รายงานการวิจัย

# ผลของโอโซนต่อการยกระดับคุณภาพและยืดอายุการเก็บรักษา อาหารทะเลบรรจุสุญญากาศ

# Evaluationt of Ozone as a Disinfecting Agent to Enhance the Quality and the Shelf Life, Vacuum-Packed Seafood

นายพิชญ์ศักดิ์ จันทร์กุศล
นางสาวลัญจกร จันทร์อุดม

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

2558

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช
สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา

รายงานการวิจัย

# ผลของโอโซนต่อการยกระดับคุณภาพและยืดอายุการเก็บรักษาอาหารทะเลบรรจุสุญญากาศ

# Evaluationt of Ozone as a Disinfecting Agent to Enhance the Quality and the Shelf Life, Vacuum-Packed Seafood

นายพิชญ์ศักดิ์ จันทร์กุศล
นางสาวลัญจกร จันทร์อุดม

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

2558

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช
สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา

# กิตติกรรมประกาศ

รายงานการวิจัย เรือง ผลของโอโซนต่อการยกระดับคุณภาพและยืดอายุการเก็บรักษาอาหารทะเลบรรจุสุญญากาศ ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา และคณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ผู้อำนวยการ บุคลากรในสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช ที่ประสานและดูแลงบประมาณด้านการวิจัยสำหรับงานวิจัยในครั้งนี้ และคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช ที่สนับสนุนด้านการใช้เครื่องมืออุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการทำให้การทำวิจัยสำเร็จ

นายพิชญ์ศักดิ์ จันทร์กุศล
นางสาวลัญจกร จันทร์อุดม
ตุลาคม 2558

| | |
|---|---|
| **หัวข้อวิจัย** | ผลของโอโซนต่อการยกระดับคุณภาพและยืดอายุการเก็บรักษาอาหารทะเลบรรจุสุญญากาศ |
| **ผู้ดำเนินการวิจัย** | นายพิชญ์ศักดิ์ จันทร์กุศล และนางสาวลัญจกร จันทร์อุดม |
| **หน่วยงาน** | หลักสูตรฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี<br>มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช |
| **ปี พ.ศ.** | 2558 |

## บทคัดย่อ


บทความนี้นำเสนอวิธีการผลิตก๊าซโอโซนด้วยสนามไฟฟ้าแรงดันและความถี่สูง ความถี่ 2 กิโลเฮิร์ต แรงดันเอาต์พุต 6-16 กิโลโวลต์ เพื่อนำมาประยุกต์ใช้กับหลอดโอโซไนเซอร์ที่ใช้ในงานวิจัย ที่ประกอบด้วยขั้วไฟฟ้าชนิดทรงกระบอก ภายในหุ้มด้วยแก้วไพเร็กซ์ซึ่งทำหน้าที่เป็นสารไดอิเล็กตริก ช่องดิสชาร์จมีขนาด 0.0075 เมตร โดยให้ปริมาณโอโซน 19-85 มิลลิกรัม $O_3$/ลิตรของ $O_2$ ที่ความศักย์ไฟฟ้าในช่วง 6-8 กิโลโวลต์ โดยมีอัตราการไหลของก๊าซเป็น 2 ลิตรต่อนาที เป็นอัตราที่เหมาะสมในการผลิตโอโซน เนื่องจากเป็นอัตราการไหลที่ให้ปริมาณโอโซนมากที่สุด พบว่าปริมาณความเข้มข้นของโอโซนเป็นปฏิภาคโดยตรงกับความต่างศักย์ไฟฟ้า มีค่าความจุไฟฟ้าของหลอดผลิตโอโซนเท่ากับ 29.43 pF ที่ 6 กิโลโวลต์ ใช้พลังงาน 529.74 $\mu J$ เมื่อความต่างศักย์สูงการสิ้นเปลืองพลังงานก็จะสูงขึ้น และจะทำให้เกิดความเสียหายต่อขั้วไฟฟ้าของหลอดผลิตโอโซนได้ง่าย ส่งผลให้อายุการใช้งานของหลอดผลิตโอโซนสั้นลง

อาหารทะเลที่ได้จากพื้นที่ปากนคร ได้แก่ ปูดำ (*Scylla serrata)* กั้งตั๊กแตน (*Oratosquilla neap)* หอยแมลงภู่ (*Perna viridis)* และปลาดุกทะเล *(Plotosus lineatus)* ในตัวอย่างทั้ง 3 ชนิด มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด, ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรีย และปริมาณเชื้อ *E. coli* ในปริมาณสูงเกินเกณฑ์ มกอช. 9007-2548 ทั้งหมด ผลการลดเชื้อ *E. coli* ด้วยโอโซน เมื่อปริมาณเชื้อ *E. coli* เริ่มต้น 7 log CFU/g ที่ 6 กิโลโวลต์ ในช่วงเวลาสัมผัส 10-120 วินาที พบว่า การลดเชื้อ *E. coli* (Y) กับความต่างศักย์ ($X_1$) และเวลาสัมผัส ($X_2$) อยู่ในช่วง 1.36-3.36, 1.77-3.94 และ 1.86-3.87 log CFU/g โดยความสัมพันธ์ในรูปสมการถดถอยเชิงเส้นในแต่ละตัวอย่างเป็น $Y = 0.262X_1 + 0.959X_2$ ($R^2$=0.988), $Y = 0.273X_1 + 0.946X_2$ ($R^2$=0.985) และ $Y = 0.703X_1 + 0.679X_2$ ($R^2$=0.977) ตามลำดับ เมื่อบรรจุภัณฑ์อาหารทะเลในถุงพลาสติก Polyethylene (PE) แพ็คสุญญากาศ เก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส ด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม พบว่า การประเมินลักษณะปรากฏที่เปลี่ยนแปลงและปริมาณจุลินทรีย์ที่ระยะการเก็บรักษาทั้ง 3 ชนิด ไม่ผ่านเกณฑ์วันที่ 12 และผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส ซึ่งประเมินคุณภาพทางด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม ที่ผ่านการเก็บ 0 วัน ซึ่งเป็นชุดควบคุม มีคะแนนที่สูงกว่าตัวอย่างที่มีระยะยืดอายุการเก็บ 10 วัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) แต่ยังอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

**Research Title** Evaluationt of Ozone as a Disinfecting Agent to Enhance the Quality andthe Shelf Life, Vacuum-Packed Seafood
**Researcher** Pitchasak Chankuson and Lanchakon Chanudom
**Organization** Physics Faculty of Science and Technnology
RajabhatNakhon Si Thammarat University
**Academic Year** 2558

## ABSTRACT

In this research, a high-frequency high-voltage power supply designed for plasma generator is presented. The high frequency is approximately 2 kHz and the voltage output, measured using a spark gap and electrodes is approximately 6-16 kV. The type plasma ozonizer, "Cylindrical type" consist of two electrodes. The inner electrode is stainless steel, which is covered with Pyrex glass as the dielectric. The outer electrode is stainless steel. Discharge gap between electrode was fixed at 0.0075 m. Oxygen gas is flowed through the discharge gap between the two electrode and high voltage power supply is supplied for ozone production. Ozone concentration generated by this ozonizer is in ranges of 19-85 mg of ozone/liter of oxygen feed at 6-8 kV and optimum purified oxygen feed rate of 2 l/min. The result shows that the amount of ozone is proportional to the applied voltage.

In applying for seafood obtained from Pak Nakhon area that is *Scylla serrata*, *Perna viridis* and *Plotosus lineatus*. The efficiency of ozone water to reduce *E. coli* artificially contaminated on seafood was studied. The initial number of *E. coli* was 7 Log CFU/g in each sample. The samples were treated with ozone water, purified oxygen feed rate of 2 l/min, at varied voltages ($X_1$) and discharged times ($X_2$). The reduction of *E. coli* were reduced by 1.36-3.36, 1.77-3.94 and 1.86-3.87 log cfu/g, respectively. The relationships between the reduction *E. coli* $Y= 0.262X_1+0.959X_2$, $Y= 0.273X_1+0.946X_2$ and $Y= 0.703X_1+0.679X_2$ gave the correlation coefficients ($R^2$) of 0.988, 0.985 and 0.977, respectively. The regression equations could be used to predict the effectiveness of ozone water on the reduction of the target organisms. Treated samples by ozone vacuum packaging in polypropylene bags and storage at a temperature $4^{\circ}C$. Samples were analyzed at 2-day interval period up to 14 days and duplicate samples for each treatment. Treated samples were evaluated by sensory (color, odor, texture and overall acceptability) and bacterial examinations.

The result showed that pH values ranges between 7.38-9.38, 6.45-8.06, 5.88-7.87 while the total coliform count range was between $3.3\times10^{5}$-$3.0\times10^{7}$, $7.3\times10^{4}$-$8.8\times10^{7}$ and $7.2\times10^{4}$-1.1 CFU/g$\times10^{7}$ which increases with duration of storage. Sensory evaluation of the samples on storage with the best quality (color, odor, texture and overall acceptability) when freshly prepared. Ozone treatment were found to be better than untreated sample in microbial reduction and maintaining the sensory quality. Therefore, using of oxidizing agent for the storage of food processing can be recommended to improve the quality and extend the shelf life.The acceptability by sensory panel of barracuda sheet products were accepted at 10 days.

# สารบัญ


| | | หน้า |
|---|---|---|
| กิตติกรรมประกาศ | | (1) |
| บทคัดย่อภาษาไทย | | (2) |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ | | (3) |
| สารบัญ | | (5) |
| สารบัญตาราง | | (7) |
| สารบัญภาพ | | (8) |
| **บทที่ 1** | **บทนำ** | 1 |
| | ความเป็นมาและความสำคัญ | 1 |
| | วัตถุประสงค์ของการวิจัย | 2 |
| | ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ | 2 |
| | ขอบเขตการวิจัย | 2 |
| | นิยามศัพท์เฉพาะ | 3 |
| | ระยะเวลาการวิจัย | 3 |
| **บทที่ 2** | **แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง** | 4 |
| | พลาสมา | 4 |
| | โอโซน | 8 |
| | การดิสชาร์จไฟฟ้า | 11 |
| | การสร้างโอโซนโดยกระบวนการดิสชาร์จไฟฟ้า | 14 |
| | การประยุกต์ใช้งานโอโซน | 16 |
| | ปัจจัยที่มีผลต่อการละลายของก๊าซโอโซนในน้ำ | 17 |
| | การถนอมอาหาร | 18 |
| | กรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย | 22 |
| | การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง | 23 |
| **บทที่ 3** | **วิธีดำเนินการวิจัย** | 26 |
| | เครื่องมือและวัสดุ อุปกรณ์ | 26 |
| | ขั้นตอนและวิธีการวิจัย | 30 |

หน้า


**บทที่ 4 ผลการวิจัย และอภิปรายผล** 33

ผลการวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด โคลิฟอร์มแบคทีเรีย และ *E.coli* ในตัวอย่างอาหารทะเล 33

ผลการออกแบบ และทดสอบระบบขั้วอิเล็กโทรดสำหรับพลาสมาโอโซไนเซอร์ และการหาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตโอโซน 36

ผลการศึกษาประสิทธิภาพการลดเชื้อที่ปนเปื้อนบนอาหารทะเลด้วยการผ่านโอโซน 44

ผลต่อการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในสภาวะสุญญากาศ 48

**บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ** 53

สรุปผลการวิจัย 53

ข้อเสนอแนะ 54

**เอกสารอ้างอิง** 55

**ภาคผนวก** 58

ภาคผนวก ก การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ 59

ภาคผนวก ข ตาราง MPN Index 62

ภาคผนวก ค ข้อมูลการทำ multiple regression 67

ภาคผนวก ง การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส 74

ภาคผนวก จ รูปตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารทะเล 76

ภาคผนวก ฉ การใช้ประโยชน์จากการทำวิจัย 79

**ประวัติของผู้วิจัย** 81

# สารบัญตาราง


| ตารางที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 2.1 | แสดงกลไกการชนกันของแก๊ส | 6 |
| 2.2 | แสดงรายละเอียดเงื่อนไขและสภาวะของการเกิดดิสชาร์จไฟฟ้าแบบโครงสร้างโมเลกุลของก๊าซโอโซน | 13 |
| 2.3 | ความสามารถในการละลายของแก๊สโอโซนที่อุณหภูมิต่างๆ | 17 |
| 2.4 | ปริมาณวิตามินบี๑ในเนื้อหมูที่ยังคงเหลืออยู่เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 38 $^{O}$F | 20 |
| 4.1 | ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรีย และ *E. coli* ที่พบในตัวอย่างอาหารทะเลสด | 35 |
| 4.2 | การลดของปริมาณเชื้อ *E. coli* ในปูดำที่ความต่างศักย์ 6, 7 และ 8 กิโลโวลต์ กับเวลาที่สัมผัส 10, 30, 60 และ 120 วินาที | 44 |
| 4.3 | การลดของปริมาณเชื้อ *E. coli* ในหอยแมลงภู่ที่ความต่างศักย์ 6, 7 และ 8 กิโลโวลต์ กับเวลาที่สัมผัส 10, 30, 60 และ 120 วินาที | 45 |
| 4.4 | การลดของปริมาณเชื้อ *E. coli* ในปลาดุกทะเลที่ความต่างศักย์ 6, 7 และ 8 กิโลโวลต์ กับเวลาที่สัมผัส 10, 30, 60 และ 120 วินาที | 46 |
| 4.5 | การประเมินลักษณะปรากฏที่เปลี่ยนแปลงและปริมาณจุลินทรีย์ที่ระยะการเก็บรักษาถึง 14 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส | 49 |
| 4.6 | ค่าเฉลี่ยคะแนนทางประสาทสัมผัสในด้านกลิ่น สี เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม ของตัวอย่างอาหารทะเล | 50 |

# สารบัญภาพ


| ภาพที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 2.1 | วิธีต่างๆ ที่ทำให้เกิดอนุภาคที่มีประจุ | 5 |
| 2.2 | โครงสร้างโมเลกุลของก๊าซโอโซน | 10 |
| 2.3 | โครงสร้างระดับพลังงานศักย์ของออกซิเจน | 10 |
| 2.4 | ความสัมพันธ์ของฟิสิกส์พลาสมาดิสชาร์จและพลาสมาเคมีในการดิสชาร์จไฟฟ้า | 13 |
| 2.5 | ชนิดของจุลินทรีย์ที่เจริญได้ที่อุณหภูมิต่างๆ | 19 |
| 3.1 | เครื่อง Stomacher | 28 |
| 3.2 | เครื่องชั่งไฟฟ้า | 28 |
| 3.3 | หัววัดศักย์ไฟฟ้า | 29 |
| 3.4 | เครื่องบรรจุภัณฑ์สุญญากาศ | 29 |
| 4.1 | พื้นที่ที่ทำการศึกษา | 34 |
| 4.2 | ตัวอย่างอาหารทะเลที่นำมาศึกษา | 35 |
| 4.3 | วงจรแหล่งจ่ายไฟฟ้า | 36 |
| 4.4 | โอโซไนเซอร์ที่ใช้ในการผลิตโอโซนในงานวิจัย | 38 |
| 4.5 | กราฟมาตรฐานการดูดกลืนแสงต่อปริมาณโอโซนที่ความเข้มข้นต่างๆ | 39 |
| 4.6 | ปริมาณโอโซนที่อัตราการไหลของก๊าซออกซิเจน 1, 2, 3 และ 4 ลิตรต่อนาที ที่ความต่างศักย์ไฟฟ้าในช่วง 6, 7 และ 8 กิโลโวลต์ | 40 |
| 4.7 | ปริมาณโอโซนที่ความต่างศักย์ไฟฟ้า 6, 7 และ 8 กิโลโวลต์ที่อัตราการไหลของก๊าซออกซิเจน 2 ลิตรต่อนาที ที่เวลาดิสชาร์จใน 1, 2, 3 และ 4 นาที | 42 |
| 4.8 | การลดของปริมาณเชื้อ *E. coli* ในปูดำกับเวลาสัมผัส 10, 30, 60 และ 120 วินาที ที่ความต่างศักย์ 6, 7 และ 8 กิโลโวลต์ | 44 |
| 4.9 | การลดของปริมาณเชื้อ *E. coli* ในหอยแมลงภู่กับเวลาสัมผัส 10, 30, 60 และ 120 วินาที ที่ความต่างศักย์ 6, 7 และ 8 กิโลโวลต์ | 45 |
| 4.10 | การลดของปริมาณเชื้อ *E. coli* ในปลาดุกทะเลกับเวลาสัมผัส 10, 30, 60 และ 120 วินาที ที่ความต่างศักย์ 6, 7 และ 8 กิโลโวลต์ | 46 |

# บทที่ 1
# บทนำ

## ความเป็นมาและความสำคัญ

สภาพพื้นที่ส่วนใหญ่ของเทศบาลตำบลปากนคร เป็นพื้นที่ราบลุ่มและป่าชายเลน มีคลองปากนครกั้นกลาง ระหว่างหมู่ที่ 1 ตำบลปากนคร กับหมู่ที่ 4 ตำบลท่าไร่ มีคลองเล็กๆ ระบายน้ำลงสู่คลองปากนครอีกหลายสาย และพื้นที่บางส่วนติดกับทะเลอ่าวไทย ประชาชนส่วนใหญ่จะประกอบอาชีพเกษตรกรรมอยู่บริเวณรอบนอกชุมชน คือการทำประมงชายฝั่ง และการทำนากุ้ง ในพื้นที่มีอุตสาหกรรมขนาดย่อมซึ่งในปัจจุบันมีจำนวน 3 แห่ง ได้แก่ โรงงานปลาป่น จำนวน 2 แห่ง โรงงานน้ำปลา จำนวน 1 แห่ง แพปลา จำนวน 11 แห่ง รายได้ส่วนใหญ่ของราษฎรในเขตเทศบาลตำบลปากนคร ร้อยละ 90 ได้มาจากการประกอบอาชีพประมง เลี้ยงกุ้ง เลี้ยงปลา โดยมีอุตสาหกรรมขนาดย่อมซึ่งเป็นอุตสาหกรรมต่อเนื่องจากการทำประมง ได้แก่ การทำปลาป่น ทำน้ำปลา ทำกุ้งแห้ง

เทศบาลตำบลปากนครจึงมีนโยบายการบริหาร โดยมีแผนและหลักการพัฒนาการเกษตร การประมง แบบยั่งยืนอย่างครบวงจร รวมทั้งการศึกษาวิจัย และเพิ่มความรู้ทักษะให้แก่เกษตรกร ส่งเสริมให้เป็นแหล่งสำหรับขายอาหารทะเลทั้งด้านอาหารทะเลสด อาหารทะเลแปรรูป ให้เป็นจุดศูนย์กลางของภาคใต้และภูมิภาค ต่อเนื่องถึงการส่งออก เพื่อให้ชาวประมงมีรายได้เพิ่มขึ้น และมีความมั่นคงทางด้านการประมง (แผนยุทธศาสตร์การพัฒนาเทศบาลตำบลปากนคร พ.ศ.2554-2559)

การแปรรูปอาหารทะเลเป็นสิ่งหนึ่งที่มีพบเห็นโดยทั่วไปสำหรับพื้นที่การประมง ในตำบลปากนคร ส่วนใหญ่จะใช้การตากแห้ง และการแช่แข็งเป็นหลัก ทำให้สามารถเก็บรักษาอาหารไว้ได้ระยะหนึ่งด้วย ผลิตภัณฑ์อาหารทะเลแช่แข็งสามารถรักษาสี กลิ่น รส และคุณค่าทางอาหารอย่างมีประสิทธิภาพ แต่จะสามารถรักษาเนื้อสัมผัสได้ปานกลางเท่านั้น โดยจะถูกจัดเก็บและขนส่งที่อุณหภูมิต่ำกว่า -1 8 องศาเซลเซียเนื่องจากที่อุณหภูมินี้เป็นอุณหภูมิที่ทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถดำเนินปฏิกิริยาทางชีวเคมีได้ ทำให้จุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุทำให้อาหารเน่าเสียเหล่านี้ชะงักการเติบโต และหยุดกระบวนการเมทตาบอลิซึมลงทำให้อาหารยังคงรักษาสภาพไว้ได้ รวมถึงตั้งแต่ขั้นตอนการจับเพื่อล้างสิ่งสกปรกและลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ติดมา โดยทั่วไปนอกจากจะใช้น้ำที่มีอุณหภูมิต่ำแล้ว ยังมีการเติมสารเคมีที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียในน้ำโดยนิยมใช้สารประกอบคลอรีนมากที่สุด แต่การใช้สารประกอบคลอรีนอาจประสบปัญหาเนื่องจากน้ำที่ใช้มีสารแขวนลอยหรือสารประกอบอินทรีย์ ทำให้คลอรีนเสียคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อ ในขณะเดียวกันคลอรีนมีคุณสมบัติในการกัดกร่อน ระคายเคืองผิว และอาจเป็นสารก่อมะเร็ง ดังนั้นแนวทางอย่างหนึ่งที่จะชะลอการเจริญของจุลินทรีย์และลดการเปลี่ยน แปลงด้านคุณภาพ จึงหาวิธีการในการปรับปรุงคุณภาพและยืดอายุการเก็บรักษา โดยการใช้โอโซนในการแช่วัตถุดิบเพื่อลดปริมาณจุลินทรีย์ โดยเทคโนโลยีดังกล่าวสามารถนำมาใช้ในยกระดับคุณภาพอาหารและยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหารได้ การศึกษาการเก็บรักษาอาหารทะเลในงานวิจัยนี้จะศึกษาการเก็บรักษาอาหารทะเลในสภาวะสุญญากาศ

โอโซนเป็นก๊าซที่มีคุณสมบัติเป็นตัวออกซิไดซ์ที่รุนแรงกว่าคลอรีน 1.5 เท่าจึงมีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อที่ก่อโรคในอาหารและผักและผลไม้ได้ดีกว่าคลอรีนและสารฆ่าเชื้อตัวอื่น ไม่ก่อ

ปัญหาสารเคมีตกค้าง เนื่องจากโอโซนสามารถสลายตัวเป็นออกซิเจนได้อย่างอัตโนมัติเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ในปี คศ. 1997 สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (USFDA) ได้ประกาศให้โอโซนเป็นสารที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารได้อย่างปลอดภัย (GRAS; Generally Recognized As Safe) (Guzel-Seydim et al., 2004)

จากสาเหตุสำคัญต่างๆ ดังกล่าวข้างต้น การศึกษาวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อสร้างระบบพลาสมาโอโซไนเซอร์ เพื่อใช้สำหรับการบรรจุอาหารทะเลในพื้นที่บ้านปากนคร จังหวัดนครศรีธรรมราช และศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อผลผลิตโอโซน เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาอาหารทะเล

**วัตถุประสงค์ของการวิจัย**

1. ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อผลผลิตโอโซน เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาอาหารทะเล
2. พัฒนาการบรรจุภัณฑ์อาหารทะเลที่คงความสด และยืดอายุการเก็บรักษา

**ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ**

1. ข้อมูลสภาวะที่เหมาะสมของการใช้โอโซนสำหรับการบรรจุอาหารทะเล
2. ผลิตภัณฑ์อาหารทะเลที่สามารถเก็บรักษาได้นานและไม่เสียรสชาติของอาหาร

**ขอบเขตของการวิจัย**

ในการวิจัยครั้งนี้ได้กำหนดให้มีขอบเขตของการวิจัย เพื่อใช้ตอบสนองวัตถุประสงค์ของการวิจัย ดังนี้

1. การวิจัยครั้งนี้ วิจัย ณ สาขาวิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช
2. ใช้ตัวอย่างอาหารทะเลจากพื้นที่บ้านปากนคร อ.เมือง จ.นครศรีธรรมราช
3. ระบบพลาสมาโอโซไนเซอร์ ประกอบด้วยหน่วยต่างๆ คือ เซลล์พลาสมาโอโซไนเซอร์ แหล่งจ่ายพลังงาน และส่วนการเตรียมอากาศ
4. ปัจจัยที่มีผลต่อผลผลิตโอโซน ผลของโอโซนต่อกำหนดค่าพารามิเตอร์ที่เหมาะสมสำหรับการนำไปใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารทะเล

**นิยามศัพท์เฉพาะ**

เพื่อความเข้าใจศัพท์เฉพาะที่ใช้ในการวิจัย ผู้วิจัยจึงนิยามความหมายไว้ ดังนี้

ระบบพลาสมาโอโซไนเซอร์ หมายถึง ระบบที่ใช้ในการผลิตโอโซนประกอบด้วยหน่วยต่างๆ คือ เซลล์พลาสมาโอโซไนเซอร์ แหล่งจ่ายพลังงาน และส่วนการเตรียมอากาศ โดยเซลล์พลาสมาโอโซไนเซอร์จะมีการออกแบบเพื่อใช้กับลักษณะของการนำไปประยุกต์ใช้งาน ส่วนของแหล่งจ่ายพลังงานที่ใช้ศึกษาจะได้จากไฟฟ้ากระแสสลับที่มีความถี่สูง

**ระยะเวลาการวิจัย**

ตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ 2557 ถึง เดือนธันวาคม 2558

# บทที่ 2
# เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การวิจัย เรื่อง ผลของโอโซนต่อการยกระดับคุณภาพและยืดอายุการเก็บรักษาอาหารทะเลบรรจุสุญญากาศได้ศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่ใช้เพื่อออกแบบและวางแผนการวิจัยตามหัวข้อของเอกสารและงานวิจัยดังต่อไปนี้

1. พลาสมา
2. โอโซน
3. การดิสชาร์จไฟฟ้า การสร้างโอโซนโดยกระบวนการดิสชาร์จไฟฟ้า
4. การประยุกต์ใช้งานโอโซน
5. การถนอมอาหาร
6. ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

**พลาสมา**

พลาสมาในสถานะแก๊ส (gaseous plasma) จะประกอบด้วยประจุ อิเล็กตรอน และอนุภาคอิสระ ซึ่งสามารถกระตุ้นให้สารต่างๆ เกิดปฏิกิริยาได้ง่ายขึ้น

**1. คุณสมบัติพื้นฐานของพลาสมา**

พลาสมาเป็นส่วนผสมของแก๊สที่มีทั้งอนุภาคที่มีค่าประจุเป็นลบ บวก และกลาง อนุภาคที่เป็นบวกคือ cations แต่อนุภาคที่เป็นลบอาจเป็นได้ทั้ง anions และอิเล็กตรอน ส่วนอนุภาคที่มีค่าประจุเป็นกลางอาจเป็นส่วนผสมของอนุภาคอิสระหรือแก๊สที่อยู่ในสภาวะปกติต่างๆ คุณสมบัติสำคัญของพลาสมา คือ

1.1 คุณสมบัติ Quasi-Neutral ความหนาแน่นทั้งหมดของอนุภาคที่มีค่าประจุเป็นลบจะต้องเท่ากับความหนาแน่นทั้งหมดของอนุภาคที่มีค่าประจุเป็นบวก

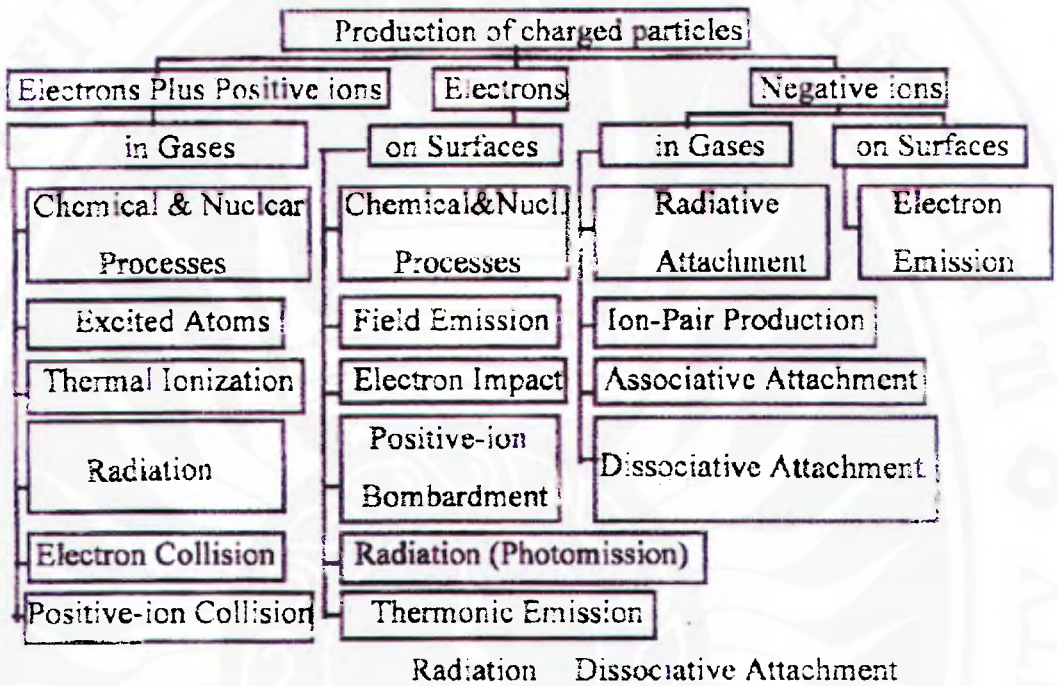
1.2 อันตรกิริยาด้วยสนามแม่เหล็กไฟฟ้า พลาสมาสามารถมีอันตรกิริยาภายใต้สภาวะสนามแม่เหล็กไฟฟ้าได้เนื่องจากพลาสมาประกอบไปด้วยอนุภาคที่มีประจุ

โดยทั่วไปพลาสมาสามารถเกิดขึ้นได้ทุกสภาวะ พลาสมาที่อยู่ในสภาวะของแข็งจะถูกเรียกว่า solid-state plasma ในขณะที่พลาสมาที่เกิดขึ้นในของเหลวและแก๊สจะไม่มีชื่อเรียกเฉพาะ พลาสมาไม่เหมือนแก๊สโดยทั่วไป กล่าวคือ พลาสมาจะมีลักษณะแตกต่างไปขึ้นกับความดัน ความหนาแน่นของประจุ ปริมาตร อุณหภูมิ เป็นต้น

**2. การเกิดพลาสมา**

การทำให้เกิดพลาสมาอาจทำได้หลายวิธี เช่น การชนกันระหว่างรังสีคอสมิกกับแก๊สที่ความดันบรรยากาศ ซึ่งทำให้เกิดอิเล็กตรอนมากมายในโมเลกุลของแก๊ส และทำให้เกิดอนุภาคที่มีประจุ กระบวนการที่ดึงอิเล็กตรอนออกจากอนุภาคของแก๊ส ทำให้เกิดประจุบวก เรียกว่า ionization กระบวนการดึงอิเล็กตรอนออกจากอนุภาคของของแข็งเรียกว่า electron emission กระบวนการทั้ง

สองกระบวนการนี้มีความสำคัญพอๆกัน ในการทำให้เกิดพลาสมา อิเล็กตรอนและประจุที่เกิดขึ้นในวัฐภาคแก๊สจะถูกกระตุ้นด้วยคลื่นสนามแม่เหล็กไฟฟ้า ทำให้เกิดการชนกับผิวของของแข็งและได้อิเล็กตรอนตัวอื่นๆ หลุดออกมา ในเวลาเดียวกัน อิเล็กตรอนพวกนี้ก็สามารถชนกับโมเลกุลของแก๊สตัวอื่นทำให้เกิด ionization ได้ วิธีการอื่นๆ ที่ใช้สำหรับสร้างอนุภาคที่มีประจุสามารถแบ่งได้ดังแสดงในภาพที่ 2.1




**ภาพที่ 2.1** แสดงวิธีต่างๆ ที่ทำให้เกิดอนุภาคที่มีประจุ (Nasser,1971)

จากภาพที 2.1 พบว่าประจุลบสามารถเกิดขึ้นได้จากอิเล็กตรอนอิสระที่รวมตัวกันเป็นกลาง (neutral atom or molecules) แก๊สที่ประกอบด้วยอิเล็กตรอน 1-2 ตัว จะมีช่องว่างในวงอิเล็กตรอนชั้นนอกสุด ซึ่งง่ายในการชนกับอิเล็กตรอนอีกตัว เพื่อเติมลงไปในช่องว่างนั้น และทำให้เกิดประจุลบขึ้น แก๊สพวกนี้ เช่น ออกซิเจน

พลาสมาสามารถเกิดขึ้นได้จากการชนกันระหว่างโมเลกุลของแก๊สที่เป็นกลาง(เช่นแก๊สมีเธน) และอิเล็กตรอนที่ปล่อยมาจากผิวของขั้วโลหะ (metal electrode) เนื่องจากสนามไฟฟ้า กระบวนการนี้เรียกกันทั่วไปว่า field emission process อิเล็กตรอนที่หลุดออกจาผิวของขั้วโลหะจะถูกเร่งให้เคลื่อนที่ทันทีในทิศทางของสนามไฟฟ้า และสามารถชนกับอนุภาคที่เป็นกลางเกิดเป็น ionized gases และอิเล็กตรอนจะเพิ่มขึ้น ด้วยเหตุนี้ อิเล็กตรอนจำนวนมาก อนุภาคแก๊สที่มีประจุและอนุภาคอิสระ จะทำให้เกิดพลาสมาขึ้นได้ภายในช่วงเวลาสั้นๆ หลังจากเริ่มมีสนามไฟฟ้า ปฏิกิริยาอื่นที่สามารถเกิดได้ภายใต้สภาวะพลาสมานี้ ทั้งปฏิกิริยาการรวมตัวเป็นผลิตภัณฑ์ และปฏิกิริยาการแตกตัวเป็นอนุภาคต่างๆ แสดงได้ดังตารางที่ 2.1

**ตารางที่ 2.1** แสดงกลไกการชนกันของก๊าซ (Nasser,1971)

| การชน | ปฏิกิริยา |
|---|---|
| Elastic Collision | $e + O_2 \rightarrow e + O_2$ |
| Excitation | $e + O_2 \rightarrow e + O_2(a^1\Delta)$<br>$e + O_2 \rightarrow e + O_2(b^1\Sigma)$ |
| Ionization | $e + O_2 \rightarrow 2e + O_2^+$ |
| Attachment | $e + O_2 \rightarrow O_2^-$ |
| Dissociative Attachment | $e + O_2 \rightarrow O^- + O$ |
| Recombination | $O^- + O_2^+ \rightarrow O + O_2$ |
| Detachment | $O_2^- + O_2^* \rightarrow e + 2O_2$ |
| Ion Recombination | $O_2^- + O_2^+ \rightarrow 2O_2$ |
| Charge Transfer | $O^+ + O_2 \rightarrow O + O_2^+$ |
| Electronic Decomposition | $e + O_2 \rightarrow 2e + O^+ + O$<br>$e + O_3 \rightarrow e + O + O_2$ |
| Atomic Decomposition | $O + 2O_2 \rightarrow O_3 + O_2$ |

ขั้นตอนต่างๆ ของ field emission process ได้แก่ การชนกันระหว่างอนุภาคด้วยกันเอง และการชนกันระหว่างอนุภาคกับผิวของขั้วโลหะหรืออิเล็กตรอน รวมเรียกว่าปรากฏการณ์ประจุไฟฟ้า (electric discharge phenomena) ซึ่งเป็นหลักการพื้นฐานของงานวิจัยนี้

พลาสมาที่เกิดจากปรากฏการณ์นี้แบ่งได้เป็น 2 ชนิด ชนิดแรกคือ thermal plasma ซึ่งจะเกิดขึ้นในสภาวะที่อุณหภูมิของแก๊สสูงพอๆ กับอุณหภูมิของอิเล็กตรอน อาจเรียกได้ว่า พลาสมาสมดุล (equilibrium plasma) อีกชนิดหนึ่งคือ non-thermal plasma ซึ่งจะเกิดขึ้นในสภาวะที่อุณหภูมิของแก๊สต่ำแต่อุณหภูมิของอิเล็กตรอนสูง อาจเรียกได้ว่า พลาสมาชนิดไม่สมดุล (non-equilibrium plasma) อิเล็กตรอนจะมีพลังงานอยู่ในช่วง 1-10 eV ซึ่งสามารถมีอุณหภูมิได้สูงถึง 10,000 – 100,000 องศาเคลวิน (Rosache,1993)

**3. ชนิดของพลาสมาชนิดไม่สมดุล**

**3.1 Radio frequency discharge**

คลื่นความถี่สูงนี้ใช้ผลิตพลาสมาสำหรับการวัดการปลดปล่อยของแสงที่มองเห็นได้ ขั้วไฟฟ้าจะอยู่ภายนอกของส่วนที่จะเกิดพลาสมา เพื่อป้องกันการกัดกร่อนและการปะปนของพลาสมา สนามไฟฟ้าที่เกิดขึ้นจะมีความยาวคลื่นสูงมากกว่าขนาดของหลอดทดลอง ทำให้พลาสมาที่เกิดขึ้นเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneous plasma) เทคนิคนี้จะใช้ได้ดีที่ความดันต่ำ และบางครั้งสามารถใช้ได้ที่ความดันบรรยากาศในการทำพลาสมาสมดุล

**3.2 Microwave discharge**

เทคนิคนี้ใช้คลื่นไมโครเวฟความถี่ประมาณ 0.3 – 10 GHz ผ่านลงไปในหลอดทดลองโดยตรง โดยใช้ส่วนประกอบที่เรียกว่า resonant cavity มีการทดลองเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงของมีเธน โดยตรงภายใต้อิทธิพลของเทคนิคนี้โดย Zerger และคณะ (1992)

**3.3 Glow discharge**

พลาสมาชนิดนี้เกิดที่ความดันต่ำประมาณ 1-10 มิลลิบาร์ ระหว่างแผ่นขั้วอิเล็กตรดซึ่งเคลือบอยู่ในหลอดทดลอง สามารถใช้เทคนิคนี้ได้กับไฟฟ้ากระแสตรง และไฟฟ้ากระแสสลับที่ความถี่ต่ำ เทคนิคนี้พบเห็นโดยทั่วไปในอุตสาหกรรมผลิตหลอกฟลูออเรสเซนต์ และหลอดนีออน แต่ไม่เหมาะสมกับอุตสาหกรรมผลิตสารเคมี

**3.4 Corona discharge**

สืบเนื่องจากเทคนิค glow discharge เมื่อทำที่ความดันสูงขึ้น พลาสมาจะไม่เสถียร และกลายเป็นประจุไฟฟ้าแรงสูงซึ่งยากที่จะควบคุม การใช้ขั้วโลหะ 2 แผ่น หรือ2 ชุด วางในตำแหน่งตรงกันข้ามกัน เป็นวิธีหนึ่งที่ช่วยทำให้พลาสมาในความดันสูงๆ มีความเสถียรขึ้น วิธีนี้คือ corona discharge ลักษณะของพลาสมาจะแตกต่างตามชนิดของขั้ว แต่เนื่องจากส่วนเกิดปฏิกิริยารอบๆตัวขั้วมีขนาดเล็กมาก ทำให้เทคนิคนี้ไม่เหมาะสมสำหรับผลิตสารเคมีที่เป็นแก๊สจำนวนมากในอุตสาหกรรม แต่อย่างไรก็ตามเทคนิคนี้สามารถนำไปใช้ในการตกตะกอนโดยใช้ไฟฟ้าได้

**3.5 Dielectric barrier discharge**

หลักการคือ ประจุไฟฟ้าจะเกิดในช่องว่างสำหรับทำปฏิกิริยาซึ่งอยู่ระหว่างแผ่นขั้วโลหะที่สมมาตรกัน 2 แผ่น หรืออาจเป็นช่องว่างวงแหวนซึ่งอยู่ระหว่างขั้วทรงกระบอก 2 ขนาดซ้อนกัน ขั้วแผ่นโลหะทั้ง 2 แผ่นหรือแผ่นใดแผ่นหนึ่งจะมี dielectric layer คลุมอยู่ ซึ่งโดยปกติมักใช้กระจกแก้วใส เทคนิคนี้อาจรู้จักกันในชื่อ silent electric discharge ซึ่งมีงานทดลองมากมายเกี่ยวกับพลาสมาแบบนี้ในการทำปฏิกิริยาเคมี (Nasser,1971) เทคนิคนี้สามารถใช้ได้ทั้งที่ความดันบรรยากาศและที่ความดันไม่สูงมากนัก โดยใช้ความต่างศักย์ไฟฟ้าสูงที่ความถี่ 50 หรือ 60 Hz พลาสมาจะถูกผลิตออกมามากมายในในสภาวะแก๊ส และถูกเรียกว่า micro discharge ซึ่งกระจายอยู่ทั่วช่องว่างระหว่างขั้วนั้น

การแตกตัวเป็นประจุของแก๊สจะเกิดขึ้น (ionization) ประจุจะเคลื่อนย้ายและสะสมอยู่ที่ผิวของกระจกแก้วซึ่งจะทำให้เกิดสนามไฟฟ้า ซึ่งมีทิศตรงกันข้ามกับสนามไฟฟ้าขาเข้า ไม่กี่วินาทีสนามไฟฟ้าทั้งสองจะเกิดการสมดุลกันและหักล้างกันไป และเมื่อเพิ่มความต่างศักย์ให้สูงขึ้น micro discharge จะเกิดขึ้นมาใหม่อีกครั้งทันทีที่สนามไฟฟ้าพอเหมาะในช่องว่างนั้น

โดยสรุปแล้ว ไดอิเล็กตริก มีหน้าที่ 2 ประการคือ จำกัดการเคลื่อนย้ายของประจุไปยังขั้วไม่ให้มากจนเกินไป ซึ่งเป็นการป้องกันการลัดวงจร อีกประการคือช่วยกระจาย ไมโครดิสชาร์จ ให้ทั่วช่องว่างระหว่างขั้วนั้น เพื่อให้อิเล็กตรอนมีโอกาสสัมผัสกับอนุภาคของแก๊สให้ได้มากที่สุด เทคนิคนี้ใช้ในอุตสาหกรรมผลิตโอโซน และกำจัดสารพิษพวก $NO_x$ และ $SO_x$ ออกจากแก๊สจากการเผาไหม้ เป็นต้น

**โอโซน**

ประวัติการค้นพบโอโซน ปี ค.ศ.1785 เป็นเวลา 11 ปีหลังจากมีการค้นพบออกซิเจนโดย J. Priestly, M. van Marum ได้สังเกตุพบกลิ่นลักษณะพิเศษเมื่ออยู่ใกล้เครื่องยนต์ทางไฟฟ้าที่กำลังเคลื่อนที่แต่ในขณะนั้นยังไม่ทราบว่าเป็นโอโซน และไม่ทราบว่ากลิ่นนี้เกิดจากอะไร จนกระทั่งในปี ค.ศ.1840 C.F.Schobien ได้สังเกตพบกลิ่นเฉพาะนี้จากการแยกสารละลายด้วยไฟฟ้า และการสปาร์คทางไฟฟ้า แล้วได้ตั้งชื่อว่า "Ozone" หมายถึง การได้กลิ่น โอโซนเป็นก๊าซที่สามารถแสดงได้ด้วยสูตรโครงสร้างทางเคมี คือ $O_3$

ต่อมา Werner von Siemens ได้แสดงให้เห็นว่าโอโซนสามารถผลิตได้โดยการใช้ออกซิเจนไหลผ่านช่องว่างในการดิสชาร์จระหว่างแก้วทรงกระบอก 2 ชั้น การปลดปล่อยไฟฟ้าศักย์ไฟฟ้าแรงสูงกระแสสลับอย่างสม่ำเสมอผ่านผนังแก้วซึ่งเขาได้อ้างว่าเป็น "การแยกก๊าซด้วยไฟฟ้า" อุปกรณ์นี้ได้เป็นที่เชื่อถือ และยอมรับในการผลิตโอโซนปริมาณที่เพียงพอสำหรับการศึกษาในห้องปฏิบัติการที่เรียกว่า "การดิสชาร์จแบบไซเรนท์"

ก๊าซโอโซน เป็น โมเลกุลกึ่งเสถียรที่เกิดจากองค์ประกอบของออกซิเจนหรือเรียกว่า allotropic form ของออกซิเจน ปฏิกิริยาของการทำให้เกิดโอโซนสามารถอธิบายด้วยปฏิกิริยาดูดความร้อน (Endothermic reaction) ดังสมการ

$$3O_2 \leftrightarrow 2O_3 \quad (\Delta H^\circ \text{ ที่ 1 atm , +284.5 kJ/mol})$$

และมีเอนโทรปี ($\Delta S^\circ$ ที่ 1 atm , -69.9 (J/mol)/degree ซึ่งจะเห็นได้ว่าก๊าซโอโซนไม่สามารถเกิดจากกระบวนการกระตุ้นออกซิเจนด้วยความร้อน ทั้งนี้เนื่องมาจากค่าพลังงานอิสระของกิบส์ ($\Delta G^\circ$ ที่ 1 atm , +161.3 kJ/mol) เป็นบวก ดังนั้นพลังงานความร้อนจะทำให้โอโซนสลายตัวได้และกระบวนการผลิตโอโซนในอุตสาหกรรม การออกแบบระบบผลิตโอโซนจึงจำเป็นต้องคำนึงถึงเรื่องอุณหภูมิในขณะทำงานของอุปกรณ์โอโซไนเซอร์เป็นสำคัญ

ก๊าซโอโซนสามารถละลายในออกซิเจนเหลวได้ถึง 30% โดยน้ำหนักและสามารถเกิดจากการระเบิดได้เองเมื่อมีปริมาณมากกว่า 72% โดยน้ำหนักของโอโซนที่ละลายในออกซิเจนเหลว เนื่องจากก๊าซโอโซนมีแนวโน้มที่จะสลายตัว หรือรวมตัวกันระหว่างการระเหยในบรรยากาศของออกซิเจน จึงยากที่จะเก็บสะสมในปริมาณมากและความเข้มข้นสูงๆ ดังนั้นในกระบวนการผลิตก๊าซโอโซนจึงต้องผลิต ณ ที่ต้องการใช้งาน จึงให้ความปลอดภัยและคุ้มค่าการลงทุนสูงสุด

เนื่องจากก๊าซโอโซนมีค่า electronegative oxidation potential มากกว่าฟลูออรีน ก๊าซโอโซนจึงเป็นตัวออกซิไดซ์ที่รุนแรง และทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นได้หลายวิธี โดยเฉพาะสามารถทำปฏิกิริยาได้ดีกับสารประกอบอินทรีย์ประเภทยังไม่อิ่มตัว ซึ่งจะให้สารประกอบโอโซไนด์ เช่น

ethylene ethylene ozonide

การผลิตโอโซนต้องเกี่ยวข้องกับอนุพันธ์ของอะตอมออกซิเจนซึ่งสามารถเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลของออกซิเจน เริ่มจากอะตอมของออกซิเจนต้องใช้พลังงาน 493.3 kJ/mol สำหรับการแตกตัว และเป็นอนุพันธ์ $O(^3P)$ และ 682.8 kJ/mol สำหรับอนุพันธ์ $O(^1D)$

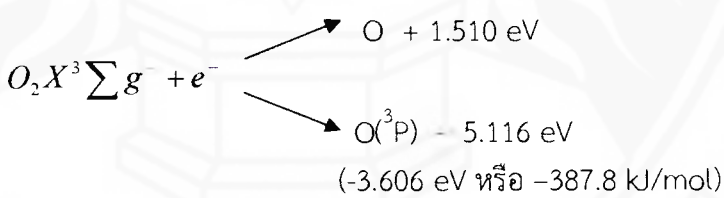
ปฏิกิริยาที่เกิดสำหรับโอโซนคือ

$$O(^3P) + O_2 X^3\textstyle\sum g^- + M = O_3$$

และ

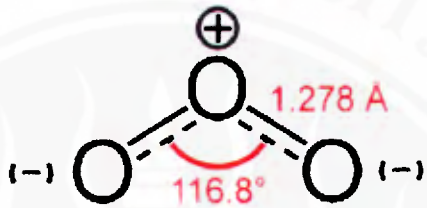
$$O(^3D) + O_2 X^3\textstyle\sum g^- + M = O_3$$

กระบวนการทั้งหมดที่สามารถทำให้โมเลกุลของออกซิเจนแตกตัวเป็นอนุพันธ์ออกซิเจนคือปฏิกิริยาการเกิดก๊าซโอโซน แหล่งพลังงานที่ทำให้เกิดการแตกตัวคือ อนุภาคอิเล็กตรอนหรือพลังงานโฟตอนควอนตัม อิเล็กตรอนสามารถใช้จากแหล่งกำเนิดไฟฟ้าแรงสูงในโคโรน่าดิสชาร์จแบบไซญเลนท์ ปฏิกิริยานิวเคลียร์ และจากกระบวนการอิเล็กโตรไลติก (Electrolytic processes) ซึ่งพลังงานโฟตอนควอนตัมที่เหมาะสมจะรวมถึง รังสีอัลตราไวโอเลตที่มีความยาวคลื่นต่ำกว่า 200 นาโนเมตร และรังสีแกมมา การกระตุ้นอิเล็กตรอนของออกซิเจนจะทำให้เกิดอะตอมเดี่ยวของออกซิเจนไอออน ($O^-$) ดังสมการ



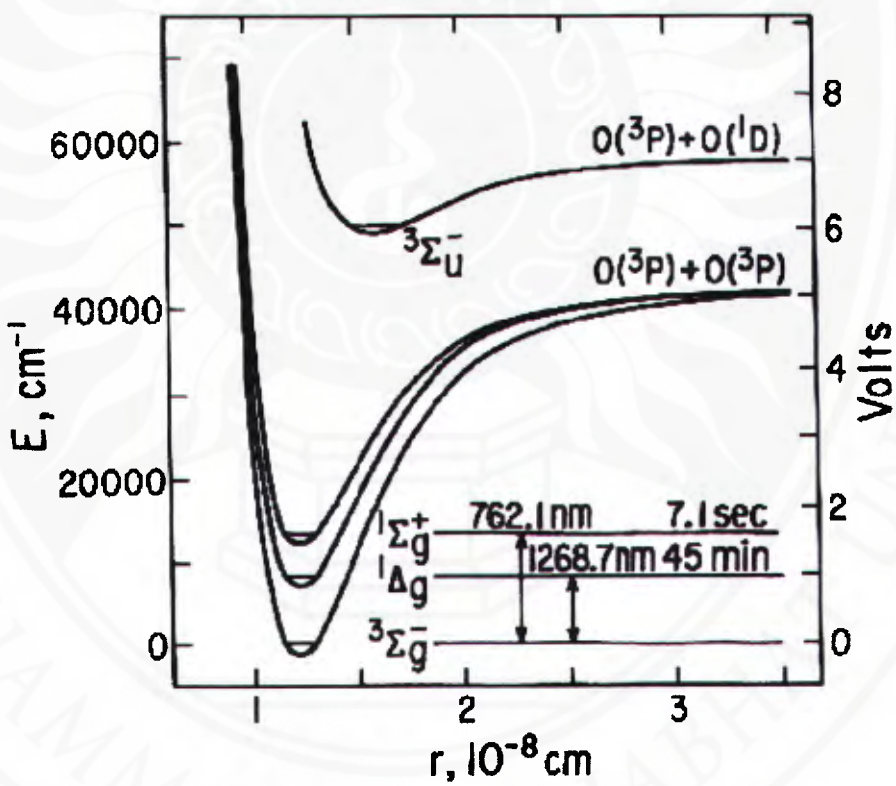

ในการศึกษาสเปกตรัมช่วงคลื่นไมโครเวฟของโมเลกุลโอโซนแสดงให้เห็นว่าโอโซนไม่ได้เป็น nonparamagnetic โดยมีมุมป้านเป็น 116° 49' ความยาวพันธะระหว่างอะตอมออกซิเจนกับอะตอมออกซิเจนเท่ากับ 1.278 A และมีไดโพลโมเมนต์ต่ำมากคือ 0.49 + 0.58 ดีบายด์ ซึ่งสามารถอธิบายในรูปของ resonance hybrid ดังภาพประกอบ 2.2 การจัดเรียงตัวของอิเล็กตรอนในแต่ละอะตอมออกซิเจนเป็น $sp^2$ ที่ $sp^2$ orbital มีอิเล็กตรอนบรรจุอยู่เต็ม ดังนั้นจึงเกิดเป็นพันธะขึ้น

หรือไม่มีการใช้อิเล็กตรอนร่วมระหว่างอะตอมเกิดขึ้น และการซ้อนทับของ p orbitals จะให้ $\pi$ molecular orbitals ซึ่งทำให้เกิด $4\pi$ อิเล็กตรอนขึ้น




**ภาพที่ 2.2** โครงสร้างโมเลกุลของก๊าซโอโซน

ลักษณะโมเลกุลของโอโซนเหล่านี้แสดงสมบัติเหมือน 1,3diploe , electrophile หรือ nucleophile โดยไม่แสดงคุณสมบัติเป็นแบบหมู่ธาตุที่ทำปฏิกิริยาทั้งหมู่เหมือนกับเป็นอะตอมของธาตุเดียว ทั้งนี้เนื่องจากโอโซนเป็น diamagnetic หรือสลายตัวเป็นโมเลกุล และอะตอมของออกซิเจน




**ภาพที่ 2.3** โครงสร้างระดับพลังงานศักย์ของออกซิเจน (Eliasson และ Kogelschatz, 1991)

นอกจากนี้ไอออนของออกซิเจนที่เป็นแบบอะตอมเดี่ยว ($O^-$) สามารถทำปฏิกิริยาสลายก๊าซโอโซนได้ ดังสมการ

$$O_3(^1\ddot{A}) + O^- \rightarrow O_2(X^3\Sigma g^-) + O_2^-$$

( +2.98 eV หรือ +287.4 kJ/mol)

อนุพันธ์ของออกซิเจนสามารถรวมตัวกันเกิดเป็นออกซิเจน ($O_2$)ดังสมการ

$$O(^3P) + O(^3P) + M \rightarrow O_2(X^3\Sigma g^-) + M$$

( +5.1 eV หรือ +491.6 kJ/mol)

ผลที่ตามมาก็คือ ถ้าอนุพันธ์ของออกซิเจนมีความเข้มข้นมากเกินไป ก็ทำให้ปริมาณโอโซนที่เกิดขึ้นลดลงด้วย พบว่าที่อัตราส่วนโมลของ [O] / [$X_2$] $\leq 10^{-13}$ และ [$O_3$] / [O] $\geq$ 80% ก๊าซโอโซนจะลดลงอย่างรวดเร็ว อย่างไรก็ตามอิเล็กตรอนเป็นตัวทำให้เกิดการแตกตัวเมื่อเกิดการชนกันระหว่างอิเล็กตรอนกับโอโซนดังสมการ

$$O_3(^1\ddot{A}) + e^- \rightarrow O_2(X^3\Sigma g^-) + e^-$$

( -1.084 eV หรือ -104.5 kJ/mol)

$$O_3(^1\ddot{A}) + e^- \rightarrow O_2(X^3\Sigma g^-) + O^-$$

( +0.426 eV หรือ +41.1 kJ/mol)

ในหลักการที่คล้ายกันโดยกระบวนการทำให้เกิดโฟโตเคมิคัล (Photochemical reaction) ซึ่งใช้ก๊าซปรอท เป็นแหล่งกำเนิดแสงอัลตราไวโอเลตด้วยความยาวคลื่น 254 nm ก็สามารถทำให้เกิดปฏิกิริยาเป็นก๊าซโอโซน

**การดิสชาร์จไฟฟ้า**

การศึกษาพลาสมานั้นสามารถแบ่งออกเป็นพลาสมาแบบสมดุล และพลาสมาแบบไม่สมดุล โดยความหมายของสมดุลหรือไม่สมดุลก็คือ การเกิดพลาสมาในสภาวะที่จำนวนไอออนบวกของอนุภาคที่แตกตัวจากก๊าซที่ได้รับพลังงาน กับ จำนวนอนุภาคอิเล็กตรอนที่ถูกปลดปล่อยมีความหนาแน่นเท่ากันหรือไม่เท่ากัน ตามลำดับ ทั้งนี้รวมไปถึงกรณีที่มีอุณหภูมิของไอออนและอิเล็กตรอนต่างกันด้วย (ชัยวิทย์, 2529)

กรณีพลาสมาแบบสมดุลสามารถแยกพิจารณาได้เป็น 2 กรณีใหญ่ๆ คือ แบบสมดุลทีความดันต่ำกว่าบรรยากาศ หรือความเข้มสนามไฟฟ้าที่มีค่าสูง ซึ่งจะพบว่า มีอนุภาคอิเล็กตรอนและไอออนบางส่วน มีพลังงานจลน์โดยเฉลี่ยสูงกว่าพลังงานที่เกี่ยวข้องกับการเคลื่อนที่แบบสุ่มของโมเลกุล อีกกรณีหนึ่งคือ พลาสมาแบบสมดุลที่ความดันสูง โดยมีลักษณะคือ อนุภาคที่ถูกเร่งจะมีการชนครั้งต่อไป

ในระยะพิสัยต่ำหรือกล่าวได้ว่า ที่ความเข้มสนามไฟฟ้าต่ำมากๆ ค่าพลังงานจลน์ของอนุภาคที่ถูกเร่งอาจจะใกล้เคียงกับพลังงานจลน์ของอนุภาคนิวตรอน คือ สถานะที่เท่ากันของพลังงาน (Eliasson and Kogelschatz,1991)

ดิสชาร์จไฟฟ้าแบบไซเลนท์ เป็นกระบวนการดิสชาร์จก๊าซแบบไม่สมดุล เกิดดิสชาร์จขึ้นที่ระดับความดันสูงกว่าบรรยากาศเล็กน้อย (0.1 – 1 bar) ซึ่งจะไม่เหมือนกับการดิสชาร์จแบบไม่สมดุลอื่นๆ โดยความหมายคือ เป็นการดิสชาร์จไฟฟ้าที่เกิดขึ้นเมื่ออนุภาคอิเล็กตรอนในพลาสมามีพลังงานหรืออุณหภูมิสูงกว่าอนุภาคที่เป็นกลาง โดยปกติแล้วการดิสชาร์จไฟฟ้าแบบไซเลนท์จะเกิดขึ้นในก๊าซที่มีความดันสูง ซึ่งประกอบด้วยปริมาณของไส้กระแส (Current filament) ดิสชาร์จขึ้นในช่วงเวลาสั้นๆ ในช่วงเวลาระดับนาโนวินาที โดยมีไส้กระแสจำนวนมากมายกระจายอยู่อย่างสม่ำเสมอ เรียกกระบวนการที่เกิดขึ้นนี้ว่า ไมโครดิสชาร์จ (Microdischarges)

การดิสชาร์จไฟฟ้าแบบไซเลนท์ โดยปกติจัดเป็นแหล่งกำเนิดอิเล็กตรอนที่มีสถานะไม่คงตัว (Steady state) มักเป็นแหล่งกำเนิดของกระแสเล็กๆ ที่ดีมาก และจะเกิดขึ้นเป็นช่วงๆ ในระยะเวลาสั้นมากๆ และพลังงานอิเล็กตรอนสูงเพียงพอ ก็สามารถจะทำให้เกิดการแตกตัวของอนุภาคก๊าซที่เคลื่อนที่เข้ามาอยู่ระหว่างขั้วอิเล็กโทรดไฟฟ้า ไส้กระแสไฟฟ้าปริมาณมากเหล่านี้จะเป็นสิ่งที่แสดงให้เห็นถึงจำนวนที่มากมายของของ spikes ระหว่างช่วงของความต่างศักย์ไฟฟ้าในขณะที่เกิดการดิสชาร์จ ข้อได้เปรียบของการดิสชาร์จแบบไซเลนท์ คือ ค่าพลังงานจลน์เฉลี่ยของอิเล็กตรอนที่เกิดขึ้นโดยการเปลี่ยนแปลงผลคูณของความหนาแน่นของก๊าซ กับความกว้างของช่องว่าง มีค่าสูง ขั้นตอนระหว่างช่วงวงจรชีวิตของไส้กระแสแต่ละเส้นขณะเกิดการดิสชาร์จไฟฟ้า มีดังนี้

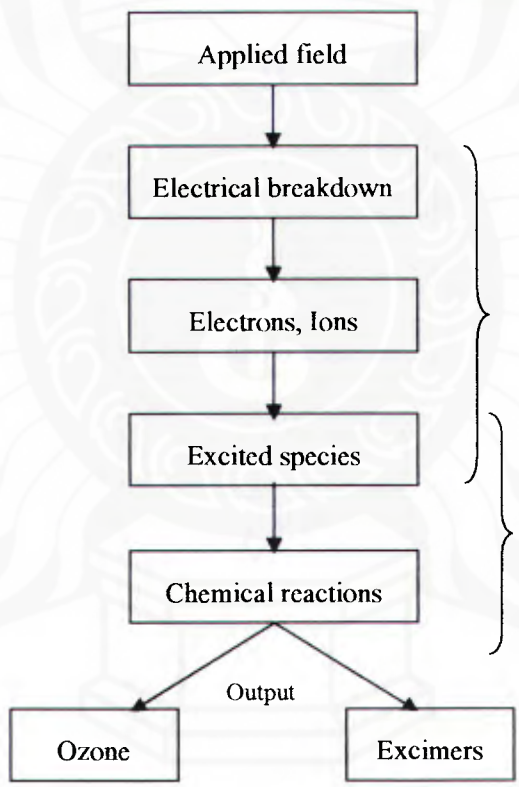
ขั้นตอนที่ 1 การสร้างดิสชาร์จ นั่นคือ มีการเบรคดาวน์ทางไฟฟ้าเกิดขึ้นในขั้นตอนนี้จะใช้เวลาในการเกิดเสร็จสิ้นภายในช่วงเวลาระดับนาโนวินาที

ขั้นตอนที่ 2 กระแสพลัส์ต่อมา หรือ การถ่ายโอนประจุข้ามช่องว่าง จะใช้เวลาในการถ่ายโอนกระแสภายใน 1 – 100 นาโนวินาที

ขั้นตอนที่ 3 ในเวลาเดียวกันจะมีการกระตุ้นของอะตอม และโมเลกุลก็เกิดขึ้นด้วยเพื่อเป็นการเริ่มต้นของการเกิดพลังงานจลน์ ในขั้นตอนนี้จะมีปฏิกิริยาทางเคมีเกิดขึ้น และจะเสร็จสิ้นในช่วงเวลาตั้งแต่ระดับนาโนวินาที่ ไปจนถึงวินาที

**ตารางที่ 2.2** แสดงรายละเอียดเงื่อนไขและสภาวะของการเกิดดิสชาร์จไฟฟ้าแบบไซเรนท์ (Eliasson และ Kogelschatz, 1991)

| ลักษณะของพารามิเตอร์การดิสชาร์จ | ค่าต่างๆ |
|---|---|
| ความดัน (Pressure) | 1 bar |
| สนามไฟฟ้า (Electric field) | 0.1 – 100 kV/cm |
| สนามไฟฟ้ารีดิวซ์ (Reduced field) | 1 – 500 Td |
| พลังงานอิเล็กตรอน (Electron energy) | 1 – 10 eV |
| ความหนาแน่นของอิเล็กตรอน (Electron density) | $10^{14}$ $cm^{3}$ |
| ระดับของการไอออไนเซชัน (Degree of ionization) | $10^{-4}$ |




**ภาพที่ 2.4** แสดงความสัมพันธ์ของฟิสิกส์พลาสมาดิสชาร์จและพลาสมาเคมีในการดิสชาร์จไฟฟ้า

**การสร้างโอโซนโดยกระบวนการดิสชาร์จไฟฟ้า**

การสังเคราะห์โอโซนในการดิสชาร์จแบบไซเรนท์จัดเป็นการประยุกต์ที่สำคัญมากอย่างหนึ่งในกระบวนทางเคมีพลาสมาและกระบวนการดิสชาร์จไฟฟ้าแบบไม่สมดุล ในการดิสชาร์จปริมาตรทางเคมีจะเร่งการเพิ่มขึ้นของอนุภาค อาทิ อนุภาคอิเล็กตรอน ไอออน ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับอนุภาคทางเคมี อาทิ อะตอม โมเลกุล และอนุมูล ปฏิกิริยาเหล่านี้ก่อให้เกิดการกระตุ้น และการแตกตัวของกลุ่มอนุภาคทางเคมี ซึ่งหลังจากนั้นจะก่อให้เกิดการสังเคราะห์กลุ่มอนุภาคใหม่ทางเคมีเกิดขึ้น การเกิดขึ้นของโอโซนจะแสดงได้ด้วยแผนภูมิความสัมพันธ์ของการเกิดดิสชาร์จทางฟิสิกส์และทางพลาสมาเคมีในการเกิดดิสชาร์จแบบไซเรนท์ ดังภาพที่ 2.4 ก๊าซโอโซนถูกผลิตขึ้น จะเกิดจากการดิสชาร์จไฟฟ้าข้ามช่องว่างระหว่างอิเล็กโตรด ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของการดิสชาร์จไฟฟ้าแบบไซเรนท์ เหตุผลของการมีไดอิเล็กตริกที่สำคัญมี 2 ประการ คือ หนึ่งทำหน้าที่เพื่อป้องกันการอาร์คและสปาร์คของไฟฟ้าโดยจำกัดกระแสระหว่างขั้วอิเล็กโตรด ทำให้เกิดปริมาณประจุที่ถูกถ่ายโอนเป็นไมโครดิสชาร์จแบบเดี่ยว (single microdischarge) และหน้าที่ที่สองคือทำให้เกิดความสม่ำเสมอของกระแสไมโครดิสชาร์จ โอโซไนเซอร์ (Ozoniser) ในระยะเริ่มต้นมักจะเป็นประเภทที่มีแหล่งกำเนิดพลังงานจากการใช้ศักย์ไฟฟ้ากระแสสลับแรงสูงในช่วง 50 หรือ 60 Hz ในขณะที่โอโซไนเซอร์กำลังสูงในสมัยใหม่ เริ่มมีการใช้แหล่งกำเนิดพลังงานหลากหลายรูปแบบมากขึ้น เช่น การใช้ไทริสเตอร์ (Thyristor) เป็นตัวป้อนกำลัง ซึ่งจะสามารถควบคุมความถี่ให้มีการเปลี่ยนแปลงจาก 0.5 – 5 kHz ทำให้กำลังความหนาแน่นในการดิสชาร์จเพิ่มขึ้น (Eliasson และ Kogelschatz, 1991)

สำหรับการผลิตโอโซนจากอากาศให้มีประสิทธิภาพ จำเป็นจะต้องทำให้อากาศมีค่าจุดน้ำค้าง (Dewpoint) ต่ำกว่า -60 องศาเซลเซียส ซึ่งปัจจัยที่เกี่ยวข้องนั้นไม่เพียงแต่ความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศเท่านั้น แต่ยังเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาเชิงจลน์และสภาพการนำไฟฟ้าของผิวสารไดอิเล็กตริกด้วย และการเลือกใช้อากาศปกติเป็นอากาศที่ป้อนให้กับระบบ พบว่าในการดิสชาร์จจะให้กลุ่มของไอออนของไนโตรเจน $N^+$ , $N_2^+$ , อะตอมของไนโตรเจน และกลุ่มของโมเลกุลและอะตอมในภาวะการกระตุ้นอื่นๆ จากการปะปนกับอากาศอีก ซึ่งจะเพิ่มความซับซ้อนและยุ่งยากให้กับระบบโดยสามารถประมาณการได้ว่าอาจจะมีปฏิกิริยาเกิดขึ้นถึง 143 ปฏิกิริยา (Eliasson และ Kogelschatz, 1991)

ดังนั้นอาจสรุปได้ว่าการกำเนิดโอโซนในอากาศมีปรากฏการณ์ที่น่าสนใจ และต้องพิจารณาดังต่อไปนี้

1. ภายใต้เงื่อนไขปกติของโอโซไนเซอร์นอกจากโอโซนแล้วยังตรวจพบออกไซด์ของ $N_2O$ และ $N_2O_5$ ด้วย แต่ความเข้มข้นของออกไซด์มีขนาดต่ำกว่าความเข้มข้นของโอโซน

2. ที่พลังงานจำเพาะสูงๆ การผลิตโอโซนจะล้มเหลวและไนโตรเจน ออกไซด์จะถูกผลิตขึ้นเท่านั้น (ก๊าซพิษถูกปล่อยออกมา ในส่วนของโอโวนจะน้อยลง) ในส่วนนี้พบว่าออกไซด์ของ NO และ $NO_2$ จะต่ำกว่า $N_2O$

3. การผลิตโอโซนในอากาศ (ความเข้มข้นและประสิทธิภาพ) จะเพิ่มขึ้นมากกว่าที่ควรจะเป็นถ้าประมาณว่าออกซิเจนในอากาศ 21%

ขั้นตอนปฏิกิริยาที่สำคัญส่วนใหญ่นำไปสู่การสร้างโอโซนเกิดจากการแตกตัวของโมเลกุลออกซิเจนโดยอิเล็กตรอนที่มีพลังงานเหมาะสม (6-9eV) ปฏิกิริยา three body ในกลุ่ม O, $O_2$ และ M ซึ่งเป็นตัวร่วมในการชนอันดับสาม ($O_2$ , $O_3$ ในอากาศจะมี $N_2$ ) ดังปฏิกิริยา ต่อไปนี้

$$\begin{aligned} e + O_2 &\rightarrow e + O_2\left(A\Sigma_u^+\right) \rightarrow e + O\left(^3P\right) + O\left(^3P\right) \\ &\quad e + O_2\left(B\Sigma_u^+\right) \rightarrow e + O\left(^3P\right) + O\left(^3P\right) \\ O + O + M &\rightarrow O_3^* + M \rightarrow O_3 + M \end{aligned}$$

ในที่นี้ $O_3^*$ เป็นกลุ่มโอโซนที่อยู่ในสภาวะกระตุ้น

สำหรับการผลิตโอโซนในอากาศความเข้มข้นโอโซนจะไม่อิ่มตัว และปริมาณความเข้มข้นของก๊าซโอโซนเพิ่มขึ้นเมื่อพลังงานจำเพาะที่ใช้เพิ่มขึ้น และอาจเป็นพิษเกิดขึ้นได้ ทั้งนี้ขึ้นกับส่วนผสมของอากาศขาเข้าว่ามีการปะปนของปริมาณ $NO_x$ (NO , $NO_2$ , $NO_3$ , $N_2O_5$) อย่างไร ในกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับอะตอมไนโตรเจนหรือสถานะโมเลกุลที่ถูกกระตุ้น $N_2$ ( $A^3\sum_g$ ) และ $N_2$( $B^3\prod_g$ ) มีปฏิกิริยาดังต่อไปนี้ (Eliasson และ Kogelschatz, 1991)

$$\begin{aligned} N + O_2 &\rightarrow NO + O \\ N + NO &\rightarrow N_2 + O \\ N_2(A) + O_2 &\rightarrow N_2O + O \\ N_2(A,B) + O_2 &\rightarrow N_2 + 2O \end{aligned}$$

ผลที่ได้เพิ่มขึ้นในปฏิกิริยาการรวมกันของออกซิเจน เป็นดังปฏิกิริยา

$$\begin{aligned} O + NO + M &\rightarrow N_2O + M \\ O + NO_2 &\rightarrow NO + O_2 \\ \hline O + O &\rightarrow O_2 \end{aligned}$$

โอโซนจะถูกปฏิกิริยากระบวนการทำลายที่เกี่ยวข้องกับ NO และ $NO_2$ ปฏิกิริยาดังต่อไปนี้

$$\begin{aligned} NO + O_3 &\rightarrow NO_2 + O_2 \\ O + NO_2 &\rightarrow NO + O_2 \\ \hline O + O_3 &\rightarrow 2O_2 \end{aligned}$$

**การประยุกต์ใช้งานโอโซน**

โอโซนสามารถนำมาประยุกต์ในการใช้งานได้มากมายหลายด้าน ทั้งนี้เนื่องจากโอโซนมีข้อดีดังนี้

1. โอโซนเป็นตัวออกซิไดซ์ที่มีประสิทธิภาพ ทำให้การออกซิไดซ์เกิดขึ้นรวดเร็ว และสมบูรณ์กว่าการใช้ตัวออกซิไดซ์อื่นๆ

2. สามารถลดค่า BOD (Biological Oxygen Demand) และ COD (Chemical Oxygen Demand) ได้

3. สามารถทำปฏิกิริยากับสารอินทรีย์และไม่มีปัญหาในการกำจัดกากตะกอน เมื่อใช้ในปริมาณมากจะสามารถออกซิไดซ์สารอินทรีย์ที่ยากต่อการออกซิไดซ์

4. สามารถลดสี กลิ่น ความขุ่น และสารตึงผิวได้

5. การไม่มีโอโซนเหลืออย่างถาวร ทำให้ไม่เหลือผลิตภัณฑ์เป็นพิษให้ต้องทำการกำจัดเพิ่ม ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง เมื่อใช้ออกซิเจนบริสุทธิ์ในการผลิตโอโซน เนื่องจากผลิตภัณฑ์ที่เป็นผลพลอยได้จากปฏิกิริยา คือ ออกซิเจน และธาตุบางชนิด เช่น ไฮดรอกซิลเรดิคัล ซึ่งมีความไวในการเกิดปฏิกิริยา ทำให้มีส่วนสำคัญในการฆ่าเชื้อโรคด้วย ไม่มีปัญหาในการเคลื่อนย้ายสารเคมีที่เป็นพิษ

สำหรับการประยุกต์ใช้งานของโอโซนมีมากมายหลายด้าน เช่น อุตสาหกรรมยา และอาหาร โรงงานผลิตน้ำแข็ง เนื่องจากโอโซนไม่ทำให้เกิดกลิ่นหรือรส เหมือนการใช้คลอรีน ใช้ในการฆ่าเชื้อโรคสำหรับอุตสาหกรรมบรรจุขวดพลาสติก เนื่องจากไม่สามารถใช้ความร้อน และ คลอรีนซึ่งอาจทำลายขวดพลาสติกได้ และการย่อยสลายอย่างรวดเร็วของโอโซนที่เหลือ เป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้โอโซนถูกใช้ในการฆ่าเชื้อของขวดพลาสติก อุตสาหกรรมโรงงาน ใช้โอโซนในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานหลายประเภท เช่น โรงงานย้อมผ้า โรงงานกระดาษ เป็นต้น แต่เนื่องจากการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานบางชนิด ไม่สามารถใช้วิธีทางชีวภาพได้ เพราะน้ำทิ้งเหล่านี้อาจประกอบด้วยสารเคมีที่เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กได้ จึงมีความจำเป็นต้องใช้โอโซนในการบำบัดน้ำทิ้งเหล่านี้

ในการประยุกต์ใช้ก๊าซโอโซนในอาหารทะเล พบว่า การทำลายจุลินทรีย์ของก๊าซโอโซนบนพื้นผิวอาหารมีประสิทธิภาพน้อยกว่าบนตัวกลางที่ต้องการโอโซนต่ำ ดังนั้นการลดจำนวนจุลินทรีย์ในอาหารจึงขึ้นกับธรรมชาติและองค์ประกอบของพื้นผิวอาหาร ชนิดของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนและระยะเวลาที่จุลินทรีย์สัมผัสกับอาหาร โดยในอุตสาหกรรมประมงได้มีการทดสอบการใช้ก๊าซโอโซนเป็นสารฆ่าเชื้อแล้ว พบว่าก๊าซโอโซนมีประสิทธิภาพในการลดจำนวนจุลินทรีย์ สามารถเพิ่มคุณภาพทางประสาทสัมผัส และเพิ่มระยะเวลาการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้ เช่น Haraguchi, Simidu และ Aiso (1969) รายงานว่าการใช้น้ำเกลือ 3% ที่มีก๊าซโอโซนเข้มข้น 0.6 ppm นาน 30-60 นาทีในการล้างปลา Jack mackerel สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ 2-3 log และยืดอายุการเก็บได้ 20-60 % เมื่อใช้น้ำโอโซนล้างทุก 2 วัน Kim และคณะ (2000) พบว่าน้ำโอโซนเข้มข้น 10 ppm สามารถลด total Coliform และ Psychrotrophs ในChannel catfish fillets ได้ 0.7 และ 0.52 log ตามลำดับ และลดจำนวนแบคทีเรียแกรมลบ เช่น Acinetobacter, Pseudomonas และ Aeromonas ได้ แต่ไม่มีผลต่อแบคทีเรียแกรมบวกแต่อย่างใด นอกจากนี้ยังยืดอายุการเก็บได้มากกว่า 25 % Chen และคณะ (1992) ศึกษาจุลินทรีย์ 9 ชนิดที่เติมลงในกุ้งกุลาดำที่สัมผัสน้ำโอโซนเข้มข้น 2.9-4.8 mg/l เป็นเวลา

15 และ 60 นาที พบว่าน้ำโอโซนทำลายแบคทีเรียได้ โดยมีความทนทานต่อโอโซนเรียงลำดับจากมากไปน้อยดังนี้ *S. typhimurium*, *E. coli*, *P. putida*, *V. cholera*, *Stap. aureus*, *P. aeruginosa*, *V.parahaemolyticus*, *P. fluorescens*, *Flavobacterium aquatile* และ Dewitt และคณะ (1984)

**ปัจจัยที่มีผลต่อการละลายของก๊าซโอโซนในน้ำ**

เมื่อใช้โอโซนในรูปของของเหลว ความสามารถในการละลายของโอโซนในของเหลวจะมีผลต่อประสิทธิภาพของน้ำโอโซน โดยมีหลายปัจจัยที่เข้ามาเกี่ยวข้อง (Khadre, Yousef และ Kim, 2001) ได้แก่

1) ความดันและอุณหภูมิ การละลายของก๊าซในน้ำเป็นไปตามกฎของ Henry ที่กล่าวว่า "ปริมาณก๊าซในสารละลาย ณ อุณหภูมิที่กำหนดเป็นอัตราส่วนโดยตรงกับความดันของก๊าซ" และความสามารถในการละลายของโอโซนในน้ำแสดงได้ในรูป Solubility ratio ($S_r$)

$$Sr = \frac{\text{mg/L โอโซนในน้ำ}}{\text{mg/L โอโซนในสภาวะก๊าซ}}$$

ค่า Solubility ratio ของโอโซนเพิ่มขึ้นถ้าอุณหภูมิของน้ำลดลง ดังตารางที่ 2.3

**ตารางที่ 2.3** ความสามารถในการละลายของก๊าซโอโซนที่อุณหภูมิต่างๆ (Coastent, 2003)

| Ozone conc. (%w/w) | Method | Ozone Solubility (mg/L) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | $5^{\circ}C$ | $10^{\circ}C$ | $15^{\circ}C$ | $20^{\circ}C$ | $25^{\circ}C$ | $30^{\circ}C$ |
| 0.001 | UV | 0.007 | 0.007 | 0.006 | 0.005 | 0.004 | 0.003 |
| 0.1 | UV | 0.74 | 0.65 | 0.55 | 0.42 | 0.35 | 0.27 |
| 1 | CD | 7.34 | 6.50 | 5.60 | 4.29 | 3.53 | 2.70 |
| 1.5 | CD | 11.09 | 9.75 | 8.40 | 6.43 | 5.29 | 4.04 |
| 2 | CD | 14.79 | 13.00 | 11.19 | 8.57 | 7.25 | 5.39 |
| 3 | CD | 22.18 | 19.50 | 16.79 | 12.86 | 10.58 | 8.09 |

Chen และคณะ (1992) และ Yang และ Chen (1979) รายงานว่าความสามารถในการละลายและความคงตัวของก๊าซโอโซนในสารละลายสกัดจากกุ้งและน้ำกลั่นที่อุณหภูมิต่ำดีกว่าที่อุณหภูมิสูง

2) ขนาดของฟองอากาศ เช่น เมื่อใช้ Bubbling โอโซน ฟองอากาศจะมีขนาดเล็กลง มีพื้นที่ผิวมากขึ้น สามารถละลายในน้ำได้มากขึ้นขนาดฟองอากาศที่เหมาะสมควรมีขนาด 1 – 3 มม.

3) อัตราการไหลและเวลาสัมผัสของก๊าซโอโซนในสถานะก๊าซไปสู่สถานะของเหลว

4) การผสมที่เหมาะสมจะเพิ่มการสัมผัสระหว่างฟองอากาศกับน้ำ ทำให้สามารถในการละลายดีขึ้น ดังนั้นการออกแบบถังผสมจึงมีผลอย่างมากต่อการละลาย (Schultz และคณะ, 2000)

5) ความบริสุทธิ์ของน้ำ เช่น Bubbled gaseous O3 (1mM) ละลายในน้ำกลั่นและน้ำที่กำจัดแร่ธาตุออก ได้เร็วกว่าน้ำประปา และมีความเข้มข้นของก๊าซโอโซนสูงกว่าด้วย เนื่องจากสารอินทรีย์ในน้ำทำปฏิกิริยากับก๊าซโอโซน ส่วนเกลือแร่ในน้ำเร่งการสลายตัวของก๊าซโอโซน ทำให้มีก๊าซโอโซน ทำให้มีก๊าซโอโซนเหลือค้างในน้ำน้อยลง

6) pH ของน้ำ ที่ pH สูงก๊าซโอโซนไม่เสถียรทำให้อัตราการละลายลดลง ความคงตัวของก๊าซโอโซนขึ้นกับ pH เป็นอย่างมาก การทดลองเติมก๊าซโอโซนที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.01 M ที่ pH 5 – 9 นาน 15 นาที แล้ววัดความเข้มข้นของก๊าซโอโซนโดยใช้วิธี Indigo พบว่า ก๊าซโอโซนเสถียรมากที่สุดในสารละลายที่ pH 5 ความเสถียรของก๊าซโอโซนจะลดลงเมื่อ pH เพิ่มขึ้น และตรวจไม่พบก๊าซโอโซนในบัฟเฟอร์ที่ pH 9

**การถนอมอาหาร**

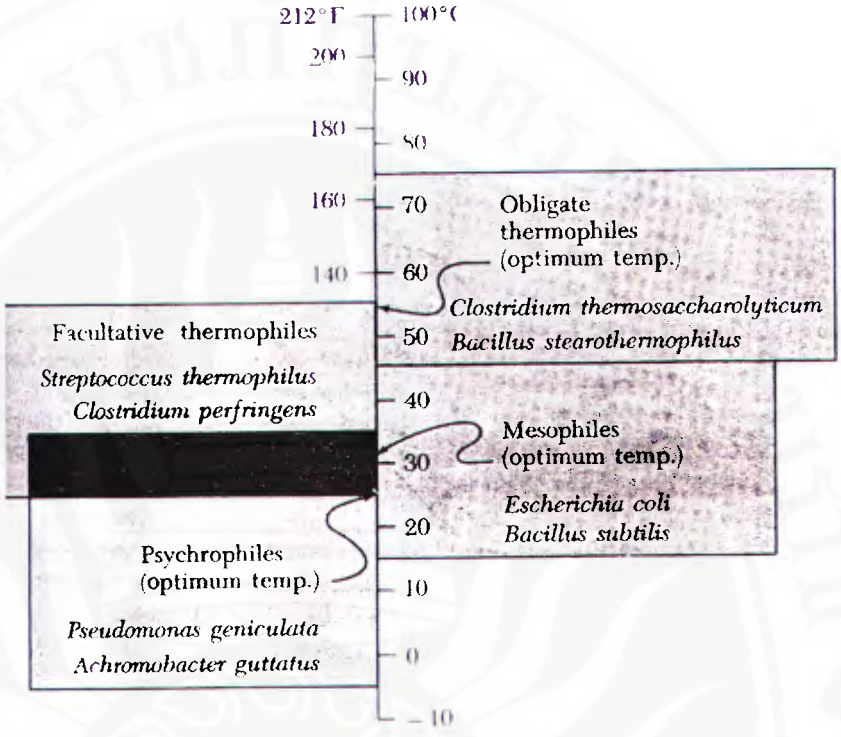
การถนอมอาหาร (Food Preservation) หมายถึงการเก็บรักษาอาหารโดยวิธีต่างๆ ให้อยู่ในสภาพที่ใกล้เคียงกับของสดมากที่สุด โดยสูญเสียคุณค่าทางโภชนาการน้อยที่สุด แต่ยังคงคุณลักษณะทางคุณภาพซึ่งเป็นที่ต้องการของผู้บริโภค

การแปรรูปอาหาร (Food Processing) หมายถึงการนำอาหารมาผ่านกระบวนการต่าง ๆ เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์อาหารที่มีลักษณะตามต้องการ มีคุณภาพเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค และบริโภคได้อย่างปลอดภัย อีกทั้งยังเป็นการเตรียมอาหารให้เหมาะกับการบริโภค และอาจช่วยให้สามารถเก็บรักษาอาหารไว้ได้ระยะหนึ่งด้วย

การถนอมอาหารมีหลายวิธีดังนี้

1. การใช้ความเย็น (refrigeration and freezing)
2. การใช้ความร้อน (thermal processing)
3. การทำแห้ง (dehydration)
4. การหมักเกลือ (curing)
5. การใช้สารเคมี (chemicals)
6. การใช้รังสี (Irradiation)

อาหารต่างชนิดกันจะมีช่วงอุณหภูมิที่ใช้ในการถนอมต่างกัน โดยทั่วไปการควบคุมอุณหภูมิในการแช่เย็นอาหารจะตั้งไว้ที่เหนือจุดเยือกแข็งเล็กน้อย ส่วนอาหารแช่แข็งจะควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ประมาณ -18 องศาเซลเซียส ส่วนอุณหภูมิของขั้นตอนทำความเย็นที่ใช้ในกระบวนการผลิตจะมีอุณหภูมิที่ต่ำกว่า เพื่อให้อัตราการแช่แข็งเร็วขึ้น ซึ่งอุณหภูมิในห้องแช่แข็งจะควบคุมไว้ที่ -40 องศาเซลเซียส หรือต่ำกว่า ซึ่งขึ้นอยู่กับสารทำความเย็นที่ใช้และประสิทธิภาพของเครื่องทำความเย็นนั้น ปกติแล้วอุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียส หรืออุณหภูมิในตู้เย็นธรรมดาหรือห้องเย็น จุลินทรีย์ทั่วไปที่มีในอาหารไม่เจริญเติบโต แต่จะมีจุลินทรีย์ที่ทนความเย็น (Psychophilic organism) เจริญได้ แต่ถ้าอุณหภูมิต่ำกว่า -18 องศาเซลเซียส จะไม่มีจุลินทรีย์ใดที่เจริญได้)
(อุมาพร ศิริพินทุ์, 2546)




**ภาพที่ 2.5** แสดงชนิดของจุลินทรีย์ที่เจริญได้ที่อุณหภูมิต่างๆ (Feiner G., 2006)

ระดับของการใช้ความเย็นในการถนอมอาหาร การใช้ความเย็นแยกได้ตามระดับของการใช้อุณหภูมิได้ 2 ระดับ คือ การแช่เย็นหรือการใช้อุณหภูมิเหนือจุดเยือกแข็ง และการแช่แข็งหรือการใช้อุณหภูมิต่ำกว่าจุดเยือกแข็ง

**1. การแช่เย็น (Refrigeration)** การเก็บเนื้อสัตว์ไว้ในอุณหภูมิต่ำเหนือจุดเยือกแข็งหรือการเก็บเนื้อสัตว์ไว้ในห้องเย็นหรือตู้เย็น เรียกว่า การแช่เย็น (refrigeration) ณ อุณหภูมิประมาณ 0-5 องศาเซลเซียส การใช้ความเย็นในการถนอมรักษาเนื้อสัตว์เป็นการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์เท่า- นั้น ไม่ใช่การทำลายจุลินทรีย์ อุณหภูมิต่ำทำให้กระบวนการเมตาบอลิซึม (metabolism) ช้าลง โดยเฉพาะที่อุณหภูมิต่ำใกล้จุดเยือกแข็ง เมตาบอลิซึมของจุลินทรีย์จะช้าลงมาก ปฏิกิริยาของเอ็นไซม์ก็ช้ามากด้วย ดังนั้นจุลินทรีย์จึงเจริญเติบโตได้ช้ามาก ทำให้การเน่าเสียกินเวลานานขึ้น

ปัจจัยที่มีผลต่ออายุการเก็บเนื้อสัตว์ในห้องเย็น

1) ปริมาณจุลินทรีย์ที่มีก่อนการเก็บ หากปริมาณจุลินทรีย์ที่มีก่อนการเก็บมีปริมาณมาก ก็จะทำให้อายุการเก็บน้อยลง จุลินทรีย์เหล่านี้อาจมาจากการปนเปื้อนระหว่างการฆ่า การตัดแต่งซาก การผลิต และการใช้วัสดุหีบห่อ

2) อุณหภูมิ การคงอุณหภูมิการเก็บให้คงที่ที่ 3 องศาเซลเซียส หรือต่ำกว่านี้ มีความจำเป็นต่อคุณภาพของเนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อ เพราะหากปล่อยให้อุณหภูมิสูงกว่านี้จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดอาหารเป็นพิษอาจเจริญเติบโตได้

3) ความชื้น ห้องเย็นควรรักษาความชื้นสัมพัทธ์ (relative humidity) ให้อยู่ระหว่างร้อยละ 88 และ 92 หากความชื้นสัมพัทธ์น้อยกว่านี้มีการสูญเสียน้ำหนักมาก หรือมีการหดตัว (shrink) ซึ่งเป็นผลให้ผิวนอกแห้ง เหี่ยวย่น และสีคล้ำไม่เป็นที่พอใจของผู้บริโภค และหากความชื้นสัมพัทธ์มากกว่านี้ จะทำให้เนื้อสัตว์เน่าเสียได้ง่าย เนื่องจากแบคทีเรียที่ทำให้เกิดเมือกที่ผิว (Slime) และเชื้อราเจริญเติบโตได้ดี

คุณค่าทางโภชนาการของอาหารแช่เย็น

ในระหว่างแช่เย็นอาหารสูญเสียคุณค่าทางโภชนาการน้อยกว่า เมื่อเก็บที่อุณหภูมิปกติดังในตารางที่ 2.4 (Rice และคณะ1958) ซึ่งแสดงปริมาณวิตามินที่เปลี่ยนแปลงไปเพียงเล็กน้อยเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำ

**ตารางที่ 2.4** แสดงปริมาณวิตามินบีในเนื้อหมูที่ยังคงเหลืออยู่เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 38 $^{\circ}$F (14 $^{\circ}$C)

| สภาพที่เก็บ | จำนวนวัน | วิตามินที่คงเหลือ (ร้อยละ) | | |
|---|---|---|---|---|
| | | บีหนึ่ง | บีสอง* | ไนอะซีน |
| เนื้อหมู | 11 | 97 | 100 | 72 |
| เนื้อหมูบด | 14 | 94 | 104 | 97 |
| เนื้อหมูเค็ม | 14 | 95 | 105 | 90 |

**2. การแช่แข็ง (freezing)** การแช่แข็งเป็นการเก็บอาหารไว้ในอุณหภูมิที่ต่ำกว่าจุดเยือกแข็งหรือต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส การแช่แข็งเป็นการถนอมอาหารระยะยาวที่หากปฏิบัติอย่างถูกต้องจะสามารถรักษาสี กลิ่น รส และคุณค่าทางอาหารอย่างมีประสิทธิภาพ แต่จะสามารถรักษาเนื้อสัมผัสได้ปานกลางเท่านั้น

ในกระบวนการแช่แข็งนั้น อุณหภูมิของอาหารถูกลดลงมา เราสามารถดึงความร้อนออกเพื่อลดอุณหภูมิของอาหารลงเรื่อยๆ จนต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส โดยที่น้ำในอาหารยังไม่เป็นน้ำแข็ง ในสภาพที่อุณหภูมิของอาหารต่ำกว่าจุดเยือกของอาหารนั้นจะเป็นสภาพที่เรียกว่าเย็นยิ่งยวด เมื่อจะเกิดผลึกน้ำแข็งขึ้น จำเป็นจะต้องดึงความร้อนแฝงของการเกิดผลึก (Latent heat of crystallization) ออกด้วย ซึ่งก่อนที่จะมีการดึงความร้อนออกจะต้องมีการกระตุ้นให้เกิดกระบวนการเป็นผลึกน้ำแข็งก่อนหรือการเกิดนิวเคลียสน้ำแข็ง ในขณะที่มีการดึงความร้อนแฝงออกอย่างรวดเร็วจะทำให้เกิดผลึกน้ำแข็งขึ้น

การบรรจุและการเก็บรักษา

ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการแช่แข็งแล้วจะนำมาบรรจุลงถุงพลาสติก หรือกล่อง แล้วบรรจุลงกล่องบรรจุสินค้าสำหรับการขนส่ง แล้วติดสายรัดกล่องให้แน่น กล่องบรรจุสินค้าจะต้องมีความคงทนและเหมาะสมสำหรับการขนส่ง เพื่อป้องกันสินค้าภายในไม่ให้ถูกกระทบกระเทือนระหว่างการขนส่ง ผลิตภัณฑ์ที่ได้รับการบรรจุเรียบร้อยแล้วจะเก็บเข้าห้องเย็นเพื่อรอการจำหน่าย โดยที่อุณหภูมิของห้องเย็นจะต้องต่ำกว่า -18 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ประมาณร้อยละ 70 ทั้งต้องมีประตูห้องปิดสนิท

การเปลี่ยนแปลงของอาหารที่ผ่านการถนอมโดยการแช่แข็ง

การถนอมอาหารโดยการแช่แข็งถือว่าเป็นการถนอมอาหารที่ดีที่สุดวิธีหนึ่งเนื่องจากเก็บอาหารไว้ได้นานโดยที่ลักษณะจะไม่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิมมากนัก อย่างไรก็ตาม ในการแช่แข็งอาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของอาหารได้ดังนี้

1) ความชื้นลดลง การลดลงของความชื้นเนื่องมาจากการระเหยน้ำจากผิวหน้าของเนื้อ ทำให้เกิดลักษณะไม่น่ารับประทาน เนื้อมีสีคล้ำ แห้ง กระด้างและไม่มีรส ลักษณะเช่นนี้เรียกว่า "freezer burn" ซึ่งอาจป้องกันได้โดยการห่อหรือบรรจุภาชนะให้มิดชิด

2) เกิดการเหม็นหืน การเหม็นหืนเกิดขึ้นจากการออกซิไดส์ของไขมัน เนื้อที่มีไขมันประเภทอิ่มตัวอยู่มาก เช่น เนื้อวัวและเนื้อแกะ จะมีความต้านทานต่อการเหม็นหืนได้ดีกว่าเนื้อที่มีไขมันประเภทไม่อิ่มตัวอยู่มาก เช่น เนื้อหมู การใช้สารกันหืนในผลิตภัณฑ์เนื้อแช่แข็งยังไม่มีการยืนยันว่าได้ผลหรือไม่ ดังนั้น การปกปิดผิว หรือบรรจุหีบห่อที่ป้องกันการซึมผ่านของออกซิเจนก็ช่วยชะลอการเหม็นหืนได้

3) จุลินทรีย์ แบคทีเรียส่วนใหญ่ไม่เติบโตที่อุณหภูมิต่ำกว่าจุดเยือกแข็งของน้ำ ยกเว้น ยีสต์บางชนิดซึ่งถ้าอาหารยังไม่แข็ง สามารถเติบโตได้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 15 องศาฟาเรนไฮต์ โดยทั่วไปยีสต์และราสามารถเติบโตได้ในที่มีอุณหภูมิต่ำกว่าแบคทีเรีย นอกจากนั้นแบคทีเรียยังต้องการน้ำสำหรับดำรงชีวิตมากกว่าราและยีสต์ เมื่อน้ำกลายเป็นน้ำแข็ง แบคทีเรียก็ไม่สามารถใช้น้ำนั้นได้ การแช่แข็งเป็นเวลานานหรือการทำให้ละลายและแช่แข็งสลับกันอีก จึงสามารถฆ่าแบคทีเรียที่กำลังเติบโตได้ แต่สปอร์ของมันไม่ถูกทำลาย ปริมาณของจุลินทรีย์ที่ติดมากับอาหารมีผลต่ออายุการเก็บของอาหารนั้น หากปริมาณจุลินทรีย์ที่ติดมากับอาหารมีน้อย อาหารนั้นก็สามารถเก็บไว้ได้เป็นเวลานาน

4) เอ็นไซม์ เอ็นไซม์ยังทำงานได้อย่างช้า ๆ ที่อุณหภูมิของอาหารแช่แข็ง พบว่าเอ็นไซม์บางตัวสามารถทำงานได้ที่อุณหภูมิต่ำถึง -100 องศาฟาเรนไฮต์ ฉะนั้นความเย็น ณ อุณหภูมิแช่แข็งจึงเพียงแต่ชะลอปฏิกิริยาของเอ็นไซม์เท่านั้น หากจะควบคุมปฏิกิริยาของเอ็นไซม์จึงต้องใช้วิธีอื่นนอกเหนือไปจากการใช้ความเย็น

5) พยาธิ การแช่แข็งผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์เป็นประโยชน์ในการทำลายพยาธิบางตัว ตัวที่ถูกทำลายได้ผลที่สุดคือ *Trichinella spiralis* ถ้าเก็บเนื้อหมูที่มีพยาธิตัวนี้ไว้ที่อุณหภูมิ 0 องศาฟาเรนไฮต์ พยาธิจะตายหมด

6) คุณค่าทางโภชนาการ กระบวนการแช่แข็งไม่ทำให้สารอาหารสลายตัว อุณหภูมิยิ่งต่ำสารอาหารยิ่งมีความคงตัว อาหารที่แช่แข็งสูญเสียคุณค่าทางโภชนาการในขั้นเตรียมอาหารก่อนแช่แข็งเป็นส่วนใหญ่ การบรรจุหีบห่อช่วยป้องกันการสูญเสียสารอาหารหลายชนิดโดยเฉพาะวิตามิน คุณค่าทางโภชนาการของอาหารแช่แข็งเปลี่ยนไป

ผลของอุณหภูมิและเวลาในการฆ่าเชื้อ

1) อุณหภูมิ

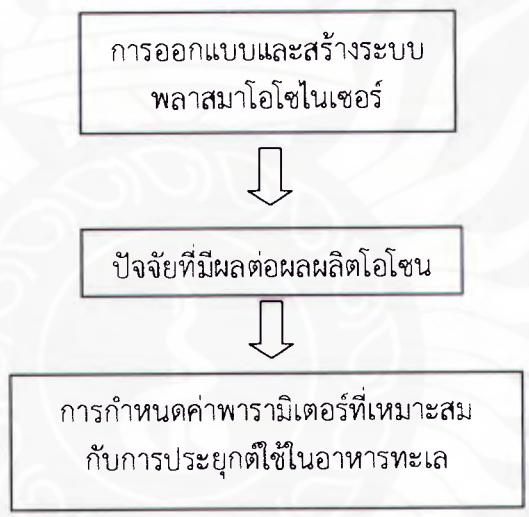
โดยทั่วไปแล้วอาหารที่มี pH สูงกว่า 4.6 นั้นมักมีแบคทีเรียที่สามารถสร้าง สปอร์ที่ทนความร้อนเจริญอยู่ ดังนั้น จึงต้องใช้อุณหภูมิสูงในการทำลาย เนื้อสัตว์ก็อยู่ในกลุ่ม pH > 4.6 ดังนั้น ผลิตภัณฑ์เนื้อที่บรรจุกระป๋องส่วนใหญ่จึงใช้ความร้อนมากกว่าจุดเดือดของน้ำในการทำลายจุลิ

นทรีย์ สำหรับการฆ่าเชื้อในรีทอร์ทนั้น เมื่ออุณหภูมิของรีทอร์ทถึงอุณหภูมิที่กำหนดในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ จะต้องมีการควบคุมอุณหภูมิในรีทอร์ทให้คงที่ โดยอาศัยการควบคุมวาล์วไอน้ำเข้า ทั้งนี้จะต้องตรวจสอบอุณหภูมิตลอด เวลาโดยดูจากเทอร์โมมิเตอร์แบบปรอทเท่านั้น

2) เวลาในการฆ่าเชื้อ (process time)

ในการฆ่าเชื้อจะต้องผ่านการทดสอบจากผู้เชี่ยวชาญซึ่งกำหนดขึ้นใช้เฉพาะสำหรับผลิตภัณฑ์แต่ละประเภท เวลาในการฆ่าเชื้อจะต้องนานพอที่จะทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ให้ลดลงอยู่ในระดับการปลอดเชื้อเชิงการค้า (commercially sterile) ได้ ทั้งนี้ระยะเวลาการฆ่าเชื้อจะสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดกับอุณหภูมิการฆ่าเชื้อ อุณหภูมิเริ่มต้นของอาหาร ปริมาตรการบรรจุ และขนาดของกระป๋อง) (อุมาพร ศิริพินทุ์, 2546)

**กรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย**



**ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง**

Chen และคณะ (1992) ศึกษาจุลินทรีย์ 9 ชนิดที่เติมลงในกุ้งกุลาดำที่สัมผัสน้ำโอโซนเข้มข้น 2.9-4.8 mg/l เป็นเวลา 15 และ 60 นาที พบว่าน้ำโอโซนทำลายแบคทีเรียได้ โดยมีความทนทานต่อโอโซนเรียงลำดับจากมากไปน้อย ดังนี้ *S.typhimurium, E. coli, P. putida, V. chotera, Stap. aureus, P. aeruginosa, V. parahaemolyticus, P. fluorescens, Flavobacterium aquatile*

Dewitt และคณะ (1984) พบว่าจำนวนแบคทีเรียในกุ้งที่เก็บในน้ำแข็งโอโซนมีค่าน้อยกว่าตัวควบคุม และยืดอายุการเก็บได้ 1-2 วัน

Restaino และคณะ (1995) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำโอโซนที่ความเข้มข้น 0.188 ppm เป็นเวลา 1 - 5 นาที ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ แบคทีเรียแกรมบวก คือ *Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus, Bacillus cereus* และ *Enterococcus faecalis* แบคทีเรียแกรมลบ คือ *Pseudomonas aeruginosa, Yersinia enterocolitica, Escherichia coli* และ *Salmonella typhimurium* ยีสต์ คือ *Candida albicans* และ *Zygosaccharomyces bacilli* และสปอร์ของ *Aspergillus niger* พบว่าโอโซนมีประสิทธิภาพในการฆ่ายีสต์ทั้งสอง และฆ่าเชื้อแบคทีเรียกลุ่มแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียกลุ่มแกรมลบ ยกเว้น *L. monocytogenes* จะไวต่อโอโซน ในทางตรงกันข้าม สปอร์ของ *A. niger* จะมีความทนทานต่อโอโซน

Kim และคณะ (2000) พบว่าน้ำโอโซนเข้มข้น 10 ppm สามารถลด *total coliform* และ *Psychrotrophs* ใน Channel catfish fillets ได้ 0.7 และ 0.52 log ตามลำดับ และลดจำนวนแบคทีเรียแกรมลบ เช่น *Acinetobacter, Pseudomonas* และ *Aeromonas* ได้ แต่ไม่มีผลต่อแบคทีเรียแกรมบวกแต่อย่างใด นอกจากนี้ยังยืดอายุการเก็บได้มากกว่า 25%

ทิพรักษ์ และคณะ (2008) ทำการศึกษาการรอดชีวิตของ *Campyrobactor jejuni* ATTC 29428 ในน้ำ ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบเช่นเดียวกับ *E. coli* จากการศึกษาพบว่า เมื่อให้โอโซนที่เวลา 0.5, 1, 2, 3,5, 7 และ 9 นาที ซึ่งมีปริมาณโอโซนที่ละลายในน้ำเป็น 0.03, 0.06, 0.12, 0.18, 0.30, 0.42 และ 0.54 mg/l ตามลำดับ ได้พบว่า เมื่อ *C. jejuni* ได้รับโอโซนเป็นเวลา 0.5, 1, 2, 3, 5 และ 7 นาที พบว่าจำนวน *C. jejuni* รอดชีวิตเหลืออยู่จำนวน 7.5, 6.6, 3.7, 3.3, 2.9 และ 2.4 log CFU/ml ตามลำดับ จากเชื้อเริ่มต้น 8 log CFU/ml และเมื่อได้รับโอโซนเป็นเวลา 9 นาที *C. jejuni* รอดชีวิตเหลือต่ำกว่า 1 log/CFU/ml และการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนทั้งหมดของเซลล์ *C. jejuni* ด้วยวิธี SDS-PAGE พบว่าเมื่อ *C. jejuni* ได้รับโอโซนเป็นเวลา 9 นาที โปรตีนในช่วงน้ำหนักโมเลกุล 31.00 kDa-200.00 kDa มีการเสียสภาพทางธรรมชาติของโปรตีนจนไม่สามารถพบแถบโปรตีนดังกล่าวอีก และจากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของยีนก่อโรค *C. jejuni* ด้วยวิธี PCR หลังจากได้รับโอโซนเป็นเวลา 9 นาที พบว่าสามารถทำลายยีนก่อโรค *cad*F, *cdt*A, *cdt*B และ *cdt*C ของ *C jejuni* ได้

วรพรรณี เผ่าทองศุข (2550) น้ำตาลสดจากมะพร้าวและน้ำลำไยเป็นเครื่องดื่มน้ำหวานผลไม้ของไทยที่เป็นที่นิยมกันทั่วไป งานวิจัยนี้ได้ทำการทดลองใช้โอโซนร่วมกับอุณหภูมิในการกำจัดเชื้อแบคทีเรีย (*Salmonella typhimurium* และ *Escherichia coli*) และยีสต์ (*Saccharomyces cereviseae*) ในน้ำตาลสดและน้ำลำไย โดยหลังจากเติมหัวเชื้อแบคทีเรียหรือยีสต์ลงในน้ำหวานผลไม้ปริมาตร 1 ลิตร จะทำการพ่นโอโซนความเข้มข้น 300 มก.-โอโซน/ชั่วโมง ด้วยอัตรา 2.5 ลิตร/นาที

การทดลองทำในอุณหภูมิแตกต่างกันได้แก่อุณหภูมิต่ำ (4°C) อุณหภูมิสูง (50°C) และอุณหภูมิห้อง (28°C) โดยใช้การพ่นอากาศที่ผ่านการกรองกำจัดเชื้อแล้วเป็นชุดควบคุม ผลการทดลองพบว่าโอโซนสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและยีสต์ในน้ำหวานได้ โดยการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิทั้งระดับต่ำและสูงจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อของโอโซน โดยโอโซนมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. typhimurium* และ *E. coli* ได้ในระดับใกล้เคียงกัน แต่ยีสต์จะมีความทนทานต่อโอโซนมากกว่า ซึ่งผลการศึกษาพบว่าสภาวะที่ดีที่สุดในการยับยั้งแบคทีเรียและยีสต์ก็คือการใช้โอโซนร่วมกับอุณหภูมิสูง (50°C)

สืบเนื่อง ชัยชนะ และคณะ (2550) การศึกษาประสิทธิภาพสารละลายโอโซนต่อการลดการปนเปื้อน *Salmonella* spp. และ *Listeria* sp. ที่มักปนเปื้อนบนหนังหมูที่มีปริมาณเชื้อเริ่มต้น 4-5 log CFU/g เมื่อฉีดพ่นสารละลายโอโซนด้วยระบบผ่านท่อ ventury ที่ความเร็ว 0.8 L/min ความดัน 0.5 bar เป็นเวลานาน ($X_1$) 10-120 วินาที ที่ระยะห่าง ($X_2$) 10-30 ซม. และทิ้งให้มีเวลาสัมผัสโอโซนนาน (X3) 5-15 นาที พบว่าเมื่อฉีดพ่นนานขึ้น และเวลาการสัมผัสนานขึ้น จะมีประสิทธิภาพการทำลายเชื้อแกรมลบ *Salmonella* spp. และแกรมบวก *Listeria* sp. ได้เพิ่มขึ้นตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) และที่สภาวะเดียวกันพบว่าโอโซนมีประสิทธิภาพลดเชื้อ *Salmonella* spp. และสูงกว่า *Listeria* sp. ($p<0.05$) ค่าความสัมพันธ์ระหว่างประสิทธิภาพการลดเชื้อ *Salmonella* spp. ($Y= 0.686-0.0134X_1+0.0068X_2-0.0247X_3$) และ *Listeria* sp. ($Y= 0.2729-0.0052X_2+ 0.025X_3$) กับระยะห่าง เวลาฉีดพ่น และเวลาสัมผัสสารละลายโอโซน พบว่ามีค่าสัมประสิทธิความสัมพันธ์ ($R^2$) เท่ากับ 0.82 และเท่ากับ 0.69 ตามลำดับ จึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำสมการสหสัมพันธ์ดังกล่าว ประเมินประสิทธิภาพการลดการปนเปื้อน *Salmonella* spp. และ *Listeria* sp. ด้วยสารละลายโอโซนในอนาคต ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดแสดงว่าการฉีดพ่นด้วยน้ำโอโซนอิ่มตัว สามารถทำลายเมมเบรนของแบคทีเรียที่ทดสอบได้

การประยุกต์ใช้โอโซนในอาหารทะเล การทำลายเชื้อจุลินทรีย์ของก๊าซโอโซนบนพื้นผิวอาหารมีประสิทธิภาพน้อยกว่าบนตัวกลางที่ต้องการโอโซนต่ำ ดังนั้นการลดจำนวนจุลินทรีย์ในอาหารจึงขึ้นกับธรรมชาติและองค์ประกอบของพื้นผิวอาหาร ชนิดของจุลิทรีย์ที่ปนเปื้อน และระยะเวลาที่จุลินทรีย์สัมผัสกับอาหาร โดยในอุตสาหกรรมประมงได้มีการทดสอบการใช้ก๊าซโอโซนเป็นสารฆ่าเชื้อแล้ว พบว่าก๊าซโอโซนมีประสิทธิ ภาพในการลดจำนวนจุลินทรีย์ สามารถเพิ่มคุณภาพทางประสาทสัมผัส และเพิ่มระยะเวลาการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้

Haragushi, Simidu และ Aiso (1969) รายงานว่าการใช้น้ำเกลือ 3% ที่มีก๊าซโอโซนเข้มข้น 0.6 ppm นาน 30-60 นาที ในการล้างปลา Jack mackerel สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ 2-3 log และยืดอายุการเก็บได้ 20-60% เมื่อใช้น้ำโอโซนล้างทุก 2 วัน

Kim และคณะ (2000) พบว่าน้ำโอโซนเข้มข้น 10 ppm สามารถลด total Coliform และ Psychrotrophs ใน Channel catfish fillets ได้ 0.7 และ 0.52 log ตามลำดับ และลดจำนวนแบคทีเรียแกรมลบ เช่น Acinetobacter, Pseudomonas และ Aeromonas ได้ แต่ไม่มีผลต่อแบคทีเรียแกรมบวกแต่อย่างใด นอกจากนี้ยังยืดอายุการเก็บได้มากกว่า 25%

Crapo et al. (2004) ศึกษาการใช้คลอรีนในการควบคุมปริมาณจุลินทรีย์เปรียบเทียบกับการใช้โอโซน พบว่าโอโซนให้ผลในการควบคุมยับยั้งจุลินทรีย์ในปลาแซลมอน และช่วยยืดอายุในการเก็บรักษาในการขนส่งทางเรือ

# บทที่ 3
# วิธีดำเนินการวิจัย

ในการดำเนินการวิจัย เรื่อง ผลของโอโซนต่อการยกระดับคุณภาพและยืดอายุการเก็บรักษาอาหารทะเลบรรจุสุญญากาศ โดยศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด โคลิฟอร์มแบคทีเรีย และ *E.coli* ในตัวอย่างอาหารทะเล ต่อมาศึกษาประสิทธิภาพการลดเชื้อที่ปนเปื้อนบนอาหารทะเลด้วยการผ่านโอโซนกับไม่ผ่านโอโซน สุดท้ายคือ ศึกษาผลต่อการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในสภาวะสุญญากาศ เมื่อผู้วิจัยได้ศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องจึงได้จัดหาเครื่องมือ และอุปกรณ์เพื่อศึกษาการวิจัย โดยมีรายละเอียดของเครื่องมือและอุปกรณ์ และวิธีการดำเนินการ ดังต่อไปนี้

**เครื่องมือและวัสดุ อุปกรณ์**

**1. สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย**

1.1 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด โคลิฟอร์มแบคทีเรียและ *E.coli*

1) Normal saline
2) อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Plate count agar (PCA)
3) อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว lauryl sulfate tryptone (LST)
4) อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง eosin methylene blue agar (EMB)
5) อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว EC (EC broth)

1.2 สารเคมีที่ใช้ในในเครื่องกำเนิดโอโซนและการหาความเข้มข้นของโอโซน

1) สารละลาย Absorbing reagent 1% KI ใน 0.1 M Phophate buffer
2) สารละลายไอโอดีนมาตรฐาน (Standard iodine)
3) โพแทสเซียมไอโอไดส์
4) ไอโอดีน
5) โพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต
6) Anhydrous disodium hydrogen phosphate
7) น้ำกลั่น

**2. วัสดุ อุปกรณ์**

2.1 วัสดุ อุปกรณ์ ที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด โคลิฟอร์มแบคทีเรียและ *E.coli*

1) ทิป (tip)
2) ขวดรูปชมพู่ (flask)
3) แท่งแก้วงอ (spreader)
4) ถุงพลาสติก
5) หลอดทดลอง (test tube)

6) บีกเกอร์ (beaker)
7) จานเพาะเชื้อ (petri dish)
8) ตะเกียงแอลกอฮอล์ (turnel)
9) ช้อนตักสาร (spatula)
10) ลวดเขี่ยเชื้อ (loop)
11) ปากคีบ (forcep)
12) หลอดดักก๊าซ (durum tube)
13) ปิเปตต์ (pepette)
14) เครื่องชั่งแบบละเอียด (analytical balance)
15) หม้อนึ่งความดันไอ (autoclave)
16) ตู้อบไอร้อน (hot air oven)
17) ตู้ถ่ายเชื้อ (laminar air flow)
18) ตู้บ่มเชื้อ (incubator)

2.2 วัสดุ อุปกรณ์ ที่ใช้ในในเครื่องกำเนิดโอโซนและการหาความเข้มข้นของโอโซน

1) ท่อโลหะไร้สนิมทรงกระบอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 33 มิลลิเมตร และเส้นผ่านศูนย์กลางภายนอก 35 มิลลิเมตร

2) หลอดแก้ว pyrex ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 15 มิลลิเมตร และเส้นผ่านศูนย์กลางภายนอก 18 มิลลิเมตร ยาว 150 มิลลิเมตร

3) แท่งโลหะไร้สนิม ยาว 170 มิลลิเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร
4) ลวดทองเหลือง
5) แท่งอะคลิลิก
6) ยางโอริง
7) ถังก๊าซออกซิเจน
8) มาตรวัดอัตราการไหล
9) แผงควบคุมระบบเปิดปิดไฟแรงสูงทั้งหมด
10) ขดลวดจุดระเบิด (ignition coil) 12 โวลต์
11) เครื่องหรี่ไฟ (light dimmer) 220 $V_{ac}$ ± 10% 50- 60 Hz 500 W
12) ตัวต้านทาน (resistor) 50 โอมห์ 10 วัตต์
13) ปลอกสายเคเบิล (cable) ไฟฟ้าแรงสูงขนาด 15 กิโลโวลต์
14) ตัวเก็บประจุขนาด 0.47 ไมโครฟารัด 1000 โวลต์
15) หัววัดศักย์ไฟฟ้า Hewlett Parkard รุ่น 54502A
16) เครื่องออสซิลโลสโคป ยี่ห้อ Hewlett Parkard รุ่น 54502A
17) เครื่อง UV visible spectrometer ยี่ห้อ Perkin Elmer
18) midget impringer

2.3 วัสดุ อุปกรณ์ ที่ใช้สำหรับการบรรจุภัณฑ์สุญญากาศ

1) ถุงพลาสติก Polyethylene (PE)

2) เครื่องบรรจุภัณฑ์สุญญากาศ ยี่ห้อ brother รุ่น VM-400

**ภาพที่ 3.1** แสดงเครื่อง Stomacher

**ภาพที่ 3.2** แสดงเครื่องชั่งไฟฟ้า

**ภาพที่ 3.3** แสดงหัววัดศักย์ไฟฟ้า

**ภาพที่ 3.4** แสดงเครื่องบรรจุภัณฑ์สุญญากาศ

**3. ขั้นตอนและวิธีการวิจัย**

ในการดำเนินการวิจัย เรื่อง ผลของโอโซนต่อการยกระดับคุณภาพและยืดอายุการเก็บรักษาอาหารทะเลบรรจุสุญญากาศ ได้กำหนดขั้นตอนและวิธีการวิจัยเพื่อศึกษาตามวัตถุประสงค์ของการวิจัย ดังนี้

ประเด็นแรก ศึกษาการปนเปื้อนของแบคทีเรียในอาหารทะเล บริเวณบ้านปากนคร อ.เมือง จ.นครศรีธรรมราช โดยได้กำหนดการศึกษาในตอนที่ 1 การวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด โคลิฟอร์มแบคทีเรีย และ *E.coli* ในตัวอย่างอาหารทะเล

ประเด็นที่สอง การสร้างระบบพลาสมาโอโซไนเซอร์สำหรับการวิจัย โดยได้กำหนดการศึกษาในตอนที่ 2 การออกแบบ และทดสอบระบบขั้วอิเล็กโทรดสำหรับพลาสมาโอโซไนเซอร์ ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อผลผลิตโอโซนในส่วนของอัตราการไหลของก๊าซออกซิเจน ความต่างศักย์ที่ให้กับหลอดโอโซน และเวลาที่สัมผัสโอโซน เพื่อกำหนดค่าพารามิเตอร์ที่เหมาะสมสำหรับการนำไปใช้กับอาหารทะเล ที่ได้กำหนดการศึกษาในตอนที่ 3

ประเด็นที่สาม เป็นการศึกษาประสิทธิภาพการลดลงของเชื้อที่ปนเปื้อนบนอาหารทะเลด้วยการผ่านโอโซนกับไม่ผ่านโอโซน วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างประสิทธิภาพการลดเชื้อ *E.coli* ที่ปนเปื้อนบนอาหารทะเลกับความต่างศักย์ และเวลาสัมผัสสารสารละลายโอโซน โดยได้กำหนดการศึกษาในตอนที่ 3 การศึกษาประสิทธิภาพการลดเชื้อที่ปนเปื้อนบนอาหารทะเลด้วยการผ่านโอโซน

ประเด็นสุดท้าย ศึกษาผลต่อการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ โดยใช้ความเข้มข้นของโอโซน และระยะเวลาที่ดีที่สุดจากการพิจารณาในตอนที่ 3 บรรจุอาหารทะเลในถุงพลาสติก Polyethylene เก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในสภาวะสุญญากาศ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และประเมินลักษณะปรากฏ โดยใช้ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเกินมาตรฐาน ความสด และหรือลักษณะปรากฏ และประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

โดยมีรายละเอียดแต่ละตอน ดังนี้

**ตอนที่ 1 การวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด โคลิฟอร์มแบคทีเรีย และ *E.coli* ในตัวอย่างอาหารทะเล**

1.1 การเก็บตัวอย่าง

ลงพื้นที่เก็บตัวอย่างอาหารทะเลในเขตเทศบาลตำบลปากนคร อ.เมือง จ.นครศรีธรรมราช จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ ปูดำ หอยแมงภู่ และปลาดุกทะเล ชนิดละ 3 ตัวอย่าง โดยเก็บรักษาในน้ำแข็งควบคุมอุณหภูมิไม่ให้เกิน 4 องศาเซลเซียส ระยะเวลาตั้งแต่เก็บตัวอย่างจนถึงการตรวจไม่เกิน 3 ชั่วโมง เพื่อศึกษาปริมาณแบคทีเรียทังหมด ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียและ *E. coli* และใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นของชนิด และปริมาณแบคทีเรียในอาหารทะเลสด

1.2 การวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด

นำตัวอย่าง 25 กรัม ใส่ในสารละลาย 0.85% Normal Saline ปริมาตร 225 มิลลิลิตร บดให้ละเอียดด้วยเครื่อง Stomacher ทำการเจือจางตัวอย่างที่ระดับ $10^{-2}$-$10^{-5}$ ด้วยสารละลาย 0.85% Normal Saline ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ดูดสารละลายตัวอย่างแต่ละความเจือจางปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร Spread ลงบนอาหาร Plate count agar (PCA) บ่มที่อุณหภูมิ 35$^{\circ}$C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกผลปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่เกิดขึ้น

1.3 การวิเคราะห์ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียและ *E.coli*

ทำการวิเคราะห์ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียและ *E. coli* ในตัวอย่างอาหารทะเล ดังนี้

การทดสอบ Presumptive test

1) นำตัวอย่างอาหารทะเลที่ระดับความเจือจาง $10^{-1}$-$10^{-3}$ จำนวน 1 มิลลิลิตร ถ่ายลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Lauryl Sulfate Tryptone (LST) ความเข้มข้น 2 เท่า ซึ่งบรรจุหลอดจำนวน 9 มิลลิลิตร ทำซ้ำความเจือจางละ 3 หลอด

2) นำไปเพาะเชื้อที่ 35 °C ตรวจการเกิดกรดและก๊าซภายใน 24 ชั่วโมง ถ้าไม่พบนำไปเพาะเชื้อต่อจนครบ 48 ชั่วโมง แล้วบันทึกผล

Confirm test

1) นำ loop เขี่ยเชื้อจากหลอดบรรจุอาหาร LST ที่ให้ผลบวก ใส่ลงในอาหาร EC

2) นำไปเพาะเชื้อที่ 35 °C ตรวจการเกิดกรดและก๊าซภายใน 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมงตามลำดับ คำนวณค่า coliform bacteria จากตาราง MPN (Most probable number)

Complete test สำหรับ *E. coli*

เขี่ยเชื้อจากหลอดบรรจุอาหาร EC ที่ให้ผลบวกมา streak ลงบนอาหาร Eosin Methylene Blue agar (EMB) เพื่อแยกเชื้อ นำไปเพาะเชื้อที่ 35°C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ถ้าเป็นเชื้อ *E. coli* จะให้โคโลนีที่มีลักษณะเป็น metallic sheen

**ตอนที่ 2 การออกแบบ และทดสอบระบบขั้วอิเล็กโทรดสำหรับพลาสมาโอโซไนเซอร์ และการหาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตโอโซน**

2.1 การออกแบบและทดสอบระบบขั้วอิเล็กโทรดสำหรับพลาสมาโอโซไนเซอร์

2.2 ศึกษาการหาความเข้มข้นของปริมาณโอโซน โดยวิธีมาตรฐานโพแทสเซียมไอโอไดส์

2.3 ศึกษาอัตราการไหลของออกซิเจนที่เหมาะสมในการผลิตโอโซน

2.4 หาความเข้มข้นของปริมาณโอโซนที่ความต่างศักย์ต่างๆ พิจารณาใช้อัตราการไหลที่ได้ปริมาณโอโซนมากที่สุด ที่เวลาต่างๆ

2.5 เตรียมสารละลายโอโซน ทำโดยปรับให้ก๊าซออกซิเจนบริสุทธิ์ (99.9%) ไหลผ่านเครื่องผลิตโอโซนระบบ dielectric barrier discharge ผสมกับน้ำ ผ่านไปบนอาหารทะเลที่สร้างการปนเปื้อนเชื้อ

**ตอนที่ 3 การศึกษาประสิทธิภาพการลดเชื้อที่ปนเปื้อนบนอาหารทะเลด้วยการผ่านโอโซน**

3.1 เตรียมตัวอย่างโดยนำตัวอย่างอาหารทะเลมาล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ ผึ่งให้สะเด็ดน้ำที่อุณหภูมิห้อง (30±2 °C) ตรวจหาเชื้อจุลินทรีย์ที่มีตามธรรมชาติ (background flora)

3.2 สร้างการปนเปื้อน (Artificial Contamination) โดยนำกล้าเชื้อ ($10^8$ CFU/ml)

หยดบนตัวอย่างและใช้แท่งแก้ว (spreader) เกลี่ยให้ทั่วตัวอย่าง ผึ่งบนถาดโฟมและวางใน Laminar air flow cabinet ที่อุณหภูมิห้อง (30±2 °C) เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นล้างเซลล์ที่ไม่ยึดเกาะกับตัวอย่างด้วย deionize water ผึ่งไว้ที่อุณหภูมิ ห้อง (30±2 °C) เป็นเวลา 5 นาที ก่อนทำการทดสอบและตรวจสอบจำนวนเชื้อเริ่มต้น

3.3 ศึกษาการลดเชื้อ *E. coli* ที่ปนเปื้อนบนอาหารทะเลด้วยโอโซนที่ได้จากระบบพลาสมาโอโซไนเซอร์ในตอนที่ 2 โดยนำตัวอย่างอาหารทะเลผ่านโอโซนที่ความความต่างศักย์ไฟฟ้า 6, 7 และ 8 กิโลโวลต์ และเวลาสัมผัส 10, 30, 60 และ 120 วินาที ที่อุณหภูมิห้อง (30±2 °C) พิจารณาการลดเชื้อ *E. coli* ที่ปนเปื้อนบนอาหารทะเล ตรวจสอบจำนวนเชื้อที่เหลือรอดด้วยเทคนิค spread plate บนอาหาร XLD และอาหาร PALCAM ตามลำดับ ทำการทำลองเงื่อนไขละ 3 ซ้ำ นำค่าที่ได้ไปหาค่าเฉลี่ย วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Ducan's New Multiple Range Teat (DMRT) และการทดสอบค่าที (T-test) โดยใช้โปรแกรม Microsoft Excel 2003

3.4 วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างการลดเชื้อ *E. coli* ที่ปนเปื้อนบนอาหารทะเลกับความต่างศักย์ไฟฟ้าและเวลาสัมผัสสารสารละลายโอโซน โดยวิธี multiple regression

**ตอนที่ 4 ศึกษาผลต่อการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในสภาวะสุญญากาศ**

4.1 นำตัวอย่างอาหารทะเลมา 2 ชุด โดยชุดแรกนำตัวอย่างแช่ในน้ำเย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นชุดควบคุม ชุดที่สองนำแช่ในน้ำโอโซนโดยใช้ปริมาณความเข้มข้นของโอโซนและระยะเวลาที่ดีที่สุดจากการพิจารณาในตอนที่ 3

4.2 บรรจุอาหารทะเลในถุงพลาสติก Polyethylene (PE) ปรับสภาวะบรรยากาศภายในถุง โดยใช้เครื่องบรรจุแบบสุญญากาศ เก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

4.3 ประเมินลักษณะปรากฏที่เปลี่ยนแปลงตลอดอายุการเก็บรักษา โดยถ้าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเกินมาตรฐาน ความสด และหรือลักษณะปรากฏไม่เป็นที่ยอมรับถือว่าสิ้นสุดอายุการเก็บรักษา นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบความแตกต่าง

4.4 ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยใช้การทดลองแบบ RCBD (Randomized Complete Block Design) นำตัวอย่างอาหารทะเลในสภาวะต่างๆ นึ่งด้วยไอน้ำนาน 5 นาที แล้วประเมินคุณภาพทางด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม ในการชิมใช้ผู้ทดสอบจำนวน 15 คน โดยใช้ผู้ชิมชุดเดียวกันตลอดการทดลอง ระบบการให้คะแนนแบบ 9-point hedonic scale (คะแนน 1 หมายถึง ไม่ชอบมากที่สุด และ 9 หมายถึง ชอบมากที่สุด) กำหนดให้คะแนนต่ำกว่า 5 เป็นคะแนนที่ผู้บริโภคไม่ยอมรับ คะแนนที่ได้จากการประเมินนำไปหาค่าเฉลี่ย วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Ducan's New Multiple Range Teat (DMRT) และการทดสอบค่าที (T-test) โดยใช้โปรแกรม Microsoft Excel 2003

# บทที่ 4
# ผลการวิจัยและอภิปรายผล

การวิจัย เรือง ผลของโอโซนต่อการยกระดับคุณภาพและยืดอายุการเก็บรักษาอาหารทะเลบรรจุสุญญากาศ จากการลงพื้นที่เก็บตัวอย่าง การทดลอง ตามขั้นตอนในการดำเนินการวิจัยตามที่แบ่งไว้ในบทที่ 3 ซึ่งมีความสอดคล้องตามวัตถุประสงค์ของการวิจัย ผลการทดลองและการวิเคราะห์ผลในงานวิจัยนี้ จะได้นำเสนอผลตามลำดับ ดังนี้

ประเด็นแรก ศึกษาการปนเปื้อนของแบคทีเรียในอาหารทะเล บริเวณบ้านปากนคร อ.เมือง จ.นครศรีธรรมราช โดยได้กำหนดการศึกษาในตอนที่ 1 การวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด โคลิฟอร์มแบคทีเรีย และ *E.coli* ในตัวอย่างอาหารทะเล

ประเด็นที่สอง การสร้างระบบพลาสมาโอโซไนเซอร์สำหรับการวิจัย โดยได้กำหนดการศึกษาในตอนที่ 2 การออกแบบ และทดสอบระบบขั้วอิเล็กโทรดสำหรับพลาสมาโอโซไนเซอร์ และหาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตโอโซนในส่วนของอัตราการไหลของก๊าซออกซิเจน

ประเด็นที่สาม การศึกษาประสิทธิภาพการลดลงของเชื้อที่ปนเปื้อนบนอาหารทะเลด้วย การผ่านโอโซนกับไม่ผ่านโอโซน วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างประสิทธิภาพการลดเชื้อ ***E.coli*** ที่ปนเปื้อนบนอาหารทะเลกับความต่างศักย์ และเวลาสัมผัสสารสารละลายโอโซน

ประเด็นสุดท้าย ศึกษาผลต่อการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ โดยใช้ความเข้มข้นของโอโซนและระยะเวลาสัมผัส จากการพิจารณาในตอนที่ 3 บรรจุอาหารทะเลในถุงพลาสติก Polyethylene เก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในสภาวะสุญญากาศ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และประเมินลักษณะปรากฏ โดยใช้ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเกินมาตรฐาน ความสด และหรือลักษณะปรากฏ และประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

โดยมีผลการวิจัยแต่ละตอน ดังนี้

**ตอนที่ 1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด โคลิฟอร์มแบคทีเรีย และ *E.coli* ในตัวอย่างอาหารทะเล**

จากการลงพื้นที่ ต.ปากนคร อ.เมือง จ.นครศรีธรรมราช เพื่อเก็บตัวอย่างอาหารทะเลจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ ปูดำ (*Scylla serrata)* หอยแมลงภู่ (*Perna viridis)* และปลาดุกทะเล *(Plotosus lineatus)* ดังภาพที่ 4.1 และ 4.2 ตามลำดับ ชนิดละ 3 ตัวอย่าง โดยเก็บรักษาในน้ำแข็งควบคุมอุณหภูมิไม่ให้เกิน 4 องศาเซลเซียส ระยะเวลาตั้งแต่เก็บตัวอย่างจนถึงการ ตรวจไม่เกิน 3 ชั่วโมง นำมาวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรีย และ *E. coli* ดังแสดงในตารางที่ 4.1

**ภาพที่ 4.1** แสดงพื้นที่ที่ทำการศึกษา

**ภาพที่ 4.2** แสดงตัวอย่างอาหารทะเลที่นำมาศึกษา

**ตารางที่ 4.1** แสดงปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรีย และ *E. coli* ที่พบในตัวอย่างอาหารทะเลสด

| ตัวอย่าง | Total bacteria (CFU/g) | Total coliform (MPN Coliform/g) | *E. coli* |
|---|---|---|---|
| ปูดำ *Scylla serrata* | $9.3X10^6$ | >1,100 | พบ |
| หอยแมลงภู่ *Perna viridis* | $2.6X10^6$ | 240 | พบ |
| ปลาดุกทะเล *Plotosus lineatus* | $1.1X10^7$ | >1,100 | พบ |

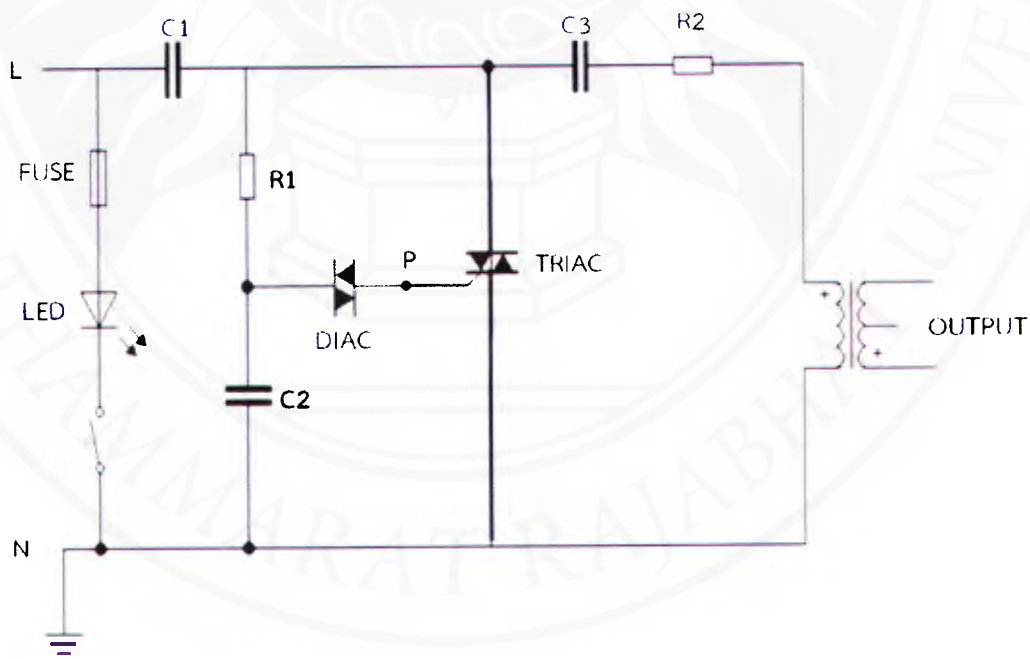
จากการตรวจสอบปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในตัวอย่างอาหารทะเลสด ที่เก็บจากบริเวณเขตเทศบาลตำบลปากนคร อ.เมือง จ.นครศรีธรรมราช จำนวน 3 ชนิด ชนิดละ 3 ตัวอย่าง พบว่าในตัวอย่าง ปูดำ มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเฉลี่ย $9.3X10^{6}$ CFU/g, หอยแมลงภู่ มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเฉลี่ย $2.6X10^{6}$ CFU/g, และปลาดุกทะเล มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเฉลี่ย $1.1X10^{7}$ CFU/g ส่วนปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียในตัวอย่างอาหารทะเลสด พบว่าในตัวอย่าง ปูดำ และปลาดุกทะเล มีปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียมากกว่า 1,000 MPN/g ส่วนหอยแมลงภู่ มีปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรีย 240 MPN/g ซึ่งปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียที่พบในปริมาณสูงเกินเกณฑ์ทั้งหมด และในตัวอย่างทั้ง 3 ชนิด มีการปนเปื้อนเชื้อ *E. coli* ดังแสดงในตารางที่ 4.1

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ได้ออกมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.9007-2548) ในเรื่อง ข้อกำหนดด้านความปลอดภัยสินค้าเกษตรและอาหาร ได้กำหนดจุลินทรีย์สำหรับอาหารที่บริโภคได้ และใช้เป็นวัตถุดิบ ต้องไม่เกินเกณฑ์ที่กำหนด ในกลุ่มสินค้าปลา กุ้งสดแช่เยือกแข็ง/แช่เย็น มีจำนวนจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด (total viable count) ที่ยอมรับได้ในตัวอย่างที่ตรวจสอบต้องไม่เกิน $5.0 \times 10^{5}$ CFU/g และเอสเคอริเคีย โคไล *(E. coli)* <3 MPN/g โดยวัดจากจำนวนจุลินทรีย์ที่ยอมรับได้ในตัวอย่างที่ตรวจสอบ

**ตอนที่ 2 ผลการออกแบบ และทดสอบระบบขั้วอิเล็กโทรดสำหรับพลาสมาโอโซไนเซอร์และการหาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตโอโซน**

**2.1 การออกแบบและทดสอบระบบขั้วอิเล็กโทรดสำหรับพลาสมาโอโซไนเซอร์**

ในงานวิจัยนี้ใช้วงจรที่มีขดลวดจุดระเบิด (ignition coil) เป็นตัวจ่ายไฟแรงสูงให้กับหลอดโอโซน โดยวงจรสำหรับกระแสเข้าของขดลวดจุดระเบิด คือ แหล่งจ่ายไฟกระแสสลับ 220 โวลต์ ซึ่งลักษณะการทำงานเหมือนกับวงจรฟลายแบ็คทรานฟอร์เมอร์ (flyback Transformer)




**ภาพที่ 4.3** แสดงวงจรแหล่งจ่ายไฟฟ้า

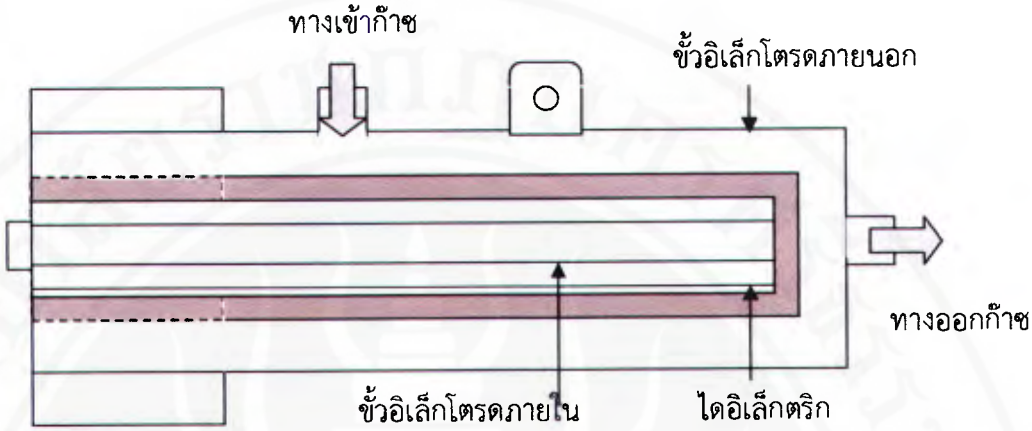
โดยหลักการทำงานของวงจรประกอบด้วยตัวเก็บประจุ C1 เป็นโหลดทำหน้าที่จำกัดกระแส (limit current) พิจารณาครึ่งลูกคลื่นที่เป็นค่าบวก (half cycle+) ลวด L เป็นบวกเมื่อเทียบกับสายดิน (ground) ตัวเก็บประจุ C2 จะถูกเก็บประจุ โดยผ่านตัวเก็บประจุ C3 ตัวต้านทาน R2 ขดลวด L1 โดยไตรแอก (TRIAC) จะเปิดอยู่ในขณะเดียวกันตัวเก็บประจุ C2 จะถูกเก็บประจุโดยผ่านตัวต้านทาน R1 ทำให้ความต่างศักย์ที่จุด D มีค่าเพิ่มขึ้นจนถึงพิกัดเบรกดาวน์ (break down) ของไดแอก (DIAC) เกิดเป็นกระแสไหลไป trig ขาเกท (gate) ของไตรแอก ทำให้ไตรแอกเกิดนำกระแสตัวเก็บประจุ C3 ก็จะดิสชาร์จผ่านไตรแอก ขดลวด L1 ขดลวดจุดระเบิดขดแรก (Primary of Ignition coil) อย่างรวดเร็ว ทำให้เกิดความต่างศักย์ที่ขดลวดขดที่สอง (Secondary coil) สูงมาก

ในครึ่งลูกคลื่นที่เป็นค่าลบ (half cycle-) ก็เช่นเดียวกันลวด L เป็นลบเมื่อเทียบกัน สายดิน มีลักษณะเหมือนครึ่งลูกคลื่นที่เป็นค่าบวกแต่ต่างกันตรงที่ตัวเก็บประจุ C3 จะถูกเก็บประจุ ประจุในอีกด้านหนึ่งแทนซึ่งกระแสที่ได้จากการดิสชาร์จก็จะไหลกลับทิศกับตอนแรก โดยสามารถเลือกมุมทริกของไตรแอกได้ด้วยการปรับค่าตัวต้านทาน ซึ่งจะเป็นการปรับเวลาในการทริกที่เกิดจากการเก็บประจุประจุตัวเก็บประจุ C3 มีค่าเปลี่ยนไปในแต่ละครึ่งลูกคลื่น ทำให้ความต่างศักย์ที่ออกไปถูกปรับค่าได้

ทำการทดสอบหาความต่างศักย์ของแหล่งจ่ายไฟฟ้าแรงสูง ด้วยหัววัดความต่างศักย์สูงที่สามารถลดอัตราส่วนความต่างศักย์ 1000 เท่า ในการวัดค่าความต่างศักย์ต่างๆ ของเครื่อง โดยนำไปวัดตรงที่กระแสออกมา เป็นความต่างศักย์สูง และปรับสเกลโวลต์ของออสซิลโลสโคปให้แต่ละช่องมีค่าเท่ากับ 10V/div และปรับสเกลคาบให้แต่ละช่องมีค่า 250 μS/div แปลผลผ่านเครื่องออสซิลโล – สโคป พบว่า ความต่างศักย์ที่ได้อยู่ในระดับกิโลโวลต์ โดยสัญญาณที่วัดได้ที่ระดับ 6-10 กิโลโวลต์

ต่อมาปรับสเกลคาบและโวลต์ให้เป็น 800 μs/div และ 2 V/div เพื่อหาค่าความถี่ที่เกิดขึ้นระหว่างการดิสชาร์จ พบว่า ที่ 6 กิโลโวลต์ จะได้ค่า t = 480 μs ความถี่ที่ได้เท่ากับ 2.083 kHz ที่ 8 และ 18 กิโลโวลต์ จะได้ค่า t = 496 μs ความถี่ที่ได้เท่ากับ 2.016 kHz เท่ากัน นั่นคือจะได้ช่วงความถี่อยู่ที่ประมาณ 2.05 kHz เนื่องจากความถี่ที่ได้คงที่ ความถี่ที่ได้เป็นความถี่เฉลี่ยของความต่างศักย์ตั้งแต่ 6-10 กิโลโวลต์

การออกแบบและสร้างเซลล์โอโซไนเซอร์ สำหรับในงานวิจัยนี้จะใช้หลักการดิสชาร์จแบบไซเรนท์ ในการสร้างเซลล์โอโซไนเซอร์เพื่อผลิตก๊าซโอโซน ซึ่งมีลักษณะของโอโซไนเซอร์ที่ใช้ในการผลิตโอโซนแสดงดังภาพที่ 4.4 โดยลักษณะของไซเรนท์ดิสชาร์จเป็นปรากฏการณ์ที่อยู่ระหว่างการดิสชาร์จแบบโคโรนาและการดิสชาร์จแบบเรืองแสง เกิดขึ้นที่ความดันบรรยากาศหรือสูงกว่านี้ทำให้เทคนิคนี้เป็นที่นิยมในการนำมาประยุกต์ใช้ เนื่องจากไม่มีปัญหาเกี่ยวกับระบบสุญญากาศหน่วย การกำเนิดก๊าซโอโซนหรือโอโซไนเซอร์ประกอบด้วย ท่อแก้ว ช่องว่างดิสชาร์จ และแหล่งจ่ายศักย์ไฟฟ้าแรงสูง ความถี่สูง




**ภาพที่ 4.4** แสดงโอโซไนเซอร์ที่ใช้ในการผลิตโอโซนในงานวิจัย

เมื่อปล่อยก๊าซออกซิเจนเข้าไปในตัวกำเนิดโอโซนที่สะอาดและแห้ง การเกิดโอโซนจะเกิดปรากฏการณ์โคโรนาภายใต้เงื่อนไขที่เหมาะสม สามารถเขียนความสัมพันธ์ได้ ดังนี้

$$V \propto pg \qquad (4.1)$$

$$\frac{Y}{A} \propto \frac{f\varepsilon V^2}{d} \qquad (4.2)$$

เมื่อ $\frac{Y}{A}$ คือ ปริมาณผลผลิตโอโซนต่อหนึ่งหน่วยพื้นที่ของขั้วไฟฟ้า

V คือ ศักย์ไฟฟ้าระหว่างขั้ว

p คือ ความดันของก๊าซในช่องว่าง (gap) ที่อยู่ระหว่างไดอิเล็กตริกกับขั้วไฟฟ้าชั้นใน

g คือ ความกว้างของช่องว่าง (gap) ที่อยู่ระหว่างไดอิเล็กตริกกับขั้วไฟฟ้าชั้นใน

f คือ ความถี่ของศักย์ไฟฟ้า

$\varepsilon$ คือ ค่าคงที่ไดอิเล็กตริก

d คือ ความหนาของไดอิเล็กตริก

การทำให้ปริมาณโอโซนที่ได้มีค่าที่เหมาะสม ขึ้นอยู่กับ

1) ความดันและช่องว่าง (gap) ที่อยู่ระหว่างไดอิเล็กตริกกับขั้วไฟฟ้าชั้นใน ที่เกิดขึ้นควรจะทำให้ศักย์ไฟฟ้ามีค่าต่ำ

2) วัสดุที่ใช้ทำไดอิเล็กตริกควรจะบาง และมีค่าคงที่ไดอิเล็กตริกสูง

3) ควรใช้ไฟฟ้ากระแสสลับความถี่สูง เนื่องจากที่ความถี่สูง จะทำลายผิวไดอิเล็กตริกน้อยกว่าที่ศักย์ไฟฟ้าสูง จากเหตุผลนี้ส่งผลทำให้ช่วยลดการบำรุงรักษาเครื่องมือ และยังช่วยยืดอายุการใช้งานของเครื่องมือด้วย ในขณะที่ปริมาณโอโซนที่ได้ก็จะมากขึ้น

4) ระบบระบายความร้อนควรจะมีประสิทธิภาพสูง โดยอาศัยก๊าซที่ไหลผ่านช่อง ว่างที่อยู่ระหว่างไดอิเล็กตริกกับขั้วไฟฟ้าชั้นใน เพื่อให้เกิดการระบายความร้อน ซึ่งส่งผลทำให้ปริมาณโอโซนที่เกิดขึ้นมีความเข้มข้นน้อยลง ถ้าต้องการให้โอโซนมีความเข้มข้นมากขึ้นควรจะเพิ่มระบบหล่อเย็น

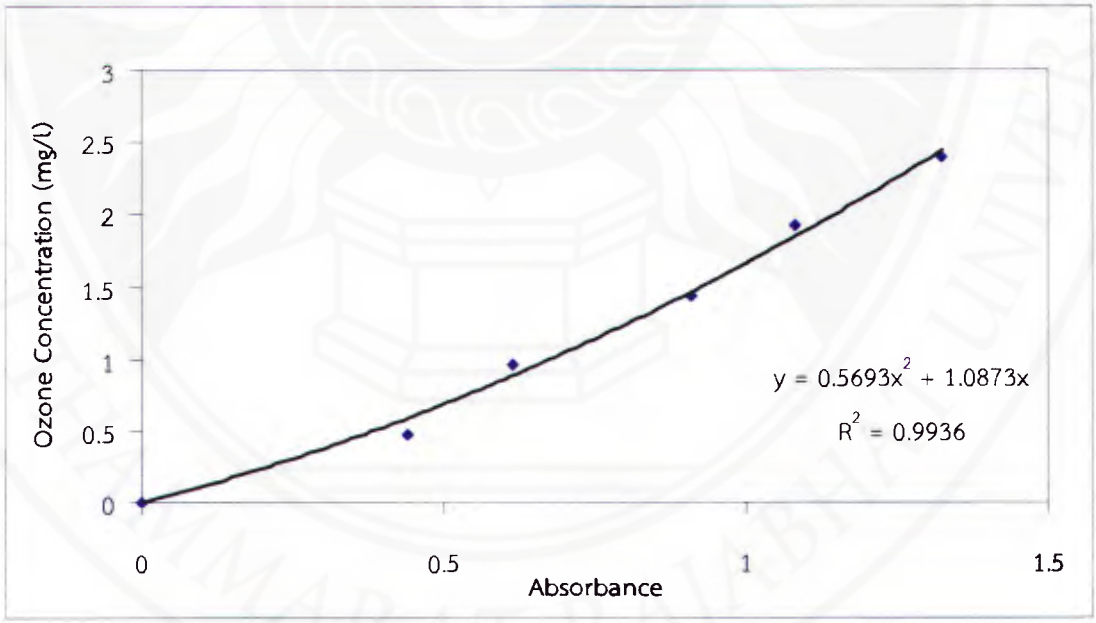
**2.2 ศึกษาการหาความเข้มข้นของปริมาณโอโซน โดยวิธีมาตรฐานโพแทสเซียมไอโอไดส์**

โอโซนที่ผลิตได้จากเซลพลาสมาโอโซไนเซอร์สามารถวัดได้โดยใช้วิธีมาตรฐานโพแทสเซียมไอโอไดส์ (AOAC, 1995) จะได้กราฟไอโอดีนมาตรฐานที่ใช้เป็นกราฟมาตรฐานในการเปรียบเทียบหาปริมาณไอโอดีน ($I_2$) ที่เกิดขึ้นจากโอโซนที่ผลิตได้ไปทำปฏิกิริยากับไอโอไดด์ไอออน ($I^-$) เกิดเป็นไอโอดีน ($I_2$) ใน absorbing reagent ซึ่งไอโอดีนสามารถตรวจสอบได้โดยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่จะทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของไอโอดีนที่ 352 นาโนเมตร ทำให้สามารถบอกปริมาณโอโซนที่เกิดขึ้น ได้จากปริมาณไอโอดีนที่เกิดขึ้น ตามสมการ

$$O_3 + 2KI + H_2O \rightarrow I_2 + 2KOH + O_2 \qquad (4.3)$$

จากสมการข้างต้น 1 โมล ของโอโซน จะได้ 1 โมล ของไอโอดีน ($I_2$) ดังนั้นปริมาณของโอโซนที่ได้สามารถอ่านได้โดยตรงจากกราฟมาตรฐานของค่าการดูดกลืนแสง ($I_2$) กับปริมาณของโอโซน

จากการศึกษาการหาปริมาณโอโซน โดยวิธีมาตรฐานโพแทสเซียมไอโอไดส์ จะได้กราฟไอโอดีนมาตรฐานที่ใช้เป็นกราฟมาตรฐานในการเปรียบเทียบหาปริมาณโอโซน ดังภาพที่ 4.5




**ภาพที่ 4.5** แสดงกราฟมาตรฐานการดูดกลืนแสงต่อปริมาณโอโซนที่ความเข้มข้นต่างๆ

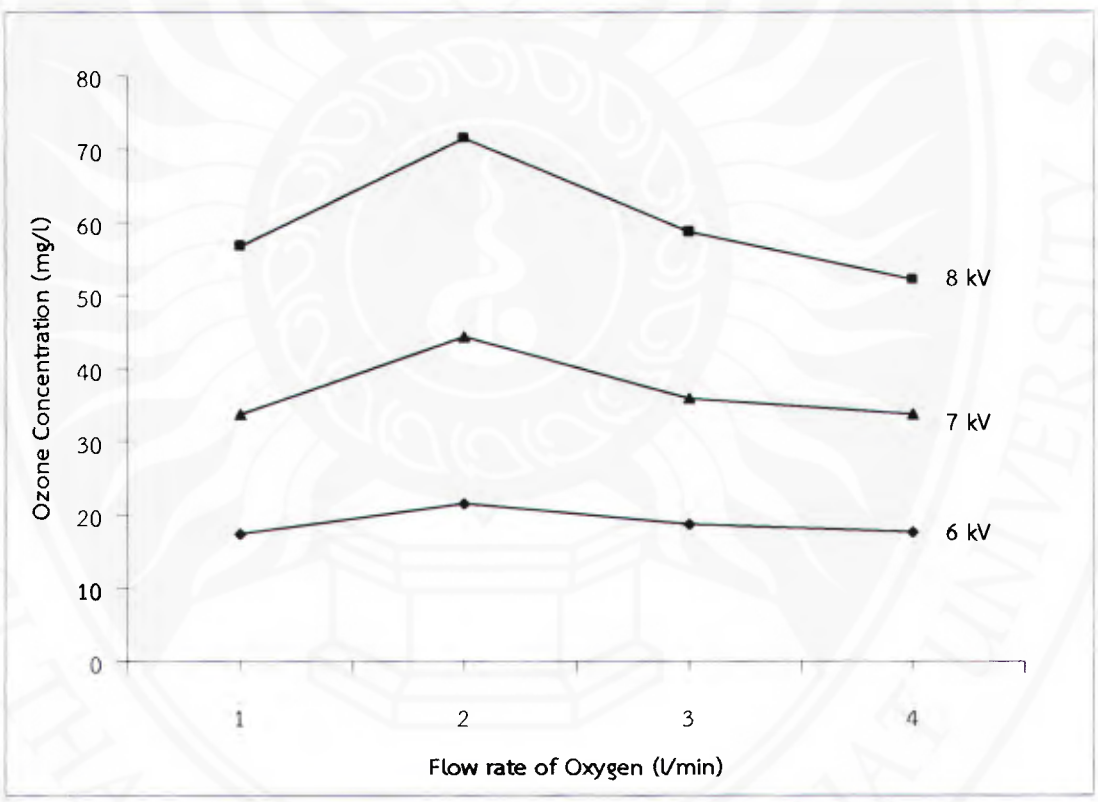
เขียนสมการของกราฟ

$$y = ax^2 + bx \qquad (4.4)$$

เมื่อ y คือ ความเข้มข้นของโอโซน หน่วย มิลลิกรัมต่อลิตร
x คือ ค่าการดูดกลืนแสง
a = 0.5693, b = 1.0873

**2.3 ศึกษาอัตราการไหลของออกซิเจนที่เหมาะสมในการผลิตโอโซน โดยใช้อัตราการไหล 1, 2, 3 และ 4 ลิตรต่อนาที ที่ความต่างศักย์ 6, 7 และ 8 กิโลโวลต์**

จากการศึกษาผลของอัตราการไหลเชิงปริมาตรของก๊าซออกซิเจนขาเข้าหลอดโอโซไนเซอร์ที่ค่าต่างๆ ต่อปริมาณความเข้มข้นของโอโซนที่ผลิตได้ โดยกำหนดอัตราการไหลของก๊าซออกซิเจนในช่วง 1, 2, 3 และ 4 ลิตรต่อนาที เวลาที่ใช้ในการดิสชาร์จ 2 นาที จะได้ผลการทดลองที่ความต่างศักย์ไฟฟ้าในช่วง 6, 7 และ 8 กิโลโวลต์ ดังแสดงในภาพที่ 4.6



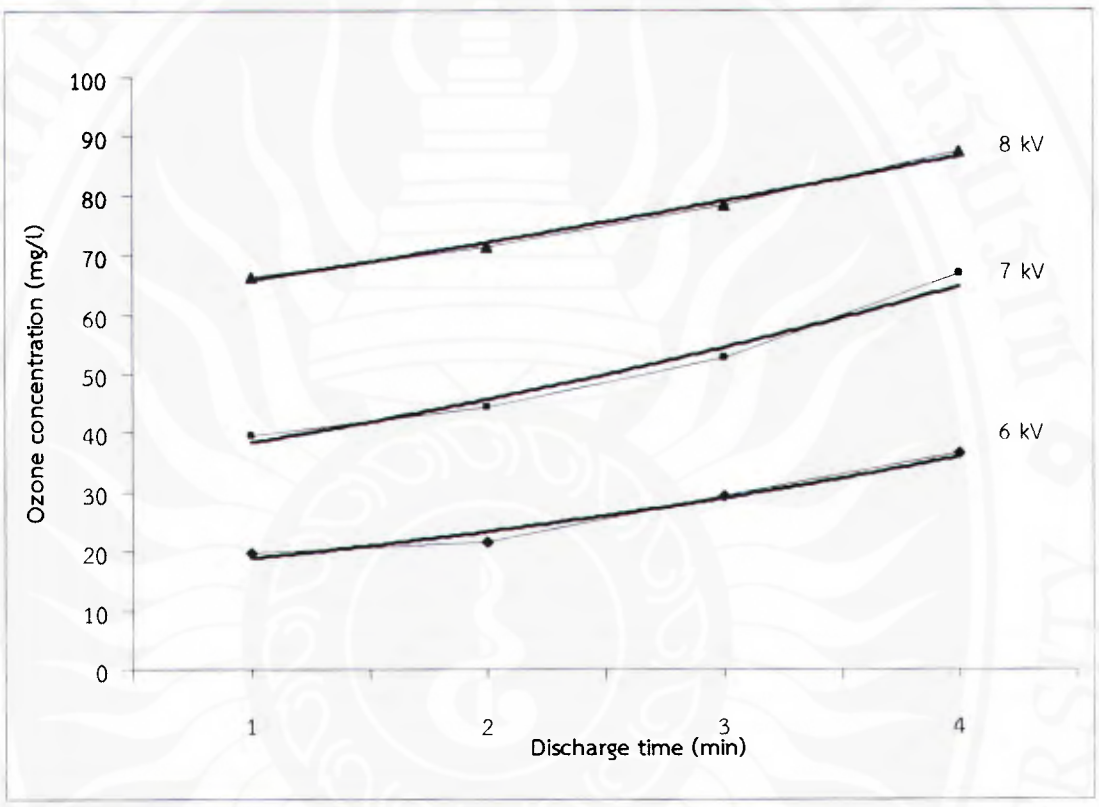

**ภาพที่ 4.6** แสดงปริมาณโอโซนที่อัตราการไหลของก๊าซออกซิเจน 1, 2, 3 และ 4 ลิตรต่อนาที ที่ความต่างศักย์ไฟฟ้าในช่วง 6, 7 และ 8 กิโลโวลต์

จากภาพที่ 4.6 พบว่า ที่ความต่างศักย์ 6 กิโลโวลต์ ปริมาณโอโซนที่เกิดขึ้นเป็น 17.44, 21.56, 18.75 และ 17.55 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อัตราการไหลของก๊าซออกซิเจน 1, 2, 3 และ 4 ลิตรต่อนาที ตามลำดับ ที่ความต่างศักย์ 7 กิโลโวลต์ ปริมาณโอโซนที่เกิดขึ้นเป็น 33.78, 44.34, 35.58 และ 33.47 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อัตราการไหลของก๊าซออกซิเจน 1, 2, 3 และ 4 ลิตรต่อนาที ตามลำดับ ที่ความต่างศักย์ 8 กิโลโวลต์ ปริมาณโอโซนที่เกิดขึ้นเป็น 56.67, 71.57, 58.51 และ 52.14 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อัตราการไหลของก๊าซออกซิเจน 1, 2, 3 และ 4 ลิตรต่อนาที ตามลำดับ การเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลของก๊าซออกซิเจน มีผลต่อการปริมาณการเกิดโอโซนของระบบ นั่นคือ เมื่อให้เงื่อนไขของศักย์ไฟฟ้าที่จ่ายให้กับระบบ และปัจจัยอื่นๆ ให้มีค่าคงที่ พบว่า อัตราการไหลของก๊าซที่เพิ่มขึ้นในช่วงหนึ่งเท่านั้นที่จะทำให้ปริมาณการเกิดโอโซนเพิ่มขึ้น โดยในการทดลองนี้อัตราการไหล 2 ลิตรต่อนาที เป็นอัตราการไหลที่ทำให้เกิดโอโซนมากที่สุด และหลังจากอัตราการไหลช่วงนี้แล้ว ปริมาณการเกิดโอโซนจะลดลง เนื่องจากศักย์ไฟฟ้าที่ให้เพื่อทำให้เกิดการแตกตัวระดับหนึ่งที่ทำให้สามารถผลิตโอโซนได้มากสุด น่าจะมีสาเหตุมาจาก ณ ปริมาณศักย์ไฟฟ้าคงที่นั้น พลังงานที่ป้อนให้กับระบบ (โอโซไนเซอร์) คงที่ ซึ่งเพียงพอต่อจำนวนโมเลกุลของออกซิเจนขนาดหนึ่ง ดังนั้นหากเพิ่มปริมาณโมเลกุลของออกซิเจนมากขึ้น โดยเพิ่มอัตราการไหล จึงเป็นผลให้ปริมาณโมเลกุลบางส่วนไม่สามารถถูกดิสชาร์จและเปลี่ยนไปเป็นโอโซนได้ อีกเหตุผลหนึ่งน่าจะมาจากการที่อัตราการไหลของอากาศสูงๆ จะทำให้โมเลกุลของออกซิเจนไหลผ่านเร็วมากในบริเวณช่องว่างดิสชาร์จ ทำให้โมเลกุลของก๊าซส่วนมากไม่ได้ถูกทำให้แตกตัวในเวลาที่เหมาะสม ทำให้ปริมาณโอโซนต่ำกว่าที่อัตราการไหลต่ำๆ

ภายใต้อัตราการไหลของก๊าซออกซิเจนที่ต่างกัน ความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ต่างกัน ขณะที่ใช้เวลาดิสชาร์จเท่าๆ กัน จะเห็นว่า อัตราการไหลของก๊าซออกซิเจนที่เหมาะสมในการผลิตโอโซนของแต่ละความต่างศักย์ไฟฟ้า จะมีค่าเท่ากัน คือ 2 ลิตรต่อนาที เนื่องจากเป็นอัตราการไหลที่ให้ปริมาณโอโซนมากกว่าที่อัตราการไหลอื่นๆ ดังนั้นในการศึกษาจึงเลือกกำหนดอัตราการไหลของก๊าซออกซิเจนเพียงค่าเดียวคือที่ 2 ลิตรต่อนาที

**2.4 หาความเข้มข้นของปริมาณโอโซนที่ความต่างศักย์ต่างๆ พิจารณาใช้อัตราการไหลที่ได้ปริมาณโอโซนมากที่สุด ใช้ความต่างศักย์ 6, 7 และ 8 กิโลโวลต์ ที่เวลา 1, 2, 3 และ 4 นาที**

จากการหาปริมาณโอโซนที่เวลาต่างๆ ของแต่ละความต่างศักย์ไฟฟ้า โดยให้อัตราการไหลของก๊าซออกซิเจน 2 ลิตรต่อนาที จะได้กราฟแสดงปริมาณโอโซนที่ความต่างศักย์ไฟฟ้าในช่วง 6, 7 และ 8 กิโลโวลต์ แสดงดังภาพที่ 4.7




**ภาพที่ 4.7** แสดงปริมาณโอโซนที่ความต่างศักย์ไฟฟ้า 6, 7 และ 8 กิโลโวลต์ ที่อัตราการไหลของก๊าซออกซิเจน 2 ลิตรต่อนาที ที่เวลาดิสชาร์จใน 1, 2, 3 และ 4 นาที

จากผลของการทดลอง พบว่า ที่ความต่างศักย์ 6 กิโลโวลต์ ปริมาณโอโซนที่เกิดขึ้นเป็น 19.47, 21.64, 29.44 และ 36.82 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เวลา 1, 2, 3 และ 4 นาที ตามลำดับ ที่ความต่างศักย์ 7 กิโลโวลต์ ปริมาณโอโซนที่เกิดขึ้นเป็น 39.52, 44.43, 52.84 และ 66.74 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เวลา 1, 2, 3 และ 4 นาที ตามลำดับ ที่ความต่างศักย์ 8 กิโลโวลต์ ปริมาณโอโซนที่เกิดขึ้นเป็น 66.54, 71.48, 78.78 และ 87.43 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เวลา 1, 2, 3 และ 4 นาที ตามลำดับ ปริมาณความเข้มข้นของการเกิดโอโซนกับการเปลี่ยนแปลงศักย์ไฟฟ้าที่ป้อนให้กับระบบ แสดงดังภาพที่ 4.7 พบว่า ที่เวลาดิสชาร์จเดียวกันปริมาณการเกิดโอโซนจะเพิ่มขึ้นตามการเพิ่มของศักย์ไฟฟ้า สามารถเขียนแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณความเข้มข้นของโอโซนกับเวลาดิสชาร์จ และได้ว่าการเปลี่ยนแปลงเวลาการดิสชาร์จทำให้ปริมาณโอโซนเพิ่มขึ้นเนื่องจากเวลาในการดิสชาร์จเพิ่มขึ้น ซึ่งก็

คือเวลาในการทำให้ก๊าซออกซิเจนแตกตัวแล้วรวมกันเป็นโอโซนมีมากขึ้นก็ย่อมได้โอโซนมากขึ้น คือ ปริมาณ yield ที่ได้เป็นฟังก์ชันกับค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ป้อนให้กับขั้วอิเล็กโตรด

เนื่องจากหลอดผลิตโอโซนที่ใช้ในการผลิตโอโซนในงานวิจัยเป็นแบบท่อทรงกระบอกซึ่งมีองค์ประกอบที่สัมพันธ์กับลักษณะของตัวเก็บประจุ สามารถหาค่าความจุไฟฟ้าจากสมการ

$$C = \frac{2\pi L \varepsilon \varepsilon_0}{\ln\left(\frac{r_e}{r_i}\right)} \qquad (4.5)$$

เมื่อ $C$ คือ ค่าความจุไฟฟ้า หน่วย ฟารัด (F)

$L$ คือ ความยาวของขั้วไฟฟ้า หน่วย เมตร (m)

$\varepsilon$ คือ ค่าคงที่ไดอิเล็กตริกในสุญญากาศ มีค่า $8.854\times10^{-12}$ หน่วย ฟารัดต่อเมตร (F/m)

$\varepsilon_0$ คือ ค่าคงที่ไดอิเล็กตริกสัมพัทธ์ ไม่มีหน่วย

$r_e, r_i$ คือ รัศมีภายนอกและภายในของขั้วไฟฟ้า หน่วย เมตร (m)

โดยในงานวิจัยนี้หลอดผลิตโอโซนมีค่า ดังนี้

$L$ = 0.15 m, $\varepsilon = 8.854\times10^{-12}$ F/m, $\varepsilon_{0\ \text{แก้ว pyrex}} = 5$, $r_e = 16.5\times10^{-3}$ m และ $r_i = 4\times10^{-3}$ m แทนค่าตามสมการ จะได้ค่าความจุไฟฟ้าของหลอดผลิตโอโซนเท่ากับ 29.43 pF

เมื่อทราบค่าความจุไฟฟ้าของหลอดผลิตโอโซน ทำให้สามารถศึกษาการใช้พลังงานทั้งหมดในการผลิตโอโซน ที่ความต่างศักย์ต่างๆ จากสมการ

$$E = \frac{1}{2}CV^2 \qquad (4.6)$$

เมื่อ $E$ คือ ค่าพลังงานไฟฟ้า หน่วย จูล (J)

$C$ คือ ค่าความจุไฟฟ้า หน่วย ฟารัด (F)

$V$ คือ ค่าความต่างศักย์ที่ขั้วไฟฟ้า หน่วย โวลต์ (V)

ดังนั้น ที่ 6 กิโลโวลต์ ใช้พลังงาน 529.74 $\mu J$

ที่ 7 กิโลโวลต์ ใช้พลังงาน 721.04 $\mu J$

ที่ 8 กิโลโวลต์ ใช้พลังงาน 941.76 $\mu J$

จะเห็นได้ว่ายิ่งใช้ความต่างศักย์สูงการสิ้นเปลืองพลังงานก็จะสูงขึ้น และจะทำให้เกิดความเสียหายต่อขั้วไฟฟ้าของหลอดผลิตโอโซนได้ง่าย ส่งผลให้อายุการใช้งานของหลอดผลิตโอโซนสั้น

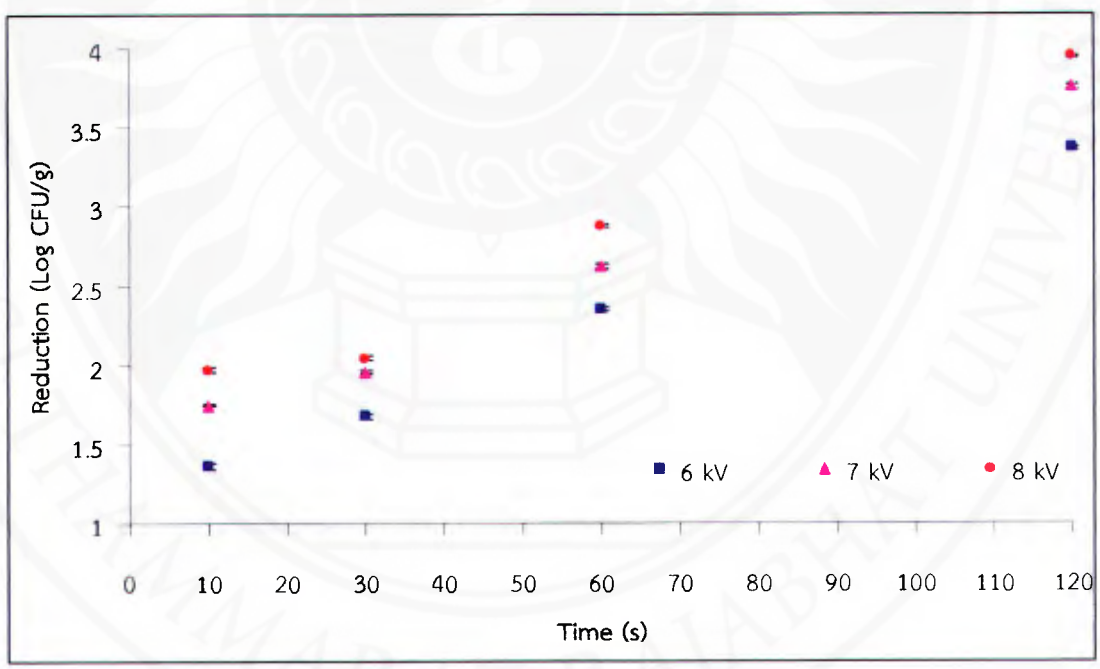
**ตอนที่ 3 ผลการศึกษาประสิทธิภาพการลดเชื้อที่ปนเปื้อนบนอาหารทะเลด้วยการผ่านโอโซน**

ระบบพลาสมาโอโซไนเซอร์ที่ได้จาก ตอนที่ 2 นำมาใช้ศึกษาประสิทธิภาพการลดเชื้อที่ปนเปื้อนบนอาหารทะเล โดยศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของโอโซน ที่เป็นผลจากความต่างศักย์ 6, 7 และ 8 กิโลโวลต์ กับเวลาที่สัมผัส 10, 30, 60 และ 120 วินาที ที่อุณหภูมิห้อง (30±2°C) ต่อประสิทธิภาพการลดเชื้อ *E. coli* ที่ปนเปื้อนบนอาหารทะเล ซึ่งกำหนดจำนวนเชื้อเริ่มต้นที่ประมาณ 8 log ผลการทดลองในตัวอย่าง ปูดำ, หอยแมลงภู่ และปลาดุกทะเล แสดงดังตารางที่ 4.2, 4.3 และ 4.4 ตามลำดับ

**ตารางที่ 4.2** แสดงการลดของปริมาณเชื้อ *E. coli* ในปูดำที่ความต่างศักย์ 6, 7 และ 8 กิโลโวลต์ กับเวลาที่สัมผัส 10, 30, 60 และ 120 วินาที

| ความต่างศักย์ (kV) | Log Reduction (log CFU/g) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 10 s | 30 s | 60 s | 120 s |
| 6 | $1.36 \pm 0.02^{a}$ | $1.68 \pm 0.01^{a}$ | $2.35 \pm 0.01^{a}$ | $3.36 \pm 0.01^{a}$ |
| 7 | $1.74 \pm 0.01^{b}$ | $1.95 \pm 0.01^{b}$ | $2.62 \pm 0.02^{b}$ | $3.75 \pm 0.01^{b}$ |
| 8 | $1.97 \pm 0.02^{c}$ | $2.04 \pm 0.01^{c}$ | $2.88 \pm 0.01^{c}$ | $3.94 \pm 0.01^{c}$ |

a,b,c,.. หมายถึง ตัวเลขที่มีอักษรเหมือนกันในคอลัมม์เดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

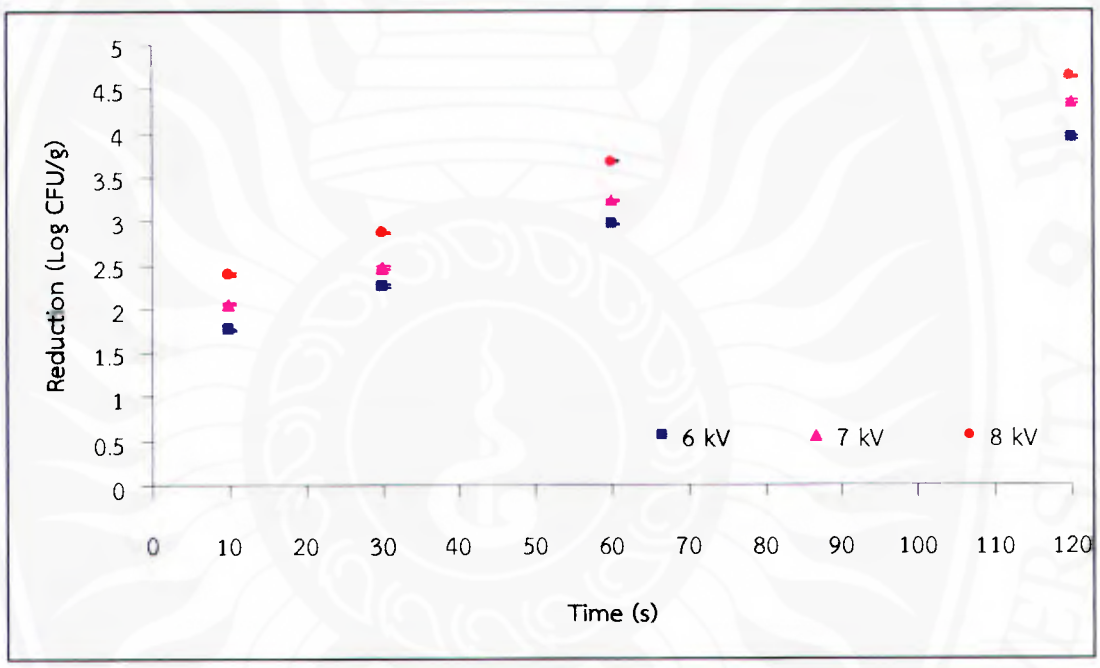



**ภาพที่ 4.8** แสดงการลดของปริมาณเชื้อ *E. coli* ในปูดำกับเวลาสัมผัส 10, 30, 60 และ 120 วินาที ที่ความต่างศักย์ 6, 7 และ 8 กิโลโวลต์

**ตารางที่ 4.3** แสดงการลดของปริมาณเชื้อ *E. coli* ในหอยแมลงภู่ที่ความต่างศักย์ 6, 7 และ 8 กิโลโวลต์ กับเวลาที่สัมผัส 10, 30, 60 และ 120 วินาที

| ความต่างศักย์ (kV) | Log Reduction (log CFU/g) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 10 s | 30 s | 60 s | 120 s |
| 6 | $1.77 \pm 0.01^{a}$ | $2.26 \pm 0.02^{a}$ | $2.95 \pm 0.02^{a}$ | $3.94 \pm 0.02^{a}$ |
| 7 | $2.06 \pm 0.01^{b}$ | $2.48 \pm 0.01^{b}$ | $3.22 \pm 0.01^{b}$ | $4.33 \pm 0.01^{b}$ |
| 8 | $2.40 \pm 0.02^{c}$ | $2.87 \pm 0.01^{c}$ | $3.68 \pm 0.02^{c}$ | $4.62 \pm 0.01^{c}$ |

a,b,c,.. หมายถึง ตัวเลขที่มีอักษรเหมือนกันในคอลัมม์เดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

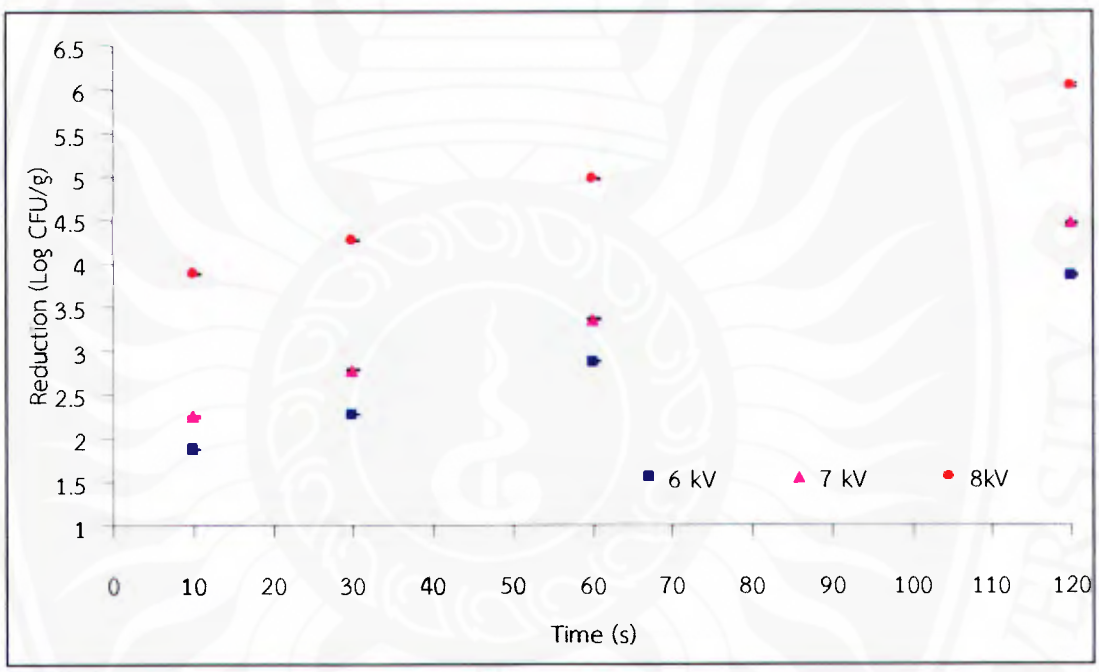



**ภาพที่ 4.9** แสดงการลดของปริมาณเชื้อ *E. coli* ในหอยแมลงภู่กับเวลาสัมผัส 10, 30, 60 และ 120 วินาที ทีความต่างศักย์ 6, 7 และ 8 กิโลโวลต์

**ตารางที่ 4.4** แสดงการลดของปริมาณเชื้อ *E. coli* ในปลาดุกทะเลที่ความต่างศักย์ 6, 7 และ 8 กิโลโวลต์ กับเวลาที่สัมผัส 10, 30, 60 และ 120 วินาที

| ความต่างศักย์ (kV) | Log Reduction (log CFU/g) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 10 s | 30 s | 60 s | 120 s |
| 6 | $1.86 \pm 0.01^{a}$ | $2.27 \pm 0.01^{a}$ | $2.95 \pm 0.01^{a}$ | $3.87 \pm 0.01^{a}$ |
| 7 | $2.24 \pm 0.01^{b}$ | $2.77 \pm 0.01^{b}$ | $3.48 \pm 0.01^{b}$ | $4.52 \pm 0.01^{b}$ |
| 8 | $3.88 \pm 0.01^{c}$ | $4.26 \pm 0.01^{c}$ | $4.97 \pm 0.01^{c}$ | $6.03 \pm 0.02^{c}$ |

a,b,c,.. หมายถึง ตัวเลขที่มีอักษรเหมือนกันในคอลัมม์เดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)




**ภาพที่ 4.10** แสดงการลดของปริมาณเชื้อ *E. coli* ในปลาดุกทะเลกับเวลาสัมผัส 10, 30, 60 และ 120 วินาที ที่ความต่างศักย์ 6, 7 และ 8 กิโลโวลต์

จากตารางที่ 4.2, 4.3, 4.4 และภาพที่ 4.8, 4.9, 4.10 พบว่า โอโซนสามารถลดของปริมาณเชื้อ *E. coli* ในตัวอย่างอาหารทะเลระดับความต่างศักย์และเวลาสัมผัสมีผลต่อการลดของปริมาณเชื้อ *E. coli* อย่างมีนัยสำคัญ สำหรับในปูดำ ที่ความต่างศักย์ 6 กิโลโวลต์ เวลาสัมผัส 10, 30, 60 และ 120 วินาที สามารถลดปริมาณเชื้อ *E. coli* ได้ 1.36, 1.68, 2.35 และ 3.36 log ตามลำดับ ที่ความต่างศักย์ 7 กิโลโวลต์ เวลาสัมผัส 10, 30, 60 และ 120 วินาที สามารถลดปริมาณเชื้อ *E. coli* ได้ 1.74, 1.95, 2.62 และ 3.75 log ตามลำดับ และที่ความต่างศักย์ 8 กิโลโวลต์ เวลาสัมผัส 10, 30, 60 และ 120 วินาที สามารถลดปริมาณเชื้อ *E. coli* ได้ 1.94, 2.04, 2.88 และ 3.94 log ตามลำดับ สำหรับในหอยแมลงภู่ ที่ความต่างศักย์ 6 กิโลโวลต์ เวลาสัมผัส 10, 30, 60 และ 120 วินาที สามารถลดปริมาณเชื้อ *E. coli* ได้ 1.77, 2.26, 295 และ 3.94 log ตามลำดับ ที่ความต่างศักย์ 7 กิโลโวลต์ เวลาสัมผัส 10, 30, 60 และ 120 วินาที สามารถลดปริมาณเชื้อ *E. coli* ได้ 1.74, 1.95, 2.62 และ 3.75 log ตามลำดับ และที่ความต่างศักย์ 8 กิโลโวลต์ เวลาสัมผัส 10, 30, 60 และ 120 วินาที สามารถลดปริมาณเชื้อ *E. coli* ได้ 2.06, 2.48, 3.22 และ 4.62 log ตามลำดับ และสำหรับในปลาดุกทะเล ที่ความต่างศักย์ 6 กิโลโวลต์ เวลาสัมผัส 10, 30, 60 และ 120 วินาที สามารถลดปริมาณเชื้อ *E. coli* ได้ 1.86, 2.95, 2.27 และ 3.87 log ตามลำดับ ที่ความต่างศักย์ 7 กิโลโวลต์ เวลาสัมผัส 10, 30, 60 และ 120 วินาที สามารถลดปริมาณเชื้อ *E. coli* ได้ 2.24, 2.77, 3.48 และ 4.52 log ตามลำดับ และที่ความต่างศักย์ 8 กิโลโวลต์ เวลาสัมผัส 10, 30, 60 และ 120 วินาที สามารถลดปริมาณเชื้อ *E. coli* ได้ 3.88, 4.26, 4.97 และ 6.03 log ตามลำดับ

ค่าเปอร์เซ็นต์การลดลงของปริมาณเชื้อ *E. coli* พบว่า ในทุกตัวอย่างมีการลดลงของปริมาณเชื้อ *E. coli* ในตัวอย่างเห็นได้อย่างชัดเจน โดยเมื่อเวลาในการสัมผัสกับโอโซนมากขึ้นปริมาณเชื้อ *E. coli* ก็จะลดลงมากขึ้น โอโซนสามารถทำลายแบคทีเรียได้โดยการทำลายเกิดขึ้นที่เยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกของแบคทีเรีย จากนั้นจะทำให้เกิดการรั่วไหลของโปรตีนภายในเซลล์ออกสู่นอกเซลล์ และสุดท้ายจะทำให้เกิดการแตกสลายของเซลล์ ซึ่งจะทำให้โอโซนสามารถเข้าไปทำปฏิกิริยากับสารโปรตีนได้อย่างสมบูรณ์ (Hunt and Marinas, 1999) ทั้งนี้การที่โอโซนสามารถทำลายจุลินทรีย์ได้มาจากการที่โอโซนเป็นก๊าซที่ไม่คงตัวจะแตกสลายให้ก๊าซออกซิเจนและออกซิเจนอะตอมเรื่อยๆ อะตอมของออกซิเจนที่แตกตัวบางส่วนจะทำหน้าที่เป็น oxidizing agents ที่ทำลายจุลินทรีย์ได้

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างประสิทธิภาพการลดเชื้อ *E. coli* กับ ความต่างศักย์ และเวลาสัมผัสโอโซน โดยปริมาณเชื้อเริ่มต้น 7 log CFU/g เมื่อกำหนดอัตราการไหลของแก๊สออกซิเจนที่ 2 l/min ที่ความต่างศักย์ ($X_1$) 6-8 กิโลโวลต์ และเวลาสัมผัสโอโซน ($X_2$) 10, 30, 60 และ 120 วินาที พบว่า ประสิทธิภาพการลดเชื้อ *E. coli* เป็นผลหรือได้รับอิทธิพลจากความต่างศักย์ และเวลาสัมผัสโอโซน โดยมีความสัมพันธ์แสดงในรูปสมการถดถอยเชิงเส้นของผลของโอโซนต่อการทำลายเชื้อสำหรับตัวอย่างอาหารทะเล ดังนี้

ในปูดำเป็น $Y = 0.262X_1 + 0.959X_2$ มีค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ ($R^2$) เท่ากับ 0.988

ในหอยแมลงภู่เป็น $Y = 0.273X_1 + 0.946X_2$ มีค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ ($R^2$) เท่ากับ 0.985

ในปลาดุกทะเลเป็น $Y = 0.703X_1 + 0.679X_2$ มีค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ ($R^2$) เท่ากับ 0.977

Guzel-Seydim และคณะ (2004) กล่าวว่าโอโซนสามารถออกซิไดส์ sulfhydryl group ของโปรตีนทำให้เกิด polymerizalation เนื่องจากมี disulfide bond (-S-S) โมเลกุลของโปรตีนไม่สามารถคงรูปอยู่และไม่ทำหน้าที่ทางชีวภาพได้ และในการทำลายแบคทีเรียแกรมลบด้วยโอโซนนั้น site of action จะอยู่ที่เยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอก นอกจากนี้โอโซนยังสามารถออกซิไดส์ sulfhydryl group ที่เป็นส่วนประกอบของเอนไซม์ ทำให้เกิดการแตกสลายของโครงสร้างปกติของเอนไซม์มีผลทำให้เอนไซม์สูญเสียหน้าที่ทางด้าน enzymatic activity สำหรับการตายของแบคทีเรียด้วยโอโซนเกิดขึ้น อย่างรวดเร็ว เนื่องมาจากเกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติด้านการซึมผ่านของสารเข้าออกของเซลล์ (cellular permeability) ซึ่งเป็นผลมาจากการแตกสลายของเซลล์ (cell lysis) อย่างไรก็ตาม การเกิดการแตกสลายของเซลล์นั้นไม่ได้เกิดจากปฏิกิริยาขั้นแรกของโอโซนในการทำลายแบคทีเรีย แต่เกิดภายหลังที่มีความเข้มข้นของสารที่ทำหน้าที่ออกซิไดซ์เพิ่มสูงขึ้น (Greene et al., 1993)

**ตอนที่ 4 ศึกษาผลต่อการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในสภาวะสุญญากาศ**

ผลจากการนำตัวอย่างอาหารทะเลมา 2 ชุด โดยชุดแรกนำตัวอย่างแช่ในน้ำเย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นชุดควบคุม ชุดที่สองนำแช่ในน้ำโอโซนโดยใช้ปริมาณความเข้มข้นของโอโซน และระยะเวลาที่ดีที่สุดจากการพิจารณาในตอนที่ 3 มาบรรจุอาหารทะเลในถุงพลาสติก Polyethylene (PE) ปรับสภาวะบรรยากาศภายในถุง โดยใช้เครื่องบรรจุแบบสุญญากาศ เก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วทำการประเมินลักษณะปรากฏที่เปลี่ยนแปลงตลอดอายุการเก็บรักษา โดยถ้าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเกินมาตรฐาน ความสด และหรือลักษณะปรากฏไม่เป็นที่ยอมรับถือว่าสิ้นสุดอายุการเก็บรักษา นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบความแตกต่าง ได้ผลดังตารางที่ 4.5

**ตารางที่ 4.5** แสดงการประเมินลักษณะปรากฏที่เปลี่ยนแปลงและปริมาณจุลินทรีย์ที่ระยะการเก็บรักษาถึง 14 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

| ชนิดตัวอย่าง | ระยะเวลาการเก็บ (วัน) | กลิ่น | สี | pH | Total bacteria (CFU/g) |
|---|---|---|---|---|---|
| ปูดำ *Scylla serrata* | 0 | ปกติ | สด | $7.38^{g}$ | $3.3X10^{5}$ |
| | 2 | ปกติ | สด | $7.64^{h}$ | $5.7X10^{5}$ |
| | 4 | ปกติ | สด | $8.32^{k}$ | $6.2X10^{5}$ |
| | 6 | ปกติ | สด | $8.57^{l}$ | $6.7X10^{5}$ |
| | 8 | ปกติ | สด | $8.65^{l}$ | $7.1X10^{5}$ |
| | 10 | ปกติ | สด | $8.93^{m}$ | $8.3X10^{5}$ |
| | 12 | มีกลิ่นเน่า | ซีด | $9.27^{n}$ | $4.6X10^{6}$ |
| | 14 | มีกลิ่นเน่า | ซีด | $9.38^{n}$ | $3.0X10^{7}$ |
| หอยแมลงภู่ *Perna viridis* | 0 | ปกติ | สด | $6.45^{c}$ | $7.3X10^{4}$ |
| | 2 | ปกติ | สด | $6.51^{c}$ | $8.5X10^{4}$ |
| | 4 | ปกติ | สด | $6.79^{d}$ | $2.6X10^{5}$ |
| | 6 | ปกติ | สด | $7.22^{f}$ | $4.7X10^{5}$ |
| | 8 | ปกติ | สด | $7.70^{e}$ | $6.8X10^{5}$ |
| | 10 | ปกติ | สด | $7.72^{h}$ | $7.5X10^{5}$ |
| | 12 | ปกติ | ซีด | $7.84^{i}$ | $6.2X10^{6}$ |
| | 14 | มีกลิ่นเน่า | ซีด | $8.06^{j}$ | $8.8X10^{7}$ |
| ปลาดุกทะเล *Plotosus lineatus* | 0 | ปกติ | สด | $5.88^{a}$ | $6.7X10^{4}$ |
| | 2 | ปกติ | สด | $6.18^{b}$ | $7.2X10^{4}$ |
| | 4 | ปกติ | สด | $6.84^{d}$ | $4.5X10^{5}$ |
| | 6 | ปกติ | สด | $7.02^{e}$ | $6.4X10^{5}$ |
| | 8 | ปกติ | สด | $7.28^{f}$ | $7.7X10^{5}$ |
| | 10 | ปกติ | สด | $7.41^{g}$ | $9.7X10^{5}$ |
| | 12 | ปกติ | ซีด | $7.66^{h}$ | $8.6X10^{6}$ |
| | 14 | มีกลิ่นเน่า | ซีด | $7.87^{i}$ | $1.1X10^{7}$ |

a,b,c,.. หมายถึง ตัวเลขที่มีอักษรเหมือนกันในคอลัมม์เดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

จากตารางที่ 4.5 พบว่า ปูดำ ไม่ผ่านเกณฑ์ประมาณวันที่ 12 โดยมีกลิ่นเน่าเสีย สีซีด และมีค่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด $4.6X10^{6}$/กรัม ซึ่งมีค่าเกินมาตรฐาน ในหอยแมลงภู่ ไม่ผ่านเกณฑ์ประมาณวันที่ 12 โดยมีกลิ่นปกติ แต่ไม่ผ่านเกณฑ์เนื่องจากมีสีซีด และมีค่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด $6.2X10^{6}$/กรัม ซึ่งมีค่าเกินมาตรฐาน ในปลาดุกทะเลไม่ผ่านเกณฑ์ประมาณวันที่ 12 เช่นกัน โดยมีกลิ่นปกติ แต่มีสีซีด และมีค่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด $8.6X10^{6}$/กรัม ซึ่งมีค่าเกินมาตรฐาน แสดงว่ากลิ่นมีความสัมพันธ์กับปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดสอดคล้องกับ Wibowo และคณะ (1992) ที่พบว่ากลิ่นเป็นสิ่งที่สำคัญในการบอกถึงการทำงานของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียของกุ้ง และปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดมีความสัมพันธ์กับอายุการเก็บรักษาของอาหารทะเล โดยจะไม่เป็นที่ยอมรับถ้ามีการเปลี่ยนของสี แม้ว่ากลิ่นยังเป็นที่ยอมรับ Marshall และ Kim (1996) กุ้งกุลาดำที่เก็บ ณ อุณหภูมิห้อง 27 องศาเซลเซียส เริ่มมีกลิ่นเมื่อมีค่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดประมาณ $10^{6}$/กรัม

ในส่วนของค่า pH ของตัวอย่างอาหารทะเลทั้งสามตัวอย่างมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเก็บรักษานานขึ้น โดยในปูดำ มีค่าระหว่าง 7.38-9.38 ในหอยแมลงภู่มีค่าระหว่าง 6.45-8.06 และปลาดุกทะเล มีค่าระหว่าง 5.88-7.87 เนื่องจากเกิดการสร้าง Amine จากปฏิกิริยา Aminoacids decaboxylation (Leitao และ Rios, 2000) สอดคล้องกับรายงานของ Osama (2012) ที่พบว่าเมื่อวันในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นค่า pH ก็มีค่าเพิ่มขึ้น โดยได้ทำการศึกษาในตัวอย่างของกุ้ง

ผลจากการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยประเมินคุณภาพทางด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม โดยผู้ทดสอบจำนวน 15 คน โดยใช้สเกล 10 เซนติเมตร (ภาคผนวก ง) ได้ผลดังตารางที่ 4.6

**ตารางที่ 4.6** แสดงค่าเฉลี่ยคะแนนทางประสาทสัมผัสในด้านกลิ่น สี เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม ของตัวอย่างอาหารทะเล

| ชนิดตัวอย่าง | ระยะเวลาการเก็บ (วัน) | กลิ่น | สี | เนื้อสัมผัส | ความชอบโดยรวม |
|---|---|---|---|---|---|
| ปูดำ *Scylla serrata* | 0 | 9.76[a] | 9.85[a] | 9.82[a] | 9.87[a] |
| | 2 | 9.52[b] | 9.78[b] | 9.77[b] | 9.62[b] |
| | 4 | 9.27[c] | 8.85[c] | 8.96[c] | 8.73[c] |
| | 6 | 8.66[d] | 7.56[d] | 8.23[d] | 8.18[d] |
| | 8 | 8.05[e] | 7.14[e] | 7.87[e] | 7.93[e] |
| | 10 | 7.63[f] | 6.53[f] | 7.27[f] | 7.54[f] |
| หอยแมลงภู่ *Perna viridis* | 0 | 9.35[a] | 8.85[a] | 9.22[a] | 8.95[a] |
| | 2 | 9.11[b] | 8.77[b] | 9.05[b] | 8.84[b] |
| | 4 | 8.57[c] | 8.62[c] | 8.78[c] | 8.67[c] |
| | 6 | 8.35[d] | 8.43[d] | 8.33[d] | 8.36[d] |
| | 8 | 7.67[e] | 7.92[e] | 8.16[e] | 8.03[e] |
| | 10 | 7.54[f] | 7.86[f] | 8.04[f] | 7.85[f] |
| ปลาดุกทะเล *Plotosus lineatus* | 0 | 9.53[a] | 9.21[a] | 9.00[a] | 9.27[a] |
| | 2 | 9.24[b] | 8.98[b] | 8.85[b] | 9.07[b] |
| | 4 | 8.84[c] | 8.37[c] | 8.67[c] | 8.81[c] |
| | 6 | 8.56[d] | 8.06[d] | 8.45[d] | 8.32[d] |
| | 8 | 8.11[e] | 7.82[e] | 8.22[e] | 8.02[e] |
| | 10 | 8.03[f] | 7.67[f] | 8.04[f] | 7.86[f] |

a f หมายถึง ตัวเลขที่มีอักษรเหมือนกันในคอลัมม์เดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

จากตารางที่ 4.6 ผลจากการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านต่างๆ พบว่า คะแนนด้านกลิ่น ในทุกตัวอย่างมีแนวโน้มลดลง โดยในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษา ผู้ทดสอบให้คะแนนเฉลี่ยด้านกลิ่นประมาณ 9 ในทุกตัวอย่าง หมายถึง ทุกตัวอย่างยังมีกลิ่นที่ปกติ ซึ่งเป็นลักษณะที่ผู้บริโภคต้องการ และเมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษา 10 วัน มีคะแนนเฉลี่ยด้านกลิ่นประมาณ 7-8 หมายถึง กลิ่นอาจจะมีความผิดปกติเล็กน้อย แต่ยังเป็นลักษณะที่ยอมรับได้ เนื่องจากการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์สามารถผลิตแก๊ส เช่น คาร์บอนไดออกไซด์ แอมโมเนีย เป็นต้น ซึ่งสอดคล้องกับการตรวจปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด แสดงว่าโอโซนทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกลิ่นช้าลง สอดคล้องกับการศึกษาของ Kim และคณะ (2000) ที่รายงานว่าการใช้โอโซนเข้มข้น 10 ppm สามารถลดกลิ่นและจำนวนจุลินทรีย์บนชิ้นปลาตัวอย่างได้

คะแนนด้านสี ในทุกตัวอย่างมีแนวโน้มลดลง โดยในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษา ผู้ทดสอบให้คะแนนเฉลี่ยด้านสีประมาณ 9 ในทุกตัวอย่าง หมายถึง ทุกตัวอย่างยังมีสีที่ปกติ ซึ่งเป็นลักษณะที่

ผู้บริโภคต้องการ และเมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษา 10 วัน มีคะแนนเฉลียด้านสีประมาณ 6-7 หมายถึง สีที่มีความซีดในระดับที่ไม่มาก โดยในตัวอย่าง ปูดำ มีค่าลดลงมากกว่าในตัวอย่าง หอยแมลงภู่ และปลาดุกทะเล

คะแนนด้านเนื้อสัมผัส ในทุกตัวอย่างมีแนวโน้มลดลง โดยในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษา ผู้ทดสอบให้คะแนนเฉลี่ยด้านเนื้อสัมผัส ประมาณ 9 ในทุกตัวอย่าง หมายถึง ทุกตัวอย่างยังมีเนื้อสัมผัสที่ปกติ ซึ่งเป็นลักษณะที่ผู้บริโภคต้องการ และเมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษา 10 วัน มีคะแนนเฉลี่ยด้านเนื้อสัมผัส ประมาณ 7-8 หมายถึง เนื้อสัมผัสมีความแน่นน้อยกว่าเมื่อเริ่มต้น

คะแนนด้านความชอบโดยรวมในทุกตัวอย่างมีแนวโน้มลดลง โดยในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษา ผู้ทดสอบให้คะแนนเฉลี่ยด้านความชอบโดยรวมประมาณ 9 ในทุกตัวอย่าง หมายถึง ทุกตัวอย่างยังมีความชอบโดยรวมที่ปกติ ซึ่งเป็นลักษณะที่ผู้บริโภคต้องการ และเมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษา 10 วัน มีคะแนนเฉลี่ยด้านเนื้อสัมผัส ประมาณ 7 หมายถึง ความชอบโดยรวมในระดับที่ลดลงจาก ในตัวอย่าง ปูดำ มีค่าลดลงมากกว่าในตัวอย่าง หอยแมลงภู่ และปลาดุกทะเล แต่ยังเป็นลักษณะที่ยอมรับได้ เนื่องจากแม้กระบวนการเมทาบอลิซึมจะหยุดชะงักลงตั้งแต่สัตว์ตาย แต่เอนไซม์ทั้งหลายยังมีกิจกรรมอยู่แม้จะไม่ได้กินอาหาร เอนไซม์เหล่านั้นจะเกิด การย่อยตัวเองโดยย่อยองค์ประกอบของเนื้อให้เล็กลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งโปรตีนที่จะถูกย่อยสลายไปเป็น เปปไทด์ (peptide) กรดอะมิโน (amino acid) แอมโมเนีย (ammonia) และอื่นๆ โดยสารประกอบที่เกิดขึ้นบางอย่างให้สี เนื้อสัมผัส กลิน เช่น แอมโมเนีย (ammonia) อินโดล (indole) TMA (trimethylamine) เป็นต้น โอโซนสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ได้ ยืดอายุการเสื่อมของอาหารทะเลได้ ซึ่งเป็นการลดจุลินทรีย์เพียงบางส่วนจากปริมาณเมื่อเริ่มต้น แต่การเสื่อม สภาพยังคงดำเนินต่อไป เนื่องจากปัจจัยอื่นๆ เช่น การเกิด Autolytic reaction โดย Endogeneous enzyme ซึ่งทำให้เกิด สี กลิ่น และเนื้อสัมผัสที่เปลี่ยนไป เนื่องจากกล้ามเนื้อของพวก shellfish มีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันน้อย และ Collagenolytic enzyme ช่วยเร่งทำให้เนื้อของอาหารทะเลนิ่มในการเก็บรักษาในน้ำแข็ง และการเกิด Oxidative rancidity ซึ่งเป็นสาเหตุหลักของการเน่าเสียของอาหารทะเล (Ashie และคณะ, 1996)

# บทที่ 5
# สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

## สรุปผลการวิจัย

ในการดำเนินการวิจัย เรื่อง ผลของโอโซนต่อการยกระดับคุณภาพและยืดอายุการเก็บรักษาอาหารทะเลบรรจุสุญญากาศ โดยได้ศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรีย และ *E.coli* ในตัวอย่างอาหารทะเล ต่อมามีการออกแบบ และทดสอบระบบขั้วอิเล็กโทรดสำหรับพลาสมาโอโซไนเซอร์ และการหาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตโอโซน ประสิทธิภาพการลดเชื้อที่ปนเปื้อนบนอาหารทะเลด้วยการผ่านโอโซน สุดท้ายคือการศึกษาผลต่อการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ โดยใช้ความเข้มข้นของโอโซนและระยะเวลาสัมผัส บรรจุอาหารทะเลในถุงพลาสติก Polyethylene เก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในสภาวะสุญญากาศ และประเมินลักษณะปรากฏ โดยใช้ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเกินมาตรฐาน ความสด และหรือลักษณะปรากฏ และประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส ซึ่งสามารถสรุปผลการทดลองในแต่ละตอนที่เป็นไปตามวัตถุประสงค์ของการวิจัย ได้ดังนี้

1. ตัวอย่างอาหารทะเลสดที่เก็บจากบริเวณเขตเทศบาลตำบลปากนคร อ.เมือง จ.นครศรีฯ จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ ปูดำ (*Scylla serrata)* หอยแมลงภู่ (*Perna viridis)* และปลาดุกทะเล *(Plotosus lineatus)* มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรีย และ *E. coli* ในตัวอย่างอาหารทะเลสด พบในปริมาณสูงเกินเกณฑ์ทั้งหมด โดยมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.9007-2548) ในกลุ่มสินค้าปลา กุ้งสดแช่เยือกแข็ง/แช่เย็น กำหนดให้มีจำนวนจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด (total viable count) ที่ยอมรับได้ในตัวอย่างที่ตรวจสอบ ต้องไม่เกิน $5.0 \times 10^5$ cfu/g และเอสเคอริเคีย โคไล *(E. coli)* <3 MPN/g โดยวัดจากจำนวนจุลินทรีย์ที่ยอมรับได้ในตัวอย่างที่ตรวจสอบ

2. ความต่างศักย์ของแหล่งจ่ายไฟฟ้าแรงสูงได้อยู่ในระดับกิโลโวลต์ โดยสัญญาณที่วัดได้ถึงระดับ 16 กิโลโวลต์ ความถี่อยู่ที่ประมาณ 2.05 kHz เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลของก๊าซออกซิเจน พบว่าปริมาณความเข้มข้นโอโซนจะไม่เป็นสัดส่วนโดยตรงกับอัตราการไหลของก๊าซออกซิเจน แต่จะมีค่าสูงสุดที่อัตราการไหล 2 ลิตรต่อนาที ซึ่งเป็นค่าที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ปริมาณความเข้มข้นของการเกิดโอโซนกับการเปลี่ยนแปลงศักย์ไฟฟ้าที่ป้อนให้กับระบบ พบว่าที่เวลาดิสชาร์จเดียวกันปริมาณการเกิดโอโซนจะเพิ่มขึ้นตามการเพิ่มของศักย์ไฟฟ้า และได้ว่าการเปลี่ยนแปลงเวลาการดิสชาร์จทำให้ปริมาณโอโซนเพิ่มขึ้น เนื่องจากเวลาในการดิสชาร์จเพิ่มขึ้น ซึ่งก็คือเวลาในการทำให้ก๊าซออกซิเจนแตกตัวแล้วรวมกันเป็นโอโซนมีมากขึ้นก็ย่อมได้โอโซนมากขึ้น คือ ปริมาณ yield ที่ได้เป็นฟังก์ชันกับค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ป้อนให้กับขั้วอิเล็กโตรด

เนื่องจากหลอดผลิตโอโซนที่ใช้ในการผลิตโอโซนในงานวิจัยเป็นแบบท่อทรงกระบอก ซึ่งมีองค์ประกอบที่สัมพันธ์กับลักษณะของตัวเก็บประจุ ค่าความจุไฟฟ้าของหลอดผลิตโอโซนเท่ากับ 29.43 pF ที่ 6 กิโลโวลต์ ใช้พลังงาน 529.74 $\mu J$ ความต่างศักย์สูงการสิ้นเปลืองพลังงานก็จะสูงขึ้นและจะทำให้เกิดความเสียหายต่อขั้วไฟฟ้า ส่งผลให้อายุการใช้งานของหลอดผลิตโอโซนสั้น

3. ปริมาณเชื้อ *E. coli* ลดลงอย่างน้อย 1 log CFU/g และลดลงได้มากถึงประมาณ 6 log CFU/g ในตัวอย่างปลาดุกทะเล โดยเมื่อเวลาในการสัมผัสกับโอโซนมากขึ้นปริมาณเชื้อ *E. coli* ก็จะลดลงมากขึ้น โดยการลดเชื้อ *E. coli* เป็นผลหรือได้รับอิทธิพลจากความต่างศักย์ และเวลาสัมผัสโอโซนมีความสัมพันธ์แสดงในรูปสมการถดถอยเชิงเส้น

4. การประเมินลักษณะปรากฏที่เปลี่ยนแปลงและปริมาณจุลินทรีย์ที่ระยะการเก็บรักษาโดยทั้ง 3 ชนิด ไม่ผ่านเกณฑ์ประมาณวันที่ 12 นำมาหาผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส ซึ่งประเมินคุณภาพทางด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม ตัวอย่างอาหารทะเลทั้ง 3 ชนิด ที่ผ่านการเก็บ 0 วัน ซึ่งเป็นชุดควบคุม มีคะแนนที่สูงกว่าตัวอย่างที่มีระยะการเก็บ 10 วัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

**ข้อเสนอแนะ**

1. ระบบความปลอดภัยจากไฟฟ้าแรงสูงที่อาจมีการรั่วไหลของกระแสมาตามผิวอุปกรณ์ของการผลิตของระบบผลิตโอโซน ในการทดลองแต่ละครั้งจะต้องตรวจความเรียบร้อย และรอบคอบในการทดลองทุกครั้ง

2. ภายในเซลล์โอโซไนเซอร์ชั้นของไดอิเล็กตริกจะต้องแนบสนิทกับอิเล็กโตรด เพื่อป้องกันการอาร์คเกิดขึ้น ซึ่งเป็นการสูญเสียพลังงานโดยเปล่าประโยชน์ และทำให้เซลล์โอโซไนเซอร์เกิดความเสียหายได้ ทำให้อายุการใช้งานของเซลล์โอโซไนเซอร์จะสั้น

3.ในการประยุกต์ใช้งานเงื่อนไขของการผ่านโอโซนอาจไม่เหมือนกัน อาจต้องมีการศึกษา ในแต่ละชนิด เพื่อหาความเหมาะสมที่ถูกต้องที่สุด

# เอกสารอ้างอิง


คณะกรรมการอาหารแห่งชาติ. (2553). *กรอบยุทธศาสตร์การจัดการด้านอาหารของประเทศไทย.* (พิมพ์ครั้งที่ 1). กรุงเทพฯ: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการสร้างเสริมสุขภาพ.

ชัยวิทย์ ศิลาวัชนาไนย. (2529). *ฟิสิกส์ของดิสชาร์จไฟฟ้า.* สงขลา: ห้องปฏิบัติการพลาสมาฟิสิกส์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ทิพรักษ์ วงษาดี, ณฐนนท์ ตราชู, และไมตรี สุทธจิตต์. (2008). ผลของโอโซนต่อการรอดชีวิตของ Campylobacter jejuni. *KKU Res J*, 13(8), 919-929.

เทศบาลตำบลปากนคร อำเภอเมือง จังหวัดนครศรีธรรมราช. (2553). *แผนยุทธศาสตร์การพัฒนา (พ.ศ.2554 - 2559).* วันที่ค้นข้อมูล 16 กันยายน 2554, จากเวปไซต์ http://www.paknakhoncity.go.th

นภา โล่ห์ทอง. (2535). *จุลชีววิทยาของอาหารทะเลแช่แข็ง.* กรุงเทพฯ: ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ประสาร ชาตะรัตน์. (2538). *การสร้างโอโซนที่ความดันบรรยากาศด้วยโคโรน่าดิสชาร์จโดยไฟฟ้ากระแสสลับ.* วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ยุทธนา ฏิระวณิชย์กุล, และณรงค์ สุวรรณมณี. (2539). การออกแบบและสร้างระบบพลาสมาดิสชาร์ตแบบไดอิเล็กทริกสำหรับผลิตก๊าซโอโซน. สงขลา: ห้องปฏิบัติการพลาสมาฟิสิกส์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

วรพรรณี เผ่าทองศุข. (2550). ผลของโอโซนและอุณหภูมิต่อการกำจัดแบคทีเรียและยีสต์ในน้ำตาลสดและน้ำลำไย. *33rd Congress on Science and Technology of Thailand.*

ศูนย์วิจัยทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งอ่าวไทยตอนล่าง. (2554). *โครงการติดตามตรวจสอบสภาพสิ่งแวดล้อมชายฝั่งทะเล.* วันที่ค้นข้อมูล 14 กันยายน 2554. จากเวปไซต์ http://www.smcrrc.go.th/lake_ Oceanography.html

สืบเนื่อง ชัยชนะ, และคณะ. (2550). ประสิทธิภาพการลดเชื้อ *Salmonella spp.* และ *Listeria sp.* บนซากสุกรโดยการฉีดพ่นด้วยสารละลายโอโซน. *ว. วิทย์. กษ., 38:5* (พิเศษ), 395-398.

สุวิมล กีรติวิริยาภรณ์, และศันสนีย์ ศรีจันทร์งาม. (2543). การปนเปื้อนของเชื้อแซลโมเนลล่าในวัตถุดิบกุ้งกุลาดำ. *วารสารการประมง,* 53(5), 455-459.

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (2552). *ข้อกำหนดด้านความปลอดภัยสินค้าเกษตรและอาหาร.* ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์. ราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศทั่วไป เล่ม 123 ตอนพิเศษ 7ง ลงวันที่ 19 มกราคม 2549.

AOAC. (1995). Official Methods of Analysis. (15th ed.) The Association of Official Analytical Chemists. Arlington Virginia USA.

Carpo C, Himelbloom B, Vitt S, Pedersen L. 2004. Ozone efficacy as a bactericide in seafood processing. J of Aquatic Food Prod Tech 13(1): 111-123.

Chen, Francis F., (1984). *Introduction to plasma physics and controlled fusion Volume 1 : Plasma Physics*. New York: A Division of Plenum Publishing Corporation USA.

Chen, H., Huang, S., Moody, M.W., and Jiang, S. (1992). Bacteriocidal and mutagenetic effects of ozone on shrimp (Penaeus monodon) Meat. *Journal of Food Science,* 57(4), 923-927.

Coastnet. (2003). *Ozone*. Retrieved September 23, 2003. from http://www.coastnet.com/bcga/bcga/zozone1.html

Dewitt, B. J., et al. (1984). The potential use of ozonated ice for on-board storage of gulf of Mexico shrimp. *In proceeding ninth annual tropical and subtropical fisheries technological conference of the Americas*, 269-279.

Duan, J., G. Cherian and Y. Zhao, (2010). Quality enhancement in fresh and frozen lingcod (*Ophiodon elongates*) fillets by employment of fish oil incorporated chitosan coatings. Food Chemistry, 119(2): 524-532.

Elassion, B. and Kogelschatz, U. (1991). Nonequilibrium Volume Plasma Chemical Processing. *IEEE. Transaction on plasma science*, 6, 1063-1077.

E. Terzic et al. (2012). A Neural Network Approach to Fluid Quantity Measurement in Dynamic Environments, DOI: 10.1007/978-1-4471-4060-3_2, Springer-Verlag London

Feldhusen, F. (2000). Review: The role of seafood in bacterial foodborne diseases. *Microbes and Infection* 2: 1651-1660.

Greene, Annel K., Few, Brian K., and Serafini, Joao C. (1993). A comparison of ozonation and chlorination for the disinfection of stainless steel surfaces. *Journal of Dairy Science*, 76, 3617-3620.

Guzel-Seydim, Z., Bever Jr., P.I. and Greene, A.K. (2004). Efficacy of ozone to Reduce bacterial populations in the presence of food components. *Food Microbiology*, 21, 475-479.

Haraguchi, T., Simidu, U. and Aiso, K. (1969). Effect of ozone preservation of fresh fish. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 35(9), 915-919.

Hunt, Nimrata K., and Marinas., Benito J. (1999). Inactivation of Escherichia coli with ozone chemical and inactivation kinetics. *Water Research*, 33, 2633-2641.

Kim, J. G., Yousef, A E. and Dave, S. 1999. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of food: A review. J. Food Protection. 62:1071-1087.

Kim, J. G and A.E. Yousef. (2000). Inactivation kinetics of foodborne spoilage and pathogenic bacteria by ozone. *J. Food Sci.*, 65(3), 521-528.

Marshall, D.L. and C.R. Kim., (1996). Microbiological and sensory analyses of refrigerated cat fish fillets treated with ascetic and lactic acid. J. Food Prot., 19: 317-329.

Nasser, E. (1971). *Fundamentals of Gaseous Ionization and Plasma Electronics*. USA: John Wiley and Sons Inc.

Osama A. Attala., (2012). Impact of Using Organic Acids and Sodium Sulfite on the Quality of Unpeeled Shrimp. World Journal of Fish and Marine Sciences 4 (3): 284-289.

Qu, W., Gamel, J. F., Mannebach, H., & Jirgal, L. M., (2003). Inventors; Hydac Electronic GmbH., assignee. Device and method for measuring capacitance and determining liquid level. Patent 7161361 .

Roth, J. R. (1997). *Industrial Plasma Engineering*, vol. 1, USA: Institute of Physics Publishing.

Restaino, Lawrence, Frampton, Elon W., Hemphill, Jenifer B., and Palnikar, Paul. (1995). Efficacy of ozonated water against various food-related microorganisms. *Applied and Environmental Microbiology*, 61, 3471-3475.

Schultz, C. R., and Bellamy, W. D. (2000). The role of mixing in ozone dissolution systems. *Ozone-Science & Engineering*, 22, 329-3350.

Scott, D. B. M., and Lesher, E. C., (1963). Effect of ozone on survival and permeability of *Escherichia coli*, Journal of Bacteriology 85, pp. 567-576.

Wibowo, S., P. Sumpeno, T.S. Suwarno and T.H.E. Supomo, (1992). The pattern of post mortem biochemical and microbiological changes in farmed tiger shrimp at ambient temperature FAO Fish Res., 470(Suppl.): 29-39, Rome.

Xu, L. (1999). Use of ozone to improve the safety of fresh fruits and vegetables. *Food Technology*, 53(10), 58-63.

Yang. P.P. W., and Chen, T. C. (1979). Stability of ozone and its germicidal properties on poultry meat microorganisms in liquid phase. *Journal of Food Science*, 44(2), 501-504.

# ภาคผนวก

# ภาคผนวก ก
# การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

## การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Plate count agar (PCA) ประกอบด้วย

| | |
|---|---|
| Tryptone | 5.0 g |
| Yeast Extract | 2.5 g |
| Glucose | 1.0 g |
| Agar | 15 g |
| Distil water or deionize | 1 L |

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วละลายด้วยน้ำกรอง จำนวน 1 L นำไปฆ่าเชื้อใน Autoclave ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เทอาหารเลี้ยงเชื้อลงในจานเพาะเชื้อ จานละประมาณ 20 ml

2. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว lauryl sulfate tryptone (LST) ประกอบด้วย

| | |
|---|---|
| Tryptone | 20.0 g |
| Lactose | 5.0 g |
| Dipotassium phosphate ($K_2HPO_4$) | 2.75 g |
| Potassium di-hydrogen phosphate ($KH_2PO_4$) | 2.75 g |
| Sodium chloride | 5.0 g |
| Sodium lauryl sulphate | 0.1 g |
| Distilled water | 1,000 ml |

ละลายส่วนผสมให้เข้ากันโดยใช้ความร้อน ปรับ pH ให้ได้ 6.8 นำไปฆ่าเชื้อใน Autoclave ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

3. อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว EC ประกอบด้วย

| | |
|---|---|
| Pancreatic digest of casein | 20.0 g |
| Bile salt mixture or Bile salt No.3 | 1.5 g |
| Lactose | 5.0 g |
| Dipotassium phosphate | 4.0 g |
| Potassium phosphate | 1.5 g |
| Sodium chloride | 5.0 g |
| Distilled water | 1,000 ml |

ละลายส่วนผสมในน้ำกลั่น ปรับ pH เป็น 6 9 ± 0.2 ถ่ายอาหารใส่หลอดปริมาตร 8 ml ต่อหลอด ภายในหลอดบรรจุอาหารใส่ durham tube ด้วย นำไปฆ่าเชื้อใน Autoclave ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

4. อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง eosin methylene blue agar (EMB)

ชั่ง EMB agar 18 g ละลายในน้ำกลั่น 500 ml นำมาต้มให้เดือดและละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำไปฆ่าเชื้อใน Autoclave ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เทอาหารเลี้ยงเชื้อลงในจานเพาะเชื้อ จานละประมาณ 20 ml

# ภาคผนวก ข

ตาราง MPN Index

## ตาราง MPN Index

ตารางที่ 1 : For 3 tubes each at 0 1, 0 01, and 0 001 g inocula the MPNs per gram and 95 percent confidence intervals.

| Pos. tubes | | | MPN/g | Conf. lim | | Pos. tubes | | | MPN/g | Conf. lim | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 0.10 | 0 01 | 0 001 | | Low | High | 0 10 | 0.01 | 0.001 | | Low | High |
| 0 | 0 | 0 | <3.0 | – | 9 5 | 2 | 2 | 0 | 21 | 4 5 | 42 |
| 0 | 0 | 1 | 3.0 | 0.15 | 9 6 | 2 | 2 | 1 | 28 | 8.7 | 94 |
| 0 | 1 | 0 | 3.0 | 0.15 | 11 | 2 | 2 | 2 | 35 | 8.7 | 94 |
| 0 | 1 | 1 | 6.1 | 1.2 | 18 | 2 | 3 | 0 | 29 | 8.7 | 94 |
| 0 | 2 | 0 | 6.2 | 1.2 | 18 | 2 | 3 | 1 | 36 | 8.7 | 94 |
| 0 | 3 | 0 | 9.4 | 3.6 | 38 | 3 | 0 | 0 | 23 | 4 6 | 94 |
| 1 | 0 | 0 | 3.6 | 0.17 | 18 | 3 | 0 | 1 | 38 | 8 7 | 110 |
| 1 | 0 | 1 | 7.2 | 1.3 | 18 | 3 | 0 | 2 | 64 | 17 | 180 |
| 1 | 0 | 2 | 11 | 3.6 | 38 | 3 | 1 | 0 | 43 | 9 | 180 |
| 1 | 1 | 0 | 7.4 | 1.3 | 20 | 3 | 1 | 1 | 75 | 17 | 200 |
| 1 | 1 | 1 | 11 | 3.6 | 38 | 3 | 1 | 2 | 120 | 37 | 420 |
| 1 | 2 | 0 | 11 | 3.6 | 42 | 3 | 1 | 3 | 160 | 40 | 420 |
| 1 | 2 | 1 | 15 | 4.5 | 42 | 3 | 2 | 0 | 93 | 18 | 420 |
| 1 | 3 | 0 | 16 | 4.5 | 42 | 3 | 2 | 1 | 150 | 37 | 420 |
| 2 | 0 | 0 | 9.2 | 1.4 | 38 | 3 | 2 | 2 | 210 | 40 | 430 |
| 2 | 0 | 1 | 14 | 3.6 | 42 | 3 | 2 | 3 | 290 | 90 | 1,000 |
| 2 | 0 | 2 | 20 | 4 5 | 42 | 3 | 3 | 0 | 240 | 42 | 1,000 |

| | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 2 | 1 | 0 | 15 | 3.7 | 42 | 3 | 3 | 1 | 460 | 90 | 2,000 |
| 2 | 1 | 1 | 20 | 4.5 | 42 | 3 | 3 | 2 | 1100 | 180 | 4,100 |
| 2 | 1 | 2 | 27 | 8.7 | 94 | 3 | 3 | 3 | >1100 | 420 | -- |

ตารางที่ 2 : For 5 tubes each at 0.1, 0.01, and 0.001 g inocula, the MPNs and 95 percent confidence intervals.

| Pos. Tubes | | | MPN/g | Conf. lim | | Pos. tubes | | | MPN/g | Conf lim | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 0.1 | 0.01 | 0.001 | | Low | High | 0.1 | 0.01 | 0.001 | | Low | High |
| 0 | 0 | 0 | 1.8 | -- | 6.8 | 4 | 0 | 2 | 21 | 6.8 | 40 |
| 0 | 0 | 1 | 1.8 | 0.09 | 6.8 | 4 | 0 | 3 | 25 | 9.8 | 70 |
| 0 | 1 | 0 | 1.8 | 0.09 | 6.9 | 4 | 1 | 0 | 17 | 6 | 40 |
| 0 | 1 | 1 | 3.6 | 0.7 | 10 | 4 | 1 | 1 | 21 | 6.8 | 42 |
| 0 | 2 | 0 | 3.7 | 0.7 | 10 | 4 | 1 | 2 | 26 | 9.8 | 70 |
| 0 | 2 | 1 | 5.5 | 1.8 | 15 | 4 | 1 | 3 | 31 | 10 | 70 |
| 0 | 3 | 0 | 5.6 | 1.8 | 15 | 4 | 2 | 0 | 22 | 6.8 | 60 |
| 1 | 0 | 0 | 2 | 0.1 | 10 | 4 | 2 | 1 | 26 | 9.8 | 70 |
| 1 | 0 | 1 | 4 | 0.7 | 10 | 4 | 2 | 2 | 32 | 10 | 70 |
| 1 | 0 | 2 | 6 | 1.8 | 15 | 4 | 2 | 3 | 38 | 14 | 100 |
| 1 | 1 | 0 | 4 | 0.7 | 12 | 4 | 3 | 0 | 27 | 9.9 | 70 |
| 1 | 1 | 1 | 6.1 | 1.8 | 15 | 4 | 3 | 1 | 33 | 10 | 70 |
| 1 | 1 | 2 | 8.1 | 3.4 | 22 | 4 | 3 | 2 | 39 | 14 | 100 |
| 1 | 2 | 0 | 6.1 | 1.8 | 15 | 4 | 4 | 0 | 34 | 14 | 100 |
| 1 | 2 | 1 | 8.2 | 3.4 | 22 | 4 | 4 | 1 | 40 | 14 | 100 |

| | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 3 | 0 | 8.3 | 3.4 | 22 | 4 | 4 | 2 | 47 | 16 | 120 |
| 1 | 3 | 1 | 10 | 3.5 | 22 | 4 | 5 | 0 | 41 | 14 | 100 |
| 1 | 4 | 0 | 11 | 3.5 | 22 | 4 | 5 | 1 | 48 | 16 | 120 |
| 2 | 0 | 0 | 4.5 | 0.79 | 15 | 5 | 0 | 0 | 23 | 6.8 | 70 |
| 2 | 0 | 1 | 6.8 | 1.8 | 15 | 5 | 0 | 1 | 31 | 10 | 70 |
| 2 | 0 | 2 | 9.1 | 3.4 | 22 | 5 | 0 | 2 | 43 | 14 | 100 |
| 2 | 1 | 0 | 6.8 | 1.8 | 17 | 5 | 0 | 3 | 58 | 22 | 150 |
| 2 | 1 | 1 | 9.2 | 3.4 | 22 | 5 | 1 | 0 | 33 | 10 | 100 |
| 2 | 1 | 2 | 12 | 4.1 | 26 | 5 | 1 | 1 | 46 | 14 | 120 |
| 2 | 2 | 0 | 9.3 | 3.4 | 22 | 5 | 1 | 2 | 63 | 22 | 150 |
| 2 | 2 | 1 | 12 | 4.1 | 26 | 5 | 1 | 3 | 84 | 34 | 220 |
| 2 | 2 | 2 | 14 | 5.9 | 36 | 5 | 2 | 0 | 49 | 16 | 150 |
| 2 | 3 | 0 | 12 | 4.1 | 26 | 5 | 2 | 1 | 70 | 22 | 170 |
| 2 | 3 | 1 | 14 | 5.9 | 36 | 5 | 2 | 2 | 94 | 34 | 230 |
| 2 | 4 | 0 | 15 | 5.9 | 36 | 5 | 2 | 3 | 120 | 36 | 250 |
| 3 | 0 | 0 | 7.8 | 2.1 | 22 | 5 | 2 | 4 | 150 | 58 | 400 |
| 3 | 0 | 1 | 11 | 3.5 | 23 | 5 | 3 | 0 | 79 | 22 | 220 |
| 3 | 0 | 2 | 13 | 5.6 | 35 | 5 | 3 | 1 | 110 | 34 | 250 |
| 3 | 1 | 0 | 11 | 3.5 | 26 | 5 | 3 | 2 | 140 | 52 | 400 |
| 3 | 1 | 1 | 14 | 5.6 | 36 | 5 | 3 | 3 | 180 | 70 | 400 |
| 3 | 1 | 2 | 17 | 6 | 36 | 5 | 3 | 4 | 210 | 70 | 400 |
| 3 | 2 | 0 | 14 | 5.7 | 36 | 5 | 4 | 0 | 130 | 36 | 400 |
| 3 | 2 | 1 | 17 | 6.8 | 40 | 5 | 4 | 1 | 170 | 58 | 400 |

| | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 3 | 2 | 2 | 20 | 6.8 | 40 | 5 | 4 | 2 | 220 | 70 | 440 |
| 3 | 3 | 0 | 17 | 6.8 | 40 | 5 | 4 | 3 | 280 | 100 | 710 |
| 3 | 3 | 1 | 21 | 6.8 | 40 | 5 | 4 | 4 | 350 | 100 | 710 |
| 3 | 3 | 2 | 24 | 9.8 | 70 | 5 | 4 | 5 | 430 | 150 | 1,100 |
| 3 | 4 | 0 | 21 | 6.8 | 40 | 5 | 5 | 0 | 240 | 70 | 710 |
| 3 | 4 | 1 | 24 | 9.8 | 70 | 5 | 5 | 1 | 350 | 100 | 1100 |
| 3 | 5 | 0 | 25 | 9.8 | 70 | 5 | 5 | 2 | 540 | 150 | 1700 |
| 4 | 0 | 0 | 13 | 4.1 | 35 | 5 | 5 | 3 | 920 | 220 | 2600 |
| 4 | 0 | 1 | 17 | 5.9 | 36 | 5 | 5 | 4 | 1600 | 400 | 4600 |
| | | | | | | 5 | 5 | 5 | >1600 | 700 | - |

# ภาคผนวก ค
## ข้อมูลการทำ multiple regression

**ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างการลดเชื้อ *E. coli* ที่ปนเปื้อนบนอาหารทะเลกับความต่างศักย์ไฟฟ้าและเวลาสัมผัสสารสารละลายโอโซน โดยวิธี multiple regression**

**ตัวอย่างปูดำ**

| | 6kV | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 10s | 30s | 60s | 120s |
| ครั้งที่ 1 | 1.34 | 1.66 | 2.36 | 3.36 |
| ครั้งที่ 2 | 1.37 | 1.68 | 2.33 | 3.35 |
| ครั้งที่ 3 | 1.38 | 1.69 | 2.35 | 3.37 |
| av | 1.363333 | 1.676667 | 2.346667 | 3.36 |
| sd | 0.020817 | 0.015275 | 0.015275 | 0.01 |

| | 7kV | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 10s | 30s | 60s | 120s |
| ครั้งที่ 1 | 1.75 | 1.94 | 2.63 | 3.77 |
| ครั้งที่ 2 | 1.74 | 1.95 | 2.6 | 3.75 |
| ครั้งที่ 3 | 1.74 | 1.96 | 2.63 | 3.74 |
| av | 1.743333 | 1.95 | 2.62 | 3.753333 |
| sd | 0.005774 | 0.01 | 0.017321 | 0.015275 |

| | 8kV | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 10s | 30s | 60s | 120s |
| ครั้งที่ 1 | 1.97 | 2.05 | 2.87 | 3.94 |
| ครั้งที่ 2 | 1.95 | 2.05 | 2.88 | 3.94 |
| ครั้งที่ 3 | 1.98 | 2.03 | 2.88 | 3.95 |
| av | 1.966667 | 2.043333 | 2.876667 | 3.943333 |
| sd | 0.015275 | 0.011547 | 0.005774 | 0.005774 |

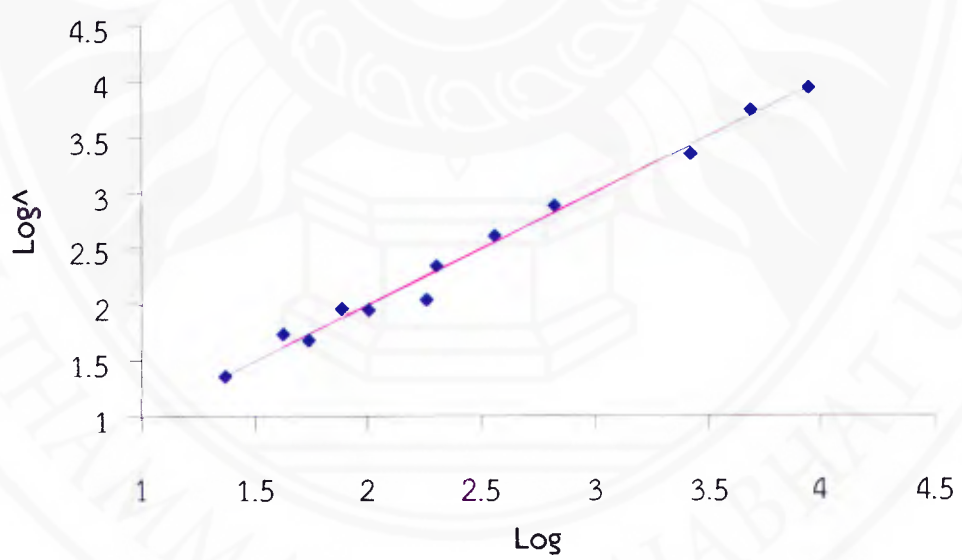
| *Regression Statistics* | |
|---|---|
| Multiple R | 0.994132 |
| R Square | 0.988299 |
| Adjusted R Square | 0.985699 |
| Standard Error | 0.101286 |
| Observations | 12 |

ANOVA

| | *df* | *SS* | *MS* | *F* | *Significance F* |
|---|---|---|---|---|---|
| Regression | 2 | 7.79847 | 3.899235 | 380.0817 | 2.03E-09 |
| Residual | 9 | 0.09233 | 0.010259 | | |
| Total | 11 | 7.8908 | | | |

| | *Coefficients* | *Standard Error* | *t Stat* | *P-value* | *Partial-F* |
|---|---|---|---|---|---|
| Intercept | -0.37986 | 0.255324 | -1.48774 | 0.170994 | 2.213371 |
| X1 | 0.26 | 0.03581 | 7.26051 | 4.76E-05 | 52.71501 |
| X2 | 0.018725 | 0.000704 | 26.5979 | 7.26E-10 | 707.4485 |

| | *Log Reduction* | *Voltage* | *time* |
|---|---|---|---|
| Log Reduction | 1 | | |
| Voltage | 0.261793 | 1 | |
| time | 0.959043 | 0 | 1 |



**ตัวอย่างหอยแมลงภู่**

| | | 6kV | | |
|---|---|---|---|---|
| | 10s | 30s | 60s | 120s |
| ครั้งที่ 1 | 1.77 | 2.24 | 2.97 | 3.92 |
| ครั้งที่ 2 | 1.76 | 2.26 | 2.96 | 3.95 |
| ครั้งที่ 3 | 1.76 | 2.27 | 2.94 | 3.94 |
| av | 1.763333 | 2.256667 | 2.956667 | 3.936667 |
| sd | 0.005774 | 0.015275 | 0.015275 | 0.015275 |

| | | 7kV | | |
|---|---|---|---|---|
| | 10s | 30s | 60s | 120s |
| ครั้งที่ 1 | 2.05 | 2.48 | 3.23 | 4.32 |
| ครั้งที่ 2 | 2.07 | 2.48 | 3.23 | 4.35 |
| ครั้งที่ 3 | 2.05 | 2.46 | 3.22 | 4.33 |
| av | 2.056667 | 2.473333 | 3.226667 | 4.333333 |
| sd | 0.011547 | 0.011547 | 0.005774 | 0.015275 |

| | | 8kV | | |
|---|---|---|---|---|
| | 10s | 30s | 60s | 120s |
| ครั้งที่ 1 | 2.38 | 2.85 | 3.66 | 4.63 |
| ครั้งที่ 2 | 2.42 | 2.87 | 3.68 | 4.64 |
| ครั้งที่ 3 | 2.4 | 2.87 | 3.69 | 4.63 |
| av | 2.4 | 2.863333 | 3.676667 | 4.633333 |
| sd | 0.02 | 0.011547 | 0.015275 | 0.005774 |

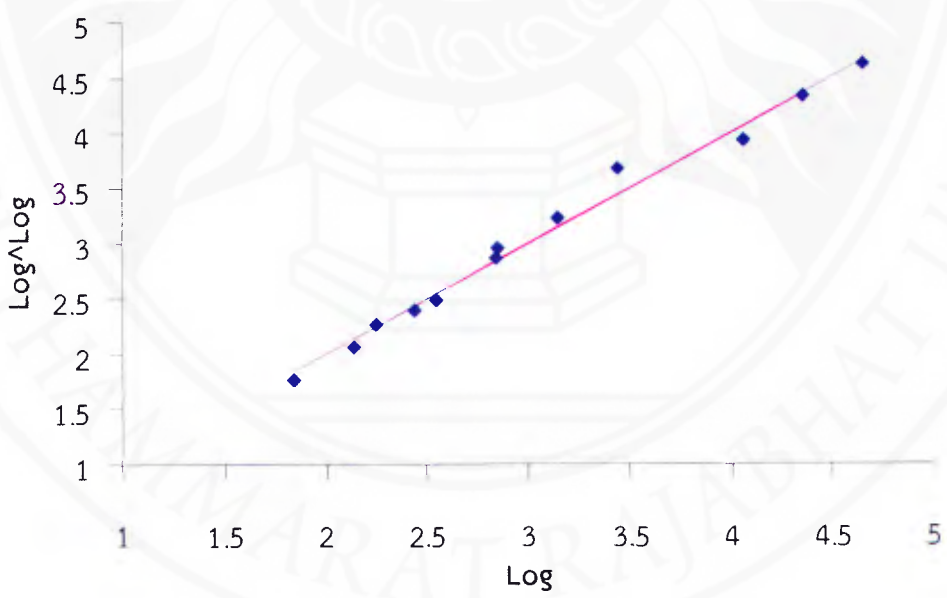
| *Regression Statistics* | |
|---|---|
| Multiple R | 0.9851 |
| R Square | 0.9704 |
| Adjusted R Square | 0.9638 |
| Standard Error | 0.1755 |
| Observations | 12 |

ANOVA

| | *df* | *SS* | *MS* | *F* | *Significance F* |
|---|---|---|---|---|---|
| Regression | 2 | 9.076502 | 4.538251 | 147.4177 | 1.33E-07 |
| Residual | 9 | 0.277065 | 0.030785 | | |
| Total | 11 | 9.353567 | | | |

| | *Coefficients* | *Standard Error* | *t Stat* | *P-value* | *Partial-F* |
|---|---|---|---|---|---|
| Intercept | -0.123 | 0.442292 | -0.2788 | 0.786702 | 0.077727 |
| X1 | 0.295 | 0.062033 | 4.755516 | 0.001036 | 22.61493 |
| X2 | 0.0201 | 0.00122 | 16.49911 | 4.92E-08 | 272.2206 |

| | *Log Reduction* | *Voltage* | *time* |
|---|---|---|---|
| Log Reduction | 1 | | |
| Voltage | 0.272821 | 1 | |
| time | 0.946545 | 0 | 1 |



**ตัวอย่างปลาดุกทะเล**

| | 6kV | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 10s | 30s | 60s | 120s |
| **ครั้งที่ 1** | 1.86 | 2.26 | 2.88 | 3.85 |
| **ครั้งที่ 2** | 1.87 | 2.27 | 2.87 | 3.85 |
| **ครั้งที่ 3** | 1.86 | 2.27 | 2.87 | 3.86 |
| av | 1.863333 | 2.266667 | 2.873333 | 3.853333 |
| sd | 0.005774 | 0.005774 | 0.005774 | 0.005774 |

| | 7kV | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 10s | 30s | 60s | 120s |
| **ครั้งที่ 1** | 2.24 | 2.77 | 3.36 | 4.45 |
| **ครั้งที่ 2** | 2.26 | 2.76 | 3.35 | 4.46 |
| **ครั้งที่ 3** | 2.23 | 2.78 | 3.35 | 4.45 |
| av | 2.243333 | 2.77 | 3.353333 | 4.453333 |
| sd | 0.015275 | 0.01 | 0.005774 | 0.005774 |

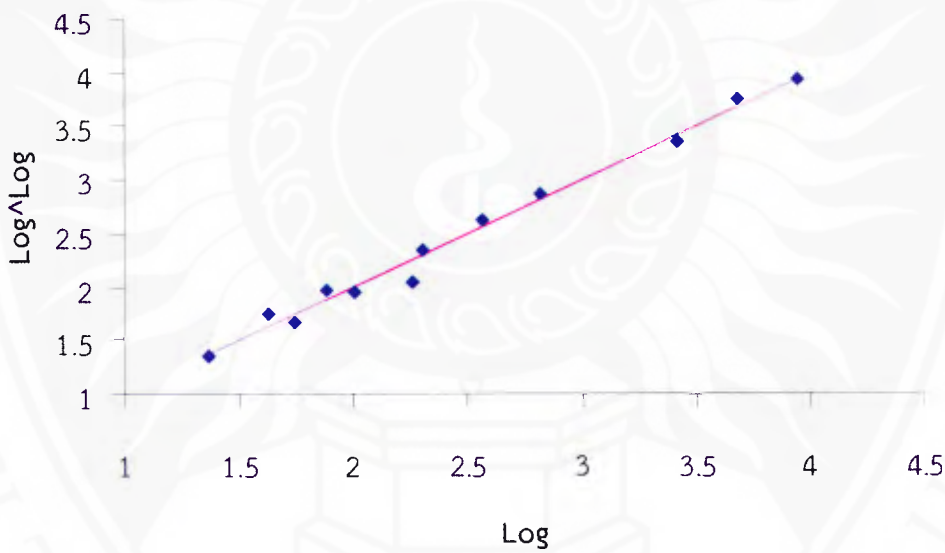
| | 8kV | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 10s | 30s | 60s | 120s |
| **ครั้งที่ 1** | 3.87 | 4.26 | 4.98 | 6.01 |
| **ครั้งที่ 2** | 3.88 | 4.26 | 4.97 | 6.05 |
| **ครั้งที่ 3** | 3.89 | 4.27 | 4.98 | 6.04 |
| av | 3.88 | 4.263333 | 4.976667 | 6.033333 |
| sd | 0.01 | 0.005774 | 0.005774 | 0.020817 |

| *Regression Statistics* | |
|---|---|
| Multiple R | 0.975238 |
| R Square | 0.95109 |
| Adjusted R Square | 0.940221 |
| Standard Error | 0.304089 |
| Observations | 12 |

ANOVA

| | *df* | *SS* | *MS* | *F* | *Significance F* |
|---|---|---|---|---|---|
| Regression | 2 | 16.18339 | 8.091696 | 87.50584 | 1.27E-06 |
| Residual | 9 | 0.832233 | 0.09247 | | |
| Total | 11 | 17.01563 | | | |

| | *Coefficients* | *Standard Error* | *t Stat* | *P-value* | *Lower 95%* |
|---|---|---|---|---|---|
| Intercept | -4.73962 | 0.766551 | -6.18305 | 0.000162 | -6.47368 |
| X1 | 1.03625 | 0.107512 | 9.638474 | 4.86E-06 | 0.793041 |
| X2 | 0.019152 | 0.002114 | 9.06154 | 8.07E-06 | 0.014371 |



# ภาคผนวก ง
# การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

**แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสของตัวอย่างอาหารทะเล**
**คุณภาพทางด้าน กลิ่น สี เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม**

ชื่อผู้ทดสอบ วันที่ เวลา.....

**คำแนะนำ** กรุณาประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของตัวอย่าง และขีดเส้นตั้งฉากกับเส้นของแต่ละปัจจัยที่ตรงกับความรู้สึกของท่านมากที่สุด

**1. กลิ่น**

**2. สี**

**3. เนื้อสัมผัส**

**4. ความชอบโดยรวม**

**ข้อเสนอแนะ**

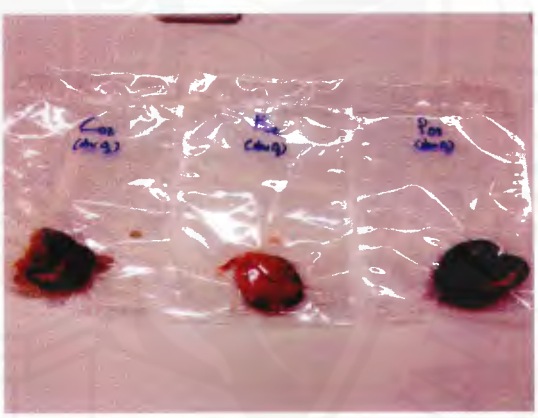
.....

.....

.....

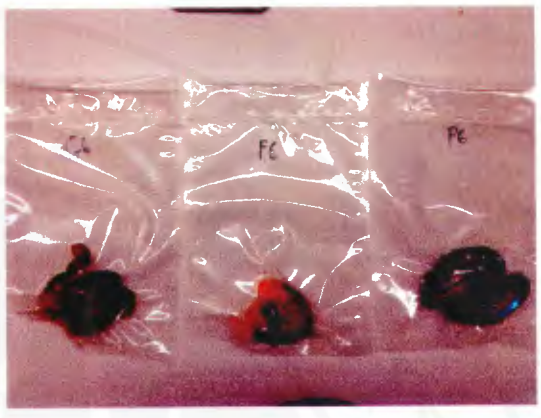
# ภาคผนวก จ
# รูปตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารทะเล

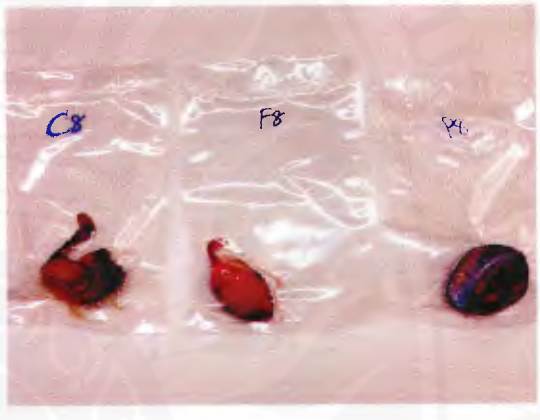
CO
FO
PO

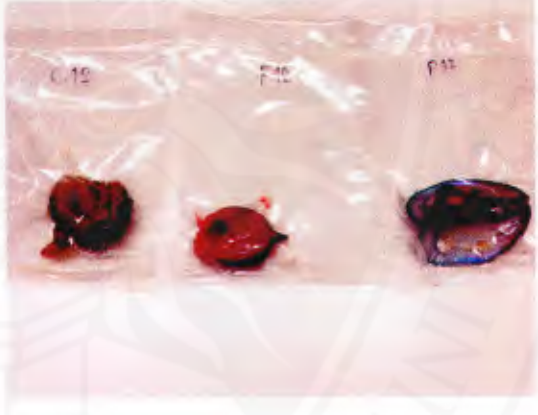


C2
F2
P2

C4
F4
P4







# ภาคผนวก ฉ
# การใช้ประโยชน์จากงานวิจัย

จากการวิจัย ปี 2557 เรื่อง ผลของโอโซนต่อการยกระดับคุณภาพและยืดอายุการเก็บรักษาอาหารทะเลบรรจุสุญญากาศ ได้รับการสนับสนุนจากงบแผ่นดิน มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช) เป็นพื้นฐานในการนำมาใช้ประโยชน์ ดังนี้

**1. ด้านการเรียนการสอน**

จากการวิจัยทำให้ได้อุปกรณ์ เครื่องมือ ได้แก่ แหล่งกำเนิดไฟฟ้าความถี่สูง หลอดโอโซน ชุดถังก๊าซออกซิเจน และชุดทดสอบความเข้มข้นโอโซน ที่ใช้เป็นประโยชน์ในการเรียนการสอนรายวิชา 4013524 ฟิสิกส์ของดิสชาร์จไฟฟ้า รายวิชา 4014517 พลาสมาฟิสิกส์ และรายวิชา 4014905 โครงงานฟิสิกส์ นักศึกษาสามารถทำโครงงานได้โดยมีความพร้อมของเครื่องมือ

**2. ด้านการบริการวิชาการ**

ในการลงพื้นที่เมือได้มีการให้ความรู้ในเรื่องระบบพลาสมาโอโซไนเซอร์ ทำให้เอกชนที่มีความสนใจจะพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารทะเล ได้แก่ ร้านตัวทีชีฟู้ด เพื่อส่งจำหน่ายในต่างพื้นที่ที่ไกลออกไป

**3. ด้านการวิจัย**

จากการที่ได้พูดคุยกับเอกชนดังกล่าวจึงเป็นที่มาของการวิจัย

ปี 2558 เรื่อง ผลของโอโซนและกรดต่อการยืดอายุการเก็บรักษามังคุดสดตัดแต่ง (ได้รับการพิจารณาสนับสนุนการทำวิจัยจาก วช. ได้รับการสนับสนุนจากงบแผ่นดิน มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช)

ปี 2559 เรื่อง ระบบพลาสมาโอโซไนเซอร์สำหรับการยืดอายุการเก็บรักษามังคุดระยะที 1-5 (ได้รับการพิจารณาสนับสนุนการทำวิจัยจาก วช.)

รวมถึงเป็นแนวทางการศึกษาต่อระดับปริญญาเอก สาขาวิชาฟิสิกส์ สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ ในหัวข้อ ผลของชนิดและลักษณะของไดอิเล็กตริกต่อปริมาณผลผลิตโอโซน โดยมี ผศ.ดร.หมุดตอเล็บ หนิสอ เป็นที่ปรึกษา

# ประวัติของผู้วิจัย

## 1. ข้อมูลทั่วไป

### 1.1 ประวัติส่วนตัว

ชื่อ-สกุล นายพิชญ์ศักดิ์ จันทร์กุศล วัน เดือน ปีเกิด 27 พฤษภาคม 2523
ที่อยู่ปัจจุบันเลขที่ 1/64 ซอย เมืองทอง 1 ถนน วันดีโฆษิตกุลพร ตำบล ในเมือง
อำเภอ เมือง จังหวัด นครศรีธรรมราช รหัสไปรษณีย์ 80000
โทรศัพท์บ้าน 075-432256 โทรศัพท์มือถือ 081-5998219

### 1.2 ประวัติการศึกษาโดยสังเขป

| คุณวุฒิ | สาขา | ปีที่สำเร็จ | สถาบัน |
|---|---|---|---|
| วท.บ. | ฟิสิกส์ | 2544 | ม.สงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ |
| วท.ม. | ฟิสิกส์ | 2550 | ม.สงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ |

### 1.3 ประวัติการทำงาน

| วัน/เดือน/ปี | | ตำแหน่ง | ชื่อหน่วยงาน | สถานที่ตั้ง |
|---|---|---|---|---|
| จาก | ถึง | | | |
| มิ.ย. 51 | 5 พ.ย. 51 | อาจารย์พิเศษรายชั่วโมง | ม.ราชภัฏ นครศรีธรรมราช | 1 ม.4 ต.ท่างิ้ว อ.เมือง จ.นครศรีธรรมราช |
| 6 พ.ย. 51 | 31 พ ค 55 | อาจารย์ประจำสัญญาจ้าง | ม.ราชภัฏ นครศรีธรรมราช | 1 ม.4 ต.ท่างิ้ว อ.เมือง จ.นครศรีธรรมราช |
| 1 มิ.ย. 55 | ปัจจุบัน | พนักงานมหาวิทยาลัยตามสัญญา | ม.ราชภัฏ นครศรีธรรมราช | 1 ม.4 ต.ท่างิ้ว อ.เมือง จ.นครศรีธรรมราช |

### 1.4 รางวัลเกียรติคุณ ทางการศึกษาที่เคยได้รับ

ทุนผู้ช่วยสอน คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ปีการศึกษา 2548,2549

### 1.5 งานอื่นๆ ที่ได้รับมอบหมาย

ผู้ช่วยคณบดีฝ่ายกิจการนักศึกษา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช (ก.พ.56 – ต.ค.56)

### 1.6 สาขาวิชาการที่ทำวิจัย

เทคโนโลยีพลาสมาฟิสิกส์ แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ เทคโนโลยีอบแห้ง

**2. ผลงานทางวิชาการ**

**2.1 เอกสารประกอบการสอน**

รายวิชา 4122613 โปรแกรมประยุกต์ด้านวิทยาศาสตร์ : หลักสูตรฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

รายวิชา 4011312 ฟิสิกส์ 2 : หลักสูตรฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

รายวิชา 4011608 ปฏิบัติการฟิสิกส์ 2 หลักสูตรฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

**2.2 งานวิจัย**

**หัวหน้าโครงการ**

1. ปี 2551 เรื่อง การตรวจวัดการกระจายของอนุภาคฝุ่นในอากาศในเขตพื้นที่ ต.ท่างิ้ว อ.เมือง จ.นครศรีธรรมราช (แหล่งทุน : สกว.)

2. ปี 2552 เรื่อง แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของการดิสชาร์จไฟฟ้าที่ความดันใกล้บรรยากาศ

3. ปี 2554 เรื่อง ความชื้นสมดุลและจลนศาสตร์การอบแห้งของสมุนไพรจากเขามหาชัย (แหล่งทุน : งบรายได้ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช)

4. ปี 2556 เรื่อง ระบบพลาสมาโอโซไนเซอร์สำหรับการกำจัดจุลินทรีย์บนอาหารทะเล (งบแผ่นดิน มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช)

5. ปี 2557 เรื่อง ผลของโอโซนต่อการยกระดับคุณภาพและยืดอายุการเก็บรักษาอาหารทะเลอาหารทะเลบรรจุสุญญากาศ (งบแผ่นดิน มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช)

6. ปี 2558 เรื่อง ผลของโอโซนและกรดต่อการยืดอายุการเก็บรักษามังคุดสดตัดแต่ง (งบแผ่นดิน มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช)

7. ปี 2559 เรื่อง ระบบพลาสมาโอโซไนเซอร์สำหรับการยืดอายุการเก็บรักษามังคุดระยะที่ 1-5 (งบแผ่นดิน มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช)

**ผู้ร่วมวิจัย**

1. ปี 2553 เรื่อง แบบจำลองเตือนภัยน้ำท่วมจังหวัดนครศรีธรรมราช (แหล่งทุน : วช.)

2. ปี 2554 เรื่อง การพัฒนาบทเรียนและชุดปฏิบัติการฟิสิกส์ระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย ตามแนวทฤษฎีการสร้างความรู้ด้วยตนเองโดยใช้คอมพิวเตอร์เป็นฐานปฏิบัติการทดลอง (แหล่งทุน : วช.)

3. ปี 2555 เรื่อง แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของอัตราการเสียงการเกิดแผ่นดินถล่ม จากอุทกภัยและน้ำป่าไหลหลากบริเวณลุ่มน้ำต้นกำเนิดจากเทือกเขานครศรีธรรมราช ในเขตพื้นที่ อำเภอนบพิตำ อำเภอสิชลและอำเภอท่าศาลา จังหวัดนครศรีธรรมราช (แหล่งทุน : วช.)

**2.3 การนำเสนอผลงานวิชาการ**

1. Pitchasak Chankuson; Supawan Tirawanichakul; and Yutthana Tirawanichakul "Integrated Dielectric Barrier Discharge, Coagulation and RO-System for Dye Wastewater Treatment" Regional Symposium on Chemical Engineering 2005, November 30th - December 2nd, 2005. Hanoi Horison Hotel, Hanoi, VIETNAM

2. พิชญ์ศักดิ์ จันทร์กุศล. "ลักษณะเฉพาะของการดิสชาร์จไฟฟ้าของระบบพลาสมาโอโซไนเซอร์" ประชุมวิชาการวิศวกรรมเคมีแห่งประเทศไทย, วันที่ 27-28 ตุลาคม 2548 ณ โรงแรมจอมเทียนปาล์มบีช รีสอร์ท พัทยา จ.ชลบุรี.

3. พิชญ์ศักดิ์ จันทร์กุศล. "Electrical Discharges Characteristics of Plasma Ozonizer System and Its Application on Dye Wastewater Treatment". ประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา ครั้งที่ 4, วันที่ 31 มีนาคม 2549 ณ ตึกฟักทอง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จ.สงขลา.

4. พิชญ์ศักดิ์ จันทร์กุศล, จุฬาภรณ์ บุญสว่าง, สกีน่า มะแซ และจตุพร เลื่อนกะฐิน. "การตรวจวัดการกระจายของอนุภาคฝุ่นในอากาศในเขตพื้นที่ ต.ท่างิ้ว อ.เมือง จ.นครศรีธรรมราช". การประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยราชภัฏ ครั้งที่ 1 เรื่อง การวิจัยพัฒนาท้องถิ่นเพื่อแผ่นดินไทย วันที่ 1 – 5 เมษายน 2552 ณ ฮอลล์ 9 ศูนย์แสดงสินค้าและการประชุม อิมแพค เมืองทองธานี.

5. ปานจิต มุสิก, พิชญ์ศักดิ์ จันทร์กุศล. "การพัฒนาบทเรียนและชุดปฏิบัติการฟิสิกส์ระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย ตามแนวทฤษฎีการสร้างความรู้ด้วยตนเองโดยใช้คอมพิวเตอร์เป็นฐานปฏิบัติการทดลอง", การนำเสนอผลงานวิจัยแห่งชาติ 2556. ณ ศูนย์ประชุมบางกอกคอนเวนชันเซ็นเตอร์ โรงแรมเซ็นทารา แกรนด์ แอท เซ็นทรัลเวิลด์ กรุงเทพฯ กำหนดเวลา วันที่ 23 - 27 สิงหาคม 2556

**2.4 การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน**

1. Pitchasak Chankuson, Supawan Tirawanichakul and Yutthana Tirawanichakul. "Integrated Dielectric Barrier Discharge, Coagulation and RO-System for Dye Wastewater Treatment", *Regional Symposium on Chemical Engineering 2005, 30th November - 2nd December 2005, Hanoi Horison Hotel, Hanoi, VIETNAM, Proceedings* pp. 168-172.

2. ยุทธนา ฏิระวณิชย์กุล, สุภวรรณ ฏิระวณิชย์กุล และพิชญ์ศักดิ์ จันทร์กุศล. "ลักษณะเฉพาะของการดิสชาร์จไฟฟ้าของระบบพลาสมาโอโซไนเซอร์และการประยุกต์ใช้บำบัดน้ำเสียสีย้อมเสื่อกระจูด". *วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ* ปีที่ 9 ฉบับที่ 1 มกราคม-มิถุนายน 2549. หน้า 27-43

3. ยุทธนา ฏิระวณิชย์กุล, พิชญ์ศักดิ์ จันทร์กุศล และสุภวรรณ ฏิระวณิชย์กุล. "ดิสชาร์จไฟฟ้า ของพลาสมาโอโซไนเซอร์และการประยุกต์ใช้งาน". *วารสารสงขลานครินทร์ วทท.* ปีที่ 29 พฤษภาคม 2550 ฉบับพิเศษ 2. หน้า 365-378.

4. พิชญ์ศักดิ์ จันทร์กุศล, ลัญจกร จันทร์อุดม. “ระบบพลาสมาโอโซไนเซอร์สำหรับการกำจัดจุลินทรีย์บนอาหารทะเล”. *วารสารวิชชา* ปีที่ 33 ฉบับที่ 1 มกราคม-มิถุนายน 2557. หน้า 39-51

# ผลของโอโซนต่อการยกระดับคุณภาพและยืดอายุการเก็บรักษาอาหารทะเลบรรจุสุญญากาศ

# Evaluationt of Ozone as a Disinfecting Agent to Enhance the Quality and the Shelf Life, Vacuum-Packed Seafood

พิชญ์ศักดิ์ จันทร์กุศล* ลัญจกร จันทร์อุดม**

Pitchasak Chankuson* Lunchakon Chanudom**

## บทคัดย่อ

บทความนี้นำเสนอวิธีการผลิตก๊าซโอโซนด้วยสนามไฟฟ้าแรงดันและความถี่สูง ความถี่ 2 กิโลเฮิร์ต แรงดันเอาต์พุต 6-16 กิโลโวลต์ เพื่อนำมาประยุกต์ใช้กับหลอดโอโซไนเซอร์ที่ใช้ในงานวิจัย ที่ประกอบด้วยขั้วไฟฟ้าชนิดทรงกระบอก ภายในหุ้มด้วยแก้วไพเร็กซ์ซึ่งทำหน้าที่เป็นสารไดอิเล็กตริก ช่องดิสชาร์จมีขนาด 0.0075 เมตร โดยให้ปริมาณโอโซน 19-85 มิลลิกรัม $O_3$/ลิตรของ $O_2$ ที่ศักย์ไฟฟ้าในช่วง 6-8 กิโลโวลต์ โดยมีอัตราการไหลของก๊าซเป็น 2 ลิตรต่อนาที เป็นอัตราที่เหมาะสมในการผลิตโอโซน เนื่องจากเป็นอัตราการไหลที่ให้ปริมาณโอโซนมากที่สุด พบว่าปริมาณความเข้มข้นของโอโซนเป็นปฏิภาคโดยตรงกับความต่างศักย์ไฟฟ้า มีค่าความจุไฟฟ้าของหลอดผลิตโอโซนเท่ากับ 29.43 pF ที่ 6 กิโลโวลต์ ใช้พลังงาน 529.74 $\mu J$ เมื่อความต่างศักย์สูงการสิ้นเปลืองพลังงานก็จะสูงขึ้น และจะทำให้เกิดความเสียหายต่อขั้วไฟฟ้าของหลอดผลิตโอโซนได้ง่าย ส่งผลให้อายุการใช้งานของหลอดผลิตโอโซนสั้นลง

อาหารทะเลที่ได้จากพื้นที่ปากนคร ได้แก่ ปูดำ (*Scylla serrata*) กั้งตั๊กแตน (*Oratosquilla neap*) หอยแมลงภู่ (*Perna viridis*) และปลาดุกทะเล (*Plotosus lineatus*) ในตัวอย่างทั้ง 3 ชนิด มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด, ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรีย และปริมาณเชื้อ *E. coli* ในปริมาณสูงเกินเกณฑ์ มกอช. 9007-2548ทั้งหมด ผลการลดเชื้อ *E. coli* ด้วยโอโซน เมื่อปริมาณเชื้อ *E. coli* เริ่มต้น 7 log CFU/g ที่ 6 กิโลโวลต์ ในช่วงเวลาสัมผัส 10-120 วินาที พบว่า การลดเชื้อ *E. coli* (Y) กับความต่างศักย์ ($X_1$) และเวลาสัมผัส ($X_2$) อยู่ในช่วง 1.36-3.36, 1.77-3.94 และ 1.86-3.87 log CFU/g โดยความสัมพันธ์ในรูปสมการถดถอยเชิงเส้นในแต่ละตัวอย่างเป็น $Y = 0.262X_1 + 0.959X_2$ ($R^2$=0.988), $Y = 0.273X_1 + 0.946X_2$ ($R^2$=0.985) และ $Y = 0.703X_1 + 0.679X_2$ ($R^2$=0.977) ตามลำดับ เมื่อบรรจุภัณฑ์อาหารทะเลในถุงพลาสติก Polyethylene (PE) แพ็คสุญญากาศ เก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส ด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม พบว่า การประเมินลักษณะปรากฏที่เปลี่ยนแปลงและปริมาณจุลินทรีย์ที่ระยะการเก็บรักษาทั้ง 3 ชนิด ไม่ผ่านเกณฑ์วันที่ 12 และผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส ซึ่งประเมินคุณภาพทางด้านสี กลิน รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม ที่ผ่านการเก็บ 0 วัน ซึ่งเป็นชุดควบคุม มีคะแนนที่สูงกว่าตัวอย่างที่มีระยะยืดอายุการเก็บ 10 วัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) แต่ยังอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

**คำสำคัญ** : ระบบพลาสมาโอโซไนเซอร์, จุลินทรีย์, อาหารทะเล

* สาขาวิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

* สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

## Abstract

In this research, a high-frequency high-voltage power supply designed for plasma generator is presented. The high frequency is approximately 2 kHz and the voltage output, measured using a spark gap and electrodes is approximately 6-16 kV. The type plasma ozonizer, "Cylindrical type" consist of two electrodes. The inner electrode is stainless steel, which is covered with Pyrex glass as the dielectric. The outer electrode is stainless steel. Discharge gap between electrode was fixed at 0.0075 m. Oxygen gas is flowed through the discharge gap between the two electrode and high voltage power supply is supplied for ozone production. Ozone concentration generated by this ozonizer is in ranges of 19-85 mg of ozone/liter of oxygen feed at 6-8 kV and optimum purified oxygen feed rate of 2 l/min. The result shows that the amount of ozone is proportional to the applied voltage.

In applying for seafood obtained from Pak Nakhon area that is *Scylla serrata*, *Perna viridis* and *Plotosus lineatus*. The efficiency of ozone water to reduce *E. coli* artificially contaminated on seafood was studied. The initial number of *E. coli* was 7 Log CFU/g in each sample. The samples were treated with ozone water, purified oxygen feed rate of 2 l/min, at varied voltages ($X_1$) and discharged times ($X_2$). The reduction of *E. coli* were reduced by 1.36-3.36, 1.77-3.94 and 1.86-3.87 log cfu/g, respectively. The relationships between the reduction *E. coli* $Y= 0.262X_1+0.959X_2$, $Y= 0.273X_1+0.946X_2$ and $Y= 0.703X_1+0.679X_2$ gave the correlation coefficients ($R^2$) of 0.988, 0.985 and 0.977, respectively. The regression equations could be used to predict the effectiveness of ozone water on the reduction of the target organisms. Treated samples by ozone vacuum packaging in polypropylene bags and storage at a temperature $4^{\circ}C$. Samples were analyzed at 2-day interval period up to 14 days and duplicate samples for each treatment. Treated samples were evaluated by sensory (color, odor, texture and overall acceptability) and bacterial examinations.

The result showed that pH values ranges between 7.38-9.38, 6.45-8.06, 5.88-7.87 while the total coliform count range was between $3.3\times10^5$-$3.0\times10^7$, $7.3\times10^4$-$8.8\times10^7$ and $7.2\times10^4$-1.1 CFU/g$\times10^7$ which increases with duration of storage. Sensory evaluation of the samples on storage with the best quality (color, odor, texture and overall acceptability) when freshly prepared. Ozone treatment were found to be better than untreated sample in microbial reduction and maintaining the sensory quality. Therefore, using of oxidizing agent for the storage of food processing can be recommended to improve the quality and extend the shelf life. The acceptability by sensory panel of barracuda sheet products were accepted at 10 days. ($P<0.05$)



**Keywords :** Plasma Ozonizer, Microbiology, Sea Food

**บทนำ**

สภาพพื้นที่ส่วนใหญ่ของเทศบาล ต.ปากนคร เป็นพื้นที่ราบลุ่มและป่าชายเลน มีคลองปากนครกั้นกลาง ระหว่างหมู่ที่ 1 ต.ปากนคร กับหมู่ที่ 4 ต.ท่าไร่ มีคลองเล็กๆ ระบายน้ำลงสู่คลองปากนครอีกหลายสาย และพื้นที่บางส่วนติดกับทะเลอ่าวไทย ประชาชนส่วนใหญ่จะประกอบอาชีพเกษตรกรรมอยู่บริเวณรอบนอกชุมชน คือการทำประมงชายฝั่ง และการทำนากุ้ง เทศบาล ต.ปากนคร จึงมีนโยบายการบริหาร โดยมีแผนและหลักการพัฒนาการเกษตร การประมง แบบยั่งยืนอย่างครบวงจร รวมทั้งการศึกษาวิจัย และเพิ่มความรู้ทักษะให้แก่เกษตรกร ส่งเสริมให้เป็นแหล่งสำหรับขายอาหารทะเลทั้งด้านอาหารทะเลสด อาหารทะเลแปรรูป ให้เป็นจุดศูนย์กลางของภาคใต้และภูมิภาค ต่อเนื่องถึงการส่งออก เพื่อให้ชาวประมงมีรายได้เพิ่มขึ้น และมีความมั่นคงทางด้านการประมง (แผนยุทธศาสตร์การพัฒนาเทศบาลต.ปากนคร พ.ศ. 2554-2559)

การแปรรูปอาหารทะเล เป็นสิ่งหนึ่งที่มีพบเห็นโดยทั่วไปสำหรับพื้นที่การประมง ใน ต.ปากนคร ส่วนใหญ่จะใช้การตากแห้ง และการแช่แข็งเป็นหลัก ทำให้สามารถเก็บรักษาอาหารไว้ได้ระยะหนึ่ง ด้วยผลิตภัณฑ์อาหารทะเลแช่แข็ง สามารถรักษาสี กลิ่น รส และคุณค่าทางอาหารอย่างมีประสิทธิภาพ แต่จะสามารถรักษาเนื้อสัมผัสได้ปานกลางเท่านั้น โดยจะถูกจัดเก็บและขนส่งที่อุณหภูมิต่ำกว่า -18 $^{\circ}C$ เนื่องจากที่อุณหภูมินี้ เป็นอุณหภูมิที่ทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถดำเนินปฏิกิริยาทางชีวเคมีได้ ทำให้จุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุทำให้อาหารเน่าเสียเหล่านี้ ชะงักการเติบโตและหยุดกระบวนการเมทตาบอลิซึมลง ทำให้อาหารยังคงรักษาสภาพไว้ได้ รวมถึงตั้งแต่ขั้นตอนการจับเพื่อล้างสิ่งสกปรกและลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ติดมา โดยทั่วไปนอกจากจะใช้น้ำที่มีอุณหภูมิต่ำแล้ว ยังมีการเติมสารเคมีที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียในน้ำ โดยนิยมใช้สารประกอบคลอรีนมากที่สุด แต่การใช้สารประกอบคลอรีนอาจประสบปัญหา เนื่องจากน้ำที่ใช้มีสารแขวนลอยหรือสารประกอบอินทรีย์ ทำให้คลอรีนเสียคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อ ในขณะเดียวกันคลอรีนมีคุณสมบัติในการกัดกร่อน ระคายเคืองผิว และอาจเป็นสารก่อมะเร็ง ดังนั้นแนวทางอย่างหนึ่งที่จะชะลอการเจริญของจุลินทรีย์และลดการเปลี่ยน แปลงด้านคุณภาพ จึงหาวิธีการในการปรับปรุงคุณภาพและยืดอายุการเก็บรักษา โดยการใช้โอโซนในการแช่วัตถุดิบเพื่อลดปริมาณจุลินทรีย์ โดยเทคโนโลยีดังกล่าวสามารถนำมาใช้ในยกระดับคุณภาพอาหาร และยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหารได้ การศึกษาการเก็บรักษาอาหารทะเลในงานวิจัยนี้ จะศึกษาการเก็บรักษาอาหารทะเลในสภาวะสุญญากาศ

โอโซนเป็นก๊าซที่มีคุณสมบัติเป็นตัวออกซิไดซ์ที่รุนแรงกว่าคลอรีน 1.5 เท่าจึงมีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อที่ก่อโรคในอาหารและผักและผลไม้ได้ดีกว่าคลอรีนและสารฆ่าเชื้อตัวอื่น ไม่ก่อปัญหาสารเคมีตกค้าง เนื่องจากโอโซนสามารถสลายตัวเป็นออกซิเจนได้อย่างอัตโนมัติเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ในปี ค.ศ. 1997 สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (USFDA) ได้ประกาศให้โอโซนเป็นสารที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารได้อย่างปลอดภัย (GRAS; Generally Recognized As Safe) (Guzel-Seydim et al., 2004)

งานวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสร้างระบบพลาสมาโอโซไนเซอร์ เพื่อใช้สำหรับการบรรจุอาหารทะเลในพื้นที่บ้านปากนคร จ.นครศรีธรรมราช และศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อผลผลิตโอโซน เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาอาหารทะเล

**วัตถุประสงค์ของการวิจัย**

1. สร้างระบบพลาสมาโอโซไนเซอร์ เพื่อใช้สำหรับการบรรจุอาหารทะเลในพื้นที่ศึกษา
2. ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อผลผลิตโอโซน เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาอาหารทะเล
3. พัฒนาการบรรจุภัณฑ์อาหารทะเลที่คงความสด และยืดอายุการเก็บรักษา

**วิธีดำเนินการวิจัย**

**ตอนที่ 1 การวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด โคลิฟอร์มแบคทีเรีย และ *E.coli* ในอาหารทะเล**

1.1 การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างอาหารทะเลในพื้นที่เขตเทศบาล ต.ปากนคร อ.เมือง จ.นครศรีธรรมราช จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ ปูดำ หอยแมงภู่ และปลาดุกทะเล ชนิดละ 3 ตัวอย่าง เก็บรักษาในน้ำแข็งควบคุมอุณหภูมิไม่ให้เกิน 4 องศาเซลเซียส ระยะ เวลาตั้งแต่เก็บตัว อย่างจนถึงการตรวจไม่เกิน 3 ชั่วโมง เพื่อศึกษาปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียและ *E. coli* และใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นของชนิด และปริมาณแบคทีเรียในอาหารทะเลสด

1.2 การวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด

นำตัวอย่าง 25 กรัม ใส่ในสารละลาย 0.85% Normal Saline ปริมาตร 225 มิลลิลิตร บดให้ละเอียดด้วยเครื่อง Stomacher ทำการเจือจางตัวอย่างที่ระดับ $10^{-2}$-$10^{-5}$ ด้วยสารละลาย 0.85% Normal Saline ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ดูดสารละลายตัวอย่างแต่ละความเจือจางปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร Spread ลงบนอาหาร Plate count agar (PCA) บ่มที่อุณหภูมิ 35°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกผลปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่เกิดขึ้น (US. FPD, 1998)

1.3 การวิเคราะห์ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียและ *E.coli* ทำการวิเคราะห์ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียและ *E. coli* ในตัวอย่างอาหารทะเล ดังนี้

การทดสอบ Presumptive test

1) นำตัวอย่างอาหารทะเลที่ระดับความเจือจาง $10^{-1}$-$10^{-3}$ จำนวน 1 มิลลิลิตร ถ่ายลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Lauryl Sulfate Tryptone (LST) ความเข้มข้น 2 เท่า ซึ่งบรรจุหลอดจำนวน 9 มิลลิลิตร ทำซ้ำความเจือจางละ 3 หลอด

2) นำไปเพาะเชื้อที่ 35 °C ตรวจการเกิดกรดและก๊าซภายใน 24 ชั่วโมง ถ้าไม่พบนำไปเพาะเชื้อต่อจนครบ 48 ชั่วโมง แล้วบันทึกผล

Confirm test

1) นำ loop เขี่ยเชื้อจากหลอดบรรจุอาหาร LST ที่ให้ผลบวก ใส่ลงในอาหาร EC

2) นำไปเพาะเชื้อที่ 35 °C ตรวจการเกิดกรดและก๊าซภายใน 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมงตามลำดับ คำนวณค่า coliform bacteria จากตาราง MPN Index

Complete test สำหรับ *E. coli*

เขี่ยเชื้อจากหลอดบรรจุอาหาร EC ที่ให้ผลบวกมา streak ลงบนอาหาร Eosin Methylene Blue agar (EMB) เพื่อแยกเชื้อ นำไปเพาะเชื้อที่ 35°C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ถ้าเป็นเชื้อ *E. coli* จะให้โคโลนีที่มีลักษณะเป็น metallic sheen (US. FPD, 1998)

**ตอนที่ 2 การออกแบบ และทดสอบระบบขั้วอิเล็กโทรดสำหรับพลาสมาโอโซไนเซอร์ และการหาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตโอโซน**

2.1 การออกแบบและทดสอบระบบขั้วอิเล็กโทรดสำหรับพลาสมาโอโซไนเซอร์

2.2 ศึกษาการหาความเข้มข้นของปริมาณโอโซน โดยวิธีมาตรฐานโพแทสเซียมไอโอไดส์

2.3 ศึกษาอัตราการไหลของออกซิเจนที่เหมาะสมในการผลิตโอโซน

2.4 หาความเข้มข้นของปริมาณโอโซนที่ความต่างศักย์ต่างๆ พิจารณาใช้อัตราการไหลที่ได้ปริมาณโอโซนมากที่สุด ที่เวลาต่างๆ

2.5 เตรียมสารละลายโอโซน ทำโดยปรับให้ก๊าซออกซิเจนบริสุทธิ์ (99.9%) ไหลผ่านเครื่องผลิตโอโซนระบบ dielectric barrier discharge ผสมกับน้ำ ผ่านไปบนอาหารทะเลที่สร้างการปนเปื้อนเชื้อ

**ตอนที่ 3 การศึกษาประสิทธิภาพการลดเชื้อที่ปนเปื้อนบนอาหารทะเลด้วยการผ่านโอโซน**

3.1 ทำการศึกษาประสิทธิภาพการลดเชื้อที่ปนเปื้อนบนอาหารทะเล ด้วยระบบการผ่านโอโซนที่เตรียมมาข้างต้น โดยศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของโอโซน และเวลาที่ผ่าน (10, 30, 60 และ 120 วินาที) ที่อุณหภูมิห้อง (30±2 °C) ต่อประสิทธิภาพการลดเชื้อ *E. coli* ที่ปนเปื้อนบนอาหารทะเล ตรวจ

สอบจำนวนเชื้อที่เหลือรอดด้วยเทคนิค spread plate บนอาหาร XLD และอาหาร PALCAM ตามลำดับ

3.2 วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างประสิทธิภาพการลดเชื้อที่ปนเปื้อนบนอาหารทะเลกับระยะห่าง และเวลาสัมผัสสารสารละลายโอโซน โดยวิธี multiple regression

**ตอนที่ 4 ศึกษาผลต่อการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในสภาวะสุญญากาศ**

4.1 นำตัวอย่างอาหารทะเลมา 2 ชุด โดยชุดแรกนำตัวอย่างแช่ในน้ำเย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นชุดควบคุม ชุดที่สองนำแช่ในน้ำโอโซนโดยใช้ปริมาณความเข้มข้นของโอโซน และระยะเวลาที่ดีที่สุดจากการพิจารณาในตอนที่ 3

4.2 บรรจุอาหารทะเลในถุงพลาสติก Polyethylene(PE), Polyvinylidine(PVDC) ปรับสภาวะบรรยากาศภายในถุง โดยใช้เครื่องบรรจุแบบสุญญากาศ เก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

4.3 ประเมินลักษณะปรากฏที่เปลี่ยน แปลงตลอดอายุการเก็บรักษา โดยถ้าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเกินมาตรฐาน ความสด และหรือลักษณะปรากฏไม่เป็นที่ยอมรับถือว่าสิ้นสุดอายุการเก็บรักษา นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปร ปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่าง

4.4 ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยใช้การทดลองแบบ RCBD (Randomized Complete Block Design) นำตัวอย่างอาหารทะเลในสภาวะต่างๆ นึ่งด้วยไอน้ำนาน 5 นาที แล้วประเมินคุณภาพทางด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม ในการชิมใช้ผู้ทดสอบระดับห้องปฏิบัติการซึ่งได้รับการฝึกฝนจำนวน 30 คน โดยใช้ผู้ชิมชุดเดียวกันตลอดการทดลอง ระบบการให้คะแนนแบบ 9-point hedonic scale (คะแนน 1 หมายถึง ไม่ชอบมากที่สุด และ 9 หมายถึง ชอบมากที่สุด) กำหนดให้คะแนนต่ำกว่า 5 เป็นคะแนนที่ผู้บริโภคไม่ยอมรับ คะแนนที่ได้จากการประเมินนำไปหาค่าเฉลี่ย วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Ducan's New Multiple Range Teat (DMRT)

**ผลการวิจัย**

**ตอนที่ 1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด โคลิฟอร์มแบคทีเรีย และ *E.coli* ในตัวอย่างอาหารทะเล**

จากการตรวจสอบปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในตัวอย่างอาหารทะเลสด จำนวน 3 ชนิด ชนิดละ 3 ตัวอย่าง พบว่าในตัวอย่าง ปูดำ มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเฉลี่ย $9.3X10^{6}$ CFU/g, หอยแมลงภู่ มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเฉลี่ย $2.6X10^{6}$ CFU/g, และปลาดุกทะเล มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเฉลี่ย $1.1X10^{7}$ CFU/g ส่วนปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียในตัวอย่างอาหารทะเลสด พบว่าในตัวอย่าง ปูดำ และปลาดุกทะเล มีปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียมากกว่า 1,000 MPN/g ส่วนหอยแมลงภู่ มีปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรีย 240 MPN/g ซึ่งปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียที่พบในปริมาณสูงเกินเกณฑ์ทั้งหมด และในตัวอย่างทั้ง 3 ชนิด มีการปนเปื้อนเชื้อ *E. coli* ดังแสดงในตารางที่ 1

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ได้ออกมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช. 9007-2548) ในเรื่อง ข้อกำหนดด้านความปลอด ภัยสินค้าเกษตรและอาหาร ได้กำหนดจุลินทรีย์สำหรับอาหารที่บริโภคได้ และใช้เป็นวัตถุดิบ ต้องไม่เกินเกณฑ์ที่กำหนด ในกลุ่มสินค้าปลา กุ้งสดแช่เยือกแข็ง/แช่เย็น มีจำนวนจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด (total viable count) ที่ยอมรับได้ในตัวอย่างที่ตรวจสอบต้องไม่เกิน $5.0 \times 10^{5}$ CFU/g และเอสเคอริเคีย โคไล *(E. coli)* <3 MPN/g โดยวัดจากจำนวนจุลินทรีย์ที่ยอมรับได้ในตัวอย่างที่ตรวจสอบ

**ตารางที่ 1** แสดงปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรีย และ *E. coli* ที่พบในตัวอย่างอาหารทะเลสด

| ตัวอย่าง | Total bacteria (CFU/g) | Total coliform (MPN Coliform/g) | *E. coli* |
|---|---|---|---|
| ปูดำ *Scylla serrata* | $9.3X10^6$ | >1,100 | พบ |
| หอยแมลงภู่ *Perna viridis* | $2.6X10^6$ | 240 | พบ |
| ปลาดุกทะเล *Plotosus lineatus* | $1.1X10^7$ | >1,100 | พบ |

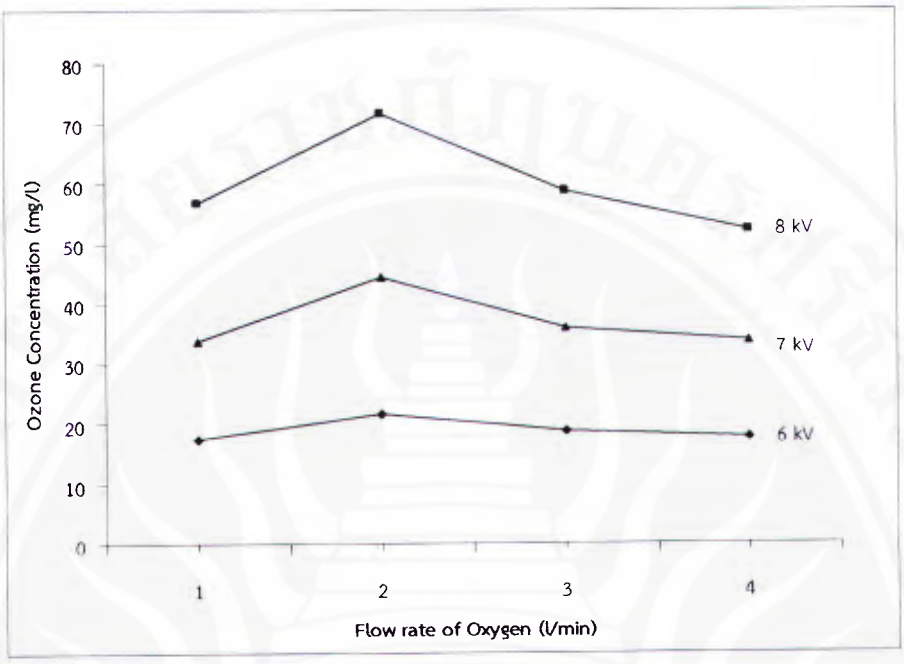
**ตอนที่ 2 การออกแบบ และทดสอบระบบขั้วอิเล็กโทรดสำหรับพลาสมาโอโซไนเซอร์ และการหาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตโอโซน**

**2.1 การออกแบบและทดสอบระบบขั้วอิเล็กโทรดสำหรับพลาสมาโอโซไนเซอร์**

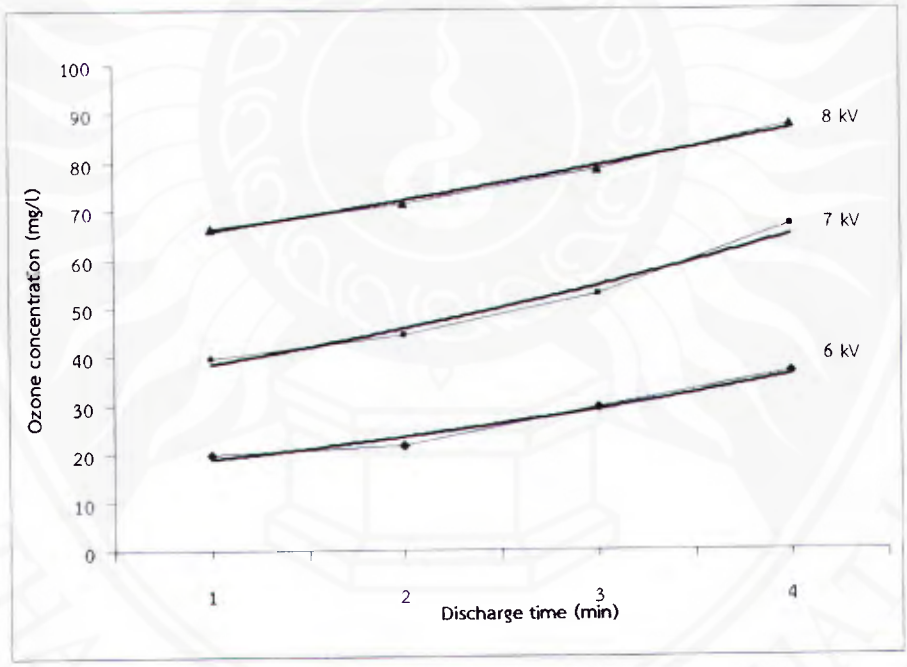
ความต่างศักย์ของแหล่งจ่ายไฟฟ้าแรงสูงได้อยู่ในระดับกิโลโวลต์ โดยสัญญาณที่วัดได้ถึงระดับ 16 กิโลโวลต์ ความถี่อยู่ที่ประมาณ 2.05 กิโลเฮิร์ต

จากภาพที่ 1 พบว่า ที่ความต่างศักย์ 6 กิโลโวลต์ ปริมาณโอโซนที่เกิดขึ้นเป็น 17.44, 21.56, 18.75 และ 17.55 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อัตราการไหลของก๊าซออกซิเจน 1, 2, 3 และ 4 ลิตรต่อนาที ตามลำดับ ที่ความต่างศักย์ 7 กิโลโวลต์ ปริมาณโอโซนที่เกิดขึ้นเป็น 33.78, 44.34, 35.58 และ 33.47 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อัตราการไหลของก๊าซออกซิเจน 1, 2, 3 และ 4 ลิตรต่อนาที ตามลำดับ ที่ความต่างศักย์ 8 กิโลโวลต์ ปริมาณโอโซนที่เกิดขึ้นเป็น 56.67, 71.57, 58.51 และ 52.14 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อัตราการไหลของก๊าซออกซิเจน 1, 2, 3 และ 4 ลิตรต่อนาที ตามลำดับ การเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลของก๊าซออกซิเจน มีผลต่อการปริมาณการเกิดโอโซนของระบบ นั่นคือเมื่อให้เงื่อนไขของศักย์ไฟฟ้าที่จ่ายให้กับระบบ และปัจจัยอื่นๆ ให้มีค่าคงที่ พบว่า อัตราการไหลของก๊าซที่เพิ่มขึ้นในช่วงหนึ่งเท่านั้นที่จะทำให้ปริมาณการเกิดโอโซนเพิ่มขึ้น โดยในการทดลองนี้ อัตราการไหล 2 ลิตรต่อนาที เป็นอัตราการไหลที่ทำให้เกิดโอโซนมากที่สุด และหลังจากอัตราการไหลช่วงนี้แล้วปริมาณการเกิดโอโซนจะลดลง เนื่องจากศักย์ไฟฟ้าที่ให้เพื่อทำให้เกิดการแตกตัวระดับหนึ่งที่ทำให้สามารถผลิตโอโซนได้มากสุด น่าจะมีสาเหตุมาจาก ณ ปริมาณศักย์ไฟฟ้าคงที่นั้น พลังงานที่ป้อนให้กับระบบ (โอโซไนเซอร์) คงที่ ซึ่งเพียงพอต่อจำนวนโมเลกุลของออกซิเจนขนาดหนึ่ง ดังนั้นหากเพิ่มปริมาณโมเลกุลของออกซิเจนมากขึ้น โดยเพิ่มอัตราการไหล จึงเป็นผลให้ปริมาณโมเลกุลบางส่วนไม่สามารถถูกดิสชาร์จและเปลี่ยนไปเป็นโอโซนได้ อีกเหตุผลหนึ่งน่าจะมาจากการที่อัตราการไหลของอากาศสูงๆ จะทำให้โมเลกุลของออกซิเจนไหลผ่านเร็วมากในบริเวณช่องว่างดิสชาร์จ ทำให้โมเลกุลของก๊าซส่วนมากไม่ได้ถูกทำให้แตกตัวในเวลาที่เหมาะสม ทำให้ปริมาณโอโซนต่ำกว่าที่อัตราการไหลต่ำๆ

ภายใต้อัตราการไหลของก๊าซออกซิเจนที่ต่างกัน ความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ต่างกัน ขณะที่ใช้เวลาดิสชาร์จเท่าๆ กัน จะเห็นว่า อัตราการไหลของก๊าซออกซิเจนที่เหมาะสมในการผลิตโอโซนของแต่ละความต่างศักย์ไฟฟ้า จะมีค่าเท่ากัน คือ 2 ลิตรต่อนาที เนื่องจากเป็นอัตราการไหลที่ให้ปริมาณโอโซนมากกว่าที่อัตราการไหลอื่นๆ ดังนั้นในการศึกษาจึงเลือกกำหนดอัตราการไหลของก๊าซออกซิเจนเพียงค่าเดียว คือที่ 2 ลิตรต่อนาที




**ภาพที่ 1** แสดงที่อัตราการไหลของก๊าซออกซิเจน 1, 2, 3 และ 4 ลิตรต่อนาที ที่ความต่างศักย์ไฟฟ้าในช่วง 6, 7 และ 8 กิโลโวลต์




**ภาพที่ 2** แสดงปริมาณโอโซนที่ความต่างศักย์ไฟฟ้า 6, 7 และ 8 กิโลโวลต์ ที่อัตราการไหลของก๊าซออกซิเจน 2 ลิตรต่อนาที ที่เวลาดิสชาร์จใน 1, 2, 3 และ 4 นาที

จากภาพที่ 2 พบว่า ที่ความต่างศักย์ 6 กิโลโวลต์ ปริมาณโอโซนที่เกิดขึ้นเป็น 19.47, 21.64, 29.44 และ 36.82 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เวลา 1, 2, 3 และ 4 นาที ตามลำดับ ที่ความต่างศักย์ 7 กิโลโวลต์ ปริมาณโอโซนที่เกิดขึ้นเป็น 39.52, 44.43, 52.84 และ 66.74 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เวลา 1, 2, 3 และ 4 นาที ตามลำดับ ที่ความต่างศักย์ 8 กิโลโวลต์ ปริมาณโอโซนที่เกิดขึ้นเป็น 66.54, 71.48, 78.78 และ 87.43 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เวลา 1, 2, 3 และ 4 นาที ตามลำดับ ปริมาณความเข้มข้นของการเกิดโอโซนกับการเปลี่ยนแปลงศักย์ไฟฟ้าที่ป้อนให้กับระบบ แสดงดังภาพที่ 4.7 พบว่า ที่เวลาดิสชาร์จเดียวกันปริมาณการเกิดโอโซนจะเพิ่มขึ้นตามการเพิ่มของศักย์ไฟฟ้า สามารถเขียนแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณความเข้มข้นของโอโซนกับเวลาดิสชาร์จ และได้ว่าการเปลี่ยนแปลงเวลาการดิสชาร์จทำให้ปริมาณโอโซนเพิ่มขึ้นเนื่องจากเวลาในการดิสชาร์จเพิ่มขึ้น ซึ่งก็คือเวลาในการทำให้ก๊าซออกซิเจนแตกตัวแล้วรวมกันเป็นโอโซนมีมากขึ้นก็ย่อมได้โอโซนมากขึ้น คือปริมาณ yield ที่ได้เป็นฟังก์ชันกับค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ป้อนให้กับขั้วอิเล็กโตรด

หลอดผลิตโอโซนที่ใช้ในการผลิตโอโซน ในงานวิจัยเป็นแบบท่อทรงกระบอกซึ่งมีองค์ ประกอบที่สัมพันธ์กับลักษณะของตัวเก็บประจุ สามารถหาค่าความจุไฟฟ้าจากสมการ

$$C = \frac{2\pi L \varepsilon \varepsilon_0}{\ln\left(\frac{r_e}{r_i}\right)} \qquad (1)$$

เมื่อ $C$ คือ ค่าความจุไฟฟ้า (F)

$L$ คือ ความยาวของขั้วไฟฟ้า (m)

$\varepsilon$ คือ ค่าคงที่ไดอิเล็กตริกในสุญญากาศ มีค่า $8.854 \times 10^{-12}$ (F/m)

$\varepsilon_0$ คือ ค่าคงที่ไดอิเล็กตริกสัมพัทธ์

$r_e, r_i$ คือ รัศมีภายนอกและภายในของขั้วไฟฟ้า (m)

โดยในงานวิจัยนี้หลอดผลิตโอโซนมีค่า ดังนี้ $L$ = 0.15 m, $\varepsilon$ = $8.854 \times 10^{-12}$ F/m, $\varepsilon_{0\ \text{แก้ว pyrex}}$ = 5, $r_e$ = $16.5 \times 10^{-3}$ m และ $r_i$ = $4 \times 10^{-3}$ m แทนค่าตามสมการ จะได้ค่าความจุไฟฟ้าของหลอดผลิตโอโซนเท่ากับ 29.43 pF เมื่อทราบค่าความจุไฟฟ้าของหลอดผลิตโอโซน ทำให้สามารถศึกษาการใช้พลังงานทั้งหมดในการผลิตโอโซนที่ความต่างศักย์ต่างๆ จากสมการ

$$E = \frac{1}{2}CV^2 \qquad (2)$$

เมื่อ $E$ คือ ค่าพลังงานไฟฟ้า (J)

$C$ คือ ค่าความจุไฟฟ้า (F)

$V$ คือ ค่าความต่างศักย์ที่ขั้วไฟฟ้า (V)

ดังนั้น ที่ 6 กิโลโวลต์ ใช้พลังงาน 529.74 $\mu J$

ที่ 7 กิโลโวลต์ ใช้พลังงาน 721.04 $\mu J$

ที่ 8 กิโลโวลต์ ใช้พลังงาน 941.76 $\mu J$

จะได้ว่ายิ่งใช้ความต่างศักย์สูงการสิ้นเปลืองพลังงานก็จะสูงขึ้น และจะทำให้เกิดความเสียหายต่อขั้วไฟฟ้าของหลอดผลิตโอโซนได้ง่าย ส่งผลให้อายุการใช้งานของหลอดผลิตโอโซนสั้น

**ตอนที่ 3 ผลการศึกษาประสิทธิภาพการลดเชื้อที่ปนเปื้อนบนอาหารทะเลด้วยการผ่านโอโซน**

ระบบพลาสมาโอโซไนเซอร์ที่ได้จาก ตอนที่ 2 นำมาใช้ศึกษาประสิทธิภาพการลดเชื้อที่ปน เปื้อนบนอาหารทะเล โดยศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของโอโซน ที่เป็นผลจากความต่างศักย์ 6, 7 และ 8 กิโลโวลต์ กับเวลาที่สัมผัส 10, 30, 60 และ 120 วินาที ที่อุณหภูมิห้อง (30±2°C) ต่อประสิทธิ ภาพการลดเชื้อ *E. coli* ที่ปนเปื้อนบนอาหารทะเล ซึ่งกำหนดจำนวนเชื้อเริ่มต้นที่ประมาณ 7 log ผลการทดลองในตัวอย่าง ปูดำ, หอยแมลงภู่ และปลาดุกทะเล แสดงดังตารางที่ 2, 3 และ 4 ตามลำดับ

**ตารางที่ 2** แสดงการลดของปริมาณเชื้อ *E. coli* ในปูดำที่ความต่างศักย์ 6, 7 และ 8 กิโลโวลต์ กับเวลาที่สัมผัส 10, 30, 60 และ 120 วินาที

| ความต่างศักย์ (kV) | Log Reduction (log CFU/g) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 10 s | 30 s | 60 s | 120 s |
| 6 | $1.36 \pm 0.02^{a}$ | $1.68 \pm 0.01^{a}$ | $2.35 \pm 0.01^{a}$ | $3.36 \pm 0.01^{a}$ |
| 7 | $1.74 \pm 0.01^{b}$ | $1.95 \pm 0.01^{b}$ | $2.62 \pm 0.02^{b}$ | $3.75 \pm 0.01^{b}$ |
| 8 | $1.97 \pm 0.02^{c}$ | $2.04 \pm 0.01^{c}$ | $2.88 \pm 0.01^{c}$ | $3.94 \pm 0.01^{c}$ |

a,b,c,.. หมายถึง ตัวเลขที่มีอักษรเหมือนกันในคอลัมม์เดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

**ตารางที่ 3** แสดงการลดของปริมาณเชื้อ *E. coli* ในหอยแมลงภู่ที่ความต่างศักย์ 6, 7 และ 8 กิโลโวลต์ กับเวลาที่สัมผัส 10, 30, 60 และ 120 วินาที

| ความต่างศักย์ (kV) | Log Reduction (log CFU/g) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 10 s | 30 s | 60 s | 120 s |
| 6 | $1.77 \pm 0.01^{a}$ | $2.26 \pm 0.02^{a}$ | $2.95 \pm 0.02^{a}$ | $3.94 \pm 0.02^{a}$ |
| 7 | $2.06 \pm 0.01^{b}$ | $2.48 \pm 0.01^{b}$ | $3.22 \pm 0.01^{b}$ | $4.33 \pm 0.01^{b}$ |
| 8 | $2.40 \pm 0.02^{c}$ | $2.87 \pm 0.01^{c}$ | $3.68 \pm 0.02^{c}$ | $4.62 \pm 0.01^{c}$ |

a,b,c,.. หมายถึง ตัวเลขที่มีอักษรเหมือนกันในคอลัมม์เดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

**ตารางที่ 4** แสดงการลดของปริมาณเชื้อ *E. coli* ในปลาดุกทะเลที่ความต่างศักย์ 6, 7 และ 8 กิโลโวลต์ กับเวลาที่สัมผัส 10, 30, 60 และ 120 วินาที

| ความต่างศักย์ (kV) | Log Reduction (log CFU/g) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 10 s | 30 s | 60 s | 120 s |
| 6 | $1.86 \pm 0.01^{a}$ | $2.27 \pm 0.01^{a}$ | $2.95 \pm 0.01^{a}$ | $3.87 \pm 0.01^{a}$ |
| 7 | $2.24 \pm 0.01^{b}$ | $2.77 \pm 0.01^{b}$ | $3.48 \pm 0.01^{b}$ | $4.52 \pm 0.01^{b}$ |
| 8 | $3.88 \pm 0.01^{c}$ | $4.26 \pm 0.01^{c}$ | $4.97 \pm 0.01^{c}$ | $6.03 \pm 0.02^{c}$ |

a,b,c,.. หมายถึง ตัวเลขที่มีอักษรเหมือนกันในคอลัมม์เดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

จากตารางที่ 3, 4 และ 5 แสดงผลการลดเชื้อ *E. coli* ด้วยโอโซน เมื่อปริมาณเชื้อ *E. coli* เริ่มต้น 7 log CFU/g ที่ 6 กิโลโวลต์ ในช่วงเวลาสัมผัส 10-120 วินาที พบว่า การลดเชื้อ *E. coli* (Y) กับความต่างศักย์ ($X_1$) และเวลาสัมผัส ($X_2$) อยู่ในช่วง 1.36-3.36, 1.77-3.94 และ 1.86-3.87 log CFU/g โดยความสัมพันธ์ในรูปสมการถดถอยเชิงเส้นของแต่ละตัวอย่างเป็น $Y = 0.262X_1 + 0.959X_2$ ($R^2$=0.988), $Y = 0.273X_1 + 0.946X_2$ ($R^2$=0.985) และ $Y = 0.703X_1 + 0.679X_2$ ($R^2$=0.977) ตามลำดับ

ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ในตัวอย่างอาหารทะเลก่อนและหลังการผ่านโอโซนเป็นเวลา 1, 2, 3 นาที ตามลำดับ และค่าเปอร์เซ็นต์การลดลง ของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด พบว่า ในทุกตัวอย่างมีเปอร์เซ็นต์การลดลงของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ในตัวอย่างเห็นได้อย่างชัด เจน โดยเมื่อเวลาในการสัมผัสกับโอโซนมากขึ้น ค่าเปอร์เซ็นต์การลดลงของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดก็จะยิ่งเพิ่มมากขึ้น โอโซนสามารถทำลายแบคทีเรียได้ โดยการทำลายเกิดขึ้นที่เยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกของแบคทีเรีย จากนั้นจะทำให้เกิดการรั่วไหลของโปรตีนภายในเซลล์ออกสู่นอกเซลล์ และสุดท้ายจะทำให้เกิดการแตกสลายของเซลล์ ซึ่งจะทำให้โอโซนสามารถเข้าไป ทำปฏิกิริยากับสารโปรตีนได้อย่างสมบูรณ์ (Hunt and Marinas, 1999) พิจารณาหลังจากการผ่านโอโซนสัมผัสกับอาหารทะเล 3 นาที พบว่า จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดลดลงอย่างน้อย 1 log CFU/g ในตัวอย่างปูดำกับปลากุเลา, ลดลง 2 log CFU/g ในตัวอย่าง ปลาตะกรับกับกุ้ง และลดลง 4 log CFU/g ในตัวอย่างกั้งกับหอยแมลงภู่ ทั้งนี้การที่โอโซนสามารถทำลายจุลินทรีย์ ได้มาจากการที่โอโซนเป็นก๊าซที่ไม่คงตัวจะแตกสลายให้ก๊าซออกซิเจน และออกซิเจนอะตอมเรื่อยๆ อะตอมของออกซิเจนที่แตกตัวบางส่วนจะทำหน้าที่เป็น oxidizing agents ที่ทำลายจุลินทรีย์ได้

**ตอนที่ 4 ศึกษาผลต่อการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในสภาวะสุญญากาศ**

ผลจากการนำตัวอย่างอาหารทะเลมา 2 ชุด โดยชุดแรกนำตัวอย่างแช่ในน้ำเย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นชุดควบคุม ชุดที่สองนำแช่ในน้ำโอโซน โดยใช้ปริมาณความเข้มข้นของโอโซน และระยะเวลาที่ดีที่สุดจากการพิจารณาในตอนที่ 3 มาบรรจุอาหารทะเลในถุงพลาสติก Polyethylene (PE) ปรับสภาวะบรรยากาศภายในถุง โดยเครื่องบรรจุแบบสุญญากาศ เก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วทำการประเมินลักษณะปรากฏ ที่เปลี่ยนแปลงตลอดอายุการเก็บรักษา โดยถ้าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเกินมาตรฐาน ความสด และหรือลักษณะปรากฏไม่เป็นที่ยอมรับถือว่าสิ้นสุดอายุการเก็บรักษา

ผลการประเมินลักษณะปรากฏที่เปลี่ยนแปลงและปริมาณจุลินทรีย์ที่ระยะการเก็บรักษาถึง 14 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสพบว่า ปูดำ ไม่ผ่านเกณฑ์ประมาณวันที่ 12 โดยมีกลิ่นเน่าเสีย สีซีด และมีค่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด $4.6X10^6$/กรัม ซึ่งมีค่าเกินมาตรฐาน ในหอยแมลงภู่ ไม่ผ่านเกณฑ์ประมาณวันที่ 12 โดยมีกลิ่นปกติ แต่ไม่ผ่านเกณฑ์เนื่องจากมีสีซีด และมีค่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด $6.2X10^6$/กรัม ซึ่งมีค่าเกินมาตรฐาน ในปลาดุกทะเลไม่ผ่านเกณฑ์ประมาณวันที่ 12 เช่นกัน โดยมีกลิ่นปกติ แต่มีสีซีด และมีค่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด $8.6X10^6$/กรัม ซึ่งมีค่าเกินมาตรฐาน แสดงว่ากลิ่นมีความ สัมพันธ์กับปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดสอด คล้องกับ Wibowo และคณะ (1992) ที่พบว่า กลิ่นเป็นสิ่งที่สำคัญในการบอกถึงการทำงานของจุลินทรีย์ ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียของกุ้ง และปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด มีความสัมพันธ์กับอายุการเก็บรักษาของอาหารทะเล โดยจะไม่เป็นที่ยอมรับถ้ามีการเปลี่ยนของสี แม้ว่ากลิ่นยังเป็นที่ยอมรับ Marshall และ Kim (1996) กุ้งกุลาดำที่เก็บ ณ อุณหภูมิห้อง 27 องศาเซลเซียส เริ่มมีกลิ่นเมื่อมีค่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดประมาณ $10^6$/กรัม

ในส่วนของค่า pH ของตัวอย่างอาหารทะเลทั้งสามตัวอย่างมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเก็บรักษานานขึ้น โดยในปูดำ มีค่าระหว่าง 7.38-9.38 ในหอยแมลงภู่มีค่าระหว่าง 6.45-8.06 และปลาดุกทะเล มีค่าระหว่าง 5.88-7.87 เนื่องจากเกิดการสร้าง Amine จากปฏิกิริยา Aminoacids decaboxylation (Leitao และ Rios, 2000) สอดคล้องกับรายงานของ Osama (2012) ที่พบว่าเมื่อวันในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นค่า pH ก็มีค่าเพิ่มขึ้น โดยได้ทำการศึกษาในตัวอย่างของกุ้ง

จากการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยประเมินคุณภาพทางด้านสี กลิ่น เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม โดยผู้ทดสอบจำนวน 15 คน โดยใช้สเกล 10 เซนติเมตร พบว่า คะแนนด้านกลิ่น ในทุกตัวอย่างมีแนวโน้มลดลง โดยในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษา ผู้ทดสอบให้คะแนนเฉลี่ยด้านกลิ่นประมาณ 9 ในทุกตัวอย่าง หมายถึง ทุกตัวอย่างยังมีกลิ่นที่ปกติ ซึ่ง

เป็นลักษณะที่ผู้บริโภคต้องการ และเมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษา 10 วัน มีคะแนนเฉลี่ยด้านกลิ่นประมาณ 7-8 หมายถึง กลิ่นอาจจะมีความผิดปกติเล็กน้อย แต่ยังเป็นลักษณะที่ยอมรับได้ เนื่องจากการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์สามารถผลิตแก๊ส เช่น คาร์บอนไดออกไซด์ แอมโมเนีย เป็นต้น ซึ่งสอดคล้องกับการตรวจปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด แสดงว่าโอโซนทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกลิ่นช้าลง สอดคล้องกับการศึกษาของ Kim และคณะ (2000) ที่รายงานว่าการใช้โอโซนเข้มข้น 10 ppm สามารถลดกลิ่นและจำนวนจุลินทรีย์บนชิ้นปลาตัวอย่างได้

คะแนนด้านสี ในทุกตัวอย่างมีแนวโน้มลดลงในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษา ผู้ทดสอบให้คะแนนเฉลี่ยด้านสีประมาณ 9 ในทุกตัวอย่าง หมายถึง ทุกตัวอย่างยังมีสีที่ปกติ ซึ่งเป็นลักษณะที่ผู้บริโภคต้องการ และเมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษา 10 วัน มีคะแนนเฉลี่ยด้านสีประมาณ 6-7 หมายถึง สีที่มีความซีดในระดับที่ไม่มาก โดยในตัวอย่าง ปูดำ มีค่าลดลงมากกว่าในตัวอย่าง หอยแมลงภู่ และปลาดุกทะเล

คะแนนด้านเนื้อสัมผัส ในทุกตัวอย่างมีแนวโน้มลดลง โดยในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษา ผู้ทดสอบให้คะแนนเฉลี่ยด้านเนื้อสัมผัส ประมาณ 9 ในทุกตัวอย่าง หมายถึง ทุกตัวอย่างยังมีเนื้อสัมผัส ที่ปกติ ซึ่งเป็นลักษณะที่ผู้บริโภคต้องการ และเมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษา 10 วัน มีคะแนนเฉลี่ยด้านเนื้อ สัมผัส ประมาณ 7-8 หมายถึง เนื้อสัมผัสมีความแน่นน้อยกว่าเมื่อเริ่มต้น

คะแนนด้านความชอบโดยรวมในทุกตัวอย่างมีแนวโน้มลดลง โดยในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษา ผู้ทดสอบให้คะแนนเฉลี่ย ด้านความชอบโดยรวม ประมาณ 9 ในทุกตัวอย่าง หมายถึง ทุกตัวอย่างยังมีความชอบโดยรวมที่ปกติ ซึ่งเป็นลักษณะที่ผู้บริโภคต้องการ และเมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษา 10 วัน มีคะแนนเฉลี่ยด้านเนื้อสัมผัส ประมาณ 7 หมายถึง ความชอบโดยรวมในระดับที่ลดลงจาก แต่ยังเป็นลักษณะที่ยอม รับได้ เนื่องจากแม้กระบวนการเมทาบอลิซึมจะหยุดชะงักลง ตั้งแต่สัตว์ตาย แต่เอนไซม์ทั้งหลายยังมีกิจกรรมอยู่แม้จะไม่ได้กินอาหาร เอนไซม์เหล่านั้นจะเกิดการย่อยตัวเอง โดยเฉพาะโปรตีนที่จะถูกย่อยสลายไปเป็น เปปไทด์ (peptide) กรดอะมิโน (amino acid) แอมโมเนีย (ammonia) และอื่นๆ โดยสารประกอบที่เกิดขึ้นบางอย่างให้สี เนื้อสัมผัส กลิ่น เช่น แอมโมเนีย (ammonia) อินโดล (indole) TMA (trimethylamine) เป็นต้น โอโซนสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ได้ ยืดอายุการเสื่อมของอาหารทะเลได้ ซึ่งเป็นการลดจุลินทรีย์เพียงบาง ส่วนจากปริมาณเมื่อเริ่มต้น แต่การเสื่อม สภาพยังคงดำเนินต่อไป เนื่องจากปัจจัยอื่นๆ เช่น การเกิด Autolytic reaction โดย Endogeneous enzyme ซึ่งทำให้เกิดสี กลิ่น และเนื้อสัมผัสที่เปลี่ยนไป เนื่องจากกล้ามเนื้อของพวก shellfish มีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันน้อย และ Collagenolytic enzyme ช่วยเร่งทำให้เนื้อของอาหารทะเลนิ่ม ในการเก็บรักษาในน้ำแข็ง และการเกิด Oxidative rancidity ซึ่งเป็นสาเหตุหลักของการเน่าเสียของอาหารทะเล

**สรุปผลการวิจัย**

1. ในงานวิจัยนี้ผลิตก๊าซโอโซนด้วย ความถี่ 2 กิโลเฮิร์ต แรงดันเอาต์พุต 6-16 กิโลโวลต์ ให้ปริมาณโอโซน 19-85 มิลลิกรัม $O_3$/ลิตรของ $O_2$ ที่ความศักย์ไฟฟ้าในช่วง 6-8 กิโลโวลต์ โดยมีอัตราการไหลของก๊าซเป็น 2 ลิตรต่อนาที เป็นอัตราที่เหมาะสมในการผลิตโอโซน

2. ปริมาณเชื้อ *E. coli* ลดลงอย่างน้อย 1 log CFU/g และลดลงได้มากถึงประมาณ 6 log CFU/g ในตัวอย่างปลาดุกทะเล โดยการลดเชื้อ *E. coli* เป็นผลหรือได้รับอิทธิพลจากความต่างศักย์ และเวลาสัมผัสโอโซน มีความสัมพันธ์แสดงในรูปสมการถดถอยเชิงเส้น

3. ทั้ง 3 ชนิด ไม่ผ่านเกณฑ์ประมาณวันที่ 12 ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านสี กลิ่น เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม ตัวอย่างอาหารทะเลทั้ง 3 ชนิด ที่ผ่านการเก็บ 0 วัน ซึ่งเป็นชุดควบคุม มีคะแนนที่สูงกว่าตัวอย่างที่มีระยะการเก็บ 10 วัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

**กิตติกรรมประกาศ**

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช, สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา และผู้วิจัยขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช ที่ประสานและดูแลงบประมาณด้านการวิจัยสำหรับงานวิจัย และขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ที่สนับสนุนด้านการใช้เครื่องมืออุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ

**เอกสารอ้างอิง**

เทศบาลตำบลปากนคร อำเภอเมือง จังหวัดนครศรีธรรมราช. (2553). **แผนยุทธศาสตร์การพัฒนา พ.ศ.2554 - 2559**. ค้นเมื่อ 16 กันยายน 2554. จาก http://www paknakhoncity.go.th

ศูนย์วิจัยทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งอ่าวไทยตอนล่าง. (2554). **โครงการติดตามตรวจสอบสภาพสิ่งแวดล้อมชายฝั่งทะเล**. ค้นเมื่อ 14 กันยายน 2554. จาก http://www.smcrrc.go.th/lake_Oceanography.html

สืบเนื่อง ชัยชนะ และคณะ. (2550). **ประสิทธิภาพการลดเชื้อ *Salmonella* spp. และ *Listeria* sp. บนซากสุกรโดยการฉีดพ่นด้วยสาร ละลายโอโซน**. ว. วิทย์. กษ. 38 : 5 (พิเศษ). 395-398.

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (2552). **ข้อกำหนดด้านความปลอดภัยสินค้าเกษตรและอาหาร. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์**. ราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศทั่วไป เล่ม 123 ตอนพิเศษ 7. ลงวันที่ 19 มกราคม 2549.

Carpo C, Himelbloom B, Vitt S., (2004). **Ozone efficacy as a bactericide in seafood processing**. J of Aquatic Food Prod Tech 13. 111-123.

Guzel-Seydim, Z., Bever Jr., P.I. Greene, A.K. (2004). **Efficacy of ozone to Reduce bacterial populations in the presence of food components**. Food Microbiology. 21: 475-479.

Hunt, Nimrata., and Marinas., Benito J. (1999). **Inactivation of *Escherichia coli* with ozone chemical and inactivation kinetics**. Water Research 33: 2633-2641.

Kim, T. J., Silva, J. L., Chamul, R. S., Chen (2000). **Influence of ozone, Hydrogenperoxide, or Salt on Microbial Profile, TBARS and Color of Channel Cat Fish Fillets.** Jornal of Food Science 65(7):1210-1213.

Leitao, M. F. F. and Rios, D. P.A. (2000). **Microbiological and chemical changes in fresh water prawn *(Macchrobrachium rosembergii)* stored under refrigeration**. Brazillian Journal of Microbiology 31:178-183.

Osama A. Attala., (2012). **Impact of Using Organic Acids and Sodium Sulfite on the Quality of Unpeeled Shrimp**. World Journal of Fish and Marine Sciences 4 (3): 284-289.

US. FPD. (1998). **Bacteriological Analytical Manual.** 8th ed. Gaithersburg: AOAC international

Wibowo, S., P. Sumpeno, T.S. Suwarno and T.H.E. Supomo, (1992). **The pattern of post mortem biochemical and microbiological changes in farmed tiger shrimp at ambient temperature**. FAO Fish Res., 470(Suppl.): 29-39.