

ผลของน้ำกระตุ้นพลาสมาต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในผักสลัดใบกรีนโอ๊ค

Effect of Plasma Activated Water on Inhibition of Microbial Cells in Green Oak Lettuce

กมลทิพย์ ปรีเปรม^{1*}, ขจรเดช ลาบุตร², กระวี ตรีอำนรรค¹, เทวรัตน์ ตรีอำนรรค², วิชาญณรงค์ วงศ์บับพา¹
Kamonthip Preeprem^{1*}, Kajondet Labut², Krawee Treeamnuk¹, Tawarat Treeamnuk², Wichannarong Wongbubpa¹

¹ สาขาวิชาวิศวกรรมเครื่องกล สำนักวิชาวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อ.เมือง จ.นครราชสีมา 30000

² สาขาวิชาวิศวกรรมเกษตร สำนักวิชาวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อ.เมือง จ.นครราชสีมา 30000

¹ School of Mechanical Engineering, Institute of Engineering, Suranaree University of Technology Muang District, Nakhon Ratchasima 30000, Thailand.

² School of Agricultural Engineering, Institute of Engineering, Suranaree University of Technology Muang District, Nakhon Ratchasima 30000, Thailand.

*Corresponding author Email: kamontip.preeprem@gmail.com

Received: 03-10-2024 Revised: 7-05-2025 Accepted: 30-06-2025

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของน้ำกระตุ้นพลาสมา (Plasma Activated Water: PAW) ต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในผักสลัดใบกรีนโอ๊ค (Green Oak) ซึ่งเป็นวัตถุดิบที่มีความเสื่อมสภาพทางชีวเคมีได้ง่ายหลังการเก็บเกี่ยวซึ่งมีสาเหตุหลักมาจากจุลินทรีย์ การทดสอบใช้ตัวอย่างผักสลัดใบกรีนโอ๊คขนาด 3 x 3 cm. รูปแบบปลูก 2 รูปแบบคือ แบบลงดิน (N) และปลูกแบบไฮโดรโปนิคส์ (H) และน้ำ PAW ผลิตจากเครื่องต้นแบบที่มีแรงดันไฟฟ้าขาออกสูงสุด 15 กิโลโวลต์ จ่ายไฟฟ้าแรงดันสูงแบบพัลส์เป็นเวลา 25 นาที จากนั้นนำผักสลัดใบกรีนโอ๊คจุ่มล้างด้วย PAW เป็นเวลา 10, 15 และ 20 นาที เทียบกับจุ่มล้างด้วยน้ำประปา จากนั้นทำการทดสอบการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ด้วยการวิเคราะห์ Total Plate Count (TPC) พบว่าการเจริญของจุลินทรีย์นั้นมีแนวโน้มที่ลดลงจาก 1.53×10^6 ลดลงเป็น 5.00×10^5 CFU/ml ของผักสลัดใบกรีนโอ๊คที่มีการปลูกแบบลงดิน และ 1.77×10^6 ลดลงเป็น 5.61×10^5 CFU/ml ปลูกแบบไฮโดรโปนิคส์ ตามลำดับ ในส่วนการเปลี่ยนแปลงของสี Color Difference (ΔE) พบว่าแนวโน้มของสีหลังการชะล้างในแต่ละวันนั้นไม่มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของค่า Color difference และค่าความเป็นกรด - ด่างของ PAW มีค่าระหว่าง 6.7 - 7.5 ดังที่กล่าวมาข้างต้นจะเห็นว่าทั้ง 3 ตัวแปร ยังมีผลความแตกต่างเพียงเล็กน้อยหรือไม่มีผลกระทบ เนื่องจากเครื่องต้นแบบปัจจุบันกระตุ้นน้ำพลาสมาเพียงรอบเดียว จึงคาดว่าจะปรับปรุงรูปแบบการผลิตน้ำกระตุ้นพลาสมาแบบละอองหมอกเป็นระบบหมุนวนหรือกระตุ้นพลาสมาที่น้ำโดยตรง เพื่อนำผลการทดลองมาวิเคราะห์และเปรียบเทียบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในผักสลัดใบกรีนโอ๊คในอนาคตต่อไป

คำสำคัญ: น้ำกระตุ้นพลาสมา ผักสลัดใบกรีนโอ๊ค เชื้อจุลินทรีย์

ABSTRACT

This study examines the effects of Plasma-Activated Water (PAW) on the inhibition of microbial growth in green oak leaf lettuce (Green Oak), a postharvest perishable crop prone to biochemical deterioration primarily caused by microbial contamination. Lettuce samples measuring 3 x 3 cm were collected from two cultivation methods: soil-based (N) and hydroponic (H). The PAW was generated using a prototype device with a maximum output voltage of 15 kV, delivering pulsed high-voltage electricity for 25 minutes. The lettuce samples were then immersed in PAW for 10, 15, and 20 minutes, with tap water immersion used as a control. Microbial inhibition was assessed using the Total Plate Count (TPC) method. The results showed a decreasing trend in microbial load, from 1.53×10^6 to 5.00×10^5 CFU/mL in soil-grown lettuce and from 1.77×10^6 to 5.61×10^5 CFU/mL in hydroponically-grown lettuce. As for color changes, the Color Difference (ΔE) analysis revealed no significant variation in color over time following the washing treatments. The pH values of PAW ranged from 6.7 to 7.5, indicating no substantial impact on acidity or alkalinity. As previously discussed, the three variables microbial growth inhibition, color difference, and pH showed only minor or negligible differences. This is likely due to the current prototype generating PAW in a single activation cycle. Consequently, future developments are expected to focus on enhancing the system, such as adopting a mist-circulation design or applying

plasma directly to water. These modifications aim to improve the analysis and comparison of PAW's antimicrobial efficacy in green oak leaf lettuce in future research.

Keyword: Plasma Activated Water, Green Oak lettuce, Microbial

1. บทนำ

ในปัจจุบันความนิยมในการบริโภคผักสลัดและผักใบได้เพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดทั้งในกลุ่มคนรุ่นใหม่และกลุ่มผู้สูงอายุ ปัจจัยสำคัญที่ส่งผลให้ผักสลัดกลายเป็นที่นิยมอย่างแพร่หลายประกอบด้วยความสะดวกสบายถึงสุขภาพที่ดีขึ้นและการดูแลรูปร่าง [1] ซึ่งการตระหนักถึงสุขภาพเป็นสิ่งที่มีบทบาทสำคัญในการเพิ่มความนิยมในการบริโภคผักสลัดซึ่งเป็นผักที่นิยมทานสด นอกจากนั้นผักสลัดยังให้คุณค่าทางอาหารสูง โดยเฉพาะไฟเบอร์ แคลเซียม วิตามินซี วิตามินเอ และยังมีอุดมไปด้วยรงควัตถุที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ได้แก่ คลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์ รวมถึงสารอาหารอื่น ๆ ที่มีคุณค่าต่อผู้บริโภค [2] แม้ว่าการทานผักสดจะมีประโยชน์ต่อสุขภาพในหลายด้าน แต่ก็มีผลเสียบางประการที่ควรระวัง กล่าวคือมีรายงานหลายฉบับเกี่ยวกับการเกิดโรคอาหารเป็นพิษจากการรับประทานผักสด [3, 4] และการตรวจพบจุลินทรีย์ก่อโรคหลายชนิดในผักสดของประเทศไทย [5, 6] นอกจากนั้นสำนักมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติระบุว่าสินค้าพืชไทย เช่น ผักที่ส่งออกไปสหภาพยุโรปซึ่งเป็นตลาดนำเข้ารายใหญ่ตรวจพบจุลินทรีย์ปนเปื้อนอย่างต่อเนื่องบ่อยครั้ง โดยเฉพาะ *Salmonella* spp. และ *Escherichia coli* [7] การล้างผักไม่สะอาดหรือการบริโภคผักที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อโรคอย่างเหมาะสมอาจเพิ่มความเสี่ยงต่อการติดเชื้อ ดังนั้นเพื่อให้ได้ประโยชน์สูงสุดจากการทานผักสด ควรคำนึงถึงการล้างและเตรียมผักอย่างถูกวิธี

ปัจจุบันคลอรีนนิยมใช้กันอย่างแพร่หลายสำหรับการฆ่าเชื้อในการเตรียมผักและผลไม้สด แม้ว่าจะงานวิจัยหลายฉบับแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพที่ยอดเยียมของการล้างด้วยคลอรีนในการยับยั้งจุลินทรีย์และแบคทีเรีย แต่การใช้สารเคมีฆ่าเชื้อที่มีความเข้มข้นสูงขึ้นทำให้เกิดผลกระทบต่อสุขภาพของผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม [8]

ดังนั้นเกิดการคิดค้นวิธีการใหม่ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์โดยใช้เทคโนโลยีพลาสมา เนื่องจากเทคโนโลยีนี้ได้รับความนิยมในการประยุกต์ใช้ในด้านวิทยาศาสตร์สุขภาพและเทคโนโลยี เทคโนโลยีนี้มีจุดเด่นคือเป็นเทคโนโลยีสะอาดและเน้นการพัฒนาและปรับปรุงคุณสมบัติของผิววัสดุผลิตภัณฑ์เป้าหมายหรือใช้ปรับปรุงคุณภาพน้ำ โดยเรียกน้ำหลังการปรับปรุงว่าน้ำกระตุ้นพลาสมา โดยการใช้การฉายพลาสมาลงบนพื้นผิววัสดุหรือน้ำเหล่านั้น และยังสามารถกำจัดสิ่งปนเปื้อนบนผิววัสดุได้อีกด้วย งานวิจัยบางฉบับได้รายงานการใช้พลาสมาในการกำจัดเชื้อโรคในอาหาร [9] กล่าวคือสามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของโรคในอาหาร เช่นเดียวกับในงานวิจัยของนาริรัตน์ ปี 2554 [10] และพบอีกว่าสามารถยืดอายุการเก็บรักษาผลไม้สดได้นานขึ้น 7 วัน และ Khan et al., 2019 [11] ผลิตน้ำกระตุ้นพลาสมาจากวิธี

Glow plasma โดยใช้ออกซิเจนและอากาศป้อนให้กับระบบ ยังพบว่าสามารถลดความเข้มข้นของ *Salmonella enterica* serovar Typhimurium ได้ 3.0 log และ 2.6 log สำหรับผักกาดแก้วและผักสลัดใบแดง โดยการนำตัวอย่างของใบผักสลัดใบขนาด 3 x 3 cm. จุ่มล้างน้ำกระตุ้นพลาสมาเป็นเวลา 1 ถึง 3 นาที และงานวิจัยของ Fröhling et al., 2018 [12] ผลิตน้ำกระตุ้นพลาสมาจากการใช้เครื่อง PLEX² มีการจุ่มล้างใบผักสลัดขนาด 5 x 5 cm. ในน้ำกระตุ้นพลาสมาและน้ำที่ไม่ได้ปรับปรุงหลังการจุ่มล้างเก็บผักสลัดใบไว้ที่อุณหภูมิ 2°C เป็นเวลา 7 วัน พบว่าสามารถลดความเข้มข้นของ Total viable count ได้ 0.64 ถึง 1.6 log และ 0.27 - 0.95 log CFU/ml สำหรับวันที่ 0 และวันที่ 7 ของการเก็บรักษา นอกจากนี้งานวิจัยของ Patange et al., 2019 [13] ผลิตน้ำกระตุ้นพลาสมาจากวิธี DBD แบบได้น้ำ โดยใช้ความต่างศักย์ไฟฟ้า 20 kV กำลัง 7.45 W นำตัวอย่างของใบผักกาดแก้วขนาด 3 x 3 cm. จุ่มล้างน้ำกระตุ้นพลาสมาเป็นเวลา 0 ถึง 10 นาที พบว่าสามารถลดความเข้มข้นของ *Pseudomonas fluorescens* ในการจุ่มล้าง 3 นาที ลดลงต่ำกว่าขีดจำกัดของการตรวจนับและ *Listeria innocua* ลดลง 2.4 log สำหรับการจุ่มล้าง 5 นาที และงานวิจัยของ Schnabel et al., 2019 [14] ผลิตน้ำกระตุ้นพลาสมาจากการใช้เครื่อง PLEX² จุ่มล้างผักสลัดใบด้วยน้ำกระตุ้นพลาสมาด้วยสถานการณ์ที่แตกต่างกัน พบว่าสามารถลดความเข้มข้นของ Total aerobic bacteria สำหรับขนาดน้ำร่อนน้อยกว่า 2 log และสำหรับขนาดระดับห้องปฏิบัติการมากกว่า 6.0 log

จากงานวิจัยดังกล่าวทำให้เห็นว่าการใช้เทคโนโลยีพลาสมาเป็นวิธีที่น่าสนใจในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในผักและผลไม้เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพดีและยืดอายุการเก็บรักษาได้นานขึ้น ดังนั้นงานวิจัยนี้จะทำการแบ่งการศึกษาออกเป็น 2 ส่วน โดยในส่วนแรกเป็นการศึกษาและสร้างเครื่องต้นแบบสำหรับผลิตน้ำกระตุ้นพลาสมา และส่วนที่สองเป็นการประยุกต์ใช้ด้านการเกษตร กล่าวคือนำน้ำกระตุ้นพลาสมาจากเครื่องต้นแบบที่พัฒนาขึ้นมาใช้ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในผักสลัดใบกรีนโอ๊ค โดยการจุ่มล้างตัวอย่างผักสลัดใบกรีนโอ๊ค ซึ่งทำการวัดผลพารามิเตอร์ของน้ำที่ผ่านการจุ่มล้างผักสลัดใบกรีนโอ๊ค โดยการวิเคราะห์หาค่าการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์แบบ Total Plate Count (TPC) ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และการเปลี่ยนแปลงสี (Color Difference, ΔE)

2. วัสดุ อุปกรณ์และ วิธีดำเนินการวิจัย

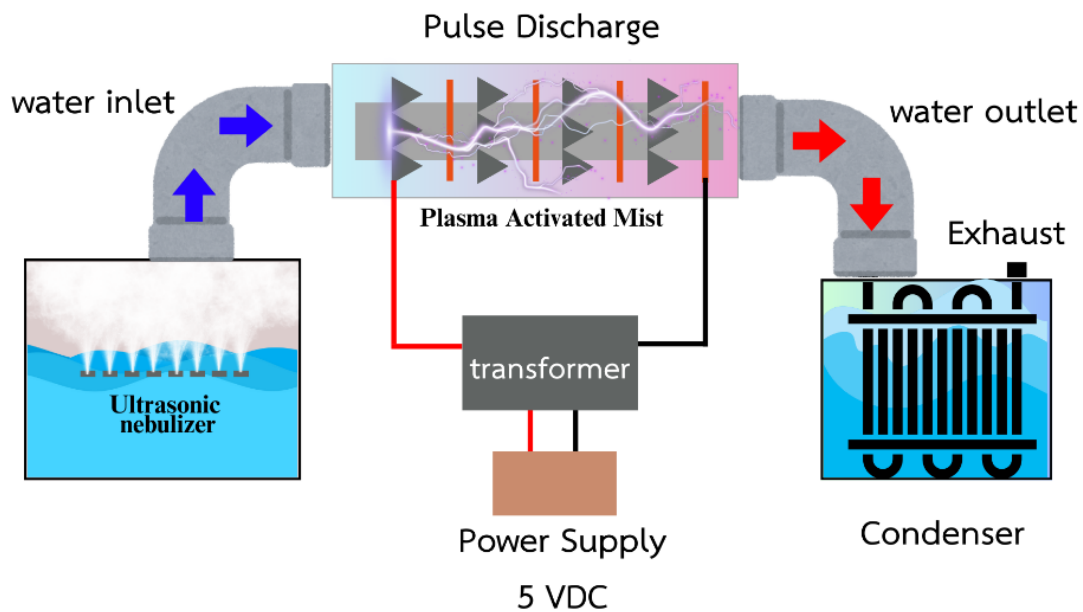
ผักสลัดใบกรีนโอ๊ค (*Lactuca sativa* var. *crispa* L.) การปลูก 2 รูปแบบคือ แบบไฮโดรโปนิคส์และปลูกลงดิน จากฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยี สุรนารี จังหวัดนครราชสีมา ที่มีระยะแกว่าทางการค้า จากนั้นคัดเลือกใบที่มีขนาดสม่ำเสมอ ไม่มีตำหนิ ไม่

ถูกทำลายจากโรคและแมลงและไม่เน่าเสีย เพื่อนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

1.1. ชุดอุปกรณ์การทดลอง

ชุดกำเนิดลพลาสมาความดันบรรยากาศ แสดงดังภาพที่ 1 ใช้ในการศึกษาการตรึงไนโตรเจนในอากาศ ระบบประกอบด้วย 3 ส่วน คือ (1) เครื่องกำเนิดละอองหมอกซึ่งใช้น้ำประปาเป็นวัตถุดิบในการสร้างละอองหมอกอย่างต่อเนื่อง (2) บริเวณดิสชาร์จ (3) อุปกรณ์ควบแน่นละอองหมอก ส่วนที่ 1 ใช้เครื่องกำเนิดละอองหมอกแบบอัลตราโซนิก แรงดันไฟฟ้ากระแสตรง 3 -12 โวลต์ กำลังไฟ 1.5 วัตต์ หัวพ่นหมอกเส้นผ่านศูนย์กลางภายนอกปลอกซิลิโคน 20 มิลลิเมตร หัวพ่นหมอก 1 ชุดประกอบด้วยหัวพ่น 4 หัว ใช้จำนวน 2 ชุด ความถี่ในการทำงานของเครื่องพ่นฝอยละอองอัล

ตราโซนิกคือ 108 ± 2 กิโลเฮิรซ์ โดยในส่วนของ 2 ป้อนแรงดันไฟฟ้ากระแสตรงและกระแสไฟฟ้าขาเข้าที่ 5 โวลต์และ 4 แอมแปร์ตามลำดับ เชื่อมผ่านหม้อแปลงไฟฟ้าโดยแรงดันไฟฟ้าขาออกสูงสุด 15 กิโลโวลต์ ซึ่งจ่ายไฟแรงดันสูงแบบพัลส์ ขนาดของบริเวณดิสชาร์จมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 16.25 มิลลิเมตร ยาว 26 เซนติเมตร บริเวณดิสชาร์จประกอบด้วย 4 ชุด แต่ละชุดประกอบด้วยแผ่นอลูมิเนียมความกว้าง 3 เซนติเมตร ตัดเป็นแฉก 30 องศา จำนวน 11 แฉก พร้อมด้วยลวดทองแดงเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.7 มิลลิเมตรและมีท่อขบวนการไหลของละอองน้ำ



ภาพที่ 1 แผนภาพแสดงชุดผลิตน้ำกระตุ้นพลาสมา

ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 24.25 มิลลิเมตร บรรจุอยู่กึ่งกลาง ซึ่งชุดดิสซาร์จพลาสมาถูกบรรจุอยู่ในกล่องอะคริลิกขนาด 25 เซนติเมตร และส่วนที่ 3 ละอองหมอกเหล่านี้ไหลผ่านแผงปล่อยพลาสมาในอากาศโดยตรง เมื่อละอองหมอกเหล่านี้ไหล ผ่านโซนพลาสมา จะถูกทำการควบแน่นด้วยคอนเดนเซอร์ โดยใช้น้ำเย็นที่มีอุณหภูมิประมาณ 0°C โดยทำการเปิดเครื่องทำน้ำกระตุ้นพลาสมาเป็นเวลา 25 นาที

1.2. การจุ่มล้างในน้ำกระตุ้นพลาสมา

1.2.1. ทำการเตรียมตัวอย่างผักสลัดใบกรีนโอ๊คขนาด 3 x 3 cm. โดยวิธีการปลูก 2 รูปแบบคือ แบบไฮโดรโปนิคส์ (H) และปลูกลงดิน (N) ที่เตรียมไว้มาแบ่งรูปแบบละ 4 กรรมวิธี ดังนี้ กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุมคือจุ่มล้างในน้ำประปา กรรมวิธีที่ 2 จุ่มล้างในน้ำกระตุ้นพลาสมา 10 นาที กรรมวิธีที่ 3 จุ่มล้างในน้ำกระตุ้นพลาสมา 15 นาทีและกรรมวิธีที่ 4 จุ่มล้างในน้ำกระตุ้นพลาสมา 20 นาที

1.2.2. ทำการดึงตัวอย่างน้ำที่ผ่านการจุ่มล้างใส่หลอดทดลองที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วหลอดละ 1 mL หลอดแรกคือตัวอย่างที่ไม่ผ่านการเจือจางความเข้มข้นที่ 10^0 (dilution $\times 10^0$) จากนั้นนำตัวอย่างจากหลอด 10^0 ไปทำการเจือจางเพิ่มโดยใช้เทคนิค Serial Dilution ใส่หลอดถัดไปที่มีสารละลาย Peptone 0.1 (%w/v) เตรียมไว้ในหลอดทดลอง จากนั้นทำการเจือจางเพิ่มในหลอดถัดไปอีก 3 ระดับ และเลือกระดับความเจือจางที่มีความเจือจางความเข้มข้นอยู่ที่ 10^{-6} (dilution $\times 10^{-6}$) เนื่องจากเป็นระดับความเจือจางที่มีเชื้อเจริญที่ 30-300 CFU/plate เพื่อไม่ให้เชื้อที่เลี้ยงเจริญในจานเพาะเชื้อมากเกินไป จนนับเชื้อที่เจริญไม่ได้

1.2.3. ขั้นตอนการเตรียมจานเพาะเชื้อจะต้องมีการนำไปอบที่ตู้อบลมร้อน 180°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จึงจะนำมาใช้งานได้และปลอดเชื้อแล้ว ขั้นตอนการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ อาหารเลี้ยงเชื้อมีการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C ความดัน 15 psi เป็นเวลา 15 นาที ก่อนนำไปใช้และเตรียมตะเกียงแอลกอฮอล์ที่จุดไฟแล้วมาอยู่ในอาณาบริเวณทำการทดลอง จากนั้นดูดสารละลายเชื้อที่เตรียมไว้ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ใส่บนลงจานอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar (PCA) แบบสำเร็จรูป ยี่ห้อ HiMedia บริษัท HiMedia Laboratories, India โดยจะทำการชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ 23.5 g ละลายต่อน้ำ DI 1000 mL จากนั้นให้อุณหภูมิ 90°C แล้วรอนจนกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีฟองเดือด จากนั้นปล่อยให้อุณหภูมิลดลงจนถึง 60°C

แล้วทำการเทอาหารเลี้ยงเชื้อลงบนจานเพาะเชื้ออย่างระมัดระวัง จากนั้นปล่อยให้จานอาหารเลี้ยงเชื้อจับกันเป็นวัน ใช้แท่งแก้วเขี่ยเชื้อ (Spreader glass) ทำการเขี่ยบริเวณผิวอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 30 วินาที อย่างระมัดระวัง เมื่อเกลี่ยเชื้อจนทั่วแล้วปิดฝาเพื่อป้องกันไม่ให้เชื้อในอากาศเข้าไปได้

1.2.4. เมื่อเตรียมเชื้อในจานเพาะเชื้อเรียบร้อยแล้วนำไปบ่มที่ตู้อบเพาะเชื้อควบคุมอุณหภูมิ (ยี่ห้อ Memmert, Germany) ที่อุณหภูมิในการบ่ม 37°C ระยะเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อบ่มเสร็จแล้วทำการนับจำนวน colony ของเชื้อจุลินทรีย์ โดยที่การนับปริมาณเชื้อจุลินทรีย์จะนับเป็นกลุ่มของประชากรเชื้อหรือโคโลนี (colony) ซึ่งการหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ (CFU/mL หรือ CFU/g) ได้จากดังสมการที่ 1 ดังนี้

$$\text{ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ (CFU/mL)} = \frac{\text{ค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนีที่นับได้ต่อจานอาหาร}}{\text{ระดับความเจือจาง} \times \text{ปริมาตรอาหารที่ดูมา}} \quad (1)$$

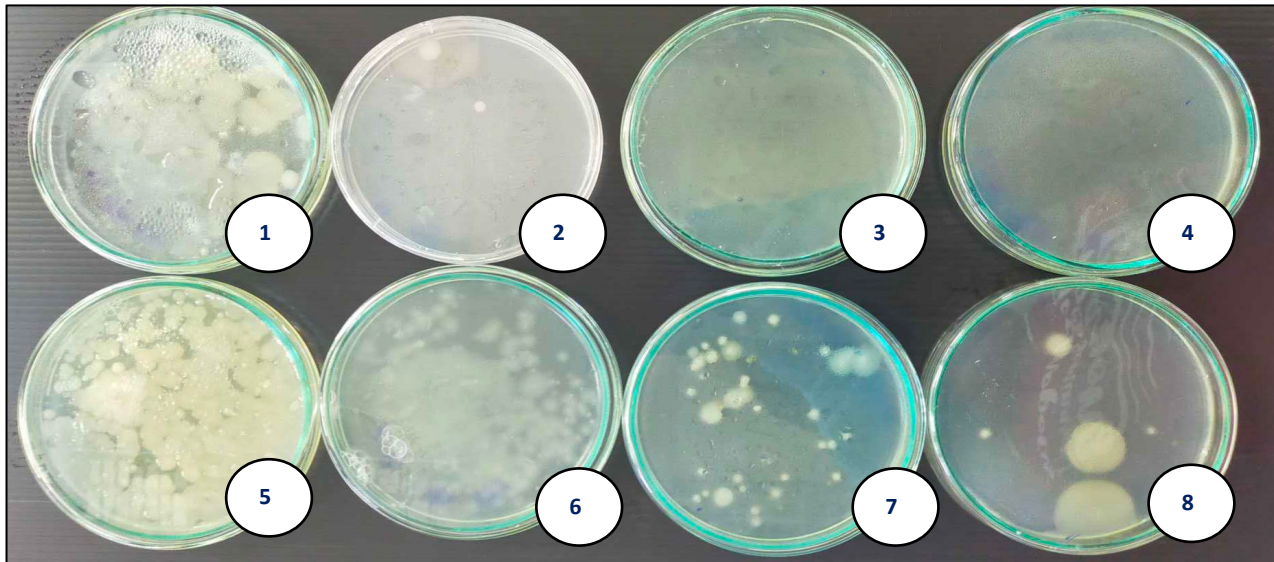
โดยที่ ค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนีที่นับได้ต่อจานอาหารมีหน่วย CFU, ระดับความเจือจางความเข้มข้นของเชื้อในที่นี้จะทำการเจือจางที่ 10^{-6} และปริมาตรอาหารที่ดูมา มีหน่วย mL

1.1.1. จากนั้นนำผักสลัดใบกรีนโอ๊คทุกกรรมวิธีไป

วิเคราะห์ค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) จากเครื่อง Benchtop pH Meter รุ่น pH700 ยี่ห้อ EUTECH ประเทอังกฤษ และทดสอบการเปลี่ยนแปลงสีของใบผักสลัดด้วยเครื่อง Colorimeter ยี่ห้อ HunterLab รุ่น UltraScan แล้วทำการเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส และวัดการเปลี่ยนแปลงสีเป็นเวลา 0 – 4 วัน

3. ผลการวิจัยและอภิปรายผล

การทดสอบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีผลจากน้ำกระตุ้นพลาสมาในผักสลัดใบกรีนโอ๊คจากการทดสอบการเจริญของเชื้อ จุลินทรีย์ในผักสลัดใบกรีนโอ๊คที่ทำการทดสอบจากผักที่ปลูกแบบ N และ H ซึ่งแบ่งการทดสอบเป็นการจุ่มล้างด้วยน้ำประปา และน้ำกระตุ้นพลาสมาในช่วงเวลา 10, 15 และ 20 นาที โดยการทดสอบครั้งนี้จะทำการใช้การวิเคราะห์แบบ Total Plate Count (TPC) มีการเจริญเติบโตดังภาพที่ 2 และผลจากการวิเคราะห์ทางสถิติโดยโปรแกรม Minitab® 17 (Minitab Inc., USA) ด้วยวิธี Tukey- HSD multiple comparison test ดังแสดงในตารางที่ 1



ภาพที่ 2 การเจริญของจุลินทรีย์บนจานเพาะเชื้อโดยมีตัวอย่างของผักสลัดใบกรีนโอ๊คที่ปลูกแบบ ไฮโดรโปนิคส์ (1) HC, (2) H10, (3) H15, (4) H20, และปลูกแบบบนดิน (5) NC, (6) N10, (7) N15 และ (8) N20 ตามลำดับ

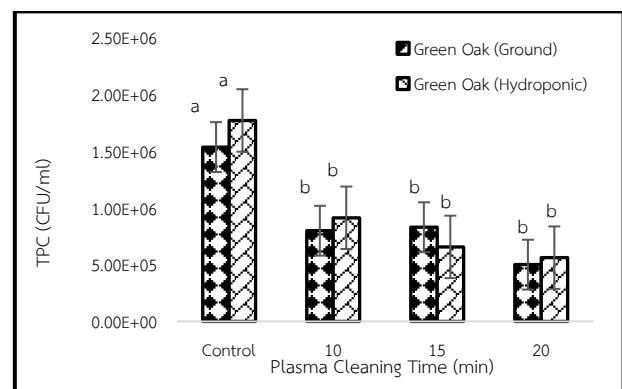
ตารางที่ 1 การเจริญของจุลินทรีย์ในผักสลัดใบกรีนโอ๊คที่จุ่มล้างด้วยน้ำประปาและน้ำกระดุนพลาสมาระยะเวลา 10, 15 และ 20 นาที

ตัวอย่างทดสอบผักสลัดใบกรีนโอ๊คหลังการเก็บเกี่ยว	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (CFU/ml)
NC	1.53 x 10 ⁶ a
ผักสลัดใบกรีนโอ๊คที่ปลูกแบบบนดิน (N)	N10 7.98 x 10 ⁵ b
	N15 8.29 x 10 ⁵ b
	N20 5.00 x 10 ⁵ b
ผักสลัดใบกรีนโอ๊คที่ปลูกแบบไฮโดรโปนิคส์ (H)	HC 1.77 x 10 ⁶ a
	H10 9.12 x 10 ⁵ b
	H15 6.56 x 10 ⁵ b
	H20 5.61 x 10 ⁵ b

หมายเหตุ a,b ตัวอักษรยกกำลังภาษาอังกฤษที่ต่างกันในกลุ่มเดียวกัน หมายถึงค่าดังกล่าวแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากตารางที่ 1 พบว่าปริมาณของจุลินทรีย์ที่เจริญในผักสลัดใบกรีนโอ๊ค NC และ HC ที่ถูกจุ่มล้างด้วยน้ำประปา ยังมีจุลินทรีย์ที่เจริญอยู่ที่ 1.53 x 10⁶ CFU/ml และ 1.77 x 10⁶ CFU/ml ตามลำดับ เมื่อได้จุ่มล้างด้วยน้ำกระดุนพลาสมาพบว่า น้ำกระดุนพลาสมามีสมบัติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่มีผลต่อการเน่าเสียของใบผักสลัด ซึ่งน้ำกระดุนพลาสมามีสมบัติความเป็นอนุมูลอิสระที่สามารถทำลายผนังเซลล์ของจุลินทรีย์โดยสารเหล่านี้จะทำให้เกิดปฏิกิริยา Peroxidation กับ phospholipid cell membrane ของ aerobic bacteria ที่ทำให้ ผัก ผลไม้เกิดการเน่าเสีย เช่น Escherichia coli หรือ Staphylococcus ทำให้แบคทีเรียถูกทำลาย [15] โดยสังเกตจากค่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ได้ จากการทดลองตัวอย่างใบผักในสถานะที่ใช้น้ำกระดุน

พลาสมาจุ่มล้าง 20 นาที N20 และ H20 ได้ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด 5.00 x 10⁵ CFU/ml และ 5.61 x 10⁵ CFU/ml ตามลำดับจะเห็นว่าน้ำกระดุนพลาสมาสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของผักสลัดใบกรีนโอ๊คที่ปลูกแบบ NC และ HC ซึ่งสามารถเห็นแนวโน้มการยับยั้งจุลินทรีย์ และการวิเคราะห์ทางสถิติโดยโปรแกรม Minitab® 17 (Minitab Inc., USA) ด้วยวิธี Tukey- HSD multiple comparison test ของการเปรียบเทียบการล้างด้วยน้ำประปากับการจุ่มล้างด้วยน้ำกระดุนพลาสมาระยะเวลา 10 15 และ 20 นาที ดังภาพที่ 3 ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับงานของ [16,17] ที่พบว่าการล้างด้วยน้ำประปากับการจุ่มล้างด้วยน้ำกระดุนพลาสมามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ทั้งเวลา 10 15 และ 20 นาที ดังแสดงเป็นตัวอักษรยกกำลังภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน



ภาพที่ 3 การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในผักสลัดใบกรีนโอ๊คที่ผ่านการล้างด้วยน้ำประปา และน้ำกระดุนพลาสมาระยะเวลา 10 15 และ 20 นาที

การวิเคราะห์ค่าการเปลี่ยนแปลงสีของผัก สลัดใบกรีนโอ๊ค

จากการทดสอบค่าการเปลี่ยนแปลงของสีด้วยเครื่อง Colorimeter ด้วยหลักการ Color Difference (Delta E, ΔE) โดยจะทำการวิเคราะห์จากค่า L^* a^* และ b^* และไปคำนวณในสมการดังสมการที่ 2 ดังนี้ [18]

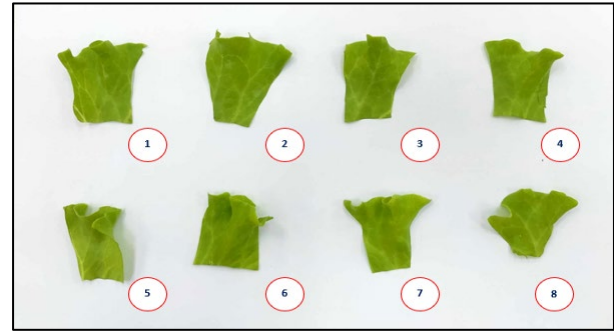
$$\Delta E = \sqrt{(L_1^* - L_2^*)^2 + (a_1^* - a_2^*)^2 + (b_1^* - b_2^*)^2} \quad (2)$$

ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของสีในผักสลัดใบ กรีนโอ๊ค นั้นสามารถบ่งชี้ได้ถึงสภาพของเซลล์พืชภายในและกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ผัก โดยผักนั้นเป็นอาหารที่เสื่อมเสียง่ายเนื่องจากมีปริมาณน้ำสูง มีสารอาหารที่เหมาะสมกับการเจริญของจุลินทรีย์ เมื่อมีแรงกระแทกจากการเก็บเกี่ยว การปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยวที่ไม่เหมาะสมอาจทำให้จุลินทรีย์นั้นเจริญและส่งผลต่อสีของวัตถุดิบได้ สังเกตการณ์เปลี่ยนแปลงของสีของผักสลัดใบกรีนโอ๊ค ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ค่าการเปลี่ยนแปลงสีของผักสลัดใบกรีน โอ๊ค ที่เปลี่ยนไปในแต่ละวัน ของตัวอย่างผักสลัดใบ กรีนโอ๊ค ที่ปลูกแบบไฮโดรโปนิคส์และปลูกแบบลงดิน

ตัวอย่าง ผักสลัดใบ กรีน โอ๊ค	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4
$\Delta E1$	$\Delta E2$	$\Delta E3$	$\Delta E4$	
NC	11.00	25.04	34.90	38.92
N10	12.73	25.08	33.85	37.85
N15	12.21	26.25	33.73	37.18
N20	12.74	26.81	34.44	36.63
HC	8.66	21.47	32.26	37.85
H10	8.37	21.21	32.45	37.41
H15	8.12	21.12	32.54	38.07
H20	8.25	20.98	31.63	37.45

จากตารางที่ 2 จะแสดงให้เห็นข้อมูลของผักสลัดใบกรีนโอ๊คที่ผ่านการล้างด้วยน้ำกระดุนพลาสติกเป็นเวลาทั้งหมด 4 วัน และจะพบว่าค่า ΔE มีค่าเพิ่มขึ้นในแต่ละวันเมื่อเปรียบเทียบผักที่ปลูกแบบไฮโดรโปนิคส์ค่าความต่างของสีจะมีการเปลี่ยนแปลงน้อยกว่าการปลูกแบบลงดินเนื่องจากจุลินทรีย์ของผักที่มีการปลูกบนดินนั้นมีมากกว่าทำให้เกิดการเสียสภาพได้ไวกว่า เมื่อเทียบกับการปลูกแบบไฮโดรโปนิคส์เพราะได้รับจุลินทรีย์โดยตรงจากในดินเพาะปลูก จากการวิเคราะห์ผลของน้ำกระดุนพลาสติกนั้นไม่ส่งผลอย่างมีนัยสำคัญ อาจเป็นเพราะปริมาณน้ำที่ใช้ชำระล้างนั้นมีปริมาณที่น้อย [19] และพบว่าแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของสีค่า (ΔE) ผักสลัดใบกรีนโอ๊คที่ปลูกแบบบนดินและไฮโดรโปนิคส์เพิ่มขึ้นจากที่เก็บจากวันที่ 0 ถึง วันที่ 4 แสดงดังภาพที่ 4 และ 5 ตามลำดับ



ภาพที่ 4 ผักสลัดใบกรีนโอ๊คของวันที่ 0 ที่จุ่มล้างด้วยน้ำกระดุนพลาสติกของตัวอย่างผักสลัดใบกรีนโอ๊คที่ปลูกแบบไฮโดรโปนิคส์ (1) HC, (2) H10, (3) H15, (4) H20, และปลูกแบบบนดิน (5) NC, (6) N10, (7) N15 และ (8) N20 ตามลำดับ



ภาพที่ 5 ผักสลัดใบกรีนโอ๊คของวันที่ 4 ที่จุ่มล้างด้วยน้ำกระดุนพลาสติกของตัวอย่างผักสลัดใบกรีนโอ๊คที่ปลูกแบบไฮโดรโปนิคส์ (1) HC, (2) H10, (3) H15, (4) H20, และปลูกแบบบนดิน (5) NC, (6) N10, (7) N15 และ (8) N20 ตามลำดับ

ซึ่งมีผลแตกต่างจากงานวิจัยของ [11 – 14] คือ การจุ่มล้างด้วยน้ำประปาและน้ำกระดุนพลาสติกที่มีรูปแบบการผลิตที่ต่างกันไป มีความแตกต่างของการเปลี่ยนแปลงสีอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้เป็นผลมาจากการสร้างน้ำกระดุนพลาสติกจากเครื่องต้นแบบปัจจุบัน กระดุนน้ำพลาสติกเพียงรอบเดียวไม่ได้เป็นระบบหมุนวน จึงคาดว่าทำให้การเปลี่ยนแปลงทางเคมีที่ส่งผลต่อการยับยั้งการเน่าเสียในผักสลัดใบกรีน โอ๊คยังไม่เห็นผลต่างกันอย่างชัดเจน

การศึกษาค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) ของน้ำกระดุนพลาสติก

ค่าความเป็นกรด - ด่าง เป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเชิงโครงสร้างโมเลกุลของน้ำและเซลล์ผักสลัดใบกรีนโอ๊คทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันระหว่างกันและกัน แต่การกระดุนน้ำพลาสติกเพียงรอบเดียวนั้นไม่ได้มีผลกระทบต่อค่ากรด - ด่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยโปรแกรม Minitab® 17 (Minitab Inc., USA) ด้วยวิธี Tukey- HSD multiple comparison test ดังแสดงได้ในตารางที่ 3 [20]

ตารางที่ 3 ค่าความเป็นกรด - ด่างของน้ำกระตุ้นพลาสมาใน ตัวอย่างจุ่มล้างน้ำผักสลัดใบกรีนโอ๊ค

ผักสลัดปลูกแบบลงดิน		ผักสลัดปลูกแบบไฮโดรโปนิคส์	
ตัวอย่าง	pH	ตัวอย่าง	pH
NC	7.13±0.08a	HC	7.09±0.04a
N10	6.89±0.04a	H10	6.89±0.03a
N15	6.85±0.04a	H15	6.87±0.04a
N20	6.91±0.06a	H20	6.89±0.04a

หมายเหตุ a,b ตัวอักษรยกกำลังภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันใน
คอลัมน์เดียวกัน หมายถึงค่าดังกล่าวแตกต่างกันอย่างมี นัยสำคัญ
ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

4. สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาผลของการชะล้างผักสลัดใบกรีนโอ๊คด้วย
น้ำกระตุ้นพลาสมา ผลการทดสอบการยับยั้งจุลินทรีย์มี
ความสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้จริงทั้งผักสลัดใบกรีนโอ๊คที่ปลูก
แบบบนดินและปลูกแบบไฮโดรโปนิคส์ โดยพิจารณาจากค่า
ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่มีผลต่อค่าความ
แตกต่างของสีที่เปลี่ยนแปลงตั้งแต่วันที่ 0 ถึงวันที่ 4 และไม่ได้มี
ผลกระทบต่อค่ากรด - ด่าง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังที่กล่าว
มาข้างต้นจะเห็นว่าประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ ค่าการ
เปลี่ยนแปลงของสีและผลกระทบต่อค่ากรด - ด่าง ยังมีผลความ
แตกต่างเพียงเล็กน้อยหรือไม่มีผลกระทบ เนื่องจากเครื่องต้นแบบ
ปัจจุบัน กระตุ้นน้ำพลาสมาเพียงรอบเดียว จึงคาดว่าจะมีการ
ปรับปรุงรูปแบบการผลิตน้ำกระตุ้นพลาสมาแบบละอองหมอก
เป็นระบบหมุนวนหรือกระตุ้นพลาสมาที่น้ำโดยตรง เพื่อนำผลการ
ทดลองมาวิเคราะห์และเปรียบประสิทธิภาพการยับยั้ง
เชื้อจุลินทรีย์ในผักสลัดใบกรีนโอ๊คในอนาคตต่อไป

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี นครราชสีมา
ที่สนับสนุนการทำวิจัยนี้

6. เอกสารเอกสารอ้างอิง

- [1] ณัฐธิดา ปัญญามากไพบุลย์, พันธจิตต์ สีเหนียง. พฤติกรรม
การบริโภคและการตัดสินใจเลือกซื้อผักสลัดของผู้บริโภคใน
สถานประกอบการ PB Valley KaoYai Winery อำเภอปาก
ช่องจังหวัดนครราชสีมา. วิทยาศาสตร์เกษตรและการ
จัดการ. 2561; 1(1): 37-46
- [2] สุภาพร ราชฯ, ศิราธิญากร จันทร์ขิราพร. ผลของน้ำหมัก
ชีวภาพจากเศษปลาและผักที่มีต่อการ เจริญเติบโตและ
ลักษณะทาง สรีระวิทยาของผักกาดหอมพันธุ์โอ๊คที่ปลูกใน
ระบบไฮโดรโปนิคส์. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา. 2560;
22:216-224
- [3] Brackett RE, Splittstoesser DF. Compendium of
methods for the microbiological examination of

foods. American Public Health Association. 2001.
4: 515-520.

- [4] Jackson G., Madden J., Hill W., et al. Investigation of
Food Implicated in Illness. In: Bacteriological
Analytical Manual. [online]. [cited 2024 Aug. 3];
Available from: URL: <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-25.html>.
- [5] อติศร เสวตวัฒน์, ปรีชา จึงสมานกุล. ซาลโมเนลลา และลิส
ทีเรียในผักสด. กองวิเคราะห์อาหาร กรมวิทยาศาสตร์
การแพทย์. 2538; 25 (3): 185-189.
- [6] ภาวานา บุนนาค, ชวรัตน์ ทับทิมไทย, สุวณี กิตติลาภานนท์
และคณะ. งานบริการวิเคราะห์สินค้าเกษตรร้านพืชเพื่อการ
ส่งออก [ออนไลน์]. 2550; [เข้าถึงเมื่อ 2567 สิงหาคม 8].
เข้าถึงได้จาก: URL:<http://it.dao.go.th/re/5/show.php?record>
- [7] ปรีชา จึงสมานกุล, นวรัตน์ รัตนดิลล ญ ภูเก็ท และ
กมลวรรณ กันแต่ง. กรมวิทยาศาสตร์ การแพทย์. 2553; 52
(1-2) : 30-39
- [8] Gil M. I., Selma M. V., López-Gálvez F., et al. Fresh-
cut product sanitation and wash water disinfection:
problems and solutions. International journal of
food microbiology. 2009. 134(1-2), 37-45.
- [9] เครือวัลย์ พรหมลักษณ์. พลาสมาพลังต่อสู้เชื้อโรคในอาหาร.
[ออนไลน์]. 2556. [2567 มิถุนายน 23]. เข้าถึงได้จาก:
<http://fic.nfi.or.th/images/stories/document/IN-18-06-56.pdf>.
- [10] นาริรัตน์ อนรรฆเมธี. Plasma beamอาวุธลับสำหรับยืด
อายุอาหาร. [ออนไลน์]. 2554. [2567 มิถุนายน 23]. เข้าถึง
ได้จาก:http://fic.nfi.or.th/images/stories/document/innovation_4778.pdf.
- [11] Khan M. S. I., and Y. J. Kim. Inactivation mechanism
of Salmonella typhimurium on the surface of
lettuce and physicochemical quality assessment of
samples treated by micro-plasma discharged water.
Innovative Food Science & Emerging Technologies.
2019. 52: 17–24.
- [12] Fröhling A., J Ehlbeck, and O. Schlüter. Impact of
a pilot-scale plasma-assisted washing process on
the culturable microbial community dynamics
related to fresh-cut endive lettuce. Applied
Sciences. 2018. 8(11): 2225.
- [13] Patange A., P. Lu, D. Boehm, et al. Efficacy of cold
plasma functionalised water for improving
microbiological safety of fresh produce and wash
water recycling. Food Microbiology. 2019.
84:103226.

- [14] Schnabel U., M. Andrasch, J. Stachowiak, et al. Sanitation of fresh-cut endive lettuce by plasma processed tap water (PPtW): Up-scaling to industrial level. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 2019. 53:45–55.
- [15] Rastogi G., Sbodio A., Tech J., et al. Leaf microbiota in an agroecosystem: spatiotem - poral variation in bacterial community composition on field-grown lettuce. 2012. *ISME J.* 6 (10): 1812–1822
- [16] Heema K.N. Vyas, Binbin Xia, David Alam e, et al. Plasma activated water as a pre-treatment strategy in the context of biofilm-infected chronic wounds. *Biofilm*. 2023. 6: 100154.
- [17] Panagiotis D., Marianna G., Zacharoula M., et al. Application of plasma-activated water as an antimicrobial washing agent of fresh leafy produce. *Plasma Processes and polymers*. 2021: e2100030.
- [18] C. S. Gode and A. N. Ganar. Image Retrieval by Using Colour, Texture and Shape Features. *Int. J. Adv. Res. Electr. Electron. Instrum. Eng.* 2014. 3(4): 8637–8644.
- [19] Rouphael Y., Colla G. Growth, yield, fruit quality and nutrient uptake of hydroponically cultivated zucchini squash as affected by irrigation systems and growing seasons. *Scientia Horticulturae*. 2015. 105(2): 177-195.
- [20] Yong H. I., Park J., Kim H. J., et al. An innovative curing process with plasma-treated water for production of loin ham and for its quality and safety. *Plasma Processes and Polymers*. 2018. 15(2): 1700050