ผลของน้ำส้มสายชู กรดซิตริก และโซเดียมไบคาร์บอเนตต่อการลดลงของ *Salmonella* Typhimurium บนใบสะระแหน่

Effects of Vinegar, Citric Acid and Sodium Bicarbonate on Reduction of *Salmonella* Typhimurium on Peppermint

สุดสายชล หอมทอง* และนันทวัน กรัตพงศ์
ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
Sudsaichon Homthong* and Nanthawan Karatpong
Department of Microbiology, Faculty of Science, Burapha University

บทคัดย่อ

ผลของน้ำส้มสายชูความเข้มข้น 2 และ 5 เปอร์เซ็นต์ กรดซิตริกความเข้มข้น 2 และ 5 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไบคาร์บอเนตความเข้มข้น 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ ต่อการลดลงของ *Salmonella* Typhimurium บนใบสะระแหน่ ที่เวลา 0, 15 และ 30 นาที โดยใช้เชื้อเริ่มต้นประมาณ 5 log cfu/g พบว่าสารที่ใช้ทดสอบและเวลาที่ใช้สามารถลดปริมาณ *S.* Typhimurium ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) สำหรับน้ำส้มสายชูความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 15 และ 30 นาที และกรดซิตริกความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 30 นาที สามารถลด *S.* Typhimurium ได้สูงสุด โดยอยู่ในช่วง 4.16-4.76 log cfu/g ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) อย่างไรก็ตามการใช้น้ำส้มสายชู 5 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 30 นาที ทำให้ใบสะระแหน่เกิดสีน้ำตาลเล็กน้อย ส่วนน้ำส้มสายชูความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไบคาร์บอเนตความเข้มข้น 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ สามารถลดปริมาณ *S.* Typhimurium ได้ต่ำ

คำสำคัญ : สะระแหน่ *Salmonella* Typhimurium น้ำส้มสายชู กรดซิตริก โซเดียมไบคาร์บอเนต

Abstract

To evaluate the effects of vinegar, citric acid and sodium bicarbonate on reduction of *Salmonella* Typhimurium on peppermint, approximately 5 log cfu/g of *S.* Typhimurium were inoculated on peppermint leaves. They were subjected to be treated with 2% and 5% (v/v) vinegar, 2% and 5% (w/v) citric acid and 1% and 2% (w/v) sodium bicarbonate for 0, 15 and 30 min. Treatment of sanitizers and times in reducing the numbers of *S.* Typhimurium were statistically different ($p<0.05$). The 5% vinegar (15 and 30 min) and 5% citric acid (30 min) were effective maximum reduction ranging between 4.16-4.76 log cfu/g, there were no statistically different ($p>0.05$) from those solutions. However, discoloration and browning have been observed on peppermint leaves treated with 5% vinegar for 30 min. While 2% vinegar and 1% and 2% sodium bicarbonate were low effective in the reduction of *S.* Typhimurium.

Keywords : peppermint, *Salmonella* Typhimurium, vinegar, citric acid, sodium bicarbonate

***Corresponding author.** E-mail: sudsaich@buu.ac.th

บทนำ

ในปัจจุบันความต้องการบริโภคผักและผลไม้สดเพิ่มสูงขึ้นทุกปี โดยมีการบริโภคต่อคนในอัตราที่สูงขึ้น คิดเป็นมูลค่าบริโภคภายในประเทศประมาณ 80,000 ล้านบาทต่อปี ผักจึงมีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศทั้งใช้บริโภคภายในประเทศและส่งออกนำเงินตราเข้าสู่ประเทศ เนื่องจากเป็นที่ยอมรับกันว่าการบริโภคผักให้คุณค่าทางโภชนาการและนำไปสู่การมีสุขภาพที่ดี (ธีระ สูตะบุตร, 2543) ผักสดที่มีการติดต่อค้าขายกันอย่างแพร่หลาย มีวางจำหน่ายอยู่ทั่วไปตามตลาดสด ตลาดขายปลีก หรือหาซื้อได้จากซุปเปอร์มาเก็ตสู่ผู้บริโภคโดยตรง การเลือกผักสดให้มีมาตรฐานทางจุลชีววิทยาจึงจัดเป็นสิ่งสำคัญที่ผู้บริโภคควรคำนึงถึงเป็นอย่างมาก เนื่องจากผักสดเป็นผลิตผลทางการเกษตรที่สามารถพบการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ได้ง่ายโดยพบการปนเปื้อนตั้งแต่อยู่ในแปลงหรือในสวน โดยมีสาเหตุมาจากสภาพแวดล้อมที่เพาะปลูก ได้แก่ ดิน น้ำ อากาศ การขนส่ง อุปกรณ์การเพาะปลูกและทันทีที่ผักถูกเก็บเกี่ยวเพื่อนำไปจำหน่ายในตลาดอาจมีการปนเปื้อนเพิ่มขึ้นจากผู้ที่สัมผัส ภาชนะบรรจุ ผักและผลไม้ด้วยกันเอง รวมทั้งน้ำล้างทำความสะอาดผัก (บุษกร อุดรภิชาติ, 2545) ทั้งหมดเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ไปสู่ผู้บริโภค

ผักสดหลายชนิดที่ผู้บริโภคนิยมรับประทานสดๆ ได้แก่ ผักกาดหอม กะหล่ำปลี ผักกาดขาว ผักชี สะระแหน่ เป็นต้น (สุเมธ ตันตระเธียร, 2539) มีรายงานว่าพบแบคทีเรียในผักสด ได้แก่ *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes, Shigella sonnei, Yersinia enterocolitica, Staphylococcus aureus* และ *Aeromonas* spp. (Sengun & Karapinar, 2005b) โดย *Salmonella* spp. มีการรายงานอยู่บ่อยครั้งว่าเป็นสาเหตุการแพร่ระบาดของโรคระบบทางเดินอาหาร เช่น พบการระบาดของ *S.* Chester ในปี พ.ศ. 2533 *S.* Poona และ *S.* Javiana ในปี พ.ศ. 2534 ในแคนตาลูป ที่ประเทศสหรัฐอเมริกา และแคนาดา ตามลำดับ ในปี 2533 และ 2536 พบการระบาดของ *S.* Montevideo และ *S.* Javiana ในมะเขือเทศที่เมืองอิลลินอยส์ รัฐมิชิแกน และรัฐวิสคอนซิน ตามลำดับ (Sengun & Karapinar, 2004) และเมื่อปี 2548 ได้มีการประกาศของกรมวิชาการเกษตรจากประเทศไทยถึงมาตรการตรวจสอบเชื้อจุลินทรีย์ *E. coli* และ *Salmonella* ในผักสดก่อนการส่งออกไปนอกราชอาณาจักรเนื่องจากประเทศนอร์เวย์ห้ามนำเข้าผักสดของไทยเป็นการชั่วคราว 8 ชนิด คือ ผักชีไทย ผักชีฝรั่ง ใบกระเพรา ใบโหระพา ผักแขยง ใบสะระแหน่ ผักแพรว และต้นหอมจากประเทศไทย เนื่องจากประเทศนอร์เวย์และสมาชิกสหภาพยุโรปหลายประเทศตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์ *E. coli* และ *Salmonella* ทำให้อาจมีผลกระทบต่อการส่งออกผักสดของไทยในตลาดยุโรปได้ (ประกาศกรมวิชาการเกษตร, 2548) ดังนั้นทำให้ต้องมีการป้องกันและกำจัด *Salmonella* ออกจากผักสดโดยเฉพาะในขั้นตอนการล้างผลิตภัณฑ์ผัก พบว่าการล้างผักด้วยน้ำจะสามารถล้างดินและสิ่งปนเปื้อนได้เท่านั้นแต่ไม่สามารถกำจัดจุลินทรีย์ได้สมบูรณ์ (สุมาลี เหลืองสกุล, 2541)

ปัจจุบันจึงมีการใช้น้ำยาล้างผักเพื่อกำจัดเชื้อก่อโรคออกจากผักสด รวมถึงการใช้คลอรีน และกรดต่างๆ เช่น กรดอะซิติก กรดแอสคอร์บิก กรดซิตริก และกรดแลคติก (Sengun & Karapinar, 2005b) และยังมีการใช้ไตรโซเดียมฟอสเฟต ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และโอโซน (Sengun & Karapinar, 2004) เพื่อฆ่าเชื้อหรือทำให้ลดน้อยลง พบว่าการล้างด้วยคลอรีนยังให้ประสิทธิภาพในการกำจัดจุลินทรีย์ไม่ดีพอ (Bari *et al*., 1999) และสารบางชนิดที่กล่าวมามีข้อจำกัดในการใช้ เนื่องจากต้องคำนึงถึงชนิดของสารเคมี ปริมาณความเข้มข้นและระยะเวลาที่ใช้ (จุรีรัตน์ มีสมิทธิ์, 2548) ทำให้สารเคมีเหล่านี้ยังไม่เหมาะสมสำหรับนำมาประยุกต์ใช้ในครัวเรือนอีกทั้งอาจเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาถึงประสิทธิภาพของน้ำส้มสายชู กรดซิตริก และโซเดียมไบคาร์บอเนต ที่ความเข้มข้นและระยะเวลาต่างๆ เพื่อกำจัดหรือลดจำนวน *S.* Typhimurium จากการปนเปื้อนในผักสดเพื่อเพิ่มความปลอดภัยในการบริโภคผักสดและยังเป็นข้อมูลสำหรับเปรียบเทียบการศึกษาน้ำยาล้างผักชนิดอื่นๆ ในอนาคต

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

1. แบคทีเรีย

Salmonella Typhimurium DMST 15674 (ได้รับความอนุเคราะห์จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข นนทบุรี)

2. ตัวอย่างอาหาร

ใบสะระแหน่ ที่จำหน่ายบริเวณตลาดหนองมนและตลาดนัดหลังมหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี

3. การเตรียมเชื้อ

นำ *S.* Typhimurium ไปเพาะเลี้ยงบนอาหาร Tryptone Soy agar (TSA) บ่มที่ตู้บ่มเชื้อควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นเขี่ยเชื้อจำนวน 1 โคโลนี ไปเพาะเลี้ยงในอาหาร Tryptone soy broth (TSB) ปริมาตร 200 มิลลิลิตร บ่มที่ตู้บ่มเชื้อควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำเชื้อดังกล่าวมาปรับความเข้มข้นโดยเทียบกับความขุ่นมาตรฐานของ McFarland เบอร์ 0.5 โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 625 นาโนเมตร จะได้ค่าการดูดกลืนแสงระหว่าง 0.08-0.1 ซึ่งเทียบเท่ามีปริมาณเชื้อประมาณ 10^8 cfu/ml จากนั้นถ่ายเชื้อ 10 มิลลิลิตร ไปยัง sterile peptone water 0.1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1 ลิตร ที่มี pH 6.3 จะได้เชื้อประมาณ 6 log cfu/ml

4. การเพาะเชื้อ *Salmonella* ลงบนใบสะระแหน่ (ดัดแปลงจาก Sengun & Karapinar, 2005a)

นำใบสะระแหน่แต่ละตัวอย่างมาล้างด้วยน้ำสะอาดปลอดเชื้อแล้วใช้กรรไกรปลอดเชื้อ ตัดส่วนที่เป็นก้านออก จากนั้นนำมาชั่งใส่ถุงพลาสติกปลอดเชื้อ จำนวน 28 ถุง ถุงละ 10 กรัม นำใบสะระแหน่แต่ละถุงผสมกับเชื้อที่เตรียมในข้อ 3 บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 นาที จากนั้นเทเชื้อออกด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ ปิดปากถุงแล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (เพื่อให้เซลล์ติดอยู่กับใบสะระแหน่) นำไปทดสอบต่อไป

5. การทดสอบน้ำส้มสายชู กรดซิตริก และโซเดียมไบคาร์บอเนตกับใบสะระแหน่ (ดัดแปลงจาก Sengun & Karapinar, 2005a)

นำใบสะระแหน่ที่เพาะเชื้อแล้วในข้อ 4 แบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือส่วนที่ไม่ใส่สารทดสอบเป็นชุดควบคุม และส่วนที่ใส่สารทดสอบ นำส่วนที่ใส่สารมาเติมสารละลายชนิดต่างๆ ดังนี้ น้ำส้มสายชูความเข้มข้น 2 และ 5 เปอร์เซ็นต์ (ที่มีกรดอะซิติก 2 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) (ปริมาตรต่อปริมาตร) สารละลายกรดซิตริกความเข้มข้น 2 และ 5 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) สารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนตความเข้มข้น 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) และน้ำกลั่นปราศจากเชื้อใส่ลงในถุงที่มีใบสะระแหน่ที่เพาะเชื้อไว้ถุงละ 50 มิลลิลิตร ที่เวลา 0, 15 และ 30 นาที เมื่อครบกำหนดเทสารทดสอบและน้ำกลั่นออกล้างด้วยน้ำสะอาด 3 ครั้ง หลังจากนั้นนำใบสะระแหน่ไปวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อต่อไป

6. การตรวจนับเชื้อ (AOAC, 1990)

นำใบสะระแหน่ที่ไม่ใส่สารทดสอบ ที่ใส่สารทดสอบและน้ำกลั่นมาแยกใส่ในถุง stomacher และเติม Buffered Peptone water (BPW) จำนวน 90 มิลลิลิตร ตีปั่นด้วยเครื่อง stomacher เป็นเวลา 1 นาที ทำการเจือจาง 7 ระดับ ตั้งแต่ 10^{-1}-10^{-7} โดยใช้ BPW จากนั้นนำมาทำการ spread plate บนอาหาร Bismuth Sulphite agar ทำ 3 ซ้ำ ในการแต่ละชุด นำจานอาหารบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีในจานเพาะเชื้อ คำนวณหาค่า cfu/g เปรียบเทียบระหว่างใบสะระแหน่ที่ใช้น้ำกลั่นปราศจากเชื้อกับใบสะระแหน่ที่ใช้สารทดสอบ ทำการยืนยันเชื้อโดยเลือกโคโลนีที่เป็นลักษณะโคโลนีเฉพาะของเชื้อ *S.* Typhimurium มาทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมีใน TSI ให้ผล K/A, G+, H_2S+ และ LIA ให้ผล lysine +

7. การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูล 3 ซ้ำในการทดลองแต่ละชุดมาวิเคราะห์ทางสถิติใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน *f*-test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธีของ Duncan's New Multiple Range Test

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

ในการศึกษาผลของน้ำส้มสายชูที่มีความเข้มข้น 2 และ 5 เปอร์เซ็นต์ กรดซิตริก ความเข้มข้น 2 และ 5 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไบคาร์บอเนตความเข้มข้น 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ ในการลดปริมาณ *S.* Typhimurium ที่เพาะลงบนใบสะระแหน่ เป็นระยะเวลา 0, 15 และ 30 นาที พบว่าเมื่อใช้น้ำส้มสายชูความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ (พีเอช 2.83) และ 5 เปอร์เซ็นต์ (พีเอช 2.73) ในการลดปริมาณ *S.* Typhimurium ที่เพาะลงบนใบสะระแหน่ โดยมีเชื้อเริ่มต้น 4.83 log cfu/g พบว่าสารละลายน้ำส้มสายชูความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลาเริ่มต้น (0 นาที) สามารถลดปริมาณของ *S.* Typhimurium ลงได้ 1.7 log cfu/g และลดลงมากที่สุด 4.16 log cfu/g เมื่อทิ้งไว้เป็นเวลา 15 และ 30 นาที ซึ่งมากกว่าการใช้สารละลายน้ำส้มสายชูความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ แสดงดังตารางที่ 1 โดยที่เวลา 30 นาที ทำให้ใบสะระแหน่เกิดสีน้ำตาลเล็กน้อย (ไม่ได้แสดงผล) ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับรายงานของ Sengun & Karapinar (2004, 2005a) ที่พบว่าน้ำส้มสายชูที่มีกรดอะซิติก 4.03 เปอร์เซ็นต์ สามารถลดปริมาณ *S.* Typhimurium อยู่ในช่วง 1.57-3.58 log cfu/g จากระดับเชื้อตั้งต้น 6.41 log cfu/g โดยปริมาณเชื้อลดลงมากที่สุดที่เวลา 60 นาที นอกจากนี้ยังมีการศึกษาน้ำส้มสายชู

ความเข้มข้น 3.95 เปอร์เซ็นต์ สามารถลดปริมาณ *S.* Typhimurium บนใบร็อกเก็ต อยู่ในช่วง 1.32-2.81 log cfu/g จากระดับเชื้อตั้งต้น 6.33 log cfu/g โดยจำนวนเชื้อลดลงมากที่สุด ที่เวลา 30 นาที และการลดปริมาณ *S.* Typhimurium บนต้นหอม อยู่ในช่วง 0.93-2.1 log cfu/g โดยลดปริมาณเชื้อลงมากที่สุด ที่เวลา 60 นาที อย่างไรก็ตามมนทกานติ์ บุญยการ (2545) พบว่าการล้างมะเขือเทศหั่นแว่นด้วยกรดอะซิติกที่มีพีเอช 4 สามารถลดปริมาณ *S.* Typhimurium ได้ 1.1 log cfu/g จากปริมาณเชื้อเริ่มต้น ภายในเวลา 15-30 นาที และการล้างแครอทหั่นฝอยด้วยกรดอะซิติกเช่นกัน สามารถลดปริมาณ *S.* Typhimurium ได้ 1.2-1.5 log cfu/g ที่เวลา 15-30 นาที ในการศึกษานี้พบว่าการแช่ใบสะระแหน่ด้วยน้ำส้มสายชูที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30 นาที สามารถลดปริมาณ *S.* Typhimurium ได้เท่ากับการแช่เป็นเวลา 15 นาที แต่ทำให้ใบสะระแหน่เกิดสีน้ำตาล ดังนั้นการลดปริมาณ *S.* Typhimurium จึงควรแช่ด้วยน้ำส้มสายชูความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 นาที การที่น้ำส้มสายชูมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณ *S.* Typhimurium ได้เนื่องจากความเป็นกรดที่มีผลในการทำลายเซลล์ โดยจะไปลดพีเอชภายในเซลล์จุลินทรีย์ ทำให้มีผลต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมภายในเยื่อหุ้มเซลล์ (Beuchat & Golden, 1989)

เมื่อใช้สารละลายกรดซิตริกความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ (พีเอช 2.16) และ 5 เปอร์เซ็นต์ (พีเอช 1.94) ในการลดปริมาณ *S.* Typhimurium ที่เพาะลงบนใบสะระแหน่ โดยมีเชื้อเริ่มต้น 5.43 log cfu/g พบว่าเมื่อให้สารละลายกรดซิตริกที่มีความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ และ 5 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลาเริ่มต้น (0 นาที) สามารถลดปริมาณของ *S.* Typhimurium ลงได้ 1.16 log cfu/g และ 2.90 log cfu/g ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ส่วนที่เวลา 15 และ 30 นาที ปริมาณ *S.* Typhimurium ลดลงอย่างต่อเนื่อง และลดลงมากที่สุด 4.76 log cfu/g เมื่อใช้กรดซิตริกที่มีความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30 นาที แสดงดังตารางที่ 1 ซึ่งที่ความเข้มข้นดังกล่าวนั้นจะไม่ทำให้กลิ่นและลักษณะเนื้อสัมผัสของใบสะระแหน่เปลี่ยนแปลง และยังเป็นการช่วยป้องกันการเกิดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลในผักได้อีกด้วย ซึ่งจะช่วยยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันที่จะเกิดขึ้น โดยปฏิกิริยาเริ่มต้น เกิดจากการไฮดรอกซิเลชันของสารประกอบโมโนฟีนอลิกไปเป็นโอ-ไดฟีนอล (O-diphenol) และถูกออกซิไดส์ต่อไปเป็นโอ-ควิโนน (O-quinone) และจะทำปฏิกิริยาแบบไม่มีเอนไซม์เกี่ยวข้องกับสารประกอบต่างๆ รวมทั้งสารประกอบฟีนอลิกและกรดอะมิโน ทำให้เกิดรงควัตถุต่างๆ ซึ่งถ้าหากมีกรดซิตริกจะไปรีดิวส์ควิโนน โดยมีเอนไซม์ polyphenoloxidase (PPO) ที่พบในพืชจะเป็นตัวเร่งโอ-ควิโนน กลับไปเป็นไดไฮดรอก-ซีโพลิฟีนอล ทำให้ไม่มีการสะสมของควิโนน ดังนั้นปฏิกิริยาที่จะเกิดสีน้ำตาลก็จะไม่เกิดขึ้น (ศิวาพร ศิวเวชช, 2546) จากผลการทดลองพบว่าความเข้มข้นและระยะเวลาในการให้สารละลายกรดซิตริก จะมีผลต่อประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อได้แตกต่างกัน สอดคล้องกับรายงานของ Sengun & Karapinar (2004, 2005a) ที่กล่าวว่าเมื่อใช้น้ำมะนาวที่มีกรดซิตริก 4.46 เปอร์เซ็นต์ สามารถกำจัด *S.* Typhimurium ที่เพาะลงบนแครอทที่หั่นเป็นชิ้น ที่เวลา 0, 15 30 และ 60 นาที โดยมีระดับเชื้อตั้งต้น 6.27 log cfu/g สามารถลดปริมาณ *S.* Typhimurium อยู่ในช่วง 1.73-3.95 log cfu/g โดยที่เวลา 0 นาที ลดลง 1.73 log cfu/g ที่เวลา 15 และ 30 นาที ลดลงมากขึ้น 2.68 log cfu/g และลดลงมากที่สุดถึง 3.95 log cfu/g ที่เวลา 60 นาที และการศึกษาผลของน้ำมะนาวที่มีกรดซิตริก 4.2 เปอร์เซ็นต์ ในการลดปริมาณ *S.* Typhimurium บนใบร็อคเก็ตและต้นหอมที่มีระดับเชื้อตั้งต้น คือ 7.1 log cfu/g สามารถลดปริมาณ *S.* Typhimurium บนใบร็อกเก็ตและบนต้นหอมลงได้ 1.87-3.52 log cfu/g และ 1.43-2.86 log cfu/g ตามลำดับ การที่กรดซิตริกมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณ *S.* Typhimurium ได้ เนื่องมาจากกลไกในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ คือ กรดซิตริกมีผลในการควบคุมกระบวนการสังเคราะห์ ATP ที่เกิดขึ้นในการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน หรือมีผลยับยั้งการเคลื่อนย้ายสารเมแทบอไลต์ภายในเซลล์ (Branen *et al*., 2002) ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Hinton (1996) ที่กล่าวว่ากรดอินทรีย์จะแตกตัวแล้วเข้าไปในเซลล์ของ *Salmonella* ในรูปของประจุบวกและประจุลบ โดยประจุบวกเพิ่มความเป็นกรดในเซลล์แบคทีเรีย *Salmonella* จึงต้องเสียพลังงานเพื่อรักษาความเป็นกรดด่างให้อยู่ในสภาพที่สมดุล ส่วนประจุลบขัดขวางการสร้างดีเอ็นเอส่งผลให้ *Salmonella* ไม่สามารถสร้างโปรตีนได้ จากผลกระทบดังกล่าวข้างต้นทำให้เชื้อไม่สามารถแบ่งตัวได้ รวมทั้งกลไกการทำงานต่างๆ ภายในเซลล์หยุดลง และเชื้อแบคทีเรียถูกทำลายในที่สุด

สำหรับการใช้สารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนตที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (พีเอช 8.15) และ 2 เปอร์เซ็นต์ (พีเอช 9.6) ในการลดปริมาณ *S.* Typhimurium ที่เพาะลงบนใบสะระแหน่ โดยมีเชื้อเริ่มต้น 5.2 log cfu/g พบว่าเมื่อให้สารละลายที่ความเข้มข้นทั้งสอง ที่เวลา 0, 15 และ 30 นาที สามารถลดปริมาณ *S.* Typhimurium ลงได้เล็กน้อย โดยที่การใช้สารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนตที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ และ 2 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 1 ผลของน้ำส้มสายชูเข้มข้น 2 และ 5 เปอร์เซ็นต์ กรดซิตริก 2 และ 5 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไบคาร์บอเนต เข้มข้น 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ ต่อการลดปริมาณ *S.* Typhimurium ที่เพาะลงบนใบสะระแหน่

สารละลาย	เวลา (นาที)	ปริมาณเชื้อที่รอดชีวิต (log cfu/g)[a]	ปริมาณเชื้อที่ลดลง (log cfu/g)
น้ำส้มสายชู 2 %	Control[b]	4.83 ± 0.27C	
(pH 2.83)	0	3.44 ± 0.23B	1.39
	15	3.16 ± 0.21B	1.67
	30	2.30 ± 0.30A	2.53
น้ำส้มสายชู 5 %	Control[b]	4.83 ± 0.27C	
(pH 2.73)	0	3.13 ± 0.20B	1.70
	15	0.67 ± 1.15A	4.16
	30	0.67 ± 1.15A	4.16
กรดซิตริก 2 %	Control[b]	5.43 ± 0.03B	
(pH 2.16)	0	4.27 ± 0.07B	1.16
	15	1.75 ± 1.52A	3.68
	30	1.43 ± 1.25A	4.00
กรดซิตริก 5 %	Control[b]	5.43 ± 0.03C	
(pH 1.94)	0	2.53 ± 0.21B	2.90
	15	3.05 ± 0.13B	2.38
	30	0.67 ± 1.15A	4.76
โซเดียมไบคาร์บอเนต 1%	Control[b]	5.20 ± 0.05C	
(pH 8.15)	0	4.47 ± 0.23B	0.73
	15	4.48 ± 0.22B	0.72
	30	3.88 ± 0.48A	1.32
โซเดียมไบคาร์บอเนต 2%	Control[b]	5.20 ± 0.05C	
(pH 9.60)	0	4.77 ± 0.10B	0.43
	15	4.72 ± 0.25B	0.48
	30	4.14 ± 0.26A	1.06
น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ	Control[b]	5.20 ± 0.05B	
(pH 8.04)	0	4.14 ± 0.11A	1.06
	15	4.03 ± 0.11A	1.17
	30	3.98 ± 0.26A	1.22

หมายเหตุ [a] ปริมาณของ *S.* Typhimurium ที่ตรวจพบบนใบสะระแหน่หลังจากการทดลอง และแสดงค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (± S.D.) ตัวอักษร A, B และ C ที่แตกต่างภายในคอลัมน์เดียวกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในตัวอย่างกลุ่มการทดลองเดียวกันที่ระยะเวลาต่างๆ

[b] ใบสะระแหน่ที่ไม่เติมสารทดสอบ

เป็นเวลา 30 นาที สามารถลดปริมาณ S. Typhimurium ลงได้มากที่สุด 1.32 log cfu/g และ 1.06 log cfu/g ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 1 จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการใช้โซเดียมไบคาร์บอเนตที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ และ 2 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณ *S.* Typhimurium ต่ำกว่าการใช้น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ (พีเอช 8.04) การที่สารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนต มีประสิทธิภาพต่ำในการกำจัดเชื้อ *S.* Typhimurium อาจเนื่องมาจากสารชนิดนี้มีสมบัติเป็นสารละลายเบสซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Na-ngam, *et al*., (2004) กล่าวว่าในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียนั้นพีเอชที่มีความเป็นเบสแต่น้อยกว่า 10 จะมีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อต่ำ นอกจากนี้โซเดียมไบคาร์บอเนตยังมีคุณสมบัติเป็นสาร surfactants โดยกลไกในการฆ่าเชื้อของ surfactants นั้น คือ เมื่อถูกดูดซับที่ผิวของเซลล์ จะเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ของจุลินทรีย์ กลไกในการฆ่าเชื้อของโซเดียมไบคาร์บอเนตเป็นการดูดซับเช่นเดียวกับสบู่ หากมีสารอินทรีย์ที่ใบสะระแหน่ surfactants ก็จะไปทำปฏิกิริยากับสารอินทรีย์ ซึ่งทำให้ฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อลดลงและกลับกลายเป็นแหล่งอาหารของเชื้อได้ (สุวิมล กีรติพิบูล และบัณฑิต ประดิษฐานุวงษ์, 2545) จากเหตุผลดังกล่าวอาจทำให้โซเดียมไบคาร์บอเนตสามารถลดปริมาณ *S.* Typhimurium ได้น้อยกว่าน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ

จากการศึกษาครั้งนี้ได้นำ *S.* Typhimurium มาเพาะลงบนใบสะระแหน่ แล้วนำมาล้างด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ (พีเอช 8.04) เพื่อใช้เป็นชุดควบคุม ซึ่งพบว่าสามารถลดปริมาณ *S.* Typhimurium ได้สูงสุด 1.22 log cfu/g แสดงดังตารางที่ 1 โดยการใช้น้ำกลั่นปราศจากเชื้อเปรียบเทียบกับสารอื่นพบว่าลดปริมาณเชื้อได้น้อยแต่ก็สูงกว่าโซเดียมไบคาร์บอเนต และเมื่อเพิ่มระยะเวลาแช่ผักนานขึ้นไม่ได้ทำให้ปริมาณเชื้อลดลงมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ สอดคล้องกับรายงานของ Sengun & Karapinar (2005b) กล่าวว่าน้ำกลั่นปราศจากเชื้อสามารถลดปริมาณ *Y. enterocolitica* ที่เพาะลงบนแครอทได้ประมาณ 1 log cfu/g โดยไม่มีความแตกต่างนัยสำคัญ ($p>0.05$) ที่เวลา 0, 15, 30 และ 60 นาที และหากใช้น้ำประปาในการล้างจะสามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ได้น้อยกว่า 1 log cfu/g เนื่องจากการล้างด้วยน้ำเป็นเพียงการลดการปนเปื้อนทางกายภาพอาจชะล้าง ดิน ทราย และเซลล์จุลินทรีย์อื่นๆ ออกจากผักและผลไม้เท่านั้น แต่ไม่สามารถกำจัดจุลินทรีย์ออกได้หมด (Beuchat, 1992; Wisniewsky, *et al*., 2000) รวมทั้งยังสอดคล้องกับการทดลองของ Beuchat, *et al*., (1998) ที่พบว่าน้ำประปาจะลด *E. coli* และ *S.* Typhimurium ที่ปนเปื้อนบนแอปเปิ้ล มะเขือเทศและผักกาดหอมลงได้เพียง 0.2 log cfu/ml เท่านั้น

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่าน้ำส้มสายชูความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ และกรดซิตริกความเข้มข้น 2 และ 5 เปอร์เซ็นต์ สามารถลดปริมาณ *S.* Typhimurium ได้ดี ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับน้ำส้มสายชูความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไบคาร์บอเนตความเข้มข้น 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำส้มสายชูความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 15 และ 30 นาที และกรดซิตริกความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 30 นาที ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ทำให้สรุปได้ว่าการใช้สารละลายกรดซิตริกและน้ำส้มสายชูมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณหรือกำจัด *S.* Typhimurium และสามารถนำมาใช้ล้างหรือแช่ผักและผลไม้เพื่อลดการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ได้ ซึ่งแนวโน้มในการเพิ่มความเข้มข้นและระยะเวลาจะพบว่ากรดซิตริกมีประสิทธิภาพค่อนข้างดีกว่าน้ำส้มสายชูและโซเดียมไบคาร์บอเนต ตามลำดับ โดยสารละลายกรดซิตริกความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 30 นาที ให้ผลดีที่สุด เนื่องจากกรดซิตริกเป็นตัวออกซิไดส์ที่แรงและมีความเสถียรมากกว่า (ศิวาพร ศิวเวชช, 2535) ดังนั้นการใช้สารดังกล่าวในการล้างผักและผลไม้สามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ได้ดีกว่าการล้างด้วยน้ำเพียงอย่างเดียว ประสิทธิภาพของน้ำยาล้างผัก นอกจากจะขึ้นอยู่กับสมบัติทางเคมีของสารฆ่าเชื้อแล้วยังขึ้นกับผิวของใบสะระแหน่ที่มีลักษณะขรุขระ มีร่อง รอยแยก หลุม และรูเปิดธรรมชาติของผิว ทำให้ *S.* Typhimurium สามารถเข้าไปยึดเกาะที่ตำแหน่งดังกล่าวของใบได้ รวมทั้งลักษณะการใช้ของใบสะระแหน่ที่ไม่มีการหั่นฝอยมีผลให้พื้นที่สัมผัสของใบสะระแหน่มีน้อย ดังนั้นโอกาสที่สารฆ่าเชื้อจะเข้าไปทำลาย *S.* Typhimurium จึงยาก สอดคล้องกับการรายงานของ Park & Beuchat (1999) ที่ศึกษาผลของสารฆ่าเชื้อในการทำลาย *E. coli* O157:H7, Salmonella และจุลินทรีย์ที่มีตามธรรมชาติในแคนตาลูปและแตงฮันนีดิว พบว่าหลังจากล้างผลไม้ด้วยสารฆ่าเชื้อเป็นเวลา 3 นาที ตรวจพบปริมาณจุลินทรีย์รอดชีวิตในแตงฮันนีดิวน้อยกว่าในแคนตาลูป เพราะผิวของแตงฮันนีดิวมีลักษณะเรียบกว่าแคนตาลูป ดังนั้นเซลล์สามารถยึดเกาะและถูกชะล้างออกได้ง่ายกว่า สภาวะที่ใช้ในการแช่หรือล้างผัก เช่น ความเข้มข้น และเวลาที่ใช้ในการล้างก็มีผลต่อการลดปริมาณจุลินทรีย์เช่นกัน (Gelinas, *et al*., 1984) ดังนั้นการลดปริมาณแบคทีเรียให้ได้ปริมาณมากจำเป็นต้องเพิ่มความเข้มข้นของสารที่ใช้ แต่การใช้เวลาในการล้างผักนานเกินไป อาจมีข้อเสียคือ อาจทำให้สีของผักเปลี่ยนแปลง นอกจากนี้การล้างผัก

เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพมากที่สุดควรคำนึงถึงวิธีการที่ใช้ล้างผักด้วย เช่น การจุ่ม แช่ หรือชะล้าง (Marriott, 1999) จากการศึกษาครั้งนี้พบว่ากรดซิตริกมีประสิทธิภาพค่อนข้างดีกว่าน้ำส้มสายชูและโซเดียมไบคาร์บอเนต ตามลำดับ โดยไม่ทำให้ลักษณะเนื้อสัมผัส กลิ่น และสีของใบสะระแหน่เปลี่ยนแปลง ดังนั้นเมื่อผู้บริโภคซื้อสะระแหน่หรือผักสดๆ มาจากท้องตลาดแล้ว ก่อนที่จะบริโภคดิบๆ ควรแช่ใบสะระแหน่หรือผักสดด้วยกรดซิตริกความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้เวลา 30 นาที ซึ่งอาจหาซื้อกรดซิตริกที่อยู่ในรูปผงมาและเตรียมให้ได้ 5 เปอร์เซ็นต์ เช่น ชั่งกรดมา 50 กรัม หรือครึ่งขีดและเติมน้ำลงไป 1 ลิตร ก็จะได้กรดซิตริก 5 เปอร์เซ็นต์ หรืออาจใช้น้ำส้มสายชูความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้เวลา 15 นาที (น้ำส้มสายชูที่จำหน่ายตามร้านค้ามักมีความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์) หลังจากแช่ใบสะระแหน่หรือผักสดด้วยสารดังกล่าวแล้วก็ล้างด้วยน้ำสะอาดอีกครั้งเพื่อลดกลิ่นของสารดังกล่าว หรือลดเชื้อได้ส่วนหนึ่ง ซึ่งวิธีดังกล่าวจะช่วยเพิ่มความปลอดภัยในการบริโภคมากยิ่งขึ้น

สรุป

ผลของการใช้น้ำส้มสายชูที่มีความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ และ 5 เปอร์เซ็นต์ กรดซิตริก 2 และ 5 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไบคาร์บอเนตที่ความเข้มข้น 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ ในการลดปริมาณหรือกำจัดเชื้อ *S.* Typhimurium ที่เพาะลงบนใบสะระแหน่โดยใช้เชื้อเริ่มต้นประมาณ 5 log cfu/g เป็นระยะเวลา 0, 15 และ 30 นาที พบว่าประสิทธิภาพของสารละลายน้ำส้มสายชูความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ สามารถลดปริมาณ *S.* Typhimurium อยู่ในช่วง 1.39-2.53 log cfu/g และลดลงมากที่สุดเมื่อใช้ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 15 และ 30 นาที คือ 4.16 log cfu/g แต่ที่เวลา 30 นาที ใบสะระแหน่เกิดสีน้ำตาลเล็กน้อย ขณะที่ประสิทธิภาพของสารละลายกรดซิตริกที่ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ สามารถลดปริมาณ *S.* Typhimurium ได้อย่างต่อเนื่อง อยู่ในช่วง 1.16-4.00 log cfu/g และที่ความเข้มข้นของกรดซิตริก 5 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 30 นาที ให้ผลในการลดปริมาณ *S.* Typhimurium ได้ดีที่สุดถึง 4.76 log cfu/g โดยใบสาระแหน่ไม่เกิดสีน้ำตาล สำหรับสารละลายโซเดียมไบ-คาร์บอเนตที่ความเข้มข้น 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลในการลดปริมาณ *S.* Typhimurium อยู่ในช่วง 0.72-1.32 log cfu/g และ 0.45-1.06 log cfu/g ตามลำดับ ซึ่งใกล้เคียงกับการใช้น้ำกลั่นปราศจากเชื้อโดยสามารถลดปริมาณ *S.* Typhimurium อยู่ในช่วง 1.06-1.22 log cfu/g จากการทดลองสรุปได้ว่ากรดซิตริกและน้ำส้มสายชูมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณ *S.* Typhimurium แต่โซเดียมไบคาร์บอเนตมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณ *S.* Typhimurium ต่ำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ

เอกสารอ้างอิง

จุรีรัตน์ มีสมิทธิ์. (2548). *ปฏิบัติการจุลชีววิทยาทั่วไป.* กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ธีระ สูตะบุตร. (2543). *แผนกลยุทธ์การวิจัยด้านเกษตรและอุตสาหกรรมการเกษตรตามวาระการวิจัยแห่งชาติในภาวะวิกฤตเพื่อฟื้นฟูชาติ.* กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

บุษกร อุครภิชาติ. (2545). *จุลชีววิทยาทางอาหาร.* พิมพ์ครั้งที่ 4. ภาควิชาชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยทักษิณ.

ประกาศกรมวิชาการเกษตร. (2548). *มาตรการตรวจสอบเชื้อ Escherichia coli (E. coli) และ Salmonella ในผักสดก่อนการส่งออกไปนอกราชอาณาจักร.* วันที่ค้นข้อมูล 2 สิงหาคม 2549, เข้าถึงได้จาก http://www.doa.go.th/pprdo/export_News&Info/ประกาศกรมวิชาการเกษตรมาตรการตรวจสอบเชื้อ%20E_coli%20และ%20Salmon....pdf

มนทกานติ์ บุญยการ. (2545). *การลดการปนเปื้อนข้ามของ Salmonella* Typhimurium ระหว่างการเตรียมผักสลัดโดยสารฆ่าเชื้อประเภทคลอรีน. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร, บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศิวาพร ศิวเวชช. (2535). *วัตถุเจือปนอาหารในผลิตภัณฑ์อาหาร.* นครปฐม: โรงพิมพ์ศูนย์ส่งเสริม และฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศิวาพร ศิวเวชช. (2546). *วัตถุเจือปนอาหาร เล่ม 1.* นครปฐม: โรงพิมพ์ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ.

สุมาลี เหลืองสกุล. (2541). *จุลชีววิทยาทางอาหาร.* กรุงเทพฯ: ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร.

สุเมธ ตันตระเธียร. (2539). จุลินทรีย์กับการถนอมอาหาร. *ในเอกสารการสอนชุดวิชาเคมีและจุลชีววิทยาของอาหาร หน่วยที่ 11-15* (หน้า 4-46). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช.

สุวิมล กีรติพิบูล และบัณฑิต ประดิษฐานุวงษ์. (2545). *การควบคุมจุลินทรีย์ในอุตสาหกรรมอาหาร*. กรุงเทพฯ: ส.ส.ท. สมาคมส่งเสริมเทคโนโลยี (ไทย-ญี่ปุ่น).

AOAC. (1990). *Official Methods of Analysis* (15th ed.). Virginia : Association of Official Analytical Chemists, Inc.

Bari, M.L., Kusunoki, H., Furukawa, H., Ikeda, H., Isshiki, K., and Uemura, T. (1999). Inhibition of growth of *Escherichia coli* O157:H7 in fresh radish (*Raphanus sativus*) sprout production by calcinated calcium. *Journal of Food Protection*, 62, 128-132.

Beuchat, L.R. (1992). Surface disinfection of raw produce. *Dairy Food Environmental Sanitation*, 12, 6-9.

Beuchat, L.R., and Golden, D.A. (1989). Antimicrobials occurring naturally in foods. *Food Technology*, 43, 134-142.

Beuchat, L.R., Nail, B.V., Adler, B.B., and Clavero, M.R.S. (1998). Efficacy of spray application of chlorinated water in killing pathogenic bacteria on raw apples, tomatoes and lettuce. *Journal of Food Protection*, 61, 1305-1311.

Branen, A. L., Davidson, P. m., Salminen, S., and Thorngate III, J. H. (2002). *Food Additives*. 2rd ed. New York: Marcel Dekker, Inc..

Gelinas, P., Goulet, J., Tastayre, G.M., and Picard, G.A. (1984). Effect of temperature and contact time on the activity of eight disinfectants a classification. *Journal of Food Protection*, 47, 841-847.

Hinton, M. (1996). Organic acid for control of *Salmonella. World Poultry-Misset (supplement)*, 33.

Marriott, N.G. (1999). *Principles of food sanitation*. 4th ed. Maryland: Aspen Publishers, Inc..

Na-ngam, N., Angkititakul, S., Noimay, P., and Thamlikitkul, V. (2004). The effect of quicklime (calcium oxide) as an inhibitor of *Burkholderia pseudomallei. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 98, 337-341.

Park, C.M., and Beuchat, L.R. (1999). Evaluation of sanitizers for killing *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* and naturally occurring microorganisms on cantaloupes, honeydew melons and asparagus. *Dairy Food Environmental Sanitation*, 19, 842-847.

Sengun, I.Y., and Karapinar, M. (2004). Effectiviness of lemon juice and their mixture in the elimination of *Salmonella* Typhimurium on carrots (*Daucus carota* L.). *International Journal of Food Microbiology*, 96, 301-305.

Sengun, I.Y., and Karapinar, M. (2005a). Effectiviness of household natural sanitizers in the elimination of *Salmonella* Typhimurium on rocket (*Eruca sativa* Miller) and spring onion (*Allium cepa* L.). *International Journal of Food Microbiology*, 98, 319-323.

Sengun, I.Y., and Karapinar, M. (2005b). Elimination of *Yersinia enterocolitica* on carrots (*Daucus carota* L.) by using household sanitizers. *Food Control*, 16, 845-850.

Wisniewsky, M.A., Goatz, B.A., Gleason, M.L., and Reitmeier, C.A. (2000). Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 counts on whole fresh apples by treatment with sanitizers. *Journal of Food Protection*, 63, 703-708.