



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการการประยุกต์ใช้เทคโนโลยี UV/Ozone ในการกำจัดเชื้อ E. Coli/Coliforms ในการผลิต
ผลิตภัณฑ์อาหารและสินค้าระหว่างผลิตเพื่อลดน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตอาหาร
และนำวัตถุดิบระหว่างผลิตกลับมาใช้ใหม่

Application of UV/Ozone technology to reduce *E. coli*/Coliforms contamination in food processing and
intermediate products in minimizing wastewater and promoting more raw material recycling in the process

ผศ.ดร.อลักษณ์ ทิพย์รัตน์

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้
(จากเงินอุดหนุนรัฐบาล) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561
มหาวิทยาลัยบูรพา

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการการประยุกต์ใช้เทคโนโลยี UV/Ozone ในการกำจัดเชื้อ E. Coli/Coliforms ในการผลิต
ผลิตภัณฑ์อาหารและสินค้าระหว่างผลิตเพื่อลดน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตอาหาร
และนำวัตถุดิบระหว่างผลิตกลับมาใช้ใหม่

Application of UV/Ozone technology to reduce *E. coli*/Coliforms contamination in food processing and
intermediate products in minimizing wastewater and promoting more raw material recycling in the process

ผศ.ดร.อาลักษณ์ ทิพย์รัตน์

สำนักงานจัดการศึกษา คณะวิศวกรรมศาสตร์

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้ (เงินอุดหนุนรัฐบาล) ประจำปี
งบประมาณ พ.ศ. 2561 มหาวิทยาลัยบูรพา ผ่านสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ เลขที่สัญญา
21/2561

บทสรุปสำหรับผู้บริหาร

(Executive Summary)

ข้าพเจ้า ผศ.ดร.อาลักษณ์ ทิพย์รัตน์ ได้รับทุนสนับสนุนโครงการวิจัย จากมหาวิทยาลัยบูรพา ประเภทงบประมาณเงินรายได้ (เงินอุดหนุนจากรัฐบาล) มหาวิทยาลัยบูรพา โครงการวิจัยเรื่อง (ภาษาไทย) การประยุกต์ใช้เทคโนโลยี UV/Ozone ในการกำจัดเชื้อ E. Coli/Coliforms ในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารและสินค้าระหว่างผลิตเพื่อลดน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตอาหารและน้ำวัตถุดิบระหว่างผลิตกลับมาใช้ใหม่ (ภาษาอังกฤษ) Application of UV/Ozone technology to reduce E. coli/Coliforms contamination in food processing and intermediate products in minimizing wastewater and promoting more raw material recycling in the process รหัสโครงการ 256101A1080004 / สัญญาเลขที่ 21/2561 ได้รับงบประมาณรวมทั้งสิ้น 1,022,000 บาท (หนึ่งล้านสองหมื่นสองพันบาทถ้วน) ระยะเวลาการดำเนินงาน 1 ปี 6 เดือน (ระหว่างวันที่ 1 ตุลาคม 2560 – วันที่ 31 มีนาคม 2562) งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อยืดเวลาในการใช้น้ำแข็งเพื่อกระบวนการผลิตเส้นก๋วยเตี๋ยวโดยการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย ในการทดลองใช้เชื้ออีโคไลและเชื้อแอสเพอร์จิลลัส ในเจอร์เป็นเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา ต้นแบบที่ปรากฏในสภาพแวดล้อมทั่วไป ทั้งนี้ระบบต้นแบบของกระบวนการออกซิเดชันขั้นสูง ประกอบด้วยระบบฆ่าเชื้อด้วยยูวี (45 วัตต์) เครื่องกำเนิดโอโซน (2 ลิตรต่อนาที) ทำการทดสอบระบบกับน้ำเปล่าและน้ำแข็ง (53 กรัมต่อลิตร) ปริมาณเชื้อเริ่มต้นของอีโคไลที่ 7 log CFU/mL จากผลการทดลองพบว่า การฆ่าเชื้อด้วยยูวีร่วมกับโอโซนสามารถทำให้เชื้ออีโคไล ลดลงได้อย่างมีนัยสำคัญภายในเวลา 8 ถึง 10 นาที โดยมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อดีกว่าการใช้ยูวีหรือโอโซนเพียงอย่างเดียวอย่างใดอย่างหนึ่ง การฆ่าเชื้อด้วยวิธีการดังกล่าวเป็นการฆ่าเชื้อแบบไม่ใช้ความร้อน ช่วยลดผลกระทบในการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของผลิตภัณฑ์ เช่น การฆ่าเชื้อแบคทีเรียโดยใช้ความร้อนในแป้งข้าว ส่งผลให้เกิดกระบวนการการเจลลาคิไนซ์ (gelatinization) ทำให้แป้งข้าวมีความหนืดสูง ไม่สามารถนำแป้งข้าวไปผลิตก๋วยเตี๋ยวได้ ดังนั้นจากความสามารถในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยยูวีร่วมกับโอโซน ดังที่ได้กล่าวมา จึงเห็นได้ว่ามีความเป็นไปได้ในการนำเทคโนโลยียูวีมาประยุกต์ใช้ในการลดการปนเปื้อนของเชื้อ E. Coli/Coliforms การฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วย UV/Ozone เป็นอีกทางเลือกหนึ่ง สำหรับอุตสาหกรรมผลิตผลิตภัณฑ์อาหารหรืออาจจะนำไปประยุกต์ใช้บำบัดน้ำเสียจากอุตสาหกรรมอื่นๆ สามารถลดน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตอาหารช่วยลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

บทคัดย่อ

การศึกษากระบวนการออกซิเดชันขั้นสูงในน้ำแป้งจากกระบวนการผลิตเส้นก๋วยเตี๋ยวโดยการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย เชื้ออีโคไลและเชื้อแอสเปอร์จิลลัส ในเจอร์ถูกนำมาใช้ทดลองเพื่อเป็นต้นแบบของเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา ทั้งนี้ระบบต้นแบบของกระบวนการออกซิเดชันขั้นสูงประกอบด้วยระบบฆ่าเชื้อด้วยยูวี เครื่องกำเนิดโอโซนและการใช้โอโซนและยูวีร่วมกัน โดยทำการทดสอบระบบกับน้ำเปล่าและน้ำแป้ง (53 กรัมต่อลิตร) ปริมาณเชื้อเริ่มต้นของอีโคไลที่ 7 log CFU/mL จากผลการทดลองพบว่า การฆ่าเชื้อด้วยยูวีมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้ออีโคไลมากในน้ำเปล่า โดยจำนวนของเชื้ออีโคไลลดลงจาก 7 ไปเป็น 0 log CFU/mL ภายในเวลา 15 นาที ที่ทุกๆ อัตราการไหล (0.4, 0.6, และ 0.8 กิโลกรัมต่อวินาที) สำหรับกรณีของน้ำแป้ง พบว่ารังสียูวีถูกขัดขวางด้วยความขุ่นของน้ำแป้ง ทำให้ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อด้วยยูวีและการทำลายเชื้ออีโคไลลดลง ในกรณีของโอโซนพบว่าจลนพลศาสตร์การฆ่าเชื้ออีโคไลลดลงอย่างช้า ๆ อันเป็นผลมาจากความโปร่งแสงและความขุ่นของน้ำแป้ง ซึ่งมีผลต่อประสิทธิภาพในการทำลายเชื้ออีโคไลในน้ำแป้งเช่นกันกับการฆ่าเชื้อด้วยยูวี นอกจากนี้ยังพบว่าการทำงานร่วมกันของโอโซนและยูวีสามารถทำให้เชื้ออีโคไลลดลงได้อย่างมีนัยสำคัญภายในเวลา 8 ถึง 10 นาที โดยอัตราการไหลที่สูงขึ้นสามารถทำให้เชื้ออีโคไลสัมผัสกับรังสียูวีได้มากขึ้น และทำให้การผสมและการละลายของแก๊สโอโซนในน้ำแป้งดีขึ้น สำหรับกรณีการทดลองกระบวนการออกซิเดชันขั้นสูงในน้ำแป้งจากทางโรงงาน พบว่าเมื่อใช้ระบบโอโซนร่วมกับยูวีเป็นเวลา 40 นาที เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด เชื้ออีโคไลและเชื้อราลดลงไปได้จนถึง 0 log CFU/mL ที่ความเข้มข้นของน้ำแป้งร้อยละ 20 สำหรับกรณีความเข้มข้นของน้ำแป้งร้อยละ 45 และ 75 เมื่อใช้ระบบโอโซนร่วมกับยูวีสามารถลดเชื้อจุลินทรีย์ได้เพียง 3 และ 2 log CFU/mL ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม ในการทดลองกับน้ำแป้งจากทางโรงงานที่ไม่ได้ผ่านการเจือจาง ระบบโอโซนและยูวีที่ประดิษฐ์ขึ้นในงานวิจัยนี้ยังไม่สามารถลดเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด เชื้อราและเชื้ออีโคไลได้ เนื่องจากน้ำแป้งมีการตกตะกอน มีความขุ่นและความหนืดสูงมาก ในทางตรงกันข้าม จากการทดลองพ่นด้วยไอระเหยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ พบว่าไอระเหยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สามารถกำจัดปล้นเปื้อนได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งพิจารณาได้จากการปล้นเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราลดลงเมื่อทดสอบในห้องขนาด 1 ลูกบาศก์เมตรไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ถูกทำให้เป็นละอองได้อย่างง่ายดายด้วยอัลตราโซนิกทรานสดิวเซอร์และสารตกค้างที่เกิดขึ้นเป็นปัญหาด้านความปลอดภัยที่น้อยมากหากมีการจัดการอย่างเหมาะสม

คำสำคัญ : กระบวนการออกซิเดชันขั้นสูง/ เชื้อแอสเปอร์จิลลัส ในเจอร์/ เชื้ออีโคไล/ น้ำแป้ง/ ก๋วยเตี๋ยวที่ผลิตจากแป้งข้าวเจ้า/ ไอระเหยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

Abstract

This study aimed to demonstrate another potential use of Advanced Oxidation Processes (AOPs) to reclaim flour slurry from rice noodle by destroying spoilage microorganisms and preventing further microbial growth. *Escherichia coli* and *Aspergillus niger* were used as model microorganisms for bacteria and fungi. A prototype AOPs system, consisting of a UV sterilizer, ozone generator and combined ozone/UV, was fabricated and tested on water and flour slurry (53 g/L) systems with the initial *E. coli* concentration of approximately 7 log CFU/mL. The *E. coli* cell counts showed that UV disinfection was very effective in treating pure water, enabling the reduction of cell density from 7 to 0 log CFU/mL within 15 min. This result was observed at all mass circulation flow rates (0.4, 0.6, and 0.8 kg/s). For the flour slurry treatment, the blockage of UV radiation by flour suspension substantially compromised the effectiveness of UV sterilization and *E. coli* destruction. Although the ozone treatment by itself showed slower *E. coli* inactivation kinetics on both transparent and turbid flour slurry, it produced powerful disinfecting effect when it was installed prior to the UV sterilizer for treating *E. coli* contaminated flour slurry. The synergic combination of UV and ozone treatment in inactivating *E. coli* was clearly demonstrated on the flour slurry experiment and was indeed able to eliminate *E. coli* viability within 8-10 min. Faster mass circulation rate facilitated higher *E. coli* elimination due to higher UV exposure of *E. coli* and better mixing/dissolution of ozone gas in the flour slurry. For the real industrial flour slurry, after ozone/UV treatment for 40 min, the TPC, yeast/mold and *E. coli* counts reduced to 0 log CFU/mL in the case of 20% flour slurry. For the flour slurry concentrations of 45% and 75%, the ozone with UV treatment was able to reduce the microbial counts by only 3 and 2 log reductions, respectively. However, the combined ozone and UV treatment was not able to reduce TPC, yeast/mold, and *E. coli* counts of the 100% flour slurry waste originated from the factory because it has excessively high solids loading, turbidity, and viscosity. On the other hand, it was found that fumigation with Vaporized Hydrogen Peroxide (VHP) could effectively reduce bacterial and fungal contamination in the 1 m³ tested chamber. Hydrogen peroxide is also easily aerosolized by ultrasonic transducers and its residues produce minimal safety problems for workers if handled properly.

Keywords: Advanced Oxidation Processes/ *Aspergillus niger*/ *Escherichia coli*/ Flour Slurry/ Rice Noodle Production/ Vaporized Hydrogen Peroxide

สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	I
บทสรุปสำหรับผู้บริหาร	II
บทคัดย่อ	III
สารบัญเรื่อง	V
สารบัญตาราง	VI
สารบัญรูป	VII
บทที่	
1 บทนำ	1
2 เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา	9
3 วัตถุประสงค์และการดำเนินงานวิจัย	30
4 ผลการทดลองและวิจารณ์	37
5 สรุปผลการทดลอง	57
ผลผลิต (output)	59
เอกสารอ้างอิง	60
ภาคผนวก (Appendix)	66
ประวัติคณะผู้วิจัย	80

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	แสดงต้นเหตุที่ก่อให้เกิดโรคตามสัดส่วนที่ปรากฏและปริมาณผู้ป่วย	10
2.2	ปริมาณรังสี UV ที่ใช้ในการฆ่าเชื้อโรคต่างๆ	17
A.1	ผลของการฆ่าเชื้อด้วยโอโซนที่มีต่อปริมาณเซลล์ <i>E. coli</i> (spiked sample) ในน้ำที่อัตราการใช้ 0.4, 0.6, และ 0.8 กิโลกรัม/ชั่วโมง	67
A.2	ผลของการฆ่าเชื้อด้วยยูวีที่มีต่อปริมาณเซลล์ <i>E. coli</i> (spiked sample) ในน้ำที่อัตราการใช้ 0.4, 0.6, และ 0.8 กิโลกรัม/ชั่วโมง	68
A.3	ผลของการฆ่าเชื้อด้วยโอโซน/ยูวีที่มีต่อปริมาณเซลล์ <i>E. coli</i> (spiked sample) ในน้ำที่อัตราการใช้ 0.4, 0.6, และ 0.8 กิโลกรัม/ชั่วโมง	69
A.4	ผลของการฆ่าเชื้อด้วยโอโซนที่มีต่อปริมาณเซลล์ <i>E. coli</i> (spiked sample) ในน้ำแข็งที่อัตราการใช้ 0.4, 0.6, และ 0.8 กิโลกรัม/ชั่วโมง	70
A.5	ผลของการฆ่าเชื้อด้วยยูวีที่มีต่อปริมาณเซลล์ <i>E. coli</i> (spiked sample) ในน้ำแข็งที่อัตราการใช้ 0.4, 0.6, และ 0.8 กิโลกรัม/ชั่วโมง	71
A.6	ผลของการฆ่าเชื้อด้วยยูวี/โอโซนที่มีต่อปริมาณเซลล์ <i>E. coli</i> (spiked sample) ในน้ำแข็งที่อัตราการใช้ 0.4, 0.6, และ 0.8 กิโลกรัม/ชั่วโมง	72
A.7	ผลของการฆ่าเชื้อด้วยยูวี/โอโซนที่มีต่อปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในน้ำแข็งที่ความเข้มข้นต่างๆ (0, 20, 45, 75, และ 100%) ที่อัตราการใช้ 0.3 กิโลกรัม/วินาที	73
A.8	ผลของการฆ่าเชื้อด้วยยูวี/โอโซนที่มีต่อปริมาณยีสต์และราในน้ำแข็งที่ความเข้มข้นต่างๆ (0, 20, 45, 75, และ 100%) ที่อัตราการใช้ 0.3 กิโลกรัม/วินาที	74
A.9	ผลของการฆ่าเชื้อด้วยยูวี/โอโซนที่มีต่อปริมาณ <i>E. coli</i> ที่ความเข้มข้นต่างๆ (0, 20, 45, 75, และ 100%) ที่อัตราการใช้ 0.3 กิโลกรัม/วินาที	76
A.10	ปริมาณเซลล์ <i>E. coli</i> ที่ได้จากปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10^9 CFU/mL เมื่อมีการใช้ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่างๆ	77
A.11	ปริมาณเซลล์ <i>A. niger</i> ที่ได้จากปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10^7 CFU/mL เมื่อมีการใช้ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่างๆ	78

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1.1 เชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในอาหาร	2
1.2 แสดงกลไกการเข้าทำลายแบคทีเรียของ UV โดยโครงสร้างเซลล์จะดูดซับแสง UV รังสี UV จะเข้าทำลายส่วนของกรดนิวคลีอิกภายใน cell โดยตรง จนทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงพันธุกรรมและเซลล์ตาย	4
1.3 แสดงการฟอร์มตัวของแก๊สโอโซน	4
1.4 แสดงกลไกการเข้าทำลายเซลล์แบคทีเรียของ โอโซน โดยโมเลกุลของ โอโซนเข้าทำปฏิกิริยาโดยตรงกับสารเคมีที่มีอยู่ในเซลล์ของจุลินทรีย์แล้วเกิดการจับตัวเป็นก้อนโปรตีนแล้วทำให้เซลล์แตก (แหล่งที่มาข้อมูล: www.ozoneapplications.com/usingozone_todestroybacteria-celllysing.htm)	5
2.1 ลักษณะสัณฐานของ <i>Escherichia coli</i>	14
2.2 ช่วงความยาวคลื่นของรังสีอัลตราไวโอเล็ตที่มีผลต่อการทำลายเชื้อจุลินทรีย์	15
2.3 ปฏิกิริยาในการเกิดโอโซน	20
2.4 การสลายตัวของโอโซน	22
2.5 ภาพถ่าย Transmission electron microscope (TEM) แสดงระดับการเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรีย <i>E. coli</i> จากผลของ O ₃ (c) เปรียบเทียบกับสารเคมี chlorine (b), chlorine dioxide (d), UV irradiation (e), และกลุ่มควบคุม (a)	26
2.6 แผนภาพแสดงกระบวนการสร้าง O ₃ ด้วยวิธี Corona Discharge	29
3.1 ไดอะแกรมของระบบ Advanced Oxidation Processes (AOPs)	33
3.2 ชุดกล้อง digital image analysis เพื่อตรวจติดตามการเจริญเติบโตของโคโลนี	34
3.3 แบบจำลองห้องฟุ้งเส้นก๊วยเตี๋ยสำหรับการ fumigation และการวาง set อุปกรณ์สำหรับการตรวจสอบประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อในห้องแบบจำลอง	35
3.4 เพลท 6-microwell สำหรับการตรวจวิเคราะห์หับโคโลนีของเชื้อ	35
4.1 ไดอะแกรมของต้นแบบเทคโนโลยี Advanced Oxidation Processes (AOPs)	38
4.2 ผลของการ treatment ด้วย UV ที่มีต่อปริมาณเชื้อ <i>E. coli</i> ที่เงื่อนไขของอัตราการไหลที่แตกต่างกัน (0.4, 0.6, และ 0.8 kg/s) โดยการ spiked เชื้อลงไป	39
4.3 ผลของการ treatment ด้วย ozone ต่อจำนวนเซลล์ <i>E. coli</i> ที่อัตราการไหลต่าง ๆ (0.4, 0.6, และ 0.8 kg/s) ที่มีการ spiked เชื้อลงไป	40
4.4 ผลของการใช้โอโซน/ยูวีที่มีต่อปริมาณของเซลล์ <i>E. coli</i> ที่อัตราการไหลต่างๆ กัน (0.4, 0.6, และ 0.8 kg/s) ในตัวอย่างน้ำที่มีการเติมเชื้อลงไป	41

รูปที่	หน้า
4.5 ผลของการ treatment ด้วย UV ที่มีต่อปริมาณเซลล์ <i>E. coli</i> ที่อัตราการไหล 0.4, 0.6 และ 0.8 kg/s ในตัวอย่างที่ได้มีการ spiked เชื้อลงในน้ำแข็ง	43
4.6 ผลของการ treatment ด้วย ozone ที่มีต่อปริมาณเซลล์ <i>E. coli</i> ที่อัตราการไหลที่แตกต่างกัน (0.4, 0.6, และ 0.8 kg/s) ของการ spiked ลงไปในน้ำแข็ง	44
4.7 ผลของการ treatment ด้วย โอโซน/ยูวี ที่มีต่อปริมาณเซลล์ <i>E. coli</i> ที่อัตราการไหลต่างๆ ของ (0.4, 0.6, และ 0.8 kg/s) ในตัวอย่างน้ำแข็งที่มีการ spiked เชื้อลงไป	45
4.8 ผลของการ treatment ด้วย Ozone/UV ที่มีต่อ TPC (ก), ยีสต์/รา (ข) และ <i>E. coli</i> (ค) ต่อปริมาณเซลล์ที่นับได้ที่ความเข้มข้นที่หลากหลาย (0, 20, 45, 75, และ 100%) ของน้ำแข็งที่อัตราการไหล 0.3 kg/s	48
4.9 แบบจำลองห้อง Retrogradation ในการศึกษาประสิทธิภาพของการ fumigation ที่มีต่อการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่บนเพทที่ติดอยู่ด้านข้างของห้อง	49
4.10 เพท 6 หลุมสำหรับการ spread เชื้อบนผิวอาหารแข็ง	49
4.11 การเจริญเติบโตของ <i>E. coli</i> ในการใช้ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ ของเซลล์ที่ความหนาแน่น 10^9 CFU/mL (ก) 1% H ₂ O ₂ (ข) 3% H ₂ O ₂ (ค) 5% H ₂ O ₂	52
4.12 10 นาทีของโคโลนี <i>E. coli</i> ถูก treated ด้วยละอองของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์	52
4.13 20 นาทีของโคโลนี <i>E. coli</i> ถูก treated ด้วยละอองของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์	53
4.14 การเจริญเติบโตของ <i>A. niger</i> ในการใช้ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่หลากหลายในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ปริมาณความหนาแน่น 10^7 CFU/mL (ก) 1% H ₂ O ₂ (ข) 3% H ₂ O ₂ (ค) 3% H ₂ O ₂	55
4.15 โคโลนีของรา <i>A. niger</i> ถูกบำบัดด้วยการใช้ละอองไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นเวลา 2 นาที	55
4.16 โคโลนีของรา <i>A. niger</i> ถูกบำบัดด้วยการใช้ละอองไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นเวลา 10 นาที	56

บทที่ 1

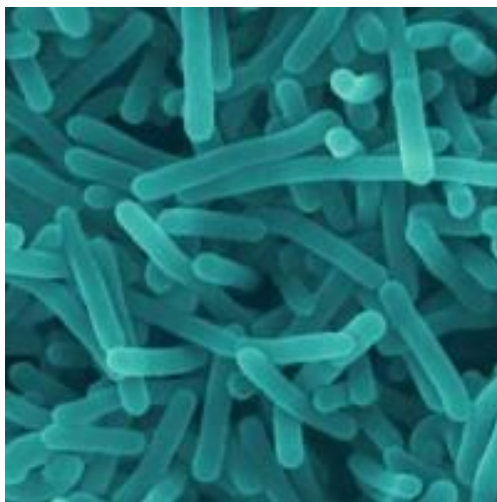
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย

อุตสาหกรรมอาหารของไทย เป็นกลุ่มอุตสาหกรรมที่มีมูลค่าการส่งออกไปยังประเทศต่างๆ ทั่วโลก กว่า 9 แสนล้านบาทในปี พ.ศ. 2556 และคาดว่าภายในปี พ.ศ. 2557 จะมีมูลค่าการส่งออกไปไม่ต่ำกว่า 9.7 แสนล้านบาท ซึ่งเป็นผลจากแนวโน้มการฟื้นตัวของระบบเศรษฐกิจโลก ที่กองทุนการเงินระหว่างประเทศ (International Monetary Fund : IMF) ได้คาดการณ์ว่า ในปี พ.ศ. 2557 จะเป็นปีที่ประเทศและกลุ่มเศรษฐกิจสำคัญของโลกมีอัตราการเติบโตทางเศรษฐกิจทั่วกัน เช่น สหรัฐอเมริกา จะมีการขยายตัวทางเศรษฐกิจ ร้อยละ 2.8 ขณะที่สหภาพยุโรป (European Union : EU) ซึ่งขับเคลื่อนโดยประเทศเยอรมัน อังกฤษ ฝรั่งเศส เป็นหลัก จะมีการขยายตัวทางเศรษฐกิจโดยรวมได้มากกว่าร้อยละ 1 และในประเทศญี่ปุ่น ซึ่งได้รับการกระตุ้นเศรษฐกิจด้วยนโยบายการเงินและการคลังจากรัฐบาลคาดว่าจะมีการเติบโตทางเศรษฐกิจไม่ต่ำกว่าร้อยละ 1.7 จากแนวโน้มข้างต้นส่งผลให้การส่งออกผลิตภัณฑ์อาหารจากไทยไปยังตลาดสหรัฐอเมริกา EU และญี่ปุ่น มีปริมาณการส่งออกเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ โดยเฉพาะในกลุ่มผลิตภัณฑ์อาหารทะเลและเนื้อสัตว์ เช่น ไก่แช่แข็งและแปรรูป อาหารทะเลแช่แข็งและบรรจุกระป๋อง รวมถึงผลไม้กระป๋องและแปรรูป ซึ่งสอดคล้องกับ CEO Food Index หรือดัชนีความเชื่อมั่นทางธุรกิจของผู้ประกอบการในกลุ่มอุตสาหกรรมอาหารที่จัดทำโดยสถาบันอาหารและเปิดเผยเมื่อมิถุนายน พ.ศ. 2557 ได้แสดงดัชนีความเชื่อมั่นของผู้ประกอบการที่ระดับ 55.0 และคาดการณ์ว่าระดับความเชื่อมั่นจะอยู่ในระดับ 57.7 ในอีก 3 เดือนต่อไป ซึ่งถือเป็นเกณฑ์ที่ดี แม้สถานการณ์ทางเศรษฐกิจโลกจะมีแนวโน้มและทิศทางการฟื้นตัว จึงได้สร้างความต้องการผลิตภัณฑ์อาหารเพิ่มขึ้นและส่งผลกระทบต่ออสังหาริมทรัพย์ของอุตสาหกรรมอาหารกลุ่มต่าง ๆ ของไทย ให้สามารถเพิ่มปริมาณและมูลค่าการส่งออกได้เพิ่มขึ้น

หากแต่ผลประโยชน์ดังกล่าวจะเกิดและตกแก่ผู้ประกอบการในอุตสาหกรรมอาหารของไทยได้อย่างเต็มที่และนำไปให้อุตสาหกรรมอาหารสร้างมูลค่าการส่งออกได้ถึงระดับล้านล้านบาทในปี พ.ศ. 2558 จำเป็นที่ผู้ประกอบการและทุกภาคส่วนที่เกี่ยวข้องในอุตสาหกรรมอาหาร จะต้องเร่งลดจุดอ่อนและอุปสรรคต่างๆ ของอุตสาหกรรมอาหารในปัจจุบัน เช่น ข้อจำกัดด้านอุปทานของวัตถุดิบในอุตสาหกรรมอาหาร การปรับเพิ่มขึ้นของค่าแรงและภาพลักษณ์ของประเทศไทยต่อปัญหาการค้ามนุษย์หรือใช้แรงงานเด็กในอุตสาหกรรมอาหารทะเล ปัจจัยต่างๆ ข้างต้น ล้วนส่งผลกระทบต่อความสามารถด้านการแข่งขันในอุตสาหกรรมอาหารของไทยที่ควรได้รับการปรับปรุงแก้ไขอย่างเป็นระบบจากทุกภาคส่วนที่

เกี่ยวข้องพร้อมกับการพัฒนาระบบมาตรฐานในคุณภาพและความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์อาหารให้เป็นที่ยอมรับในระดับสากลตามโครงการครัวไทยสู่ครัวโลก ที่จะสร้างมูลค่าการส่งออกผลิตภัณฑ์อาหารนับล้านล้านบาทต่อปีแก่ประเทศไทย โดยเฉพาะอย่างยิ่งการควบคุมคุณภาพความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์อาหารให้อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานยอมรับ ทั้งนี้กลุ่มตลาดต่างประเทศ เช่น ญี่ปุ่น อเมริกา สิงคโปร์ ฮองกง จีน และยุโรป ประเทศเหล่านี้เป็นประเทศที่ให้ความสำคัญเรื่องความปลอดภัย สุขอนามัยและคุณภาพของสินค้าที่นำเข้าเป็นอย่างมาก ดังนั้นกฎระเบียบการนำเข้าของผลิตภัณฑ์ในประเทศดังกล่าวจึงค่อนข้างที่จะเข้มงวดโดยสินค้าส่งออกเหล่านี้ก่อนที่จะส่งถึงมือผู้บริโภค จะต้องมีการตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยาเพื่อเป็นการประกันคุณภาพอาหารให้เกิดความปลอดภัยต่อผู้บริโภค (สุวิมล, 2543) และเป็นไปตามกฎระเบียบขององค์การการค้าโลกหรือ WHO (World Trade Organization) ซึ่งประเทศสมาชิกผลิตภัณฑ์อาหารส่งออกที่ผลิตได้จะต้องดำเนินการให้เป็นไปตามมาตรฐานอาหารระหว่างประเทศ โดยอันตรายในอาหารที่โรงงานอุตสาหกรรมให้ความสำคัญเป็นอย่างมากคือ อันตรายทางชีวภาพโดยเฉพาะแบคทีเรียที่ก่อโรคอาหารเป็นพิษ เนื่องจากถ้ามีการปนเปื้อนจะสามารถเพิ่มจำนวนและอาจทำให้เกิดโรคระบาด



ก) ลิสทีเรีย



ข) อีโคไล

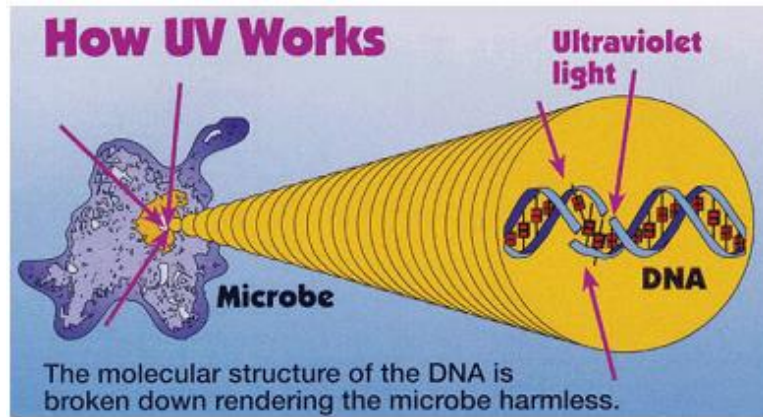
รูปที่ 1.1 เชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในอาหาร

เช่นที่มิชิวาเมื่อ ปี ค.ศ.2013 CDC (Centers for Disease Control, USA) ได้เกิดการระบาดของโรค Listeriosis (รูปที่ 1.1ก) ในประเทศสหรัฐอเมริกา การระบาดครั้งนี้ทำให้มีผู้ป่วยที่ต้องเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล 2,298 ราย และสุดท้ายมีผู้เสียชีวิต 499 ราย ส่งผลกระทบทางเศรษฐศาสตร์ประมาณ 2.3 พันล้านดอลลาร์สหรัฐต่อปีและจากล่าสุดการที่ประเทศเยอรมันนี้เกิดการแพร่ระบาดของเชื้อ *E. coli* (รูป

ที่ 1.1ข) ในถั่วงอกที่ก่อสารพิษ Shiga-Toxin ทำให้ปัจจุบันมีผู้เสียชีวิต 212 คน และ อีกกว่า 2,200 คน ที่ยังคงเจ็บป่วยอยู่ จากเหตุการณ์ดังกล่าว โรงงานอุตสาหกรรมจึงต้องหาแนวทางการป้องกัน โดยการควบคุมสุขลักษณะการผลิตที่ดีตั้งแต่ขั้นตอนการรับวัตถุดิบ ระหว่างกระบวนการผลิตจนได้เป็นผลิตภัณฑ์สุดท้าย โดยการนำแนวทางการประยุกต์ใช้หลักการใช้วิธีการผลิตที่ดี (Good Manufacturing Practice) การใช้พลังงานด้วยเทคโนโลยีสะอาด (Green Technology) และการลดของเสียในกระบวนการผลิต (Holistic Approach to Waste Minimalization) มาบูรณาการภาพรวมในการผลิตที่มีประสิทธิภาพจะทำให้ผลิตภัณฑ์ปลอดจากการปนเปื้อน ทำให้ยอดการคืนหรือยกเลิกสินค้าจากลูกค้าเป็นศูนย์ มุ่งเน้นที่จะผลิตสินค้าที่มีคุณภาพสูงปลอดจากการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค

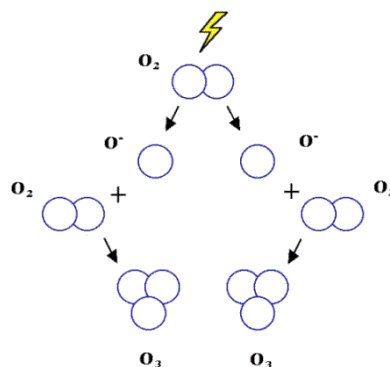
ทั้งนี้เมื่อพิจารณาขั้นตอนการลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารด้วยความร้อน เพื่อทำลายเอนไซม์ต่างๆ และทำลายจุลินทรีย์ที่ก่อโรค และเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ให้เก็บไว้ได้นานขึ้น ส่วนใหญ่นิยมใช้วิธีการพาสเจอร์ไรส์ (Pasteurization) และการสเตอริไรส์ (Sterilization) โดยการพาสเจอร์ไรส์เป็นการใช้ความร้อนที่อุณหภูมิระหว่าง 60 - 80°C ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์บางส่วนและยับยั้งการทำงานที่ไม่พึงประสงค์ของเอนไซม์ ส่วนการสเตอริไรส์เป็นการฆ่าเชื้อโดยใช้ความร้อนที่อุณหภูมิไม่ต่ำกว่า 100°C ในเวลาที่เหมาะสม อาหารที่ผ่านการสเตอริไรส์แล้วจะสามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องหรือต่ำกว่า 45°C (วิล, 2547) จากวิธีการที่ได้กล่าวมาแล้วนั้นจะเห็นว่าระบบที่ใช้ความร้อนเป็นตัวกลางในการฆ่าเชื้อ ซึ่งหากใช้ความร้อนในกระบวนการสูงเกินไป ความร้อนจะไปทำลายวิตามินหรือคุณค่าทางโภชนาการและนอกจากนี้ระบบดังกล่าวยังประกอบไปด้วยส่วนประกอบต่างๆ มากมาย ทั้งในส่วนการเก็บ การลำเลียงและการฆ่าเชื้ออาหาร ทั้งยังมีขั้นตอนการผลิตที่ค่อนข้างซับซ้อน เป็นเหตุให้สิ้นเปลืองเวลาที่ใช้ในกระบวนการฆ่าเชื้อและพลังงานที่ใช้ในการทำงานของระบบ ไม่ว่าจะเป็นพลังงานจากไฟฟ้าหรือจากน้ำมันเชื้อเพลิง รวมทั้งอุปกรณ์บางชิ้นส่วนที่ต้องมีการนำเข้าจากต่างประเทศ เพื่อให้ระบบการฆ่าเชื้อมีคุณภาพและตรงตามมาตรฐานสากล ซึ่งเป็นที่แน่นอนการนำเข้าของอุปกรณ์แต่ละชนิดต้องมีราคาสูง ตลอดจนมีความยุ่งยากในเรื่องการบำรุงรักษา ในกรณีที่การทำงานของเครื่องจักรหรือชิ้นส่วนเกิดการชำรุด ดังนั้นระบบการลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์โดยการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีสะอาดด้วยการใช้ UV/Ozone จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจในการควบคุมปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิตให้อยู่ในระดับที่ปลอดภัย ไม่ก่อให้เกิดโรคระบบทางเดินอาหาร โดยกลไกการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของ UV จะเป็นการใช้รังสียูวีชนิด C (UV - C) ที่ความยาวคลื่นประมาณ 254 นาโนเมตร ซึ่งเป็นช่วงคลื่นที่มีพลังงานสูงและมีความสามารถในการทะลุทะลวงผ่านผนังเซลล์ไซโทพลาสซึม และเยื่อหุ้มนิวเคลียสของสิ่งมีชีวิต เซลล์ของสารพันธุกรรมจะดูดซับแสงยูวีไว้ และ

ยุดิจิกรรรมการสร้างเซลล์ใหม่ มีผลทำให้กิจกรรมต่างๆ ของเซลล์ถูกยับยั้ง อาทิเช่น กระบวนการเมตาบอลิซึมและกระบวนการสืบพันธุ์ ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เซลล์จุลินทรีย์ไม่สามารถทำให้อาหารเน่าเสียหรือเป็นพิษได้ (ดังแสดงในรูปที่ 1.2) (Demirci และ Ngadi, 2012)

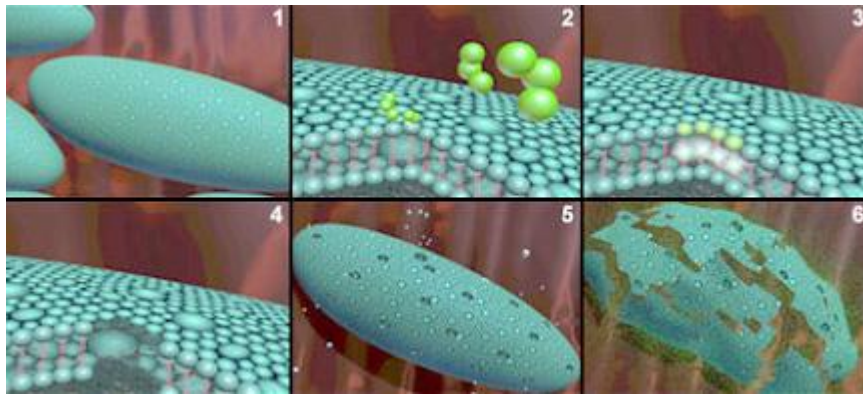


รูปที่ 1.2 แสดงกลไกการเข้าทำลายแบคทีเรียของ UV โดยโครงสร้างเซลล์จะถูกดูดซับแสง UV รังสี UV จะเข้าทำลายส่วนของกรดนิวคลีอิกภายใน cell โดยตรง จนทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงพันธุกรรมและเซลล์ตาย

ในขณะที่การฆ่าเชื้อด้วยโอโซน โอโซนเป็น โมเลกุลที่ประกอบจากออกซิเจน 3 อะตอม ปรากฏอยู่ในชั้นบรรยากาศของโลกและมีการใช้งานในทางอุตสาหกรรมและเครื่องใช้ตามบ้านทั่วไป โอโซนสามารถผลิตขึ้นได้จากเครื่องผลิตโอโซน (Ozone generator) โดยการนำกระแสไฟฟ้าผ่านอากาศทำให้ออกซิเจนเปลี่ยนรูปเป็นโอโซนได้เป็นก๊าซที่ไม่มีสี แต่มีกลิ่น โอโซนจะลอยอยู่อย่างอิสระในอากาศโดยโมเลกุลของออกซิเจนเมื่อได้รับพลังงานสูง จะแตกออกเป็น 2 อะตอมออกซิเจนและหลังจากนั้นแต่ละอะตอมของออกซิเจนจะเข้าทำปฏิกิริยา หรือเข้าไปจับกับ โมเลกุลของออกซิเจนอีกทีหนึ่ง ทำให้เกิดเป็น โมเลกุลของโอโซน ดังแสดงในรูปที่ 1.3



รูปที่ 1.3 แสดงการฟอร์มตัวของแก๊สโอโซน



รูปที่ 1.4 แสดงกลไกการเข้าทำลายเซลล์แบคทีเรียของโอโซนโดยโมเลกุลของโอโซนเข้าทำปฏิกิริยาโดยตรงกับสารเคมีที่มีอยู่ในเซลล์ของจุลินทรีย์แล้วเกิดการจับตัวเป็นก้อนโปรตีนแล้วทำให้เซลล์แตก (แหล่งที่มาข้อมูล: www.ozoneapplications.com/using_ozone_to_destroy_bacteria-cell_lysing.htm)

โดยกลไกการทำงานของโอโซนในการยับยั้งจุลินทรีย์ (รูปที่ 1.4) อาจเกิดขึ้นได้ 2 ลักษณะ คือ โมเลกุลของโอโซนเข้าทำปฏิกิริยาโดยตรงกับสารเคมีที่มีอยู่ในเซลล์ของจุลินทรีย์ โดยอนุมูลตัวกลางอิสระเป็นตัวเข้าทำลายเซลล์เมมเบรน ไซโตพลาสซึม โปรตีนและชั้นของไขมันในเซลล์จุลินทรีย์ แล้วเกิดการจับตัวเป็นก้อนโปรตีนแล้วทำให้เซลล์แตก หรือการเข้าทำลายระบบหายใจของเซลล์จุลินทรีย์ กับโมเลกุลของโอโซน สามารถเข้าทำลายเอนไซม์ DNA และ RNA ของจุลินทรีย์ได้ (Hunt และ Marinas, 1997)

จากความสามารถในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วย UV/Ozone ดังที่ได้กล่าวมา จึงมีความเป็นไปได้ในการนำเทคโนโลยี UV/Ozone มาประยุกต์ใช้ในการลดการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli*/coliforms ในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารและสินค้าระหว่างผลิต นอกจากนี้แล้วภายหลังจากดำเนินการกระบวนการผลิตจนได้เป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายแล้ว ทางโรงงานจำเป็นต้องมีการทำความสะอาด line การผลิต ซึ่งปกติวิธีการโดยทั่วไปเป็นการนำคลอรีนในรูปแบบของเกลือไฮโปคลอไรท์มาใช้อย่างแพร่หลายในโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร เพื่อฆ่าเชื้อที่ติดมากับเครื่องมือเครื่องใช้ต่างๆ ซึ่งคลอรีนเป็นสารฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอำนาจการออกซิไดซ์ (Oxidizing Power) สูงมาก ทำให้สามารถหยุดการเจริญเติบโตของแบคทีเรียส่วนใหญ่ได้ แต่คลอรีนมีข้อเสียที่สำคัญคือ คลอรีนและผลิตภัณฑ์พลอยได้ (By product) เช่น Chloramines และ Chloroorganic compounds เป็นสารที่มีพิษต่อผู้บริโภคโดยเป็นสารก่อมะเร็ง และมีข่าวจากองค์การอนามัยโลกที่มีการตรวจพบสารก่อมะเร็ง trihalomethane (THM) ในน้ำดื่มซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาของคลอรีนอิสระ (HOCl, OCl) กับอินทรีย์สารและสภาวะแวดล้อม (Severine et. al., 1985) ดังนั้นการประยุกต์วิธีการฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพด้วยการใช้ UV/Ozone ในการ sanitize สายการผลิตอาหารจะทำ

ให้พนักงานมีความปลอดภัยในการทำงาน สามารถลดน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตอาหารและสามารถนำ
 วัตถุดิบระหว่างผลิตกลับมาใช้ใหม่เพื่อลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ซึ่งเมื่อพิจารณารูปแบบการใช้งาน
 ของ UV/Ozone นอกเหนือจากใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสามารถนำไปประยุกต์ใช้บำบัดน้ำทิ้งจาก
 อุตสาหกรรมอื่นๆ ได้อีกด้วย จะเห็นได้ว่าการใช้ UV/Ozone มีคุณสมบัติที่ทนทาน ประสิทธิภาพ
 สามารถนำมาใช้ได้อย่างปลอดภัยและมีประสิทธิภาพที่ดีในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ไม่ก่อปัญหาในเรื่องของสารเคมี
 ตกค้าง (Borup และ Adams, 1985; Sung et. al., 2014) ที่ก่อให้เกิดมลพิษกับสิ่งแวดล้อม การฆ่า
 เชื้อจุลินทรีย์ด้วย UV/Ozone เป็นอีกทางเลือกหนึ่ง สำหรับอุตสาหกรรมผลิตผลิตภัณฑ์อาหาร แต่
 อย่างไรก็ตามมองว่าความรู้ดังกล่าวมีค่อนข้างจำกัด ยังคงต้องมีการศึกษาวิจัยเพื่อนำข้อมูลมาสนับสนุน
 เพิ่มขึ้น เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการนำมาใช้ ซึ่งจะเป็นผลดีอย่างยิ่งต่ออุตสาหกรรมอาหารในอนาคต
 เพื่อการพัฒนาและปรับปรุงคุณภาพและความปลอดภัยในผลิตภัณฑ์อาหารตลอดห่วงโซ่อุปทาน (supply
 chain) ให้เป็นที่ยอมรับในระดับสากล ตามโครงการครัวไทยสู่ครัวโลก

จากเหตุผลและความจำเป็นจึงเป็นที่มาของโครงการวิจัยศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลกระทบต่อผลการ
 ปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli*/coliforms ด้วยการฆ่าเชื้อด้วย UV/Ozone เพื่อพัฒนาระบบให้ได้สภาวะการฆ่า
 เชื้อที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพสามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้จริงในโรงงาน ลดการสูญเสียจากการ
 ปนเปื้อนเชื้อ *E. coli*/coliforms ส่งผลให้สินค้าคงคลังมีปริมาณน้อยลง ทำให้สามารถบริหารพื้นที่ผลิต
 ของทางโรงงานอย่างมีประสิทธิภาพเพื่อรองรับกำลังการผลิตที่เพิ่มมากขึ้น โดยในงานวิจัยจะมีการ
 ออกแบบระบบและเครื่องมืออุปกรณ์ที่เหมาะสมเพื่อเป็นต้นแบบอุปกรณ์สำหรับการทดลองที่ถูก
 สุขลักษณะการผลิตที่ดี นอกจากนี้ทางคณะผู้วิจัยมีความร่วมมือทางวิชาการกับโรงงานอุตสาหกรรม
 อาหารต่าง ๆ อาทิเช่น บริษัท ไทยเอเชียไรซ์ โปรดักส์ จำกัด โดยทางบริษัทฯ มีความต้องการใช้เทคโนโลยี
 การลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ด้วย UV/Ozone ในขั้นตอนการล้างน้ำแป้ง ซึ่งวิธีการดั้งเดิมของทาง
 โรงงานเป็นการล้างด้วยน้ำปกติ ทั้งนี้ น้ำทิ้งที่เกิดจากการล้างยังคงมีวัตถุดิบแป้งข้าวติดไปบางส่วน ซึ่ง
 แป้งข้าวดังกล่าวจะเป็นแหล่งอาหารที่ดีของจุลินทรีย์ ก่อให้เกิดการเน่าเสียของน้ำไม่สามารถนำวัตถุดิบ
 ระหว่างผลิตกลับมาใช้ใหม่ได้ น้ำเสียดังกล่าวเมื่อมีการปล่อยทิ้งยังส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและเขต
 ชุมชนรอบโรงงาน ซึ่งทางบริษัทตระหนักเห็นถึงปัญหาดังกล่าวที่จะต้องหาแนวทางแก้ไขอย่างเร่งด่วน
 นอกจากนี้ บจก. น้ำปลารุ่นโรจน์ เป็นอีกหนึ่งบริษัทที่มีความสนใจเทคโนโลยีดังกล่าว ทั้งนี้จากการวิเคราะห์
 ภาพรวมกระบวนการผลิตน้ำปลาของทางโรงงานพบว่าทางโรงงานยังขาดต้นแบบเทคโนโลยีการผลิตน้ำปลา
 ที่มีมาตรฐานความปลอดภัยทางด้านจุลชีววิทยา ดังนั้นทางโรงงานจึงมีความสนใจจะนำนวัตกรรม
 เทคโนโลยีการลดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ด้วย UV/Ozone มาประยุกต์ใช้ในโรงงานเพื่อยกระดับ

มาตรฐานการส่งออกสู่ตลาดโลก นอกเหนือจากโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร ทางคณะผู้วิจัยยังมีพันธมิตรเป็น บจก. โมเดอร์น ไคสต์ฟู้ด ซึ่งเป็นบริษัทเกี่ยวกับการทำสีย้อมผ้า โดยทางบริษัทมีน้ำเสียที่เกิดขึ้นในระหว่าง process เช่น น้ำเสียจากการซักล้าง น้ำเสียจากขั้นตอนการย้อมสีผ้าซึ่งมีสีเข้มและไม่เป็นที่พึงปรารถนา ทั้งนี้กฎหมายควบคุมมลพิษระบุให้น้ำที่ระบายทิ้งนั้นจะต้องผ่านกระบวนการบำบัดเสียก่อน และจาก ปัญหาภาวะเรือนกระจกทั่วโลก (Green house effect) ที่เกิดขึ้นทั่วโลก ส่งผลทำให้เกิดปัญหาการขาดแคลนแหล่งน้ำสะอาด สำหรับการอุปโภคและบริโภค เพื่อให้เกิดการใช้น้ำได้อย่างคุ้มค่า ทางบริษัทเห็นถึงความจำเป็นไปได้ที่จะนำน้ำเสียดังกล่าวมาผ่านกระบวนการบำบัดด้วยเทคโนโลยีที่เหมาะสมก่อน หมุนเวียนนำกลับมาใช้ใหม่ ซึ่งทางคณะผู้วิจัยเล็งเห็นว่าแนวทางการวิจัยดังกล่าวจะสามารถแก้และตอบ โจทย์ให้กับอุตสาหกรรมในทุก ๆ ด้าน และที่สำคัญที่สุด คือการประยุกต์ใช้วิธีการนี้จะเป็นการแก้ปัญหา การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีปริมาณสูงเกินมาตรฐานเชิงป้องกัน (Preventive measures) แทนการ แก้ไขปัญหา (Corrective approach) ที่ปลายเหตุดังพบเห็นได้ในสื่อทั่วไปเมื่อเกิดการแพร่ระบาดของที่บาน ปลายแล้ว และยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการบำบัดน้ำทิ้งระหว่างกระบวนการผลิตให้สามารถนำ วัตถุดิบระหว่างผลิตกลับมาใช้ใหม่เพื่อลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและเป็นการลดต้นทุนของทาง โรงงาน เทคโนโลยีใหม่นี้จะเป็นอีกตัวอย่างหนึ่งของการเปลี่ยนแปลงที่มีผลกระทบต่อเทคโนโลยีการ ผลิตและทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต้นทุนการผลิต เสริมสร้างศักยภาพให้กับอุตสาหกรรมในประเทศไทย

1.2 วัตถุประสงค์และขอบเขตงานวิจัย

- 1.2.1 เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบประสิทธิภาพการใช้ UV, Ozone และ การใช้ UV ร่วมกับ Ozone ในการลดการปนเปื้อน *E. coli/coliforms* ในสารละลายต่างๆ เช่น น้ำ น้ำแข็ง เป็นต้น
- 1.2.2 เพื่อออกแบบระบบการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ *E. coli/coliforms* ด้วย UV/Ozone ที่มีประสิทธิภาพ สามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค
- 1.2.3 เพื่อศึกษากลไกการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ *E. coli/coliforms* ด้วย UV/Ozone ในสารละลายที่ เตรียมในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ
- 1.2.4 นำผลงานวิจัยที่ได้มาเป็นแหล่งอ้างอิงเพื่อประยุกต์ใช้จริงในอุตสาหกรรมอาหารและ อุตสาหกรรมอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องเพื่อการส่งออกผลิตภัณฑ์ทั้งในและส่งออกต่างประเทศ
- 1.2.5 ใ้ค้นวัตกรรมเทคโนโลยีใหม่ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์แบบไม่ใช้ความร้อน ที่สามารถลด ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ได้เทียบเท่ากับวิธีการใช้ความร้อน เพื่อเป็นยุทธศาสตร์ในการเพิ่ม ความสามารถในการแข่งขันส่งออกผลิตภัณฑ์อาหารในประเทศไทย

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

- 1.3.1 ศึกษาผลของการลดการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli*/coliforms ด้วยการใช้ UV, Ozone และ UV ร่วมกับ Ozone ในสารละลายน้ำแข็งที่มีอัตราส่วนของน้ำและแข็งที่ความเข้มข้นต่างๆ
- 1.3.2 ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการลดการปนเปื้อนของเชื้อ เช่น ความเข้มข้นของสารละลายประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อด้วย UV, Ozone หรือ UV ร่วมกับ Ozone เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการลดการปนเปื้อน
- 1.3.3 ปรับระดับของปัจจัยที่มีผลต่อการลดการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli*/coliforms ในการฆ่าเชื้อด้วย UV/Ozone ที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้จริงในระดับอุตสาหกรรม
- 1.3.4 อัตราการผลิตโอโซนโดยเครื่องกำเนิดโอโซนที่ใช้ในการทดลองเป็น 2 ลิตร/นาที
- 1.3.5 ศึกษาประสิทธิภาพของไอระเหยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่มีต่อความสามารถในการลดปริมาณเชื้อ *E. coli* และ *A. niger*

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.4.1 ข้อมูลในงานวิจัยนี้สามารถใช้เป็นแนวทางในการลดการปนเปื้อนของ *E. coli*/coliforms ด้วยการใช้ UV/Ozone ในการฆ่าเชื้อ
- 1.4.2 ได้กรรมวิธีที่มีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับการใช้ความร้อน
- 1.4.3 ลดการนำเข้าอุปกรณ์ที่มีราคาแพง ในกรณีที่การทำงานของเครื่องจักรหรือชิ้นส่วนบางชิ้นเกิดการชำรุด
- 1.4.4 ผลงานเชิงวิชาการในรูปแบบคำขออนุสิทธิบัตรจากการพัฒนาระบบการลดการปนเปื้อน *E. coli*/coliforms โดยการใช้ UV/Ozone
- 1.4.5 มูลค่าเชิงเศรษฐศาสตร์จากการเพิ่มความสามารถในการแข่งขันส่งออกผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพสู่ตลาดโลก

บทที่ 2

เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา

เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาจำแนกได้ดังนี้

- 2.1 อันตรายของความปลอดภัยในอาหาร (Food Safety Hazard)
- 2.2 จุลินทรีย์ที่พบในผลิตภัณฑ์อาหาร
- 2.3 ลักษณะทั่วไปของจุลินทรีย์
- 2.4 การตรวจหาแบคทีเรีย *E. coli*/ coliforms
- 2.5 แสงอัลตราไวโอเลต (Ultraviolet Light)
- 2.6 โอโซน (O₃)
- 2.7 ข้อดีของการทำงานร่วมกันระหว่างยูวีและ โอโซน

2.1 อันตรายของความปลอดภัยในอาหาร (Food Safety Hazard) (บุศกร, 2545)

คำว่า “อันตราย” หรือ “Hazard” หมายถึง สิ่งที่มีคุณลักษณะทางชีวภาพ เคมี หรือ ฟิสิกส์ที่มีอยู่ในอาหาร หรือสภาวะของอาหารที่มีศักยภาพในการก่อให้เกิดปัญหาต่อสุขภาพ อันตรายที่มีผลต่อความปลอดภัยของอาหารแบ่งเป็น 3 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ

2.1.1 อันตรายชีวภาพ (Biological Hazard)

อันตรายชีวภาพหมายถึง อันตรายที่เกิดจากการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ ไวรัส พยาธิ และอื่น ๆ ในอาหาร ปัญหาอันเนื่องมาจากอันตรายชีวภาพในอาหารที่บริโภคกัน ส่วนใหญ่มักเกิดจากจุลินทรีย์ ซึ่งทำให้เกิดโรค หรือเกิดอาหารเป็นพิษ จึงแบ่งลักษณะการเกิดปัญหาอันเนื่องมาจากจุลินทรีย์ในอาหารนี้ได้เป็น 2 ลักษณะ คือ

- **Infection** เกิดจากการบริโภคจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค จุลินทรีย์ เช่น *Salmonella* , *Shigella* เมื่อบริโภคเข้าไปจะแทรกตัวเข้าไปในผนังลำไส้ แล้วจะแบ่งตัวเจริญเติบโต ณ บริเวณนั้น ส่วนไวรัส Hepatitis และ Parasite *Trichinella spiralis* เมื่อเข้าสู่ร่างกายจะผ่านลำไส้เข้าไปเจริญเติบโตอยู่ในเนื้อเยื่ออื่น เมื่อจุลินทรีย์เหล่านี้เข้าไปในร่างกาย ร่างกายก็จะมีปฏิกิริยาเกิดเป็นอาการต่าง ๆ อีกลักษณะหนึ่งของการเกิด

infection คือ จุลินทรีย์ เช่น *Clostridium perfringens*, *Vibrio cholerae* เมื่อเข้าสู่ลำไส้จะเจริญเติบโตและสร้างสารพิษ enterotoxins ทำให้เกิดเป็นพิษต่อร่างกาย

- **Intoxication** เกิดจากการบริโภคสารพิษ (toxin) ที่จุลินทรีย์สร้างไว้ในอาหาร เช่น botulinum toxin, Staph. toxin, mycotoxin เป็นต้น หรือสารพิษที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติ ซึ่งพบในพืชและสัตว์บางชนิด เช่น สารพิษในเห็ดบางชนิด, สารพิษจากหอยและปลาทะเลบางชนิด เป็นต้น ในประเทศสหรัฐอเมริกา พบว่าการเกิดอาหารเป็นพิษมักมีสาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรีย

ตารางที่ 2.1 แสดงต้นเหตุที่ก่อให้เกิดโรคตามสัดส่วนที่ปรากฏและปริมาณผู้ป่วย

ต้นเหตุ	สัดส่วนของการทำให้เกิดโรค (%)	ปริมาณผู้ป่วย (%)
แบคทีเรีย	66	87
ไวรัส	5	9
ปรสิต	5	1
สารเคมี	25	4

ในส่วนของปัญหาที่เกิดจากแบคทีเรียนั้น ส่วนใหญ่เกิดจาก *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, รองลงมาได้แก่ *Bacillus cereus*, *Shigella*, *Campylobacter* และ *Clostridium botulinum* แม้ว่าปัญหาที่เกิดจาก *Campylobacter*, *Escherichia coli* O157:H7 และ *Listeria monocytogenes* จะเกิดขึ้นในระยะหลัง ๆ ก็ตาม แต่ก็พบว่าปัญหาจาก *Campylobacter* จะเกิดขึ้นปีละประมาณ 6% ของปัญหาโรคจากอาหาร ส่วนของปัญหาจากเชื้อไวรัสส่วนใหญ่เกิดจาก Hepatitis A และ Norwalk virus ส่วนของ parasites ปัญหาหลักเกิดจาก *Trichinella spiralis* และ *Giardia lamblia*

2.1.2 อันตรายเคมี (Chemical Hazard)

อันตรายชีวภาพมักเกิดการแพร่กระจายของโรคไปกับอาหารอย่างรวดเร็วในหมู่คนค่อนข้างมาก แต่อันตรายเคมีนั้นจะไม่มี การแพร่กระจายมากนัก ดังนั้นในการตรวจเช็คจึงจำเป็นต้องทำให้เพียงพอที่จะสามารถตรวจพบได้หากมีอันตรายเคมีในอาหารที่ผลิต

ในกระบวนการผลิตอาหารนั้น มีการใช้สารเคมีกันอย่างหลากหลาย ตั้งแต่การใช้ยาฆ่าแมลงในการเพาะปลูก การใช้ยาปฏิชีวนะในการเลี้ยงสัตว์ การใช้สารเคมีเพื่อช่วยในการผลิต (เช่น สี สารกันหืน ยา

กันบูด เป็นต้น) การใช้ น้ำยาทำความสะอาดและสารฆ่าเชื้อเพื่อการสุขาภิบาลในโรงงาน การใช้ น้ำมันหล่อลื่นเพื่อการบำรุงรักษาเครื่องจักรต่าง ๆ เป็นต้น

สารเคมีเหล่านี้มีโอกาสที่จะก่อปัญหาการปนเปื้อนลงในอาหารที่ผลิตได้ หากไม่ได้รับการเอาใจใส่ดูแล การใช้อย่างถูกต้อง สารเคมีที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการผลิตอาหารจำแนกตามแหล่งที่มาได้เป็น 4 ประเภท ดังนี้

- ใช้สารเคมีที่ใช้ทางการเกษตร เช่น ยาฆ่าแมลง ปุ๋ย สอร์โอมิน ยาปฏิชีวนะ เป็นต้น
- สารเคมี หรือสารพิษที่เกิดโดยธรรมชาติ เช่น Aflatoxin, Staph, toxin, Botulinum toxin เป็นต้น
- สารเคมีที่เติมในอาหาร เช่น กรด, preservatives, additives, sulfiting agents เป็นต้น
- สารเคมีที่ใช้ในโรงงานหรือในอาคารการผลิต เช่น น้ำยาทำความสะอาด, น้ำยาฆ่าเชื้อ, น้ำมันหล่อลื่น (lubricants), น้ำมันเชื้อเพลิง, ยาฆ่าแมลง/ มด เป็นต้น

ในการใช้สารเคมีนั้น ควรจะปรึกษาหารือกับสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กรมวิชาการเกษตร กรมปศุสัตว์ หรือหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง ว่าสารเคมีนั้น ๆ ได้รับอนุญาตให้ใช้ได้หรือไม่และหากได้รับอนุญาตก็ต้องดูว่าระดับหรือปริมาณที่อนุญาตให้ใช้เป็นเท่าไร

2.1.3 อันตรายกายภาพ (Physical Hazard)

อันตรายกายภาพ หมายถึง การปนเปื้อนของวัตถุ หรือวัสดุที่ไม่ใช่องค์ประกอบของอาหาร และเป็นสิ่งแปลกปลอมในอาหารที่เป็นโทษต่อสุขภาพของผู้บริโภค ได้แก่ เศษแก้ว หิน เศษไม้ โลหะ ตัวอย่างของอันตรายกายภาพและแหล่งของอันตราย จากสิ่งแปลกปลอมนี้จะไม่แพร่กระจายมากเท่ากับ biological และ chemical hazards สิ่งแปลกปลอมที่พบและเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคนี้เกิดขึ้นจากสาเหตุและแหล่งต่าง ๆ ต่อไปนี้

- เกิดการปนเปื้อนมาในวัตถุดิบ
- การออกแบบเครื่องมือ, เครื่องจักร ไม่ดี ตลอดจนการใช้เครื่องมือ, เครื่องจักรอย่างไม่ถูกวิธี
- การบำรุงรักษาเครื่องมือ, เครื่องจักร ไม่เพียงพอ
- วิธีการปฏิบัติงานของพนักงาน (การฝึกอบรมผู้ปฏิบัติงานไม่เพียงพอ)

ในการควบคุมอันตรายชนิดต่าง ๆ นั้น ต้องควบคุมตั้งแต่วัตถุดิบ องค์ประกอบต่าง ๆ วัตถุดิบจะต้องมี specifications, จดหมายรับรองคุณภาพ และทางโรงงานต้องมีวิธีการตรวจรับที่ถูกต้องในกระบวนการ

ผลิตภัณฑ์ต้องจัดการในเรื่องหลักและวิธีการผลิตที่ดี (Good Manufacturing Practices) สรรหาวิธีการและเครื่องมือที่เหมาะสมในการผลิตและในการกำจัดอันตรายต่าง ๆ อาจต้องมีเครื่องมือที่ใช้ช่วยกำจัดอันตรายกายภาพจากแหล่งของอันตราย

2.2 จุลินทรีย์ที่พบในผลิตภัณฑ์อาหาร

2.2.1 จุลินทรีย์ในกลุ่มที่ทำให้อาหารเน่าเสีย

จุลินทรีย์ในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่เป็นเชื้อจุลินทรีย์ชอบเย็น (Psychrophiles) ได้แก่ แบคทีเรียสกุล *Pseudomonas* เมื่อเจริญในอาหารเกิดสารในกระบวนการสร้างและสลาย (metabolite) กรดอะมิโนในอาหาร แล้วให้สารประกอบพวกมาโลโดรัส (Malodorus) ซึ่งเป็นสารที่ทำให้เกิดกลิ่นรสไม่ดีในอาหาร โดยปกติถ้าควบคุมอุณหภูมิในการแช่เยือกแข็งอย่างมีประสิทธิภาพแล้วเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้ไม่สามารถเจริญได้ แต่ถ้าอุณหภูมิการเก็บผลิตภัณฑ์อยู่ในช่วง 0°C เป็นเวลานาน จุลินทรีย์ดังกล่าวอาจเป็นสาเหตุให้เกิดการเสื่อมเสียได้

2.2.2 จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค

การตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้แสดงให้เห็นว่า วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิต มีคุณภาพไม่ดี หรือสุขลักษณะของแหล่งผลิตไม่ดี เชื้อในกลุ่มนี้ถ้าเจริญในผลิตภัณฑ์เป็นปริมาณมากและผู้บริโภคใช้ความร้อนในการอุ่นไม่เพียงพอ อาจก่อให้เกิดอันตรายได้ เชื้อที่สำคัญ ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Salmonellae*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Listeria monocytogenes*

2.2.3 จุลินทรีย์ที่เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงสุขลักษณะ

โดยทั่วไปการตรวจหาจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้ตามมาตรฐานสากล คือการตรวจหา Coliforms bacterial และ *Escherichia coli* ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าวมีแหล่งสะสมอยู่ในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์เลื้อยคืบ การปนเปื้อนของเชื้อกลุ่มนี้ในอาหารแสดงถึงสุขลักษณะของการผลิตที่ไม่ดี เนื่องจากเป็นเชื้อที่ไม่ทนความร้อน ดังนั้นเมื่อตรวจพบเชื้อกลุ่มนี้ในอาหารสำเร็จรูปแช่แข็ง แสดงให้เห็นว่ามีการปนเปื้อนภายหลังการให้ความร้อนหรือความร้อนที่ใช้ในกระบวนการผลิตไม่เพียงพอที่ทำลายเชื้อในกลุ่มดังกล่าวได้

2.3 ลักษณะทั่วไปของจุลินทรีย์

2.3.1 แบคทีเรีย Coliform

แบคทีเรีย Coliform หมายถึงกลุ่มของแบคทีเรียในวงศ์ Enterobacteriaceae ที่มีรูปร่างท่อนสั้น ติดสีแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ เป็นพวกที่ไม่ต้องการอากาศ หรือ Facultative anaerobe สามารถหมักน้ำตาลแลคโตสให้กรดและแก๊สได้ภายใน 48 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 35°C ตัวอย่างแบคทีเรียในกลุ่มนี้ได้แก่ *Escherichia coli* ซึ่งโดยปกติมักพบอยู่ในทางเดินอาหารสัตว์เลื้อยคืบ และของคน

ฉะนั้นจะพบมากในอุจจาระและแบคทีเรียจีส Enterobacter ซึ่งนอกจากในอุจจาระแล้วยังสามารถพบได้ในดินและปนเปื้อนมากับพืชผักต่างๆ หรืออยู่ในผลิตภัณฑ์อาหารที่ไม่มีสุขลักษณะในการผลิต ดังนั้นการตรวจพบจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้จึงถือได้ว่าเป็นการปนเปื้อนของอุจจาระ อาจนำซึ่งจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคได้ แต่โดยปกติคนสามารถต้านทานจุลินทรีย์กลุ่มนี้ได้ดี ยกเว้นมีการกระตุ้นเชื้อปกติในทางเดินอาหารให้สามารถก่อโรคได้ เช่น พวกไวรัส ดังนั้น การผลิตอาหาร หรือน้ำดื่ม จึงต้องมีการตรวจสอบจุลินทรีย์ว่ามีอยู่ในปริมาณเท่าใด มีอันตรายหรือไม่และบางประเทศจะไม่รับซื้อสินค้าหากตรวจพบ

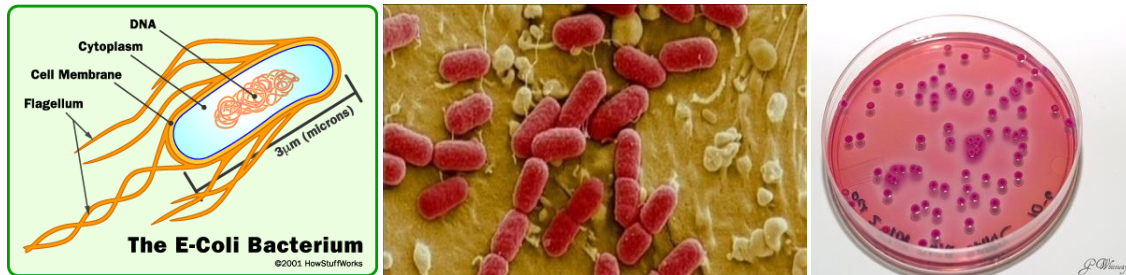
2.3.2 แบคทีเรีย *Escherichia coli*

Escherichia coli หรือ *E. coli* เป็นแบคทีเรียในกลุ่มโคลิฟอร์ม เป็นตัวชี้การปนเปื้อนของอุจจาระในน้ำ มีอยู่ตามธรรมชาติในลำไส้ใหญ่ของสัตว์และมนุษย์ แบคทีเรียชนิดนี้ทำให้เกิดอาการท้องเสียบ่อยที่สุด ทั้งในเด็กและผู้ใหญ่ ทำให้ถ่ายอุจจาระเหลว หรือเป็นน้ำ แต่อาการมักไม่รุนแรง เพราะทั้งเด็กและผู้ใหญ่มักมีภูมิคุ้มกันอยู่บ้างแล้ว เนื่องจากได้รับเชื้อนี้เข้าไปทีละน้อยอยู่เรื่อยๆ เชื้อนี้มักปนเปื้อนมากับอาหาร น้ำ หรือ มือของผู้ประกอบอาหาร ปกติเชื้อเหล่านี้อาจพบในอุจจาระได้อยู่แล้วแม้จะไม่มีอาการอะไร

2.4 การตรวจหาแบคทีเรีย *E. coli* coliforms

Coliform bacteria นิยมใช้เป็นดัชนีบ่งชี้สุขาภิบาลของอาหารและน้ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในน้ำดื่ม เนื่องจากแบคทีเรียในกลุ่มนี้คือ *E. coli* มีแหล่งอาศัยในลำไส้ของคน และสัตว์เลื้อยคืบ ดังนั้นการตรวจพบ *E. coli* ในอาหารและน้ำดื่มจึงแสดงว่ามีการปนเปื้อนอุจจาระซึ่งบ่งถึงลักษณะสุขาภิบาลการผลิตของอาหารและน้ำนั้นไม่สะอาดพอ และมีแนวโน้มที่จะมีแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคทางเดินอาหาร เช่น *Salmonella* และ *Shigella* ซึ่งเป็นแบคทีเรียในกลุ่มเดียวกัน ปนเปื้อนอยู่ในอาหารและน้ำนั้น แบคทีเรียกลุ่มนี้ประกอบด้วยแบคทีเรียรูปแท่งสั้น แกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ สามารถเจริญได้ทั้งสภาพ aerobe และ facultative anaerobe คุณสมบัติที่แตกต่างและนิยมใช้แยกแบคทีเรียกลุ่มนี้จากแบคทีเรียกลุ่มอื่นๆ คือความสามารถรีดิวซ์น้ำตาลแลคโตสให้กรดและแก๊สใน 24-48 ชม. ที่อุณหภูมิ 35°C และ

สามารถแยก *E. coli* ออกจากกลุ่ม Coliform bacteria โดยอาศัยความสามารถในการผลิตกรดและแก๊ส ภายใน 24 ชม. ที่ 44.5°C และการทดสอบ IMViC เป็น +++ หรือ ---



รูปที่ 2.1 ลักษณะพื้นฐานของ *Escherichia coli*

(แหล่งที่มา: <http://allwomenstalk.com/10-facts-about-organic-food>)

ในงานวิจัยดังกล่าว ในการเลือก *E. coli* มาศึกษาวิจัย เนื่องจากเชื้อ *E. coli* เป็นเชื้อแบคทีเรียที่รู้จักกันแพร่หลายมากที่สุดที่พบได้ในน้ำทั่วไป และเป็นแบคทีเรียที่มีความต้านทานเริ่มต้น (Initial Resistant Schouler) ต่อแสงอัลตราไวโอเล็ต อีกประการหนึ่งคือ *E. coli* เป็นแบคทีเรียที่มีอยู่ในอุจจาระของคนและสัตว์มากถึง 95% ถ้าหากตรวจพบว่าในน้ำนั้นมี *E. coli* อยู่มาก ก็แสดงว่าน้ำนั้นสกปรกถูกปนเปื้อน (contaminated) จากอุจจาระของคนและสัตว์มาแล้ว จึงไม่ปลอดภัยต่อผู้บริโภค (Venosa, 1986) แต่ถ้าสามารถควบคุม *E. coli* ซึ่งเป็นแบคทีเรียส่วนใหญ่ที่มีในน้ำที่ปนเปื้อนเชื้อโรคทางเดินอาหารได้แล้ว แบคทีเรียชนิดอื่นๆ ก็จะควบคุมได้ง่ายด้วย โดยการปรับความเข้มแสง หรือเวลาสัมผัสแสง UV

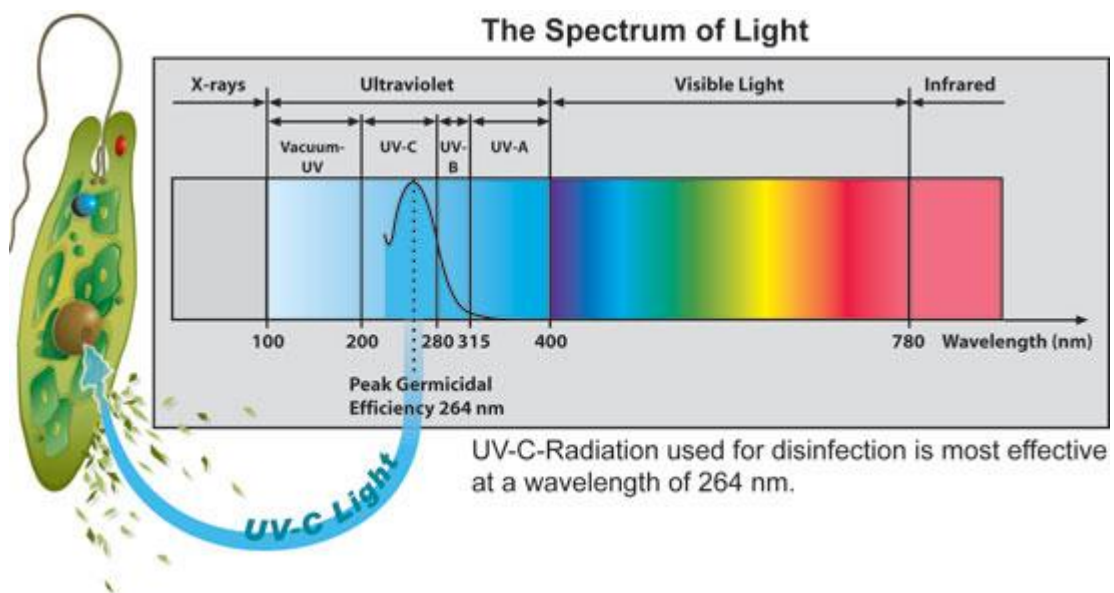
2.5 แสงอัลตราไวโอเล็ต (Ultraviolet Light)

แหล่งกำเนิดของรังสี UV นั้น มีทั้งจากธรรมชาติและจากสิ่งที่มีมนุษย์ประดิษฐ์ขึ้น แต่แหล่งกำเนิดรังสี UV ที่สำคัญ คือ ดวงอาทิตย์และคนส่วนใหญ่จะได้รับ UV จากแสงแดด แต่เนื่องจากชั้นของบรรยากาศได้ลดลง มนุษย์และสิ่งแวดล้อมจึงได้รับรังสี UV เพิ่มมากขึ้น สำหรับสุขภาพของมนุษย์ รังสี UV มีทั้งข้อดีและข้อเสีย คือ หากได้รับรังสีในขนาดต่ำจะเป็นประโยชน์ต่อการสร้างวิตามินดี แต่ถ้าได้รับมากเกินไปเป็นเวลานานจะมีผลในการทำลายระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย รวมถึง ผิวหนัง ตา และก่อให้เกิดมะเร็ง ไบโอมิเลกุลในร่างกายซึ่งดูดซึมรังสี UV จะเกิดปฏิกิริยาชั้นปฐมภูมิ คือ เกิดการเปลี่ยนแปลงโมเลกุลเล็กน้อย หรือเกิดการเปลี่ยนแปลงทางโมเลกุลโดยสิ้นเชิง ซึ่งการเปลี่ยนแปลงนี้จะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วแต่มีผลต่อเนื่องในระยะยาว DNA เป็นโมเลกุลสำคัญที่ถูกทำลายได้ด้วย รังสี UVB (280 – 315 nm) และ UVC (100 – 280 nm) จากการเฝ้าสังเกตการณ์ พบว่า เมื่อเซลล์ prokaryotic และ eukaryotic

ได้รับรังสี UV จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ เช่น เซลล์ตาย โครโมโซมเปลี่ยนแปลง เกิดการกลายพันธุ์ และการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างเซลล์ นอกจากนี้ยัง พบว่า ยีนส์หลายตัว และไวรัสหลายชนิด ก็ถูกกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลง โดยรังสี UV เช่นกัน (Bank et. al., 1990; Bintsis et. al., 2000)

แสงอัลตราไวโอเล็ตเป็นแสงสีม่วงน้ำเงินที่มีความยาวคลื่นตั้งแต่ 200 nm ถึง 390 nm ซึ่งอาจแบ่งได้เป็น 3 ช่วง

1. ช่วงคลื่นยาว (3250 – 3900 angstrom) รังสีช่วงนี้มีอำนาจในการฆ่าเชื้อโรคต่ำและสามารถพบได้ในแสงแดด
2. ช่วงคลื่นปานกลาง (2950 – 3250 angstrom) รังสีช่วงนี้มีอำนาจฆ่าเชื้อโรคได้ถ้าเวลาสัมผัสเพียงพอ
3. ช่วงคลื่นสั้น (2000 - 2950) รังสีช่วงนี้ใช้ในการฆ่าเชื้อโรคในน้ำได้ดีที่สุด



รูปที่ 2.2 ช่วงความยาวคลื่นของรังสีอัลตราไวโอเล็ตที่มีผลต่อการทำลายเชื้อจุลินทรีย์

(แหล่งข้อมูล: <http://www.radiantuv.com/uv-edu/>)

โดยปกติแล้วหลอด UV จะมีความยาวตั้งแต่ 12 – 48 นิ้ว มักจะมีอายุการใช้งานไม่น้อยกว่า 7,500 ชั่วโมง

2.5.1 หลักการทำงานของหลอดรังสียูวี

รังสียูวีถูกจัดเป็นส่วนหนึ่งของสนามแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความยาวคลื่นในช่วง 100-400 nm โดยทั่วไปรังสียูวีสามารถแบ่งประเภทออกได้ 4 ประเภทตามความยาวคลื่นคือ รังสียูวีเอ (UV-A) รังสียูวีบี (UV-B) รังสี

ยูวีซี (UV-C) และรังสียูวีสุญญากาศ (vacuum-UV) รังสียูวีเอซึ่งมีช่วงความยาวคลื่น 315-400 นาโนเมตร เป็นรังสีที่มีผลต่อการเปลี่ยนสีของผิวหนังของคน รังสียูวีบีซึ่งมีช่วงความยาวคลื่น 280-315 nm เป็นรังสีที่มีผลต่อการไหม้และการเป็นมะเร็งผิวหนังของคน ในขณะที่รังสียูวีซีซึ่งมีช่วงความยาวคลื่น 200-280 nm เป็นรังสีที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์และรังสียูวีสุญญากาศ ซึ่งมีช่วงความยาวคลื่น 100-200 nm เป็นรังสีที่สามารถถูกดูดซับได้ด้วยวัตถุเกือบทุกชนิด โดยรังสียูวีสุญญากาศจำเป็นต้องเคลื่อนที่ในสถานะสุญญากาศเท่านั้น รังสียูวีจากแสงแดดจากดวงอาทิตย์ เป็นรังสีที่มีความยาวคลื่นมากกว่า 300 นาโนเมตร เนื่องจากความสามารถในการดูดซับของชั้น โอโซนที่สามารถดูดซับรังสียูวีที่มีความยาวคลื่นต่ำ

2.5.2 กลไกการสร้างรังสียูวี (UV light generation) และแหล่งกำเนิดรังสียูวี

อะตอมและไอออนสามารถปลดปล่อยโฟตอน (photon) จากแสงเมื่ออิเล็กตรอนเปลี่ยนสถานะจากสถานะพลังงานสูง (high energy state, E2) ไปยังสภาวะพลังงานต่ำ (low energy state, E1) โดยโฟตอนแต่ละตัวมีพลังงาน (E) ตามสมการที่ 1 $E (J) = E_2 - E_1 = hc/\lambda$ สมการที่ 1 โดยที่ $h =$ ค่าคงที่พลังค์ (Planck's constant) $= 6.23 \times 10^{-34} \text{ J.s}$ $c =$ ความเร็วแสง $= 2.998 \times 10^8 \text{ m/s}$ $\lambda =$ ความยาวคลื่นของรังสี (nm) ระดับพลังงานของอะตอมหรือไอออนนั้นเป็นลักษณะเฉพาะขึ้นอยู่กับจำนวนโปรตอน อิเล็กตรอนและนิวตรอนในอะตอมหรือไอออนนั้นๆ ในธาตุบางชนิด ความแตกต่างระหว่างสถานะพลังงาน สามารถปลดปล่อยโฟตอนที่มีความยาวคลื่นในช่วงของรังสียูวีได้ รังสีสามารถแบ่งออกเป็น 2 ชนิดหลัก คือ รังสีชนิดก่อไอออน (ionizing radiation) และรังสีชนิดไม่ก่อไอออน (non-ionizing radiation) โดยรังสีชนิดก่อไอออน คือ รังสีใดๆ ก็ตามที่มีเมื่อเดินทางผ่านตัวกลาง หรืออากาศแล้วสามารถทำให้ตัวกลางเกิดการแตกตัวเป็นไอออน เช่น รังสีแกมมา รังสีบีตาและรังสีแอลฟา เป็นต้น ในขณะที่รังสีใดๆ ก็ตามที่มีเมื่อผ่านตัวกลางแล้ว ไม่ทำให้ตัวกลางแตกตัว คือรังสีชนิดไม่ก่อไอออน เช่น รังสียูวี รังสีอินฟราเรดและคลื่นวิทยุ เป็นต้น หลอดกำเนิดรังสียูวี (UV lamp) ในอุตสาหกรรมอาหาร โดยทั่วไปสามารถแบ่งตามความดันไอของปรอทระหว่างหลอดกำเนิดรังสียูวีทำงานออกเป็น หลักๆ 3 ประเภทคือ 1. ความดันต่ำ (low pressure) 2. ความดันต่ำ; ความเข้มแสงสูง (low pressure; high output) และ 3. ความดันปานกลาง (medium pressure) หลอดกำเนิดรังสียูวีประกอบด้วยหลอดที่ทำมาจากแก้วซิลิกา ซึ่งห่อหุ้มชั้น (envelope) อีกชั้นหนึ่ง ที่บรรจุปรอทและแก๊สเฉื่อย (ปิดผนึกทั้งต้นและปลาย) มีอิเล็กโทรดบริเวณปลายของแต่ละด้านของ envelope โดยแหล่งพลังงานของหลอดกำเนิดรังสียูวี โดยทั่วไปคือพลังงานจากกระแสไฟฟ้า เครื่องฉายรังสียูวี ในอุตสาหกรรมอาหารนั้นประกอบด้วยท่อที่บรรจุหลอดกำเนิดรังสียูวีโดยแยกออกจาก

ตัวอย่างอาหารที่จะมาสัมผัสกับรังสียูวี โดยเครื่องฉายรังสียูวีส่วนใหญ่ ประกอบด้วยจอควบคุมซึ่งจะแสดงผลของปริมาณความเข้มของรังสียูวี (UV intensity) และอัตราการไหลของอาหารเหลว (flow rate)

2.5.3 การวัดปริมาณของรังสีอัลตราไวโอเล็ต

ปริมาณการใช้รังสี UV จะวัดโดยใช้หน่วย ไมโครวัตต์-วินาที/ตร.ซม. ซึ่งเกิดจากผลคูณระหว่างความเข้มของรังสีในหนึ่งหน่วยพื้นที่ (ไมโครวัตต์/ตร.ซม.) กับเวลาสัมผัสระหว่างรังสีกับน้ำ (วินาที) การวัดอาจใช้หน่วย Ultrads เชื้อโรคต่างๆ มีความต้านทานต่อรังสีไม่เท่ากันดังตารางที่ 2.2 แต่อย่างไรก็ตามเพื่อความแน่ใจว่าการฆ่าเชื้อโรคจะได้ผลตามที่ต้องการ ก็ไม่ควรจะน้อยกว่า 20,000 Ultrads แต่โดยทั่วไป หลอด UV มีปริมาณรังสี 30,000 Ultrads เพราะจะต้องมีการเพื่อความสูญเสียของรังสีด้วย (Koutchma et. al., 2009)

ตารางที่ 2.2 ปริมาณรังสี UV ที่ใช้ในการฆ่าเชื้อโรคต่างๆ

ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์	สาเหตุของโรค	Ultrads*
<i>Salmonella typhosa</i>	โรคไทฟอยด์	4,100
<i>Salmonella paratyphi</i>	โรคลำไส้	6,100
<i>Shigella dysenterica</i>	โรคบิด	4,200
<i>Shigella flexneri</i>	โรคบิด	3,400
<i>Vibrio comma</i>	โรคอหิวาตกโรค	6,500
<i>Leptospira spp.</i>	โรคดีซ่าน	6,000
<i>Poliovirus</i>	โรคสันหลังอักเสบ	6,000
Unidentified	โรคตับอักเสบ	8,000

* Ultrads = 1 ไมโครวัตต์ - วินาที/ตารางเซนติเมตร

2.5.4 กลไกของรังสีต่อจุลินทรีย์ (Krishnamurthy et. al., 2008)

กลไกในการเข้าทำลายจุลินทรีย์ของรังสีแบ่งได้เป็น 2 ชนิดคือ

1. Target Theory รังสีจะเข้าทำลายส่วนของกรดนิวคลีอิกภายในเซลล์โดยตรงทำให้เกิดการตายและผ่าเหล่าได้ รังสีนี้ ได้แก่ แสง UV
2. Indirect Theory การทำลายเซลล์เกิดขึ้นโดยอ้อม เนื่องจากรังสีนี้จะทำให้น้ำในเซลล์แตกตัวเป็น H^+ และ OH^- เพื่อรบกวนการทำงานของเอนไซม์ จนทำให้ขบวนการเมตาบอลิซึมและสารพันธุกรรมเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมจนกระทั่งเซลล์ตาย รังสีพวกนี้ ได้แก่ X-ray, Gamma Ray เป็นต้น

2.5.5 ผลของแสงอัลตราไวโอเล็ตต่อจุลินทรีย์

แสงอัลตราไวโอเล็ตจะมีผลต่อโครงสร้างของเซลล์ที่สามารถดูดกลืนแสงนี้ไว้ได้ (Demirci และ Ngadi, 2012) เช่น โปรตีน และ DNA โปรตีนจะดูดกลืนได้ดีที่มีความยาวคลื่น 280 nm โดยเป็นการดูดกลืนของกรดอะมิโนที่เป็น Aromatic Ring ส่วน DNA จะถูกดูดกลืนแสง UV ได้สูงสุดใกล้กับความยาวคลื่น 254 nm ผลกระทบของแสง UV ที่เกิดกับ DNA จะมีความสำคัญต่อเซลล์มากที่สุด เนื่องจาก DNA เป็นสารพันธุกรรมจึงมีหน้าที่ควบคุมกลไกการดำรงชีวิต และการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมของเซลล์ DNA มีโครงสร้างเป็นลักษณะ 2 สายพันธุเป็นเกลียว แต่ละสายของ DNA จะประกอบไปด้วยน้ำตาลดีออกซีไรโบส (Deoxyribose), ฟอสเฟต และเบสชนิดต่างๆ มายึดเกาะกัน แล้วทั้งสองสายของ DNA จะมาเชื่อมต่อกันด้วย Hydrogen bond ของเบสแต่ละคู่ คือ Adenine จับกับ Thymine และ Guanine จับกับ Cytosine

โครงสร้างสำคัญในการดูดกลืนแสง UV ของ DNA คือเบสชนิดต่างๆ โดยที่เบส Pyrimidine (คือ Thymine และ Cytosine) จะมีความไวต่อแสง UV มากกว่าเบส Purine (คือ Adenine และ Guanine) เมื่อได้รับแสง UV จะทำให้เบส Cyclobutane Ring ในที่สุด Dimer ที่เกิดเป็นชนิดแรกได้แก่ Thymine Dimer แต่อาจจะพบว่าจะเกิด Dimer ของเบสคู่อื่นๆ เช่น Thymine – Cytosine และ Cytosine Dimer ได้อีกด้วย ในขณะที่เบสเชื่อมกันเป็น Dimer นี้ Hydrogen bond ที่ยึดระหว่างสายของ DNA จะถูกทำลายเองทำให้ลักษณะเกลียวของ DNA เปลี่ยนไป การยึดเกาะกันของเบสที่เข้าคู่กันในแต่ละสายของ DNA ไม่เกิดขึ้น ทำให้การทำงานและการแบ่งตัวของ DNA มีการสับสน ไม่สามารถจำลองตัวเองหรือจำลองเป็น RNA ขึ้นมาได้ มีผลทำให้เซลล์ไม่สามารถแบ่งตัว การหายใจและการเจริญเติบโตถูกยับยั้ง จนกระทั่งเซลล์ตายไปในที่สุด แสง UV ยังมีผลทางอ้อมต่อจุลินทรีย์อีกด้วย กล่าวคือ แสง UV ที่มีความยาวคลื่นสั้นๆ จะกระตุ้นให้ออกซิเจนที่ละลายน้ำเกิดการรวมตัวกับน้ำเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ซึ่งสารที่ได้นี้มีคุณสมบัติทำลายจุลินทรีย์อีกด้วย เซลล์แบคทีเรียที่ใกล้ตายด้วยอิทธิพลของแสง UV อาจฟื้นคืนชีพขึ้นมาได้ ถ้าเชื้อได้รับแสงที่มีความยาวคลื่น 300 – 400 nm การฟื้นคืนชีพด้วยแสงนี้ เรียกว่า Photoreactivation แสงในช่วงความยาวคลื่นดังกล่าวจะไปกระตุ้นเอนไซม์ทำให้ Dimer ของเบสหลุดออกจากกัน ทำให้ DNA กลับคืนสู่สภาพปกติจนสามารถทำงานได้ อย่างไรก็ตามบางเซลล์ที่ได้รับความเสียหายจากแสง UV เป็นอย่างมากก็จะตาย ไม่สามารถซ่อมแซมให้ฟื้นขึ้นมาได้ด้วยขบวนการของ Photoreactivation

2.5.6 รังสีอัลตราไวโอเล็ตต่อการทำลายจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับ

ความสามารถของรังสีอัลตราไวโอเล็ตต่อการทำลายจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับ

- 2.5.6.1 ความเข้ม (dose) ของรังสีเมื่อสัมผัสเซลล์
- 2.5.6.2 ระยะเวลาที่รังสีสัมผัสเซลล์
- 2.5.6.3 ระยะห่างระหว่างจุดกำเนิดรังสีและเซลล์
- 2.5.6.4 ชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ เช่น ว่าจะทนต่อรังสี UV มากกว่าแบคทีเรีย
- 2.5.6.5 สถานภาพของจุลินทรีย์ในสภาวะแวดล้อมขณะฉายรังสี เช่น ในช่วงระยะ lag phase, ในช่วงระยะ log phase, ระยะการสร้างสปอร์, เซลล์ (vegetative cells), ความต้องการออกซิเจน (aerobe, facultive anaerobe, anaerobe), อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญ (thermophiles, psychrophiles, mesophiles)
- 2.5.6.6 องค์ประกอบของอาหารที่นำมาฉายรังสีและปัจจัยภายนอกและปัจจัยภายใน (intrinsic – extrinsic parameter) ของอาหาร

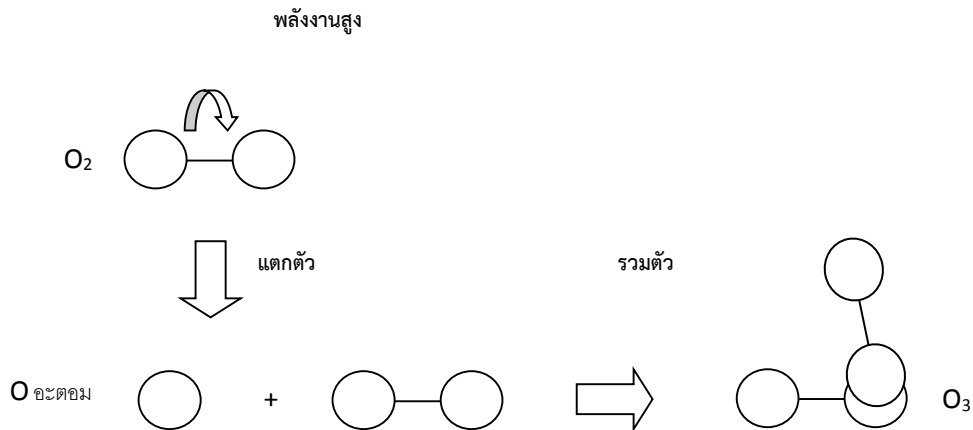
แสงยูวีใช้เป็นวิธีการฆ่าเชื้อโรคในน้ำตั้งแต่กลางคริสต์ศตวรรษที่ 20 แสงยูวีที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตรจะทำให้แบคทีเรีย ไวรัสและโปรโตซัวลดลง เช่น *Cryptosporidium* โดยการทำลายพันธะโมเลกุลของอาร์เอ็นเอและดีเอ็นเอเพื่อให้เกิด dimers ซึ่งทำให้เชื้อโรคไม่สามารถสืบพันธุ์และเจริญเติบโตได้

ความไวของรังสียูวีต่อเชื้อจุลินทรีย์วัดจากความเข้มของรังสียูวีครั้งที่สัมผัสกับเวลา ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มและเวลาสัมพันธ์กับความสัมพันธ์ระหว่างเวลาและความเข้มขั้นของคลอรีน เช่น *E. coli* และโปรโตซัว เช่น *Cryptosporidium* มีความไวสูงและต้องใช้รังสียูวีประมาณ 10 mJ ต่อตารางเซนติเมตรสำหรับฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าว 99.99% ในทางกลับกัน ไวรัสส่วนใหญ่ (เช่น โปลิโอ) มีความไวต่อรังสียูวีน้อยลง โดยมีขนาด 30 มิลลิเมตรต่อตารางเซนติเมตรสำหรับฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าว 99.99% Adenovirus เป็นเชื้อจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญน้อยที่สุด โดยต้องใช้รังสียูวีประมาณ 180 มิลลิกรัมต่อตารางเซนติเมตรสำหรับการระงับการใช้งาน 99.99% ดังนั้นการรักษาด้วยรังสียูวีเพียงอย่างเดียวไม่สามารถคาดว่าจะช่วยป้องกันเชื้อโรคต่างๆได้

2.6 โอโซน (O₃)

ก๊าซโอโซน (Ozone or Activated Oxygen) ประกอบด้วยธาตุออกซิเจน 3 อะตอมรวมกัน มีสูตรโมเลกุล O₃ ก๊าซโอโซนสามารถเกิดขึ้นได้เองในธรรมชาติในบรรยากาศชั้นสตราโทสเฟียร์และบนพื้นผิวโลก ลักษณะการเกิดเป็นผลมาจากการเกิดฟ้าแลบและฟ้าคะนองซึ่งจะมีประจุไฟฟ้ามากมายเกิดขึ้นและมี

ความต่างศักย์ทางไฟฟ้าสูงมาก ซึ่งทำให้ก๊าซออกซิเจนแตกตัวแล้วรวมตัวกันใหม่เป็นก๊าซโอโซนได้นั่นเอง ก๊าซโอโซนที่เกิดตามธรรมชาตินี้ ทำหน้าที่กรองรังสีและแสงอาทิตย์ นอกจากนี้มนุษย์ยังสามารถผลิตโอโซนได้ โดยเลียนแบบปฏิกิริยาการเกิดโอโซนจากธรรมชาติ (Yanco Industries, 1998) จากการให้พลังงานสูงแก่โมเลกุลออกซิเจน ทำให้โมเลกุลออกซิเจนนั้นแตกตัวออกเป็นอะตอมออกซิเจนอิสระ ซึ่งต่อมาจะรวมตัวกับโมเลกุลอื่นของออกซิเจนเกิดเป็น โอโซน (สุเมธ, 2541) การเกิดปฏิกิริยาสามารถแสดงดังรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 ปฏิกิริยาในการเกิดโอโซน (Munter, 2001)

โอโซนเป็นสารอยู่ในสถานะก๊าซประกอบด้วยโมเลกุลของออกซิเจน 3 โมเลกุล ก๊าซโอโซนพบมากที่ระดับความสูงประมาณ 10-50 กิโลเมตรเหนือผิวโลกในชั้นบรรยากาศสตราโตสเฟียร์ (Stratospheres) ช่วยลดอันตรายจากรังสีอัลตราไวโอเล็ตจากดวงอาทิตย์ ก๊าซโอโซนเกิดได้เองในธรรมชาติจากกระแสไฟฟ้าแรงสูงในอากาศเนื่องจากฟ้าผ่าหรือฟ้าแลบทำให้ก๊าซออกซิเจนซึ่งปกติประกอบด้วยออกซิเจน 2 อะตอม รวมกัน เป็น 1 โมเลกุล (O_2) แตกตัวเป็นออกซิเจนอะตอม (O) อิสระแล้วรวมกับก๊าซออกซิเจนโมเลกุลอื่น เกิดเป็นโอโซนโมเลกุล (O_3) นอกจากนี้รังสีอัลตราไวโอเล็ตจากดวงอาทิตย์ก็ทำให้ออกซิเจนโมเลกุลแตกตัว เกิดก๊าซโอโซนได้เช่นกัน O_3 ที่เกิดโดยวิธีนี้มีความปริมาณเพียง 0.02-0.2 ppm เท่านั้น (Horvath et. al., 1985)

แม้จะเกิดจากโมเลกุลของออกซิเจนเหมือนกันแต่ O_2 และ O_3 กลับมีคุณสมบัติต่างกันมาก กล่าวคือ O_2 สามารถคงสภาพอยู่ได้ดีกว่า เนื่องจากพันธะที่ยึดอะตอมของออกซิเจน 2 อะตอมไว้ด้วยกัน มีความแข็งแรง นั่นคือมีความเสถียรสูง ในขณะที่ O_3 มีการเติมอะตอมของออกซิเจนเพิ่มเข้ามาอีก 1 อะตอม ทำให้โมเลกุลใหม่ที่ได้มีพลังงานสูง มีความเสถียรต่ำ ทำให้เสียสภาพได้ง่ายจากปัจจัยต่างๆ เช่น อุณหภูมิ ความร้อน ความดันและการเกิดปฏิกิริยากับสารที่มีพลังงานต่ำกว่านั่นเอง จะเกิดการออกซิเดชั่น

(Oxidation) อย่างรวดเร็วด้วยการให้อะตอมของออกซิเจน 1 อะตอม และได้ผลิตผลกลับเป็น O_2 ที่มีพลังงานต่ำกว่านั่นเอง พบว่า O_3 มีความแรงปฏิกิริยา (Oxidation potential) สูงถึง 2.07 Electron Volt (eV) ในขณะที่อนุพันธ์ของออกซิเจน (Reactive oxygen species) ที่นิยมใช้เป็นส่วนผสมของน้ำยาล้างแผลคือ Hydrogen peroxide มีค่า Oxidation potential เท่ากับ 1.78 eV ตลอดจนน้ำยาเคมีที่ใช้ในการฆ่าเชื้อที่สำคัญได้แก่ Sodium hypochlorite และ Chlorine dioxide มีค่าเท่ากับ 1.36 eV และ 0.95 eV ตามลำดับ (Horvath et. al., 1985)

การผลิตโอโซนในโรงงานอุตสาหกรรมจะเป็นระบบปิด (Tap และ Rice, 2012) มีการสร้างและปล่อยโอโซนในจุดที่ต้องการใช้งาน ในปัจจุบันมีวิธีการผลิตอยู่ 2 วิธีคือ

1. วิธี Photozone หลักการคือ การแตกตัวของก๊าซออกซิเจน จากพลังงานคลื่นอัลตราไวโอเล็ตที่มีความยาวคลื่นต่ำกว่า 200 นาโนเมตร แล้วรวมตัวกันใหม่ในรูปของก๊าซออกซิเจนที่ผ่านหลอดอัลตราไวโอเล็ต กล่าวคือ ถ้าแหล่งกำเนิดออกซิเจน ป้อนลม (อากาศในธรรมชาติ) ก๊าซโอโซนที่ผลิตได้จะมีปริมาณ 66.7 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณก๊าซทั้งหมด แต่ถ้าใช้ก๊าซออกซิเจนบริสุทธิ์ในการผลิตออกซิเจนจะเปลี่ยนเป็นก๊าซโอโซน 100 เปอร์เซ็นต์ วิธี Photozone เป็นวิธีที่ให้ความแรงของการออกซิไดซ์สูง อีกทั้งยังใช้พลังงานในการผลิตโอโซนน้อยกว่าวิธีอื่น
2. วิธี Corona Type คือการถ่ายประจุไฟฟ้าแบบ Silent Spark (corona) ความต่างศักย์ (5,000 – 10,000 โวลท์) ผ่านก๊าซออกซิเจนหรืออากาศที่มีความชื้นต่ำ การผลิตโอโซนด้วยวิธีนี้จะให้ปริมาณโอโซนสูงถึง 96.4% ซึ่งมากกว่าวิธี Photozone อีกทั้งยังให้องค์ประกอบอื่นๆ เพียง 3.6 เปอร์เซ็นต์ แต่อากาศที่ใช้ต้องปราศจากความชื้น เนื่องจากความชื้น อาจมีผลในการลดปริมาณโอโซนที่ควรผลิตได้และเป็นสาเหตุให้เกิดไอน้ำเกาะอยู่ภายในเครื่อง ซึ่งก่อให้เกิดสนิมได้

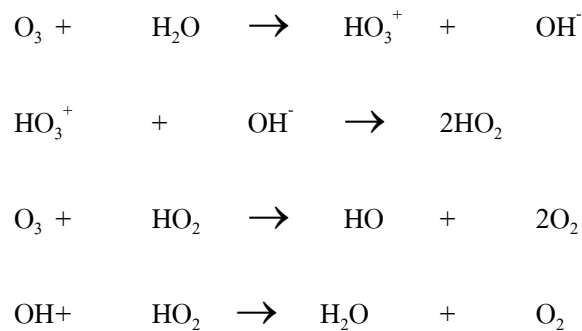
2.6.1 คุณสมบัติของก๊าซโอโซน

โอโซนเป็นก๊าซสีฟ้า กลิ่นค่อนข้างฉุนคล้ายคลาวปลา น้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 48 กรัม/โมเลกุล มีจุดเดือดที่อุณหภูมิ - 111.9 องศาเซลเซียส และจุดหลอมเหลวที่ - 192.5 องศาเซลเซียส (ที่ 1 บรรยากาศ) โอโซนมีน้ำหนักประมาณ 0.135 ปอนด์/ตารางฟุต ออกซิเดชั่น โฟเทนเชียลของโอโซนมีค่าประมาณ - 2.07 โวลท์ โอโซนมีความหนาแน่นมากกว่าออกซิเจน 1.5 เท่า และละลายน้ำได้ดีกว่าออกซิเจน 12.5 เท่า (Towles, 1998) โอโซนสามารถละลายน้ำได้ในตัวทำละลายอินทรีย์บางชนิด เช่น เอ็น-เพนเทน คาร์บอนเตตระคลอไรด์ ฯลฯ และละลายในน้ำได้ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส โอโซนสามารถละลายในน้ำได้ 0.57 กิโลกรัมต่อลูกบาศก์เมตร มีความเสถียรต่ำ ค่าครึ่งชีวิตประมาณ 36 นาทีถึงสองชั่วโมงในสภาวะก๊าซ

และประมาณ 18 – 20 นาที เมื่อละลายในน้ำ จะเห็นได้ว่าความไม่เสถียรของก๊าซโอโซน มีสาเหตุจากการสลายตัวอย่างรวดเร็วของโอโซน

2.6.2 การสลายตัวของโอโซน (Guzel-Seydim et. al., 2004)

เมื่อโอโซนละลายน้ำ จะทำปฏิกิริยากับไฮดรอกไซด์ไอออนของน้ำ เกิดเป็นอนุมูลอิสระต่างๆ และสุดท้ายก๊าซโอโซนจะสลายตัวกลายเป็นก๊าซออกซิเจน อัตราการสลายตัวของโอโซนขึ้นอยู่กับสารประกอบตัวก่อ (Initiator) และ/หรือตัวสนับสนุน (Promotor) ที่เป็นทั้งสารอินทรีย์และอนินทรีย์ในน้ำ รวมทั้งสารยับยั้ง เช่น คาร์บอนเนต



รูปที่ 2.4 การสลายตัวของโอโซน

จากรูปที่ 2.4 มี 2 ปฏิกิริยาที่มีผลต่อวัฏจักรดังกล่าวคือ การสนับสนุน (Promotion) และการยับยั้ง (Inhibition) โดยสารที่สนับสนุน (Promoting Agent) คือก๊าซโอโซนซึ่งเกิดปฏิกิริยากับก๊าซออกซิเจนอย่างต่อเนื่อง ในขณะที่สารยับยั้ง (Inhibiting Agent) จะทำปฏิกิริยากับ OH^- เกิดผลิตภัณฑ์อื่น สารยับยั้งนั้นรวมไปถึงคาร์บอนเนตและไบคาร์บอนเนต ด้วยเหตุนี้เองทำให้ระดับคาร์บอนเนตและไบคาร์บอนเนตที่มีอยู่ปริมาณสูง จะช่วยให้โอโซนที่เหลืออยู่ คงสภาพต่อไปอีก

ปัจจัยของการสลายตัวมี 2 ประการ คือ

2.6.2.1 การทำปฏิกิริยากับสารปนเปื้อนในน้ำ

โอโซนทำปฏิกิริยาทันทีที่สัมผัสกับสารแขวนลอยต่างๆ ในน้ำ อาทิเช่น สารอนินทรีย์และสารอินทรีย์ รวมถึงความหนาแน่นของเซลล์จุลินทรีย์ในน้ำ โอโซนจะสลายตัวอย่างรวดเร็วและแตกตัวให้อนุมูลอิสระ ได้แก่ Hydroxyl radical และ HO_2 ซึ่งมีความไวในการทำปฏิกิริยากับสารปนเปื้อนต่างๆ ในน้ำ ทั้งนี้ขึ้นกับความเข้มข้น ปริมาณ ชนิดของสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ที่

อยู่ในน้ำด้วย จากสาเหตุดังกล่าว ทำให้การสลายตัวของโอโซนในน้ำธรรมชาติ มีความซับซ้อนกว่าในน้ำบริสุทธิ์

2.6.2.2 การกระจายตัวสู่บรรยากาศ

เนื่องจากโอโซนมีความเสถียรต่ำ สลายตัวได้ง่ายในสถานะที่ละลายน้ำ ดังนั้นก๊าซโอโซนที่ผลิตได้จะกระจายตัวขึ้นสู่บรรยากาศเหนือสารละลายในรูปก๊าซมากกว่าทำให้การตรวจวัดค่าความเข้มข้นของโอโซนในน้ำไม่แน่นอน ก๊าซโอโซนที่ยังคงเหลือในรูปสารละลายจะมีค่าลดลงตามเวลา

2.6.3 ประสิทธิภาพในการละลายน้ำของโอโซน (Wickramanayake, 1984)

ประสิทธิภาพในการละลายน้ำของโอโซนจะมีผลต่อความเข้มข้นของโอโซนที่ละลายในน้ำ ปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อความสามารถในการละลายน้ำของโอโซน สามารถสรุปได้ดังนี้คือ

2.6.3.1 อุณหภูมิ

เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจะทำให้ปริมาณโอโซนละลายลดลง เนื่องจากโอโซนสลายตัวได้เร็วขึ้น ความคงตัวของโอโซนรวมทั้งความเข้มข้นเริ่มต้นของโอโซนขึ้นกับอัตราการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิและความสัมพันธ์

2.6.3.2 ค่าความเป็นกรด – ด่าง ของสารละลาย (pH)

ค่า pH มีความสำคัญในการทำปฏิกิริยาของโอโซนต่ออินทรีย์สารต่างๆ โดยในสถานะที่ pH น้อยกว่า 7 โอโซนจะทำปฏิกิริยากับอินทรีย์สารต่างๆ ได้ช้า แต่ในสถานะที่ pH มากกว่า 8 ปฏิกิริยากี้จะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว เนื่องจากโอโซนสลายตัวให้ไฮดรอกซิลเรดิคัล ($^{\circ}\text{OH}$) ที่ออกซิไดส์ที่รุนแรง อย่างไรก็ตามจะไม่พบความแตกต่างของความสามารถในการละลายของโอโซนที่ pH ของน้ำเท่ากับ 5 – 9 เมื่อความเข้มข้นของโอโซนตกค้าง (ROC) อยู่ในช่วง 0.60 – 0.70 ส่วนในล้านส่วน

2.6.3.3 ความเค็มของน้ำ

เมื่อน้ำทะเลมีค่าความเค็มเพิ่มสูงขึ้น จะทำให้โอโซนละลายลดน้อยลง ถ้าตัวแปรอื่นๆ ได้แก่ อุณหภูมิ และค่า pH ของน้ำทะเลคงที่

2.6.3.4 คุณสมบัติของสารละลาย

ปริมาณสารประกอบและอนุภาคแขวนลอยต่างๆ ในน้ำมีความสัมพันธ์โดยตรงกับความสามารถในการสลายของก๊าซโอโซน กล่าวคือถ้ามีสารประกอบและอนุภาคต่างๆ ในปริมาณมาก จะทำให้ปริมาณโอโซนละลายได้ลดลง

2.6.3.5 ขนาดของฟองก๊าซโอโซน

จำนวนและขนาดช่องของหัวทรายที่ฟองก๊าซโอโซนมีผลต่อขนาดของฟองก๊าซ

2.6.3.6 วิธีการที่โอโซนสัมผัสกับสารละลาย

การเป่าฟองก๊าซโอโซนและน้ำไปพร้อม ๆ กัน ทำให้เกิดการแยกชั้นระหว่างก๊าซและของเหลวอย่างชัดเจน ปริมาณโอโซนละลายได้จึงมีค่าน้อย แต่การเป่าฟองโอโซนลงไปใต้น้ำที่ตั้งอยู่ในคอลัมน์จะทำให้โอโซนผสมกับของเหลวได้ดีกว่า

2.6.4 การใช้ประโยชน์จากโอโซน

โอโซนเป็นสารออกซิไดซ์อย่างแรง เนื่องจากมีค่าออกซิเดชันโพเทนเชียลสูงถึง 2.07 โวลต์ เมื่อเปรียบเทียบกับค่ากำลังออกซิเดชันกับสารออกซิไดส์อื่นๆ ได้แก่ คลอรีน 1.36 ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1.77 โบรมีน 1.90 และไอโอดีน 0.54 ดังนั้นจึงทำให้โอโซนถูกนำไปใช้งานด้านการบำบัดอินทรีย์สารและอนินทรีย์สารต่าง ๆ อย่างแพร่หลายซึ่งพอที่จะนำมากล่าวได้ดังนี้

2.6.4.1 การใช้โอโซนบำบัดน้ำดื่ม น้ำในสระว่ายน้ำ บ่อน้ำแร่ และน้ำในกระบวนการผลิตในโรงงาน

อุตสาหกรรม ทำโดยการฉีดฟองก๊าซโอโซนโดยตรงเพื่อแยกโลหะหนักและก๊าซพิษที่มีมาในน้ำดิบให้สลายตัวก่อนเข้าระบบกรองน้ำ นอกจากนี้โอโซนที่ฉีดจะไปละลายกับน้ำเพื่อกำจัดสาหร่ายและเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ ในน้ำดิบก่อนเข้าระบบเช่นกัน และยังใช้โอโซนเป็นสารฆ่าเชื้อโรคแทนคลอรีนก่อนที่จะนำน้ำไปใช้งานอีกด้วย

2.6.4.2 การนำโอโซนมาบำบัดน้ำสำหรับการทำน้ำประปา จะใช้ก๊าซโอโซนในการฆ่าเชื้อโรคในน้ำแทนคลอรีน แล้วจึงส่งเข้าสู่ถังเก็บ (Storage tank)

2.6.4.3 การนำโอโซนมาใช้ในกิจการแพทย์ เพื่อทำลายจุลินทรีย์ในน้ำและในอากาศชนิดต่างๆ เช่นแบคทีเรียและไวรัสที่เป็นสาเหตุของโรกระบบทางเดินอาหาร โรคหัด เป็นต้น ทำการฉีดพ่นในห้องพยาบาลนาน 4 ชั่วโมง แทนการใช้ด่างทับทิมในสารละลายฟอร์มาลดีไฮด์ ซึ่งการใช้โอโซนสามารถฆ่าเชื้อโรคอย่างได้ผล หรือการใช้ ROC ความเข้มข้นน้อยกว่า 1 มก./ลิตร เพื่อออกซิไดซ์เชื้อโรคต่างๆ ที่อยู่ในเลือด เช่น HIV Cytomegalo Virus และ *Staphylococcus*

2.6.4.4 การใช้โอโซนบำบัดน้ำในฟาร์มเลี้ยงปลาและกุ้งทั้งในน้ำจืดและน้ำเค็ม โดยใช้การผสมก๊าซโอโซนลงในน้ำ ก๊าซโอโซนจะไปทำลายก๊าซพิษที่อยู่ที่ยก้นบ่อ เช่น ก๊าซแอมโมเนีย ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ เป็นต้น และยังสามารถกำจัดเชื้อโรคต่างๆ ได้ด้วย ทั้งยังเป็นการเพิ่มปริมาณออกซิเจนละลายให้กับแหล่งน้ำ แต่ต้องใช้กับสัตว์น้ำที่มีขนาดตั้งแต่ 1 เดือนขึ้นไป ถ้านำไปใช้กับสัตว์น้ำที่อายุน้อยกว่านี้ จะทำให้สัตว์เหล่านี้เป็นโรคขาดอาหาร ทำลายพวกสาหร่าย แพลงก์

ตอน ซึ่งเป็นอาหารของสัตว์น้ำเล็กๆ (Strong et. al., 1999) การติดตั้งเครื่องผลิตโอโซน เป็นที่นิยมมากในฟาร์มเพาะเลี้ยงหอยนางรมในประเทศฝรั่งเศสเพื่อกำจัดเชื้อ *Vibrio vulnificus* โดยในปี ค.ศ. 1972 มีความประสบความสำเร็จในการใช้โอโซนกำจัดเชื้อ โคลิฟอร์มแบคทีเรียที่เป็นอันตรายต่อระบบทางเดินอาหารของผู้บริโภค ส่งผลให้ฝรั่งเศสผลิตหอยนางรมได้ถึง 1,400 กิโลกรัม/วัน (Forchtman et. al., 1977) ส่วนในประเทศเอกวาดอร์ การใช้โอโซนเป่าพ่นลงในน้ำที่มีเชื้อไวรัส Taura Syndrome Virus (TSV) ที่เป็นสาเหตุให้ผลผลิตกุ้งทั่วประเทศลดลง 80% ทำให้อัตราการรอดของกุ้งสูงขึ้นกว่า 60%

2.6.4.5 การใช้โอโซนกำจัดสาหร่ายใน Cooling Tower สำหรับเครื่องปรับอากาศขนาดใหญ่เมื่อใช้งานไปนานๆ จะเกิดสาหร่ายบริเวณส่วนประกอบต่างๆ เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ประสิทธิภาพในการระบายความร้อนต่ำลง เกิดการสูญเสียประสิทธิภาพในการปรับอากาศ

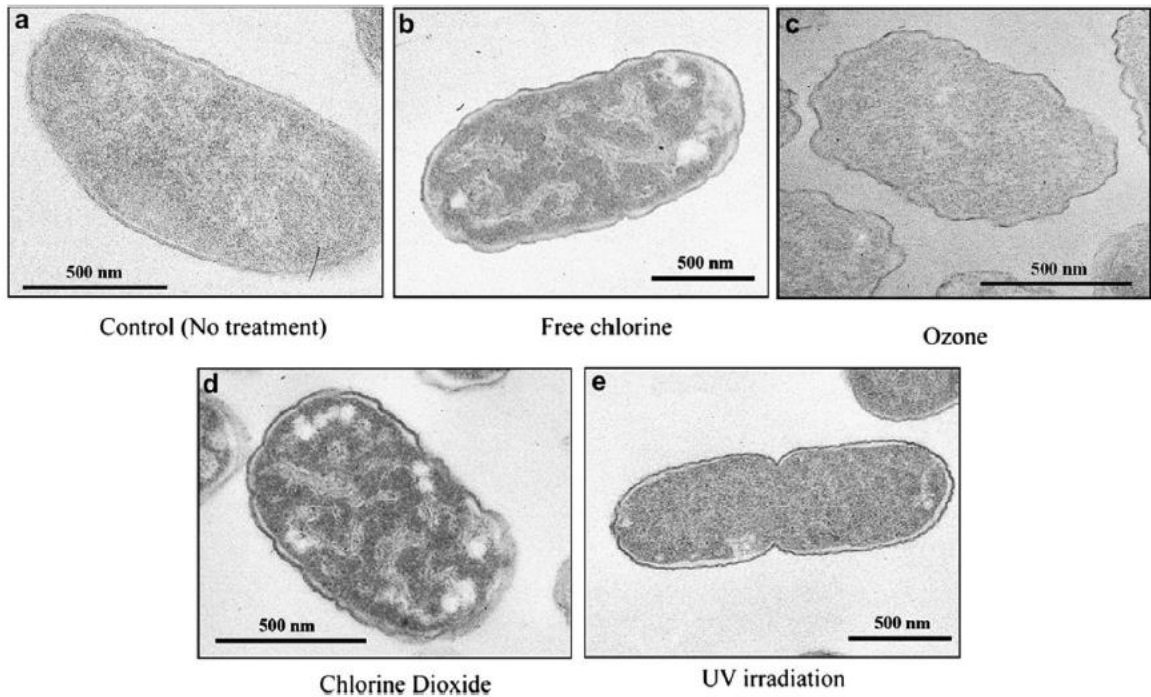
2.6.4.6 การใช้โอโซนกำจัดกลิ่น ก๊าซพิษและโลหะหนัก ที่ได้จากน้ำเสียโรงงานอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น โรงงานผลิตสุรา โรงงานผลิตอาหารกระป๋อง และโรงงานฟอกย้อม เป็นต้น มีวิธีการคือ ฉีดพ่นโอโซนลงไปในน้ำเสีย แล้วปล่อยให้ตกตะกอน หรือการขจัดสีในน้ำเสียที่มาจากสารอินทรีย์ที่สะสมในน้ำและสารแขวนลอย

2.6.5 กลไกในการยับยั้งจุลินทรีย์ของโอโซน

ในปี 1976 องค์กรปกป้องสิ่งแวดล้อมแห่งสหรัฐอเมริกา (U.S. Environmental Protection Agency, U.S.EPA) พบว่า O_3 สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ (Antimicrobial agent) และรับรองความปลอดภัยในการใช้ O_3 ฆ่าเชื้อ จุลินทรีย์ในน้ำได้ (U.S.EPA, 1999) เช่นเดียวกับองค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกา (United states food and drug administration U.S.FDA) ยอมรับการใช้ O_3 ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์และมีความปลอดภัยในการใช้กับอาหาร 2 อาหาร (Food additive agent) (U.S.FDA, 2001) ตลอดจนรายงานการศึกษาโดย U.S.EPA ในปี 2007 พบว่าน้ำโอโซน (Ozonated water) ที่ระดับความเข้มข้น 6-10 ppm มีประสิทธิภาพในการลดจำนวนเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus atrophaeus*, *Staphylococcus epidermidis* และเชื้อรา *Rhodotorula mucilaginosa*, *Penicillium brevicompactum* ทั้งชนิดที่สร้างสปอร์ได้และไม่สร้างสปอร์ได้ 99.99% ในเวลา 24 ชั่วโมง (U.S.EPA, 2007)

การศึกษาเปรียบเทียบผลของ O_3 ต่อความอยู่รอดของแบคทีเรีย *Escherichia coli* โดยเปรียบเทียบกับสารเคมีที่มีสมบัติฆ่าเชื้อ (Disinfectant) ที่นิยมใช้ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย พบว่าน้ำโอโซนทำลายเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* ได้ดีกว่าคลอรีน (Chlorine) และรังสีอัลตราไวโอเล็ต (Ultraviolet radiation) ด้วยการ

เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย มีฤทธิ์โดยซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียได้อย่างรวดเร็ว ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์สูญเสียสมบัติการเป็นเยื่อเลือกผ่าน เสียสมดุลยศาสตร์น้ำและส่งผลให้เซลล์แบคทีเรียแตกในที่สุด (Osmotic bursting) ดังแสดงในรูปที่ 2.5 (Cho et. al., 2010)



รูปที่ 2.5 ภาพถ่าย Transmission electron microscope (TEM) แสดงระดับการเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรีย *E. coli* จากผลของ O_3 (c) เปรียบเทียบกับสารเคมี chlorine (b), chlorine dioxide (d), UV irradiation (e), และกลุ่มควบคุม (a)

Murray และคณะ (2008) พบว่าน้ำไอโซนสามารถทำลายไวรัสได้หลายชนิด ทั้งชนิดที่มีถุงหุ้ม (Enveloped viruses) และชนิดที่ไม่มีถุงหุ้ม (Non-enveloped viruses) ได้แก่ herpes simplex virus type-1, vaccinia virus, adenovirus type-2, และ influenza A virus นอกจากนี้ Thabet และคณะ (2007) ยังพบว่า O_3 สามารถทำลายไข่ของพยาธิ Schistosomiasis mansoni ในหนูได้

การใช้ประโยชน์ทางการแพทย์อื่นๆ นั้น Oizumi และคณะ (1998) ทำการศึกษาในหลอดทดลอง (In vitro) แสดงให้เห็นความเป็นไปได้ในการใช้น้ำไอโซนทำความสะอาดพื้น Celiberti และคณะ (2006) พบว่าการใช้น้ำไอโซนทำความสะอาดพื้นไม่ส่งผลใดๆ ต่อสารเคลือบฟัน (Enamel) ตลอดจนคุณภาพของชิ้นส่วน denture alloy ที่ใช้ในช่องปาก (Suzuki et. al., 1999) การทดลองในห้องปฏิบัติการยังพบว่าน้ำไอโซนมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus mutans*, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

(MRSA), และ *Candida albicans* และกำจัด Biofilms ของเชื้อแบคทีเรีย *Legionella pneumophila*, *Mycobacterium spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, และ *Candida spp.* ได้ (Arita et. al., 2005; Murakami et. al., 2002; Estrela et. al., 2006) โดยไม่ส่งผลกระทบต่อเซลล์ Epithelial ในช่องปากของมนุษย์ (Huth et. al., 2006) Baysan และคณะ (2000) ใช้น้ำไอโซนในการหัตถกรรมทางทันตกรรมพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญเพิ่มจำนวนของเชื้อแบคทีเรียบริเวณบาดแผล ทำให้เชื่อว่า ลดการติดเชื้อแบคทีเรียของเนื้อฟันภายหลังได้ (Rickard et. al., 2004) โดยกลไกการทำลายอาจเกิดขึ้นได้ 2 ลักษณะ อย่างแรกคือโมเลกุลของไอโซนเข้าไปทำปฏิกิริยาโดยตรงกับสารเคมีที่อยู่ในเซลล์จุลินทรีย์ (Hunt และ Marinas, 1997) และอีกลักษณะคือ อนุมูลตัวกลางอิสระ (free radical-mediated) เป็นตัวเข้าทำลาย จากงานวิจัยโดยทั่วไปพบว่าไอโซนมีผลต่อเซลล์เมมเบรน ไซโทพลาสซึม โปรตีนและชั้นของไขมันในเซลล์จุลินทรีย์ทำให้โปรตีนในเซลล์เกิดการจับตัวเป็นก้อน เซลล์แตก บางครั้งพบว่าไอโซนจะเข้าทำลายระบบหายใจ (Respiratory system) ของเซลล์ ตลอดจนทำลายเอ็นไซม์ที่สำคัญในการดำรงชีพของเซลล์ และในบางกรณีไอโซนจะทำลาย DNA และ RNA ของเซลล์จุลินทรีย์ด้วย

ไอโซนสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ (Restaino et. al., 1995) รวมทั้งสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ด้วย ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียของไอโซนขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของไอโซน ระยะเวลาที่สัมผัสกับเชื้อแบคทีเรียและสภาพ pH ที่เป็นกรดของอาหารเลี้ยงเชื้อ จะช่วยให้ไอโซนฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ดีขึ้น (Kim et. al., 1999a; Khadre et. al., 2001)

2.6.6 อิทธิพลของสภาพแวดล้อมที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของไอโซน

ทั้งนี้ปัจจัยที่ต้องคำนึงถึงความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ของ ไอโซนขึ้นอยู่กับ

2.6.6.1 อุณหภูมิ

อุณหภูมิของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ลดลงมีผลทำให้ไอโซนละลายได้ดี ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อจะสูงขึ้น ในขณะที่เดียวกัน ไอโซนจะสลายตัวได้ง่ายเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น

2.6.6.2 ความเป็นกรดต่าง

ไอโซนจะมีความคงตัวเพิ่มมากขึ้น เมื่อ pH ลดลง ที่ pH เป็นด่างจะเกิดการสลายตัวของ ไอโซนได้ง่ายขึ้น ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ของ ไอโซนจะสูงขึ้น เมื่ออยู่ในสถานะเป็นกรด

2.6.6.3 ความชื้นสัมพัทธ์

ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ของ ไอโซนจะสูงขึ้น ถ้าอาหารนั้นมีความชื้นสัมพัทธ์สูง ดังนั้นอาหารที่มี A_w สูงจะมีความไวกับ ไอโซนมากกว่าอาหารที่มี A_w ต่ำ

2.6.6.4 ความต้องการของโอโซนในอาหารเลี้ยงเชื้อ

ในสภาพที่อาหารเลี้ยงเชื้อมีอินทรีย์สารสูง ความต้องการโอโซน (ozone demand) จะสูงตามไปด้วย ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ของโอโซนจะลดลง แต่ในสภาพที่ไม่มีความต้องการของโอโซน (ozone demand - free) โอโซนจะสามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้มากขึ้น

2.6.6.5 ความสามารถของโอโซนในการเข้าถึงเชื้อจุลินทรีย์

ถ้าเชื้อจุลินทรีย์จับตัวเป็นกลุ่มก้อน ประสิทธิภาพของโอโซนในการฆ่าเชื้อจะลดลง แต่ถ้าเชื้อจุลินทรีย์มีการกระจายตัวออกมา เช่น การทำ Ultrasonic treatment โอโซนจะฆ่าเชื้อเหล่านั้นได้ง่ายขึ้น

2.6.7 วิธีการที่นิยมใช้ในการผลิตโอโซน

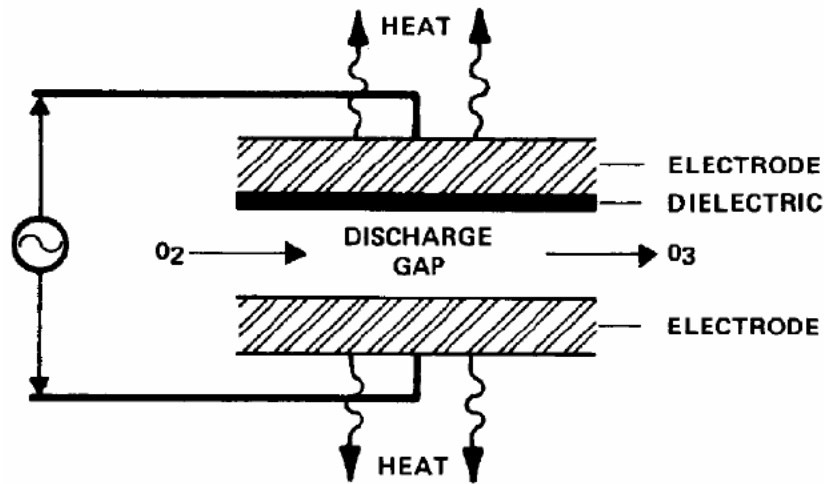
เนื่องจาก O_3 เสถียรจึงมีแนวโน้มที่จะสลายตัวกลับเป็นก๊าซออกซิเจนได้ง่าย มีครึ่งชีวิต (Half-life) 12 ชั่วโมงในบรรยากาศ (Horvath et. al., 1985) และเพียง 20-30 นาทีหากละลายอยู่ในน้ำ (Kim et. al., 2003) หรือกล่าวได้ว่าการใช้ O_3 ไม่มีการตกค้างที่จะเป็นอันตรายใด ๆ เลย กระนั้นก็ตามพบว่าหากมนุษย์หายใจรับ O_3 ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (> 0.1 ppm) ทำให้ระบบทางเดินหายใจระคายเคือง, ปวดศีรษะ, คลื่นไส้, และอาเจียนได้ หรือหากได้รับที่ระดับความเข้มข้นสูง (> 6 ppm) จะเกิดภาวะปอดบวมน้ำ (Pulmonary edema) ได้ (Horvath et. al., 1985) ส่งผลให้การสร้าง O_3 และเก็บไว้จะไม่สามารถทำได้ จึงต้องสร้างขึ้น ณ แหล่งที่จะใช้งานเลย วิธีการที่นิยมใช้ในการผลิตโอโซนในปัจจุบันมี 4 วิธี (Barlow, 1994)

2.6.7.1 Corona Discharge

เป็นวิธีจำลองการเกิด O_3 ตามปรากฏการณ์ฟ้าผ่าในธรรมชาติโดยใช้กระแสไฟฟ้า ความต่างศักย์สูงทำลายโมเลกุลของ O_2 แล้วจึงลดพลังงานโมเลกุลลงเพื่อเอื้อให้เกิดการจับตัวกันของโมเลกุลออกซิเจนอิสระได้เป็น O_3 ในที่สุด วิธีนี้นิยมใช้มากที่สุดเนื่องจากต้นทุนต่ำและสร้าง O_3 ได้มากพอในการใช้ประโยชน์เชิงการค้า

2.6.7.2. UV radiation

เป็นวิธีจำลองการเกิด O_3 ในธรรมชาติกล่าวคือใช้รังสี UV ความยาวคลื่นสั้น โดยเฉพาะที่ 254 nm ซึ่งจะ มีพลังงานมากพอที่จะทำให้โมเลกุลของ O_2 ไม่เสถียรได้เป็นโมเลกุลออกซิเจนอิสระแล้วจึงสร้าง O_3 ได้ใหม่ วิธีนี้มีต้นทุนสูงและผลิต O_3 ได้น้อยกว่า



รูปที่ 2.6 แผนภาพแสดงกระบวนการสร้าง O_3 ด้วยวิธี Corona Discharge

2.6.7.3. Electrolysis

วิธีนี้ทำโดยให้กระแสไฟฟ้าวิ่งในตัวนำไฟฟ้าที่มีสถานะเป็นของเหลว (Electrolyte) เช่น น้ำ หรือ H_2SO_4 วิธีนี้ประสิทธิภาพในการผลิต O_3 ไม่ดียังต้องการการพัฒนาต่อไป

2.6.7.4. Radiochemical

ใช้สารกัมมันตรังสี (Radioactive) เป็นแหล่งพลังงานเพื่อแยกโมเลกุล O_2 เป็นวิธีที่ผลิต O_3 ได้ปริมาณมาก ต้นทุนต่ำแต่ต้องมีการควบคุมความปลอดภัยที่ดีพอ

2.7 ข้อดีของการทำงานร่วมกันระหว่างยูวีและโอโซน

ในการทำงานร่วมกันระหว่างยูวีและ โอโซนส่งผลให้เสริมประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ดังต่อไปนี้

2.7.1 ประสิทธิภาพการกำจัดของกระบวนการ O_3 / UV ร่วมกันมักจะมีประสิทธิภาพสูงกว่าการกำจัดสารเติมแต่งของโอโซนและรังสียูวีเดี่ยว (Prado และ Esplugas, 1999) ขนาดของผล synergistic นี้แตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับสารปนเปื้อนที่น่าสนใจ (Prado และ Esplugas, 1999)

2.7.2 กระบวนการ O_3 / UV รวมกันมีประสิทธิภาพมากขึ้นในการสร้างอนุมูลไฮดรอกซิลมากกว่ากระบวนการ H_2O_2 / UV ที่รวมกันเพื่อให้ความเข้มข้นของออกซิเจนเท่ากัน เนื่องจากสัมประสิทธิ์การลดทอนของโมเลกุลของ O_3 ที่ 254 นาโนเมตร มีค่ามากกว่าสองเท่าของ H_2O_2 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าจำเป็นต้องมีความเข้มข้นของรังสียูวีต่ำกว่าหรือปริมาณ H_2O_2 ที่สูงกว่าเพื่อสร้างอนุมูลไฮดรอกซิลเดียวกันสำหรับกระบวนการทั้งสองนี้ (Glaze et. al., 1987)

บทที่ 3

วัสดุอุปกรณ์ และการดำเนินงานวิจัย

3.1 สายพันธุ์แบคทีเรีย

Escherichia coli DMST 4609 (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์; DMST, ประเทศไทย)

Aspergillus niger TISTR 3012 (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย; TISTR, ประเทศไทย)

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 3.2.1 ตู้ปลอดเชื้อ class II, DWYER Series 0325, USA
- 3.2.2 ตู้บ่ม, Memmert Model ULM500, Japan
- 3.2.3 96-microwell plate, Costar, USA.
- 3.2.4 ถ้วยหลุมมึน
- 3.2.5 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ, BECTHAI and HIRAYAMA Model HA300D, Japan
- 3.2.6 ปิเปตปริมาตร 10 ไมโครลิตร, Autopipette, USA
- 3.2.7 ปิเปตปริมาตร 200 ไมโครลิตร, Autopipette, USA
- 3.2.8 ปิเปตปริมาตร 1000 ไมโครลิตร, Autopipette, USA
- 3.2.9 ปิเปตปริมาตร 5 ไมโครลิตร, Autopipette, USA
- 3.2.10 เครื่องชั่ง 0.0001 กรัม, Metter Toledo Model AG204, Switzerland
- 3.2.11 เครื่องชั่ง 0.01 กรัม, Metter Toledo Model GG4002-S, Switzerland

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

- 3.3.1 อาหารเลี้ยงเชื้อไม่จำเพาะ
 - 3.3.1.1 Plate count agar (PCA), Didco, USA
 - 3.3.1.2 Trypticase soy agar (TSA), Difco, USA
 - 3.3.1.3 Trypticase soy broth (TSB), Difco, USA
 - 3.3.1.4 Potato dextrose agar (PDA), Difco, USA
 - 3.3.1.5 Potato dextrose broth (PDB), Difco, USA

3.3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะ

3.3.2.1 Chromocult® coliform agar (CCA), Difco, USA

3.3.3 โซเดียมคลอไรด์ (NaCl), Merck, Germany

3.4 การเตรียมตัวอย่าง

3.4.1 การเตรียมเชื้อ *E. coli* และรา

เชื้อ *E. coli* ที่เก็บในรูปเชื้อแช่แข็ง สายพันธุ์ DMST 4609 ได้จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยนำเชื้อมาตั้งทิ้งไว้เพื่อให้ละลาย จากนั้นทำการฟื้นตัวเซลล์ในอาหารเหลว Tryptone Soy Broth (TSB) ปริมาตร 100 mL นาน 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 37°C จนได้ปริมาณเซลล์ประมาณ 7 log CFU/mL เชื้อ *E. coli* ที่ใช้ถูกทดสอบเพื่อยืนยันและนับในอาหาร Chromocult® Coliform Agar (CCA) โดยการใช้เทคนิคการเพาะเชื้อขนาดเล็ก (Khueankhanchaoen et. al., 2010; Saeaug และ Boonyaprapasorn, 2010; Supanivatin et. al., 2010) สำหรับโคโลนีเดี่ยวของราถูกเพิ่มจำนวนใน TSB ปริมาตร 100 mL และทำการบ่มที่อุณหภูมิ 30°C (ความเร็วรอบ 150 rpm, 48 ชั่วโมง) (Adrian Tsang et. al., 2009)

3.4.2 การเตรียมเชื้อ *E. coli*, ยีสต์และรา เพื่อใช้ในการทดลอง

เชื้อ *E. coli* ถูกเตรียมโดยการเขย่าในขวดที่มีอาหาร TSB สำหรับเชื้อราใช้อาหาร PDB และบ่มจนได้ปริมาณเซลล์สุดท้ายที่ 10⁹ CFU/mL โดยเชื้อ *E. coli* ที่ใช้ถูกทดสอบเพื่อยืนยันและนับในอาหาร Chromocult® Coliform Agar (CCA) โดยการใช้เทคนิคการเพาะเชื้อขนาดเล็ก (Khueankhanchaoen et. al., 2010; Saeaug และ Boonyaprapasorn, 2010; Supanivatin et. al., 2010)

3.4.3 Chromocult® Coliform Agar Preparation

ผง CCA ถูกผสมกับน้ำกลั่นเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นให้ความร้อนเพื่อให้ผงละลายด้วยไมโครเวฟเป็นเวลา 2 นาทีโดยในระหว่างการให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟจัดได้ว่าเป็นการฆ่าเชื้อระดับพาสเจอร์ไรส์อาหารที่ได้หลังจากให้ความร้อนจะละลายเป็นเนื้อเดียวกัน

3.4.4 การเตรียม Potato Dextrose Agar

อาหาร PDA ถูกเตรียมตามขั้นตอนที่ปรากฏในฉลากข้างขวด ด้วยการชั่งสารตามอัตราส่วนที่กำหนด จากนั้นเติมน้ำกลั่น ละลายผงตัวอย่างด้วยความร้อน แล้วนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C (ความดัน 15 lbs) เป็นเวลา 15 นาที

3.4.5 การ spiked เชื้อลงในน้ำและน้ำแข็ง

สำหรับตัวอย่างน้ำแข็ง แปะงข้าวจำนวน 800 กรัม ถูกผสมกับน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรสุดท้ายที่ 15 ลิตร ทั้ง แปะงข้าวและตัวอย่างน้ำถูก spiked ด้วยเชื้อ *E. coli* จำนวน 10^7 CFU/mL ปริมาตร 200 mL สารละลาย จำนวน 15.2 ลิตรถูกบรรจุลงถึง reservoir ที่มีการติดตั้งระบบ O_3/UV ดังแสดงในรูปที่ 3.1 และหมุนเวียน มวลของน้ำแข็งที่อัตราการไหล 0.4, 0.6, และ 0.8 kg/s สำหรับการทดลองที่แตกต่างกันที่บำบัดด้วย UV, ozone, และ ozone/UV ตัวอย่างถูกเก็บที่เวลา 0, 2, 4, 6, 8, 10, และ 15 นาที

3.4.6 การเตรียมน้ำแข็ง

สำหรับการทดลองได้ varied อัตราของแปะงต่อน้ำเป็น 0, 20, 45, 75, และ 100% อัตราการไหลของมวล ถูกคงไว้ที่ 0.3 kg/s เนื่องจากคุณสมบัติเชิงกายภาพของอุปกรณ์ สำหรับการบำบัดลดปริมาณเชื้อที่ แตกต่างกันของ UV, ozone และ ozone/UV ตัวอย่างถูกเก็บที่เวลาเริ่มต้นที่ 0, 5, 10, 20, 30, และ 40 นาที ปริมาณเชื้อ TPC, *E. coli* และ ยีสต์/รา ถูกนับจากการเก็บตัวอย่างที่เวลาต่างๆ จำนวน 1 mL และเตรียม serial dilution ตัวอย่าง ตัวอย่างที่เจือจางถูกนำไปวางบนอาหาร PCA และ PDA และทำการบ่มที่อุณหภูมิ $37^\circ C$ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง การนับปริมาณ โคโลนีถูกดำเนินการ โดยใช้เทคนิคเพาะเชื้อขนาดเล็ก

3.5 เทคโนโลยี AOP

3.5.1 การทดลองฆ่าเชื้อด้วย UV

การฆ่าเชื้อด้วย UV โดยการให้ตัวอย่างของเหลวที่มีการกระจายของเชื้อที่สม่ำเสมอไหลเข้าไปในท่อ เพื่อให้เกิดการสัมผัสกับ UV ในการฆ่าเชื้อ โดย UV ที่ใช้ในการฆ่าเชื้อมีความยาวคลื่นที่ 254 นาโนเมตร

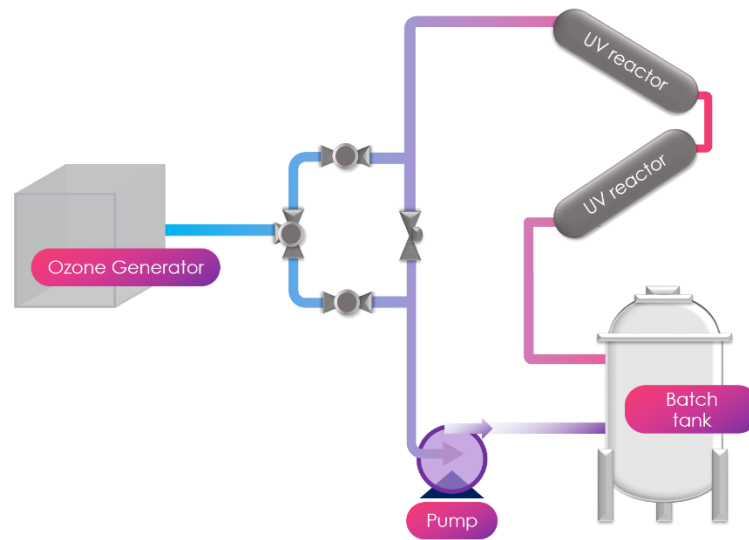
3.5.2 การทดลองฆ่าเชื้อด้วย Ozone

แก๊ซโอโซนถูกผลิตจากเครื่องกำเนิดโอโซนที่มีการผลิตแก๊ซโอโซนจากออกซิเจนที่อัตรา 16-34 g/h อัตราการไหลของโอโซนถูกเซ็ทที่ 2 ลิตร/นาที และแก๊ซโอโซนถูกละลายในของเหลวโดยใช้เครื่อง ผสมเวนจัวร์ ความเข้มข้นของโอโซนสุดท้ายที่ละลายถูกตรวจสอบที่ 4-15 ppm

3.5.3 การทดลองฆ่าเชื้อด้วย ozone/UV

ต้นแบบระบบ ozone/UV เป็นระบบปิดที่มีการหมุนเวียนตัวอย่างของเหลวจาก reservoir โดยการใช้ปั๊ม แบบ centrifugal sanitary ผ่านเครื่องผสมเวนจัวร์ ตามด้วยการฆ่าเชื้อด้วย UV sterilizers แสดงดังรูปที่ 3.1 ปริมาตรในระบบท่ออยู่ที่ประมาณ 5 ลิตร อัตราการไหลของมวลสามารถถูกปรับโดยการใช้

อินเวอร์เตอร์ระบบอุปกรณ์นี้สามารถถูกปรับแต่ง เพื่อดำเนินการทดลองด้วยการฆ่าเชื้อด้วย ozone และ UV หรือเป็นการทำงานร่วมกันของ ozone/UV



รูปที่ 3.1 ไลอะแกรมของระบบ Advanced Oxidation Processes (AOPs)

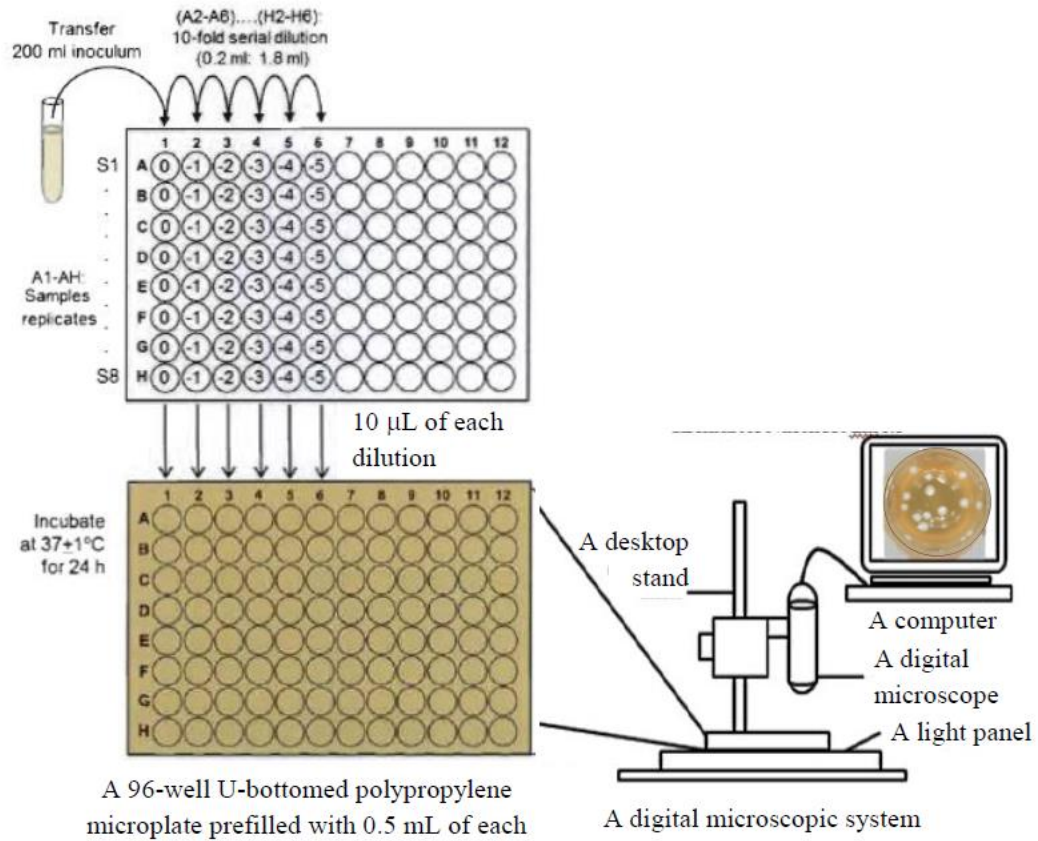
3.6 การนับ *E. coli*, Yeast และ รา

3.6.1 การนับปริมาณเชื้อ *E. coli* ที่ยังมีชีวิต

การนับเชื้อ *E. coli* ดำเนินการโดยการสุ่มตัวอย่างมา 1 mL และเตรียม serial dilution ที่ระดับต่างๆ ตัวอย่างที่ได้ dilution แล้วถูกหาปริมาณเชื้อบนอาหาร Chromocult® Coliform agar (CCA, Merk, Germany) และทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (Maria et. al., 2008) ปริมาณโคโลนีที่นับได้ถูกดำเนินการโดยการใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงขนาดเล็ก

3.6.2 เทคนิคการเพาะเชื้อขนาดเล็ก

ปริมาตรตัวอย่างที่ทำการเพาะเชื้อถูกคงไว้ที่ 10 μL บนผิวอาหาร PCA และทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37°C หลังจากเวลาการบ่ม 12 – 15 ชั่วโมงจะสามารถตรวจพบโคโลนีและทำการเก็บผลด้วยการถ่ายรูปด้วยระบบกล้องกำลัง 1.5 megapixel (รูปที่ 3.2)



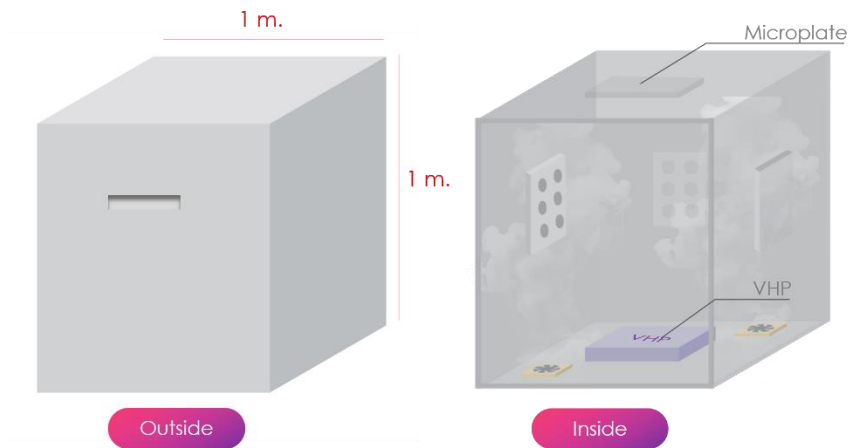
รูปที่ 3.2 ชุดกล้อง digital image analysis เพื่อตรวจติดตามการเจริญเติบโตของโคโลนี

โดยโครงสร้างของระบบต้นแบบ digital image analysis ถูกนำมาใช้ในการประเมินพื้นที่ในแต่ละโคโลนีที่ปรากฏเจริญเติบโตบนอาหารแข็ง การทดลองตั้งอยู่บนสมมติฐานที่ว่าโคโลนีจะมีการขยายในแนวนอนและพื้นที่ที่มีการขยายสัมพันธ์สอดคล้องกับการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรคที่อยู่บนอาหารแข็ง

3.7 การ fumigation ด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

3.7.1 แบบจำลองของห้อง retrogradation สำหรับการฝั่งแผ่นกัวยเดี่ยว

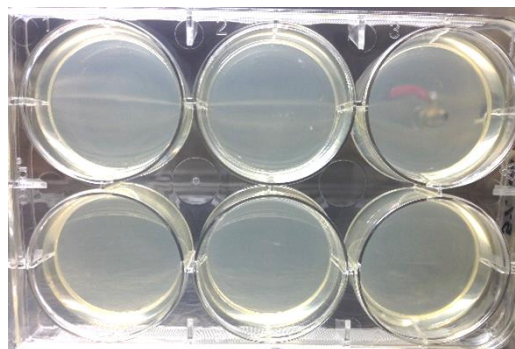
การทดลองถูกดำเนินการใน chamber ขนาด 1 x 1 m³ (รูปที่ 3.3) ที่บรรจุหัว ultrasonic atomizer ขนาด 250 วัตต์ จำนวน 10 หัว โดยถูกติดตั้งอยู่ตรงกลางของห้อง chamber พัดลมจะถูกวางอยู่ภายในห้อง chamber เพื่อให้เกิดการกระจายของละอองไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์



รูปที่ 3.3 แบบจำลองห้องฟุ้งเส้นก๊วยเตี๋ยวสำหรับการ fumigation และการวาง set อุปกรณ์สำหรับการตรวจสอบประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อในห้องแบบจำลอง

3.7.2 การเตรียมตัวอย่างและการนับโคโลนี

เชื้อ *E. coli* ถูกเตรียมในอาหาร TSB สำหรับ *A. niger* ใช้อาหาร PDB และทำการบ่มจนได้ปริมาณเชื้อที่ 10^9 และ 10^7 CFU/mL ตามลำดับ ตัวอย่างที่ serial dilution ถูกดำเนินการจนได้ปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ต้องการจากความเข้มข้น 10^9 CFU/mL เป็น 10^5 CFU/mL เชื้อ *E. coli* ถูกย่นยั้งและนับด้วยอาหาร Chromocult® Coliform Agar (CCA) โดยการใช้เทคนิคการเพาะเชื้อขนาดเล็ก (Khueankhancharoen et. al., 2010; Saeaug และ Boonyaprapasorn, 2010; Supanivatin et. al., 2010) สำหรับเชื้อ *A. niger* ถูกนับด้วยอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) และทำการบ่มที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง การทดลองถูกดำเนินการโดยการใช้ 6-microwell เพลท (รูปที่ 3.4) การนับโคโลนีถูกวิเคราะห์ด้วยการใช้เทคนิคการเพาะเชื้อขนาดเล็ก



รูปที่ 3.4 เพลท 6-microwell สำหรับการตรวจวิเคราะห์นับโคโลนีของเชื้อ

3.7.3 เทคนิคการ fumigation

เพลทอาหารแข็งจะถูก inoculation เชื้อที่ปริมาณ 10^7 CFU/mL แล้วนำเพลทมาติดตั้งที่ด้านข้างของผนัง chamber พื้นที่ด้านข้าง ด้านบน สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์อัตราการป้อน 3 ลิตร/ชั่วโมงถูกพ่นเป็นละอองไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ด้วย ultrasonic atomizer ความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ถูกศึกษาที่ 0, 2, 4, 6, 8, 10, 15, และ 20 นาที

3.8 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้รับในการศึกษานี้ถูกอธิบายในรูปของค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ในการวิเคราะห์เชิงสถิติ เป็นการใช่โปรแกรม SPSS 16.0 จำนวนโคโลนีของเชื้อทั้งหมดที่นับได้จะถูกแปลงเป็นรูป logarithms ของจำนวนที่นับได้ (CFU/mL)

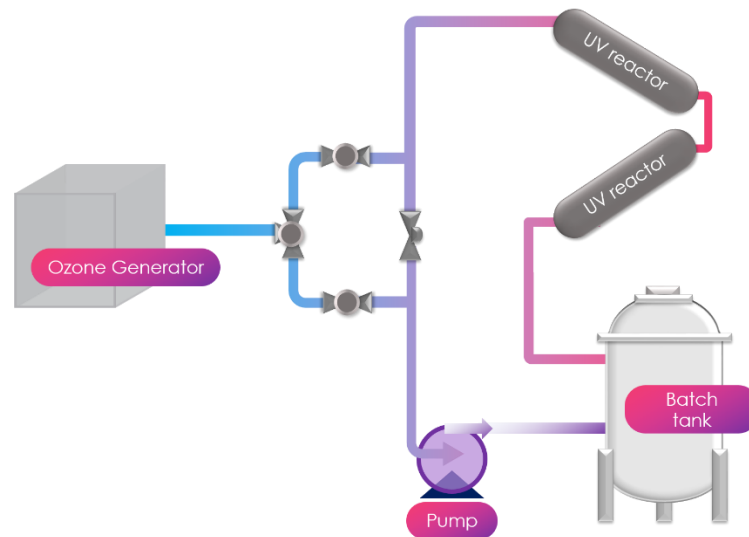
บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อการประยุกต์ใช้ ozone และ UV ทำงานร่วมกันในการทดสอบการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำแข็งที่มีความขุ่นซึ่งเป็นวัตถุดิบที่เตรียมเพื่อการทำก๊วยเตี๋ยว ในการใช้นวัตกรรมเทคโนโลยีดังกล่าววัตถุประสงค์เพื่อป้องกันการเกิด fermentation ของน้ำแข็ง ผลสำเร็จของการใช้เทคโนโลยีนวัตกรรมดังกล่าวเพื่อที่จะลดผลกระทบให้เกิดน้อยที่สุดกับคุณสมบัติเชิงกายภาพเคมีของน้ำแข็งในขณะที่มีการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ส่งผลให้เกิดการเน่าเสีย

4.1 เทคโนโลยี AOP ในการลดปริมาณเชื้อในน้ำ (การเติมเชื้อลงในตัวอย่างน้ำ)

การทดลองในส่วนนี้ ในการเตรียมเชื้อเป็นการใช้อาหารเหลวเพิ่มจำนวนที่เป็น Trypticase Soy Broth (TSB) เพื่อที่จะเพิ่มจำนวนเชื้อของ *E. coli* ด้วยการบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37°C สำหรับตัวอย่างมีการ spiked เชื้อ 10⁷ CFU/mL ที่ปริมาตร 200 mL ลงไป ตัวอย่างสารละลายปริมาตร 15.2 ลิตร ถูกบรรจุลงในถังเก็บที่มีการติดตั้งเชื่อมกับระบบ ozone/UV (รูปที่ 4.1) และทำการหมวนเวียนระบบด้วยอัตราการไหลที่ 0.4, 0.6, และ 0.8 กิโลกรัม/วินาที สำหรับการทดลองที่ความแตกต่างกันของ UV, Ozone, และ Ozone/UV โดยควบคุมเวลาในการหมวนเวียนภายในที่ 0, 2, 4, 6, 8, 10, และ 15 นาที การนับ *E. coli* ในตัวอย่างถูกดำเนินการโดยการสุ่มตัวอย่างจำนวน 1 mL แล้วเตรียมตัวอย่างด้วยการเจือจางตัวอย่างที่มีการเจือจางแล้วจะถูกนำไปทดสอบกับอาหาร Chromocult® Coliform Agar (CCA, Merck, Germany) และทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง การนับโคโลนีถูกดำเนินการโดยใช้เทคนิคการเพาะเชื้อขนาดเล็ก (micro-inoculation technique (MIC))



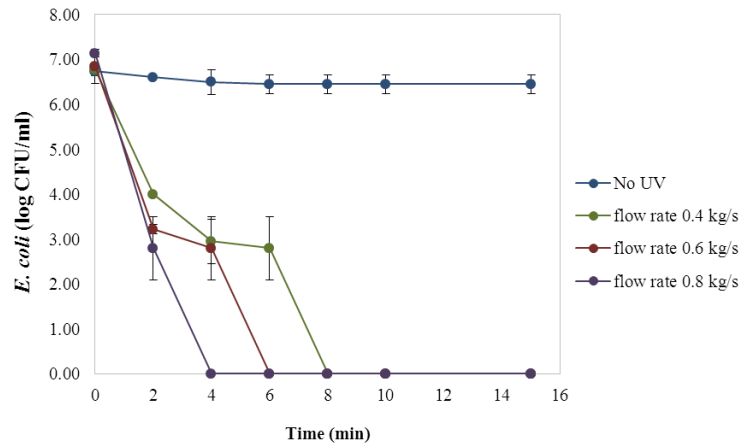
รูปที่ 4.1 ไลอะแกรมต้นแบบเทคโนโลยี Advanced Oxidation Processes (AOPs)

4.1.1 การดำเนินงานทดสอบ UV treatment

เมื่อหลอด UV ดำเนินการฉายรังสีเข้าไปในอุปกรณ์ที่ทอวงแหวนที่มีน้ำแบ่งไหลผ่านของการฆ่าเชื้อด้วย UV พลังงานที่เกิดขึ้นส่วนหนึ่งเกิดการสะท้อนและบางส่วนเกิดการดูดซึมจากเชื้อที่มีการปนเปื้อนอยู่ในน้ำ โดยลำดับขั้นตอนของการฆ่าเชื้อด้วย UV เป็นการไหลอดขนาด 45 วัตต์ ในแต่ละหลอดสามารถที่จะลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดภายในเวลา 8 นาที จากปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ 10^7 CFU/mL (รูปที่ 4.2) ปริมาณเซลล์ที่นับได้ของตัวอย่างควบคุมโดยปราศจากการใช้ UV ยังคงมีปริมาณเชื้อที่ 10^7 CFU/mL ตลอดการทดลอง อัตราการไหลของมวลน้ำที่เร็วเป็นผลทำให้ปริมาณเชื้อลดลงเร็ว (รูปที่ 4.2) อัตราการไหลที่เพิ่มขึ้นจาก 0.4 ไปเป็น 0.8 kg/s (เทียบเป็นเวลา 37.5 ถึง 18.8 วินาทีของเวลาที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ) เวลาที่ใช้ในการฆ่าเชื้อลดลงจาก 8 ไปเป็น 4 นาที การทดลองที่ใช้เวลาในการลดลงของปริมาณเชื้อที่เหมือนกัน (มากกว่า 5 log 10 ของการลดลง) ในการทดสอบกับเชื้อ *L. monocytogenes* ที่ปรากฏพบในนมแพะถูกสังเกตหลังจากที่นมได้ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยการใช้ UV จำนวน 8 หลอด (การใช้ UV ที่ความหนาแน่นของพลังงาน 15.8 mJ/cm^2) สอดคล้องกับเวลาที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ 18 วินาที (Matak et. al., 2005) ความต้องการของหลอด UV ที่มากขึ้นเพื่อให้สามารถลดปริมาณเซลล์ได้มาก บางทีถูกเป็นความจำเป็นเพื่อชดเชยความขุ่นที่มากกว่าและนมแพะ โดยธรรมชาติมีความขุ่นที่สูงและมีการส่งผ่านที่น้อย

ในตัวอย่างที่มีความขุ่นน้อยเช่นตัวอย่างน้ำแอปเปิ้ล การกำจัดเชื้อที่ 5 log 10 ของเชื้อ *Cryptosporidium parvum* ได้ถูกรายงานโดยการใช้ UV ที่ความหนาแน่นของพลังงานที่ 14.32 mJ/cm^2 เพราะน้ำแอปเปิ้ลมีความขุ่นน้อยกว่าตัวอย่างนมแพะ การลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ใช้เวลาน้อยกว่า เพียง 1.2 – 1.9 วินาที (Hanes et. al., 2002) ผู้วิจัยหลายท่านได้รายงานการฆ่าเชื้อด้วย UV Sterilizer มีความประสพผลสำเร็จใน

ระบบอื่นๆ เป็นอย่างมาก เช่นเดียวกันกับน้ำผลไม้ นมหรืออาหาร media ทางการเกษตรอื่นที่สามารถส่องผ่านได้และมีระดับในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ต่ำในตัวอย่างที่มีความขุ่นมาก (Koutchma et. al., 2006; Hakguder, 2009; Unluturk et. al., 2010)



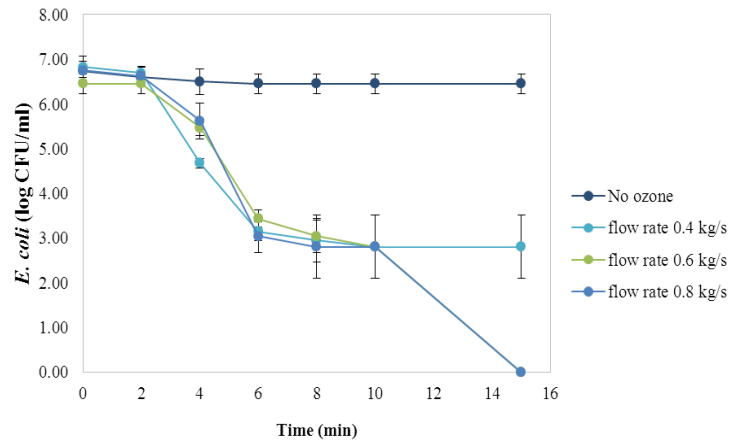
รูปที่ 4.2 ผลของการ treatment ด้วย UV ที่มีต่อปริมาณเชื้อ *E. coli* ที่เงื่อนไขของอัตราการไหลที่แตกต่างกัน (0.4, 0.6, และ 0.8 kg/s) โดยการ spiked เชื้อลงไปในน้ำ

4.1.2 การ treatment ด้วยการใช้ออโซน

ในการเปรียบเทียบการทดลองโดยการใช้ UV ประสิทธิภาพของการใช้ออโซนในการลดปริมาณ *E. coli* พบว่ามีอัตราการลดที่ช้ามากและใช้เวลาในการฆ่าเชื้อที่นาน (รูปที่ 4.3) ที่อัตราการไหลน้อย (0.4 และ 0.6 kg/s) ปริมาณเซลล์สุดท้ายยังคงอยู่ที่ประมาณ 3 log CFU/mL มีเพียงที่การทดลองอัตราการไหล 0.8 kg/s ที่สามารถฆ่าเชื้อได้ปริมาณทั้งหมด โดยที่อัตราการไหลน้อยกว่าอาจจะส่งผลกระทบต่อความสามารถในการละลายที่ดีของโอโซนที่ระบบเวเนจัวร์ผสมก๊าซของเหลว เนื่องจากเกิดการผสมที่มีความปั่นป่วนน้อยและเกิดพื้นที่สัมผัสระหว่างก๊าซของเหลว ดังนั้นการสัมผัสกับโอโซนที่น้อยส่งผลให้ความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ที่ไม่ดี ถึงแม้จะเป็นความจริงที่ว่าโอโซนมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อ *E. coli* O157:H7 ในตัวอย่างที่เป็นบัฟเฟอร์ฟอสเฟต (Byun et. al., 1998) Hunt และ Marinnas (1997) ได้แนะนำกิจกรรมการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยการใช้ออโซนที่สูงสอดคล้องสัมพันธ์กับความสามารถในการแพร่เข้าไปในเฟสของของเหลว

ความสามารถในการละลายของโอโซนที่สูงกว่าและการบำบัดที่เป็ดรับกับโอโซนสามารถที่จะปรับปรุงการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยการละลายของก๊าซ โอโซนที่ 2.1 – 7.6 $\mu\text{L/L}$ (Singh et. al., 2002) มีการ

รายงานปริมาณเวลาที่น้อยในการใช้โอโซนเพื่อลดปริมาณเชื้อ *E. coli* O157:H7 บนผักกาดหอมและแครอทอ่อนและใช้เวลา 15 นาที ในการฆ่าเชื้อด้วยโอโซนถูกเป็นที่ต้องการเพื่อให้สามารถลดปริมาณเชื้อได้อย่างมีนัยสำคัญ 0.79 – 1.79 และ 1.11 – 2.64 log CFU/g ตามลำดับ ในการทดลองเหล่านี้มีเวลาที่สัมผัสน้อยเป็นเวลา 2 นาทีเพื่อที่จะทำให้เซลล์ *E. coli* มีความเสียหายสามารถสังเกตได้ในน้ำที่ทดสอบ

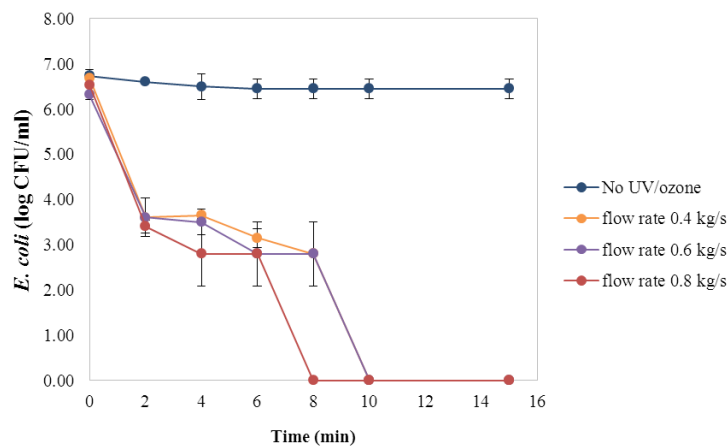


รูปที่ 4.3 ผลของการ treatment ด้วย ozone ต่อจำนวนเซลล์ *E. coli* ที่อัตราการไหลต่าง ๆ (0.4, 0.6, และ 0.8 kg/s) ที่มีการ spiked เชื้อลงไปในน้ำ

ประโยชน์หลักของการบำบัดด้วยการใช้โอโซนเป็นที่ยอมรับโดยทั่วไปว่าเป็น GRAS (i.e. Generally Recognized as Safe) ซึ่งเป็นการฆ่าเชื้อและทำความสะอาดที่มีการใช้กันในโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร (Alexandre et. al., 2011) เทคโนโลยีการฆ่าเชื้อด้วยโอโซนเป็นคุณสมบัติที่ขอดีเยี่ยมและมีประสิทธิภาพสามารถฆ่าเชื้อได้หลากหลาย รวมถึงแบคทีเรีย รา ไวรัส สปอร์ของแบคทีเรียและรา (Xu, 1999) การละลายของโอโซนก่อให้เกิดแวนโน้มการออกซิเดชันที่สูงและผลกระทบของกำลังการออกซิไดซ์ซึ่งที่สูง โดยกลไกของการทำลายหรือยับยั้งเชื้ออยู่บนความสามารถในการสลายของผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ซึ่งเป็นสาเหตุจากการทำลายด้วยกระบวนการ oxidation และความเสียหายที่ไม่สามารถเอาคืนกลับมาได้ ก่อให้เกิดความเสียหายกับกรดไขมันในผนังเซลล์และภายในโมเลกุลใหญ่เหมือนกับโปรตีนที่จำเป็นบางตัวและ DNA (Hoffman, 1971) โอโซนค่อนข้างจะไม่เสถียรและค่อยๆ แตกตัวเป็นออกซิเจนอิสระจัดเป็นกลไกการกำจัดแวนโน้มของสารเคมีตกค้าง (McDonough et. al., 2011) คุณสมบัติที่ทำให้เทคโนโลยีโอโซนเป็นหนึ่งในสารยับยั้งฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่คตินั้นถูกใช้ในรูปแบบแก๊สและแก๊สผสมกับน้ำ (Kim et. al., 1999)

4.1.3 การบำบัดลดปริมาณจุลินทรีย์ด้วยการใช้ร่วมกันระหว่าง Ozone/UV

การทำงานร่วมกันของกระบวนการ Ozone/UV แสดงให้เห็นการลดลงของเชื้อ *E. coli* อย่างทันทีทันใดที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้นและการตอบสนองการทำลายที่ช้าเมื่อเปรียบเทียบกับบำบัดด้วย UV (รูปที่ 4.2 และ 4.4) อย่างไรก็ตามรูปแบบการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้ถูกพัฒนาด้วยการใช้โอโซนเพียงอย่างเดียว (รูปที่ 4.3) การลดลงของปริมาณ *E. coli* ที่ช้าอาจจะเป็นผลมาจากการแผ่คลื่นรังสี UV โคนขวางเนื่องจากฟองของโอโซน เพื่อที่จะทำให้การผลิตไฮดรอกซิลเรดิคัลมีปริมาณที่สูงจากการกระตุ้นด้วย UV ในการละลายของโอโซนในตัวอย่างน้ำที่มีการเติมเชื้อ เครื่องผสมเวนจัวร์ก๊าซของเหลวเป็นกลยุทธ์ที่จะนำมาจากข้างหน้าของ UV sterilizers เป็นผลให้การปั่นป่วนของโอโซนที่เกิดเป็นลักษณะฟองอากาศเล็ก ๆ อาจจะไปมีส่วนในการบึงการแผ่ของรังสี UV ในการฆ่าเชื้อด้วย UV sterilizer อย่างไรก็ตาม อัตราการไหลที่มากอย่างเช่นที่ 0.8 kg/s สามารถที่จะลดปริมาณ *E. coli* บางทีการผสมที่ดีกว่าและการสัมผัสที่มากกว่าระหว่างก๊าซและของเหลวสามารถที่จะกระตุ้นการส่งผ่านของแก๊สและความสามารถในการละลายของโอโซนในเฟสของเหลว ผู้วิจัยอื่นๆ ได้แสดงให้เห็นว่ามีการใช้ระบบ Ozone/UV ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคอื่น ๆ อย่างกว้างขวาง เช่นเดียวกับสปอร์ของ *B. subtilis* (Von, 1986; Lazarova et. al., 1999)



รูปที่ 4.4 ผลของการใช้โอโซน/ยูวีที่มีต่อปริมาณของเซลล์ *E. coli* ที่อัตราการไหลต่างๆ กัน (0.4, 0.6, และ 0.8 kg/s) ในตัวอย่างน้ำที่มีการเติมเชื้อลงไป

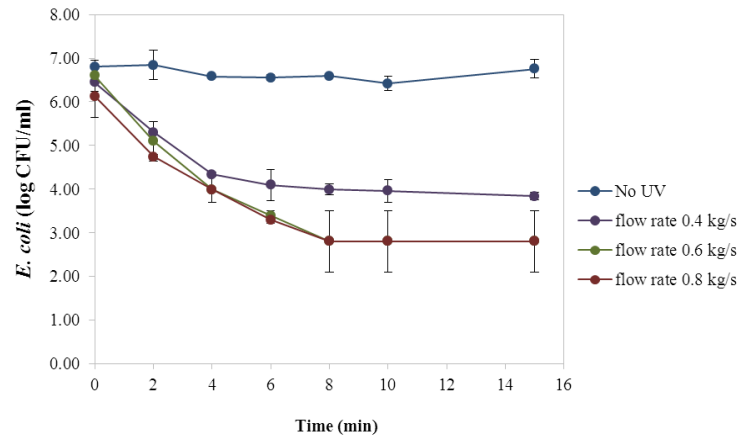
4.2 เทคโนโลยี AOP ในการเติมเชื้อลงในน้ำแข็ง

ในส่วนนี้การทดลองถูกดำเนินการโดยอาหารเหลวไม่เพิ่มจำนวน non-selective enrichment ที่ใช้ในการทดลองเป็น TSB ในการเพิ่มจำนวนเซลล์ *E. coli* สำหรับการบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37°C สำหรับตัวอย่างน้ำแข็งถูก spiked ด้วยเชื้อ *E. coli* ที่ปริมาณเชื้อ 10^7 CFU/mL ปริมาตร 200 mL ตัวอย่าง

สารละลายน้ำแข็งปริมาตร 15.2 ลิตร ถูกใส่ลงในภาชนะที่มีระบบของ ozone/UV และสามารถหมุนเวียนมวลของเหลวด้วยอัตราการไหลที่ 0.4, 0.6, และ 0.8 kg/s สำหรับการทดลองที่แตกต่างกันด้วย UV, ozone และ ozone/UV ตัวอย่างถูกเก็บที่เวลาต่างๆ ภายใน 0, 2, 4, 6, 8, 10, และ 15 นาที การนับปริมาณเชื้อ *E. coli* ถูกได้รับการวิเคราะห์โดยการสุ่มตัวอย่างมา 1 mL ของตัวอย่าง และทำการเตรียม serial ของการเจือจางตัวอย่างที่ทำ dilution แล้วถูกนำไปหาเชื้อ โดยการใช้อาหารแข็ง Chromocult® Coliform Agar (CCA, Merck, Germany) และทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง การนับโคโลนีถูกดำเนินการโดยใช้เทคนิคการเพาะเชื้อขนาดเล็ก

4.2.1 การลดปริมาณเชื้อด้วย UV ในน้ำแข็ง

ในรูปที่ 4.4 ประสิทธิภาพของการฆ่าเชื้อด้วย UV sterilizer ที่มีต่อน้ำแข็งผสมพบว่าเป็นที่ยอมรับเป็นอย่างมาก ซึ่งตรงกันข้ามกับการทดลองที่มีการเติมเชื้อลงในน้ำ Acra และคณะ (1990) ได้รายงานการส่องผ่านเข้าไปในของเหลวและคุณสมบัติของแสง UV รวมถึงระยะเวลา ความหนาแน่นของพลังงาน และสเปกตรัม มีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อด้วยเทคนิค UV sterilization เพียงแค่การดูดซึมในส่วนของแสง UV ส่งผลทำให้สามารถทำลายโมเลกุลชีวภาพและกรดนิวคลีอิก เป็นสาเหตุให้เกิดความเสียหายกับ DNA และ RNA (Aguilar et. al., 1996) เมื่อ DNA และ RNA ในเซลล์จุลินทรีย์มีประสิทธิภาพในการดูดซับแสง UV มีการฟอร์มของไดเมอร์เป็นผลให้พันธะโควาเลนต์ระหว่างนิวคลีอิกที่เหมือนกัน ไดเมอร์เกิดการหยุดชะงักการถอดรหัสพันธุกรรมกระบวนการจาก DNA ไปเป็น RNA และแทรกแซงการจำลองของเซลล์จุลินทรีย์อาจจะยังมีชีวิตแต่ไม่สามารถที่จะทำสำเนาได้อย่างมีประสิทธิภาพ มีแนวโน้มที่จะมีโอกาสที่เชื้อจุลินทรีย์จะสามารถที่จะฟื้นคืนและซ่อมแซมความเสียหายที่เป็นสาเหตุจากแสง UV เป็นผลจากการ treatment ที่ต่ำของ UV เห็นได้ตามรูปที่ 4.2 และ 4.5 อัตราการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำแข็งถูกมีความจำกัด ความสำเร็จของการใช้ UV ในการยับยั้งเชื้อมีความยิ่งใหญ่เป็นอย่างมากขึ้นอยู่กับคุณสมบัติการส่องผ่านของเหลว เช่น ความขุ่น อนุภาคสารและการจับกลุ่มของเชื้อจุลินทรีย์ (Yaun et. al., 2004)



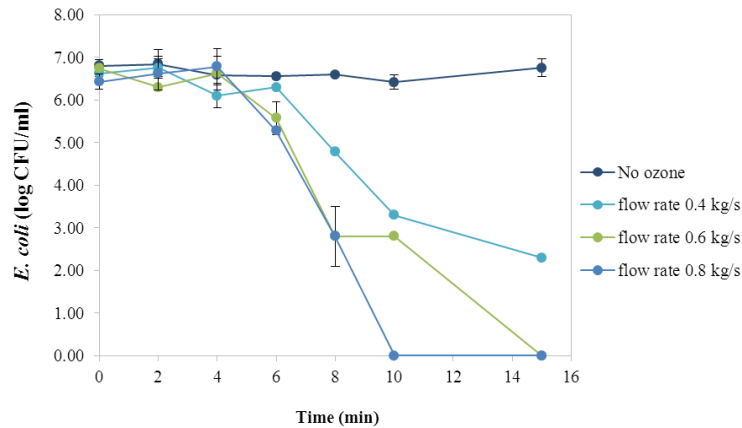
รูปที่ 4.5 ผลของการ treatment ด้วย UV ที่มีต่อปริมาณเซลล์ *E. coli* ที่อัตราการไหล 0.4, 0.6, และ 0.8 kg/s ในตัวอย่างที่ได้มีการ spiked เชื้อลงในน้ำแข็ง

4.2.2 การใช้โอโซน

เมื่อเทียบกับการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ด้วย UV treatment (รูปที่ 4.5) การบำบัดด้วยโอโซนสามารถที่จะนำไปสู่การลดลงของปริมาณเชื้อ *E. coli* จนได้ค่าเป็นศูนย์ ที่การหมุนเวียนของน้ำแข็งด้วยอัตราการไหลมากกว่า 0.6 kg/s (รูปที่ 4.6) Kim และคณะ (1999) ได้รายงานการลดลงของประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อด้วย UV ในอาหารที่มีความหลากหลายของการส่งผ่านของแสงรวมถึงตัวอย่างนม เจลาติน อัลบูมิน เคซีนและผลิตภัณฑ์เนื้อ ในกรณีของข้อจำกัดในการส่งผ่านของ UV ในตัวอย่าง การลดปริมาณเชื้อด้วยโอโซนมีผลกระทบในการลดลงของปริมาณจุลินทรีย์อย่างเห็นได้ชัด Guzel-Seydin และคณะ (2004) ได้แสดงให้เห็นการลดลงของปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count) ในแป้งสาลีเมื่อตัวอย่างสัมผัสกับโอโซนเป็นเวลานานกว่า 30 นาที การ treatment ที่ใช้เวลาน้อยระหว่าง 1 นาที และ 10 นาที อย่างไรก็ตามไม่ได้มีผลกระทบกับการลดปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ เพราะข้าวสาลีมีปริมาณน้ำที่น้อย อัตราการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์น้อยและความสามารถในการฆ่าเชื้อด้วยการใช้ก๊าซโอโซนไม่สามารถที่จะฆ่าเชื้อได้ทั้งหมด

เช่นเดียวกันช่วง lag ที่เฟสเริ่มต้นของการ treatment ด้วยโอโซน ถูกพิจารณาการเพิ่มการละลายโอโซนด้วยความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ Singh และคณะ (2002) ได้รายงานที่เวลา 15 นาที หลังจากการใช้ความเข้มข้นของโอโซน 5.2 mg/L ในการละลายลงในของเหลวเพื่อการยับยั้งเชื้อ *E. coli* O157:H7 ในผักกาดหอมและแครอทอ่อน จำนวนจุลินทรีย์ลดลงเป็น 1.6 และ 2.5 log อย่างไรก็ตาม

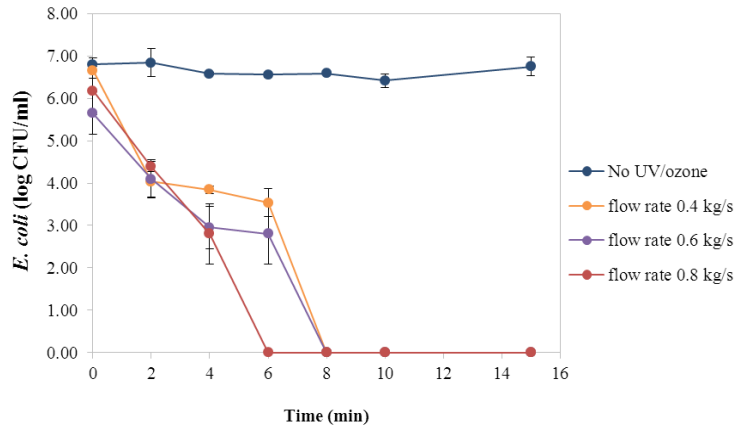
อัตราการไหลของเหลวที่มากส่งเสริมให้โอโซนสามารถละลายได้มากในตัวอย่างน้ำแข็งผสมและทำให้โอโซนสามารถละลายในตัวอย่างที่มีความหนืดและความหนาของตัวอย่าง



รูปที่ 4.6 ผลของการ treatment ด้วย ozone ที่มีต่อปริมาณเซลล์ *E. coli* ที่อัตราการไหลที่แตกต่างกัน (0.4, 0.6, และ 0.8 kg/s) ของการ spiked ลงไปในน้ำแข็ง

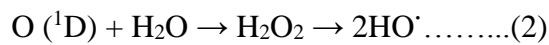
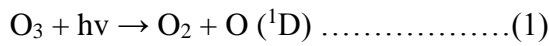
4.2.3 การ combined ร่วมกันของการ treatment ด้วย Ozone/UV ของน้ำแข็ง

การทำงานร่วมกันของการใช้โอโซนและแสง UV ได้ถูกพิจารณาแล้วว่ามีแนวโน้มสูงในการลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในตัวอย่างน้ำแข็งผสม (รูปที่ 4.7) การใช้โอโซน/ยูวี ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์สามารถที่จะลดรูปแบบของเชื้อ *E. coli* ได้เหมือนกันในการ treatment ด้วย UV ในน้ำตามที่ได้เห็นผลการทดลองในรูปที่ 4.2 ไม่มีปริมาณเชื้อของ *E. coli* ที่สามารถถูกสังเกตได้หลัง 8 นาทีของการใช้ฆ่าเชื้อด้วยโอโซน/ยูวี ในทุกการทดลอง ที่อัตราการไหลที่เร็วมากที่สุดส่งผลให้ปริมาณเซลล์ของ *E. coli* เป็น 0 ภายในเวลา 6 นาที การใช้โอโซนสามารถที่จะกำจัดได้ช้าหรือไม่มีการลดลงของเซลล์จากการ treatment ด้วย UV (รูปที่ 4.5) การยับยั้งเชื้อที่เร็วด้วย UV ปริมาณเซลล์ลดลงช้าในช่วงแรกเนื่องจากการละลายของโอโซนที่น้อยต่ำกว่าระดับที่เป็นจุดเริ่มต้นของเชื้อที่จะเป็นอันตรายได้ การปรับปรุงพัฒนาระบบการใช้ Ozone/UV เป็นสมมติฐานที่จะนำไปสู่การเพิ่มกำลังการออกซิเดชันจากโอโซน, UV, และการผลิตไฮดรอกซิลเรดิคัล (Von, 1986)

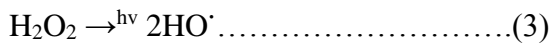


รูปที่ 4.7 ผลของการ treatment ด้วย โอโซน/ยูวี ที่มีต่อปริมาณเซลล์ *E. coli* ที่อัตราการไหลต่างๆ ของ (0.4, 0.6, และ 0.8 kg/s) ในตัวอย่างน้ำแข็งที่มีการ spiked เชื้อลงไป

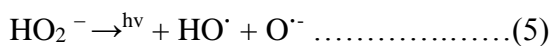
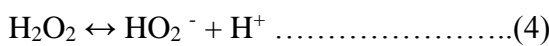
Munter (2001) ได้นำเสนอกลไกของการผลิตไฮดรอกซิลเรดิคัลจากการใช้โอโซนและแสงยูวีร่วมกัน โดยเริ่มต้นจากการดูดซับของรังสีแสง UV โดยการใช้ออกซิเจน โอโซน ในสมการที่ 1 ในสารละลาย ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ถูกฟอร์มและย่อยสลายต่อไปเป็นไฮดรอกซิลเรดิคัล (สมการที่ 2)



โดยปฏิกิริยาโฟโตไลซิส ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะถูกแตกไปเป็น 2 ไฮดรอกซิลเรดิคัล (สมการที่ 3)



ขึ้นอยู่กับคุณลักษณะทางฟิสิกส์ pH, HO_2^- ในสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ดูดซับแสง UV และฟอร์มเป็นไฮดรอกซิลเรดิคัล (สมการที่ 4, 5):



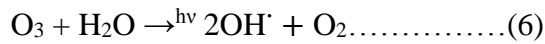
4.3 เทคโนโลยีการบำบัดด้วย AOP ในอุตสาหกรรมน้ำแข็ง

การทดลองได้ถูกดำเนินในสถานะเป็น batch ระดับห้องปฏิบัติการในการบำบัดน้ำแข็งระดับอุตสาหกรรม การนับปริมาณเซลล์ของแบคทีเรียและยีสต์/รา ถูกดำเนินการในอาหารเหลวไม่เพิ่มจำนวน (non-selective enrichment) ซึ่งเป็น Trypticase Soy Broth ในการเพิ่มจำนวนเชื้อและส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (TPC) และ *E. coli* อาหารแข็งที่ใช้ทดสอบการเจริญเติบโตของเชื้อ ถูกทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง การนับปริมาณยีสต์/รา ใช้อาหาร Potato Dextrose Broth (PDB) และทำการบ่มจนได้ปริมาณเชื้อที่ปริมาณความหนาแน่น 10⁷ CFU/mL ในการทดลองนี้ อัตราส่วนของน้ำแข็งต่อน้ำถูกเตรียมที่ 0, 20, 45, 75, และ 100% โดยปริมาณน้ำแข็ง 15 ลิตร ถูก spiked ด้วยเชื้อที่มีปริมาณเซลล์ 10⁷ CFU/mL จำนวน 200 mL ในการหาปริมาณของ TPC, *E. coli* และยีสต์/รา แต่ละชนิด การหมุนเวียนของอัตราการไหลถูกคงที่ 0.3 kg/s โดยรูปแบบต้นแบบของอุปกรณ์แตกต่างจากการบำบัดด้วย AOP รวมถึงการใช้ UV, ozone, และ ozone/UV ตัวอย่างถูกทำการสุ่มที่เวลาภายใน 0, 5, 10, 20, 30, และ 40 นาที การนับ TPC, *E. coli*, และ yeast/mold ถูกดำเนินการโดยการสุ่มตัวอย่าง ปริมาตร 1 mL และทำการเจือจางตัวอย่าง ตัวอย่างที่ได้มีการทำเจือจางที่ความเข้มข้นต่างๆ ถูกนำไปหาปริมาณเชื้อบนอาหารแข็ง Plate Count Agar (PCA) และอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) และทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง การนับจำนวนของโคโลนีถูกดำเนินการโดยการใช้เทคนิคการเพาะเชื้อขนาดเล็ก (Saeung และ Boonyaprapasorn, 2010; Supanivatin et al., 2010; Khueankhancharoen et. al., 2010)

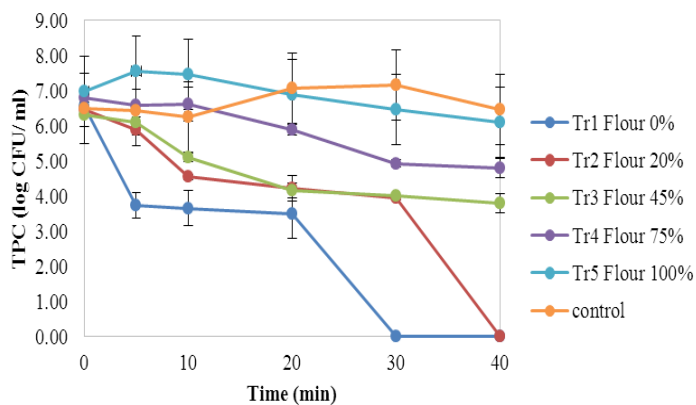
4.3.1 การประยุกต์ใช้ร่วมกันของการบำบัดด้วย ozone/UV ในตัวอย่างน้ำแข็งที่มีการเติมเชื้อ (TPC, yeast/mold และ *E. coli*)

ประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ด้วยการ treatment ด้วยโอโซน/UV เป็นแบบฉบับที่มีประสิทธิภาพมากในการลดปริมาณเชื้อด้วยการใช้โอโซนและ UV เพียงอย่างเดียวอย่างหนึ่ง (Prado และ Esplugas, 1999) รูปที่ 4.8 แสดงให้เห็นรูปแบบการลดปริมาณเชื้อของ TPC, ยีสต์/รา, และ *E. coli* เป็นฟังก์ชันกับเวลาและอัตราส่วนของน้ำแข็ง หลังจากการ treatment ด้วยโอโซนและ UV เป็นเวลา 40 นาที การนับเชื้อด้วย TPC, ยีสต์/รา, และ *E. coli* ถูกลดลงไปเป็น 0 log CFU/mL ใน 20% ของน้ำแข็ง สำหรับความเข้มข้นของน้ำแข็งที่มากกว่า 20% ในการบำบัดด้วยโอโซนร่วมกับ UV สามารถที่จะลดปริมาณเชื้อได้ถึง 3 และ 2 log CFU/mL ตามลำดับ อย่างไรก็ตามการใช้ ozone ร่วมกับ UV ไม่สามารถที่จะลดปริมาณ TPC, ยีสต์/รา, และ *E. coli* ในน้ำแข็งได้ 100% เนื่องจากมีปริมาณของแข็งที่สูง มีความขุ่นและหนืด โดยอุปกรณ์ต้นแบบที่ประกอบของระบบ AOP อาจยังไม่เหมาะสมในการบำบัดเนื่องจากตัวอย่าง

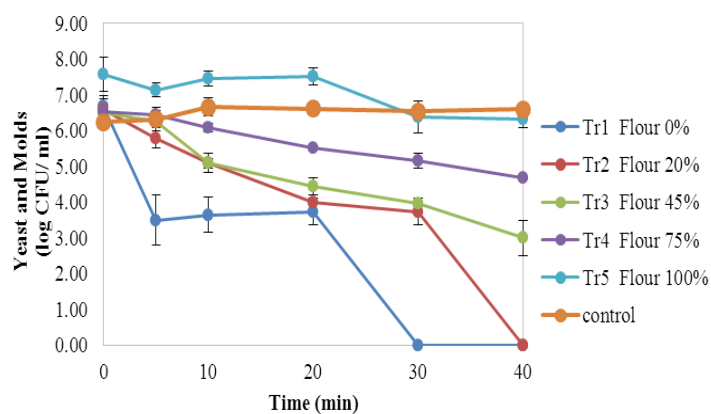
น้ำแป้งมีความเข้มข้นที่สูง อาจเป็นไปได้ว่า ไฮดรอกซิลเรดิคัลที่มากสามารถที่จะผลิตพลังงานที่สนับสนุนโดยการฉายของพลังงาน UV มีปฏิกิริยาต่อกันในการละลายด้วยโอโซน (Guittoneau et. al., 1990; Beltran et. al., 1998) ปฏิกิริยาทั้งหมดของไฮดรอกซิลเรดิคัลสามารถที่จะแสดงตามสมการที่ 6



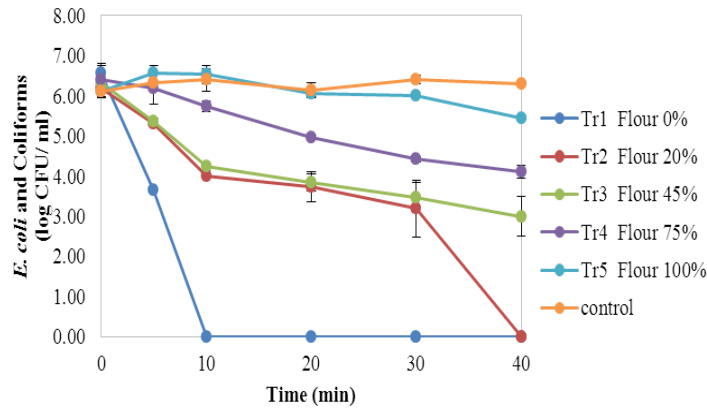
Glaze และคณะ (1987) และ Peyton และ Glaze (1988) ได้ศึกษาขั้นตอนที่แตกต่างในกลไกที่เกี่ยวข้องของกระบวนการกำเนิดไฮดรอกซิลเรดิคัล ระบบนี้เน้นการสังเคราะห์ผลระหว่างโอโซนและการฉายด้วย UV ซึ่งจะไปกระตุ้นการบำบัดแบบผสม การใช้ Ozone/UV ร่วมกันในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ได้แสดงให้เห็นผลของพารามิเตอร์ทางกายภาพ (ความขุ่น, สารออร์แกนิก, และอนุหภูมิ) ของน้ำล้างผัก ในความเป็นจริงการบำบัดด้วย Ozone/UV เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบบโฟโตคะตะไลติกสำหรับการยับยั้งเชื้อของน้ำล้างผัก (Selma et. al., 2008a)



ก) ปริมาณเชื้อทั้งหมด (Total Plate Cunt)



ข) ปริมาณยีสต์และรา (Yeast and mold)



ค) ปริมาณ *E. coli*

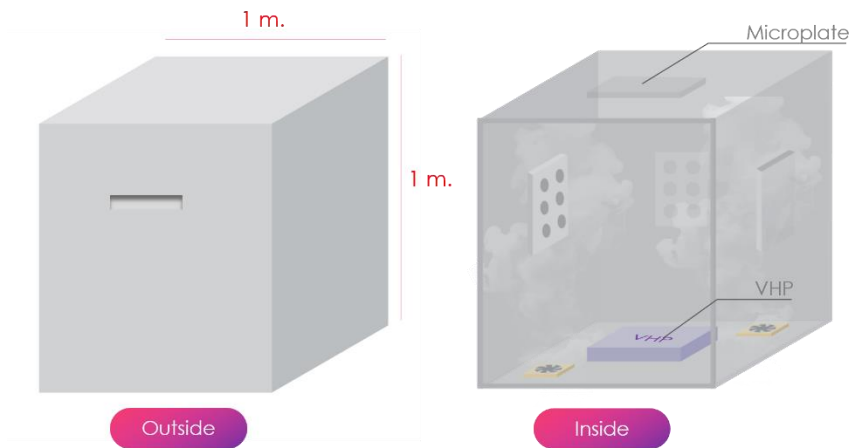
รูปที่ 4.8 ผลของการ treatment ด้วย Ozone/UV ที่มีต่อ TPC (ก), ยีสต์/รา (ข), และ *E. coli* (ค) ต่อ ปริมาณเซลล์ที่นับได้ที่ความเข้มข้นที่หลากหลาย (0, 20, 45, 75, และ 100%) ของน้ำแป้งที่ อัตราการไหล 0.3 kg/s

4.4 การ fumigation ด้วยละอองลอยของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

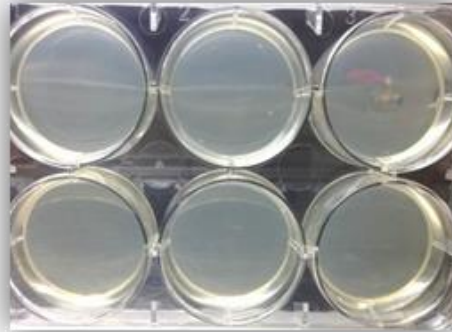
ผลของการ fumigation ด้วยละอองไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้มีการพัฒนาใช้มาตั้งแต่ 70's ของ 20th ศตวรรษ โดยเป็นเทคโนโลยีทางการค้าที่มีความทันสมัยซึ่งได้ถูกบันทึกในปี 1989 เมื่อมีการใช้ละอองลอยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มาใช้ในการฆ่าเชื้ออุปกรณ์ทางการแพทย์ (Block, 1991) การใช้ประโยชน์ของละอองลอยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้มีการพิสูจน์โดย EPA ในการประยุกต์ใช้กับห้องปิดคล้ายกับ isolators ห้องปิดหรือกล่องห้องทำงาน (McDonnell et. al., 2007) เทคโนโลยีนี้ได้มีการประยุกต์ใช้อย่างกว้างขวางในการลดปริมาณเชื้อที่ปนเปื้อนกลับในโรงงานอุตสาหกรรมยา การบริการทางสุขภาพและโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร (Block, 1991; Kahnert et. al., 2005; Klapes และ Vesley, 1990)

ผลของความเข้มข้นที่หลากหลายของละอองลอยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้มีการถูกศึกษาในการทดลองนี้ การทดลองถูกดำเนินการโดยการใช้กล่องขนาด 1x1x1 m³ (รูปที่ 4.9) กล่องนี้เป็นตัวแทนของ ส่วนของห้องที่ใช้พักแผ่นกัวยเดี่ยวเพื่อการ retrogradation โดยภายในกล่องมีหลอดยูวีขนาด 250 วัตต์ กับหัวอัลตราโซนิก 10 หัว ถูกติดตั้งอยู่ในตรงกลางของห้องจำลองการเกิด retrogradation มีการติดตั้งพัดลมภายในห้อง chamber เพื่อการกระจายของละอองไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ให้มีความสม่ำเสมอ เชื้อ *E. coli* และ *A. niger* ถูก inoculation ลงบนเพลทอาหารแข็ง (รูปที่ 4.10) จากนั้นเพลทอาหารแข็งที่ได้มีการ spread เชื้อจะถูกติดตั้งที่ตำแหน่งแตกต่างกันภายในห้อง chamber (พื้นที่ด้านบนและด้านล่าง) ความ

เข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ถูกศึกษาที่ 0, 1, 3, และ 5% เวลาที่ใช้ในการทดสอบถูกสุ่มที่ 0, 2, 4, 6, 8, 10, 15, และ 20 นาที



รูปที่ 4.9 แบบจำลองห้อง Retrogradation ในการศึกษาประสิทธิภาพของการ fumigation ที่มีต่อการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่บนเพลทที่ติดอยู่ด้านข้างของห้อง



รูปที่ 4.10 เพลท 6 หลุมสำหรับการ spread เชื้อบนผิวอาหารแข็ง

4.4.1 ผลของความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่มีต่อประสิทธิภาพของละอองลอยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในการยับยั้งเชื้อ *E. coli*

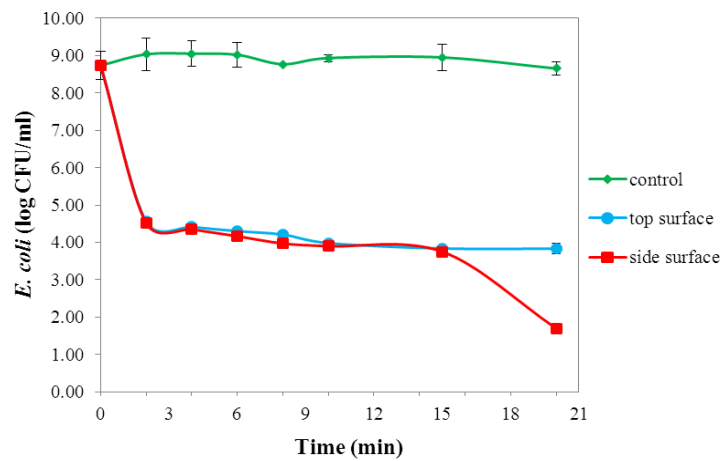
ความสามารถในการมีชีวิตอยู่ของ *E. coli* ที่ความเข้มข้นที่หลากหลายของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ถูกแสดงในรูปที่ 4.11 โดยเป็นการใช้ปริมาณเซลล์เริ่มต้นที่ 10^9 CFU/mL ทั้งนี้ chamber ขนาด 1 m^3 ถูกสร้างโดยการใช้แผ่นพลาสติกเพื่อที่จะเก็บละอองของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่มากที่สุดเป็น 5% H_2O_2 โดยในทุก treatment ที่มีการใช้ความเข้มข้นของ H_2O_2 1-5% มีการลดลงของจำนวน *E. coli* ภายใน 2 นาทีแรก จาก 10^9 ถึง 10^5 CFU/mL หรือ

การลดลง 4 log เหมือนกับผลการทดลองที่ได้รับจาก Beltran และคณะ (1988) ที่มีการใช้ละอองลอย 3% H_2O_2 เพื่อที่จะกำจัดสิ่งปนเปื้อนภายในของห้องปราศจากเชื้อ มันถูกแสดงให้เห็นว่าในช่วงเวลาที่น้อยสามารถที่จะกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ที่ราบเท่าที่ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีการกระจายตัวที่นานและคงไว้ที่ความเข้มข้นที่มีประสิทธิภาพในการทำลายเซลล์ *E. coli*

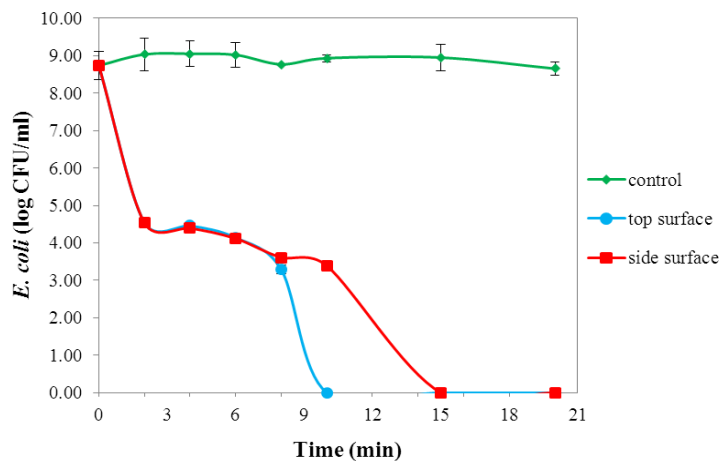
Block (2001) ได้แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียแกรมลบ แบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจนมีความไวสูงกับไฮดรอกซิลเรดิคัลที่เกิดขึ้นโดยการ oxidation ของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ผนังเซลล์ที่บางของแบคทีเรียแกรมลบทำให้แบคทีเรียเหล่านี้มีความอ่อนแอมาก ทำให้เกิดความเสียหายของผนังเซลล์เป็นผลของการ oxidizing ที่แข็งแรงของไฮดรอกซิลเรดิคัลที่ทำปฏิกิริยากับผนังด้านนอกของเมมเบรน Block (1991) ได้รายงานว่ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีประสิทธิภาพที่มากในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์เมื่อมันแสดงตัวในรูปแบบของก๊าซ ตรงกันข้ามในรูปแบบของเหลวการทำลายโดยไฮดรอกซิลเรดิคัลอิสระถูกเป็นสมมติฐานเพื่อที่จะทำปฏิกิริยากับผนังเซลล์ในส่วนที่เป็นไขมัน, DNA และองค์ประกอบที่จำเป็นอื่นๆ ของเซลล์จุลินทรีย์ การป้องกันตามธรรมชาติของเซลล์แบคทีเรียบางส่วนสามารถที่จะผลิตเอนไซม์อะคเตเลสเพื่อป้องกันเซลล์จากสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ อย่างไรก็ตามความเข้มข้นที่เป็นอันตรายของละอองไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สามารถที่จะแก้ปัญหาการป้องกันตัวเองของเซลล์เหล่านี้และถูกใช้เป็นสารฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ (Rutala et. al., 2008)

ความเข้มข้นที่เพียงพอของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพื่อที่จะผลิตละอองไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่มีประสิทธิภาพ ผลของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 1% (รูปที่ 4.11ก) ลดลงอย่างช้าๆ ในระหว่างเวลา 2 – 15 นาที การเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นของละอองไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ 3% ในการทดสอบใน chamber ได้ส่งผลให้ระดับความสามารถในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่สูง (รูปที่ 4.11ข) โดยสามารถลดเชื้อลงได้ 8 log โดยใช้เวลาน้อย 15 นาที นอกเหนือจากนั้น ผลการทดลองได้ชี้ให้เห็นว่าไม่มีผลกระทบข้างเคียงในการใช้ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่สูงมากกว่า 3% ผลกระทบจากการสังเคราะห์อื่นสามารถที่จะถูกสังเกตโดยการใช้ร่วมกันระหว่างละอองไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับการฉายด้วย UV (Klapes และ Vesley, 1990) การประยุกต์ใช้การฉายด้วย UV เพียงอย่างเดียวต้องใช้เวลานาน ดังนั้นการใช้ร่วมกันของไอละอองไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สามารถที่จะใช้เวลาน้อยในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญ

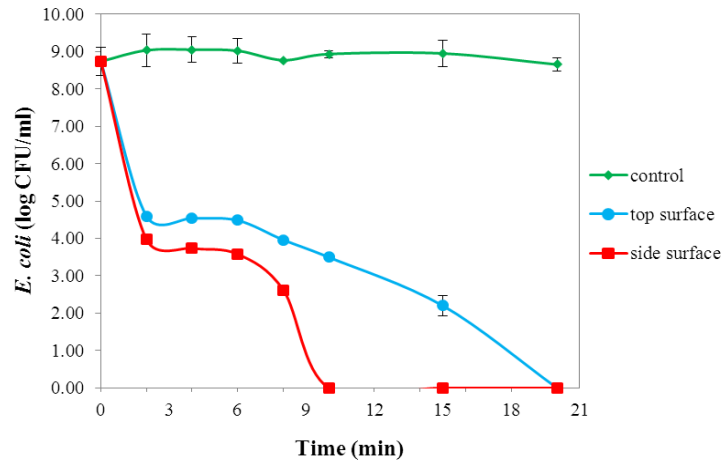
การ fumigation ใน chamber ควรที่จะเป็น airtight และควรที่จะติดตั้งพัดลมเพื่อหมุนเวียนละอองของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในระหว่างการ fumigation ปราศจากการใช้พัดลมขนาดเล็ก แบบที่เรีถูกนำมาจนได้ระดับต่ำที่ $1.37 \pm 0.11 \log_{10}$ ในขณะที่การใส่พัดลมขนาดเล็กช่วยเพิ่มความสามารถในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ถึง $7.1 \pm 0.55 \log_{10}$ จากข้อมูลที่ต้องได้บ่งชี้ให้เห็นละอองของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีปัญหาจากพารามิเตอร์ที่หลากหลาย โดยประสิทธิภาพขึ้นกับอิทธิพลของความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในรูปแบบของก๊าซ อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์และการควบแน่นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์บนพื้นที่ที่มีการปนเปื้อน



ก) 1% H₂O₂

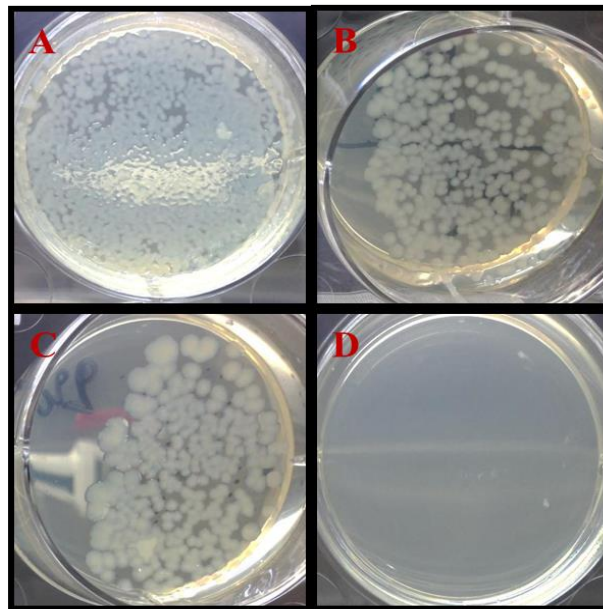


ข) 3% H₂O₂



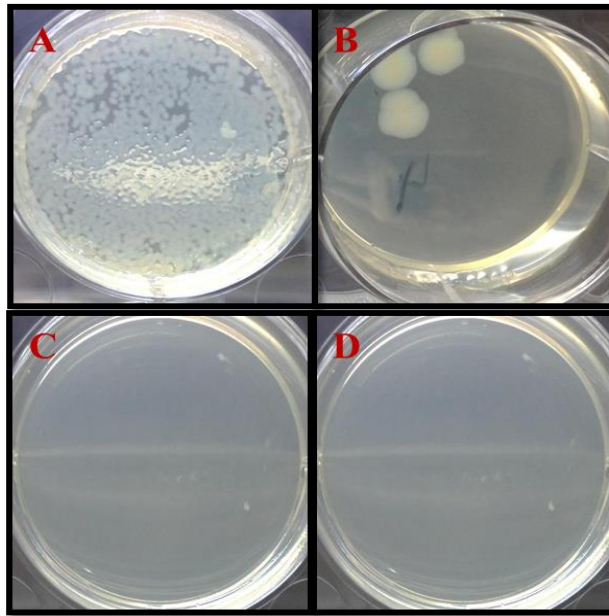
ค) 5% H₂O₂

รูปที่ 4.11 การเจริญเติบโตของ *E. coli* ในการใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ ของเซลล์ ที่ความหนาแน่นเริ่มต้น 10⁹ CFU/mL (ก) 1% H₂O₂, (ข) 3% H₂O₂, (ค) 5% H₂O₂



รูปที่ 4.12 10 นาทีของโคโลนี *E. coli* ถูก treated ด้วยละอองของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

- A. 0% ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ B. 1% ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์
 C. 3% ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ D. 5% ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์



รูปที่ 4.13 20 นาทีของโคโลนี *E. coli* ถูก treated ด้วยละอองของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

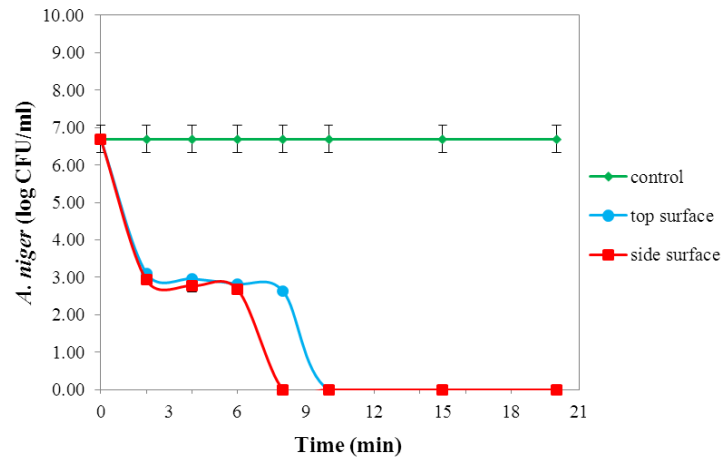
- A. 0% ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ B. 1% ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์
C. 3% ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ D. 5% ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

4.4.2 ผลของความเข้มข้นของละอองไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่มีต่อการมีชีวิตของ *A. niger*

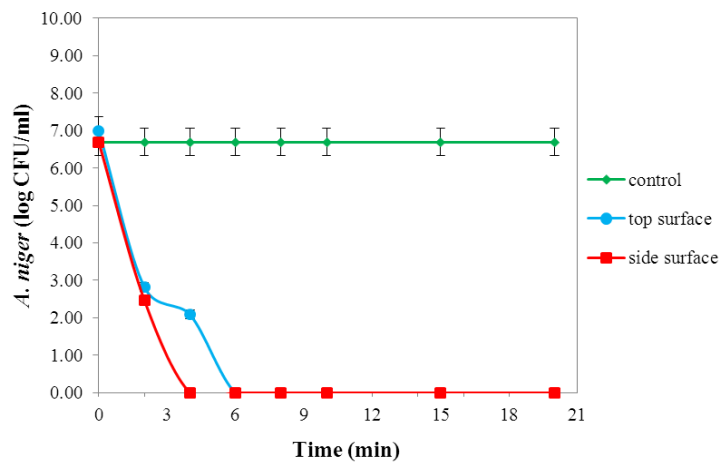
รูปที่ 4.14 แสดงให้เห็น profile ของ *A. niger* ที่เวลา 0-20 นาที หลังจากการ treatment ด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ทุกละอองของความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในการลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์สามารถลดปริมาณเชื้อได้ถึง 7 log หลังจาก 10 นาที (รูปที่ 4.16) ที่เวลา 2 นาที การใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ 5% H_2O_2 เป็นสาเหตุให้สามารถลดปริมาณเชื้อลงได้ 7 log ในขณะที่ 3% และ 1% ของ H_2O_2 ถูกมีความจำเป็นในการลดปริมาณจุลินทรีย์ได้ถึง 5 และ 4 log ตามลำดับ (รูปที่ 4.15) ความเข้มข้นที่น้อยที่สุด (1% H_2O_2) ถูกลดลงในระดับที่ไม่สามารถตรวจพบแบคทีเรียได้ภายใน 10 นาที ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าจำนวนของโคโลนีลดลงเมื่อความเข้มข้นของละอองไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพิ่มขึ้น (รูปที่ 4.15) เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ 3 และ 5 % ที่ตัวอย่างสัมผัสเป็นเวลา 4-6 นาที มีความสามารถในการฆ่า *A. niger* ที่เพิ่มขึ้น การศึกษาที่หลากหลายได้รายงานละอองของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีประสิทธิภาพที่สูงในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่หลากหลายรวมถึงแบคทีเรีย ยีสต์ รา fungi ไวรัส สปอร์ของแบคทีเรีย (Heckert et. al., 1997; Kahnert et. al., 2005)

H_2O_2 อาจเป็นไปได้ในตัวมันเองมีผลกระทบ โดยการทำลายด้วยไฮดรอกซิลเรดิคัลซึ่งอาจจะไปโจมตีไขมันที่ผิวเมมเบรน DNA และองค์ประกอบอื่นๆ ในเซลล์ ไฮดรอกซิลเรดิคัลอาจจะไปมีผลกระทบกับสปอร์ การออกซิไดซ์กลุ่มซัลโฟลีนโปรตีนและเอนไซม์ของไวรัส และแบคทีเรีย และทำปฏิกิริยากับไร

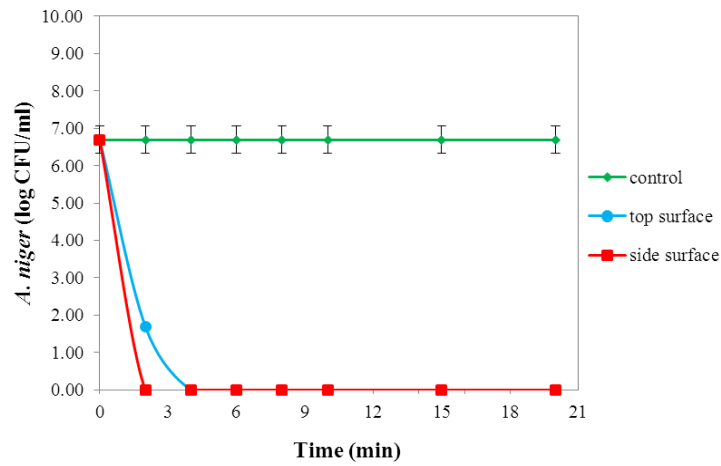
โบโซมใน fungi สปอร์ของ fungal โดยทั่วไปมีการปนเปื้อนข้ามในห้อง lab ปฏิบัติการ *Aspergillus* spp. เป็นหนึ่งในเชื้อจุลินทรีย์ที่พบมีการปนเปื้อนบ่อยครั้ง *Aspergillus* spp. ถูกฆ่าเมื่อสัมผัสกับ VHP สำหรับราอื่นๆ ได้ถูกฆ่าเช่นเดียวกันเมื่อได้สัมผัสกับ VHP รวมถึง *Penicillium* spp., *Alternaria* spp. และ *Candida* spp.



ก) 1% H₂O₂

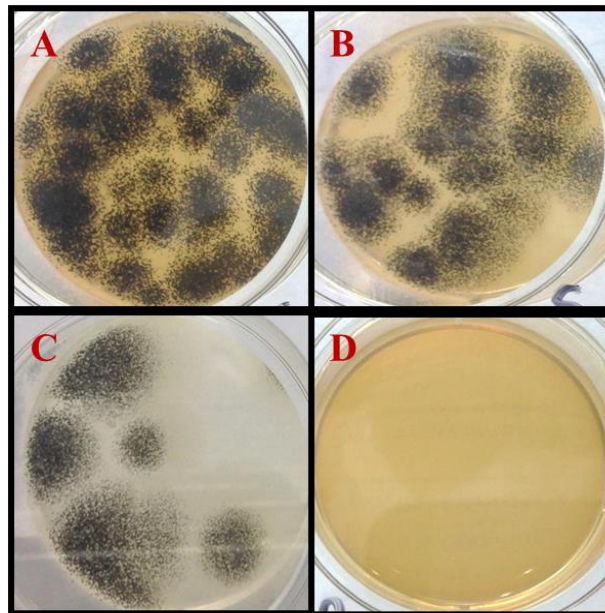


ข) 3% H₂O₂



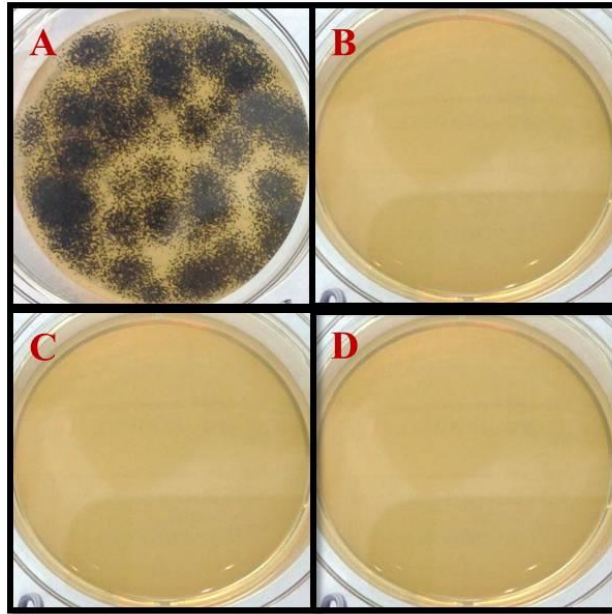
ก) 5% H₂O₂

รูปที่ 4.14 การเจริญเติบโตของ *A. niger* ในการใช้ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่
 หลากหลายในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีปริมาณความหนาแน่น 10⁷ CFU/mL (ก) 1%
 H₂O₂, (ข) 3% H₂O₂, (ค) 3% H₂O₂



รูปที่ 4.15 โคโลนีของรา *A. niger* ที่ถูกบำบัดด้วยการใช้ละอองไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นเวลา 2 นาที

- A. 0% ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ B. 1% ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์
 C. 3% ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ D. 5% ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์



รูปที่ 4.16 โคลนินของรา *A. niger* ที่ถูกบำบัดด้วยการใช้ละอองไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นเวลา 10 นาที

- A. 0% ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ B. 1% ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์
C. 3% ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ D. 5% ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

5.1 สรุปผลการทดลอง

การใช้ร่วมกันของ ozone/UV ในการ treatment แสดงให้เห็นว่ามีความเหมาะสมสำหรับตัวอย่างที่ไม่ใส และตัวอย่างที่มีความขุ่นเหมือนกับน้ำแข็ง ประสิทธิภาพการลดปริมาณเชื้อดีกว่าการใช้ UV หรือการใช้ โอโซนเพียงอย่างเดียว การทำงานร่วมกันของ ozone/UV สามารถที่จะลดปริมาณเชื้อ *E. coli* เป็น 0 ภายใน 8 นาที ระบบที่ตัวอย่างมีความส่องสว่างที่สูง เช่น น้ำ การใช้ UV เพียงอย่างเดียวถูกพบว่ามีความเพียงพอและมีประสิทธิภาพที่ดีมาก การแนะนำการใช้โอโซนในการลดปริมาณเชื้อด้วย UV ควรที่จะให้ความสำคัญของผลกระทบที่เกิดจากฟอง bubble ที่อาจจะไปแทรกแซงกับการส่งผ่านของ UV อัตราการหมุนเวียนของมวลน้ำที่มากสามารถทำให้ตัวอย่างมีการสัมผัสกับ UV ที่มากและทำให้การผสมเกิดขึ้นได้ดีและรวมถึงความสามารถในการละลายโอโซนในทั้งน้ำและส่วนผสมของน้ำแข็ง อย่างไรก็ตามทางเลือกที่เหมาะสมของการ treatment อาจจะไม่ได้อาศัยอยู่กับการตัดสินใจเพียงแค่ผลจากคุณภาพทางจุลชีววิทยาเพียงอย่างเดียว แต่ยังขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพทางค่าใช้จ่ายที่เป็นบรรทัดฐานในการตัดสินใจและความต้องการที่จำเพาะในการประยุกต์ใช้แต่ละอัน การปรับหรือเปลี่ยนแปลงในการลดปริมาณจุลินทรีย์ในน้ำแข็งโดยการใช้ ozone/UV อาจจะเป็นทางเลือกที่เชื่อถือได้สำหรับน้ำแข็งที่นำกลับมาใช้ใหม่ อย่างไรก็ตามข้อเสนอนี้ต้องการการตรวจติดตามที่ต่อเนื่องอย่างมีประสิทธิภาพและคุณภาพพารามิเตอร์ของน้ำแข็งเพื่อที่จะประกันดีสภาวะที่มีความเหมาะสมของการบำบัด ดังนั้นสำหรับการประยุกต์ในทางปฏิบัติของการใช้ UV, ozone, และ ozone/UV ที่ระดับโรงงานถ้วยเดียว ควรที่จะเป็นความจำเป็นเพื่อที่จะตัดสินใจคุณลักษณะทางกายภาพของแต่ละชนิดของน้ำและน้ำแข็ง รวมถึงความขุ่นและระยะเวลาในการ treatment เพื่อที่จะทำให้เกิดความแน่ใจว่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ถูกยับยั้ง

สำหรับการ fumigation ด้วยละอองไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (VHP) พบว่า VHP สามารถที่จะลดการปนเปื้อนแบคทีเรียและราในห้อง chamber โดยที่ทั้งนี้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สามารถที่จะระเหยได้ง่ายหรือถูกทำลายได้หลังจากการใช้ (มีการสลายเป็นน้ำและออกซิเจนอย่างรวดเร็ว) ไม่มีกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์และไม่ปรากฏปัญหาความปลอดภัยสำหรับบุคคลทำงานถ้ามีการใช้ด้วยความเหมาะสม การศึกษาเพิ่มเติมของ VHP ถูกมีความจำเป็นเพื่อให้เป็นที่ยอมรับในสถานการณ์ซึ่งเป็นการใช้เทคโนโลยีที่แตกต่าง โดยเป็นเทคโนโลยีที่มีประโยชน์และด้วยราคาที่เหมาะสมคุ้มค่า

5.2 ข้อเสนอแนะ

ผลการทดลองจากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการลดลงของปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด, ยีสต์/รา, และ *E. coli* ในน้ำแข็งโดยการใช้กระบวนการ Advanced Oxidation Processes (AOPs) ผลจากการศึกษานี้เป็นเพียงแนวทางในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด, ยีสต์/รา, และ *E. coli* ในตัวอย่างอาหาร มากไปกว่านั้น strains ของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคและที่ไม่ใช่เชื้อก่อโรคจำเป็นต้องมีการศึกษา การทำให้เกิดผลในการนำไปประยุกต์ใช้กับโรงงานอุตสาหกรรมจริงถูกมีความต้องการเพื่อให้ได้ข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับความสามารถในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์และปรับขั้นตอนการวิเคราะห์เพื่อให้ง่ายในการปฏิบัติ

ผลผลิต (Output)

1. ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการทั้งในระดับชาติและนานาชาติ (ระบุชื่อผู้แต่ง ชื่อเรื่อง ชื่อวารสาร ปี เล่ม เลขที่ และหน้า)

1.1 Jewsuwan, A., Boonchan, W., Deepatana, A. and Thipayarat, A., 2019, “Effects of combined ozonation and UV-C treatment or vapored hydrogen peroxide fumigation to inactivate *Escherichia coli* and *Aspergillus niger* contaminants noodle industry”, Srinakharinwirot University (Journal of Science and Technology), TCI-Tier 1, submitted.

2. การจดสิทธิบัตร

ระบบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียในของเหลวที่มีอนุภาคแขวนลอยโดยไม่ใช้ความร้อนในการฆ่าเชื้อด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชันขั้นสูง

3. ผลงานเชิงพาณิชย์ (มีการนำเสนอไปผลิต/ขาย/ก่อให้เกิดรายได้ หรือมีการประยุกต์ใช้โดยภาครัฐกิจ หรือบุคคลทั่วไป)

การประยุกต์ใช้เทคโนโลยี UV/Ozone ในการกำจัดเชื้อ E. Coli/Coliforms เป็นเทคโนโลยีที่ได้มีการทดลองใช้จริงในโรงงานก๋วยเตี๋ยว บริษัท ไทย เอเชีย ไรซ์ จำกัด พบว่าเทคโนโลยีดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อ *E. coli* และ *A. niger* ในน้ำแป้งได้เป็นอย่างดี ทำให้ช่วยยืดอายุของน้ำแป้งสามารถดำเนินการผลิตก๋วยเตี๋ยวได้เต็มประสิทธิภาพ ไม่เกิดการหยุดชะงักของกระบวนการผลิตจากการเน่าเสียของวัตถุดิบน้ำแป้ง ทางบริษัทเล็งเห็นถึงประสิทธิภาพของเทคโนโลยีดังกล่าว ดังนั้นการขยายการผลิตโรงงานก๋วยเตี๋ยวในอนาคตข้างหน้า ทางบริษัทมีนโยบายที่จะให้มีระบบการฆ่าเชื้อด้วย UV/Ozone ในไลน์การผลิตของโรงงาน

4. ผลงานเชิงสาธารณะ (เน้นประโยชน์ต่อสังคม ชุมชน ท้องถิ่น)

องค์ความรู้ที่ได้จากงานวิจัย สามารถเป็นแนวทางต่อยอดการนำเทคโนโลยี UV/Ozone ในการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น โดยเฉพาะเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค นอกจากนี้ยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับอุตสาหกรรมอื่นๆ ที่สามารถใช้ประโยชน์จากการลดปริมาณเชื้อด้วย UV/Ozone ช่วยลดต้นทุนค่าจากการนำเข้าระบบการฆ่าเชื้อที่มีราคาแพงจากต่างประเทศ เป็นการส่งเสริมศักยภาพความสามารถนักวิทยาศาสตร์ไทย เกิดผลงานวิจัยที่เป็นทางเลือกใหม่ในการฆ่าเชื้อโดยไม่ใช้ความร้อน ทำให้ยังคงรักษาคุณภาพของตัวอย่างที่ทำการฆ่าเชื้อได้เป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

1. บุญกร อุตรภิกษาติ, 2545, จุลชีววิทยาทางอาหาร, โครงการส่งเสริมการผลิตเอกสารวิชาการภาควิชาชีพวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ, สงขลา, หน้า 322-325.
2. วิไล รังสาดทอง, 2545, เทคโนโลยีการแปรรูปอาหาร, กรุงเทพฯ
3. สุเมธ ชวเดช, 2541, การพัฒนากระบวนการออกซิเดชันโอโซนสำหรับการบำบัดน้ำเสีย: รายงานฉบับสมบูรณ์, กรุงเทพฯ วิทยาลัยปิโตรเลียมและปิโตรเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 44 หน้า
4. Acra, A., Jurdi, M., Muallem, H., Karahagopian, Y. and Raffoul, Z., 1990, "Water Disinfection by Solar Radiation – Assessment and Application", Ottawa, IDRC.
5. Aguiar, A., Bainbridge, D., Bond, M., Gupta, C., Matthews, K., Plante, J., Rantanen, E., Turner, C., Yang, D., Zhang, W. and Drew, D., 1996, Modeling UV-damage to *E. coli* bacteria, Mathematical modeling for instructors', 1422–7, University of Minnesota, Minneapolis, MN, [online], Available: <http://www.ima.umn.edu/preprints/Sept96/1422g.pdf> [2011, February 20].
6. Alexandre, E.M.C., Brandlo, T.R.S. and Silva, C.L.M., 2011, "Modelling microbial load reduction in foods due to ozone impact", Procedia Food Science Protection, Vol. 56, No. 1, pp. 836–841.
7. Arita, M., Nagayoshi, M., Fukuizumi, T., Okinaga, T., Masumi, S. and Morikawa, M., 2005, "Microbicidal efficacy of ozonated water against *Candida albicans* adhering to acrylic denture plates", Oral Microbiology & Immunology; Vol. 20, 206 p.
8. Bank, H.L., Schmehl, J.L. and Dratch, R.J., 1990, "Bacteriocidal effectiveness of modulated UV light", Applied Environmental Microbiology, Vol. 56, pp. 3888-3889.
9. Barlow PJ. 1994. An introduction to ozone generation.
10. Baysan, A., Whiley, RA., Lynch and E., 2000, "Antimicrobial effect of a novel ozone-generating device on microorganisms associated with primary root carious lesions in vitro", Caries Research, Vol. 34, pp. 498–501.
11. Beltran, F.J., Encinar, J.M. and Alonso, M.A., 1998, "Nitroaromatic hydrocarbon ozonation in water. 2. Combined ozonation with hydrogen peroxide or UV radiation", Industrial & Engineering Chemistry Research, Vol. 37, pp. 32-40.

12. Beltran, F.J., Ovejero, G. and Rivas, J., 1996, "Oxidation of polynuclear aromatic hydrocarbons in water UV radiation combined with hydrogen peroxide", *Industrial & Engineering Chemistry Research*, Vol. 35, pp. 883-890.
13. Bintsis, T., Litopoulou-Tzanetaki, E. and Robinson, R. K., 2000, "Existing and potential applications of ultraviolet light in the food industry critical review", *Science of Food and Agriculture*, Vol. 80, No. 6, pp. 637-645.
14. Block, S.S. (1991) *Disinfection, Sterilization and Preservation*. Philadelphia, PA: Lea & Febiger.
15. Borup, M.B. and V.D. Adams, 1985, "Upgrading wastewater lagoon effluents with the UV/sedimentation process", *JWPCF*, Vol. 57, No. 3, pp. 196 – 200.
16. Byun, M., Kwon, O., Yook, H. and Kim, K., 1998, "Gamma irradiation and ozone treatment for inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in culture media", *Journal of Food Protection*, Vol. 61, pp. 728–730.
17. Celiberti, P., Pazera, P. and Lussi, A., 2006, "The impact of ozone treatment on enamel physical properties", *American Journal of Dentistry*, Vol. 19, pp. 67–72.
18. Cho, M., Kim, J., Kim, J.Y., Yoon, J. and Kim, J.H., 2010, "Mechanisms of *Escherichia coli* inactivation by several disinfectants", *Water Research*, Vol. 44, pp. 3410-3418.
19. Demirci, A. and Ngadi, M.O., 2012, "Microbial decontamination in the food industry: novel methods and applications", Woodhead Publishing, Philadelphia, pp. 495-531.
20. Estrela, C., Estrela, C.R., Decurcio, Dde A., Silva, J.A. and Bammann, LL., 2006, "Antimicrobial potential of ozone in an ultrasonic cleaning system against *Staphylococcus aureus*", *Brazilian Dental Journal*, Vol. 17, pp. 134–138.
21. Glaze, W.H., 1987, "Drinking-water treatment with ozone", *Environmental science & technology*, Vol. 21, No. 3, pp. 224-230.
22. Glaze, W.H., Kang, J.W. and Chapin, D.H., 1987, "The chemistry of water treatment processes involving ozone, hydrogen peroxide and ultraviolet radiation", *Ozone: Science & Engineering*, Vol. 9, pp. 335–342.
23. Guittoneau, S., De Laat, J., Duguet, J.P., Bonnel, C. and Dorle, M., 1990, "Oxidation of parachloronitrobenzene in dilute aqueous solution by O₃+UV and H₂O₂+UV: a comparative study", *Ozone: Science & Engineering*, Vol. 12, pp.73–94.

24. Guzel-Seydim, Z.B., Greene, A.K. and Seydim, A.C., 2004, "Use of ozone in the food industry", *LWT-Food Science and Technology*, Vol. 37, No. 4, pp. 453-460.
25. Guzel-seydim, Z., Bever, P.I. and Greene, A.K., 2004, "Efficacy of ozone to reduce bacterial populations in the presence of food components", *Food Microbiology*, Vol. 21, pp. 475–479.
26. Hakguder, B., 2009, "UV disinfection of some of the fruit juices, decontamination of berries with ozone and pulsed UV-light. Izmir", Turkey: İzmir Institute of Technology, Department of Food Engineering, MSc thesis.
27. Hanes, D.E., Worobo, R.W., Orlandi, P.A., Burr, D.H., Miliotis, M.D., Robl, M.G., Bier, J.W., Arrowood, M.J., Churey, J.J. and Jackson, G.J., 2002, "Inactivation of *Cryptosporidium parvum* oocysts in fresh apple cider by UV irradiation", *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 68, No. 8, pp. 4168-4172.
28. Heckert, R.A., Best, M., Jordan, L.T., Dulac, G.C., Eddington, D.L. and Sterritt, W.G., 1997, "Efficacy of vaporized hydrogen peroxide against exotic animal viruses", *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 63, pp. 3916- 3918.
29. Hoffman, R., 1971, "Inhibition and destruction of the microbial cell", *Ozone*. (Eds). Academic Press, Chapter 4, pp. 251-253.
30. Horvath, M., Bilitzky, L. and Huttner, J., 1985, *Ozone*. Budapest: Elsevier.
31. Hunt, N.K. and Marinas, B.J., 1997, "Kinetics of *Escherichia coli* inactivation with ozone", *Research*, Vol.31, pp. 1355 – 1362.
32. Huth, K.C., Jakob, F.M., Saugel, B., Cappello, C., Paschos, E. and Hollweck, R., 2006, "Effect of ozone on oral cells compared with established antimicrobials", *European Journal of Oral Sciences*, Vol. 114, pp. 435–440.
33. Kahnert, A., Seiler, P., Stein, M., Aze, B., McDonnell, G. and Kaufmann, S.H.E., 2005, "Decontamination with vaporized hydrogen peroxide is effective against *Mycobacterium tuberculosis*", *Letters in Applied Microbiology*, Vol. 40, pp. 448-452.
34. Khadre, M.A., Yousef, A.E., and Kim, J.G., 2001, "Microbiological aspects of ozone applications in food: a Review", *Journal of Food Science*, Vol. 66, No. 9, pp. 1242-1252.
35. Khueankhanchoen, J., Supanivatin, P., Saeung, W., Boonyaprapasorn, A. and Thipayarat, A., 2010, "Evaluation of practical analyses of Coliforms and *Escherichia coli* detection and

- enumeration for industrial food samples”, Proceedings of International Conference for a Sustainable Greater Mekong Subregion, pp. 210-214.
36. Kim, J.G., Yousef, A.E. and Dave, S., 1999, “Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: a review”, *Journal of Food Protection*, Vol. 62, pp. 1071-1087.
 37. Kim, J.G., Yousef, A.E. and Chism, G.M., 1999, “Use of ozone to inactivate microorganisms on lettuce” [Cited by: Xu, L., 1999, “Use of ozone to improve the safety of fresh fruits and vegetables” *Food Technology*, Vol. 33, No. 10, pp. 58-61, 63.
 38. Kim, J.G., Yousef, A.E. and Chism, G.W., 1999a, “Use of Ozone to Inactivate Microorganisms on Lettuce”, *Journal of Food Safety*, Vol. 19, pp. 17-34.
 39. Kim, J.G., Yousef, A.E. and Khadre, M.A., 2003, “Ozone and its current and future application in the food industry”, *Advances in Food and Nutrition Research*, Vol. 45, pp. 167–218.
 40. Klapes, N.A. and Vesley, D., 1990, “Vapor-phase hydrogen peroxide as a surface decontaminant and sterilant”, *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 56, pp. 503-506.
 41. Koutchma, T., Parisi, B. and Unluturk, S., 2006, “Evaluation of UV dose in flow-through reactors for fresh apple juice and cider”, *Chemical Engineering Communication*, Vol. 193, No. 6, pp. 715-728.
 42. Koutchma, T.N., Forney, L.J. and Moraru, C.I., 2009, “Ultraviolet light in food technology, CRC Press, London, pp. 53-67.
 43. Krishnamurthy, K., Irudayaraj, J., Demirci, A. and Yang, W., 2008, “Food processing operations modeling: design and analysis, 2nd ed., CRC Press, NW, pp. 281-299.
 44. Lazarova, V., Savoye, P., Janex, M.L., Blatchley, E.R. and Pommepuy, M., 1999, “Advanced wastewater disinfection technologies: state of the art and perspectives”, *Water Science & Technology*, Vol. 40, pp. 203–213.
 45. Matak, K.E., Churey, J.J., Worobo, R.W., Sumner, S.S., Hovingh, E., Hackney, C.R. and Pierson, M.D., 2005, “Efficacy of UV light for the reduction of *Listeria monocytogenes* in goat’s milk”, *Journal of Food Protection*, Vol. 68, No. 10, pp. 2212–2216.
 46. McDonnell, G. and Russell, A.D., 1999, “Antiseptics and disinfectants: Activity, action, and resistance”, *Clinical Microbiology Reviews*, Vol. 12, pp. 147-179.

47. McDonough, M.X., Mason, L.J. and Woloshuk, C.P., 2011, "Susceptibility of stored product insects to high concentrations of ozone at different exposure intervals", *Journal of Stored Products Research Protection*, Vol. 47, No. 4, pp. 306–310.
48. Munter, R., 2001, "Advanced oxidation processes – current status and prospects", *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences*, Vol. 50, pp. 59–80.
49. Murakami, H., Mizuguchi, M., Hattori, M., Ito, Y., Kawai, T. and Hasegawa, J., 2002, "Effect of denture cleaner using ozone against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *E. coli* T1 phage", *Dental Materials Journal*, Vol. 21, pp. 53–60.
50. Murray, B.K., Ohmine, S., Tomer, D.P., Jensen, K.J., Johnson, F.B., Kirsi, J.J., Robison, R.A. and O'Neill, K.L., 2008, "Virion disruption by ozone-mediated reactive oxygen species", *Journal of Virological Methods*, Vol. 153, pp. 74-77.
51. Oizumi, M., Suzuki, T., Uchida, M., Furuya, J. and Okamoto, Y., 1998, "In vitro testing of a denture cleaning method using ozone", *Journal of Medical and Dental Sciences*, Vol. 45, pp. 135–139.
52. Peyton, G.R. and Glaze, W.H., 1988, "Destruction of pollutants in water with ozone in combination with ultraviolet radiation. 3. Photolysis of aqueous ozone", *Environmental Science & Technology*, Vol. 22, pp. 761–769.
53. Prado, J. and Esplugas, S., 1999, "Comparison of different AOPs involving ozone to eliminate atrazine", *Ozone Science and Engineering*, Vol. 21, No. 1, pp. 39-52.
54. Restaino, L., Frampton, E.W., Hemphill, J.B. and Palnikar, P., 1995, "Efficiency of ozonated water against various food – Environ", *Microbiology*, Vol. 61, pp. 3471 – 3475.
55. Rickard, G.D., Richardson, R., Johnson, T., McColl, D. and Hooper, L., 2004, "Ozone therapy for the treatment of dental caries", *Cochrane Database of Systematic Reviews*, CD004153.
56. Rutala, W.A., 1999, "Selection and use of disinfectants in healthcare. In: Mayhall CG, editor. *Hospital epidemiology and infection control*. 2nd ed. London: William and Wilkins; P. 1161—1187.
57. Selma, M.V., Allende, A., López-Gálvez, F., Conesa, M.A. and Gil, M.I., 2008a, "Disinfection potential of ozone, ultraviolet-C and their combination in wash water for the fresh-cut vegetable industry", *Food Microbiology*, Vol. 25, pp. 809-814.

58. Severin, B.F. and M.T. Suidan, 1985, "Ultraviolet disinfection for municipal wastewater", CEP, Vol. 81, No. 4, pp. 37 – 44.
59. Singh, N., Singh, R.K., Bhunia, A.K. and Stroshine, R.L., 2002, "Efficacy of chlorine dioxide, ozone, and thyme essential oil or a sequential washing in killing *Escherichia coli* O157:H7 on lettuce and baby carrots", Lebensm Wissensch Technology, Vol. 35, pp. 720-729.
60. Sung, H.J., Song, W.J., Kim, K.P., Ryu, S. and Kang, D.H., 2014, "Combination effect of ozone and heat treatments for the inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella Typhimurium*, and *Listeria monocytogenes* in apple juice", International Journal of Food Microbiology, Vol. 171, pp. 147-153.
61. Suzuki, T., Oizumi, M., Furuya, J., Okamoto, Y. and Rosenstiel, S.F., 1999, "Influence of ozone on oxidation of dental alloys", The International Journal of Prosthodontics, Vol. 12, pp. 179–183.
62. Tap, C. and Rice, R.G., 2012, "Generation and control of ozone", Ozone in Food Processing, Blackwell Publishing Ltd., Oxford, pp. 33-54
63. Thabet, S.S., Thabet, H.S. and Atalla, S.S., 2007, "Efficacy of medical ozone in attenuation of murine Schistosomiasis mansoni infection morbidity", Journal of the Egyptian Society of Parasitology, Vol. 37, pp. 915-944.
64. Unluturk, S., Atilgan, M.R., Baysal, A.H. and Unluturk, M.S., 2010, "Modeling inactivation kinetics of liquid egg white exposed to UV-C irradiation", International Journal of Food Microbiology, Vol. 142, pp. 341–347.
65. Venosa, A.D., Disinfection, JWPCF, Vol. 58, No. 6, pp. 518 – 524, 1986.
66. Von Sonntag, C., 1986, "Disinfection by free radicals and UV-radiation", Journal International Water Supply Association, Vol. 4, No. 3, pp. 11–18.
67. Wickramanayake, G.B., Rubin, A.J. and Sproul, O.J., 1984, "Inactivation of *Giardia lamblia* Cysts with Ozone", Applied and Environmental Microbiology, Vol. 48, pp. 671-672.
68. Xu, L., 1999, "Use of ozone to improve the safety of fresh fruits and vegetables", Food Technology, Vol. 33, No. 10, pp. 58–61, 63.
69. Yaun, B.R., Sumner, S.S., Eifert, J.D. and Marcy, J.E., 2004, "Inhibition of pathogens on fresh produce by ultraviolet energy", International Journal of Food Microbiology, Vol. 90, pp. 1–8.

ภาคผนวก
(Appendix)

ตารางที่ A.5 ผลของการฆ่าเชื้อด้วยยูวีที่มีต่อปริมาณเซลล์ *E. coli* (spiked sample) ในน้ำแข็งที่อัตราการไหล 0.4, 0.6, และ 0.8 กิโลกรัม/วินาที

เวลา (นาที)	ปริมาณเซลล์ <i>E. coli</i> (log CFU/mL)							
	ไม่มียูวี				อัตราการไหล 0.4 กิโลกรัม/วินาที			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	SD	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	SD
0	6.70	6.90	6.80	0.14	6.60	6.30	6.45	0.21
2	6.60	7.08	6.84	0.34	5.30	5.30	5.30	0.00
4	6.56	6.60	6.58	0.03	4.38	4.30	4.34	0.06
6	6.51	6.60	6.55	0.07	3.85	4.34	4.09	0.35
8	6.58	6.60	6.59	0.02	3.90	4.08	3.99	0.12
10	6.53	6.30	6.42	0.16	3.78	4.15	3.96	0.26
15	6.60	6.90	6.75	0.21	3.78	3.90	3.84	0.09

ตารางที่ A.5 ผลของการฆ่าเชื้อด้วยยูวีที่มีต่อปริมาณเซลล์ *E. coli* (spiked sample) ในน้ำแข็งที่อัตราการไหล 0.4, 0.6, และ 0.8 กิโลกรัม/วินาที (ต่อ)

เวลา (นาที)	ปริมาณเซลล์ <i>E. coli</i> (log CFU/mL)							
	อัตราการไหล 0.6 กิโลกรัม/วินาที				อัตราการไหล 0.8 กิโลกรัม/วินาที			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	SD	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	SD
0	6.60	6.60	6.60	0.00	5.78	6.48	6.13	0.49
2	4.78	5.41	5.10	0.45	4.70	4.78	4.74	0.06
4	3.78	4.20	3.99	0.30	3.78	4.20	3.99	0.30
6	3.48	3.30	3.39	0.12	3.41	3.30	3.30	0.08
8	2.30	3.30	2.80	0.71	2.30	3.30	2.80	0.71
10	2.30	3.30	2.80	0.71	2.30	3.30	2.80	0.71
15	2.30	3.30	2.80	0.71	2.30	3.30	2.80	0.71

ตารางที่ A.7 ผลของการฆ่าเชื้อด้วยยูวี/โอโซนที่มีต่อปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในน้ำแบ่งที่ความเข้มข้นต่างๆ (0, 20, 45, 75, และ 100%) ที่อัตราการไหล 0.3 กิโลกรัม/วินาที

เวลา (นาที)	ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (log CFU/mL)							
	สถานะควบคุม				บำบัดที่แบ่ง 0%			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	SD	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	SD
0	6.40	6.60	6.50	0.14	6.43	6.70	6.57	0.19
5	6.28	6.60	6.44	0.23	3.48	4.00	3.74	0.37
10	6.04	6.48	6.26	0.31	3.30	4.00	3.65	0.49
20	7.11	7.00	7.06	0.08	3.00	4.00	3.50	0.71
30	7.04	7.30	7.17	0.25	0.00	0.00	0.00	0.00
40	6.30	6.60	6.45	0.21	0.00	0.00	0.00	0.00

ตารางที่ A.7 ผลของการฆ่าเชื้อด้วยยูวี/โอโซนที่มีต่อปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในน้ำแบ่งที่ความเข้มข้นต่างๆ (0, 20, 45, 75, และ 100%) ที่อัตราการไหล 0.3 กิโลกรัม/วินาที (ต่อ)

เวลา (นาที)	ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (log CFU/mL)							
	บำบัดที่แบ่ง 20%				บำบัดที่แบ่ง 45%			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	SD	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	SD
0	6.30	6.60	6.45	0.21	6.34	6.30	6.32	0.03
5	5.78	6.00	5.89	0.16	6.20	6.00	6.10	0.14
10	4.60	4.48	4.54	0.09	5.18	5.00	5.09	0.12
20	3.95	4.48	4.22	0.37	4.30	4.00	4.15	0.21
30	3.90	4.00	3.95	0.07	4.00	4.00	4.00	0.00
40	0.00	0.00	0.00	0.00	3.60	4.00	3.80	0.28

ตารางที่ A.7 ผลของการฆ่าเชื้อด้วยยูวี/โอโซนที่มีต่อปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในน้ำแข็งที่ความเข้มข้นต่างๆ (0, 20, 45, 75, และ 100%) ที่อัตราการไหล 0.3 กิโลกรัม/วินาที (ต่อ)

เวลา (นาท)	ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (log CFU/mL)							
	บำบัดที่แข็ง 75%				บำบัดที่แข็ง 100%			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	SD	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	SD
0	6.60	7.00	6.80	0.28	6.65	7.32	6.99	0.47
5	6.26	6.90	6.58	0.46	7.20	7.90	7.55	0.49
10	6.28	6.95	6.62	0.48	7.34	7.60	7.47	0.18
20	5.78	6.00	5.89	0.16	6.78	7.00	6.89	0.16
30	4.85	5.00	4.92	0.11	6.43	6.48	6.45	0.03
40	4.60	5.00	4.80	0.28	6.20	6.00	6.10	0.14

ตารางที่ A.8 ผลของการฆ่าเชื้อด้วยยูวี/โอโซนที่มีต่อปริมาณยีสต์และราในน้ำแข็งที่ความเข้มข้นต่างๆ (0, 20, 45, 75, และ 100%) ที่อัตราการไหล 0.3 กิโลกรัม/วินาที

เวลา (นาท)	ปริมาณยีสต์และรา (log CFU/mL)							
	สถานะควบคุม				บำบัดที่แข็ง 0%			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	SD	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	SD
0	6.18	6.30	6.24	0.09	6.46	6.90	6.68	0.31
5	6.32	6.30	6.31	0.01	3.00	4.00	3.50	0.71
10	6.48	6.85	6.66	0.26	3.30	4.00	3.65	0.49
20	6.52	6.70	6.61	0.13	3.48	4.00	3.74	0.37
30	6.49	6.60	6.55	0.08	0.00	0.00	0.00	0.00
40	6.51	6.70	6.60	0.14	0.00	0.00	0.00	0.00

ตารางที่ A.8 ผลของการฆ่าเชื้อด้วยยูวี/โอโซนที่มีต่อปริมาณยีสต์และราในน้ำแข็งที่ความเข้มข้นต่างๆ (0, 20, 45, 75, และ 100%) ที่อัตราการไหล 0.3 กิโลกรัม/วินาที (ต่อ)

เวลา (นาที)	ปริมาณยีสต์และรา (log CFU/mL)							
	บำบัดที่แข็ง 20%				บำบัดที่แข็ง 45%			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	SD	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	SD
0	6.51	6.70	6.60	0.14	6.40	6.60	6.50	0.14
5	5.60	6.00	5.80	0.28	6.08	6.48	6.28	0.28
10	4.90	5.30	5.10	0.28	5.18	5.00	5.09	0.12
20	4.00	4.00	4.00	0.00	4.28	4.60	4.44	0.23
30	3.48	4.00	3.74	0.37	3.90	4.00	3.95	0.07
40	0.00	0.00	0.00	0.00	3.00	3.70	3.00	0.49

ตารางที่ A.8 ผลของการฆ่าเชื้อด้วยยูวี/โอโซนที่มีต่อปริมาณยีสต์และราในน้ำแข็งที่ความเข้มข้นต่างๆ (0, 20, 45, 75, และ 100%) ที่อัตราการไหล 0.3 กิโลกรัม/วินาที (ต่อ)

เวลา (นาที)	ปริมาณยีสต์และรา (log CFU/mL)							
	บำบัดที่แข็ง 75%				บำบัดที่แข็ง 100%			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	SD	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	SD
0	6.78	6.30	6.54	0.34	7.23	7.90	7.57	0.48
5	6.60	6.30	6.45	0.21	7.28	7.00	7.14	0.20
10	6.18	6.00	6.09	0.12	7.32	7.60	7.46	0.20
20	5.56	5.48	5.52	0.06	7.36	7.70	7.53	0.24
30	5.00	5.30	5.15	0.21	6.08	6.70	6.39	0.44
40	4.67	4.70	4.69	0.02	6.15	6.48	6.31	0.23

ตารางที่ A.9 ผลของการฆ่าเชื้อด้วยยูวี/โอโซนที่มีต่อปริมาณ *E. coli* ที่ความเข้มข้นต่างๆ (0, 20, 45, 75, และ 100%) ที่อัตราการไหล 0.3 กิโลกรัม/วินาที

เวลา (นาที)	ปริมาณ <i>E. coli</i> (log CFU/mL)							
	สถานะควบคุม				บำบัดที่แป้ง 0%			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	SD	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	SD
0	6.23	6.00	6.12	0.16	6.41	6.70	6.56	0.20
5	6.18	6.48	6.33	0.21	3.30	4.00	3.65	0.49
10	6.20	6.60	6.40	0.28	0.00	0.00	0.00	0.00
20	6.28	6.00	6.14	0.20	0.00	0.00	0.00	0.00
30	6.34	6.48	6.41	0.10	0.00	0.00	0.00	0.00
40	6.32	6.30	6.31	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00

ตารางที่ A.9 ผลของการฆ่าเชื้อด้วยยูวี/โอโซนที่มีต่อปริมาณ *E. coli* ที่ความเข้มข้นต่างๆ (0, 20, 45, 75, และ 100%) ที่อัตราการไหล 0.3 กิโลกรัม/วินาที (ต่อ)

เวลา (นาที)	ปริมาณ <i>E. coli</i> (log CFU/mL)							
	บำบัดที่แป้ง 20%				บำบัดที่แป้ง 45%			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	SD	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	SD
0	6.40	6.00	6.20	0.28	6.38	6.30	6.34	0.06
5	5.30	5.30	5.30	0.00	5.41	5.30	5.36	0.08
10	4.11	4.48	4.30	0.26	4.18	4.30	4.24	0.09
20	3.70	4.30	4.00	0.43	3.70	4.00	3.85	0.21
30	3.00	4.00	3.50	0.71	3.48	4.00	3.48	0.37
40	2.70	2.00	2.35	0.49	3.00	3.70	3.00	0.49

ตารางที่ A.9 ผลของการฆ่าเชื้อด้วยยูวี/โอโซนที่มีต่อปริมาณ *E. coli* ที่ความเข้มข้นต่างๆ (0, 20, 45, 75, และ 100%) ที่อัตราการไหล 0.3 กิโลกรัม/วินาที (ต่อ)

เวลา (นาที)	ปริมาณ <i>E. coli</i> (log CFU/mL)							
	บำบัดที่แป้ง 75%				บำบัดที่แป้ง 100%			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	SD	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	SD
0	6.11	6.70	6.41	0.41	6.26	6.00	6.13	0.18
5	5.90	6.48	6.19	0.41	6.41	6.70	6.56	0.20
10	5.64	5.85	5.74	0.14	6.38	6.70	6.54	0.23
20	4.95	5.00	4.98	0.03	6.11	6.00	6.06	0.08
30	4.38	4.48	4.43	0.07	6.00	6.00	6.00	0.00
40	4.23	4.00	4.12	0.16	5.41	5.48	5.45	0.04

ตารางที่ A.10 ปริมาณเซลล์ *E. coli* ที่ได้จากปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10^9 CFU/mL เมื่อมีการใช้ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่างๆ

เวลา (นาที)	ปริมาณ <i>E. coli</i> (log CFU/mL)							
	สถานะควบคุม				บำบัดที่ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1%			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	SD	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	SD
0	8.48	9.00	8.74	0.37	8.48	9.00	8.74	0.37
2	8.73	9.34	9.04	0.43	4.60	4.52	4.56	0.06
4	8.81	9.30	9.05	0.35	4.44	4.39	4.41	0.04
6	8.79	9.26	9.02	0.33	4.33	4.28	4.30	0.04
8	8.76	8.78	8.77	0.01	4.26	4.16	4.21	0.07
10	8.87	9.00	8.93	0.09	4.02	3.94	3.98	0.05
15	8.70	9.20	8.95	0.36	3.89	3.79	3.84	0.07
20	8.53	8.78	8.65	0.17	3.74	3.93	3.83	0.13

ตารางที่ A.10 ปริมาณเซลล์ *E. coli* ที่ได้จากปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10^9 CFU/mL เมื่อมีการใช้ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่างๆ (ต่อ)

เวลา (นาทีก)	ปริมาณ <i>E. coli</i> (log CFU/mL)							
	บำบัดที่ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 3%				บำบัดที่ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 5%			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	SD	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	SD
0	8.48	9.00	8.74	0.37	8.48	9.00	8.74	0.37
2	4.55	4.54	4.54	0.01	4.57	4.64	4.60	0.05
4	4.48	4.44	4.46	0.02	4.54	4.55	4.54	0.01
6	4.09	4.19	4.14	0.07	4.44	4.53	4.48	0.06
8	3.20	3.37	3.29	0.12	4.00	3.92	3.96	0.06
10	0.00	0.00	0.00	0.00	3.45	3.54	3.50	0.06
15	0.00	0.00	0.00	0.00	2.40	2.00	2.20	0.28
20	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

ตารางที่ A.11 ปริมาณเซลล์ *A. niger* ที่ได้จากปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10^7 CFU/mL เมื่อมีการใช้ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่างๆ

เวลา (นาทีก)	ปริมาณ <i>A. niger</i> (log CFU/mL)							
	สภาวะควบคุม				บำบัดที่ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1%			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	SD	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	SD
0	6.43	6.95	6.69	0.37	6.43	6.95	6.69	0.37
2	6.43	6.95	6.69	0.37	3.13	3.10	3.11	0.02
4	6.43	6.95	6.69	0.37	2.93	3.00	2.96	0.05
6	6.43	6.95	6.69	0.37	2.81	2.85	2.83	0.02
8	6.43	6.95	6.69	0.37	2.65	2.60	2.63	0.04
10	6.43	6.95	6.69	0.37	0.00	0.00	0.00	0.00
15	6.43	6.95	6.69	0.37	0.00	0.00	0.00	0.00
20	6.43	6.95	6.69	0.37	0.00	0.00	0.00	0.00

