P-ISSN 0858-4435
E-ISSN 2651-1231

วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี Homepage : http://li01.tci-thaijo.org/index.php/tstj
ปีที่ 30 ฉบับที่ 5 (กันยายน-ตุลาคม 2565) หน้า [108-124]

ผลของการล้างด้วยกรดซิตริกและการแทรกซึมภายใต้สุญญากาศต่อการลดจำนวน *Escherichia coli* และคุณภาพของแครอทตัดแต่ง

Effect of Citric Acid and Vacuum Impregnation Washing on the Reduction of *Escherichia coli* and Quality of Fresh-cut Carrot

ทิพรักษ์ วงษาดี*, จิตติมา เชื้อสายใจ, กุหลาบ สิทธิสวนจิก, ปฏิวิทย์ ลอยพิมาย
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา กรุงเทพมหานคร 10600
Thippharak Wongsadee*, Jittima Chuesaijai, Kulab Sittisuanjik, Patiwit Loypimai
Department of Food Science and Technology, Faculty of Science and Technology,
Bansomdejchaopraya Rajabhat University, Bangkok 10600
Received 28 June 2022; Received in revised 12 September 2022; Accepted 26 September 2022

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของการล้างด้วยกรดซิตริกและการแทรกซึมภายใต้สุญญากาศต่อการลดปริมาณ *Escherichia coli* และคุณภาพของแครอทตัดแต่ง โดยศึกษาอิทธิพลร่วมของสภาวะในการล้าง (สภาวะปกติ (A) และสภาวะแทรกซึมภายใต้สุญญากาศ (V)) และระยะเวลาการล้าง (5, 10, 15 และ 20 นาที) ด้วยกรดซิตริก การล้างที่สภาวะแทรกซึมสุญญากาศ เป็นเวลา 15 (V15) และ 20 นาที (V20) มีผลต่อการลดลงของ *E. coli* (5 log CFU/g) สูงที่สุด ($p<0.05$) แต่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพแครอทเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม คือ ค่า pH ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ และค่าความแข็ง ในขณะที่การล้างที่สภาวะปกติ เวลา 15 นาที (A15) และการล้างที่สภาวะการแทรกซึมภายใต้สุญญากาศ เวลา 5 นาที (V5) มีผลต่อการลดลงของ *E. coli* ประมาณ 3 log CFU/g โดยไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพแครอท (ค่า pH ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ และค่าความแข็ง) รวมทั้งช่วยลดค่าดัชนีความขาวของแครอท นอกจากนี้ในระหว่างการเก็บรักษา พบว่า การล้างที่สภาวะแทรกซึมภายใต้สุญญากาศ (V5) มีผลทำให้ *E. coli* ที่เกาะติดบนผิวแครอทถูกชะล้างออกได้มากกว่าและมีปริมาณ *E. coli* น้อยกว่าการล้างที่สภาวะปกติ (A15) ($p \geq 0.05$) ดังนั้นการล้างด้วยกรดซิตริกที่สภาวะแทรกซึมภายใต้สุญญากาศ เวลา 5 นาที (V5) ทำให้ลดจำนวน *E. coli* ได้มากขึ้นและคงคุณภาพของแครอทตัดแต่ง

คำสำคัญ: กรดซิตริก; การแทรกซึมภายใต้สุญญากาศ; *Escherichia coli*; แครอท

***ผู้รับผิดชอบบทความ:** thippharak.wo@bsru.ac.th **doi:** 10.14456/tstj.2022.55

Abstract

This study aimed to evaluate the efficacy of combining citric acid and vacuum impregnation applied to the washing process to reduce *Escherichia coli* on the fresh-cut carrot. Additionally, the effect of combination treatment on carrot quality was determined. The interaction effect of washing conditions (atmospheric pressure (A) and vacuum impregnation (V)) and treatment time (5, 10, 15, and 20 min) in citric acid solution was studied. The maximum reduction of *E. coli* was 5 log CFU/g observed after washing with citric acid combined with vacuum impregnation for 15 and 20 min ($p<0.05$). However, fresh-cut carrots' quality (pH, titratable acidity, and hardness) changed compared to unwashed controls. The washing with citric acid in atmospheric pressure for 15 min (A15) and citric acid combined with vacuum impregnation for 5 min (V5) accomplished a 3 log CFU/g reduction of *E. coli* on the fresh-cut carrot without causing adverse quality changes (pH, titratable acidity, and hardness), and also decreased the whiteness index. Scanning electron photomicrographs showed that most *E. coli* on carrot surface were washed out with citric acid combined with vacuum impregnation (V5), which was more than washing in atmospheric (A15). The number of *E. coli* on fresh-cut carrots subjected to vacuum impregnation washing treatment was lower in all storage ($p \geq 0.05$). Using citric acid in combination with vacuum impregnation for 5 min could reduce the growth of *E. coli* and maintain the quality of fresh-cut carrots.

Keywords: Citric acid; Vacuum impregnation; *Escherichia coli*; Carrot

1. บทนำ

ปัจจุบันการบริโภคผักและผลไม้ตัดแต่งพร้อมรับประทานกำลังเป็นที่ต้องการของผู้บริโภคมากขึ้น เนื่องจากสามารถบริโภคได้ทันทีทำให้สะดวกสบายและประหยัดเวลา วิธีการเตรียมผักและผลไม้สดตัดแต่งทำได้โดยการล้าง การตัด และ การหั่นก่อนบรรจุ แล้วเก็บรักษาในอุณหภูมิแช่เย็น แครอทตัดแต่งในรูปแบบหั่นเป็นชิ้นเป็นผักที่นิยมในการบริโภคแบบผักสดและประกอบอาหารในร้านอาหาร โรงอาหารและในครัวเรือน [1] ปัญหาหลักที่ทำให้อายุการเก็บรักษาของแครอทตัดแต่ง มีระยะเวลาสั้นเนื่องจากการเกิดสีขาว (white discoloration) ที่บริเวณผิวแครอท และจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย [2] การเกิดสีขาวที่บริเวณผิวแครอทส่งผลให้การยอมรับของผู้บริโภคลดลง การเปลี่ยนแปลงนี้เกิดจากการสูญเสียน้ำบนผิวแครอทหรือเกิดการสร้างลิกนิน (lignin formation) [3] นอกจากนี้การบริโภคผักและผลไม้สดตัดแต่งอาจเสี่ยงต่อการได้รับอันตรายจากจุลินทรีย์ก่อโรคทางอาหารที่ปนเปื้อนมากับวัตถุดิบจากดิน ปุ๋ย น้ำ และสภาวะอากาศจากแหล่งเพาะปลูกและหลังการเก็บเกี่ยว *Escherichia coli* เป็นแบคทีเรียที่สามารถพบได้ในอุจาระของสัตว์เลือดอุ่นและมนุษย์ เป็นจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงสุขลักษณะของอาหารและน้ำ [4, 5] ดังนั้นการลดจำนวน *E. coli* จากผักและผลไม้ตัดแต่งจะช่วยลดความเสี่ยงในการได้รับเชื้อก่อโรคทางอาหารได้ รวมทั้งการลดจำนวนจุลินทรีย์ในผักและผลไม้ตัดแต่งมีส่วนช่วยในการยืดอายุการเก็บรักษาของ ผักและผลไม้ตัดแต่ง โดยทั่วไปในระดับอุตสาหกรรมมีการใช้คลอรีนในการล้างผักและผลไม้เพื่อกำจัดจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมา เนื่องจากมีต้นทุนต่ำและมีผลต่อการลดจุลินทรีย์ได้หลายชนิด แต่การใช้คลอรีนมีข้อจำกัด คือ ประสิทธิภาพใน

การกำจัดจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับค่า pH อุณหภูมิ และความกระด้างของน้ำ [6] กลิ่นคลอรีนที่ตกค้างในผักผลไม้ก็จัดเป็นกลิ่นไม่พึงประสงค์สำหรับผู้บริโภค และมีรายงานอันตรายที่เกิดจากการตกค้างของสารคลอรีนในผักผลไม้ คือ สารไตรฮาโลมีเทน (trihalomethanes) ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งที่อาจตกค้างอยู่ได้ [7]

กรดอินทรีย์ซึ่งเป็นสารที่ได้รับการยอมรับจากองค์การอนามัยโลก (WHO) ให้ใช้เป็นสารที่ไม่อันตรายต่อมนุษย์ รวมทั้งมีคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคทางอาหารหลายชนิด การใช้กรดอินทรีย์ในการล้างผักสดตัดแต่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์อยู่ในช่วงอุณหภูมิกว้างและไม่ได้รับผลกระทบจากความกระด้างของน้ำซึ่งเป็นข้อจำกัดสำหรับการใช้คลอรีน [8] กรดซิตริกเป็นกรดอินทรีย์ที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติในผักและผลไม้รวมทั้งแครอทด้วย [9-10] การศึกษาของ Piscopo และคณะ (2019) รายงานว่าการล้างแครอทแบบฝอยในสารละลายกรดซิตริก ความเข้มข้น ร้อยละ 1.5 ช่วยลดค่าดัชนีความขาวของแครอทตัดแต่งได้มากขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ล้างด้วยน้ำประปา [11] มีการประยุกต์ใช้กรดซิตริกใน การล้างผักสดตัดแต่งสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ก่อโรคทางอาหารได้หลายชนิด [12-14] การศึกษาของ Chen และคณะ (2016) รายงานว่า การล้างแอปเปิ้ลตัดแต่งด้วยสารละลายกรดซิตริก ความเข้มข้น ร้อยละ 0.5 เป็นเวลา 5 นาที สามารถลดจุลินทรีย์ทั้งหมดได้ ปริมาณ 1.5 log CFU/g [15] และการศึกษาของ Tantratian และคณะ (2021) รายงานว่าการแช่แคนตาลูปตัดแต่งในสารละลายกรดซิตริก ความเข้มข้น ร้อยละ 0.625 เป็นเวลา 2 นาที สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ ได้แก่ *E. coli*, *Salmonella Typhimurium* และ *Staphylococcus aureus* ปริมาณ 2.66, 2.00 และ 0.7 log CFU/g ตามลำดับ [16] การศึกษาที่ผ่านมามีการประยุกต์ใช้กรดซิตริกในการลดจำนวนจุลินทรีย์ในผักสดตัดแต่งได้หลายชนิดแต่ก็ยังคงมีข้อจำกัด คือ ลดจุลินทรีย์ได้บางส่วนเท่านั้นเนื่องจากตามธรรมชาติของผักจะมีผิวขรุขระและร่องหลุมบนพื้นผิวรวมทั้งบริเวณรอยตัดแต่งทำให้เป็นที่สะสมของจุลินทรีย์ที่ยากต่อการกำจัดออก ดังนั้นจึงมีการศึกษาการใช้เทคโนโลยีอื่นๆ มาใช้ร่วมด้วย

วิธีการแทรกซึมภายใต้สุญญากาศ (vacuum impregnation) เป็นเทคนิคที่ทำได้โดยการแช่ชิ้นผักตัดแต่งลงในสารละลายแล้วทำการลดความดันอากาศลงจนทำให้เกิดสภาวะความดันสุญญากาศในภาชนะปิด ทำให้ก๊าซที่อยู่ในช่องว่างระหว่างเซลล์ผักถูกดูดออกมาพร้อมกับการดูดอากาศ จากนั้นหยุดการใช้สภาวะสุญญากาศทำให้สารละลายแพร่เข้ามาในช่องว่างระหว่างเซลล์โดยเข้ามาแทนที่ก๊าซที่ถูกดูดออกไปโดยการแพร่ผ่านรูขนาดเล็ก (capillary action) และเป็นผลจาก การเปลี่ยนแปลงความดันบรรยากาศ (pressure gradients) ทำให้สารละลายแทรกซึมเข้าไปตามรูพรุนเนื้อเยื่อผักได้มากขึ้น [17-19] การศึกษาของ Kang และคณะ (2017) ได้ศึกษาการใช้วิธีการแทรกซึมภายใต้สุญญากาศร่วมกับการใช้กรดมาลิกในการลดจำนวนเชื้อ *S. Typhimurium*, *E. coli* O157:H7 และ *Listeria monocytogenes* ในพืชผักสดตัดแต่ง คือ พริก แครอท เห็ดนางรมหลวง เห็ดและเมล่อน พบว่าหลังจากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดภายหลังจากการใช้การแทรกซึมผ่านภายใต้สุญญากาศร่วมกับกรดมาลิก ความเข้มข้นร้อยละ 2 สามารถลดการเกาะติดของจุลินทรีย์ที่บริเวณร่องขรุขระบนผิวของพริก แครอท และเมล่อนได้มากกว่าการล้างในสภาวะปกติ [20] นอกจากนี้การศึกษาของ Zhao และคณะ (2022) รายงานว่าการล้างมันฝรั่งตัดแต่งด้วยสารละลายกรดแอสคอร์บิกในสภาวะแทรกซึมภายใต้สุญญากาศช่วยลดการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลได้มากกว่าการล้างในสภาวะปกติ เนื่องจากการล้างในสภาวะแทรกซึมภายใต้สุญญากาศทำให้เกิด การแลกเปลี่ยนของสารละลายกรดแอสคอร์บิกแพร่ผ่านเข้ามาในช่องว่างระหว่างเซลล์โดยเข้ามาแทนที่ก๊าซที่ถูกดูดออกไปใน รูพรุนของชิ้นมันฝรั่งได้มากกว่าการล้างในสภาวะปกติที่ระยะเวลาการล้างเท่ากันทำให้ช่วยยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลเนื่องจากเอนไซม์ได้มาก

ขึ้น [21] จากการศึกษาที่ผ่านมาจากหลายงานวิจัยจะเห็นได้ว่าการใช้กรดอินทรีย์ในสภาวะการล้างปกติช่วยลดจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนบนผิวตัดแต่งได้บางส่วน แต่เมื่อประยุกต์ใช้วิธีการแทรกซึมภายใต้สุญญากาศร่วมด้วยจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการล้างเพื่อลดจุลินทรีย์ที่ติดอยู่บริเวณรูพรุน ผิวขรุขระ รอยแตกหรือร่องหลุมของผักตัดแต่งและปรับปรุงคุณภาพด้านสีของผักผลไม้ตัดแต่งได้ อย่างไรก็ตามการศึกษาผลของการล้างด้วยกรดซิตริกร่วมกับวิธีการแทรกซึมภายใต้สุญญากาศต่อคุณภาพแครอทตัดแต่งยังมีข้อมูลจำกัด ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาผลของการแทรกซึมภายใต้สุญญากาศในขั้นตอนการล้างเพื่อลดจำนวน *E. coli* และการเปลี่ยนแปลงจำนวน *E. coli* บนแครอทตัดแต่งระหว่างการเก็บรักษา รวมทั้งศึกษาคุณภาพของแครอทตัดแต่งหลังจากการล้าง

2. วิธีการดำเนินการวิจัย

2.1 การเตรียมจุลินทรีย์

จุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบในงานวิจัยนี้ คือ *Escherichia coli* TISTR 074 (จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย) นำ *E. coli* ที่อยู่ในรูปผงแห้งแบบแช่เยือกแข็งทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic soy broth บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปแยกโคโลนีเดี่ยวและเพิ่มจำนวนในอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic soy agar จากนั้นเตรียมเป็นสารแขวนลอยโดยใช้สารละลายเพบโตน (peptone) ร้อยละ 0.1 และปรับความเข้มข้นของเชื้อเริ่มต้นให้ได้ตามที่ต้องการในแต่ละการทดลอง (ในการดำเนินการวิจัยข้อที่ 2.2 เตรียมความเข้มข้นของเชื้อประมาณ 8-9 log CFU/ml และในการดำเนินการวิจัยข้อที่ 2.3 เตรียมความเข้มข้นของเชื้อประมาณ 4-5 log CFU/ml) [20]

2.2 การทดสอบผลของสภาวะและเวลาในการล้างต่อการลดจำนวน *E. coli* และคุณภาพของแครอทตัดแต่ง

2.2.1 การเพาะเชื้อ* E. coli *ลงบนแครอทตัดแต่ง

ทำการปอกเปลือกแครอทและหั่นแครอทให้เป็นแว่นหนา 0.5 เซนติเมตร ล้างด้วยน้ำยาล้างผักเพื่อเป็น การลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ติดมากับแครอท ทำการสะเด็ดน้ำ จากนั้นแบ่งแครอทตัดแต่งออกเป็น 9 กลุ่มการทดลอง โดยชั่งน้ำหนักแครอทตัดแต่งในถุงปลอดเชื้อกลุ่มละ 25 กรัม แต่ละกลุ่มการทดลองนำมาจำลองการปนเปื้อนเชื้อ *E. coli* ด้วยการแช่ในสารแขวนลอยเชื้อ *E. coli* ที่มีความเข้มข้นประมาณ 8-9 log CFU/ml ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 นาที จากนั้นนำมาวางบนตะแกรงในตู้ปลอดเชื้อ เป็นเวลา 4 ชั่วโมงเพื่อให้เซลล์จุลินทรีย์เกาะติดบนแครอทและนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป [20]

2.2.2 การทดสอบที่สภาวะการล้างต่างๆ

นำแครอทตัดแต่งที่ผ่านการเพาะเชื้อ *E. coli* ดังขั้นตอน 2.2.1 (จำนวน *E. coli* ที่เกาะติดบนแครอทประมาณ 7 log CFU/g) มาทำการทดสอบการล้างในสารละลายกรดซิตริกความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปริมาตร 300 มิลลิลิตร ทำการทดสอบการล้างที่สภาวะการล้างต่างกัน (สภาวะปกติและสภาวะแทรกซึมภายใต้สุญญากาศ 150 มิลลิบาร์) และเวลาต่างกัน (5, 10, 15 และ 20 นาที) เทียบกับกลุ่มควบคุม (ไม่ผ่านการล้าง) รวมเป็น 9 กลุ่มการทดลอง เมื่อครบกำหนดตามเวลาล้าง ทำการเทสารละลายกรดซิตริกออกวางบนตะแกรงในตู้ปลอดเชื้อเพื่อสะเด็ดน้ำ เป็นเวลา 10 นาที นำตัวอย่างแครอทตัดแต่งไปวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป

2.2.3 การตรวจวิเคราะห์จำนวน* E. coli *ที่เหลือรอดในแครอทตัดแต่ง

นำแครอทตัดแต่งที่ผ่านการล้างด้วยสภาวะต่างๆ และกลุ่มควบคุมที่ไม่ผ่านการล้าง น้ำหนัก 25 กรัม ทำการเจือจางตัวอย่างแครอท 25 กรัม ด้วยสารละลายเพบโตน ร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร แล้วนำ

ไปเพาะเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Eosin methylene blue agar (EMB) ด้วยเทคนิค pour plate บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำการตรวจนับจำนวนโคโลนีและคำนวณปริมาณเชื้อในหน่วย CFU/g [22]

2.2.4 การวิเคราะห์คุณภาพของแครอทตัดแต่ง

ทำการวัดค่าสีของแครอทตัดแต่งด้วยเครื่อง color reader รุ่น CR-10 (Minolta, Japan) วิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ รายงานค่าสีในระบบ CIE L*, a* และ b* และคำนวณค่าดัชนีความขาว (whiteness index; WI) ดังสมการ [3]

$$WI = 100 - [(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]^{0.5}$$

ทำการวัดค่า pH และปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ จากการเตรียมตัวอย่างแครอทตัดแต่ง 10 กรัม เติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 50 มิลลิลิตร ปั่นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 [23] นำตัวอย่าง ส่วนที่กรองได้มาทำการวัดค่า pH ด้วยเครื่อง pH meter ส่วนการวิเคราะห์ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ ตามวิธีมาตรฐานของ AOAC (2000) คำนวณหาปริมาณกรดเป็นร้อยละในรูปกรดซิตริก วิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ทำการวัดเนื้อสัมผัสของแครอทตัดแต่งด้วยเครื่อง Texture Analyzer รุ่น TA- XT plus (Surry, England) ใช้หัววัดใบมีดตัดรหัส HDP/BSK เป็นระยะทาง 20 มิลลิเมตร ที่อัตราเร็ว 2 มิลลิเมตร/วินาที ทำการวัดค่าแรงตัดซึ่งเป็น การวัดค่าแรงที่ทำให้ตัวอย่างขาดจากกัน รายงานเป็นค่าแรงตัดสูงสุดซึ่งบ่งบอกถึงความแข็ง (hardness) วิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ [23]

2.3 การทดสอบประสิทธิภาพการล้างด้วยกรดซิตริกในสภาวะต่างกันต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณ *E. coli* ระหว่างการเก็บรักษา

ทำการคัดเลือกสภาวะและเวลาในการล้างที่เหมาะสมต่อคุณภาพของแครอทตัดแต่งและการลดปริมาณ *E. coli* (สภาวะการล้างในบรรยากาศปกติ เป็นเวลา 15 นาที และสภาวะแทรกซึมภายใต้สุญญากาศ เป็นเวลา 5 นาที) นำมาทดสอบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ไม่ผ่านการล้าง) ทำการทดสอบโดยแบ่งแครอทตัดแต่งออกเป็น 3 กลุ่มการทดลอง ทำการเพาะเชื้อ *E. coli* ลงบนแครอทตัดแต่ง เช่นเดียวกันกับขั้นตอนที่ 2.2.1 แต่ใช้สารแขวนลอยเชื้อ *E. coli* ที่มีความเข้มข้นประมาณ 4-5 log CFU/ml (จำนวนเชื้อ *E. coli* ที่เกาะติดในแครอทตัดแต่งประมาณ 3 log CFU/g) นำมาทดสอบการล้างทั้ง 3 กลุ่ม การทดลองตามสภาวะและเวลาที่กำหนด จากนั้นนำตัวอย่างแครอทตัดแต่งที่ได้ทั้ง 3 กลุ่มการทดลองไปวิเคราะห์จำนวน *E. coli* ที่เหลือรอดในแครอทตัดแต่งระหว่างการเก็บรักษา และทดสอบการเกาะติดของ *E. coli* บนแครอทหลังการล้าง

การตรวจวิเคราะห์จำนวน *E. coli* ที่เหลือรอดในแครอทตัดแต่งระหว่างการเก็บรักษา นำตัวอย่างแครอทตัดแต่งที่ได้จากทั้ง 3 กลุ่มการทดลอง ทำการบรรจุลงในถาดโฟมชนิดโพลีสไตรีน ขนาด 9.5 x 15.9 x 2 เซนติเมตร แล้วทำการห่อหุ้มด้วยแผ่นพลาสติกใสชนิดโพลีไวนิลคลอไรด์ ทำการเก็บรักษาที่ 4±1 องศาเซลเซียส นำมาวิเคราะห์จำนวน *E. coli* ที่เหลือรอดในแครอทตัดแต่งระหว่างการเก็บรักษา 0, 2, 4 และ 6 วัน ทำการตรวจนับจำนวน *E. coli* ตามขั้นตอนข้อที่ 2.2.3

การทดสอบการเกาะติดของ *E. coli* บนแครอทหลังการล้าง ทำการเตรียมตัวอย่างด้วยการนำชิ้นแครอทมาตัดให้ได้ขนาด 2 x 2 x 0.1 เซนติเมตร เริ่มด้วยทำการแช่ชิ้นแครอทลงในสารละลายกลูตาราลดีไฮด์ (glutaraldehyde) ความเข้มข้น ร้อยละ 2.5 โดยปริมาตรต่อปริมาตร เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และทำการล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 3 ครั้ง จากนั้นทำให้แห้ง ด้วยสารละลายเอทานอลที่ทำแปรระดับความเข้มข้นเพิ่มขึ้นอย่างเป็นลำดับ (ร้อยละ 20, 40, 60, 80 และ 100) ที่ความเข้มข้นละ 10 นาที เก็บตัวอย่างไว้ในกล่องที่พลาสติกบรรจุซิลิกาเจลเพื่อเป็นการดูดความชื้นออกจากตัวอย่าง นำตัวอย่างที่ได้วางบนแท่นสแตนเลสที่ติดด้วยเทปกาวคาร์บอน นำไปเคลือบด้วยผงทอง จากนั้นนำไปส่องด้วย กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (JEOL, Japan) [24]

2.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลจากการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ ทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลทางเดียว (one way ANOVA) ด้วยโปรแกรม SPSS version 16.0 เปรียบเทียบข้อมูลความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple's Rage Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Part 1 Effects of washing conditions and time on reduction of *E. coli* and quality of fresh-cut carrot

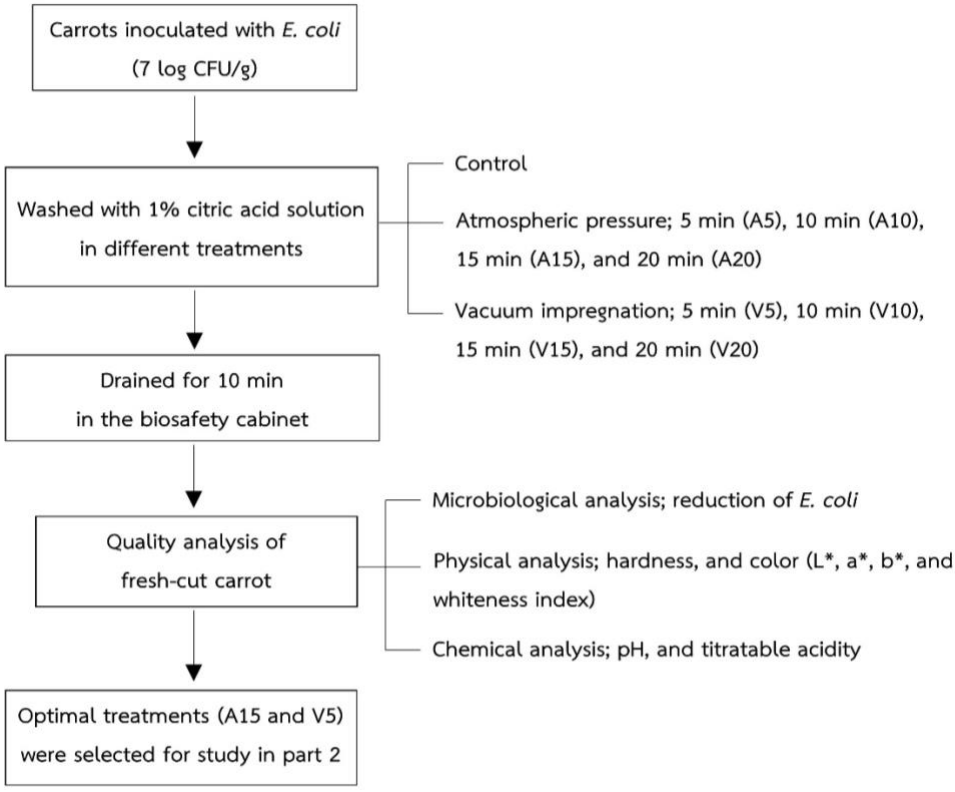

Figure 1 Flow diagram of methods

Part 2 Efficacy of washing conditions on *E. coli* on fresh-cut carrot during storage

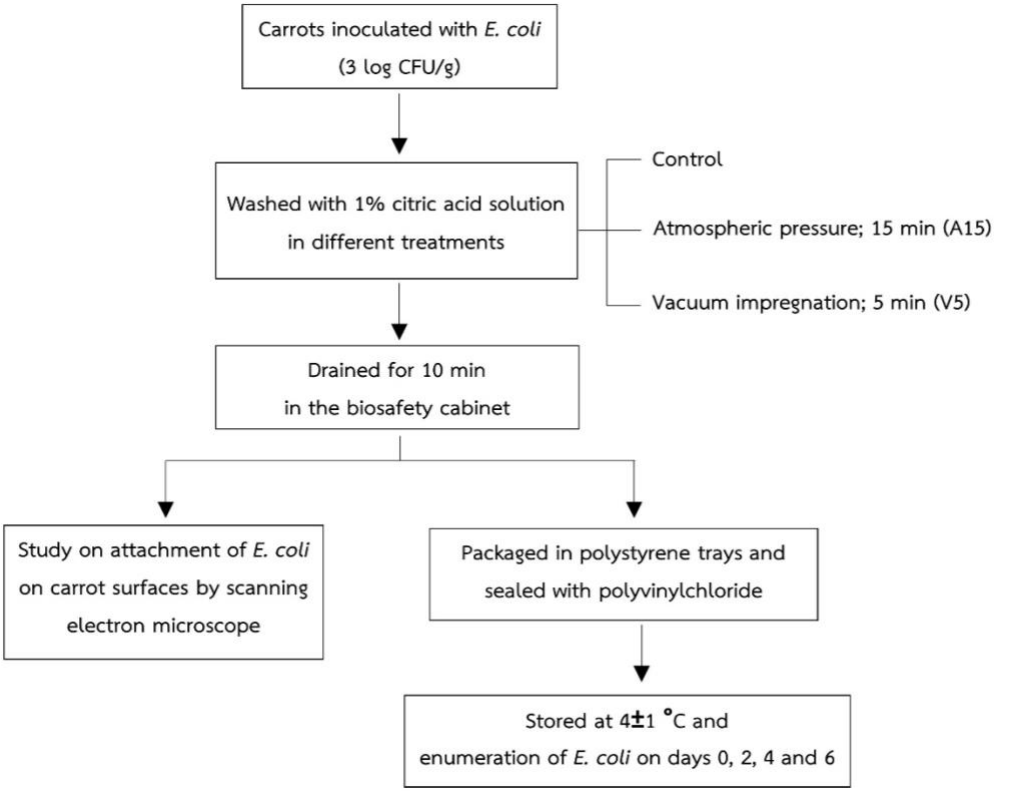

Figure 1 Flow diagram of methods (continued)

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการวิจัย

3.1 ผลของสภาวะและเวลาในการล้างต่อการลดจำนวน *E. coli* และคุณภาพของแครอทตัดแต่ง

3.1.1 การลดลงของจำนวน E. coli

การศึกษาอิทธิพลร่วมของสภาวะการล้างด้วยกรดซิตริก (สภาวะปกติ และสภาวะแทรกซึมภายใต้สุญญากาศ) และระยะเวลาในการล้าง (5, 10, 15 หรือ 20 นาที) ต่อการลดจำนวน *E. coli* ในแครอทสดตัดแต่ง (เชื้อเริ่มต้นที่เกาะติดบนผิวแครอท ประมาณ 7 log CFU/g) (Table 1) พบว่า มีอิทธิพลร่วมระหว่างสภาวะการล้างและระยะเวลาที่ใช้ในการล้างต่อ การลดจำนวนเชื้อ *E. coli* ($p<0.05$) การลดลงของจำนวนเชื้อ *E. coli* บนแครอทที่ผ่านการล้างทั้ง 2 สภาวะมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาการล้างที่นานขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อพิจารณาระยะเวลาในการล้างเท่ากัน พบว่า แครอทที่ผ่านการล้างในสภาวะแทรกซึมภายใต้สุญญากาศมีการลดลงของปริมาณ *E. coli* สูงกว่าการล้างในสภาวะปกติ ($p<0.05$) ซึ่งการล้างในสภาวะปกติเป็นเวลา 15 นาที และการล้างในสภาวะแทรกซึมภายใต้สุญญากาศ เป็นเวลา 5 นาที มีผลต่อการลดลงของจำนวนเชื้อ *E. coli* บนแครอทไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p\geq0.05$) ซึ่งมีจำนวนเชื้อลดลงประมาณ 3.28-3.33 log CFU/g แสดงให้เห็นว่าเมื่อเทียบประสิทธิภาพในการลดจำนวน *E. coli* บนแครอทตัดแต่งเท่ากัน การล้างในสภาวะแทรกซึมภายใต้สุญญากาศใช้เวลาในการล้างสั้นกว่าการล้างในสภาวะปกติ

Table 1 Effect of washing conditions and treatment times in citric acid solution on Log (CFU/g) reduction level of *Escherichia coli* on the fresh-cut carrot.

Conditions	Treatment time (min)	Log (CFU/g) reduction
Atmospheric pressure	5	1.09±0.06[E]
	10	2.23±0.04[D]
	15	3.28±0.05[C]
	20	3.25±0.07[C]
Vacuum impregnation	5	3.33±0.02[C]
	10	3.89±0.05[B]
	15	5.12±0.02[A]
	20	5.14±0.03[A]

[a]Mean values ± standard deviations from three replications. [A-E]Means with the different uppercase letter in the same column are significantly different ($p<0.05$).

โดยส่วนใหญ่ภายในเซลล์จุลินทรีย์มีค่า pH เป็นกลางซึ่งเป็น pH ที่เหมาะสำหรับเมตาบอลิซึม (metabolism) โดยบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์จะไม่ยอมให้ H^+ และ OH^- ผ่านเข้าออกแต่จะมีกลไกปั๊ม H+ ออกนอกเซลล์ เมื่ออยู่ในสภาวะที่มีค่า pH สูงหรือต่ำกว่าค่าที่จุลินทรีย์เจริญได้มากๆ สารชีวโมเลกุลที่เยื่อหุ้มเซลล์จะถูกทำลาย ทำให้กลไกการคัดเลือก สารผ่านเข้า-ออกเซลล์ของเยื่อหุ้มเซลล์เสียไป จึงเกิดการซึมผ่านของ H^+ และ OH^- เข้าสู่เซลล์ได้ ทำให้ภายในเซลล์จุลินทรีย์มีสภาวะความเป็นกรดมากขึ้นและต้องการพลังงานมากขึ้นในการขับ H^+ ออกมา รวมทั้ง H^+ ที่ถูกปลดปล่อยออกมาจะไปรบกวนการสังเคราะห์สารพันธุกรรมส่งผลให้เซลล์จุลินทรีย์บาดเจ็บและตายได้ [12] ในผักและผลไม้ตัดแต่งจะมีช่องว่างระหว่างเซลล์และมีร่องรอยจากการตัดแต่งที่จุลินทรีย์สามารถเข้าไปเกาะติดซึ่งปกป้องจุลินทรีย์จากกรดอินทรีย์ได้ การล้างในสภาวะปกตินั้นสารละลายกรดอินทรีย์มีการเคลื่อนที่ของสารเข้ามาภายในช่องว่างระหว่างเซลล์ผักและผลไม้อย่างช้าๆ แต่การล้างในสภาวะสุญญากาศนั้นก๊าซที่อยู่ในช่องว่างระหว่างเซลล์ผักและผลไม้จะถูกดูดออกมาพร้อมกับการดูดอากาศ เมื่อหยุดการใช้สภาวะสุญญากาศสารละลายกรดอินทรีย์ จะแพร่ผ่านเข้ามาในช่องว่างระหว่างเซลล์โดยเข้ามาแทนที่ก๊าซที่ถูกดูดออกไปทำให้สารละลายกรดอินทรีย์แทรกซึมเข้าไปในเซลล์ผักและผลไม้ได้มากขึ้น ดังนั้นการล้างในสภาวะแทรกซึมภายใต้สุญญากาศจึงสามารถลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ได้มากกว่าการล้างในสภาวะปกติ [17, 20] ผลการวิจัยในครั้งนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kang และคณะ (2017) ที่ทำการศึกษาประสิทธิภาพการล้างด้วยกรดมาลิกในสภาวะแทรกซึมภายใต้สุญญากาศเทียบกับสภาวะปกติในการลดจำนวน *Salmonella Typhimurium, E. coli* O157:H7 และ *Listeria monocytogenes* ในผักและผลไม้ตัดแต่ง คือ พริก แครอท และเมล่อน พบว่า การล้างในสภาวะแทรกซึมภายใต้สุญญากาศมีผลต่อการลดจำนวนจุลินทรีย์ในผักและผลไม้ตัดแต่งมากกว่าการล้างในสภาวะปกติ [20]

3.1.2 ค่าสี

โดยทั่วไปแครอทที่ผ่านการตัดแต่งมักเกิดสีขาวที่บริเวณผิวของแครอทซึ่งทำให้การยอมรับของผู้บริโภคลดลง ดังนั้นควรเลือกวิธีการล้างที่ช่วยลดการเกิดสีขาวบนผิวแครอท เพื่อปรับปรุงคุณภาพของแครอทตัดแต่ง [3] จากผลการทดลอง Table 2 พบว่า มีอิทธิพลร่วมระหว่างสภาวะการล้างด้วยกรดซิตริก และระยะเวลาที่ใช้ในการล้างต่อค่าสี L*, a*, b* และ ค่าดัชนีความขาวของแครอทตัดแต่ง ($p<0.05$) โดยแครอทตัดแต่งที่ผ่านการล้างทั้ง 2 สภาวะ มีค่าสี L* น้อยกว่า กลุ่มควบคุม (ไม่ผ่านการล้าง) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อพิจารณาระยะเวลาในการล้างเท่ากัน พบว่า การล้างในสภาวะแทรกซึมภายใต้สุญญากาศมีผลทำให้ค่าสี L* ของแครอทมีค่าน้อยกว่าการล้างในสภาวะปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ค่าสี L* ของแครอทที่ลดลงแสดงให้เห็นว่ามีความสว่างน้อยลง นอกจากนี้แครอทที่ผ่านการล้างทั้ง 2 สภาวะมีค่าสี a* และ b* มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) การล้างในสภาวะปกติเป็นระยะเวลามากขึ้นไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าสี a* และ b* ของแครอท ($p>0.05$) แต่แครอทที่ผ่านการล้างในสภาวะแทรกซึมภายใต้สุญญากาศเป็นระยะเวลา 15 และ 20 นาที มีค่าสี a* และ b* มากกว่าการล้างเป็นเวลา 5 และ 10 นาที ($p<0.05$) ค่าสี a* และ b* ของ แครอทที่เพิ่มขึ้นแสดงให้เห็นว่ามีค่าสีแดงและเหลืองมากขึ้น สำหรับค่าดัชนีความขาวของแครอทที่ผ่านการล้างทั้ง 2 สภาวะ มีค่าน้อยกว่ากลุ่มควบคุม ($p<0.05$) เมื่อเปรียบการล้างทั้ง 2 สภาวะ พบว่า การล้างในสภาวะแทรกซึมภายใต้สุญญากาศมีผลทำให้ค่าดัชนีความขาวของแครอทน้อยกว่าการล้างในสภาวะปกติ ($p<0.05$) นอกจากนี้ค่าดัชนีความขาวของแครอทที่ผ่านการล้างทั้ง 2 สภาวะมีแนวโน้มลดลงตามระยะเวลาการล้างที่นานขึ้น ($p<0.05$)

การตัดแต่งแครอททำให้เกิดบาดแผลที่เนื้อเยื่อพืชเกิดการเร่งการทำงานของเอนไซม์ฟีนิลอลานีนแอมโมเนียไลเอส (phenylalanine ammonia-lyase) ทำให้ระดับของสารประกอบฟีนอลเพิ่มขึ้น รวมทั้งกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ เพอร์ออกซิเดส (peroxidase) ซึ่งเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดนี้มีความเกี่ยวข้องกับการสร้างลิกนินที่ทำให้เกิดสีขาวบนผิวแครอท ซึ่งกรดซิตริกมีคุณสมบัติในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าว [25] จากผลการวิจัยในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการล้างด้วยกรดซิตริกมีผลทำให้ค่าสี L* และค่าดัชนีความขาวของแครอทลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ผ่านการล้าง เนื่องจากการเกิดสีขาวที่ผิวของแครอทลดลงรวมทั้งมีสีที่สดใสขึ้นสอดคล้องกับค่าสี a* และ b* ที่เพิ่มขึ้น นอกจากนี้การล้างในสภาวะแทรกซึมภายใต้สุญญากาศมีผลทำให้แครอทมีการเกิดสีขาวลดลงและสีสดใสขึ้นเมื่อเทียบกับการล้างในสภาวะปกติ [Figure 2] เป็นไปได้ว่า มีการแทรกซึมผ่านของกรดซิตริกเข้าไปในเนื่อเยื่อและช่องว่างระหว่างเซลล์ของแครอทได้มากขึ้นอาจมีผลทำให้ยับยั้ง การทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างลิกนินที่เกิดการก่อตัวเป็นสีขาวบนผิวแครอท รวมทั้งการล้างในสภาวะแทรกซึมภายใต้สุญญากาศเกิดการแลกเปลี่ยนของสารละลายกรดซิตริกแพร่ผ่านเข้ามาในช่องว่างระหว่างเซลล์โดยเข้ามาแทนที่ก๊าซ ที่ถูกดูดออกไปในรูพรุนของชิ้นแครอทส่งผลให้บริเวณเนื้อเยื่อของพืชมีค่าดัชนีการหักเหของแสงที่เป็นเนื้อเดียวกันมากขึ้น ทำให้เกิดการดูดซับแสงสว่างมากขึ้น จึงสะท้อนเป็นค่าความสว่างที่ลดลง [26] แคโรทีนอยด์ (carotenoid) เป็นรงควัตถุที่ให้ สีส้มในแครอท การล้างในสภาวะสุญญากาศเป็นการกำจัดก๊าซบางส่วนออกไปจากรูพรุนของเนื้อเยื่อพืชมีผลทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของแคโรทีนอยด์น้อยลงจึงทำให้แครอทมีสีส้มแดงที่มากกว่าเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ล้างในสภาวะปกติ [27]

Table 2 Effect of washing condition and treatment time in citric acid solution on color parameters of the fresh-cut carrot.

Conditions	Treatment time (min)	Quality values[a]			
		L*	a*	b*	Whiteness index
Control	-	46.53±0.70^{A}	20.53±0.30^{D}	15.66±0.25^{D}	40.62±0.50^{A}
Atmospheric pressure	5	38.56±0.50^{B}	25.53±0.25^{C}	18.56±0.32^{C}	30.93±0.30^{BC}
	10	38.80±0.43^{B}	25.50±0.26^{C}	18.66±0.15^{C}	31.12±0.41^{B}
	15	38.40±0.26^{B}	25.90±0.20^{C}	18.70±0.10^{C}	30.61±0.19^{BC}
	20	38.10±0.79^{B}	25.83±0.25^{C}	18.60±0.10^{C}	30.39±0.67^{C}
Vacuum impregnation	5	35.33±0.25^{C}	28.16±0.35^{B}	21.46±0.25^{B}	26.27±0.32^{D}
	10	34.96±0.15^{C}	28.43±0.30^{B}	21.33±0.15^{B}	25.88±0.24^{D}
	15	33.16±0.35^{D}	30.56±0.32^{A}	23.53±0.25^{A}	22.83±0.35^{E}
	20	33.13±0.20^{D}	30.53±0.15^{A}	23.51±0.15^{A}	22.81±0.23^{E}

[a]Mean values ± standard deviations from three replications. $^{A-D}$Means with the different uppercase letter in the same column are significantly different ($p<0.05$).

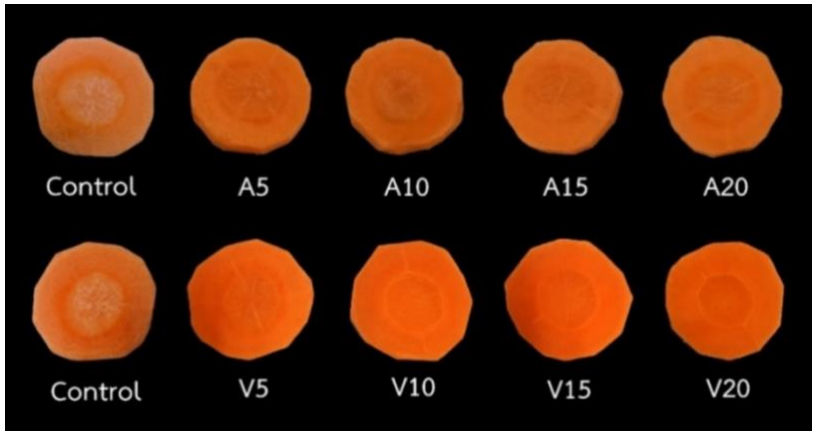

Figure 2 Effects of different washing methods in citric acid solution on visual appearance of the fresh-cut carrot. Control: untreated sample, A5: atmospheric pressure for 5 min, A10: atmospheric pressure for 10 min, A15: atmospheric pressure for 15 min, A20: atmospheric pressure for 20 min, V5: vacuum impregnation for 5 min, V10: vacuum impregnation for 10 min, V15: vacuum impregnation for 15 min, and V20: vacuum impregnation for 20 min.

3.1.3 ค่า pH ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ และเนื้อสัมผัส

ค่า pH ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ และเนื้อสัมผัสเป็นพารามิเตอร์ที่มีผลต่อคุณภาพของแครอทตัดแต่ง การเปลี่ยนแปลงของค่า pH และปริมาณกรดที่ไทเทรตได้มีผลต่อรสชาติ ส่วนการเปลี่ยนแปลงของเนื้อสัมผัสด้านความแข็ง มีผลต่อความชอบด้านเนื้อสัมผัสของผู้บริโภค ดังนั้นควรเลือกวิธีการล้างที่มีผลทำให้ค่า pH ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ และ เนื้อสัมผัสใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุมมากที่สุด จากผลการทดลอง Table 3 พบว่า มีอิทธิพลร่วมระหว่างสภาวะการล้างด้วย กรดซิตริก และระยะเวลาที่ใช้ในการล้างต่อค่า pH ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ และค่าความแข็งของแครอทตัดแต่ง ($p<0.05$) โดยแครอทที่ผ่านการล้างในสภาวะปกติทุกระยะเวลาการล้างและแครอทที่ผ่านการล้างในสภาวะแทรกซึมภายใต้สุญญากาศ เป็นเวลา 5 นาที มีค่า pH และปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ไม่แตกต่างกัน ($p\geq0.05$) ส่วนการล้างในสภาวะแทรกซึมภายใต้สุญญากาศ เป็นเวลา 10, 15 และ 20 นาที พบว่า ค่า pH ของแครอทมีแนวโน้มลดลงและปริมาณกรดที่ไทเทรตได้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการล้างที่นานขึ้น ($p<0.05$) การเปลี่ยนแปลงของค่า pH เนื่องมาจากการแพร่ของ H^+ ในสารละลายกรดผ่านเนื้อเยื่อของพืช ซึ่งการล้างในสภาวะปกติ การแพร่ของ H^+ จะเกิดขึ้นอย่างช้าๆ แต่การล้างในสภาวะสุญญากาศนั้นก๊าซที่อยู่ในช่องว่างระหว่างเซลล์ผักและผลไม้จะถูกดูดออกมาพร้อมกับการดูดอากาศ เมื่อหยุดการใช้สภาวะสุญญากาศ H^+ ในสารละลายกรดจะแพร่ผ่านเข้ามาในช่องว่างระหว่างเซลล์โดยเข้ามาแทนที่ก๊าซที่ถูกดูดออกไปทำให้แทรกซึมเข้าไปในเซลล์พืชได้มากขึ้น [17] สอดคล้องกับงานวิจัยของ Derossi และคณะ (2010) รายงานว่าการแช่พริกชี้ฟ้าในสารละลายกรดแลคติกที่สภาวะแทรกซึมภายใต้สุญญากาศ (400 มิลลิบาร์ เป็นเวลา 20 นาที) มีผลทำให้การลดลงของค่า pH มากกว่าการแช่ในสภาวะปกติ [28]

ค่าความแข็งของแครอทที่ผ่านการล้างในสภาวะปกติทุกระยะเวลาการล้างและแครอทที่ผ่านการล้างในสภาวะแทรกซึมภายใต้สุญญากาศ เป็นเวลา 5 นาที มีค่าไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ($p\geq0.05$) ส่วนการล้างในสภาวะแทรกซึมภายใต้สุญญากาศ เป็นเวลา 10, 15 และ 20 นาที พบว่า ค่าความแข็งของแครอทมีแนวโน้มลดลงตามระยะเวลาการล้างที่นานขึ้น ($p<0.05$) เนื่องจากการแช่ในสภาวะสุญญากาศทำให้โครงสร้างภายในเซลล์พืชถูกบีบอัด ยุบตัวลง และผนังเซลล์มีความเป็น รูพรุน (porosity) เมื่อล้างในสภาวะสุญญากาศเป็นเวลามากขึ้นจึงมีผลทำให้เนื้อสัมผัสแครอทมีความแข็งน้อยลง [19, 28] รวมทั้งการใช้ความดันสุญญากาศมีผลทำให้เกิดการแลกเปลี่ยนของสารละลายกรดซิตริกแพร่ผ่านเข้ามาแทนที่อากาศที่ถูกดูดออกไปในเซลล์พืชได้มากขึ้น การเปลี่ยนแปลงนี้มีผลต่อความสมบูรณ์ของผนังเซลล์และความดันเต่งภายในเซลล์พืชทำให้ความยืดหยุ่นและความแข็งแรงของเซลล์พืชลดลง [29] แต่จากการศึกษาที่ผ่านมาของ Kang และคณะ (2017) รายงานว่าการล้างแครอทในสารละลายกรดมาลิคที่สภาวะแทรกซึมภายใต้สุญญากาศ (213 มิลลิบาร์ เป็นเวลา 20 นาที) ไม่มีผลต่อ การเปลี่ยนแปลงเนื้อสัมผัสของแครอทเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ผ่านการล้าง [20] อาจเป็นไปได้ว่าจากการศึกษาครั้งนี้ใช้ความดันสุญญากาศที่ 150 มิลลิบาร์ซึ่งต่ำกว่าการศึกษาดังกล่าว เมื่อทำการล้างในสภาวะสุญญากาศเป็นเวลามากขึ้นจึงส่งผลต่อ ค่าความแข็งที่ลดลงของแครอท เช่นเดียวกันกับการศึกษาของ Rongkom และคณะ (2013) ที่รายงานว่าการแช่ชิ้นแคนตาลูปและแอปเปิ้ลตัดแต่งในสารละลายกลูโคสที่สภาวะแทรกซึมภายใต้สุญญากาศที่ความดัน 100 มิลลิบาร์มีผลทำให้ค่าความแน่นเนื้อของแคนตาลูปและแอปเปิ้ลตัดแต่งมีค่าน้อยลงเมื่อเทียบกับการแช่ที่สภาวะแทรกซึมภายใต้สุญญากาศที่ความดันสูงกว่า (500 มิลลิบาร์) [30]

เมื่อพิจารณาจากการลดลงของ *E. coli* และคุณภาพของแครอทตัดแต่งหลังการล้างที่สภาวะและเวลาที่แตกต่างกันพบว่า การล้างในสภาวะแทรกซึมภายใต้

สุญญากาศ เป็นเวลา 15 และ 20 นาที มีการลดลงของ *E. coli* สูงที่สุด มีปริมาณลดลงประมาณ 5 log CFU/g (เชื้อเริ่มต้นที่เกาะติดบนผิวแครอท ประมาณ 7 log CFU/g) รองลงมา คือ การล้างในสภาวะแทรกซึมภายใต้สุญญากาศ เป็นเวลา 10 นาที (ลดลงประมาณ 3.8 log CFU/g) แต่อย่างไรก็ตามแครอทที่ผ่านการล้างทั้ง 3 กลุ่มการทดลองดังกล่าว (การล้างในสภาวะแทรกซึมภายใต้สุญญากาศ เป็นเวลา 10, 15 และ 20 นาที) มีผลทำให้เกิด การเปลี่ยนแปลงของคุณภาพของแครอทเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ได้แก่ ค่า pH ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ และค่าความแข็ง ดังนั้นจึงพิจารณากลุ่มการทดลองที่ลดจำนวน *E. coli* ได้ในปริมาณที่รองลงมา (ลดลง 3.28-3.33 log CFU/g) คือ การล้างในสภาวะแทรกซึมภายใต้สุญญากาศ เป็นเวลา 5 นาที การล้างในสภาวะปกติ เป็นเวลา 15 และ 20 นาที ซึ่งปริมาณ *E. coli* ที่ลดลงในแครอทหลังจากการล้างทั้ง 3 กลุ่มการทดลองนี้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p \geq 0.05$) นอกจากนี้แครอทที่ผ่าน การล้างทั้ง 3 กลุ่มการทดลองนี้ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ และค่าความแข็ง รวมทั้งยังปรับปรุงคุณภาพด้านสีให้มีค่าดัชนีความขาวลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ในการทดลองในขั้นตอนต่อไปจะทำการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพการล้างและการเปลี่ยนแปลงของปริมาณ *E. coli* ระหว่างการเก็บรักษาของแครอทตัดแต่งที่ผ่านการล้าง ทั้ง 2 สภาวะ (สภาวะปกติ และสภาวะแทรกซึมภายใต้สุญญากาศ) ดังนั้นจึงเลือกการล้าง 2 กลุ่มการทดลอง คือ การล้างในสภาวะแทรกซึมภายใต้สุญญากาศ เป็นเวลา 5 นาที และ การล้างในสภาวะปกติ เป็นเวลา 15 นาที (ใช้เวลาในการล้างน้อยกว่ากลุ่มการทดลองที่ล้างในสภาวะปกติ 20 นาที แต่แครอทตัดแต่งมีคุณภาพด้านสี ค่า pH ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ และค่าความแข็ง ไม่แตกต่างกันทางสถิติ)

Table 3 Effect of washing condition and treatment time in citric acid solution on hardness, titratable acidity, and pH of the fresh-cut carrot.

Conditions	Treatment time (min)	Quality values[a]		
		pH	Titratable acidity (%)	Hardness (g.force)
Control	-	6.23±0.01[A]	0.11±0.01[C]	9,431.58±81.79[A]
Atmospheric pressure	5	6.22±0.02[A]	0.11±0.01[C]	9,392.67±90.55[A]
	10	6.23±0.01[A]	0.11±0.01[C]	9,378.61±50.92[A]
	15	6.22±0.01[A]	0.12±0.01[C]	9,291.44±66.69[A]
	20	6.22±0.02[A]	0.12±0.01[C]	9,352.54±84.87[A]
Vacuum impregnation	5	6.23±0.01[A]	0.12±0.01[C]	9,369.81±94.67[A]
	10	5.91±0.01[B]	0.17±0.02[B]	9,028.77±32.97[B]
	15	5.80±0.02[B]	0.21±0.01[A]	8,845.74±93.81[C]
	20	5.75±0.05[C]	0.22±0.02[A]	7,762.09±98.49[D]

[a]Mean values ± standard deviations from three replications. [A-F]Means with the different uppercase letter in the same column are significantly different ($p<0.05$).

3.2 ประสิทธิภาพการล้างด้วยกรดซิตริกในสภาวะต่างกันต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณ *E. coli* ระหว่างการเก็บรักษา

การศึกษาประสิทธิภาพการล้างด้วยกรดซิตริก โดยแบ่งเป็น 3 กลุ่มการทดลอง คือ กลุ่มควบคุม (ไม่ผ่านการล้าง) การล้างในสภาวะปกติ เป็นเวลา 15 นาที และการล้างในสภาวะแทรกซึมภายใต้สุญญากาศ เป็นเวลา 5 นาที ต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณ *E. coli* ระหว่างการเก็บรักษา (เชื้อเริ่มต้นที่เกาะติดบนผิวแครอทประมาณ 3 log CFU/g) (Table 4) พบว่า ในวันที่ 0 (หลังจากการล้าง) แครอทที่ผ่านการล้างในทั้ง 2 สภาวะมีจำนวน *E. coli* น้อยกว่า 1 log CFU/g (ต่ำกว่าระดับที่ตรวจวิเคราะห์ได้) เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็นเป็นเวลา 2, 4 และ 6 วัน พบว่า แครอทกลุ่มที่ล้างในสภาวะปกติมีจำนวน *E. coli* ที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่นานขึ้น ($p<0.05$) เช่นเดียวกันกับกลุ่มควบคุม แต่แครอทที่ผ่านการล้างในสภาวะแทรกซึมภายใต้สุญญากาศ มีจำนวน *E. coli* น้อยกว่า 1 log CFU/g ตลอดการเก็บรักษาเป็นเวลา 6 วัน เมื่อนำแครอทหลังจากการล้างทั้ง 2 สภาวะ และกลุ่มควบคุมมาศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน แบบส่องกราด แสดงผลดัง Figure 3 พบว่า การเกาะติดของ *E. coli* บนแครอทที่ยังไม่ได้ผ่านการล้างจะมีการเกาะติด ทั่วบริเวณผิวหน้าของแครอททั้งบริเวณที่มีพื้นผิวเรียบและร่องขรุขระที่อยู่บนผิวแครอท เมื่อล้างด้วยกรดซิตริกในสภาวะปกติยังคงพบการเกาะติดของ *E. coli* อยู่บริเวณที่เป็นร่องขรุขระของผิวแครอทบางส่วน แต่การล้างในสภาวะแทรกซึมภายใต้สุญญากาศ ไม่พบการเกาะติดของ *E. coli* บนแครอท ในผักและผลไม้ตัดแต่งจะมีช่องว่างระหว่างเซลล์และมีร่องรอย จากการตัดแต่งที่จุลินทรีย์สามารถเข้าไปเกาะติดและสามารถปกป้องจุลินทรีย์จากกรดอินทรีย์ได้ การล้างในสภาวะปกตินั้นสารละลายกรดอินทรีย์มีการเคลื่อนที่ของสารเข้ามาภายในช่องว่างระหว่างเซลล์ผักและผลไม้ได้อย่างช้าๆ แต่การล้างในสภาวะสุญญากาศนั้นก๊าซที่อยู่ในช่องว่างระหว่างเซลล์ผักและผลไม้จะถูกดูดออกมาพร้อมกับการดูดอากาศ เมื่อหยุดการใช้สภาวะสุญญากาศ สารละลายกรดอินทรีย์จะแพร่ผ่านเข้ามาในช่องว่างระหว่างเซลล์โดยเข้ามาแทนที่ก๊าซที่ถูกดูดออกไป ทำให้สารละลายกรดอินทรีย์แทรกซึมเข้าไปในเซลล์ผักและผลไม้ได้มากขึ้น จุลินทรีย์ที่เกาะติดอยู่ที่บริเวณช่องว่างเซลล์และร่องหลุมได้สัมผัสกับสารละลายกรดอินทรีย์ได้มากขึ้น ดังนั้นจึงสามารถลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ได้มากกว่าการล้างในสภาวะปกติ [17, 20]

Table 4 Effects of different washing methods in citric acid solution on the number of *Escherichia coli* on fresh-cut carrot during storage.

	Storage (days)			
	0	2	4	6
Control	3.02 ± 0.10^{Ad}	3.49 ± 0.13^{Ac}	3.84 ± 0.06^{Ab}	4.08 ± 0.08^{Aa}
Atmospheric pressure 15 min	$<1^{Bd}$	1.30 ± 0.06^{Bc}	2.22 ± 0.11^{Ac}	2.33 ± 0.06^{Ac}
Vacuum impregnation 5 min	$<1^{Ba}$	$<1^{Ca}$	$<1^{Ca}$	$<1^{Ca}$

*Mean values ± standard deviations from three replications.

A-DMeans with the different uppercase letter in the same column are significantly different ($p<0.05$).

a-dMeans with the different lowercase letter in the same row are significantly different ($p<0.05$).

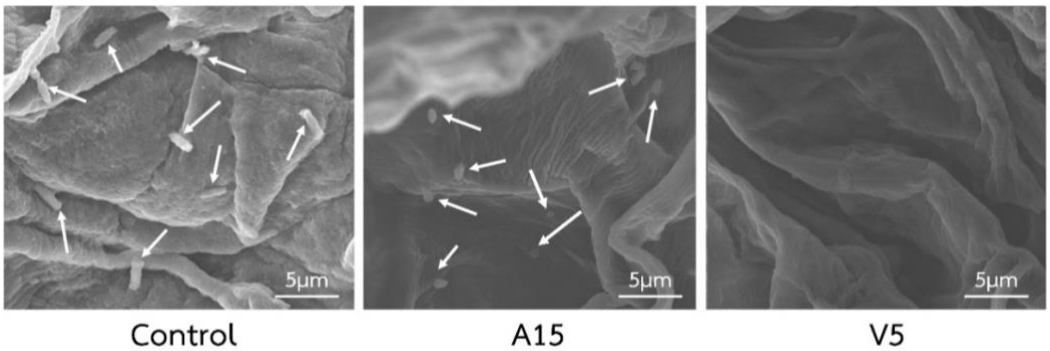

Figure 3 SEM images (Magnification: 4,000×) of fresh-cut carrot treated with simple washing (atmospheric pressure) and vacuum impregnation treatment in citric acid solution. Control: untreated sample, A15: atmospheric pressure for 15 min, and V5: vacuum impregnation for 5 min. Arrows indicate microbes attached to surfaces.

4. สรุปผลการวิจัย

การล้างแครอทด้วยสารละลายกรดซิตริกในสภาวะแทรกซึมสุญญากาศมีผลต่อการลดจำนวน *E. coli* ได้มากกว่า การล้างในสภาวะปกติที่ระยะเวลาการล้างเท่ากัน แต่การล้างในสภาวะแทรกซึมสุญญากาศเป็นเวลา 10, 15 และ 20 นาที มีผลทำให้แครอทมีค่า pH ลดลง ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้เพิ่มขึ้น และค่าความแข็งลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ผ่านการล้าง เนื่องจากการล้างในสภาวะแทรกซึมสุญญากาศเป็นเวลานานมากกว่า 5 นาทีมีผลทำให้เกิดการแลกเปลี่ยนของสารละลายกรดซิตริกแพร่ผ่านเข้ามาแทนที่อากาศที่ถูกดูดออกไปในเซลล์พืชได้มากขึ้นและทำให้ความแข็งแรงของผนังเซลล์พืชลดลงเมื่อเทียบกับการล้างในสภาวะปกติจึงทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ปริมาณกรด และค่าความแข็งของแครอทตัดแต่ง อย่างไรก็ตามการล้างด้วยกรดซิตริกทั้ง 2 สภาวะ ช่วยในการปรับปรุงคุณภาพด้านสีมีผลทำให้ค่าสี L* ลดลง ค่าสี a* และ b* เพิ่มขึ้น รวมทั้งค่าดัชนีความขาวลดลงจึงเกิดลักษณะปรากฏของแครอทที่มีสีสดใสขึ้น การล้างในสภาวะปกติ เป็นเวลา 15 นาที และการล้างในสภาวะแทรกซึมภายใต้สุญญากาศ เป็นเวลา 5 นาทีมีผลต่อการลดลงของ *E. coli* ที่มากที่สุด (ลดลงประมาณ 3 log CFU/g) โดยไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพของแครอทตัดแต่งเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม นอกจากนี้ในระหว่าง การเก็บรักษาเป็นเวลา 2-6 วัน พบว่า มีการเพิ่มจำนวนของ *E. coli* ในแครอทที่ล้างในสภาวะปกติเวลา 15 นาที มากกว่าการล้างในสภาวะแทรกซึมภายใต้สุญญากาศ เวลา 5 นาที เนื่องจากการล้างในสภาวะแทรกซึมภายใต้สุญญากาศช่วยลดจำนวน *E. coli* ที่เกาะติดบริเวณร่องหลุมบนผิวแครอทได้มากกว่าการล้างในสภาวะปกติ

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร และศูนย์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยาที่ให้ความอนุเคราะห์การใช้อุปกรณ์และเครื่องมือในการวิจัย

6. References

[1] Chen, C., Hu, W., Zhang, R., Jiang, A. and Liu, C., 2018, Effects of hydrogen sulfide on the surface whitening and physiological responses of fresh-cut carrots, J. Sci. Food Agric. 98: 4726-4732.

[2] Emmambux, N.M. and Minnaar, A., 2003, The effect of edible coatings and polymeric packaging films on the quality of minimally processed carrots, J. Sci. Food Agric. 83: 1065-1071.

[3] Bolin, H.R. and Huxsoll C.C., 1991, Control of minimally processed carrot (*Daucus carota*) surface discoloration caused by abrasion peeling, J. Food Sci. 56: 416-418.

[4] Barros, M. and Saltveit, M.E., 2013, Microbial growth in fresh-cut lettuce increases when wound-induced phenolic accumulation is suppressed, Postharvest Biol. Technol. 83: 34-39.

[5] Olsvik, O., Wasteson, Y., Lund, A. and Hornes, E., 1991, Pathogenic *Escherichia coli* found in food, Int. J. Food Microbiol. 12(1): 103-113.

[6] Lu, W., Kiene, L. and Levi, Y., 1999, Chlorine demand of biofilms in water distribution systems, Water Research. 33(3): 827-835.

[7] Carpi, M. and Zufall, C., 2003, GC analysis of trihalomethanes in drinking water - A rapid and direct quantitative method, Lc Gc N. Am. 21(1): 60-66.

[8] Marriott, N.G. and Gravani, R.B., 2006. Principles of food sanitation, 5th Ed., Springer, Boston, 413 p.

[9] Priecina, L. and Karklina D., 2018, Influence of steam treatment and drying on carrots composition and concentration of phenolics, organic acids and carotenoids, Proceedings of the Latvian Academy of Sciences Section B Natural Exact and Applied Sciences, 72(2): 103-112.

[10] Yusuf, E., Tkacz, K., Turkiewicz, I.P., Wojdylo, A. and Nowicka, P., 2021, Analysis of chemical compounds' content in different varieties of carrots, including qualification and quantification of sugars, organic acids, minerals, and bioactive compounds by UPLC, Eur. Food Res. Technol. 247: 3053-3062.

[11] Piscopo, A., Zappia, A., Princi, M.P., De Bruno, A., Araniti, F., Antonio, L., Abenavoli, M.R. and Poiana, M. 2019, Quality of shredded carrots minimally processed by different dipping solutions, J. Food Sci. Technol. 56: 2584-2593.

[12] Risley, C. R., Kornegay, E. T., Lindemann, M. D., and Weakland, S. M., 1991, Effects of organic acids with and without a microbial culture on performance and gastrointestinal tract measurements of weanling pigs, Anim. Feed Sci. Technol., 35(3-4): 259-270.

[13] In, Y. W., Kim, J. J., Kim, H. J. and Oh, S. W., 2013, Antimicrobial activities of acetic acid, citric acid and lactic acid against Shigella species, J. Food Saf. 33: 79-85.

[14] Sagong, H.-G., Lee, S.-Y., Chang, P.-S., Heu, S., Ryu, S., Choi, Y.-J. And Kang, D.-H., 2011, Combined effect of ultrasound and organic acids to reduce *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella Typhimurium*, and *Listeria monocytogenes* on organic fresh lettuce, Int. J. Food Microbiol. 145(1): 287-292.

[15] Chen, C., Hu, W., He, Y., Jiang, A. and Zhang, R., 2016, Effect of citric acid combined with UV-C on the quality of

fresh-cut apples, Postharvest Biol. Technol. 111: 126–131.

[16] Tantratian, S. and Balmuang, N., 2021, Enriched makiang (*Cleistocalyx nervosum* var. paniala) seed extract and citric acid to control pathogenic bacteria and color of fresh cut cantaloupe, LWT. 138: 110626.

[17] Yuenyongputtakal, W., 2013, Factors influencing on dewatering by osmotic dehydration of fruits and vegetables, Burapha Sci. J. 18(1): 226-233. (in Thai)

[18] Chiralt, A. and Fito, P., 2003, Transport mechanisms in osmotic dehydration: the role of the structure, Food Sci Technol Int. 9(3): 179-186.

[19] Fito, P., Chiralt, A., Barat, J.M., Andres, A., Javier, M.M. and Nuria, M.N., 2001, Vacuum impregnation for development of new dehydrated products, J. Food Eng. 49: 297-302.

[20] Kang, J.-W. and Kang, D.-H., 2017, Antimicrobial efficacy of vacuum impregnation washing with malic acid applied to whole paprika, carrots, king oyster mushrooms and muskmelons, Food Control. 82: 126-135.

[21] Zhao, W., Wang, Y., Ma, Y., Liang, H. and Zhao, X., 2022, Effect of vacuum impregnation on enzymatic browning of fresh-cut potatoes during refrigerated storage, Int. J. Food Sci. 57(2): 983-994.

[22] López-Gálvez, F., Gil, M. I., Truchado, P., Selma, M. V. and Allende, A., 2010, Cross-contamination of fresh-cut lettuce after a short-term exposure during pre-washing cannot be controlled after subsequent washing with chlorine dioxide or sodium hypochlorite, Food Microbiol. 27(2): 199-204.

[23] Mola, S., Uthairatanakij, A., Srilaong, V., Aiamla-or, S. and Jitareerat, P., 2016, Impacts of sodium chlorite combined with calcium chloride, and calcium ascorbate on microbial population, browning, and quality of fresh-cut rose apple, Agric. Nat. Resour. 50(5): 331-337.

[24] Kang, J.-W. and Kang, D.-H., 2016, Enhanced antimicrobial effect of organic acid washing against foodborne pathogens on broccoli by vacuum impregnation, Int. J. Food Microbiol. 217: 85-93.

[25] Howard, L. R., and Griffin, L. E., 1993, Lignin formation and surface discoloration of minimally processed carrot sticks, J. Food Sci. 58(5): 1065-1067.

[26] Chiralt, A. and Talens, P., 2005, Physical and chemical changes induced by osmotic dehydration in plant tissues, J. Food Eng. 67(1): 167–177.

[27] Boon, C. S., McClements, D. J., Weiss, J. and Decker, E. A., 2010, Factors influencing the chemical stability of carotenoids in foods, Crit Rev Food Sci Nutr. 50(6): 515-532.

[28] Derossi, A., De Pilli, T., and Severini, C., 2010, Reduction in the pH of vegetables by vacuum impregnation: A study on pepper, J. Food Eng. 99(1): 9-15.

[29] Xie, J. and Zhao, Y., 2003, Nutritional enrichment of fresh apple (*Royal Gala*) by vacuum impregnation, Int. J. Food Sci. Nutr. 54(5): 387-398.

[30] Rongkom, H., Phianmongkhol, A. and Wirjantoro, T.I., 2013, Physical properties of impregnated cantaloupe and apple affected by different pressure levels, Asian J. Agric. Food. Sci. 1(4): 163-171.