



ใบรับรองวิทยานิพนธ์  
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (ผลิตภัณฑ์ประมง)

ปริญญา

ผลิตภัณฑ์ประมง

ผลิตภัณฑ์ประมง

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง สมบัติของน้ำอิเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลางและประสิทธิภาพในการลดการปนเปื้อนของ  
จุลินทรีย์ในกุ้งขาวแวนนาไม

Properties of Neutral Electrolyzed Water and Its Efficiency on Microbial  
Decontamination of *Litopenaeus vannamei*

นามผู้วิจัย นางสาวนฤมล จอมมาก

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

( ผู้ช่วยศาสตราจารย์ปีتما รัตนนะอาพร, วท.ศ. )

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

( อาจารย์จุกา มุกดาสนิท, Ph.D. )

หัวหน้าภาควิชา

( ผู้ช่วยศาสตราจารย์จิราพร รุ่งเลิศเกรียงไกร, Ph.D. )

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

รองศาสตราจารย์กัญญา ธีระกุล, D.Agr.

( )

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ ..... เดือน ..... พ.ศ. ....

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

สมบัติของน้ำอิเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลางและประสิทธิภาพในการลดการปนเปื้อนของ  
จุลินทรีย์ในกุ้งขาวแวนนาไม

Properties of Neutral Electrolyzed Water and Its Efficiency on Microbial  
Decontamination of *Litopenaeus vannamei*

โดย

นางสาวนฤมล จอมมาก

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์  
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ผลิตภัณฑ์ประมง)

พ.ศ. 2555

นฤมล จอมมาก 2555: สมบัติของน้ำอเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลางและประสิทธิภาพในการลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในกุ้งขาวแวนนาไม ปรินญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (ผลิตภัณฑ์ประมง) สาขาผลิตภัณฑ์ประมง ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ปัทมา ระตะนะอาพร, วท.ค. 99 หน้า

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสมบัติและความคงตัวของน้ำอเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลางและประสิทธิภาพการลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในเชื้อบริสุทธิ และกุ้งที่สร้างการปนเปื้อนขึ้น พร้อมทั้งประเมินผลการยอมรับทางประสาทสัมผัสของกุ้งหลังการฆ่าเชื้อ ผลการศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำอเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลาง ทั้งในรูปของน้ำและน้ำแข็ง ซึ่งได้แก่ ปริมาณคลอรีนอิสระ ความเป็นกรดต่าง และค่าออกซิเดชัน-รีดักชัน โทเทนเชียล และความคงตัวระหว่างการเก็บรักษา 28 วัน พบว่าปริมาณคลอรีนอิสระในน้ำและน้ำแข็งมีแนวโน้มลดลงเมื่อเก็บรักษานานขึ้น การเก็บรักษาในภาชนะบรรจุปิดสนิทในที่มืด จะช่วยชะลอการสูญเสียคลอรีนอิสระได้ ขณะที่ค่าออกซิเดชัน-รีดักชัน โทเทนเชียลและความเป็นกรดต่างมีการเปลี่ยนแปลงน้อย ทั้งที่ระดับเริ่มต้นคลอรีนอิสระเป็น 100 และ 200 พีพีเอ็ม และเมื่อเทียบกับสารฆ่าเชื้อทางการค้า ได้แก่ โซเดียมไฮโปคลอไรท์ พบว่าปริมาณคลอรีนอิสระมีแนวโน้มลดลงอย่างชัดเจน น้ำอเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลางมีความคงตัวค่อนข้างดี จึงมีความเป็นไปได้ในการนำน้ำและน้ำแข็งที่ผลิตขึ้นนี้ไปใช้ในการลดการปนเปื้อนของ จุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ จากงานวิจัยนี้ พบว่าน้ำอเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลางเป็นสารฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อบริสุทธิของ *Vibrio parahaemolyticus* (VP) และ *Vibrio vulnificus* (VV) ได้ดีกว่าเชื้อ *Salmonella* Enteritidis และ *Escherichia coli* โดยพบว่าจำนวนเซลล์ส่วนใหญ่ของ VP จะถูกยับยั้งได้ในช่วงแรกของการสัมผัสเชื้อ ขณะที่ VV จะลดลงอย่างเป็นลำดับ ในการกำจัดเชื้อที่มีจำนวนตั้งต้น 7 log cfu/ml ได้อย่างสมบูรณ์ นั้น ต้องใช้น้ำอเล็กโทรไลซ์ที่มีคลอรีนอิสระ 70 พีพีเอ็ม/5 นาที หรือ 100 พีพีเอ็ม/3 นาที สำหรับ VP ส่วน VV ต้องใช้ที่ 50 พีพีเอ็ม/3 นาที หรือ 100 พีพีเอ็ม/1 นาที ในการศึกษาผลการลดการปนเปื้อนของเชื้อ VP และ VV ในกุ้ง โดยการแช่น้ำอเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลางซึ่งมีคลอรีนอิสระไม่เกิน 10 พีพีเอ็ม (ข้อแนะนำการใช้สัมผัสผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำโดยตรง) และระดับคลอรีน 50 พีพีเอ็ม ทั้งในรูปน้ำและน้ำแข็ง ผลการศึกษาพบว่าการใช้ที่ระดับ 50 พีพีเอ็ม /15 นาที หรือ 10 พีพีเอ็ม/30 นาที สามารถลดจำนวน VP ในกุ้งได้มากกว่า 4.16 log cfu/g ส่วนการใช้น้ำแข็งที่ผลิตขึ้นยังมีประสิทธิภาพการลดเชื้อได้ค่อนข้างต่ำ อาจเนื่องจากข้อจำกัดของอุณหภูมิการใช้งาน ดังนั้นเพื่อให้บรรลุวัตถุประสงค์ทางด้านความปลอดภัยจากจุลินทรีย์ จึงเลือกศึกษาน้ำอเล็กโทรไลซ์ที่มีปริมาณคลอรีนอิสระ 10 พีพีเอ็ม เวลาสัมผัส 30 นาที ซึ่งจากการศึกษาพบว่าไม่มีผลต่อการยอมรับทางประสาทสัมผัสเมื่อเทียบกับกุ้งที่ล้างด้วยน้ำประปา ( $p > 0.05$ ) หากเลือกใช้น้ำอเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลางที่มีความเข้มข้นของคลอรีนและเวลาที่เหมาะสม จะสามารถพัฒนาคุณภาพด้านความปลอดภัยของอาหาร อันเนื่องมาจากการปนเปื้อนด้วยจุลินทรีย์ก่อโรค ดังเช่น VP และ VV ในกุ้งได้ ดังนั้นการใช้น้ำอเล็กโทรไลซ์จึงพิจารณาได้ว่าเป็นสารฆ่าเชื้อทางเลือกสำหรับปรับปรุงคุณภาพด้านจุลชีววิทยาในอาหารทะเลได้

ลายมือชื่อนิสิต

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

Naruemon Jommark 2012: Properties of Neutral Electrolyzed Water and Its Efficiency on Microbial Decontamination of *Litopenaeus vannamei*. Master of Science (Fishery Products), Major Field: Fishery Products, Department of Fishery Products. Thesis Advisor: Assistant Professor Pattama Ratana-arporn, Ph.D. 99 pages.

The objectives of this study were to determine the properties and stability of neutral electrolyzed water (NEW) and its efficiency of microbial decontamination on both pure culture and inoculated shrimp, together with to evaluate the sensory acceptance of treated shrimp. Studies on physicochemical properties of NEW in forms of water and ice including available chlorine concentration (ACC), pH and oxidation-reduction potential (ORP) and its stability during 28 days of storage indicated that ACC tended to decrease during storage in both water and ice after storage. Keeping in closed package in dark atmosphere retarded the loss of ACC level while the ORP and pH of NEW slightly changed, both for initial ACC level of 100 and 200 ppm. In contrast to commercial sanitizer using sodium hypochlorite (NaOCl), markedly reduce in ACC level was observed. NEW presented rather good stability and thus possibly applied for microbial decontamination of fishery products. The result indicated that NEW was highly efficient in killing pure cultures of *Vibrio parahaemolyticus* (VP) and *Vibrio vulnificus* (VV) more than *Salmonella* Enteritidis and *Escherichia coli*. Most of VP cells were immediately inhibited after contact with NEW, while VV cells gradually decreased. In order to completely eliminate 7-log cfu/ml, applying 70 ppm/ 5 min or 100 ppm/ 3 min was enough for VP while 50 ppm/ 3 min or 100 ppm/ 1 min was enough for VV. Investigating the effect of NEW on reduction of VP and VV amount in inoculated shrimps (*Litopenaeus vannamei*), 10 ppm chlorine level (recommended level for water in direct contact with food) and 50 ppm level were used in both water and ice forms. Soaking in 50 ppm/ 15 min or 10 ppm/ 30 min effectively reduced VP contaminated on shrimp by 4.16 log cfu/g, whereas applying in form of ice demonstrated rather low efficiency due to limitation of low temperature condition. In order to achieve food safety purpose, applying 10 ppm/ 30 min was selected. Soaking 10 ppm NEW for 30 min did not alter the sensory quality of shrimps compared to those of tap water ( $p > 0.05$ ). Using NEW with appropriate chlorine concentrations and time could improve quality related to food safety due to pathogenic bacteria like VP and VV in shrimps. Therefore, NEW could be considered as an appropriate alternative sanitizer to improve microbiological quality of seafood.

---

Student's signature

Thesis Advisor's signature

## กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปัทมา ระตะนะอาพร ประธานกรรมการที่ปรึกษาที่ได้ช่วยเหลือในการวางแผนงานวิจัยในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ตลอดจนให้คำปรึกษาแนะนำและตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ขอกราบขอบพระคุณ ดร. จุฑา มุกดาสนิท กรรมการที่ปรึกษา ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำและช่วยเหลือ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จิราพร รุ่งเลิศเกรียงไกร ประธานการสอบ และ ดร. พรรณทิพย์ สุวรรณสาครกุล ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก และขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมงทุกท่าน ที่ให้คำแนะนำเพิ่มเติมในการทำวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณ โครงการศูนย์ความเป็นเลิศทางวิชาการ แห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (Center for Advanced Studies in Agriculture and Food, KU Institute for Advanced Studies, Kasetsart University, CASAF, NRU-KU) ปีงบประมาณ พ.ศ. 2552 ที่กรุณาให้ทุนสนับสนุนและส่งเสริมวิทยานิพนธ์ระดับปริญญาโท-เอก และขอขอบพระคุณ คุณวิศิษฐ์ ลือวิริยะพันธ์ และ คุณไพบุลย์ อมรชัยนพคุณ บริษัท เจ ซี ดับบลิว อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด ที่กรุณาให้ความอนุเคราะห์น้ำอเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลาง

ขอขอบคุณ คุณแม่ พี่และเพื่อนนิสิตปริญญาโท-เอก ทุกคน ที่ให้ความช่วยเหลือ ชี้นำและสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วงได้

นฤมล จอมมาก

เมษายน 2555

## สารบัญ

## หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(5)
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	(6)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	29
อุปกรณ์	29
วิธีการ	31
ผลและวิจารณ์	38
สรุปและข้อเสนอแนะ	60
สรุป	60
ข้อเสนอแนะ	61
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	62
ภาคผนวก	75
ภาคผนวก ก สูตรและการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ	76
ภาคผนวก ข การวิเคราะห์ความเข้มข้นของสารละลายที่ใช้ในการทดลอง	81
ภาคผนวก ค แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส	84
ภาคผนวก ง ตารางแสดงข้อมูล	86
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	99

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 ประสิทธิภาพของน้ำอิเล็กโทรไลซ์ชนิดกรดและกลางในการลดจุลินทรีย์ในอาหาร	27
2 คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำอิเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลาง (NEW) และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) ก่อนการเก็บรักษา	39
3 สมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำอิเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลางที่มีระดับคลอรีนแตกต่างกัน	47
4 คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำประปาและน้ำอิเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลางที่ใช้ในการลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในกุ้ง	50
5 คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำแข็งที่ผลิตขึ้นจากประปาและน้ำอิเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลางที่ใช้ในการลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในกุ้ง	54
6 คะแนนทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของกุ้งหลังล้างด้วยน้ำอิเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลาง ความเข้มข้น 10 พีพีเอ็ม และน้ำประปา (ตัวอย่างควบคุม)	59
<b>ตารางผนวกที่</b>	
ง1 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณคลอรีนอิสระ (พีพีเอ็ม) ในน้ำและน้ำแข็งที่ผลิตจากน้ำอิเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลาง (NEW) และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) ระหว่างเก็บรักษาในที่มืดและมีแสง เมื่อปริมาณคลอรีนอิสระตั้งต้นเท่ากับ 100 พีพีเอ็ม	87
ง2 การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดต่าง ในน้ำและน้ำแข็งที่ผลิตจากน้ำอิเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลาง (NEW) และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) ระหว่างเก็บรักษาในที่มืดและมีแสง เมื่อปริมาณคลอรีนอิสระตั้งต้นเท่ากับ 100 พีพีเอ็ม	88

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
ง3 การเปลี่ยนแปลงค่า ORP (มิลลิโวลต์) ในน้ำและน้ำแข็งที่ผลิตจากน้ำอเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลาง (NEW) และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) ระหว่างเก็บรักษาในที่มืดและมีแสง เมื่อปริมาณคลอรีนอิสระตั้งต้นเท่ากับ 100 พีพีเอ็ม	89
ง4 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณคลอรีนอิสระ (พีพีเอ็ม) ในน้ำและน้ำแข็งที่ผลิตจากน้ำอเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลาง (NEW) และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) ระหว่างเก็บรักษาในที่มืดและมีแสง เมื่อปริมาณคลอรีนอิสระตั้งต้นเท่ากับ 200 พีพีเอ็ม	90
ง5 การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดต่าง ในน้ำและน้ำแข็งที่ผลิตจากน้ำอเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลาง (NEW) และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) ระหว่างเก็บรักษาในที่มืดและมีแสง เมื่อปริมาณคลอรีนอิสระตั้งต้นเท่ากับ 200 พีพีเอ็ม	91
ง6 การเปลี่ยนแปลงค่า ORP (มิลลิโวลต์) ในน้ำและน้ำแข็งที่ผลิตจากน้ำอเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลาง (NEW) และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) ระหว่างเก็บรักษาในที่มืดและมีแสง เมื่อปริมาณคลอรีนอิสระตั้งต้นเท่ากับ 200 พีพีเอ็ม	92
ง7 จำนวนเชื้อแบคทีเรียของ <i>V. parahaemolyticus</i> ที่รอดชีวิต (log cfu/ml) หลังสัมผัสน้ำอเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลาง ความเข้มข้น 10, 30, 50, 70 และ 100 พีพีเอ็ม ในระยะเวลาสัมผัสเชื้อเท่ากับ 1, 3 และ 5 นาที	93
ง8 จำนวนเชื้อแบคทีเรียของ <i>V. vulnificus</i> ที่รอดชีวิต (log cfu/ml) หลังสัมผัสน้ำอเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลาง ความเข้มข้น 10, 30, 50, 70 และ 100 พีพีเอ็ม ในระยะเวลาสัมผัสเชื้อเท่ากับ 1, 3 และ 5 นาที	94
ง9 จำนวนเชื้อแบคทีเรียของ <i>Salmonella</i> Enteritidis ที่รอดชีวิต (log cfu/ml) หลังสัมผัสน้ำอเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลาง ความเข้มข้น 10, 30, 50, 70 และ 100 พีพีเอ็ม ในระยะเวลาสัมผัสเชื้อเท่ากับ 1, 3 และ 5 นาที	95

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
ง10 จำนวนเชื้อบริสุทธิ์ของ <i>E. coli</i> ที่รอดชีวิต (log cfu/ml) หลังสัมผัสน้ำ อิเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลาง ความเข้มข้น 10, 30, 50, 70 และ 100 พีพีเอ็ม ในระยะเวลาสัมผัสเชื้อเท่ากับ 1, 3 และ 5 นาที	96
ง11 จำนวนเชื้อ <i>V. parahaemolyticus</i> และ <i>V. vulnificus</i> ที่รอดชีวิตในกุ้ง (log cfu/g) หลังล้างด้วยน้ำประปา (TW) น้ำอิเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลาง ความ เข้มข้น 10 พีพีเอ็ม (NEW 10) และ 50 พีพีเอ็ม (NEW 50) เป็น ระยะเวลา 0, 15, 30 และ 45 นาที	97
ง12 จำนวนเชื้อ <i>V. parahaemolyticus</i> และ <i>V. vulnificus</i> ที่รอดชีวิตในกุ้ง (log cfu/g) หลังสัมผัสน้ำแข็งที่ผลิตจากน้ำประปา (TI) น้ำแข็งอิเล็กโทรไลซ์ชนิด เป็นกลาง ความเข้มข้น 10 พีพีเอ็ม (NEWI 10) และ 50 พีพีเอ็ม (NEWI 50) ระหว่าง การให้ความเย็นเป็นระยะเวลา 0, 2, 4 และ 6 ชั่วโมง	98

## สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 ปริมาณและมูลค่าการส่งออกกุ้งขาวของไทย ปี พ.ศ. 2550 ถึง 2553	6
2 การผลิตน้ำอเล็กโทรไลซ์	21
3 แผนภาพตัวอย่างเครื่องผลิตน้ำอเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลาง (A) และเครื่องผลิตน้ำอเล็กโทรไลซ์ชนิดกรด (B)	22
4 เครื่องผลิตน้ำอเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลาง ยี่ห้อ Tipstel รุ่น 80	32
5 ปริมาณคลอรีนอิสระ (A) ค่าความเป็นกรดค่า (B) และค่าออกซิเดชัน-รีดักชันโพเทนเชียล (C) ของน้ำและน้ำแข็งที่มีปริมาณคลอรีนอิสระตั้งต้น 100 พีพีเอ็ม ซึ่งผลิตจาก NEW และ NaOCl ระหว่างเก็บรักษาในที่มืดและที่มีแสง	41
6 ปริมาณคลอรีนอิสระ (A) ค่าความเป็นกรดค่า (B) และค่าออกซิเดชัน-รีดักชันโพเทนเชียล (C) ของน้ำและน้ำแข็งที่มีปริมาณคลอรีนอิสระตั้งต้น 200 พีพีเอ็ม ซึ่งผลิตจาก NEW และ NaOCl ระหว่างเก็บรักษาในที่มืดและที่มีแสง	42
7 จำนวนเชื้อบริสุทธิ์ของ <i>V. parahaemolyticus</i> (A) <i>V. vulnificus</i> (B) <i>Salmonella</i> Enteritidis (C) และ <i>E. coli</i> (D) ที่รอดชีวิตหลังสัมผัส NEW ความเข้มข้น 10, 30, 50, 70 และ 100 พีพีเอ็ม ในระยะเวลาสัมผัสเชื้อเท่ากับ 1, 3 และ 5 นาที	49
8 จำนวนเชื้อ <i>V. parahaemolyticus</i> (A) และ <i>V. vulnificus</i> (B) ที่รอดชีวิตในกุ้งหลังล้างด้วยน้ำประปา (TW) น้ำอเล็กโทรไลซ์ความเข้มข้น 10 พีพีเอ็ม (NEW 10) และ 50 พีพีเอ็ม (NEW 50) เป็นระยะเวลา 0, 15, 30 และ 45 นาที	52
9 จำนวนเชื้อ <i>V. parahaemolyticus</i> (A) และ <i>V. vulnificus</i> (B) ที่รอดชีวิตในกุ้งหลังสัมผัสน้ำแข็งที่ผลิตจากน้ำประปา (TD) น้ำแข็งอเล็กโทรไลซ์ความเข้มข้น 10 พีพีเอ็ม (NEWI 10) และ 50 พีพีเอ็ม (NEWI 50) ระหว่างการให้ความเย็นเป็นระยะเวลา 0, 2, 4 และ 6 ชั่วโมง	56

### คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

ACC	=	ความเข้มข้นของคลอรีน
AEW	=	น้ำอิเล็กโทรไลต์ชนิดกรด
Cl <sub>2</sub>	=	คลอรีน
gHOCl	=	กรดไฮโปคลอรัส
mV	=	มิลลิโวลต์
NaOCl	=	สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์
NEW	=	น้ำอิเล็กโทรไลต์ชนิดเป็นกลาง
NEWI	=	น้ำแข็งที่ผลิตขึ้นจากน้ำอิเล็กโทรไลต์ชนิดเป็นกลาง
OCl <sup>-</sup>	=	ไฮโปคลอไรต์ไอออน
ORP	=	ค่าออกซิเดชัน-รีดักชัน โปเทนเชียล
pH	=	ความเป็นกรดด่าง
ppm	=	ส่วนในล้าน
TW	=	น้ำประปา
TI	=	น้ำแข็งที่ผลิตขึ้นจากน้ำประปา

## สมบัติของน้ำอิเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลางและประสิทธิภาพในการลดการปนเปื้อน ของจุลินทรีย์ในกุ้งขาวแวนนาไม

### Properties of Neutral Electrolyzed Water and Its Efficiency on Microbial Decontamination of *Litopenaeus vannamei*

#### คำนำ

กุ้งขาวแวนนาไมเป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจที่มีความสำคัญของไทย และนํารายได้เข้าประเทศจากการส่งออกสูง แต่การส่งออกผลิตภัณฑ์ บางครั้งประสบกับปัญหาการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรค ซึ่งก่อให้เกิดปัญหาด้านความปลอดภัยของอาหาร ความบกพร่องในการควบคุมสุขลักษณะการผลิตและการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคอาจนำไปสู่ปัญหาที่จะส่งผลกระทบต่อประเทศ ทำให้เกิดการปฏิเสธผลิตภัณฑ์จากประเทศคู่ค้าได้ เชื้อจุลินทรีย์ที่มักตรวจพบในกุ้ง ได้แก่ *Vibrio* spp., *Escherichia coli* และ *Salmonella* spp. ซึ่งการปนเปื้อนของจุลินทรีย์อาจเกิดจากแหล่งน้ำ การสัมผัสแหล่งปนเปื้อนอื่นระหว่างการผลิตและการขนส่ง ดังนั้นในโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปสัตว์น้ำจึงต้องมีขั้นตอนการลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในสัตว์น้ำด้วยการล้างหรือแช่ด้วยน้ำผสมสารฆ่าเชื้อเพื่อลดการปนเปื้อนจนถึงระดับที่ปลอดภัย

สารฆ่าเชื้อที่นิยมใช้ในการลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในกุ้งในปัจจุบันมักเป็นสารประกอบกลุ่มคลอรีน เช่น โซเดียมไฮโปคลอไรท์ และแคลเซียมไฮโปคลอไรท์ เป็นต้น เนื่องจากมีประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์ได้กว้างขวาง และราคาไม่สูง จึงมีการใช้อย่างแพร่หลายในโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปสัตว์น้ำในประเทศไทย วัตถุประสงค์ของการใช้ครอบคลุมทั้งลดการปนเปื้อนในสัตว์น้ำโดยตรง เช่น การสเปรย์ จุ่ม หรือแช่สัตว์น้ำในสารละลายที่มีองค์ประกอบของสารฆ่าเชื้อกลุ่มคลอรีน และการฆ่าเชื้ออุปกรณ์และสถานที่ เช่น ล้างสายพาน มีด เขียง และล้างพื้น โรงงาน อย่างไรก็ตามงานวิจัยในปัจจุบันพบว่าสารประกอบคลอรีนอาจก่อให้เกิดพิษ โดยคลอรีนเมื่อรวมกับสารประกอบอินทรีย์บางชนิดทำให้เกิด chloroform หรือ trichloramine ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งในมนุษย์ ประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรปและสหรัฐอเมริกาเริ่มแสดงการไม่ยอมรับการใช้สารประกอบคลอรีนสำหรับล้างกุ้งสดก่อนแปรรูป

ในปัจจุบันอุตสาหกรรมอาหารมีการนำสารฆ่าเชื้อกลุ่มออกซิไดซ์ซึ่ง เช่น น้ำไอโซน น้ำผสมคลอรีนไดออกไซด์ และน้ำอิเล็กโทรไลซ์ชนิดกรด (acid electrolyzed water) มาใช้ในการล้างวัตถุดิบเพื่อลดการปนเปื้อนดังกล่าว ซึ่งสารในกลุ่มนี้ก่อให้เกิดพิษน้อยกว่ามาก อย่างไรก็ตามการประยุกต์ใช้สารออกซิไดซ์ซึ่งเหล่านี้ในกระบวนการผลิตอาหารทะเลต้องใช้ในปริมาณที่เหมาะสมและมีปัจจัยของอุณหภูมิของน้ำล้าง เวลาสัมผัสกับอาหาร และปัจจัยอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องหลายประการ

น้ำอิเล็กโทรไลซ์ (Electrolyzed water หรือ Electrolyzed Oxidizing water หรือ EO water) จัดเป็นสารฆ่าเชื้อชนิดใหม่ที่มีการศึกษากันมากขึ้นในปัจจุบัน เนื่องจากการผลิตใช้เพียงน้ำและเกลือโซเดียมคลอไรด์เท่านั้น น้ำอิเล็กโทรไลซ์นี้มีข้อได้เปรียบสารฆ่าเชื้อชนิดอื่น ได้แก่ มีประสิทธิภาพ มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อ ใช้งานง่าย ราคาไม่แพง และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม คุณสมบัติเด่นของน้ำอิเล็กโทรไลซ์ที่เหนือกว่าสารฆ่าเชื้อทั่วไปคือความปลอดภัยต่อผู้บริโภค (Huang *et al.*, 2008) เนื่องจากน้ำอิเล็กโทรไลซ์ที่มีประสิทธิภาพแม้จะมีฤทธิ์เป็นกรด แต่ไม่ก่อให้เกิดอาการระคายเคือง ปัจจุบันน้ำอิเล็กโทรไลซ์ได้รับความสนใจในอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากมีผลในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคได้หลายชนิด เช่น *E. coli*, *Salmonella* spp., *V. vulnificus* และ *V. parahaemolyticus* เป็นต้น อย่างไรก็ตามความมีฤทธิ์เป็นกรดของน้ำอิเล็กโทรไลซ์นี้เป็นข้อจำกัดข้อหนึ่งในการใช้กับอาหาร เนื่องจากก่อให้เกิดผลเสียต่ออาหารหลายประการเช่น ทำให้ความเป็นกรดด่างของอาหารเปลี่ยนไป มีผลต่อสี กลิ่น และรสชาติ ทำให้โปรตีนเสียสภาพและตกตะกอน (denature) มีผลทำให้เนื้อสัมผัสเปลี่ยนแปลงไป นอกจากนี้ข้อจำกัดอีกประการหนึ่ง คือ น้ำอิเล็กโทรไลซ์ชนิดนี้มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อในระยะเวลาช่วงสั้นหลังจากผลิตออกมา โดยฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อจะค่อย ๆ สลายไปตามระยะเวลา ทำให้การใช้งานมีข้อจำกัด อย่างไรก็ตามในปัจจุบันมีการพัฒนา น้ำอิเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลาง (neutral electrolyzed water) ขึ้น ซึ่งมีค่าความเป็นกรดด่างเป็นกลาง มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อเช่นเดียวกัน และมีความคงตัวในการเก็บรักษานานกว่าน้ำอิเล็กโทรไลซ์ชนิดกรด (Umimoto *et al.*, 2008) ทำให้สามารถนำมาประยุกต์ใช้ได้กว้างขึ้น

ในการทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์ศึกษาสมบัติ ความคงตัว และแนวทางการใช้น้ำอิเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลางทั้งในรูปของน้ำและน้ำแข็งในการลดเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคที่ปนเปื้อนในกุ้งเพื่อนำไปประยุกต์ใช้เป็นสารฆ่าเชื้อทางเลือกในอุตสาหกรรมแปรรูปสัตว์น้ำ โดยมีเป้าหมายเพื่อลดปริมาณจุลินทรีย์ก่อโรคที่ปนเปื้อนลงจนถึงระดับที่ปลอดภัยต่อการบริโภค

## วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพบางประการของน้ำและน้ำแข็งที่ผลิตจากน้ำอเล็กโทโรไลซ์ชนิดเป็นกลางและความคงตัวระหว่างการเก็บรักษา
2. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของน้ำอเล็กโทโรไลซ์ชนิดเป็นกลางในการลดเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคบางชนิดในรูปของเชื้อบริสุทธิ์
3. เพื่อศึกษาผลในการลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในกุ้งขาวแวนนาไมด้วยน้ำอเล็กโทโรไลซ์ชนิดเป็นกลางและด้วยน้ำแข็งที่ผลิตขึ้นจากน้ำอเล็กโทโรไลซ์ชนิดเป็นกลางในระหว่างการให้ความเย็นในช่วงการเก็บรักษาวัตถุดิบ
4. เพื่อประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของกุ้งหลังแช่ด้วยน้ำอเล็กโทโรไลซ์ชนิดเป็นกลาง

## การตรวจเอกสาร

### 1. ความปลอดภัยในการบริโภคสัตว์น้ำ

การขยายตัวของประชากรโลกทำให้มีความต้องการบริโภคอาหารมากขึ้น รวมทั้งอาหารจากสัตว์น้ำ เนื่องจากมีรสชาติดีและมีคุณค่าทางโภชนาการสูง เช่น ในสหรัฐอเมริกามีการนำเข้าอาหารทะเลจากประเทศต่าง ๆ ในปริมาณมากกว่าร้อยละ 80 ซึ่งนำเข้ามาจากประเทศแคนาดา จีน ไทย ชิลี เอกวาดอร์ และเวียดนาม ตามลำดับ อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์จากสัตว์น้ำอาจเป็นที่มาของอาการเกิดโรคอาหารเป็นพิษได้ (GAO, 2004)

โรคอาหารเป็นพิษมีสาเหตุมาจากสารที่เป็นพิษซึ่งอาจจะได้รับมาจากการติดต่อหรือมีอยู่ในธรรมชาติ สามารถเข้าสู่ร่างกายโดยได้รับผ่านอาหารที่มีการปนเปื้อนของสารนั้น (WHO, 2007) โรคติดต่อเหล่านี้มีความเป็นไปได้ที่จะก่อให้เกิดอันตรายถึงแก่ชีวิต โดยเฉพาะกลุ่มผู้บริโภค ได้แก่ เด็ก หญิงมีครรภ์ ผู้สูงอายุและผู้ที่มีภูมิคุ้มกันต่ำ (USDA-FSIS, 2006)

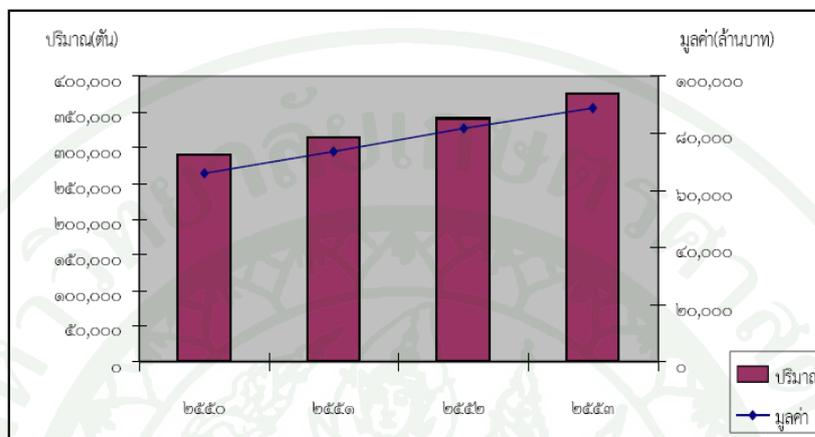
โรคอาหารเป็นพิษที่มีสาเหตุมาจากการรับประทานผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำที่ปนเปื้อนด้วยเชื้อจุลินทรีย์ มักเกิดขึ้นในประเทศแถบเอเชีย โดยจากการพบว่าเชื้อ *V. parahaemolyticus* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษ พบได้มากในบริเวณประเทศแถบชายฝั่งทะเล โดยเฉพาะญี่ปุ่นและไต้หวัน (Joseph *et al.*, 1983; Forsythe, 2002) และในปี 2008 พบผู้ป่วยด้วยโรคติดเชื้อรวมทั้งสิ้น 18,499 คน ซึ่งเกิดขึ้นในสหรัฐอเมริกา รวม 10 รัฐ (CDC, 2008) โดยจุลินทรีย์ชนิดก่อโรคที่สำคัญและเป็นสาเหตุของการติดเชื้อ ได้แก่ *Salmonella* ก่อให้เกิดอาการ โรคกระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบ, *Listeria* ซึ่งปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมทั่วไป ทั้งในคน สัตว์ ดิน และน้ำ โดยสามารถก่อให้เกิดโรคติดเชื้อในกระแสเลือด และเป็นอันตรายต่อหญิงตั้งครรภ์, *E. coli* ซึ่งก่อให้เกิดโรคอุจจาระร่วง และ *Vibrio* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษที่มักเกี่ยวข้องกับผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ (Beuchat, 1995; Ryser and Marth, 2000; CDC, 2008) และสำหรับประเทศไทยก็ได้ดำเนินการเฝ้าระวังโรคติดต่อทางอาหารและน้ำ เช่นกัน (ศรีวรรณ และคณะ, 2549)

## 2. กุ้งขาวแวนนาไม

กุ้งขาวแวนนาไม เป็นกุ้งที่มีแหล่งกำเนิดมาจากทวีปอเมริกา ค้นพบโดย Boone ในปี ค.ศ. 1931 ต่อมา ใน ค.ศ. 1997 Perez Farfante และ Kenley ได้ให้ชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Litopenaeus vannamei* และเป็นชนิดที่นิยมเลี้ยงกันในประเทศแถบทวีปอเมริกาใต้ ได้แก่ เอกวาดอร์ เม็กซิโก และบราซิล แต่ปัจจุบันมีการเลี้ยงอย่างแพร่หลายในทวีปเอเชีย เช่น ใต้หวัน จีน และอินโดนีเซีย (ชลอ และคณะ, 2548) โดยเริ่มมีการนำกุ้งขาวแวนนาไมมาเลี้ยงในใต้หวันครั้งแรก เมื่อปี พ.ศ. 2539 และประเทศไทยเริ่มนำกุ้งชนิดนี้มาเลี้ยงประมาณ พ.ศ. 2541 (คณะกรรมการบริหารคลังเตอร์กุ้งประเทศไทย, 2550) ลักษณะทั่วไปของกุ้งขาวแวนนาไม คือสีของลำตัวเป็นสีขาว กRID ด้านบนหยาบและถี่ปลาย กRID ตรง โดยมีปลายพินกRID ด้านล่าง 2 อัน และด้านบน 8 อัน ความยาวของ กRID จะยาวกว่าลูกตาไม่มากและเห็นลำไส้ชัดเจนกว่ากุ้งขาวอื่น ๆ (ภิญโญ, 2545) โดยกุ้งชนิดนี้มีชื่อเรียกที่แตกต่างกันออกไป ชื่อเรียกของ F.A.O. ที่รับรองเป็นภาษาอังกฤษคือ White legs shrimp ส่วนชื่อสามัญและชื่อทางการค้าที่ใช้เรียกมีหลายชื่อมักเรียกตามแหล่งที่พบหรือตามลักษณะเด่นทางกายภาพที่ปรากฏให้เห็น เช่น ในประเทศสหรัฐอเมริกา: west coast white shrimp หรือ white leg shrimp, เม็กซิโก: Camarón blanco หรือ white shrimp (Holthuis, 1980) และไทย: กุ้งขาวแปซิฟิก (Pacific white shrimp) (ปิยะบุตร, 2545; ภิญโญ, 2545) เนื่องจากกุ้งขาวแวนนาไมเป็นกุ้งที่เลี้ยงง่าย โตเร็ว และมีต้นทุนการผลิตและค่าใช้จ่ายในการบริหารจัดการที่ต่ำกว่าการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ นอกจากนี้กุ้งขาวแวนนาไมยังทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงความเค็มของน้ำได้ในช่วงกว้าง (Mair, 1980) โดยสามารถอาศัยอยู่ได้ในน้ำที่มีความเค็มตั้งแต่ 0.5 ถึง 40 พีพีที (Samacha *et al.*, 2001) กุ้งขาวแวนนาไมจึงเป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจที่มีความสำคัญของไทย โดยเข้ามาทดแทนกุ้งกุลาดำ และเลี้ยงในบริเวณพื้นที่ที่เคยเลี้ยงกุ้งกุลาดำ มีการเลี้ยงในเขตชายฝั่งทะเล และเขตนํ้ากร่อยบริเวณปากแม่น้ำ (ชลอ และ พรเลิศ, 2547)

การผลิตกุ้งขาวแวนนาไม มีปริมาณมากขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยมีปริมาณการผลิตทั่วโลก ในปี พ.ศ. 2523 เท่ากับ 8,000 ตัน จนถึง ปี พ.ศ. 2541 เท่ากับ 194,000 ตัน และเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว เป็น 1,386,000 ตัน ในปี พ.ศ. 2547 เนื่องจากมีการแพร่หลายของกุ้งชนิดนี้เข้ามาเพาะเลี้ยงในทวีปเอเชียมากขึ้น โดยประเทศผู้ผลิตหลักในปี พ.ศ. 2547 ได้แก่ จีน ไทย อินโดนีเซีย และเวียดนาม ซึ่ง มีปริมาณการผลิตเท่ากับ 700,000 400,000 300,000 และ 50,000 ตัน ตามลำดับ และตลาดการค้ากุ้งของโลกส่วนใหญ่คือประเทศสหรัฐอเมริกา มีการนำเข้าสูงประมาณ 477,000 ตัน คิดเป็นมูลค่า 3.1 พันล้านเหรียญสหรัฐ ในปี พ.ศ. 2548 ซึ่งเพิ่มขึ้นจาก ปี พ.ศ. 2543 ถึง 1.8 เท่า นอกจากนี้ยังมีกลุ่ม

สหภาพยุโรป และญี่ปุ่นด้วย (FAO, 2009) สำหรับประเทศไทยการส่งออกกุ้งขาวในรอบปี 10 ปี (พ.ศ. 2544 ถึง 2553) มีปริมาณเฉลี่ย 309,256 ตันต่อปี คิดเป็นมูลค่า 83,200 ล้านบาทต่อปี โดยในปี พ.ศ. 2553 มีปริมาณการส่งออกสูงถึง 374,674 ตัน มีมูลค่า 88,908 ล้านบาท (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 ปริมาณและมูลค่าการส่งออกกุ้งขาวของไทย ปี พ.ศ. 2550 ถึง 2553

ที่มา: ประพันธ์ (2554)

### 3. เชื้อจุลินทรีย์ที่พบในอุตสาหกรรมการแปรรูปกุ้ง

#### 3.1 *Vibrio* spp.

*Vibrio* spp. เป็นแบคทีเรียแกรมลบ จัดอยู่ในกลุ่มที่เจริญได้ทั้งในสภาพที่มีและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobic) ในวงศ์ Vibrionaceae มีรูปร่างเป็นแท่งโค้งหรือตรง มีขนาดความกว้าง 0.5-0.8 ไมโครเมตร ยาว 1.4-2.6 ไมโครเมตร (พจมาน, 2549) และเป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษที่มักเกี่ยวข้องกับอาหารทะเล มีอยู่ 3 สายพันธุ์ด้วยกัน คือ *Vibrio cholera*, *Vibrio parahaemolyticus* และ *Vibrio vulnificus* (Forsythe, 2002)

##### 3.1.1 *V. parahaemolyticus*

โดยทั่วไปเชื้อ *V. parahaemolyticus* สามารถพบได้ในปลาและสัตว์น้ำมีเปลือก

ในปริมาณน้อยกว่า  $10^3$  cfu/g และมักพบว่า ในน้ำอุ่น อาจเป็นสาเหตุให้เกิดการเพิ่มจำนวนมากขึ้น เป็น  $10^6$  cfu/g การเกิดโรคอาหารเป็นพิษเนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าวนี้เกิดขึ้นจากการรับประทานของดิบ ไม่ผ่านการทำให้สุก หรือการปนเปื้อนข้ามในปลาและสัตว์น้ำมีเปลือก เช่น หอย ปู และกุ้ง

เชื้อ *V. parahaemolyticus* เป็นสาเหตุสำคัญของการก่อโรคอาหารเป็นพิษหรือโรคกระเพาะและลำไส้อักเสบ มีการระบาดของโรคครั้งแรกในประเทศญี่ปุ่น เกิดจากการรับประทานอาหารทะเลที่ปนเปื้อนเชื้อเข้าไป *V. parahaemolyticus* ที่ก่อโรค สามารถสร้างน้ำย่อยที่ทำให้เม็ดเลือดแดงแตกได้

ลักษณะอาการทั่วไปหลังจากได้รับเชื้อ ได้แก่ ท้องร่วง ลำไส้อักเสบ อาเจียน ปวดศีรษะ หรือเป็นไข้และหนาวสั่น อาการมักปรากฏหลังจากได้รับเชื้อเข้าไปในระบบทางเดินอาหารภายใน 4-96 ชั่วโมง โดยเฉลี่ยมักแสดงอาการภายใน 15 ชั่วโมง และมักมีไข้เล็กน้อยถึงปานกลาง ในบางกรณีอาจต้องเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล โดยเฉลี่ยมีอาการอย่างน้อย 3 วัน (Forsythe, 2002)

### 3.1.2 *V. vulnificus*

เชื้อ *V. vulnificus* ค้นพบครั้งแรกในปี 1976 คำว่า *vulnificus* แปลว่า การได้รับบาดแผล ซึ่งเป็นผลมาจากจุลินทรีย์แพร่กระจาย และบุกรุกทำลายเนื้อเยื่อ (จุลินทรีย์ชนิดนี้มีส่วนทำให้เกิดการติดเชื้อที่บาดแผลและก่อให้เกิดภาวะติดเชื้อในโลหิตซึ่งมีอันตรายทำให้ถึงแก่ชีวิตได้ นอกจากนี้ยังเป็นสาเหตุของการตายด้วยโรคระบบทางเดินอาหารมากที่สุด) เชื้อ *V. vulnificus* สามารถพบได้ในสัตว์น้ำมีเปลือกและน้ำบริเวณชายฝั่ง เป็นจุลินทรีย์ที่มักจะไม่พบในน้ำทะเลที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า 10-15 องศาเซลเซียส แต่จะเจริญได้เมื่อน้ำมีอุณหภูมิสูงกว่า 21 องศาเซลเซียส เส้นทางแรกที่สามารถติดเชื้อได้ คือผ่านทางบาดแผลและกระแสดเลือด

ลักษณะอาการทั่วไปหลังจากได้รับเชื้อ ได้แก่ ไข้ หนาวสั่น อาการคลื่นไส้หรือเกิดบาดแผล อาการเริ่มต้นมักปรากฏในเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากได้รับเชื้อเข้าสู่ร่างกายจากการรับประทานสัตว์น้ำมีเปลือกดิบที่ปนเปื้อนด้วยเชื้อซึ่งสามารถติดเชื้อได้ง่ายสำหรับผู้มีสุขภาพอ่อนแอ รวมถึงผู้สูงอายุ ผู้มีภูมิคุ้มกันต่ำ ผู้ป่วยที่เป็นโรคตับเรื้อรัง และผู้ที่มีอาการแอลกอฮอล์ซึม

จุลินทรีย์ชนิดนี้มีความแตกต่างจากเชื้อกลุ่ม vibrio ที่ก่อให้เกิดโรคชนิดอื่น ๆ คือสามารถแพร่กระจายเข้าสู่กระแสเลือด และเพิ่มจำนวนมากได้ นอกจากนี้ยังสามารถแพร่กระจายไปได้อย่างรวดเร็วและสร้างสารมาเคลือบเซลล์ เพื่อป้องกันตัวเองจากระบบภูมิคุ้มกันที่สร้างขึ้นโดยเซลล์โฮสต์ ดังนั้นผู้ที่มิภูมิคุ้มกันต่ำ จึงควรหลีกเลี่ยงการรับประทานสัตว์น้ำมีเปลือกในสภาพดิบ

การพบเชื้อนี้ในอาหารปรุงสุก บ่งชี้ถึงสุขลักษณะที่ไม่ดี เนื่องจากจุลินทรีย์นี้ จะถูกทำลายได้ด้วยความร้อน ดังนั้นในการควบคุมจุลินทรีย์คือเมื่ออุณหภูมิมากกว่า 25 องศาเซลเซียส นั้นจะต้องให้ความเย็น และจัดการให้อุณหภูมิหลังการควบคุมมีค่าต่ำกว่า 15 องศาเซลเซียส (Forsythe, 2000)

### 3.1.3 *V. cholerae*

โรคที่เกิดจาก *V. cholerae* คือ อหิวาตกโรค เป็นรูปแบบอาการที่รุนแรงที่สุดของโรคที่เกี่ยวข้องกับระบบทางเดินอาหาร แบคทีเรียผ่านเข้าไปเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนในลำไส้ตามด้วยการสร้างสารพิษ ซึ่งจะผ่านเข้าไปในเซลล์ลำไส้ ไปรบกวนลำดับขั้นตอนปฏิกิริยาการควบคุมสมดุลประจุ และน้ำ โดยเฉพาะเซลล์ลำไส้ที่ได้รับสารพิษเข้าไปจะมีการสร้าง cyclic AMP มากเกินไป โดย cyclic AMP ทำหน้าที่กระตุ้นการขับเกลือแร่ออกจากเซลล์ ซึ่งตามหลักความดันออสโมติกแล้ว เมื่อมีการเสียเกลือแร่ออกจากเซลล์ก็จะมีน้ำตามออกมาจากเซลล์ด้วย ทำให้มีอาการถ่ายเหลว อาจจะทำให้เสียน้ำมากถึง 1 ลิตรต่อชั่วโมง ซึ่งผู้ป่วยอาจเสียชีวิตได้ถ้าไม่ได้รับน้ำเกลือทางกระแสเลือด

ลักษณะอาการทั่วไปหลังจากได้รับเชื้อในปริมาณที่ทำให้เกิดโรค หรือประมาณหลายร้อยเซลล์ มีระยะฟักตัวของโรค 1-5 วัน ที่พบบ่อย คือ ประมาณ 23 วัน อาการที่ปรากฏได้แก่ อาการสูญเสียน้ำ หรืออาการท้องร่วง มีระยะเวลาป่วยนานหลายวัน และอัตราการตายสูงถึงร้อยละ 60 ถ้าไม่ได้รับการรักษาอย่างทันที่

อาหารที่เกี่ยวข้องกับการระบาดของเชื้อ *V. cholerae* เช่น ปลาดิบ หอยดิบ ปู กุ้ง ผักดิบ น้ำ และอาหารที่ล้างด้วยน้ำที่ปนเปื้อนจุลินทรีย์ (Forsythe, 2000)

### 3.2 *Salmonella* spp.

*Salmonella* spp. เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีรูปร่างเป็นท่อนและไม่สร้างสปอร์ อยู่ในสกุล Enterobacteriaceae ขนาด 0.7-1.5 ไมโครเมตร ยาว 2.0-5.0 ไมโครเมตร เจริญได้ทั้งในสภาพที่มีและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) ไม่สร้างเอนโดสปอร์ เคลื่อนที่ด้วยแฟลกเจลลาที่ยาวรอบเซลล์ (peritrichous flagella) ผลิตเอนไซม์ออกซิเดส ค่าออสโมเตอร์แอกทิวิตีต่ำสุดที่เจริญได้เท่ากับ 0.94 ส่วน และค่าออสโมเตอร์แอกทิวิตีที่เหมาะสมประมาณ 0.99 (ICMSF, 1996)

*Salmonella* สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิปานกลาง จัดอยู่ในกลุ่มแบคทีเรียพวกมีโซไฟล์ (mesophile) โดยเจริญได้ที่อุณหภูมิ 15-40 องศาเซลเซียส (Guthrie, 1991) บางครั้งสามารถเจริญในช่วงอุณหภูมิ 5.5-45.0 องศาเซลเซียส (Doyle and Mazzotta, 2000) และเจริญได้ดีที่ 37 องศาเซลเซียส ไม่ทนร้อน สามารถถูกทำลายได้ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ภายใน 15-20 นาที ที่อุณหภูมิต่ำ *Salmonella* จะเจริญลดลงอย่างรวดเร็ว และส่วนใหญ่จะถูกยับยั้งที่อุณหภูมิต่ำกว่า 7 องศาเซลเซียส แต่บางสายพันธุ์ก็สามารถรอดชีวิตได้แม้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 5 องศาเซลเซียส (D'Aoust, 1981) นอกจากนี้ Chung and Goepfert (1970) พบว่า *Salmonella* เป็นแบคทีเรียที่เจริญได้แม้ในสภาพกรดที่ค่าความเป็นกรดค่า 3.8 ส่วนค่าสูงสุดอยู่ที่ 9.5 และเซลล์เจริญได้ดีในช่วง 7-7.5 แต่ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่น รวมทั้งสายพันธุ์ของเชื้อ *Salmonella* ด้วย

ลักษณะอาการผู้ป่วยที่ได้รับเชื้อ *Salmonella* จำแนกได้ 3 แบบ (นงลักษณ์ และ ปรีชา, 2541) ดังนี้

1. อาการโรคกระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบ (gastroenteritis) โดยทั่วไปเกิดจากเชื้อ *Salmonella* สายพันธุ์ที่ไม่เลือกโฮสต์ โดยปกติเป็นสายพันธุ์ที่ไม่ทำให้เกิดโรคไทฟอยด์ ได้แก่ *Salmonella* Typhimurium และ *Salmonella* Enteritidis ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ มีช่วงระยะฟักตัวของโรค 5 ชั่วโมง ถึง 5 วัน แต่ปกติอาการมักเริ่มขึ้นประมาณ 12-36 ชั่วโมงหลังได้รับเชื้อ กรณีที่ได้รับเชื้อเป็นจำนวนมาก อาการจะปรากฏขึ้นเร็วกว่าปกติ อาการของผู้ป่วย ได้แก่ ท้องเดิน คลื่นไส้ ปวดท้อง ไข้สูงปานกลาง หนาวสั่น อาการท้องร่วง อาการของโรคจะรุนแรงต่างกันตามความบ่อยครั้งของการถ่ายอุจจาระ

2. อาการโรคไข้ไทฟอยด์ (enteric fever) อาการของโรครุนแรงมากกว่าโรคกระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบ เกิดจากเชื้อ *Salmonella Typhi*, *Salmonella Paratyphi A*, *Salmonella Paratyphi B (Salmonella Schottmuelleri)* และ *Salmonella Paratyphi C (Salmonella Hirschfeldii)* ระยะเวลาฟักตัวของเชื้อไข้ไทฟอยด์อยู่ระหว่าง 7-28 วัน (ขึ้นอยู่กับปริมาณของเชื้อที่ได้รับ) ผู้ป่วยมีอาการไม่สบาย ปวดศีรษะ ไข้ขึ้นสูงมากและอาการทรงอยู่หลายวัน นอกจากนั้นยังปวดท้องและปวดเมื่อยตามร่างกาย อ่อนเพลีย ถ่ายอุจจาระมีลักษณะเหลว มีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ไอ มีเหงื่อออกตามตัว หนาวสั่น และเบื่ออาหาร มีจุดแดงตามตัว แผ่นหลังและหน้าอก หัวใจเต้นช้าและอ่อนท้องบวม น้ำ ม้าม โต บางครั้งมีเลือดออกจากช่องท้องหรือจมูกด้วย

3. อาการโรคติดเชื้อในกระแสโลหิต (septicemia) เกิดจากเชื้อ *Salmonella* ติดเชื้อและเข้าไปในกระแสโลหิต โดยเชื้อมีการฟักตัวในลำไส้เล็กแล้วแพร่กระจายสู่กระแสโลหิต ผู้ป่วยเชื้อที่เป็นสาเหตุได้แก่ *Salmonella Typhi*, *Salmonella Choleraesuis* และ *Salmonella Dublin* (Smith *et al.*, 1993; Archer and Young, 1998) โดยภาวะที่เกิดขึ้นมีสาเหตุจากเชื้อ *Salmonella* ที่รอดชีวิตมาจากน้ำย่อยในกระเพาะอาหาร อาจเข้าไปอยู่ในช่องว่าง (lumen) ของลำไส้เล็กส่วนปลายและเพิ่มจำนวนขึ้น ผ่านผนังลำไส้เล็กเข้าสู่ระบบท่อน้ำเหลือง และทำลายเม็ดเลือดขาว จากนั้นจึงเข้าสู่กระแสโลหิตและทำให้เลือดเป็นพิษในที่สุด (septicemia) (ICMSF, 1996)

### 3.3 *Escherichia coli*

*E. coli* เป็นแบคทีเรียที่จัดอยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae ชนิดแกรมลบ รูปท่อน มีขนาดกว้าง 0.4-0.7 ไมโครเมตร และยาว 1-3 ไมโครเมตร เคลื่อนที่ได้ด้วยแฟลกเจลลาที่อยู่รอบตัว ไม่มีสปอร์ (Jay, 1992)

*E. coli* สามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีอากาศ (aerobe) และสภาวะที่ไม่มีหรือไม่มีอากาศ (facultative anaerobe) (อรษา, 2540) อยู่อาศัยในลำไส้เล็กตอนปลายและลำไส้ใหญ่ของคน และสัตว์เลือดอุ่น จัดเป็นเชื้อประจำถิ่น (normal flora) ในลำไส้เล็ก ด้วยเหตุนี้การตรวจพบแบคทีเรียชนิดนี้จึงบ่งชี้ถึงการปนเปื้อนอุจจาระของคนหรือมูลสัตว์ในน้ำและอาหาร โดยปกติ *E. coli* ไม่ทำให้เกิดโรคเนื่องจากการบริโภคอาหาร แต่ในปัจจุบันพบบางสายพันธุ์ก่อให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหารจึงเรียกแบคทีเรียกลุ่มนี้ว่า diarrheanic *E. coli* หรือ pathogenic *E. coli* การก่อโรคขึ้นอยู่กับ virulence factors ของแต่ละสายพันธุ์ ความรุนแรงของโรคจะแสดงอาการตั้งแต่

อุจจาระร่วงเป็นน้ำ (water diarrhea) ไปจนถึงอุจจาระร่วงมีมูกเลือดเนื่องจากมีอาการอักเสบของลำไส้ (inflammatory diarrhea) diarrheagenic *E. coli* แบ่งออกได้เป็น 4 กลุ่มใหญ่ ๆ ที่สำคัญคือ enteropathogenic *E. coli* (EPEC), enterotoxigenic *E. coli* (ETEC), enteroinvasive *E. coli* (EIEC) และ enterohaemorrhagic *E. coli* (EHEC) ซีโรไทป์ (serotype) ที่สำคัญในกลุ่มนี้คือ *E. coli* O157:H7 จัดเป็นแบคทีเรียที่เป็นปัญหาในประเทศที่พัฒนาแล้ว เช่น ประเทศสหรัฐอเมริกา เนื่องจากมีการระบาดของสารพิษจากอาหาร ได้แก่ เนื้อโคที่ปรุงไม่สุกและนมดิบ (Beuchat, 1995)

#### ลักษณะอาการผู้ป่วยที่ได้รับเชื้อ *E. coli*

*E. coli* ชนิดที่ทำให้เกิดโรคท้องเสียในคนเป็น enteropathogenic *E. coli* (EPEC) โรคที่เกิดจากการบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนของ enteropathogenic *E. coli* (EPEC) นี้สามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ กลุ่มแรกประกอบด้วยสายพันธุ์ที่ผลิตสารพิษในบริเวณลำไส้เล็กตอนบน จะทำให้เกิดอาการท้องเสียคล้ายอหิวาตกโรค ปริมาณเชื้อที่บริโภคเข้าไปแล้วทำให้เกิดโรค จะอยู่ในช่วง  $10^7$  ถึง  $10^8$  เซลล์ต่อกรัมของอาหาร ส่วนกลุ่มที่สองจะประกอบด้วยสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดอาการคล้ายโรคบิดโดยไม่มีการสร้างสารพิษ เชื้อจะเจริญในลำไส้ใหญ่และแทรกตัวไปบนผนังลำไส้ ปริมาณเชื้อที่บริโภคเข้าไปแล้วทำให้เกิดโรค จะอยู่ในช่วง  $10^6$  ถึง  $10^7$  เซลล์ต่อกรัมของอาหาร มีระยะฟักตัวประมาณ 6-36 ชั่วโมง ซึ่งเชื้อในกลุ่มที่สอง จะมีระยะฟักตัวยาวกว่ากลุ่มแรก (Dupont *et al.*, 1971)

#### 4. สารฆ่าเชื้อ

การฆ่าเชื้อ หมายถึงการลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับอาหารด้วยวิธีทางเคมี ทางชีวภาพ หรือฟิสิกส์ให้อยู่ในระดับที่ไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค และไม่มีผลกระทบต่อคุณลักษณะของอาหาร การฆ่าเชื้อด้วยวิธีการใช้สารเคมี นิยมนำมาใช้ในกระบวนการแปรรูปอาหาร แต่ประสิทธิภาพของการฆ่าเชื่อนั้นขึ้นกับการเลือกใช้สารฆ่าเชื้อแต่ละชนิดเพื่อให้เหมาะสมกับงาน (สุมณฑา, 2547; จุฬารัตน์, 2551)

สารฆ่าเชื้อที่ดีควรมีคุณสมบัติในการแทรกผ่านเพื่อเข้าทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่ตามรอยแตก ร้าวของพื้นผิว หรือในสิ่งสกปรกที่มีแร่ธาตุเป็นองค์ประกอบ ปัจจัยสำคัญในการกำหนดประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อ (จุฬารัตน์, 2551) ได้แก่

### ระยะเวลาในการสัมผัส (Exposure time)

อัตราการตายของเชื้อจุลินทรีย์เนื่องจากการใช้สารฆ่าเชื้อเป็นแบบ Logarithmic โดยร้อยละ 90 ของเชื้อจุลินทรีย์จะถูกฆ่าใน 1 หน่วยเวลา และอีกร้อยละ 90 ของที่เหลือจะถูกฆ่าใน 1 หน่วยเวลาต่อมา เหลือไว้เพียงร้อยละ 10 ของจุลินทรีย์เริ่มต้น จุลินทรีย์แต่ละชนิดมีปฏิกิริยาตอบสนองต่อสารฆ่าเชื้อแตกต่างกันขึ้นอยู่กับอายุของเชื้อ การสร้างสปอร์ และปัจจัยทางกายภาพอื่น ๆ ซึ่งใช้ในการตัดสินใจว่าเวลาที่ต้องการสำหรับสารฆ่าเชื้อแต่ละชนิดที่จะมีประสิทธิภาพต่อจุลินทรีย์

### อุณหภูมิ (Temperature)

เมื่ออุณหภูมิในการใช้สารฆ่าเชื้อจุลินทรีย์สูงขึ้น จะมีผลทำให้อัตราการตายเพิ่มขึ้น เนื่องจากสามารถลดแรงตึงผิว ความข้นหนืด และทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงอื่น ๆ ที่มีผลในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ นอกจากนี้ยังช่วยเร่งปฏิกิริยาการกักครอน อย่างไรก็ตามอุณหภูมิที่สูงขึ้นอาจจะมีผลทำให้อัตราการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นได้เช่นกัน ตัวอย่างเช่น ก๊าซคลอรีนจะละลายได้น้อยเมื่ออุณหภูมิของน้ำเพิ่มขึ้น ทำให้สูญเสียคลอรีนอิสระที่จะยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

### ความเข้มข้น (Concentration)

การเพิ่มความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อที่อยู่ในสารฆ่าเชื้อ จะเป็นการเพิ่มอัตราการทำลายจุลินทรีย์ โดยเฉพาะเมื่อคลอรีนอยู่ในรูปไม่แตกตัวในปริมาณมาก จะมีผลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่าเมื่ออยู่ในรูปไอออน (Oomori *et al.*, 2000)

### ค่าความเป็นกรดต่าง (pH)

ประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จะแตกต่างกันไปตามชนิดของเชื้อ โดยมีค่าความเป็นกรดต่างของสารเป็นตัวกำหนด อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพอาจเปลี่ยนแปลงไปตามค่าความเป็นกรดต่าง เช่น คลอรีน ไอโอไดน จะมีประสิทธิภาพลดลงเมื่อค่าความเป็นกรดต่างของสารละลายเพิ่มขึ้น

### สารอินทรีย์ (Organic Matter)

สารดังกล่าวจะทำให้ประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อบางชนิดลดลง เช่น สารประกอบคลอรีนจะทำปฏิกิริยากับสิ่งสกปรกประเภทโปรตีนและมีผลทำให้ประสิทธิภาพของสารลดลง โดยโปรตีนจะมีผลมากกว่าคาร์โบไฮเดรต เนื่องจากสารฆ่าเชื้อจะไปทำปฏิกิริยาโดยตรงกับส่วนของหมู่ซัลไฟไฮดริลของเอนไซม์

### ปริมาณจุลินทรีย์ (Microbial Load)

การมีเชื้อจุลินทรีย์ปริมาณมากอยู่บนพื้นผิวจะทำให้จุลินทรีย์มีความสามารถในการต้านทานต่อสารประกอบคลอรีนมากขึ้น

สารฆ่าเชื้อที่มีการใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร ได้แก่

#### 4.1 โอโซน (Ozone)

โอโซนเป็นก๊าซสีฟ้า มีกลิ่นฉุนเฉพาะตัว ไม่เสถียรที่อุณหภูมิห้อง มวลโมเลกุลเท่ากับ 48 มีจุดเดือด -119 องศาเซลเซียส และจุดหลอมเหลว -192.7 องศาเซลเซียส ที่ 1 atm โอโซนที่ 20 องศาเซลเซียส ละลายน้ำได้เล็กน้อยประมาณ 0.57 พีพีเอ็ม สลายตัวได้อย่างรวดเร็ว ค่าออกซิเดชัน-รีดักชัน โปเทนเชียล (Oxidation-Reduction Potential หรือ ORP) เท่ากับ 2.07 มิลลิโวลต์ มีคุณสมบัติเป็นสารออกซิไดส์ซึ่งที่รุนแรงมากจึงสามารถทำลายจุลินทรีย์ได้อย่างกว้างขวาง โอโซนในความเข้มข้นระดับต่ำ และระยะเวลาสั้นสามารถทำลายจุลินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ที่สำคัญมีคุณสมบัติสลายตัวอย่างรวดเร็วและไม่เกิดการตกค้างของสารพิษเนื่องจากสลายเป็นออกซิเจน (Kim *et al.*, 1999) และในปี 1997 มีการประกาศให้โอโซนจัดเป็นสารในกลุ่ม GRAS ที่สามารถใช้ในอาหารได้อย่างปลอดภัย (Graham, 1997)

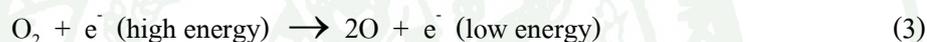
การผลิต โอโซน ทำได้ 2 วิธี คือ

1. Ultra violet method เป็นการฉายรังสีอัลตราไวโอเล็ต (UV) ความยาวคลื่น 185 นาโนเมตร ไปยังออกซิเจน เมื่อโมเลกุลออกซิเจนรับพลังงานจากแสง UV จะเกิดการแตกตัวเป็น

อะตอมอิสระ และอะตอมอิสระจะรวมตัวกับ โมเลกุลของออกซิเจนเกิดเป็น โอโซน (Anonymous, 2008) ดังสมการที่ 1-2



2. Corona electric discharge method เป็นวิธีการที่ใช้ผลิต โอโซนที่ความเข้มข้นสูงถึงร้อยละ 6 โดยน้ำหนัก จากการปล่อยกระแสไฟฟ้าสลับที่มีแรงเคลื่อนไฟฟ้าสูงผ่านเข้าไปใน discharge gap ที่มีออกซิเจนอยู่ แล้วกระแสไฟฟ้าจะกระตุ้นอิเล็กตรอนของออกซิเจนทำให้โมเลกุลของออกซิเจนแตกออกเป็น 2 อะตอมออกซิเจน จากนั้นแต่ละอะตอมออกซิเจนจะทำปฏิกิริยากับ โมเลกุลของออกซิเจนอื่น ทำให้เกิด โมเลกุลของโอโซน ดังสมการ 3-4



กลไกการทำลายจุลินทรีย์ของโอโซนจะอาศัยโมเลกุลของโอโซนและอนุมูลตัวกลางอิสระ (free-radical mediated) เข้าทำปฏิกิริยาโดยตรงกับองค์ประกอบทางเคมีในเซลล์ของจุลินทรีย์โดยเข้าไปทำลายพันธะคู่ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่บริเวณผนังเซลล์ เช่น ลิโปโปรตีน ลิโปโพลีแซคคาไรด์ จึงทำให้ของเหลวภายในเซลล์ไหลออกสู่ภายนอกทำให้โปรตีนถูกย่อย โอโซนมีผลต่อหมู่ซัลไฟไฮดริลของเอนไซม์ ทำให้ปฏิกิริยาของเอนไซม์ภายในเซลล์จุลินทรีย์หยุดชะงัก นอกจากนี้ โอโซนยังทำลายสารพันธุกรรมของจุลินทรีย์โดยเฉพาะเบสพิวรีนและไพริมิดีนของกรดนิวคลีอิก โอโซนมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ดีกว่ายีสต์และรา และมีผลต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมลบมากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก (Restaino *et al.*, 1995) ประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อแบคทีเรียของโอโซนสูงขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของโอโซน ระยะเวลาสัมผัส สภาพความเป็นกรดของตัวกลาง (medium) (Kim *et al.*, 1999) อย่างไรก็ตาม โอโซนในสถานะที่เป็นก๊าซและของเหลวไม่มีความคงตัว จึงไม่สามารถผลิตไว้ล่วงหน้าแล้วเก็บรักษาไว้ได้ จำเป็นต้องผลิตที่หน้างานเพื่อใช้งานทันที (สุมณฑา, 2547)

#### 4.2 คลอรีนและสารประกอบของคลอรีน (Chlorine and chlorine compound)

เมื่อละลายสารคลอรีนในน้ำจะเกิดปฏิกิริยาได้รูปต่าง ๆ ของคลอรีน ดังนี้

1. คลอรีนอิสระ (free chlorine, free available chlorine) คือ คลอรีนที่อยู่ในน้ำในรูปของคลอรีนโมเลกุลที่ละลายในน้ำ ( $\text{Cl}_2$ ), กรดไฮโปคลอรัส ( $\text{HOCl}$ ) และไฮโปคลอไรต์ไอออน ( $\text{OCl}^-$ ) ดังสมการที่ 5 (Johnson, 1975; Floyd *et al.*, 1979; กรรณิการ์, 2549) นอกจากนี้กรดไฮโปคลอรัสบางส่วนจะแตกตัวให้ไฮโดรเจนไอออนและไฮโปคลอไรต์ไอออน ดังสมการที่ 6 (Johnson, 1975)



2. คลอรีนรวมตัว (combined chlorine) คือ คลอรีนที่อยู่ในรูปสารประกอบที่รวมตัวกับสารประกอบอื่น ๆ เช่น แอมโมเนีย ( $\text{NH}_3$ ) ซึ่ง  $\text{NH}_3$  เมื่ออยู่ในน้ำ จะอยู่ในลักษณะสมดุลกับ  $\text{NH}_4^+$  ดังสมการที่ 7



หลังจากเติมคลอรีนลงในน้ำทั้ง  $\text{Cl}_2$  และ  $\text{HOCl}$  สามารถเกิดปฏิกิริยาข้างเคียง (side reaction) กับ  $\text{NH}_3$  เกิดเป็น chloramines ซึ่งรวมทั้ง monochloramine, dichloramine และ trichloramine (chloroform) ดังสมการที่ 8, 9 และ 10 ตามลำดับ



ส่วนการจะได้เป็นชนิดใดนั้นขึ้นอยู่กับปริมาณของ  $\text{NH}_3$ ,  $\text{Cl}_2$  และค่าความเป็นกรดต่าง ของสารละลาย ถ้าอัตราส่วนของ  $\text{Cl}_2 : \text{NH}_3$  เท่ากับ 1 : 1 จะได้ทั้ง mono- และ dichloramine โดยที่ค่าความเป็นกรดต่างที่ต่ำจะมี dichloramine เกิดขึ้นมาก และถ้ามีอัตราส่วนของ

$\text{Cl}_2 : \text{NH}_3$  เพิ่มขึ้น อาจเกิด trichloramine หรือ chloroform ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งในมนุษย์ได้ (กรรณิการ์, 2549)

3. คลอรีนตกค้างหรือคลอรีนคงเหลือ (residual chlorine) คือ คลอรีนที่หลงเหลืออยู่ในน้ำภายหลังจากทำปฏิกิริยาต่าง ๆ แล้ว ถ้าเหลืออยู่ในสภาพของคลอรีนอิสระเรียกว่า free chlorine residual ถ้าคลอรีนนั้นรวมตัวกันอยู่ในรูปของสารประกอบในโตรเจนเรียกว่า combined chlorine residual และที่ความเป็นกรดต่าง พวก free chlorine residual จะอยู่ในรูปของ HOCl มากกว่า  $\text{OCl}^-$  ซึ่ง HOCl นี้ให้ผลในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ดีกว่า combined chlorine residual (กรรณิการ์, 2549)

4. ผลรวมของคลอรีนทั้งหมด (total residual chlorine) คือ ผลรวมทั้งหมดของสารประกอบคลอรีนทั้งในรูปแบบอิสระและสารประกอบ (Johnson, 1975)

คลอรีนได้ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารได้ เพราะมีการจัดคลอรีนเป็นสารประเภทที่เรียกว่า Generally Recognized As Safe (GRAS) จึงมีความปลอดภัยที่จะใช้กับอาหารต่าง ๆ (นงนุช, ม.ป.ป.) คลอรีนสามารถฆ่าเชื้อได้ทั้งแบคทีเรีย ไวรัส รา ยีสต์ สาหร่าย สปอร์ และโปรโตซัว โดยสปอร์แบคทีเรียมีความต้านทานมากกว่าเซลล์ และแบคทีเรียแกรมบวกมีความต้านทานมากกว่าแกรมลบ ไวรัสมีความต้านทานต่อคลอรีนมากกว่าแบคทีเรีย และปกติปริมาณการใช้คลอรีนในสารละลายฆ่าเชื้อที่พื้นผิวเท่ากับ 100 ถึง 200 พีพีเอ็มหรือมิลลิกรัมต่อลิตร (คิดเป็นปริมาณคลอรีนที่ใช้ประโยชน์ได้) ถ้าใช้ในปริมาณมากกว่า 200 พีพีเอ็ม ต้องใช้น้ำสะอาดในการล้างออก ส่วนในน้ำดื่มและน้ำหล่อเย็นควรใช้คลอรีน 0.25-2.0 พีพีเอ็ม (จุฬากรณ์, 2551) อย่างไรก็ตาม การใช้คลอรีนก็อาจประสบปัญหาหลายอย่างได้ เช่น หากในน้ำที่ใช้มีสารแขวนลอย จะห่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ไว้ไม่ให้ถูกทำลายโดยคลอรีน และสารแขวนลอยที่เป็นสารอินทรีย์สามารถทำปฏิกิริยากับคลอรีนทำให้เสียคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อ เช่น  $\text{NH}_3$  ดังที่กล่าวข้างต้น จะทำปฏิกิริยากับคลอรีน เกิดพวกคลอรามินซึ่งให้คุณสมบัติในการฆ่าเชื้อต่ำกว่า HOCl (นงนุช, ม.ป.ป.) นอกจากนี้เมื่อคลอรีนขึ้นจะกัดกร่อนโลหะทำให้ผู้กร่อนเร็วกว่าที่ควร เป็นอันตรายต่ออวัยวะของร่างกาย เช่น ตา จมูก ผิวหนัง จะเกิดการอักเสบและบวมพอง ถ้าสูดดมเข้าไปจะเกิดอาการไอแฉะ หายใจไม่ออก และอาจถึงตายได้ถ้าหายใจเข้าไปในปริมาณมากเกินไป (กรมโรงงานอุตสาหกรรม, 2551)

#### 4.2.1 คลอรีน (Chlorine)

คลอรีน (Cl<sub>2</sub>) เป็นสารฆ่าเชื้อที่ได้รับความนิยมใช้ในการบำบัดน้ำเพื่อผลิตเป็นน้ำประปา รวมทั้งใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร คลอรีนสามารถดำรงอยู่ในสภาพของเหลวและก๊าซ โดยที่ก๊าซคลอรีนจะมีสีเหลืองแกมเขียว ส่วนของเหลวจะมีสีเหลืองอำพัน มีกลิ่นฉุน คลอรีนสามารถละลายน้ำได้ (โดยน้ำหนัก) อยู่ที่ ร้อยละ 0.7 ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นสารที่ไม่ติดไฟ ไม่ระเบิด แต่ช่วยให้สารบางชนิดติดไฟได้ง่ายขึ้น และสามารถทำปฏิกิริยากับสารอื่น เช่น สารอินทรีย์ อะเซทิลีน เอธิลีน แอมโมเนีย ผงโลหะ และไฮโดรเจน แล้วทำให้เกิดไฟหรือระเบิดได้ (สุมนทนา, 2547; กรมโรงงานอุตสาหกรรม, 2551)

#### 4.2.2 ไฮโปคลอไรท์ (Hypochlorite)

สารไฮโปคลอไรท์ที่ใช้ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ มี 2 รูปแบบ คือ แคลเซียมไฮโปคลอไรท์ (ลักษณะเป็นผงหรือเม็ดสีขาวอมเหลือง) และโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (เป็นสารละลายที่มีสีขาวอมเหลือง) โดยที่แคลเซียมไฮโปคลอไรท์มีความเข้มข้นของคลอรีนประมาณร้อยละ 65 ซึ่งปกติก่อนใช้งานมักเตรียมให้อยู่ในรูปของสารละลายก่อน โดยส่วนใหญ่มักเตรียมให้มีความเข้มข้นไม่เกินร้อยละ 3 ซึ่งสารละลายดังกล่าวมีสภาพเป็นด่างที่มีฤทธิ์กัดกร่อน ส่วนโซเดียมไฮโปคลอไรท์ มีความเข้มข้นของคลอรีนประมาณร้อยละ 12 ซึ่งสารนี้มีสภาพเป็นด่างที่มีฤทธิ์กัดกร่อนเช่นกัน (จุฬารัตน์, 2551; อรพิมพ์, ม.ป.ป.) สารไฮโปคลอไรท์เป็นสารประกอบคลอรีนที่มีความไวในการฆ่าเชื้อมากและนิยมใช้กันมากที่สุด เนื่องจากมีราคาถูก ใช้งาน ละลายน้ำได้ดี และให้กรดไฮโปคลอรัส ดังสมการที่ 11 และ 12 ซึ่งเป็นสารตัวกลางที่จะให้สารว่องไวในการฆ่าเชื้อ คือคลอรีนอิสระที่พร้อมจะเข้าทำปฏิกิริยากับเซลล์จุลินทรีย์ เช่นเดียวกับสมการที่ 2 สารนี้จะมีควมคงตัวพอสมควรถ้าเก็บรักษาไว้ในที่แห้ง แต่จะให้คลอรีนที่มีกลิ่นฉุน (สุมนทนา, 2547; อรพิมพ์, ม.ป.ป.)



การเติมสารพวกไฮโปคลอไรท์ ลงไปในน้ำจะเกิดปฏิกิริยาได้ HOCl และ OCl<sup>-</sup> เช่นเดียวกับการเติมคลอรีน ไฮโปคลอไรท์เมื่อละลายในน้ำ มีแนวโน้มที่จะทำให้ความเป็นกรดต่าง

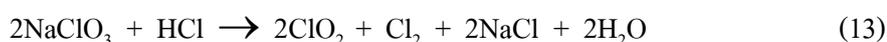
มีค่าเพิ่มขึ้น ขณะที่  $\text{Cl}_2$  เมื่อละลายน้ำจะมีแนวโน้มที่จะทำให้ค่าความเป็นกรดต่างลดลง (Zillich, 1972)

สารประกอบคลอรีนดังกล่าว มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการทำงานของเซลล์ จุลินทรีย์ในสารแขวนลอย โดยใช้เวลาการสัมผัสนานประมาณ 15-100 วินาที ในการลดปริมาณ เซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ลงร้อยละ 90 ของจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้น (จุฬากรณ์, 2551) อย่างไรก็ตาม สารประกอบไฮโปคลอไรต์นี้ ก็อาจประสบปัญหาหลายอย่างเช่นเดียวกับการใช้ คลอรีน (นงนุช, ม.ป.ป.) อย่างไรก็ตามสารประกอบคลอรีนเหล่านี้ รวมทั้งคลอรีน เมื่อทำปฏิกิริยากับสารอินทรีย์ที่ละลายอยู่ในน้ำจะเกิดผลิตภัณฑ์ข้างเคียง (Disinfection by Product, DBP) อยู่ในรูปของสารประกอบในกลุ่มของ Trihalomethanes (THMs) หรือ chloroform ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งที่รุนแรงชนิดหนึ่ง (นันทพร, 2547)

#### 4.2.3 คลอรีนไดออกไซด์ (Chlorine Dioxide)

เป็นสารฆ่าเชื้อในกลุ่มออกซิไดส์ซึ่ง เตรียมครั้งแรกโดยใช้กรดไฮโดรคลอริก ( $\text{HCl}$ ) ทำปฏิกิริยากับ โซเดียมคลอไรต์ ( $\text{NaOCl}_2$ ) ได้ก๊าซที่มีสีเหลืองแกมเขียว (greenish-yellow) กลิ่นคล้ายคลอรีน ไม่เสถียร สามารถระเหยได้ น้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 67.5 มีจุดเดือดที่ 11 องศาเซลเซียส และจุดหลอมเหลวที่ -59 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 1 บรรยากาศ คลอรีนไดออกไซด์ สามารถละลายน้ำได้ดีกว่าก๊าซคลอรีนประมาณ 10 เท่า และเป็นสารออกซิไดส์ซึ่งที่มีประสิทธิภาพ สูงกว่าคลอรีนประมาณ 2.5 เท่า สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้หลายชนิด มีความปลอดภัยและจัดเป็น สารเคมีที่อยู่ในกลุ่ม GRAS มีประสิทธิภาพดีที่ความเป็นกรดต่างมากกว่า 6 คลอรีนไดออกไซด์จะ ทำปฏิกิริยากับสารอินทรีย์ได้ช้ากว่ากรดไฮโปคลอรัสจึงมีมีประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์สูง แม้จะอยู่ในสภาวะที่มีสารอินทรีย์ปนเปื้อน (นันทิตา, 2548)

การผลิตคลอรีนไดออกไซด์สามารถทำได้หลายวิธี แต่ในอุตสาหกรรมวิธีที่ นิยมคือใช้โซเดียมคลอไรด์ ( $\text{NaClO}_3$ ) ทำปฏิกิริยากับกรดไฮโดรคลอริก ( $\text{HCl}$ ) ดังสมการที่ 13 -15



กลไกการทำลายจุลินทรีย์ของคลอรีนไดออกไซด์คล้ายคลึงกับสารประกอบคลอรีนชนิดอื่น ๆ โดยเข้าทำปฏิกิริยากับโปรตีนบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เกิดสารประกอบเอนคลอโร (N-chloro) ไปรบกวนการทำงานของกระบวนการเมตาบอลิซึมของจุลินทรีย์หรือทำปฏิกิริยากับส่วนที่เป็นซัลไฟไฮไดรล (sulfhydryl) ของโปรตีนรวมทั้งเอนไซม์ เกิดเป็นผลิตภัณฑ์ที่ไม่ผันกลับ (irreversible product) แต่เนื่องจากคลอรีนไดออกไซด์มีความสามารถในการออกซิไดส์ที่แรงกว่าสารประกอบคลอรีนชนิดอื่น มีปริมาณคลอรีนอิสระคิดเป็นร้อยละ 263 หรือคิดเป็น 2.63 เท่า ของก๊าซคลอรีน และเมื่อคลอรีนไดออกไซด์ละลายน้ำจะไม่ผ่านตัวกลางเหมือนสารประกอบคลอรีนอื่น ๆ รวมทั้งไม่ทำปฏิกิริยากับ  $\text{NH}_3$  ดังนั้นจึงมีประสิทธิภาพดีแม้ใช้ที่ความเข้มข้นต่ำหรือระยะเวลาสั้น ขณะที่ในคลอรีนและสารประกอบของคลอรีน เช่น ไฮโปคลอไรท์ รูปแบบของคลอรีนที่่องไวในการทำน้ำที่ฆ่าเชื้อจะต้องอยู่ในรูปของคลอรีนอิสระคือ HOCl ซึ่งเป็นคลอรีนในรูปออกซิไดซ์ หรือคลอรีนที่พร้อมจะให้ไอเล็กตรอนแก่ธาตุหรือสารประกอบอื่น (White, 1992; สุขุมธนา, 2547) ข้อได้เปรียบอีกประการหนึ่งของคลอรีนไดออกไซด์คือไม่ก่อให้เกิด THMs ที่จัดเป็นสารก่อมะเร็งเหมือนกับสารประกอบคลอรีนประเภทอื่น (White, 1992) อย่างไรก็ตามคลอรีนไดออกไซด์มีความคงตัวต่ำ สลายตัวได้ง่ายเมื่อได้รับรังสีอุลตราไวโอเล็ต และเมื่อมีอุณหภูมิสูงขึ้นจะทำให้เกิดความดันที่มากขึ้น เกิดการระเบิดได้ จึงควรเก็บสารละลายไว้ในขวดแก้วปิดสนิท ในสถานที่ที่มืดและเย็นหรือทำการผลิต ณ จุดที่ใช้งาน (White, 1972)

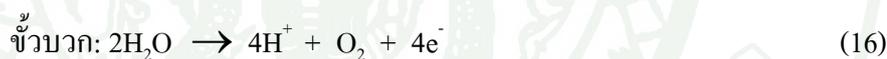
#### 4.2.4 น้ำอิเล็กโทรไลซ์ (Electrolyzed Oxidizing Water)

การผลิตน้ำอิเล็กโทรไลซ์ได้รับการพัฒนาขึ้นมาในประเทศญี่ปุ่น นับตั้งแต่ปี ค.ศ. 1980 (Shimizu and Hurusuwa, 1992) โดยมีการยอมรับให้ใช้ในการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์ หลังจากนั้นมีการพัฒนาการผลิตน้ำอิเล็กโทรไลซ์ชนิดกรดจนได้รับการยอมรับให้ใช้ในโรงงานอุตสาหกรรมอาหารอย่างรวดเร็ว เนื่องจากน้ำอิเล็กโทรไลซ์ชนิดกรดสามารถทำลายแบคทีเรียและพยาธิในปลาได้ดี โดยไม่ทำร้ายรสชาติและลักษณะเนื้อสัมผัสเปลี่ยน และมีการพัฒนาน้ำอิเล็กโทรไลซ์ชนิดด่างขึ้น ซึ่งนำมาใช้อย่างแพร่หลายในโรงพยาบาล (Kim *et al.*, 2000) นอกจากนี้ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ ดังเช่น การยับยั้งจุลินทรีย์ ยับยั้ง blood-virus และป้องกันพิษที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ได้แล้ว น้ำอิเล็กโทรไลซ์ยังมีราคาถูก เนื่องจากในการผลิตใช้เพียงน้ำและเกลือโซเดียมคลอไรด์ และมีความปลอดภัยต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อมด้วย (Huang *et al.*, 2008)

## การผลิตน้ำอิเล็กโทรไลต์

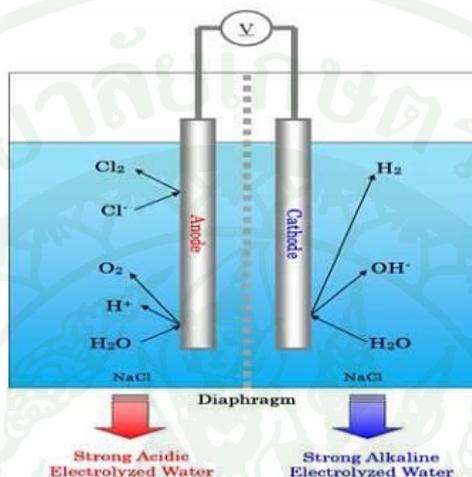
น้ำอิเล็กโทรไลต์ผลิตได้จากสารละลายเกลือเจือจางโดยการผ่านกระแสไฟฟ้าเข้าไปภายในเครื่องผลิตมีเซลล์อิเล็กโทรไลต์ที่ประกอบด้วยขั้วไฟฟ้า 2 ขั้ว คือ ขั้วบวก (Anode) และขั้วลบ (Cathode) อยู่คนละด้านของเครื่อง ซึ่งมีเมมเบรนกั้นกลาง เมื่อน้ำและเกลือแตกตัวเนื่องจากกระแสไฟฟ้า จะทำให้เกิดสารที่มีประจุลบ ได้แก่ คลอไรด์ไอออน (Cl<sup>-</sup>) และไฮดรอกซีไอออน (OH<sup>-</sup>) ซึ่งถูกดึงมาอยู่ด้านขั้วบวก จากนั้นอะตอมอิสระนี้จะรวมตัวกัน เกิดเป็นกรดไฮโปคลอรัส (HOCl) และกรดไฮโดรคลอริก (HCl) อยู่ในสารละลายด้านขั้วบวก นอกจากนี้คลอรีนอะตอมอิสระที่เหลือจะกลายเป็นก๊าซคลอรีน (Cl<sub>2</sub>) และมีออกซิเจน (O<sub>2</sub>) เกิดขึ้นด้วย ส่วนสารที่มีประจุบวก ได้แก่ ไฮโดรเจนไอออน (H<sup>+</sup>) และ โซเดียมไอออน (Na<sup>+</sup>) จะถูกดึงไปยังขั้วลบ เกิดเป็นไฮโดรเจน (H<sub>2</sub>) และ โซเดียมไอออนเกิดการรับอิเล็กตรอนได้โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เกิดขึ้น (Hsu, 2005)

การเกิดปฏิกิริยาอิเล็กโทรไลซิส (electrolysis) ของสารละลายเกลือ แสดงดังสมการที่ 16-20 (Huang *et al.*, 2008)



ในการผลิตน้ำอิเล็กโทรไลต์สามารถแยกน้ำออกได้เป็นน้ำอิเล็กโทรไลต์ชนิดกรดและชนิดด่าง (ภาพที่ 2) น้ำอิเล็กโทรไลต์ชนิดกรดที่ได้จะมีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดจุลินทรีย์ก่อโรค (Venkitanarayanan *et al.*, 1999a; Kim *et al.*, 2000) เนื่องจากมีความเป็นกรดและมีค่าออกซิเดชัน-รีดักชัน โปเทนเชียล (Oxidation-Reduction Potential หรือ ORP) มีฤทธิ์ในการทำลายจุลินทรีย์ได้ (Miyashita *et al.*, 1999) โดยมีค่าความเป็นกรดต่าง อยู่ในช่วง 2.3-2.7 ค่า ORP มากกว่า 1,000 มิลลิโวลต์ (mV) และมีคลอรีนอิสระซึ่งความเข้มข้นขึ้นอยู่กับเครื่องผลิตน้ำ ส่วนน้ำอิเล็กโทรไลต์ชนิดด่าง จะมีค่าความเป็นกรดต่าง อยู่ในช่วง 10.0-11.5 และค่า ORP ประมาณ -800 ถึง -900 มิลลิโวลต์ ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารชะล้างสิ่งสกปรกและไขมันบนอุปกรณ์และ

เครื่องใช้ได้ (Hsu, 2005) แต่ไม่มีสมบัติในการทำลายจุลินทรีย์ Koseki *et al.* (2004) รายงานว่า น้ำอิเล็กโทรไลซ์ชนิดต่างมีผลในการต่อต้านการเกิดออกซิเดชันของไขมันชนิดไม่อิ่มตัว และ น้ำมันได้ และเนื่องจากสมบัติเป็นด่างจึงนิยมใช้ในขั้นตอนล้าง (washing) เพื่อกำจัดโปรตีนและ ไขมันบนผิวภาชนะหรืออาหาร



ภาพที่ 2 การผลิตน้ำอิเล็กโทรไลซ์

ที่มา: Umimoto *et al.* (2009)

น้ำอิเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกรด หรือที่เรียกว่า Acidic electrolyzed water

หรือ AEW

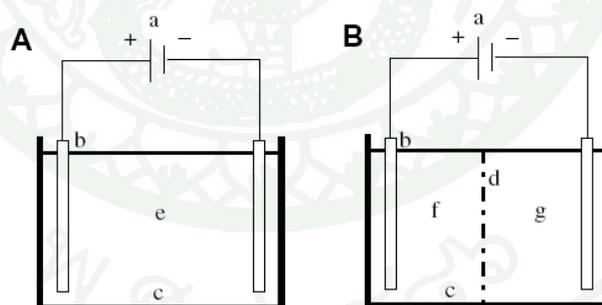
การผลิต AEW เกิดขึ้นภายในเซลล์อิเล็กโทรไลติก ซึ่งประกอบด้วยขั้วไฟฟ้า 2 ขั้ว อยู่แยกกัน โดยมีเมมเบรนกั้นกลาง ส่วนของ AEW ที่นำมาใช้ประโยชน์ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ จะผลิตได้จากด้านขั้วบวก (Umimoto *et al.*, 2009)

คุณสมบัติของ AEW มีคุณสมบัติคือมีค่าความเป็นกรดต่างต่ำ ค่า ORP สูง (มากกว่า 1000 มิลลิโวลต์) และมีคลอรีนอิสระปริมาณสูง ระหว่างการใช้ AEW ในการเป็นสารฆ่าเชื้อ จะเกิดการลดลงของปริมาณคลอรีนอิสระภายหลังจากที่เตรียมขึ้น โดยค่าความเป็นกรดต่าง ยังคงเดิมเมื่อระยะเวลาผ่านไป (Umimoto *et al.*, 2005; Tatsumi *et al.*, 2006) ความคงตัวของ AEW ระหว่างการเก็บรักษา ขึ้นอยู่กับปัจจัยด้านการมีแสง การกวน และการบรรจุแบบภาชนะเปิดหรือ

ปิด โดยปัจจัยเหล่านี้จะมีผลต่อการสูญเสียคลอรีนอิสระ คือเมื่อสภาวะการเก็บเป็นแบบเปิด ปริมาณคลอรีนจะสูญเสียไปโดยการระเหยของก๊าซคลอรีนซึ่งเป็นไปตามหลักจลนศาสตร์ อัตราการสูญเสียคลอรีนจะเพิ่มขึ้นเป็น 5 เท่า เมื่อมีการกวนระบบ หรือมีแสง ส่วนภายใต้สภาวะการเก็บแบบปิด การสูญเสียปริมาณคลอรีนจะไม่เป็นไปตามหลักจลนศาสตร์ แต่การระเหยของถูกจำกัด ดังนั้นกลไกการสลายของคลอรีนอิสระในน้ำจึงเป็นเพียงการเปลี่ยนรูปไปเป็นคลอรีนอิสระชนิดอื่นแทน นอกจากนี้ผลของแสงทำให้เกิดการสลายของคลอรีนมากกว่าการกวนระบบในสภาวะแบบปิด แต่ยังคงไม่มีรายงานเกี่ยวกับกลไกการสลายของคลอรีนอิสระในน้ำที่เกิดจากแสง (Len *et al.*, 2002) นอกจากนี้ผลของอุณหภูมิการเก็บรักษา AEW ได้รายงานไว้ว่า AEW ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จะมีความคงตัวมากกว่าเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (Fabrizio and Cutter, 2003)

น้ำอิเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลาง หรือที่เรียกว่า Neutral electrolyzed water หรือ NEW

การผลิต NEW สามารถผลิตได้จากเครื่องผลิตน้ำอิเล็กโทรไลซ์ซึ่งมีอยู่ 2 แบบ (ภาพที่ 3) คือ



ภาพที่ 3 แผนภาพตัวอย่างเครื่องผลิตน้ำอิเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลาง (A) และเครื่องผลิตน้ำอิเล็กโทรไลซ์ชนิดกรด (B)

หมายเหตุ (a) เครื่องกำเนิดไฟฟ้า; (b) ขั้วไฟฟ้า; (c) เซลล์อิเล็กโทรไลติก; (d) เมมเบรน; (e) NEW; (f) AEW; (g) น้ำอิเล็กโทรไลซ์ชนิดต่าง

ที่มา: Cui *et al.* (2009)

แบบมีเมมเบรน การผลิตในระหว่างการเกิดอิเล็กโทรไลซิส สารละลายที่ด้านขั้วบวกสามารถไหลเวียนไปยังด้านขั้วลบได้ (Permezny *et al.*, 2005; Guentzel *et al.*, 2008)

แบบไม่มีเมมเบรน การผลิตต้องอาศัยปัจจัยหลายอย่างได้แก่ อัตราการไหลเวียนของน้ำเกลือภายในเซลล์อิเล็กโทรไลติก กระแสไฟฟ้าและแรงดันไฟฟ้าที่จ่ายให้ขั้วไฟฟ้าและความเจือจางของสารละลายเกลือ เพื่อให้ได้คลอรีนอิสระในปริมาณที่ต้องการ (Gomez-Ropez *et al.*, 2007)

คุณสมบัติของ NEW ที่ได้จากเครื่องผลิต จะมีค่า ORP สูงประมาณ 600 ถึง 800 มิลลิโวลต์ มีสภาพเป็นกลางมากกว่า AEW โดยมีค่าความเป็นกรดต่าง ประมาณ 5.0-6.5 และมีสารประกอบคลอรีนอยู่ในรูปของ HOCl เกือบทั้งหมด (Anonymous, 1997) นอกจากนี้ NEW จะให้ผลในการทำลายจุลินทรีย์ได้ดีแล้ว ความสามารถในการออกฤทธิ์ยังไม่เปลี่ยนแปลงไปตามระยะเวลาด้วย (Umimoto *et al.*, 2008) โดย Umimoto *et al.* (2009) พบว่าภายหลังจากการเก็บรักษา AEW และ NEW ในระยะเวลา 28 วัน ปริมาณคลอรีนอิสระใน AEW จะลดลงอย่างชัดเจนจากเริ่มต้นประมาณ 23 พีพีเอ็ม ลดลงจนเหลือ 0 พีพีเอ็ม ส่วน NEW เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 28 วัน ปริมาณคลอรีนอิสระจะลดลงจาก 21 พีพีเอ็ม เป็น 9.4 พีพีเอ็ม แต่ค่าความเป็นกรดต่าง ยังคงที่ระหว่างการเก็บรักษาเป็นระยะเวลานาน เช่นเดียวกับ Cui *et al.* (2009) ที่ได้ทำการศึกษาคุณสมบัติของ NEW โดยศึกษาเปรียบเทียบกับ AEW ซึ่งเก็บรักษาภายในภาชนะขวดแก้วที่มีเปิดและปิดฝา ภายใต้สภาวะที่มีแสงและปราศจากแสง โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 วัน พบว่าค่าความเป็นกรดต่าง ของน้ำอิเล็กโทรไลซ์ทั้งสองชนิด ไม่มีการเปลี่ยนแปลงระหว่างเก็บรักษาในทุกสภาวะที่ทดลอง นอกจากนี้ยังพบว่าค่า ORP และปริมาณคลอรีนอิสระใน NEW เป็นคุณสมบัติที่มีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก เมื่อเทียบกับ AEW

กลไกการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ของน้ำอิเล็กโทรไลซ์

น้ำอิเล็กโทรไลซ์จะมีผลต่อส่วนต่าง ๆ ของเซลล์จุลินทรีย์ ดังนี้

ส่วนห่อหุ้มเซลล์จุลินทรีย์ ได้แก่ ผนังเซลล์ (cell wall) เยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) และเยื่อหุ้มสปอร์ (spore coat) (Wei *et al.*, 1985) โดยกรดไฮโปคลอรัสจะเกิดปฏิกิริยากับโปรตีนที่อยู่ในส่วนของเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เกิดสารประกอบเอนคลอโร (N-chloro) ซึ่งจะไป

รบกวนกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ ทำให้คุณสมบัติการควบคุมการผ่านเข้าออกของสาร เสียไป ส่งผลให้ HOCl ผ่านเข้าไปภายในเซลล์ และทำปฏิกิริยากับส่วนต่าง ๆ ของเซลล์ ทำให้ เซลล์ไม่สามารถส่งผ่านสารอาหาร เป็นเหตุให้เซลล์ขาดสารอาหาร หยุดการเจริญ และตายในที่สุด

ส่วนที่เป็นของเหลวภายในเซลล์ หรือโปรโตพลาสซึม โดยไปทำให้ของเหลว ภายในเซลล์ และส่วนที่เป็นโปรตีนตกตะกอน และ HOCl จะเข้าไปทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน กับส่วนของโปรโตพลาสซึม และเกิดปฏิกิริยากับหมู่ซัลไฟไฮดริลของโปรตีน ทำให้ได้สารประกอบ เอนคลอโรซิงเป็นพิษ และทำให้โปรโตพลาสซึมไม่สามารถทำงานได้

ส่วนที่เป็นเอนไซม์ โดยกรดไฮโปคลอรัสจะเข้าไปรบกวนการทำงานของ เอนไซม์ และสามารถทำลายเอนไซม์ โดยเข้าไปเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง หรือทำให้เกิดการรวมตัว กัน เกิดปฏิกิริยาเคมีที่ผันกลับไม่ได้ การรบกวนระบบเอนไซม์ของกรดไฮโปคลอรัส มีผลต่อ ปฏิกิริยาออกซิเดชันของกลูโคส (glucose oxidation) ซึ่งทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถนำกลูโคสไป ใช้ได้ ทำให้เซลล์จุลินทรีย์ขาดอาหาร และตายในที่สุด (จิตศิริ, 2543)

ปัจจัยที่มีผลในการกำหนดประสิทธิภาพของน้ำอเล็กโทรไลซ์

ความเข้มข้นของคลอรีน

ประสิทธิภาพของน้ำอเล็กโทรไลซ์ ที่มีคลอรีนที่อยู่ในรูปไม่แตกตัว จะมีผล ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่าเมื่ออยู่ในรูปไอออน (Oomori *et al.*, 2000)

ค่าออกซิเดชัน-รีดักชัน โปเทนเชียล

การยับยั้งจุลินทรีย์นั้นขึ้นอยู่กับค่าออกซิเดชัน-รีดักชัน โปเทนเชียล ของน้ำอเล็กโทรไลซ์ โดยมีผลต่อการทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ (Liao *et al.*, 2007) ปฏิกิริยาออกซิเดชันใน กระบวนการทางเคมีจะเกิดขึ้นเมื่อออกซิเจนไปจับกับสารประกอบอื่น และเป็นสาเหตุให้สารนั้น สูญเสียอิเล็กตรอน เกิดการสลายตัว และมีโครงสร้างเปลี่ยนแปลงไป ในกรณีการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับจุลินทรีย์ จะทำให้เกิดความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์ เซลล์แตก และตายในที่สุด (Quan *et al.*, 2010)

### ค่าความเป็นกรดต่าง

ค่าความเป็นกรดต่าง ที่ต่ำ มีผลต่อเชื้อหุ้มชั้นนอกของเซลล์จุลินทรีย์ โดยยอมให้กรดไฮโปคลอรัสผ่านเข้าไปภายในเซลล์ได้ง่าย (Mcpherson, 1993) ซึ่งเป็นสารประกอบคลอรีนที่ไวต่อปฏิกิริยามากที่สุด สามารถทำลายเชื้อได้ เนื่องจาก ไปยับยั้งกระบวนการสร้างพลังงานโดยการเข้าทำปฏิกิริยากับหมู่ซัลไฟไฮไดรลของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างพลังงานนั้น (Quan *et al.*, 2010)

Venkitanarayanan *et al.* (1999a) รายงานว่ามีปัจจัยที่มีผลในการทำลายจุลินทรีย์หลายปัจจัยทั้งปริมาณ HOCl ค่าความเป็นกรดต่างที่ต่ำ นอกจากนี้ยังมีค่า ORP ที่สูงกว่า 1,100 มิลลิโวลต์ ปัจจัยทั้งสามจะมีผลช่วยสนับสนุนให้เซลล์จุลินทรีย์ถูกทำลายได้ โดยแสดงให้เห็นว่าค่า ORP ของ AEW ที่มีต่อการทำลายจุลินทรีย์ลดลง ด้วยการเติมสารละลายเหล็กเจือจาง 100 พีพีเอ็ม เพื่อลดค่า ORP จาก 1,123 เป็น 322 มิลลิโวลต์ เมื่อนำไปทดสอบกับ *E. coli* O157:H7 พบว่า AEW ที่มีสารเติมสารละลายเหล็กเจือจางลงไปไม่มีผลในการยับยั้งจุลินทรีย์

### การนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

น้ำอเล็กโทรไลซ์มีประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์ก่อโรคหลายชนิด ได้แก่ *Salmonella*, *Vibrio* spp., *E. coli* และ *Listeria monocytogenes* ที่ปนเปื้อนในอาหารชนิดต่าง ๆ ได้แก่ ผัก ผลไม้ อาหารทะเล เป็นต้น (ตารางที่ 1)

ในผลิตภัณฑ์ประมงพบว่าการนำ AEW มาประยุกต์ใช้ในการลดเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในหอยนางรมสด โดยมีรายงานว่า สามารถลดเชื้อ *V. parahaemolyticus* และ *V. vulnificus* ในหอยนางรม จากการแช่ลงใน AEW ที่มีปริมาณของคลอรีนอิสระ 30 พีพีเอ็ม ค่าความเป็นกรดต่าง 2.82 ค่า ORP 1,131 มิลลิโวลต์ และความเข้มข้นของเกลือ (NaCl) ร้อยละ 1 เป็นเวลา 4-6 ชั่วโมง สามารถลดเชื้อ *V. parahaemolyticus* ได้ 1.13 MPN/g และ *V. vulnificus* ได้ 1.05 MPN/g (Ren and Su, 2006)

จากรายงานของ Huang *et al.* (2006) พบว่า หลังจากใช้ AEW โดยการแช่ตัวอย่างปลานิลที่ถูกบ่มเชื้อด้วย *E. coli* และ *V. parahaemolyticus* ในน้ำอเล็กโทรไลซ์ ในช่วงนาที่

แรก AEW จะยังไม่มีประสิทธิภาพในการลดเชื้อจุลินทรีย์ลง แต่เมื่อใช้เวลาแช่ 10 นาที สามารถลดจำนวน *E. coli* ได้  $0.7 \log \text{CFU/cm}^2$  และสามารถลดจำนวน *V. parahaemolyticus* ได้  $1.5 \log \text{CFU/cm}^2$  เมื่อใช้เวลาแช่ 5 นาที และลดได้  $2.6 \log \text{CFU/cm}^2$  เมื่อเพิ่มเวลาเป็น 10 นาที นอกจากนี้ยังตรวจไม่พบจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคทั้งสองชนิดเหลือรอดอยู่ใน AEW ที่ผ่านการใช้งานแล้ว

Loi-Braden *et al.* (2005) ศึกษาผลของ AEW ในการยืดอายุการเก็บรักษากุ้งแช่เยือกแข็ง พบว่าสามารถยืดอายุการเก็บรักษาไว้ได้นานขึ้น ช่วยลดการสะสมสารสีดำในตัวกุ้ง และคุณภาพทางประสาทสัมผัสไม่มีความเปลี่ยนแปลง

การใช้ประโยชน์ในรูปของน้ำแข็งจากน้ำอิเล็กโทรไลต์ ยังมีการนำไปใช้ประโยชน์กันไม่มากนัก อย่างไรก็ตาม มีรายงานว่า การใช้น้ำแข็งซึ่งผลิตจาก AEW ที่มีความเข้มข้นของคลอรีนในน้ำแข็งเท่ากับ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และเวลาในการสัมผัสเป็น 24 ชั่วโมง สามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มที่สร้างสารฮีสตามีน บนผิวปลาทูน่าครีบล้างได้ โดยลดเชื้อ *Enterobacter aerogenes* และ *Morganella morganii* ได้ 2.4 และ 3.5  $\log \text{CFU/cm}^2$  ตามลำดับ (Phuvasate and Su, 2009)

ตารางที่ 1 ประสิทธิภาพของน้ำอเล็กโทรไลซ์ชนิดกรดและกลางในการลดจุลินทรีย์ในอาหาร (ดัดแปลงจาก กนกทิพย์, 2550)

ชนิดของน้ำอเล็ก โทรไลซ์และปริมาณ คลอรีนอิสระ (พีพีเอ็ม)	ชนิดจุลินทรีย์	จำนวนจุลินทรีย์ (log CFU)		อุณหภูมิ (องศา เซลเซียส)	เวลา (นาที)	อาหาร	อ้างอิง
		เริ่มต้น	ลดลง				
AEW/120	<i>E. coli</i>	7.0/cm <sup>2</sup>	1.7/cm <sup>2</sup>	23±2	10	ปลานิล	Huang <i>et al.</i> (2006)
AEW/120	<i>V. parahaemolyticus</i>	5.7/cm <sup>2</sup>	3.8/cm <sup>2</sup>	23±2	10	ปลานิล	Huang <i>et al.</i> (2006)
AEW/76-90	<i>E. coli</i> O157:H7	7.0/g	1.1/g	35	64	ปลาแซลมอน	Ozer and Demirci (2006)
AEW/76-90	<i>L. monocytogenes</i>	7.0/g	1.1/g	35	64	ปลาแซลมอน	Ozer and Demirci (2006)
AEW/30	<i>V. parahaemolyticus</i>	6.2 MPN/g	0.9 MPN/g	-	180	หอยนางรม	Ren and Su (2006)
AEW/30	<i>V. vulnificus</i>	6.2 MPN/g	0.7 MPN/g	-	180	หอยนางรม	Ren and Su (2006)
AEW/50	<i>L. monocytogenes</i>	5.0/g	1.5/g	25	15	ไส้กรอก	Fabrizio and Cutter (2005)
AEW/40	<i>Salmonella</i>	7.1/g	1.3/g	20	5	กะหล่ำปลี	Koseki <i>et al.</i> (2004)
AEW/40	<i>E. coli</i> O157: H7	7.1/g	1.4/g	20	5	กะหล่ำปลี	Koseki <i>et al.</i> (2004)
AEW/20-40	Total bacteria	3-6/g	1-3/g	-	0.5	ผักสลัด	Nobuo <i>et al.</i> (2004)
NEW/89	<i>L. monocytogenes</i>	5/cm <sup>2</sup>	5/cm <sup>2</sup>	23	0.5-1.0	มะเขือเทศ	Deza <i>et al.</i> (2003)
NEW/89	<i>Salmonella</i>	5/cm <sup>2</sup>	5/cm <sup>2</sup>	23	0.5-1.0	มะเขือเทศ	Deza <i>et al.</i> (2003)
NEW/89	<i>Salmonella</i>	5/cm <sup>2</sup>	5/cm <sup>2</sup>	23	0.5-1.0	มะเขือเทศ	Deza <i>et al.</i> (2003)

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ชนิดของน้ำอึเล็ก โทรไลซ์และปริมาณ คลอรีนอิสระ (พีพีเอ็ม)	ชนิดจุลินทรีย์	จำนวนจุลินทรีย์ (log CFU)		อุณหภูมิ (องศา เซลเซียส)	เวลา (นาที)	อาหาร	อ้างอิง
		เริ่มต้น	ลดลง				
NEW/89	<i>E. coli</i>	5/cm <sup>2</sup>	5/cm <sup>2</sup>	23	0.5-1.0	มะเขือเทศ	Deza <i>et al.</i> (2003)
NEW/100-120	<i>E. coli</i>	4.25/ml	0.25/ml	25	10	น้ำล้างผักกาด	Guentzel <i>et al.</i> (2008)
NEW/100-120	<i>L. monocytogenes</i>	4.52/ml	2.43-3.65/ml	25	10	น้ำล้างผักกาด	Guentzel <i>et al.</i> (2008)
NEW/100-120	<i>E. coli</i>	4.07/ml	4.07/ml	25	10	น้ำล้างผักขม	Guentzel <i>et al.</i> (2008)
NEW/100-120	<i>L. monocytogenes</i>	4.97/ml	4.97/ml	25	10	น้ำล้างผักขม	Guentzel <i>et al.</i> (2008)

หมายเหตุ AEW = น้ำอึเล็กโทรไลซ์ชนิดกรด

NEW = น้ำอึเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลาง

## อุปกรณ์และวิธีการ

### อุปกรณ์

#### 1. จุลินทรีย์ทดสอบ

- 1.1 เชื้อบริสุทธี *Vibrio parahaemolyticus* สายพันธุ์ ATCC 17802 (DMST 21243)
- 1.2 เชื้อบริสุทธี *Vibrio vulnificus* สายพันธุ์ ATCC 27562 (DMST 21245)
- 1.3 เชื้อบริสุทธี *Salmonella* Enteritidis สายพันธุ์ DMST 15676
- 1.4 เชื้อบริสุทธี *Escherichia coli* สายพันธุ์ ATCC 25922  
(จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข)

#### 2. วัสดุดิบ

กุ้งขาวแวนนาไม

#### 3. อาหารเลี้ยงเชื้อ

- 3.1 Alkaline peptone water (APW, Difco)
- 3.2 L-eosin methylene blue agar (L-EMB, Difco)
- 3.3 Thiosulfate citrate bile salt sucrose agar (TCBS, Difco)
- 3.4 Tryptic soy agar (TSA, Difco)
- 3.5 Tryptic soy broth (TSB, Difco)
- 3.6 Xylose lysine deoxycholate agar (XLD, Difco)

#### 4. สารเคมี

- 4.1 neutral electrolyzed water

- 4.2 sodium hypochlorite 4% solution (Fisher Scientific)
- 4.3 sodium thiosulphate (BDH)
- 4.4 sulfuric acid 100% (J.T. Baker)
- 4.5 acetic acid 100% (BDH)
- 4.6 potassium iodide (Carlo Erba)
- 4.7 potassium dichromate (Ajax Finechem)
- 4.8 starch, soluble (Ajax Finechem)
- 4.9 sodium chlorine (Ajax Finechem)
- 4.10 distilled water

## 5. เครื่องมือและอุปกรณ์

- 5.1 เครื่องผลิตน้ำไอเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลาง (Tipstel รุ่น 80, Russia)
- 5.2 ตู้บ่มเชื้อ (Memmert รุ่น 600, Germany)
- 5.3 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อระบบความดัน (Hirayama รุ่น 240/300 MIV, Japan)
- 5.4 เครื่องเขย่าผสมสาร (GFL รุ่น 3500, Germany)
- 5.5 เครื่องตีผสมตัวอย่าง (Seward รุ่น BA 7021, England)
- 5.6 เครื่องผสมสารละลายในหลอดทดลอง (Vortex Genie 2 รุ่น G 560 E, USA)
- 5.7 เครื่องชั่งน้ำหนักไฟฟ้า ทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Sartorius รุ่น BP 3100 S, Germany)
- 5.8 เครื่องชั่งน้ำหนักไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง (AND รุ่น GR-200, Japan)
- 5.9 เครื่องวัดค่าความเป็นกรดด่าง (Metrohm รุ่น 744, Switzerland)
- 5.10 ตู้ปลอดเชื้อ (LABCONCO รุ่น 3440831, USA)
- 5.11 เครื่องอบลมร้อน (Sibata รุ่น SAO-600, Japan)
- 5.12 เครื่องนับจำนวนโคโลนี (Suntex รุ่น 560, Taiwan)
- 5.13 ตู้แช่เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
- 5.14 ตู้แช่เยือกแข็ง อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

## 6. อุปกรณ์เครื่องแก้วต่าง ๆ

- 6.1 งานเพาะเชื้อ
- 6.2 หลอดทดลอง
- 6.3 ขวดรูปชมพู่

## 7. อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

- 7.1 เครื่องคอมพิวเตอร์
- 7.2 โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ

### วิธีการ

#### 1. การผลิตน้ำอิเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลาง (NEW) และการตรวจวัดปริมาณคลอรีนอิสระ ค่าความเป็นกรดต่าง และค่า ORP

1.1 เตรียม NEW จากเครื่องผลิตน้ำอิเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลาง (Tipstel รุ่น 80, Russia) (ภาพที่ 4) ซึ่งภายในเครื่องผลิตมีเมมเบรนกั้นอยู่ระหว่างขั้วไฟฟ้าบวก (Anode) และขั้วไฟฟ้าลบ (Cathode) โดยในการศึกษานี้สามารถผลิต NEW ได้จากสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 12 ที่อุณหภูมิห้อง มีอัตราการไหลของน้ำเท่ากับ 80 ลิตรต่อชั่วโมง และควบคุมกระแสไฟฟ้าที่ใช้เท่ากับ 10 แอมแปร์ จะผลิตสารละลายได้สองชนิด ได้แก่ สารละลายจากด้านขั้วลบ (Catholyte) ที่มีคุณสมบัติต่าง โดยจะมีการผลิตออกมาในปริมาณน้อย และสารละลายจากด้านขั้วบวก (Anolyte) เป็น NEW ที่มีค่าความเป็นกรดต่าง 6.5-8.5 มีค่า ORP มากกว่า 800 มิลลิโวลต์ และมีปริมาณคลอรีนอิสระ (available chlorine concentration, ACC) ประมาณ 500 พีพีเอ็ม ส่วน NEW ที่ใช้ในแต่ละการทดสอบ จะเตรียมโดยการเจือจาง NEW ที่ได้ด้วยน้ำกลั่นเพื่อให้ได้ปริมาณคลอรีนอิสระระดับต่าง ๆ ตามต้องการ



ภาพที่ 4 เครื่องผลิตน้ำอิเล็กโทรไลต์ชนิดเป็นกลาง ยี่ห้อ Tipstel รุ่น 80

1.2 การวิเคราะห์ปริมาณคลอรีนอิสระ โดยการไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต ด้วยวิธี Iodometric method (ภาคผนวก ข) ในกรณีน้ำแข็ง ทิ้งให้ละลายที่อุณหภูมิห้อง แล้วจึงนำมาวิเคราะห์ ภายในเวลา 30 นาที ส่วนค่าความเป็นกรดต่าง และค่าออกซิเดชัน-รีดักชัน โพเทนเชียล ด้วยเครื่องวัดค่าความเป็นกรดต่าง (Metrohm รุ่น 744, Switzerland) โดยใช้หัววัด combined pH electrode และหัววัด combined platinum ring electrode ตามลำดับ

## 2. การศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพและความคงตัวของสมบัติ ในน้ำและน้ำแข็งที่ผลิตจาก NEW ตามระยะเวลาเก็บรักษา

2.1 เตรียม NEW ที่มีปริมาณคลอรีนอิสระ 100 และ 200 พีพีเอ็ม โดยเจือจางน้ำอิเล็กโทรไลต์ที่ได้จากเครื่องผลิตซึ่งบรรจุไว้ในภาชนะทึบแสงปิดสนิท ด้วยน้ำกลั่น จากนั้นบรรจุ น้ำลงในถุงพลาสติกโพลีเอทิลีน ปริมาตรสูงละ 200 มิลลิลิตร ปิดผนึกให้สนิท (ดัดแปลงจาก Cui *et al.*, 2009) จากนั้นเก็บรักษาทันทีที่เตรียมภายใต้สภาวะมืดและมีแสง ที่อุณหภูมิห้อง

2.2 เตรียมน้ำแข็งที่มีปริมาณคลอรีนอิสระ 100 และ 200 พีพีเอ็ม เนื่องจากในกระบวนการเปลี่ยนสถานะจากน้ำเป็นน้ำแข็ง จะมีผลทำให้ค่าปริมาณคลอรีนอิสระลดลง ในการทดลองนี้จึงได้

ทำการศึกษาเบื้องต้น โดยแปรความเข้มข้นของ NEW ที่ระดับต่าง ๆ ตั้งแต่ 120 ถึง 300 พีพีเอ็ม แล้วนำไปทำเป็นน้ำแข็ง จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณคลอรีนอิสระในน้ำแข็ง เพื่อกำหนดความเข้มข้นของ NEW เพื่อให้ได้น้ำแข็งที่มีปริมาณคลอรีนอิสระ 100 และ 200 พีพีเอ็ม ผลจากการทดลองเบื้องต้น ทำให้ทราบว่า ต้องใช้ NEW ที่ความเข้มข้น 125 และ 250 พีพีเอ็ม ตามลำดับ (ดัดแปลงจาก Cui *et al.*, 2009) ทำการแช่แข็งโดยวางเรียงถุงที่บรรจุ NEW ลงในบล็อกลูก แล้วนำไปแช่แข็งทันทีที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 คืนในที่มีด แล้วจึงเริ่มศึกษาการเก็บรักษาภายใต้สภาวะมืดและมีแสง

2.3 เตรียมการทดสอบควบคู่กับ NEW โดยใช้ NaOCl ซึ่งเป็นสารฆ่าเชื้อทางการค้า จากความเข้มข้นของคลอรีนอิสระ 40,000 พีพีเอ็ม (ร้อยละ 4) นำมาเจือจางด้วยวิธีการเดียวกับ ข้อ 2.1 และ 2.2 แต่สำหรับน้ำแข็งที่มีปริมาณคลอรีนอิสระ 100 และ 200 พีพีเอ็ม ต้องเตรียมจากสารละลาย NaOCl เริ่มต้นที่ 135 และ 270 พีพีเอ็ม ตามลำดับ จากการทดลองเบื้องต้น เช่นเดียวกับน้ำแข็งจาก NEW

2.4 สุ่มตรวจวัดปริมาณคลอรีนอิสระ ค่าความเป็นกรดด่าง และค่า ORP ของน้ำและน้ำแข็ง ในช่วงระยะเวลา 0, 1, 2, 7, 14, 21 และ 28 วัน (ดัดแปลงจาก Umimoto *et al.*, 2009) ในกรณีน้ำแข็ง หลังจากแช่แข็งเป็นเวลา 1 คืน จึงนำถุงที่บรรจุน้ำแข็งมาทุบด้วยค้อน ทิ้งให้ละลายที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) แล้วนำมาทดสอบภายในเวลา 30 นาที และทำการทดสอบซ้ำ 2 ครั้ง

### 3. การศึกษาประสิทธิภาพของ NEW ในการลดปริมาณเชื้อบริสุทธิ์

3.1 เตรียม cell culture ของเชื้อบริสุทธิ์ *Salmonella Enteritidis*, *E. coli* และ *V. parahaemolyticus* โดยถ่ายเชื้อจาก Tryptic Soy Agar (TSA) stock culture จำนวน 1 หลบ ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD L-EMB และ TCBS ตามลำดับ บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง คัดเลือกโคโลนีเดี่ยวมาเพาะเลี้ยงด้วย TSA เอียงในหลอดทดลอง บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อจำนวน 1 หลบ ใส่ลงใน TSB ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ที่ไม่เติมเกลือ สำหรับ *Salmonella Enteritidis* และ *E. coli* และ TSB ที่มีเกลือร้อยละ 1.5 สำหรับ *V. parahaemolyticus* ตามลำดับ บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ถ่ายเชื้อจำนวน 1 หลบ อีกครั้ง โดยบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง จากนั้นเปิดเชื้อมา 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB

เช่นเดิม ในปริมาตร 100 มิลลิลิตร ซึ่งบรรจุอยู่ในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง สำหรับ *Salmonella* Enteritidis และ *E. coli* และเป็นเวลา 3.5 ชั่วโมง สำหรับ *V. parahaemolyticus* จะได้เชื้อที่อยู่ในช่วง log phase และมีปริมาณเชื้อบริสุทธิ์ ประมาณ  $10^8$  ถึง  $10^9$  cfu/ml แล้วเจือจางเชื้อด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ดังกล่าว เพื่อให้ได้จำนวนเชื้อบริสุทธิ์เท่า ๆ กันประมาณ  $10^8$  cfu/ml พร้อมในการทดลองลำดับต่อไป ส่วนการเตรียม cell culture ของเชื้อบริสุทธิ์ *V. vulnificus* เตรียมขึ้นตามวิธีของ Thupila *et al.* (2011) โดยถ่ายเชื้อจาก TSA stock culture จำนวน 1 หลบ ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เลือกลโคโลนีเดี่ยวจำนวน 1 โคโลนี ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Alkaline peptone water (APW) ที่มีเกลือร้อยละ 3 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เพาะเชื้อที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ถ่ายเชื้ออีกครั้ง โดยดูดเชื้อ 1 มิลลิลิตร ลงในอาหาร APW ปริมาตร 99 มิลลิลิตร ที่มีเกลือร้อยละ 3 เพาะเชื้อ โดยการเขย่าที่ 100 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง (28-30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 9 ชั่วโมง จะได้เชื้อที่อยู่ในช่วง log phase และเตรียมเชื้อบริสุทธิ์ประมาณ  $10^8$  cfu/ml พร้อมในการทดลองลำดับต่อไป

3.2 ศึกษาประสิทธิภาพของ NEW ในการยับยั้งจุลินทรีย์บริสุทธิ์โดยดูดสารละลายเชื้อที่เตรียมได้จากข้อ 3.1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และ NEW ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ผสมกันในหลอดทดลอง ซึ่งจะได้จำนวนเชื้อตั้งต้นประมาณ  $10^7$  cfu/ml แล้วจับเวลาการสัมผัสสารฆ่าเชื้อตามเวลาที่กำหนด หลังจากนั้นถ่ายสารจากหลอดแรกมา 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองที่บรรจุสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตเข้มข้นร้อยละ 0.5 ที่ปลอดเชื้อ ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 5 นาที เพื่อหยุดปฏิกิริยาของสารฆ่าเชื้อ ตามวิธีของ Deza *et al.* (2005) ซึ่งในการตรวจสอบจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตก่อนการฆ่าเชื้อ (จำนวนเริ่มต้น) และหลังการฆ่าเชื้อ โดยกำหนดให้มีระยะเวลาการสัมผัส 1, 3 และ 5 นาที และที่ระดับปริมาณของคลอรีนอิสระ 10, 30, 50, 70 และ 100 พีพีเอ็ม ซึ่ง NEW บรรจุอยู่ในภาชนะปิดสนิทที่บ่มที่ปลอดเชื้อ และนำมาใช้ภายใน 1 วัน จากนั้นวิเคราะห์จุลินทรีย์ที่รอดชีวิต ด้วยวิธี pour plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA สำหรับ *Salmonella* Enteritidis และ *E. coli* และใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ที่มีเกลือร้อยละ 1.5 สำหรับ *V. parahaemolyticus* และ *V. vulnificus* บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง แล้วตรวจนับจำนวนโคโลนีบนจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีระหว่าง 25-250 โคโลนี และทำการทดลองซ้ำทั้งหมด 3 ครั้ง

4. การทดสอบประสิทธิภาพในการลดปริมาณจุลินทรีย์ในกึ่งสดด้วยน้ำอิเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลางและระหว่างการให้ความเย็นกึ่งด้วยน้ำแข็งที่ผลิตจากน้ำอิเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลาง

#### 4.1 การเตรียมเซลล์แบคทีเรีย

คัดเลือกเชื้อทดสอบจากการพิจารณาผลการทดลองในข้อ 3 และเตรียมเชื้อบริสุทธิ์ตามวิธีการในข้อ 3.1 แล้วนำมาเจือจางด้วยสารละลายเกลือ โซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0.85 จนได้ระดับปริมาณที่เหมาะสมเพื่อให้หลังการสร้างสภาพการปนเปื้อน (artificially inoculation) ลงในกึ่ง มีปริมาณเชื้อตั้งต้นในตัวอย่างกึ่งประมาณ  $10^4$  ถึง  $10^5$  cfu/g

#### 4.2 การสร้างสภาพการปนเปื้อน

เตรียมกึ่งทั้งตัวไม้แกะเปลือก ขนาด 66 ถึง 70 ตัวต่อกิโลกรัม แช่ลงในสารละลายเชื้อบริสุทธิ์ที่เตรียมขึ้นในข้อ 4.1 ที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) โดยใช้อัตราส่วนของกึ่งและสารละลายเชื้อเท่ากับ 1 กรัมต่อ 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้แท่งแก้วปลอดเชื้อ กวนด้วยความเร็วประมาณ 45 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที นำกึ่งขึ้นมาจากสารละลายแล้วทำให้สะเด็ดน้ำ โดยวางบนตะแกรงภายในตู้ปลอดเชื้อ เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นสุ่มตัวอย่างมา 25 กรัม ใส่ลงในสารละลายเกลือ โซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0.85 ปริมาตร 225 มิลลิลิตร แล้วหาปริมาณตั้งต้นของเชื้อในตัวอย่าง ด้วยวิธี spread plate และเจือจางเชื้อจนได้ระดับปริมาณที่เหมาะสม ด้วยสารละลายเกลือ โซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0.85 เพาะเชื้อด้วยอาหารชนิดคัดเลือกเชื้อได้แก่ XLD, L-EMB หรือ TCBS แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวนโคโลนีบนจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนระหว่าง 25-250 โคโลนี และทำการทดสอบซ้ำ

#### 4.3 การลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์และการวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ที่เหลือรอด

##### 4.3.1 การลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในกึ่งด้วย NEW

เตรียม NEW ที่ระดับปริมาณของคลอรีนอิสระ 2 ระดับ คือ 10 และ 50 พีพีเอ็ม และน้ำประปา (ตัวอย่างควบคุม) ด้วยวิธีการเดียวกับ ข้อ 3.2 และตรวจสอบปริมาณคลอรีนอิสระ วัดค่าความเป็นกรดต่าง และค่าออกซิเดชัน-รีดักชัน โปเทนเชียล ของตัวอย่างน้ำแต่ละชนิด

นำกึ่งที่สร้างสภาพการปนเปื้อนด้วยจุลินทรีย์ทดสอบ สุ่มมาตรวจสอบจำนวนเซลล์จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในกึ่งก่อนการฆ่าเชื้อ (จำนวนเริ่มต้น) ส่วนที่เหลือนำไปทดสอบการฆ่า

เชื้อ โดยชั่งกึ่งประมาณ 70 กรัม บรรจุลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร แล้วเติมตัวอย่าง น้ำประปา หรือ NEW ที่เตรียมไว้ในอัตราส่วนของกึ่งต่อสารละลายเท่ากับ 1 : 2 ให้กึ่งสัมผัสกับ สารละลายเป็นเวลา 15, 30 และ 45 นาที ที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) จากนั้นแยกกึ่งออกจากสารละลาย แล้วนำมาตรวจสอบจำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตในตัวอย่างกึ่ง ด้วยวิธีการเดียวกับ ข้อ 4.2 และในน้ำหลังจากสิ้นสุดระยะเวลา 45 นาที ด้วยวิธี spread plate และเจือจางเชื้อจนได้ ระดับปริมาณที่เหมาะสม ด้วยสารละลายเกลือ โซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0.85 เพาะเชื้อด้วยวิธีการ เดียวกับการทดสอบในตัวอย่างกึ่ง

#### 4.3.2 การลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ระหว่างการให้ความเย็นกึ่งด้วยน้ำแข็งที่ผลิต ขึ้นจาก NEW

เตรียมน้ำแข็งที่มีปริมาณของคลอรีนอิสระ 2 ระดับ คือ 10 และ 50 พีพีเอ็ม ซึ่ง ได้จากการพิจารณาผลการทดลองในข้อ 3 โดยผลิตจาก NEW ที่มีปริมาณคลอรีนต่างกัน 2 ระดับ เช่นกัน และใช้น้ำแข็งที่ผลิตจากน้ำประปาเป็นตัวอย่างควบคุม จากนั้นนำน้ำแข็งที่ผลิตได้มาทาบ ด้วยก้อนโดยวิธีปลอดเชื้อ แล้วเก็บไว้ในภาชนะปิดสนิทที่บดแสงที่ปลอดเชื้อ และนำมาใช้ภายใน 2-3 ชั่วโมง และตรวจวัดปริมาณคลอรีนอิสระในน้ำแข็ง วัดค่าความเป็นกรดต่าง และค่าออกซิเดชัน-รีดักชัน โปเทนเชียล ของน้ำแข็งแต่ละชนิด

นำกึ่งที่สร้างสภาพการปนเปื้อนด้วยจุลินทรีย์ทดสอบ สุ่มมาตรวจสอบจำนวน เซลล์จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในกึ่งก่อนการฆ่าเชื้อ (จำนวนเริ่มต้น) ส่วนที่เหลือนำไปทดสอบการฆ่า เชื้อ โดยวางกึ่งที่สร้างสภาพการปนเปื้อน ลงในถังโฟมที่บรรจุน้ำแข็ง แยกตามเชื้อทดสอบและ ชนิดของน้ำแข็ง โดยวางน้ำแข็งสลับกับกึ่งเป็นชั้น ๆ ให้มีความหนาของชั้นน้ำแข็งเท่ากับชั้นของ กึ่ง ซึ่งชั้นล่างสุดเป็นน้ำแข็ง จากนั้นเรียงกึ่งลงบนน้ำแข็ง แล้วปิดทับด้วยน้ำแข็งอีกชั้น อัตราส่วน ของกึ่งต่อน้ำแข็งจะเท่ากับ 1 : 2 และควบคุมอุณหภูมิของสภาวะแวดล้อมในขณะที่แช่น้ำแข็งต้องไม่ เกิน 5 องศาเซลเซียส ให้กึ่งสัมผัสกับน้ำแข็งเป็นเวลา 2, 4 และ 6 ชั่วโมง จากนั้นแยกกึ่งออก แล้ว นำมาตรวจสอบจำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตในตัวอย่างกึ่ง ด้วยวิธีการเดียวกับข้อ 4.2 และในน้ำแข็ง ที่หลอมละลาย หลังจากสิ้นสุดระยะเวลา 6 ชั่วโมง ด้วยวิธี spread plate และเจือจางเชื้อจนได้ระดับ ปริมาณที่เหมาะสม ด้วยสารละลายเกลือ โซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0.85 เพาะเชื้อด้วยวิธีการเดียวกับ การทดสอบในตัวอย่างกึ่ง

## 5. ศึกษาการยอมรับทางประสาทสัมผัสของกึ่งหลังลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ด้วย NEW

เพื่อความปลอดภัยของผู้ทดสอบ ตัวอย่างกึ่งที่ใช้ในการประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัสจะไม่สร้างสภาพการปนเปื้อนก่อนการแช่ตัวอย่าง ในการทดสอบใช้ผู้ทดสอบทั้งหมด 18 คน เตรียมตัวอย่างกึ่งโดยแช่กึ่งในน้ำตัวอย่างที่ระดับปริมาณคลอรีนอิสระและเวลาสัมผัสที่เหมาะสม ที่คัดเลือกจากการประเมินในข้อ 4 โดยใช้น้ำประปาเป็นตัวอย่างควบคุม ในการเสนอตัวอย่างต่อผู้ทดสอบชิม ตัวอย่างมีลักษณะปกเปลือกแล้ว ประเมินในลักษณะกึ่งดิบ และกึ่งสุก คุณลักษณะที่ประเมินทั้งกึ่งดิบและสุก ได้แก่ ลักษณะปรากฏ สี กลิ่น เนื้อสัมผัส การยอมรับรวม และรสชาติ (เฉพาะกึ่งสุก) การเตรียมตัวอย่างกึ่งสุกเตรียมได้โดยห่อกึ่งแกะเปลือกด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์แล้วนำไปนึ่งเป็นเวลา 3 นาที ประเมินระดับความชอบด้วย 9-Point Hedonic Scale คะแนนระดับ 1 ถึง 9 โดยที่ระดับคะแนนความชอบเท่ากับ 1 คือไม่ชอบมากที่สุด และ 9 คือชอบมากที่สุด

## 6. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การทดสอบประสิทธิภาพของ NEW ในการยับยั้งจุลินทรีย์บริสุทธิ์วางแผนการทดลองแบบ 6x3 Factorial in Complete Randomized Design การตรวจสอบปริมาณจุลินทรีย์ทดสอบที่รอดชีวิตในตัวอย่างกึ่งหลังแช่แข็งและน้ำอิเล็กทรอนิกส์ วางแผนการทดลองแบบ 3x4 Factorial in Complete Randomized Design และวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance, ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

การประเมินทางประสาทสัมผัส วางแผนการทดลองแบบ Randomize Complete Block Design (RCBD) และวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance, ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี T-test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

## 7. สถานที่และระยะเวลาทำการวิจัย

ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน เริ่มทำการวิจัยตั้งแต่เดือนมกราคม พ.ศ. 2553 และสิ้นสุดการวิจัยเดือนธันวาคม พ.ศ. 2554

## ผลและวิจารณ์

### 1. ผลการศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพและความคงตัวของสมบัติ ในน้ำและน้ำแข็งที่ผลิตจาก NEW ตามระยะเวลาเก็บรักษา

ในงานวิจัยนี้ ได้นำ NEW ที่ผลิตได้จากด้านขั้วบวกมาศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพที่เกี่ยวข้องกับประสิทธิภาพการทำลายฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ ปริมาณคลอรีนอิสระ ค่าความเป็นกรดค่า และค่า ORP ก่อนนำไปเก็บรักษาเพื่อศึกษาความคงตัวต่อไป โดยเปรียบเทียบกับโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) ซึ่งเป็นสารฆ่าเชื้อทางการค้า และในงานวิจัยนี้มีเป้าหมายจะศึกษาระดับคลอรีนอิสระในน้ำแข็งที่ 100 และ 200 พีพีเอ็ม ผลการศึกษาสมบัติของ NEW ระหว่างการเตรียมน้ำแข็งแสดงในตารางที่ 2

จากผลในตารางที่ 2 เมื่อเจือจาง NEW จาก 640.24 พีพีเอ็ม เป็น 251.70 และ 126.25 พีพีเอ็ม พบว่าค่าความเป็นกรดค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อยจาก 7.24 เป็น 7.26 และ 7.27 ตามลำดับ ส่วนค่า ORP มีค่าต่ำลงเล็กน้อยจาก 875.24 เป็น 865 และ 852.17 มิลลิโวลต์ ตามลำดับ ในงานวิจัยของ Park *et al.* (2004) ก็ได้เสนอว่าค่า ORP ในน้ำอิเล็กโทรไลซ์มีความสัมพันธ์กับคลอรีนอิสระ กล่าวคือผลจากการมีปริมาณคลอรีนอิสระที่เพิ่มขึ้น จะส่งผลให้มีค่าความแรงของปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันที่สูง และทำให้มีค่าการเกิดออกซิไดส์ซึ่งที่สูงขึ้น ซึ่งหมายถึงการมีคุณสมบัติสำคัญที่มีผลต่อการทำลายกิจกรรมต่าง ๆ ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ ส่วนการเปลี่ยนแปลงจากน้ำเป็นน้ำแข็ง พบว่าค่าความเป็นกรดค่าลดลงเล็กน้อยจาก 7.26 เป็น 7.21 ที่ระดับ 250 พีพีเอ็ม แต่เกือบไม่เปลี่ยนที่ระดับ 125 พีพีเอ็ม เช่นเดียวกับค่า ORP ที่มีค่าใกล้เคียงกัน

เมื่อเจือจางสารละลาย NaOCl จากที่มีความเข้มข้นของคลอรีนทางการค้า (ร้อยละ 4) เป็น 270.99 และ 135.50 พีพีเอ็ม พบว่าค่าความเป็นกรดค่าลดลงจาก 9.14 เป็น 8.96 และ 8.65 ตามลำดับ ซึ่งความเป็นกรดค่ามีค่าลดลงมากกว่า NEW ส่วนค่า ORP มีค่าสูงขึ้นมาก จาก 250 เป็น 660.33 และ 682.33 มิลลิโวลต์ ตามลำดับ ส่วนการเปลี่ยนแปลงจากน้ำเป็นน้ำแข็ง พบว่าค่าความเป็นกรดค่าลดลงเล็กน้อยจาก 8.96 เป็น 8.66 ตามลำดับ ที่ระดับ 270 พีพีเอ็ม เช่นเดียวกับที่ระดับ 135 พีพีเอ็ม ซึ่งลดลงเล็กน้อยจาก 8.65 เป็น 8.32 ตามลำดับ แต่ค่า ORP สูงขึ้นเล็กน้อยจาก 660.33 เป็น 667.67 มิลลิโวลต์ ที่ระดับ 270 พีพีเอ็ม แต่มีค่าสูงขึ้นมากจาก 682.33 และ 737.83 มิลลิโวลต์ ที่ระดับ 135 พีพีเอ็ม

ตารางที่ 2 คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำอิเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลาง (NEW) และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) ก่อนการเก็บรักษา

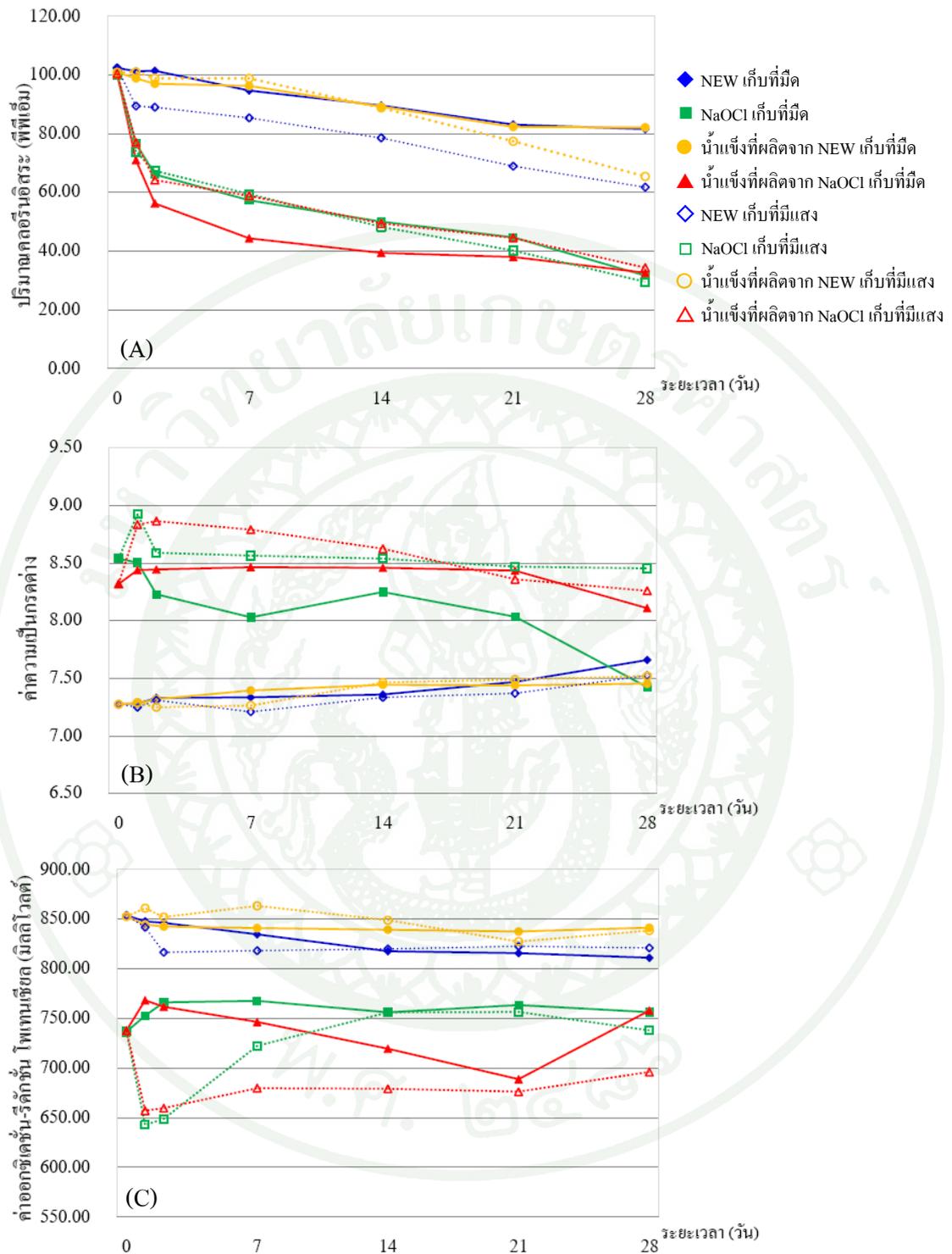
แหล่งที่มา	ปริมาณคลอรีนอิสระ (พีพีเอ็ม)	ความเป็นกรดต่าง	ค่า ORP (มิลลิโวลต์)
NEW ที่ได้จากเครื่องผลิต	640.24 ± 2.14	7.24 ± 0.01	875.24 ± 0.16
NEW 125 ppm ก่อนแช่แข็ง	126.25 ± 1.93	7.27 ± 0.01	852.17 ± 0.24
NEW 125 ppm หลังแช่แข็ง	100.84 ± 0.00	7.28 ± 0.00	852.83 ± 1.18
การเปลี่ยนแปลง (ร้อยละ)	- 20.13	+ 0.14	+ 0.08
NEW 250 ppm ก่อนแช่แข็ง	251.70 ± 1.68	7.26 ± 0.00	865.00 ± 1.41
NEW 250 ppm หลังแช่แข็ง	200.69 ± 0.84	7.21 ± 0.00	860.83 ± 2.12
การเปลี่ยนแปลง (ร้อยละ)	- 20.27	- 0.69	- 0.48
สารละลาย NaOCl	40,000	9.14 ± 0.00	250.00 ± 0.00
ความเข้มข้นทางการค้าร้อยละ 4			
NaOCl 135 ppm ก่อนแช่แข็ง	135.50 ± 0.55	8.65 ± 0.00	682.83 ± 0.24
NaOCl 135 ppm หลังแช่แข็ง	100.44 ± 0.00	8.32 ± 0.00	737.83 ± 0.00
การเปลี่ยนแปลง (ร้อยละ)	- 25.87	- 3.82	+ 8.05
NaOCl 270 ppm ก่อนแช่แข็ง	270.99 ± 0.56	8.96 ± 0.01	660.33 ± 0.47
NaOCl 270 ppm หลังแช่แข็ง	197.54 ± 1.39	8.66 ± 0.00	667.67 ± 0.47
การเปลี่ยนแปลง (ร้อยละ)	- 27.10	- 3.35	+ 1.11

หมายเหตุ ผลการทดลองแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 2 ซ้ำ

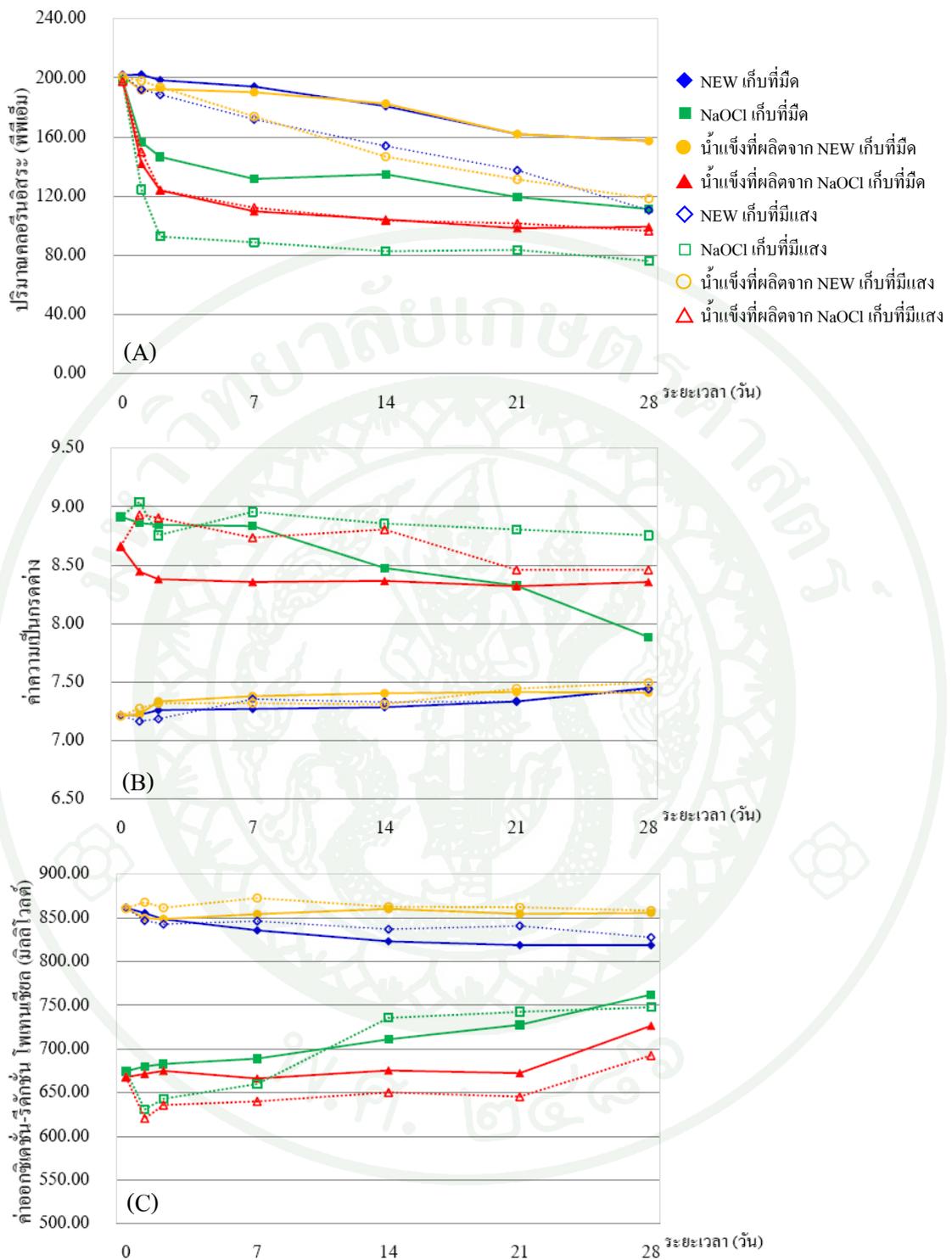
จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดต่างและค่า ORP ในสารละลาย NaOCl จะมีมากกว่า NEW นอกจากนี้การเตรียมน้ำแข็งจากสารละลายที่ระดับคลอรีนอิสระเดียวกัน ต้องใช้ความเข้มข้นของคลอรีนอิสระเริ่มต้นมากกว่า และค่า ORP เริ่มต้นของสารละลาย NaOCl น้อยกว่า NEW

เมื่อเปรียบเทียบงานวิจัยที่มีการรายงานมาก่อน แต่เตรียมจาก AEW โดย Phuvasate and Su (2009) พบว่าการเตรียมน้ำแข็งที่มีปริมาณคลอรีนอิสระ 100 และ 50 พีพีเอ็ม จาก AEW ต้องใช้น้ำที่มีปริมาณคลอรีนอิสระอยู่สูงถึง 250 และ 120 พีพีเอ็ม ตามลำดับ แม้ว่าจะมีการแช่แข็งเป็นเวลา 1 คืน และที่อุณหภูมิใกล้เคียงกันคือ -18 องศาเซลเซียส และบรรจุลงในภาชนะที่มีการห่อหุ้มด้วยฟิล์มพลาสติกและปิดสนิทก็ตาม เนื่องจากปริมาณคลอรีนตั้งต้นที่ใช้ในการเตรียมมีค่าสูงกว่าระดับที่ต้องการมากกว่า 2 เท่า ดังนั้นเมื่อเปรียบกับการเตรียมน้ำแข็งอิเล็กทรอนิกส์ชนิดเป็นกลาง ในงานวิจัยนี้ จึงเป็นไปได้ว่า NEW นั้นอาจมีความคงตัวสูงกว่า AEW อยู่มาก

ในการศึกษาสมบัติของน้ำและน้ำแข็งที่ผลิตขึ้นจาก NEW และ NaOCl และความคงตัวระหว่างการเก็บรักษา ประเมินผลโดยการตรวจวัดปริมาณคลอรีนอิสระ ค่าความเป็นกรดต่าง และค่า ORP ของน้ำและน้ำแข็งที่ผลิตขึ้น ระหว่างการเก็บรักษาภายในภาชนะบรรจุปิดสนิท ชนิดถุงพลาสติกเป็นชนิดโพลีเอทิลีน ในสภาวะการเก็บในที่มืดและที่มีแสง ภายใต้อุณหภูมิห้องสำหรับตัวอย่างน้ำ และภายใต้อุณหภูมิแช่แข็งที่ -20 องศาเซลเซียส สำหรับตัวอย่างน้ำแข็ง โดยตรวจสอบสมบัติในช่วงระยะเวลา 0, 1, 2, 7, 14, 21 และ 28 วัน ผลการทดลองที่ระดับคลอรีนอิสระ 100 และ 200 พีพีเอ็ม แสดงในภาพที่ 5 และ 6 ตามลำดับ และในตารางผนวกที่ 1-6



ภาพที่ 5 ปริมาณคลอรีนอิสระ (A) ค่าความเป็นกรดต่าง (B) และค่าออกซิเดชัน-รีดักชัน โพเทนเชียล (C) ของน้ำและน้ำแข็งที่มีปริมาณคลอรีนอิสระตั้งต้น 100 พีพีเอ็ม ซึ่งผลิตจาก NEW และ NaOCl ระหว่างเก็บรักษาในที่มืดและที่มีแสง



ภาพที่ 6 ปริมาณคลอรีนอิสระ (A) ค่าความเป็นกรดต่าง (B) และค่าออกซิเดชัน-รีดักชัน โพเทนเชียล (C) ของน้ำและน้ำแข็งที่มีปริมาณคลอรีนอิสระตั้งต้น 200 พีพีเอ็ม ซึ่งผลิตจาก NEW และ NaOCl ระหว่างเก็บรักษาในที่มืดและที่มีแสง

ผลการศึกษาคลอรีนอิสระของน้ำและน้ำแข็งที่ผลิตจาก NEW พบว่าปริมาณคลอรีนอิสระของน้ำและน้ำแข็งที่เก็บรักษาในที่มืด จะค่อย ๆ ลดลงอย่างสม่ำเสมอ จนวันสุดท้ายของการเก็บรักษาที่ 28 วัน ปริมาณคลอรีนอิสระของน้ำแข็งจะมีค่าสูงกว่าน้ำเล็กน้อย โดยที่ระดับคลอรีนตั้งต้น 100 พีพีเอ็ม น้ำจะมีปริมาณคลอรีนอิสระลดลงร้อยละ 20 ขณะที่น้ำแข็งมีปริมาณคลอรีนอิสระลดลงร้อยละ 18 ส่วนที่ระดับคลอรีนตั้งต้น 200 พีพีเอ็ม จะพบว่ามีการสูญเสียคลอรีนอิสระใกล้เคียงกัน แต่การเก็บรักษาเป็นเวลา 28 วัน ที่ระดับ 200 พีพีเอ็ม จะมีการสูญเสียคลอรีนอิสระสูงกว่าเล็กน้อย โดยน้ำและน้ำแข็งจะมีปริมาณคลอรีนอิสระลดลงร้อยละ 22 และ 21 ตามลำดับ ส่วนผลการศึกษาคลอรีนอิสระทั้งของน้ำและน้ำแข็งที่ผลิตจาก NaOCl ที่เก็บในที่มืด พบว่าปริมาณคลอรีนอิสระลดลงอย่างรวดเร็ว นับตั้งแต่วันแรกของการเก็บรักษา และมีการลดลงในอัตราที่ใกล้เคียงกัน ทั้งในน้ำและน้ำแข็ง โดยวันแรกปริมาณคลอรีนอิสระลดลงเหลือร้อยละ 76 และ 71 ตามลำดับ ที่ระดับคลอรีน 100 พีพีเอ็ม และลดลงเหลือร้อยละ 78 และ 71 ตามลำดับ ที่ระดับคลอรีน 200 พีพีเอ็ม เมื่อเก็บรักษาครบ 28 วัน ปริมาณคลอรีนอิสระสุดท้ายของน้ำและน้ำแข็งมีค่าใกล้เคียงกัน แต่เมื่อเทียบการเปลี่ยนแปลงของปริมาณคลอรีนอิสระ เมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษา พบว่าที่ระดับคลอรีน 100 พีพีเอ็ม จะมีปริมาณการสูญเสียคลอรีนอิสระต่ำกว่าที่ระดับ 200 พีพีเอ็ม อยู่ประมาณร้อยละ 20

เมื่อพิจารณาผลของแสงต่อความคงตัวของคลอรีนอิสระในน้ำและน้ำแข็งที่ผลิตจาก NEW พบว่าปริมาณคลอรีนอิสระในน้ำและน้ำแข็งที่เก็บในที่ที่มีแสงลดลงในอัตราที่สูงกว่าการเก็บในที่มืด โดยในน้ำมีการลดลงอย่างสม่ำเสมอ ส่วนน้ำแข็งจะมีปริมาณคลอรีนอิสระค่อนข้างคงตัวระหว่างการเก็บรักษาใน 7 วันแรก และลดลงตามระยะเวลาเก็บ จนมีระดับคลอรีนอิสระใกล้เคียงกับน้ำในวันสุดท้ายของการเก็บรักษาที่ 28 วัน เมื่อเทียบการเปลี่ยนแปลงของปริมาณคลอรีนอิสระเมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษาในที่ที่มีแสง พบว่าปริมาณการสูญเสียคลอรีนอิสระสูงขึ้นเป็น 2 เท่า ของการเก็บในที่มืด โดยที่น้ำและน้ำแข็งที่ผลิตจาก NEW มีคลอรีนอิสระลดลงประมาณร้อยละ 40 เมื่อเก็บในที่ที่มีแสงเป็นเวลา 28 วัน ขณะที่น้ำและน้ำแข็งที่เก็บรักษาในที่มืดมีปริมาณการลดลงประมาณร้อยละ 20 เท่านั้น ส่วนผลของแสงต่อความคงตัวของคลอรีนอิสระในน้ำและน้ำแข็งที่ผลิตจาก NaOCl พบว่ามีผลทำให้ปริมาณคลอรีนอิสระของน้ำลดลงมากกว่าเมื่อเก็บรักษาในที่มืดหลังสิ้นสุดการเก็บรักษาที่ 28 วัน โดยปริมาณการลดลงเพิ่มขึ้นเล็กน้อยจากร้อยละ 68 เป็นร้อยละ 70 ที่ระดับคลอรีน 100 พีพีเอ็ม แต่จะมีการลดลงในปริมาณที่สูงที่ระดับ 200 พีพีเอ็ม โดยมีการลดลงสูงขึ้นจากร้อยละ 44 เป็นร้อยละ 62

ผลการศึกษาค่าความเป็นกรดต่างของน้ำและน้ำแข็งที่ผลิตจาก NEW พบว่า ที่ระดับ 100 พีพีเอ็ม มีค่าสูงขึ้นเล็กน้อยในอัตราที่ใกล้เคียงกันใน 21 วันแรก ซึ่งแสงจะไม่มีผลต่อค่าความเป็นกรดต่าง และที่ระดับ 200 พีพีเอ็ม ก็ให้ผลเช่นเดียวกัน ส่วนผลการศึกษาค่าความเป็นกรดต่างทั้งของน้ำและน้ำแข็งที่ผลิตจาก NaOCl พบว่า ที่ระดับ 100 และ 200 พีพีเอ็ม มีแนวโน้มลดลงเล็กน้อยในอัตราที่ใกล้เคียงกันทั้งในที่มืดและมีแสง

เมื่อเปรียบเทียบค่าความเป็นกรดต่างของน้ำและน้ำแข็งที่ผลิตจาก NEW และผลิตจาก NaOCl ทั้งที่ระดับ 100 และ 200 พีพีเอ็ม ดังแสดงในภาพที่ 5 (B) และ 6 (B) ตามลำดับ พบว่าค่าความเป็นกรดต่างของน้ำและน้ำแข็งที่ผลิตจาก NaOCl มีแนวโน้มลดลง ซึ่งตรงกันข้ามกับผลที่เกิดขึ้นในน้ำ NEW เนื่องจากชนิดของคลอรีนอิสระในสารละลาย NaOCl ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของ OCl<sup>-</sup> (Boyette *et al.*, 1993) ดังนั้นปฏิกิริยาจึงเกิดปริมาณ HOCl เพิ่มขึ้น และแสดงความเป็นกรดได้

ผลการศึกษาค่า ORP ของน้ำและน้ำแข็งที่ผลิตจาก NEW พบว่า ที่ระดับ 100 พีพีเอ็ม ค่า ORP ของน้ำลดลง แต่ค่า ORP ของน้ำแข็งค่อนข้างคงที่ทั้งที่เก็บในที่มืดและมีแสง แสดงให้เห็นว่าแสงไม่มีผลในการเร่งให้ค่า ORP ลดลงเร็วขึ้น (ตารางผนวกที่ 3) ส่วนที่ระดับ 200 พีพีเอ็ม ก็ให้ผลเช่นเดียวกัน จากผลการศึกษาแสดงว่าค่า ORP ของน้ำแข็งที่ผลิตจาก NEW มีความคงตัวมากกว่าน้ำ (ตารางผนวกที่ 6) ส่วนผลการศึกษาค่า ORP ของน้ำและน้ำแข็งที่ผลิตจาก NaOCl พบว่า ไม่มีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจน โดยมีลักษณะไม่คงที่ ในระดับ 100 พีพีเอ็ม แต่มีแนวโน้มลดลงเล็กน้อยเฉพาะน้ำแข็งที่เก็บในที่มืด ส่วนที่ระดับ 200 พีพีเอ็ม ค่า ORP ของน้ำและน้ำแข็งให้ผลเช่นเดียวกัน แต่ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษาจะแสดงแนวโน้มสูงขึ้นเล็กน้อย จากผลการทดลองนี้พบว่าแสงมีผลทำให้ค่า ORP ของน้ำและน้ำแข็งสูงขึ้นเล็กน้อย

เมื่อเปรียบเทียบค่า ORP ระหว่างน้ำและน้ำแข็งที่ผลิตจาก NEW กับน้ำและน้ำแข็งที่ผลิตจาก NaOCl ทั้งที่ระดับ 100 และ 200 พีพีเอ็ม ดังแสดงในภาพที่ 5 (C) และ 6 (C) ตามลำดับ พบว่าค่า ORP ของน้ำและน้ำแข็งที่ผลิตจาก NaOCl ไม่มีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจน ขณะที่น้ำและน้ำแข็งที่ผลิตจาก NEW มีค่าค่อนข้างคงที่ระหว่างเก็บรักษา แสดงให้เห็นว่าน้ำและน้ำแข็งที่ผลิตจาก NEW มีค่า ORP ที่คงตัวระหว่างเก็บรักษามากกว่า NaOCl

ดังนั้นผลการศึกษานี้แสดงว่า NEW มีความคงตัวพอสมควรทั้งในรูปน้ำและน้ำแข็ง กล่าวคือเมื่อเก็บรักษาไว้ในที่มืด ปริมาณคลอรีนอิสระซึ่งเป็นปัจจัยที่พิจารณาว่าเกี่ยวกับประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์นั้นลดลงเพียงประมาณร้อยละ 20 เมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษาเป็นเวลา 28 วัน ทั้งในรูปน้ำและน้ำแข็งทั้งที่ระดับ 100 และ 200 พีพีเอ็ม แต่หากเก็บในที่ที่มีแสงจะทำให้ปริมาณลดลงมากขึ้นอีกเกือบ 1 เท่า คือ ลดลงถึงประมาณร้อยละ 40 ฉะนั้นแสงจึงเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อของ NEW ดังนั้นการนำ NEW ไปใช้ทั้งในรูปน้ำและน้ำแข็ง จึงมีความเป็นไปได้ในอุตสาหกรรม เนื่องจากมีความคงตัวสูงกว่าใน AEW ตามที่มีรายงานอยู่ค่อนข้างมาก

มีรายงานการศึกษาความคงตัวของ AEW โดย Len *et al.* (2002) ซึ่งศึกษาปัจจัยด้านการมีแสง การกวน และการบรรจุแบบภาชนะเปิดหรือปิดต่อการสูญเสียคลอรีน พบว่าเมื่อสภาวะการเก็บเป็นแบบเปิด ปริมาณคลอรีนจะสูญเสียไปโดยการระเหยของคลอรีนซึ่งเป็นไปตามหลักจลนศาสตร์ อัตราการสูญเสียคลอรีนจะเพิ่มขึ้นเป็น 5 เท่า เมื่อมีการกวนระบบ หรือมีแสง ส่วนภายใต้สภาวะการเก็บแบบปิด การสูญเสียปริมาณคลอรีนจะไม่เป็นไปตามหลักจลนศาสตร์ ดังเช่นคลอรีนอิสระในน้ำจะเปลี่ยนรูปไปเป็น แต่การระเหยของถูกจำกัด ดังนั้นกลไกการสลายของคลอรีนอิสระในน้ำจึงเป็นเพียงการเปลี่ยนรูปไปเป็นคลอรีนอิสระชนิดอื่นแทน นอกจากนี้ผลของแสงทำให้เกิดการสลายของคลอรีนมากกว่าการกวนระบบ เมื่อเก็บเป็นเวลานาน 2 เดือน ในสภาวะแบบปิด แต่ยังคงไม่มีรายงานเกี่ยวกับกลไกการสลายของคลอรีนอิสระในน้ำที่เกิดจากแสง นอกจากนี้ Fabrizio and Cutter (2003) ได้รายงานไว้ว่า AEW ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จะมีความคงตัวมากกว่าเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

ผลการวิจัยนี้สอดคล้องกับ Umimoto *et al.* (2009) ซึ่งพบว่าหลังจากการเก็บรักษา AEW และ NEW ในระยะเวลา 28 วัน ปริมาณคลอรีนอิสระ โดยเฉพาะใน AEW จะลดลงอย่างชัดเจน จาก 23 พีพีเอ็ม ลดลงจนเหลือ 0 พีพีเอ็ม หรือลดลงไปร้อยละ 100 ส่วน NEW เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 28 วัน ปริมาณคลอรีนอิสระจะลดลงจาก 21 พีพีเอ็ม เป็น 9.4 พีพีเอ็ม แต่ค่าความเป็นกรดต่าง ยังคงที่ระหว่างการเก็บรักษาเป็นระยะเวลานาน เช่นเดียวกับ Cui *et al.* (2009) ที่ได้ทำการศึกษาคุณสมบัติของ NEW โดยศึกษาเปรียบเทียบกับ AEW ซึ่งเก็บรักษาภายในภาชนะขวดแก้วที่มีเปิดและปิดฝา ภายใต้สภาวะที่มีแสงและปราศจากแสง โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 วัน พบว่าค่าความเป็นกรดต่าง ของน้ำอิเล็กโทรไลต์ทั้งสองชนิด ไม่มีการเปลี่ยนแปลงระหว่างเก็บรักษาในทุกสภาวะที่ทดลอง นอกจากนี้ยังพบว่าค่าออกซิเดชัน-รี

คักซ์ โฟเทนเซิล และปริมาณคลอรีนอิสระใน NEW เป็นสมบัติที่มีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก เมื่อเทียบกับ AEW

ผลการศึกษาข้างต้นแสดงให้เห็นว่าค่าความเป็นกรดต่าง ค่า ORP มีความสัมพันธ์กับกลไกการเปลี่ยนแปลงของปริมาณคลอรีนอิสระ ดังที่ Liao *et al.* (2007) รายงานว่าในภาวะสมดุลนอกจากกรดไฮโปคลอรัส จะมีคลอรีนอิสระอื่นที่สามารถละลายรวมอยู่ด้วย ได้แก่ คลอรีน และไฮโปคลอไรท์ไฮออน และเนื่องจาก HOCl เป็นกรดอ่อน ซึ่งสามารถเกิดปฏิกิริยาเรดอกซ์หรือปฏิกิริยาผันกลับของคลอรีนอิสระ จึงมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงค่า ORP ได้ ส่วนค่าความเป็นกรดต่างที่ลดหรือเพิ่มใน NaOCl หรือ NEW นั้นอาจมีสาเหตุมาจากปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงรูปของคลอรีนอิสระเหล่านั้น

ส่วนความสัมพันธ์ของค่าความเป็นกรดต่างและค่า ORP ของน้ำอิเล็กโทรไลซ์ อธิบายโดยใช้หลักการจากสมการของเนิร์นสต์ (Nernst equation) จากการที่ค่า ORP จะเพิ่มขึ้น เมื่อมีความเป็นกรดต่างน้อยลง เนื่องจากเป็นไปตามกฎของสมการดังกล่าว (Oldham and Mayland, 1994) ทั้งนี้ปฏิกิริยาเรดอกซ์ที่เกิดขึ้นเป็นปฏิกิริยาที่มีการถ่ายโอนอิเล็กตรอน ซึ่งหมายถึงการรีดิวซ์ (รับอิเล็กตรอน) หรือการออกซิไดซ์ (สูญเสียอิเล็กตรอน) ก็ได้ (Pomposiello and Demple, 2001) ซึ่งการเกิดนั้นจะขึ้นอยู่กับปริมาณกรดไฮโปคลอรัสที่น้อยหรือมาก ตามลำดับ

## 2. ผลการศึกษาประสิทธิภาพของ NEW ในการลดปริมาณเชื้อบริสุทธิ์

จากการทดสอบในเซลล์แบคทีเรียต่างชนิดกัน คือ *V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus*, *Salmonella Enteritidis* และ *E. coli* ที่มีปริมาณเซลล์ตั้งต้นระดับ  $7 \log \text{cfu/ml}$  ที่แขวนลอยในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว ซึ่ง NEW ที่นำมาทดสอบประสิทธิภาพการลดปริมาณเชื้อบริสุทธิ์ มีคุณสมบัติต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 3 โดยมีระดับปริมาณของคลอรีนอิสระระดับต่างกันตั้งแต่ 10 ถึง 100 พีพีเอ็ม ส่วนคุณสมบัติอื่นของ NEW ได้แก่ ค่าความเป็นกรดต่าง และค่า ORP ที่ตรวจวัดได้จะอยู่ระหว่าง 7.11 ถึง 7.16 และระหว่าง 863.22 ถึง 899 มิลลิโวลต์ ตามลำดับ โดยที่ระดับคลอรีนสูงสุดคือ 100 พีพีเอ็ม มีค่า ORP สูงสุด และมีความเป็นกรดต่างต่ำสุด

ตารางที่ 3 สมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำอิเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลางที่มีระดับคลอรีนแตกต่างกันที่ใช้ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์

สารฆ่าเชื้อ	ปริมาณคลอรีนอิสระ (พีพีเอ็ม)	ค่าความเป็นกรดต่าง	ค่า ORP (มิลลิโวลต์)
NEW 10	10.92±0.00	7.16±0.01	863.22±4.26
NEW 30	30.99±0.16	7.14±0.01	875.11±3.79
NEW 50	50.08±0.09	7.13±0.02	881.78±4.70
NEW 70	67.98±0.23	7.11±0.01	888.44±2.03
NEW 100	101.07±0.34	7.11±0.01	899.00±2.14

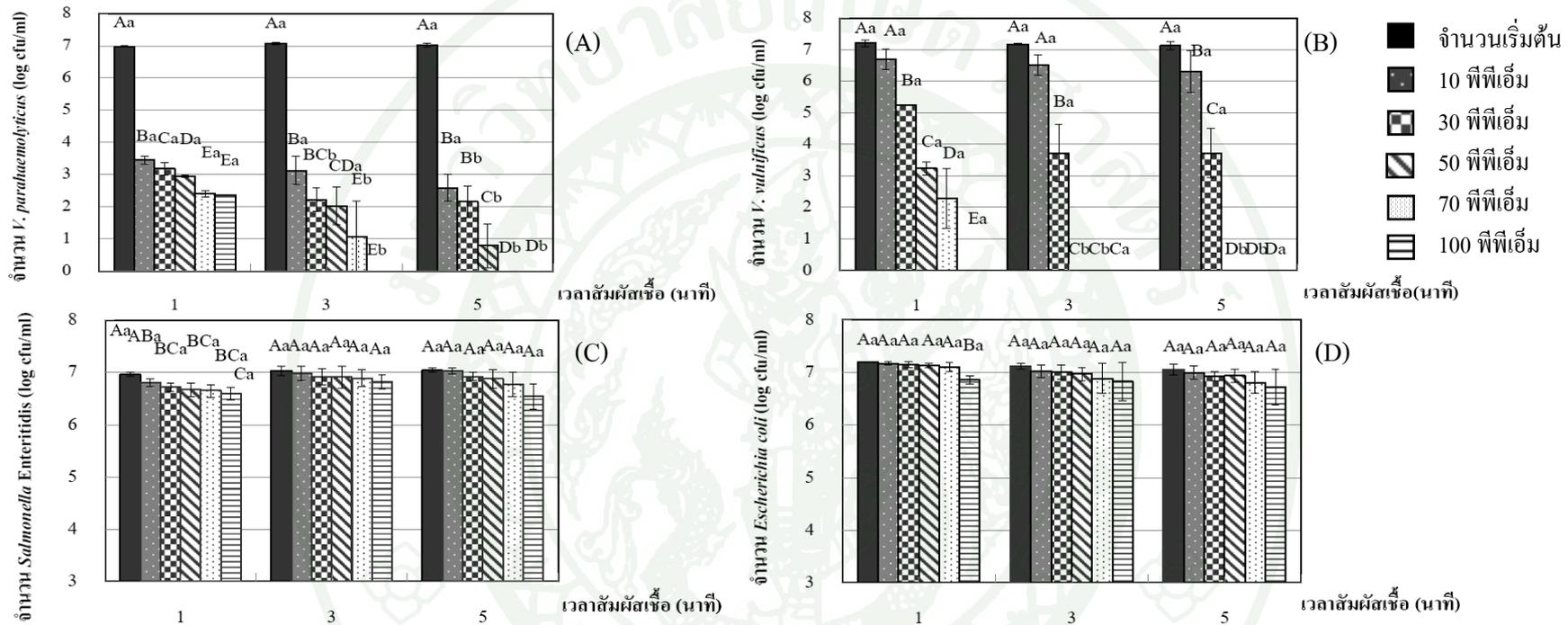
หมายเหตุ NEW 10, 30, 50, 70 และ 100 = น้ำอิเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลางที่มีปริมาณคลอรีนอิสระระดับ 10, 30, 50, 70 และ 100 พีพีเอ็ม ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลองทั้งหมด 9 ซ้ำ

เมื่อทำการทดสอบประสิทธิภาพของ NEW ที่เตรียมขึ้นด้วยปริมาณคลอรีน 5 ระดับ ใช้น้ำกลั่นที่ปลอดเชื้อเป็นตัวอย่างควบคุม และมีระยะเวลาสัมผัสเชื้อ 1, 3 และ 5 นาที พบว่าจำนวนเซลล์ส่วนใหญ่ของ *V. parahaemolyticus* จะถูกยับยั้งได้ในช่วงแรกของการสัมผัสเชื้อ และลดได้จำนวนมากถึง 4 log cfu/ml เมื่อใช้ระดับคลอรีนเพียง 10 พีพีเอ็ม ในระยะเวลาสัมผัสทุกระดับ ขณะที่การเพิ่มระดับปริมาณคลอรีนที่ใช้ให้มากขึ้นจาก 10 ถึง 100 พีพีเอ็ม ในแต่ละระดับของเวลาสัมผัสเชื้อ จะสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการทำลายเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในอาหารเหลวได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น ดังภาพที่ 7 (A) เมื่อเพิ่มเวลาจาก 1 เป็น 5 นาที พบว่าที่ทุกระดับของความเข้มข้นคลอรีน มีการลดลงของจำนวน *V. parahaemolyticus* ประมาณ 1 log cfu/ml เท่านั้น จากผลทดสอบแสดงได้ว่าจำนวน *V. parahaemolyticus* จำนวนหนึ่งจะถูกยับยั้งได้ดีในช่วงแรกที่ได้สัมผัสกับ NEW แม้ว่าจะใช้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำก็ตาม และหากเพิ่มระยะเวลาสัมผัสให้นานหรือเปลี่ยนระดับความเข้มข้นให้สูงขึ้น จะมีผลต่อการทำลายเชื้อ *V. parahaemolyticus* ได้เพียงเล็กน้อย ในกรณีที่ใช้ระดับปริมาณคลอรีน 70 พีพีเอ็ม เป็นเวลา 5 นาที หรือ 100 พีพีเอ็ม เป็นเวลา 3 นาที เพียงพอต่อการกำจัดเชื้อบริสุทธิ์ *V. parahaemolyticus* จำนวน 7 log cfu/ml ได้หมด

ผลต่อเชื้อ *V. vulnificus* พบว่าการใช้คลอรีนที่ระดับต่ำสามารถทำลายเชื้อได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น ปริมาณเชื้อจะค่อย ๆ ลดลง เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ NEW และเพิ่มระยะเวลาสัมผัส กล่าวคือหลังจากสัมผัสน้ำไอเล็ก โทโรไลซ์ที่มีปริมาณคลอรีน 10 พีพีเอ็ม ไม่ว่าจะใช้ระยะเวลาสัมผัสนานเท่าใดก็ตาม จะมีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อได้ไม่เกิน 1 log cfu/ml (ภาพที่ 7 (B)) แต่พบการลดจำนวนของเชื้ออย่างเป็นลำดับ ๆ ละประมาณ 1 log cycle ต่อเวลาสัมผัสเชื้อ 1 ช่วงเวลา หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งว่าการเพิ่มระดับปริมาณคลอรีนใน NEW จาก 10 เป็น 30, 50, 70 และ 100 พีพีเอ็ม ตามลำดับ จึงจะสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อได้ระดับละประมาณ 1 log cycle เท่า ๆ กัน แต่การใช้ NEW ที่มีปริมาณคลอรีนมากกว่า 10 พีพีเอ็ม สัมผัสกับเชื่อนาน 3 หรือ 5 นาที จะมีประสิทธิภาพในการลดจำนวน *V. vulnificus* ได้ถึง 3 log cfu/ml

ผลต่อเชื้อ *Salmonella* Enteritidis และ *E. coli* ดังแสดงในภาพที่ 7 (C) และ ภาพที่ 7 (D) ตามลำดับ พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อทั้ง 2 ชนิดนี้ได้อย่างจำกัด คือไม่เกิน 0.5 log cfu/ml ไม่ว่าจะเพิ่มความเข้มข้นของคลอรีนหรือเพิ่มระยะเวลาสัมผัสเชื้อก็ตาม ซึ่งผลของ NEW ต่อเชื้อทั้ง 2 ชนิดนี้ เมื่อเทียบกับรายงานของ Guentzel *et al.* (2008) พบว่าสอดคล้องกันในกรณีการลดการปนเปื้อน *E. coli* ในผักกาดว่าสามารถยับยั้งเชื้อได้เพียงเล็กน้อย (0.25 log cfu/ml) แต่ต่างจากผลในผักขมที่พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อได้อย่างสมบูรณ์ รวมถึงที่มีรายงานว่ายับยั้ง *E. coli* และ *Salmonella* ได้อย่างสมบูรณ์ (5 log CFU/cm<sup>2</sup>) ในมะเขือเทศ (Deza *et al.*, 2003) จะเห็นได้ว่าเชื้อจุลินทรีย์ชนิดเดียวกันเมื่ออยู่ในอาหารที่ต่างชนิดกัน ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้ออาจแตกต่างกันได้ ทั้งนี้อาจเนื่องจากปริมาณสารอินทรีย์อื่นที่อยู่ในอาหารแต่ละชนิด นอกเหนือจากสภาวะการทดลองที่แตกต่างกัน

หากพิจารณาเฉพาะประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ จะพบว่าประสิทธิภาพของ NEW จากการทดลองนี้ต่ำกว่า AEW ที่มีการรายงานมาก่อน (Venkitanarayanan *et al.*, 1999a; Issa-Zacharia *et al.*, 2010; Quan *et al.*, 2010) ที่พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อ *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *Salmonella* Enteritidis และ *E. coli* ได้ดี ทั้งนี้เนื่องจากฤทธิ์เป็นกรดของ AEW อย่างไรก็ตามหากคำนึงถึงความคงตัวและผลของสภาพกรดที่มีต่อคุณลักษณะอาหารแล้ว NEW นับเป็นสารฆ่าเชื้อทางเลือกที่มีประสิทธิภาพดี หากเลือกใช้ในสภาวะที่เหมาะสม และยังคงมีความคงตัวดี และไม่มีฤทธิ์เป็นกรดที่จะมีผลต่ออาหาร



ภาพที่ 7 จำนวนเชื้อบริสุทธ์ของ *V. parahaemolyticus* (A) *V. vulnificus* (B) *Salmonella Enteritidis* (C) และ *E. coli* (D) ที่รอดชีวิตหลังสัมผัส NEW ความเข้มข้น 10, 30, 50, 70 และ 100 พีพีเอ็ม ในระยะเวลาสัมผัสเชื้อเท่ากับ 1, 3 และ 5 นาที

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยของจำนวนเชื้อที่กำกับด้วยอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์ใหญ่ในปริมาณคลอรีนอิสระที่แตกต่างกัน และอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กในเวลาสัมผัสเชื้อที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

จากผลการทดสอบนี้ NEW มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อ *V. parahaemolyticus* และ *V. vulnificus* ได้ดี โดยทั้งระดับคลอรีนอิสระ และระยะเวลาสัมผัสเชื้อเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการทำลายเชื้อ การใช้ที่ระดับคลอรีนอิสระเท่ากับ 50 พีพีเอ็ม เวลาสัมผัสเชื่อนาน 3 นาที หรือ 100 พีพีเอ็ม นาน 1 นาที สามารถทำลายเชื้อที่มีจำนวนตั้งต้นระดับ 7 log cfu/ml ได้หมดอย่างไรก็ตาม น้ำอเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลางนี้มีผลลดจำนวนเชื้อ *Salmonella Enteritidis* และ *E. coli* ได้น้อยมาก เพียงประมาณ 0.5 log cfu/ml เท่านั้น ดังนั้นในการทดสอบประสิทธิภาพในข้อถัดไป จึงเลือกศึกษาในเชื้อ *V. parahaemolyticus* และ *V. vulnificus* เท่านั้น

### 3. การลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์และการวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ที่เหลือรอด

3.1 การลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในกึ่งด้วยสารละลายของน้ำอเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลาง

ตารางที่ 4 คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำประปาและน้ำอเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลางที่ใช้ในการลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในกึ่ง

สารละลายทดสอบ	ปริมาณคลอรีนอิสระ (พีพีเอ็ม)	ค่าความเป็นกรดต่าง	ค่า ORP (มิลลิโวลต์)
Tap Water (TW)	1.34±0.00	7.14±0.01	198.00±3.46
NEW 10	10.27±0.12	7.11±0.01	841.00±1.73
NEW 50	50.67±0.29	7.05±0.03	863.33±4.62

หมายเหตุ Tap Water (TW) = น้ำประปา

NEW 50 และ 100 = น้ำอเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลางที่มีปริมาณคลอรีนอิสระระดับ 50 และ 100 พีพีเอ็ม ตามลำดับ

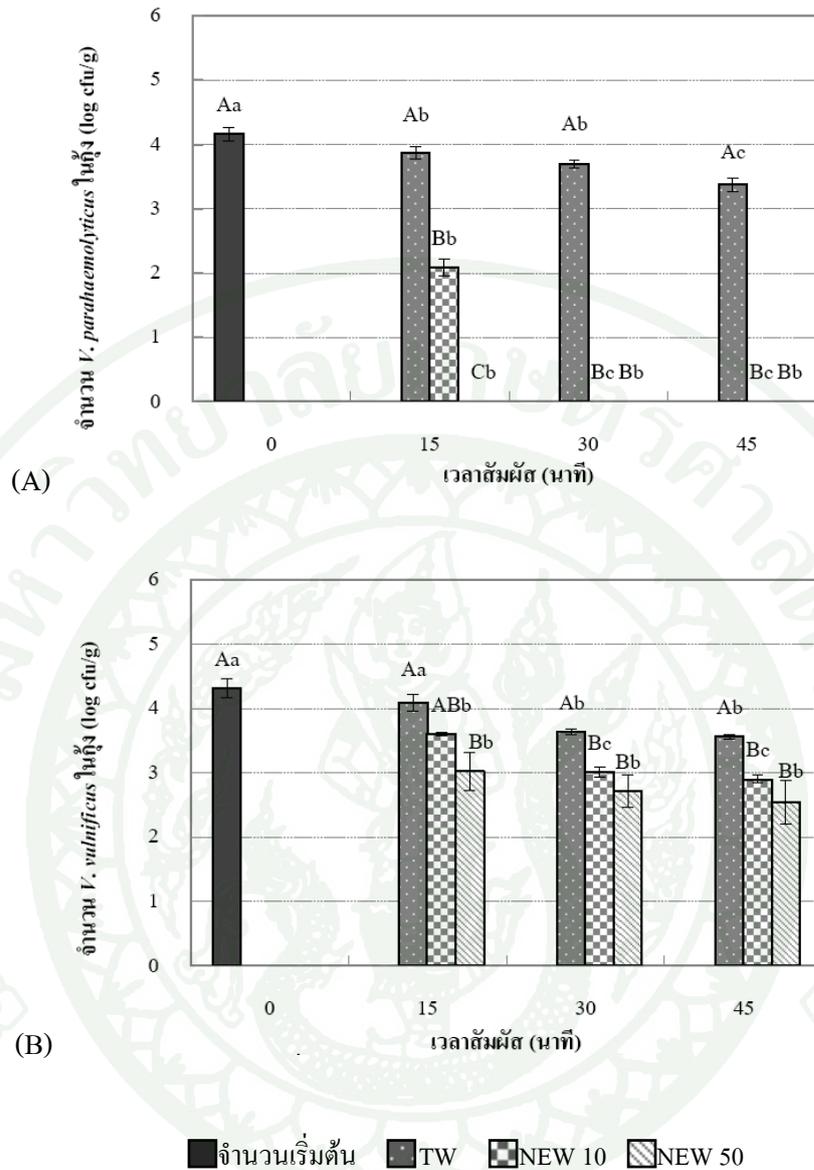
ผลการทดลองแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ

จากการทดสอบกึ่งขาววนนาไมที่สร้างสภาพปนเปื้อนด้วยเชื้อ *V. parahaemolyticus* และ *V. vulnificus* พบว่ากึ่งที่มีระดับการปนเปื้อนเชื้อจำนวน 4.16 และ 4.31 log cfu/g ตามลำดับ

หลังจากแช่ NEW ที่มีปริมาณคลอรีนอิสระ 10 หรือ 50 พีพีเอ็ม เป็นเวลา 15, 30 และ 45 นาที ซึ่งสมบัติทางเคมีกายภาพของ NEW ตามตารางที่ 4 ได้แก่ NEW ที่มีคลอรีนอิสระระดับ 50 และ 10 พีพีเอ็ม ตรวจวัดความเป็นกรดต่างได้ 7.05 และ 7.11 และค่า ORP ได้ 863.33 และ 841 มิลลิโวลต์ ตามลำดับ ส่วนน้ำประปา (ตัวอย่างควบคุม) มีคลอรีนอิสระอยู่ปริมาณน้อยมาก เพียง 1.34 พีพีเอ็ม

ผลการลดการปนเปื้อนของเชื้อ *V. parahaemolyticus* และ *V. vulnificus* ในกุ้ง ดังภาพที่ 8 (A) และ 8 (B) ตามลำดับ แสดงชัดเจนว่า NEW มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ได้ดีกว่าการใช้น้ำประปา การใช้ NEW ที่ระดับความเข้มข้นของคลอรีนเท่ากับ 50 พีพีเอ็ม เวลาในการแช่กุ้งเป็น 15 นาที จะสามารถกำจัดเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่ปนเปื้อนในกุ้งได้มากกว่า 4.16 log cfu/g ขณะที่ระดับคลอรีนอิสระเป็น 10 พีพีเอ็ม ใช้เวลาการแช่ 15 นาที เท่ากัน จะสามารถลดการปนเปื้อนได้ 2.07 log cfu/g หากจะกำจัดเชื้อทั้งหมด (4.16 log cfu/g) ต้องเพิ่มระยะเวลาแช่เป็น 30 นาที ดังภาพที่ 8 (A)

ผลการลดการปนเปื้อนของเชื้อ *V. vulnificus* ในกุ้ง พบว่าปริมาณคลอรีนใน NEW ที่เพิ่มขึ้นไม่มีผลต่อประสิทธิภาพในการลดจำนวน *V. vulnificus* ที่ปนเปื้อนในกุ้ง ซึ่งแสดงได้จากจำนวนเชื้อที่รอดชีวิตหลังจากแช่กุ้งใน NEW ที่ระดับคลอรีนอิสระ 10 และ 50 พีพีเอ็ม ว่าไม่มีความแตกต่างกัน ( $p>0.05$ ) ในทุกระดับของระยะเวลาสัมผัสตัวอย่างกุ้ง ดังแสดงในภาพที่ 8 (B) แต่เมื่อพิจารณาที่ระดับคลอรีนเท่ากับ 10 พีพีเอ็ม เพียงอย่างเดียว จะสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อได้ด้วยการเพิ่มเวลาการสัมผัสตัวอย่าง โดยที่เวลาสัมผัสไม่เกิน 30 นาที หากเกินจากนี้ผลการลดเชื้อจะไม่แตกต่างกัน จากผลการทดสอบนี้ แสดงว่าประสิทธิภาพของ NEW ที่มีระดับคลอรีนอิสระเท่ากับ 10 พีพีเอ็ม เพียงพอต่อการลดการปนเปื้อนของเชื้อ *V. vulnificus* แต่การมีระยะเวลาสัมผัสเหมาะสมจะทำให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น การเลือกใช้ NEW ในการลดการปนเปื้อนของเชื้อในผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ จึงควรพิจารณาเกี่ยวกับข้อแนะนำการใช้สารประกอบคลอรีนเพื่อสัมผัสกับผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำโดยตรง ซึ่งระดับคลอรีนอิสระที่ใช้ควรมีประมาณ 2 ถึง 10 พีพีเอ็ม (Codex, 2000) นอกจากนี้ปริมาณคลอรีนใน NEW ที่สูง (สำหรับงานวิจัยนี้คือ 50 พีพีเอ็ม) อาจมีผลกระทบทำให้เกิดคลอรีนระเหยระหว่างขั้นตอนแช่กุ้ง และเปลี่ยนแปลงลักษณะทำให้ไม่เป็นที่ยอมรับ ดังนั้น ประสิทธิภาพของ NEW ที่ระดับความเข้มข้นคลอรีน 10 พีพีเอ็ม เป็นเวลา 30 นาที จึงเป็นสถานะที่เหมาะสมในการใช้มากที่สุดในงานวิจัยนี้



ภาพที่ 8 จำนวนเชื้อ *V. parahaemolyticus* (A) และ *V. vulnificus* (B) ที่รอดชีวิตในกุ้งหลังล้างด้วยน้ำประปา (TW) น้ำอเล็กโทรไลซ์ความเข้มข้น 10 พีพีเอ็ม (NEW 10) และ 50 พีพีเอ็ม (NEW 50) เป็นระยะเวลา 0, 15, 30 และ 45 นาที

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยของจำนวนเชื้อที่กำกับด้วยอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์ใหญ่ในปริมาณคลอรีนอิสระที่แตกต่างกัน และอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กในเวลาสัมผัสเชื้อที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ในการเปรียบเทียบระหว่างประสิทธิภาพของ NEW ในการทำลายเซลล์ของ เชื้อจุลินทรีย์ที่มีลักษณะเป็นเชือบริสุทธิ์และที่ปนเปื้อนในตัวอย่าง พบว่าประสิทธิภาพการทำลาย เชื้อในตัวอย่างกึ่งน้อยกว่าในเชือบริสุทธิ์ เนื่องจากคลอรีนอิสระใน NEW สามารถทำปฏิกิริยากับ สารอินทรีย์อื่นได้ และคลอรีนอิสระบางชนิดอาจเปลี่ยนเป็นรูปที่ไม่ว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาต่อ เชื้อ (Wang *et al.*, 2009) ดังนั้นการประยุกต์ใช้น้ำอิเล็กโทรไลซ์อาจช่วยในการทำลายเชื้อบนพื้นผิว ที่สัมผัสอาหารได้ดี เนื่องจากไม่ใช่สารอินทรีย์ ดังเช่นพบว่า AEW (pH = 2.7, ACC = 40 ppm, ORP = 1,151 mV) ระยะเวลาสัมผัส 30, 45 และ 60 วินาที สามารถยับยั้งเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่สร้างสภาพการปนเปื้อนบนพื้นผิวสัมผัสอาหาร ได้แก่ แผ่นสแตนเลส กระเบื้อง และพลาสติก จำนวนเริ่มต้นไม่เกิน  $5.99 \log \text{ cfu/cm}^2$  ได้อย่างสมบูรณ์ (Chiu *et al.*, 2006) ทั้งนี้ควรคำนึงถึงความ เป็นกรดที่อาจเป็นสาเหตุของการกัดกร่อนวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในกระบวนการแปรรูปอาหารได้ (Abadias *et al.*, 2008) นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่ระบุว่าประสิทธิภาพของ น้ำอิเล็กโทรไลซ์ที่ลดลงมีสาเหตุมาจากการมีสารประกอบอินทรีย์อยู่ร่วมกับเชื้อที่ทดสอบ รวมถึง กรดอะมิโน และ โปรตีน เนื่องจากน้ำอิเล็กโทรไลซ์จะสามารถเกิดปฏิกิริยาได้ดีกับสารอินทรีย์ ต่าง ๆ เช่นเดียวกับเชื้อจุลินทรีย์ (Oomori *et al.*, 2000; Al-Haq *et al.*, 2005)

นอกจากนี้ จากการทดสอบหาปริมาณเชื้อในตัวอย่างน้ำหลังแช่กึ่ง (ทดลองเพิ่มเติม ไม่ได้แสดงผล) พบว่าในน้ำประปาหลังจากการแช่กึ่งเป็นเวลา 45 นาที ยังคงมีเชื้อ *V. vulnificus* ที่ รอดชีวิต และมีจำนวน  $1.7 \log \text{ cfu/ml}$  ขณะที่ใน NEW ที่ผ่านการแช่กึ่งแล้ว ตรวจไม่พบเชื้อ *V. vulnificus* และ *V. parahaemolyticus* ทั้งที่ระดับ 10 และ 50 พีพีเอ็ม ซึ่งจากผลการทดสอบนี้แสดง ชัดเจนว่าในกรณีที่มีการนำสารฆ่าเชื้อกลับไปใช้ใหม่ NEW ไม่ก่อให้เกิดการปนเปื้อนข้ามใน กระบวนการแปรรูปผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำได้

การไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ใน NEW หลังแช่นั้นสอดคล้องกับการทดลองของของผู้วิจัย หลายท่าน ได้แก่ Huang *et al.* (2006) ที่ศึกษา AEW ที่มีปริมาณคลอรีนอิสระเท่ากับ 120 พีพีเอ็ม ซึ่งวิเคราะห์ว่าไม่พบเชื้อ *V. parahaemolyticus* และ *E. coli* หลังแช่ชิ้นปลาเนื้ลแล้วที่สร้างสภาพ ปนเปื้อนในระดับการปนเปื้อนเท่ากับ  $10^6$  และ  $10^7 \text{ cfu/cm}^2$  ตามลำดับ เป็นเวลา 10 นาที และ Park *et al.* (2002) ที่ศึกษาในเนื้อไก่ที่สร้างการปนเปื้อนด้วยเชื้อ *Campylobacter jejuni* ในระดับ  $5 \log \text{ cfu/g}$  โดยใช้ AEW (pH = 2.55, ACC = 50 ppm, 1,083 mV) และ Cao *et al.* (2009) ที่ตรวจไม่พบ *Salmonella Enteritidis* ในน้ำหลังฆ่าเชื้อผิวไก่ โดยการแช่ slightly AEW (pH = 6.12, ORP =

206.1 mV, ACC = 15 ppm) แต่พบจำนวนเชื้อโรคชีวิตประมาณ 5.6 log cfu/ml ในน้ำกลั่นซึ่งเป็นตัวอย่างควบคุม

3.2 ผลการลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ระหว่างการให้ความเย็นกึ่งด้วยน้ำแข็งที่ผลิตขึ้นจากน้ำอิเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลาง

ในงานวิจัยนี้ คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำแข็งที่มีปริมาณคลอรีนอิสระระดับ 50 และ 10 พีพีเอ็ม ตรวจวัดความเป็นกรดต่างได้ 7.06 และ 7.16 และวัดค่า ORP ได้ 882.67 และ 881.67 มิลลิโวลต์ ตามลำดับ ส่วนน้ำแข็งที่ได้จากน้ำประปา (ตัวอย่างควบคุม) มีคลอรีนอิสระอยู่ น้อยกว่า 2 พีพีเอ็ม (ตารางที่ 5)

**ตารางที่ 5** คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำแข็งที่ผลิตขึ้นจากประปาและน้ำอิเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลางที่ใช้ในการลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในกึ่ง

น้ำแข็งที่ผลิตขึ้น	ปริมาณคลอรีนอิสระ (พีพีเอ็ม)	ค่าความเป็นกรดต่าง	ค่า ORP (มิลลิโวลต์)
Tap Ice (TI)	1.37±0.05	7.21±0.02	197.33±3.06
NEW I 10	10.32±0.88	7.16±0.00	861.67±0.58
NEW I 50	48.92±0.41	7.06±0.05	882.67±3.06

**หมายเหตุ** Tap Ice (TI) = น้ำแข็งที่ผลิตจากน้ำประปา

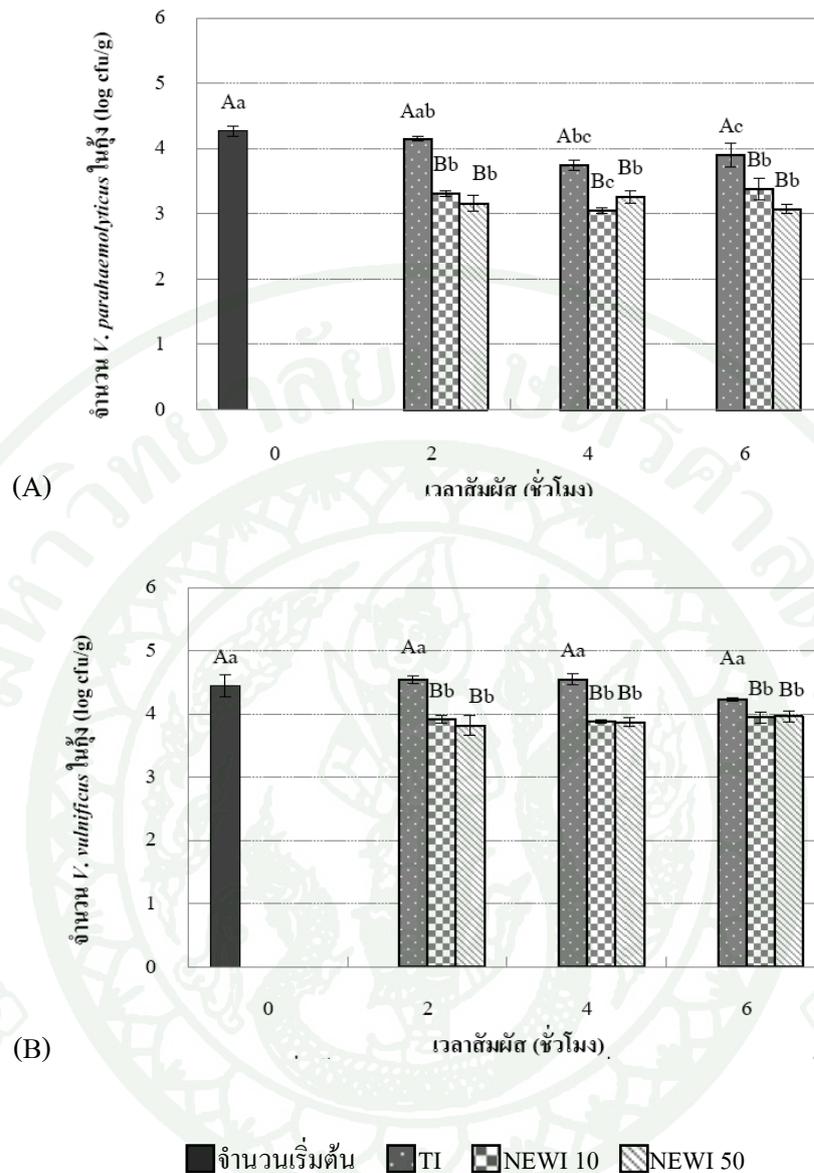
NEW I 10 และ NEW I 50 = น้ำแข็งที่ผลิตจาก NEW ที่มีปริมาณคลอรีนระดับ 10 และ 50 พีพีเอ็ม ตามลำดับ

ผลการทดลองแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลอง 3 ซ้ำ

หลังการแช่น้ำแข็งที่ผลิตจาก NEW ทั้งที่ระดับ 10 และ 50 พีพีเอ็ม มีผลทำให้จำนวนเชื้อ *V. parahaemolyticus* ลดลงไปประมาณ 1.2 log cfu/g จากเริ่มต้น 4.27 log cfu/g และการเพิ่มระยะเวลาจาก 2 เป็น 4 และ 6 ชั่วโมง ไม่ทำให้ปริมาณเชื้อแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เช่นเดียวกับเชื้อ *V. vulnificus* ซึ่งมีจำนวนเชื้อลดลงไปเพียงประมาณ 0.5 log cfu/g จากเริ่มต้น 4.45 log cfu/g ทั้งระดับคลอรีนอิสระ 10 และ 50 พีพีเอ็ม และการเพิ่มระยะเวลาไม่สามารถลดเชื้อได้เพิ่มขึ้น

เช่นเดียวกัน แต่เมื่อเทียบกับการแช่น้ำแข็งที่ผลิตจากน้ำประปา พบว่าไม่สามารถลดปริมาณเชื้อ *V. vulnificus* ได้เลย แม้จะเพิ่มระยะเวลาการแช่ให้นานขึ้น แต่สามารถลดเชื้อ *V. parahaemolyticus* ได้เมื่อแช่นาน 4 ชั่วโมง โดยลดได้ประมาณ 0.5 log cfu/g

การใช้น้ำแข็งจากน้ำประปาแช่เยนกึ่ง ที่ระดับเวลาใด ๆ จะไม่สามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อ *V. parahaemolyticus* เมื่อเพิ่มระยะเวลาการแช่เยนจาก 2 เป็น 4 และ 6 ชั่วโมง เชื้อจะลดลงได้อีกเล็กน้อย ด้วยจำนวนไม่เกิน 0.41 log cfu/g ดังภาพที่ 9 (A) ส่วนกรณีของเชื้อ *V. vulnificus* พบว่าการแช่เยนกึ่งด้วยน้ำแข็งที่ผลิตจากน้ำประปา ไม่สามารถลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ได้ ขณะที่น้ำแข็งที่ผลิตจาก NEW สามารถลดจำนวนเชื้อที่ปนเปื้อนในกึ่งได้ แต่ลดลงในปริมาณที่น้อยและจะมีประสิทธิภาพดีที่สุดในช่วงเวลา 2 ชั่วโมงแรกที่มีการสัมผัสกับน้ำแข็งนั้น ดังภาพที่ 9 (B) จากผลนี้แสดงว่าการใช้ NEW ในรูปของน้ำแข็งในการให้ความเย็นสัตว์น้ำมีประสิทธิภาพลดลงมากกว่าการใช้งานในรูปของน้ำ ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากอุณหภูมิในการใช้งานมีผลต่อประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ การใช้งานในรูปของน้ำแข็งที่มีอุณหภูมิต่ำกว่าในรูปของน้ำนั้น ทำให้ประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อต่ำกว่า ซึ่งอาจเนื่องมาจากเชื้อกลุ่มไวรัสโอเนื้อเจริญได้ดีที่อุณหภูมิปานกลาง ระหว่าง 25 ถึง 35 องศาเซลเซียสด้วย (ชลอ, 2543) อย่างไรก็ตาม การใช้น้ำแข็งที่ผลิตจาก NEW ให้ความเย็นวัตถุคิบสัตว์น้ำจะช่วยลดจุลินทรีย์ลงได้บางส่วน เมื่อเทียบกับการใช้น้ำแข็งจากน้ำประปา ซึ่งไม่สามารถลดจุลินทรีย์ได้เลย นอกจากนี้ การวิเคราะห์จำนวนเชื้อในน้ำแข็งที่ละลายหลังแช่กึ่งแล้ว (ทดลองเพิ่มเติม ไม่ได้แสดงผล) พบว่าไม่มีเชื้อ *V. parahaemolyticus* และ *V. vulnificus* ที่รอดชีวิตหลังจากการทดสอบเป็นเวลา 6 ชั่วโมง ทั้งในน้ำแข็งที่ผลิตจากน้ำประปาและน้ำแข็งที่มีระดับคลอรีนอิสระเท่ากับ 10 และ 50 พีพีเอ็ม



ภาพที่ 9 จำนวนเชื้อ *V. parahaemolyticus* (A) และ *V. vulnificus* (B) ที่รอดชีวิตในกึ่งหลังสัมผัส น้ำแข็งที่ผลิตจากน้ำประปา (TI) น้ำแข็งอิเล็กทรอนิกส์ความเข้มข้น 10 พีพีเอ็ม (NEWI 10) และ 50 พีพีเอ็ม (NEWI 50) ระหว่างการให้ความเย็นเป็นระยะเวลา 0, 2, 4 และ 6 ชั่วโมง

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยของจำนวนเชื้อที่กำกับด้วยอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์ใหญ่ในปริมาณคลอรีนอิสระที่แตกต่างกัน และอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กในเวลาสัมผัสเชื้อที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ผลการวิจัยนี้สอดคล้องกับการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อของ AEW ที่ศึกษาโดย Xie *et al.* (2012) ซึ่งพบว่าการใช้ AEW ที่มีอุณหภูมิ 4 และ 20 องศาเซลเซียส มีผลในการลดจำนวนเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่ปนเปื้อนในกุ้งต่ำกว่าที่สภาวะอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และผลเป็นทำนองเดียวกับงานวิจัยของ Feliciano *et al.* (2010) ที่พบว่าการใช้ น้ำแข็งที่ผลิตจาก NEW ที่มีคลอรีนอิสระ 150 พีพีเอ็ม แช่เนื้อปลาชนิดแล่ในสภาวะอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมงสามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อ *Listeria innocua*, *Pseudomonas putida* และ *E. coli* ได้ในปริมาณน้อย โดยลดลงเพียง 0.5 log cfu/g จากจำนวนเชื้อตั้งต้นประมาณ  $10^6$  ถึง  $10^7$  cfu/g

เช่นเดียวกับงานวิจัยก่อนหน้า ที่ศึกษาโดย Delaquis *et al.* (1999) ซึ่งพบว่าผลของสภาวะอุณหภูมิจะส่งผลต่อประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อของสารฆ่าเชื้อออกกลุ่มคลอรีน โดยที่สภาวะอุณหภูมิสูงจะทำให้สารฆ่าเชื้อมีประสิทธิภาพดีกว่าที่สภาวะอุณหภูมิต่ำ ซึ่งได้แสดงผลการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดจากการใช้งานที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นั้นมีความแตกต่างจากสภาวะที่มีอุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับการศึกษาผลของอุณหภูมิต่าง ๆ ต่อการใช้ AEW ในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* O157: H7 และ *L. monocytogenes* ซึ่งผลการใช้งานที่อุณหภูมิ 4 และ 23 องศาเซลเซียส จะมีประสิทธิภาพลดลงจากการใช้งานที่อุณหภูมิ 35 และ 45 องศาเซลเซียส (Venkitanarayanan *et al.*, 1999b) ทั้งนี้ ผลเนื่องจากองค์ประกอบของจุลินทรีย์ที่เป็นฟอสโฟลิพิดสามารถมีลักษณะเป็นของไหลได้ที่อุณหภูมิสูง อาจทำให้สารฆ่าเชื้อสามารถแทรกผ่านเซลล์ของจุลินทรีย์ได้เร็วกว่าสภาวะที่มีอุณหภูมิต่ำ (Feliciano *et al.*, 2010)

การลดการปนเปื้อนของเชื้อ *V. parahaemolyticus* และ *V. vulnificus* ในกุ้งขาวแวนนาไมที่สร้างสภาพการปนเปื้อน พบว่า การใช้ NEW ที่มีปริมาณคลอรีนอิสระ 50 พีพีเอ็ม เป็นเวลา 15 นาที หรือ 10 พีพีเอ็ม เป็นเวลา 30 นาที จะมีประสิทธิภาพดีที่สุด โดยสามารถลดการปนเปื้อน *V. parahaemolyticus* ในจำนวน 4.16 log cfu/g ได้หมด ในขณะที่การใช้ NEW ในสภาวะเดียวกันนี้ สามารถลดการปนเปื้อนเชื้อ *V. vulnificus* เริ่มต้น 4.31 log cfu/g ลงได้เพียงประมาณ 1.3 log cfu/g เท่านั้น ส่วนการใช้น้ำแข็งที่ผลิตจาก NEW นั้น พบว่ามีผลต่อการลดเชื้อทั้ง *V. parahaemolyticus* และ *V. vulnificus* น้อยมากกล่าวคือสามารถลด *V. parahaemolyticus* และ *V. vulnificus* ได้เพียง 1.2 และ 0.5 log cfu/g ตามลำดับ เมื่อสัมผัสกับน้ำแข็งที่ผลิตจาก NEW ที่มีปริมาณคลอรีนอิสระ 50 พีพีเอ็ม นาน 6 ชั่วโมง

#### 4. ผลการศึกษาการยอมรับทางประสาทสัมผัสของกึ่งหลังลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ด้วย NEW

สถานะที่เหมาะสมในการใช้ NEW เพื่อปรับปรุงคุณภาพของกึ่งทางด้านความปลอดภัย จากจุลินทรีย์ก่อโรคในงานวิจัยนี้ ได้แก่ การใช้ระดับคลอรีนอิสระ 10 พีพีเอ็ม ด้วยระยะเวลาสัมผัสกับกึ่งเท่ากับ 30 นาที ได้รับการคัดเลือกจากหัวข้อ 3.1 และนำมาใช้ในการแข่งกึ่งในการทดลองนี้ เพื่อศึกษาคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสเทียบกับกึ่งที่แช่น้ำประปาเป็นตัวอย่างควบคุม คะแนนการประเมินการยอมรับทางประสาทสัมผัส ดังแสดงในตารางที่ 6 โดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 18 คน และประเมินในลักษณะกึ่งดิบและสุก

จากการประเมินการยอมรับในคุณลักษณะของกึ่งดิบ ได้แก่ ลักษณะปรากฏ สี กลิ่น เนื้อสัมผัส และการยอมรับรวม และคุณลักษณะของกึ่งสุก ได้แก่ ลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และการยอมรับรวม พบว่า คะแนนการยอมรับในทุกคุณลักษณะ ทั้งในตัวอย่างดิบและสุก มีระดับคะแนนมากกว่า 6.56 ซึ่งเทียบเท่ากับความหมายชอบเล็กน้อยถึงชอบปานกลาง และพบว่าคุณภาพทางประสาทสัมผัสของกึ่ง เมื่อล้างด้วย NEW ในสถานะความเข้มข้นของคลอรีนและระยะเวลาสัมผัสตัวอย่างดังที่คัดเลือก ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p>0.05$ ) กับตัวอย่างกึ่งที่ผ่านการล้างด้วยน้ำประปา

การศึกษาในลักษณะเดียวกันโดย Loi-Braden *et al.* (2005) รายงานผลสอดคล้องกับผลการวิจัยนี้ กล่าวคือการใช้น้ำอเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกรด ที่มีคลอรีนอิสระ 40 พีพีเอ็ม เป็นเวลา 2 หรือ 5 นาที ร่วมกับน้ำอเล็กโทรไลซ์ชนิดต่าง เป็นเวลา 5 นาที ล้างกึ่งดิบก่อนนำไปแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส แล้วประเมินคุณภาพจากกึ่งในลักษณะสุก ได้แก่ กลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ ความชุ่มชื้นของผลิตภัณฑ์ ความแน่นเนื้อ กลิ่นกึ่ง รสชาติ และการยอมรับรวม และลักษณะของกึ่งดิบ ได้แก่ สี ความยืดหยุ่น กลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ การเกิดจุดดำ และการยอมรับรวม พบว่าไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกึ่งที่ล้างด้วย NEW และน้ำประปา (ตัวอย่างควบคุม)

ตารางที่ 6 คะแนนทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของกึ่งหลังล้างด้วยน้ำอเล็กโทโรไลซ์ ชนิดเป็นกลาง ความเข้มข้น 10 พีพีเอ็ม และน้ำประปา (ตัวอย่างควบคุม)

คุณลักษณะ	คะแนนประเมิน	
	น้ำประปา	น้ำอเล็กโทโรไลซ์ชนิดเป็นกลาง <sup>ns</sup>
กึ่งดิบ		
ลักษณะปรากฏ	6.94±1.35	7.00±1.24
สี	6.67±1.19	6.94±1.16
กลิ่น	6.78±0.94	6.94±1.16
เนื้อสัมผัส	7.22±1.00	7.11±1.02
ความชอบรวม	6.89±1.23	7.00±1.08
กึ่งสุก		
ลักษณะปรากฏ	6.78±1.22	6.94±1.11
สี	7.11±0.68	7.00±0.97
กลิ่น	6.56±1.04	7.11±1.02
รสชาติ	6.89±0.90	6.61±1.42
เนื้อสัมผัส	6.61±1.04	6.72±1.07
ความชอบรวม	6.83±0.98	6.94±1.11

หมายเหตุ ผลการทดลองแสดงเป็นค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของคะแนนประเมินโดยผู้ทดสอบทั้งหมด 18 คน

## สรุปและข้อเสนอแนะ

### สรุป

1. การศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพและความคงตัวของสมบัติ ของน้ำและน้ำแข็ง ที่ผลิตจาก NEW และ NaOCl ระหว่างเก็บรักษานาน 28 วัน พบว่า ปริมาณคลอรีนอิสระในน้ำและน้ำแข็ง ที่ผลิตจาก NEW ทั้งที่ระดับ 100 และ 200 พีพีเอ็ม ลดลงประมาณร้อยละ 20 ในสภาวะการเก็บในที่มืด ส่วนสภาวะมีแสงจะลดลงเป็น 2 เท่า คือประมาณร้อยละ 40 ส่วนสารละลาย NaOCl และน้ำแข็งนั้น มีปริมาณคลอรีนอิสระลดลงอย่างรวดเร็ว โดยที่ระดับ 200 พีพีเอ็ม จะลดลงร้อยละ 40 ถึง 60 และที่ระดับ 100 พีพีเอ็ม ลดลงไปถึงร้อยละ 60 ถึง 70 ทั้งในสภาวะที่มืดและมีแสง ขณะที่ค่า ORP และความเป็นกรดต่าง มีการเปลี่ยนแปลงน้อยทั้งที่ระดับเริ่มต้นคลอรีนอิสระเป็น 100 และ 200 พีพีเอ็ม และเมื่อเทียบกับ NaOCl พบว่าค่า ORP และความเป็นกรดต่างของน้ำและน้ำแข็งนี้มีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยในทิศทางตรงข้าม สรุปได้ว่า แสงเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อประสิทธิภาพของ NEW โดยมีผลในการเร่งอัตราการสูญเสียปริมาณคลอรีนอิสระได้

2. การลดการปนเปื้อนในเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ พบว่า NEW มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ที่มีจำนวนเชื้อตั้งต้นระดับ  $7 \log \text{cfu/ml}$  ของ *V. parahaemolyticus* และ *V. vulnificus* แตกต่างจาก *Salmonella* Enteritidis และ *E. coli* โดยสามารถกำจัดเชื้อ *V. parahaemolyticus* และ *V. vulnificus* ได้ทั้งหมด เมื่อใช้ปริมาณคลอรีนอิสระ 70 พีพีเอ็ม/5 นาที หรือ 100 พีพีเอ็ม/3 นาที ในการสัมผัสเชื้อ *V. parahaemolyticus* และใช้ปริมาณคลอรีนอิสระ 50 พีพีเอ็ม/3 นาที หรือ 100 พีพีเอ็ม/1 นาที ในการสัมผัสเชื้อ *V. vulnificus* ส่วนการใช้ NEW ที่มีความเข้มข้นของคลอรีนระดับ 10 ถึง 100 พีพีเอ็ม และมีระยะเวลาสัมผัสเชื้อในช่วง 1 ถึง 5 นาที ซึ่งเป็นสภาวะที่นำมาศึกษานี้ยังไม่มียมีประสิทธิภาพเพียงพอต่อการฆ่าเชื้อ *Salmonella* Enteritidis และ *E. coli* โดยในทุกสภาวะสามารถลดจำนวนเชื้อได้ไม่เกิน  $0.5 \log \text{cfu/ml}$

3. การลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในกุ้งขาวแวนนาไมด้วย NEW พบว่า NEW มีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อในตัวอย่างกุ้งน้อยกว่าในเชื้อบริสุทธิ์ของ *V. parahaemolyticus* และ *V. vulnificus* เมื่อใช้ NEW ที่มีคลอรีนอิสระ 50 พีพีเอ็ม/15 นาที หรือ 10 พีพีเอ็ม/30 นาที จะมีประสิทธิภาพดีที่สุดในการลดการปนเปื้อนของ *V. parahaemolyticus* ในกุ้ง โดยทำลายเชื้อได้ทั้งหมด จากที่มีจำนวนการปนเปื้อน  $4.16 \log \text{cfu/g}$  ส่วนการลดการปนเปื้อนของ *V. vulnificus* ใน

กึ่ง นั้น เมื่อใช้ NEW ที่มีคลอรีนอิสระ 10 และ 50 พีพีเอ็ม จะไม่สามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อ จำนวน 4.31 log cfu/g ได้หมด อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาที่ระดับคลอรีนอิสระเท่ากับ 10 พีพีเอ็ม อาจเพิ่มประสิทธิภาพในการลดการปนเปื้อนได้โดยการเพิ่มระยะเวลาสัมผัสตัวอย่าง

4. การลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในกุ้งขาวแวนนาไมในระหว่างการให้ความเย็น ด้วยน้ำแข็งที่ผลิตขึ้นจาก NEW พบว่า การใช้งานของ NEW ในรูปของน้ำแข็งที่มีอุณหภูมิต่ำ ที่มี คลอรีนอิสระ 10 และ 50 พีพีเอ็ม จะมีผลให้ประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อต่ำกว่าการใช้งานในรูป ของน้ำ โดยลดการปนเปื้อนของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในกุ้ง ได้ประมาณ 1.2 log cfu/g จากที่มี จำนวนการปนเปื้อน 4.27 log cfu/g และ ลดการปนเปื้อนของ *V. vulnificus* ในกุ้ง ได้เพียงประมาณ 0.5 log cfu/g เท่านั้น เมื่อใช้น้ำแข็งสัมผัสกับกุ้งนานถึง 6 ชั่วโมง

5. การศึกษาผลการยอมรับทางประสาทสัมผัสของกุ้งหลังแช่ด้วย NEW พบว่า การใช้งาน ในรูปของน้ำหรือสารละลาย ที่มีคลอรีนอิสระ 10 พีพีเอ็ม เป็นเวลา 30 นาที เพื่อวัตถุประสงค์ใน การลดปริมาณจุลินทรีย์ก่อโรค จะไม่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางประสาทสัมผัสของกุ้ง ขาวแวนนาไมทั้งดิบและสุก

### ข้อเสนอแนะ

1. สภาวะของการใช้ NEW ที่ได้จากงานวิจัยนี้ อาจจะไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม อาหารได้ แต่ทั้งนี้ต้องขึ้นอยู่กับชนิดและจำนวนเชื้อที่ปนเปื้อนด้วย ดังนั้นควรศึกษาทดลอง เบื้องต้นใน โรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปสัตว์น้ำ เพื่อเป็นต้นแบบในการนำไปประยุกต์ใช้งานใน อุตสาหกรรมต่อไป

2. ควรเพิ่มเติมระดับของปัจจัยที่มีผลต่อความคงตัว และมีการศึกษาปัจจัยอื่น ๆ เพิ่มเติม เช่น สภาวะเปิด-ปิดของภาชนะ และประเภทของภาชนะบรรจุ เป็นต้น เพื่อให้ได้สภาวะที่ เหมาะสมที่สุดในการใช้ NEW เพื่อทำลายเชื้อจุลินทรีย์ และควรศึกษาประสิทธิภาพของ NEW ใน การลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในสัตว์น้ำชนิดอื่นหรือลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ชนิดอื่น เพิ่มเติม

## เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กนกทิพย์ ทรัพย์เจริญกุล. 2550. **ประสิทธิภาพของคลอรีนไดออกไซด์และน้ำอเล็กโทรไลซ์ชนิดกรดในการทำลายฟิล์มชีวภาพของบาซิลลัส ซีเรียส สเตฟฟีโลคอกคัส ออเรียส และสปอร์เกาติคของบาซิลลัส ซีเรียส บนพื้นผิวสัมผัสอาหาร.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

กรมโรงงานอุตสาหกรรม. 2551. **หลักการและมาตรการป้องกันภัยจากคลอรีน ฉบับปรับปรุง.** พิมพ์ครั้งที่ 2. บริษัท วี. เอ็น. อินเทอร์เน็ต จำกัด, สมุทรปราการ.

กรรณิการ์ สิริสิงห์. 2549. **เคมีของน้ำ น้ำไฮโครก และการวิเคราะห์.** พิมพ์ครั้งที่ 4. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันราชภัฏจันทรเกษม, กรุงเทพฯ.

คณะกรรมการบริหารคัสเตอร์กึ่งประเทศไทย. 2550. **ดัชนีชี้วัดขีดความสามารถในการแข่งขันทางอุตสาหกรรมกึ่งไทย.** สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ, กรุงเทพฯ.

จิตศิริ ทองสอน. 2543. **ประสิทธิภาพของสารประกอบคลอรีนร่วมกับกรดอินทรีย์ในการลดปริมาณ *Salmonella Typhimurium* ในผักสด.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จุฬารัตน์ เลิศบวรวงศ์. 2551. **สุขาภิบาลสำหรับโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร (Food Plant Sanitation).** แหล่งที่มา: [http://e-book.ram.edu/e-book/f/FD444\(51/FD444-6.pdf](http://e-book.ram.edu/e-book/f/FD444(51/FD444-6.pdf), 20 สิงหาคม, 2553.

ชลอ ลิมสุวรรณ . 2543. **กึ่งไทย ปี 2000.** สำนักพิมพ์เจริญรัตน์การพิมพ์, กรุงเทพฯ.

- ชลอ ลิมสุวรรณ, นิติ ชูเชิด, ทิมโมที วิลเลียม เฟลเกล, ภิญโญ เกียรติภิญโญ และ บริษัท  
 ซาฮาคควาสยาม จำกัด. 2548. รายงานการวิจัยการศึกษาการขยายพันธุ์พ่อแม่พันธุ์  
 กุ้งขาวแวนนาไมปลอดเชื้อ. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, กรุงเทพฯ.
- ชลอ ลิมสุวรรณ และ พรเลิศ จันทร์รัชกุล. 2547. อุตสาหกรรมเพาะเลี้ยงกุ้งในประเทศไทย.  
 สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. บริษัท เมจิก ฟิชฟาร์ม จำกัด, กรุงเทพฯ.
- นนุช รักสกุลไทย. ม.ป.ป. เอกสารประกอบการสอน 254521 Food Additives in Fishery  
 Industry. ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ. 2541. จุลชีววิทยาทั่วไป. พิมพ์ครั้งที่ 2.  
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- นันทพร เถาสุวรรณ. 2547. ทางเลือกใหม่ในการกำจัดเชื้อโรคโดยใช้คลอรีนไดออกไซด์  
 (Chlorine Dioxide, ClO<sub>2</sub>). แหล่งที่มา: [http://www.navy.mi.th/science/Webpage/  
 newdocument/ clo2.htm.](http://www.navy.mi.th/science/Webpage/newdocument/clo2.htm), 20 สิงหาคม, 2553.
- นนทิดา ทศพร. 2548. ผลของการเจริญแข่งขันของเชื้อราและซาลโมเนลลาและการลดการ  
 ปนเปื้อนของเชื้อราและซาลโมเนลลาในมะม่วง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท,  
 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ประพันธ์ โนระดี. 2554. การค้าสินค้าประมงระหว่างประเทศ. กลุ่มวิเคราะห์การค้าสินค้าประมง  
 ระหว่างประเทศ, กองประมงต่างประเทศ, กรมประมง. แหล่งที่มา:  
[www.fisheries.go.th/foreign/images/pdf/v06154.pdf](http://www.fisheries.go.th/foreign/images/pdf/v06154.pdf), 28 กรกฎาคม, 2554.
- ปิยะบุตร วานิชพงษ์พันธุ์. 2545. ศาสตร์ของกุ้งขาว ลิโทพีเนียส แวนนาไม (ตอนที่ 1). ว. สัตว์  
 น้ำ. 158: 87-90.

พจมาน เขยเดช. 2549. การศึกษาคุณภาพของกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) ที่เลี้ยงด้วยน้ำความเค็มต่ำในสถานะการเลี้ยงที่แตกต่างกัน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ภิญโญ เกียรติภิญโญ. 2545. วิธีปฏิบัติสำหรับการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (Practical Technology for *Litopenaeus vannamei* Culture). สำนักพิมพ์เมืองเกษตรแม่กาศน, สมุทรปราการ.

ศรีวรรณ หัตยานนท์, กฤษณา ภูริกิตติชัย, กรองแก้ว สุภวัฒน์ และ ปฐม สวรรค์ปัญญาเลิศ. 2549. มหันตภัยจากเชื้อ *Vibrio vulnificus*. รายงานเฝ้าระวังทางระบาดวิทยาประจำสัปดาห์ 37(45): 797-811.

สุมนทา วัฒนสินธุ์. 2547. การสุขาภิบาลอาหาร. โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อรพิมพ์ มงคลเคหา. ม.ป.ป. เอกสารประกอบการเรียน เรื่อง เทคโนโลยีการจัดการน้ำ. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการจัดการน้ำ มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา. แหล่งที่มา: <http://web.bsru.ac.th/~jumpot/learning.html>, 5 เมษายน, 2555.

อรษา สุตเชียรกุล. 2540. เอกสารประกอบการบรรยาย เรื่อง ความก้าวหน้าในการตรวจหาเชื้อ *Escherichia coli* O157:H7. การสัมมนาทางวิชาการ เรื่องความก้าวหน้าในการตรวจหาเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ. 14 ตุลาคม 2540 ณ โรงแรมเชลทรีลพลาซ่า และ 15 ตุลาคม 2540 ณ โรงแรมฮิลตัน. Merck Ltd., กรุงเทพฯ.

Abadias, M., J. Usall, M. Oliveira, I. Alegre, and I. Vinas. 2008. Efficacy of neutral electrolyzed water (NEW) for reducing microbial contamination on minimally processed vegetables. **Int. J. Microbiol.** 123: 151-158.

Al-Haq, M.I., J. Sugiyama and S. Isobe. 2005. Review Applications of Electrolyzed Water in Agriculture & Food Industries. **Food Sci. Technol. Res.** 11(2): 135-150.

American Public Health Association (APHA). 2005. **Standard Methods for the Examination Water and Wastewater**. 21<sup>st</sup> ed. American Public Health Association, Washington, D.C.

Anonymous. 1997. **Principle of Formation of Electrolytic Water**. Hoshizaki Electric Co. Ltd., Sakae, Toyoake, Aichi, Japan.

Anonymous. 2008. Corona Discharge vs UV Ozone. Available source: [http://www.ozoneapplications.com/info/cd\\_vs\\_uv.htm](http://www.ozoneapplications.com/info/cd_vs_uv.htm), Sep 30, 2010.

Archer, D.L. and F.E. Young. 1998. Contemporary issues: Diseases with a food vector. **Clin. Microbiol. Rev.** 1: 377-398.

Beuchat, L.R. 1995. Pathogenic microorganisms associated with fresh produce. **J. Food Prot.** 59(2): 204-216.

Boyette, M.D., D.F. Ritchie, S.J. Carballo, S.M. Blankenship and D.C. Sanders. 1993. Chlorination and postharvest disease control. **Hort. Technol.** 3: 395-400.

Cao, W., Z.W. Zhu, Z. Shi, C.Y. Wang and B.M. Li. 2009. Efficacy of slightly acidic electrolyzed water for inactivation of *Salmonella enteritidis* and its contaminated shell eggs. **Int. J. Food Microbiol.** 130: 88-93.

Center for Disease Control and Prevention (CDC). 2008. Preliminary FoodNet Data on the Incidence of Infection with Pathogens Transmitted Commonly Through Food --- 10 States, 2008. **Morb. Mortal. Wkly. Rep.** 58: 333-337.

Chiu, T.H., J. Duan, C. Liu and Y.C. Su. 2006. Efficacy of electrolysed oxidizing water in inactivating *Vibrio parahaemolyticus* on kitchen cutting boards and food contact surfaces. **Lett. Appl. Microbiol.** 43: 666-672.

- Chung, K.C. and J.M. Goepfert. 1970. Growth of *Salmonella* at low pH. **J. Food Sci.** 35: 326-328.
- Codex Alimentarius Commission. 2000. Joint FAO/WHO Food Standards Programme Codex Committee on Fish and Fishery Products. Twenty-fourth Session Alesund, Norway, 5-9 June 2000. Available Source: [ftp://ftp.fao.org/codex/ccffp24/fp00\\_13e.pdf](ftp://ftp.fao.org/codex/ccffp24/fp00_13e.pdf), September 11, 2011.
- Cui, X.Y., Shang, Z. Shi, H. Xin and W. Cao. 2009. Physicochemical properties and bactericidal efficiency of neutral and acidic electrolyzed water under different storage conditions. **J. Food Eng.** 91: 582-586.
- D'Aoust, J.Y. 1981. Update on preenrichment and selective enrichment condition for detection on *Salmonella* in foods. **J. Food Prot.** 44: 369-374.
- Delaquis, P.J., S. Stewart, P.M.A. Toivonen and A.L. Moyls. 1999. Effect of warm, chlorinated water on the microbial flora of shredded iceberg lettuce. **Food Res. Int.** 32: 7-14.
- Deza, M.A., M. Araujo and M.J. Garrido. 2003. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enteritidis* and *Listeria monocytogenes* on the surface of tomatoes by neutral electrolyzed water. **Lett. Appl. Microbiol.** 37: 428-487.
- Deza, M.A., M. Araujo and M.J. Garrido. 2005. Inactivation of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* on stainless steel and glass surfaces by neutral electrolysed water. **Lett. Appl. Microbiol.** 40: 341-346.
- Doyle, M.E. and A.S. Mazzotta. 2000. Review of studies on the thermal resistance of *Salmonellae*. **J. Food Prot.** 63:779-795.

- Dupont, H.L., S.B. Formal, R.B. Hornick, M.J. Snyder, J.P. Libonati, D.G. Sheahan, E.H. Labrec and J.P. Kalas. 1971. Pathogenesis of *Escherichia coli* diarrhea. **N. Engl. J. Med.** 285: 1.
- Fabrizio, K.A. and C.N. Cutter. 2003. Stability of electrolyzed oxidizing water and its efficacy against cell suspensions of *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes*. **J. Food Proc.** 66(8): 1379-1384.
- Fabrizio, K.A. and C.N. Cutter. 2005. Application of electrolyzed oxidizing water to reduce *Listeria monocytogenes* on ready-to-eat meat. **Meat Sci.** 71(2): 327-333.
- FAO. 2009. Aquaculture topics and activities. State of world aquaculture. **Text by Rohana Subasinghe**. In: FAO Fisheries and Aquaculture Department, Rome. Available Source: [http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Litopenaeus\\_vannamei/en](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Litopenaeus_vannamei/en), June 20, 2010.
- Feliciano, L., J. Lee, J.A. Lopes and M.A. Pascall. 2010. Efficacy of sanitized ice in reducing bacterial load on fish fillet and in the water collected from the melted ice. **J. Food Sci.** 75(4): M231-M238.
- Floyd, R. 1979. Inactivation by chlorine of single poliovirus in water. **Environ. Sci. Technol.** 13 (4): 432-433.
- Forsythe, S.J. 2000. **The Microbiology of Safe Food**. Department of life sciences, Nottingham, Trent University, Blackwell Science Ltd., Oxford.
- Forsythe, S.J. 2002. **The Microbiological Risk Assessment of Food**. Department of life sciences, Nottingham, Trent University, Blackwell Science Ltd., Oxford.

- General Accounting Office (GAO). 2004. **Food Safety: FDA's Imported Seafood Safety Program Shows Some Progress, but Further Improvements Are Needed.** Available Source: <http://www.gao.gov/new.items/d04246.pdf>, July 20, 2009.
- Gomez-Lopez, V.M., P. Ragaert, J. Ryckeboer, V. Jeyachandran, J. Debevere and F. Devlieghere. 2007. Shelf-life of minimally processed cabbage treated with neutral electrolysed oxidizing water and stored under equilibrium modified atmosphere. **Int. J. Food Microbiol.** 177: 91-98.
- Graham, D.M. 1997. Use of ozone for food processing. **J. Food Technol.** 51: 72-75.
- Guentzel, J.L., K.L. Lam, M.A. Callan, S.A. Emmons and V.L. Dunham. 2008. Reduction of bacteria on spinach, lettuce and surfaces in food service areas using neutral electrolyzed oxidizing water. **Food Microbiol.** 25: 36-41.
- Guthrie, R.K. 1991. *Salmonella*. CRC Press. N.W. Boca Raton, Florida.
- Holthuis, L.B. 1980. Shrimp and prawns of the world. **FAO A species Catalogue Vol.1.** Food and Agriculture Organization of the United Nation, Rome.
- Hsu, S.Y. 2005. Effects of flow rate, temperature and salt concentration on chemical and physical properties of electrolyzed oxidizing water. **J. Food Eng.** 66: 171-176.
- Huang, Y.R., H.S. Hsieh, S.Y. Lin, S.J. Lin, Y.C. Hung and D.F. Hwang. 2006. Application of electrolyzed oxidizing water on the reduction of bacterial contamination for seafood. **Food control** 17: 987-993.
- Huang, Y.C. Hung, S.Y. Hsu, Y.W. Huang and D.F. Hwang. 2008. Application of electrolyzed water in the food industry. **Food Control** 19: 329-345.

International Commission on Microbiological Specification for Foods (ICMSF). 1996.

**Microorganisms in foods.** Vol. 5 Microbiological specification of food pathogens. 1<sup>st</sup> ed. Blackie Academic and Professional, London, UK.

Issa-Zacharia, A., Y. Kamitani, K. Morita, K. Iwasaki and A. Tisekwa. 2010. *In vitro* inactivation of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* spp. using slightly acidic electrolyzed water. **J. Biosci and Bioeng.** 110(3): 308-313.

Jay, J.M. 1992. **Modern Food Microbiology.** 4<sup>th</sup> ed. Chapman & Hall, New York.

Joseph, S.W., R.R. Colwell and J.B. Kaper. 1983. *Vibrio parahaemolyticus* and related halophilic vibrios. **Crit. Rev. Microbiol.** 10: 77-123.

Johnson, J.D. 1975. **Disinfection Water and Wastewater** 2<sup>nd</sup> ed. Chapel Hill, USA.

Joseph, S.W., R.R. Colwell and J.B. Kaper. 1983. *Vibrio parahaemolyticus* and related halophilic vibrios. **Crit. Rev. Microbiol.** 10: 77-123.

Kim, C., Y.C. Hung and R.E. Brachett. 2000. Role of oxidation-reduction potential in electrolyzed oxidizing and chemically modified water for inactivation of food-related pathogens. **J. Food Prot.** 63: 19-24.

Kim, J., A. Yousef and S. Dave. 1999. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods. A review. **J. Food Prot.** 62: 1071-1087.

Koseki, S., K. Yoshida, S. Isobe and K. Itoh. 2004. Effect of mild heat pre-treatment with alkaline electrolyzed water on the efficacy of acidic electrolyzed water against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* on lettuce. **Food Microbiol.** 21: 559-566.

- Len, S.V., Y.C., Hung, D. Chung, J.L. Anderson, M.C. Erickson and K. Morita. 2002. Effects of storage conditions and pH on chlorine loss in electrolyzed oxidizing (EO) water. **J. Agri. Food Chem.** 50: 209-212.
- Liao, L.B., W.M. Chen and X.M. Xiao. 2007. The generation and inactivation mechanism of oxidation-reduction potential of electrolyzed oxidizing water. **J. Food Eng.** 78: 1326-1332.
- Loi-Braden, M.H., T.S. Huang, J.H. Kim, C.I. Wei and J. Weese. 2005. Use of electrolyzed oxidizing water for quality improvement of frozen shrimp. **J. Food Sci.** 70(6): M310-M315.
- Mair, J.M. 1980. Salinity and water-type preferences of four species of postlarval shrimp (*Penaeus*) from West Mexico. **J. Exp. Mar. Bio. Eco.** 45: 69-82.
- Mcpherson, L.L. 1993. Understanding ORP's in the disinfection process. **Water Engineering & Management** 140: 29-31.
- Miyashita, K., M. Yasuda, T. Ota and T. Suzuki. 1999. Antioxidative activity of a cathodic solution produced by the electrolysis of a dilute NaCl solution. **Biosci. Bioch.** 63: 421-423.
- Nobuo, A., K. Masahiko, Y. Kyoichiro, K. Shinichi and A. Kazuhiro. 2004. Viable bacterial counts on fresh-cut salads and bactericidal effect of electrolyzed acidic water. **J. Food Pres. Sci.** 30(4): 185-190.
- Oldham, H.B. and J.C. Mayland. 1994. **Fundamental of Electrochemical Science.** Academic Press, San Diego. p120-122.

- Oomori, T., T. Oka, T. Inuta and Y. Arata. 2000. The efficiency of disinfection of acidic electrolyzed water in the presence of organic materials. **Anal. Sci.** 16: 365-369.
- Ozer, N.P. and A. Demirci. 2006. Electrolyzed oxidizing water treatment for decontamination of raw salmon inoculated with *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* Scott A and response surface modeling. **J. Food Eng.** 72(3): 234-241.
- Park, C.M., Y.C. Hung and R.E. Brackett. 2002. Antimicrobial effect of electrolyzed water for inactivating *Campylobacter jejuni* during poultry washing. **Int. J. Food Microbiol.** 72: 77- 83.
- Park, H., Y.C. Hung and D. Chung. 2004. Effects of chlorine and pH on efficacy of electrolyzed water for inactivating *Escherichia coli* O157 :H7 and *Listeria monocytogenes*. **Int. J. Food Microbiol.** 91: 13-18.
- Perez Farfante, I. and B. Kensley. 1997. Penaeoid and Sergestoid Shrimps and Prawns of the World. **Key and Diagnoses for the Families and Genera.** Memories du Museum National, Paris, France.
- Pernezny, K., N.R. Raid, N. Havranek and J. Sanchez. 2005. Toxicity of mixed-oxidant electrolyzed oxidizing water to in vitro and leaf surface diseases in the greenhouse. **Crop Prot.** 24: 748-755.
- Phuvasate, S. and Y.C. Su. 2009. Effect of electrolyzed oxidizing water and ice treatments on reducing histamine-producing bacteria on fish skin and food contact surface. **Food Control** 21: 286-291.
- Pomposiello, P.J. and B. Demple. 2001. Redox-operated genetic switches: the SoxR and OxyR transcription factors. **Trend Biotechnol.** 19: 109-114.

- Quan, Y.R., K.D. Choi, D. Chung and I.S. Shin. 2010. Evaluation of bactericidal activity of weakly acidic electrolyzed water (WAEW) against *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus*. **Int. J. Food Microbiol.** 136: 255-260.
- Ren, T. and Y. Su. 2006. Effect of electrolyzed oxidizing water treatment on reducing *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* in raw oysters. **J. Food Prot.** 69(8): 1829-1834.
- Restaino, L., E.W. Frampton, J.B. Hemphill and P. Palnikar. 1995. Efficacy of ozonated water against various food-related microorganisms. **Appl. Environ. Microb.** 61: 3471-3475.
- Ryser, E.T. and E.H. Marth. 2000. *Listeria*, listeriosis and food safety. New York, Marcel Dekker.
- Samacha, T.M., A.D. Davis, A.L. Lawrence, C.R. Collins and P. Van Wyk. 2001. Intensive and super-intensive production of the Pacific white *Litopenaeus vannamei*. In **Greenhouse -enclose Raceway System**. Book of Abstract, Aquaculture 2001, Lake Buena vista, FL.
- Shimizu, Y. and T. Hurusuwa. 1992. Antiviral, antibacterial and antifungal actions of electrolyzed oxidizing water through electrolysis. **Dent. J.** 37: 1055-1062.
- Smith, J.L., S.A. Palumbo and I. Walls. 1993. Relationships between foodborne bacteria pathogens and reactive arthritides. **J. Food Safety.** 13: 209-236.
- Tatsumi, Y., K. Umimoto, Y. Kumayama and K. Jokei. 2006. Effect of long-term storage on bacteriacidal activity of strong acidic electrolyzed water. **IFMBE, Proc.** 14: 3596-3599.
- Thupila, N., P. Ratana-arporn and P. Wilaipan. 2011. Radiation resistances and decontamination of common pathogenic bacteria contaminated in white scar oyster (*Crassostrea belcheri*) in Thailand. **Radiation Physics and Chemistry** 80: 828-832.

- Umimoto, K., H. Kawanishi, K. Kobayashi and J. Yanagida. 2008. Development of a device to provide electrolyzed water for home care. **IFMBE, Proc.** 21: 738-741.
- Umimoto, K., H. Kawanishi, Y. Tachibana, N. Kawai, S. Nagata and J. Yanagida. 2009. Development of automatic controller for providing multi electrolyzed water. **IFMBE, Proc.** 25: 306-309.
- Umimoto, K., Y. Kanno, T. Kawabata and K. Jokei. 2005. Characteristics of strong acidic electrolyzed water. **IFMBE/APCMBE, Proc.** 8.
- USDA- Food Safety and Inspection Service (USDA-FSIS). 2006. **Food safety: Bacteria, spoilage.** Available Source: [http://www.fsis.usda.gov/help/FAQs\\_Food\\_Spoilage/index.asp](http://www.fsis.usda.gov/help/FAQs_Food_Spoilage/index.asp), March 27, 2009.
- Venkitanarayanan, K.S., M.P. Doyle, G.O. Ezeike and Y.C. Hung. 1999a. Efficacy of electrolyzed oxidizing water for inactivating *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enteritidis*, and *Listeria monocytogenes*. **Appl. Environ. Microb.** 65: 4276–4279.
- Venkitanarayanan, K.S., M.P. Doyle and T. Zhao. 1999b. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 by combinations of GRAS chemicals and temperature. **Food Microbiol.** 16(1): 75–82.
- Wang, H., H. Feng, W.Liang, Y. Luo and V. Malyarchuk. 2009. Effect of surface roughness on retention and removal of *Escherichia coli* O157:H7 on surface of selected fruit. **J. Food Sci.** 74: 8-15.
- Wei, C.I., D.L. Cook and R. Kirk. 1985. Use of chlorine compounds in the food industry. **Food Technol.** 39(1): 107-115.
- White, G.C. 1972. **Handbook of Chlorination.** Van Nostrand Reinhold Ltd., Canada.

White, G.C. 1992. **Handbook of Chlorination and Alternative Disinfectants**. 3<sup>rd</sup> ed. Van Nostrand Reinhold Ltd., New York.

World Health Organization (WHO). 2007. **Food safety and foodborne illness**. Available Source: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs237/en/>, March 27, 2009.

Xie, J., X. Sun, Y. Pan and Y. Zhao. 2012. Combining basic electrolyzed water pretreatment and mild heat greatly enhanced the efficacy of acidic electrolyzed water against *Vibrio parahaemolyticus* on shrimp. **Food Control** 23: 320-324.

Zillich, J.A. 1972. Toxicity of combined chlorine residuals to freshwater fish. **J. WPCF**, 44 (2): 212-220.



ภาคผนวก



### 1. Tryptic Soy Agar (TSA, Difco) และ Tryptic Soy Agar ที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 1.5

Tryptone (Pancreatic digest of casein)	15.0	กรัม
Soytone (Papaic digest of soybean meal)	5.0	กรัม
Sodium chloride	5.0	กรัม

(เพิ่ม Sodium chloride อีก 10.0 กรัม สำหรับการเตรียม Tryptic Soy Agar ที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 1.5)

Agar	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

ปรับความเป็นกรดต่างสุดท้ายเป็น  $7.3 \pm 0.2$  ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 1 ลิตร หลอมละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

### 2. Tryptic Soy Broth (TSB, Difco) และ Tryptic Soy Broth ที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 1.5

Tryptone (Pancreatic digest of casein)	15.0	กรัม
Soytone (Papaic digest of soybean meal)	5.0	กรัม
Sodium chloride	5.0	กรัม

(เพิ่ม Sodium chloride อีก 10.0 กรัม สำหรับการเตรียม Tryptic Soy Broth ที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 1.5)

Dipotassium phosphate	2.5	กรัม
Dextrose	2.5	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

ปรับความเป็นกรดต่างสุดท้ายเป็น  $7.3 \pm 0.2$  ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 1 ลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศา

เซลเซียส นาน 15 นาที

**3. Alkaline peptone water (APW, Merck) ที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 3**

Peptone from meat	10.0	กรัม
Sodium chloride	30.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 1 ลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

**4. L-eosin methylene blue agar (L-EMB, Difco)**

Pancreatic digest of gelatin	10.0	กรัม
Lactose	10.0	กรัม
Dipotassium phosphate	2.0	กรัม
Eosin Y	0.4	กรัม
Methylene blue	0.065	กรัม
Agar	15.0	กรัม

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 1 ลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

**5. Xylose lysine deoxycholate agar (XLD, Difco)**

Xylose	3.5	กรัม
L-lysine	5.0	กรัม
Lactose	7.5	กรัม
Sucrose	7.5	กรัม
Sodium chloride	5.0	กรัม

Yeast extract	3.0	กรัม
Phenol red	0.08	กรัม
Sodium desoxycholate	2.5	กรัม
Sodium thiosulfate	6.8	กรัม
Ferric ammonium citrate	0.8	กรัม
Agar	13.5	กรัม

ปรับความเป็นกรดต่างสุดท้ายเป็น  $7.4 \pm 0.2$  ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

ละลายส่วนผสมทั้งหมดโดยนำไปต้มให้เดือด ห้ามนำเข้าหม้อนึ่งมาเชื้อ

#### 6. Thiosulfate citrate bile sucrose agar (TCBS, Difco)

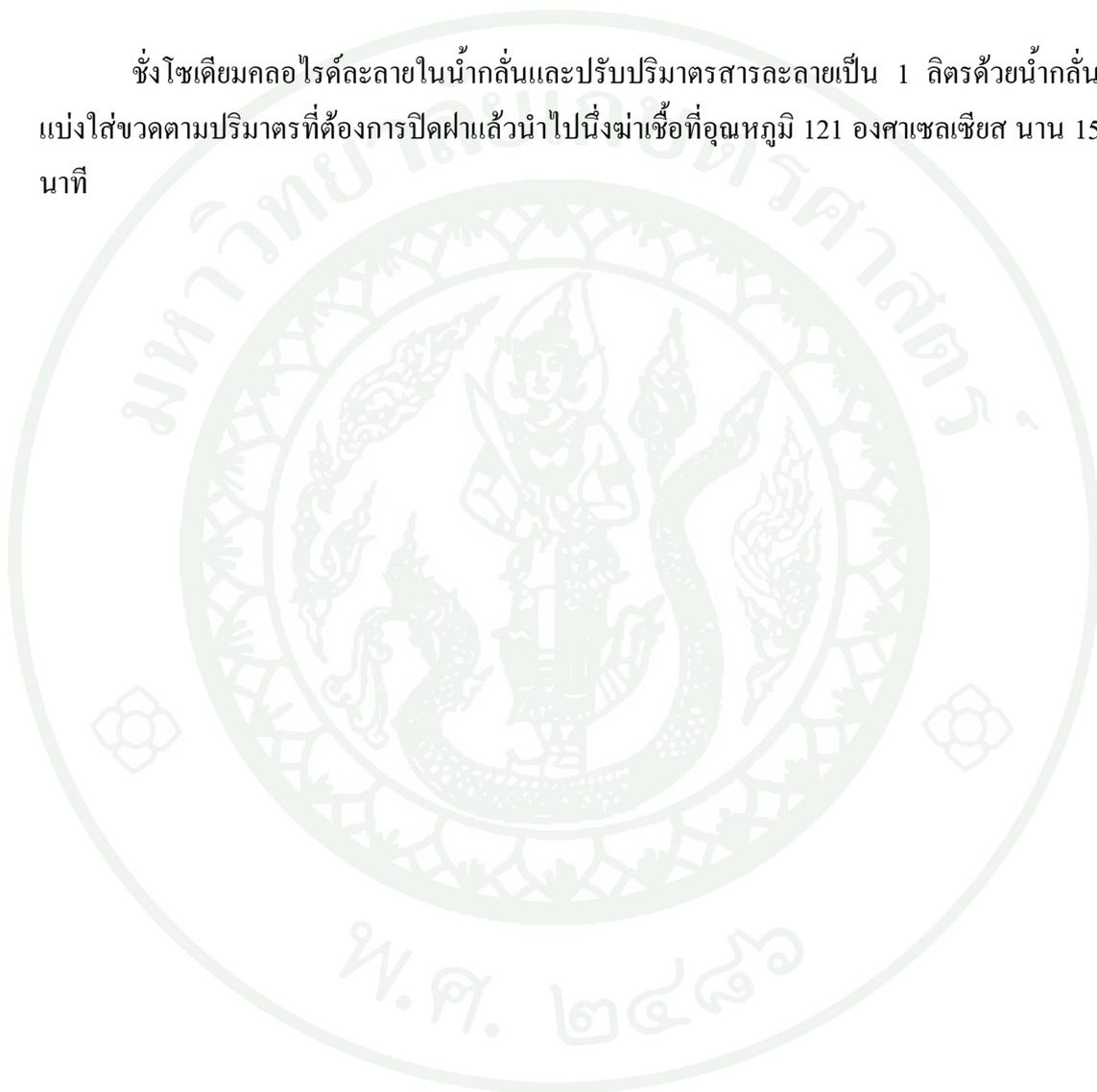
Yeast extract	5.0	กรัม
Pancreatic digest of casein	15.0	กรัม
Peptic digest of animal tissue	5.0	กรัม
Sodium citrate	10.0	กรัม
Sodium thiosulfate	10.0	กรัม
Oxgall, dehydrate	5.0	กรัม
Sodium cholate	3.0	กรัม
Sucrose	20.0	กรัม
Sodium chloride	10.0	กรัม
Ferric citrate	1.0	กรัม
Thymol blue	0.04	กรัม
Bromthymol blue	0.04	กรัม
Agar	14.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดโดยนำไปต้มให้เดือด ห้ามนำเข้าหม้อนึ่งมาเชื้อ

### 7. สารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0.85

โซเดียมคลอไรด์	8.5	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

ชั่งโซเดียมคลอไรด์ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรสารละลายเป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น แบ่งใส่ขวดตามปริมาตรที่ต้องการปิดฝาแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที





ภาคผนวก ข  
วิธีวิเคราะห์ความเข้มข้นของคลอรีนอิสระ

## 1. การเตรียมสารเคมี

1.1 สารละลายโซเดียมไซโอซัลเฟตเข้มข้น 0.1 นอร์มัล เตรียมโดยละลายโซเดียมไซโอซัลเฟต 6.25 กรัม ในน้ำกลั่นที่ผ่านการต้มเดือด แล้วทำให้ปริมาตรของสารละลายเป็น 250 มิลลิลิตร เก็บไว้ 2 สัปดาห์ แล้วจึงนำมาไตเตรทกับสารละลายมาตรฐาน โพแตสเซียมไดโครเมตเข้มข้น 0.1 นอร์มัล เพื่อหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายโซเดียมไซโอซัลเฟต และเก็บรักษาโดยการเติมคลอโรฟอร์มลงไป 2-3 มิลลิลิตร

1.2 สารละลายโซเดียมไซโอซัลเฟตเข้มข้น 0.01 นอร์มัล เตรียมโดยการปิเปตสารละลายโซเดียมไซโอซัลเฟตเข้มข้น 0.1 นอร์มัล (จากข้อ 1.2.1) 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการต้มเดือด และปล่อยให้เย็นแล้ว

1.3 สารละลายมาตรฐาน โพแตสเซียมไดโครเมตเข้มข้น 0.1 นอร์มัล เตรียมโดยละลายโพแตสเซียมไดโครเมตแอนไฮดรัส 0.4904 กรัมในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

1.4 น้ำแป้งที่ใช้เป็นอินดิเคเตอร์ เตรียมโดยผสมสตาร์ช 1.0 กรัมกับน้ำเล็กน้อย แล้วทลงในน้ำเดือดประมาณ 200 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันแล้วทิ้งไว้ค้างคืน รินเอาเฉพาะส่วนใสเก็บไว้ อาจเก็บรักษาโดยเติมกรดซัลฟิวริก 0.25 กรัม และซิงค์คลอไรด์ 0.8 กรัม

## 2. การไตเตรทหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายโซเดียมไซโอซัลเฟตเข้มข้น 0.1 นอร์มัล

ไตเตรทหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายโซเดียมไซโอซัลเฟตเข้มข้น 0.1 นอร์มัล โดยการเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่น 80 มิลลิลิตร ซึ่งอยู่ในไอโอดีนพลาสติก ขนาด 250 มิลลิลิตร ปิเปตสารละลายโพแตสเซียมไดโครเมตเข้มข้น 0.1 นอร์มัล 10 มิลลิลิตร เติมลงไป จากนั้นเติมโพแตสเซียมไอโอไดด์ประมาณ 1 กรัม ปิดจุกขวดแล้วเก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 6 นาที จึงนำมาไตเตรทกับสารละลายโซเดียมไซโอซัลเฟตเข้มข้น 0.1 นอร์มัล โดยใช้แป้งเป็นอินดิเคเตอร์

ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ (นอร์มัล)

$$= \frac{10 \times \text{นอร์มัลของสารละลายโปแตสเซียมไดโครเมต}}{\text{ปริมาตรของโซเดียมไฮโปคลอไรต์ที่ใช้ในการไตเตรท (มล.)}}$$

### 3. วิธีการวิเคราะห์ตัวอย่างสารละลาย (American Public Health Association [APHA], 2005)

นำตัวอย่างสารละลายน้ำอเล็กโทรไลต์ชนิดเป็นกลางหรือสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์หรือน้ำประปา 150 มิลลิลิตร ใส่ลงในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร เติมกรดแกลซีอิกแอซิดิก 5 มิลลิลิตร เพื่อให้สารละลายตัวอย่างมีค่าความเป็นกรดอยู่ระหว่าง 3-4 แล้วเติมโปแตสเซียมไอโอไดด์ประมาณ 1 กรัม เขย่า และเติมน้ำแข็งลงไป 1 มิลลิลิตร สารละลายจะมีสีน้ำเงินนำไปไตเตรทกับสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ จนสีน้ำเงินจางหายไป จดปริมาตรที่ใช้ในการไตเตรท ( $V_1$ ) ส่วนการหา blank ใช้ น้ำกลั่นแทนสารละลายตัวอย่างแล้วทำเช่นเดียวกัน จดปริมาตรโซเดียมไฮโปคลอไรต์ที่ใช้ใน blank ( $V_2$ )

### 4. การวิเคราะห์ปริมาณคลอรีนที่ใช้ประโยชน์ได้ทั้งหมด (total available chlorine)

ปริมาณคลอรีนที่ใช้ประโยชน์ได้ทั้งหมดในน้ำอเล็กโทรไลต์ชนิดเป็นกลางหาโดยการไตเตรทกับสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ และคำนวณความเข้มข้นตามสมการดังนี้

$$\text{ความเข้มข้น total available chlorine (ppm)} = \frac{(V_1 - V_2) \times N \times 35450}{\text{ปริมาตรตัวอย่างสารละลาย}}$$

$V_1$  = ปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ที่ใช้ในการไตเตรทตัวอย่าง (มล.)

$V_2$  = ปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ที่ใช้ในการไตเตรท blank (มล.)

$N$  = ความเข้มข้นเป็นนอร์มัลของสารละลายมาตรฐาน โซเดียมไฮโปคลอไรต์



### แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ชื่อตัวอย่าง.....กุ้งขาวแวนนาไม..... วันที่.....

ชื่อผู้ประเมิน.....

คำแนะนำ กรุณาทดสอบตัวอย่างตามลำดับที่เสนอ และให้คะแนนตรงกับคำอธิบายความชอบ โดยรวมที่มีผลต่อตัวอย่าง

9 = ชอบมากที่สุด                      8 = ชอบมาก                      7 = ชอบปานกลาง                      6 = ชอบเล็กน้อย  
5 = เฉย ๆ (บอกไม่ได้ว่าชอบหรือไม่ชอบ)                      4 = ไม่ชอบเล็กน้อย                      3 = ไม่ชอบปานกลาง  
2 = ไม่ชอบมาก                      1 = ไม่ชอบมากที่สุด

#### 1. คุณลักษณะกุ้งดิบ

#### รหัสตัวอย่าง

.....

ลักษณะปรากฏ

สี

กลิ่น

เนื้อสัมผัส

ความชอบรวม

#### 2. คุณลักษณะกุ้งสุก

#### รหัสตัวอย่าง

.....

ลักษณะปรากฏ

สี

กลิ่น

รสชาติ

เนื้อสัมผัส

ความชอบรวม



ภาคผนวก ง  
ตารางแสดงข้อมูล

**ตารางผนวกที่ 1** การเปลี่ยนแปลงของปริมาณคลอรีนอิสระ (ฟิฟิเอ็ม) ในน้ำและน้ำแข็งที่ผลิตจากน้ำอเล็กโทโรไลซ์ชนิดเป็นกลาง (NEW) และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) ระหว่างเก็บรักษาในที่มืดและมีแสง เมื่อปริมาณคลอรีนอิสระตั้งต้นเท่ากับ 100 ฟิฟิเอ็ม

ระยะเวลา (วัน)	NEW 100 ฟิฟิเอ็ม เก็บในที่มืด		NEW 100 ฟิฟิเอ็ม เก็บที่มีแสง		NaOCl 100 ฟิฟิเอ็ม เก็บในที่มืด		NaOCl 100 ฟิฟิเอ็ม เก็บที่มีแสง	
	น้ำ	น้ำแข็ง	น้ำ	น้ำแข็ง	น้ำ	น้ำแข็ง	น้ำ	น้ำแข็ง
0	102.41 ± 0.56	100.84 ± 0.00	102.41 ± 0.56	100.84 ± 0.00	100.05 ± 0.00	100.44 ± 0.00	100.05 ± 0.00	100.44 ± 0.00
1	101.25 ± 0.28	98.86 ± 0.84	89.41 ± 1.11	101.03 ± 0.28	76.78 ± 1.13	71.01 ± 0.28	73.85 ± 0.84	77.99 ± 1.39
2	101.45 ± 0.28	97.03 ± 0.85	89.02 ± 0.56	98.87 ± 0.00	66.09 ± 1.42	56.25 ± 0.00	67.36 ± 1.67	64.20 ± 1.11
7	94.68 ± 0.00	96.27 ± 0.56	85.38 ± 0.28	98.83 ± 0.57	57.29 ± 1.69	44.36 ± 1.41	59.46 ± 2.27	58.86 ± 0.85
14	89.59 ± 0.57	89.19 ± 0.00	78.58 ± 0.28	88.82 ± 0.84	50.02 ± 1.42	39.37 ± 1.14	48.25 ± 1.39	49.43 ± 1.95
21	83.10 ± 0.27	82.34 ± 0.81	68.93 ± 1.11	77.40 ± 0.28	44.70 ± 1.08	38.02 ± 1.89	40.18 ± 1.67	44.51 ± 1.11
28	81.55 ± 0.56	82.15 ± 0.84	61.76 ± 0.55	65.43 ± 0.82	31.63 ± 1.41	32.62 ± 0.56	29.53 ± 0.27	34.35 ± 0.00
การเปลี่ยนแปลง เมื่อสิ้นสุดการ เก็บ (ร้อยละ)	- 20.37	- 18.53	- 39.69	- 35.12	- 68.39	- 67.52	- 70.48	- 65.80

หมายเหตุ แสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 2 ซ้ำ

ตารางผนวกที่ ๑๒ การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดต่าง ในน้ำและน้ำแข็งที่ผลิตจากน้ำอิเล็กทรอนิกส์ชนิดเป็นกลาง (NEW) และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) ระหว่างเก็บรักษาในที่มืดและมีแสง เมื่อปริมาณคลอรีนอิสระตั้งต้นเท่ากับ 100 พีพีเอ็ม

ระยะเวลา (วัน)	NEW 100 พีพีเอ็ม เก็บที่มืด		NEW 100 พีพีเอ็ม เก็บที่มีแสง		NaOCl 100 พีพีเอ็ม เก็บที่มืด		NaOCl 100 พีพีเอ็ม เก็บที่มีแสง	
	น้ำ	น้ำแข็ง	น้ำ	น้ำแข็ง	น้ำ	น้ำแข็ง	น้ำ	น้ำแข็ง
0	7.27 ± 0.00	7.28 ± 0.00	7.27 ± 0.00	7.28 ± 0.00	8.49 ± 0.01	8.32 ± 0.00	8.49 ± 0.01	8.32 ± 0.00
1	7.28 ± 0.00	7.28 ± 0.02	7.25 ± 0.00	7.29 ± 0.00	8.50 ± 0.01	8.44 ± 0.00	8.93 ± 0.08	8.83 ± 0.09
2	7.33 ± 0.03	7.32 ± 0.00	7.31 ± 0.00	7.25 ± 0.04	8.23 ± 0.00	8.44 ± 0.02	8.59 ± 0.02	8.86 ± 0.01
7	7.34 ± 0.02	7.39 ± 0.00	7.21 ± 0.04	7.26 ± 0.03	8.03 ± 0.01	8.47 ± 0.00	8.56 ± 0.00	8.79 ± 0.08
14	7.36 ± 0.03	7.45 ± 0.00	7.34 ± 0.00	7.47 ± 0.00	8.25 ± 0.00	8.46 ± 0.02	8.54 ± 0.03	8.62 ± 0.08
21	7.47 ± 0.01	7.44 ± 0.01	7.37 ± 0.00	7.49 ± 0.02	8.04 ± 0.11	8.44 ± 0.01	8.47 ± 0.00	8.36 ± 0.00
28	7.66 ± 0.02	7.46 ± 0.00	7.53 ± 0.02	7.52 ± 0.00	7.43 ± 0.03	8.11 ± 0.00	8.46 ± 0.01	8.26 ± 0.00
การเปลี่ยนแปลง เมื่อสิ้นสุดการ เก็บ (ร้อยละ)	+ 5.29	+ 2.47	+ 3.44	+ 3.37	- 13.06	- 2.58	- 1.00	- 0.72

หมายเหตุ แสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 2 ซ้ำ

**ตารางผนวกที่ 3** การเปลี่ยนแปลงค่า ORP (มิลลิโวลต์) ในน้ำและน้ำแข็งที่ผลิตจากน้ำอเล็กโทโรไลซ์ชนิดเป็นกลาง (NEW) และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) ระหว่างเก็บรักษาในที่มืดและมีแสง เมื่อปริมาณคลอรีนอิสระตั้งต้นเท่ากับ 100 พีพีเอ็ม

ระยะเวลา (วัน)	NEW 100 พีพีเอ็ม เก็บในที่มืด		NEW 100 พีพีเอ็ม เก็บที่มีแสง		NaOCl 100 พีพีเอ็ม เก็บในที่มืด		NaOCl 100 พีพีเอ็ม เก็บในที่ที่มีแสง	
	น้ำ	น้ำแข็ง	น้ำ	น้ำแข็ง	น้ำ	น้ำแข็ง	น้ำ	น้ำแข็ง
0	854.00 ± 1.89	852.83 ± 1.18	854.00 ± 1.89	852.83 ± 1.18	736.50 ± 0.71	737.83 ± 0.00	736.50 ± 0.71	737.83 ± 0.00
1	848.00 ± 0.94	844.67 ± 3.30	842.00 ± 1.41	861.17 ± 0.24	752.83 ± 0.24	768.33 ± 0.56	642.83 ± 1.65	657.17 ± 0.71
2	846.33 ± 0.47	842.67 ± 0.94	816.67 ± 1.89	852.17 ± 2.12	766.33 ± 1.41	761.83 ± 0.00	648.83 ± 0.24	659.67 ± 0.94
7	834.83 ± 4.95	841.17 ± 0.24	818.33 ± 1.41	863.50 ± 2.59	767.83 ± 1.18	746.50 ± 0.28	722.50 ± 2.59	679.83 ± 0.71
14	817.83 ± 0.24	839.50 ± 0.71	820.17 ± 2.59	849.00 ± 2.83	756.17 ± 0.24	719.50 ± 0.56	756.17 ± 3.06	679.17 ± 1.18
21	815.83 ± 1.18	837.67 ± 0.47	822.83 ± 0.71	827.50 ± 0.24	763.50 ± 0.24	688.83 ± 0.28	756.67 ± 0.47	676.33 ± 0.94
28	811.17 ± 0.24	841.50 ± 1.18	821.17 ± 0.71	838.67 ± 1.89	756.50 ± 0.24	758.00 ± 0.55	738.17 ± 3.06	696.17 ± 1.65
การเปลี่ยนแปลง เมื่อสิ้นสุดการ เก็บ (ร้อยละ)	- 5.02	- 1.33	- 3.84	- 1.66	+ 2.68	+ 2.73	+ 0.19	- 5.65

หมายเหตุ แสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 2 ซ้ำ

**ตารางผนวกที่ 4** การเปลี่ยนแปลงของปริมาณคลอรีนอิสระ (พีพีเอ็ม) ในน้ำและน้ำแข็งที่ผลิตจากน้ำอเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลาง (NEW) และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) ระหว่างเก็บรักษาในที่มืดและมีแสง เมื่อปริมาณคลอรีนอิสระตั้งต้นเท่ากับ 200 พีพีเอ็ม

ระยะเวลา (วัน)	NEW 200 พีพีเอ็ม เก็บในที่มืด		NEW 200 พีพีเอ็ม เก็บที่มีแสง		NaOCl 200 พีพีเอ็ม เก็บในที่มืด		NaOCl 200 พีพีเอ็ม เก็บที่มีแสง	
	น้ำ	น้ำแข็ง	น้ำ	น้ำแข็ง	น้ำ	น้ำแข็ง	น้ำ	น้ำแข็ง
0	201.87 ± 0.28	200.69 ± 0.84	201.87 ± 0.28	200.69 ± 0.84	198.32 ± 0.28	197.54 ± 1.39	198.32 ± 0.28	197.54 ± 1.39
1	202.30 ± 0.28	191.55 ± 0.28	192.22 ± 1.11	197.93 ± 0.84	156.55 ± 0.28	142.02 ± 0.56	124.47 ± 1.67	149.87 ± 0.84
2	198.47 ± 1.14	192.45 ± 1.70	188.67 ± 1.67	193.79 ± 0.56	146.64 ± 1.70	123.95 ± 0.28	92.76 ± 1.39	124.08 ± 1.11
7	194.14 ± 0.56	190.36 ± 0.84	171.96 ± 1.14	173.96 ± 0.00	131.68 ± 0.00	109.80 ± 2.81	88.79 ± 0.57	112.29 ± 0.28
14	180.80 ± 1.14	182.60 ± 0.28	154.01 ± 1.67	146.72 ± 0.28	134.79 ± 0.28	104.26 ± 0.28	82.72 ± 0.00	103.59 ± 1.67
21	162.00 ± 1.08	162.00 ± 1.08	137.47 ± 1.67	131.36 ± 1.39	119.40 ± 0.27	98.38 ± 0.27	83.70 ± 3.06	101.62 ± 0.56
28	157.34 ± 0.28	157.34 ± 0.28	110.59 ± 0.82	118.31 ± 0.27	111.39 ± 0.00	99.26 ± 0.28	76.24 ± 1.36	96.50 ± 0.00
การเปลี่ยนแปลง เมื่อสิ้นสุดการ เก็บ (ร้อยละ)	- 22.06	- 21.60	- 45.22	- 41.05	- 43.83	- 49.85	- 61.56	- 51.15

หมายเหตุ แสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 2 ซ้ำ

ตารางผนวกที่ 5 การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดต่าง ในน้ำและน้ำแข็งที่ผลิตจากน้ำอิเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลาง (NEW) และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) ระหว่างเก็บรักษาในที่มืดและมีแสง เมื่อปริมาณคลอรีนอิสระตั้งต้นเท่ากับ 200 พีพีเอ็ม

ระยะเวลา (วัน)	NEW 200 พีพีเอ็ม เก็บที่มืด		NEW 200 พีพีเอ็ม เก็บที่มีแสง		NaOCl 200 พีพีเอ็ม เก็บที่มืด		NaOCl 200 พีพีเอ็ม เก็บที่มีแสง	
	น้ำ	น้ำแข็ง	น้ำ	น้ำแข็ง	น้ำ	น้ำแข็ง	น้ำ	น้ำแข็ง
0	7.21 ± 0.00	7.21 ± 0.00	7.21 ± 0.00	7.21 ± 0.00	8.92 ± 0.01	8.66 ± 0.00	8.92 ± 0.01	8.66 ± 0.00
1	7.22 ± 0.00	7.23 ± 0.01	7.17 ± 0.01	7.28 ± 0.02	8.86 ± 0.00	8.45 ± 0.01	9.04 ± 0.04	8.93 ± 0.04
2	7.26 ± 0.02	7.33 ± 0.01	7.18 ± 0.01	7.32 ± 0.00	8.85 ± 0.00	8.38 ± 0.00	8.76 ± 0.00	8.91 ± 0.02
7	7.27 ± 0.00	7.38 ± 0.01	7.36 ± 0.00	7.32 ± 0.03	8.84 ± 0.01	8.36 ± 0.01	8.96 ± 0.01	8.73 ± 0.15
14	7.29 ± 0.00	7.41 ± 0.00	7.33 ± 0.03	7.31 ± 0.03	8.47 ± 0.03	8.36 ± 0.01	8.86 ± 0.00	8.81 ± 0.01
21	7.34 ± 0.00	7.42 ± 0.00	7.34 ± 0.01	7.45 ± 0.01	8.33 ± 0.02	8.32 ± 0.00	8.81 ± 0.08	8.46 ± 0.01
28	7.45 ± 0.01	7.41 ± 0.01	7.44 ± 0.00	7.50 ± 0.02	7.89 ± 0.02	8.35 ± 0.04	8.76 ± 0.00	8.46 ± 0.00
การเปลี่ยนแปลง เมื่อสิ้นสุดการ เก็บ (ร้อยละ)	+ 3.26	+ 2.77	+ 3.12	+ 3.95	- 11.55	- 3.52	- 1.79	- 2.31

หมายเหตุ แสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 2 ซ้ำ

ตารางผนวกที่ 6 การเปลี่ยนแปลงค่า ORP (มิลลิโวลต์) ในน้ำและน้ำแข็งที่ผลิตจากน้ำอเล็กโทโรไลซ์ชนิดเป็นกลาง (NEW) และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) ระหว่างเก็บรักษาในที่มืดและมีแสง เมื่อปริมาณคลอรีนอิสระตั้งต้นเท่ากับ 200 พีพีเอ็ม

ระยะเวลา (วัน)	NEW 200 พีพีเอ็ม เก็บที่มืด		NEW 200 พีพีเอ็ม เก็บที่มีแสง		NaOCl 200 พีพีเอ็ม เก็บที่มืด		NaOCl 200 พีพีเอ็ม เก็บที่มีแสง	
	น้ำ	น้ำแข็ง	น้ำ	น้ำแข็ง	น้ำ	น้ำแข็ง	น้ำ	น้ำแข็ง
0	861.50 ± 0.24	860.83 ± 2.12	861.50 ± 0.24	860.83 ± 2.12	674.50 ± 0.24	667.67 ± 0.47	674.50 ± 0.24	667.67 ± 0.47
1	855.50 ± 0.24	849.67 ± 0.00	846.83 ± 1.65	867.83 ± 1.56	680.00 ± 0.47	671.33 ± 3.77	630.83 ± 0.71	620.33 ± 0.47
2	848.33 ± 1.41	848.67 ± 2.83	842.83 ± 1.18	861.50 ± 0.24	682.83 ± 1.18	674.83 ± 1.65	643.00 ± 1.89	635.67 ± 3.30
7	835.67 ± 0.94	854.33 ± 3.77	846.33 ± 0.47	872.67 ± 1.41	688.83 ± 0.24	666.17 ± 2.59	659.83 ± 0.24	639.83 ± 2.59
14	823.17 ± 0.24	860.17 ± 0.71	837.00 ± 4.71	862.67 ± 1.41	710.83 ± 3.06	675.33 ± 0.00	735.50 ± 2.59	650.17 ± 0.24
21	818.67 ± 3.30	854.50 ± 0.24	840.83 ± 2.12	862.17 ± 0.24	727.50 ± 1.18	672.17 ± 1.18	742.50 ± 1.18	645.33 ± 1.41
28	818.67 ± 0.94	855.67 ± 3.30	827.67 ± 0.47	858.33 ± 1.41	762.00 ± 1.41	726.50 ± 0.71	747.67 ± 0.47	629.50 ± 1.18
การเปลี่ยนแปลง เมื่อสิ้นสุดการ เก็บ (ร้อยละ)	- 4.97	- 0.60	- 3.93	- 0.29	+ 12.97	+ 8.81	+ 10.85	+ 3.72

หมายเหตุ แสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 2 ซ้ำ

ตารางผนวกที่ 7 จำนวนเชื้อบริสุทธิ์ของ *V. parahaemolyticus* ที่รอดชีวิต (log cfu/ml) หลังสัมผัส น้ำอเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลาง ความเข้มข้น 10, 30, 50, 70 และ 100 พีพีเอ็ม ในระยะเวลาสัมผัสเชื้อเท่ากับ 1, 3 และ 5 นาที

ปริมาณคลอรีนอิสระ (พีพีเอ็ม)	เวลาสัมผัสเชื้อ (นาที)		
	1	3	5
จำนวนเริ่มต้น (น้ำกลั่น)	6.98±0.03 <sup>Aa</sup>	7.07±0.04 <sup>Aa</sup>	7.02±0.06 <sup>Aa</sup>
NEW 10	3.45±0.12 <sup>Ba</sup>	3.13±0.45 <sup>Ba</sup>	2.59±0.42 <sup>Ba</sup>
NEW 30	3.18±0.19 <sup>Ca</sup>	2.22±0.37 <sup>BCb</sup>	2.16±0.49 <sup>Bb</sup>
NEW 50	2.95±0.04 <sup>Da</sup>	2.03±0.59 <sup>CDa</sup>	0.79±0.68 <sup>Cb</sup>
NEW 70	2.40±0.10 <sup>Ea</sup>	1.07±1.11 <sup>Eb</sup>	0.00±0.00 <sup>Db</sup>
NEW 100	2.36±0.08 <sup>Ea</sup>	0.00±0.00 <sup>Eb,4</sup>	0.00±0.00 <sup>Db</sup>

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยของจำนวนเชื้อที่กำกับด้วยอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์ใหญ่ในปริมาณคลอรีนอิสระที่แตกต่างกัน และอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กในเวลาสัมผัสเชื้อที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ )  
NEW 10, 30, 50, 70 และ 100 ppm = น้ำอเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลาง ความเข้มข้น 10, 30, 50, 70 และ 100 พีพีเอ็ม

ตารางผนวกที่ 8 จำนวนเชื้อบริสุทธิ์ของ *V. vulnificus* ที่รอดชีวิต (log cfu/ml) หลังสัมผัสน้ำ  
 อีเล็กโทรไลต์ชนิดเป็นกลาง ความเข้มข้น 10, 30, 50, 70 และ 100 พีพีเอ็ม ใน  
 ระยะเวลาสัมผัสเชื้อเท่ากับ 1, 3 และ 5 นาที

ปริมาณคลอรีนอิสระ (พีพีเอ็ม)	เวลาสัมผัสเชื้อ (นาที)		
	1	3	5
จำนวนเริ่มต้น (น้ำกลั่น)	7.20±0.10 <sup>Aa</sup>	7.17±0.03 <sup>Aa</sup>	7.12±0.13 <sup>Aa</sup>
NEW 10	6.69±0.32 <sup>Aa</sup>	6.51±0.32 <sup>Aa</sup>	6.30±0.66 <sup>Ba</sup>
NEW 30	5.23±0.01 <sup>Ba</sup>	3.72±0.91 <sup>Ba</sup>	3.72±0.77 <sup>Ca</sup>
NEW 50	3.23±0.21 <sup>Ca</sup>	0.00±0.00 <sup>Cb</sup>	0.00±0.00 <sup>Db</sup>
NEW 70	2.28±0.95 <sup>Da</sup>	0.00±0.00 <sup>Cb</sup>	0.00±0.00 <sup>Db</sup>
NEW 100	0.00±0.00 <sup>Ea,4</sup>	0.00±0.00 <sup>Ca</sup>	0.00±0.00 <sup>Da</sup>

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยของจำนวนเชื้อที่กำกับด้วยอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์ใหญ่ในปริมาณคลอรีน  
 อิสระที่แตกต่างกัน และอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กในเวลาสัมผัสเชื้อที่แตกต่างกัน มี  
 ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )  
 NEW 10, 30, 50, 70 และ 100 ppm = น้ำอีเล็กโทรไลต์ชนิดเป็นกลาง ความเข้มข้น 10,  
 30, 50, 70 และ 100 พีพีเอ็ม

ตารางผนวกที่ 9 จำนวนเชื้อบริสุทธิ์ของ *Salmonella Enteritidis* ที่รอดชีวิต (log cfu/ml) หลังสัมผัสน้ำอเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลาง ความเข้มข้น 10, 30, 50, 70 และ 100 พีพีเอ็ม ในระยะเวลาสัมผัสเชื้อเท่ากับ 1, 3 และ 5 นาที

ปริมาณคลอรีนอิสระ (พีพีเอ็ม)	เวลาสัมผัสเชื้อ (นาที)		
	1	3	5
จำนวนเริ่มต้น (น้ำกลั่น)	6.96±0.04 <sup>Aa</sup>	7.03±0.09 <sup>Aa</sup>	7.04±0.04 <sup>Aa</sup>
NEW 10	6.80±0.07 <sup>ABa</sup>	6.98±0.14 <sup>Aa</sup>	7.03±0.06 <sup>Aa</sup>
NEW 30	6.72±0.08 <sup>BCa</sup>	6.92±0.15 <sup>Aa</sup>	6.92±0.08 <sup>Aa</sup>
NEW 50	6.67±0.13 <sup>BCa</sup>	6.91±0.21 <sup>Aa</sup>	6.88±0.18 <sup>Aa</sup>
NEW 70	6.65±0.12 <sup>BCa</sup>	6.89±0.16 <sup>Aa</sup>	6.77±0.23 <sup>Aa</sup>
NEW 100	6.59±0.12 <sup>Ca</sup>	6.82±0.14 <sup>Aa</sup>	6.54±0.24 <sup>Aa</sup>

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยของจำนวนเชื้อที่กำกับด้วยอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์ใหญ่ในปริมาณคลอรีนอิสระที่แตกต่างกัน และอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กในเวลาสัมผัสเชื้อที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

NEW 10, 30, 50, 70 และ 100 ppm = น้ำอเล็กโทรไลซ์ชนิดเป็นกลาง ความเข้มข้น 10, 30, 50, 70 และ 100 พีพีเอ็ม

ตารางผนวกที่ 10 จำนวนเชื้อบริสุทธิ์ของ *E. coli* ที่รอดชีวิต (log cfu/ml) หลังสัมผัสน้ำอเล็กโทโรไลซ์ชนิดเป็นกลาง ความเข้มข้น 10, 30, 50, 70 และ 100 พีพีเอ็ม ในระยะเวลาสัมผัสเชื้อเท่ากับ 1, 3 และ 5 นาที

ปริมาณคลอรีนอิสระ (พีพีเอ็ม)	เวลาสัมผัสเชื้อ (นาที)		
	1	3	5
จำนวนเริ่มต้น (น้ำกลั่น)	7.20±0.00 <sup>Aa</sup>	7.12±0.06 <sup>Aa</sup>	7.06±0.10 <sup>Aa</sup>
NEW 10	7.17±0.03 <sup>Aa</sup>	7.03±0.12 <sup>Aa</sup>	7.00±0.12 <sup>Aa</sup>
NEW 30	7.15±0.05 <sup>Aa</sup>	7.01±0.14 <sup>Aa</sup>	6.93±0.08 <sup>Aa</sup>
NEW 50	7.14±0.04 <sup>Aa</sup>	6.97±0.12 <sup>Aa</sup>	6.94±0.13 <sup>Aa</sup>
NEW 70	7.10±0.09 <sup>Aa</sup>	6.89±0.28 <sup>Aa</sup>	6.81±0.21 <sup>Aa</sup>
NEW 100	6.86±0.08 <sup>Ba</sup>	6.83±0.36 <sup>Aa</sup>	6.72±0.34 <sup>Aa</sup>

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยของจำนวนเชื้อที่กำกับด้วยอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์ใหญ่ในปริมาณคลอรีนอิสระที่แตกต่างกัน และอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กในเวลาสัมผัสเชื้อที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )  
NEW 10, 30, 50, 70 และ 100 ppm = น้ำอเล็กโทโรไลซ์ชนิดเป็นกลาง ความเข้มข้น 10, 30, 50, 70 และ 100 พีพีเอ็ม

ตารางผนวกที่ 11 จำนวนเชื้อ *V. parahaemolyticus* และ *V. vulnificus* ที่รอดชีวิตในกุ้ง (log cfu/g) หลังล้างด้วยน้ำประปา (TW) น้ำอเล็กโทโรไลซ์ชนิดเป็นกลาง ความเข้มข้น 10 พีพีเอ็ม (NEW 10) และ 50 พีพีเอ็ม (NEW 50) เป็นระยะเวลา 0, 15, 30 และ 45 นาที

ชนิดเชื้อ	ปริมาณคลอรีนอิสระ (พีพีเอ็ม)	จำนวนเชื้อที่รอดชีวิต (log cfu/g) จากการแช่เป็นเวลา (นาที)			
		0 (จำนวนเริ่มต้น)	15	30	45
<i>V. parahaemolyticus</i>	TW	4.16±0.10 <sup>Aa</sup>	3.87±0.09 <sup>Ab</sup>	3.70±0.06 <sup>Ab</sup>	3.37±0.10 <sup>Ac</sup>
	NEW 10		2.09±0.13 <sup>Bb</sup>	0.00±0.00 <sup>Bc</sup>	0.00±0.00 <sup>Bc</sup>
	NEW 50		0.00±0.00 <sup>Cb</sup>	0.00±0.00 <sup>Bb</sup>	0.00±0.00 <sup>Bb</sup>
<i>V. vulnificus</i>	TW	4.31±0.15 <sup>Aa</sup>	4.09±0.13 <sup>Aa</sup>	3.64±0.04 <sup>Ab</sup>	3.56±0.04 <sup>Ab</sup>
	NEW 10		3.60±0.02 <sup>ABb</sup>	3.01±0.08 <sup>Bc</sup>	2.90±0.06 <sup>Bc</sup>
	NEW 50		3.02±0.29 <sup>Bb</sup>	2.72±0.25 <sup>Bb</sup>	2.54±0.34 <sup>Bb</sup>

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยของจำนวนเชื้อที่กำกับด้วยอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์ใหญ่ในปริมาณคลอรีนอิสระที่แตกต่างกัน และอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กในเวลาสัมผัสเชื้อที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ตารางผนวกที่ 12 จำนวนเชื้อ *V. parahaemolyticus* และ *V. vulnificus* ที่รอดชีวิตในกุ้ง (log cfu/g) หลังสัมผัสน้ำแข็งที่ผลิตจากน้ำประปา (TI) น้ำแข็งอิเล็กทรอนิกส์ชนิดเป็นกลาง ความเข้มข้น 10 พีพีเอ็ม (NEWI 10) และ 50 พีพีเอ็ม (NEWI 50) ระหว่างการให้ความเย็นเป็นระยะเวลา 0, 2, 4 และ 6 ชั่วโมง

ชนิดเชื้อ	ปริมาณคลอรีนอิสระ (พีพีเอ็ม)	จำนวนเชื้อที่รอดชีวิต (log cfu/g) จากการแช่เป็นเวลา (ชั่วโมง)			
		0 (จำนวนเริ่มต้น)	2	4	6
<i>V. parahaemolyticus</i>	TI	4.27±0.08 <sup>Aa</sup>	4.15±0.04 <sup>Aab</sup>	3.74±0.08 <sup>Abc</sup>	3.90±0.19 <sup>Ac</sup>
	NEWI 10		3.31±0.04 <sup>Bb</sup>	3.05±0.04 <sup>Bc</sup>	3.38±0.16 <sup>Bb</sup>
	NEWI 50		3.16±0.12 <sup>Bb</sup>	3.26±0.09 <sup>Bb</sup>	3.07±0.07 <sup>Bb</sup>
<i>V. vulnificus</i>	TI	4.45±0.17 <sup>Aa</sup>	4.54±0.06 <sup>Aa</sup>	4.55±0.09 <sup>Aa</sup>	4.23±0.03 <sup>Aa</sup>
	NEWI 10		3.92±0.06 <sup>Bb</sup>	3.88±0.03 <sup>Bb</sup>	3.94±0.08 <sup>Bb</sup>
	NEWI 50		3.82±0.16 <sup>Bb</sup>	3.87±0.07 <sup>Bb</sup>	3.96±0.08 <sup>Bb</sup>

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยของจำนวนเชื้อที่กำกับด้วยอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์ใหญ่ในปริมาณคลอรีนอิสระที่แตกต่างกัน และอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กในเวลาสัมผัสเชื้อที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

## ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวนฤมล จอมมาก
วัน เดือน ปี ที่เกิด	3 มิถุนายน 2528
สถานที่เกิด	จังหวัดสมุทรสงคราม
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (ประมง) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (พ.ศ. 2551)
ผลงานที่ได้รับการตีพิมพ์	ผลงานวิชาการ เรื่อง “Inhibition effect of neutral electrolyzed water on <i>Vibrio parahaemolyticus</i> and <i>Vibrio vulnificus</i> ” ในรายงานการประชุม International Fisheries Symposium 2011, วันที่ 3-5 ตุลาคม 2554, Malaysia
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	Center for Advanced Studies in Agriculture and Food, KU Institute for Advanced Studies, Kasetsart University (CASAF, NRU-KU) (พ.ศ. 2552)