

การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมะนาวในการลดปริมาณ *Escherichia coli* และโคลิฟอร์มแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในผักกาดหอมเพื่อพัฒนาเป็นน้ำยาล้างผัก

ณัฐพงศ์ การถึง* สร้อยสุวรรณ อันทอง* อรุณศรี ว่องปฏิการ*

บทคัดย่อ

การบริโภคผักสดเสี่ยงต่อการติดเชื้อโรคที่มากับอาหาร (Foodborne Diseases) ผักกาดหอมเป็นผักที่นิยมนำมาบริโภคอย่างแพร่หลายในประเทศไทย งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการใช้น้ำมะนาว น้ำชาข้าว และต่างทับทิม ในการล้างผักกาดหอมเพื่อลดปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียที่ปนเปื้อนมากับผัก โดยการทดสอบเบื้องต้นนั้นจะทดสอบกับผักกาดหอม (*Lactuca sativa*) ที่มีการสร้างสภาวะปนเปื้อน (Artificial Inoculum) ด้วยเชื้อ *E. coli* โดยหาปริมาณเชื้อ *E. coli* หลังจากการแช่ผักกาดหอมในสารดังกล่าวข้างต้น จากนั้นนับจำนวนด้วยวิธี Spread Plate Technique บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Eosin Methylene Blue (EMB) Agar โดยใช้น้ำกลั่นปราศจากเชื้อเป็นตัวควบคุม จากการศึกษาพบว่า น้ำมะนาวมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อได้ดีที่สุด สามารถลดปริมาณเชื้อ *E. coli* ที่มาจากการสร้างสภาวะปนเปื้อนในผักกาดหอมได้มากกว่า

ต่างทับทิมได้อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ในขณะที่น้ำชาข้าวไม่มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อ *E. coli* ในผักกาดหอมเลย จากนั้นนำน้ำมะนาวที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน (2.5%, 5%, 10% และ 15%) มาทดสอบหาประสิทธิภาพในการลดปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียที่ปนเปื้อนจริงในผักกาดหอม พบว่า น้ำมะนาวที่ความเข้มข้น 15% มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียได้ดีที่สุดได้อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 99% รองลงมาคือน้ำมะนาวที่ความเข้มข้น 10%, 5% และ 2.5% ตามลำดับ ดังนั้นจึงน่าจะศึกษาเพื่อพัฒนา น้ำมะนาวเป็นน้ำยาล้างผักที่มีประสิทธิภาพต่อไป

คำสำคัญ: การทดสอบประสิทธิภาพ, น้ำมะนาว, ผักกาดหอม, การล้างผัก, *E. coli*, ต่างทับทิม, น้ำชาข้าว, โคลิฟอร์มแบคทีเรีย



บทนำ

ผักเป็นอาหารที่มีประโยชน์เป็นเพราะเป็นแหล่งวิตามินและเกลือแร่บางชนิด คนไทยนิยมบริโภคทั้งผักสดและผักที่นำมาปรุงให้สุกแล้ว โดยผักสดบางชนิดนั้นก็นิยมนำมาทำเป็นเครื่องเคียงรับประทานร่วมกับอาหารพื้นเมืองอื่น ๆ ทั้งยังใช้ในการตกแต่งบนจานอาหารเพื่อให้อาหารดูน่ารับประทานยิ่งขึ้น โดยเฉพาะผักกาดหอมนั้นมีการนำมาบริโภคสดและใช้ตกแต่งจานอาหารอย่างแพร่หลาย ซึ่งผักสดที่ได้จากการปลูกตามธรรมชาติอาจมีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ค่อนข้างสูง¹ อีกทั้งในปัจจุบันก็มีการรณรงค์ให้เกษตรกรนำปุ๋ยคอกที่ได้มาจากมูลสัตว์มาใช้ในการเพาะปลูก ดังนั้นอาจทำให้เชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในมูลสัตว์ตกค้างอยู่ในผักเหล่านี้ได้ มีรายงานจากสำนักมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติระบุว่าสินค้าพืชไทย เช่น ผักสวนครัวที่ส่งออกไปสหภาพยุโรปนั้นตรวจพบจุลินทรีย์ปนเปื้อนอย่างต่อเนื่องบ่อยครั้งโดยเฉพาะ *Salmonella* spp. และ *E. coli*² ซึ่งผักและผลไม้ส่งออกเหล่านี้โดยปกติมักต้องผ่านกรรมวิธีบางอย่างเพื่อให้มีคุณภาพผ่านเกณฑ์มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช. 9007-2548) รวมถึงเกณฑ์มาตรฐานของสินค้าเกษตรของประเทศที่นำเข้า ดังนั้นผักที่วางขายทั่วไปตามท้องตลาดที่ไม่ได้ผ่านขบวนการใดเลยย่อมเสี่ยงต่อการมีจุลินทรีย์ปนเปื้อนมากกว่า ซึ่งถ้าหากผักเหล่านี้ผ่านกระบวนการล้างที่ไม่สะอาดก็อาจจะมีเชื้อจุลินทรีย์หลงเหลืออยู่มาก และเมื่อนำผักเหล่านี้มารับประทานแบบดิบๆหรือนำมาตกแต่งจานอาหารก็อาจก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคได้ โดยอาจก่อให้เกิดการเจ็บป่วยโดยเฉพาะด้วยโรคระบบทางเดินอาหาร³ ซึ่งแม้กรณีอาหารที่ปรุงสุกแล้วยังพบว่า มีการปนเปื้อนของโคลิฟอร์มแบคทีเรียถึงร้อยละ 38 ของตัวอย่างทั้งหมดที่สุ่มเก็บมาจาก

ร้านอาหารและซุ้มขายอาหารในสถานศึกษาแห่งหนึ่ง⁴ ซึ่งโดยทั่วไปร้านอาหารและซุ้มขายอาหารเหล่านี้ได้ผ่านการคัดกรองแล้วในระดับหนึ่ง ดังนั้นสำหรับผักที่นำมารับประทานสดจริงยังต้องให้ความระมัดระวังมากยิ่งขึ้น

สำหรับผักที่รับประทานสดนั้นวิธีการกำจัดเชื้อโดยเฉพาะเชื้อก่อโรคในขั้นตอนการผลิตและจัดเก็บนั้นที่ใช้กันอย่างกว้างขวาง คือวิธีการทางเคมีเนื่องจากสะดวกและค่าใช้จ่ายน้อย⁵ ทั้งยังมีรายงานวิจัยว่าขั้นตอนการล้างนั้นเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อการลดปริมาณจุลินทรีย์ในผักสดที่มีการหั่น⁶ โดยสารเคมีที่ใช้ในการฆ่าเชื้อที่ผิวของอาหารที่ได้รับการรับรองจากองค์การอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกา ได้แก่ คลอรีน (Chlorine) คลอรีนไดออกไซด์ (Chlorine Dioxide) ไอโอดิฟอร์ม (Iodophors) Quaternary Ammonium Compounds และ Acid Anion อย่างไรก็ตามในอุตสาหกรรมอาหารนั้นนิยมใช้คลอรีนมากที่สุด⁵ สำหรับผักสดมักใช้การล้างด้วยคลอรีนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ตั้งแต่ 50-200 ppm โดยใช้ระยะเวลาในการล้างนาน 2 นาทีขึ้นไป² แต่การล้างด้วยคลอรีนนั้นประชาชนโดยทั่วไปอาจทำได้ไม่ถนัด ส่วนใหญ่ประชาชนมักล้างผักด้วยน้ำประปา ซึ่งน้ำประปาแต่ละที่ก็มีความสะอาดแตกต่างกัน มีงานวิจัยพบว่าการล้างผักด้วยน้ำที่ผ่านการทำให้ปราศจากเชื้อแล้วนาน 10 นาทีนั้นสามารถลดปริมาณเชื้อในผักกาดหอมที่ผ่านการสร้างสภาพปนเปื้อนเชื้อได้ประมาณ $1 \log_{10}$ CFU *E. coli* O157:H7/g⁷ นอกจากนี้ในบางครัวเรือนก็มีการใช้ต่างทาบทิ้ม (Potassium Permanganate) ในการล้างผัก ต่อมาก็มีการใช้ผลิตภัณฑ์น้ำยาล้างผัก แต่ส่วนใหญ่ผลิตภัณฑ์น้ำยาล้างผักเหล่านี้มักเน้นผลในเรื่องการลดสารตกค้างจำพวกยาฆ่าแมลงหรือสารเคมีอื่น ๆ มากกว่าการลดปริมาณเชื้อที่ปนเปื้อน

ซึ่งผลิตภัณฑ์น้ำยาล้างผักที่มีการระบุว่า สามารถลดปริมาณแบคทีเรียได้มักเป็นผลิตภัณฑ์นำเข้าจากต่างประเทศ มีราคาค่อนข้างสูง ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงทดสอบหาสารจากธรรมชาติที่หาได้ง่าย มีราคาไม่แพง และประชาชนทั่วไปสามารถหาและเตรียมได้เอง เช่น น้ำมะนาวและน้ำชาข้าว มาประยุกต์ใช้ในการล้างผัก แม้ว่าจะไม่มีรายงานเกี่ยวกับการใช้น้ำมะนาวในการล้างผัก แต่มีงานวิจัยพบว่า น้ำมะนาวมีฤทธิ์ในการลดปริมาณเชื้อได้และไม่มีอันตรายต่อมนุษย์⁸ ทั้งยังสามารถรับประทานได้ จึงน่าสนใจที่จะนำมาลองใช้ในการลดปริมาณเชื้อในผัก ส่วนน้ำชาข้าวนั้นก็ก็เป็นสิ่งที่หาได้ง่ายน่าจะมีทุกครัวเรือน จึงน่าจะศึกษาฤทธิ์ในการลดปริมาณเชื้อในผักของน้ำชาข้าวด้วย โดยทดสอบหาประสิทธิภาพในการลดปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียที่ปนเปื้อนมากับผัก เนื่องจากการใช้ปุ๋ยจากมูลสัตว์น่าจะทำให้ผักมีแนวโน้มที่จะมีการปนเปื้อนแบคทีเรียกลุ่มนี้ได้มาก เนื่องจากโคลิฟอร์มแบคทีเรียเป็นแบคทีเรียที่พบในอุจจาระ และมีแบคทีเรียหลายชนิดในกลุ่มนี้ที่เป็นเชื้อก่อโรค⁹ โดยช่วงต้นทำการทดสอบเปรียบเทียบกับการใช้ต่างทับทิม (ที่มีการนำมาใช้ล้างผักมานานแล้ว) ในการลดปริมาณเชื้อ *E. coli* ที่มาจากการสร้างสภาพปนเปื้อนในผักกาดหอม โดยเหตุที่เลือกเชื้อ *E. coli* นั้นเนื่องจาก *E. coli* เป็นแบคทีเรียในกลุ่มโคลิฟอร์มแบคทีเรียประเภทฟีคัลโคลิฟอร์ม (Fecal coliform) ซึ่งเป็นโคลิฟอร์มที่พบในอุจจาระของมนุษย์และสัตว์เลื้อยคืบ ใช้เป็นตัวชี้วัดชี้ลักษณะของอาหารและน้ำเมื่อได้สารทดสอบที่มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อได้มากที่สุด ก็จะนำมาทดสอบกับโคลิฟอร์มแบคทีเรียที่พบในผักจริง ๆ ซึ่งถ้าหากน้ำมะนาวหรือน้ำชาข้าวมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรีย

จริงก็สามารถพัฒนาเป็นน้ำยาล้างผักที่มีประสิทธิภาพได้ง่าย ทั้งยังปลอดภัยต่อผู้บริโภคอีกด้วย

วิธีการ

การเตรียมตัวอย่างผัก

คัดเลือกผักกาดหอมที่ซื้อจากตลาดในท้องถิ่น โดยเด็ดใบที่อยู่ด้านนอกออก 2-3 ใบ เลือกใช้ใบที่มีขนาดใบและความยาวของก้านใบใกล้เคียงกัน ล้างคราบดินออกด้วยน้ำประปา แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง ตัดให้เป็นสี่เหลี่ยมจตุรัสขนาด 5 × 5 เซนติเมตร ด้วยมีดที่ผ่านการฆ่าเชื้อ (น้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 0.55 ± 0.02 กรัม)

การเตรียมสารทดสอบ

น้ำชาข้าว: ชั่งข้าวสาร (ซึ่งซื้อจากซูเปอร์มาร์เก็ตในห้างสรรพสินค้าทั่วไป) มา 100 กรัม เติมน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อแล้วปริมาตร 200 มิลลิลิตร เทแยกข้าวสารออกไป

น้ำมะนาวความเข้มข้นร้อยละ 15: โดยนำมะนาวคั้นมะนาวที่ได้จากเกษตรกรโดยตรงมาล้างด้วยน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อ ผ่ามะนาวด้วยมีดที่ผ่านการฆ่าเชื้อและผู้คั้นสวมถุงมือ คั้นมะนาวให้ได้น้ำมะนาวปริมาตร 30 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรโดยการเติมน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วให้มีปริมาตร 200 มิลลิลิตร

ต่างทับทิม (บริษัทศกภัทร เทรดแอนด์เซอร์วิส จำกัด จังหวัดชลบุรี) ความเข้มข้น 200 ppm ปริมาตร 200 มิลลิลิตร

* ภาชนะรวมทั้งอุปกรณ์ที่ใช้ทุกชิ้นผ่านการทำให้ปราศจากเชื้อ



การเปรียบเทียบความสามารถสารทดสอบที่ใช้ ล้างผักในการลดปริมาณเชื้อ *E. coli*

- การเตรียมเชื้อ *E. coli*

ใช้วิธีการที่ปรับเปลี่ยนมาจากวิธีการของ
วรภาคาและคณะ¹⁰ โดยถ่ายเชื้อ *E. coli* (TISTR 780,
MERCEN) จากอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar
หรือ NA (Himedia) 1 ลูบ ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ
Nutrient Broth หรือ NB (Himedia) 10 มิลลิลิตร
นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
จากนั้นถ่ายเชื้อในทำนองเดียวกันอีก 2 ครั้ง ในวันที่ 3
จึงเปิดอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้อเจริญอยู่ปริมาตร
1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB 100 มิลลิลิตร
ที่บรรจุใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร
3 flask เพื่อให้ได้ปริมาตรรวม 300 มิลลิลิตร นำไป
บ่มที่อุณหภูมิ 35°C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง เพื่อใช้เป็น
เชื้อทดสอบในการสร้างสภาพปนเปื้อนในผักกาดหอม
(Artificial Inoculums)

- วิธีทดสอบ

ใช้วิธีการที่ปรับเปลี่ยนมาจากวิธีการของ
วรภาคาและคณะ¹⁰ โดยนำตัวอย่างผักกาดหอมที่ได้มา
จากการเตรียมในวิธีข้างต้นที่กล่าวมา แช่ในน้ำกลั่น
นาน 5 นาที ตั้งไว้ให้สะเด็ดน้ำปนตะแกรง 1 ชั่วโมง
จุ่มตัวอย่างผักกาดหอมในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB ที่มี
เชื้อ *E. coli* ที่เตรียมไว้จากวิธีข้างต้นนาน 2 นาที
สะเด็ดน้ำให้แห้งบนตะแกรงนาน 30 นาที แล้วนำ
ตัวอย่างผักกาดหอมแยกแช่ในสารทดสอบแต่ละชนิด
ได้แก่ น้ำกลั่น น้ำมะนาว น้ำซาวข้าวและด่างทับทิม
ปริมาตร 200 มิลลิลิตร โดยแช่ผักกาดหอมในสาร
ทดสอบเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นใช้ปากคีบที่ผ่านการ
ฆ่าเชื้อแล้วคีบผักกาดหอมนำมาผ่านน้ำกลั่น
ที่ปราศจากเชื้อ 1 ครั้ง เพื่อล้างสารทดสอบออก
ก่อนนำมาใส่ลงในหลอดทดลองที่มีน้ำเกลือโซเดียม

คลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 (น้ำหนัก/ปริมาตร)
เพื่อรักษาสภาพของเซลล์ไว้ไม่ให้ถูกทำลายจากแรงดัน
ออสโมติก แล้วนำมาตรวจนับจำนวน *E. coli* โดยใช้
วิธี Spread Plate Technique ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ
EMB Agar (Merck) โดยมีผักกาดหอมที่แช่ในน้ำกลั่น
ปราศจากเชื้อเป็นชุดควบคุม โดยวิเคราะห์ตัวอย่างละ
3 ซ้ำ

การเปรียบเทียบความสามารถสารทดสอบที่ใช้ ล้างผักที่ความเข้มข้นต่างกันในการลดปริมาณเชื้อ ที่ปนเปื้อนมากับผัก

ใช้วิธีการทดสอบเช่นเดียวกับการเปรียบเทียบ
ความสามารถสารทดสอบที่ใช้ล้างผักในการลดปริมาณ
เชื้อ *E. coli* เพียงแต่ไม่ต้องสร้างสภาพปนเปื้อนใน
ผักกาดหอมก่อนการล้างผักด้วยสารทดสอบ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ในการทดลองทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ซ้ำ
ทำการทดลอง 3 ครั้ง วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้
One-way ANOVA และ Paired t-test

ผลการทดลอง

จากการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมะนาว
น้ำซาวข้าวหรือด่างทับทิมในการลดปริมาณเชื้อ *E. coli*
จากการสร้างสภาพปนเปื้อนในผักกาดหอมเปรียบเทียบกับ
น้ำกลั่น พบว่า การล้างผักด้วยการแช่ในสารทดสอบ
ทั้งสามชนิดรวมทั้งน้ำกลั่น มีประสิทธิภาพในการลด
ปริมาณเชื้อ *E. coli* ในผักกาดหอมได้แตกต่างกัน
อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($\alpha = 0.05$)

น้ำมะนาวที่ความเข้มข้นร้อยละ 15 มีประสิทธิภาพ
ในการลดปริมาณเชื้อ *E. coli* ได้มากที่สุดโดยสามารถ
ลดปริมาณเชื้อ *E. coli* ได้มากกว่าด่างทับทิมและ

น้ำกลั่นได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01 น้ำมะนาวที่ความเข้มข้นร้อยละ 15 สามารถลดปริมาณเชื้อ *E. coli* ได้มากกว่าการล้างด้วยน้ำกลั่นถึง 0.79 \log_{10} CFU/g ในขณะที่ล้างด้วยน้ำกลั่นได้ประมาณ 0.56 \log_{10} CFU/g (ตารางที่ 1) ส่วนน้ำซาวข้าวนี้ไม่มีผลในการลดปริมาณเชื้อ *E. coli* ใดๆก็ตาม พบว่า น้ำมะนาวที่ความเข้มข้นร้อยละ 15 นี้ทำให้ผักมีสีซีดลง ดังนั้นในการทดสอบขั้นต่อไปจึงทำการทดสอบโดยใช้น้ำมะนาวที่ความเข้มข้นต่ำลงและเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อที่ปนเปื้อนมากับผักจริง ๆ โดยไม่มีการสร้างสภาพปนเปื้อนในผักและเน้นการตรวจสอบเชื้อโดยเฉพาะ โดยเฉพาะเชื้อในกลุ่มโคลิฟอร์มแบคทีเรีย ผลการทดสอบแสดงในตารางที่ 2

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมะนาวที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.5, 5, 10 และ 15 นั้นพบว่า น้ำมะนาวทุกความเข้มข้นสามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ในผักกาดหอมได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01 เมื่อเปรียบเทียบกับการล้างด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ น้ำมะนาวที่ความเข้มข้นร้อยละ 15 สามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ในผักกาดหอมได้มากกว่าน้ำมะนาวที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01 และน้ำมะนาวที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 สามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ในผักกาดหอมได้มากกว่าน้ำมะนาวที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ส่วนน้ำมะนาวที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 และ 2.5 นั้นสามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ในผักกาดหอมได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

Table 1 Efficiency of Lime Juice (15% v/v), Rice Washing Water and Potassium Permanganate Solution (200 ppm) as a Vegetable Washing Liquid on Reducing *Escherichia coli* Populations on Artificially Inoculated Lettuce.

Treatment (soaking in test material for 30 min)	<i>E. coli</i> (\log_{10} CFU/g)	
	Population	Mean reduction
Sterile distilled water (control)	6.74 ± 0.05	
Lime juice (15% v/v)	5.95 ± 0.12	0.79 ^a
Rice washing water	6.7 ± 0.06	0.04 ^b
Potassium permanganate solution (200 ppm)	6.18 ± 0.02	0.56 ^c

* Within the same column, means not followed by the same letter are significantly different ($P < 0.01$). Data is reported as \log CFU/g ± standard deviation.



Table 2 Efficacy of Lime Juice at Different Concentration on Reducing the Number of Coliform Bacteria Contaminated in Lettuce.

สารทดสอบ	ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ (\log_{10} CFU/g)	
	Population	Mean reduction
Sterile distilled water (control)	4.86 \pm 0.05	
Lime juice (2.5% v/v)	4.01 \pm 0.05	0.85 ^a
Lime juice (5% v/v)	3.8 \pm 0.13	1.06 ^a
Lime juice (10% v/v)	3.54 \pm 0.03	1.32 ^b
Lime juice (15% v/v)	2.97 \pm 0.13	1.89 ^b

* Within the same column, means not followed by the same letter are significantly different (P<0.01). Data is reported as log CFU/g \pm standard deviation.

อภิปรายผลการทดลอง

จากผลการทดลองน้ำมะนาวที่ความเข้มข้นร้อยละ 15 นี้มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อ *E. coli* มากกว่าการใช้คลอรีนไดออกไซด์ (10 mg/L นาน 10 นาที) เนื่องจากการใช้คลอรีนไดออกไซด์ (10 mg/L นาน 10 นาที) สามารถลดปริมาณเชื้อในผักกาดหอมที่มีการสร้างสภาพปนเปื้อน *E. coli* O157:H7 ได้ 0.54 log CFU/g เมื่อเทียบกับการล้างด้วย deionized water⁷ แต่น้ำมะนาวมีประสิทธิภาพน้อยกว่า สารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 50 ppm และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์ 200 ppm ซึ่งสามารถทำลาย *E. coli* (จากการสร้างสภาพปนเปื้อนในผักกาดหอม) ปริมาณ 4.36-4.57 \log_{10} CFU/mL ได้หมดภายใน 15 นาที¹⁰ อย่างไรก็ตาม แม้ น้ำมะนาวอาจมีประสิทธิภาพไม่มากเท่าสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 50 ppm และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์ 200 ppm แต่ก็สามารถลดปริมาณเชื้อ *E. coli* ได้มาก ทั้งยังเป็นสารที่ประชาชนสามารถเตรียมเองได้และไม่เป็นอันตรายต่อร่างกาย

ในการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมะนาวที่ความเข้มข้นต่างกันในการลดปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียที่ปนเปื้อนมากับผักกาดหอมจริง ๆ นั้น แม้ว่าการล้างด้วยน้ำมะนาวที่ความเข้มข้นตั้งแต่ร้อยละ 2.5-15 ไม่สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้หมดเช่นเดียวกับการล้างด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์ 200 ppm และสารผสมเปอร์รอกซีแอซิติกและไฮโดรเจนเปอร์รอกไซด์ซึ่งสามารถทำลายจุลินทรีย์ทั้งหมดในผักกาดหอมได้ภายใน 15 นาที ส่วนสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 50 ppm สามารถทำลายจุลินทรีย์ทั้งหมดในผักกาดหอมได้ภายใน 30 นาที¹⁰ แต่เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Chandra และคณะ¹¹ ที่พบว่า การล้างพริกหยวก (Green Pepper) ด้วย (i) สารละลายคลอรีน 100 ppm (ii) สารละลาย calcinated calcium ร้อยละ 0.5 ตามด้วยการล้างด้วย เอทานอล ร้อยละ 25 และ (iii) กรดซิตริก ร้อยละ 1 ตามด้วยการฉีดพ่นด้วยเอทานอล ร้อยละ 50 นั้นสามารถลดปริมาณ Aerobic Bacteria ได้ประมาณ 1.7, 1.6 และ 1.8 \log_{10} CFU/g ตามลำดับ

ในขณะที่การล้างด้วยน้ำประปานั้นสามารถลดปริมาณ Aerobic Bacteria ได้ประมาณ $0.2 \log_{10}$ CFU/g ดังนั้นแม้ในการทดลองครั้งนี้จะทดสอบเฉพาะโคลิฟอร์มแบคทีเรีย ก็สามารถเห็นได้ว่าการล้างน้ำมะนาวที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.5, 5, 10 และ 15 นั้นล้วนมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียได้มากกว่าการล้างด้วยน้ำประปาเพียงอย่างเดียว คือสามารถลดปริมาณแบคทีเรียได้ 0.85, 1.06, 1.32 และ $1.89 \log_{10}$ CFU/g และเมื่อเปรียบเทียบกับสารทดสอบทั้งสามชนิดในงานวิจัยของ Chandra และคณะ¹² และการใช้คลอรีนไดออกไซด์ (10 mg/L นาน 10 นาที) ในงานวิจัยของ Singh และคณะ⁷ แล้วน้ำมะนาวจึงน่าจะสามารถนำมาพัฒนาเป็นน้ำยาล้างผักได้เนื่องจากเป็นสารมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณแบคทีเรียที่ปนเปื้อนมากับผักได้มากอย่างมีนัยสำคัญ

สรุปผลการทดลอง

การล้างผักโดยการแช่ในน้ำมะนาวทุกความเข้มข้นประมาณ 30 นาที ล้วนมีประสิทธิภาพในการลดจำนวนโคลิฟอร์มแบคทีเรียมากกว่าการล้างผักด้วยน้ำประปา น้ำมะนาวที่ความเข้มข้นสูงมีประสิทธิภาพในการลดจำนวนโคลิฟอร์มแบคทีเรียมากกว่าน้ำมะนาวที่ความเข้มข้นต่ำ แม้การล้างผักโดยการแช่ในน้ำมะนาวจะไม่สามารถทำลายโคลิฟอร์มได้หมดแต่ก็ยิ่งดีกว่าการล้างด้วยน้ำประปาเพียงอย่างเดียว อย่างน้อยก็เป็นการลดความเสี่ยงต่อการเจ็บป่วยด้วยโรคที่มากับอาหาร อีกทั้งน้ำมะนาวมีความปลอดภัย สามารถรับประทานได้ ทั้งยังเป็นวิธีการที่ง่าย ประชาชนทั่วไปสามารถทำได้ จึงน่าจะนำวิธีนี้มาใช้ล้างผักที่บริโภคสดอย่างไรก็ตาม ควรมีการศึกษาเพื่อหาวิธีที่จะเพิ่มประสิทธิภาพของน้ำมะนาวในการลดปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียให้ดียิ่งขึ้นต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏภูเก็ต ที่ให้การสนับสนุนวัสดุอุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. Setheetham D, Nathapindhu G, Namkeaw J, Chantra P. Situation of Microorganism Contamination in Ready to Eat Food: The Case Study at Khon Kaen and Udon Thani Provinces. *KKU Journal for Public Health Research* 2013; 6 (2): 154-9.
2. Chungsamankool P, Rattanadilok Na Phuket N, Kantaeng K. Microbial Contamination in Raw Vegetables. *Bulletin of the Department of Medical Sciences* 2553; 52 (1-2): 30-9.
3. Keskinen LA, Burke A, Annous BA. Efficacy of chlorine, acidic electrolyzed water and aqueous chlorine dioxide solutions to decontaminate *Escherichia coli* O157:H7 from lettuce leaves. *Int J Food Microbiol* 2009; 132: 134-40.
4. Numkham L, Purintherapibal. The Situation of Food Sanitation at Thammasat University, Rangsit Campus. *Journal of Public Health* 2008; 38(2): 186-97.
5. Lee Y U, Jo S H, Cho S D, Kim G H, Kim Y M, Lee D.H et al. Effects of Chlorine concentrations and Washing Conditions on the Reduction of Microbiological Contamination in Lettuce.

- J Korean Soc Appl Biol Chem 2009; 52(3): 270-4.
6. Holvoet K, De Keuckelaere A, Sampers I, Van Haute S, Stals A, Uyttendaele M. Quantitative study of cross-contamination with *Escherichia coli*, *E. coli* O157, MS2 phage and murine norovirus in a simulated fresh-cut lettuce wash process. Food Control 2014; 37: 218-27.
 7. Singh N, Singh R K, Bhunia A K and Strohshine R L. Efficacy of Chlorine Dioxide, Ozone, and Thyme Essential Oil or a Sequential Washing in Killing *Escherichia coli*O157:H7 on Lettuce and Baby Carrots. Lebensm.-Wiss. u.- Technol 2002; 35(8): 720–9.
 8. Hemmerling A, Potts M, Walsh J, Young-Holt B, Whaley K, Stefanski DA. Lime Juice as a Candidate Microbicide? An Open-Label Safety Trial of 10% and 20% Lime Juice Used Vaginally. J Womens Health 2007; 16 (7): 1041-51.
 9. Medigan MT, Martinko JM. Brock biology of microorganisms. 11th ed. New Jersey: Pearson Prentice Hall; 2006.
 10. Mahakarnchanakul W, Vibulsresth P, Tiamphan V. Comparison of sanitizers to reduce total aerobic bacteria and *Escheichia coli* in some leafy vegetables. Proceedings of the 39th Kasetsart University Annual Conference (Fisheries and Food Science and Technology 5-7 February 2544, Bangkok 2544: 410-6.
 11. Chandra D, Kim J G and Kim Y P. Physicochemical and microbial quality of stored green slender pepper treated with different washing solutions and packaging films. Food Sci Technol Int 2014; 20: 137-48.

Efficacy of Lime Juice as a Vegetable-washing Liquid in Reducing *Escherichia coli* and Coliform Bacteria Contaminated in Lettuce

Nattapong Karntueng* Soisuwan Ounthong* Aroonsri Wongpatikarn*

ABSTRACT

Consumption of raw vegetables risks consumers' health in contracting foodborne diseases. Fresh lettuce is popularly consumed in Thailand. Therefore, the objective of this study was to compare the effectiveness of lime juice, rice washing water and potassium permanganate as vegetable-washing liquid in reducing the number of contaminated coliform bacteria in lettuce. A preliminary assessment was performed by testing the ability of the sample material to reduce the number of artificially inoculated *E. coli* in lettuce (*Lactuca sativa*). After each piece of lettuce was separately soaked in lime juice, rice washing water and potassium permanganate, the number of artificially inoculated *E. coli* was determined by spread plate technique on Eosin Methylene Blue (EMB) agar. Sterile distilled water was used as a control. The result showed that among the test materials,

lime juice gave the highest ability in reducing the number of *E. coli*; it could significantly reduce the number of *E. coli* more than potassium permanganate at 99% confidence, whereas rice-water showed no ability at all. When different concentrations of lime juice (2.5%, 5%, 10% and 15%) were tested for the ability to decrease the number of coliform bacteria contaminated in lettuce, at the 99% confidence, lime juice at the concentration of 15% could significantly reduce the number of coliform bacteria more than lime juice at the other concentrations. Thus, lime juice should be further studied to make it a more efficient vegetable washing liquid.

Keywords: efficacy, lime juice, lettuce, vegetable washing, *E. coli*, potassium permanganate, rice washing water, coliform bacteria

J Public Health 2015; 45(3): 334-342

Correspondence: Aroonsri Wongpatikarn. Biology Program, Faculty of Science and Technology, Phuket Rajabhat University, Phuket 83000, Thailand. E-mail: aw.pkru@hotmail.com

* Biology Program, Faculty of Science and Technology, Phuket Rajabhat University