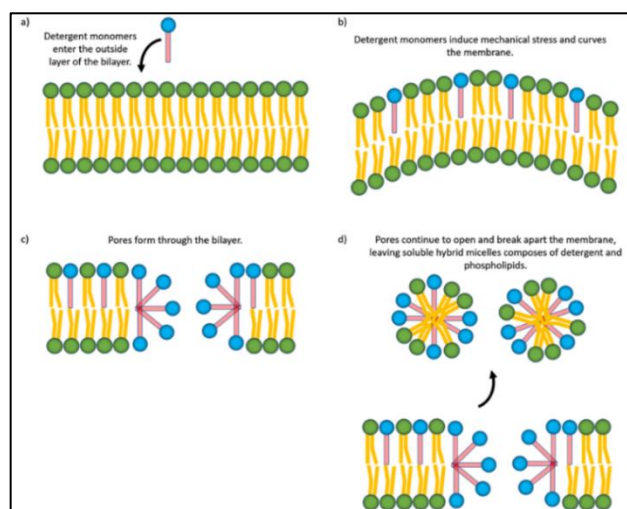
ภาพที่ 4 องค์ประกอบของผนังเซลล์แบคทีเรีย (ORAPI)

## 5. สารลดแรงตึงผิว (Surfactant)

การใช้กรดอินทรีย์ดังกล่าวข้างต้นในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียบนพื้นผิว อาจส่งผลให้มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อไม่มากนัก ดังนั้นจึงมีการใช้โซเดียมโดเดซิลซัลเฟตเพื่อใช้ร่วมกันในการฆ่าเชื้อ โดยโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตเป็นสารลดแรงตึงผิว (surfactant) ชนิดหนึ่ง ส่วนใหญ่เป็นสารประกอบอินทรีย์ประกอบไปด้วย 2 ส่วน คือ ส่วนที่มีขั้วหรือส่วนที่ชอบน้ำ (Hydrophilic) และส่วนที่ไม่มีขั้วคือส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) สารลดแรงตึงผิว มี 4 ประเภท คือ สารลดแรงตึงผิวประจุลบ, สารลดแรงตึงผิวประจุบวก, สารลดแรงตึงผิวแบบไม่มีประจุ และ สารลดแรงตึงผิวชนิดแอมโฟเทอริก (Zwitterionic) โดยหลักการทำงานของสารลดแรงตึงผิวคือ ส่วนหัวที่ชอบน้ำจะจับกับน้ำ ส่วนหางจะจับกับสิ่งสกปรกพวกไขมันที่ละลายน้ำได้ ทำให้สิ่งสกปรกหลุดออกไป (Liu, 2021)

### 5.1 กลไกในการทำละลายจุลินทรีย์ของสารลดแรงตึงผิว

สารลดแรงตึงผิวถูกนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายในการต้านจุลินทรีย์ เพราะเป็นสารที่มีความสามารถในการละลายเยื่อหุ้มไขมัน สามารถทำลายระบบต่างๆของเซลล์ได้ ตามกลไกการยับยั้งของสารลดแรงตึงผิวในระดับโมเลกุลของเซลล์ทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ (ภาพที่ 5) ผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบประกอบด้วย เยื่อหุ้มชั้นนอกที่มีไลโปโพลีแซ็กคาไรด์ (lipopolysaccharide) และลิพิด (lipid) ชั้นเพปทิโดไกลแคน (peptidoglycan) ใน periplasmic และเยื่อหุ้มชั้นในของฟอสโฟลิพิด ในขณะที่ผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมบวกมีลักษณะเป็นชั้น peptidoglycan หนาและเยื่อหุ้มชั้นใน สารลดแรงตึงผิวจะแทรกผ่านเยื่อหุ้มชั้นนอกแพร่เข้าไปในเซลล์ก่อนที่จะทำปฏิกิริยาและละลายเยื่อหุ้มชั้นในของฟอสโฟลิพิด (Sharma, 2022) สารลดแรงตึงผิวประจุลบถูกนำมาใช้กันอย่างแพร่หลาย เช่น Alcohol alkoxy sulfate, Sodium dodecyl sulfate, Petroleum sulfonates เป็นต้น (Liu, 2021)



ภาพที่ 5 การทำงานของสารลดแรงตึงผิว (LifeCanvas Technologies)

## 5.2 Sodium Dodecyl sulfate (SDS)

ในงานวิจัยนี้เลือกสารลดแรงตึงผิวโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (SDS) โดย SDS จัดอยู่ในประเภท Anionic เป็นสารลดแรงตึงผิวที่มีประจุลบ ได้แก่ สารในกลุ่ม fatty acid soap หรือที่เรียกว่าสบู่ ซึ่งเกิดจากกรดไขมันทำปฏิกิริยากับด่าง SDS เป็นสารกลุ่มหลักของผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด มีฟองมาก และละลายน้ำได้ดี ช่วยชะล้างสิ่งสกปรกได้ดี แต่ค่อนข้างระคายเคืองผิว นิยมใช้กันมากใน สบู่ แชมพู ผลิตภัณฑ์ล้างหน้าต่าง ๆ น้ำยาล้างจาน น้ำยาล้างรถ เช่น SLS (Sodium Laureth Sulfate), SLES (Sodium Laureth Sulfate), Sarcosinate, Sodium/ Ammonium Lauryl Ether Sulphate, Sodium /Ammonium Lauryl Sulphate, Linear Alkyl Benzene Sulphonate (LAS) เป็นต้น

สารลดแรงตึงผิวมีบทบาทที่สำคัญอย่างยิ่งในชีวิตประจำวันของมนุษย์ ซึ่งสารลดแรงตึงผิวเป็นส่วนประกอบที่สำคัญในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมากมาย อาทิเช่น ผงซักฟอก สบู่ แชมพู ยาสีฟัน นอกจากนี้สารลดแรงตึงผิวยังเป็นส่วนประกอบในเครื่องสำอาง การผลิตยา กระบวนการย้อมผ้า เป็นต้น อีกทั้งยังมีการนำสารลดแรงตึงผิวมาประยุกต์ใช้ในการกำจัดน้ำมันในอุตสาหกรรมทำความสะอาดเครื่องจักรซึ่งเป็นการใช้สารลดแรงตึงผิวตามธรรมชาติ เพื่อลดปัญหาจากสิ่งแวดล้อม (Rocha e Silva, 2019) ปริมาณของสารลดแรงตึงผิวที่เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดหรือผ้าเช็ดที่ใช้อำหรับอาหาร มีความเข้มข้นไม่เกินร้อยละ 0.5 สำหรับผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดที่มีสารลดแรงตึงผิวจากกรดไขมันเป็นส่วนประกอบหลัก (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข, 2562) งานวิจัยที่ผ่านมามีการใช้กรดลิวลินิก ร้อยละ 3 ร่วมกับ โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต ร้อยละ 2 ในการยับยั้งการ

ปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* บนผิวหนังและขนของไก่ โดยทำการฉีดพ่นสารละลายทางประตูกรง พบว่าสารละลายดังกล่าวสามารถลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* ลงได้มากกว่า  $6 \log \text{CFU/cm}^2$  (Zhao, T., 2011) นอกจากนี้ Zhao และคณะ (2009) ทำการศึกษาการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* และ *E. coli* O157:H7 บนผักกาดขาวและผิวหนังของสัตว์ปีก พบว่าการใช้กรดลิควูลินิกร้อยละ 3 ร่วมกับโซเดียมโอดีเตซิลซัลเฟต ร้อยละ 2 สามารถลดปริมาณเชื้อบนผักกาดขาวได้มากกว่า  $6.4 \log \text{CFU/g}$  (Zhao, 2009) และกรดลิควูลินิกร้อยละ 0.5 และ SDS ร้อยละ 0.05 สามารถยับยั้งเชื้อ *Salmonella* และ *E. coli* O157:H7 บนเมล็ดอัลฟาโลงได้ 5.6 และ  $6.4 \log \text{CFU/g}$  ตามลำดับ (Zhao, 2010) งานวิจัยของ Chen และคณะ (2015) ศึกษาประสิทธิภาพของกรดลิควูลินิกร่วมกับโซเดียมโอดีเตซิลซัลเฟตในการยับยั้งเชื้อก่อโรคที่ปนเปื้อนบนพื้นผิวสแตนเลส พบว่า กรดลิควูลินิก ร้อยละ 3 ร่วมกับโซเดียมโอดีเตซิลซัลเฟต ร้อยละ 2 สามารถลดปริมาณเชื้อก่อโรคได้เพียง  $0.2-1.2 \log \text{CFU/coupon}$  แต่เมื่อประยุกต์ใช้กรดลิควูลินิกร้อยละ 3 ร่วมกับ โซเดียมโอดีเตซิลซัลเฟต ร้อยละ 2 พบว่าส่งผลต่อการยึดเกาะของเซลล์บนพื้นผิวได้และสามารถทำลายเยื่อหุ้มชั้นนอกของเซลล์ได้จากนั้นจึงทำให้เซลล์เสียหายได้ (Chen, 2015)

## 6. กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope: SEM)

กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดเป็นกล้องจุลทรรศน์ที่ใช้อิเล็กตรอนเป็นแหล่งกำเนิดแสง เป็นเครื่องมือที่ใช้ศึกษาลักษณะสัณฐานรูปร่างของวัสดุในระดับจุลภาค โดยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด มีกำลังขยายมากกว่า 3,000 เท่า ถึง 10,000 เท่า ความสามารถในการแยกได้ชัดเนื่องจากมีคลื่นสั้นเพื่อช่วยในการวิเคราะห์ลักษณะสัณฐาน (ประกายทิพย์, 2558)

กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดสามารถทำงานภายใต้สภาวะสุญญากาศ ตัวอย่างทางชีวภาพ เช่น พืช สัตว์ จุลินทรีย์ นั้นมีน้ำเป็นองค์ประกอบภายในเซลล์ ส่งผลให้มีความชื้นสูง ดังนั้นจึงต้องทำให้ตัวอย่างอยู่ในสภาวะสุญญากาศก่อน ในบางครั้งจะส่งผลต่อการเกิดปัญหาในการสูญเสียรูปร่างของเซลล์เดิม งานวิจัยนี้จึงใช้เทคนิคการเตรียมตัวอย่างทางชีวภาพเพื่อรักษาลักษณะพื้นผิว และรูปร่างของตัวอย่าง (ยุพดี, 2557)



ภาพที่ 6 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM)

หลักการทำงานของกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดนั้น จะควบคุมแหล่งกำเนิดอิเล็กตรอน (Electron gun) ให้ปลดปล่อยอิเล็กตรอนออกมาด้วยศักย์ไฟฟ้าสูง ใช้เลนส์แม่เหล็กโฟกัสให้อิเล็กตรอนตกกระทบชิ้นงาน จับสัญญาณจากอิเล็กตรอนในชิ้นงานหลุดที่ออกมา อิเล็กตรอนที่กระดอนกลับ (backscattered electron) หรือสัญญาณ x-ray จะถูกตรวจจับโดย detector แต่ละชนิด และแปลผลเป็นภาพให้ข้อมูลในลักษณะพื้นผิวของวัตถุ

### บทที่ 3

#### อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

##### เชื้อจุลินทรีย์

1. *Escherichia coli* O157:H7 DMST 12734
2. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

##### อุปกรณ์

1. หลอดทดลอง ขนาด 16×150 mm ยี่ห้อ PYREX®
2. หลอด centrifuge 15 ml ยี่ห้อ SPL™
3. ขวดแก้ว ขนาด 500 ml ยี่ห้อ Schott Duran®
4. Micropipette 100-1000 µl ยี่ห้อ Sartorius
5. Micropipette 10-100 µl ยี่ห้อ Sartorius
6. Pipette tip ขนาด 200 µl ยี่ห้อ Hyconplastic HCE-1111-TIP
7. Pipette tip ขนาด 1000 µl ยี่ห้อ Hyconplastic HCE-1013-TIP
8. แท่งแก้วเกลี่ยเชื้อ spreader glass
9. จานเพาะเลี้ยงเชื้อแก้ว ขนาด 15×100 มม. ยี่ห้อ Kima
10. ก้านพันสำลีปลอดเชื้อ ขนาดกลาง ยี่ห้อ HIVAN
11. จานเพาะเชื้อพลาสติก Petri Dish ยี่ห้อ Kima Sterile
12. เครื่องปั่นเหวี่ยง ยี่ห้อ Hettich/ Universal 320R

13. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ Autoclave ยี่ห้อ Zealway รุ่น GR60 DF และ GR85 DF
14. pH meter ยี่ห้อ Eutech Instruments ECPH70042GS  
Desktop Economy pH Meter
15. Vortex ยี่ห้อ Scientific Industries รุ่น Genie 2  
G560E
16. ตู้ปั๊มเพาะเชื้อ ยี่ห้อ Gallenkamp
17. กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) ยี่ห้อ TESCAN รุ่น VEGA3
18. เครื่องวิเคราะห์ธาตุองค์ประกอบด้วยเทคนิคการกระจายพลังงานของรังสีเอ็กซ์ (EDS) ยี่ห้อ Oxford Instruments รุ่น Ultim Max 40
19. เครื่องเคลือบผิว (High vacuum coater) ยี่ห้อ Safematic รุ่น CCU-010

### สารเคมี

#### อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ Eosin methylene blue agar (EMB Agar, Levine) ยี่ห้อ (HIMEDIA)
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ Soyabean Casein Digest Agar (Tryptone Soya Agar) (Casein Soyabean Digest Agar) ยี่ห้อ (HIMEDIA)
3. อาหารเลี้ยงเชื้อ Soyabean Casein Digest Medium (Tryptone Soya Broth) ยี่ห้อ (HIMEDIA)
4. อาหารเลี้ยงเชื้อ Baird Parker Agar Base ยี่ห้อ (HIMEDIA)

5. Peptone water

ยี่ห้อ (HIMEDIA)

สารเคมี

1. Sodium Lauryl Sulfate (NEEDLE SHAPE) Extra pure ยี่ห้อ LOBA CHEMIE
2. Acetic acid GLACIAC 99.8% ยี่ห้อ ACI Labscan
3. Formic acid 98% ยี่ห้อ LOBA CHEMIE
4. 25% glutaraldehyde ยี่ห้อ LOBA CHEMIE
5. Sodium chloride (NaCl) ยี่ห้อ ACI Labscan
6. Potassium chloride (KCl) ยี่ห้อ ACI Labscan
7. Dipotassium phosphate ( $K_2HPO_4$ ) ยี่ห้อ ACI Labscan
8. Disodium Hydrogen phosphate ( $Na_2HPO_4$ ) ยี่ห้อ ACI Labscan
9. แอลกอฮอล์ 95% ยี่ห้อ ACI Labscan



## วิธีการทดลอง

### 1. การเตรียมพื้นผิวทั้ง 4 ชนิด

#### 1.1 พื้นผิวกระเบื้อง สแตนเลส และ พลาสติก

กระเบื้องเซรามิก ยี่ห้อ DURAGRES แผ่นสแตนเลสชนิด 304 และ แผ่นพลาสติก polyethylene ขนาด 10x10 เซนติเมตร ถูกทำความสะอาดด้วยการล้างน้ำสะอาดและน้ำยาล้างจาน จากนั้นตากทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนแห้งสนิทและเก็บรักษาไว้ในกล่องพลาสติกที่มีฝาปิดสนิท ก่อนนำไปใช้ในการทดลองทำการฆ่าเชื้อด้วยเอทานอล (70%) ทิ้งไว้ให้แห้ง

#### 1.2 พื้นผิวไม้

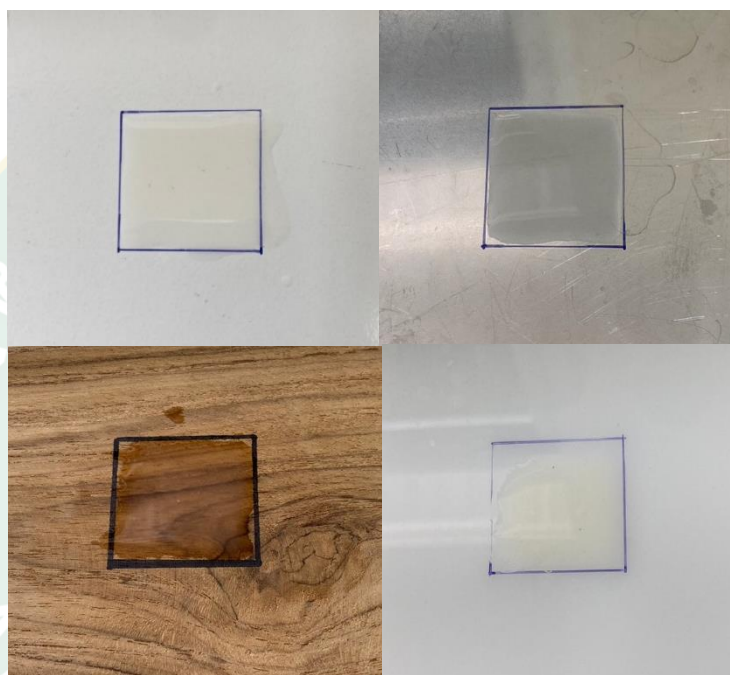
แผ่นไม้สักขนาด 10x10 เซนติเมตร ทำความสะอาดด้วยการล้างน้ำสะอาดและน้ำยาล้างจาน ตากทิ้งไว้ให้แห้ง นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ 121 องศาเซลเซียส แรงดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ระยะเวลา 15 นาที ก่อนนำไปใช้ในการทดลอง

### 2. การเตรียมเชื้อ *E. coli* O157:H7 และเชื้อ *S. aureus*

เชื้อ *Escherichia coli* O157:H7 DMST 12734 และ เชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ถูกเก็บรักษาไว้ในกลีเซอรอล 20% ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เมื่อเริ่มทำการทดลอง เชื้อ 2 ชนิดถูกนำมาแยกเพาะเลี้ยงในอาหาร Tryptone Soy Broth (TSB) (Soyabean Casein Digest Medium (Tryptone Soy Broth) ยี่ห้อ (HIMEDIA) ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และทำการถ่ายเชื้ออีกครั้งในอาหาร TSB บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส (24 ชั่วโมง) เมื่อครบเวลาเชื้อแบคทีเรีย (9 มิลลิลิตร) ถูกนำไปปั่นเหวี่ยง 4000xg เป็นเวลา 10 นาที ทำการขจัดอาหารเลี้ยงเชื้อ และผสม 0.1% peptone water ยี่ห้อ (HIMEDIA) ปริมาณ 250 ไมโครลิตร เข้ากับเซลล์จนได้หัวเชื้อ (inoculum) ที่มีความเข้มข้น  $10^6$  -  $10^7$  CFU/ml

### 3. การทำให้พื้นผิวปนเปื้อนเชื้อทั้ง 2 ชนิด

การทำให้พื้นผิวปนเปื้อนทำโดยการหยดเชื้อแบคทีเรีย (inoculum) ปริมาณ 250 ไมโครลิตร (จากข้อ 2) ลงบนพื้นผิวทั้ง 4 ชนิด ในพื้นที่ขนาด 3x3 เซนติเมตร วางตัวอย่างไว้ในจานเพาะเชื้อแก้ว ขนาด 25x150 mm ไว้ที่โต๊ะห้องปฏิบัติการวางไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 ชั่วโมงหรือจนแห้งสนิท ก่อนนำไปทำการทดลองต่อไป



ภาพที่ 7 การทำให้พื้นผิวทั้ง 4 ชนิด ปนเปื้อนด้วยเชื้อ *E.coli* O157:H7 และ *S. aureus*

### 4. การตรวจสอบปริมาณเชื้อ (swab test)

ก้านสำลีที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ชุบ 0.1% peptone water ปริมาณ 5 มิลลิตร ถูกนำมาเช็ดพื้นผิวบริเวณที่ปนเปื้อน จากนั้นนำไปปั่นด้วยเครื่อง vortex mixer (รุ่น Genie 2 G560E ยี่ห้อ Scientific Industries) เป็นเวลา 1 นาที และทำการเจือจางเป็นลำดับส่วน (serial dilution) ในหลอด 0.1% peptone water จากนั้นดูดตัวอย่างที่มีความเจือจางตามความเหมาะสมโดยวิธีการปลอดเชื้อ (aseptic technique) ปริมาตร 0.1 มิลลิตร ใส่ตัวอย่างลงบนอาหารวุ้นแข็งและทำการเกลี่ยตัวอย่างให้กระจายทั่วผิวน้ำอาหารด้วยแท่งแก้ว (sterile spreader) รูปตัว L ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Eosin Methylene Blue Agar (EMB agar) ยี่ห้อ HIMEDIA สำหรับเชื้อ *E. coli* O157:H7 และ

อาหาร Baird parker agar (BP agar) ยี่ห้อ HIMEDIA สำหรับเชื้อ *S. aureus* นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนนำมานับจำนวนเชื้อที่เหลือรอด เชื้อ *E. coli* สามารถเจริญได้ดีบนอาหารที่ใช้สำหรับเพาะเลี้ยงแบคทีเรีย หรืออาหารประเภทselective medium เช่น MacConkey agar เพราะมีสารยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกที่อาจปนเปื้อน อีกทั้งยังจัดเป็น differential medium เนื่องจาก *E.coli* สามารถสลายน้ำตาล lactose ในอาหาร ทำให้โคโลนีเปลี่ยนเป็นสีชมพู หรือใช้อาหาร Eosin Methylene blue agar (EMB) โคโลนีของ *E.coli* เมื่อเจริญบนอาหาร EMB โคโลนีจะมีสีเข้มเกือบดำ ผิวของโคโลนีมีลักษณะเหลือบสีเขียวคล้ายสีของโลหะ เรียกว่า metallic sheen สามารถใช้แยกออกจากแบคทีเรียแกรมลบชนิดอื่นได้

### 5. การทดสอบปริมาณน้ำที่ส่งผลต่อการลดปริมาณเชื้อ

กระเบื้องที่ปนเปื้อนถูกทำความสะอาด ด้วยน้ำกลั่นปริมาณต่างๆ (5, 10, 15, 20 และ 25 มิลลิลิตร) น้ำกลั่นถูกเทลงบนพื้นผิวกระเบื้องในบริเวณที่ปนเปื้อน ทำการเก็บเชื้อที่เหลือรอดบนพื้นผิวด้วยวิธี (swab test) และเก็บตัวอย่างน้ำที่ใช้ทำความสะอาด (waste water) นำตัวอย่างไปทำการตรวจสอบหาปริมาณเชื้อที่เหลือรอดด้วยวิธีการ การทำให้เชื้อกระจายทั่วจานเพาะเชื้อ (Spread plate technique)

### 6. การทดสอบวิธีการทำความสะอาดที่ส่งผลต่อการลดปริมาณเชื้อ

กระเบื้องที่ปนเปื้อนถูกทำความสะอาดด้วยวิธีการเทน้ำกลั่น และวิธีการพ่นน้ำกลั่นด้วยกระบอกฉีดน้ำฟ็อกกี้ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร จากนั้นตรวจสอบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่เหลือออยู่บนพื้นผิว (swab test) และตรวจสอบปริมาณเชื้อที่เหลือรอดในน้ำที่ใช้ทำความสะอาด (waste water) ตามวิธีข้างต้น

### 7. การทดสอบความเข้มข้นของสารละลายกรดอินทรีย์ที่ส่งผลต่อการลดปริมาณเชื้อ

การทดสอบสารละลายในการฆ่าเชือบนพื้นผิวทั้ง 4 ชนิด ที่ปนเปื้อนด้วยเชื้อก่อโรค โดยทำการทดสอบด้วยกรดอะซิติกประเภทที่ใช้ในห้องปฏิบัติการที่ความเข้มข้น (0.5%-5%) และกรดฟอร์มิก ความเข้มข้น (0.1%-5%) ในปริมาตร 5 มิลลิลิตร โดยการเทราดกรดแต่ละความเข้มข้นที่ต่างกันลงพื้นผิวบริเวณที่มีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย จากนั้นตรวจสอบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่เหลือออยู่บนพื้นผิว (swab test) และตรวจสอบปริมาณเชื้อที่เหลือออยู่ในสารละลายที่ใช้ทำความสะอาด (waste water) ตามวิธีการข้างต้น

## 8. การทดสอบความเข้มข้นของสารละลายกรดอินทรีย์ร่วมกับโซเดียมเตทราไฮดรอะซิเลตที่ส่งผลต่อการลดปริมาณเชื้อ

การวิเคราะห์ผลการทดลองในขั้นตอนที่ 8 ได้ความเข้มข้นที่เหมาะสมในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์บนพื้นผิว ทำการเตรียมสารละลายโซเดียมเตทราไฮดรอะซิเลต ประเภทที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ที่ความเข้มข้น 0.5% และ 1% ดังตารางที่ 1 และ ตารางที่ 2 ทำการตรวจสอบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่เหลือบนพื้นผิว และทำการวิเคราะห์ทางสถิติ

## 9. การศึกษาการยึดเกาะของ *E. coli* O157:H7 และ *S. aureus* บนพื้นผิวชนิดต่างๆ โดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope: SEM)

การศึกษาลักษณะของพื้นผิวและการยึดเกาะของเชื้อ *E. coli* O157:H7 และ *S. aureus* บนพื้นผิวชนิดต่างๆ ได้แก่ พื้นผิวกระเบื้อง สแตนเลส ไม้ และ พลาสติก โดยงานวิจัยนี้ใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) ยี่ห้อ TESCAN รุ่น VEGA3 มีขั้นตอนเตรียมตัวอย่างดังนี้ ตัวอย่างพื้นผิวทั้ง 4 ชนิด ขนาด 1×1 เซนติเมตร ถูกทำให้ปนเปื้อนด้วยการหยดเชื้อ *E. coli* O157:H7 และ *S. aureus* (inoculum) ลงบนพื้นผิว วางตัวอย่างไว้ในจานเพาะเชื้อ (Perti dish) ที่งัดไว้ให้แห้งเป็นเวลา 3 ชั่วโมง หรือจนกว่าแห้งสนิท นำชิ้นตัวอย่างที่แห้งแล้วใส่ลงในหลอดปั่นเหวี่ยงขนาด 5 มิลลิลิตร และเติมสารละลาย 2.5% glutaraldehyde (ยี่ห้อ LOBA CHEMIE) ลงในหลอดประมาณ 3 มิลลิลิตร พักทิ้งไว้ในตู้เย็นเป็นเวลา 24 ชั่วโมงเพื่อหยุดการทำงานของเซลล์และรักษาเซลล์ให้สภาพคงเดิม จากนั้นดูดสารละลาย glutaraldehyde ออก และทำการล้างด้วยสารละลาย PBS buffer 2 ครั้ง ครั้งละ 20 นาที และทำการขจัดน้ำออกจากตัวอย่างโดยแทนที่น้ำด้วยเอทานอลความเข้มข้นต่างๆ (30% 50% 70% 80% 95% และ Absolute) แต่ละความเข้มข้นเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นทำตัวอย่างให้แห้งด้วยหลักการการทำแห้ง ณ จุดวิกฤต (critical point drying :CPD) ด้วยเครื่อง critical point dryer (ยี่ห้อ Quorum Model K850) ณ จุดที่มีอุณหภูมิและความดันเหมาะสม จากนั้นนำตัวอย่างติด stub และเคลือบตัวอย่างด้วยโลหะหนักทองคำ 8 นาโนเมตร เพื่อให้ตัวอย่างนำไฟฟ้าด้วยเครื่องเคลือบผิว (High vacuum coater) (ยี่ห้อ Safematic รุ่น CCU-010) และศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

## 10. การวิเคราะห์ผลการทดลอง

ข้อมูลที่ได้จากการทดสอบวิธีการทำความสะอาดที่ใช้ในการลดปริมาณเขื่อน้ำมาวิเคราะห์ทางสถิติด้วยการวิเคราะห์แบบ Paired T-Test เพื่อเปรียบเทียบวิธีการทำความสะอาด 2 วิธี และเพื่อเลือกวิธีการทำความสะอาดที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป จากข้อมูลปริมาณน้ำ ความเข้มข้นของสารละลายกรดอินทรีย์ และสารละลายกรดอินทรีย์ร่วมกับโซเดียมเดซิลซัลเฟตที่ส่งผลต่อการลดปริมาณเชื้อ (ข้อ 5 ข้อ 7 และ ข้อ 8) วิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลด้วยวิธี One way- ANOVA เพื่อหาความเข้มข้นของกรดอะซิติกและกรดฟอร์มิกที่เหมาะสมในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์บนพื้นผิว และเพื่อวิเคราะห์ผลการทดสอบการสารละลายกรดอินทรีย์ร่วมกับโซเดียมเดซิลซัลเฟต วิเคราะห์ด้วยวิธี โดยใช้โปรแกรม Minitab 18 Statistical Software



ตารางที่ 1 ความเข้มข้นของกรดอินทรีย์ร่วมกับโซเดียมโอดีเตซิลลเฟต

พันธุ์	จุลินทรีย์	ความเข้มข้นของกรดอินทรีย์ร่วมกับโซเดียมโอดีเตซิลลเฟต	พันธุ์	จุลินทรีย์	ความเข้มข้นของกรดอินทรีย์ร่วมกับโซเดียมโอดีเตซิลลเฟต
กระป๋อง	<i>E. coli</i> O157:H7	2% acetic+ 0.5% SDS	ไม่มี	<i>E. coli</i> O157:H7	2% acetic+0.5% SDS
		2% acetic+ 1% SDS			2% acetic+1% SDS
		0.05% formic+ 0.5% SDS			2% formic+ 0.5% SDS
		0.05% formic+1% SDS			2% formic + 1% SDS
		2% acetic+ 0.5% SDS			3% acetic+ 0.5% SDS
		2% acetic+ 1% SDS			3% acetic+ 1% SDS
		1% formic + 0.5% SDS			2% formic+ 0.5% SDS
สแตนเลส	<i>E. coli</i> O157:H7	1% formic + 1% SDS	พลาสดิก	<i>S. aureus</i>	2% formic+ 1% SDS
		0.5% acetic+0.5% SDS			3% acetic+ 0.5% SDS
		0.5% acetic+1% SDS			3% acetic + 1% SDS
		0.5% formic+ 0.5% SDS			3% formic + 0.5% SDS
		0.5% formic + 1% SDS			3% formic + 1% SDS
		1% acetic+ 0.5% SDS			5% acetic + 0.5% SDS
		1% acetic+ 1% SDS			5% acetic + 1% SDS
3% formic+ 0.5% SDS	3% formic + 0.5% SDS				
3% formic+ 1% SDS	3% formic + 1% SDS				

## บทที่ 4

### ผลการวิจัยและวิจารณ์

#### 1. การทำให้พื้นผิวปนเปื้อนเชื้อก่อโรค

การทำให้ผิวกระเบื้องปนเปื้อนด้วยเชื้อ *E.coli* O157:H7 และ *S. aureus* พบว่ามีปริมาณเชื้อ *E.coli* O157:H7 และ *S. aureus* บนพื้นผิวกระเบื้องเท่ากับ 7.56 และ 7.96 log CFU/g ตามลำดับ พื้นผิวสแตนเลสเท่ากับ 6.99 และ 7.99 log CFU/g ตามลำดับ พื้นผิวไม้ 8.17 และ 8.07 log CFU/g ตามลำดับ และพื้นผิวพลาสติก 7.85 และ 8.04 log CFU/g ตามลำดับ (ตาราง 2) ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับกับงานวิจัยของ Marques และคณะ (2007) ที่ตรวจพบปริมาณเชื้อ *S. aureus* บนพื้นผิวสแตนเลส และกระจกหลังการทำให้ปนเปื้อน ประมาณ 7-8 log CFU/cm<sup>2</sup> (Marques และคณะ, 2007) ซึ่งแสดงให้เห็นว่า พื้นผิวต่างๆ สามารถเกิดการปนเปื้อนได้ในปริมาณมาก นอกจากนี้ตามนิยามของการทำความสะอาดต้องทำความสะอาดได้ลดลงได้ถึง 3 log ดังนั้นในการเริ่มต้นของเชื้อสูงๆ เพื่อจะทดสอบประสิทธิภาพของการฆ่าเชื้อบนพื้นผิว

ตารางที่ 2 ปริมาณความเข้มข้นของเชื้อเริ่มต้นที่ปนเปื้อนบนพื้นผิว 4 ชนิด

พื้นผิว	Log reduction	
	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>S. aureus</i>
กระเบื้อง	7.56 ± 0.29 <sup>b</sup>	7.96 ± 0.53 <sup>a</sup>
สแตนเลส	6.99 ± 0.30 <sup>c</sup>	7.99 ± 0.42 <sup>a</sup>
ไม้	8.17 ± 0.58 <sup>a</sup>	8.07 ± 0.76 <sup>a</sup>
พลาสติก	7.85 ± 1.54 <sup>ab</sup>	8.04 ± 0.49 <sup>a</sup>

หมายเหตุ ตัวอักษร a,b,c ในแนวตั้ง หมายถึงมีค่าแตกต่าง/ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)

## 2. การทดสอบปริมาณน้ำที่ส่งผลต่อการลดปริมาณเชื้อ

การทำความสะอาดด้วยน้ำกลั่นสามารถลดปริมาณเชื้อ *E. coli* O157:H7 และ *S. aureus* ได้ (ตารางที่ 3) โดยน้ำกลั่นปริมาตร 25 ml สามารถลดปริมาณเชื้อ *E. coli* O157:H7 และ *S. aureus* ได้ 2.56 และ 0.176 log reduction ตามลำดับ เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Young-Min Bae และคณะ (2012) ที่สามารถลดปริมาณแบคทีเรีย *E. coli* O157:H7 และ *S. aureus* บนพื้นผิวสแตนเลสด้วยน้ำกลั่นซึ่งพบแบคทีเรียตกค้าง ประมาณ 1-2 log CFU/coupon (Bae และคณะ, 2012) เมื่อ Deza และคณะ (2005) ทำความสะอาดพื้นผิวสแตนเลสด้วย sterile deionized water พบว่า น้ำปราศจากไอออนสามารถลดปริมาณเชื้อได้ 2 log CFU/50 cm<sup>2</sup> (Deza และคณะ, 2005) แสดงให้เห็นว่า น้ำสามารถลดปริมาณเชื้อได้ แต่ไม่มากเพียงพอ ยิ่งไปกว่านั้นการใช้น้ำปริมาณมากในการทำความสะอาดเพิ่มโอกาสเสี่ยงในการเกิดการปนเปื้อนข้าม (cross-contamination) การใช้น้ำปริมาณน้อยจึงเหมาะสมในการลดปริมาณเชื้อมากกว่า

การใช้น้ำ 5 ml สามารถลดปริมาณเชื้อที่ได้เทียบเท่ากับน้ำ 10 ml สำหรับ *E. coli* O157:H7 และ 15 ml สำหรับ *S. aureus* ( $P > 0.05$ ) ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการยึดเกาะของ *E. coli* O157:H7 และ *S. aureus* บนพื้นผิว (Bohinc และคณะ, 2014) นอกจากนี้ Furukawa และคณะ (2010) ทำความสะอาดพื้นผิวสแตนเลสด้วยน้ำกลั่น 100 ml พบว่าจำนวนเซลล์ *E. coli* ที่อยู่บนพื้นผิวสแตนเลสลดลงจาก  $10^7$  เป็น  $10^6$  หลังจากการทำความสะอาดด้วยน้ำกลั่น และจำนวน *S. aureus* บนสแตนเลสมีค่าเท่ากับ  $10^9$  พบว่าจำนวนของ *S. aureus* ไม่ลดลงหลังจากการทำความสะอาดด้วยน้ำกลั่น *S. aureus* จึงมีความทนทานต่อการทำความสะอาดด้วยน้ำกลั่นดีกว่าเชื้อ *E. coli* ดังนั้นแสดงให้เห็นว่า จำนวนเซลล์ *S. aureus* บนพื้นผิวสแตนเลสมีความหนาแน่นมากกว่าเชื้อ *E. coli* (Furukawa, 2010)



ตารางที่ 3 ปริมาณเชื้อที่ลดลง (log reduction) ของ *E. coli* O157:H7 และ *S. aureus* หลังการทำ ความสะอาดด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 5-25 ml

ปริมาณน้ำ	Log reduction	
	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>S. aureus</i>
5 ml	1.19 ± 0.19 <sup>b</sup>	0.025 ± 0.020 <sup>c</sup>
10 ml	1.25 ± 0.08 <sup>b</sup>	0.030 ± 0.019 <sup>c</sup>
15 ml	2.95 ± 0.14 <sup>a</sup>	0.011 ± 0.020 <sup>c</sup>
20 ml	2.96 ± 0.21 <sup>a</sup>	0.107 ± 0.016 <sup>b</sup>
25 ml	2.56 ± 0.23 <sup>a</sup>	0.176 ± 0.013 <sup>a</sup>

หมายเหตุ \* หมายถึงปริมาณเชื้อมีค่าเท่าเดิมหลังจากทำความสะอาด

ตัวอักษร a,b,c ในแนวตั้ง หมายถึงมีค่าแตกต่าง/ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)

### 3. การทดสอบวิธีการทำความสะอาดที่ส่งผลต่อการลดปริมาณเชื้อ

การทดสอบวิธีการทำความสะอาดด้วยการเปรียบเทียบปริมาณเชื้อที่ลดลง พบว่า สามารถลด ปริมาณเชื้อ *E. coli* O157:H7 ด้วยวิธีการพ่นและวิธีการเท ได้เท่ากับ 1.99 และ 1.19 log reduction ตามลำดับ (ตาราง 4) โดยจะเห็นว่า การพ่นสามารถลดปริมาณเชื้อได้ดีกว่าการเท (P<0.05) ในขณะที่การพ่นและการเทสามารถลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* ได้เท่ากัน (P>0.05; 0.29 และ 0.09 log reduction ตามลำดับ)

เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการพ่นและการเทจะพบว่า วิธีการทำความสะอาดไม่ส่งผลต่อการลด ปริมาณเชื้อ (P>0.05) ในกรณีของเชื้อ *S. aureus* เนื่องจากเชื้อเกาะกันเป็นกลุ่ม ทำให้การพ่นด้วย ขวดสเปรย์นั้นไม่เพียงพอ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการทำความสะอาดด้วยระบบ CIP (Cleaning in Place) ในระดับอุตสาหกรรม ซึ่งมีการใช้ปั๊มเพื่อเพิ่มแรงเชิงกลควบคู่กับสารทำความสะอาด (Moerman, 2014) ดังนั้น จึงสามารถกล่าวได้ว่า การใช้แรงกลในการทำความสะอาดจะส่งผลต่อการ ลดปริมาณเชื้อเมื่อมีการใช้แรงมากเพียงพอ ดังนั้น งานวิจัยนี้เลือกวิธีการทำความสะอาดด้วยการเท เพียงอย่างเดียว

ตารางที่ 4 ปริมาณเชื้อที่ลดลง (log reduction) ของ *E. coli* O157:H7 และ *S. aureus* หลังการทำความสะอาดด้วยวิธีการที่ต่างกัน

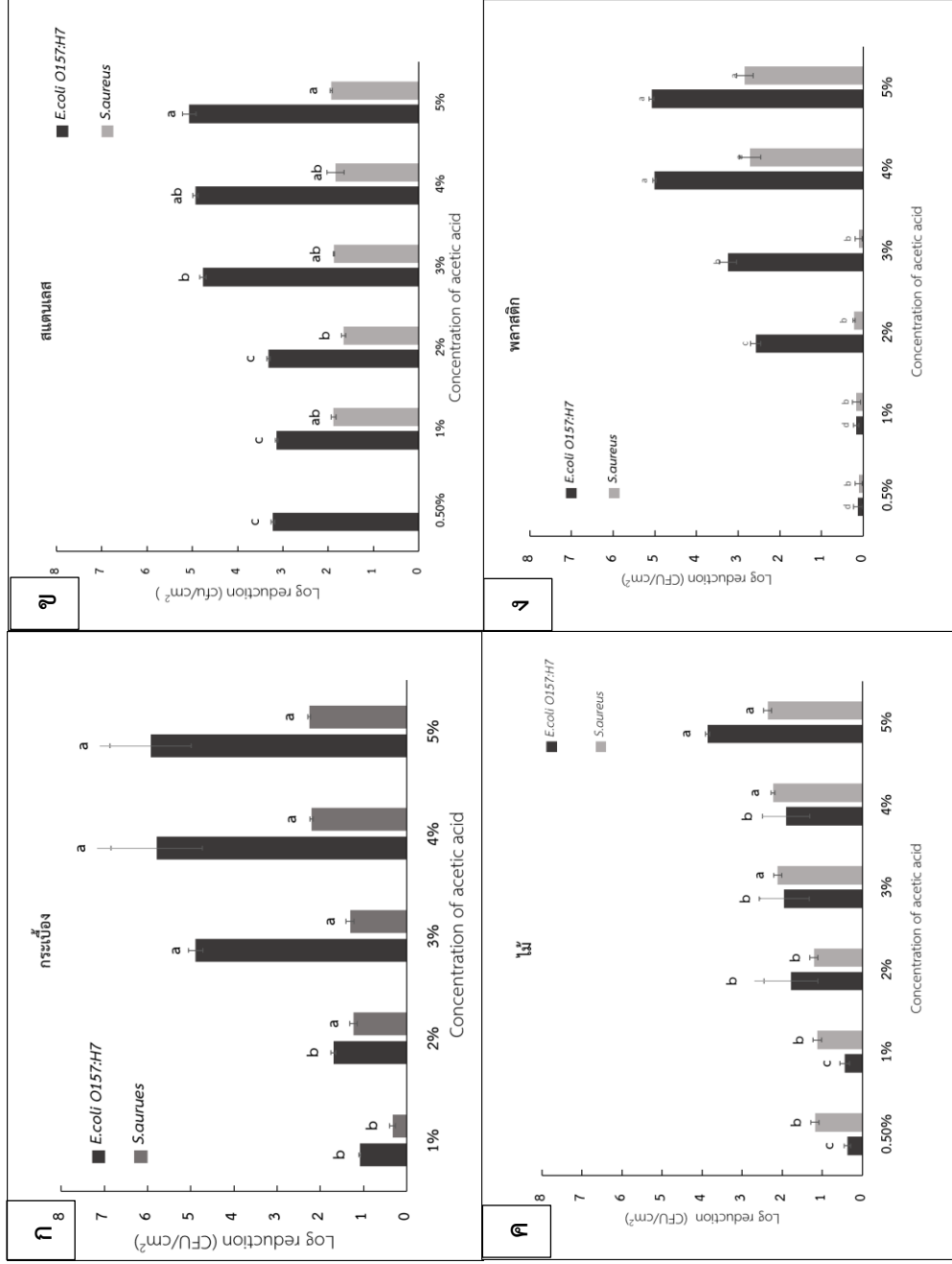
วิธีการทำความสะอาด	Log reduction	
	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>S. aureus</i>
การพ่น	1.99 ± 0.44 <sup>a</sup>	0.29 ± 0.04 <sup>a</sup>
การเท	1.19 ± 0.20 <sup>b</sup>	0.09 ± 0.08 <sup>a</sup>

หมายเหตุ ตัวอักษร a,b ในแนวตั้ง หมายถึงมีค่าแตกต่าง/ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (P < 0.05)

#### 4. การทดสอบความเข้มข้นของสารละลายกรดอินทรีย์ที่ส่งผลต่อการลดปริมาณเชื้อ

การทำความสะอาดพื้นผิวทั้งสองชนิดด้วยกรดอะซิติก และกรดฟอร์มิกส่งผลแตกต่างกัน (ภาพ 8 และ 9) โดยกรดอะซิติกสามารถลดปริมาณเชื้อ *E. coli* O157:H7 ได้ดีในพื้นที่กระเบื้อง สแตนเลส และพลาสติก โดยลดได้มากกว่า 5 log reduction ซึ่งผ่านมาตรฐานสารฆ่าเชื้อในอุตสาหกรรมที่ต้องลดได้มากกว่า 5 log reduction ภายในเวลา 30 วินาที ที่อุณหภูมิ 25°C อย่างไรก็ตาม กรดอะซิติก 5% สามารถลดปริมาณเชื้อ *E. coli* O157:H7 ได้เพียง 3 log reduction บนพื้นผิวไม้ ซึ่งผ่านมาตรฐานสารฆ่าเชื้อพื้นผิวที่ไม่สัมผัสอาหารเท่านั้น (สามารถลดการปนเปื้อนได้ 3 log ในเวลา 5 นาที) ในขณะที่กรดฟอร์มิกความเข้มข้นต่ำ (ร้อยละ 1) สามารถลดปริมาณเชื้อได้มากกว่า 5 log reduction ในกระเบื้องและสแตนเลส แต่กรดฟอร์มิก ร้อยละ 5 นั้นไม่สามารถลดปริมาณเชื้อได้มากกว่า 5 log ทั้งในกระเบื้องและสแตนเลส

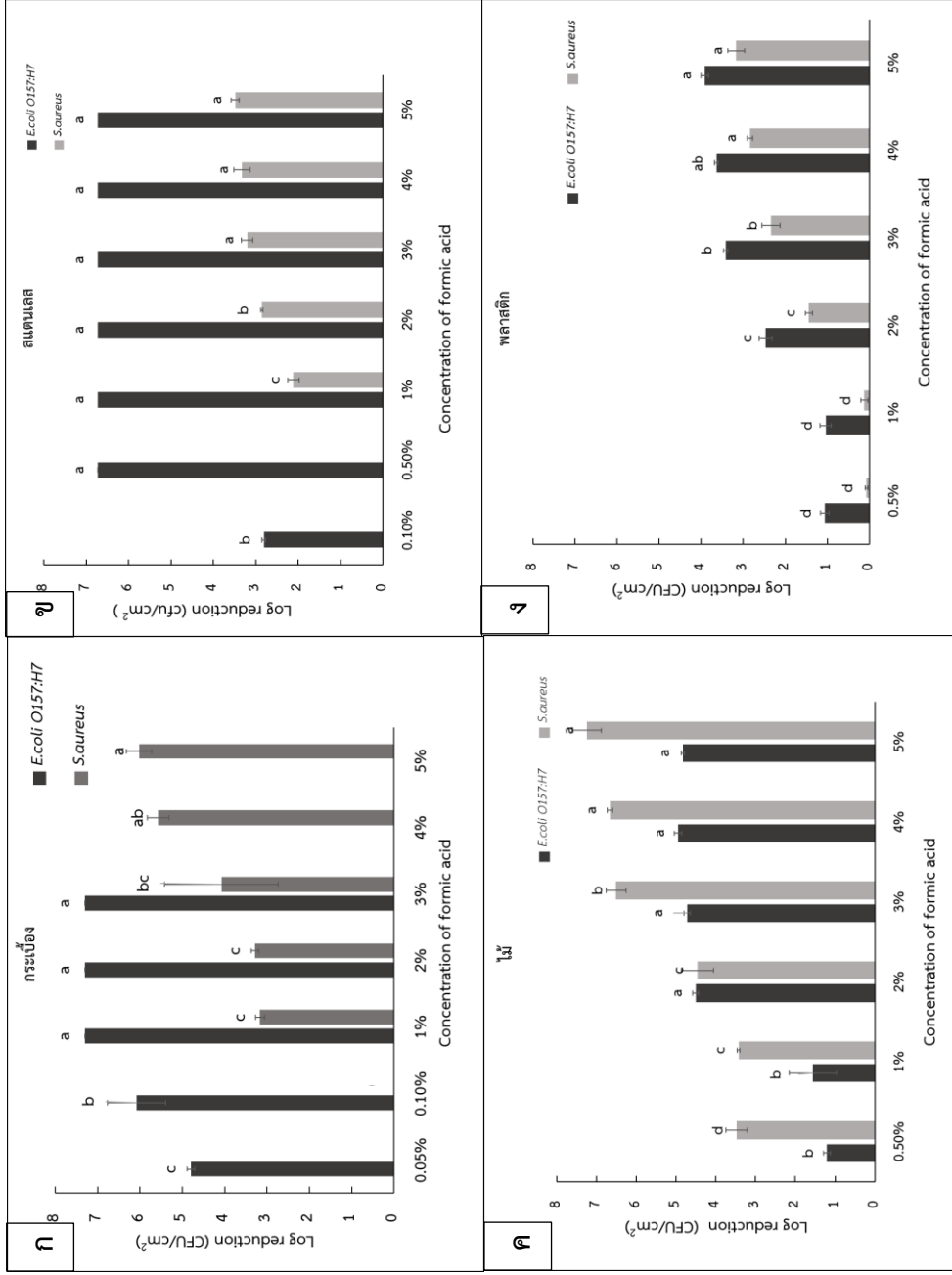
ในการลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* ด้วยกรดอินทรีย์พบว่า การใช้กรดอะซิติก ร้อยละ 5 ไม่สามารถลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* ได้มากกว่า 3 log reduction ในทุกพื้นผิว ในขณะที่กรดฟอร์มิก 5% สามารถลดปริมาณเชื้อได้มากกว่า 5 log เฉพาะพื้นผิวกระเบื้อง จากผลการทดลองนี้ สามารถกล่าวได้ว่า กรดฟอร์มิกมีประสิทธิภาพมากกว่ากรดอะซิติก และเชื้อ *S. aureus* มีความทนทานต่อการทำความสะอาดมากกว่าเนื่องจากแบคทีเรียแกรมบวก มีผนังเซลล์หนากว่าแบคทีเรียแกรมลบ



ภาพที่ 8 ปริมาณเชื้อที่ลดลง (log reduction) ของ *E. coli* O157:H7 และ *S. aureus* บนพื้นผิว 4 ชนิด หลังการทำความสะอาดด้วยการดองอินทรี

(ก) พื้นผิวกระเบื้อง (ข) พื้นผิวไม้ (ง) พื้นผิวพลาสติก

หมายเหตุ \* ตัวอักษร a,b หมายถึงมีค่าแตกต่างกัน/ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)



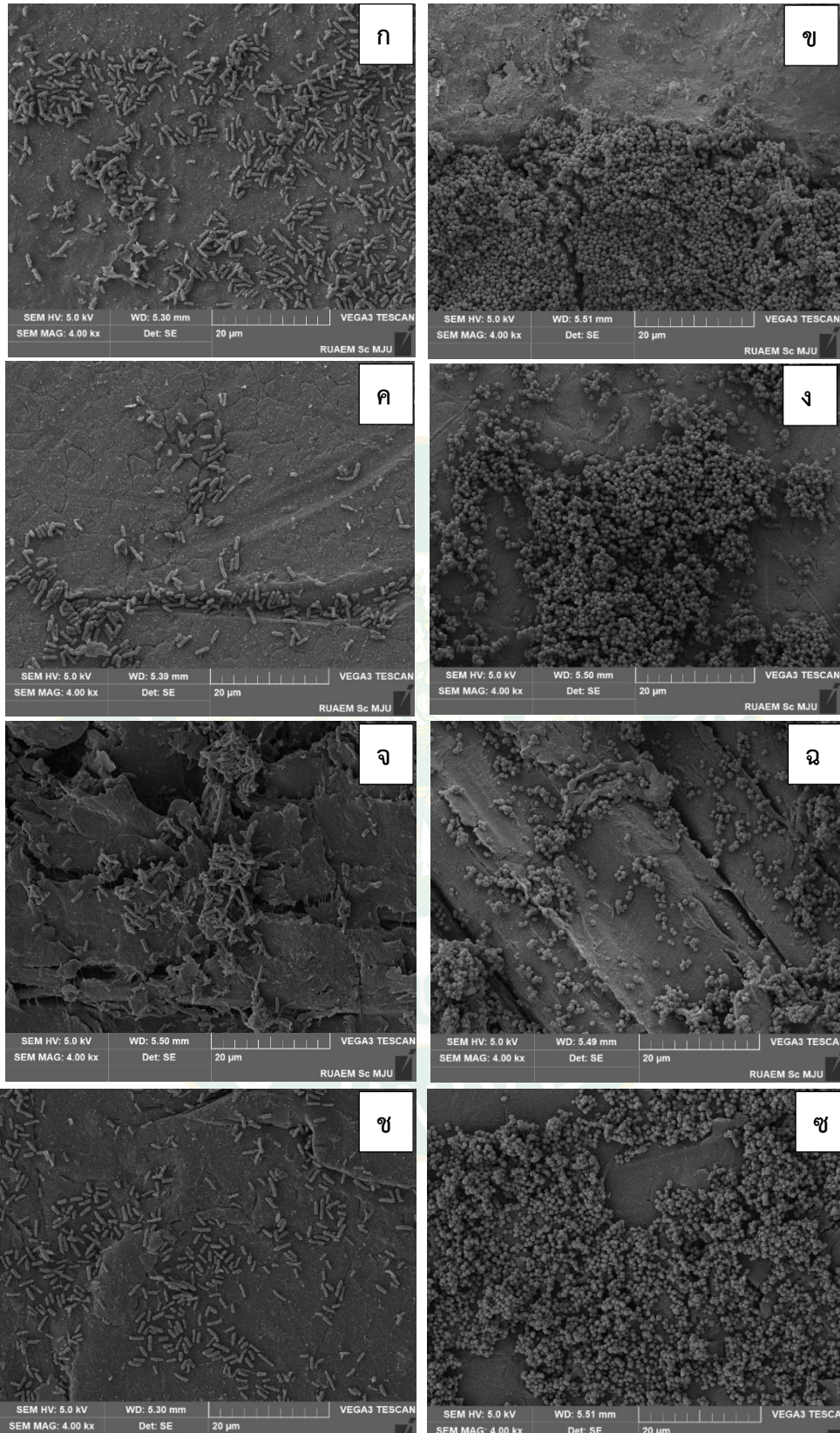
ภาพที่ 9 ปริมาณเชื้อที่ลดลง (log reduction) ของ *E. coli* O157:H7 และ *S. aureus* บนพื้นผิว 4 ชนิด หลังการทำความสะอาดด้วยกรดอินทรีย์ (ก) พื้นผิวกระเบื้อง (ข) พื้นผิวโลหะ (ค) พื้นผิวไม้ (ง) พื้นผิวพลาสติก

หมายเหตุ \* ตัวอักษร a,b หมายถึงมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)

เมื่อพิจารณาการทำความสะอาดแต่ละพื้นผิว ในกรณีพื้นผิวกระเบื้อง พบว่า หลังการทำ ความสะอาดด้วยกรดอะซิติกที่ความเข้มข้น ร้อยละ 3 และกรดพอร์มิกความเข้มข้น ร้อยละ 1 สามารถลดปริมาณเชื้อ *E. coli* O157:H7 ได้เท่ากับ 5 และ 7 log CFU/cm<sup>2</sup> ตามลำดับ (P<0.05) (ภาพที่ 8 (ก) และภาพที่ 9 (ก)) ซึ่งให้ผลดีกว่างานวิจัยของ Yang และคณะ (2009) ที่ใช้น้ำส้มสายชู ร้อยละ 5 (กรดอะซิติก) กำจัดเชื้อ *E. coli* O157:H7 ในเวลา 10 นาทีได้น้อยมาก (H. Yang และ คณะ, 2009) และงานวิจัยของ Lee และคณะ (2010) ที่กรดอะซิติก ร้อยละ 0.25 สามารถลด ปริมาณเชื้อ *E. coli* O157:H7 ได้เพียง 1 log CFU/ml (S.-Y. a. Lee และKang, 2009) นอกจากนี้ ความเข้มข้นของกรดอะซิติกส่งผลต่อประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้ออีกด้วย (Lee และคณะ, 2010) ใน กรณีของการทำความสะอาด *S. aureus* พบว่า กรดอะซิติก ร้อยละ 5 สามารถลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* ได้ต่ำกว่า 2 log reduction ในขณะที่กรดพอร์มิก ร้อยละ 4 สามารถลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* ได้มากกว่า 5 log reduction (P<0.05) (ภาพที่ 8 (ก) และภาพที่ 9 (ก))

เมื่อพิจารณาการทำความสะอาดบนพื้นผิวชนิดอื่น ๆ เทียบกับพื้นผิวกระเบื้องจะพบว่า พื้นผิวกระเบื้องสามารถทำการกำจัดเชื้อได้ง่ายที่สุด ในขณะที่พื้นผิวไม้กำจัดเชื้อได้ยากที่สุดในกรณีเชื้อ *E. coli* O157:H7 โดยกรดอะซิติกและกรดพอร์มิก ร้อยละ 5 สามารถลดปริมาณเชื้อได้  $3.85 \pm 0.05$  และ  $2.36 \pm 0.10$  log CFU/cm<sup>2</sup> สำหรับเชื้อ *S. aureus* การใช้กรดอะซิติกสามารถกำจัดเชื้อได้น้อย ในทุกพื้นผิว แต่กรดพอร์มิกสามารถกำจัดเชื้อได้ดีในพื้นที่ผิวกระเบื้อง และพื้นผิวไม้ ดังนั้น พื้นผิวที่ ทำ ความสะอาดได้ง่ายที่สุดได้แก่ พื้นผิวกระเบื้อง เนื่องจากมีลักษณะเรียบ มีความขรุขระ หรือรอยขีด ข่วนน้อย ดังแสดงในภาพที่ 10 การทำความสะอาดพื้นผิวสแตนเลสด้วยกรดอะซิติกพบว่า กรดอะซิ ดิก ร้อยละ 3 และกรดพอร์มิก ร้อยละ 0.1 สามารถลดปริมาณเชื้อ *E. coli* O157:H7 ได้มากกว่า 5 log reduction ในขณะที่กรดอะซิติก ร้อยละ 5 สามารถลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* ได้เพียง  $1.93 \pm 0.02$  log CFU/cm<sup>2</sup> ซึ่งใกล้เคียงกับการใช้กรดเปอร์อะซิติกในการฆ่าเชื้อ *S. aureus* ในรูปไบโอฟิล์มบนพื้นผิวสแตนเลส 3.20 log CFU/ml (Marques และคณะ, 2007) อย่างไรก็ตาม งานวิจัยนี้ เชื้อ *S. aureus* ยังไม่สร้างฟิล์มขึ้น เนื่องจากระยะเวลาการปนเปื้อนสั้น

การใช้กรดอินทรีย์บนพื้นผิวพลาสติกที่ปนเปื้อน พบว่า กรดอะซิติก ร้อยละ 5 สามารถลด ปริมาณเชื้อ *E. coli* O157:H7 และ *S. aureus* ได้เท่ากับ  $5.07 \pm 0.05$  และ  $2.84 \pm 0.19$  log CFU/cm<sup>2</sup> ตามลำดับ ในขณะที่กรดพอร์มิก ร้อยละ 3 สามารถลดปริมาณเชื้อ *E. coli* O157:H7 และ *S. aureus* ได้เท่ากับ 3.41 และ 2.34 log CFU/cm<sup>2</sup>



ภาพที่ 10 การยึดเกาะของเชื้อ *E. coli* O157:H7 และ *S. aureus* บนพื้นผิว 4 ชนิดด้วยกล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราดที่กำลังขยาย 4X (ก) *E. coli* O157:H7 บนพื้นผิวกระเบื้อง (ข) *S. aureus* บนพื้นผิว (ค) *E. coli* O157:H7 บนพื้นผิวสแตนเลส (ง) *S. aureus* บนพื้นผิวสแตนเลส (จ) *E. coli* O157:H7 บนพื้นผิวไม้ (ฉ) *S. aureus* บนพื้นผิวไม้ (ช) *E. coli* O157:H7 บนพื้นผิวพลาสติก (ซ) *S. aureus* บนพื้นผิวพลาสติก

เมื่อพิจารณาการลักษณะของเชื้อ *E. coli* O157:H7 และ *S. aureus* บนพื้นผิวทั้งสองชนิด ก่อนการทำความสะอาด (ภาพที่ 10) จะพบว่า เชื้อ *E. coli* O157:H7 มีการยึดเกาะแบบกระจายตัว ในขณะที่เชื้อ *S. aureus* มีการเกาะเป็นกลุ่มก้อนและมีความหนาแน่นมากกว่า ส่งผลให้การทำความสะอาดที่ยากกว่า สำหรับพื้นผิวนั้น พื้นผิวไม้มีลักษณะขรุขระมากที่สุด มีการยึดเกาะหนาแน่นของเชื้อก่อโรคทั้งสองชนิดตามรอยแตกของผิวไม้ ทำให้การฆ่าเชื้อมีประสิทธิภาพต่ำ

งานวิจัยนี้ พบว่า การใช้กรดอะซิติกหรือกรดฟอร์มิกเพียงอย่างเดียว สามารถใช้เป็นสารฆ่าเชื้อตามมาตรฐานสารฆ่าเชื้อในอุตสาหกรรมได้ แต่อย่างไรก็ตาม กรดความเข้มข้นสูงนั้นมักมีกลิ่นแรง เมื่อระบายลงบ่อบำบัดอาจส่งผลต่อการบำบัดน้ำเสียได้ รวมถึงอาจส่งผลกระทบต่อผู้บริโภค ดังนั้น จึงมีการเลือกความเข้มข้นของกรดที่ต่ำที่สุดโดยใช้หลักการทางสถิติ นำไปทดลองร่วมกับสารลดแรงตึงผิวโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการทำความสะอาด

#### 5. การทดสอบความเข้มข้นของสารละลายกรดอินทรีย์ร่วมกับโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตที่ส่งผลต่อการลดปริมาณเชื้อ

การใช้กรดอะซิติกและกรดฟอร์มิกร่วมกับโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต แสดงผลในตาราง 5 และ 6 พบว่า การใช้กรดอินทรีย์ความเข้มข้นต่ำร่วมกับสารลดแรงตึงผิว สามารถลดปริมาณเชื้อได้  $0.23-5.30 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$  เมื่อเทียบกันแล้วการใช้กรดอินทรีย์เพียงอย่างเดียวมีประสิทธิภาพสูงกว่า

การใช้กรดที่ความเข้มข้นต่ำมากในการฆ่าเชื้อ *E. coli* O157:H7 ร่วมกับโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อลดลง เนื่องจากปริมาณสารลดแรงตึงผิวที่มากเกินไป อาจส่งผลให้เกิดการขัดขวางการทำลายหรือยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนของกรดอินทรีย์ ดังจะเห็นได้จากการใช้กรดฟอร์มิก 0.05-0.1% ร่วมกับ SDS 0.5-1% ส่งผลให้ประสิทธิภาพลดลง ในขณะที่การใช้กรดฟอร์มิก 3% ร่วมกับ SDS 1% สามารถฆ่าเชื้อ *E. coli* O157:H7 บนกระเบื้องได้ถึง  $5.14 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$  ผลการทดลองลักษณะนี้เกิดขึ้นเช่นเดียวกับการใช้กรดอะซิติก โดยการใช้กรดอะซิติก 3% ร่วมกับ SDS 1% สามารถลดปริมาณเชื้อได้ถึง  $4.53 \log \text{CFU}/\text{cm}^2$  ดังนั้น การใช้กรดอินทรีย์ร่วมกับ SDS ควรใช้กรดอินทรีย์ที่มีความเข้มข้น 3% ขึ้นไป โดยการใช้กรดเลวูลินิก 3% ร่วมกับ SDS 2% มีฤทธิ์ต้านจุลชีพที่เสริมกัน สามารถขจัดไบโอฟิล์มได้ดีกว่าการใช้กรดเลวูลินิก หรือ SDS เพียงอย่างเดียว (Chen, 2015)

สำหรับการใช้กรดอินทรีย์ฆ่าเชื้อ *S. aureus* นั้น พบว่า การใช้กรดอะซิติก 1-2% ร่วมกับ SDS 0.5-1% นั้นได้ผลการฆ่าเชื้อเท่าเดิม ( $P>0.05$ ) ในขณะที่การใช้กรดอะซิติก 3% ร่วมกับ SDS 1% ส่งผลให้ประสิทธิภาพดีขึ้น และการใช้กรดอะซิติกร่วมกับ SDS มีประสิทธิภาพมากกว่าการใช้กรดฟอร์มิกในพื้นที่ผิวสแตนเลส ไม้ และพลาสติก นอกจากนี้ การใช้กรดฟอร์มิกร่วมกับ SDS ในการฆ่าเชื้อบนพื้นผิวสแตนเลสและไม้ ให้ประสิทธิภาพลดลง อาจเป็นเพราะกรดส่งผลต่อพื้นผิวของสแตนเลสให้เกิดความขรุขระมากขึ้นเช่นเดียวกับไม้

ลักษณะพื้นผิวส่งผลต่อการทำความสะอาดเช่นเดียวกัน การใช้กรดเลวูลินิก 0.1% ร่วมกับ SDS 0.5% ในการทำความสะอาดถุงมือยาง สามารถลดปริมาณ เชื้อ *E. coli* O157:H7 ได้มากกว่า 2 log reduction (Erickson, 2018) ในบางกรณีสาร SDS อาจเป็นสารหล่อลื่น ส่งผลให้มีการเกาะติดของเชื้อลดลง ส่งผลให้กรดสามารถกำจัดเชื้อได้ง่ายขึ้น (Frank, 2001) ดังนั้น การมีฤทธิ์เสริมกันหรือมีฤทธิ์ต้านกันอาจ เกิดจากลักษณะของพื้นผิวที่สัมผัสสารฆ่าเชื้อ

อย่างไรก็ตาม การเกาะของเชื้อก่อโรคในงานวิจัยนี้ เป็นเชื้อก่อโรคในระยะที่ยังไม่สร้างไบโอฟิล์ม การใช้สารลดแรงตึงผิวช่วยในการกำจัดไบโอฟิล์มอาจส่งผลดีกว่า เนื่องจากสารลดแรงตึงผิวจะช่วยแยกแบคทีเรียออกจากพื้นผิว ขจัดสารเมือก (Extracellular Polymeric Substance EPS) ส่งผลให้กรดอินทรีย์สามารถทำลายแบคทีเรียได้โดยตรง (Hancock, 2002)



ตารางที่ 5 ปริมาณเชื้อที่ลดลง (log reduction) ของ *E. coli* O157:H7 หลังการทำความสะอาดด้วยกรดอินทรีย์ที่เหมาะสมร่วมกับโซเดียมไฮดรอกไซด์  
 ซัลเฟตบนพื้นผิว 4 ชนิด

กรดอินทรีย์	ความเข้มข้นกรดอินทรีย์ร่วมกับ SDS	ลดเนคตัส	กระเบื้อง	ไม้	พลาสติก
Acetic acid	0.5% acetic	3.22 ± 0.04 <sup>b</sup>	-	-	-
	0.5% acetic+0.5% SDS	2.97 ± 0.04 <sup>c</sup>	-	-	-
	0.5% acetic+1% SDS	3.77 ± 0.16 <sup>a</sup>	-	-	-
	2% acetic	-	1.69 ± 0.05 <sup>a</sup>	1.78 ± 0.67 <sup>b</sup>	-
	2% acetic+ 0.5% SDS	-	0.95 ± 0.07 <sup>b</sup>	1.99 ± 0.06 <sup>b</sup>	-
	2% acetic+ 1% SDS	-	1.03 ± 0.08 <sup>b</sup>	4.10 ± 0.03 <sup>a</sup>	-
	3% acetic	-	-	-	3.24 ± 0.20 <sup>b</sup>
	3% acetic+0.5% SDS	-	-	-	4.44 ± 0.14 <sup>a</sup>
	3% acetic+1% SDS	-	-	-	4.53 ± 0.17 <sup>a</sup>
Formic acid	0.1% formic	3.92 ± 0.03 <sup>a</sup>	-	-	-
	0.1% formic+ 0.5% SDS	3.27 ± 0.137 <sup>a</sup>	-	-	-
	0.1% formic + 1% SDS	2.27 ± 0.10 <sup>b</sup>	-	-	-
	0.05% formic	-	4.79 ± 0.08 <sup>a</sup>	-	-
	0.05% formic+ 0.5% SDS	-	1.02 ± 0.13 <sup>b</sup>	-	-
	0.05% formic+ 1% SDS	-	1.34 ± 0.10 <sup>c</sup>	-	-
	2% formic	-	-	4.50 ± 0.07 <sup>a</sup>	-
	2% formic+ 0.5% SDS	-	-	2.80 ± 0.06 <sup>b</sup>	-
	2% formic + 1% SDS	-	-	2.60 ± 0.12 <sup>b</sup>	-
3% formic	-	-	-	3.41 ± 0.04 <sup>b</sup>	
3% formic+ 0.5% SDS	-	-	-	4.83 ± 0.07 <sup>a</sup>	
3% formic + 1% SDS	-	-	-	5.14 ± 0.26 <sup>a</sup>	

หมายเหตุ \* ตัวอักษร a,b,c ในแนวตั้ง หมายถึงมีค่าแตกต่างกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05)

ตารางที่ 6 ปริมาณเชื้อที่ลดลง (log reduction) ของ *S. aureus* หลังการทำความสะอาดด้วยกรดอินทรีย์ที่เหมาะสมร่วมกับโซเดียมไฮโปคลอไรต์บนพื้นผิว 4 ชนิด

กรดอินทรีย์	ความเข้มข้นกรดอินทรีย์ร่วมกับ SDS	สแตนด์เลส	กระเบื้อง	ไม้	พลาสติก
Acetic acid	1% acetic	1.88 ± 0.05 <sup>a</sup>	-	-	-
	1% acetic+ 0.5% SDS	1.03 ± 0.09 <sup>b</sup>	-	-	-
	1% acetic+ 1% SDS	1.08 ± 0.04 <sup>b</sup>	-	-	-
	2% acetic	-	1.23 ± 0.08 <sup>a</sup>	-	-
	2% acetic+ 0.5% SDS	-	0.95 ± 0.009 <sup>b</sup>	-	-
	2% acetic+ 1% SDS	-	0.83 ± 0.06 <sup>b</sup>	-	-
	3% acetic	-	-	2.11 ± 0.09 <sup>c</sup>	-
	3% acetic+0.5% SDS	-	-	5.30 ± 0.14 <sup>b</sup>	-
	3% acetic+1% SDS	-	-	4.67 ± 0.11 <sup>a</sup>	-
Formic acid	5% acetic	-	-	2.93 ± 0.19 <sup>b</sup>	-
	5% acetic+ 0.5% SDS	-	-	3.73 ± 0.17 <sup>a</sup>	-
	5% acetic+ 1% SDS	-	-	4.11 ± 0.33 <sup>a</sup>	-
Formic acid	3% formic	3.20 ± 0.13 <sup>a</sup>	-	-	-
	3% formic+ 0.5% SDS	2.93 ± 0.07 <sup>b</sup>	-	-	-

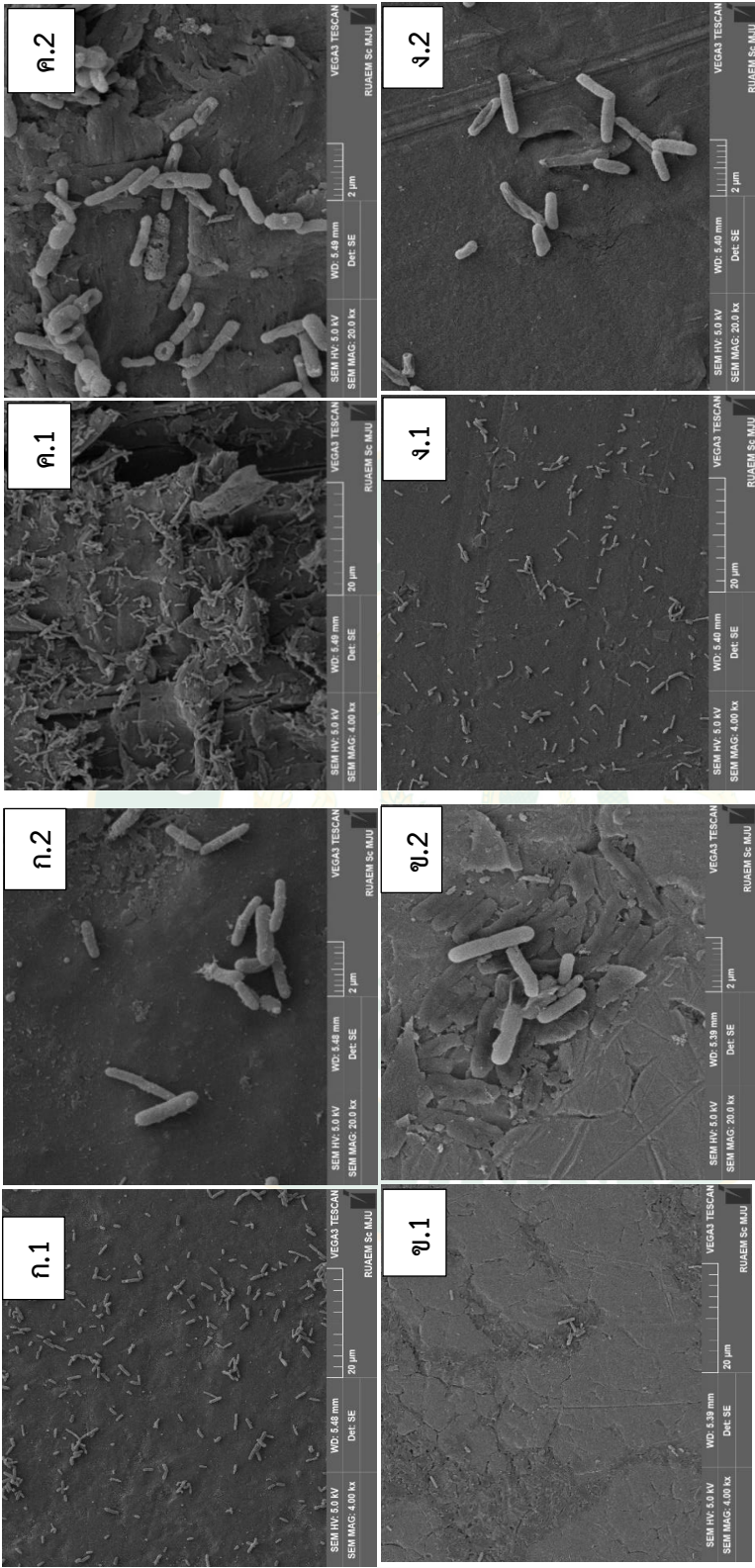
3% formic+ 1% SDS	3.08 ± 0.08 <sup>ab</sup>			
1% formic	-	0.32 ± 0.06 <sup>b</sup>		-
1% formic + 0.5% SDS		3.57 ± 1.41 <sup>a</sup>		
1% formic + 1% SDS		4.26 ± 0.12 <sup>a</sup>		
2% formic	-	-	4.46 ± 0.40 <sup>a</sup>	-
2% formic+ 0.5% SDS			2.53 ± 0.10 <sup>b</sup>	
2% formic + 1% SDS			2.20 ± 0.94 <sup>b</sup>	
3% formic	-	-		2.34 ± 0.21 <sup>c</sup>
3% formic+ 0.5% SDS				3.60 ± 0.03 <sup>b</sup>
3% formic + 1% SDS				4.07 ± 0.12 <sup>a</sup>

หมายเหตุ \* ตัวอักษร a,b,c ในแนวนอน หมายถึงมีค่าแตกต่างกัน/ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05)

## 6. ผลการทดลองการศึกษาการยึดเกาะของเชื้อ *E. coli* O157:H7 และ *S. aureus* บนพื้นผิวชนิดต่างๆโดยการใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

การวิเคราะห์การทดสอบการฆ่าเชื้อด้วยกรดอินทรีย์ร่วมกับโซเดียมโอดีเดซิลซัลเฟตด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) ในการทำความสะอาดพื้นผิวที่ปนเปื้อนเชื้อ *E. coli* O157:H7 และ *S. aureus* พบว่า ความหนาแน่นของเชื้อ *E. coli* O157:H7 บนพื้นผิวทั้ง 4 ชนิดมีปริมาณที่น้อยลง (ภาพที่ 11) และ (ภาพที่ 12) เมื่อเทียบกับก่อนการทำความสะอาด (ภาพที่ 10) นอกจากนี้ ลักษณะรูปร่างแท่งของเชื้อ *E. coli* O157:H7 เกิดการเปลี่ยนรูป มีลักษณะบิดเบี้ยว และมีรูพรุน เนื่องจากการถูกทำลายด้วยสารละลายกรดอินทรีย์ร่วมกับโซเดียมโอดีเดซิลซัลเฟต ในขณะที่ลักษณะรูปร่างกลมของ *S. aureus* ไม่มีรูปร่างที่เปลี่ยนไปแต่ความหนาแน่นของเชื้อบนพื้นผิวลดน้อยลง อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่าจะมีปริมาณลดลงแต่เชื้อ *S. aureus* ยังเกาะกลุ่มแน่นเป็นเสมือนพวงอุ้งน้ไม่มีกระจายตัวเหมือนเชื้อ *E. coli* O157:H7

กรดอินทรีย์จะทำลายผนังเซลล์ เยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ แพร่เข้าไปด้านในและส่งผลกระทบต่อกระบวนการสังเคราะห์สารชีวโมเลกุลภายในเซลล์ ทำให้เซลล์ตายได้ ในขณะที่โซเดียมโอดีเดซิลซัลเฟตหรือสารลดแรงตึงผิว จะแทรกผ่านเยื่อหุ้มชั้นนอกของเซลล์ ส่งผลให้ไม่สามารถยึดเกาะพื้นผิว และหยุดการเจริญของแบคทีเรีย เนื่องจากทำปฏิกิริยากับเยื่อหุ้มชั้นในของฟอสโฟลิพิด (Sharma, 2022) นอกจากนี้ ในงานวิจัยของ Chen และคณะ (2015) ศึกษาลักษณะของเซลล์ด้วย SEM หลังการยับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes*, *S. Typhimurium* และ *E. coli* O157:H7 ด้วยกรดลิวูลินิกร้อยละ 0.5 ร่วมกับโซเดียมโอดีเดซิลซัลเฟตร้อยละ 0.05 พบว่ากรดลิวูลินิกและโซเดียมโอดีเดซิลซัลเฟตจะทำลายผนังเซลล์ แพร่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้องค์ประกอบของเซลล์ได้รับความเสียหาย จึงทำให้ลักษณะของเซลล์มีรูปร่างที่เปลี่ยนไปเมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ที่ไม่ได้สัมผัสกรดและสารลดแรงตึงผิว (Chen, 2015)

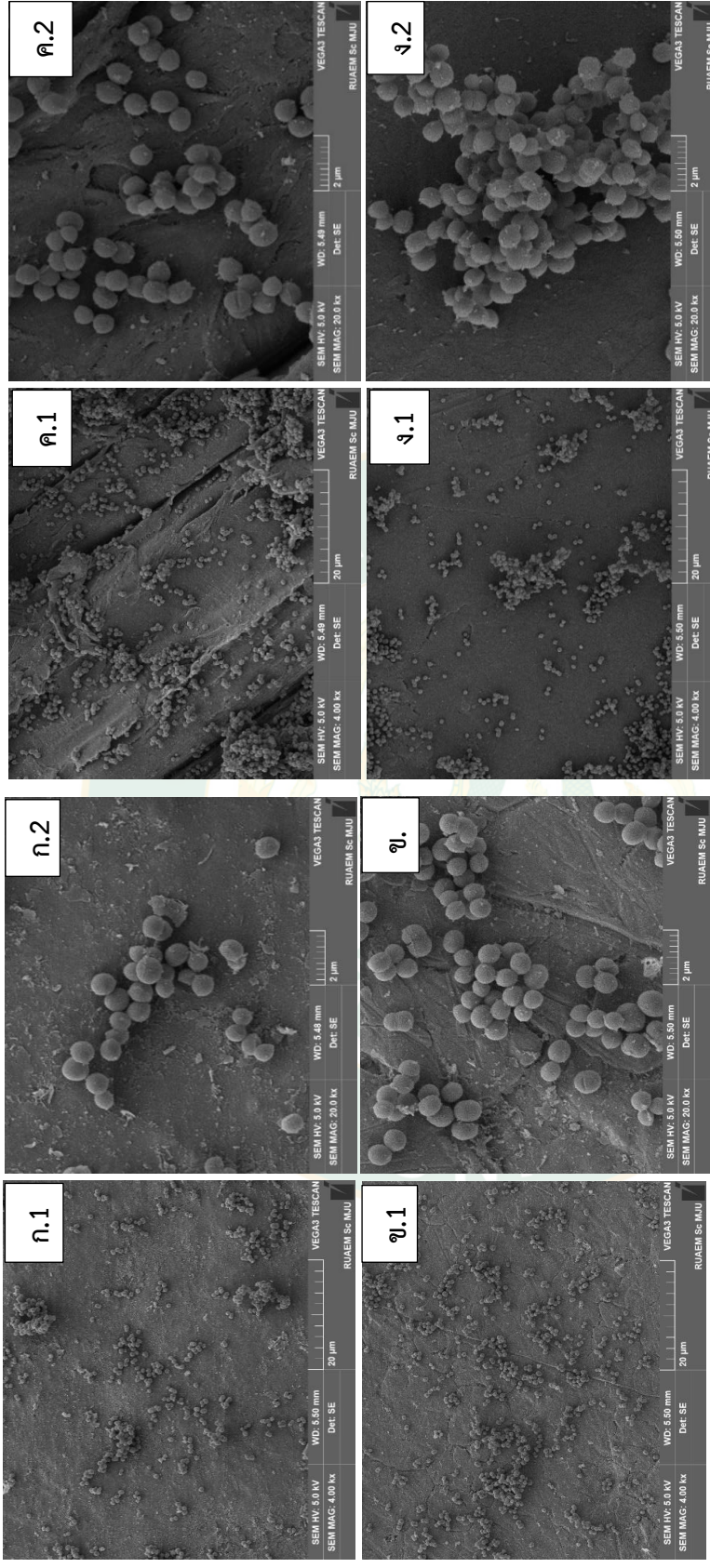


ภาพที่ 11 ลักษณะของเชื้อ *E. coli* O157:H7 บนพื้นผิว 4 ชนิด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดที่กำลังขยาย 4X และ 20X

หลังการทำความสะอาดด้วยกราดินทรีย์

(ก.1) และ (ก.2) *E. coli* O157:H7 บนพื้นผิวกระดาษเบือง (ข.1) และ (ข.2) *E. coli* O157:H7 บนพื้นผิวสแตนเลส (ค.1) และ

(ค.2) *E. coli* O157:H7 บน พื้นผิวไม้ (ง.1) และ (ง.2) *E. coli* O157:H7 บนพื้นผิวพลาสติก



ภาพที่ 12 ลักษณะของเชื้อ *S. aureus* บนพื้นผิว 4 ชนิด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดที่กำลังขยาย 4X และ 20X หลังการทำความสะอาดด้วยกรดอินทรีย์ (ก.1) และ (ก.2) *S. aureus* บนพื้นผิวกระเบื้อง (ข.1) และ (ข.2) *S. aureus* บนพื้นผิวสแตนเลส (ค.1) และ (ค.2) *S. aureus* บนพื้นผิวไม้ (ง.1) และ (ง.2) *S. aureus* บนพื้นผิวพลาสติก

## บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ

การศึกษาการลดปริมาณเชื้อ *E.coli* O157:H7 และ *S. aureus* บนพื้นผิวกระเบื้อง สแตนเลส ไม้ และพลาสติก โดยใช้สารละลายชนิดต่าง ๆ พบว่า การใช้น้ำกลั่นสามารถลดปริมาณเชื้อได้เพียงเล็กน้อย เมื่อเปรียบเทียบวิธีการทำความสะอาดด้วยการพ่นและการเท พบว่า วิธีการทำความสะอาดไม่ส่งผลต่อการลดปริมาณเชื้อก่อโรค ( $P>0.05$ ) ในกรณีของเชื้อ *S. aureus* การใช้กรดอะซิติกและกรดฟอร์มิกความเข้มข้น ร้อยละ 5 สามารถลดปริมาณเชื้อ *E. coli* O157:H7 และ *S. aureus* ได้มากกว่า 5 log reduction ซึ่งสามารถใช้เป็นสารฆ่าเชื้อตามข้อกำหนดได้ และความเข้มข้นของกรดส่งผลต่อประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ แต่อย่างไรก็ตาม กรดทั้งสองชนิดที่ความเข้มข้นสูง มีกลิ่นฉุนอาจส่งผลต่อสุขภาพของผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม จึงมีการทดลองใช้กรดที่ความเข้มข้นต่ำร่วมกับสารลดแรงตึงผิวโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพ และพบว่า การใช้กรดอินทรีย์ที่ความเข้มข้นต่ำไม่สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการทำความสะอาดได้ ควรใช้กรดอินทรีย์ที่มีความเข้มข้น ร้อยละ 3 ขึ้นไปในการฆ่าเชื้อ

ลักษณะพื้นผิวที่สัมผัสกับเชื้อส่งผลต่อการทำความสะอาด โดยพื้นผิวเบ้องสามารถทำความสะอาดได้ง่ายที่สุด เนื่องจากมีลักษณะเรียบ ไม่มีรอยขรุขระ ในขณะที่พื้นผิวไม้ทำความสะอาดได้ยากที่สุด เนื่องจากมีรอยแตกเป็นจำนวนมาก ส่งผลให้เชื้อก่อโรค ทั้ง เชื้อ *E. coli* O157:H7 และ *S. aureus* เกาะอยู่ตามรอยดังกล่าว นอกจากนี้ การขจัดเชื้อ *S. aureus* นั้นทำได้ยากกว่าเชื้อ *E. coli* O157:H7 เนื่องจากเชื้อ *S. aureus* ยึดเกาะเป็นกลุ่มก้อนและมีความหนา ในขณะที่เชื้อ *E. coli* O157:H7 กระจายตัวอยู่ตามพื้นผิว

ดังนั้น จึงสามารถสรุปได้ว่า การใช้กรดอินทรีย์ และการใช้กรดอินทรีย์ร่วมกับโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตสามารถลดปริมาณเชื้อได้มากกว่า 5 log reduction ซึ่งเป็นมาตรฐานของสารฆ่าเชื้อ อย่างไรก็ตาม งานวิจัยนี้ทำการทดลองเมื่อเชื้อก่อโรคทั้งสองชนิดยังไม่พัฒนาเป็นไบโอฟิล์ม จึงควรทำการทดลองเมื่อเชื้อก่อโรคนบนพื้นผิวพัฒนาเป็นไบโอฟิล์มและทดสอบความเข้มข้นของกรดอินทรีย์และโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตโดยการเพิ่มระดับความเข้มข้นสูงขึ้นไปเพื่อขจัดเชื้อในระดับไบโอฟิล์ม

## บรรณานุกรม

- กรมควบคุมโรค. อุจจาระร่วงจากเชื้อ (Enterohemorrhagic E. coli) (Enterohemorrhagic E. coli). [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา [https://ddc.moph.go.th/disease\\_detail.php?d=7](https://ddc.moph.go.th/disease_detail.php?d=7)
- กลุ่มระบาดวิทยาและข่าวกรอง. 2561. โรคอาหารเป็นพิษ ประจำเดือนสิงหาคมปี 2561. เข็มพะกา, สุทิศา. (2558). ผลของการเสริมฤทธิ์ต่อสุขภาพทางเดินอาหาร และสมรรถนะการผลิตของลูกสุกรหย่านม o. Document Number)
- จันทิรา, โภมล. 2561. การระบาดของโรคอุจจาระร่วงจากเชื้อ Escherichia coli ในโรงเรียนทหารแห่งหนึ่ง จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ วารสารสถาบันบำราศนราดูร.
- ฐานข้อมูลความปลอดภัยด้านสารเคมี. 2546a. **Acetic acid** [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://www.chemtrack.org/chem-detail.asp?ID=00012&CAS=&Name=>
- . 2546b. **Formic acid**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://www.chemtrack.org/Chem-Detail.asp?ID=00916&NAME=Formic%20acid>
- นิยมเดชา, อัจฉรา. 2558. การใช้กรดอินทรีย์ต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียกลุ่มก่อโรค (ซัลโมเนลล่า) ในทางเดินอาหารของสัตว์ปีก. วารสารเกษตร.
- ประกายทิพย์, กิติคุณ. 2558. คู่มือการเตรียมตัวอย่างทางชีวภาพสำหรับศึกษาด้วยกล้อง SEM
- ประกาศกระทรวงสาธารณสุข. (2562). ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดหรือฆ่าเชื้อที่ใช้สำหรับอาหาร o. Document Number)
- . 2566. ฉบับที่ 412 พ.ศ.2562 เรื่อง ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดหรือฆ่าเชื้อที่ใช้สำหรับอาหาร. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <https://food.fda.moph.go.th/food-law/announ-moph-412/>
- ยุพดี, เผ่าพันธ์. 2557. การเตรียมตัวอย่างชีวภาพด้วยวิธีทางเคมีสำหรับกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด
- รัตนวุฒิ, เจษฎา. 2549. ผลของการเสริมกรดอินทรีย์ในไก่กระທงและไก่ไข่.
- ศรีสุคนธ์รัตน์, วรรณพร. 2558. สารต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในบ้านเรือนหรือทางสาธารณสุข. สำนักควบคุมเครื่องสำอางและวัตถุอันตราย สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข.
- ศุภชาติ, ปานเนียม. 2566. การศึกษาเบื้องต้นถึงประสิทธิภาพของกรดอินทรีย์ 4 ชนิดในการต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเต้านมอักเสบในโคนม วารสารเกษตรพระจอมเกล้า.
- (CDC)., Centers for Disease Control and Prevention. 2018. Estimates of Foodborne Illness in the United States. .



- Bae, Young-Min, Baek, Seung-Youb และ Lee, Sun-Young. 2012. Resistance of pathogenic bacteria on the surface of stainless steel depending on attachment form and efficacy of chemical sanitizers. **International Journal of Food Microbiology**,153(3), 465-473.
- Bohinc, Klemen, Dražić, Goran, Oder, Martina, Jevšnik, Mojca, Nipič, Damijan, Godič-Torkar, Karmen และ Raspur, Peter. 2014. Available surface dictates microbial adhesion capacity. **International journal of adhesion and adhesives**,50(265-272).
- Cabeça, T. K., Pizzolitto, A. C., & Pizzolitto, E. L. . 2012. Activity of disinfectants against foodborne pathogens in suspension and adhered to stainless steel surfaces. **Brazilian Journal of Microbiology**.
- Castro, A., Santos, C., Meireles, H., Silva, J., & Teixeira, P. . 2016. Food handlers as potential sources of dissemination of virulent strains of *Staphylococcus aureus* in the community. **Journal of Infection and Public Health**.
- CDC. 2020. **Outbreak**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <https://www.cdc.gov/ecoli/outbreaks.html>
- Chen, D., Zhao, T., & Doyle, M. P. 2015. Control of pathogens in biofilms on the surface of stainless steel by levulinic acid plus sodium dodecyl sulfate. **International Journal of Food Microbiology**.
- Deza, MA, Araujo, M และ Garrido, MJ. 2005. Inactivation of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* on stainless steel and glass surfaces by neutral electrolysed water. **Letters in applied microbiology**,40(5), 341-346.
- Erickson, M. C., Liao, J. Y., Habteselassie, M. Y., & Cannon, J. L. 2018. Inactivation of *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella* during washing of contaminated gloves in levulinic acid and sodium dodecyl sulfate solutions. **Food microbiology**.
- FDA. 2019. **Foodborne Pathogens**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <https://www.fda.gov/food/outbreaks-foodborne-illness/foodborne-pathogens>
- Feng, P. 2014. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) in fresh produce—a food safety dilemma. **Microbiology spectrum**.

- Foster, T. J. . 2002. Staphylococcus aureus. **Molecular medical microbiology**.
- Frank, J. F. . 2001. Microbial attachment to food and food contact surfaces.
- FSN. 2022a. Nearly 200 sick in UK E. coli O157 outbreak
- . 2022b. Pasta meal behind 80 illnesses in Sweden
- Furukawa, S., Akiyoshi, Y., Komoriya, M., Ogihara, H., & Morinaga, Y. . 2010. Removing Staphylococcus aureus and Escherichia coli biofilms on stainless steel by cleaning-in-place (CIP) cleaning agents. **Food Control**.
- Hancock, R. E., & Rozek, A. 2002. Role of membranes in the activities of antimicrobial cationic peptides. **FEMS microbiology letters**.
- Herman, K. M., Hall, A. J., & Gould, L. H. . 2015. Outbreaks attributed to fresh leafy vegetables, United States. **Epidemiology & Infection**.
- Hietala, J., Vuori, A., Johnsson, P., Pollari, I., Reutemann, W., & Kieczka, H. 2016. Formic acid. **Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry**.
- Ji, Q. Y., Wang, W., Yan, H., Qu, H., Liu, Y., Qian, Y., & Gu, R. 2023. The Effect of Different Organic Acids and Their Combination on the Cell Barrier and Biofilm of Escherichia coli. **Foods**.
- Joseph, B., Otta, S. K., Karunasagar, I., & Karunasagar, I. 2001. Biofilm formation by Salmonella spp. on food contact surfaces and their sensitivity to sanitizers. **International journal of food microbiology**.
- Kim, Choon Young, Ryu, Geum Joo, Park, Hye Young and Ryu, Kyung. 2017. Resistance of Staphylococcus aureus on food contact surfaces with different surface characteristics to chemical sanitizers. **Journal of Food Safety**,37(4), e12354.
- Lee, Rhee, MS, Dougherty, RH and Kang, DH. 2010. Antagonistic effect of acetic acid and salt for inactivating Escherichia coli O157: H7 in cucumber puree. **Journal of applied microbiology**,108(4), 1361-1368.
- Lee, Sun-Young and Kang, Dong-Hyun. 2009. Combined effects of heat, acetic acid, and salt for inactivating Escherichia coli O157: H7 in laboratory media. **Food Control**,20(11), 1006-1012.
- Lepaus, Barbara Morandi, Rocha, Jessica Souza and SÃO JOSÉ, Jackline Freitas Brilhante de. 2020. Organic acids and hydrogen peroxide can replace chlorinated compounds as sanitizers on strawberries, cucumbers and rocket leaves. **Food**

**Science and Technology**,40(242-249).

Liu, Z., Zhao, G., Brewer, M., Lv, Q., & Sudhölter, E. J. . 2021. Comprehensive review on surfactant adsorption on mineral surfaces in

chemical enhanced oil recovery **Advances in Colloid and Interface Science**.

López-Cuevas, Osvaldo, Medrano-Félix, José Andrés, Campo, Nohelia Castro-del, Martínez-Rodríguez, Célida และ Chaidez, Cristóbal. 2021. Inactivation of Escherichia coli O157: H7 on green bell pepper by chlorine dioxide simulating packinghouses process. **Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences**,2021(149-152).

Maktabi, S., Brojeni, M. P., & Elahinia, L. 2023. Decontamination of Salmonella Typhimurium and Listeria monocytogenes on Food-Related Surfaces by a Combination of Sodium Dodecyl Sulfate, Lactic Acid, or Citric Acid Under Different Temperatures. **Avicenna Journal of Clinical Microbiology and Infection**.

Marques, Simone Cristina, Rezende, Jaíne das Graças Oliveira Silva, Alves, Lizandra Aparecida de Freitas, Silva, Belami Cássia, Alves, Eduardo, Abreu, Luiz Ronaldo de และ Piccoli, Roberta Hilsdorf. 2007. Formation of biofilms by Staphylococcus aureus on stainless steel and glass surfaces and its resistance to some selected chemical sanitizers. **Brazilian Journal of Microbiology**,38(538-543).

Medrano-Félix, A., Martínez, C., Castro-del Campo, N., León-Félix, J., Peraza-Garay, F., Gerba, C. P., & Chaidez, C. 2011. Impact of prescribed cleaning and disinfectant use on microbial contamination in the home. **Journal of applied microbiology**.

Michino, H., Araki, K., Minami, S., Takaya, S., Sakai, N., Miyazaki, M., ... & Yanagawa, H. . 1999. Massive outbreak of Escherichia coli O157: H7 infection in schoolchildren in Sakai City, Japan, associated with consumption of white radish sprouts. **American journal of epidemiology**.

Nataro, James P และ Kaper, James B. 1998. Diarrheagenic escherichia coli. **Clinical microbiology reviews**,11(1), 142-201.

Nguyen, Y และ Sperandio, Vanessa. 2012. Enterohemorrhagic E. coli (EHEC)

- pathogenesis. **Frontiers in cellular and infection microbiology**,2(90).
- Rocha e Silva, N. M. P., Meira, H. M., Almeida, F. C. G., Soares da Silva, R. D. C. F., Almeida, D. G., Luna, J. M., ... & Sarubbo, L. A. 2019. Natural surfactants and their applications for heavy oil removal in industry. **Separation & Purification Reviews**.
- Ruengvisesh, Songsirin, Khunrae, Pongsak, Rattanarojpong, Triwit และJongruja, Nujarin. 2020. The combined effect of formic acid and Nisin on potato spoilage. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**,24(10)1523.
- Seo, Young-seok, Lee, Gyenggeun, Song, Sibum, Kim, Kangmin และCho, Min. 2021. Combinatorial treatment using citric acid, malic acid, and phytic acid for synergistical inactivation of foodborne pathogenic bacteria. **Korean Journal of Chemical Engineering**,38(4), 826-832.
- Sharma, P., Vaiwala, R., Parthasarathi, S., Patil, N., Verma, A., Waskar, M., ... & Ayappa, K. G. . 2022. Interactions of surfactants with the bacterial cell wall and inner membrane: Revealing the link between aggregation and antimicrobial activity. **Langmuir**.
- Souza, E. L. D., Meira, Q. G. S., Barbosa, I. D. M., Athayde, A. J. A. A., Conceição, M. L. D., & Siqueira Júnior, J. P. D. 2014. Biofilm formation by *Staphylococcus aureus* from food contact surfaces in a meat-based broth and sensitivity to sanitizers. **Brazilian Journal of Microbiology**.
- USFDA. 1982. **FOOD AND DRUGS OF ACETIC ACID** [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา [https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=184.1005&fbclid=IwZXh0bgNhZW0CMtAAAR2wzXEFygiSTdUxuBfIOksynthk0MZjt6PNDmp12ty27r5zO\\_9D5YqAfKY\\_aem\\_AaIXoDqG-rV9rw3uGXr0t22eosGpWGbH7VO1KuktHz\\_mywKyA51zsnLsEREm9orTOWYV7xvhp dWj5jpX3VLHc0G](https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=184.1005&fbclid=IwZXh0bgNhZW0CMtAAAR2wzXEFygiSTdUxuBfIOksynthk0MZjt6PNDmp12ty27r5zO_9D5YqAfKY_aem_AaIXoDqG-rV9rw3uGXr0t22eosGpWGbH7VO1KuktHz_mywKyA51zsnLsEREm9orTOWYV7xvhp dWj5jpX3VLHc0G)
- Webb, C. C., Davey, L. E., Erickson, M. C., & Doyle, M. P. 2013. Evaluation of Levulinic Acid and Sodium Dodecyl Sulfate as a Sanitizer for Use in Processing Georgia-Grown Cantaloupes. **Journal of food protection**.

- Yang, Hua, Kendall, Patricia A, Medeiros, Lydia และ Sofos, John N. 2009. Inactivation of *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157: H7, and *Salmonella typhimurium* with compounds available in households. **Journal of food protection**,72(6), 1201-1208.
- Yang, S. C. 2017. Current pathogenic *Escherichia coli* foodborne outbreak cases and therapy development. **Archives of microbiology**.
- Zhao, T., Zhao, P., & Doyle, M. P. . 2009. Inactivation of *Salmonella* and *Escherichia coli* O157: H7 on lettuce and poultry skin by combinations of levulinic acid and sodium dodecyl sulfate. **Journal of food protection**.
- . 2010. Inactivation of *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella Typhimurium* DT 104 on alfalfa seeds by levulinic acid and sodium dodecyl sulfate. **Journal of food protection**.
- Zhao. T., Zhao, P., Cannon, J. L., Doyle, M. P. . 2011. Inactivation of *Salmonella* in biofilms and on chicken cages and preharvest poultry by levulinic acid and sodium dodecyl sulfate. **Journal of food protection**.
- Zhou, Zijin, Zuber, Sophie, Cantergiani, Frédérique, Butot, Sophie, Li, Dan, Stroheker, Thomas, Devlieghere, Frank, Lima, Anthony, Piantini, Umberto และ Uyttendaele, Mieke. 2017. Inactivation of viruses and bacteria on strawberries using a levulinic acid plus sodium dodecyl sulfate based sanitizer, taking sensorial and chemical food safety aspects into account. **International Journal of Food Microbiology**,257(176-182).



ภาคผนวก

## ภาคผนวก

### อุปกรณ์และสารเคมีสำหรับเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

#### 1. อาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อ

##### 1.1 Eosin Methylene Blue agar (EMB agar)

Peptone	10.0	กรัม
Lactose	10.0	กรัม
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2.0	กรัม
Eosin y	0.4	กรัม
Methylene blue	0.065	กรัม
Agar	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมให้เข้ากันและนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

##### 1.2 Baird-Parker medium (BP)

Peptone	10.0	กรัม
Lactose	10.0	กรัม
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2.0	กรัม
Eosin y	0.4	กรัม
Methylene blue	0.065	กรัม
Agar	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมให้เข้ากันและนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

### 1.3 0.1% Peotone water

Peptone	10.0	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมให้เข้ากันและนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

### 1.4 Typicsoy borth (TSB)

NaCl	80.0	กรัม
KCl	2.0	กรัม
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2.4	กรัม
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	14.4	กรัม

## 2. การเตรียมสารละลาย Phosphate Buffer Saline (PBS) 10X (pH 7.4)

NaCl	80.0	กรัม
KCl	2.0	กรัม
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2.4	กรัม
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	14.4	กรัม

ละลายในน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร ปรับ pH 7.4 ด้วย 1 N NaOH หรือ 20% HCl เติมน้ำกลั่นปรับ ปริมาตรจนครบ 1000 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส



การเตรียมสารละลาย Phosphate Buffer Saline (PBS) 1X

PBS 10X	100	มิลลิลิตร
ddH <sub>2</sub> O	900	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมให้เข้ากันและนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

### 3. การเตรียมสารละลาย 2.5% glutaraldehyde ใน PBS 0.1M

glutaraldehyde	2.5	มิลลิลิตร
PBS	97.5	มิลลิลิตร

### 4. การเตรียมกรดอะซิติกและกรดฟอร์มิกที่ความเข้มข้นต่างๆ

การเตรียมกรดอะซิติกและกรดฟอร์มิกที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยความเข้มข้นของกรดอะซิติกที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เท่ากับ 99.8% และกรดฟอร์มิก เท่ากับ สามารถเตรียมความเข้มข้น

จากสูตรการคำนวณ

$$C_1V_1=C_2V_2$$

ภาพการทำวิจัย



การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ



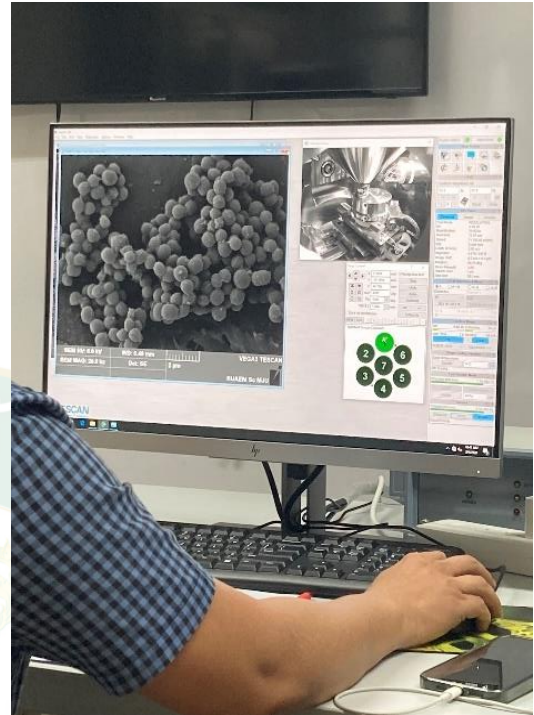
การทำให้พื้นผิวปนเปื้อน



การทำ Ethanol series



การติดตัวอย่างบนสตร๊ับ ก่อนการเคลือบด้วยทองคำ



ศึกษาตัวอย่างด้วยกล้อง SEM



## ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นางสาวศิริพร คำปัน
เกิดเมื่อ	15 ตุลาคม 2541
ประวัติการศึกษา	ปริญญาตรี คณะวิทยาศาสตร์ สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ
ประวัติการทำงาน	-

