การใช้ เปอร์แอซีติกแอซิดเพื่อทดแทนการใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ ในการลดปริมาณ *Vibrio parahaemolyticus* ที่ถ่ายลงบนกุ้งสดในขั้นตอนการล้างก่อน กระบวนการแช่แข็ง

REPLACING OF SODIUM HYPOCHLORITE BY PERACETIC ACID FOR REDUCING *VIBRIO PARAHAEMOLYTICUS* INOCULATED ON FRESH SHRIMP IN WASHING STEP PRIOR FREEZING PROCESS

ธันวา สมพื้น

TANVA SOMPUEN

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาสุขาภิบาลอาหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ.2554

KMITL-2011-AI-M-054-119

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การใช้ เปอร์แอซีติกแอซิดเพื่อทดแทนการใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ในการลดปริมาณ *Vibrio parahaemolyticus* ที่ถ่ายลงบนกุ้งสดในขั้นตอนการล้างก่อน กระบวนการแช่แข็ง

REPLACING OF SODIUM HYPOCHLORITE BY PERACETIC ACID FOR REDUCING *VIBRIO PARAHAEMOLYTICUS* INOCULATED ON FRESH SHRIMP IN WASHING STEP PRIOR FREEZING PROCESS

ธันวา สมพื้น

TANVA SOMPUEN

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.120068
วัน, เดือน, ปี.21 ก.พ. 2555

b.....
i.....

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาสุขาภิบาลอาหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ.2554

KMITL-2011-AI-M-054-119

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

REPLACING OF SODIUM HYPOCHLORITE BY PERACETIC ACID FOR REDUCING *VIBRIO PARAHAEMOLYTICUS* INOCULATED ON FRESH SHRIMP IN WASHING STEP PRIOR FREEZING PROCESS

TANVA SOMPUEN

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF

MASTER OF SCIENCE IN FOOD SANITATION

FACULTY OF AGRO-INDUSTRY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2011

KMITL-2011-AI-M-054-119

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2011

FACULTY OF AGRO-INDUSTRY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การใช้เปอร์แอซีติกแอซิดเพื่อทดแทนการใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ในการลดปริมาณ *Vibrio parahaemolyticus* ที่ถ่ายลงบนกุ้งสดในกระบวนการล้างก่อนกระบวนการแช่แข็ง

Replacing of Sodium Hypochlorite by Peracetic Acid for Reducing *Vibrio parahaemolyticus* Inoculated on Fresh Shrimp in Washing Step Prior Freezing process

ชื่อนักศึกษา นางสาวธันวา สมพื้น

รหัสประจำตัว 49068751

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา สุขาภิบาลอาหาร

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รศ.ดร.วราวุฒิ ครูส่ง

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ลายมือชื่อ
รศ.ดร.วราวุฒิ ครูส่ง	
รศ.ดร.อดิศร เสวตวิวัฒน์	
ดร.อพัชชา จินดาประเสริฐ	
รศ.ดร.สุเมธ ตันตระเธียร	

วัน / เดือน/ ปีที่สอบ 25 ตุลาคม 2554 เวลา 14.00-17.00 น.

สถานที่สอบ ณ ห้อง A 303 อาคารเจ้าคุณทหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตรรับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์ ดร. ปรีชา ตั้งเจริญชัย)

คณบดีคณะอุตสาหกรรมเกษตร

วันที่ 18 **เดือน** ต.ค. **พ.ศ.** ๕๔

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การใช้ เปอร์แอซีติกแอซิดเพื่อทดแทนการใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ ในการลดปริมาณ *Vibrio parahaemolyticus* ที่ถ่ายลงบนกุ้งสดในขั้นตอนการล้างก่อนกระบวนการแช่เข็ง
นักศึกษา	นางสาวธันวา สมพื้น
รหัสประจำตัว	49068751
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	สุขาภิบาลอาหาร
พ.ศ.	2554
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ.ดร.วราวุฒิ ครูส่ง

บทคัดย่อ

เชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* (VP) เป็นเชื้อก่อโรคที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค และเป็นปัญหาสำคัญต่อเศรษฐกิจการส่งออกสินค้ากุ้งแช่แข็งของไทย จึงทำการศึกษาการล้างเพื่อลดเชื้อ VP โดยนำเปอร์แอซีติกแอซิดมาใช้แทนการใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ จากการศึกษาระดับความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ สารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด และระยะเวลาสัมผัสเพื่อใช้ในการลดเชื้อ VP พบว่า ความเข้มข้นและระยะเวลาในการลดเชื้อของสารเคมีทั้งสองมีผลต่อการลดเชื้อ VP ที่ปริมาณเริ่มต้นเฉลี่ย 5.7 log CFU/ml ในระดับหลอดทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยพบว่าที่ 50 ppm ของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์และ 10 ppm ของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด ระยะเวลา 1 นาที สามารถลดเชื้อ VP ได้โดยไม่พบโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS แต่พบว่าเซลล์เชื้อ VP ที่บาดเจ็บสามารถฟื้นตัวกลับได้ภายหลังการบ่มในอาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Broth (TSB)+2% NaCl เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อเพิ่มระยะเวลาสัมผัส 5 นาที มีเพียงสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดเท่านั้นที่สามารถลดเชื้อ VP ได้อย่างสมบูรณ์ โดยไม่พบเซลล์ VP ที่บาดเจ็บฟื้นตัวกลับมาเจริญ ดังนั้นจึงเลือกใช้สารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดเป็นสารที่ใช้ในการล้างกุ้งต่อไป เมื่อล้างกุ้งสดที่ถ่ายเชื้อ VP (ปริมาณเริ่มต้นเฉลี่ย 4.0 log CFU/g) ด้วยสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด พบว่าความเข้มข้น 100 ppm ที่เวลา 1 5 และ 10 นาที ไม่สามารถทำลายเชื้อได้หมด โดยสามารถลดปริมาณเซลล์ VP ได้ 2.32 3.25 และ 4.65 log CFU/g ตามลำดับ และที่ระยะเวลาสัมผัส 10 นาที จะพบว่า สารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดมีประสิทธิภาพในการลดเชื้อ VP ได้อย่างสูงสุด ดังนั้นจึงเลือกสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดที่ความเข้มข้น100 ppm ระยะเวลา 10 นาที มาใช้ในขั้นตอนการล้าง ส่วนน้ำล้างที่ผ่านการล้างกุ้งที่ถ่ายเชื้อ VP ปริมาณเริ่มต้นเฉลี่ย 4.0 log CFU/g ที่ความเข้มข้นสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด 100 ppm ในเวลา 1 5 และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

10 นาที พบว่า สามารถลดเชื้อ VP ได้อย่างสมบูรณ์ โดยไม่พบโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS และไม่พบเซลล์ VP ที่บาดเจ็บฟื้นตัวกลับมา ดังนั้นจึงเลือกใช้ระดับความเข้มข้นดังกล่าวในการล้างกุ้ง เพื่อช่วยลดปัญหาเชื้อ VP ที่ปนเปื้อนในกระบวนการผลิตจากขั้นตอนการล้างได้ และพบว่าสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดที่ความเข้มข้น 100 ppm สามารถล้างกุ้งซ้ำได้อีก 2 ครั้ง (รวมการล้างทั้งหมด 3 ครั้ง) ระยะเวลาไม่เกิน 30 นาที เนื่องจากสารฆ่าเชื้อยังมีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์และเซลล์ VP ที่บาดเจ็บที่อยู่ในน้ำล้างไม่สามารถฟื้นตัวได้ จากการศึกษาผลของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดต่อคุณสมบัติทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กุ้ง โดยที่ลักษณะทางด้านสี กลิ่น เนื้อสัมผัส รสชาติ และความชอบโดยรวมในกุ้งที่ผ่านการล้างด้วยสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดที่ความเข้มข้น 100 ppm พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกุ้งที่ไม่ล้างด้วยสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด ดังนั้นสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดที่ความเข้มข้น 100 ppm ระยะเวลา 10 นาที จึงเหมาะสมที่จะประยุกต์ใช้ในกระบวนการล้างกุ้งก่อนการแช่แข็ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis	Replacing of Sodium Hypochlorite by Peracetic Acid for Reducing *Vibrio parahaemolyticus* Inoculated on Fresh Shrimp in Washing Step prior Freezing Process
Student	Miss.Tanva Sompuen
Student ID.	49068751
Degree	Master of Science
Program	Food Sanitation
Year	2011
Thesis Advisor	Assoc.Prof.Dr.Warawut Krusong

ABSTRACT

Vibrio parahaemolyticus (VP) is one of the most prevalent bacterial pathogens causing food-borne disease worldwide. It is a main problem to Thai's export of frozen shrimp products. The concentration of sodium hypochlorite and peracetic acid and their appropriate contact time on reduction of VP were preliminarily investigated. The initial amount of VP was controlled at 5.7 log CFU/ml during *in vitro* study. At 50 ppm sodium hypochlorite or 10 ppm peracetic acid with 1 min of contact time, no survival of VP was found. But some injured cells were recovered after cultivating in Trypticase Soy Broth (TSB) supplemented with 2% NaCl for 24 h. The prolonging contact time to 5 min was further investigated. No survival of VP was found only in case of peracetic acid. Hence, the peracetic acid was finally assigned for reduction of VP during washing step of fresh shrimps inoculated with 4.0 log CFU/g of VP. At 100 ppm peracetic acid for 1, 5 and 10 minutes, the VP was reduced to 2.32, 3.25 and 4.65 log CFU/g, respectively. This result showed that 10 min of contact time provided the highest efficiency in reduction of VP. Then, peracetic with 100 ppm and 10 min of contact time was the selected condition for shrimp washing steps. In washing water added with 100 ppm of peracetic acid for contact time of 1 5 and 10 min, the result showed that no VP was found on TCBS agar and no recovered cells on TSB+2%NaCl. Moreover, the 100 ppm peracetic acid can be used for the next two washing steps (totally three washing times) within 30 min. The effect of peracetic acid on shrimp was tested for sensory evaluation. The appearance of the color, odor, texture, taste and overall liking of the shrimp washed with peracetic acid at 100 ppm showed no significant differences when compared

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

with obtained from no peracetic acid washing water. Consequently, the 100 ppm of peracetic acid is recommended to apply as disinfectant for washing step of shrimp before freezing.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ ด้วยความกรุณาจาก รศ.ดร. วราวุฒิ ครูส่ง ที่ให้เกียรติเป็นอาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ รศ.ดร. อดิศร เสวตวิวัฒน์ ดร. อพัชชา จินดาประเสริฐ และ รศ.ดร. สุเมธ ตันตระเธียร ที่กรุณาให้ความรู้และให้การแนะนำอันเป็นประโยชน์ ตลอดจนช่วยตรวจทานและแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ จนสำเร็จสมบูรณ์ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณ คุณเฉิน หง ซี และคุณวรินญา สุจริยา ผู้จัดการและรองผู้จัดการ บริษัท อินเตอร์แปซิฟิกมารีนโปรดักส์ จำกัด ที่เป็นผู้เปิดโอกาสให้เข้าศึกษาในช่วงของการทำงาน รวมถึงสนับสนุนทรัพยากรต่างๆ ในการทำวิทยานิพนธ์นี้ และขอขอบคุณน้องๆ บริษัทอินเตอร์แปซิฟิกมารีนโปรดักส์ จำกัด และน้องๆ นักศึกษาสาขาวิชาสุขาภิบาลอาหาร ที่ได้เสียสละเวลาช่วยเหลือในระหว่างทำการทดลอง และช่วยดูงานในระหว่างศึกษาและทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณ คุณวิชิต เหมพรรณไพเราะ และคุณอุกฤษฎ์ ปริญญาวุฒิชัย บริษัท เคลมเซิร์ฟ จำกัด ที่สนับสนุนสารฆ่าเชื้อที่ใช้ในการทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณ นักวิทยาศาสตร์ เจ้าหน้าที่ คณะอุตสาหกรรมเกษตร ที่คอยให้การช่วยเหลือแนะนำในด้านต่างๆ และอำนวยความสะดวก ในระหว่างทำการทดลอง

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณ เตี่ยชนะ สมพื้น (ที่ได้ล่วงลับไปแล้ว) และคุณแม่กิ่งกานต์ สมพื้น คุณปัทมา แก้วศรีและเด็กหญิงมาวา สมพื้น ที่เป็นแรงใจ กำลังใจที่สำคัญให้เพียรพยายามในการศึกษาครั้งนี้ รวมถึง ญาติ พี่ น้อง ที่คอยห่วง และเป็นกำลังใจด้วยดีเสมอมา

คุณค่า และประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ข้าพเจ้าขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

ธันวา สมพื้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....III

กิตติกรรมประกาศ.....V

สารบัญ.....VI

สารบัญตาราง.....VIII

สารบัญภาพ.....IX

บทที่ 1 บทนำ.....1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....1

1.2 ขอบเขตการวิจัย.....1

1.3 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....1

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....2

บทที่ 2 ทฤษฎีและผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....3

2.1 ลักษณะโดยทั่วไปของ *Vibrio parahaemolyticus* (VP).....3

2.2 สมบัติในการก่อโรคของ VP.....4

2.3 การระบาดของโรคที่เกิดจาก VP และการปนเปื้อนในอาหาร.....5

2.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อ VP.....7

2.5 โซเดียมไฮโปคลอไรท์ (Sodium hypochlorite).....9

2.6 เปอร์แอซีติกแอซิด (Peracetic acid).....14

บทที่ 3 การดำเนินงานวิจัย.....18

3.1 วัตถุดิบ.....18

3.2 เครื่องมือ สารเคมี.....18

3.3 สถานที่ทำการทดลอง.....20

3.4 วิธีการทดลอง.....20

บทที่ 4 ผลการทดลองและการวิจารณ์ผล.....27

4.1 ประสิทธิภาพของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดและโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่เหมาะสมในการลดปริมาณ *Vibrio parahaemolyticus* (VP) ในระดับหลอดทดลอง..27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.2 ผลการเตรียมตัวอย่างกุ้งสดที่ใช้ในการทดลอง....34
4.3 ประสิทธิภาพของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด ที่เหมาะสมในการลด VP บนผิวกุ้งและน้ำล้าง....36
4.4 ประสิทธิภาพของสารละลายเปอร์แอซิติกแอซิดในการล้างซ้ำเพื่อลดปริมาณ VP (ที่ปริมาณเริ่มต้น 4.0 log CFU/g) บนผิวกุ้ง....42
4.5 ผลของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดต่อคุณสมบัติทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กุ้ง....44

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ....48
5.1 สรุปผลการทดลอง....48
5.2 ข้อเสนอแนะ....50

บรรณานุกรม....51

ภาคผนวก....57
ก. การเตรียมเซลล์ *Vibrio parahaemolyticus* (VP)....58
ข. วิธีการตรวจนับเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* (VP)....60
ค. วิธีทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* (VP)....62
ง. การเตรียมสารเคมี....65
จ. ข้อมูลผลการทดลอง....71
ฉ. แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กุ้ง....74

ประวัติผู้เขียน....76

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 ลักษณะเฉพาะของการเจริญของเชื้อ VP....8

2.2 ความสัมพันธ์ระหว่าง pH กับความเข้มข้นของคลอรีน....12

2.3 อิทธิพลของอุณหภูมิในการยับยั้งสปอร์ของ *Bacillus metiens* ของโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ที่ความเข้มข้น 25 ppm....13

4.1 ค่า pH ของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดที่ความเข้มข้นต่างๆหลังการเตรียมสารละลาย....27

4.2 ค่า pH ของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ที่ความเข้มข้นต่างๆหลังการเตรียมสารละลาย..28

4.3 ผลการศึกษาอุณหภูมิของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด และระยะเวลาในการทำลายเชื้อ VP (ที่ปริมาณเริ่มต้น 4.0 log CFU/g) บนผิวกุ้ง....37

4.4 ค่า pH ของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดที่ความเข้มข้นต่างๆ ภายหลังการเตรียมสารละลาย และภายหลังจากล้างตัวอย่างกุ้ง....38

4.5 ผลการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด และระยะเวลาในการทำลายเชื้อ VP (ที่ปริมาณเริ่มต้น 4.0 log CFU/g) บนผิวกุ้ง....39

4.6 ผลการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด และระยะเวลาในการทำลายเชื้อ VP (ที่ปริมาณเริ่มต้น 4.0 log CFU/g) ในน้ำล้าง....40

4.7 ปริมาณเชื้อ VP ที่รอดชีวิตบนผิวกุ้งและปริมาณความเข้มข้นของสารละลายเปอร์แอซิติก แอซิดที่เหลือ ภายหลังการล้างทั้งหมด 5 ครั้ง....43

4.8 ผลการทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กุ้ง....46

จ. 1 ผลของความเข้มข้นของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด และระยะเวลาในการทำลายเชื้อ VP (ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 5.7 log CFU/ml)....72

จ. 2 ผลของความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ และระยะเวลาในการทำลายเชื้อ VP (ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 5.7 log CFU/ml)....73

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

2.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus*.....3
2.2 จำนวนเชื้อ VP ที่มีโอกาสก่อให้เกิดโรค.....5
2.3 อัตราป่วยต่อประชากรแสนคนของโรคอาหารเป็นพิษ จำแนกตามรายปี ประเทศไทยปี พ.ศ. 2538-2548.....7
3.1 กุ้งวัตถุดิบ (head on) ก่อนที่จะนำมาใช้ในการศึกษา (ขนาดน้ำหนักเฉลี่ย 13 กรัมต่อตัว).....18
3.2 ชุดทดสอบสำหรับตรวจหาปริมาณความเข้มข้นของเปอร์แอซีติกแอซิด.....22
3.3 ชุดทดสอบสำหรับตรวจหาปริมาณความเข้มข้นของโซเดียมไฮโปคลอไรท์.....23
4.1 ผลของความเข้มข้นของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด และระยะเวลาสัมผัส ต่อการลดลง ของเชื้อ VP ในหลอดทดลอง.....30
4.2 การฟื้นตัวของเซลล์ VP ที่บาดเจ็บเมื่อบ่มในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB+2% NaCl เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 35-37°ซ โดยเซลล์ VP ที่บาดเจ็บเป็นผลจากการใช้สารละลายเปอร์แอซิติกแอซิด (PAA) ที่ความเข้มข้น; (ก) ความเข้มข้น 5 ppm; (ข) ความเข้มข้น 10 ppm (ค) ความเข้มข้น 20 ppm; (ง) ความเข้มข้น 30 ppm.....31
4.3 ผลของความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ และระยะเวลาสัมผัส ต่อการลดลงของเชื้อ VP ในหลอดทดลอง.....32
4.4 การฟื้นตัวของเซลล์ VP ที่บาดเจ็บเมื่อบ่มในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB+2% NaCl เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 35-37°ซ โดยเซลล์ VP ที่บาดเจ็บเป็นผลจากการใช้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ที่ความเข้มข้น; (ก) ความเข้มข้น 10 ppm; (ข) ความเข้มข้น 30 ppm (ค) ความเข้มข้น 50 ppm; (ง) ความเข้มข้น 100 ppm.....33
4.5 กุ้งสดที่ผ่านการล้างด้วยสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดเปรียบกับชุดควบคุม: (ก) กุ้งล้างด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ที่ความเข้มข้น 100 ppm 5 นาที; (ข) กุ้งล้างด้วยสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด ที่ความเข้มข้น 10 ppm 5 นาที; (ค) กุ้งชุดควบคุม ล้างด้วยน้ำเปล่า.....34
4.6 การล้างเพื่อลดเชื้อจุลินทรีย์ดั้งเดิมที่รอดชีวิตบนผิวกุ้ง : (ก) ภาชนะปลอดเชื้อ; (ข) น้ำกลั่นฆ่าเชื้อปริมาตร 200 มิลลิลิตร; (ค) ตรวจสอบปริมาณไฮโปคลอไรท์ โดยใช้กระดาษวัดค่าไฮโปคลอไรท์; (ง) ล้างกุ้งขั้นตอนละ 1 นาที.....35
4.7 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดที่เหลือรอดหลังผ่านขั้นตอนการล้าง (log CFU/g).....36
4.8 ผลของความเข้มข้นของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด และระยะเวลาสัมผัส ต่อการลดลงของเชื้อ VP (ที่ปริมาณเริ่มต้น 4.0 log CFU/g) บนผิวกุ้ง..... 41

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

4.9 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์กุ้ง หลังการล้างเป็นระยะเวลา 10 นาที: (ก) กุ้งที่ล้างด้วยน้ำเปล่า; (ข) กุ้งที่ล้างด้วยสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด 80 ppm; (ค) กุ้งที่ล้างด้วยสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด 100 ppm; (ง) กุ้งที่ล้างด้วยสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด 150 ppm ; (จ) กุ้งที่ล้างด้วยสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด 200 ppm.....45

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

อุตสาหกรรมกุ้งแช่แข็ง เป็นอุตสาหกรรมส่งออกที่สำคัญกับเศรษฐกิจของประเทศไทย สร้างรายได้เข้าประเทศมูลค่าสูง ในปัจจุบันอุตสาหกรรมนี้มีการแข่งขันทางการค้าสูงขึ้น ประกอบกับประเทศไทยเคยประสบปัญหาคุณภาพของสินค้าทะเล กล่าวคือประเทศผู้นำเข้าตรวจพบเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคทางเดินอาหารปนเปื้อนในกุ้งแช่แข็ง สำหรับในการผลิตเพื่อลดจำนวนจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียและทำลายจุลินทรีย์ชนิดที่ก่อให้เกิดโรค ในปัจจุบันนี้สารฆ่าเชื้อที่นิยมใช้ในการล้างกุ้ง ได้แก่สารประกอบคลอรีนที่อยู่ในรูปสารประกอบไฮโปคลอไรท์ เนื่องจากสารนี้มีราคาถูกแต่เมื่อพบว่าสารประกอบคลอรีนอาจทำปฏิกิริยากับสารอินทรีย์ในน้ำเกิดสารประกอบที่เรียกว่า ไตรฮาโลมีเธน (trihalomethane) ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็ง ทำให้มีการทดลองสารฆ่าเชื้อตัวอื่นมาใช้เปรียบเทียบ เช่น กรดเปอร์แอซีติกแอซิด เนื่องจากเป็นเปอร์ออกไซด์ประเภทสารอินทรีย์ละลายในน้ำและค่อนข้างคงตัวเมื่อสลายตัวไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม

ในงานวิจัยนี้มุ่งศึกษาถึงประสิทธิภาพของเปอร์แอซีติกแอซิดและโซเดียมไฮโปคลอไรท์ในขั้นตอนการล้างกุ้งก่อนการแช่แข็ง เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมของสารฆ่าเชื้อในการลดจำนวน *Vibrio parahaemolyticus* (VP) ในหลอดทดลอง จากนั้นศึกษาอัตราการเหลือรอดของเชื้อ VP บนผิวกุ้งและน้ำล้าง ภายหลังการล้างด้วยสารทั้งสองชนิดทั้งนี้เพื่อเป็นประโยชน์ในการประกันคุณภาพ ความปลอดภัยของอาหารให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพตามมาตรฐานและมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคและเพื่อส่งเสริมความเชื่อมั่นให้กับอุตสาหกรรมกุ้งไทยในด้านคุณภาพเพื่อสู้กับตลาดต่างประเทศได้

1.2 ขอบเขตการวิจัย

งานวิจัยนี้ เป็นการนำเปอร์แอซีติกแอซิด มาใช้แทนการใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ เพื่อติดตามการลดลงของปริมาณเชื้อ VP ที่ถ่ายบนกุ้งสด

1.3 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.3.1 ศึกษาความเข้มข้นของเปอร์แอซีติกแอซิด และโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่เหมาะสมในการลดปริมาณเชื้อ VP ในระดับหลอดทดลอง

1.3.2 ศึกษาอัตราการเหลือรอดของเชื้อ VP ภายหลังการฆ่าเชื้อด้วยเปอร์แอซีติกแอซิดบนผิวกุ้งและในน้ำล้าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3.3 ศึกษาประสิทธิภาพของการใช้เปอร์แอซีติกแอซิดในน้ำล้างกุ้งมากกว่า 1 ครั้ง

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทราบประสิทธิภาพของการใช้เปอร์แอซีติก แอซิด ที่ความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมเพื่อลดปริมาณ VP ในขั้นตอนการล้างกุ้ง

1.4.2 นำไปประยุกต์ใช้ในวิธีการล้างกุ้งสด ในกระบวนการผลิตก่อนการแช่แข็งในระดับโรงงานอุตสาหกรรมได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ลักษณะโดยทั่วไปของ *Vibrio parahaemolyticus* (VP)

เชื้อ VP เป็นแบคทีเรียจัดอยู่ในวงศ์ Vibrionaceae แกรมลบ รูปท่อนอาจเป็นท่อนตรงหรือท่อนโค้ง ไม่สร้างสปอร์ (Baumann *et al.*, 1984) มีแฟลกเจลลาหนึ่งเส้นอยู่ที่ปลายข้างหนึ่ง แต่ถ้าเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีแฟลกเจลลาหลายเส้น (peritrichous flagella) (Sakasaki *et al.*, 2006) เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวจะสร้างแฟลกเจลลาที่มีเยื่อหุ้มขนาดใหญ่ 1 เส้นติดอยู่กับส่วนของเยื่อหุ้มเซลล์ด้านนอกซึ่งใช้ในการเคลื่อนที่ในสภาพแวดล้อมที่เป็นของเหลว และเมื่อเลี้ยงในอาหารแข็งแบคทีเรียจะมีการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยา หลังจากถูกถ่ายจากอาหารเหลวลงสู่อาหารแข็งแบคทีเรียจะหยุดการแบ่งเซลล์และเริ่มขยายตัวออก พร้อมกับสร้างแฟลกเจลลาจำนวนมาก (Belas and Colwell, 1982) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ VP แสดงในภาพที่ 2.1

ภาพที่ 2.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus*
ที่มา : EHA Consulting group,Inc. (2009)

เชื้อ VP จัดเป็นแบคทีเรียในกลุ่ม Halophile ซึ่งต้องการเกลือในการเจริญ (Brooks *et al.*, 2003) สามารถพบเชื้ออาศัยอยู่ในชายฝั่งทะเลหรือมหาสมุทรในเขตอบอุ่นหรือเขตร้อนได้ทั่วไป (Joseph *et al.*, 1982) การแพร่กระจายของเชื้อมีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิของน้ำทะเลในช่วงฤดูหนาว อุณหภูมิของน้ำจะต่ำลงเชื้อสามารถอาศัยในตะกอนใต้พื้นน้ำ เมื่อถึงฤดูร้อนอุณหภูมิของน้ำสูงขึ้นเชื้อจากตะกอนใต้พื้นน้ำจะแพร่กระจายเจริญเพิ่มจำนวนในฤดูร้อนเมื่ออุณหภูมิที่ 15°ซ หรือสูงกว่า (Kaneko and Colwell, 1973)

เชื้อ VP มีกลุ่มแอนติเจนที่จำแนกทางซีโรยีอยู่ 3 กลุ่ม ได้แก่ O, K และ H โดยทั่วไปใช้ลักษณะเฉพาะทางแอนติเจน O (somatic antigen) และแอนติเจน K (capsular polysaccharide antigen) ในการแยกวินิจฉัยเท่านั้น เนื่องจากแอนติเจน H (flagella antigen) ของเชื้อจะเหมือนกันทุกสายพันธุ์จึงไม่มีผลในการจำแนกซีโรไทป์ โดยที่ O–antigen ทนต่อความร้อนได้ดี ส่วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

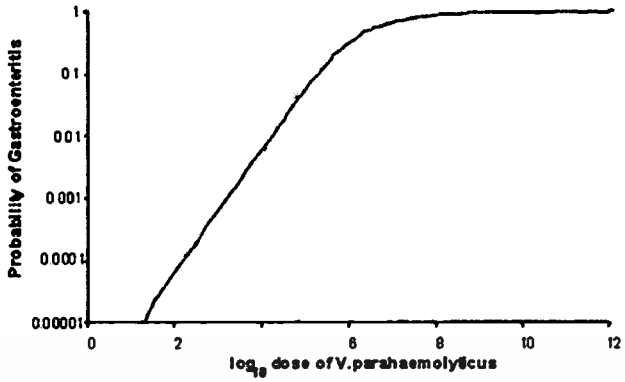
K–antigen เป็น antigen ที่ถูกทำลายได้ง่ายด้วยความร้อน และไม่เกิดการตกตะกอนกับ O-antigen (Sakasaki *et al.*, 1968) การจำแนกซีโรไทป์ของเชื้อนี้ ในปี ค.ศ.1968 Sakazaki และคณะสามารถแบ่งออกได้เป็น 11 O groups และ 41 K antigens แต่ต่อมาในปี ค.ศ. 1995 สามารถจำแนกซีโรไทป์ของ VP ได้ 13 O group และ 71 K type (Iguchi *et al.*, 1995; Sakasaki *et al*, 2006) เป็นที่ทราบกันดีว่า มีหลายสายพันธุ์ของเชื้อ VP ที่จำแนกมาจากสิ่งแวดล้อมและอาหารทะเลไม่ใช่สายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรค (Nichibuchi and Kaper, 1995)

2.2 สมบัติในการก่อโรคของ VP

เชื้อ VP ก่อให้เกิดโรคติดเชื้อในทางเดินอาหารแบบเฉียบพลัน (acute gastroenteritis) (Oberhofer and Podgore, 1982) มีระยะฟักตัวประมาณ 6-24 ชั่วโมง ผู้ป่วยมีอาการไข้ต่ำ คลื่นไส้อาเจียน ปวดท้อง และถ่ายเป็นน้ำจำนวนมาก อาการมักไม่รุนแรงและหายได้เองภายใน 2-3 วันโดยไม่ต้องรักษาด้วยยาต้านเชื้อแบคทีเรีย การรักษาด้วยยาต้านเชื้อแบคทีเรียไม่ช่วยลดระยะการดำเนินโรค (Neill and Carpenter, 2000) บางรายอาจมีอาการรุนแรงจนทำให้ถ่ายปนเลือดได้ ผู้ป่วยอาจได้รับเชื้อผ่านทางบาดแผลที่ผิวหนังหรือเยื่อเมือกบุผิวที่สัมผัสกับแหล่งน้ำ ทำให้เกิดการติดเชื้อของบาดแผล หรือการติดเชื้อในกระแสเลือดได้ (Akeda *et al.*, 1997) ในปี ค.ศ.2005 มีรายงานจาก Louisiana และ Mississippi ถึงการติดเชื้อทางบาดแผลที่มาจากเชื้อ VP พบว่ามีคนตาย 2 รายและเกิดโรคระบาดอยู่ 3 ครั้ง เป็นเหตุการณ์ที่เกิดขึ้นในช่วงหลังพายุ Hurricane Katrina (Center for Disease Control and Prevention, 2005)

ความสัมพันธ์ของเชื้อ VP กับปัจจัยต่าง ๆ ในสิ่งแวดล้อมที่อาจก่อให้เกิดโรคอุจจาระร่วงและก่อให้เกิดการระบาดของโรคนั้น อาจพิจารณาได้ตั้งแต่สิ่งแวดล้อมที่เป็นน้ำทะเลที่ใช้เลี้ยงสัตว์ทะเล กระบวนการผลิตอาหาร การเก็บรักษาอาหารในสภาพแช่แข็ง การนำอาหารไปปรุงให้ผู้บริโภครับประทาน โดยอาหารนั้นไม่ควรมีจำนวนเชื้อมากกว่า 10^6 ถึง 10^9 CFU/g ซึ่งเป็นจำนวนที่อาจจะทำให้เกิดอุจจาระร่วงหรือเกิดโรคระบาดได้ (infective dose) ดังภาพที่ 2.2 แสดงจำนวนเชื้อ VP ที่มีโอกาสก่อให้เกิดโรค นอกจากนี้ ควรตรวจคุณภาพทางจุลชีววิทยาของเชื้อ VP ในแหล่งน้ำให้อยู่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานกำหนด คือ ไม่ควรพบเชื้อมากกว่า 10^2 CFU/ml ในอาหารทะเลไม่ควรเกิน 10^5CFU/g ถ้าพบปริมาณเชื้อในอาหารทะเลมากกว่าปริมาณที่กำหนด โดยเฉพาะในอาหารทะเลแช่แข็งจะมีผลกระทบต่อการส่งออกและการระบาดของโรคได้ (FAO/WHO Expert Consultation, 2002)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.2 จำนวนเชื้อ VP ที่มีโอกาสก่อให้เกิดโรค

ที่มา: FAO/WHO Expert Consultation (2002)

ปัจจัยก่อโรคที่สำคัญคือ Thermostable direct hemolysin (TDH) ซึ่งเป็น enterotoxin ที่ออกฤทธิ์กระตุ้นให้เซลล์เยื่อบุผิวในลำไส้หลั่งสาร น้ำและเกลือแร่เข้าสู่ทางเดินอาหาร (Peterson and Zuppardo, 2002) ทำให้เกิดการถ่ายเหลว สายพันธุ์ก่อโรคส่วนใหญ่พบว่าสามารถสลายเม็ดเลือดแดงของคนได้เมื่อเชื้อเจริญบนอาหารเพาะเชื้อเฉพาะคือ Wagastsuma ซึ่งเป็นผลจากฤทธิ์ของ TDH โดยเรียกปฏิกิริยาที่เกิดนี้ว่า Kanakawa phenomenon (Joseph *et al.*, 1982) สายพันธุ์ที่อาศัยอยู่ในสิ่งแวดล้อมและไม่สร้าง TDH ไม่ทำให้เกิดปฏิกิริยาดังกล่าว คือ TDH–related haemolysin (TRH) (Okuda and Nishibuchi, 1998)

2.3 การระบาดของโรคที่เกิดจาก VP และการปนเปื้อนในอาหาร

เชื้อ VP พบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1951 ที่โอซากาประเทศญี่ปุ่น จะพบอยู่ทั่วไปในน้ำทะเล การติดเชื้อส่วนใหญ่เกิดจากการกินอาหารทะเลที่ปนเปื้อนเชื้อและปรุงไม่สุก เช่น ปลาดิบและหอยนางรมดิบ (Janda *et al.*, 1988) มีรายงานพบปริมาณเชื้อ VP ที่ปนเปื้อนในหอยนางรมอยู่ปริมาณ 10^3 CFU/g และในบางครั้งยังพบในปริมาณมากกว่า 10^3 CFU/g ในน้ำทะเลที่มีอุณหภูมิอบอุ่น และเชื้อสามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วถ้ามีอุณหภูมิสูงขึ้น (Depaola *et al.*, 2000)

ประเทศญี่ปุ่นเป็นประเทศที่พบการระบาดจากโรคอาหารเป็นพิษที่มาจากเชื้อ VP มากโดยจากรายงานในช่วงปี ค.ศ. 1996 ถึง ค.ศ. 1998 พบ 1,710 ราย ในจำนวนทั้งหมด 24,333 ราย (Infectious Discase Survillance Center, 1999)

ในประเทศได้หวัน มีรายงานในช่วงปี ค.ศ. 1981 ถึง ค.ศ. 2003 พบการระบาดจากโรคอาหารเป็นพิษที่มาจากเชื้อ VP สูงถึงร้อยละ 69 พบ 1028 ราย จากทั้งหมด 1,495 ราย (Anon, 2005)

ในประเทศจีน มีรายงานในช่วงปี ค.ศ. 1991 ถึง ค.ศ. 2001 พบการระบาดจากโรคอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

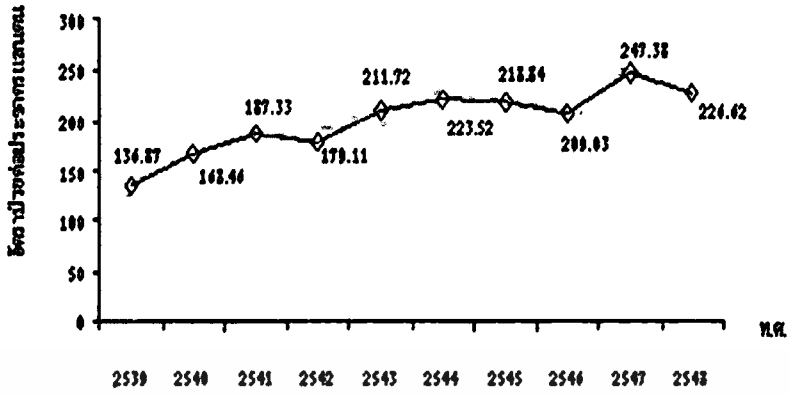
เป็นพิษที่มาจากเชื้อ VP ร้อยละ 31.1 จากทั้งหมด 5,770 ราย (Liu *et al.*, 2004) นอกจากนี้แล้วยังมีรายงานการตรวจพบ VP serotype O3:K6 ที่เมืองกัลกัตตา ประเทศอินเดียในอัตราเพิ่มสูงขึ้นถึงร้อยละ 63 ในช่วงเดือนสิงหาคม ค.ศ.1996 ถึง เดือน เมษายน ค.ศ.1997 และในประเทศอเมริกา ช่วงปี ค.ศ. 1997 ถึง ค.ศ. 1998 มีรายงานการระบาดของเชื้อ VP ถึง 4 ครั้ง เนื่องมาจากการบริโภคหอยนางรมดิบ (Depaola *et al.*, 2000) ส่วนในประเทศออสเตรเลีย ในปี ค.ศ. 1990 และ 1992 มีรายงานการระบาดของเชื้อ VP จำนวน 2 ครั้ง เนื่องจากการบริโภคกุ้งแช่เย็น และกุ้งต้มที่นำเข้ามาจากประเทศอินโดนีเซีย โดยที่ในปี ค.ศ. 1992 มีผู้บริโภคตาย เนื่องจากบริโภคหอยนางรมด้วย (Kraa, 1995)

Wong *et al.* (1999) ได้ศึกษาถึงการปนเปื้อนเชื้อ VP ในอาหารทะเล 686 ตัวอย่างที่มาจากฮ่องกง อินโดนีเซีย ไทย และเวียดนาม พบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อ VP จำนวน 315 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 45.9 การตรวจสอบพบการปนเปื้อนของเชื้อ VP ในกุ้งและปู ที่นำเข้าจากประเทศไทย ร้อยละ 75.8 และ 81.3 ตามลำดับ ซึ่งมีการปนเปื้อนสูงกว่ากุ้งที่นำเข้าจากประเทศอินโดนีเซียและเวียดนามที่มีการปนเปื้อนร้อยละ 21 ถึง 45 อัตราการปนเปื้อนของเชื้อ VP ในกุ้งและปูที่นำเข้าในประเทศเวียดนามมีการปนเปื้อนของเชื้อร้อยละ 75.8 และ 73.3 ตามลำดับ โดยพบการปนเปื้อนของเชื้อสูงกว่ากุ้งและปูที่ผลิตภายในประเทศฮ่องกงซึ่งตรวจพบการปนเปื้อนของเชื้อ VP ในกุ้งและปูร้อยละ 70.2 และ 41.7 ตามลำดับ แสดงให้เห็นอย่างชัดเจน ว่ากุ้งสดจากประเทศไทยยังมีการปนเปื้อนของเชื้อ VP สูง

นิตยา พันธุ์บัว และ อารุณี ศรพรหม (2538) ได้ศึกษาถึงการปนเปื้อนของเชื้อ VP ในอาหารแช่แข็งเพื่อการส่งออก 630 ตัวอย่างเป็นกุ้งและปลา พบเชื้อ VP ร้อยละ 14.13 โดยแยกชนิดของอาหารได้ 4 ชนิด คือ กุ้งดิบแช่แข็ง กุ้งต้มแช่แข็ง ปลาดิบแช่แข็ง อาหารมูลค่าเพิ่มแช่แข็ง โดยตรวจพบร้อยละ 41.05 1.64 6.26 และ 15.58 ตามลำดับ

ในประเทศไทยพบว่าเชื้อ VP เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษและมีแนวโน้มสูงขึ้น (ภาพที่ 2.3) มีรายงานระบุเชื้อก่อโรคเพียงร้อยละ 0.1-6 ในจำนวนนี้พบเชื้อ VP ร้อยละ 50-60 ของจำนวนที่รายงานระบุเชื้อก่อโรค เช่น การระบาดของโรคอาหารเป็นพิษ ในปี พ.ศ. 2548 สำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค (2548) ได้รับรายงานผู้ป่วยโรคอาหารเป็นพิษจากเครือข่ายทั้งในและนอกกระทรวงสาธารณสุขรวมทั้งสิ้น 140,949 ราย จำแนกเป็นผู้ป่วยจากเชื้อ VP 533 ราย มากเป็นอันดับหนึ่ง ผู้ป่วยจากเชื้อ *Salmonella* spp. 219 ราย ผู้ป่วยจากเชื้อ *Staphylococcus* 61 ราย ผู้ป่วยจากเชื้อ *Clostridium perfringens* 13 ราย ส่วนผู้ป่วยอีก 140,123 ราย คิดเป็นร้อยละ 99.41 ของผู้ป่วยทั้งหมดที่ได้รับรายงานในปีนี้ ไม่ได้ระบุชนิดของเชื้อก่อโรค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.3 อัตราป่วยต่อประชากรแสนคนของโรคอาหารเป็นพิษ จำแนกตามรายปี ประเทศไทยปี พ.ศ. 2538-2548

ที่มา: สำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค (2548)

สุดารัตน์ พยัฆวิเชียร และคณะ (2533) ได้ศึกษาการตรวจนับเชื้อ VP ในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลแช่เยือกแข็งเพื่อการส่งออกของไทย โดยวิธี Most Probable Number (MPN) จากอาหารทะเลจำนวน 200 ตัวอย่าง พบว่าในอาหารทะเลแช่แข็งมีเชื้อ VP ร้อยละ 26.5 ซึ่ง พบมากที่สุดในกุ้งร้อยละ 36.9 อย่างไรก็ตาม อรุณ บ่างตระกูลนนท์ และคณะ (2536) รายงานว่า เชื้อแบคทีเรียก่อโรคลำไส้ในคนงานโรงงานอาหารทะเลแช่แข็งเพื่อการส่งออก ในช่วงปี พ.ศ. 2532-2534 โดยสุ่มทั้งหมด 49 โรงงานในเขตกรุงเทพฯ ภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคใต้ พบว่า ตรวจพบเชื้อ VP ถึงร้อยละ 79.51 (จำนวน 39 โรงงาน)

2.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อ VP

โดยธรรมชาติเชื้อ VP มีลักษณะเฉพาะของการเจริญแสดงในตารางที่ 2.1 สามารถอยู่รอดในสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้เป็นเวลานาน โดยการปรับตัวทั้งทางสรีระวิทยา (physiology) และรูปร่าง (morphology) การปรับตัวเพื่อการอยู่รอดขึ้นกับ ปัจจัยสองประการ ได้แก่ abiotic factors และ biotic factors

2.4.1 Abiotic factors

ปัจจัยทางกายภาพ เช่น อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง (pH) และโซเดียมคลอไรด์ เป็นต้น ที่จะทำให้เซลล์เหล่านั้น ปรับตัวให้อยู่รอด หรือตายไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 ลักษณะเฉพาะของการเจริญของเชื้อ VP

ปัจจัย	ค่าที่เหมาะสม	ขอบเขต
อุณหภูมิ (°ซ)	37	5-43
ความเป็นกรด-ด่าง (pH)	7.8-8.6	4.8-11
โซเดียมคลอไรด์ (%)	3	0.5-10
ปริมาณน้ำอิสระ (a_w)	0.981	0.940-0.996
ความต้องการออกซิเจน	มีออกซิเจน	มีและไม่มีออกซิเจน

ที่มา: ดัดแปลงจาก International Commission on Microbiological Specification for Food (1996)

2.4.1.1 อุณหภูมิ

เป็นปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่สำคัญมากที่สุด ที่มีอิทธิพลต่อการเจริญและการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์ อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของเชื้อ VP อยู่ระหว่าง 35° ถึง 37°ซ ซึ่งในกระบวนการต่างๆ ของการใช้อาหารและการสร้างส่วนประกอบของแบคทีเรียหรือกระบวนการเมตาบอลิซึมทำงานได้เต็มที่ มีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว แต่ถ้า VP อยู่ในอุณหภูมิระหว่าง 5°ซ ถึง 13°ซ กระบวนการเมตาบอลิซึมต่างๆในเซลล์เริ่มลดบทบาทลง เพื่อปรับตัวให้เชื้อแบคทีเรียอยู่รอดได้ในสภาวะเครียด (metabolic stress) เซลล์แบคทีเรียจะเริ่มเข้าสภาวะถืออด (starvation) ซึ่งถ้าดูเซลล์จากกล้องจุลทรรศน์ จะเห็นเซลล์ซึ่งเดิมมีรูปร่างเป็นท่อนเมื่อเข้าสู่สภาพการถืออดนั้น เซลล์อาจจะลดขนาดลง 10 ถึง 100 เท่า ขึ้นกับอาหาร อุณหภูมิและสภาพแวดล้อม ทั้งนี้เชื้ออาจจะปรับเข้ากับสิ่งแวดล้อม โดยเปลี่ยนเป็นรูปร่างกลมเล็กๆ ซึ่งทนต่อสิ่งแวดล้อมได้ระยะนี้มีความสำคัญมาก เพราะเป็นสภาวะที่ในห้องปฏิบัติการไม่สามารถตรวจพบเชื้อได้ด้วยวิธีการเพาะเชื้อด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ (culture media) แต่เชื้อเหล่านี้ยังไม่ตายจึงเรียกเชื้อที่อยู่ในภาวะนี้ว่า viable but nonculturable state (VBNC) เซลล์ปกติของเชื้อ VP ตามทฤษฎี จะอยู่ในช่วงอุณหภูมิตั้งแต่ 5°ซ ถึง 60°ซ ถ้าเลยช่วงนี้อาจขึ้นกับสิ่งแวดล้อมว่าจะเอื้ออำนวยให้อยู่รอดหรือปรับให้อยู่ในสภาวะ VBNC ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิมีความสัมพันธ์กับการอยู่รอดของเชื้อและยังพบว่ามีปัจจัยอื่นๆ รวมด้วย เช่น จำนวนเชื้อหรืออาหารที่ปกป้องเชื้อจากปัจจัยต่าง ๆ จากการศึกษาของ Burnham (2006) ซึ่งติดตามการเจริญของ VPใน TSB (tryptic soy broth) โดยนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 5 8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และ 10°ซ พบว่าเชื้อ VP ที่อุณหภูมิ 5°ซ ยังคงมีชีวิตอยู่แต่ไม่เจริญ แต่ถ้าเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 8 หรือ 10°ซ เชื้อ VP สามารถเจริญได้

2.4.1.2 ความเป็นกรด-ด่าง (pH)

พบว่าเชื้อ VP ชอบความเป็นด่างสูง ค่า pH ระหว่าง 7.5 ถึง 8.5 เป็นช่วง pH ที่สามารถแบ่งตัว หรือเจริญได้ดีที่สุด สำหรับสภาวะความเป็นกรดหรือ pH ที่ค่อนไปทางกรด เชื้อต้องปรับตัวให้อยู่รอดได้ในสภาวะเช่นนี้

2.4.1.3 โซเดียมคลอไรด์

เชื้อ VP มีแหล่งกำเนิดมาจากทะเล เป็นแบคทีเรียที่ต้องการเกลือโซเดียมคลอไรด์ในการเจริญจัดเป็น halophilic vibrio ดังนั้นโซเดียมคลอไรด์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมควรมีความเข้มข้นอยู่ระหว่างร้อยละ 2 ถึง 4 อย่างไรก็ตามอาหารที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์มากกว่าร้อยละ 7 หรือน้อยกว่าร้อยละ 1 เชื้อ VP จะเริ่มปรับตัวให้อยู่ในสภาวะ VBNC ได้ เชื้ออาจจะตายเมื่ออยู่ในน้ำธรรมดาหรืออาหารที่ไม่มีส่วนประกอบของโซเดียมคลอไรด์ ดังนั้นถ้าพิจารณาการมีปฏิกิริยารวมกัน (interactions) ของ abiotic factors ที่ทำให้เชื้อ VP อยู่รอดได้ คือ การเพิ่มและลดของอุณหภูมิทำให้เชื้อเข้าสู่สภาวะ VBNC หรือการอยู่ในสภาพเป็นกรด เชื้อจะมีการปรับตัวเพื่อการอยู่รอดเช่นกัน ระยะ VBNC นี้อยู่ได้นานเป็นเดือน ถ้าระยะ VBNC กลับไปอยู่ในสภาพแวดล้อมใหม่ที่อุณหภูมิเหมาะสม อาหารเพิ่มมากขึ้น ความเป็นกรด-ด่างเหมาะสมและความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์เหมาะสม เชื้อจะกลับเข้าสู่สภาวะปกติซึ่งทำให้กระบวนการเมตาบอลิซึมทำหน้าที่เหมือนเดิม โดยมีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนขึ้นและเซลล์ทำงานตามหน้าที่ปกติ

2.4.2 Biotic Factors

เป็นปัจจัยด้านอาหารของแบคทีเรีย ได้แก่ อาหารจำพวก zooplanktons ถ้า zooplanktons เพิ่มจำนวนมากขึ้นจะทำให้เชื้อ VP สามารถแบ่งตัวเพิ่มจำนวนมากขึ้น แต่ถ้า zooplanktons ลดน้อยลง เชื้อ VP ก็ลดจำนวนน้อยลงด้วย เป็นต้น

2.5 โซเดียมไฮโปคลอไรท์ (Sodium hypochlorite)

2.5.1 ลักษณะของโซเดียมไฮโปคลอไรท์

โซเดียมไฮโปคลอไรท์ คือ สารประกอบคลอรีนอนินทรีย์ เป็นสารที่ใช้บ่อยในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ นิยมใช้กันมากที่สุดในอุตสาหกรรมอาหาร ปัจจุบันใช้ในรูปสารละลายน้ำ เช่น ธาตุคลอรีน (Cl_2) กรดไฮโปคลอรัส (hypochlorous acid; HOCl) และ sodium hypochlorite ($NaOCl_2$) ซึ่งเกิดจากการรวมตัวกันของแก๊สคลอรีนกับด่าง (โซเดียมไฮดรอกไซด์) (Bruce *et al.*, 2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.2 คุณสมบัติของโซเดียมไฮโปคลอไรท์

เนื่องจากสารประกอบนี้มีคุณสมบัติเป็นด่าง จึงทำให้ pH ของน้ำสูงขึ้นและมีผลทำให้ปฏิกิริยาการฆ่าเชื้อลดลง ไฮโปคลอไรท์เป็นสารที่ไม่คงตัว จะสูญเสียคลอรีนไปในระหว่างการเก็บ แต่ที่ความเข้มข้นหรืออุณหภูมิสูงขึ้นจะให้ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อได้มากขึ้น เมื่อละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ในน้ำ จะให้กรดไฮโปคลอรัส (HOCl) ซึ่งมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ กับเกลือโซเดียม ดังสมการที่ 2.1

$$NaOCl + H_2O \longrightarrow HOCl + NaOH \qquad (2.1)$$

หากใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ในรูปของสารละลายเจือจางที่เหมาะสม จะไม่ทำให้เกิดพิษ ไม่มีสี และไม่ทำให้เกิดคราบ อัตราการทำลายเชื้อขึ้นกับปริมาณคลอรีนอิสระและกรดไฮโปคลอรัส (HOCl) ที่อยู่ในน้ำ (กรมประมง, 2547)

2.5.3 กลไกของโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ในการทำลายเซลล์จุลินทรีย์

ธาตุคลอรีนมีกลไกที่ออกฤทธิ์โดยทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างหมู่ sulhydryl อย่างถาวรของเอนไซม์ที่สำคัญในการดำรงชีวิตของเซลล์โดยกระบวนการ oxidation ส่วนกรด ไฮโปคลอรัส และ sodium hypochlorite นั้นเชื่อว่าออกฤทธิ์โดยการทำปฏิกิริยากับส่วนประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้เกิดสารพิษที่ยับยั้งกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ ประสิทธิภาพของสารประกอบคลอรีนเพิ่มสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นสูงขึ้น ความเป็นกรดเพิ่มสูงขึ้นหรือระดับอุณหภูมิสูงขึ้น สารอินทรีย์หรือสภาพที่เป็นด่างทำให้ประสิทธิภาพการทำลายเชื้อลดลง (ภัทรชัย กีรติสิน, 2551)

2.5.4 การศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์

FDA กำหนดให้ คลอรีนเป็นสารประกอบที่เรียกว่า GRAS (Generally Recognized as Safe) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าคลอรีนและสารประกอบคลอรีนมีความปลอดภัยในการนำมาใช้ฆ่าเชื้อในอุตสาหกรรมอาหาร อย่างไรก็ตามการใช้คลอรีนและสารประกอบคลอรีนมีข้อจำกัดคือ ควรใช้คลอรีนและสารประกอบคลอรีนในระดับความเข้มข้นที่ไม่สูงเกินไป เช่น การกำหนดปริมาณคลอรีนหลงเหลือ (residual chlorine) ที่เหมาะสมในน้ำสำหรับล้างวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์อยู่ที่ 2-10 ppm เพราะคลอรีนก่อให้เกิดสารก่อมะเร็งในสัตว์ทดลองและอาจทำให้เกิดปัญหาการกัดกร่อนอุปกรณ์ (กรมประมง, 2547)

Lopes (1986) รายงานว่าคลอรีนในรูปของโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ 100 ppm สามารถลดเชื้อ *Listeria monocytogenes* และ *Salmonella* typhimurium ได้ภายใน 30 วินาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Orr and Beuchat (1999) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของโซเดียมไฮโปคลอไรท์พบว่า ที่ 1,000 ppm เป็นเวลา 10 นาที สามารถทำลายสปอร์ของ *Alicyclobacillus acidoterrestris* ได้อย่างสมบูรณ์

กิตติกานต์ บุญประสิทธิ์ (2548) รายงานผลของโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ที่ 100 ppm เป็นเวลา 1 นาที สามารถยับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes* ที่ระดับความเข้มข้น $1x10^6$ cfu/ ml หรือใช้ที่ความเข้มข้น 25 ppm เป็นเวลา 10 นาที

Kreske *et al.* (2006) ทำการศึกษาการฆ่าสปอร์ของ *B. cereus* และ *B. thuringiensis* บนผิวหน้าของแอปเปิ้ลโดยใช้ความเข้มข้นของโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ 100 ppm พบว่าที่ความเข้มข้นระดับนี้ มีประสิทธิภาพในการทำลายสปอร์ของ *Bacillus* spp. ให้ลดลงได้ ≥3.8–4.5 log CFU/g

เพ็ญนิภา แก้วอุไร (2550) ศึกษาผลของโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ต่อเชื้อ VP (ปริมาณเชื้อตั้งต้น 4±0.09 log cfu/g) ที่ 25°ซ พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 50 ppm เป็นเวลา 60 วินาที สามารถลดเชื้อ VP ลงได้ร้อยละ 28.3 ในขณะที่ 10°ซ ความเข้มข้น 50 ppm เป็นเวลา 60 วินาที สามารถลดเชื้อ VP ลงได้ร้อยละ 27.0

2.5.5 ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพของโซเดียมไฮโปคลอไรท์

2.5.5.1 ความเข้มข้น (concentration)

ถ้าความเข้มข้นของคลอรีนอิสระมีมากขึ้น ประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อของคลอรีนจะเพิ่มมากขึ้นด้วย แต่หากปริมาณสารประกอบไฮโปคลอไรด์มีความเข้มข้นสูงมากเกินไป จะมีผลทำให้ pH ของน้ำสูงขึ้น ซึ่งทำให้ประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อลดลง เช่น สารประกอบไฮโปคลอไรท์เข้มข้น 1,000 ppm ทำให้ pH ของน้ำสูงขึ้นเป็น 11-12 ต้องใช้เวลาในการทำลายเชื้อนานถึง 3 เท่า ของความเข้มข้น 25 ppm ที่มีค่า pH เพียง 8-9 เท่านั้น (กรมประมง, 2547)

2.5.5.2 ความเป็นกรด-ด่าง (pH)

ที่ระดับ pH ต่างกัน ปริมาณของคลอรีนที่อยู่ในรูปกรดไฮโปคลอไรท์ (HOCl) ในสารละลายจะแตกต่างกัน ในตารางที่ 2.2 จะเห็นว่าที่ระดับ pH 4.5 จะมีกรดไฮโปคลอไรท์อยู่สูงสุดร้อยละ 100 ดังนั้นถ้าใช้คลอรีนในรูปไฮโปคลอไรท์ควรควบคุมให้ระดับ pH อยู่ที่ 4.5 ถึง 5.0 ซึ่งจะให้ผลการทำลายเชื้อดีที่สุดคลอรีนและสารประกอบคลอรีนจะมีประสิทธิภาพลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อ pH สูงกว่า 10 สารประกอบคลอรีนมีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อดีในสภาวะที่เป็นกรด เนื่องจากกรดไฮโปคลอไรท์ ซึ่งมีคุณสมบัติในการทำลายเชื้อของสารกลุ่มนี้ จะเสถียรที่สภาวะความเป็นกรด-ด่างต่ำ (กรมประมง, 2547)

จากรายงานของกรมประมง (2547) พบว่าที่ความเข้มข้น 15 ppm เวลาที่ใช้ในการทำลายสปอร์ของแบคทีเรียที่ pH 8.0 จะนานถึง 25 นาที ในขณะที่ pH 6.0 จะใช้เวลาเพียง 5 นาทีเท่านั้น น้ำที่ใช้ในการผลิตเมื่อผ่านการเติมคลอรีนแล้ว จะมี pH ระหว่าง 6.5 – 8.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 ความสัมพันธ์ระหว่าง pH กับความเข้มข้นของคลอรีน

pH	ปริมาณคลอรีนที่มีเหลืออยู่ในรูปของ HOCl (%)
4.5	100
5	98
6	94
7	75
8	23

ที่มา : ดัดแปลงจาก Bruce *et al.* (2005)

2.5.5.3 อุณหภูมิ (temperature)

คลอรีนและสารประกอบคลอรีน จะให้ประสิทธิภาพในการทำลายและยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิเหมาะสม คือ ในช่วง 21-38°ซ เมื่อเพิ่มอุณหภูมิ ประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อจะเพิ่มมากขึ้น (กรมประมง, 2547) จากการศึกษาของ Rudolf and Levine (1941) พบว่าที่ pH 10.0 และความเข้มข้นของไฮโปคลอไรท์ 25 ppm ถ้าใช้อุณหภูมิ 20°ซ จะใช้เวลาในการทำลายเชื้อได้ร้อยละ 99 ที่ 121 นาที แต่ถ้าใช้อุณหภูมิ 30°ซ จะใช้เวลาในการทำลายเชื้อได้ร้อยละ 99 ที่ 65 นาทีเท่านั้น (Bruce *et al.*, 2005) สรุปได้ว่าที่อุณหภูมิสูง ประสิทธิภาพของคลอรีนในการทำลายสปอร์ของแบคทีเรียจะดีกว่าการทำลายเชื้อที่อุณหภูมิต่ำ ดังในตารางที่ 2.3 แต่โดยส่วนใหญ่สารประกอบไฮโปคลอไรท์มักจะสลายตัวที่อุณหภูมิสูง ทำให้ความเข้มข้นของคลอรีนอิสระที่สลายออกมามีน้อยลง จึงทำให้ประสิทธิภาพการทำลายเชื้อของคลอรีนที่อุณหภูมิสูงมีประสิทธิภาพน้อยลง (Rudolf and Levine, 1941)

2.5.5.4 ระยะเวลาสัมผัสสารฆ่าเชื้อ (contact time)

สารฆ่าเชื้อจะทำให้เชื้อ จุลินทรีย์ลดลงแบบลอการิทึม ที่ระดับความเข้มข้นของคลอรีนระดับหนึ่ง หากใช้ระยะเวลาสัมผัสนานขึ้น จะทำให้อัตราการตายของเชื้อจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้น ในระยะแรกอัตราการตายของเชื้อจุลินทรีย์จะเร็ว และจะช้าลงในลำดับต่อมาจนกระทั่งคงที่ แต่ถ้าไม่ให้ระยะเวลาสัมผัสของสารฆ่าเชื้อเลย สารฆ่าเชื้อนั้นก็จะไม่มีประสิทธิภาพ (กรมประมง, 2547)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.3 อิทธิพลของอุณหภูมิในการยับยั้งสปอร์ของ *Bacillus metiens* ของโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ที่ความเข้มข้น 25 ppm

อุณหภูมิ (°ซ)	pH	เวลาที่ใช้ในการทำลายเชื้อได้ร้อยละ 99 (นาที)
20	10	121
30	10	65
35	10	39
50	10	9

ที่มา : ดัดแปลงจาก Bruce *et al.* (2005)

2.5.5.5 ปริมาณสารเจือปนอินทรีย์ (organic material)

สารอินทรีย์บางชนิดมีผลทำให้สาร ประกอบคลอรีนสูญเสียประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อ ประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อจะลดลงถ้ามีสิ่งสกปรกอย่างเช่น คราบไขมัน หรือโปรตีนตกค้าง นอกจากนี้การปนเปื้อนของสารทำความสะอาดที่เป็นด่าง เช่น ผงซักฟอก จะลดประสิทธิภาพการทำลายเชื้อของสารคลอรีนลง เนื่องจากสภาวะเป็นด่างทำให้กรดไฮโปคลอไรท์มีสภาพไม่คงตัว (กรมประมง, 2547) จากการศึกษาของ Johns (1954) ได้เปรียบเทียบกิจกรรมของสารฆ่าเชื้อโรคชนิดต่างๆในสภาวะที่มีสารอินทรีย์ คือ ใช้หางนมร้อยละ 0.5 ที่อุณหภูมิต่างๆกัน พบว่า สารประกอบคลอรีนอินทรีย์มีผลกระทบน้อยที่สุด แต่เมื่อเพิ่มปริมาณหางนมเป็นร้อยละ 2.0 คลอรีนไดออกไซด์ทำงานได้ดีที่สุด ทั้งนี้เพราะคลอรีนไดออกไซด์ไม่ทำปฏิกิริยากับแอมโมเนียและสารประกอบไนโตรเจนอื่นๆ ในสภาวะที่มีสารอินทรีย์เหมือนกับสารประกอบคลอรีนอื่นๆ

2.5.5.6 ความกระด้างของน้ำ (water hardness)

น้ำกระด้างไม่ได้มีผลโดยตรงกับประสิทธิภาพของคลอรีน ในการทำลายเชื้อแต่น้ำกระด้างจะไปมีผลต่อค่า ความเป็นกรด-ด่าง(pH) โดยทำให้ค่า pH ของน้ำสูงขึ้น จึงเป็นสาเหตุให้ประสิทธิภาพของคลอรีนลดลง (Bruce *et al.*, 2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.6 ความเป็นพิษของโซเดียมไฮโปคลอไรท์

การใช้คลอรีนทำลายเชื้อโรคในน้ำดื่มเป็นที่สนใจกันมากว่าสารคลอรีนอาจทำปฏิกิริยากับสารอินทรีย์ในน้ำ เกิดสารประกอบที่เรียกว่า ไตรฮาโลมีเธน (trihalomethane; THM) ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งขึ้น ไตรฮาโลมีเธน ถูกพบจากการศึกษาน้ำดื่มในปี ค.ศ. 1979 ที่ปรากฏว่าสาร THM เป็นสารก่อมะเร็งในสัตว์ทดลอง (Bruce *et al.*, 2005)

2.6 เปอร์แอซีติกแอซิด (Peracetic acid)

2.6.1 ลักษณะของเปอร์แอซีติกแอซิด (peracetic acid); PAA หรือ เปอร์ออกซีแอซิติกแอซิด (peroxyacetic acid)

เปอร์แอซีติกแอซิด จัดเป็นเปอร์ออกไซด์ประเภทสารอินทรีย์ โดยทั่วไปเป็นสารที่มีส่วนผสมของกรดแอซิติก (CH_3COOH) และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ในรูปของสารละลายใส ไม่มีสี ให้ pH เป็นกรด (กรมประมง, 2547) เปอร์แอซีติกแอซิดเป็นสารออกซิไดส์ (oxidizing agent) ที่แรง ละลายน้ำได้ดี มีกลิ่นฉุนของกรดแอซิติก ปี ค.ศ. 1975 มีผู้ผลิต PAA ที่มีความคงตัวมากขึ้นออกจำหน่ายเป็นการค้า และในปีค.ศ. 1986 USFDA ก็ได้ปรับปรุงกฎหมายว่าด้วยวัตถุเจือปน รวมทั้งการรับรองว่าเปอร์แอซีติกแอซิดมีความปลอดภัยที่จะนำมาใช้เป็นสารฆ่าเชื้อที่สามารถใช้กับสิ่งสัมผัสอาหารโดยตรง โดยไม่ต้องล้างออกด้วยน้ำบริโภคเป็นน้ำสุดท้ายเหมือนไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2547)

2.6.2 คุณสมบัติของเปอร์แอซีติกแอซิด

เปอร์แอซีติกแอซิด มีประสิทธิภาพทำลายเชื้อได้ทุกประเภท รวมทั้งสปอร์ของแบคทีเรีย แต่แบคทีเรียที่สร้างสปอร์จะทนกรดเปอร์แอซิติกได้ดีกว่า มีประสิทธิภาพในช่วง pH ที่กว้าง ใช้ได้ทั้งในน้ำเย็นและน้ำอุ่น โดยทั่วไปที่ความเข้มข้นสูงมีสารที่ให้ความคงตัวผสมอยู่ แต่เมื่ออยู่ในที่มีอุณหภูมิสูง และมีการปนเปื้อนของโลหะหนัก พบว่าประสิทธิภาพของสารในการทำลายเชื้อจะลดลง สารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดที่นิยมใช้ทางการค้าโดยทั่วไป จะมีส่วนผสมของเปอร์แอซีติกแอซิดร้อยละ 4-40 เปอร์แอซีติกแอซิดมีประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิต่ำและความเข้มข้นต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และในสภาวะที่มีสารอินทรีย์อยู่ สารนี้ก็จะมีความคงตัวและมีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อแบคทีเรียมากกว่าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ นอกจากนี้เปอร์แอซีติกแอซิด ยังไม่ทำปฏิกิริยากับคะตะเลส (catalase) และเปอร์ออกซิเดส (peroxydase) ซึ่งต่างจากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Bruce *et al.*, 2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อเปอร์แอซีติกแอซิดสลายตัวจะได้น้ำ ออกซิเจนและกรดแอซีติก ซึ่งไม่เป็นพิษต่ออาหารและสิ่งแวดล้อมดังสมการที่ 2.2

$$CH_3COOH + H_2O_2 \longrightarrow CH_3COO\text{-}OH + H_2O \quad (2.2)$$

กรดแอซิติก ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ กรดเปอร์แอซิติด

นอกจากนี้ยังไม่เกิดฟอง และสารประกอบฟอสเฟต ไม่กัดกร่อนสแตนเลส และอลูมิเนียม ซึ่งแตกต่างจากสารประกอบคลอรีน ที่นิยมใช้ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในอุตสาหกรรมอาหาร (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2547)

2.6.3 กลไกของเปอร์แอซีติกแอซิดในการทำลายเซลล์จุลินทรีย์

กลไกของเปอร์แอซีติกแอซิดในการทำลายเซลล์จุลินทรีย์ คือ เปอร์แอซีติกแอซิดจะรบกวนพันธะซัลไฮดริลและซัลเฟอร์ในโปรตีนและเอนไซม์ของเซลล์จุลินทรีย์ โดยทำหน้าที่เป็นสารออกซิไดส์ (oxidizing agent) นอกจากนี้ยังรบกวนผนังเซลล์ โดยการทำปฏิกิริยากับโปรตีน ดังนั้นประสิทธิภาพของเปอร์แอซีติกแอซิดในการทำลายจุลินทรีย์ได้ เนื่องจากเปอร์แอซีติกแอซิดทำให้โปรตีนเสียสภาพ ขัดขวางการขนส่งของเซลล์ ขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ ที่จำเป็นต่อกระบวนการเมตาบอลิสมของเซลล์ และรบกวนการผ่านเข้าออกที่เยื่อหุ้มเซลล์ จึงถูกยับยั้งการเจริญและถูกทำลายในที่สุด (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2547)

2.6.4 การศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการใช้เปอร์แอซีติกแอซิด

เปอร์แอซิติกแอซิดเป็นสารฆ่าเชื้อที่ออกฤทธิ์เป็นวงกว้าง คือไม่จำกัดชนิดของจุลินทรีย์ จึงนิยมนำมาใช้กับการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิด มีการศึกษาการนำเปอร์แอซีติกแอซิดมาใช้ในการยับยั้งจุลินทรีย์ ทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ จุลินทรีย์ที่สร้างสปอร์ รวมทั้งยีสต์และรา

ศศิกานต์ อึ้งนิภากุล (2546) ได้ศึกษาสารผสมเปอร์ออกซีแอซีติกแอซิด ในการลดปริมาณ *L. monocytogenes* ในกุ้ง พบว่าที่ความเข้มข้น 90 ppm เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิห้องสามารถลดเชื้อลงได้ 0.8 log cfu/g ที่ระดับความเข้มข้นเซลล์เริ่มต้นต่ำ (10^2-10^3 cfu/g) ต่อมา กิตติกานต์ บุญประสิทธิ์ (2548) รายงานผลของเปอร์ออกซีแอซิติกแอซิด (เปอร์ซาเนีย 2505) ในหลอดทดลองที่ 100 ppm เป็นเวลา 1 นาที หรือใช้ที่ความเข้มข้น 10 ppm เป็นเวลา 10 นาที พบว่า สามารถยับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes* ที่ระดับความเข้มข้น $1x10^6$ cfu/ml ได้หมด จากนั้น Kreske *et al.* (2006) ศึกษาการทำลายสปอร์ของ *B. cereus* และ *B. thuringiensis* บนผิวหน้าของแอปเปิ้ล โดยใช้ความเข้มข้นของเปอร์แอซีติกแอซิด ที่ 40-80 ppm พบว่า ยังไม่มีประสิทธิภาพพอในการทำลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สปอร์ได้ แต่ถ้าใช้ความเข้มข้นสูงถึง 100 ppm จะมีประสิทธิภาพในการลดสปอร์ลงได้ 3.8–4.5 log CFU

ในปี 1986 USFDA ได้ปรับปรุงกฎหมายว่าด้วยวัตถุเจือปน รวมทั้งให้การรับรองว่า เปอร์แอซีติกแอซิด มีความปลอดภัยที่จะนำมาใช้เป็นสารฆ่าเชื้อที่สามารถใช้กับสิ่งสัมผัสอาหารโดยตรง โดยไม่ต้องล้างออกด้วยน้ำบริโภคเป็นน้ำสุดท้าย (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2547) โดยมีการทดลองใช้เปอร์แอซีติกแอซิดในการทำลาย และยับยั้งจุลินทรีย์โดยเฉพาะจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคที่ปนเปื้อนอยู่ในอาหารหลายชนิด เช่น ผักและเมล็ดผัก คาดว่าสารเปอร์แอซีติกแอซิดนี้น่าจะมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหารชนิดอื่นๆ เช่นอาหารประเภทเนื้อสัตว์สด อาหารทะเลและผลิตภัณฑ์อาหารทะเล เพื่อเพิ่มความปลอดภัยในการบริโภคอาหาร

2.6.5 ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพของเปอร์แอซีติกแอซิด

2.6.5.1 ความเข้มข้น (concentration)

เมื่อเพิ่มความเข้มข้นทำให้เวลาที่ใช้ในการทำลายจุลินทรีย์จะลดลง จากงานวิจัยของ Krzywicka (1970) นำเปอร์แอซีติกแอซิด มาใช้ในการทำลายสปอร์ของ *B. cereus* พบว่า เปอร์แอซีติกแอซิดที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.3 ใช้เวลาในการทำลายสปอร์ 3 นาที ขณะที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.01 ใช้เวลาในการทำลายสปอร์ 90 นาที ส่วนการทำลายสปอร์ของแบคทีเรียในบรรจุภัณฑ์ที่จะนำไปบรรจุแบบปลอดเชื้อ จะต้องใช้ความเข้มข้นไม่ต่ำกว่าร้อยละ 0.5 ขึ้นไป

2.6.5.2 ความเป็นกรด-ด่าง (pH)

เป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการฆ่าเชื้อของ เปอร์แอซีติกแอซิด พบว่า สมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ของเปอร์แอซีติกแอซิด จะดีในช่วง pH ที่เป็นกรด ส่วนในช่วง pH ที่เป็นด่างประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์จะลดลงหรือต้องใช้เปอร์แอซีติกแอซิดเข้มข้นมากขึ้น

2.6.5.3 อุณหภูมิ (temperature)

จากการศึกษาของ Baldry (1983) ที่ทดสอบผลการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารฆ่าเชื้อโรคหลายชนิดที่อุณหภูมิ 5°ซ พบว่า เปอร์แอซีติกแอซิดสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบได้ดีที่สุด ซึ่งเป็นข้อดีของเปอร์แอซีติกแอซิดเมื่อเทียบกับสารฆ่าเชื้อชนิดอื่นๆ เนื่องจากที่อุณหภูมิต่ำสารฆ่าเชื้อชนิดอื่นๆจะลดประสิทธิภาพผลในการทำลายเชื้อลงมาก โดยที่เปอร์แอซีติกแอซิดไม่ถูกลดประสิทธิภาพลงมากนักที่อุณหภูมิ 5°ซ อย่างไรก็ตามที่อุณหภูมิสูงก็มีผลเร่งต่อการทำงานของเปอร์แอซีติกแอซิดให้เร็วขึ้น

2.6.5.4 ระยะเวลาสัมผัสสารฆ่าเชื้อ (contact time)

สารฆ่าเชื้อจะทำให้เชื้อจุลินทรีย์ลดลงแบบลอการิทึม ที่ระดับความเข้มข้นของคลอรีนระดับหนึ่ง หากใช้ระยะเวลาสัมผัสนานขึ้น อัตราการตายของเชื้อจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้น ในระยะแรกอัตราการตายของเชื้อจุลินทรีย์จะเร็ว และจะช้าลงในลำดับต่อมาจนกระทั่งคงที่ แต่ถ้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ไม่ให้ระยะเวลาสัมผัสของสารฆ่าเชื้อเลยสารฆ่าเชื้อนั้นก็จะไม่มีประสิทธิภาพ จากการศึกษาการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ผิวหน้าเนื้อวัว ของ Gutzmann *et al.* (2000) พบว่าระดับความเข้มข้นของเปอร์แอซีติกแอซิด 200 ppm อุณหภูมิ 38°ซ ถ้าใช้เวลาในการสเปร์ย 10 วินาที สามารถลดเชื้อลงได้ 0.9 log CFU/g และถ้าใช้เวลาในการสเปรย์ 30 วินาที สามารถลดเชื้อลงได้มากกว่า 2.90 log CFU/g

2.6.5.5 ปริมาณสารเจือปนอินทรีย์ (organic material)

สารอินทรีย์มีผลต่อเปอร์แอซีติกแอซิดน้อยที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสารฆ่าเชื้ออื่นๆ จึงเป็นข้อได้เปรียบของเปอร์แอซีติกแอซิดที่จะนำมา ใช้กับสิ่งสกปรกที่มีสารอินทรีย์อยู่มาก หรือใช้ลดเชื้อวัตถุดิบในการผลิตขั้นต้น (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2547)

2.6.5.6 ความกระด้างของน้ำ (water hardness)

ผลของน้ำกระด้าง ไม่มีผลต่อเปอร์แอซีติกแอซิดมากนัก ทั้งนี้จากการศึกษาของ Ecolab (2000) พบว่า ที่น้ำกระด้าง 500 ppm เมื่อมีการนำมาใช้กับเปอร์แอซีติกแอซิด ที่ระดับความเข้มข้น 150 ppm สามารถลดปริมาณของเชื้อ *E. coli* และ *Staphylococcus aureus* ลงได้ ร้อยละ 99.99

2.6.6 ความเป็นพิษของ เปอร์แอซีติกแอซิด

เปอร์แอซีติกแอซิด เป็นของเหลวที่ไม่มีสี มีกลิ่นฉุนแสบจมูก ผลิตภัณฑ์ที่เข้มข้นร้อยละ 40 มีความเป็นพิษสูงเพราะจะเป็นอันตรายต่อผิวหนัง เยื่อบุช่องจมูกและสายตา การทดสอบเปอร์แอซีติกแอซิดกับสัตว์ทดลองไม่พบความเป็นพิษที่รุนแรง เปอร์แอซีติกแอซิดไม่ก่อมะเร็งที่ระดับความเข้มข้นสูงๆ แต่อาจเป็นอันตรายโดยก่อให้เกิดความระคายเคืองต่อผิวหนัง เยื่อเมือกและสายตาได้ การขนส่งสารนี้จะต้องระมัดระวัง ต้องมีวิธีการป้องกันไม่ให้เกิดอันตรายขึ้น ส่วนความเข้มข้นที่ใช้งานในระดับการใช้งานของเปอร์แอซีติแอซิดถือว่ามีความปลอดภัย (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2547)

Kaestner (1981) รายงานผลการศึกษา การให้น้ำดื่มที่มีความเข้มข้นของเปอร์แอซีติกแอซิดเข้มข้น 200 ppm เป็นระยะเวลา 10 เดือน กับสัตว์ทดลอง (rats, mice, hamsters, gerbils and guinea pigs ผลไม่พบความผิดปกติในเซลล์และในเนื้อเยื่อของสัตว์ทดลองดังกล่าว

120068

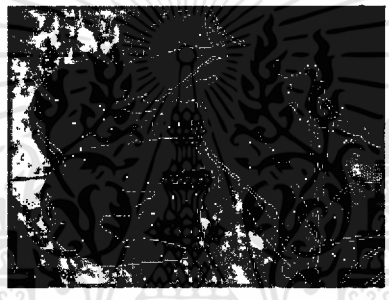
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
การดำเนินงานวิจัย

3.1 วัตถุดิบ

3.1.1 กุ้งขาวสด (Vannamei White Shrimp)

ในการทดลองนี้ใช้กุ้งขาวสด *(Litopenaeus vannamei)* ได้รับจากฟาร์มเลี้ยงจังหวัดฉะเชิงเทรา ระหว่างการขนส่งเก็บรักษาอุณหภูมิกุ้งประมาณ 7-10°ซ (Bacteriological Analytical Manual, 2004) กุ้งที่ใช้ในการศึกษามีขนาดน้ำหนักเฉลี่ย13 กรัมต่อตัวดังภาพที่ 3.1



ภาพที่ 3.1 กุ้งวัตถุดิบ (head on) ก่อนที่นำมาใช้ในการศึกษา (ขนาดน้ำหนักเฉลี่ย 13 กรัมต่อตัว)

3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์

เชื้อจุลินทรีย์ *Vibrio parahaemolyticus* (VP) ที่คัดแยกได้จากบ่อกุ้งโดยได้รับจากโครงการปรับปรุงคุณภาพบ่อกุ้งด้วย Aqua top ของคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังและผ่านการยืนยันสายพันธุ์ว่าเป็น VP จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (อดิศร เสวตวิวัฒน์, ไม่ได้ตีพิมพ์, 2550)

3.2 เครื่องมือ สารเคมี

3.2.1 เครื่องมือ

	รุ่น	ประเทศ
3.2.1.1 Incubator	Memmert model BE 400	Germany

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.1.2	Hot air oven	Heraeus type 6000	Germany
3.2.1.3	Autoclave	Tomy model SS-245	Japan
3.2.1.4	Water bath	Memmert model WB 22	Germany
3.2.1.5	Refrigerator	LG model GR-282MVF	Korea
3.2.1.6	Freezer	Brandt model Y475410	EU
3.2.1.7	pH meter	Inolab model pH Level 1	Germany
3.2.1.8	Microwave	Sharp model R- 351	Japan
3.2.1.9	Laminar flow cabinet	Bwyer model MarkII	USA
3.2.1.10	Magnetic stirrer hot plat	Pnp model HS-2	Malaysia
3.2.1.11	Electronic balance	Dragon model 3002	China
3.2.1.12	Stomacher	Iul model stomacher 400	Spain
3.2.1.13	Vortex Mixer	Genia 2	USA
3.2.1.14	Timer	FBT model SWTWTFS	China
3.2.1.15	Thermometer	Testo model 106	Germany

3.2.1.16 Micropipette

3.2.1.17 Measuring pipette ขนาด 2 ml, 5 ml และ 10 ml

3.2.1.18 Petri dishes

3.2.1.19 Stomacher bag

3.2.1.20 Round bottle 250 ml และ 500 ml

3.2.1.21 Needle and Loop

3.2.2 สารเคมี

3.2.2.1 Phosphate Buffered Saline (PBS) (Merck, Germany)

3.2.2.2 Alkaline Peptone Water (APW) (Merck, Germany)

3.2.2.3 Arginine Glucose Slant (AGS) (Merck, Germany)

3.2.2.4 Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose Agar (TCBS) (Merck, Germany)

3.2.2.5 Tryptic Soy Agar (TSA) (Merck, Germany)

3.2.2.5 Tryptic Soy Broth (TSB) (Merck, Germany)

3.2.2.6 Tryptone Broth and Suppplemented 1,3,6,8,10% NaCl (Merck, Germany)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.2.7 Oxidase Test Reagent or Bactident Oxidase (Merck, Germany)

3.2.2.8 NaCl (Merck, Germany)

3.2.2.9 API 20E diagnostic strips and reagent (Bionerieux, Germany)

3.2.2.10 Peracetic acid solution (บริษัท เคลมเซิร์ฟ จำกัด ประเทศไทย)

3.2.2.11 Sodium hypochlorite solution (บริษัทโมวิก อินเตอร์คอนเนกชั่น จำกัด ประเทศไทย)

3.2.2.12 ชุดทดสอบสำหรับตรวจหาปริมาณความเข้มข้นของเปอร์แอซีติกแอซิด (บริษัทไฮเออร์ เอ็นท์เตอร์ไพรส์ จำกัด ประเทศไทย)

3.2.2.13 ชุดทดสอบสำหรับตรวจหาปริมาณความเข้มข้นของโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (บริษัท บางกอกซายน์ จำกัด ประเทศไทย)

3.2.2.14 สารเคมีสำหรับไทเทรตหาความเข้มข้นของเปอร์แอซีติกแอซิด

3.3 สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการสุขาภิบาล อาคารเจ้าคุณทหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 การเตรียมเซลล์ *Vibrio parahaemolyticus* (VP)

ทำการเตรียมสารละลายเชื้อที่ความเข้มข้นเฉลี่ย 5.7 log CFU/ml (เพื่อนำไปใช้ในการทดลอง) ตามวิธีที่ดัดแปลงของเพ็ญนิภา แก้วอุไร (2550) โดย ถ่ายเชื้อ VP จาก Nutrient agar (NA) +2% NaCl ปริมาณ 1 ลูป ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA+2% NaCl slant บ่มที่อุณหภูมิ 35-37°ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ถ่ายเชื้อจาก TSA+2% NaCl slant ปริมาณ 1 ลูปใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB +2% NaCl ปริมาตร 200 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 35-37°ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปิเปตสารละลายที่มีเชื้อเจริญอยู่ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB+2% NaCl ปริมาตร 90 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 35-37°ซ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำเซลล์ VP ปริมาตร 30 มิลลิลิตร ใส่ลงในสารละลาย alkaline peptone water (APW) 270 มิลลิลิตร จะได้ปริมาณเชื้อตั้งต้นเฉลี่ยประมาณ 5.7 log CFU/ml เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป หัวเชื้อ VP ที่เลี้ยงในในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA+2% NaCl เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 8-12°ซ หรือ อุณหภูมิห้อง จนกว่าจะใช้งาน ตามวิธีการของ Ruangpan and Tendencia (2004) เนื่องจากถ้านำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 10°ซ หรือต่ำกว่า ปริมาณเชื้อ VP มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แนวโน้มลดลงเรื่อยๆ (Bradshaw *et al.*, 1974) จากนั้นทำการถ่ายเชื้อทุก 1 เดือน และไม่เก็บเชื้อ stock ไว้นานเกิน 6 เดือน

3.4.1.1 การตรวจนับปริมาณเซลล์ VP ในระดับหลอดทดลอง

ดูดสารละลายเชื้อ VP เริ่มต้น 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองซึ่งมีสารละลาย Phosphate Buffered Saline (PBS) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เจือจางให้ได้ระดับความเข้มข้นที่ต้องการ ปีเปตสารละลายตัวอย่างแต่ละความเจือจาง 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Thiosulphate Citrate Bile Salt Sucrose (TCBS) agar ก่อนทำการ spread plate บ่มที่อุณหภูมิ 35-37°ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ติดตามผลโดยสังเกตลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS agar ที่มีลักษณะกลม สีเขียวหรือสีน้ำเงินอมเขียวและมีลักษณะหนืดเหนียว พร้อมทั้งทำการตรวจนับปริมาณเซลล์ของVP

3.4.1.2 การตรวจนับปริมาณเซลล์ VP จากการถ่ายลงบนกุ้งสด

ชั่งตัวอย่างกุ้ง 50 กรัม ตัดให้เป็นชิ้นเล็กๆ แล้วใส่ในถุง stomacher เติม PBS 450 มิลลิลิตร ตีให้ตัวอย่างกระจายทั่วสารละลายด้วยเครื่องตีตัวอย่าง (stomacher) เป็นเวลา 3 นาที ที่ความเร็วรอบสูงสุด ตัวอย่างที่ได้มีความเข้มข้น 1:10 เจือจางตัวอย่างด้วยสารละลาย PBS ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ให้ได้ระดับความเข้มข้นที่ต้องการโดยดูดตัวอย่างแต่ละความเจือจาง 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS agar ก่อนทำการ spread plate บ่มที่อุณหภูมิ 35-37°ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ติดตามผลโดยสังเกตลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS agar ที่มีลักษณะกลม สีเขียวหรือสีน้ำเงินอมเขียวและมีลักษณะหนืดเหนียว พร้อมทั้งทำการตรวจนับปริมาณเซลล์ของ VP

3.4.2 การเตรียมตัวอย่างกุ้ง

3.4.2.1 นำกุ้งขาวที่ได้รับจากข้อ 3.1.1 มาถอดหัว ปอกเปลือกและเอาไส้ออกด้วยวิธี pin deveined จากนั้นนำมาผ่านการแช่แข็งโดยวิธี Individual Quick Freezing (IQF) (ใช้ CO_2 เป็นสารตัวกลาง) หลังการแช่แข็งจึงนำกุ้งมาบรรจุลงในถุงพลาสติก แยกใส่ถุงละ 20-25 ตัว ปิดถุงให้สนิท เก็บกุ้งไว้ที่อุณหภูมิ (-)18±2°ซ เพื่อใช้ตลอดการทดลอง ทั้งนี้ก่อนนำมาใช้ในการศึกษาให้นำกุ้งไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4±2°ซ เป็นเวลา 1 คืน เพื่อให้กุ้งละลาย สำหรับการเตรียมกุ้งให้ปลอดเชื้อก่อนการศึกษาตามวิธีการของ เพ็ญนิภา แก้วอุไร (2550) โดยนำมาทำการล้างด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ความเข้มข้น 50 ppm จำนวน 2 ครั้ง แล้วล้างตามด้วยน้ำสะอาด อีก 3 ครั้ง เพื่อลดปริมาณเชื้อที่รอดชีวิตให้หมดไปหรือเหลือน้อยที่สุด

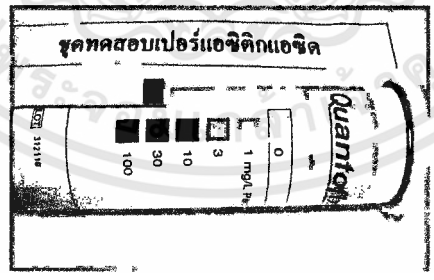
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.2.2 การถ่ายเชื้อ VP บนผิวกุ้ง

วิธีการถ่ายเชื้อ VP บนผิวกุ้งดัดแปลงจากวิธีการของศศิกานต์ อึ้งนิภากุล (2546) โดยนำตัวอย่างกุ้งที่เตรียมไว้ในข้อ 3.4.2.1 มาถ่ายเชื้อ VP (ที่เตรียมตามข้อ 3.4.1) ลงบนผิวกุ้งโดยใส่กุ้ง 20-25 ตัว (น้ำหนักเฉลี่ย 7.5 กรัมต่อตัว) ลงในสารละลายเชื้อ VP ปริมาตร 300 มิลลิลิตร ที่เตรียมไว้ในบีกเกอร์ขนาด 1,000 มิลลิลิตร ที่มี magnetic bar อยู่ในบีกเกอร์ (ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°ซ เป็นเวลา 30 นาที) และกวนด้วยแรงแม่เหล็กหมุน เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นพักกุ้งบนตะแกรงฆ่าเชื้อใน laminar flow เพื่อสะเด็ดน้ำเป็นเวลา 5 นาที

3.4.3 ประสิทธิภาพของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดและโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่เหมาะสมในการลดปริมาณ VP ในระดับหลอดทดลอง

ทำการเตรียมสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดที่ความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 0 5 10 20 และ 30 ppm วัดปริมาณความเข้มข้นของสารสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด โดยใช้ชุดทดสอบ test kid (แสดงดังรูปที่ 3.2) พร้อมทั้งวัดค่า pH ของสารละลายในแต่ละความเข้มข้น จากนั้นดูดสารละลายเชื้อ VP (ตามข้อ 3.4.1) ตั้งต้นที่มีปริมาณเซลล์เฉลี่ยประมาณ 5.7 log CFU/ml ลงไปในสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดที่ความเข้มข้นระดับต่างๆที่เตรียมไว้ในหลอดทดลองหลอดละ 9 มิลลิลิตร โดยถ่ายเชื้อตั้งต้นหลอดละ 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมตัวอย่าง ทำการสุ่มตัวอย่าง ตามระยะเวลา 0.5 1 2 และ 5 นาที จากนั้นตรวจวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อ VP โดยวิธี spread plate technique ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS agar บ่มที่อุณหภูมิ 35-37°ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และดูดตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB 9 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 35-37 °ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อศึกษาการฟื้นตัวของจุลินทรีย์ที่บาดเจ็บ



ภาพที่ 3.2 ชุดทดสอบสำหรับตรวจหาปริมาณความเข้มข้นของเปอร์แอซีติกแอซิด

ทำการเตรียมสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 0 10 30 50 และ 100 ppm วัดปริมาณความเข้มข้นของสารสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ โดยใช้ชุดทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระดาษในการวัดปริมาณไฮโปคลอไรท์ (แสดงดังรูปที่ 3.2) พร้อมทั้งวัดค่า pH ของสารละลายในแต่ละความเข้มข้น จากนั้นใช้ปิเปตดูดสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน ลงในหลอดทดลอง หลอดละ 9 มิลลิลิตร ถ่ายเชื้อ VP ตั้งต้นที่มีปริมาณเซลล์เฉลี่ยประมาณ 5.7 log CFU/ml ลงไปในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ ที่เตรียมไว้ ถ่ายหลอดละ 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมตัวอย่าง ทำการสุ่มตัวอย่าง ตามระยะเวลา 1 5 10 30 และ 60 นาที และตรวจวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อ VP โดยวิธี spread plate technique บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS agar บ่มที่อุณหภูมิ 35-37°ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และดูดตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB 9 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 35-37°ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อศึกษาการฟื้นตัวของจุลินทรีย์ที่บาดเจ็บ

ภาพที่ 3.3 ชุดทดสอบสำหรับตรวจหาปริมาณความเข้มข้นของโซเดียมไฮโปคลอไรท์

3.4.3.1 ศึกษาการฟื้นตัวของจุลินทรีย์ที่บาดเจ็บ

ตามปกติแล้วในการตรวจสอบและการนับจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นตัวบ่งชี้ จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคและอยู่ในอาหาร (foodbone pathogen) มักจะใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่เรียกว่า selective medium ซึ่งมีสาร selective agent ที่จำเป็นต่อการเจริญของจุลินทรีย์เหล่านั้น แต่สารเหล่านี้กลับมีผลต่อการยับยั้งความสามารถในการรักษาตัวเองของแบคทีเรียที่ได้รับบาดเจ็บ (วราวุฒิ ครูส่ง, 2538) ดังนั้นในกรณีเชื้อ VP จึงเลือกอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB+2% NaCl เป็นอาหารใช้เพื่อรักษาเซลล์ VP ที่บาดเจ็บ โดยดูดตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB 9 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 35-37°ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ติดตามผลโดยสังเกตลักษณะขุ่นในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB+2% NaCl นำไป streak plate technique บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS agar แล้วทดสอบทางชีวเคมี (ในภาคผนวก ค)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.4 อัตราการเหลือรอดของเชื้อ VP ภายหลังการฆ่าเชื้อด้วยเปอร์แอซีติกแอซิดบนผิวกุ้งและในน้ำล้าง

ทำการเตรียมสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดที่ความเข้มข้น 5 10 20 40 80 และ 100 ppm วัดปริมาณความเข้มข้นของสารสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด โดยใช้ชุดทดสอบ พร้อมทั้งวัดค่า pH ของสารละลายในแต่ละความเข้มข้น นำตัวอย่างกุ้งที่ถ่ายเชื้อ VP ในปริมาณเชื้อเริ่มต้นเฉลี่ย 4.0 log CFU/g ที่เตรียมไว้ (จากข้อ 3.4.2.2) ใส่ลงในบีกเกอร์ฆ่าเชื้อขนาด 500 มิลลิลิตรทั้งหมด 6 ใบๆ ละ 10 ตัว เทสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดที่ความเข้มข้นระดับต่างๆที่เตรียมไว้ ปริมาตร 150 มิลลิลิตร ลงไปในใบที่ 2-6 โดยใบที่ 1 จะเป็นน้ำเกลือ 1% (w/v) ที่ผ่านฆ่าเชื้อแล้วและไม่มีสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด (control) จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างกุ้งที่เวลา 1 5 และ 10 นาที โดยใช้คีมคีบ (ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ) คีบกุ้งออกมา 7 ตัว (น้ำหนักรวมประมาณ 50 กรัม) และเก็บตัวอย่างน้ำล้าง 1 มิลลิลิตร นำตัวอย่างกุ้งใส่ลงในบีกเกอร์ที่มีน้ำเกลือ 1% (w/v) ที่ผ่านฆ่าเชื้อแล้ว ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เพื่อล้างและเจือจางสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดออกจากกุ้งเป็นเวลา 1 นาที ก่อนทำการตรวจหาปริมาณเซลล์ VP ที่รอดชีวิตบนผิวกุ้งและในน้ำล้างโดยวิธีการ spread plate technique บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS agar บ่มที่อุณหภูมิ 35-37°ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และดูดตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB 9 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 35-37°ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อศึกษาการฟื้นตัวของจุลินทรีย์ที่บาดเจ็บ

3.4.5 ประสิทธิภาพของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด ในการล้างซ้ำเพื่อลดปริมาณเชื้อ VP บนผิวกุ้งและในน้ำล้าง

ทำการเลือกใช้ ความเข้มข้นและเวลาในการสัมผัสที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 3.4.4 ในการล้างมาทำการทดลองการล้างซ้ำเพื่อลดปริมาณเชื้อ VP ดังนี้ เตรียมบีกเกอร์ทั้งหมด 5 ใบ สำหรับเป็นตัวแทนทดลองล้างซ้ำ 4 ครั้ง (ล้างทั้งหมด 5 ครั้ง) เตรียมสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดที่ความเข้มข้นที่เหมาะสม นำตัวอย่างกุ้งที่ผ่านการถ่ายเชื้อ VP ปริมาณเริ่มต้นเฉลี่ย 4.0 log CFU/g ที่เตรียมไว้ในข้อ 3.4.2.2 ใส่ลงในบีกเกอร์ฆ่าเชื้อขนาด 500 มิลลิลิตร ทั้งหมด 5 ใบ ที่บรรจุสารเปอร์แอซีติกแอซิด ที่ความเข้มข้นที่เหมาะสม บีกเกอร์ละ 100 มิลลิลิตร โดยทำการทดลองดังนี้

3.4.5.1 การล้างกุ้งครั้งที่ 1

เตรียมกุ้ง 35 ตัว แบ่งใส่บีกเกอร์ละ 7 ตัว เมื่อครบเวลาการล้างกุ้งให้นำกุ้งออกจากบีกเกอร์ใบที่ 1 นำไปล้างในน้ำเกลือ 1% (w/v) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 100 มิลลิลิตรในบีกเกอร์(ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว) ขนาด 500 มิลลิลิตร เพื่อล้างสารเปอร์แอซีติกแอซิด และเจือจางสารละลายออกจากกุ้งเป็นเวลา 1 นาที นำกุ้งจากบีกเกอร์ที่ 1 ที่ล้างแล้วไปตรวจหาปริมาณเชื้อ VP ซึ่งเป็นตัวแทนของการล้างครั้งที่ 1 ดังวิธีการที่แสดงไว้ในข้อ 3.4.1.2 ส่วนกุ้งที่อยู่ในบีกเกอร์ใบที่ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3 4 และ 5 เมื่อครบกำหนดเวลา ให้นำออกจากบิกเกอร์ ใช้ปิเปตดูดสารเปอร์แอซีติกแอซิดในบีกเกอร์ใบที่ 1 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์หาความเข้มข้นของเปอร์แอซีติกแอซิดที่เหลือ และตรวจปริมาณเซลล์ VP ที่รอดชีวิตและเซลล์ VP ที่บาดเจ็บในน้ำล้างโดยวิธีการที่แสดงไว้ในข้อ 3.4.1.1 และ 3.4.3.1 ตามลำดับ

3.4.5.2 การล้างกุ้งครั้งที่ 2 (ล้างซ้ำครั้งที่ 1)

เตรียมกุ้ง 28 ตัว แบ่งใส่บีกเกอร์ใบที่ 2 3 4 และ 5 ใบละ 7 ตัว เมื่อครบเวลาการล้างกุ้งให้นำกุ้งออกจากบีกเกอร์ใบที่ 2 ไปล้างในน้ำเกลือ 1% (w/v) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ปริมาตร 100 มิลลิลิตรในบีกเกอร์ (ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ) ขนาด 500 มิลลิลิตรเพื่อล้างสารเปอร์แอซีติกแอซิดและเจือจางสารละลายออกจากกุ้งเป็นเวลา 1 นาที นำกุ้งจากบีกเกอร์ที่ 2 ที่ล้างแล้ว ไปตรวจหาปริมาณเซลล์ VP ที่รอดชีวิต ซึ่งเป็นตัวแทนของการล้างครั้งที่ 2 หรือล้างซ้ำครั้งที่ 1 ดังวิธีการที่แสดงไว้ในข้อ 3.4.1.2 ส่วนกุ้งที่อยู่ในบีกเกอร์ใบที่ 3 4 และ5 เมื่อครบกำหนดเวลาให้นำออกจากบิกเกอร์ ใช้ปิเปตดูดสารเปอร์แอซีติกแอซิดในบีกเกอร์ใบที่ 2 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์หาความเข้มข้นของเปอร์แอซีติกแอซิดที่เหลือ และตรวจปริมาณเซลล์ VP ที่รอดชีวิตและเซลล์ VP ที่บาดเจ็บในน้ำล้างโดยวิธีการที่แสดงไว้ในข้อ 3.4.1.1 และ 3.4.3.1 ตามลำดับ

3.4.5.3 การล้างกุ้งครั้งที่ 3 (ล้างซ้ำครั้งที่ 2)

เตรียมกุ้ง 21 ตัว แบ่งใส่บีกเกอร์ใบที่ 3 4 และ 5 ใบละ 7 ตัว เมื่อครบเวลาการล้างกุ้งนำกุ้งออกจากบีกเกอร์ใบที่ 3 นำไปล้างในน้ำเกลือ 1% (w/v) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ปริมาตร 100 มิลลิลิตรในบีกเกอร์ (ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ) ขนาด 500 มิลลิลิตรเพื่อล้างสารเปอร์แอซีติกแอซิดและเจือจางสารละลายออกจากกุ้งเป็นเวลา 1 นาที นำกุ้งจากบีกเกอร์ที่ 3 ที่ล้างแล้ว ไปตรวจหาปริมาณปริมาณเซลล์ VP ที่รอดชีวิต ซึ่งเป็นตัวแทนของการล้างครั้งที่ 3 หรือล้างซ้ำครั้งที่ 2 ดังวิธีการที่แสดงไว้ในข้อ 3.4.1.2 ส่วนกุ้งที่อยู่ในบีกเกอร์ใบที่ 4 และ 5 เมื่อครบกำหนดเวลาให้นำออกจากบิกเกอร์ ใช้ปิเปตดูดสารเปอร์แอซีติกแอซิดในบีกเกอร์ใบที่ 3 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์หาความเข้มข้นของเปอร์แอซีติกแอซิดที่เหลือและตรวจปริมาณเซลล์ VP ที่รอดชีวิตและเซลล์ VP ที่บาดเจ็บในน้ำล้างโดยวิธีการที่แสดงไว้ในข้อ 3.4.1.1 และ 3.4.3.1 ตามลำดับ

3.4.5.4 การล้างกุ้งครั้งที่ 4 (ล้างซ้ำครั้งที่ 3)

เตรียมกุ้ง 14 ตัว แบ่งใส่บีกเกอร์ใบที่ 4 และ 5 ใบละ 7 ตัว เมื่อครบเวลาการล้างกุ้งนำกุ้งออกจากบีกเกอร์ใบที่ 4 นำไปล้างในน้ำเกลือ 1% (w/v) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในบีกเกอร์ (ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ) ขนาด 500 มิลลิลิตรเพื่อล้างสารเปอร์แอซีติกแอซิดและเจือจางสารละลายออกจากกุ้งเป็นเวลา 1 นาที นำกุ้งจากบีกเกอร์ที่ 4 ที่ล้างแล้ว ไปตรวจหาปริมาณปริมาณเซลล์ VP ที่รอดชีวิต ซึ่งเป็นตัวแทนของการล้างครั้งที่ 4 หรือล้างซ้ำครั้งที่ 3 ดังวิธีการที่แสดงไว้ในข้อ 3.4.1.2 ส่วนกุ้งที่อยู่ในบีกเกอร์ใบที่ 5 เมื่อครบกำหนดเวลาให้นำออกจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บิกเกอร์ ใช้ปิเปตดูดสารเปอร์แอซีติกแอซิดในบีกเกอร์ใบที่ 4 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์หาความเข้มข้นของเปอร์แอซีติกแอซิดที่เหลือและตรวจปริมาณเซลล์ VP ที่รอดชีวิตและเซลล์ VP ที่บาดเจ็บในน้ำล้างโดยวิธีการที่แสดงไว้ในข้อ 3.4.1.1 และ 3.4.3.1 ตามลำดับ

3.4.5.5 การล้างกุ้งครั้งที่ 5 (ล้างซ้ำครั้งที่ 4)

เตรียมกุ้ง 7 ตัว แบ่งใส่บีกเกอร์ใบที่ 5 เมื่อครบเวลาการล้างกุ้งนำกุ้งออกจากบีกเกอร์ใบที่ 5 นำไปล้างในน้ำเกลือ 1% (w/v) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ปริมาตร 100 มิลลิลิตรในบีกเกอร์ (ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ) ขนาด 500 มิลลิลิตรเพื่อล้างสารเปอร์แอซีติกแอซิด และเขย่าสารละลายออกจากกุ้งเป็นเวลา 1 นาที นำกุ้งจากบีกเกอร์ที่ 5 ที่ล้างแล้วไปตรวจหาปริมาณปริมาณเซลล์ VP ที่รอดชีวิตของ VP ซึ่งเป็นตัวแทนของการล้างครั้งที่ 5 หรือล้างซ้ำครั้งที่ 4 ดังวิธีการที่แสดงไว้ในข้อ 3.4.1.2 ใช้ปิเปตดูดสารเปอร์แอซีติกแอซิดในบีกเกอร์ใบที่ 5 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์หาความเข้มข้นของเปอร์แอซีติกแอซิดที่เหลือและตรวจปริมาณเซลล์ VP ที่รอดชีวิตและเซลล์ VP ที่บาดเจ็บในน้ำล้างโดยวิธีการที่แสดงไว้ในข้อ 3.4.1.1 และ 3.4.3.1 ตามลำดับ

3.4.6 วิเคราะห์คุณสมบัติทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กุ้งที่มีการใช้ และไม่ใช้เปอร์แอซีติกแอซิดในการล้าง

เมื่อได้สารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดที่มีระดับความเข้มข้นและเวลาที่เหมาะสม (การทดลองที่ 3.4.4) นำมาล้างในผลิตภัณฑ์กุ้ง โดยใช้กุ้งตัวอย่างละ 5 ตัว ทำการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค เปรียบเทียบกับกุ้งที่ไม่ล้างเปอร์แอซีติกแอซิด โดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 30 คน ด้วยวิธี 5 point hedonic scale ให้คะแนนความชอบทางด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และการยอมรับโดยรวม (ในการทดสอบด้านรสชาติ จะใช้กุ้งที่ผ่านการต้มสุกโดยใช้ไอน้ำเป็นเวลา 2 นาที) นำคะแนนที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยใช้ Analysis of Variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของคะแนนเฉลี่ยโดย Duncan New's Multiple Range Test (DMRT)

3.4.7 การออกแบบการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ออกแบบการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design; CRD) โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ และใช้โปรแกรม Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) version 14.0 สำหรับการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของข้อมูล ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan New's Multiple Range Test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและการวิจารณ์ผล

4.1 ประสิทธิภาพของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดและโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่เหมาะสมในการลดปริมาณ *Vibrio parahaemolyticus* (VP) ในระดับหลอดทดลอง

จากการศึกษาผลของความเข้มข้นและ เวลาในการสัมผัสของสารฆ่าเชื้อ 2 ชนิด คือ โซเดียมไฮโปคลอไรท์ และเปอร์แอซีติกแอซิด ในการฆ่าเชื้อ VP ในหลอดทดลอง ได้ผลการทดลองดังนี้

4.1.1 ผลของ pH ของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด ในการลดปริมาณ VP ในระดับหลอดทดลอง

เตรียมสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด ที่ความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 0 5 10 20 และ 30 ppm ทำการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด ในแต่ละความเข้มข้นได้ผลดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ค่า pH ของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดที่ความเข้มข้นต่าง ๆ หลังการเตรียมสารละลาย

ความเข้มข้นของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด (ppm)	pH
0	7.12
5	6.68
10	6.22
20	5.40
30	4.98

จากตารางที่ 4.1 พบว่าค่า pH ของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดอยู่ในช่วง 4.98–6.68 ค่า pH ที่วัดได้เป็นช่วง pH ที่เป็นกรด ซึ่งสอดคล้องกับ Baldry (1983) ที่รายงานว่า สมบัติการยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จุลินทรีย์ของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด จะดีในช่วง pH ที่เป็นกรด ในขณะที่ช่วง pH ที่เป็นด่าง จะทำให้สมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดจะลดลง หรือต้องใช้สารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด ที่เข้มข้นมากขึ้น

4.1.2 ผลของ pH ของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ในการลดปริมาณ VP ในระดับหลอดทดลอง

เตรียมสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ที่ความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 0 10 30 50 และ 100 ppm ทำการวัดค่า pH ของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ในแต่ละความเข้มข้น ได้ผลดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ค่า pH ของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ หลังการเตรียมสารละลาย

ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (ppm)	pH
0	7.12
10	8.28
30	8.46
50	8.72
100	9.20

จากตารางที่ 4.2 พบว่า ค่า pH ของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์อยู่ในช่วง 8.28–9.20 ค่า pH ที่วัดได้มีค่า pH >5 ดังนั้นแสดงว่าการแตกตัวของคลอรีนจะอยู่ในรูปของไฮโปคลอไรท์อิออน (OCl^-) ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์มากกว่า ที่จะทำลายจุลินทรีย์ (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2547) Benarde *et al.* (1965) ได้รายงานว่าที่ pH 6.5 คลอรีนจะอยู่ในรูปกรดไฮโปคลอรัส ซึ่งสามารถทำลายแบคทีเรียอย่างรวดเร็ว แต่เมื่อเปลี่ยน pH เป็น 8.5 คลอรีนจะอยู่ในรูปไฮโปคลอไรท์ไอออนที่ความเข้มข้นเท่ากัน แต่ต้องใช้เวลาในการสัมผัสนานกว่าถึงจะมีประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์เท่ากัน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Foegesing (1983) ที่พบว่าคลอรีนหรือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารประกอบคลอรีนมีค่า pH เพิ่มขึ้น จะมีผลทำให้ประสิทธิภาพการทำลายเชื้อของคลอรีนและสารประกอบคลอรีนลดลง กล่าวคือเมื่อใช้ โซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ระดับ pH 9.0 จะมีผลทำให้เชื้อ *B. subtilis* NCDO 1919 ลดลงร้อยละ 90 โดยใช้เวลา 24-41 นาที ในขณะที่ระดับ pH 11.8 จะทำให้เชื้อลดลงไปร้อยละ 90 ต้องใช้เวลานานกว่าถึง 480 นาที และจากรายงานของกรมประมง (2547) พบว่า ที่ความเข้มข้น 15 ppm เวลาที่ใช้ในการทำลายสปอร์ของแบคทีเรียที่ pH 8.0 จะนานถึง 25 นาที ในขณะที่ pH 6.0 จะใช้เวลาเพียง 5 นาทีเท่านั้น สอดคล้องกับการศึกษาของ Cords and Dychdala (1993) พบว่าต้องใช้เวลา 465 นาที ในการทำลายสปอร์ของเชื้อ *B. metiens* ให้ลดลงร้อยละ 99 ในสารละลายไฮโปคลอไรท์ ที่มีคลอรีนอิสระที่ระดับความเข้มข้น 25 ppm อุณหภูมิ 20°ซ ที่ค่า pH 12.9 ในขณะที่ระดับความเข้มข้นเดียวกันที่ค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 6.0 พบว่าใช้เวลาในการทำลายสปอร์ให้ลดลงร้อยละ 99 ในเวลาเพียง 2.5 นาที โดยสารประกอบคลอรีนจะมีประสิทธิภาพลดลงเมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้น

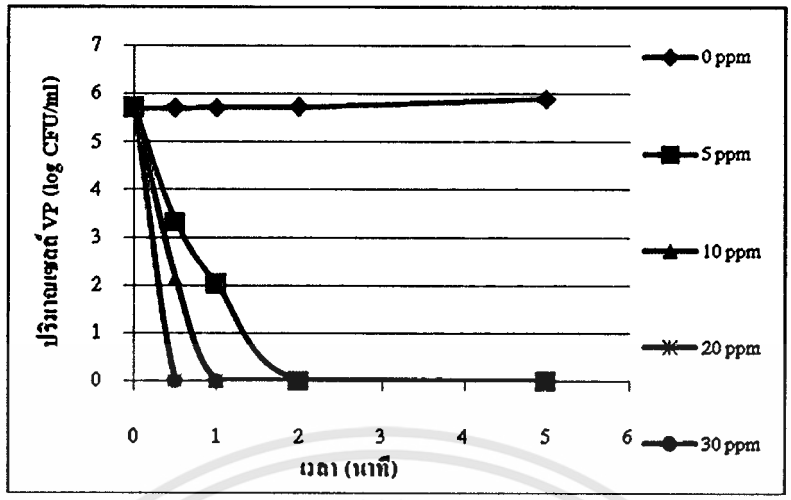
4.1.3 ผลของความเข้มข้น และระยะเวลา (contact time) ของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดในการลดปริมาณ VP ในระดับหลอดทดลอง

ผลการศึกษาพบว่าสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด ที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อ VP (ปริมาณเริ่มต้น 5.7 log CFU/ml) ในหลอดทดลองได้โดยไม่พบเชื้อบนอาหาร TCBS คือที่ความเข้มข้น 5 ppm ใช้เวลาในการฆ่าเชื้อ 2 นาที ต่อมาคือความเข้มข้น 10 ppm ใช้เวลาในการทำลายเชื้อ 1 นาที เป็นต้นไป และที่ความเข้มข้น 20 ppm ใช้เวลาในการฆ่าเชื้อ 0.5 นาทีเป็นต้นไป (ภาพที่ 4.1)

นอกจากนี้เวลาที่ใช้ในการทำลายเชื้อของแต่ละความเข้มข้นของสารละลายที่ใช้มีผลต่อจำนวนโคโลนีของเชื้อ VP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง สารละลายที่ใช้ในระดับความเข้มข้นต่ำ ถ้ายิ่งใช้เวลานานขึ้น จะยิ่งเพิ่มความสามารถในการทำลายเชื้อได้เพิ่มขึ้น

โดยจากการทดลองที่ความเข้มข้นของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด 30 ppm และ 20 ppm พบว่า สามารถทำลายเชื้อ VP (ที่ปริมาณเริ่มต้น 5.7 log CFU/ml) ให้หมดไปได้ในเวลาเพียง 0.5 นาที ส่วนสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดที่ความเข้มข้น 5 ppm และ 10 ppm ต้องใช้เวลาในการทำลายเชื้อนาน 5 นาที และ 2 นาที ตามลำดับ ในการทำลายเชื้อ VP (ที่ปริมาณเริ่มต้น 5.7 log CFU/ml) ให้หมดไป โดยไม่พบจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ และไม่พบการฟื้นตัวของจุลินทรีย์ที่บาดเจ็บ

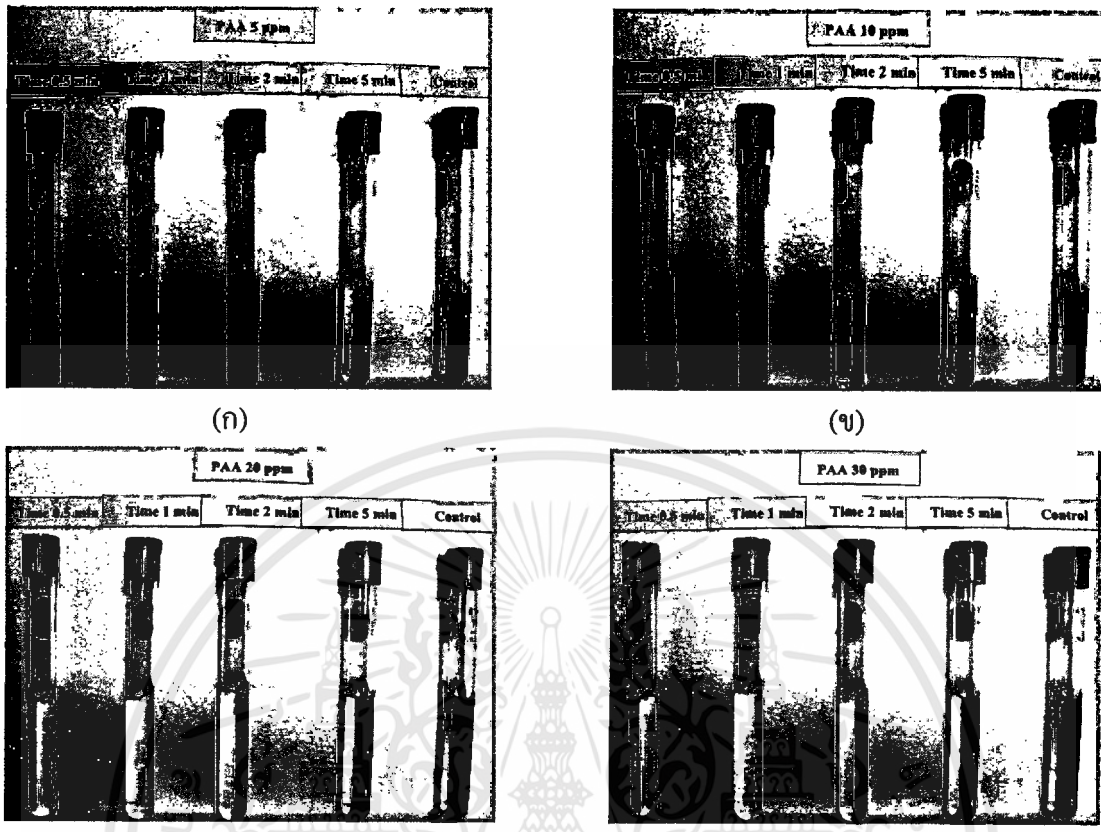
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.1 ผลของความเข้มข้นของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด และระยะเวลาสัมผัส ต่อการลดลง ของเชื้อ VP ในหลอดทดลอง

จากการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด ที่มีผลต่อการทำลายเชื้อ VP ในหลอดทดลอง พบว่า ความเข้มข้นของสารละลาย มีผลต่อการทำลายเชื้อ VP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยพบว่าความเข้มข้นที่สูงมีผลต่อการทำลายเชื้อ VP ได้ดีกว่าความเข้มข้นต่ำ (ตารางภาคผนวกที่ จ.1) สารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด ความเข้มข้น 30 ppm และ 20 ppm สามารถทำลายเชื้อ VP (ที่ปริมาณเริ่มต้น 5.7 log CFU/ml) ใช้ระยะเวลาการสัมผัสเชื้อเพียง 0.5 นาที ในหลอดทดลองได้ดี โดยไม่พบจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ และไม่พบการฟื้นตัวของจุลินทรีย์ที่บาดเจ็บ ในขณะที่ความเข้มข้น 5 ppm และ 10 ppm สามารถยับยั้งเชื้อได้ลดลงตามลำดับของความเข้มข้น เมื่อเทียบกับหลอดควบคุม (ที่ไม่มีการเติมสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด) ทั้งนี้ลักษณะที่ปรากฏในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB+2% NaCl แสดงดังภาพที่ 4.2 ก - 4.2 ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

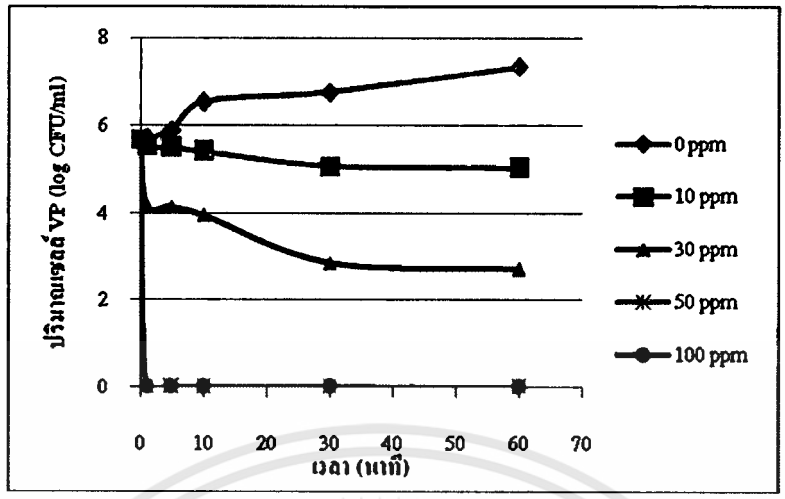


ภาพที่ 4.2 การฟื้นตัวของเซลล์ VP ที่บาดเจ็บเมื่อบ่มในอาหารลี้ยงเชื้อ TSB+2% NaCl เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 35-37°ซ โดยเซลล์ VP ที่บาดเจ็บเป็นผลจากการใช้สารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด (PAA) ที่ความเข้มข้น: (ก) ความเข้มข้น 5 ppm; (ข) ความเข้มข้น 10 ppm; (ค) ความเข้มข้น 20 ppm; (ง) ความเข้มข้น 30 ppm

4.1.4 ผลของความเข้มข้น และระยะเวลา (contact time) ของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ในการลดปริมาณ VP ในระดับหลอดทดลอง

ผลการศึกษาพบว่าสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อ VP (ที่ปริมาณเริ่มต้น 5.7 log CFU/ml) ในหลอดทดลองได้โดยไม่พบเชื้อบนอาหาร TCBS คือที่ความเข้มข้น 50 ppm ใช้เวลาในการทำลายเชื้อ 1 นาที (ภาพที่ 4.3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



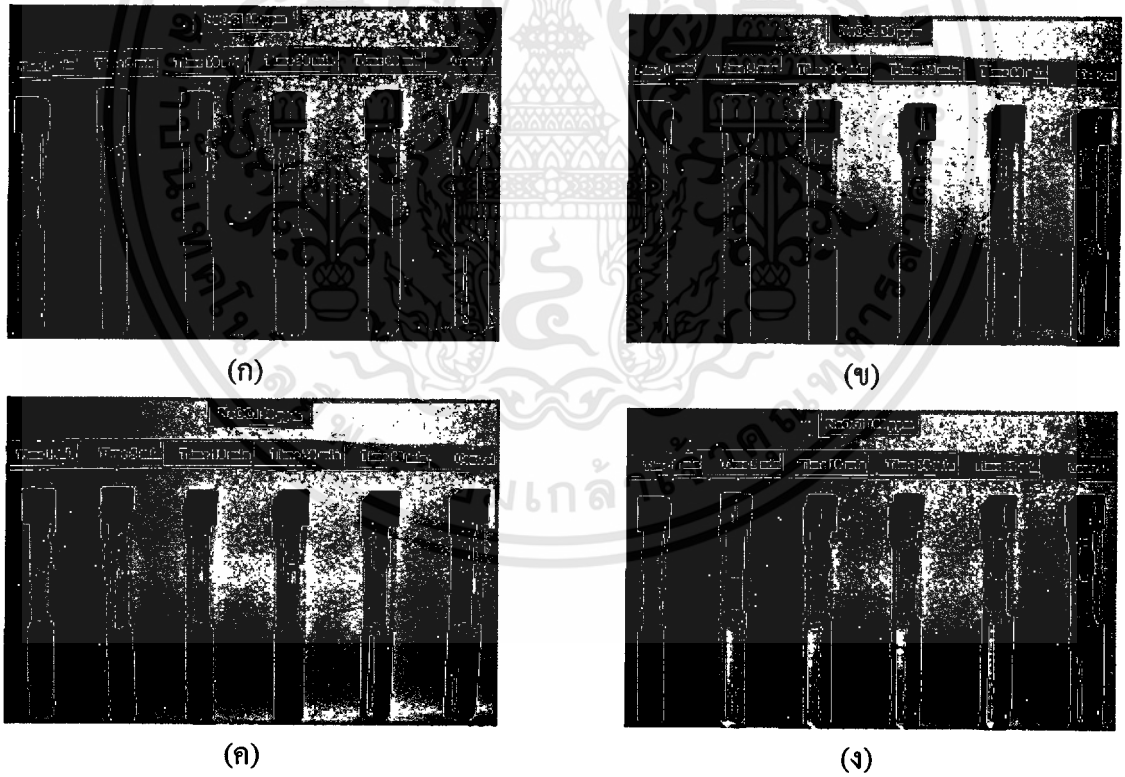
ภาพที่ 4.3 ผลของความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ และระยะเวลาสัมผัส ต่อการลดลงของเชื้อ VP ในหลอดทดลอง

จากการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมโฮโปคลอไรท์ ที่มีผลต่อการทำลายเชื้อ VP ในหลอดทดลองพบว่าความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมโฮโปคลอไรท์ มีผลต่อการทำลายเชื้อ VP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยพบว่าความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมโฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้นที่สูง มีผลต่อการทำลายเชื้อ VP ได้ดีกว่าความเข้มข้นต่ำ (ตารางภาคผนวกที่ จ. 2) สารละลายโซเดียมโฮโปคลอไรท์ที่ความเข้มข้น 100 ppm สามารถทำลายเชื้อ VP (ที่ปริมาณเริ่มต้น 5.7 log CFU/ml) ในระยะเวลาการสัมผัสเชื้อ 5 นาที ในหลอดทดลองได้ดี โดยไม่พบจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ และไม่พบการฟื้นตัวของจุลินทรีย์ที่บาดเจ็บ ขณะที่ความเข้มข้น 50 ppm ไม่พบจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ แต่พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่บาดเจ็บสามารถฟื้นตัวได้ และที่ความเข้มข้น 30 ppm และ 10 ppm สามารถทำลายเชื้อได้ลดลงตามลำดับของความเข้มข้นเมื่อเทียบกับหลอดควบคุม (ที่ไม่มีการเติมสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์) นอกจากนี้เวลาที่ใช้ในการทำลายเชื้อของแต่ละความเข้มข้น ของสารละลายที่ใช้มีผลต่อจำนวนโคโลนีที่รอดชีวิตของเชื้อ VP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยพบว่าสารละลายที่ใช้ในระดับความเข้มข้นต่ำ ถ้ายิ่งใช้เวลานานขึ้น จะยิ่งเพิ่มความสามารถในการทำลายเชื้อได้ดี จากการทดลองที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 100 ppm พบว่าสามารถทำลายเชื้อ VP (ที่ปริมาณเริ่มต้น 5.7 log CFU/ml) ให้หมดไปได้ในเวลา 5 นาที โดยไม่พบจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ และไม่พบการฟื้นตัวของจุลินทรีย์ที่บาดเจ็บ ส่วนสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ที่ความเข้มข้น 50 ppm ต้องใช้เวลาในการทำลายเชื้อนานถึง 60 นาทีในการลดจำนวนเชื้อ VP (ที่ปริมาณเริ่มต้น 5.7 log CFU/ml) ให้หมดไปโดยไม่พบการฟื้นตัวของจุลินทรีย์ที่บาดเจ็บ ขณะที่ระดับความเข้มข้น 10 ppm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และ 30 ppm สามารถลดจำนวนเชื้อ VP (ที่ปริมาณเริ่มต้น 5.7 log CFU/ml) ให้ลดลงได้ 0.41 log CFU/ml และ1.76 log CFU/ml ตามลำดับ ในเวลา 5 นาที สำหรับภาพที่ 4.4 แสดงถึงพบการฟื้นตัวของเซลล์เชื้อ VP ที่บาดเจ็บเมื่อบ่มในอาหารลี้ยงเชื้อ TSB+2% NaCl เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 35-37°ซ โดยเซลล์ VP ที่บาดเจ็บเป็นผลจากการใช้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) ที่ความเข้มข้นต่างๆ

จากผลการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายและเวลาในการทำลายเชื้อ VP ของสารละลายทั้ง 2 ชนิด คือ สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์และสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด ในหลอดทดลอง พบว่าสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ที่ระดับความเข้มข้น 50 ppm สามารถทำลายเชื้อ VP (ที่ปริมาณเริ่มต้น 5.7 log CFU/ml) เวลา 1 นาที ได้หมดไปโดยไม่พบโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ แต่เมื่อนำไปบ่มในอาหาร TSB+2% NaCl เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าเชื้อ VP ที่บาดเจ็บสามารถฟื้นตัวได้ แต่ถ้าใช้ระยะเวลา 60 นาที พบว่าสามารถทำลายเชื้อ VP ได้หมดไปอย่างสมบูรณ์ โดยไม่พบเชื้อที่บาดเจ็บ

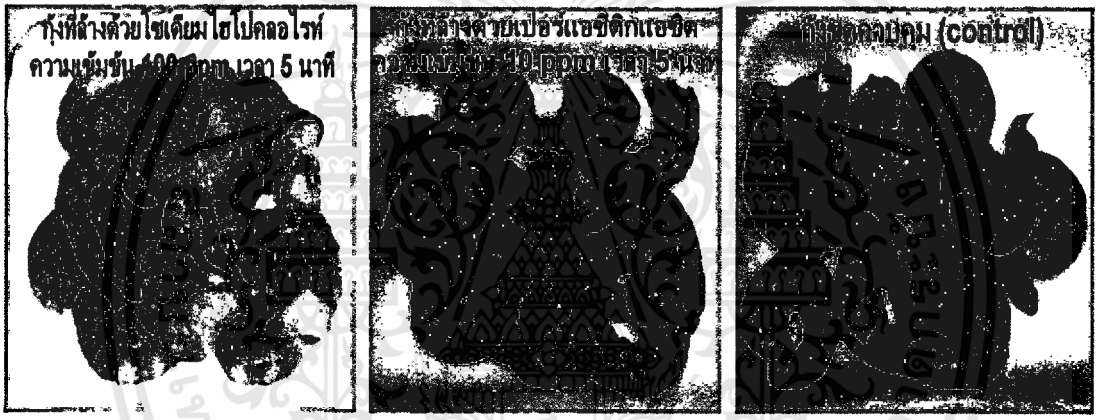


(ก) (ข) (ค) (ง)

ภาพที่ 4.4 การฟื้นตัวของเซลล์ VP ที่บาดเจ็บเมื่อบ่มในอาหารลี้ยงเชื้อ TSB+2% NaCl เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 35-37°ซ โดยเซลล์ VP ที่บาดเจ็บเป็นผลจากการใช้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) ที่ความเข้มข้น: (ก) ความเข้มข้น 10 ppm; (ข) ความเข้มข้น 30 ppm; (ค) ความเข้มข้น 50 ppm; (ง) ความเข้มข้น 100 ppm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลดังกล่าวที่ได้ จะพบว่าเมื่อเปรียบเทียบระยะเวลาที่เหมาะสม 5 นาที ที่สารฆ่าเชื้อสามารถทำลายเชื้อได้หมดไปและไม่ควรพบเชื้อที่บาดเจ็บซึ่งสามารถฟื้นตัวได้ คือสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด ที่ความเข้มข้น 10 ppm และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ที่ความเข้มข้น 100 ppm แต่เนื่องจากในกระบวนการล้างกุ้งนั้น การใช้ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ 100 ppm ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของสีกุ้งได้ เนื่องจากใช้ความเข้มข้นมากเกินไป ดังภาพที่ 4.5 ซึ่งไม่เหมาะสมต่อการใช้งาน อีกทั้งเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด ที่ความเข้มข้น 10 ppm ระยะเวลา 5 นาที พบว่าไม่มีผลกระทบต่อกุ้ง ที่ล้างดังนั้นจึงเลือกใช้สารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด ที่ระดับความเข้มข้น 10 ppm ใช้ระยะเวลา 5 นาที เพื่อใช้ในการศึกษาการทำลายเชื้อ VP ในกุ้งสดก่อนกระบวนการแช่แข็งต่อไป



(ก) (ข) (ค)

ภาพที่ 4.5 กุ้งสดที่ผ่านการล้างด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ และสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดเปรียบเทียบกับชุดควบคุม: (ก) กุ้งล้างด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ที่ความเข้มข้น 100 ppm 5 นาที; (ข) กุ้งล้างด้วยสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด ที่ความเข้มข้น 10 ppm 5 นาที; (ค) กุ้งชุดควบคุม ล้างด้วยน้ำเปล่า

4.2 ผลการเตรียมตัวอย่างกุ้งสดที่ใช้ในการทดลอง

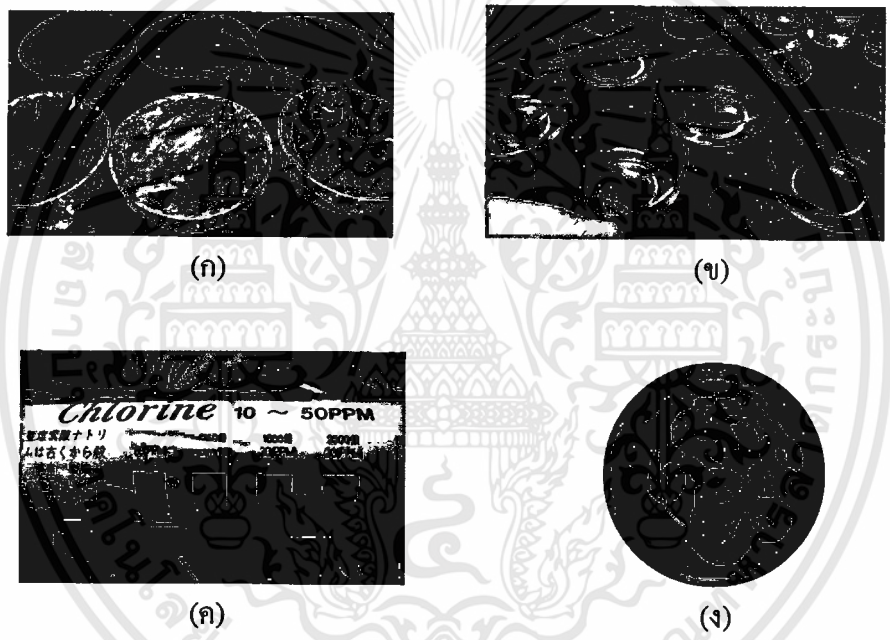
ในการทดลองครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด ที่นำมาใช้แทนสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ในการล้างกุ้งเพื่อลดปริมาณเซลล์ของเชื้อ VP

ก่อนการถ่ายเชื้อ VP บนกุ้ง ได้ทำการตรวจสอบคุณภาพทางจุลินทรีย์บนกุ้งตามธรรมชาติ พบว่ากุ้งสดที่ใช้ในการศึกษามีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดโดยเฉลี่ยที่ตรวจนับบนอาหาร TSA เท่ากับ 3.33 log CFU/ml และตรวจไม่พบเชื้อ VP บนอาหาร TCBS

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.1 ผลการล้างเพื่อลดเชื้อดั้งเดิมที่ปนเปื้อนบนกุ้ง

ในการเตรียมกุ้งสดให้ปราศจากเชื้อแบคทีเรียปนเปื้อนดังภาพที่ 4.6 สารที่นิยมใช้มากที่สุดในโรงงานผลิตอาหาร คือ สารประกอบไฮโปคลอไรท์ ได้แก่ โซเดียมไฮโปคลอไรท์ ลักษณะการนำมาใช้ส่วนมากใช้ในรูปของสารละลายเจือจางที่เหมาะสม จะไม่ทำให้เกิดพิษ ไม่มีสี และสามารถกำจัดเชื้อแบคทีเรียได้ทุกชนิด โดยสารโซเดียมไฮโปคลอไรท์ จะทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ถูกทำลาย เนื่องจากโซเดียมไฮโปคลอไรท์ จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นกับส่วนที่เป็นของเหลวภายในเซลล์ หรือส่วนที่เป็นโปรตีนของเซลล์ ทำให้เซลล์ทำงานผิดปกติ หรืออาจเกิดปฏิกิริยารบกวนการทำงานของเอนไซม์ทำให้โปรตีนตกตะกอน เป็นต้น (กรมประมง, 2547)



(ก) (ข)

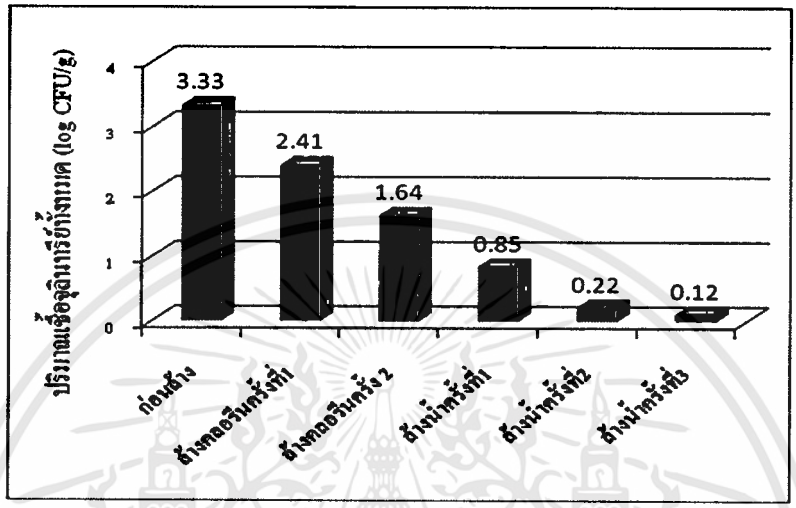
(ค) (ง)

ภาพที่ 4.6 การล้างเพื่อลดเชื้อจุลินทรีย์ดั้งเดิม ที่รอดชีวิตบนผิวกุ้ง: (ก) ภาชนะปลอดเชื้อ; (ข) น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ ปริมาตร 200 มิลลิลิตร; (ค) ตรวจสอบปริมาณไฮโปคลอไรท์ โดยใช้กระดาษวัดค่าไฮโปคลอไรท์; (ง) ล้างกุ้งขั้นตอนละ 1 นาที

จากภาพที่ 4.6 การนำตัวอย่างกุ้งสดมาทำให้ปราศจากเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งกุ้งที่ใช้ในการทดลองเป็นตัวอย่างผลิตภัณฑ์สุดท้าย ที่ผ่านการลดปริมาณจุลินทรีย์มาแล้วระดับหนึ่ง ตรวจนับปริมาณจุลินทรีย์ในตัวอย่างกุ้งเพื่อหาปริมาณเชื้อเริ่มต้น และทำการล้างด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ความเข้มข้น 50 ppm จำนวน 2 ครั้ง แล้วตามด้วยน้ำสะอาด อีก 3 ครั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เก็บตัวอย่างหลังจากการล้าง ไปตรวจยืนยันว่าปราศจากแบคทีเรียหรือมีปริมาณน้อยที่สุดก่อนทำการถ่ายเชื้อ VP ลงในตัวอย่างกุ้ง ผลปริมาณเชื้อแสดงดังภาพที่ 4.7 ซึ่งพบว่าขั้นตอนการล้างกุ้งด้วยสารฆ่าเชื้อมีผลต่อการลดลงของปริมาณเชื้อแบคทีเรียปนเปื้อนอย่างสูง



ภาพที่ 4.7 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดที่เหลือรอดหลังผ่านขั้นตอนการล้าง (log CFU/g)

4.2.2 ผลการถ่ายเชื้อ VP บนกุ้ง

เมื่อนำเซลล์เชื้อ VP ที่เตรียมได้ ถ่ายลงบนกุ้ง เมื่อตรวจนับพบได้ปริมาณเชื้อเริ่มต้นเฉลี่ย 4.0 log CFU/g

4.3 ประสิทธิภาพของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด ที่เหมาะสมในการลด VP บนผิวกุ้งและน้ำล้าง

ในการทดลองนี้ ได้ทดลองล้างกุ้งที่อุณหภูมิ 4±2°ซ และ 25±2°ซ ด้วยสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเพิ่มประสิทธิภาพของสารละลายในการทำลายเชื้อ VP เลียนแบบขั้นตอนการล้างกุ้งในโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร ซึ่งมักจะล้างกุ้งในสารละลายฆ่าเชื้อผสมน้ำแข็งเพื่อรักษาคุณภาพอาหารให้สดและเพื่อเนื้อสัมผัสของอาหารให้แน่นขึ้นและจากรายงานของ Cords and Dychdala (1993) พบว่า สารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดมีประสิทธิภาพดีในการทำลายจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิต่ำ แตกต่างจากสารประกอบคลอรีนที่มีประสิทธิภาพดีที่อุณหภูมิช่วง 21-38°ซ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1 ผลของอุณหภูมิของสารละลาย เปอร์แอซิติกแอซิด ในการทำลายเชื้อ VP บนผิวกุ้ง

ผลของอุณหภูมิ 5°ซ และ 25°ซ และระดับความเข้มข้นของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด (ที่ 0 5 10 และ 20 ppm) ต่อการลดปริมาณเชื้อ VP (ปริมาณเริ่มต้น 4.0 log CFU/g) บนผิวกุ้ง พบว่า เมื่ออุณหภูมิของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดเพิ่มขึ้น ประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อ VP ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ใน (ตารางที่ 4.3) รวมทั้งเมื่อระยะเวลา contact time มากขึ้นปริมาณเชื้อ VP มีแนวโน้มลดลงสอดคล้องกับรายงานของ Roshner (1987) พบว่าการทำลายเชื้อด้วยสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด ที่ 80 ppm ที่อุณหภูมิ 5 20 และ 40°ซ สามารถทำลายเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* (gram-negative bacteria) ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2×10^8 CFU/g โดยใช้เวลาในการทำลายเชื้อที่ 1 นาที เท่ากัน และ Baldry (1983) รายงานว่าในการทดสอบผลการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารฆ่าเชื้อโรคหลายชนิด ที่อุณหภูมิ 5°ซ พบว่าสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดสามารถทำลายเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบได้ดีที่สุด ซึ่งเป็นข้อดีของสารฆ่าเชื้อชนิดนี้เมื่อเปรียบเทียบกับสารฆ่าเชื้ออื่นๆ เพราะที่อุณหภูมิต่ำสารฆ่าเชื้อชนิดอื่นๆ จะมีประสิทธิภาพการทำงานลดลงมาก ในขณะที่ประสิทธิภาพการทำงานของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดไม่ลดลงมากนักที่อุณหภูมิต่ำ (5°ซ)

ตารางที่ 4.3 ผลการศึกษาอุณหภูมิของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด และระยะเวลาในการทำลายเชื้อ VP (ที่ปริมาณเริ่มต้น 4.0 log CFU/g) บนผิวกุ้ง

อุณหภูมิ (°ซ)	ความเข้มข้น ppm	จำนวนโคโลนี (log CFU/g)		
		1 นาที	5 นาที	10 นาที
5	0	4.00	4.20	4.82
	5	3.91	3.79	3.61
	10	3.60	3.19	3.07
	20	3.38	2.62	2.31
25	0	4.00	4.20	4.81
	5	3.92	3.80	3.62
	10	3.63	3.23	2.91
	20	3.44	2.63	2.31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อย่างไรก็ตามที่อุณหภูมิสูงก็มีผลเร่งการทำงานของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดให้เร็วขึ้นเช่นกัน และจากการศึกษาของ รชา เทพยุธร (2545) รายงานว่า การใช้สารผสมเปอร์ออกซีแอซีติกแอซิดที่ใช้ทางการค้า 2 ชนิด คือ Inspexx 100 และ Inspexx 200 ความเข้มข้น 100 ppm ล้างไก่ที่สร้างการปนเปื้อนด้วย *Salmonella* spp. ทั้งหมด 4 สายพันธุ์ เป็นระยะเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 37°ซ 27°ซ และ 4°ซ สามารถลดปริมาณ *Salmonella* spp. ที่ถ่ายบนไก่ทั้งหมด 4 สายพันธุ์ ได้ใกล้เคียงกัน

จากผลการทดลองดังกล่าว จึงทำการทดลองประสิทธิภาพของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด ที่เหมาะสมในการลดเชื้อ VP บนผิวกุ้งและน้ำล้างที่อุณหภูมิ 25±2°ซ

เมื่อพิจารณาระดับความเข้มข้นของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด ที่ใช้ในการล้างกุ้งโดยเพิ่มระดับความเข้มข้นของสารละลายให้สูงขึ้น พบว่า มีผลต่อการลดลงของปริมาณ VP ทั้งนี้อาจมีปัจจัยที่เกี่ยวข้อง คือ ค่า pH ทั้งนี้จากการติดตามการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดหลังการเตรียมสารละลายที่ความเข้มข้น 5 10 20 40 80 และ 100 ppm และทำการวัด pH ของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด หลังล้างกุ้ง ได้ผลดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ค่า pH ของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดที่ความเข้มข้นต่างๆ ภายหลังการเตรียมสารละลายและภายหลังจากล้างตัวอย่างกุ้ง

ความเข้มข้น ppm	ค่า pH			
	ภายหลังเตรียมสารละลาย	ภายหลังล้างกุ้งที่ระยะเวลา (นาที)		
		1	5	10
0	7.12	6.91	6.85	6.82
5	6.68	6.70	6.84	6.79
10	6.22	6.38	6.59	6.73
20	5.4	6.01	6.26	6.45
40	4.53	5.21	5.66	6.14
80	3.95	4.69	4.83	5.26
100	3.85	4.55	4.96	5.14

จากตารางที่ 4.4 พบว่า ค่า pH ที่วัดได้หลังจากการเตรียมสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด ที่ความเข้มข้น 5 10 20 40 80 และ 100 ppm อยู่ที่ 6.68 6.22 5.40 4.53 3.95 และ 3.85

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตามลำดับ สำหรับค่า pH ที่มีผลต่อประสิทธิภาพของสารเปอร์แอซิติกแอซิด ในการทำลายเชื้อ VP โดยพิจารณาจากค่า pH ที่เพิ่มมากขึ้น เมื่อเตรียมสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดที่ความเข้มข้นสูงขึ้น ทำให้เกิดสภาวะที่ไม่เหมาะสม จากข้อมูลของ International Commission on Microbiological Specification for Food (1996) รายงานว่าค่า pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ VP อยู่ที่ 7.8 - 8.6 จากการทดลองพบว่าเมื่อระยะเวลาในการล้างกุ้งเพิ่มมากขึ้นค่า pH มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น ทั้งนี้อาจเป็นเพราะผลของสารอินทรีย์จากกุ้งที่นำมาล้าง อย่างไรก็ตาม สุมณฑา วัฒนสินธุ์ (2547) รายงานว่าผลของสารอินทรีย์มีผลต่อสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดน้อยมาก จึงเป็นข้อได้เปรียบของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด ที่จะนำมาใช้กับสิ่งสกปรก ที่มีสารอินทรีย์อยู่มาก หรือนำมาใช้ลดเชื้อในวัตถุดิบขั้นต้นได้

จากความเข้มข้นของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด ที่ความเข้มข้น 10 ppm และ 5 ppm สามารถลดเชื้อ VP (ที่ปริมาณเริ่มต้น 4.0 log CFU/g) ในเวลา 2 นาที และ 5 นาที (ตามลำดับ) ในระดับหลอดทดลองได้โดยไม่พบเชื้อ และไม่พบเชื้อ VP ที่บาดเจ็บฟื้นตัว แต่เมื่อนำความเข้มข้นดังกล่าว มาใช้ในการทำลายเชื้อ VP ที่ผิวกุ้ง โดยใช้เวลา 1 5 และ 10 นาที พบว่าไม่สามารถทำลายเชื้อได้หมด (ตารางที่ 4.5)

ตารางที่ 4.5 ผลการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด และระยะเวลาในการทำลายเชื้อ VP (ที่ปริมาณเริ่มต้น 4.0 log CFU/g) บนผิวกุ้ง

ความเข้มข้น (ppm)	ระยะเวลาสัมผัส (นาที)*		
	1	5	10
0	4.00^{a}	4.20^{a}	4.85^{a}
5	3.91^{a}	3.85^{b}	3.75^{b}
10	3.68^{b}	3.67^{c}	3.61^{c}
20	3.48^{c}	2.67^{d}	2.47^{d}
40	3.08^{d}	2.27^{e}	2.07^{e}
80	2.28^{e}	1.37^{f}	0.47^{f}
100	1.68^{f}	0.95^{g}	0.20^{g}

หมายเหตุ * ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อเปรียบเทียบแบบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 4.5 พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด จาก 5 เป็น 10 20 40 80 และ 100 ppm เมื่อล้างกุ้งเป็นเวลาเท่ากันที่ 10 นาที จะตรวจพบจำนวนเชื้อ VP ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยที่ระดับความเข้มข้นของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด 5 ppm ตรวจพบจำนวนเชื้อ VP ได้ 3.75 log CFU/g และจะลดลงเป็น 3.61 2.47 2.07 0.47 และ 0.20 log CFU/g ตามลำดับ

ในการศึกษาผลของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด ที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อ VP ที่ ระยะเวลาสัมผัส 10 นาที (ที่ปริมาณเชื้อ 4.85 log CFU/g) บนผิวกุ้งได้โดยตรวจพบจำนวนเชื้อ VP น้อยที่สุด คือที่ความเข้มข้น 100 ppm สามารถลดเชื้อ VP ลงได้ 4.65 log CFU/g

เมื่อพิจารณาน้ำล้างที่ผ่านการล้างกุ้งที่ถ่ายเชื้อ VP (ที่ปริมาณเริ่มต้น 4.0 log CFU/g) ด้วยสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด ที่ความเข้มข้น 5 10 20 และ 40 ppm เมื่อล้างกุ้งเป็นเวลา 1 5 และ 10 นาที พบว่าสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดสามารถทำลายเชื้อ VP ได้หมดไปโดยไม่พบโคโลนี VP บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS แต่เมื่อนำน้ำล้าง ไปบ่มในอาหาร TSB+2% NaCl เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าเชื้อ VP ที่บาดเจ็บสามารถฟื้นตัวได้ (ตารางที่ 4.6)

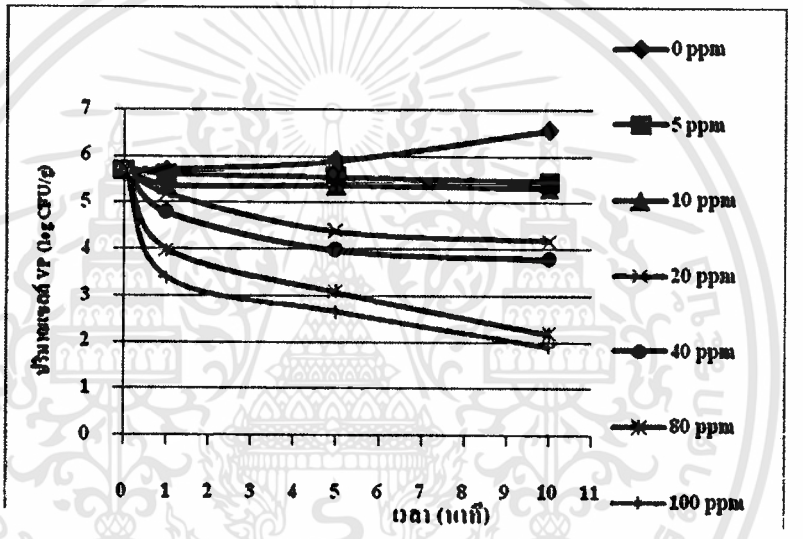
ตารางที่ 4.6 ผลการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด และระยะเวลาในการทำลายเชื้อ VP (ที่ปริมาณเริ่มต้น 4.0 log CFU/g) ในน้ำล้าง

ความเข้มข้น (ppm)	ระยะเวลาสัมผัส (นาที)		
	1	5	10
0	2.90	2.92	3.08
5	ND*	ND*	ND*
10	ND*	ND*	ND*
20	ND*	ND*	ND*
40	ND*	ND*	ND*
80	ND	ND	ND
100	ND	ND	ND

หมายเหตุ: * พบเซลล์ VP ที่บาดเจ็บสามารถฟื้นตัวภายหลังการบ่มในอาหาร TSB+2% NaCl เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 35-37°ซ; ND=not detect ในการเพาะเลี้ยงบนอาหาร TCBS โดยตรง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 4.6 ที่ความเข้มข้นสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด 80 และ 100 ppm เมื่อล้างกุ้งเป็นเวลา 1 5 10 นาที พบว่าสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดสามารถทำลายเชื้อ VP ได้หมดไปโดยไม่พบโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS และตรวจไม่พบเชื้อ VP ที่บาดเจ็บฟื้นตัว เมื่อนำไปบ่มในอาหาร TSB+2% NaCl เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ในการศึกษาผลของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อ VP (ที่ปริมาณเริ่มต้น 4.0 log CFU/g) บนผิวกุ้งได้โดยตรวจพบจำนวนเชื้อ VP น้อยที่สุด คือที่ความเข้มข้น 100 ppm ใช้เวลาในการฆ่าเชื้อ 10 นาที ดังแสดงในภาพที่ 4.8



ภาพที่ 4.8 ผลของความเข้มข้นของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด และระยะเวลาสัมผัส ต่อการลดลงของเชื้อ VP (ที่ปริมาณเริ่มต้น 4.0 log CFU/g) บนผิวกุ้ง

จากผลการศึกษาที่แสดงในภาพที่ 4.8 พบว่าประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด จะแปรผันตามความเข้มข้นและระยะเวลาการสัมผัสเชื้อ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Taormina and Beuchat (1999) ซึ่งรายงานว่า สารละลายผสมกรดเปอร์แอซิติกแอซิด 2 ชนิด ซึ่งใช้ชื่อทางการค้าว่า TsunamiTM และ VortexTM มีประสิทธิภาพในการลด *E. coli* 0157:H7 ที่ปนเปื้อนบนเมล็ดอัลฟัลฟา (alfalfa)ได้ และประสิทธิภาพจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นและเวลาในการสัมผัสสารฆ่าเชื้อเพิ่มขึ้น ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าจำนวนของเชื้อ VP ที่ลดลงอาจเนื่องมาจากสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด (ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารออกซิไดซ์อย่างแรง) ทำลายเซลล์แบคทีเรียโดยรบกวนพันธะซัลไฮดริลและซัลเฟอร์ในโปรตีน ซึ่งเป็นส่วนประกอบของเอนไซม์ นอกจากนี้ยังสามารถทำปฏิกิริยากับโปรตีนซึ่งเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ ทำให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โปรตีนเสียสภาพ ขัดขวางการขนส่งของผนังเซลล์ รวมทั้งสามารถรบกวนการผ่านเข้าออกที่เยื่อหุ้มเซลล์ได้ (Davidson and Branen, 1993)

สำหรับประสิทธิภาพของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด ในการลดปริมาณจุลินทรีย์ในอาหารชนิดอื่น วชิราภรณ์ เทียมพันธ์ (2542) ได้ล้างผักกาดหอมปนเปื้อน *E. coli* ในสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด (Tsunami 100) ความเข้มข้น 80 ppm พบว่า สารละลายนี้สามารถลดปริมาณ *E. coli* จากปริมาณเซลล์ตั้งต้น 4.41 log CFU/ml ได้หมดภายในระยะเวลา 15 นาที ส่วน Wisniewsky *et al.*(2000) ได้ล้างผลแอปเปิ้ลด้วยสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด (Tsunami 100) ที่ความเข้มข้น 80 ppm สามารถลดปริมาณเซลล์ *E.coli* 0157:H7 ได้ถึง 3 log CFU/ml/ผลแอปเปิ้ล และจากการศึกษาของ Weissinger and Beuchat (2000) พบว่าสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด (Tsunami 100 และ Vortex) ความเข้มข้น 270-1060 ppm สามารถลดปริมาณ *Salmonella* บนเมล็ดอัลฟัลฟาได้ตั้งแต่ 0.9-1.6 และ 1.0-1.7 log CFU/g โดยสารทั้งสองชนิดมีประสิทธิภาพดีเมื่อเปรียบเทียบกับสารประกอบคลอรีนเช่น โซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 200-2000 ppm และแคลเซียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 200-2000 ppm ซึ่งสามารถลดปริมาณ *Salmonella* บนเมล็ดอัลฟัลฟา ได้เพียง 0.3-0.8 และ 0.1-0.7 log CFU/gตามลำดับแม้ว่าจะนำมาใช้ที่ความเข้มข้นสูงกว่า นอกจากนั้นรชา เทพษร (2545) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดที่ใช้ทางการค้า (คือสาร Inspexx 100) ความเข้มข้น 80 ppm ในการล้างไก่ที่สร้างการปนเปื้อนด้วยเซลล์ *S. typhimurium* ได้ 0.7 log CFU/g

จากความเข้มข้นและเวลาที่เหมาะสมของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด ในการลดเชื้อ VP ที่ผิวกุ้งและในน้ำล้าง คือ ความเข้มข้น 100 ppm เป็นเวลา 10 นาที จึงทำให้มั่นใจว่า ถ้าเลือกใช้ที่ความเข้มข้นดังกล่าวในการล้างกุ้ง จะช่วยลดปัญหาเชื้อ VP ที่ปนเปื้อนในกระบวนการผลิต จากการทิ้งน้ำล้างได้ ดังนั้นจึงเลือกสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด ที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm ใช้ระยะเวลา 10 นาทีเพื่อทำการศึกษาประสิทธิภาพของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด ในการล้างกุ้งซ้ำเพื่อลดปริมาณเชื้อ VP ในกุ้งสดก่อนกระบวนการแช่แข็งต่อไป

4.4 ประสิทธิภาพของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดในการล้างซ้ำเพื่อลดปริมาณ VP (ที่ปริมาณเริ่มต้น 4.0 log CFU/g) บนผิวกุ้ง

ในการทดลอง ได้วางแผนการทดลองเพื่อควบคุมปริมาตรของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด ที่ใช้ล้างกุ้งให้คงเดิมตลอดการทดลอง เนื่องจากในการทดลองจะมีการดึงสารฆ่าเชื้อออกมาเพื่อตรวจหาปริมาณความเข้มข้นของสารเปอร์แอซิติกแอซิดภายหลังการล้างแต่ละครั้ง ทำให้สารมีปริมาณลดลงเรื่อยๆ วิธีการทดลองนี้จึงควบคุมปริมาตรของสารในการล้างกุ้งแต่ละครั้งให้มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตรเท่ากันตลอดการทดลอง การล้างซ้ำช่วยลดปริมาณน้ำที่ใช้ ทำให้ประหยัดสารฆ่าเชื้อและลดค่าใช้จ่ายของกระบวนการผลิต

นำกุ้งที่สร้างการปนเปื้อนเชื้อ VP (ครั้งละ 7 ตัว น้ำหนักรวม 42–56 กรัม) ล้างด้วยสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด ความเข้มข้น 100 ppm (สัดส่วนกุ้งเฉลี่ยต่อน้ำล้าง คือ 1 กรัม : 2 มิลลิลิตร) เป็นระยะเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง (25±2°ซ) ลงในบิกเกอร์ใบที่ 1-5 แยกกัน เพื่อเป็นตัวแทนของการล้างกุ้งครั้งที่ 1-5 เมื่อครบเวลาล้างกุ้ง ตรวจปริมาณเซลล์จุลินทรีย์ที่รอดชีวิตบนกุ้งและปริมาณความเข้มข้นของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดที่เหลือจากบิกเกอร์ใบที่ 1 หลังจากล้างกุ้งเพียงแค่ 1 ครั้ง ส่วนบิกเกอร์ใบที่ 2 หลังจากล้างกุ้งแต่ละชุดในสารละลายฆ่าเชื้อเดิม 2 ครั้ง (ทิ้งกุ้งชุดที่ล้างครั้งแรกโดยไม่ต้องตรวจปริมาณจุลินทรีย์) ในทำนองเดียวกัน ตรวจตัวอย่างกุ้งและหาปริมาณสารฆ่าเชื้อในบิกเกอร์ใบที่ 3 4 และ 5 หลังจากล้างกุ้งแต่ละชุดในสารละลายฆ่าเชื้อเดิมเป็นครั้งที่ 3 4 และ5 ตามลำดับ (ทิ้งกุ้งชุดที่ล้างเป็นครั้งที่ 2 3 และ4 ตรวจเฉพาะในกุ้งชุดสุดท้ายที่ล้าง คือ ชุดที่ล้างเป็นครั้งที่ 3 4 และ 5 ตามลำดับ) ผลการศึกษาแสดงในตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 ปริมาณเชื้อ VP ที่รอดชีวิตบนผิวกุ้งและปริมาณความเข้มข้นของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดที่เหลือ ภายหลังการล้างทั้งหมด 5 ครั้ง

จำนวนครั้งที่นำสารมาใช้ล้าง	ปริมาณเชื้อ VP บนผิวกุ้ง[a] (log CFU/g)	ปริมาณเชื้อ VP ในน้ำล้าง (log CFU/ml)	ความเข้มข้นสารฆ่าเชื้อที่เหลือ[b] (ppm)
1 (ซ้ำที่ 0)	0.58	ND	87.3
2 (ซ้ำที่ 1)	0.77	ND	77.4
3 (ซ้ำที่ 2)	1.78	ND	47.2
4 (ซ้ำที่ 3)	4.33	ND*	11.0
5 (ซ้ำที่ 4)	4.28	ND*	6.0

หมายเหตุ: a = ปริมาณเซลล์ VP (ที่ปริมาณเริ่มต้น 4.0 log CFU/g) ที่ถ่ายลงบนกุ้งสดหลังการล้างกุ้งสดด้วยสารละลายเปอร์แอซิติกแอซิด ตรวจนับบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS; b = ปริมาณความเข้มข้นของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดที่เหลือหลังจากการล้างกุ้งสดในแต่ละครั้ง (ที่เข้มข้นตั้งต้น 98.8 ppm); * พบเซลล์ VP ที่บาดเจ็บที่สามารถฟื้นตัวภายหลังการบ่มในอาหาร TSB+2% NaCl เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 35-37°ซ; ND=not detect ในการเพาะเลี้ยงบนอาหาร TCBS โดยตรง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

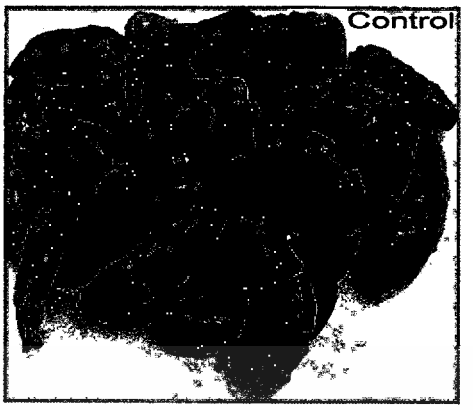
ตัวอย่างกุ้งที่ถ่ายเชื้อ VP ทั้ง 4 ชุด มีปริมาณเซลล์ VP (ที่ปริมาณเริ่มต้น 4.0 log CFU/g) เมื่อทำการล้างกุ้งที่สร้างการปนเปื้อนเชื้อ VP ด้วยสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดที่มีความเข้มข้นเริ่มต้น 100 ppm ครั้งที่ 1 พบว่า สารฆ่าเชื้อสามารถทำลายเซลล์ VP บนกุ้งชุดที่ 1 ได้ 3.42 log CFU/g สารละลายมีความเข้มข้นลดลงเป็น 87.3 ppm เมื่อนำสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด ที่ผ่านการล้างกุ้งครั้งที่ 1 มาทำการล้างกุ้งที่สร้างการปนเปื้อนเชื้อ VP ชุดที่ 2 เป็นการล้างซ้ำครั้งที่ 1 พบว่าสามารถลดปริมาณเซลล์ VP บนกุ้งชุดที่ 2 ได้ 3.23 log CFU/g สารละลายมีความเข้มข้นลดลงเป็น 77.4 ppm และเมื่อนำสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด ที่ผ่านการล้างกุ้งครั้งที่ 2 มาทำการล้างกุ้งที่สร้างการปนเปื้อนเชื้อ VP ชุดที่ 3 (เป็นการล้างซ้ำครั้งที่ 2) พบว่า สามารถลดปริมาณเซลล์ VP บนกุ้งชุดที่ 3 ได้ 2.22 log CFU/g สารละลายมีความเข้มข้นลดลงเป็น 47.2 ppm แต่เมื่อนำสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด ที่ผ่านการล้างกุ้งครั้งที่ 3 มาทำการล้างกุ้งที่สร้างการปนเปื้อนเชื้อ VP ชุดที่ 4 และ 5 (เป็นการล้างซ้ำครั้งที่ 3 และ 4) พบว่าปริมาณเชื้อ VP บนผิวกุ้งอยู่ที่ 4.33 และ 4.28 log CFU/g ตามลำดับ และสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดมีความเข้มข้นลดลงเป็น 11.0 ppm และ 6 ppm ตามลำดับ (ตารางที่ 4.7) ทั้งนี้เพราะในช่วงระยะเวลาหลังการล้างครั้งที่ 4 และครั้งที่ 5 รวมระยะเวลาการล้างทั้งหมด 40 และ 50 นาที (ตามลำดับ) ทำให้เชื้อ VP เพิ่มจำนวนขึ้นมามาก ประกอบกับความเข้มข้นของสารละลายเปอร์แอซิติกเริ่มลดลง แสดงว่าสามารถนำสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดมาใช้ในการล้างกุ้งซ้ำได้เพียง 2 ครั้ง (หรือล้างได้ทั้งหมด 3 ครั้ง) จึงจะมีผลต่อการทำลายเซลล์ VP บนผิวกุ้ง และเมื่อพิจารณาจากการฟื้นตัวของจุลินทรีย์ที่บาดเจ็บในน้ำที่ใช้ล้างกุ้ง พบว่าน้ำล้างที่การล้างซ้ำครั้งที่ 4 และ ครั้งที่ 5 พบเชื้อ VP สามารถฟื้นตัวกลับมาได้ ภายหลังการนำไปบ่มในอาหาร TSB+2% NaCl เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง

การทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กุ้ง โดยการใช้สารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดในการล้างกุ้ง สามารถสรุปได้ว่า สภาวะที่เหมาะสมในการศึกษาประสิทธิภาพของเปอร์แอซีติกแอซิดในการใช้ล้างกุ้ง คือที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm ระยะเวลา 10 นาที ดังนั้นจึงเลือกความเข้มข้นดังกล่าว มาทำการทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัส เปรียบเทียบที่ความเข้มข้น 80 150 และ 200 ppm

4.5 ผลของเปอร์แอซีติกแอซิดต่อคุณสมบัติทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กุ้ง

ผลิตภัณฑ์กุ้งใช้ตัวอย่างที่ไม่ผ่านการล้างด้วยสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด (control) และผ่านการล้างด้วยสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด ที่ความเข้มข้น 80 100 150 และ 200 ppm เป็นเวลา 10 นาที (ภาพที่ 4.9)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(ก)

(ข)

(ค)

(ง)

(จ)

ภาพที่ 4.9 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์กุ้ง หลังการล้างเป็นระยะเวลา 10 นาที : (ก) กุ้งที่ล้างด้วยน้ำเปล่า; (ข) กุ้งที่ล้างด้วยสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด 80 ppm; (ค) กุ้งที่ล้างด้วยสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด 100 ppm ; (ง) กุ้งที่ล้างด้วยสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด 150 ppm; (จ) กุ้งที่ล้างด้วยสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด 200 ppm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำมาทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยใช้ผู้ทดสอบทั้งหมด 30 คน ด้วยวิธี 5 point hedonic scale ให้คะแนนความชอบทางด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม (ในการทดสอบด้านรสชาติจะใช้กุ้งที่ผ่านการต้มสุกโดยใช้ไอน้ำเป็นเวลา 2 นาที) เพื่อเปรียบเทียบลักษณะทางประสาทสัมผัสระหว่างกุ้งที่ไม่ล้างด้วยสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด

จากการเปรียบเทียบลักษณะทางประสาทสัมผัสระหว่างกุ้งที่ล้างด้วย สารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด และไม่ล้างด้วยสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด พบว่าค่าคะแนนเฉลี่ยต่อลักษณะของรสชาติไม่มีความแตกแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.8 ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าสารละลายเปอร์แอซิติกแอซิดที่ความเข้มข้น 200 ppm ไม่มีผลต่อลักษณะของรสชาติกุ้งภายหลังการต้ม ในกรณีที่พิจารณาด้านสี กลิ่น เนื้อสัมผัสและความชอบโดยรวม พบว่ากุ้งที่ผ่านการล้างด้วยสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดที่ความเข้ม 80 และ 100 ppm ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกุ้งที่ไม่ล้างด้วยสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด แต่ที่ความเข้มข้นของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดที่ 150 และ 200 ppm มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกุ้งที่ไม่ล้างด้วยสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด โดยพบว่าที่ระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้น ค่าคะแนนเฉลี่ยความชอบในด้าน สี กลิ่น เนื้อสัมผัสและความชอบโดยรวม จะมีแนวโน้มลดลง

ตารางที่ 4.8 ผลการทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กุ้ง

ตัวอย่าง (sample) ppm	ค่าคะแนนต่อลักษณะทางประสาทสัมผัส*				
	สี (color)	กลิ่น (odor)	รสชาติ (taste) ^{ns}	เนื้อสัมผัส (texture)	ความชอบโดยรวม (overall liking)
0	$3.47^{a} \pm 0.50$	$3.10^{a} \pm 0.30$	3.87 ± 0.68	$3.93^{a} \pm 0.69$	$3.90^{a} \pm 0.60$
80	$3.40^{a} \pm 0.49$	$3.10^{a} \pm 0.30$	3.87 ± 0.77	$3.93^{a} \pm 0.64$	$3.77^{a} \pm 0.56$
100	$3.37^{a} \pm 0.49$	$3.07^{a} \pm 0.25$	3.87 ± 0.68	$3.93^{a} \pm 0.64$	$3.77^{a} \pm 0.56$
150	$2.80^{b} \pm 0.40$	$2.20^{b} \pm 0.40$	3.90 ± 0.71	$3.83^{ab} \pm 0.64$	$2.57^{b} \pm 0.62$
200	$1.67^{c} \pm 0.54$	$1.30^{c} \pm 0.46$	3.90 ± 0.66	$3.73^{c} \pm 0.58$	$1.50^{c} \pm 0.57$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมายเหตุ: *ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบแบบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT); ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$)

ในด้านสีผิวของกุ้งที่ปรากฏให้เห็น คือเนื้อกุ้งเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นสีขาวขุ่น ทั้งนี้เนื่องจากสารละลายเปอร์แอซิติกแอซิดเป็นสารออกซิไดส์ที่แรง ถ้าใช้ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 150 ppm เป็นต้นไป จะทำให้เนื้อกุ้งในส่วนที่เป็นโปรตีนเกิดการเสียสภาพได้ จึงไม่เหมาะที่จะนำสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดที่ความเข้มข้นมากกว่า 150 ppm มาใช้ในการล้างกุ้งที่มีลักษณะปอกเปลือกแล้ว

นอกจากนี้แล้ว ยังพบว่าที่ระดับความเข้มข้นของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดที่ 100 ppm ระยะเวลา 10 นาที สามารถลดปริมาณเชื้อ VP ได้ดีในระดับหนึ่ง และไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของวัตถุดิบกุ้งในเรื่องของกลิ่นเปอร์แอซีติกแอซิดตกค้าง รวมทั้งในด้านสี เนื้อสัมผัสยังเป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบเมื่อเปรียบเทียบกับกุ้งที่ไม่ล้างด้วยสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด จึงสรุปได้ว่าสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดที่ความเข้มข้น 100 ppm จึงเหมาะสมที่จะประยุกต์ใช้ในกระบวนการล้างกุ้งก่อนการแช่เข็ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

5.1.1 การศึกษาประสิทธิภาพของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดและสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ เพื่อลดปริมาณเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* (VP) ในระดับหลอดทดลอง ที่มีปริมาณเชื้อ VP ตั้งต้น 5.7 log CFU/ml สรุปได้เป็นข้อๆดังนี้

5.1.1.1 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด อยู่ในช่วงที่เป็นกรด ที่มีสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดีกว่าสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์

5.1.1.2 สารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดที่ความเข้มข้น 20 และ 30 ppm มีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อได้ดีที่สุด โดยไม่พบจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อและเซลล์ VP ที่บาดเจ็บไม่สามารถฟื้นตัวได้ ที่เวลา 0.5 1 2 และ 5 นาที ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 10 ppm สารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดสามารถทำลายเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพที่เวลา 2 นาทีเป็นต้นไป และที่ระดับความเข้มข้น 5 ppm ทำลายเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพที่เวลา 5 นาทีเป็นต้นไป

5.1.1.3 สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm มีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อได้ดีที่สุด โดยไม่พบโคโลนีของเชื้อ VP บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่เวลา 5 นาทีเป็นต้นไป ที่ระดับความเข้มข้น 50 ppm ทำลายเชื้อได้อย่างได้อย่างมีประสิทธิภาพที่เวลา 60 นาที เป็นต้นไป แต่ที่ระดับความเข้มข้น 10 และ 30 ppm ในเวลา 1 5 10 30 และ 60 นาที ไม่สามารถทำลายเชื้อ VP ได้หมด แต่ที่ระดับความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ความเข้มข้น 100 ppm ระยะเวลาสัมผัส 5 นาที ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของสีกุ้งได้ เนื่องจากใช้ความเข้มข้นมากเกินไป จึงไม่เหมาะที่จะนำไปใช้ในกระบวนการผลิตจริง เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดที่ระดับความเข้มข้น 10 ppm ระยะเวลา 5 นาที ที่ไม่มีผลกระทบต่อกุ้งที่ล้างจึงเลือกความเข้มข้นดังกล่าวของเปอร์แอซีติกแอซิดไปใช้ศึกษาการทำลายเชื้อ VP ในกุ้งสดก่อนกระบวนการแช่แข็งต่อไป

5.1.2 การศึกษาประสิทธิภาพของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดที่เหมาะสมในการลด VP บนผิวกุ้งและในน้ำล้าง

5.2.1.1 เมื่อทดลองล้างกุ้งด้วยสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 ppm (เป็นระยะเวลา 1 5 และ 10 นาที) ที่อุณหภูมิ 5±2°ซ และ 25±2°ซ พบว่าอุณหภูมิของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดเพิ่มสูงขึ้น ประสิทธิภาพในการลดเชื้อ VP ไม่แตกต่างอย่างมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) โดยผลการทดลอง ที่อุณหภูมิ 5±2°ซ ลดปริมาณเชื้อ VP บนผิวกุ้ง ตั้งแต่ 0.09-0.62, 0.41-1.58 และ 1.21-2.51 log CFU/g ตามลำดับ ส่วนการล้างกุ้งด้วยสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดที่อุณหภูมิ 25±2°ซ สามารถลดปริมาณเชื้อ VP บนผิวกุ้งตั้งแต่ 0.08-0.56, 0.40-1.57 และ 1.19-2.50 log CFU/g ตามลำดับ ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่า อุณหภูมิที่ 5±2°ซ หรือ 25±2°ซ ไม่มีผลต่อประสิทธิภาพของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด

5.2.1.2 ผลการทดลองลดปริมาณ VP บนผิวกุ้ง (ที่ปริมาณเริ่มต้น 4.0 log CFU/g) พบว่าสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 5 10 20 40 80 และ100 ppm (ที่เวลา 1 5 และ10 นาที) มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณเซลล์ VP ได้ 0.09-2.32, 0.36 -3.25 และ 1.10-4.65 log CFU/ml ตามลำดับ

5.2.1.3 ผลการทดลองในน้ำล้างที่ผ่านการล้างกุ้งที่สร้างการปนเปื้อนเชื้อ VP (ที่ปริมาณเริ่มต้น 4.0 log CFU/g) พบว่า สารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 5 10 20 40 80 และ100 ppm เวลาตั้งแต่ 1 นาทีเป็นต้นไป ตรวจไม่พบเชื้อ VP แต่เมื่อนำไปบ่มในอาหาร TSB+2% NaCl พบว่าที่ความเข้มข้น 5 10 20 และ40 ppm พบเซลล์ VP ที่บาดเจ็บ มีการฟื้นตัว แต่ที่ความเข้มข้นที่ 80 และ 100 ppm สารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดสามารถทำลายเชื้อ VP ในน้ำล้างได้หมดโดยไม่พบเชื้อ VP ที่บาดเจ็บฟื้นตัว ภายหลังการบ่มในอาหาร TSB+2% NaCl ที่อุณหภูมิ 35-37°ซ เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ดังนั้นที่ความเข้มข้นของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดที่ 100 ppm จึงเหมาะที่จะนำมาประยุกต์ใช้ เพื่อลดปัญหาการปนเปื้อนจากเชื้อ VP ในกระบวนการผลิต

5.1.3 การศึกษาประสิทธิภาพของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดในกรณีที่นำกลับมาใช้ล้างกุ้งซ้ำ เพื่อลดปริมาณเชื้อ VP (ที่ปริมาณเริ่มต้น 4.0 log CFU/g)

สรุปได้ว่า สารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดความเข้มข้น 100 ppm สามารถล้างกุ้งซ้ำได้อีก 2 ครั้ง (รวมล้างทั้งหมด 3 ครั้ง) ในเวลาการล้างทั้งหมดไม่เกิน 30 นาที ที่อุณหภูมิ 25±2°ซ โดยประสิทธิภาพของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด ในการลดปริมาณเชื้อ VP ลดลงเรื่อยๆ และความเข้มข้นของสารที่เหลือภายหลังการล้างแต่ละครั้งก็ลดลงเรื่อยๆเช่นกัน อย่างไรก็ตามควรนำสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด กลับมาใช้ล้างกุ้งซ้ำไม่เกิน 2 ครั้ง (รวมการล้างทั้งหมด 3 ครั้ง) ระยะเวลาไม่เกิน 30 นาที เนื่องจากสารฆ่าเชื้อยังมีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์และเซลล์ VP ที่บาดเจ็บที่อยู่ในสารละลาย ไม่สามารถฟื้นตัวได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.1.4 การศึกษาผลของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด ต่อคุณสมบัติทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กุ้ง

ลักษณะทางด้านสี กลิ่น เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมของกุ้ง ที่ผ่านการล้างด้วยสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดที่ความเข้มข้น 80 และ100 ppm พบว่าไม่มีความแตกต่างกับกุ้งที่ไม่ผ่านการล้างด้วยสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แต่ที่ความเข้มข้นของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดที่ 150 และ200 ppm มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกุ้งที่ไม่ล้างด้วยสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด ส่วนในลักษณะทางด้านรสชาติ (ใช้กุ้งต้มสุกโดยใช้ไอน้ำเป็นเวลา 2 นาที ที่ล้างด้วยสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด ที่ความเข้มข้นต่างๆ แล้วต้มสุก เปรียบเทียบกับกุ้งต้มสุกที่ไม่ล้างด้วยสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด) ที่ความเข้มข้นของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด ตั้งแต่ 80-200 ppm พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

5.2 ข้อเสนอแนะ

ในการเลือกใช้สารเคมีเพื่อนำมาลดปริมาณเชื้อ ให้อยู่ในระดับที่กฎหมายกำหนดหรือช่วงที่ลูกค้ายอมรับ จะต้องพิจารณาชนิดของเชื้อเป้าหมาย ปริมาณเชื้อตั้งต้น ความเข้มข้น ระยะเวลาที่ใช้ในการล้าง จำนวนครั้งที่ใช้ในการล้างซ้ำ ถ้าสถานประกอบการมีระบบในการจัดการที่ดี ปฏิบัติตามหลักสุขลักษณะที่ดีในการผลิต (Good Manufacturing Practice; GMP) ก็จะทำให้ผลิตภัณฑ์ได้คุณภาพ และมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค อนึ่งต้องพิจารณาถึงการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ที่บาดเจ็บ (injured cells) ของเชื้อเหล่านั้นด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กิตติกานต์ บุญประสิทธิ์. 2548. "ผลของโซเดียมไฮโปคลอไรท์ สารประกอบควอทเทอร์นารีแอมโมเนีย และเปอร์ซาเนีย 2505 สำหรับเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในโรงงานชำแหละไก่." วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาสุขาภิบาลอาหาร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

กรมประมง. 2547. **คู่มือสุขลักษณะในการ ผลิตผลิตภัณฑ์ประมง.** กรุงเทพฯ : ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย. หน้า 45-61.

นิตยา พันธุ์บัว และ อารุณี ศรพรหม. 2538. "การปนเปื้อนของเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* ในอาหารแช่แข็งเพื่อการส่งออก." **วารสารเกษตรพระจอมเกล้า.** 13 (1) : 19-26.

เพ็ญนิภา แก้วอุไร. 2550. "ประสิทธิภาพของโซเดียมไฮโปคลอไรท์ในการลดปริมาณแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องในขั้นตอนการล้างปลาหมึกกระดอง." วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. สาขาสุขาภิบาลอาหาร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ภัทรชัย กีรติสิน. 2551. **วิทยาการแบคทีเรียการแพทย์.** กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยมหิดล.หน้า 129-131.

รชา เทพยร. 2545. "ผลของกรดเปอร์ออกซีแอซีติกต่อการลดการปนเปื้อนในกระบวนการผลิตไก่สดแช่เยือกแข็ง และการเกิดเซลล์บาดเจ็บของ *Salmonella* sp. สายพันธุ์ที่ดื้อต่อสารต้านจุลชีพ." สัมนาปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วชิราภรณ์ เทียมพันธ์. 2542. "การเปรียบเทียบชนิดของสารฆ่าจุลินทรีย์ในการลดปริมาณแบคทีเรียบนผักใบ." วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วราวุฒิ ครูส่ง. 2538. จุลชีววิทยาในกระบวนการแปรรูปอาหาร. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์. หน้า 179-199.

ศศิกานต์ อึ้งนิภากุล. 2546. "การใช้สารผสมเปอร์ออกซีแอซิติกแอซิดในการลดปริมาณ *Listeria monocytogenes* ปนเปื้อนในกุ้งสดก่อนกระบวนการแช่เยือกแข็ง." วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุดารัตน์ พยัฆวิเชียร ลดาวัลย์ จึงสมานุกูล กรองแก้ว ศุภวัฒน์ และ สุนันทา รามศิริ. 2533. "การศึกษาวิธีการตรวจนับ *Vibrio parahaemolyticus* ในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลแช่เยือกแข็งเพื่อการส่งออกโดยวิธี Most Probable Number (MPN)." **อาหาร.** 20 : 18-34.

สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2547. **การสุขาภิบาลอาหาร.** กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.หน้า 91-130.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค. 2548. **รายงานการสอบสวนโรคอาหารเป็นพิษ ประจำปี พ.ศ 2548 .** [Online]. Available : http://www.epid_moph.go.th. Accessed Date on 26 July 2008.

อรุณ บ่างตระกูลนนท์ สุวัฒน์ บ่างตระกูลนนท์ ศรีรัตน์ พรเรืองวงศ์ เพ็ญศรี รอดมา และบัญญัติ สุขศรีงาม. 2536. "เชื้อแบคทีเรียก่อโรคลำไส้ในคนงานโรงงานอาหารทะเลแช่แข็งเพื่อการส่งออก." **วารสารศรีนครินทรวิโรฒวิจัยและพัฒนา.** 6: 55-63.

Akeda, y., Nagayama, K., Yamamoto, K. and Honda, T. 1997. "Invasive phenotype of *Vibrio parahaemolyticus*." **J. Infect. Dis.** 176: 822-824.

Anon. 2005. **Food poisoning in Taiwan.** [Online]. Available : http://food.doh.gov.tw/chinese/academic/academic2_1.htm. Accessed Date on 2 July 2006.

Bacteriological Analytical Manual. 2004. [Online]. Available : http://fda-cfsan-bam chapter 9-vibrio.htm. Accessed Date on 10 July 2008.

Baldry, M.G.C. 1983. "The bactericidal, fungicidal and sporicidal properties of hydrogen peroxide and peracetic acid." **J. Appl. Bacteriol.** 54: 417-423.

Baumann, P., Furniss, A.L. and Lee, J.V. 1984. "Genus *Vibrio*. In: Krieg, N.R. and Holt, J.G. (eds)." **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.** Vol. 1, Baltimore: The Williams & Wilkins Co., 518–538.

Belas, M.R. and Colwell, R.R. 1982. "Scanning electron microscope observation of the swarming phenomenan of *Vibrio parahaemolyticus*." **J. of Bacteriol.** 1: 956-959.

Benarde, M.A., B.M. Israel and V.P. Olivieri. 1965. "Efficiency of chlorine dioxide as a bactericide." **Appl. Microbiol.** 13: 776-781.

Bradshaw, J.G., Francis, D.W. and Twedt, R.M. 1974. "Survival of *Vibrio parahaemolyticus* in cooked seafood at refrigeration temperatures." **Appl. Microbiol.** 27: 657–661.

Brooks, G.F., Butel, J.S. and Morse, S.A. 2003. **Medical Microbiology.** New York: The McGraw- Hill Companies.

Bruce, R. C., Scott, L.B., John, H., Matthew, F. and Joshua, M. 2005. Sanitizer: Halogen, Surface-Active Agent, and Peroxides. **In. Antimicrobials in food.** Eds. By Davidson, P.M., Sofos, J.N. and Branen, A.L. Taylor & Francis. New York. 507–572.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Burnham, V. E. 2006. "Strain to strain differences in the growth, survival and adaptation of *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus* in broth." Thesis Master of science. The Department of Food Science, Tuskegee university.

Center for Disease Control and Prevention. 2005. *Vibrio* illnesses after Hurricane Katrina- Multiple states, August-September 2005. **Morb. Mortal. Wkly.Report.** 54: 928-931.

Cords, B.R., and Dychdala, G.R. 1993. Sanitizers: Halogens, Surface-Active Agent, and Peroxides.In. **Antimicrobials in Food.** Eds. By Davidson, P.M. and Branen, A.L. 2nd ed., Marcel Dekker. New York. 467-537.

Davidson, D.M. and A.L. Branen. 1993. **Antimicrobials in Foods.** 2nd ed., Marcel Dekker, Inc. New York. 647 p.

Depaola, A., Kaysner, C.A., Bowers, J.C. and Cook, D.W. 2000. "Environmental investigations of *Vibrio parahaemolyticus* in oysters following outbreaks in Washington, Texas and New York (1997,1998)." **Appl. Environ. Microbiol.** 66: 4649-4654.

Ecolab. 2000. Oxonia active food contact surface sanitizing efficacy. (unpublished). In. Bruce R.C., Scott, L.B., John, H., Matthew, F. and Joshua, M. Sanitizer: Halogen, Surface-Active Agent, and Peroxides. **In. Antimicrobials in Food.** 2005. Eds. By Davidson, P.M., Sofos, J.N. and Branen, A .L. Taylor & Francis. New York. 507–572.

EHA Consulting Group, Inc. 2009. What is *Vibrio parahaemolyticus*. [Online]. Available : http://www.ehagroup.com/resources/pathogens/vibrio-parahaemolyticus/. Accessed Date on 23 March 2009.

FAO/WHO Expert Consultation. 2002. **Risk assessment of *Campylobacter* spp. in broiler chickens and *Vibrio* spp. In seafood.** [Online]. Available : http://www.who.int/foodsafety/publication/micro/en/aug 2002.pdf. Accessed Date on 26 July 2008.

Foegesing, P.M. 1983. "Bacterial spore resistance to chlorine compounds." **Food Technol.** 18: 100-103, 110.

Gutzmann, T.A., Anderson, B.J., Reed, P.J., Cords, B.R., Grab, L.A. and Richardson, E.H. 2000. "Treatment of animal carcasses." U.S. Patent. 6, 103, 286.

Iguchi, T., Kondo, S. and Hisatsune, K., 1995. "*Vibrio parahaemolyticus* O serotypes from O 1 to O 13 all produced R-type lipopolysaccharide." **Food Microbiol.** 24: 413-418.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Infectious Disease Survillance Center. 1999. **Infectious Agents Aurveillance Report, Vol. 20, No. 7 (No.233).** [Online]. Available : http://idsc.nih.go.jp/iasr/20/233/tpc233.html. Accessed Date on 26 July 2008.

International Commission on Microbiological Specification for food. 1996. Microorganism in **Food: Microbiological Specification, Blockier Academic and Professional, London, 429.** [Online]. Available: http://www.who.int/foodsafety/publication/micro/en/aug 2002.pdf. Accessed Date on 26 July 2008.

Janda, J.M., Powers, C., Bryant, R.G. and Abbott, S.L. 1988. "Current perspectives on the epidemiology and pathogenesis of clinically significant *Vibrio spp.*" **Clin. Microbiol. Rev.** 1: 245-267.

Johns, C.K. 1954. "Iodophors as sanitizing agent." **Can. J. Technol.** 32: 71-77.

Joseph, S.W., Colwell, R.R. and Kaper, J.B. 1982. "*Vibrio parahaemolyticus* and related halophilic vibrios." **Crit. Rev. Microbiol.** 10: 77-124.

Kaestner, W. 1981. Disinfection in the food manufacturing-active agents and theis toxicological evalvation. **Arch. Food Sanit.** 32: 117-125.

Kaneko, T. and Colwell, R.R. 1973. "Ecology of *Vibrio parahaemolyticus.*" **J. Bacteriol.** 113: 24-32.

Kraa, E. 1995. "Surveillance and epidemiology of food – borne illness in NSW, Australia." **Food Australia,** 47: 418-423.

Kreske, A.C., Ryu, J.H. and Beuchat, L.R. 2006. "Evaluation of chlorine, chlorine dioxide, and a peroyacetic acid-based sanitizer for effectiveness in kill *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* spore in suspensions, on the surface of stainless steel, and on apples." **J. Food Protect.** 69: 1892-1903.

Krzywicka, H. 1970. "Disinfectant activity of peracetic acid on the spores of bacteria." **Roor. Panstw. Zkl. High.** 21: 595–599.

Liu, X., Chen, Y., Wang, X. and Ji, R. 2004. "Foodborne disease outbreaks in China from 1992 to 2001." **J. Hygiene Res.** 33: 725-727.

Lopes, J.A. 1986. "Evaluation of diary and food plant sanitizers against *Salmonella* Typhimurium and *Listeria monocytogenes.*" **J. Dairy Sci.** 44: 1594.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Neill, M.A. and Carpenter, C.C.J. 2000. **Other Patrogenic Vibrios. In. Principles and Practice of Infections Diseases.** 5 th. Eds. by Mandell, G.L., Bennett, J.E. and Dolin, R. Philadelphia, Pennsylvania: Churchill Livingstone: 2272-2276.

Nichibuchi, M. and Kaper, J.B. 1995. "Minireview. Thermostable direct hemolysin gene of *Vibrio parahaemolyticus* : a virulence gene acquired by a marine bacterium." **Infect. Immun.** 63: 2093-2099.

Oberhofer, T.R. and Podgore, J.K. 1982. "Urea-hydrolyzing *Vibrio parahaemolyticus* associated with acute gastroenteritis." **J. Clin. Microbiol.** 16: 581-583.

Okuda, J. and Nishibuchi, M. 1998. " Manifestation of the kanakawa phenomenon, the virulence- associated phenotype of *Vibrio parahaemolyticus* depends on a particular single base change in the promoter of the thermostable direct haemolysin gene." **Mol. Microbiol.** 30: 499-511.

Orr, R.V. and Beuchat, L.R. 1999. "Efficacy of disinfectants in killing spores of *Alicyclobacillus acido terrestris* and performance of media for supporting colony development by survivors." **J. Food Prot.** 63: 117–122.

Peterson, K.M.and Zuppardo, A.B. 2002. *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus*. In. **Molecular Medical Microbiology.** Ed. by Sussman, M. London,UK:Academic Press, 1: 291-309.

Roshner, D. 1987. P3-oxonia active documentation. Technical bulletin, Henkel Corporation: p.27.

Ruangpan, L. and Tendencia, E.A. 2004. **Laboratory Manual of Standardized Methods for Antimicrobial Sensitivity Tests for Bacteria Isolated from Aquatic Animals and Environment.** Philippines: Southeast Asian Fisheries Development Center, Aquaculture Department.

Rudolf, A.S. and Levine, M. 1941. Factors affecting the germicidal efficiency of hypochlorite solutions. Bull.150. Exp. Sta.,Iowa state college, Ames.

Sakasaki, R., Iwanami, S. and Tamura, K. 1968. "Studies on the enteropathogenic, facultatively halophilic bacteria. *Vibrio parahaemolyticus*. Serological charactics." **Jpn. J. Med. Sci. Biol.** 21: 313-324.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Sakazaki, R., Kaysner, C. and Abeta, C.Jr. 2006. *Vibrio* infections .In. Foodborne Infections and Intoxications. 3rd ed. Eds. by Riemann, H.P. and Cliver, D.O. Elsevier Inc. USA. 5: 185-198.

Taormina, J.P., Beuchat, L.R.1999. "Comparison of chemical treatments to eliminate enterohaemorragic *Escherichia coli* 0157:H7 on alfalfa seed." **J Food Prot.** 62: 318-327.

Weissinger, W.R. and Beuchat, L.R. 2000. "Comparison of aqueous chemical treatments to eliminate *Salmonella* on alfalfa seeds." **J. Food Prot.** 63: 1475-1482.

Wisniewsky, M.A., Glatz, B.A., Gleason, M.L. and Reitmeier, C.A. 2000. "Reduction of *Escherichia coli* 0157:H7 counts on whole fresh apples by treatment with sanitizers." **J. Food Prot.** 63: 703-708.

Wong, H.C., Chen, M.C., Liu, S.H. and Liu, D.P. 1999. "Incidence of highly genetically diversified *Vibrio parahaemolyticus* in seafood imported from Asian countries." **Int. J. of Food Microbiol.** 52: 181-188.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การเตรียมเซลล์ *Vibrio parahaemolyticus* (VP)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การเตรียมเซลล์ *Vibrio parahaemolyticus* (VP)

การเตรียมสารละลายเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* (VP); (เพ็ญนิภา แก้วอุไร, 2550)

1. ถ่ายเชื้อจากหลอดอาหาร TSA+2% NaCl ปริมาณ 1 ลูป
2. ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA+2% NaCl slant บ่มที่อุณหภูมิ 35-37 °ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
3. ถ่ายเชื้อจาก TSA+2% NaCl slant ปริมาณ 1 ลูป
4. ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB+2% NaCl ปริมาตร 200 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 35-37 °ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
5. ปิเปตสารละลายเชื้อ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร
6. ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB+2% NaCl ปริมาตร 90 มิลลิลิตรบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 °ซ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง (จะมีปริมาณเชื้อ 10^6 CFU/ml)
7. นำไปเจือจางในอาหาร (Alkaline peptone water; APW) (จะมีปริมาณเชื้อประมาณ 10^5 CFU/mlในระดับหลอดทดลอง และมีปริมาณเชื้อประมาณ 10^4 CFU/g บนผิวกุ้ง)
8. นำสารละลายเชื้อ VP ที่ได้ไว้ใช้ในการทดลองต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

วิธีการตรวจนับเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* (VP)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

วิธีการตรวจนับเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* (VP)

1. การตรวจนับปริมาณเซลล์ VP ในระดับหลอดทดลอง

ดูดสารละลายเชื้อ VP เริ่มต้น 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองซึ่งมีสารละลาย Phosphate Buffered Saline (PBS) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เจือจางให้ได้ระดับความเข้มข้นที่ต้องการ ปิเปตสารละลายตัวอย่างแต่ละความเจือจาง 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Thiosulphate Citrae Bile Salt Sucrose (TCBS) agar ก่อนที่จะ Spread plate บ่มที่อุณหภูมิ 35-37°ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ติดตามผลโดยสังเกตลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS agar ที่มีลักษณะกลม สีเขียวหรือสีน้ำเงินอมเขียวและมีลักษณะหนืดเหนียว พร้อมทั้งทำการตรวจนับปริมาณเซลล์ของVP

2.การตรวจนับปริมาณเซลล์ VP จากการฉ่ายลงบนกุ้งสด

ชั่งตัวอย่างกุ้ง 50 กรัม ตัดให้เป็นชิ้นเล็กๆ แล้วใส่ในถุง stomacher เติม PBS 450 มิลลิลิตร ตีให้ตัวอย่างกระจายทั่วสารละลายด้วยเครื่องตีตัวอย่าง (stomacher) เป็นเวลา 3 นาทีที่ความเร็วรอบสูงสุด ตัวอย่างที่ได้มีความเข้มข้น1:10 เจือจางตัวอย่างด้วยสารละลาย PBS ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ให้ได้ระดับความเข้มข้นที่ต้องการโดยดูดตัวอย่างแต่ละความเจือจาง 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS agar ก่อนทำการ spread plate บ่มที่อุณหภูมิ 35-37°ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ติดตามผลโดยสังเกตลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS agar ที่มีลักษณะกลม สีเขียวหรือสีน้ำเงินอมเขียวและมีลักษณะหนืดเหนียว พร้อมทั้งทำการตรวจนับปริมาณเซลล์ของ VP

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

วิธีทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* (VP)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

วิธีทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* (VP)

การตรวจวิเคราะห์เชื้อ VP; (Bacteriological Analytical Manual, 2004)

1. เมื่อครบกำหนดบ่ม ให้นำTCBS plate มาตรวจดูลักษณะโคโลนี โดยเลือกโคโลนีลักษณะกลม สีเขียวหรือสีเขียวอมน้ำเงิน มี ขนาด 2 - 3 มิลลิเมตร และมีลักษณะขุ่นหนืดเหนียว อ่านผลและทำการบันทึก

2. คัดเลือกโคโลนี VP มา 3 โคโลนี streak ลงบน TSA+2% NaCl นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37°ซ เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง เพื่อใช้ทดสอบต่อไป

3. นำเชื้อที่ได้ไปย้อมสีแกรม เพื่อดูการติดสีและรูปร่างลักษณะ ถ้าติดสีแดง (แกรมลบ และรูปร่างเป็นท่อนโค้ง หรือตรง ให้นำไปทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีดังต่อไปนี้

ขั้นตอนการทดสอบทางชีวเคมี

1.ใช้ Needle ปลอดเชื้อเขี่ยเชื้อจากโคโลนีเดี่ยวบน TSA+2% NaCl ลงใน arginine glucose slant (AGS) โดยแทงลงในส่วนของ butt และ slant ปิดฝาหลวมๆ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 $\pm$ 2°ซ เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

<u>การอ่านผล</u>

Slant สีม่วง / Butt สีม่วง = K/K

Slant สีม่วง / Butt สีเหลือง = K/A

Slant สีเหลือง / Butt สีเหลือง = A/A

VP เป็นพวก arginine dihydrolase negativeจะให้ผลการทดสอบเป็น K/A ไม่สร้าง H_2S และไม่สร้าง gas

2.ใช้ Needle ปลอดเชื้อเขี่ยเชื้อจากโคโลนีเดี่ยวบน TSA+2% NaCl แทงลงใน motility test medium ลึกประมาณ 5 เซนติเมตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35$\pm$2°ซ เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง

<u>การอ่านผล</u>

มีการเจริญของเชื้อออกนอกรอย stab อ่านผลเป็น +

ไม่มีการเจริญของเชื้อออกนอกรอย stab อ่านผลเป็น -

VP ให้ผลเป็น +

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.เขี่ยเชื้อจากโคโลนีบน TSA+2% NaCl มาป้ายลงบนแผ่นทดสอบ oxidase test or bactident oxidase อ่านผลภายใน 20-60 วินาที

<u>การอ่านผล</u>

เกิดรอยสีม่วง ถึง ม่วง-น้ำเงิน อ่านผลเป็น "+"

ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง อ่านผลเป็น "-"

VP จะให้ผล oxidase test เป็น "+"

4.เขี่ยเชื้อจาก TSA+2% NaCl มาเล็กน้อยลงใน T_1N_0 และ T_1N_3 ปิดฝาหลวมๆ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35±2°ซ เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง

<u>การอ่านผล</u>

อาหารเลี้ยงเชื้อมีลักษณะขุ่น = "+"

อาหารเลี้ยงเชื้อไม่เปลี่ยนแปลง = "-"

VP ที่เจริญใน T_1N_3 จำเป็นต้องทดสอบต่อในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ความเข้มข้นเกลือต่างๆกันต่อไป (T_1N_6,T_1N_8 และT_1N_{10})

VP จะเจริญใน T_1N_3 T_1N_6 และT_1N_8

5.การยืนยันผลด้วย API 20E diagnostic strips

เขี่ยเชื้อที่ให้ผลการทดสอบทาง biochemical ตามลักษณะข้างต้นมาทดสอบยืนยันด้วย API 20E diagnostic strips ขั้นตอนและวิธีการทดสอบให้ดำเนินการตามขั้นตอนที่ test kit กำหนด อ่านผลตามคู่มือ แล้วนำผลไปเปรียบเทียบว่าตรงกับเชื้อชนิดใด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

การเตรียมสารเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง
การเตรียมสารเคมี

1. การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์

การวิเคราะห์หาปริมาณคลอรีนอิสระ จากสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์; (มอก. 217-2549)

1.1 เครื่องมือ

1.1.1 ขวดชั่งขนาด 60 ลูกบาศก์เซนติเมตร

1.1.2 ขวดรูปกรวยขนาด 500 ลูกบาศก์เซนติเมตร พร้อมจุกปิด

1.2 สารเคมี สารละลาย และวิธีเตรียม

1.2.1 ผลึกโพแทสเซียมไอโอไดด์

1.2.2 สารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ 100 กรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร

1.2.3 น้ำแป้ง

ผสมแป้ง 0.5 กรัมกับน้ำ 2.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร คนให้เข้ากัน ค่อยๆ เทลงในขวดที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วด้วยการต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

1.2.4 สารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟต 0.1 โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร

ละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตเพนตะไฮเดรต ($Na_2S_2O_3.5H_2O$) 25 กรัม ด้วยน้ำกลั่นที่ต้มเดือดใหม่และปล่อยให้เย็นแล้ว 500 ลูกบาศก์เซนติเมตร เติมโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_n) 0.11 กรัม เติมน้ำกลั่นที่ต้มเดือดใหม่และปล่อยให้เย็นแล้วจนปริมาตรเป็น 1,000 ลูกบาศก์เซนติเมตร ปล่อยไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เก็บสารละลายนี้ในขวดแก้วสีชาที่ปิดได้สนิท

สอบเทียบมาตรฐานโดยบดโพแทสเซียมไดโครเมตปฐมภูมิ ($K_2Cr_2O_7$) 2 กรัมใส่ถ้วยแพลทินัมเผาที่อุณหภูมิ 120 °ซ เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ชั่งมาประมาณ (0.21±0.01) กรัมให้ทราบมวลแน่นอนใส่ขวดปริมาตรขนาด 500 ลูกบาศก์เซนติเมตรที่มีจุกปิด เติมน้ำกลั่น 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร เขย่าให้ละลาย แล้วเติมโพแทสเซียมไอโอไดด์ 3 กรัม โซเดียมไบคาร์บอเนต 2 กรัมและสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 5 ลูกบาศก์เซนติเมตร โดยเติมอย่างรวดเร็ว แล้วปิดจุกเขย่า ปล่อยไว้ในที่มืดเป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นล้างจุกปิดและผนังด้านในขวดรวมน้ำล้าง นำไปไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟตจนสารละลายละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอ่อน เติมน้ำแป้ง (10 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร) 2 ลูกบาศก์เซนติเมตร ไทเทรตต่อจนเปลี่ยนเป็นสีเขียวอมฟ้า คำนวณหาความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟต จากสูตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\text{ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟต} = \frac{M_1}{\text{โมลต่อลูกบาศก์เซนติเมตร} \qquad 0.04904 \times V_1}$$

เมื่อ V_1 คือ ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้ไทเทรตเป็น ลูกบาศก์เซนติเมตร

M_1 คือ มวลของโพแทสเซียมไดโครเมตที่ใช้เป็นกรัม

1.3 การทดสอบเบื้องต้น

ใส่ตัวอย่างประมาณ 20 ลูกบาศก์เซนติเมตรในขวดรูปกรวยขนาด 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร เติมน้ำกลั่น 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร ผลึกโพแทสเซียมไอโอไดด์ 1 ผลึกและน้ำแป้ง 0.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร คนให้เข้ากัน ถ้าสารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินเนื่องจากเกิดไอโอดีนให้วิเคราะห์ต่อไปตามข้อ 1.4

1.4 วิธีวิเคราะห์

ชั่งตัวอย่างประมาณ 50 กรัมในขวดชั่งให้ทราบมวลแน่นอนใส่ขวดรูปกรวยซึ่งใส่น้ำกลั่นไว้แล้ว 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร ปิดจุก แล้วทำให้เย็น เติมสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ 10.0 ลูกบาศก์เซนติเมตร ปิดจุก เขย่า ปล่อยไว้เป็นเวลา 2 นาที นำไปไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟตจนได้สีเหลืองอ่อน เติมน้ำแป้ง 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ไทเทรตต่อจนกระทั่งสีน้ำเงินจางหายไป

1.5 วิธีคำนวณ

$$\text{ปริมาณคลอรีนอิสระ ร้อยละโดยน้ำหนัก} = \frac{C \times V_2 \times 0.0355}{M_0} \times 100$$

เมื่อ C คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟตจนที่ใช้ไทเทรต เป็นโมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร

V_2 คือ ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้ไทเทรต เป็นลูกบาศก์เซนติเมตร

Mo คือ มวลของตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การคำนวณเพื่อหาปริมาณโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ต้องใช้ผสมในน้ำเพื่อให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการ สามารถคำนวณได้ดังนี้

ถ้าต้องการเตรียมน้ำที่มีโซเดียมไฮโปคลอไรท์เข้มข้น 10 ppm ปริมาตร 5 ลิตร โดยใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์เข้มข้น 10% (คำนวณได้จากข้อ 1)
เปลี่ยนความเข้มข้นของโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ 10% ให้เป็นหน่วย ppm

$$10\% = \frac{10 \times 1{,}000{,}000}{100} = 100{,}000 \text{ ppm}$$

คำนวณปริมาณคลอรีนที่ใช้โดยใช้สูตร

$$M_1V_1=M_2V_2$$

แทนค่าในสูตร

$$100{,}000 \text{ ppm} \times V_1 = 10 \text{ ppm} \times 5 \text{ ลิตร}$$

$$V_1 = 0.0005 \text{ ลิตร หรือ } 0.5 \text{ มิลลิลิตร}$$

ดังนั้นจะต้องเติมโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 0.5 มิลลิลิตร ลงในน้ำ 5 ลิตร จะได้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ เข้มข้น 10 ppm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การเตรียมสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด

การหาความเข้มข้นของเปอร์แอซีติกแอซิดจากสารตั้งต้น (stock solution)

1. ดูดสารตั้งต้นมาเจือจางในน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้นร้อยละ 1 (w/v)
2. ดูดสารละลายตัวอย่าง(จากข้อ 1) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ที่มีกรดซัลฟิวริกแอซิด 1 นอร์มอล ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน
3. เติมฟอร์โรอิน อินดิเคเตอร์ 2-3 หยด ผสมให้เข้ากัน จะได้สารละลายสีส้มอ่อนแล้วไทเทรตด้วยซีริคซัลเฟต 0.1 นอร์มัล จนสารละลายตัวอย่างเปลี่ยนจากสีส้มอ่อนเป็นสารละลายไม่มีสี
4. เติมโพแทสเซียมไอโอไดด์ 2.5 นอร์มัล 10 มิลลิลิตร และสารละลายแป้ง 1 มิลลิลิตรลงในสารละลายตัวอย่าง ซึ่งสารละลายตัวอย่างจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน
5. ไทเทรตด้วยโซเดียมไทโอซัลเฟต 0.01 นอร์มัล จนสารละลายเปลี่ยนกลับไปเป็นสีส้มอ่อนเหมือนเดิม
6. คำนวณความเข้มข้นของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดโดยปริมาตรของ โซเดียมไทโอซัลเฟตที่ไทเทรตได้ (มิลลิลิตร) คูณกับ 0.38 เท่ากับร้อยละของเปอร์แอซีติกแอซิด ตัวอย่างเช่น ไทเทรตด้วยโซเดียมไทโอซัลเฟต ได้ 34.2 มิลลิลิตร นำ 34.2 ไปคูณกับ 0.38 จะได้เท่ากับ 13.0 แสดงว่าสารตั้งต้นมีปริมาณเปอร์แอซีติกแอซิดร้อยละ 13

การเตรียมสารละลายเปอร์แอซิติกแอซิดตามความเข้มข้นที่ต้องการ

เตรียมจากสารละลายตัวอย่างร้อยละ 1 (จากข้อ 1) ของสารตั้งต้นหลังจากไทเทรตทราบความเข้มข้นของสารตั้งต้นแล้ว สามารถเตรียมสารละลายเปอร์แอซิติกแอซิดตามความเข้มข้นที่ต้องการ เช่น ถ้าสารตั้งต้นมีปริมาณเปอร์แอซีติกแอซิดร้อยละ 13 แสดงว่าสารละลายตัวอย่างร้อยละ 1 (w/v) ของสารตั้งต้นมีเปอร์แอซิติกแอซิดร้อยละ 0.13 เท่ากับ 1,300 ppm ถ้าต้องการเตรียมสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดที่มีความเข้มข้น 90 ppm ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร จากสารละลายตัวอย่างที่มีความเข้มข้น 1.300 ppm สามารถเตรียมได้ตามตัวอย่างที่คำนวณ ดังนี้

ตัวอย่างการคำนวณ

จากสูตร $M_1V_1=M_2V_2$

ปริมาตรสารตั้งต้น × ความเข้มข้นสารตั้งต้น= ปริมาตรสารสุดท้าย × ความเข้มข้นสุดท้าย

ปริมาตรสารตั้งต้น × 1,300 ppm = 1,000 มิลลิลิตร × 100 ppm

ปริมาตรตั้งต้น = 76.92 มิลลิลิตร

ดังนั้นสามารถเตรียมสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดที่มีความเข้มข้น 100 ppm โดยดูดสารละลายตัวอย่างร้อยละ 1 (w/v) ของสารตั้งต้น ประมาณ 77 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดเชิงปริมาตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(volumetric flask) ขนาด 1,000 มิลลิลิตร และใช้น้ำกลั่นปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เทใส่ขวดแก้วหุ้มฟอล์ยแล้วเก็บสารไว้ที่ตู้เย็นอุณหภูมิ 4±2 °ซ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

ข้อมูลผลการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

ข้อมูลผลการทดลอง

ตารางภาคผนวกที่ จ. 1 ผลของความเข้มข้นของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด และระยะเวลาในการทำลายเชื้อ VP (ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 5.7 log CFU/ml)

ความเข้มข้นของสารละลาย (ppm.)	จำนวน VP ที่รอดชีวิต* (log CFU/ml)			
	0.5 นาที	1 นาที	2 นาที	5 นาที
0	5.70[a]	5.71[a]	5.73[a]	5.90[a]
5	3.31[b]	2.00[b]	ND[b]**	ND[b]
10	2.12[c]	ND[c]**	ND[b]	ND[b]
20	ND[d]	ND[c]	ND[b]	ND[b]
30	ND[d]	ND[c]	ND[b]	ND[b]

หมายเหตุ: *ตัวอักษรที่ไม่เหมือนกันตามแนวตั้ง หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อเปรียบเทียบแบบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT); **พบเซลล์ VP ที่บาดเจ็บสามารถฟื้นตัวภายหลังการบ่มในอาหาร TSB+2% NaCl เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 35-37°ซ; ND = not detect ในการเพาะเลี้ยงบนอาหาร TCBS โดยตรง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ จ. 2 ผลของความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ และระยะเวลาใน การทำลายเชื้อ VP (ที่ปริมาณเริ่มต้น 5.7 log CFU/ml)

ความเข้มข้นของสารละลาย (ppm)	จำนวน VP ที่รอดชีวิต* (log CFU/ml)				
	1 นาที	5 นาที	10 นาที	30 นาที	60 นาที
0	5.71[a]	5.91[a]	6.55[a]	6.77[a]	7.34[a]
10	5.54[b]	5.50[b]	5.42[b]	5.08[b]	5.03[b]
30	4.17[c]	4.15[c]	3.97[c]	2.86[c]	2.72[c]
50	ND[d]**	ND[d]**	ND[d]**	ND[d]**	ND[d]
100	ND[d]**	ND[d]	ND[d]	ND[d]	ND[d]

หมายเหตุ: *ตัวอักษรที่ไม่เหมือนกันตามแนวตั้ง หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อเปรียบเทียบแบบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT); ** พบเซลล์ VP ที่บาดเจ็บสามารถฟื้นตัวภายหลังการบ่มในอาหาร TSB+2% NaCl เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 35-37°ซ; ND = not detect ในการเพาะเลี้ยงบนอาหาร TCBS โดยตรง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฉ

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กุ้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบบทดสอบความชอบ (5-point hedonic scale)

ชื่อผลิตภัณฑ์ กุ้ง วันที่ทำการทดสอบ.....

ชื่อผู้ทดสอบ.....

กรุณาชิมตัวอย่างจากซ้ายไปขวา และให้คะแนนความชอบตามระดับคะแนนที่ท่านคิดว่าเหมาะสม ในระหว่างการชิมกรุณาบ้วนน้ำเพื่อชิมตัวอย่างต่อไป

ระดับคะแนน

1 = ไม่ชอบที่สุด

2 = ไม่ชอบเล็กน้อย

3 = เฉยๆ

4 = ชอบเล็กน้อย

5 = ชอบมากที่สุด

หมายเหตุ ในด้านรสชาติ ให้ชิมจากตัวอย่างกุ้งต้มสุก

ความชอบ	รหัสตัวอย่าง				
สี (color)					
กลิ่น (odor)					
รสชาติ (taste)					
เนื้อสัมผัส (texture)					
ความชอบโดยรวม (overall liking)					

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

.....

ขอขอบคุณอย่างสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวธันวา สมพื้น
วัน เดือน ปีเกิด	18 ธันวาคม 2516 ที่จันทบุรี
ที่อยู่	49/4 หมู่ 12 ถ.บางนา-ตราด กม.45 ต.บางปะกง อ.บางปะกง จ.ฉะเชิงเทรา 24130 โทร. 081-8206518
ประวัติการศึกษา2540	วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยรังสิต
ประสบการณ์ทำงานและผลงานวิจัย	
พ.ศ.2540-2541	ฝ่ายควบคุมคุณภาพ หจก.สหสินวัฒนา จ.จันทบุรี
พ.ศ.2541-2542	หัวหน้าแผนกควบคุมคุณภาพ บ.ไทยอีสเทริ์น โฟรสเซ่น โปรดักส์ จำกัด จ.จันทบุรี อาจารย์พิเศษ ภาควิชาเคมี สถาบันราชภัฏรำไพพรรณี จ.จันทบุรี
พ.ศ.2542-2546	หัวหน้าแผนกควบคุมคุณภาพ บ.อินเตอร์-แปซิฟิก มารีน โปรดักส์ จำกัด จ.ฉะเชิงเทรา
พ.ศ.2546-2547	หัวหน้าแผนกควบคุมคุณภาพ บ.ไทย-มหาชัยซีฟู้ดส์ จำกัด จ.จันทบุรี
พ.ศ.2547-ปัจจุบัน	หัวหน้าแผนกควบคุมคุณภาพ บริษัทอินเตอร์- แปซิฟิก มารีน โปรดักส์จำกัด จ.ฉะเชิงเทรา
พ.ศ.2540	โล่เกียรติคุณจากมหาวิทยาลัยรังสิตรางวัล ผลงานวิจัยดีเด่นเรื่อง "การผลิตน้ำอ้อยผง โดยวิธีการอบแห้งแบบพ่นฝอย"

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้