งานวิจัยเรื่อง

ระบบพลาสมาโอโซไนเซอร์สำหรับการกำจัดจุลินทรีย์บนอาหารทะเล

Plasma Ozonizer System for Treatment the Microbiology on Sea Food

โดย

นายพิชญ์ศักดิ์ จันทร์กุศล

นางสาวลัญจกร จันทร์อุดม

มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

2556

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา และคณะผู้วิจัยขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช ที่ประสานและดูแลงบประมาณด้านการวิจัยสำหรับงานวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ที่สนับสนุนด้านการใช้เครื่องมืออุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ โดยความเห็นในรายงานผลการวิจัยเป็นของผู้วิจัย มหาวิทยาลัยไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป

นายพิชญ์ศักดิ์ จันทร์กุศล

นางสาวลัญจกร จันทร์อุดม

ตุลาคม 2556

หัวข้อวิจัย	ระบบพลาสมาโอโซไนเซอร์สำหรับการกำจัดจุลินทรีย์บนอาหารทะเล
ผู้ดำเนินการวิจัย	นายพิชญ์ศักดิ์ จันทร์กุศล และนางสาวลัญจกร จันทร์อุดม
หน่วยงาน	หลักสูตรฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช
ปี พ.ศ.	2556

บทคัดย่อ

บทความนี้นำเสนอวิธีการผลิตก๊าซโอโซนด้วยสนามไฟฟ้าแรงดันสูงความถี่สูงโดยนำหลักการของวงจรฟลายแบคคอนเวอร์เตอร์แบบเพิ่มระดับแรงดันไฟฟ้า โดยการออกแบบวงจรฟลายแบคคอนเวอร์เตอร์ให้ทำงานที่ความถี่ 2 กิโลเฮิร์ต ผ่านหม้อแปลงความถี่สูง วงจรเรียงกระแสและฟิลเตอร์ทางด้านเอาต์พุต เพื่อให้ได้ไฟฟ้ากระแสตรงที่แรงดันเอาต์พุต 16 kV เพื่อนำมาประยุกต์ใช้กับหลอดโอโซไนเซอร์ที่ใช้ในงานวิจัยประกอบด้วยหลอดโอโซไนเซอร์ยาว 0.21 เมตร ขั้วไฟฟ้าโลหะไร้สนิม และหน่วยจ่ายพลังงาน ขั้วไฟฟ้าภายในหุ้มด้วยแก้วไพเร็กซ์ซึ่งทำหน้าที่เป็นสารไดอิเล็กตริก ขั้วไฟฟ้าภายนอกทำด้วยโลหะไร้สนิม ช่องดิสชาร์จมีขนาด 0.0075 เมตร โดยให้ปริมาณโอโซน 20-70 มิลลิกรัม O_3/ลิตรของ O_2 ที่ศักย์ไฟฟ้าในช่วง 6-8 กิโลโวลต์ โดยมีอัตราการไหลของก๊าซเป็น 2 ลิตรต่อนาที พบว่าปริมาณความเข้มข้นของโอโซนเป็นปฏิภาคโดยตรงกับความต่างศักย์ไฟฟ้า

อาหารทะเลที่ได้จากพื้นที่ปากนครได้แก่ ปลาตะกรับ, กุ้ง, ปูดำ, กั้งตั๊กแตน, หอยแมลงภู่ และปลากุเลา นำมาหาค่าจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด, ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียและ *E coli* พบว่าจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดอยู่ระหว่าง 1.8×10^{6}-9.0×10^{8}CFU/g รวมถึงปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียและ *E. coli* อยู่ในระดับที่เกินจากมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช. 9007-2548) จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดลดลงอย่างน้อย 1 log CFU/g ในตัวอย่างปูดำกับปลากุเลา, ลดลง 2 log CFU/g ในตัวอย่าง ปลาตะกรับกับกุ้ง และลดลง 4 log CFU/g ในตัวอย่างกั้งกับหอยแมลงภู่ หลังจากการผ่านโอโซนสัมผัสกับอาหารทะเล 3 นาที พบว่า จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดลดลงอย่างน้อย 1 log CFU/g ในตัวอย่างปูดำกับปลากุเลา, ลดลง 2 log CFU/g ในตัวอย่าง ปลาตะกรับกับกุ้ง และลดลง 4 log CFU/g ในตัวอย่างกั้งกับหอยแมลงภู่ โอโซนมีผลต่อการลดลงของปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียและ *E. coli* แต่อย่างไรก็ตามปริมาณ MPN Fecal coliform /กรัม ยังคงสูงกว่าค่ามาตรฐานที่กำหนด ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่มีอยู่สูงก่อนการผ่านโอโซน

Research Title	Plasma Ozonizer System for Treatment the Microbiology on Sea Food
Researcher	Pitchasak Chankuson and Lanchakon Chanudom
Organization	Physics Faculty of Science and Technnology
	RajabhatNakhon Si Thammarat University
Academic Year	2556

ABSTRACT

This paper presents the method of ozone gas generation using high voltage high frequency electric field. With the working process of the increasing voltage flyback converter. The flyback converter is designed to operate at 2 kHz frequency through a high frequency transformer, a rectifier and filter circuits in order to operate the maximum current power supply at output voltage of 16 kV. By adapting the Plasma ozonizer consists of ozonizer cell with 0.21 m length and diameter of 35 mm, stainless steel electrode and high voltage power supply unit. An inner electrode was put in pyrex test tube which was a dielectric while discharge gap between electrode was fixed at 0.0075 m. The result showed that concentration of ozone generated was in rang of 20-70 mg of ozone/liter of oxygen feed at 6-8 kV and optimum flow rate of 2 l/min.

Seafood obtained from Pak Nakhon that is Argus fish, shrimp, black crab, mantis shrimp, mussel and E.tetradactylum was assessed for the amount of total bacteria, coliform and *Esherichia coli.* It was found that the amount of total bacteria were 1.8×10^{6} - 9.0×10^{8} CFU/g. The amount of coliform and detected *E. coli* was higher than Thai Agricultural Commodity and Food Standard (TACFS 9007-2548). This study was conducted to determine the effects of ozonated water with different exposure times (1, 2 and 3 min). Results showed that amount of bacteria was decreased when time contact is increase and ozonated water could effectively reduce 6 and 8 log of initial suspension to 4, 5, 6 and 7 log respectively of total bacteria after contacting for 3 minute. Ozonated water could reduced all tested bacteria and inactivating Escherichia coli on seafood.

สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ..... (1)
บทคัดย่อภาษาไทย..... (2)
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... (3)
สารบัญ..... (4)
สารบัญตาราง..... (6)
สารบัญภาพ..... (7)

บทที่ 1 **บทนำ**..... 1
ความเป็นมาและความสำคัญ..... 1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย..... 3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 3
ขอบเขตการวิจัย..... 3

บทที่ 2 **แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง**..... 4
พลาสมา..... 4
โอโซน..... 8
การดิสชาร์จไฟฟ้า..... 12
การสร้างโอโซนโดยกระบวนการดิสชาร์จไฟฟ้า..... 15
การประยุกต์ใช้งานโอโซน..... 17
ปัจจัยที่มีผลต่อการละลายของแก๊สโอโซนในน้ำ..... 18
กรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย..... 20
การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง 20

บทที่ 3 **วิธีดำเนินการวิจัย**..... 23
สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย..... 23
วัสดุ อุปกรณ์..... 23
ขั้นตอนและวิธีการวิจัย..... 26

หน้า

บทที่ 4 **ผลการวิจัย และอภิปรายผล** 30

การวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด โคลิฟอร์มแบคทีเรีย และ *E.coli* ในตัวอย่างอาหารทะเล 30

การออกแบบ และทดสอบระบบขั้วอิเล็กโทรดสำหรับพลาสมาโอโซไนเซอร์ และการหาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตโอโซน 34

การศึกษาประสิทธิภาพการลดเชื้อที่ปนเปื้อนบนอาหารทะเลด้วยการผ่านโอโซน 44

บทที่ 5 **สรุป และข้อเสนอแนะ** 48

เอกสารอ้างอิง 50

ภาคผนวก 53

ภาคผนวก ก การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ 54

ภาคผนวก ข การตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์ในน้ำโอโซน 57

ภาคผนวก ค ตาราง MPN Index 59

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงกลไกการชนกันของแก๊ส.....	6
2	แสดงรายละเอียดเงื่อนไขและสภาวะของการเกิดดิสชาร์จไฟฟ้าแบบโครงสร้างโมเลกุลของก๊าซโอโซน.....	14
3	ความสามารถในการละลายของแก๊สโอโซนที่อุณหภูมิต่างๆ.....	19
4	การกำหนดรหัสตัวอย่าง.....	31
5	ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดที่พบในตัวอย่างอาหารทะเลสด.....	32
6	ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียในตัวอย่างอาหารทะเลสดบริเวณเขตเทศบาลตำบลปากนคร อ.เมือง จ.นครศรีธรรมราช.....	33
7	แสดงวงจรกระแสเข้าของขดลวดจุดระเบิดโดยมีตัวเก็บประจุ C3 และตัวต้านทาน R2 เป็นตัวดิสชาร์จกระแสให้กับขดลวดจุดระเบิด.....	34
8	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างอาหารทะเลก่อนและหลังการผ่านโอโซนเป็นเวลา 1 นาที.....	44
9	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างอาหารทะเลก่อนและหลังการผ่านโอโซนเป็นเวลา 2 นาที.....	44
10	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างอาหารทะเลก่อนและหลังการผ่านโอโซนเป็นเวลา 3 นาที.....	45
11	แสดงปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียในตัวอย่างอาหารทะเลสดบริเวณเขตเทศบาลตำบลปากนคร อ. เมือง จ. นครศรีธรรมราช.....	46

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แสดงวิธีต่างๆ ที่ทำให้เกิดอนุภาคที่มีประจุ.....	5
2	โครงสร้างโมเลกุลของก๊าซโอโซน.....	10
3	โครงสร้างระดับพลังงานศักย์ของออกซิเจน.....	11
4	แสดงความสัมพันธ์ของฟิสิกส์พลาสมาดิสชาร์จและพลาสมาเคมีในการดิสชาร์จไฟฟ้า.....	14
5	แสดงเครื่อง Stomacher.....	25
6	แสดงหัววัดศักย์ไฟฟ้า.....	25
7	แสดงพื้นที่ที่ทำการศึกษา.....	30
8	แสดงตัวอย่างอาหารทะเลที่นำมาศึกษา.....	32
9	แสดงวงจรกระแสเข้าของขดลวดจุดระเบิดโดยมีตัวเก็บประจุ C3 และตัวต้านทาน R2 เป็นตัวดิสชาร์จกระแสให้กับขดลวดจุดระเบิด.....	34
10	แสดงความต่างศักย์ที่ 6 กิโลโวลต์.....	35
11	แสดงความต่างศักย์ที่ 8 กิโลโวลต์.....	36
12	แสดงความต่างศักย์ที่ 16 กิโลโวลต์.....	36
13	แสดงค่าความถี่ที่ให้ออกมาขณะปรับไปที่ 6 กิโลโวลต์.....	37
14	แสดงค่าความถี่ที่ให้ออกมาขณะปรับไปที่ 8 กิโลโวลต์.....	37
15	แสดงค่าความถี่ที่ให้ออกมาขณะปรับไปที่ 16 กิโลโวลต์.....	37
16	แสดงโอโซไนเซอร์ที่ใช้ในการผลิตโอโซนในงานวิจัย.....	38
17	แสดงกราฟมาตรฐานการดูดกลืนแสงต่อปริมาณโอโซนที่ความเข้มข้นต่างๆ.....	40
18	แสดงปริมาณโอโซนที่อัตราการไหลของก๊าซออกซิเจน 1, 2, 3 และ 4 ลิตรต่อนาที ที่ความต่างศักย์ไฟฟ้าในช่วง 6, 7 และ 8 กิโลโวลต์.....	41
19	แสดงปริมาณโอโซนที่ความต่างศักย์ไฟฟ้า 6, 7 และ 8 กิโลโวลต์ที่อัตราการไหลของก๊าซออกซิเจน 2 ลิตรต่อนาที ที่เวลาดิสชาร์จใน 1, 2, 3 และ 4 นาที.....	43

บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญ

เทศบาลตำบลปากนคร มีสภาพพื้นที่ส่วนใหญ่เป็นพื้นที่ราบลุ่มและป่าชายเลน มีลำคลองเล็กๆ (ชาวบ้านเรียกว่าบาง) ระบายน้ำลงสู่คลองปากนครอีกหลายสาย และพื้นที่บางส่วนติดกับทะเลอ่าวไทย และอยู่ห่างจากตัวเมืองนครศรีธรรมราชไม่มาก ทำให้ประชาชนทั่วไปเข้ามาท่องเที่ยวเป็นจำนวนมาก โดยมุ่งเน้นมารับประทานอาหารทะเล และชมทัศนียภาพบริเวณชายฝั่ง รายได้ส่วนใหญ่ของราษฎรในเขตเทศบาลตำบลปากนคร ร้อยละ 90 จึงได้มาจากการประกอบอาชีพประมง เลี้ยงกุ้ง เลี้ยงปลา รวมถึงเทศบาลตำบลปากนครก็มียุทธศาสตร์และแนวการพัฒนาท้องถิ่นเพื่อเป็นศูนย์กลางของอาหารสดทางทะเล และส่งเสริมด้านอาชีพเสริมต่างๆ ให้คนในท้องถิ่น (เทศบาลตำบลปากนคร, 2553) จากรายงานโครงการติดตามตรวจสอบสภาพสิ่งแวดล้อมชายฝั่งทะเลผลจากโครงการศึกษาคุณภาพน้ำทั่วไปที่ส่งออกสู่ชายฝั่งทะเลอ่าวไทยตอนล่าง ของศูนย์วิจัยทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งอ่าวไทยครอบคลุมพื้นที่จังหวัดนครศรีธรรมราชถึงจังหวัดนราธิวาส โดยทำการสำรวจข้อมูลคุณภาพน้ำ รวมถึงศึกษาการเปลี่ยนแปลงตามฤดูกาลของคุณภาพน้ำและตะกอนดินในพื้นที่ชายฝั่งอ่าวไทยตอนล่าง เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐาน และวิเคราะห์สถานการณ์คุณภาพน้ำทะเล ผลการเปรียบเทียบคุณภาพน้ำทะเลชายฝั่งบริเวณอ่าวไทยตอนล่าง กับค่ามาตรฐานคุณภาพน้ำทะเล พบว่า ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มทั้งหมด ที่ตรวจวัดได้ จากสถานีที่ 19 บ้านปากนคร จังหวัดนครศรีธรรมราช เดือนพฤศจิกายน 2553 พบว่า มีค่า 2200 MPN/100 ml และเดือนเมษายน 2554 มีค่า 1,100 MPN/100ml ซึ่งมีค่าสูงเกินค่ามาตรฐาน (เกณฑ์มาตรฐานกำหนดไว้ไม่เกิน 1000 MPN/100ml) (ศูนย์วิจัยทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งอ่าวไทยตอนล่าง, 2554) Coliform bacteria นิยมใช้เป็นดัชนีบ่งชี้สุขาภิบาลของอาหารและน้ำ เนื่องจากแบคทีเรียในกลุ่มนี้คือ Escherichia coli มีแหล่งอาศัยในลำไส้ของคนและสัตว์เลือดอุ่น ดังนั้นการตรวจพบ Escherichia coli ในอาหารและน้ำดื่มจึงแสดงว่ามีการปนเปื้อนอุจจาระ ซึ่งบอกถึงลักษณะสุขาภิบาลการผลิตของอาหารและน้ำนั้นไม่สะอาดพอ และมีแนวโน้มที่จะมีแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคทางเดินอาหาร เช่น Salmonella และ Shigella ซึ่งเป็นแบคทีเรียในกลุ่มเดียวกันปนเปื้อนอยู่ในอาหารและน้ำนั้น อาจก่อให้เกิดโรคเกี่ยวกับทางเดินอาหาร เช่น ไทฟอยด์ บิด และอหิวาต์ จะมีผลกระทบ โดยตรงต่อสุขภาพของคนผู้บริโภค และผู้ที่ใช้น้ำในแหล่งน้ำ

ในอาหารทะเลที่จับใหม่ๆ แบคทีเรียที่พบมากในเขตร้อน ได้แก่ Micrococcus 49%, Pseudomonas 18%, Coryneforms 12% และ Acinetobacter 9% (นภา โล่ห์ทอง, 2535) ดังนั้น การควบคุมคุณภาพวัตถุดิบจึงเป็นขั้นตอนสำคัญ เนื่องจากในการจับ การขนส่งจากแหล่งเพาะเลี้ยงมาตลาดกลาง และระหว่างการขายที่ตลาดกลาง มีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิตลอดเวลา นอกจากนี้อาจมีการปนเปื้อนจากสุขลักษณะที่ไม่ได้มาตรฐาน โดยแบคทีเรียที่สำคัญและนิยมใช้กำหนดคุณภาพคือ จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด โคลิฟอร์ม และต้องตรวจไม่พบแบคทีเรียก่อโรค เช่น ซาลโมเนลลาและวิบริโอ (สุวิมล กีรติวิริยาภรณ์ และ ศันสนีย์ ศรีจันทร์งาม, 2543) ประเทศคู่ค้ารายใหญ่ เช่น สหรัฐอเมริกาค่อนข้างเข้มงวดต่อเชื้อซาลโมเนลลามาก ซึ่งเป็นผลมาจากการเจ็บป่วยของประชากรในประเทศ โดย Wallace และคณะ (2000) รายงานการตรวจพบโรค Salmonellosis 2,205 ราย และการติดเชื้อจากวิบริโอ 51 ราย จากทั้งหมด 8,576 ราย ส่วนในญี่ปุ่นเน้นเชื้อวิบริโอ เพราะเป็นสาเหตุ 1 ใน 4 ของโรคอาหารเป็นพิษ และในปี ค.ศ. 1998-1999 กลุ่มประเทศยุโรปไม่ยอมรับผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำของไทย เนื่องจากพบเชื้อซาลโมเนลลาและวิบริโอ (Feldhusen, 2000) ในไทย ศิริลักษณ์ สุวรรณรังษี (2541) รายงานการพบเชื้อซาลโมเนลลา 0.5-1% ในผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำแช่แข็งช่วงปี พ.ศ.2538-2540

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

จากสาเหตุสำคัญต่างๆ ดังกล่าวข้างต้น การศึกษาวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการปนเปื้อนของแบคทีเรียในอาหารทะเล บริเวณบ้านปากนคร จังหวัดนครศรีธรรมราช ซึ่งเป็นปัญหาที่จะส่งผลกระทบต่อการดำเนินชีวิตของคนในพื้นที่ โดยระบบพลาสมาโอโซไนเซอร์ เพื่อใช้งานในพื้นที่ได้จริง

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษาการปนเปื้อนของแบคทีเรียในอาหารทะเล บริเวณบ้านปากนคร อ.เมือง จ.นครศรีธรรมราช

2. สร้างระบบพลาสมาโอโซไนเซอร์ เพื่อใช้งานในพื้นที่ศึกษา

3. ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อผลผลิตโอโซน เพื่อกำหนดค่าพารามิเตอร์ที่เหมาะสมสำหรับการนำไปใช้กับอาหารทะเล

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ข้อมูลอาหารทะเลที่ปนเปื้อนจุลินทรีย์

2. ระบบพลาสมาโอโซไนเซอร์สำหรับใช้งานภาคสนาม

ขอบเขตของการวิจัย

ใช้ตัวอย่างอาหารทะเลจากพื้นที่ที่มีค่าปริมาณแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มทั้งหมดเกินเกณฑ์, สร้างระบบพลาสมาโอโซไนเซอร์ และกำหนดค่าพารามิเตอร์ที่เหมาะสมสำหรับการนำไปใช้กับอาหารทะเล

บทที่ 2
แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

พลาสมา

พลาสมาในสถานะแก๊ส (gaseous plasma) จะประกอบด้วยประจุ อิเล็กตรอน และอนุภาคอิสระ ซึ่งสามารถกระตุ้นให้สารต่างๆ เกิดปฏิกิริยาได้ง่ายขึ้น

1. คุณสมบัติพื้นฐานของพลาสมา

พลาสมาเป็นส่วนผสมของแก๊สที่มีทั้งอนุภาคที่มีค่าประจุเป็นลบ บวก และกลาง อนุภาคที่เป็นบวกคือ cations แต่อนุภาคที่เป็นลบอาจเป็นได้ทั้ง anions และอิเล็กตรอน ส่วนอนุภาคที่มีค่าประจุเป็นกลางอาจเป็นส่วนผสมของอนุภาคอิสระหรือแก๊สที่อยู่ในสภาวะปกติต่างๆ คุณสมบัติสำคัญของพลาสมา คือ

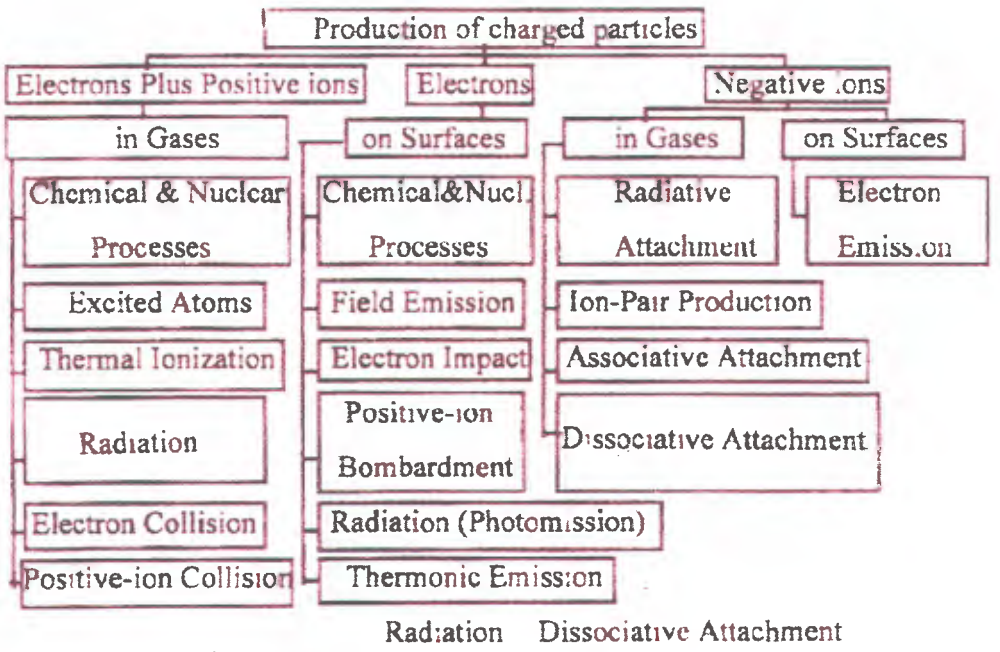
1.1 คุณสมบัติ Quasi-Neutral ความหนาแน่นทั้งหมดของอนุภาคที่มีค่าประจุเป็นลบจะต้องเท่ากับความหนาแน่นทั้งหมดของอนุภาคที่มีค่าประจุเป็นบวก

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 กระบวนการทั้งสองกระบวนการนี้มีความสำคัญพอๆกัน ในการทำให้เกิดพลาสมา อิเล็กตรอนและประจุที่เกิดขึ้นในวัฐภาคแก๊สจะถูกกระตุ้นด้วยคลื่นสนามแม่เหล็กไฟฟ้า ทำให้เกิดการชนกับผิวของของแข็งและได้อิเล็กตรอนตัวอื่นๆ หลุดออกมา ในเวลาเดียวกัน อิเล็กตรอนพวกนี้ก็สามารถชนกับโมเลกุลของแก๊สตัวอื่นทำให้เกิด ionization ได้ วิธีการอื่นๆ ที่ใช้สำหรับสร้างอนุภาคที่มีประจุสามารถแบ่งได้ดังแสดงในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 แสดงวิธีต่างๆ ที่ทำให้เกิดอนุภาคที่มีประจุ (Nasser,1971)

จากภาพที่ 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 1

ตารางที่ 1 แสดงกลไกการชนกันของก๊าซ (Nasser,1971)

การชน	ปฏิกิริยา
Elastic Collision	$e + O_2 \rightarrow e + O_2$
Excitation	$e + O_2 \rightarrow e + O_2(a^1\Delta)$ $e + O_2 \rightarrow e + O_2(b^1\Sigma)$
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	$e + O_2 \rightarrow 2e + O^+ + O$ $e + O_3 \rightarrow e + O + O_2$
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 แต่ไม่เหมาะสมกีบอุตสาหกรรมผลิตสารเคมี

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 ซึ่งโดยปกติมัก

ใช้กระจกแก้วใส 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

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

และมีเอนโทรปี (ΔS° ที่ 1 atm , -69.9 (J/mol)/degree ซึ่งจะเห็นได้ว่าก๊าซโอโซนไม่สามารถเกิดจากกระบวนการกระตุ้นออกซิเจนด้วยความร้อน ทั้งนี้เนื่องมาจากค่าพลังงานอิสระของกิบส์ (ΔG° 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 $O(^1P)$ และ 682.8 kJ/mol สำหรับอนุพันธ์ $O(^1D)$

ปฏิกิริยาที่เกิดสำหรับโอโซนคือ

$$O(^3P) + O_2X^3\sum g^- + M = O_3$$

และ $$O(^1D) + O_2X^3\sum g^- + M = O_3$$

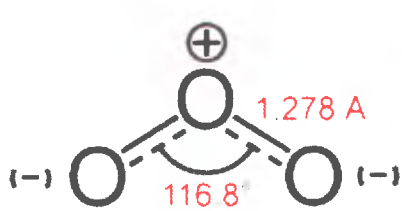
กระบวนการทั้งหมดที่สามารถทำให้โมเลกุลของออกซิเจนแตกตัวเป็นอนุพันธ์ออกซิเจน คือปฏิกิริยาการเกิดก๊าซโอโซน แหล่งพลังงานที่ทำให้เกิดการแตกตัวคือ อนุภาคอิเล็กตรอนหรือพลังงานโฟตอนควอนตัม อิเล็กตรอนสามารถใช้จากแหล่งกำเนิดไฟฟ้าแรงสูงในโคโรน่าดิสชาร์จแบบไซญเลนท์ ปฏิกิริยานิวเคลียร์ และจากกระบวนการอิเล็กทโตรไลติก (Electrolytic processes) ซึ่งพลังงานโฟตอนควอนตัมที่เหมาะสมจะรวมถึง รังสีอัลตราไวโอเลตที่มีความยาวคลื่นต่ำกว่า 200 นาโนเมตร และรังสีแกมมา การกระตุ้นอิเล็กตรอนของออกซิเจนจะทำให้เกิดอะตอมเดี่ยวของออกซิเจนไอออน (O^-) ดังสมการ

$$O_2X^3\sum g^- + e^- \rightarrow O + 1.510\ eV$$

$$O_2X^3\sum g^- + e^- \rightarrow O(^3P) - 5.116\ eV$$

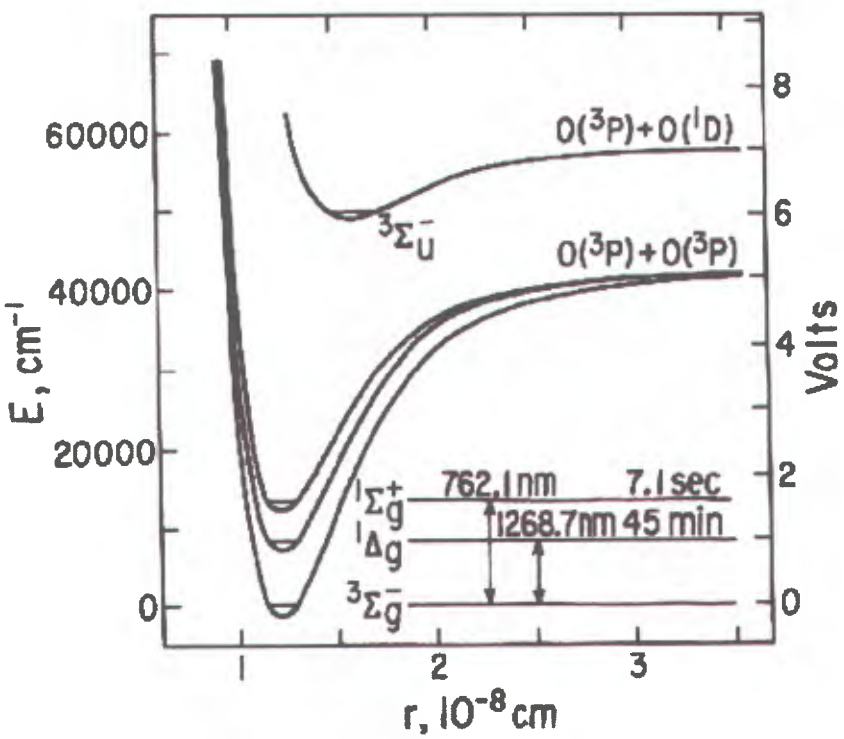
(-3.606 eV หรือ –387.8 kJ/mol)

ในการศึกษาสเปกตรัมช่วงคลื่นไมโครเวฟของโมเลกุลโอโซนแสดงให้เห็นว่าโอโซนไม่ได้เป็น nonparamagnetic โดยมีมุมป้านเป็น 116° 49' ความยาวพันธะระหว่างอะตอมออกซิเจนกับอะตอมออกซิเจนเท่ากับ 1.278 A และมีไดโพลโมเมนต์ต่ำมากคือ 0.49 + 0.58 ดีบายค์ ซึ่งสามารถอธิบายในรูปของ resonance hybrid ดังภาพประกอบ 2.2 การจัดเรียงตัวของอิเล็กตรอนในแต่ละอะตอมออกซิเจนเป็น sp^2 ที่ sp^2 orbital มีอิเล็กตรอนบรรจุอยู่เต็ม ดังนั้นจึงเกิดเป็นพันธะขึ้นหรือไม่มีการใช้อิเล็กตรอนร่วมระหว่างอะตอมเกิดขึ้น และการซ้อนทับของ p orbitals จะให้ π molecular orbitals ซึ่งทำให้เกิด 4π อิเล็กตรอนขึ้น



ภาพที่ 2 โครงสร้างโมเลกุลของก๊าซโอโซน

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



ภาพที่ 3 โครงสร้างระดับพลังงานศักย์ของออกซิเจน

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

กรณีพลาสมาแบบสมดุลสามารถแยกพิจารณาได้เป็น 2 กรณีใหญ่ๆ คือ แบบสมดุลที่ความดันต่ำกว่าบรรยากาศ หรือความเข้มสนามไฟฟ้าที่มีค่าสูง ซึ่งจะพบว่า มีอนุภาคอิเล็กตรอนและไอออนบางส่วน มีพลังงานจลน์โดยเฉลี่ยสูงกว่าพลังงานที่เกี่ยวข้องกับการเคลื่อนที่แบบสุ่มของโมเลกุล อีกกรณีหนึ่งคือ พลาสมาแบบสมดุลที่ความดันสูง โดยมีลักษณะคือ อนุภาคที่ถูกเร่งจะมีการชนครั้งต่อไปในระยะพิสัยต่ำหรือกล่าวได้ว่า ที่ความเข้มสนามไฟฟ้าต่ำมากๆ ค่าพลังงานจลน์ของอนุภาคที่ถูกเร่งอาจจะใกล้เคียงกับพลังงานจลน์ของอนุภาคนิวตรอน คือ สถานะที่เท่ากันของพลังงาน(Eliasson and Kogelschatz,1991)

ดิสชาร์จไฟฟ้าแบบไซเลนท์ เป็นกระบวนการดิสชาร์จก๊าซแบบไม่สมดุล เกิดดิสชาร์จขึ้นที่ระดับความดันสูงกว่าบรรยากาศเล็กน้อย (0.1 – 1 bar) ซึ่งจะไม่เหมือนกับการดิสชาร์จแบบไม่

สมดุลอื่นๆ 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 ค่าพลังงานจลน์เฉลี่ยของอิเล็กตรอนที่เกิดขึ้น โดยการเปลี่ยนแปลงผลคูณของความหนาแน่นของก๊าซ กับความกว้างของช่องว่าง มีค่าสูง ขั้นตอนระหว่างช่วงวงจรชีวิตของไส้กระแสแต่ละเส้นขณะเกิดการดิสชาร์จไฟฟ้ามีดังนี้

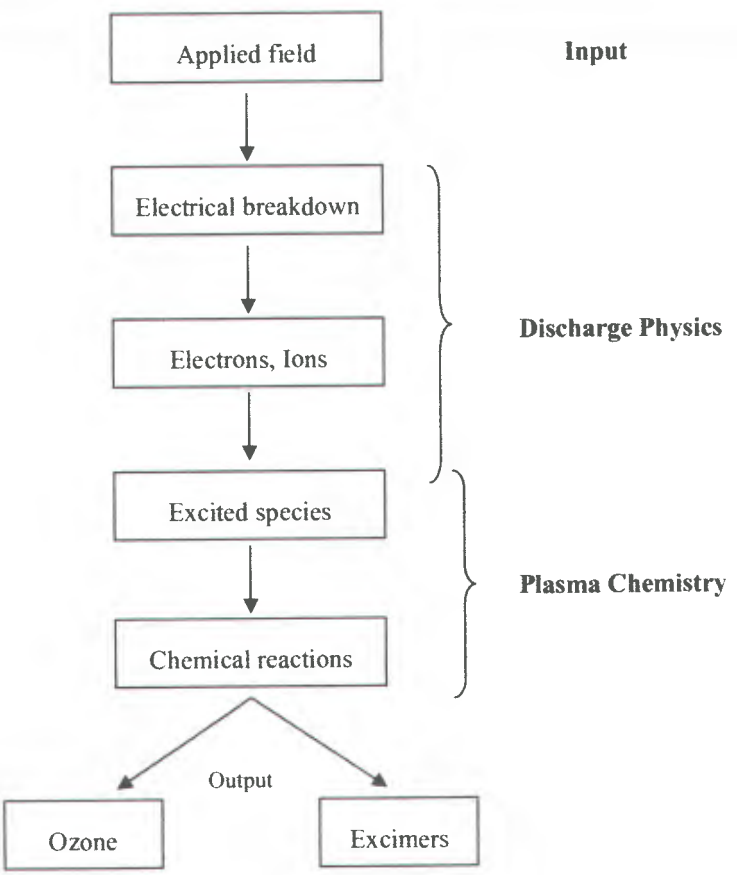
ขั้นตอนที่ 1 การสร้างดิสชาร์จ นันคือ มีการเบรคดาวน์ทางไฟฟ้าเกิดขึ้นในขั้นตอนนี้จะใช้เวลาในการเกิดเสร็จสิ้นภายในช่วงเวลาระดับนาโนวินาที

ขั้นตอนที่ 2 กระแสพลัส์ต่อมา หรือ การถ่ายโอนประจุข้ามช่องว่าง จะใช้เวลาในการถ่ายโอนกระแสภายใน 1 – 100 นาโนวินาที

ขั้นตอนที่ 3 ในเวลาเดียวกันจะมีการกระตุ้นของอะตอม และโมเลกุลก็เกิดขึ้นด้วยเพื่อเป็นการเริ่มต้นของการเกิดพลังงานจลน์ ในขั้นตอนนี้จะมีปฏิกิริยาทางเคมีเกิดขึ้น และจะเสร็จสิ้นในช่วงเวลาตั้งแต่ระดับนาโนวินาที่ ไปจนถึงวินาที

ตารางที่ 2 แสดงรายละเอียดเงื่อนไขและสภาวะของการเกิดดิสชาร์จไฟฟ้าแบบไซเรนท์

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 4 แสดงความสัมพันธ์ของฟิสิกส์พลาสมาดิสชาร์จและพลาสมาเคมีในการดิสชาร์จไฟฟ้า

การสร้างโอโซนโดยกระบวนการดิสชาร์จไฟฟ้า

การสังเคราะห์โอโซนในการดิสชาร์จแบบไซเรนท์จัดเป็นการประยุกต์ที่สำคัญมากอย่างหนึ่งในกระบวนทางเคมีพลาสมาและกระบวนการดิสชาร์จไฟฟ้าแบบไม่สมดุล ในการดิสชาร์จปริมาตรทางเคมีจะเร่งการเพิ่มขึ้นของอนุภาค อาทิ อนุภาคอิเล็กตรอน ไอออน ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับอนุภาคทางเคมี อาทิ อะตอม โมเลกุล และอนุมูล ปฏิกิริยาเหล่านี้ก่อให้เกิดการกระตุ้น และการแตกตัวของกลุ่มอนุภาคทางเคมี ซึ่งหลังจากนั้นจะก่อให้เกิดการสังเคราะห์กลุ่มอนุภาคใหม่ทางเคมีเกิดขึ้น การเกิดขึ้นของโอโซนจะแสดงได้ด้วยแผนภูมิความสัมพันธ์ของการเกิดดิสชาร์จทางฟิสิกส์และทางพลาสมาเคมีในการเกิดดิสชาร์จแบบไซเรนท์ ดังภาพที่ 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 et al.,1987)

สำหรับการผลิตโอโซนจากอากาศให้มีประสิทธิภาพ จำเป็นจะต้องทำให้อากาศมีค่าจุดน้ำค้าง (Dewpoint) ต่ำกว่า -60 องศาเซลเซียส ซึ่งปัจจัยที่เกี่ยวข้องนั้นไม่เพียงแต่ความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศเท่านั้น แต่ยังเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาเชิงจลน์และสภาพการนำไฟฟ้าของผิวสารไดอิเล็กตริกด้วยและการเลือกใช้อากาศปกติเป็นอากาศที่ป้อนให้กับระบบ พบว่าในการดิสชาร์จจะให้กลุ่มของไอออนของไนโตรเจน N^+ , N_2^+ , อะตอมของไนโตรเจน และกลุ่มของโมเลกุลและอะตอมในภาวะการกระตุ้นอื่นๆ จากการปะปนกับอากาศอีก ซึ่งจะเพิ่มความซับซ้อนและยุ่งยากให้กับระบบ โดยสามารถประมาณการได้ว่าอาจจะมีปฏิกิริยาเกิดขึ้นถึง 143 ปฏิกิริยา (Eliasson et al.,1991)

ดังนั้นอาจสรุปได้ว่าการกำเนิดโอโซนในอากาศมีปรากฏการณ์ที่น่าสนใจ และต้องพิจารณา ดังต่อไปนี้

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

$$e + O_2 \rightarrow e + O_2(A\sum_u^+) \rightarrow e + O(^3P) + O(^3P)$$

$$e + O_2(B\sum_u^-) \rightarrow e + O(^3P) + O(^3P)$$

$$O + O + M \rightarrow O_3^* + M \rightarrow O_3 + M$$

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 et al.,1991)

$$N + O_2 \rightarrow NO + O$$

$$N + NO \rightarrow N_2 + O$$

$$N_2(A) + O_2 \rightarrow N_2O + O$$

$$N_2(A,B) + O_2 \rightarrow N_2 + 2O$$

ผลที่ได้เพิ่มขึ้นในปฏิกิริยาการรวมกันของออกซิเจน เป็นดังปฏิกิริยา

$$O + NO + M \rightarrow NO_2 + M$$
$$O + NO_2 \rightarrow NO + O_2$$
$$O + O \rightarrow O_2$$

โอโซนจะถูกปฏิกิริยากระบวนการทำลายที่เกี่ยวข้องกับ NO และ NO_2 ปฏิกิริยาดังต่อไปนี้

$$NO + O_3 \rightarrow NO_2 + O_2$$
$$O + NO_2 \rightarrow NO + O_2$$
$$O + O_3 \rightarrow 2O_2$$

การประยุกต์ใช้งานโอโซน

โอโซนสามารถนำมาประยุกต์ในการใช้งานได้มากมายหลายด้าน ทั้งนี้เนื่องจากโอโซนมีข้อดี ดังนี้

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 และอาหารโรงงานผลิตน้ำแข็ง เนื่องจากโอโซนไม่ทำให้เกิดกลิ่นหรือรส เหมือนการใช้คลอรีน ใช้ในการฆ่าเชื้อโรคสำหรับอุตสาหกรรมบรรจุขวดพลาสติก เนื่องจากไม่สามารถใช้ความร้อน และคลอรีนซึ่งอาจทำลายขวดพลาสติกได้ และการย่อยสลายอย่างรวดเร็วของโอโซนที่เหลือ เป็นปัจจัย

สำคัญที่ทำให้โอโซนถูกใช้ในการฆ่าเชื้อของขวดพลาสติก อุตสาหกรรมโรงงาน ใช้โอโซนในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานหลายประเภท เช่น โรงงานย้อมผ้า โรงงานกระดาษ เป็นต้น แต่เนื่องจากการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานบางชนิด ไม่สามารถใช้วิธีทางชีวภาพได้ เพราะน้ำทิ้งเหล่านี้อาจประกอบด้วยสารเคมีที่เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กได้ จึงมีความจำเป็นต้องใช้โอโซนในการบำบัดน้ำทิ้งเหล่านี้

ในการประยุกต์ใช้ก๊าซโอโซนในอาหารทะเล พบว่า การทำลายจุลินทรีย์ของก๊าซโอโซนบนพื้นผิวอาหารมีประสิทธิภาพน้อยกว่าบนตัวกลางที่ต้องการโอโซนต่ำ ดังนั้นการลดจำนวนจุลินทรีย์ในอาหารจึงขึ้นกับธรรมชาติและองค์ประกอบของพื้นผิวอาหาร ชนิดของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน และระยะเวลาที่จุลินทรีย์สัมผัสกับอาหาร 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)

ปัจจัยที่มีผลต่อการละลายของแก๊สโอโซนในน้ำ

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

1) ความดันและอุณหภูมิ การละลายของแก๊สในน้ำเป็นไปตามกฎของ Henry ที่กล่าวว่า "ปริมาณแก๊สในสารละลาย ณ อุณหภูมิที่กำหนดเป็นอัตราส่วนโดยตรงกับความดันของแก๊ส" และความสามารถในการละลายของโอโซนในน้ำแสดงได้ในรูป Solubility ratio (S_r)

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

ค่า Solubility ratio ของโอโซนเพิ่มขึ้นถ้าอุณหภูมิของน้ำลดลง ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ความสามารถในการละลายของแก๊สโอโซนที่อุณหภูมิต่างๆ

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

ที่มา : Coastent (2003)

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

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

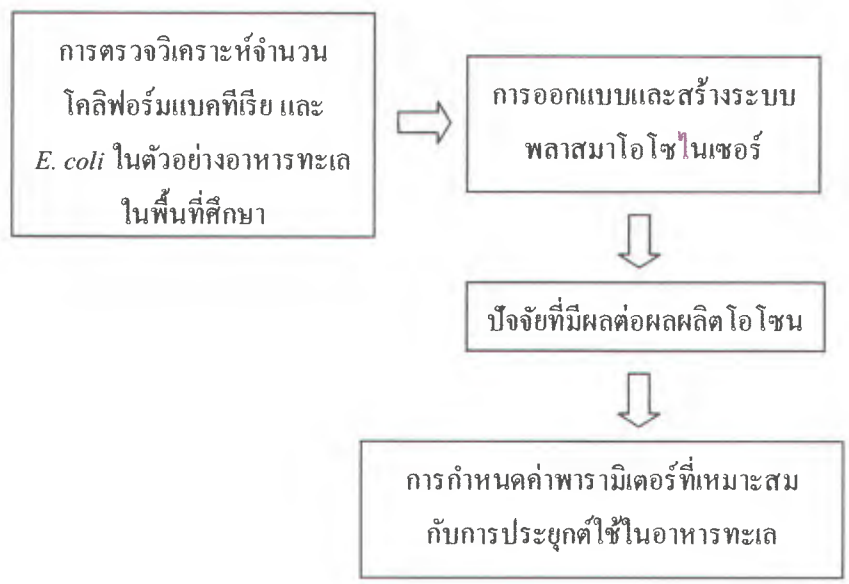
3) อัตราการไหลและเวลาสัมผัสของก๊าซโอโซนในสถานะก๊าซไปสู่สถานะของเหลว

4) การผสมที่เหมาะสมจะเพิ่มการสัมผัสระหว่างฟองอากาศกับน้ำ ทำให้สามารถในการละลายดีขึ้น ดังนั้นการออกแบบถังผสมจึงมีผลอย่างมากต่อการละลาย (Schultz และ Bellamy, 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

กรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย



การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

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* และ 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%

ประสาร ชาตะรัตน์, (2538) สร้างเครื่องผลิตโอโซนด้วยกระบวนการโคโรนาไซเรนท์ดิสชาร์จ ชนิด Wire to Plane โดยไฟฟ้ากระแสสลับ ขนาด 15 kV ศึกษาหาเงื่อนไขที่เหมาะสมในการเกิดโอโซน พบว่า ศักย์ไฟฟ้าต่ำสุดที่ทำให้เกิดไมโครดิสชาร์จ (ที่ความดันบรรยากาศ 760 mmHG)ต่ำสุดที่ 7 kV ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความต่างศักย์ไฟฟ้ากับปริมาณโอโซนที่ละลายในน้ำ พบว่าศักย์ไฟฟ้ามีผลต่อการเกิดโอโซน โดยศักย์ไฟฟ้าสูงๆ การเกิดโอโซนจะสูงตาม ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการไหลของออกซิเจนกับปริมาณโอโซน พบว่าปริมาณโอโซนจะลดลงเมื่ออัตราไหลเพิ่มขึ้น(2 - 10 psi) และ ปริมาณโอโซนจะเพิ่มขึ้นตามเวลาการเกิดดิสชาร์จ ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิของเครื่องกำเนิดโอโซนกับเวลาดิสชาร์จ พบว่าอุณหภูมิสูงการเกิดโอโซนจะลดลง นำไปใช้ในการฆ่าเชื้อโรค *(Bacillus Subtilis)* พบว่าการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์จะดีขึ้นหากใช้เวลาในการผ่านโอโซนนานๆ

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 จึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำสมการสหสัมพันธ์ดังกล่าวประเมินประสิทธิภาพการลดการปนเปื้อน *Salmonella* spp. และ *Listeria* sp. ด้วยสารละลายโอโซนในอนาคต ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด แสดงว่าการฉีดพ่นด้วยน้ำโอโซนอิ่มตัว สามารถทำลายเมมเบรนของแบคทีเรียที่ทดสอบได้

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

3.1.1 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)

3.1.2 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

3.2 วัสดุ อุปกรณ์

3.2.1 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)

3.2.2 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} $\pm$ 10% 50- 60 Hz 500 WATT

12) ตัวต้านทาน (resistor) 50 โอมห์ 10 วัตต์

13) ปลอกสายเคเบิล (cable) ไฟฟ้าแรงสูงขนาด 15 กิโลโวลต์ รหัส RS388 – 142

14) ตัวเก็บประจุขนาด 0.47 ไมโครฟารัด 1000 โวลต์

15) หัววัดศักย์ไฟฟ้า Hewlett Parkard รุ่น 54502A

16) เครื่องออสซิลโลสโคป ยี่ห้อ Hewlett Parkard รุ่น 54502A

ภาพที่ 5 แสดงเครื่อง Stomacher

ภาพที่ 6 แสดงหัววัดศักย์ไฟฟ้า

3.3 ขั้นตอนและวิธีการวิจัย

ตอนที่ 1 การวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด โคลิฟอร์มแบคทีเรีย และ *E.coli* ในตัวอย่างอาหารทะเล

1.1 การเก็บตัวอย่าง

ลงพื้นที่ตามตำแหน่งที่มีการรายงานสภาพปัญหา เพื่อเก็บตัวอย่างอาหารทะเลในเขตเทศบาลตำบลปากนคร อ.เมือง จ.นครศรีธรรมราช จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ ปลาตะกรับ กุ้ง ปูดำ กั้ง หอยแมงภู่ และปลากุเลา ชนิดละ 2 ตัวอย่าง โดยทำการออกพื้นที่เก็บตัวอย่าง 3 ครั้ง เก็บรักษาในน้ำแข็งควบคุมอุณหภูมิไม่ให้เกิน 4 องศาเซลเซียส ระยะเวลาตั้งแต่เก็บตัวอย่างจนถึงการตรวจไม่เกิน 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 Sprcad ลงบนอาหาร Plate count agar (PCA) บ่มที่อุณหภูมิ 35°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

ศึกษาผลการออกแบบหลอดโอโซไนเซอร์ และวงจรไฟฟ้าแรงสูง ที่ได้จากการใช้ขดลวดเป็นตัวจ่ายไฟแรงสูง โดยพิจารณาความต่างศักย์ และความถี่ของเครื่องกำเนิดโอโซนด้วยเครื่องออสซิลโลสโคป

2.2 ศึกษาการหาความเข้มข้นของปริมาณโอโซน โดยวิธีมาตรฐานโพแทสเซียมไอโอไดด์

2.2.1 การเตรียมสารละลาย Absorbing reagent 1% KI ใน 0.1 M Phosphate buffer มีขั้นตอนดังนี้

1) ชั่งโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) 13.61 กรัม

2) ชั่งโพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI) 10.00 กรัม

3) ชั่ง Anhydrous disodium hydrogen phosphate 14.20 กรัม

4) ละลายสารเคมีทั้งหมดในน้ำกลั่น ทำให้มีปริมาตร 1 ลิตร

5) บรรจุสารละลายในขวดสีชา เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องอย่างน้อย 1 วัน ก่อนนำมาใช้ หากเก็บสารละลายในตู้เย็นจะสามารถเก็บไว้ได้นานหลายสัปดาห์

2.2.2 การเตรียมสารละลายไอโอดีนมาตรฐาน 0.025 M

1) ชั่งโพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI) 16.0 กรัม

2) ชั่งไอโอดีน (I) 3.1730 กรัม

3) ละลายสารเคมีทั้งหมดในน้ำกลั่น ทำให้มีปริมาตร 500 มิลลิลิตร

4) บรรจุสารละลายในขวดสีชา เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องอย่างน้อย 1 วัน ก่อนนำมาใช้

2.2.3 การสร้างกราฟไอโอดีนมาตรฐาน

เป็นกราฟมาตรฐานที่ใช้บอกปริมาณความเข้มข้นของโอโซน เมื่อทราบค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย Absorbing reagent มีขั้นตอนดังนี้

1) เตรียมสารละลายไอโอดีนมาตรฐาน 0.00125 M โดยปิเปตสารละลายไอโอดีนมาตรฐาน 0.025 M ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ทำให้มีปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร โดยให้ละลายใน

สารละลาย Absorbing reagent

2) ปิเปตสารละลายไอโอดีนมาตรฐาน 0.00125 M ที่เตรียมไว้ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 และ 1.2 มิลลิลิตร ละลายด้วยสารละลาย Absorbing reagent จนได้ปริมาตร 25 มิลลิลิตร โดยปริมาตรสารละลายไอโอดีนมาตรฐาน สามารถเขียนเป็นความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของโอโซนได้ ดังนี้

ไอโอดีนมาตรฐาน (ml)	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	1.2
Exact Concentration (μ mole/l)	10	20	30	40	50	60

3) นำสารละลายไอโอดีนมาตรฐานความเข้มข้นต่างๆ ที่เตรียมไว้หาค่าการดูดกลืนของแสง (absorbance) ที่ความยาวคลื่น 352 นาโนเมตร (Nagdev, 1992) เป็นไปตามสมการ

$$O_3 + 2KI + H_2O \rightarrow I_2 + 2KOH + O_2$$

โดยโอโซน 1 โมล ทำปฏิกิริยากับโพแทสเซียมไอโอไดส์ ได้เป็นโมเลกุลของไอโอดีน 1 โมล

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

อัตราการไหลที่ต่างกันทำให้ปริมาณโอโซนที่ได้เปลี่ยนแปลงไปด้วย จึงต้องมีการหาปริมาณโอโซนที่อัตราการไหลของออกซิเจนต่างๆ กัน เพื่อจะได้ทราบอัตราการไหลของออกซิเจนที่เหมาะสมในการผลิตโอโซน โดยมีขั้นตอน ดังนี้

1) นำสารละลาย absorbing reagent บรรจุใน midget impringer 2 ขวด ที่ต่อกันแบบอนุกรม ขวดละ 50 มิลลิลิตร

2) ผ่านออกซิเจนไปยังเครื่องกำเนิดโอโซน โดยกำหนดให้ความต่างศักย์ของแหล่งกำเนิดไฟฟ้ากระแสสลับเป็น 6 กิโลโวลต์ ให้อัตราการไหลของออกซิเจนเป็น 1 ลิตรต่อนาที

3) ผ่านโอโซนที่ได้จากเครื่องกำเนิดโอโซนไปยัง midget impringer ที่บรรจุสารละลาย absorbing reagent ทั้ง 2 ขวด เป็นเวลา 3 นาที

4) นำสารละลาย absorbing reagent ที่ได้หาค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV visible spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 352 นาโนเมตร

5) นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ หาความเข้มข้นของโอโซนโดยเทียบกับกราฟไอโอดีนมาตรฐาน

6) ทำการทดลองซ้ำ โดยเปลี่ยนอัตราการไหลของออกซิเจนเป็น 2, 3 และ 4 ลิตรต่อนาที

7) ทำการทดลองซ้ำ โดยเปลี่ยนความต่างศักย์ที่ให้เป็น 7 และ 8 กิโลโวลต์ ตามลำดับ

8) เขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการไหลของออกซิเจนกับปริมาณโอโซนที่ความต่างศักย์ต่างๆ

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

เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ให้กับเครื่องกำเนิดโอโซน ปริมาณโอโซนที่ได้จะเปลี่ยนแปลงไป จึงมีการหาค่าปริมาณโอโซนที่เวลาต่างๆ ของแต่ละความต่างศักย์ไฟฟ้า โดยมีขั้นตอน ดังนี้

1) นำสารละลาย absorbing reagent บรรจุใน midget impringer 2 ขวด ที่ต่อกันแบบอนุกรม ขวดละ 50 มิลลิลิตร

2) ผ่านออกซิเจนไปยังเครื่องกำเนิดโอโซน โดยกำหนดให้อัตราการไหลของออกซิเจนเป็น 2 ลิตรต่อนาที ให้ความต่างศักย์ของแหล่งกำเนิดไฟฟ้าเป็น 6 กิโลโวลต์

3) ผ่านโอโซนที่ได้จากเครื่องกำเนิดโอโซนไปยัง midget impringer ที่บรรจุสารละลาย absorbing reagent ทั้ง 2 ขวด เป็นเวลา 1, 2 และ 3 นาที ตามลำดับ

4) นำสารละลาย absorbing reagent ที่ได้หาค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV visible spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 352 นาโนเมตร

5) นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ หาความเข้มข้นของโอโซนโดยเทียบกับกราฟไอโอดีนมาตรฐาน

6) ทำการทดลองซ้ำ โดยเปลี่ยนความต่างศักย์ที่ให้เป็น 7 และ 8 กิโลโวลต์ ตามลำดับ

7) เขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการไหลของออกซิเจนกับปริมาณโอโซนที่ความต่างศักย์ต่างๆ

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

ตอนที่ 3 การศึกษาประสิทธิภาพการลดเชื้อที่ปนเปื้อนบนอาหารทะเลด้วยการผ่านโอโซน

ทำการศึกษาประสิทธิภาพการลดเชื้อที่ปนเปื้อนบนอาหารทะเล ด้วยระบบการผ่านโอโซนที่เตรียมมาข้างต้น โดยศึกษาอิทธิพลของเวลาที่ผ่าน 1, 2 และ 3 นาที อัตราการไหลของก๊าซออกซิเจน 2 ลิตรต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง ($30 \pm 2\ ^{\circ}C$) ต่อประสิทธิภาพการลดปริมาณจุลินทรีย์รวม เชื้อ *E. coli* ที่ปนเปื้อนบนอาหารทะเล ตรวจสอบจำนวนเชื้อที่เหลือตามข้อ 1.2 และ 1.3 นำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การลดลงของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเมื่อเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ผ่านโอโซน

บทที่ 4
ผลการวิจัย และอภิปรายผล

ผลการทดลองและการวิเคราะห์ผลในงานวิจัยนี้ จะแบ่งตามขั้นตอนในการดำเนินการวิจัยตามที่แบ่งไว้ในบทที่ 3 ดังนี้

ตอนที่ 1 การวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด โคลิฟอร์มแบคทีเรีย และ *E.coli* ในตัวอย่างอาหารทะเล

จากการเก็บตัวอย่างอาหารทะเลในเขตเทศบาล ต.ปากนคร อ. เมือง จ. นครศรีธรรมราช จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ ปลาตะกรับ กุ้ง ปูดำ กั้ง หอยแมลงภู่ และปลากุเลา ชนิดละ 4 ตัวอย่าง โดยเก็บรักษาในน้ำแข็งควบคุมอุณหภูมิไม่ให้เกิน 4 องศาเซลเซียส ระยะเวลาตั้งแต่เก็บตัวอย่างจนถึงการ ตรวจไม่เกิน 3 ชั่วโมง นำมาให้รหัสเพื่อการวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียและ *E. coli* ดังแสดงในตารางที่ 4

ภาพที่ 7 แสดงพื้นที่ที่ทำการศึกษา

ตารางที่ 4 การกำหนดรหัสตัวอย่าง

ตัวอย่างที่	ชนิดอาหารทะเล	รหัส
1	ปลาตะกรับ	T_1R_1
2	ปลาตะกรับ	T_1R_2
3	ปลาตะกรับ	T_1R_3
4	ปลาตะกรับ	T_1R_4
5	กุ้ง	T_2R_1
6	กุ้ง	T_2R_2
7	กุ้ง	T_2R_3
8	กุ้ง	T_2R_4
9	ปูดำ	T_3R_1
10	ปูดำ	T_3R_2
11	ปูดำ	T_3R_3
12	ปูดำ	T_3R_4
13	กั้ง	T_4R_1
14	กั้ง	T_4R_2
15	กั้ง	T_4R_3
16	กั้ง	T_4R_4
17	หอยแมลงภู่	T_5R_1
18	หอยแมลงภู่	T_5R_2
19	หอยแมลงภู่	T_5R_3
20	หอยแมลงภู่	T_5R_4
21	ปลากุลา	T_6R_1
22	ปลากุเลา	T_6R_2
23	ปลากุลา	T_6R_3
24	ปลากุเลา	T_6R_4

โดยกำหนดรหัสตัวอย่างเป็น T_iR_j โดย i แทน ชนิดของอาหารทะเล และ j แทน เงื่อนไขของการศึกษา ได้แก่ 1 เป็นชุดควบคุม, 2 ผ่านโอโซน 1 นาที, 3 ผ่านโอโซน 2 นาที และ 4 ผ่านโอโซน 3 นาที

ภาพที่ 8 แสดงตัวอย่างอาหารทะเลที่นำมาศึกษา

ตารางที่ 5 ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดที่พบในตัวอย่างอาหารทะเลสด

ตัวอย่าง	ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (cfu/g)		ค่าเฉลี่ย (cfu/g)
	ตัวอย่างที่ 1	ตัวอย่างที่ 2	
ปลาตะกรับ	2.5×10^8	2.3×10^8	2.4×10^8
กุ้ง	1.9×10^8	2.2×10^8	2.0×10^8
ปูดำ	1.8×10^6	2.1×10^6	2.0×10^6
กั้ง	3.7×10^8	3.4×10^8	3.6×10^8
หอยแมลงภู่	3.6×10^8	3.8×10^8	3.7×10^8
ปลากุเลา	9.0×10^8	8.8×10^8	8.9×10^8

ตารางที่ 6 ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียในตัวอย่างอาหารทะเลสดบริเวณเขตเทศบาลตำบลปากนคร อ.เมือง จ.นครศรีธรรมราช

ตัวอย่าง	MPN index (MPN/g)	EMB agar (metallic sheen colony)
ปลาตะกรับ	460	✓
กุ้ง	93	✓
ปูดำ	240	✓
กั้ง	240	✓
หอยแมลงภู่	>1,100	✓
ปลากุเลา	>1,100	✓

หมายเหตุ : ✓ พบเชื้อ E. coli บนอาหาร EMB ในขั้น Confirm Test

✗ ไม่พบเชื้อ E. coli บนอาหาร EMB ในขั้น Confirm Test

จากการตรวจสอบปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในตัวอย่างอาหารทะเลสดที่เก็บจากบริเวณเขตเทศบาลตำบลปากนคร อ.เมือง จ.นครศรีธรรมราช จำนวน 12 ตัวอย่าง เพื่อใช้เป็นชุดควบคุมพบว่ามีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด โดยในตัวอย่างปลาตะกรับ มีปริมาณแบคทีเรียเฉลี่ย 2.4 x 10^8 CFU/g, กุ้ง มีปริมาณแบคทีเรียเฉลี่ย 2.0 × 10^8 CFU/g, ปูดำ มีปริมาณแบคทีเรียเฉลี่ย 2.0 × 10^8 CFU/g, กั้ง มีปริมาณแบคทีเรียเฉลี่ย 3.6 × 10^8 CFU/g, หอยแมลงภู่ มีปริมาณแบคทีเรียเฉลี่ย 3.7 × 10^8 CFU/g, ปลากุเลา มีปริมาณแบคทีเรียเฉลี่ย 8.9 × 10^8 CFU/g ดังแสดงในตารางที่ 5 ซึ่งปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดที่พบในปริมาณสูงเกินเกณฑ์ทั้งหมด

จากการวิเคราะห์ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียและ *E. coli* ในตัวอย่างอาหารทะเลสด พบว่าในตัวอย่างปลาตะกรับ และกุ้ง มีปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรีย 460 และ 93 MPN/g ตามลำดับ, หอยแมลงภู่ และปลากุเลา มีปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียมากกว่า 1,000 MPN/g ส่วนปูดำ และกั้ง มีปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรีย 240 MPN/g ซึ่งปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียที่พบในปริมาณสูงเกินเกณฑ์ทั้งหมด และในตัวอย่างทั้ง 6 ตัวอย่าง มีการปนเปื้อนเชื้อ *E. coli* ดังแสดงในตารางที่ 6

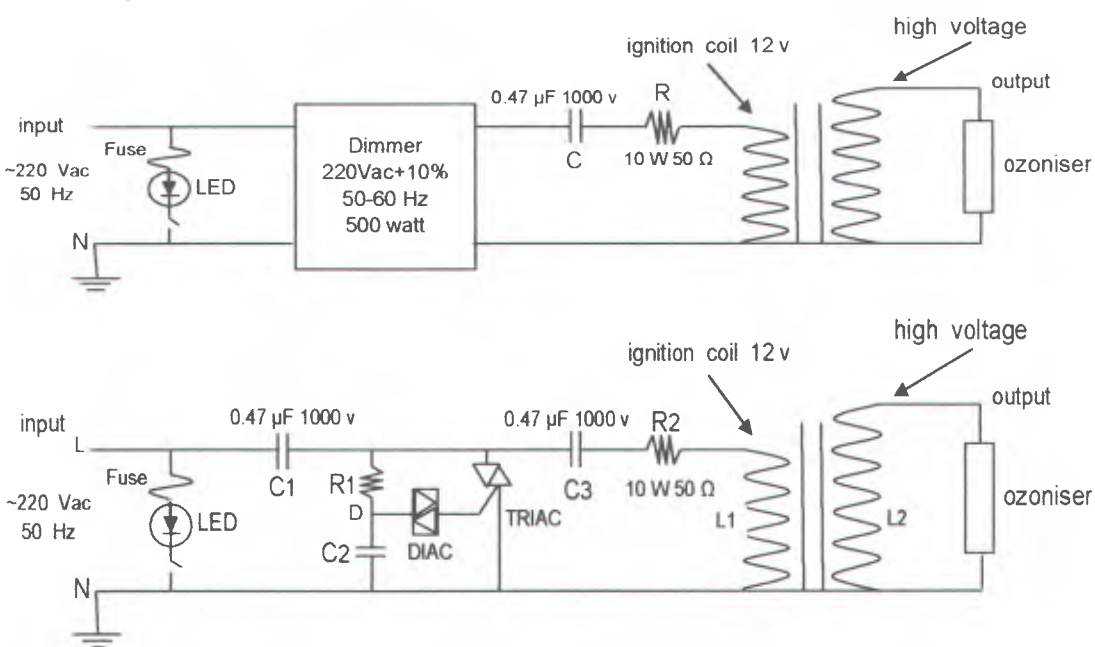
สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ได้ออกมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.9007-2548) ในเรื่อง ข้อกำหนดด้านความปลอดภัยสินค้าเกษตรและอาหาร ได้กำหนดจุลินทรีย์สำหรับอาหารที่บริโภคได้ และใช้เป็นวัตถุดิบต้องไม่เกินเกณฑ์ที่กำหนด ในกลุ่มสินค้าปลา กุ้งสดแช่เยือกแข็ง/แช่เย็น มีจำนวนจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด (total viable count) ที่ยอมรับได้ในตัวอย่างที่ตรวจสอบ ต้องไม่เกิน 5.0 x 10^5 cfu/g

และเอสเคอริเคีย โคไล *(E. coli)* <3 MPN/g โดยวัดจากจำนวนจุลินทรีย์ที่ยอมรับได้ในตัวอย่างที่ตรวจสอบ

ตอนที่ 2 การออกแบบ และทดสอบระบบขั้วอิเล็กโทรดสำหรับพลาสมาโอโซไนเซอร์ และการหาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตโอโซน

2.1 การออกแบบและทดสอบระบบขั้วอิเล็กโทรดสำหรับพลาสมาโอโซไนเซอร์

ในงานวิจัยนี้ใช้วงจรที่มีขดลวดจุดระเบิด (ignition coil) เป็นตัวจ่ายไฟแรงสูงให้กับตัวที่ทำให้เกิดโอโซน (ozone ionizer) นั้นสามารถออกแบบวงจรสำหรับ กระแสเข้าของขดลวดจุดระเบิดได้ คือ แหล่งจ่ายไฟกระแสสลับ 220 โวลต์ โดยลักษณะการทำงานเหมือนกับวงจรฟลายแบ็คทรานฟอร์เมอร์ (flyback Transformer)



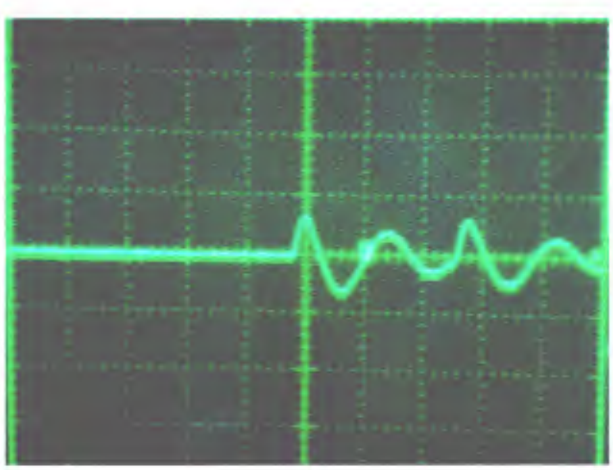
ภาพที่ 9 แสดงวงจรกระแสเข้าของขดลวดจุดระเบิดโดยมีตัวเก็บประจุ C3 และตัวต้านทาน R2 เป็นตัวดิสชาร์จกระแสให้กับขดลวดจุดระเบิด

โดยหลักการทำงานของวงจรประกอบด้วยตัวเก็บประจุ C 1 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) ของได

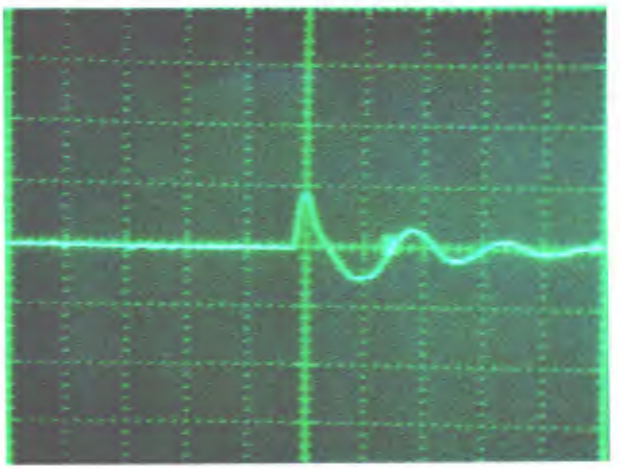
แอก (DIAC) เกิดเป็นกระแสไหลไปทริก (trig) ขาเกท (gate) ของไตรแอก ทำให้ไตรแอกเกิด นำกระแสตัวเก็บประจุ C3 ก็จะดิสชาร์จผ่านไตรแอก ขดลวด L1 ขดลวดจุดระเบิดขดแรก (Primary of Ignition coil) อย่างรวดเร็ว ทำให้เกิดความต่างศักย์ที่ขดลวดขดที่สอง (Secondary coil) สูงมาก

ในครึ่งลูกคลื่นที่เป็นค่าลบ (half cycle-) ก็เช่นเดียวกันลวด L เป็นลบเมื่อเทียบกัน สายดิน มีลักษณะเหมือนครึ่งลูกคลื่นที่เป็นค่าบวกแต่ต่างกันตรงที่ตัวเก็บประจุ C3 จะถูกเก็บประจุ ประจุใน อีกด้านหนึ่งแทนซึ่งกระแสที่ได้จากการดิสชาร์จก็จะไหลกลับทิศกับตอนแรก โดยสามารถเลือก มุมทริกของไตรแอกได้ด้วยการปรับค่าตัวต้านทาน ซึ่งจะเป็นการปรับเวลาในการทริกที่เกิดจากการ เก็บประจุประจุตัวเก็บประจุ C3 มีค่าเปลี่ยนไปในแต่ละครึ่งลูกคลื่น ทำให้ความต่างศักย์ที่ออกไป ถูกปรับค่าได้

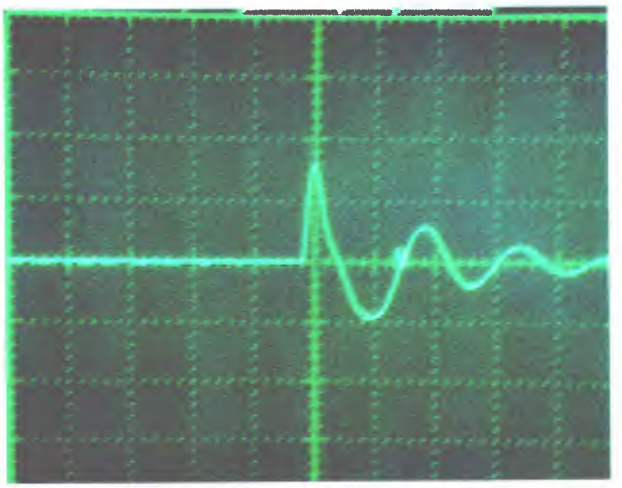
ทำการทดสอบหาความต่างศักย์ของแหล่งจ่ายไฟฟ้าแรงสูง ด้วยหัววัดความต่างศักย์สูงที่ สามารถลดอัตราส่วนความต่างศักย์ 1000 เท่า ในการวัดค่าความต่างศักย์ต่างๆ ของเครื่อง โดยนำไป วัดตรงที่กระแสออกมา เป็นความต่างศักย์สูง และปรับสเกลโวลต์ของออสซิลโลสโคปให้แต่ละ ช่องมีค่าเท่ากับ 10V/div และปรับสเกลคาบให้แต่ละช่องมีค่า 250 μS/div แปลผลผ่านเครื่อง ออสซิลโลสโคป พบว่า ความต่างศักย์ที่ได้อยู่ในระดับกิโลโวลต์ โดยสัญญาณที่วัดได้ที่ระดับ 6, 8 และ 16 กิโลโวลต์ แสดงดังภาพที่ 10 – 12 ตามลำดับ



ภาพที่ 10 แสดงความต่างศักย์ที่ 6 กิโลโวลต์

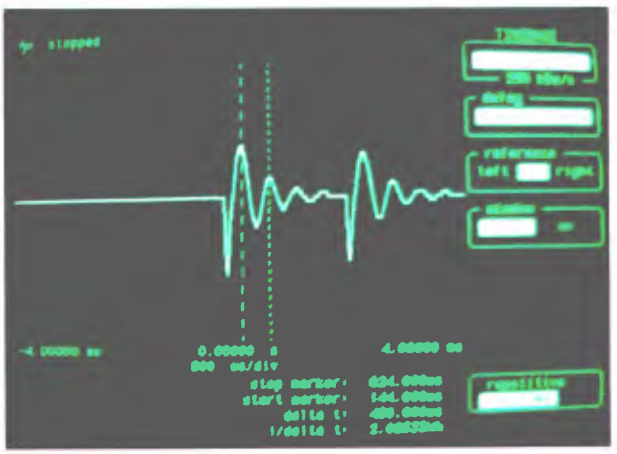


ภาพที่ 11 แสดงความต่างศักย์ที่ 8 กิโลโวลต์

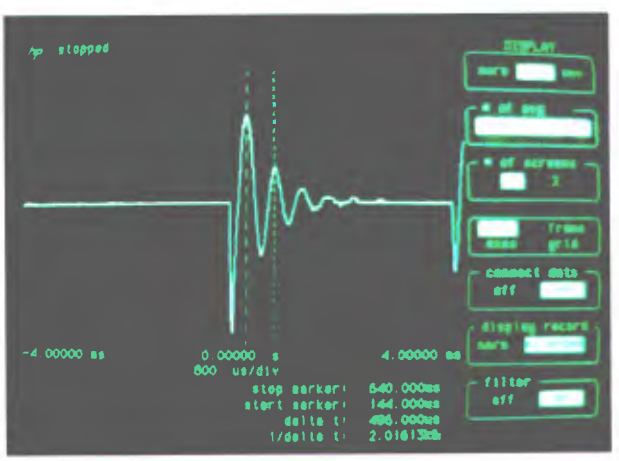


ภาพที่ 12 แสดงความต่างศักย์ที่ 16 กิโลโวลต์

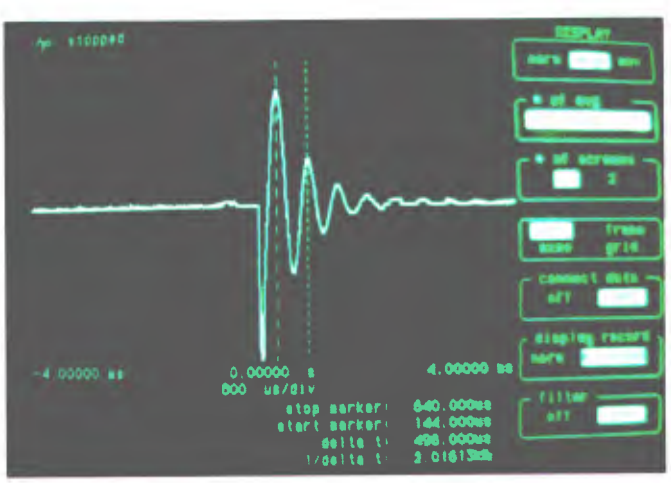
ต่อมาปรับสเกลคาบและโวลต์ให้เป็น 800 μs/div และ 2 V/div เพื่อหาค่าความถี่ที่เกิดขึ้นระหว่างการดิสชาร์จ พบว่า ที่ 6 กิโลโวลต์ จะได้ค่า t = 480 μs ความถี่ที่ได้เท่ากับ 2.083 kHz ที่ 8 และ 18 กิโลโวลต์ จะได้ค่า t = 496 μs ความถี่ที่ได้เท่ากับ 2.016 kHz เท่ากัน นั่นคือจะได้ช่วงความถี่อยู่ที่ประมาณ 2.05 kHz เนื่องจากความถี่ที่ได้คงที่ ความถี่ที่ได้เป็นความถี่เฉลี่ยของความต่างศักย์ตั้งแต่ 6 กิโลโวลต์ จนถึง 16 กิโลโวลต์ ดังรูป 13 - 15 ตามลำดับ



ภาพที่ 13 แสดงค่าความถี่ที่ให้ออกมาขณะปรับไปที่ 6 กิโลโวลต์

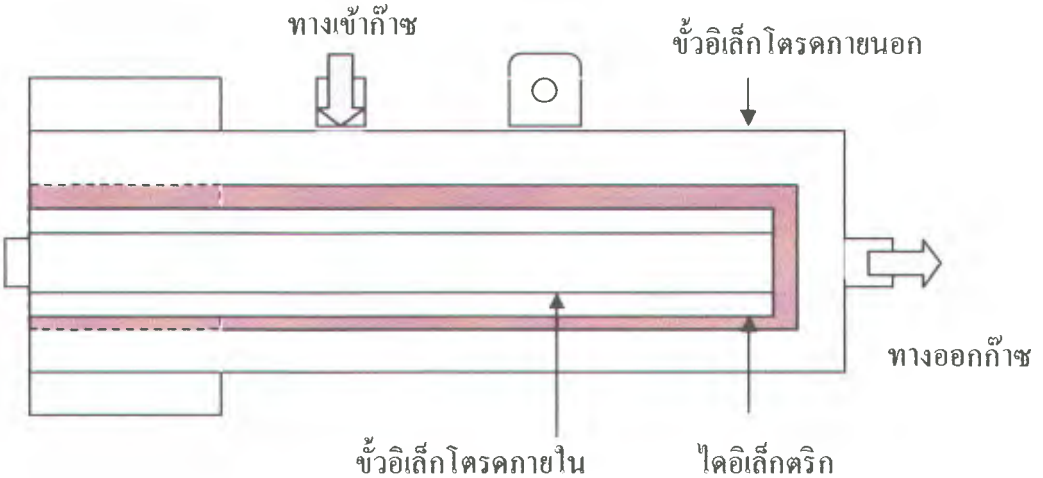


ภาพที่ 14 แสดงค่าความถี่ที่ให้ออกมาขณะปรับไปที่ 8 กิโลโวลต์



ภาพที่ 15 แสดงค่าความถี่ที่ให้ออกมาขณะปรับไปที่ 16 กิโลโวลต์

การออกแบบและสร้างเซลล์โอโซไนเซอร์ สำหรับในงานวิจัยนี้จะใช้หลักการดิสชาร์จแบบไซเรนท์ ในการสร้างเซลล์โอโซไนเซอร์เพื่อผลิตก๊าซโอโซน ซึ่งมีลักษณะของโอโซไนเซอร์ที่ใช้ในการผลิตโอโซนแสดงดังภาพที่ 1 6 โดยลักษณะของไซเรนท์ดิสชาร์จเป็นปรากฏการณ์ที่อยู่ระหว่างการดิสชาร์จแบบโคโรนาและการดิสชาร์จแบบเรืองแสง เกิดขึ้นที่ความดันบรรยากาศหรือสูงกว่านี้ทำให้เทคนิคนี้เป็นที่นิยมในการนำมาประยุกต์ใช้ เนื่องจากไม่มีปัญหาเกี่ยวกับระบบสุญญากาศหน่วย การกำเนิดก๊าซโอโซนหรือโอโซไนเซอร์ประกอบด้วย ท่อแก้ว ช่องว่างดิสชาร์จและแหล่งจ่ายศักย์ไฟฟ้าแรงสูง ความถี่สูง



ภาพที่ 16 แสดงโอโซไนเซอร์ที่ใช้ในการผลิตโอโซนในงานวิจัย

เมื่อปล่อยก๊าซออกซิเจนเข้าไปในตัวกำเนิดโอโซนที่สะอาดและแห้ง การเกิดโอโซนจะเกิดปรากฏการณ์โคโรนาภายใต้เงื่อนไขที่เหมาะสม สามารถเขียนความสัมพันธ์ได้ ดังนี้

$$V \propto pg$$

$$\frac{Y}{A} \propto \frac{f\varepsilon V^2}{d}$$

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

V คือ ศักย์ไฟฟ้าระหว่างขั้ว

p คือ ความดันของก๊าซในช่องว่าง (gap) ที่อยู่ระหว่างไดอิเล็กตริกกับขั้วไฟฟ้าชั้นใน

g คือ ความกว้างของช่องว่าง (gap) ที่อยู่ระหว่างไดอิเล็กตริกกับขั้วไฟฟ้าชั้นใน

f คือ ความถี่ของศักย์ไฟฟ้า

ε คือ ค่าคงที่ไดอิเล็กตริก

d คือ ความหนาของไดอิเล็กตริก

การทำให้ปริมาณโอโซนที่ได้มีค่าที่เหมาะสม ขึ้นอยู่กับ

1) ความดันและช่องว่าง (gap) ที่อยู่ระหว่างไดอิเล็กตริกกับขั้วไฟฟ้าชั้นใน ที่เกิดขึ้นควรจะทำให้ศักย์ไฟฟ้ามีค่าต่ำ

2) วัสดุที่ใช้ทำไดอิเล็กตริกควรจะบาง และมีค่าคงที่ไดอิเล็กตริกสูง

3) ควรใช้ไฟฟ้ากระแสสลับความถี่สูง เนื่องจากที่ความถี่สูง จะทำลายผิวไดอิเล็ก-ตริกน้อยกว่าที่ศักย์ไฟฟ้าสูง จากเหตุผลนี้ส่งผลทำให้ช่วยลดการบำรุงรักษาเครื่องมือ และยังช่วยยืดอายุการใช้งานของเครื่องมือด้วย ในขณะที่ปริมาณโอโซนที่ได้ก็จะมากขึ้น

4) ระบบระบายความร้อนควรจะมีประสิทธิภาพสูง โดยอาศัยก๊าซที่ไหลผ่านช่อง ว่างที่อยู่ระหว่างไดอิเล็กตริกกับขั้วไฟฟ้าชั้นใน เพื่อให้เกิดการระบายความร้อน ซึ่งส่งผลทำให้ปริมาณโอโซนที่เกิดขึ้นมีความเข้มข้นน้อยลง ถ้าต้องการให้โอโซนมีความเข้มข้นมากขึ้นควรจะเพิ่มระบบหล่อเย็น

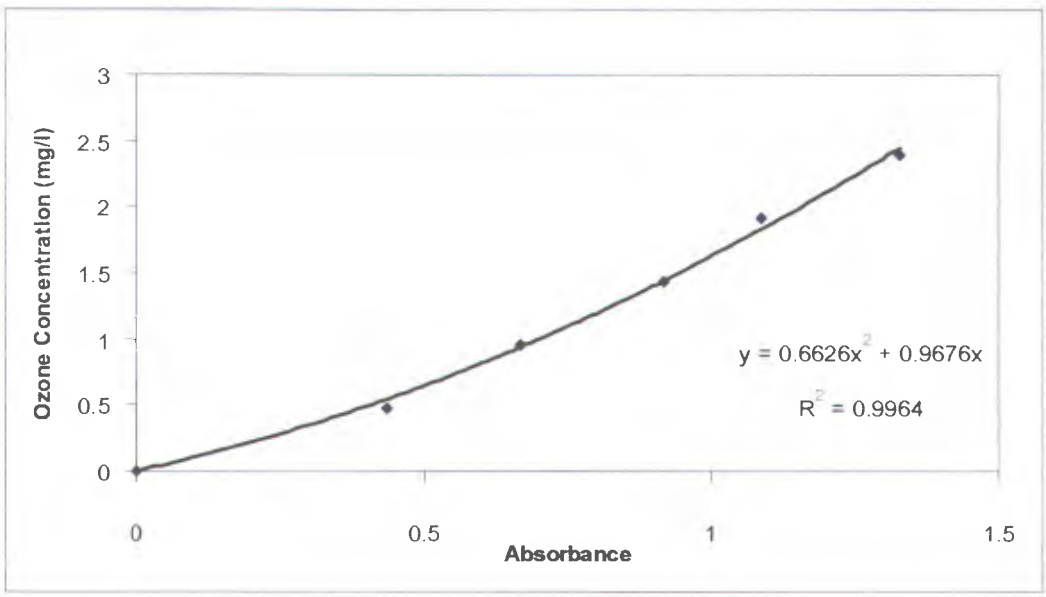
2.2 ศึกษาการหาความเข้มข้นของปริมาณโอโซน โดยวิธีมาตรฐานโพแทสเซียมไอโอไดส์

โอโซนที่ผลิตได้จากเซลพลาสมาโอโซไนเซอร์สามารถวัดได้โดยใช้วิธีมาตรฐานโพแทสเซียมไอโอไดส์ (AOAC, 1995) จะได้กราฟไอโอดีนมาตรฐานที่ใช้เป็นกราฟมาตรฐานในการเปรียบเทียบหาปริมาณไอโอดีน (I_2) ที่เกิดขึ้นจากโอโซนที่ผลิตได้ไปทำปฏิกิริยากับไอโอไดด์ไอออน (I^-) เกิดเป็นไอโอดีน (I_2) ใน absorbing reagent ซึ่งไอโอดีนสามารถตรวจสอบได้โดยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่จะทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของไอโอดีนที่ 352 นาโนเมตร ทำให้สามารถบอกปริมาณโอโซนที่เกิดขึ้น ได้จากปริมาณไอโอดีนที่เกิดขึ้น ตามสมการ (Nagdev, 1992)

$$O_3 + 2KI + H_2O \rightarrow I_2 + 2KOH + O_2$$

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

จากการศึกษาการหาปริมาณโอโซน โดยวิธีมาตรฐานโพแทสเซียมไอโอไดส์ จะได้กราฟไอโอดีนมาตรฐานที่ใช้เป็นกราฟมาตรฐานในการเปรียบเทียบหาปริมาณโอโซน ดังภาพที่ 17



ภาพที่ 17 แสดงกราฟมาตรฐานการดูดกลืนแสงต่อปริมาณโอโซนที่ความเข้มข้นต่างๆ

เขียนสมการของกราฟ

$$y = ax^2 + bx$$

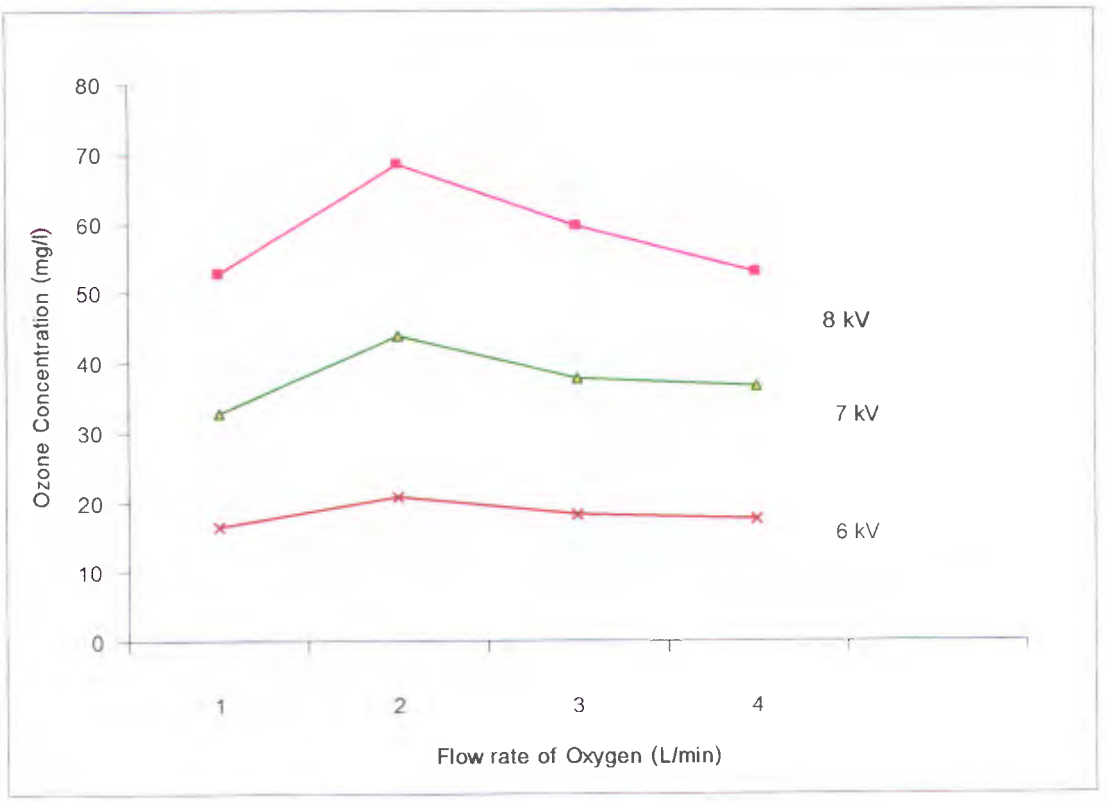
เมื่อ y คือ ความเข้มข้นของโอโซน หน่วย มิลลิกรัมต่อลิตร

x คือ ค่าการดูดกลืนแสง

a = 0.6626, b = 0.9676

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, 8 และ 10 กิโลโวลต์ ดังแสดงในภาพที่ 18



ภาพที่ 18 แสดงปริมาณโอโซนที่อัตราการไหลของก๊าซออกซิเจน 1, 2, 3 และ 4 ลิตรต่อนาที ที่ความต่างศักย์ไฟฟ้าในช่วง 6, 7 และ 8 กิโลโวลต์

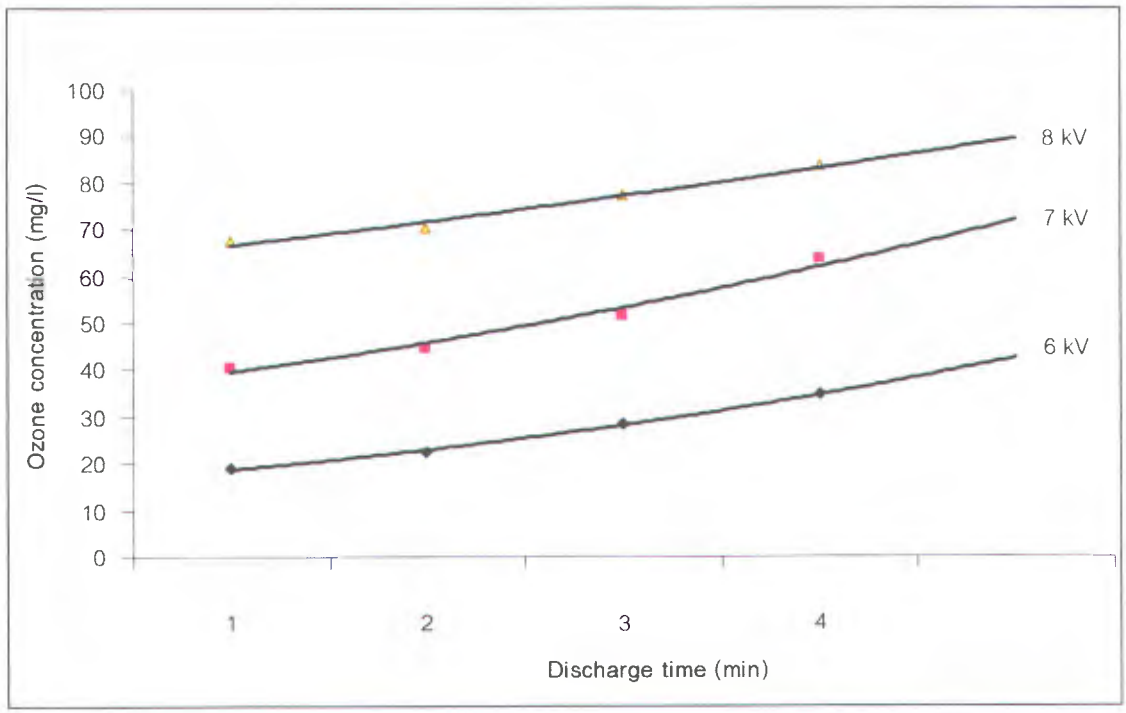
จากภาพที่ 18 พบว่า ที่ความต่างศักย์ 6 กิโลโวลต์ ปริมาณโอโซนที่เกิดขึ้นเป็น 16.5, 20.8, 18.3 และ 17.67 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อัตราการไหลของก๊าซออกซิเจน 1, 2, 3 และ 4 ลิตรต่อนาที ตามลำดับ ที่ความต่างศักย์ 7 กิโลโวลต์ ปริมาณโอโซนที่เกิดขึ้นเป็น 32.75, 43.84, 37.78 และ 36.62 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อัตราการไหลของก๊าซออกซิเจน 1, 2, 3 และ 4 ลิตรต่อนาที ตามลำดับ ที่ความต่างศักย์ 8 กิโลโวลต์ ปริมาณโอโซนที่เกิดขึ้นเป็น 52.68, 68.47, 59.71 และ 53.11 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อัตราการไหลของก๊าซออกซิเจน 1, 2, 3 และ 4 ลิตรต่อนาที ตามลำดับ การเปลี่ยนแปลงอัตราการ

ไหลของก๊าซออกซิเจน มีผลต่อการปริมาณการเกิดโอโซนของระบบ นั่นคือเมื่อให้เงื่อนไขของศักย์ไฟฟ้าที่จ่ายให้กับระบบ และปัจจัยอื่นๆ ให้มีค่าคงที่ พบว่า อัตราการไหลของก๊าซที่เพิ่มขึ้นในช่วงหนึ่งเท่านั้นที่จะทำให้ปริมาณการเกิดโอโซนเพิ่มขึ้น โดยในการทดลองนี้อัตราการไหล 2 ลิตรต่อนาที เป็นอัตราการไหลที่ทำให้เกิดโอโซนมากที่สุด และหลังจากอัตราการไหลช่วงนี้แล้วปริมาณการเกิดโอโซนจะลดลง เนื่องจากศักย์ไฟฟ้าที่ให้เพื่อทำให้เกิดการแตกตัวระดับหนึ่งที่ทำให้สามารถผลิตโอโซนได้มากสุด น่าจะมีสาเหตุมาจาก ณ ปริมาณศักย์ไฟฟ้าคงที่นั้น พลังงานที่ป้อนให้กับระบบ (โอโซไนเซอร์) คงที่ ซึ่งเพียงพอต่อจำนวนโมเลกุลของออกซิเจนขนาดหนึ่ง ดังนั้นหากเพิ่มปริมาณโมเลกุลของออกซิเจนมากขึ้น โดยเพิ่มอัตราการไหล จึงเป็นผลให้ปริมาณโมเลกุลบางส่วนไม่สามารถถูกดิสชาร์จและเปลี่ยนไปเป็นโอโซนได้ อีกเหตุผลหนึ่งน่าจะมาจากการที่อัตราการไหลของอากาศสูงๆ จะทำให้โมเลกุลของออกซิเจนไหลผ่านเร็วมากในบริเวณช่องว่างดิสชาร์จทำให้โมเลกุลของก๊าซส่วนมากไม่ได้ถูกทำให้แตกตัวในเวลาที่เหมาะสม 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 19



ภาพที่ 19 แสดงปริมาณโอโซนที่ความต่างศักย์ไฟฟ้า 6, 7 และ 8 กิโลโวลต์ ที่อัตราการไหลของก๊าซออกซิเจน 2 ลิตรต่อนาที ที่เวลาดิสชาร์จใน 1, 2, 3 และ 4 นาที

จากผลของการทดลอง พบว่า ที่ความต่างศักย์ 6 กิโลโวลต์ ปริมาณโอโซนที่เกิดขึ้นเป็น 18.87, 22.54, 28.36 และ 34.74 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เวลา 1, 2, 3 และ 4 นาที ตามลำดับ ที่ความต่างศักย์ 7 กิโลโวลต์ ปริมาณโอโซนที่เกิดขึ้นเป็น 40.58, 44.64, 51.74 และ 63.87 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เวลา 1, 2, 3 และ 4 นาที ตามลำดับ ที่ความต่างศักย์ 8 กิโลโวลต์ ปริมาณโอโซนที่เกิดขึ้นเป็น 67.44, 70.26, 77.38 และ 83.64 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เวลา 1, 2, 3 และ 4 นาที ตามลำดับ ปริมาณความเข้มข้นของการเกิดโอโซนกับการเปลี่ยนแปลงศักย์ไฟฟ้าที่ป้อนให้กับระบบ แสดงดังกาพที่ 19 พบว่า ที่เวลาดิสชาร์จเดียวกันปริมาณการเกิดโอโซนจะเพิ่มขึ้นตามการเพิ่มของศักย์ไฟฟ้า สามารถเขียนแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณความเข้มข้นของโอโซนกับเวลาดิสชาร์จ และได้ว่าการเปลี่ยนแปลงเวลาการดิสชาร์จทำให้ปริมาณโอโซนเพิ่มขึ้นเนื่องจากเวลาในการดิสชาร์จเพิ่มขึ้น ซึ่งก็คือเวลาในการทำให้ก๊าซออกซิเจนแตกตัวแล้วรวมกันเป็นโอโซนมีมากขึ้นก็ย่อมได้โอโซนมากขึ้น คือปริมาณ yield ที่ได้เป็นฟังก์ชันกับค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ป้อนให้กับขั้วอิเล็กโตรด

ตอนที่ 3 การศึกษาประสิทธิภาพการลดเชื้อที่ปนเปื้อนบนอาหารทะเลด้วยการผ่านโอโซน

จากตอนที่ 2 ที่ได้มีการตรวจสอบปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตโอโซน ในงานวิจัยนี้จึงกำหนดความต่างศักย์ที่ใช้ในการทดลองที่ 6 กิโลโวลต์ อัตราการไหลของออกซิเจน 2 ลิตรต่อนาที เป็นค่าพารามิเตอร์ที่เหมาะสมสำหรับการนำไปใช้กับอาหารทะเล

ตารางที่ 8 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างอาหารทะเลก่อนและหลังการผ่านโอโซนเป็นเวลา 1 นาที

Sample	Total bacteria count (CFU/g)		% Reduction
	Before ozone treated	After ozone treated	
ปลาตะกรับ	2.5×10^8	1.3×10^8	48.06
กุ้ง	1.9×10^8	1.0×10^8	47.37
ปูดำ	1.8×10^6	1.1×10^6	38.89
กั้ง	3.7×10^8	1.8×10^8	51.35
หอยแมลงภู่	3.6×10^8	1.7×10^8	52.78
ปลากุเลา	9.0×10^8	4.6×10^8	48.88

ตารางที่ 9 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างอาหารทะเลก่อนและหลังการผ่านโอโซนเป็นเวลา 2 นาที

Sample	Total bacteria count (CFU/g)		% Reduction
	Before ozone treated	After ozone treated	
ปลาตะกรับ	2.5×10^8	5.8×10^7	76.80
กุ้ง	1.9×10^8	4.9×10^7	74.21
ปูดำ	1.8×10^6	6.0×10^5	66.67
กั้ง	3.7×10^8	7.9×10^7	78.65
หอยแมลงภู่	3.6×10^8	7.3×10^7	79.72
ปลากุเลา	9.0×10^8	2.5×10^8	72.22

ตารางที่ 10 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างอาหารทะเลก่อนและหลังการผ่านโอโซนเป็นเวลา 3 นาที

Sample	Total bacteria count (CFU/g)		% Reduction
	Before ozone treated	After ozone treated	
ปลาตะกรับ	2.5×10^8	3.2×10^6	98.72
กุ้ง	1.9×10^8	6.5×10^6	96.58
ปูดำ	1.8×10^6	1.5×10^5	91.70
กั้ง	3.7×10^8	5.3×10^4	99.98
หอยแมลงภู่	3.6×10^8	9.7×10^4	99.97
ปลากุเลา	9.0×10^8	1.6×10^7	98.24

จากตารางที่ 8, 9 และ 10 แสดงปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างอาหารทะเลก่อนและหลังการผ่านโอโซนเป็นเวลา 1, 2, 3 นาที ตามลำดับ และค่าเปอร์เซ็นต์การลดลงของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด พบว่า ในทุกตัวอย่างมีเปอร์เซ็นต์การลดลงของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างเห็นได้อย่างชัดเจน โดยเมื่อเวลาในการสัมผัสกับโอโซนมากขึ้นปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดก็จะลดลง ค่าเปอร์เซ็นต์การลดลงของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดก็จะยิ่งเพิ่มมากขึ้น โอโซนสามารถทำลายแบคทีเรียได้โดยการทำลายเกิดขึ้นที่เยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกของแบคทีเรีย จากนั้นจะทำให้เกิดการรั่วไหลของโปรตีนภายในเซลล์ออกสู่นอกเซลล์ และสุดท้ายจะทำให้เกิดการแตกสลายของเซลล์ ซึ่งจะทำให้โอโซนสามารถเข้าไปทำปฏิกิริยากับสารโปรตีนได้อย่างสมบูรณ์ (Hunt and Marinas, 1999)

พิจารณาหลังจากการผ่านโอโซนสัมผัสกับอาหารทะเล 3 นาที พบว่า จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดลดลงอย่างน้อย 1 log CFU/g ในตัวอย่างปูดำกับปลากุเลา, ลดลง 2 log CFU/g ในตัวอย่างปลาตะกรับกับกุ้ง และลดลง 4 log CFU/g ในตัวอย่างกั้งกับหอยแมลงภู่ ทั้งนี้การที่โอโซนสามารถทำลายจุลินทรีย์ได้มาจากการที่โอโซนเป็นก๊าซที่ไม่คงตัวจะแตกสลายให้ก๊าซออกซิเจนและออกซิเจนอะตอมเรื่อยๆ อะตอมของออกซิเจนที่แตกตัวบางส่วนจะทำหน้าที่เป็น oxidizing agents ที่ทำลายจุลินทรีย์ได้

ตารางที่ 11 ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียในตัวอย่างอาหารทะเลสดบริเวณเขตเทศบาลตำบลปากนคร อ.เมือง จ.นครศรีธรรมราช หลังผ่านโอโซนนาน 3 นาที

ตัวอย่าง	MPN index (MPN/g)		EMB agar (metallic sheen colony)	
	Before	After	Before	After
ปลาตะกรับ	460	43	✓	✓
กุ้ง	93	43	✓	✗
ปูดำ	240	240	✓	✓
กั้ง	240	93	✓	✓
หอยแมลงภู่	>1,100	>1,100	✓	✓
ปลากุเลา	>1,100	240	✓	✗

หมายเหตุ : ✓ พบเชื้อ E. coli บนอาหาร EMB ในขั้น Confirm Test

✗ ไม่พบเชื้อ E. coli บนอาหาร EMB ในขั้น Confirm Test

ในส่วนการวิเคราะห์ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียและ *E. coli* ในตัวอย่างอาหารทะเลสด พบว่ามีเชื้อ *E. coli* ปนเปื้อนในตัวอย่างก่อนการผ่านโอโซน เป็นค่าที่อยู่ในระดับเกินเกณฑ์มาตรฐานทั้งปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรีย และปริมาณ MPN Fecal coliform/กรัม สาเหตุของปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียที่เกินมาตรฐานอาจมีผลมาจากกระบวนการเตรียมวัตถุดิบ และการปนเปื้อนของน้ำทิ้งที่ทิ้งลงสู่บริเวณเทศบาลตำบลปากนคร อย่างไรก็ตามเมื่อนำตัวอย่างอาหารทะเลมาผ่านโอโซน พบว่า ปลาตะกรับ กุ้ง กั้ง และปลากุเลา มีค่าปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียที่ปนเปื้อนทั้งหมดลดลงอย่างเห็นได้ชัดเจน ส่วนในปูดำ และหอยแมลงภู่ มีค่าปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียที่ปนเปื้อนมีค่าไม่ลดลง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะเวลาในการสัมผัสโอโซนอาจน้อยเกินไป เนื่องจากในการทดลองกำหนดเวลาในการสัมผัสโอโซนนาน 3 นาที ในกรณีของปูดำ และหอยแมลงภู่ อาจต้องใช้เวลาในการสัมผัสโอโซนที่มากกว่า 3 นาที

นอกจากนี้เมื่อนำตัวอย่างมาวิเคราะห์หาปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียและ *E. coli* พบว่าเมื่อผ่านโอโซนสัมผัสกับตัวอย่าง ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียและ *E. coli* ลดลงในทุกตัวอย่าง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในตัวอย่าง กุ้งและ ปลากุเลา ที่ไม่พบการเจริญของเชื้อ *E. coli* หลังจากการผ่านโอโซน ดังแสดงในตารางที่ 11 แต่อย่างไรก็ตามปริมาณ MPN Fecal coliform /กรัม ยังคงสูงกว่าค่ามาตรฐานที่กำหนด ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่มีอยู่สูงก่อนการผ่านโอโซน

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) อย่างไรก็ตามการเกิดการแตกสลายของเซลล์นั้นไม่ได้เกิดจากปฏิกิริยาขั้นแรกของโอโซนในการทำลายแบคทีเรีย แต่เกิดภายหลังที่มีความเข้มข้นของสารที่ทำหน้าที่ออกซิไดซ์เพิ่มสูงขึ้น (Greene et al., 1993)

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

1. ตัวอย่างอาหารทะเลสดที่เก็บจากบริเวณเขตเทศบาลตำบลปากนคร อ.เมือง จ.นครศรีฯ จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ ปลาตะกรับ มีปริมาณแบคทีเรียเฉลี่ย 2.4 x 10^8 CFU/g, กุ้ง มีปริมาณแบคทีเรียเฉลี่ย 2.0 × 10^8 CFU/g, ปูดำ มีปริมาณแบคทีเรียเฉลี่ย 2.0 × 10^8 CFU/g, กั้ง มีปริมาณแบคทีเรียเฉลี่ย 3.6 × 10^8 CFU/g, หอยแมลงภู่ มีปริมาณแบคทีเรียเฉลี่ย 3.7 × 10^8 CFU/g, ปลากุเลา มีปริมาณแบคทีเรียเฉลี่ย 8.9 × 10^8 CFU/g ซึ่งปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดที่พบในปริมาณสูงเกินเกณฑ์ทั้งหมด รวมถึงปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียและ *E. coli* ในตัวอย่างอาหารทะเลสด พบว่าในตัวอย่างปลาตะกรับ และกุ้ง มีปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรีย 460 และ 93 MPN/g ตามลำดับ, หอยแมลงภู่ และปลากุเลา มีปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียมากกว่า 1,000 MPN/g ส่วนปูดำ และกั้ง มีปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรีย 240 MPN/g ซึ่งปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียที่พบในปริมาณสูงเกินเกณฑ์ทั้งหมด และในตัวอย่างทั้ง 6 ตัวอย่าง มีการปนเปื้อนเชื้อ *E. coli* โดยมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.9007-2548) ในกลุ่มสินค้าปลา กุ้งสดแช่เยือกแข็ง/แช่เย็น กำหนดให้มีจำนวนจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด (total viable count) ที่ยอมรับได้ในตัวอย่างที่ตรวจสอบ ต้องไม่เกิน 5.0 x 10^5 cfu/g และเอสเคอริเคีย โคไล *(E. coli)* <3 MPN/g โดยวัดจากจำนวนจุลินทรีย์ที่ยอมรับได้ในตัวอย่างที่ตรวจสอบ

2. ความต่างศักย์ของแหล่งจ่ายไฟฟ้าแรงสูงได้อยู่ในระดับกิโลโวลต์ โดยสัญญาณที่วัดได้ถึงระดับ16 กิโลโวลต์ ความถี่อยู่ที่ประมาณ 2.05 kHz เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลของก๊าซออกซิเจน พบว่าปริมาณความเข้มข้นโอโซนจะไม่เป็นสัดส่วนโดยตรงกับอัตราการไหลของก๊าซออกซิเจน แต่จะมีค่าสูงสุดที่อัตราการไหล 2 ลิตรต่อนาที ซึ่งเป็นค่าที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ปริมาณโอโซนที่ได้มีค่า 20 มิลลิกรัมโอโซนต่อลิตรออกซิเจนโดยให้ปริมาณโอโซน 20-70 มิลลิกรัมโอโซน/ลิตรของก๊าซออกซิเจนที่ศักย์ไฟฟ้าในช่วง 6-8 กิโลโวลต์ ที่มีอัตราการไหลของก๊าซเป็น 2 ลิตรต่อนาที

3. ปริมาณความเข้มข้นของการเกิดโอโซนกับการเปลี่ยนแปลงศักย์ไฟฟ้าที่ป้อนให้กับระบบ พบว่าที่เวลาดิสชาร์จเดียวกันปริมาณการเกิดโอโซนจะเพิ่มขึ้นตามการเพิ่มของศักย์ไฟฟ้า และได้ว่าการเปลี่ยนแปลงเวลาการดิสชาร์จทำให้ปริมาณโอโซนเพิ่มขึ้น เนื่องจากเวลาในการดิสชาร์จเพิ่มขึ้น ซึ่งก็คือเวลาในการทำให้ก๊าซออกซิเจนแตกตัวแล้วรวมกันเป็นโอโซนมีมากขึ้นก็ย่อมได้โอโซนมากขึ้น คือปริมาณ yield ที่ได้เป็นฟังก์ชันกับค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ป้อนให้กับขั้ว

อิเล็กโตรด

4. จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดลดลงอย่างน้อย 1 log CFU/g ในตัวอย่างปูดำกับปลากุเลา, ลดลง 2 log CFU/g ในตัวอย่าง ปลาตะกรับกับกุ้ง และลดลง 4 log CFU/g ในตัวอย่างกั้งกับหอยแมลงภู่ และปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียและ *E. coli* ลดลงในทุกตัวอย่าง

ข้อเสนอแนะ

1. ระบบความปลอดภัยจากไฟฟ้าแรงสูงที่อาจมีการรั่วไหลของกระแสมาตามผิวอุปกรณ์ของการผลิตของระบบผลิตโอโซน ในการทดลองแต่ละครั้งจะต้องตรวจความเรียบร้อย และรอบคอบในการทดลองทุกครั้ง

2. ภายในเซลล์โอโซไนเซอร์ชั้นของไดอิเล็กตริกจะต้องแนบสนิทกับอิเล็กโตรด เพื่อป้องกันการอาร์คเกิดขึ้น ซึ่งเป็นการสูญเสียพลังงานโดยเปล่าประโยชน์ และทำให้เซลล์โอโซไนเซอร์เกิดความเสียหายได้ ทำให้อายุการใช้งานของเซลล์โอโซไนเซอร์จะสั้น

3. ในการประยุกต์ใช้งานเงื่อนของการผ่านโอโซนอาจไม่เหมือนกัน อาจต้องมีการทำการศึกษาในแต่ละชนิด เพื่อหาความเหมาะสมที่ถูกต้องที่สุด

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
การตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์ในน้ำโอโซน

การตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์ในน้ำโอโซน

1. ปีเปตสารละลายแบคทีเรียที่ได้จากการผสมกับน้ำโอโซนในอัตราส่วน 1 ต่อ 9 (10-1) มา 1 มิลลิลิตร ลงในหลอด PBS ปลอดเชื้อ 9 มิลลิลิตร เพื่อทำ serial dilution 10-2, 10-3 ต่อไป

2. ปีเปต 1 มิลลิลิตร ของ serial dilution ลงใน petridish ปลอดเชื้อ แล้วเทอาหารเลี้ยงเชื้อปลอดเชื้อที่มีอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ประมาณ 12 – 15 มิลลิลิตร ลงบน petridish แล้วใช้เทคนิค pour plate ทำซ้ำอีกใน dilution ถัดไป โดยการวิเคราะห์จำนวน TPC และ PPC ใช้ Standard plate count agar บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และอุณหภูมิ 7-9 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน ตามลำดับ ส่วน TCC และ *E. coli* ใช้ VRB agar บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง *S. anatum* ใช้ XLD agar บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และ *V. parahaemolyticus* ใช้ TCBS agar บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง แล้วนับจำนวนโคโลนี

ภาคผนวก ค

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	50
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	16	5	0	0	23	6.8	70
2	0	1	6.8	1.8	16	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	443
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	–

บรรณานุกรม

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

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

3. ประสาร ชาตะรัตน์. 2538. การสร้างโอโซนที่ความดันบรรยากาศด้วยโคโรน่าดิสชาร์จโดยไฟฟ้ากระแสสลับ. ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

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

5. วรพรรณี เผ่าทองศุข. 2550. ผลของโอโซนและอุณหภูมิต่อการกำจัดแบคทีเรียและยีสต์ในน้ำตาลสดและน้ำลำไย. 33rd Congress on Science and Technology of Thailand.

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

7. นภา โล่ห์ทอง. 2535. จุลชีววิทยาของอาหารทะเลแช่แข็ง เอกสารประกอบคำบรรยายเรื่อง จุลชีววิทยาของอาหารทะเลแช่แข็ง ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

8. เพ็ญศรี รอดมา, อุรารัตน์ วุฒิกรภัณฑ์ และอัชฌา ฐานานุวัฒน์. 2534. คุณภาพของกุ้งเพาะเลี้ยงและกุ้งทะเลแช่แข็ง. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 33(4): 183-188.

9. ศิริรักษ์ เนตรรัตนะ. 2539. การวิเคราะห์เงื่อนไขที่เหมาะสมสำหรับการใช้กาซโอโซนในการฆ่าเชื้อโรคที่ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชา 59 วิศวกรรมอุตสาหการ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

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

11. สิริพร สธนเสาวภาคย์. 2543. โอโซนกับความปลอดภัยในอาหาร. วารสารอาหาร 30(2): 79-86.

12. สุรพล รักปทุม. 2543. โอโซนเพื่อชีวิตและสิ่งแวดล้อม. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพ. (ม. ป.ท.)

บรรณานุกรม (ต่อ)

13. สุวิมล กีรติวิริยาภรณ์ และศันสนีย์ ศรีจันทร์งาม. 2543. การปนเปื้อนของเชื้อแซลโมเนลล่าในวัตถุดิบกุ้งกุลาดำ. วารสารการประมง 53(5): 455-459.

14. สุเมธ ชวเดช. 2541. การพัฒนากระบวนการออกซิเดชันโอโซนสำหรับการบำบัดน้ำเสีย. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต วิทยาลัยปิโตรเลียมและปิโตรเคมี บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

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

16. Nasser E. 1971. "Fundamentals of Gaseous Ionization and Plasma Electronics". USA: John Wiley and Sons Inc.

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

18. Zentox Corporation. **Ozone in Food Processing Applications**

19. 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.

20. Yuk, H.G. and others. 2006. Effect of combined ozone and organic acid treatment for control of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* on Enoki mushroom. Food Control.

21. 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.

22. Guzel-Seydim, Zeynep, Jr., Paul I. Bever, and Greene, Annel K. 2004. Efficacy of ozone to reduce bacterial populations in the presence of food components. **Food Microbiology** 21: 475-479.

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

บรรณานุกรม (ต่อ)

24. 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.

25. APHA. 1985. Standard method for the examination of water and waste water. 16th ed. Washington DC. : APHA.

27. APHA. 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. American Public Health Association. 4th ed. Washington DC. : APHA.

28. Ashie, I. N. A., Smith, J. P. and Simpson, B. K. 1996. Spoilage and shelf-life extension of fresh fish and shellfish. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 36 (1&2): 87-121. 60

29. Bancroft, K., Chrostowski, P., Wright, R. I. and Suffet, I. H. 1984. Ozonation and oxidation competition values. Water Research 18: 473-478.

30. Burleson, G. R., Murray, T. M., and Pollard, M. 1975. Inactivation of viruses and bacteria by ozone with and without sonication. Applied Microbiology 29:340-344.

31. Byun, M., Kwon, O., Yook, H. and Kim, K. 1998. Gamma irradiation and ozone treatment for inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in cultured media. Journal of Food Protection 61(6): 728-730.

32. 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.