



สัญญาเลขที่ MRG4580006

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การบาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ของ *Salmonella* sp. ซึ่งติดต่อ
สารต้านจุลชีพหลายชนิดที่แยกได้จากเนื้อไก่และผลิตภัณฑ์เนื้อไก่

ดร.สุตสาย ตรีวานิช

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

รศ.ดร. ปรียา วิบูลย์เศรษฐ์

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สนับสนุนโดยทบวงมหาวิทยาลัย และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. และสกว.ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : MRG4580006

ชื่อโครงการ : การบาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ของ *Salmonella* sp. ซึ่งดื้อต่อสารต้านจุลชีพหลายชนิดที่แยกได้จากเนื้อไก่และผลิตภัณฑ์เนื้อไก่

ชื่อนักวิจัย : ดร.สุตสาย ตีรวานิช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
 รศ.ดร. ปรียา วิบูลย์เศรษฐ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

E-mail Address : osst@ku.ac.th

ระยะเวลาโครงการ : 31 กรกฎาคม 2545 – 30 มิถุนายน 2547

เลือก *S. Virchow* NE 541 ซึ่งมีสมบัติดื้อต่อสารต้านจุลชีพ 11 ชนิดคือ Amp Aml Cn E F K Na P S W Pb เพื่อศึกษาผลของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (POAA) ต่อการทำลายและการเกิดเซลล์บาดเจ็บ โดยเปรียบเทียบกับ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, และ *S. Virchow* DMST 14922 ซึ่งมีแบบแผนการดื้อต่อสารต้านจุลชีพต่างกัน พบว่า ประสิทธิภาพของ POAA ในการทำลาย *Salmonella* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ จะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้น ระยะเวลาการสัมผัสสารฆ่าเชื้อ และอุณหภูมิของสารละลาย POAA เพิ่มขึ้น โดยที่ระดับความเข้มข้นของ POAA 10.0 ppm สามารถทำลายเซลล์ *Salmonella* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ ปริมาณเริ่มต้น $6.00 \log_{10}$ CFU/mL ได้หมดภายในเวลา 15 วินาที และ POAA สามารถทำให้เซลล์ *Salmonella* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ เกิดเป็นเซลล์บาดเจ็บได้ โดยปริมาณเซลล์บาดเจ็บจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้น ระยะเวลาการสัมผัสสารฆ่าเชื้อ และอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น ซึ่งสมบัติการดื้อต่อสารต้านจุลชีพที่ต่างกัน ไม่ส่งผลต่อประสิทธิภาพของ POAA การศึกษากระบวนการคืนสภาพเซลล์บาดเจ็บของ *Salmonella* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ เนื่องจาก POAA ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 ppm ระยะเวลาการสัมผัสสารฆ่าเชื้อ 180 วินาที พบว่าเซลล์บาดเจ็บมีกระบวนการคืนสภาพได้เร็วกว่าใน Lactose broth โดยใช้เวลา 4 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดอื่น และยังพบว่า *Salmonella* sp. สายพันธุ์ที่ดื้อต่อสารต้านจุลชีพมีกระบวนการคืนสภาพเร็วกว่าสายพันธุ์ที่ไม่ดื้อต่อสารต้านจุลชีพอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) แต่อย่างไรก็ตาม ไม่พบกระบวนการคืนสภาพของ *Salmonella* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ที่บาดเจ็บในอาหารเลี้ยงเชื้อ

Lactose broth ที่เติมสารละลายคลอแรมเฟนิคอล 10 ppm และดี-ไซโคลเซอรีน 100 ppm ซึ่งแสดงให้เห็นว่า POAA รบกวนกระบวนการสังเคราะห์โปรตีน และการสร้างผนังเซลล์

ในแบบจำลองการผลิตไก่สดแช่เยือกแข็ง พบว่า ประสิทธิภาพของ POAA ขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้น และระยะเวลาการสัมผัสสารฆ่าเชื้อ โดยอุณหภูมิไม่มีผลชัดเจน นอกจากนั้นเมื่อใช้ POAA ที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm ในขั้นตอนการล้างที่อุณหภูมิห้อง ร่วมกับการแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของ POAA เมื่อเก็บรักษาเนื้อไก่สดแช่เยือกแข็งที่ผ่านการล้างด้วยวิธีดังกล่าว พบว่า สามารถเก็บรักษาได้นานกว่า 30 วัน ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส โดยไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทั้งทางกายภาพ และทางจุลินทรีย์

คำหลัก : ซัลโมเนลลา การติดต่อสารต้านจุลชีพ เซลล์บาดเจ็บ กรดเปอร์ออกซีแอซิดิก

Abstract

Project Code : MRG4580006

Project Title : Peroxyacetic Acid Induced Injury to Multi-antimicrobial Resistant
Salmonella sp. Isolated from Chicken meat and Chicken Product

Investigator : Sudsai Treevanich Kasetsart University
Preeya Vibulsresth Kasetsart University

E-mail Address : osst@ku.ac.th

Project Period : 31 July 2002 – 30 June 2004

S. Virchow NE 541 isolated from Nham-Peek-Kai, with a resistance pattern identified as Amp Aml Cn E F K Na P S W Pb, was chosen for further investigation. The antimicrobial efficacy of Peroxyacetic acid (POAA)- based commercial sanitizers in reduction *S. Virchow* NE 541 compared with *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, and *S. Virchow* DMST 14922, which have the different antimicrobial- resistant patterns, was done. The results showed that bactericidal efficiency of POAA increased when its concentration, contact time, and temperature increased. POAA at concentration of 10.0 ppm was able to kill pure culture of each *Salmonella* sp. with the initial population of 6.00 log₁₀ CFU/mL within 15 second, whereas it was also able to cause cell injury. Number of injured cells increased when POAA concentration, contact time, and temperatures increased. The difference of *Salmonella* strains and their antimicrobial-resistant patterns did not affect the efficacy of POAA. The recovery of *Salmonella* cells injured under the condition of the 1.0 ppm of POAA at contact time 180 second was investigated with various complete culture media. The injured *Salmonella* cells required 4 h-incubation in Lactose broth (LB) for recovery. The anitimicrobial-resistant *Salmonella* sp. had significant difference ($P \leq 0.05$) in higher recovery rate than the other strains. The inhibition of recovery was seen following incubation with chloramphenicol at 10 ppm or D-cycloserine at 100 ppm in LB.

These results clearly indicated that POAA interfere the protein synthesis and damage *Salmonella* sp. cell wall.

In the model of frozen chicken process, the effectiveness of POAA was depended on its concentration and contact time, but was independent of the temperature. The use of POAA at 100 ppm in washing at room temperature followed by chilling at 4°C increased the reduction of *Salmonella* sp. Washing chicken meat under previous condition could extend shelf life more than 30 days at the subzero storage temperature. Storage with this condition did not affect change of physical and microbiological properties.

Keywords : *Salmonella* sp.,Antimicrobial- resistant, Injured cells, Peroxyacetic acid

สารบัญ

สารบัญ	6
สารบัญตาราง	7
สารบัญภาพ	12
Executive Summary	18
วัตถุประสงค์ของโครงการ	23
วิธีการทดลอง	25
ผลการทดลองและการวิจารณ์ผล	38
เอกสารอ้างอิง	196
Out put ที่ได้จากโครงการ	203

สารบัญตาราง

ตารางที่

1	เปรียบเทียบร้อยละการอยู่รอดของ <i>S. Typhimurium</i> ATCC 13311 ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100 TM) ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 5.0, และ 10.0 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)	39
2	เปรียบเทียบร้อยละการอยู่รอดของ <i>S. Typhimurium</i> DMST 14921 ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100 TM) ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 5.0, และ 10.0 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)	40
3	เปรียบเทียบร้อยละการอยู่รอดของ <i>S. Virchow</i> NE 541 ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100 TM) ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 5.0, และ 10.0 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)	40
4	เปรียบเทียบร้อยละการอยู่รอดของ <i>S. Virchow</i> DMST 14922 ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100 TM) ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 5.0, และ 10.0 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)	41
5	เปรียบเทียบร้อยละการอยู่รอดของ <i>S. Typhimurium</i> ATCC 13311 ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 200 TM) ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 5.0, และ 10.0 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)	42
6	เปรียบเทียบร้อยละการอยู่รอดของ <i>S. Typhimurium</i> DMST 14921 ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 200 TM) ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 5.0, และ 10.0 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)	43
7	เปรียบเทียบร้อยละการอยู่รอดของ <i>S. Virchow</i> NE 541 ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 200 TM) ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 5.0, และ 10.0 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)	43
8	เปรียบเทียบร้อยละการอยู่รอดของ <i>S. Virchow</i> DMST 14922 ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 200 TM) ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 5.0, และ 10.0 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)	44

- 9 เปรียบเทียบเวลาในการทำลาย *Salmonella* sp. 4 สายพันธุ์ได้หมดของ
 กรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก Inspexx 100TM
 ที่ระดับอุณหภูมิ 4, 37, 55 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) 45
- 10 เปรียบเทียบเวลาในการทำลาย *Salmonella* sp. 4 สายพันธุ์ได้หมดของ
 กรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก Inspexx 200TM
 ที่ระดับอุณหภูมิ 4, 37, 55 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) 46
- 11 เปรียบเทียบร้อยละการบาดเจ็บของ *S. Typhimurium* ATCC 13311
 หลังจากเติมสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 2 ชนิดคือ Inspexx 100TM
 และ Inspexx 200TM ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 0, 0.5,
 1.0, 5.0, และ 10.0 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) 50
- 12 เปรียบเทียบร้อยละการบาดเจ็บของ *S. Typhimurium* DMST 14921
 หลังจากเติมสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 2 ชนิดคือ Inspexx 100TM
 และ Inspexx 200TM ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 0, 0.5,
 1.0, 5.0, และ 10.0 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) 54
- 13 เปรียบเทียบร้อยละการบาดเจ็บของ *S. Virchow* DMST 14922
 หลังจากเติมสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 2 ชนิดคือ Inspexx 100TM
 และ Inspexx 200TM ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 0,
 0.5, 1.0, 5.0, และ 10.0 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) 56
- 14 เปรียบเทียบร้อยละการบาดเจ็บของ *S. Virchow* NE 541 หลังจากเติม
 สารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 2 ชนิดคือ Inspexx 100TM และ
 Inspexx 200TM ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 0, 0.5,
 1.0, 5.0, และ 10.0 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) 61
- 15 เปรียบเทียบร้อยละการเกิดเซลล์บาดเจ็บของ *Salmonella* sp. ในสารละลาย
 กรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100TM) ความเข้มข้น 0 ppm ที่อุณหภูมิ 4,
 37, 55 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) 63
- 16 เปรียบเทียบร้อยละการเกิดเซลล์บาดเจ็บของ *Salmonella* sp. ในสารละลาย
 กรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 200TM) ความเข้มข้น 0 ppm ที่อุณหภูมิ 4,
 37, 55 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) 64
- 18 เปรียบเทียบร้อยละการคืนสภาพของ เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311,
S. Typhimurium DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ

- S. Virchow* NE 541 ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก
ในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ที่เวลา 4 และ 6 ชั่วโมงของการคืนสภาพ 104
- 19 เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนคลิ่นแสงที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตรของ
ของเหลวที่แยกได้จากเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311,
S. Typhimurium DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922,
และ *S. Virchow* NE 541 ที่บาดเจ็บเนื่องจากสารผสมกรด
เปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100™) ที่มีความเข้มข้นของ
กรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 1.0 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) 124
- 20 เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนคลิ่นแสงที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร
ของของเหลวที่แยกได้จากเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311,
S. Typhimurium DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ
S. Virchow NE 541 ที่บาดเจ็บเนื่องจากสารผสมกรดเปอร์ออกซี
แอซิดิก (Inspexx 100™) ที่มีความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซี
แอซิดิก 1.0 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) 125
- 21 จำนวนเซลล์ ($\log_{10}$ CFUต่อกรัม) ของ *Salmonella* sp. บนเนื้อไก่สดที่
รอดชีวิตภายหลังสัมผัสกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารผสมกรด
เปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 100™) ที่อุณหภูมิ 4
และ 37 องศาเซลเซียส 136
- 22 จำนวนเซลล์ ($\log_{10}$ CFUต่อกรัม) ของ *Salmonella* sp. บนเนื้อไก่สดที่
รอดชีวิตภายหลังสัมผัสกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารผสมกรด
เปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 200™) ที่อุณหภูมิ 4 และ
37 องศาเซลเซียส 139
- 23 จำนวนเซลล์ ($\log_{10}$ CFUต่อกรัม) ของ *S. Typhimurium* ATCC 13311,
S. Typhimurium DMST 14921, *S. Virchow* NE 541, และ
S. Virchow DMST 14922 บนเนื้อไก่ที่ลดลงหลังจากสัมผัส
กรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก
(Inspexx 100™) ความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 100 ppm
ที่เวลา 30 นาที และอุณหภูมิต่างกัน 143

- 24 จำนวนเซลล์ ($\log_{10}$ CFUต่อกรัม) ของ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541, และ *S. Virchow* DMST 14922 บนเนื้อไก่ที่ลดลงหลังจากสัมผัสกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 200TM) ความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 100 ppm ที่เวลา 30 นาที และอุณหภูมิต่างกัน 144
- 25 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง ของน้ำล้างไก่ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) ที่ใช้กรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ความเข้มข้นต่างๆ ใน Inspexx 100TM 149
- 26 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง ของน้ำล้างไก่ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) ที่ใช้กรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ความเข้มข้นต่างๆ ใน Inspexx 200TM 150
- 27 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างในน้ำล้างไก่ที่มีกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ความเข้มข้นต่างๆ ของสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส 151
- 28 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกของสารละลายสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM) ค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณเซลล์ *Salmonella* sp. ในน้ำล้างที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) 152
- 29 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกของสารละลายสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM) ค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณเซลล์ *Salmonella* sp. ในน้ำล้างที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 155
- 30 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกของสารละลายสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM) ค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณเซลล์ *Salmonella* sp. ในน้ำที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส 156
- 31 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และปริมาณ *Salmonella* sp. ที่เหลืออยู่ หลังจากการใช้กรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100TM) ในขั้นตอนการล้างและ/หรือ แช่เย็นเนื้อไก่ 160

- 32 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และปริมาณ *Salmonella* sp. ที่เหลืออยู่หลังจาก
การใช้กรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก
(Inspexx 200TM) ในขั้นตอนการล้างและ/หรือ แช่เย็นเนื้อไก่ 162
- 33 เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ
Salmonella sp. บนเนื้อไก่ที่ผ่านการล้างและแช่เย็นด้วยสารผสม
กรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM)
ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) 168
- 34 เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ
Salmonella sp. บนเนื้อไก่ที่ผ่านการล้างและแช่เย็นด้วยสารผสม
กรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM)
ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็น (5+2 องศาเซลเซียส) 173
- 35 เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ
Salmonella sp. บนเนื้อไก่ที่ผ่านการล้างและแช่เย็นด้วยสารผสม
กรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM)
ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้แช่แข็ง (-2+2 องศาเซลเซียส) 178
- 36 เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ
Salmonella sp. บนเนื้อไก่ที่ผ่านการล้างและแช่เย็นด้วยสารผสม
กรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM)
ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส 183
- 37 เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ
Salmonella sp. บนเนื้อไก่ที่ผ่านการล้างและแช่เย็นด้วยสารผสม
กรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM)
ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -30 องศาเซลเซียส 187

สารบัญภาพ

ภาพที่

- 1 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในสารผสมกรด
เปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 100TM (a) และ Inspexx 200TM (b))
ในการทำลายและการบาดเจ็บของเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311
ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 49
- 2 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในสารผสมกรด
เปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 100TM (a) และ Inspexx 200TM (b))
ในการทำลายและการบาดเจ็บของเซลล์ *S. Typhimurium* DMST 14921
ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 52
- 3 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในสารผสม
กรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 100TM (a) และ Inspexx 200TM
(b)) ในการทำลายและการบาดเจ็บของเซลล์ *S. Virchow* DMST 14922
ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 57
- 4 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในสารผสม
กรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 100TM (a) และ Inspexx 200TM
(b)) ในการทำลายและการบาดเจ็บของเซลล์ *S. Virchow* NE 541 ที่
ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 67
- 5 เปรียบเทียบร้อยละการเกิดเซลล์บาดเจ็บของ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ในสาร
ละลาย Inspexx 100TM ที่ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 0.5 ppm
(a), 1.0 ppm (b), 5.0 ppm (c), และ 10.0 ppm (d) 68
- 6 เปรียบเทียบร้อยละการเกิดเซลล์บาดเจ็บของ *S. Typhimurium* DMST 14921 ในสาร
ละลาย Inspexx 100TM ที่ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 0.5 ppm
(a), 1.0 ppm (b), 5.0 ppm (c), และ 10.0 ppm (d) 68

- 7 เปรียบเทียบร้อยละการเกิดเซลล์บาดเจ็บของ *S. Virchow* DMST 14922
 ในสารละลาย Inspexx 100TM ที่ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์
 ออกซีแอซีติก 0.5 ppm (a), 1.0 ppm (b), 5.0 ppm (c), และ 10.0 ppm (d) 69
- 8 เปรียบเทียบร้อยละการเกิดเซลล์บาดเจ็บของ *S. Virchow* NE 541
 ในสารละลาย Inspexx 100TM ที่ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์
 ออกซีแอซีติก 0.5 ppm (a), 1.0 ppm (b), 5.0 ppm (c), และ 10.0 ppm (d) 70
- 9 เปรียบเทียบร้อยละการเกิดเซลล์บาดเจ็บของ *S. Typhimurium*
 ATCC 13311 ในสารละลาย Inspexx 200TM ที่ระดับความเข้มข้น
 ของกรดเปอร์ออกซีแอซีติก 0.5 ppm (a), 1.0 ppm (b), 5.0 ppm (c),
 และ 10.0 ppm (d) 73
- 10 เปรียบเทียบร้อยละการเกิดเซลล์บาดเจ็บของ *S. Typhimurium*
 DMST 14921 ในสารละลาย Inspexx 200TM ที่ระดับความเข้มข้น
 ของกรดเปอร์ออกซีแอซีติก 0.5 ppm (a), 1.0 ppm (b), 5.0 ppm (c),
 และ 10.0 ppm (d) 74
- 11 เปรียบเทียบร้อยละการเกิดเซลล์บาดเจ็บของ *S. Virchow* DMST
 14922 ในสารละลาย Inspexx 200TM ที่ระดับความเข้มข้นของกรด
 เปอร์ออกซีแอซีติก 0.5 ppm (a), 1.0 ppm (b), 5.0 ppm (c), และ 10.0 ppm (d) 75
- 12 เปรียบเทียบร้อยละการเกิดเซลล์บาดเจ็บของ *S. Virchow* NE 541
 ในสารละลาย Inspexx 200TM ที่ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออก
 ซีแอซีติก 0.5 ppm (a), 1.0 ppm (b), 5.0 ppm (c), และ 10.0 ppm (d) 76
- 13 การคืนสภาพของ *S. Typhimurium* ATCC 13311 (a), *S. Typhimurium*
 DMST 14921 (b), *S. Virchow* DMST 14922 (c), และ *S. Virchow* NE
 541 (d) ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซีติก (Inspexx 100TM)
 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 80

- 14 การคืนสภาพของ *S. Typhimurium* ATCC 13311 (a), *S. Typhimurium* DMST 14921 (b), *S. Virchow* DMST 14922 (c), และ *S. Virchow* NE 541 (d) ที่ขาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100™) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 82

- 15 การคืนสภาพของ *S. Typhimurium* ATCC 13311 (a), *S. Typhimurium* DMST 14921 (b), *S. Virchow* DMST 14922 (c), และ *S. Virchow* NE 541 (d) ที่ขาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100™) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 86

- 16 การคืนสภาพของ *S. Typhimurium* ATCC 13311 (a), *S. Typhimurium* DMST 14921 (b), *S. Virchow* DMST 14922 (c), และ *S. Virchow* NE 541 (d) ที่ขาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100™) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 89

- 17 การคืนสภาพของ *S. Typhimurium* ATCC 13311 (a), *S. Typhimurium* DMST 14921 (b), *S. Virchow* DMST 14922 (c), และ *S. Virchow* NE 541 (d) ที่ขาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100™) ในสารละลาย 0.1% Peptone Water ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 92

- 18 การคืนสภาพของ *S. Typhimurium* ATCC 13311 (a), *S. Typhimurium* DMST 14921 (b), *S. Virchow* DMST 14922 (c), และ *S. Virchow* NE 541 (d) ที่ขาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100™) ในสารละลาย 0.5% Casamino acid ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 94

- 19 การคืนสภาพของ *S. Typhimurium* ATCC 13311 (a), *S. Typhimurium* DMST 14921 (b), *S. Virchow* DMST 14922 (c), และ *S. Virchow* NE 541 (d) ที่ขาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100™) ในสารละลาย Butterfield's phosphate buffer ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 98

- 20 การคืนสภาพของ *S. Typhimurium* ATCC 13311 (a), *S. Typhimurium* DMST 14921 (b), *S. Virchow* DMST 14922 (c), และ *S. Virchow* NE 541 (d) ที่ขาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100™)

- ในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB (ชุดควบคุม) และในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ที่เติม
คอลแรมเฟนิคอล 10 ppm ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 108
- 21 การคืนสภาพของ *S. Typhimurium* ATCC 13311 (a), *S. Typhimurium*
DMST 14921 (b), *S. Virchow* DMST 14922 (c), และ *S. Virchow* NE 541
(d) ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิติก (Inspexx 100™)
ในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB (ชุดควบคุม) และในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ที่เติม
ไรแฟมพิซิน 1.0 ppm ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 111
- 22 การคืนสภาพของ *S. Typhimurium* ATCC 13311 (a), *S. Typhimurium*
DMST 14921 (b), *S. Virchow* DMST 14922 (c), และ *S. Virchow* NE 541
(d) ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิติก (Inspexx 100™) ในอาหาร
เลี้ยงเชื้อ LB (ชุดควบคุม) และในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ที่เติม เอ็น-
ไฮดรอกซียูเรีย 100 ppm ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 114
- 23 การคืนสภาพของ *S. Typhimurium* ATCC 13311 (a), *S. Typhimurium*
DMST 14921 (b), *S. Virchow* DMST 14922 (c), และ *S. Virchow*
NE 541 (d) ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิติก (Inspexx 100™)
ในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB (ชุดควบคุม) และในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ที่เติม
โซเดียมไฮยาไนด์ 2.0 ppm ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 118
- 24 การคืนสภาพของ *S. Typhimurium* ATCC 13311 (a), *S. Typhimurium*
DMST 14921 (b), *S. Virchow* DMST 14922 (c), และ *S. Virchow* NE 541
(d) ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิติก (Inspexx 100™) ในอาหาร
เลี้ยงเชื้อ LB (ชุดควบคุม) และในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ที่เติม ดี-โซโคเลอรีน
100 ppm ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส
120
- 25 ปริมาณ *S. Typhimurium* ATCC 13311 (◆), *S. Typhimurium* DMST
14921 (■), *S. Virchow* NE 541 (▲), และ *S. Virchow* DMST 14922
(●) ($\log_{10}$ CFUต่อกรัม) บนเนื้อไก่ที่ลดลงหลังจากสัมผัสกรดเปอร์
ออกซีแอซิติก ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิติกทางการค้า
(Inspexx 100™ (a) และ Inspexx 200™ (b)) ที่ระดับความเข้มข้น 0,
60, 80, และ 100 ppm เป็นเวลา 30 นาที 128

- 26 ปริมาณ *S. Typhimurium* ATCC 13311 (◆), *S. Typhimurium* DMST 14921 (■), *S. Virchow* NE 541 (▲), และ *S. Virchow* DMST 14922 (●) ($\log_{10}$ CFUต่อกรัม) บนเนื้อไก่ที่รอดชีวิตหลังจากสัมผัสกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 100TM) ที่ระดับความเข้มข้น 60 (a), 80 (b), และ 100 ppm (c) เป็นเวลา 0, 15, และ 30 นาที 132
- 27 ปริมาณ *S. Typhimurium* ATCC 13311 (◆), *S. Typhimurium* DMST 14921 (■), *S. Virchow* NE 541 (▲), และ *S. Virchow* DMST 14922 (●) ($\log_{10}$ CFUต่อกรัม) บนเนื้อไก่ที่รอดชีวิตหลังจากสัมผัสกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 200TM) ที่ระดับความเข้มข้น 60 (a), 80 (b), และ 100 ppm (c) เป็นเวลา 0, 15, และ 30 นาที 133
- 28 ปริมาณ *S. Typhimurium* ATCC 13311 (◆), *S. Typhimurium* DMST 14921 (■), *S. Virchow* NE 541 (▲), และ *S. Virchow* DMST 14922 (●) ($\log_{10}$ CFUต่อกรัม) บนเนื้อไก่ที่ลดลงหลังจากสัมผัสกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 100TM (a) และ Inspexx 200TM (b)) ที่ระดับความเข้มข้น 60, 80, และ 100 ppm เป็นเวลา 180 วินาที อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส 141
- 29 ปริมาณกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกของสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 100TM (a), Inspexx 200TM (b)) ที่เหลืออยู่ในน้ำล้างไก่ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) 147
- 30 ปริมาณกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 100TM (a) และ Inspexx 200TM (b)) ที่เหลืออยู่ในน้ำภายหลังการลวกเนื้อไก่ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 0 (□), 90 (■), และ 180 (■) วินาที 148
- 31 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (■) และ *Salmonella* sp. (□) ในเนื้อไก่ที่ลดลงหลังจากล้างด้วยกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก และ/หรือ แช่เย็นด้วยกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 100TM (a) และ Inspexx 200TM (b)) 163

- 32 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella* sp. บนเนื้อไก่แช่เยือกแข็ง
เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง; (a)
ล้างและแช่เย็นด้วย Inspexx 100TM, (b) ล้างและแช่เย็นด้วย Inspexx 200TM 166
- 33 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella* sp. บนเนื้อไก่แช่เยือกแข็ง
เก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็น (5±2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 10 วัน; (a)
ล้างและแช่เย็นด้วย Inspexx 100TM, (b) ล้างและแช่เย็นด้วย Inspexx 200TM 170
- 34 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella* sp. บนเนื้อไก่แช่เยือกแข็ง
เก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้แช่แข็ง (±2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 35 วัน;
(a) ล้างและแช่เย็นด้วย Inspexx 100TM, (b) ล้างและแช่เย็นด้วย Inspexx 200TM 170
- 35 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella* sp. บนเนื้อไก่แช่เยือกแข็ง
เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 35 วัน; (a) ล้างและ
แช่เย็นด้วย Inspexx 100TM, (b) ล้างและแช่เย็นด้วย Inspexx 200TM 180
- 36 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella* sp. บนเนื้อไก่แช่เยือกแข็ง
เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 35 วัน; (a) ล้างและ
แช่เย็นด้วย Inspexx 100TM, (b) ล้างและแช่เย็นด้วย Inspexx 200TM 185

Executive Summary

การศึกษาประสิทธิภาพของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกที่เวลาต่างๆ กันคือ 0, 15, 60, 180, 300 วินาที พบว่าการใช้ Inspexx 100TM ที่ความเข้มข้น 10.0 ppm สามารถทำลายเชื้อทั้ง 4 สายพันธุ์ ได้หมดภายในเวลา 15 ที่ระดับความเข้มข้น 5.0 ppm สามารถทำลาย *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE541, และ *S. Virchow* DMST 14922 ได้หมดภายในระยะเวลา 60 วินาที สำหรับ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ต้องใช้เวลา 180 วินาที เมื่อระยะเวลาในการฆ่าเชื้อเท่ากัน พบว่า เมื่อระดับความเข้มข้นของ Inspexx 100TM เพิ่มขึ้นร้อยละการอยู่รอดจะลดลง สำหรับการใช้น้ำ Inspexx 200TM พบว่าก็ให้ผลทำนองเดียวกัน ผลของระยะเวลาในการสัมผัสเชื้อของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้าจะแปรตามความเข้มข้นและระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น กล่าวคือประสิทธิภาพของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า 2 ชนิดคือ Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM ตามปัจจัยที่สำคัญความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกเวลาในการสัมผัสสารฆ่าเชื้อ และอุณหภูมิ โดยเมื่อปัจจัยเหล่านี้มีค่าเพิ่มขึ้น ประสิทธิภาพของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกเพิ่มขึ้น ผลของความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM) และระยะเวลาการสัมผัส ต่อการเกิดเซลล์บาดเจ็บ พบว่าปริมาณเซลล์บาดเจ็บนี้จะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในเพิ่มขึ้น กระบวนการคืนสภาพเซลล์บาดเจ็บของ *Salmonella* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ เนื่องจาก POAA ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 ppm ระยะเวลาการสัมผัสสารฆ่าเชื้อ 180 วินาที ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB พบว่าเซลล์บาดเจ็บมีกระบวนการคืนสภาพได้ โดยใช้เวลา 4 ชั่วโมง

ระยะเวลาในการเกิดกระบวนการซ่อมแซมเซลล์และการคืนสภาพของเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541, และ *S. Virchow* DMST 14922 ที่บาดเจ็บโดยสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 100TM) ที่ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 1.0 ppm นาน 180 วินาที พบว่าเซลล์บาดเจ็บของ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ไวต่อสารต้านจุลชีพ มีกระบวนการคืนสภาพช้ากว่า *S. Typhimurium* DMST 14921 ซึ่งเป็นเซลล์ที่ดื้อต่อสารต้านจุลชีพ ในขณะที่เซลล์บาดเจ็บของ *S. Virchow* NE 541 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ดื้อต่อสารต้านจุลชีพ มีกระบวนการคืนสภาพที่เร็วกว่าเซลล์ *S. Virchow* DMST 14922 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ไม่มีสมบัติดื้อต่อสารต้านจุลชีพ ทั้งนี้เมื่อเลี้ยงเซลล์บาดเจ็บเหล่านี้ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเดียวกัน

ในระหว่างกระบวนการคืนสภาพของเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541, และ *S. Virchow* DMST 14922 เป็นเวลา 24

ชั่วโมง เซลล์ขาดเจ็บจะต้องใช้เวลาในการซ่อมแซมเซลล์ โดยมีระยะ lag phase เพิ่มขึ้นตั้งแต่ 4 ชั่วโมงหรือมากกว่า เมื่อทำให้เกิดกระบวนการคืนสภาพในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB และเพิ่มขึ้นตั้งแต่ 6 ชั่วโมงหรือมากกว่า เมื่อเกิดการคืนสภาพในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB, NB, BHI และในสารละลาย 0.1% Peptone water และ 0.5% Casamino acid สำหรับในสารละลาย Butterfield's phosphate buffer ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0 เซลล์ขาดเจ็บไม่มีกระบวนการคืนสภาพ

เมื่อเลี้ยงเซลล์ขาดเจ็บในอาหาร LB ที่เติมสารละลายคลอแรมเฟนิคอล 10 ppm ไม่พบกระบวนการคืนสภาพใน 10 ชั่วโมง แสดงว่า คลอแรมเฟนิคอล 10 ppm สามารถยับยั้งกระบวนการคืนสภาพของเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541, และ *S. Virchow* DMST 14922 ที่ขาดเจ็บได้ ทำให้ทราบว่ากรดเปอร้ออกซีแอซิดอาจทำลายโปรตีนภายในเซลล์ถูกทำลายและเสียหาย เซลล์ขาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร้ออกซีแอซิดจึงต้องการกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนในการซ่อมแซมเซลล์เพื่อคืนสภาพสู่เซลล์ปกติ

เมื่อเติมสารละลายไรแฟมพิซิน 1 ppm ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB และเลี้ยงเซลล์ขาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร้ออกซีแอซิดในอาหารเลี้ยงเชื้อนี้ ไรแฟมพิซินไม่สามารถยับยั้งกระบวนการคืนสภาพของเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541, และ *S. Virchow* DMST 14922 ที่ขาดเจ็บได้ แสดงว่ากรดเปอร้ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100™) ไม่มีผลต่อ RNA และกระบวนการสังเคราะห์ RNA ของเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541, และ *S. Virchow* DMST 14922 ที่ขาดเจ็บ

ในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ที่เติม เอ็น-ไฮดรอกซียูเรีย 100 ppm และใช้เลี้ยงเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541, และ *S. Virchow* DMST 14922 ที่ขาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร้ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100™) เอ็น-ไฮดรอกซียูเรีย ไม่สามารถหยุดกระบวนการคืนสภาพของเซลล์ขาดเจ็บได้ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า กรดเปอร้ออกซีแอซิดิกไม่มีผลกระทบต่อการทำลาย DNA และกระบวนการสังเคราะห์ DNA ภายในเซลล์

เซลล์ขาดเจ็บ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541, และ *S. Virchow* DMST 14922 เนื่องจากกรดเปอร้ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100™) และเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ที่เติมสารละลายโซเดียมไซยาไนด์เข้มข้น 2 ppm ลงไป พบว่า กระบวนการคืนสภาพยังคงดำเนินต่อไป โซเดียมไซยาไนด์ ไม่สามารถยับยั้งกระบวนการคืนสภาพได้ แสดงให้เห็นว่า กรดเปอร้ออกซีแอซิดิกไม่มีผลต่อกระบวนการสังเคราะห์ ATP ของเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541, และ *S. Virchow* DMST 14922 ที่ขาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร้ออกซีแอซิดิก

สารละลาย ดี-ไซโคลเซอรีน เข้มข้น 100 ppm ที่เติมลงไปในการ คื่นสภาพของเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541, และ *S. Virchow* DMST 14922 ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100™) มีผลยับยั้งกระบวนการคื่นสภาพ การตรวจสอบการรั่วของเยื่อหุ้มไซโตพลาสมของเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541, และ *S. Virchow* DMST 14922 ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 100™) โดยการวิเคราะห์สารภายในเซลล์ที่อาจจะรั่วออกมาได้แต่ โปรตีน และ กรดนิวคลีอิก ด้วยวิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตร ของของเหลวที่แยกได้จากเซลล์บาดเจ็บ ที่เวลา 0, 15, 60, 180, และ 300 วินาที พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของของเหลวที่แยกได้มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \geq 0.05$) ทั้งที่ ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร และ ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร สำหรับ Inspexx 200™ ให้ผลใน ทำนองเดียวกัน จึงกล่าวได้ว่า กรดเปอร์ออกซีแอซิดิกที่ระดับความเข้มข้น 1.0 ppm ซึ่งก่อให้เกิด เซลล์บาดเจ็บมากกว่าร้อยละ 90 ที่เวลา 180 วินาที และทำลายเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541, และ *S. Virchow* DMST 14922 เริ่มต้น ประมาณ $6.00 \log_{10}$ CFU ต่อ มิลลิลิตร ได้หมดภายใน 300 วินาที ไม่มีผลต่อการทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ ของ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541, และ *S. Virchow* DMST 14922

จากการศึกษาการใช้ Inspexx 100™ และ Inspexx 200™ ลดจำนวน *S. Typhimurium* ATCC 13311, และ *S. Virchow* DMST 14922, ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ไม่คือต่อสารต้านจุลชีพ และ *S. Typhimurium* DMST 14921, และ *S. Virchow* NE 541 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่คือต่อสารต้านจุลชีพ เลียนแบบการผลิตในกระบวนการผลิตไก่สดแช่เยือกแข็ง สรุปได้ดังนี้

เมื่อเลียนแบบการล้างไก่ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) ประสิทธิภาพของกรดเปอร์ ออกซีแอซิดิก จากสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทั้ง 2 ชนิด แปรตามความเข้มข้น และระยะเวลา ในการสัมผัสสารฆ่าเชื้อ พบว่า เมื่อล้างไก่ที่มีการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ ที่ ระดับความเข้มข้น 100 ppm เป็นระยะเวลา 30 นาที สามารถลดจำนวนเชื้อได้มากที่สุดคือ $0.42 - 1.14 \log_{10}$ CFU ต่อกรัม เมื่อใช้ Inspexx 100™ และ $0.39 - 1.72 \log_{10}$ CFU ต่อกรัม เมื่อใช้ Inspexx 200™

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ *Salmonella* sp. บนเนื้อไก่ ปริมาณกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารละลายสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM) และค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำล้าง ที่เปลี่ยนแปลงไปตลอดระยะเวลาการล้างเนื้อไก่ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) แช่เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส และลวกที่ 55 องศาเซลเซียส พบว่า เมื่อระยะเวลาการล้าง แช่เย็น หรือลวก เนื้อไก่เพิ่มขึ้น ปริมาณ *Salmonella* sp. บนเนื้อไก่ และปริมาณกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในน้ำล้างลดลง ในขณะที่ค่าความเป็นกรด-ด่างจะเพิ่มขึ้น โดยอัตราการลดลงของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก จะแปรตามอุณหภูมิของน้ำล้าง เป็นไปในทำนองเดียวกันทั้งการใช้ Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM

เมื่อเปรียบเทียบการเติมสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM) ซึ่งกำหนดระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 100 ppm ในขั้นตอนการล้างที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) และแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เห็นได้ว่า การเติมสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทั้งขั้นตอนการล้าง และแช่เย็น สามารถลดจำนวน จุลินทรีย์ทั้งหมด ซึ่งปนเปื้อนตามธรรมชาติและ *Salmonella* sp. ซึ่งเป็นเชื้อผสมระหว่าง *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541, และ *S. Virchow* DMST 14922 และสร้างการปนเปื้อนบนเนื้อไก่เลียนธรรมชาติได้มากกว่าการใช้กรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในขั้นตอนใดขั้นตอนหนึ่งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยเมื่อใช้ Inspexx 100TM จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดลดลง $1.63 \log_{10}$ CFUต่อกรัม ในขณะที่ *Salmonella* sp. ลดลง $1.28 \log_{10}$ CFUต่อกรัม เมื่อใช้ Inspexx 200TM พบว่า จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดลดลง $1.86 \log_{10}$ CFUต่อกรัม และ *Salmonella* sp. ลดลง $1.83 \log_{10}$ CFUต่อกรัม

การศึกษาผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาไก่สดแช่เยือกแข็งที่ผ่านการล้างและแช่เย็นด้วยสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM) ที่ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 100 ppm ผ่านขั้นตอนการล้างและแช่เย็นขั้นตอนละ 30 นาที สรุปได้ว่า

เมื่อเก็บรักษาเนื้อไก่แช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) มีการเจริญเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ทั้งหมดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 8 ทั้งเนื้อไก่ที่ล้างด้วย Inspexx 100TM หรือ Inspexx 200TM สำหรับ *Salmonella* sp. จะเจริญเพิ่มจำนวนได้ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 เมื่อล้างด้วย Inspexx 100TM และที่

ชั่วโมงที่ 32 เมื่อล้างด้วย Inspexx 200™ การเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องไม่สามารถเก็บได้นานเกิน 48 ชั่วโมง เนื่องจากเนื้อไก่แช่เยือกแข็งเริ่มมีกลิ่น มีสีเขียวคล้ำ และมีเมือกขึ้น

การเก็บรักษาเนื้อไก่แช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิตู้เย็น (5 ± 2 องศาเซลเซียส) พบว่า ไม่สามารถเก็บเนื้อไก่แช่เยือกแข็งได้นานเกิน 10 วัน โดยเนื้อไก่แช่เยือกแข็งเริ่มเน่าตั้งแต่วันที่ 7 ของการเก็บรักษา ในวันที่ 8, 9, และ 10 เนื้อไก่เริ่มมีกลิ่นเหม็น และมีสีเขียวคล้ำขึ้น แม้ว่าแนวโน้มของ *Salmonella* sp. จะมีการเปลี่ยนแปลงลดลงตลอดอายุการเก็บรักษา แต่จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดจะเพิ่มขึ้น ตั้งแต่วันที่ 6 ของการเก็บรักษา ก่อนการสังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ 1 วัน ทั้งนี้ แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด เป็นไปในแนวทางเดียวกันทั้งการใช้ Inspexx 100™ และ Inspexx 200™ สำหรับจำนวน *Salmonella* sp. ให้ผลในทางเดียวกัน แต่เป็นการเปลี่ยนแปลงลดลง

การเก็บรักษาเนื้อไก่แช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส คือที่อุณหภูมิตู้แช่แข็ง (-2 ± 2 องศาเซลเซียส), -18, และ -30 องศาเซลเซียส พบว่าให้ผลในทำนองเดียวกันคือ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella* sp. มีแนวโน้มลดลงในระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 35 วัน แสดงให้เห็นว่า อุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส สามารถยับยั้งการเจริญของ *Salmonella* sp. และจุลินทรีย์กลุ่มอื่นๆ ได้ การเก็บรักษาเนื้อไก่สดแช่เยือกแข็งที่ผ่านการล้างและแช่เย็นด้วยสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิติก สามารถเก็บได้นานมากกว่า 35 วัน โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงของเนื้อไก่ทางด้านกายภาพ และแนวโน้มของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella* sp. จะลดลง

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของกรดเปอร้ออกซีแอซิดต่อการบาดเจ็บของ *Salmonella* ซีโรวาร์หรือสายพันธุ์ที่เลือกมาศึกษาซึ่งคือต่อสารต้านจุลชีพหลายชนิดซึ่งแยกได้จากเนื้อไก่หรือผลิตภัณฑ์
2. เพื่อศึกษากลไกในการทำลายและการคืนสภาพของเซลล์บาดเจ็บของ *Salmonella* ซีโรวาร์หรือสายพันธุ์ที่เลือกเนื่องจากกรดเปอร้ออกซีแอซิด
3. เพื่อใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาปรับปรุงสารที่ใช้ฆ่าเชื้อในขั้นตอนการล้างเนื้อไก่ตลอดจนอาหารสดประเภทอื่น ๆ

การดำเนินงานวิจัยตามวัตถุประสงค์ในรอบ 2 ปี

1. ทำการเลือกชนิด *Salmonella* ซีโรวาร์หรือสายพันธุ์ที่น่าสนใจซึ่งคือต่อสารต้านจุลชีพหลายชนิดและเป็น *Salmonella* ซีโรวาร์หรือสายพันธุ์ที่แยกได้จากเนื้อไก่หรือผลิตภัณฑ์ในประเทศไทย จากนั้นทำการทดลองศึกษาระดับความเข้มข้นของสารละลายกรดเปอร้ออกซีแอซิด (ระดับความเข้มข้น) ที่เวลาต่าง ๆ ที่มีผลต่อการเกิดเซลล์บาดเจ็บของ *Salmonella* ซีโรวาร์หรือสายพันธุ์ดังกล่าว โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Agar และ Eosin Methylene Blue Agar ที่มีเกลือ NaCl ร้อยละ 2 (EMBS) เพื่อคำนวณหาร้อยละปริมาณเซลล์ที่บาดเจ็บ
2. ทำการทดลองศึกษาถึงผลของสารละลายกรดเปอร้ออกซีแอซิด (4 ระดับอุณหภูมิ) ที่เวลาต่าง ๆ ที่มีผลต่อการเกิดเซลล์บาดเจ็บของ *Salmonella* ซีโรวาร์หรือสายพันธุ์ที่เลือก โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Agar และ EMBS เพื่อคำนวณหาร้อยละปริมาณเซลล์ที่บาดเจ็บ
3. ใช้ระดับความเข้มข้นของสารละลายกรดเปอร้ออกซีแอซิด เวลา และอุณหภูมิ (จากการทดลองข้อ 1 และ ข้อ 2) ที่ทำให้ *Salmonella* ซีโรวาร์หรือสายพันธุ์ที่เลือก มีร้อยละการบาดเจ็บมากกว่า 80 % มาทำการทดลองเพื่อศึกษาระยะเวลาในการซ่อมแซมหรือคืนสภาพของเซลล์บาดเจ็บในอาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Agar หรืออาหารเลี้ยงเชื้ออื่น ๆ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เวลา 0 – 24 ชั่วโมง แล้วทำการวิเคราะห์หาร้อยละการคืนสภาพ (% recovery)
4. ทำการศึกษากลไกการทำลายเซลล์ของ *Salmonella* ซีโรวาร์หรือสายพันธุ์ที่เลือก เนื่องจากกรดเปอร้ออกซีแอซิด โดยใช้สารยับยั้งต่าง ๆ เพื่อตรวจสอบตำแหน่งเสียหายของเซลล์ในอาหาร Trypticase Soy Broth หรือ อาหารเลี้ยงเชื้ออื่น ๆ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างในช่วงเวลา 0 – 10 ชั่วโมง แล้วทำการตรวจวิเคราะห์จำนวนของเซลล์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ

Trypticase Soy Broth และ EMBS นอกจากนี้ทำการศึกษารั่วของสารพันธุกรรม หรือ โปรตีนของเซลล์บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก

5. ทำการศึกษาผลของการใช้สารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในขั้นตอนการล้างทำความสะอาด ที่มีต่อปริมาณของ *Salmonella* ซีโรวาร์หรือสายพันธุ์ที่เลือก ซึ่งได้ทำการถ่ายเชื้อให้ปนเปื้อน ในเนื้อไก่ปลอดเชื้อ แล้วทำการบรรจุเนื้อไก่ดังกล่าวโดยระบบสุญญากาศในถุงพลาสติก ต่อจากนั้นทำการแช่เยือกแข็งโดยระบบแผ่นสัมผัส เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ (4ระดับอุณหภูมิ) เป็นเวลา 30 วัน โดยมีการสุ่มตัวอย่างเนื้อไก่มาตรวจวิเคราะห์จำนวน *Salmonella* เป็นช่วงเวลาระหว่างการเก็บรักษา

วิธีการทดลอง

1. การศึกษาประสิทธิภาพของกรดเปอร์ออกซีแอซิดในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดทางการค้า ต่อการลดปริมาณและการเกิดเซลล์บาดเจ็บของ *Salmonella Typhimurium* ATCC 13311, *Salmonella Typhimurium* DMST 14921, *Salmonella Virchow* DMST 14922, และ *Salmonella Virchow* NE 541

1.1. การเตรียมสารละลายเข้มข้นของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

1.1.1 สารละลายเข้มข้นของ *S. Typhimurium* ATCC 13311

กระตุ้น *S. Typhimurium* ATCC 13311 โดยถ่ายเชื้อจากวุ้นอาหารหลอดเอียง TSA 1 หลูป ลงในหลอดทดลองขนาด 16×250 ที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำซ้ำ 2 ครั้ง จากนั้น ปิเปิดเชื้อจากอาหารเลี้ยงเชื้อจากอาหาร TSB 1 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ซึ่งบรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB 100 มิลลิลิตร บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ทำให้เซลล์เข้มข้นโดยการหมุนเหวี่ยงในเครื่องหมุนเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิที่ 4000×g อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที แล้วล้างด้วย Butterfield's phosphate buffer 1 ครั้ง หมุนเหวี่ยงที่ความเร็วและอุณหภูมิเดิม แล้วจึงล้างใหม่ด้วย Butterfield's phosphate buffer 10 มิลลิลิตร จะได้สารละลายเชื้อเข้มข้น 9.00 log₁₀ CFUต่อมิลลิลิตร (Dickson, 1991; Glass and Doyle, 1991; Thayer *et al.*, 1991)

1.1.2 สารละลายเข้มข้นของ *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 เตรียมเช่นเดียวกับข้อ 1.1.1

1.2. เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิด ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดทางการค้า ในการทำลายและการเกิดเซลล์บาดเจ็บของ *Salmonella* sp.

1.2.1 *S. Typhimurium* ATCC 13311

1.2.1.1 ผลของความเข้มข้นของสารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิดที่เวลาต่างๆ กัน

เตรียมสารละลาย Butterfield's phosphate buffer ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0 ปริมาตร 90 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีแท่งกวนแบบแม่เหล็ก นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที ในการทดลอง วางขวดรูปชมพู่บนเครื่องกวนแบบแม่เหล็ก ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) เตรียมสารละลายกรดเปอร์ออกซิแอซิดิกเติมลงในสารละลาย Butterfield's phosphate buffer ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0 ให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 0, 0.5, 1.0, 5.0, และ 10.0 ppm แล้ว ปิเปิดสารละลาย *S. Typhimurium* ATCC 13311 ในข้อ 1.1.1 เพื่อหาให้มีความเข้มข้นของเซลล์ $6.00 \log_{10}$ CFUต่อ มิลลิลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ในสารละลายผสมที่มีความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซิแอซิดิกต่างกัน สุ่มตัวอย่างสารละลายตามระยะเวลาต่างๆ คือ 0, 15, 60, 180, และ 300 วินาที ที่เวลา 0 คือ ปริมาณเชื้อเริ่มต้น นำตัวอย่างสารละลายไปตรวจวิเคราะห์ปริมาณ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ที่รอดชีวิตและบาดเจ็บ โดยเจือจางสารละลายตัวอย่างให้มีระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม 3 ระดับ ปิเปิดตัวอย่างสารละลายลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA และ EMBS จานเพาะเชื้อละ 0.1 มิลลิลิตร เกลี่ยให้ทั่วโดยใช้แท่งแก้วอ ทำระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ บ่มเพาะเชื้อที่ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง ตรวจนับโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA และ EMBS คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของ *S. Typhimurium* ATCC 13311

$$\text{ปริมาณเซลล์ที่บาดเจ็บ (\%)} = \left[1 - \frac{\text{จำนวนโคโลนีที่นับได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ EMBS}}{\text{จำนวนโคโลนีที่นับได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA}} \right] \times 100$$

1.2.1.2 ผลของอุณหภูมิของสารละลายกรดเปอร์ออกซิแอซิดิก ในสารผสมกรดเปอร์ออกซิแอซิดิกทางการค้า ที่ความเข้มข้น และเวลาต่างๆ กัน

ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1.2.1.1 โดยที่อุณหภูมิของน้ำเท่ากับ อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) แต่ละความเข้มข้นจะทำการสุ่มตัวอย่างสารละลายตามระยะเวลาต่างๆ คือ 0, 15, 60, 180, และ 300 วินาที ที่เวลา 0 คือปริมาณเชื้อเริ่มต้น นำตัวอย่างสารละลายไปตรวจวิเคราะห์ปริมาณ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ที่รอดชีวิต และบาดเจ็บโดยเจือจางสารละลายตัวอย่างให้มีระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม 3 ระดับ ปิเปิดตัวอย่างสารละลายลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA และ EMBS จานเพาะเชื้อละ 0.1 มิลลิลิตร เกลี่ยให้ทั่วโดยใช้แท่งแก้วอ ทำระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ บ่มเพาะเชื้อที่ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง ตรวจนับโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA และ EMBS แล้วคำนวณหาร้อยละการรอดชีวิตและบาดเจ็บของ *S. Typhimurium* ATCC

13311 แล้วเปรียบเทียบกับเมื่อใช้อุณหภูมิของน้ำ 4, 37, 55 องศาเซลเซียส ซึ่งทำการทดลองเช่นเดียวกัน

1.2.2 *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 ทำการทดลองเหมือนข้อ 1.2.1 โดยเปลี่ยนมาใช้เชื้อที่เตรียมได้จากข้อ 1.1.2

2. ศึกษาระยะเวลาในการซ่อมแซมเซลล์บาดเจ็บของ *Salmonella Typhimurium* ATCC 13311, *Salmonella Typhimurium* DMST 14921, *Salmonella Virchow* DMST 14922, และ *Salmonella Virchow* NE 541 เนื่องจากผลของสารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก

2.1 *S. Typhimurium* ATCC 13311

เตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 โมลาร์ ความเป็นกรด-ด่าง 7.0 ปริมาตร 90 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที นำขวดรูปชมพู่ไปปรับให้สารละลายมีอุณหภูมิเท่ากับ 37 องศาเซลเซียส ในเครื่องอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิแบบแช่เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเติมสารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกลงไป กำหนดให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 1.0 ppm ปิดเตาสารละลาย *S. Typhimurium* ATCC 13311 ที่มีความเข้มข้นของเซลล์ประมาณ $6.00 \log_{10}$ CFUต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในสารละลายผสม เก็บตัวอย่างเซลล์เมื่อเวลาผ่านไป 180 วินาที ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ปริมาตร 90 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เขย่าด้วยความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างทุก 2 ชั่วโมงในช่วงเวลา 0 ถึง 24 ชั่วโมง ตรวจสอบปริมาณเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 โดยเจือจางสารละลายที่ได้ให้มีระดับความเจือจางที่เหมาะสม 3 ระดับ จากนั้นเปิดตัวอย่างลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA และ EMBS จานเพาะเชื้อละ 0.1 มิลลิลิตร เกลี่ยให้ทั่วโดยแท่งแก้วอ ทำระดับความเจือจางละ 3 จ้า นำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวนโคโลนีและคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การคืนสภาพ (% recovery) จากสูตรดังนี้

$$\% \text{ recovery} = \frac{(S_t - S_0)}{(T_0 - S_0)} \times 100$$

S_0 = จำนวนโคโลนีของ *S. Typhimurium* ATCC 13311บนอาหารเลี้ยงเชื้อ EMBS ที่ 0 ชั่วโมง

S_1 = จำนวนโคโลนีของ *S. Typhimurium* ATCC 13311บนอาหารเลี้ยงเชื้อ EMBS ที่ชั่วโมงใดๆ

T_0 = จำนวนโคโลนีของ *S. Typhimurium* ATCC 13311บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ที่ 0 ชั่วโมง

2.2 *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541

ทำการทดลองเหมือนข้อ 2.1 แต่เปลี่ยนมาใช้เชื้อที่เตรียมได้ในข้อ 1.1.2

3. การศึกษาประสิทธิภาพของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้าต่อการลดปริมาณและการเกิดเซลล์บาดเจ็บของ *Salmonella Typhimurium* ATCC 13311, *Salmonella Typhimurium* DMST 14921, *Salmonella Virchow* DMST 14922, และ *Salmonella Virchow* NE 541

3.1. การเตรียมสารละลายเข้มข้นของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

3.1.1 สารละลายเข้มข้นของ *S. Typhimurium* ATCC 13311

กระตุ้น *S. Typhimurium* ATCC 13311 โดยถ่ายเชื้อจากวุ้นอาหารหลอดแข็ง TSA 1 หลูป ลงในหลอดทดลองขนาด 16×250 ที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำซ้ำ 2 ครั้ง จากนั้น ปิเปิดเชื้อจากอาหารเลี้ยงเชื้อจากอาหาร TSB 1 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ซึ่งบรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB 100 มิลลิลิตร บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ทำให้เซลล์เข้มข้นโดยการหมุนเหวี่ยงในเครื่องหมุนเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิที่ 4000×g อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที แล้วล้างด้วย Butterfield's phosphate buffer 1 ครั้ง หมุนเหวี่ยงที่ความเร็วและอุณหภูมิเดิม แล้วจึงล้างใหม่ด้วย Butterfield's phosphate buffer 10 มิลลิลิตร จะได้สารละลายเชื้อเข้มข้น $9.00 \log_{10}$ CFUต่อมิลลิลิตร (Dickson, 1991; Glass and Doyle, 1991; Thayer *et al.*, 1991)

3.1.2 สารละลายเข้มข้นของ *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 เติร์ยมเช่นเดียวกับข้อ 3.1.1

3.2. เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า ในการทำลายและการเกิดเซลล์บาดเจ็บของ *Salmonella* sp.

3.2.1 *S. Typhimurium* ATCC 13311

3.2.1.1 ผลของความเข้มข้นของสารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกที่เวลาต่างๆ กัน

เตรียมสารละลาย Butterfield's phosphate buffer ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0 ปริมาตร 90 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพูนขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีแท่งกวนแบบแม่เหล็ก นำไปนั่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที ในการทดลอง วางขวดรูปชมพูนเครื่องกวนแบบแม่เหล็ก ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) เติมสารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกเติมลงในสารละลาย Butterfield's phosphate buffer ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0 ให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 0, 0.5, 1.0, 5.0, และ 10.0 ppm แล้ว ปิเปิดสารละลาย *S. Typhimurium* ATCC 13311 ในข้อ 3.1.1 เติร์ยมให้มีความเข้มข้นของเซลล์ $6.00 \log_{10}$ CFUต่อ มิลลิลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ในสารละลายผสมที่มีความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกต่างกัน สุ่มตัวอย่างสารละลายตามระยะเวลาต่างๆ คือ 0, 15, 60, 180, และ 300 วินาที ที่เวลา 0 คือ ปริมาณเชื้อเริ่มต้น นำตัวอย่างสารละลายไปตรวจวิเคราะห์ปริมาณ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ที่รอดชีวิตและบาดเจ็บ โดยเจือจางสารละลายตัวอย่างให้มีระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม 3 ระดับ ปิเปิดตัวอย่างสารละลายลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA และ EMBS จานเพาะเชื้อละ 0.1 มิลลิลิตร เกลี่ยให้ทั่วโดยใช้แท่งแก้วอ ทำระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ บ่มเพาะเชื้อที่ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง ตรวจนับโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA และ EMBS คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของ *S. Typhimurium* ATCC 13311

$$\text{ปริมาณเซลล์ที่บาดเจ็บ (\%)} = 1 - \left[\frac{\text{จำนวนโคโลนีที่นับได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ EMBS}}{\text{จำนวนโคโลนีที่นับได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA}} \times 100 \right]$$

3.2.1.2 ผลของอุณหภูมิของสารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า ที่ความเข้มข้น และเวลาต่างๆ กัน

ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.2.1.1 โดยที่อุณหภูมิของน้ำเท่ากับอุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) แต่ละความเข้มข้นจะทำการสุ่มตัวอย่างสารละลายตามระยะเวลาต่างๆ คือ 0, 15, 60, 180, และ 300 วินาที ที่เวลา 0 คือปริมาณเชื้อเริ่มต้น นำตัวอย่างสารละลายไปตรวจวิเคราะห์ปริมาณ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ที่รอดชีวิต และบาดเจ็บโดยเจือจางสารละลายตัวอย่างให้มีระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม 3 ระดับ ปิเปตตัวอย่างสารละลายลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA และ EMBS จานเพาะเชื้อละ 0.1 มิลลิลิตร เกลี่ยให้ทั่วโดยใช้แท่งแก้วอ ทำระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ บ่มเพาะเชื้อที่ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง ตรวจนับโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA และ EMBS แล้วคำนวณหาร้อยละการรอดชีวิตและบาดเจ็บของ *S. Typhimurium* ATCC 13311 แล้วเปรียบเทียบกับเมื่อใช้อุณหภูมิของน้ำ 4, 37, 55 องศาเซลเซียส ซึ่งทำการทดลองเช่นเดียวกัน

3.2.2 *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541

ทำการทดลองเหมือนข้อ 3.2.1 โดยเปลี่ยนมาใช้เชื้อที่เตรียมได้จากข้อ 3.1.2

4. ศึกษาระยะเวลาในการซ่อมแซมเซลล์บาดเจ็บของ *Salmonella Typhimurium* ATCC 13311, *Salmonella Typhimurium* DMST 14921, *Salmonella Virchow* DMST 14922, และ *Salmonella Virchow* NE 541 เนื่องจากผลของสารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก

4.1 *S. Typhimurium* ATCC 13311

เตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 โมลาร์ ความเป็นกรด-ด่าง 7.0 ปริมาตร 90 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที นำขวดรูปชมพู่ไปปรับให้สารละลายมีอุณหภูมิเท่ากับ 37 องศาเซลเซียส ในเครื่องอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่าเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเติมสารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกลงไป กำหนดให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 1.0 ppm ปิเปตสารละลาย *S.*

Typhimurium ATCC 13311 ที่มีความเข้มข้นของเซลล์ประมาณ $6.00 \log_{10}$ CFU ต่อ มิลลิลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในสารละลายผสม เก็บตัวอย่างเซลล์เมื่อเวลาผ่านไป 180 วินาที ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ปริมาตร 90 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เขย่าที่ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างทุก 2 ชั่วโมงในช่วงเวลา 0 ถึง 24 ชั่วโมง ตรวจสอบปริมาณเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 โดยเจือจางสารละลายที่ได้ให้มีระดับความเจือจางที่เหมาะสม 3 ระดับ จากนั้นเปิดตัวอย่างลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA และ EMBS จานเพาะเชื้อละ 0.1 มิลลิลิตร เกลี่ยให้ทั่วโดยแท่งแก้วจ่อ ทำระดับความเจือจางละ 3 ซ้ำ นำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง ตรวจสอบจำนวนโคโลนีและคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การคืนสภาพ (% recovery) จากสูตรดังนี้

$$\% \text{ recovery} = \frac{(S_1 - S_0)}{(T_0 - S_0)} \times 100$$

S_0 = จำนวนโคโลนีของ *S. Typhimurium* ATCC 13311 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ EMBS ที่ 0 ชั่วโมง

S_1 = จำนวนโคโลนีของ *S. Typhimurium* ATCC 13311 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ EMBS ที่ ชั่วโมงใดๆ

T_0 = จำนวนโคโลนีของ *S. Typhimurium* ATCC 13311 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ที่ 0 ชั่วโมง

4.2 *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541

ทำการทดลองเหมือนข้อ 4.1 แต่เปลี่ยนมาใช้เชื้อที่เตรียมได้ในข้อ 1.1.2

5. เปรียบเทียบผลของอาหารเลี้ยงเชื้อต่อระยะเวลาการคืนสภาพเซลล์บาดเจ็บของ *Salmonella Typhimurium* ATCC 13311, *Salmonella Typhimurium* DMST 14921, *Salmonella Virchow* DMST 14922, และ *Salmonella Virchow* NE 541 เนื่องจากสารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก

ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 4 โดยเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเชื้อจากอาหารเหลว TSB เป็น สารละลาย 0.5% Cassamino acids, สารละลาย 0.1% Peptone water (Peptone from soy meal), อาหารเหลว BHI, อาหารเหลว Lactose Broth, และอาหารเหลว Nutrient Broth

6. ศึกษากระบวนการซ่อมแซมเซลล์ของ *Salmonella Typhimurium* ATCC 13311, *Salmonella Typhimurium* DMST 14921, *Salmonella Virchow* DMST 14922, และ *Salmonella Virchow* NE 541 เพื่อหาตำแหน่งของเซลล์ที่เสียหายเนื่องจากสารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (ดัดแปลงจาก สุภาวดี, 2543)

สารยับยั้งเพื่อตรวจสอบตำแหน่งเสียหายของเซลล์ ได้แก่ คลอแรมเฟนิคอล ไรแฟมพิซิน เอ็น-ไฮดรอกซียูเรีย โซเดียมไซยาไนด์ และ ดี-โซโคเลเซริน เตรียม stock ของสารยับยั้งแต่ละชนิด ความเข้มข้น 10,000 ppm ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ เก็บในที่เย็นและมีด ก่อนใช้งานเจือจางให้ได้ความเข้มข้นดังนี้คือ คลอแรมเฟนิคอล 10 ppm ไรแฟมพิซิน 1 ppm เอ็น-ไฮดรอกซียูเรีย 100 ppm โซเดียมไซยาไนด์ 2 ppm และ ดี-โซโคเลเซริน 100 ppm ปิเปตสารยับยั้ง 1 มิลลิลิตรลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Lactose broth ซึ่งให้ผลการคืนสภาพดีที่สุด

เตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 โมลาร์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0 ปริมาตร 90 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที ทำการทดลองโดยวางขวดรูปชมพู่ที่มีสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์บนเครื่องกวนแบบแม่เหล็ก จากนั้นเติมสารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกความเข้มข้น 1.0 ppm ปิเปตสารละลายเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 หรือ *S. Typhimurium* DMST 14921 หรือ *S. Virchow* DMST 14922 หรือ *S. Virchow* NE 541 ที่มีความเข้มข้นของเซลล์ ประมาณ $6.00 \log_{10}$ CFUต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในสารละลายนี้ เมื่อครบ 180 วินาที เก็บตัวอย่างเซลล์บาดเจ็บปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปิเปตลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Lactose broth ปริมาตร 90 มิลลิลิตรในขวดที่ไม่มีสารยับยั้ง (ชุดควบคุม) หรือมีสารยับยั้ง เพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ผสมให้เข้ากัน เขย่าที่ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างในช่วงเวลา 0 ถึง 10 ชั่วโมง ตรวจจับเซลล์ด้วยวิธี spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA และ EMBS บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมงตรวจนับจำนวน โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

7. ศึกษาการร่วของสารภายในเซลล์ของ *Salmonella Typhimurium* ATCC 13311, *Salmonella Typhimurium* DMST 14921, *Salmonella Virchow* DMST 14922, และ *Salmonella Virchow* NE 541 เนื่องจากสารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) (ดัดแปลงจาก สุภาวดี, 2543)

เตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 โมลาร์ ความเป็นกรด-ด่าง 7.0 ปริมาตร 90 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที ทำการทดลองโดยวางขวดรูปชมพู่ที่มีสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์บนเครื่องกวนแบบแม่เหล็ก จากนั้นเติมสารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ความเข้มข้น 1.0 ppm ปิเปตสารละลายเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 หรือ *S. Typhimurium* DMST 14921 หรือ *S. Virchow* DMST 14922 หรือ *S. Virchow* NE 541 ที่มีความเข้มข้นของเซลล์ประมาณ $6.00 \log_{10}$ CFU ต่อ มิลลิลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในสารละลายนี้ สุ่มเก็บตัวอย่างตามระยะเวลาต่างๆ ได้แก่ 0, 15, 60, 180, และ 300 วินาที ตัวอย่างละ 10 มิลลิลิตร โดยผสมลงในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร บรรจุในหลอดสำหรับเครื่องหมุนเหวี่ยง นำตัวอย่างที่เก็บได้แต่ละเวลา เข้าเครื่องหมุนเหวี่ยง หมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว $20,000 \times g$ ต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที เพื่อแยกเซลล์ นำส่วนใสข้างบนเก็บไว้ กรองด้วยเยื่อกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร จากนั้นนำของเหลวที่ได้ไปวิเคราะห์การร่วของเยื่อหุ้ม ไซโตพลาสซึมด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสง ด้วยเครื่อง สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร สำหรับกรดไรโบนิวคลีอิก และที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร สำหรับโปรตีน โดยใช้น้ำกลั่นเป็นสารละลายเปล่า ทำทั้งสิ้น 3 ซ้ำ

ตัวอย่างที่เวลา 0 วินาที ทำเช่นเดียวกับที่กล่าวมาแล้ว แต่ปิเปตเชื้อที่มีความเข้มข้นประมาณ $6.00 \log_{10}$ CFU ต่อ มิลลิลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่ไม่มีสารฆ่าเชื้อ

8. การเตรียมตัวอย่างไปปลอดเชื้อ

นำอกไก่สดบรรจุลงพลาสติกพอลิโพรพิลีน ขนาด 10×15 นิ้ว บรรจุลงละ 8 ชิ้น น้ำหนัก 650 ถึง 850 กรัม ปิดผนึกแบบสุญญากาศ นำไปแช่เยือกแข็งแบบระบบแผ่นสัมผัส จึงบรรจุลงในกล่องโฟมโดยวางสลับชั้นกับน้ำแข็งเทียม (Freeze pack) นำไปฉายรังสีแกมมา ความเข้มข้นของ

รังสี 25 กิโลเกรย์ เพื่อให้ตัวอย่างปลอดเชื้อ จึงนำมาเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส (Thayer *et al.*, 1991) สำหรับใช้ในการทดลอง

9. การปนเปื้อน *Salmonella* sp. บนตัวอย่างไก่

นำสารละลายเชื้อเข้มข้นในข้อ 3.1 มาเจือจางด้วย Butterfield's phosphate buffer ให้มีเชื้อ $5.00 \log_{10}$ CFUต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 300 มิลลิลิตร นำตัวอย่างไก่ที่ปลอดเชื้อแล้วและผ่านการละลายที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แช่ในสารละลายเชื้อที่เตรียมไว้โดยการจุ่ม แล้วนำขึ้นทันที เป็นเวลา 0 นาที จะได้เนื้อไก่ที่มีเชื้อปนเปื้อน $4.00 \log_{10}$ CFUต่อกรัม (สุภัทราพร, 2535)

10. การวิเคราะห์ปริมาณ *Salmonella* sp. บนตัวอย่างไก่

ชั่งตัวอย่างเนื้อไก่ 25 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกสำหรับตีปน เดิมสารละลายเปปโตนความเข้มข้น 0.1% ปริมาตร 225 มิลลิลิตร ตีปนเป็นเวลา 2 นาที ได้ตัวอย่างที่ระดับการเจือจาง 1: 10 ทำให้เจือจางด้วยสารละลายเปปโตนโดยเจือจางเป็นลำดับ ลำดับละ 10 เท่า โดยเปิดสารละลายที่ระดับความเจือจางต่ำกว่า 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในสารละลายเปปโตนเข้มข้น 0.1% ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันดีจะได้ตัวอย่างที่ระดับความเจือจางสูงขึ้น 10 เท่า จากนั้นเปิดสารละลายเชื้อที่ระดับความเจือจางที่ต้องการ 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD เปลี่ยนให้ทั่วด้วยแท่งแก้วงอ นำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีบนจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 25-250 โคโลนี คำนวณเป็นปริมาณเชื้อต่อกรัม (Thayer *et al.*, 1991)

11. ผลของการใช้สารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิติกต่อการลดปริมาณการปนเปื้อนในไก่ของ *Salmonella* Typhimurium ATCC 13311, *Salmonella* Typhimurium DMST 14921, *Salmonella* Virchow DMST 14922, และ *Salmonella* Virchow NE 541 และการเปลี่ยนค่าความเป็นกรด-ด่าง ในน้ำล้าง

11.1 ประสิทธิภาพที่มีต่อ *S. Typhimurium* ATCC 13311

11.1.1 ความเข้มข้นของสารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ที่ใช้ในการล้างไก่

นำไก่ที่มี *S. Typhimurium* ATCC 13311 ปริมาณเริ่มต้น $4.00 \log_{10}$ CFU ต่อกรัม มาล้างในน้ำที่มีความเข้มข้นของสารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 60 ppm โดยจุ่มไก่ลงไปให้น้ำและนำขึ้นทันที เป็นการล้างเป็นเวลา 0 นาที แล้วนำไก่ที่ล้างไปวิเคราะห์หาปริมาณ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ที่เหลืออยู่แล้วทำการทดลองเช่นเดิมโดยเปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกเป็น 80 และ 100 ppm โดยใช้น้ำประปาปลอดเชื้อล้างไก่เป็นเวลา 0 นาที เป็นตัวอย่างเปรียบเทียบ

11.1.2 ระยะเวลาที่ใช้สารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในการล้างไก่

นำไก่ที่ผ่านการปนเปื้อน *S. Typhimurium* ATCC 13311 จนมีปริมาณเชื้อ $4.00 \log_{10}$ CFU ต่อกรัม มาล้างในน้ำที่มีความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 60 ppm โดยจะทำการล้างที่เวลาต่างๆกันคือ 0, 15, และ 30 นาที วิเคราะห์ปริมาณ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ที่เหลืออยู่ ของไก่ที่ผ่านการล้างในแต่ละช่วง เปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ล้างด้วยน้ำประปาปลอดเชื้อเป็นเวลา 0, 15, และ 30 นาที ทำการทดลองเช่นเดียวกันแต่เพิ่มความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก เป็น 80 และ 100 ppm

11.1.3 ผลของอุณหภูมิน้ำล้างที่เติมสารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆต่อการทำลายเชื้อในไก่

นำตัวอย่างไก่ที่ปนเปื้อน *S. Typhimurium* ATCC 13311 $4.00 \log_{10}$ CFU ต่อกรัม มาล้างด้วยน้ำที่มีความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 60, 80, และ 100 ppm โดยที่มีอุณหภูมิของน้ำเท่ากับอุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) แต่ละความเข้มข้นล้างเป็นเวลา 0, 15, และ 30 นาที ตรวจหาปริมาณ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ที่เหลืออยู่ ของตัวอย่างที่ล้างครบกำหนดเวลาแล้วเปรียบเทียบผล เมื่อใช้อุณหภูมิของน้ำ 4 และ 37 องศาเซลเซียส ซึ่งทำการทดลองเช่นเดียวกัน

11.2 ประสิทธิภาพที่มีต่อ *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 11.1 แต่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่เตรียมได้ในข้อ 1.1.2

11.3 ผลของการใช้สารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิดต่อการลดปริมาณการปนเปื้อนในไก่ของ *Salmonella* Typhimurium ATCC 13311, *Salmonella* Typhimurium DMST 14921, *Salmonella* Virchow DMST 14922, และ *Salmonella* Virchow NE 541 และการเปลี่ยนค่าความเป็นกรด-ด่าง ในน้ำล้าง

นำน้ำล้างไปตรวจหาปริมาณสารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิดที่เหลืออยู่ ด้วยชุดทดสอบปริมาณกรดเปอร์ออกซีแอซิดอย่างรวดเร็ว (ECOLAB, Thailand) และวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ทำที่ระดับความเข้มข้นของสารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิด 60, 80, และ 100 ppm ตามระยะเวลาและอุณหภูมิในข้อ 11

12. ศึกษาผลของสารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิด ในขั้นตอนการล้างและแช่เย็นที่มีต่อปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella* sp. ในไก่

จากการทดลองในข้อ 11 จะสามารถเลือกความเข้มข้นของสารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิด 100 ppm ล้างและแช่เย็นเนื้อไก่นาน 30 นาที คือระดับความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมในการล้างที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) และแช่เย็นหรือล้างที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จึงนำตัวอย่างไก่สดจากตลาดสด และเนื้อไก่ฉายรังสีแล้ว ซึ่งสร้างการปนเปื้อนด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 มาล้างและแช่เย็นด้วยวิธีการดังนี้

12.1 ตัวอย่างควบคุม

12.2 ล้างด้วยน้ำและแช่เย็นด้วยน้ำ

12.3 ล้างด้วยน้ำและแช่เย็นด้วย สารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิด

12.4 ล้างด้วย สารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิด และแช่เย็นด้วยน้ำ

12.5 ล้างด้วย สารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก และแช่เย็นด้วย สารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก

โดยน้ำที่ใช้ต้องผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นจึงนำตัวอย่างมาวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ TSA และวิเคราะห์ *Salmonella* sp. โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ XLD เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม ซึ่งไม่ผ่านการล้างและแช่เย็น นำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ของเชื้อที่ลดลงได้ ทำการทดลองทั้งสิ้น 3 ซ้ำ

13. ศึกษาผลของการใช้กรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในขั้นตอนการล้างทำความสะอาดที่มีต่อปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและ *Salmonella* sp. ในระหว่างการเก็บรักษา ที่อุณหภูมิต่างๆ

จากการผลการทดลองในข้อ 13 สามารถเลือกวิธีการล้างได้ในข้อ 13.5 ซึ่งสามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella* sp. ได้ดีที่สุด ทำการล้างตัวอย่างเนื้อไก่สดปนเปื้อนด้วยเชื้อผสมจากข้อ 3.1 และตัวอย่างเนื้อไก่สดที่ปนเปื้อนด้วยเชื้อธรรมชาติไก่สดที่ล้างแล้วในพลาสติกพอลิโพรพิลีน ขนาด 10×15 นิ้ว บรรจุถูละ 50 กรัม นำไปบรรจุโดยระบบสุญญากาศ แล้วนำไปแช่เยือกแข็งโดยระบบแผ่นสัมผัส เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -30 และ -18 องศาเซลเซียส อุณหภูมิตู้แช่แข็ง (-2±2 องศาเซลเซียส) เก็บตัวอย่างทุก 7 วัน นาน 35 วัน ที่ อุณหภูมิตู้เย็น (5±2 องศาเซลเซียส) เก็บตัวอย่างทุกวัน นาน 10 วัน และอุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) เก็บตัวอย่างทุก 2 ชั่วโมง นาน 48 ชั่วโมง นำมาตรวจวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella* sp. โดยวิธีในข้อ 10 โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ TSA สำหรับการตรวจวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD สำหรับการตรวจวิเคราะห์ *Salmonella* sp.

14. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การทดลองในข้อ 4, 5, 7, 12, และ 13 วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design) วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS บนระบบปฏิบัติการวินโดวส์ (Windows) วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลโดยใช้ ANOVA วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละชุดข้อมูลโดยใช้ Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

ผลและการวิจารณ์

1. ประสิทธิภาพของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (InspexxTM 100 และ InspexxTM 200) ต่อการลดปริมาณ *Salmonella* Typhimurium ATCC 13311, *Salmonella* Typhimurium DMST 14921, *Salmonella* Virchow NE 541, และ *Salmonella* Virchow DMST 14922

1.1 ผลของความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM) ต่อการทำลาย *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541, และ *S. Virchow* DMST 14922 ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

จากการศึกษาประสิทธิภาพของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้าสองชนิด ซึ่งใช้ชื่อทางการค้าว่า Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM เพื่อลดปริมาณ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541, และ *S. Virchow* DMST 14922 ซึ่งมีแบบแผนการดื้อต่อสารต้านจุลชีพเป็น S_3 , Amp C S Te S_3 W, Amp Aml Cn E F K Na P S W Pb, และ Non Resistance ตามลำดับ โดยกำหนดระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในสารละลาย Butterfield's phosphate buffer ความเป็นกรด-ด่าง 7.0 ทั้งสิ้น 5 ระดับคือ 0, 0.5, 1.0, 5.0, และ 10.0 ppm และในสารละลายมีเซลล์เริ่มต้นประมาณ $6.00 \log_{10}$ CFUต่อมิลลิลิตร ตรวจจำนวน *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541, และ *S. Virchow* DMST 14922 ที่รอดชีวิตที่เวลาต่างๆ กันคือ 0, 15, 60, 180, 300 วินาที พบว่าการใช้ Inspexx 100TM ที่ความเข้มข้น 10.0 ppm สามารถทำลายเชื้อทั้ง 4 สายพันธุ์ ได้หมดภายในเวลา 15 วินาที และเมื่อลดระดับความเข้มข้นเป็น 5.0 ppm พบว่าจะใช้เวลานานขึ้นในการทำลายเชื้อได้หมด กล่าวคือ ที่ระดับความเข้มข้น 5.0 ppm สามารถทำลาย *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE541, และ *S. Virchow* DMST 14922 ได้หมดภายในระยะเวลา 60 วินาที สำหรับ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ต้องใช้เวลา 180 วินาที จึงสามารถทำลายได้หมด เมื่อพิจารณาที่ระยะเวลาในการฆ่าเชื้อเท่ากัน พบว่า เมื่อระดับความเข้มข้นของ Inspexx 100TM เพิ่มขึ้น ร้อยละการอยู่รอดจะลดลง ดังแสดงใน ตารางที่ 1 จากตาราง จะพบว่าที่ระดับการฆ่าเชื้อ 60 วินาที นั้น *S. Typhimurium* ATCC 13311 มีร้อยละการอยู่รอดเป็น 51.60, 51.47, 0.10, และ 0.00 ที่ระดับความเข้มข้นของ Inspexx 100TM เป็น 0.5, 1.0, 5.0, และ 10.0 ppm ตามลำดับ

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบร้อยละการอยู่รอดของ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซีติก (Inspexx 100™) ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 5.0, และ 10.0 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

เวลา (วินาที)	ร้อยละการอยู่รอดของ <i>S. Typhimurium</i> ATCC 13311 ที่ความเข้มข้นของ กรดเปอร์ออกซีแอซีติก ในสารละลาย Butterfield's phosphate buffer ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0				
	0 ppm	0.5 ppm	1.0 ppm	5.0 ppm	10.0 ppm
0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
15	95.00	54.52	54.41	65.37	2.29
60	90.00	51.60	51.47	0.10	0.00
180	92.50	47.23	3.77	0.00	0.00
300	97.50	5.83	0.00	0.00	0.00

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบร้อยละการอยู่รอดของ *S. Typhimurium* DMST 14921 ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซีติก (Inspexx 100™) ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 5.0, และ 10.0 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

เวลา (วินาที)	ร้อยละการอยู่รอดของ <i>S. Typhimurium</i> DMST 14921 ที่ความเข้มข้นของ กรดเปอร์ออกซีแอซีติก ในสารละลาย Butterfield's phosphate buffer ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0				
	0 ppm	0.5 ppm	1.0 ppm	5.0 ppm	10.0 ppm
0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
15	96.97	63.33	47.19	16.45	0.00
60	90.91	68.15	53.44	0.00	0.00
180	93.94	67.04	0.04	0.00	0.00
300	87.88	11.14	0.00	0.00	0.00

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบร้อยละการอยู่รอดของ *S. Virchow* NE 541 ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100™) ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 5.0, และ 10.0 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

เวลา (วินาที)	ร้อยละการอยู่รอดของ <i>S. Virchow</i> NE 541 ที่ความเข้มข้นของ กรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารละลาย Butterfield's phosphate buffer ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0				
	0 ppm	0.5 ppm	1.0 ppm	5.0 ppm	10.0 ppm
0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
15	95.00	103.94	103.33	0.95	0.00
60	77.50	86.67	64.55	0.00	0.00
180	70.00	76.97	0.45	0.00	0.00
300	72.50	3.94	0.11	0.00	0.00

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบร้อยละการอยู่รอดของ *S. Virchow* DMST 14922 ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100™) ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 5.0, และ 10.0 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

เวลา (วินาที)	ร้อยละการอยู่รอดของ <i>S. Virchow</i> DMST 14922 ที่ความเข้มข้นของ กรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารละลาย Butterfield's phosphate buffer ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0				
	0 ppm	0.5 ppm	1.0 ppm	5.0 ppm	10.0 ppm
0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
15	113.79	55.17	30.27	51.67	0.00
60	106.90	48.62	37.57	0.10	0.00
180	103.45	46.21	9.08	0.00	0.00
300	82.76	28.55	0.00	0.00	0.00

สำหรับ *S. Typhimurium* DMST 14921 เมื่อพิจารณาที่ระยะเวลาการฆ่าเชื้อเท่ากัน คือ 60 วินาที จะมีร้อยละการอยู่รอดที่ระดับความเข้มข้นของ Inspexx 100TM 0.5, 1.0, 5.0, และ 10.0 ppm เท่ากับ 68.15, 53.44, 0.00, 0.00 ตามลำดับ (ตารางที่ 2) ซึ่งผลเป็นทำนองเดียวกันกับกรณีของ *S. Virchow* NE 541, และ *S. Virchow* DMST 14922 ที่มีร้อยละการอยู่รอดเป็น 86.67, 64.55, 0.00, และ 0.00 (ตารางที่ 3) และเป็น 48.62, 37.57, 0.00, และ 0.00 ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

สำหรับการใช้ Inspexx 200TM พบว่าก็ให้ผลทำนองเดียวกันกล่าวคือ เมื่อพิจารณาที่ระยะเวลาการฆ่าเชื้อเท่ากันที่ 60 วินาที ประสิทธิภาพจะแปรตามความเข้มข้นที่ใช้ พิจารณาการลดปริมาณ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ที่ 60 วินาที เมื่อใช้ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 5.0, และ 10.0 ppm พบว่า เชื้อจะมีร้อยละการอยู่รอดเป็น 66.52, 34.00, 0.04, และ 0.00 (ตารางที่ 5) ตามลำดับ สำหรับ *S. Typhimurium* DMST 14921 มีร้อยละการอยู่รอดเป็น 77.83, 58.00, 0.00, 0.00 (ตารางที่ 6) สำหรับ *S. Virchow* NE 541, และ *S. Virchow* DMST 14922 ที่มีร้อยละการอยู่รอดเป็น 73.79, 283.70, 0.00, และ 0.00 (ตารางที่ 7) และเป็น 61.05, 46.68, 0.00, และ 0.00 ตามลำดับ (ตารางที่ 8)

1.2 ผลของระยะเวลาในการสัมผัสเชื้อของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM) ต่อการทำลาย *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541, และ *S. Virchow* DMST 14922 ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

เมื่อพิจารณาที่ระดับความเข้มข้นเดียวกันสำหรับการใช้ Inspexx 100TM คือ 1.0 ppm พบว่า เมื่อระยะเวลาสัมผัสเชื้อนานขึ้น ร้อยละการอยู่รอดของเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ลดลง กล่าวคือ มีร้อยละการอยู่รอดที่เวลา 0, 15, 60, 180, และ 300 วินาที เป็น 100.00, 54.41, 51.47, 3.77, และ 0.00 ตามลำดับ (ตารางที่ 1) สำหรับ *S. Typhimurium* DMST 14921 มีร้อยละการอยู่รอดเป็น 100.00, 47.19, 53.44, 0.04, และ 0.00 ตามลำดับ (ตารางที่ 2) *S. Virchow* NE541 จะมีร้อยละการอยู่รอดเท่ากับ 100.00, 103.33, 64.55, 0.45, และ 0.00 ตามลำดับ (ตารางที่ 3) ส่วน *S. Virchow* DMST 14922 มีร้อยละการอยู่รอดเป็น 100.00, 30.27, 37.57, 9.08, และ 0.00 ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบร้อยละการอยู่รอดของ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซีติก (Inspexx 200™) ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 5.0, และ 10.0 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

เวลา (วินาที)	ร้อยละการอยู่รอดของ <i>S. Typhimurium</i> ATCC 13311 ที่ความเข้มข้นของ กรดเปอร์ออกซีแอซีติก ในสารละลาย Butterfield's phosphate buffer ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0				
	0 ppm	0.5 ppm	1.0 ppm	5.0 ppm	10.0 ppm
0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
15	95.00	72.61	42.00	14.19	0.00
60	90.00	66.52	34.00	0.04	0.00
180	92.50	38.26	5.71	0.00	0.00
300	97.50	3.00	0.38	0.00	0.00

ตารางที่ 6 เปรียบเทียบร้อยละการอยู่รอดของ *S. Typhimurium* DMST 14921 ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซีติก (Inspexx 200™) ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 5.0, และ 10.0 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

เวลา (วินาที)	ร้อยละการอยู่รอดของ <i>S. Typhimurium</i> DMST 14921 ที่ความเข้มข้นของ กรดเปอร์ออกซีแอซีติก ในสารละลาย Butterfield's phosphate buffer ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0				
	0 ppm	0.5 ppm	1.0 ppm	5.0 ppm	10.0 ppm
0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
15	96.97	73.04	68.50	0.09	0.00
60	90.91	77.83	58.00	0.00	0.00
180	93.94	63.48	0.01	0.00	0.00
300	87.88	12.56	0.00	0.00	0.00

ตารางที่ 7 เปรียบเทียบร้อยละการอยู่รอดของ *S. Virchow* NE 541 ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 200™) ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 5.0, และ 10.0 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

เวลา (วินาที)	ร้อยละการอยู่รอดของ <i>S. Virchow</i> NE 541 ที่ความเข้มข้นของ กรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารละลาย Butterfield's phosphate buffer ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0				
	0 ppm	0.5 ppm	1.0 ppm	5.0 ppm	10.0 ppm
0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
15	95.00	100.00	75.19	0.45	0.00
60	77.50	73.79	23.70	0.00	0.00
180	70.00	28.62	0.67	0.00	0.00
300	72.50	1.38	0.07	0.00	0.00

ตารางที่ 8 เปรียบเทียบร้อยละการอยู่รอดของ *S. Virchow* DMST 14922 ในสารผสม กรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 200™) ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 5.0, และ 10.0 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

เวลา (วินาที)	ร้อยละการอยู่รอดของ <i>S. Virchow</i> DMST 14922 ที่ความเข้มข้นของ กรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารละลาย Butterfield's phosphate buffer ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0				
	0 ppm	0.5 ppm	1.0 ppm	5.0 ppm	10.0 ppm
0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
15	113.79	75.26	78.75	0.05	0.00
60	106.90	61.05	46.88	0.00	0.00
180	103.45	17.89	0.01	0.00	0.00
300	82.76	0.09	0.00	0.00	0.00

การใช้ Inspexx 200TM ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน เมื่อระยะเวลาสัมผัสเชื้อนานขึ้น ร้อยละการอยู่รอดของ *Salmonella* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ จะลดลง พิจารณา Inspexx 200TM ที่ความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 1.0 ppm *S. Typhimurium* ATCC 13311 มีร้อยละการอยู่รอดเป็น 100.00, 42.00, 34.00, 5.71, และ 0.00 ตามลำดับ (ตารางที่ 5) *S. Typhimurium* DMST 14921 มีร้อยละการอยู่รอดเป็น 100.00, 68.50, 58.00, 0.01, และ 0.00 ตามลำดับ (ตารางที่ 6) สำหรับ *S. Virchow* NE 541 จะมีร้อยละการอยู่รอดเท่ากับ 100.00, 75.19, 23.70, 0.67, และ 0.00 ตามลำดับ (ตารางที่ 7) ส่วน *S. Virchow* DMST 14922 มีร้อยละการอยู่รอดเป็น 100.00, 78.75, 46.88, 0.01, และ 0.00 ตามลำดับ (ตารางที่ 8)

จากข้อ 1.1 และ 1.2 แสดงให้เห็นว่า ประสิทธิภาพของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทั้งสองชนิดคือ Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM ในการทำลาย *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE541, และ *S. Virchow* DMST 14922 ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) จะแปรตามความเข้มข้นและระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น

1.3 ผลของอุณหภูมิของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM) ต่อประสิทธิภาพในการทำลาย *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE541, และ *S. Virchow* DMST 14922

ทำการทดลองเช่นเดียวกับ ข้อ 1.1 และ 1.2 โดยเปลี่ยนระดับอุณหภูมิของสารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้าทั้งสองชนิด เป็น 4, 37, และ 55 องศาเซลเซียส เพื่อสังเกตผลของอุณหภูมิในการทำลายจุลินทรีย์ เมื่อพิจารณาการใช้ Inspexx 100TM ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 ppm ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ไม่สามารถทำลาย *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE541, และ *S. Virchow* DMST 14922 ได้หมดภายในระยะเวลา 180 วินาที โดยมีร้อยละการอยู่รอดเป็น 72.50, 80.56, 71.11, และ 70.00 ตามลำดับ เมื่อใช้อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสที่ระดับความเข้มข้น และระยะเวลาเดียวกันนี้ พบว่า ร้อยละการอยู่รอดเป็น 2.10, 2.79, 2.05, และ 1.49 ตามลำดับ แต่ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสพบว่า สามารถทำลาย *Salmonella* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์จะถูกทำลายจนหมดภายในเวลา 180 วินาที (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 เปรียบเทียบเวลาในการทำลาย *Sallmonella* sp. 4 สายพันธุ์ได้หมดของกรดเปอร์ออกซี
 แอซีติกในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซีติก Inspexx 100™ ที่ระดับอุณหภูมิ 4, 37, 55
 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ความเข้มข้น (ppm)	เวลา (วินาที)			
		ที่ใช้เพื่อทำลาย <i>Sallmonella</i> sp. ได้หมด			
		<i>S. Typhimurium</i>		<i>S. Virchow</i>	
		ATCC 13311	DMST 14921	DMST 14922	NE 541
4	0	> ² 300	> 300	> 300	> 300
	0.5	> 300	> 300	> 300	> 300
	1.0	> 300	> 300	> 300	> 300
	5.0	> 300	> 300	> 300	> 300
	10.0	300	180	180	180
27 ¹	0	> 300	> 300	> 300	> 300
	0.5	> 300	> 300	> 300	> 300
	1.0	300	300	300	> 300
	5.0	180	60	60	60
	10.0	60	15	15	15
37	0	> 300	> 300	> 300	> 300
	0.5	> 300	> 300	> 300	> 300
	1.0	300	300	300	300
	5.0	60	60	180	60
	10.0	60	60	60	60
55	0	> 300	> 300	> 300	> 300
	0.5	180	180	180	180
	1.0	180	180	180	180
	5.0	60	15	60	60
	10.0	15	15	15	15

หมายเหตุ ^{1/} = อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

^{2/} = มากกว่า

ตารางที่ 10 เปรียบเทียบเวลาในการทำลาย *Sallmonella* sp. 4 สายพันธุ์ได้หมดของกรดเปอร์ออกซี
 แอซีติกในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซีติก Inspexx 200™ ที่ระดับอุณหภูมิ 4, 37, 55
 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ความเข้มข้น (ppm)	เวลา (วินาที)			
		ที่ใช้เพื่อทำลาย <i>Sallmonella</i> sp. ได้หมด			
		<i>S. Typhimurium</i>		<i>S. Virchow</i>	
		ATCC 13311	DMST 14921	DMST 14922	NE 541
4	0	> ² 300	> 300	> 300	> 300
	0.5	> 300	> 300	> 300	> 300
	1.0	> 300	> 300	> 300	> 300
	5.0	> 300	> 300	> 300	> 300
	10.0	180	180	180	180
27 ¹	0	> 300	> 300	> 300	> 300
	0.5	> 300	> 300	> 300	> 300
	1.0	> 300	300	300	> 300
	5.0	180	60	60	60
	10.0	15	15	15	15
37	0	> 300	> 300	> 300	> 300
	0.5	> 300	> 300	> 300	> 300
	1.0	> 300	> 300	300	> 300
	5.0	60	60	180	60
	10.0	15	15	15	60
55	0	> 300	> 300	> 300	> 300
	0.5	180	180	180	180
	1.0	180	180	180	180
	5.0	60	60	60	60
	10.0	15	15	15	15

หมายเหตุ ^{1/} = อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

^{2/} = มากกว่า

เช่นเดียวกันเมื่อพิจารณาการใช้ Inspexx 200™ ที่ระดับความเข้มข้น 1 ppm เป็นระยะเวลา 180 วินาที พบว่า ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE541, และ *S. Virchow* DMST 14922 มีร้อยละการอยู่รอดเป็น 80.56, 68.42, 70.73, และ 66.67 ตามลำดับ และมีร้อยละการอยู่รอดเป็น 3.21, 2.74, 2.69, และ 1.85 ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เมื่อเพิ่มอุณหภูมิเป็น 55 องศาเซลเซียสพบว่า *Salmonella* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์จะถูกทำลายหมดไป โดยมีร้อยละการอยู่รอดเป็น 0.00 ที่เวลา 180 วินาที (ตารางที่ 10)

จากผลการทดลองกล่าวได้ว่า ประสิทธิภาพของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า 2 ชนิด คือ Inspexx 100™ และ Inspexx 200™ แปรตามปัจจัยที่สำคัญ 3 ปัจจัยคือ ความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก เวลาในการสัมผัสสารฆ่าเชื้อ และอุณหภูมิ โดยเมื่อปัจจัยเหล่านี้มีค่าเพิ่มขึ้น ประสิทธิภาพของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกเพิ่มขึ้น

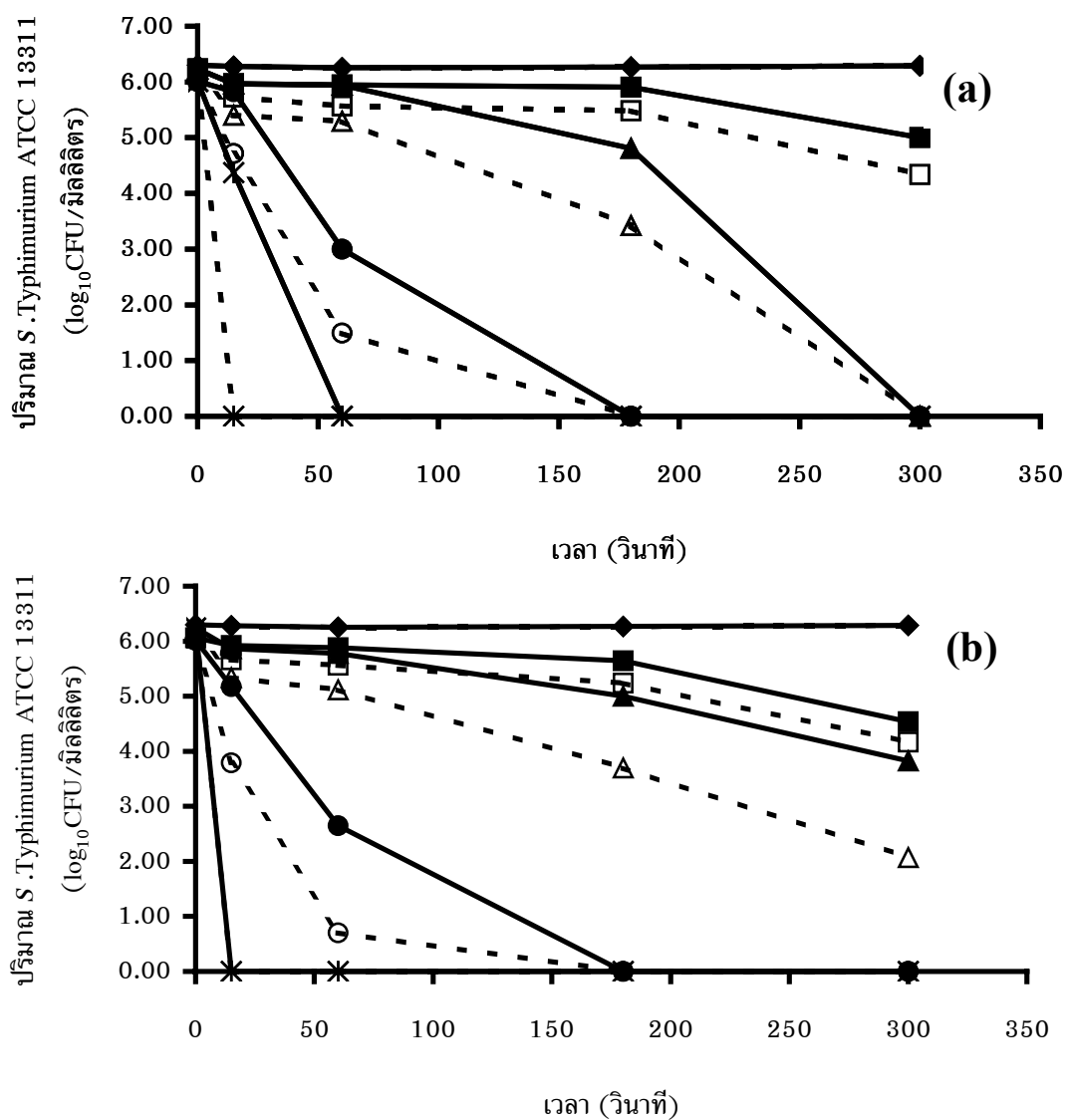
2. ผลของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100™ และ Inspexx 200™) ต่อการเกิดเซลล์บาดเจ็บของ *Salmonella Typhimurium* ATCC 13311, *Salmonella Typhimurium* DMST 14921, *Salmonella Virchow* DMST 14922, และ *Salmonella Virchow* NE 541

2.1 ผลของความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100™ และ Inspexx 200™) และระยะเวลาการสัมผัส ต่อการเกิดเซลล์บาดเจ็บของ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541

2.1.1 *S. Typhimurium* ATCC 13311

ภาพที่ 1 แสดงผลของ Inspexx 100™ และ Inspexx 200™ ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ ของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ต่อการทำลายเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 พบว่า การใช้ Inspexx 100™ ที่ระดับความเข้มข้น 0 ppm (ไม่เติมสารฆ่าเชื้อ) ปริมาณเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 จะค่อนข้างคงที่ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า สารละลาย Butterfield's phosphate buffer ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0 ไม่เป็นอันตรายต่อจุลินทรีย์ อีกทั้งที่อุณหภูมิห้อง (27

องศาเซลเซียส) จุลินทรีย์หลายชนิดเจริญได้ รวมทั้ง *Salmonella* sp. ด้วย (Tartakow and Vorperian, 1981) จากนั้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ Inspexx 100TM เป็น 0.5 ppm พบว่า ปริมาณเซลล์ลดลงทันทีที่เวลา 15 วินาที และเกิดเซลล์ขาดเจ็บคิดเป็นร้อยละ 42.35 ปริมาณเซลล์ขาดเจ็บจะเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 58.21, 62.35, และ 78.30 เมื่อเวลาผ่านไป 60, 180, และ 300 วินาที ตามลำดับ ปริมาณเซลล์ขาดเจ็บนี้จะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิติกใน Inspexx 100TM เพิ่มขึ้น กรณีที่ความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิติกใน Inspexx 100TM สูงๆ การทำลายจะเกิดขึ้นมากกว่าการขาดเจ็บ ร้อยละการเกิดเซลล์ขาดเจ็บจะสูงขึ้นจนใกล้ร้อยละ 100 เช่น ที่ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิติก 5.0 ppm ใน Inspexx 100TM ที่เวลา 15 วินาที เกิดเซลล์ขาดเจ็บคิดเป็นร้อยละ 92.28 และเพิ่มเป็นร้อยละ 96.90 จนกระทั่งที่เวลา 180 วินาที เกิดเซลล์ขาดเจ็บเต็มที่ คิดเป็นร้อยละ 100.00 เช่นเดียวกันกับการใช้ Inspexx 100TM ที่ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิติก 10.0 ppm เมื่อเวลาผ่านไป 15 วินาที เกิดเซลล์ขาดเจ็บสูงสุดคือ ร้อยละ 100 และไม่สามารถคำนวณเซลล์ขาดเจ็บได้เมื่อเวลาผ่านไป 60 วินาที เนื่องจากการทำลายเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 จนหมด (ตารางที่ 11)



ภาพที่ 1 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 100TM (a) และ Inspexx 200TM (b)) ในการทำลายและการบาดเจ็บของเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก

ตารางที่ 11 เปรียบเทียบร้อยละการบาดเจ็บของ *S. Typhimurium* ATCC 13311 หลังจากเติมสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 2 ชนิดคือ Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 0, 0.5, 1.0, 5.0, และ 10.0 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

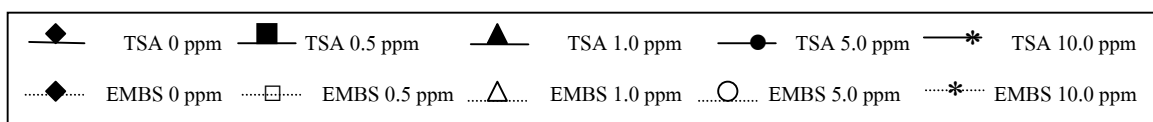
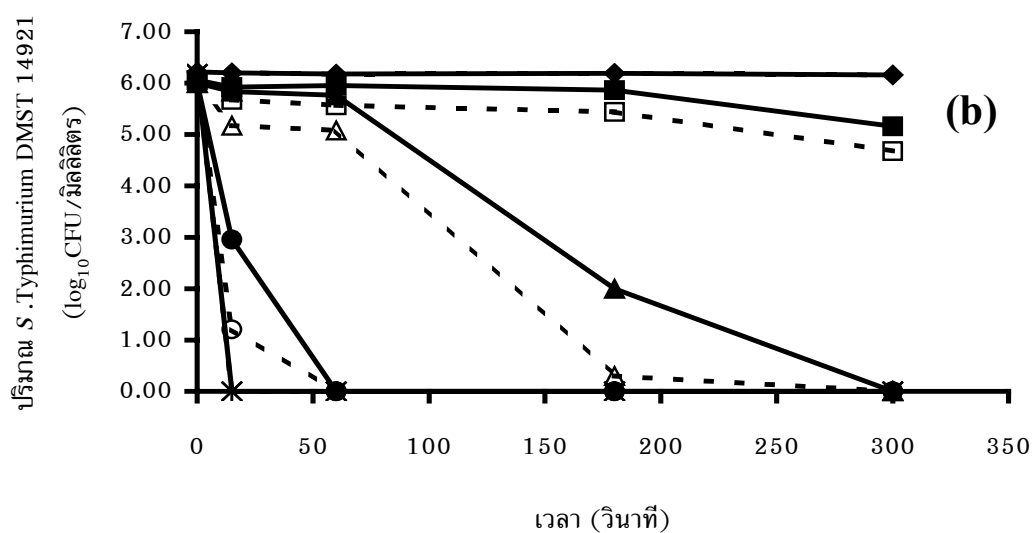
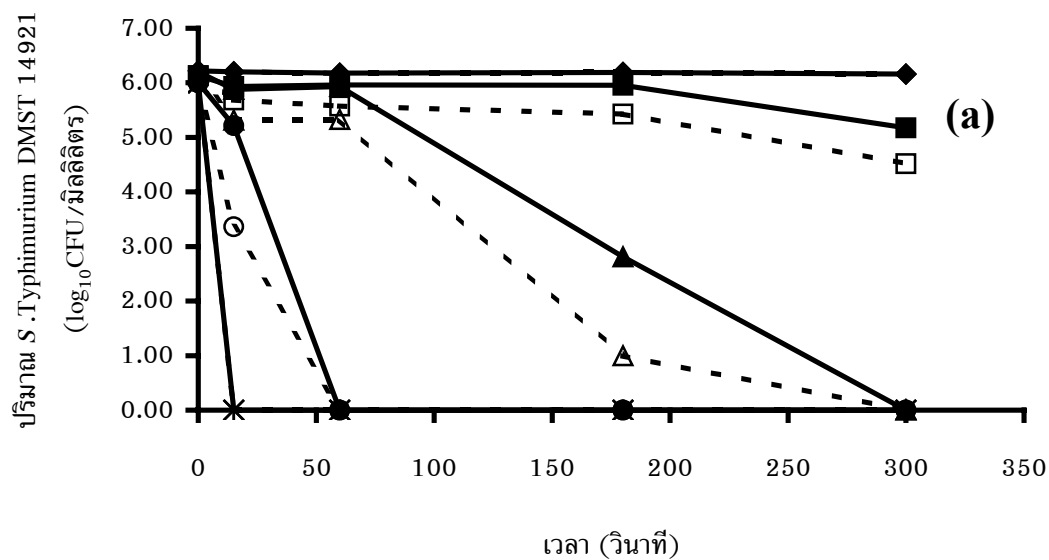
สารเคมี	เวลา (วินาที)	ร้อยละการบาดเจ็บของ <i>S. Typhimurium</i> ATCC 13311 ที่ความเข้มข้นต่างๆ ของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารละลาย Butterfield's phosphate buffer ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0				
		0 ppm	0.5 ppm	1.0 ppm	5.0 ppm	10.0 ppm
Inspexx 100 TM	0	-0.25	0.29	-0.18	0.49	0.49
	15	0.53	42.35	72.65	92.28	100.00
	60	0.56	58.31	77.60	96.90	-
	180	0.54	62.35	95.88	-	-
	300	0.51	78.30	- ¹	-	-
Inspexx 200 TM	0	0.50	0.87	0.00	0.95	0.09
	15	0.53	45.39	70.34	95.85	-
	60	0.56	52.42	77.98	98.88	-
	180	1.08	60.45	95.00	-	-
	300	0.51	57.39	98.25	-	-

หมายเหตุ ^{1/} = *S. Typhimurium* ATCC 13311 ได้ถูกทำลายหมดไม่มีเซลล์บาดเจ็บ

สำหรับการใช้ Inspexx 200™ พบว่าให้ผลเช่นเดียวกันกับการใช้ Inspexx 100™ กล่าวคือ เมื่อความเข้มข้นของ Inspexx 200™ เป็น 0 ppm เชลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 มีปริมาณค่อนข้างคงที่ แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 0.5 ppm ปริมาณเชลล์จะลดลงทันทีเมื่อผ่านไป 15 วินาที และมีร้อยละการบาดเจ็บของ *S. Typhimurium* ATCC 13311 เป็น 45.39 ร้อยละ การเกิดเชลล์บาดเจ็บนี้จะเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับการใช้ Inspexx 100™ กล่าวคือจะเพิ่มขึ้นเป็น 52.42, และ 60.45 เมื่อเวลาผ่านไป 60, และ 180 วินาทีตามลำดับ เมื่อเวลาผ่านไป 300 วินาที ร้อยละการเกิดเชลล์บาดเจ็บคิดเป็น 57.39 ซึ่งลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับที่เวลา 180 วินาที ร้อยละการบาดเจ็บที่ลดลงนี้อาจอธิบายได้ว่า เมื่อเวลาผ่านไป 300 วินาที เชลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 จะมีร้อยละการอยู่รอดลดลง (เสียชีวิตเพิ่มขึ้น) แต่ไม่ได้เกิดเป็นเชลล์บาดเจ็บเพิ่มขึ้น เนื่องจากการคำนวณร้อยละการเกิดเชลล์บาดเจ็บจะคำนวณจากสัดส่วนของเชลล์ทั้งหมดที่รอดชีวิต กับเชลล์บาดเจ็บ เมื่อเชลล์ทั้งหมดลดลงในขณะที่เชลล์ปกติไม่ได้ลดลงก็ย่อมส่งผลให้จำนวนเชลล์บาดเจ็บลดลง คือ เชลล์บาดเจ็บที่เกิดขึ้นในช่วง 180 วินาทีแรกจะตายไปในช่วงระยะเวลานี้ ทั้งนี้การเกิดเชลล์บาดเจ็บจะเพิ่มขึ้นเมื่อใช้ความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกใน Inspexx 200™ สูงขึ้น จนกระทั่งที่ระดับความเข้มข้นสูงๆ เช่นที่ระดับความเข้มข้น 5.0 ppm การเกิดเชลล์บาดเจ็บจะสูงสุดที่เวลา 60 วินาที คิดเป็นร้อยละ 98.88 และหลังจากนั้น ไม่สามารถคำนวณการเกิดเชลล์บาดเจ็บได้ที่เวลา 180 วินาที เช่นกันสำหรับความเข้มข้น 10.0 ppm ไม่สามารถคำนวณการเกิดเชลล์บาดเจ็บได้ที่เวลา 15 วินาที เนื่องจากมีการทำลายเชลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 จนหมด (ตารางที่ 12) Ray (1979) เรียกเชลล์ที่ได้รับการบาดเจ็บ แต่ไม่มากพอที่จะทำให้เชลล์เสียชีวิต และเชลล์ที่บาดเจ็บแล้วสามารถคืนสภาพ หรือซ่อมแซมได้ว่า “Nonlethal injury” หากเชลล์เกิดการบาดเจ็บมากจนเกินระดับหนึ่งที่ไม่สามารถคืนสภาพ หรือซ่อมแซมเชลล์ได้ จะเรียกเชลล์ประเภทนี้ว่า “Lethal injury” ซึ่งเชลล์เหล่านี้จะเสียชีวิตในที่สุด

2.1.2 *S. Typhimurium* DMST 14921

ภาพที่ 2 แสดงประสิทธิภาพของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 2 ชนิดคือ Inspexx 100™ และ Inspexx 200™ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในการทำลายเชลล์ *S. Typhimurium* DMST 14921 เริ่มต้นประมาณ $6.00 \log_{10}$ CFUต่อมิลลิลิตร ผลการใช้ Inspexx 100™ ที่ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 0.0 ppm หรืออีกนัยหนึ่งคือไม่มี การเติมสารฆ่าเชื้อ ปริมาณของ *S. Typhimurium* DMST 14921 ค่อนข้างคงที่ จำนวนเชลล์บนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งสองชนิดคือ TSA ซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อประเภท Non-selective media และ EMBS ซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อประเภท Selective media ใกล้เคียงกัน แสดง



ภาพที่ 2 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 100TM (a) และ Inspexx 200TM (b) ในการทำลายและการบาดเจ็บของเซลล์ *S. Typhimurium* DMST 14921 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก

ให้เห็นว่าเซลล์ *S. Typhimurium* DMST 14921 เริ่มต้นเป็นเซลล์สมบูรณ์ ไม่มีเซลล์ใดแสดงลักษณะเป็นเซลล์บาดเจ็บ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกให้สูงขึ้นเป็น 0.5 ppm เริ่มมีเซลล์บาดเจ็บเกิดขึ้นตั้งแต่ 15 วินาทีแรกของการสัมผัสสารฆ่าเชื้อ คิดเป็นร้อยละ 43.39 และเพิ่มสูงขึ้นเป็นร้อยละ 59.24, 70.28, และ 78.19 เมื่อเวลาผ่านไป 60, 180, และ 300 วินาที ตามลำดับ เซลล์บาดเจ็บจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกที่ใช้เพิ่มขึ้น เช่นเมื่อความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกใน Inspexx 100™ เป็น 1.0 ppm เซลล์ *S. Typhimurium* DMST 14921 จะมีเซลล์บาดเจ็บเกิดขึ้นร้อยละ 72.58, 75.20, และ 98.46 เมื่อเวลาผ่านไป 15, 60, และ 180 วินาที ตามลำดับ ส่วนที่เวลา 300 วินาทีนั้น ไม่สามารถคำนวณร้อยละการบาดเจ็บได้เนื่องจากมีการทำลายเซลล์ *S. Typhimurium* DMST 14921 จนหมด

เมื่อเติมสารละลายเซลล์ *S. Typhimurium* DMST 14921 ลงใน Inspexx 100™ ซึ่งมีความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 5.0 ppm จะให้ผลทำนองเดียวกัน กล่าวคือ เซลล์ *S. Typhimurium* DMST 14921 ลดลงทันทีที่เวลา 15 วินาที และเกิดเป็นเซลล์บาดเจ็บร้อยละ 98.60 หลังจากนั้นที่เวลา 60 วินาที จะทำลายเซลล์ *S. Typhimurium* DMST 14921 จนหมด ไม่สามารถคำนวณร้อยละการเกิดเซลล์บาดเจ็บได้ เช่นกันที่ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 10.0 ppm ใน Inspexx 100™ ไม่สามารถคำนวณร้อยละการเกิดเซลล์บาดเจ็บได้ เนื่องจากมีการทำลายเซลล์ *S. Typhimurium* DMST 14921 ให้หมดไปตั้งแต่ 15 วินาทีแรก (ตารางที่ 12)

ส่วนการใช้ Inspexx 200™ ให้ผลทำนองเดียวกันกับการใช้ Inspexx 100™ กล่าวคือเมื่อความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 0.0 ppm หรือยังไม่มีการเติมสารฆ่าเชื้อ เซลล์ *S. Typhimurium* DMST 14921 ก่อนข้างคงที่ แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกเป็น 0.5 ppm พบว่าเซลล์บาดเจ็บจะเกิดขึ้นตั้งแต่ 15 วินาทีแรก คิดเป็นร้อยละ 43.93 และจะเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 58.32, 62.19, และ 67.24 เมื่อเวลาผ่านไป 60, 180, และ 300 วินาทีตามลำดับ ที่ความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกใน Inspexx 200™ สูงขึ้นจะมีการทำลายเซลล์ *S. Typhimurium* DMST 14921 ได้มากขึ้น และเกิดเซลล์บาดเจ็บมากขึ้นตามไปด้วย ที่ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 1.0 ppm ใน Inspexx 200™ ร้อยละการเกิดเซลล์บาดเจ็บจะเป็น 78.39, 79.31, และ 98.00 เมื่อเวลาผ่านไป 15, 60, และ 180 วินาที ส่วนที่เวลา 300 วินาทีนั้น จะไม่พบเซลล์บาดเจ็บ เนื่องจากมีการทำลายเซลล์ *S. Typhimurium* DMST 14921 ได้หมด (ตารางที่ 12)

ตารางที่ 12 เปรียบเทียบร้อยละการบาดเจ็บของ *S. Typhimurium* DMST 14921 หลังจากเติมสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 2 ชนิดคือ Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 0, 0.5, 1.0, 5.0, และ 10.0 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

สารเคมี	เวลา (วินาที)	ร้อยละการบาดเจ็บของ <i>S. Typhimurium</i> DMST 14921 ที่ความเข้มข้นต่างๆ ของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารละลาย Butterfield's phosphate buffer ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0				
		0 ppm	0.5 ppm	1.0 ppm	5.0 ppm	10.0 ppm
Inspexx 100 TM	0	0.61	0.74	0.62	-1.00	0.50
	15	0.62	43.39	72.58	98.60	-
	60	0.67	59.24	75.20	-	-
	180	0.65	70.28	98.46	-	-
	300	0.69	78.19	- ¹	-	-
Inspexx 200 TM	0	0.61	0.87	0.30	-0.24	0.09
	15	0.62	43.93	78.39	98.22	-
	60	0.67	58.32	79.31	-	-
	180	0.65	62.19	98.00	-	-
	300	0.69	67.24	-	-	-

หมายเหตุ ^{1/} = *S. Typhimurium* DMST 14921 ได้ถูกทำลายหมดไม่มีเซลล์บาดเจ็บ

2.1.3 *S. Virchow* DMST 14922

ประสิทธิภาพของกรดเปอร์ออกซีแอซิดที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในการทำลายเซลล์ *S. Virchow* DMST 14922 เริ่มต้นประมาณ $6.00 \log_{10}$ CFU ต่อมิลลิลิตรแสดงในภาพที่ 3 เมื่อเติม *S. Virchow* DMST 14922 ลงใน Butterfield's phosphate buffer ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0 ซึ่งยังไม่มีกรดเปอร์ออกซีแอซิดพบว่า เซลล์ *S. Virchow* DMST 14922 มีจำนวนคงที่ แสดงให้เห็นว่า Butterfield's phosphate buffer ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0 ไม่สามารถทำลายเซลล์ *S. Virchow* DMST 14922 ได้ และเป็นสภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *S. Virchow* DMST 14922

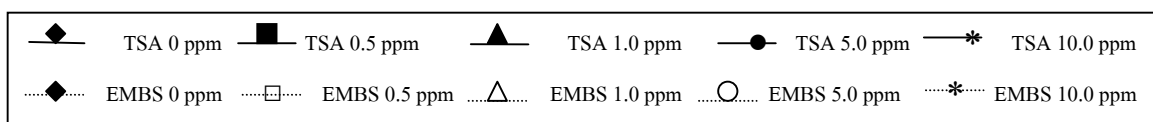
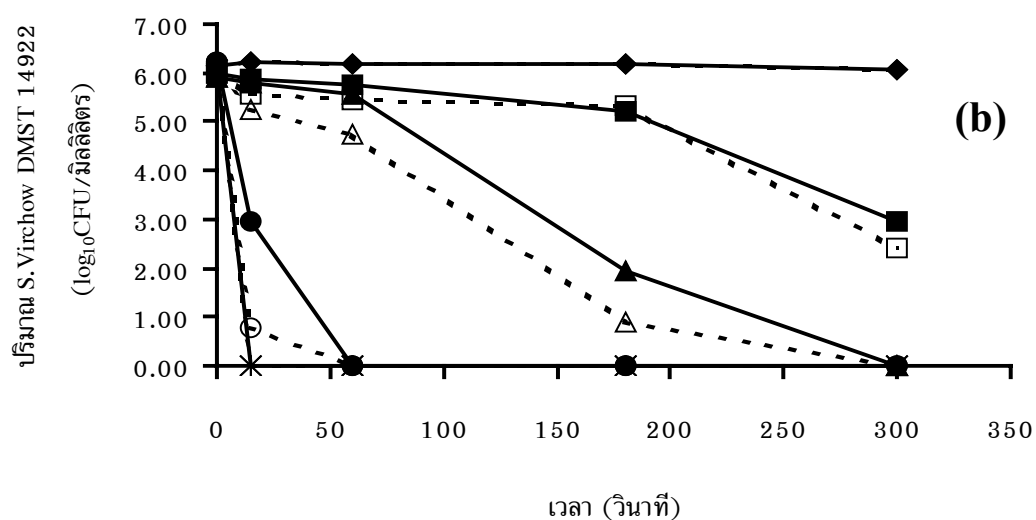
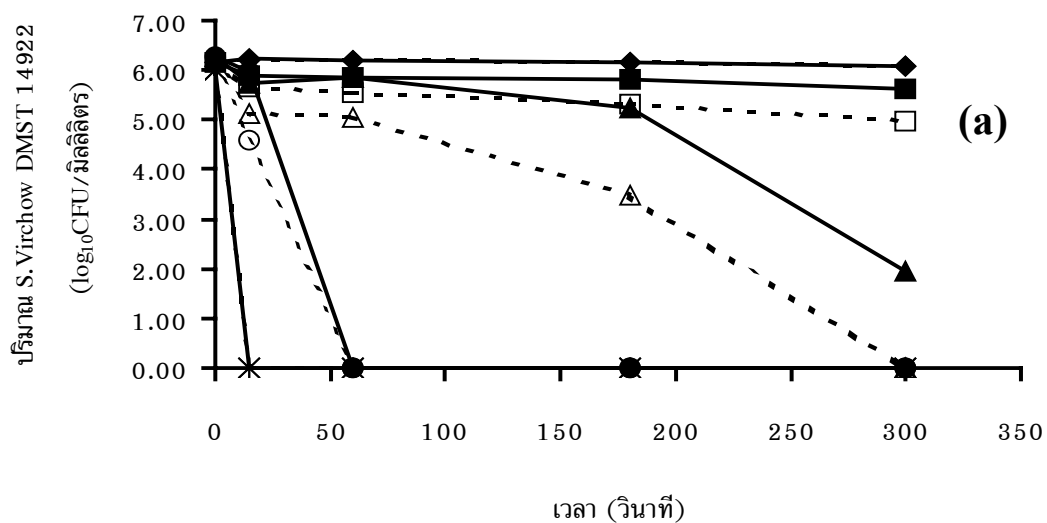
เมื่อเติม *S. Virchow* DMST 14922 ลงในสารละลาย Inspexx 100™ ที่กำหนดความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดเป็น 0.5 ppm แบคทีเรียมีปริมาณลดลงทันทีที่เวลา 15 วินาที พบปริมาณเซลล์ขาดเจ็บร้อยละ 39.25 เมื่อเวลาผ่านไป 60, 180, และ 300 วินาที เซลล์ขาดเจ็บเพิ่มมากขึ้นร้อยละ 48.65, 68.36, และ 78.26 ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิด 1.0 ppm เมื่อเติม *S. Virchow* DMST 14922 ลงไป เซลล์มีปริมาณลดลงทันที พบว่าเกิดการขาดเจ็บที่เวลา 15 วินาทีคิดเป็นร้อยละ 75.36 และสูงขึ้นเป็น 84.03, และ 98.27 เมื่อเวลาผ่านไป 60, และ 180 วินาที และที่เวลา 300 วินาที เกิดเซลล์ขาดเจ็บสูงสุดคิดเป็นร้อยละ 100.00 ส่วนที่ความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดเท่ากับ 5.0 ppm นั้น เซลล์ *S. Virchow* DMST 14922 เกิดเป็นเซลล์ขาดเจ็บที่เวลา 15 วินาที คิดเป็นร้อยละ 95.78 และไม่สามารถคำนวณปริมาณเซลล์ขาดเจ็บได้ที่เวลา 60 วินาทีเนื่องจากการทำลายเซลล์ *S. Virchow* DMST 14922 หดไป สำหรับที่ความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิด 10.0 ppm ไม่มีเซลล์ขาดเจ็บของ *S. Virchow* DMST 14922 เพราะมีการทำลายจนหมดตั้งแต่ 15 วินาทีแรกของการสัมผัสสารฆ่าเชื้อ (ตารางที่ 13)

ส่วนการใช้กรดเปอร์ออกซีแอซิดในสารละลาย Inspexx 200™ ให้ผลเช่นเดียวกันกับเมื่อใช้ Inspexx 100™ กล่าวคือปริมาณเซลล์ *S. Virchow* DMST 14922 ลดลงทันทีภายหลังเติมสารละลาย Inspexx 200™ ซึ่งมีความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิด 0.5 ppm และมีเซลล์ขาดเจ็บเกิดขึ้นร้อยละ 47.27 และเพิ่มสูงขึ้นเป็น 51.38, 68.00, และ 70.33 เมื่อเวลาผ่านไป 60, 180, และ 300 วินาทีตามลำดับ ที่ความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดเพิ่มขึ้นเป็น 1.0 ppm จะมีเซลล์ขาดเจ็บเกิดขึ้นร้อยละ 72.06, 85.28, และ 91.11 เมื่อเวลาผ่านไป 15, 60, และ 180 วินาที ส่วนที่เวลา 300 วินาทีนั้นไม่สามารถคำนวณร้อยละของเซลล์ขาดเจ็บที่เกิดขึ้นได้ เนื่องจากการทำลายเซลล์ *S. Virchow* DMST 14922 จนหมดไม่เกิดเซลล์ขาดเจ็บ

ตารางที่ 13 เปรียบเทียบร้อยละการบาดเจ็บของ *S. Virchow* DMST 14922 หลังจากเติมสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 2 ชนิดคือ Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 0, 0.5, 1.0, 5.0, และ 10.0 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

สารเคมี	เวลา (วินาที)	ร้อยละการบาดเจ็บของ <i>S. Virchow</i> DMST 14922 ที่ความเข้มข้นต่างๆ ของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารละลาย Butterfield's phosphate buffer ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0				
		0 ppm	0.5 ppm	1.0 ppm	5.0 ppm	10.0 ppm
Inspexx 100 TM	0	1.38	1.38	2.16	2.78	1.58
	15	2.42	39.25	75.36	95.78	-
	60	0.65	48.65	84.03	- ¹	-
	180	2.00	68.36	98.27	-	-
	300	1.67	78.26	100.00	-	-
Inspexx 200 TM	0	1.38	1.05	1.88	1.76	2.50
	15	1.82	47.27	72.06	99.33	-
	60	2.58	51.38	85.28	-	-
	180	1.33	68.00	91.11	-	-
	300	2.50	70.33	-	-	-

หมายเหตุ ^{1/} = *S. Virchow* DMST 14922 ได้ถูกทำลายหมดไม่มีเซลล์บาดเจ็บ



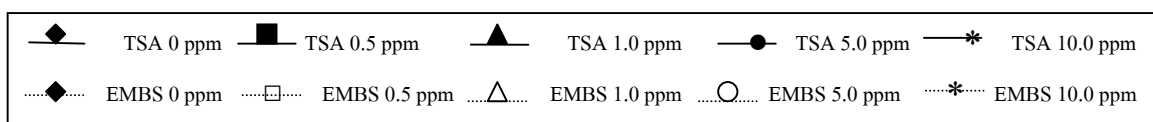
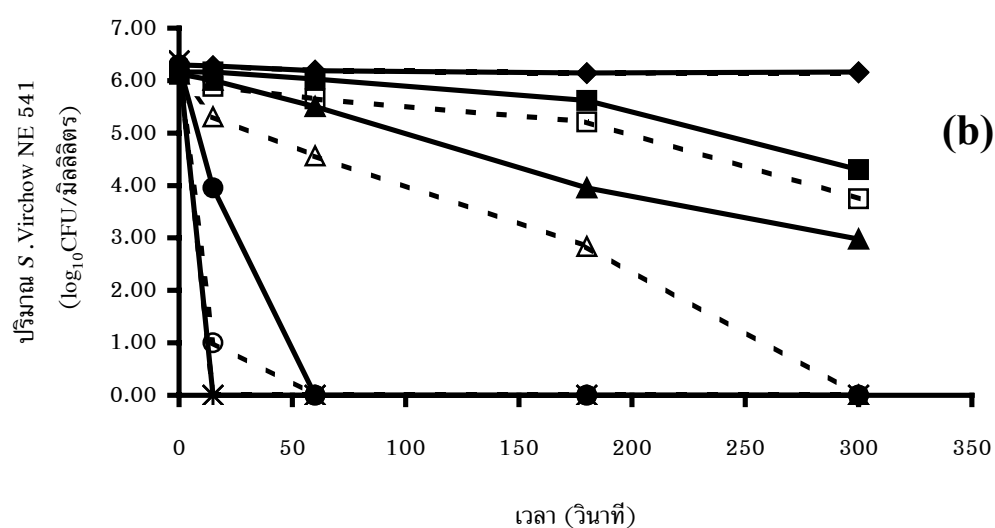
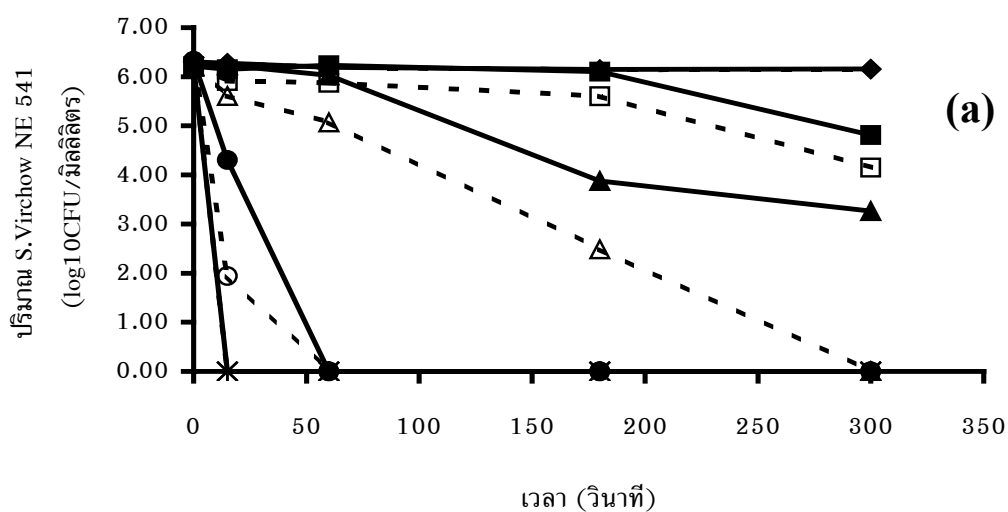
ภาพที่ 3 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของกรดเปอร์ออกซีแอซีติกในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซีติกทางการค้า (Inspexx 100TM (a) และ Inspexx 200TM (b)) ในการทำลายและการบาดเจ็บของเซลล์ *S. Virchow* DMST 14922 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของกรดเปอร์ออกซีแอซีติก

เมื่อเติม *S. Virchow* DMST 14922 ลงในสารละลาย Inspexx 200™ กำหนดความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 5.0 ppm เซลล์ *S. Virchow* DMST 14922 เกิดการบาดเจ็บสูงสุดที่เวลา 15 วินาที คิดเป็นร้อยละ 99.33 หลังจากนั้นไม่สามารถคำนวณจำนวนเซลล์บาดเจ็บที่เกิดขึ้นได้ ที่ความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 10.0 ppm เนื่องจากการทำลายเซลล์ *S. Virchow* DMST 14922 หมดไปภายในเวลา 15 วินาที (ตารางที่ 14)

2.1.4 *S. Virchow* NE 541

ภาพที่ 4 แสดงประสิทธิภาพของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ที่ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกต่างๆ ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 2 ชนิด คือ Inspexx 100™ และ Inspexx 200™ ต่อการทำลาย *S. Virchow* NE 541 ซึ่งมีแบบแผนการติดต่อสารด้านจุลชีพเป็น Amp Aml Cn E F K Na P S W Pb และในสารละลายมีเซลล์ เริ่มต้น ประมาณ $6.00 \log_{10}$ CFU ต่อ มิลลิลิตร ที่ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 0.0 ppm หรือยังไม่ได้เติมสารฆ่าเชื้อ พบว่า เซลล์ *S. Virchow* NE 541 ค่อนข้างคงที่ ปริมาณเซลล์ที่นับได้บน TSA ซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Non-selective media เปรียบเทียบกับปริมาณเซลล์ที่นับได้บน EMBS ซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Selective media ใกล้เคียงกัน แสดงให้เห็นว่าเซลล์ *S. Virchow* NE 541 ที่ใช้ศึกษาเป็นเซลล์ที่สมบูรณ์

เมื่อใช้ Inspexx 100™ ที่ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 0.5 ppm พบว่า *S. Virchow* NE 541 เกิดเป็นเซลล์บาดเจ็บทันทีที่ระยะเวลาการสัมผัสสารฆ่าเชื้อ 15 วินาที โดยมีร้อยละการบาดเจ็บคิดเป็น 43.22 ในขณะที่ระยะเวลาการสัมผัสสารฆ่าเชื้อเพิ่มขึ้นเป็น 60, 180, และ 300 วินาที เซลล์ *S. Virchow* NE 541 เกิดเป็นเซลล์บาดเจ็บเพิ่มขึ้นคือมีร้อยละการบาดเจ็บคิดเป็น 56.38, 68.50, และ 78.31 ตามลำดับ เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกเป็น 1.0 ppm เซลล์ *S. Virchow* NE 541 เกิดเป็นเซลล์บาดเจ็บคิดเป็นร้อยละ 78.30, 89.01, และ 95.95 เมื่อเวลาผ่านไป 15, 60, และ 180 วินาทีตามลำดับ สำหรับที่เวลา 300 วินาที มีการทำลายเซลล์ *S. Virchow* NE 541 มากกว่าร้อยละ 90.00 และเกิดเป็นเซลล์บาดเจ็บทั้งหมดคิดเป็นร้อยละ 100.00



ภาพที่ 4 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก
ทางการค้า (Inspexx 100TM (a) และ Inspexx 200TM (b)) ในการทำลายและการบาดเจ็บ
ของเซลล์ *S. Virchow* NE 541 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก

ส่วนการใช้ Inspexx 100™ ที่ความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกเป็น 5.0 ppm เซลล์ *S. Virchow* NE 541 เกิดเป็นเซลล์บาดเจ็บที่เวลาการสัมผัสสารฆ่าเชื้อ 15 วินาที คิดเป็นร้อยละ 95.56 และหลังจากนั้นไม่สามารถคำนวณร้อยละการเกิดเซลล์บาดเจ็บได้ เนื่องจากมีการทำลายเซลล์ *S. Virchow* NE 541 จนหมด เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกให้สูงขึ้นเป็น 10.0 ppm พบว่ามีการทำลายเซลล์ *S. Virchow* NE 541 ทั้งหมดภายในเวลา 15 วินาที จึงไม่สามารถคำนวณร้อยละการเกิดเซลล์บาดเจ็บได้ (ตารางที่ 14)

การใช้ Inspexx 200™ ที่ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 5 ระดับคือ 0, 0.5, 1.0, 5.0, และ 10.0 ppm พบว่าให้ผลในทำนองเดียวกันกับการใช้ Inspexx 100™ กล่าวคือที่ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 0.5 ppm นอกจากสามารถทำลาย *S. Virchow* NE 541 ได้แล้ว ยังทำให้เซลล์ *S. Virchow* NE 541 เกิดเป็นเซลล์บาดเจ็บได้ โดยมีร้อยละการเกิดเซลล์บาดเจ็บที่เวลาการสัมผัสสารฆ่าเชื้อ 15 วินาที คิดเป็น 46.28 และเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 58.22, 60.48, และ 72.20 ตามลำดับ เมื่อเวลาการสัมผัสสารฆ่าเชื้อเป็น 60, 180, และ 300 วินาที ที่ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 1.0 ppm เซลล์ *S. Virchow* NE 541 จะเกิดเป็นเซลล์บาดเจ็บคิดเป็นร้อยละ 79.90, 88.56, 92.40, และ 99.89 เมื่อเวลาการสัมผัสสารฆ่าเชื้อผ่านไป 15, 60, 180, และ 300 วินาที ตามลำดับ

เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในสารละลาย Inspexx 200™ สูงขึ้นเป็น 5.0 ppm จะมีการทำลายเซลล์ *S. Virchow* NE 541 มากกว่าร้อยละ 90.00 และเกิดเป็นเซลล์บาดเจ็บร้อยละ 99.89 เมื่อเวลาการสัมผัสสารฆ่าเชื้อ 15 วินาที สำหรับที่เวลา 60, 180, และ 300 วินาที มีการทำลายเซลล์ *S. Virchow* NE 541 จนหมดไม่สามารถคำนวณร้อยละของเซลล์บาดเจ็บที่เกิดขึ้นได้ ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกสูงถึง 10.0 ppm จะทำลายเซลล์ *S. Virchow* NE 541 จนหมดภายใน 15 วินาที จึงไม่สามารถคำนวณเซลล์บาดเจ็บที่เกิดขึ้นได้ (ตารางที่ 14)

เซลล์บาดเจ็บจะสูญเสียสภาพความสามารถในการเพิ่มจำนวนเซลล์ได้ชั่วคราวในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารอาหารต่ำ แต่สามารถเพิ่มจำนวนเซลล์ได้ในอาหารที่มีสารอาหารปริมาณมากและสมบูรณ์ เซลล์บาดเจ็บจะเจริญและคืนสภาพในอาหารเลี้ยงเชื้อประเภท Complete media ดังนั้นจึงสังเกตเห็นเซลล์ *Salmonella* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ เจริญและคืนสภาพบนอาหาร TSA ซึ่งเป็นอาหารประเภทที่มีสารอาหารสมบูรณ์ เนื่องจากสภาวะการเกิดกระบวนการเมตาบอลิซึมของ

เซลล์ที่บาดเจ็บต่างไปจากเซลล์ที่ไม่บาดเจ็บ ทำให้เซลล์บาดเจ็บต้องการสารอาหารในการคืนสภาพ และเพื่อกิจกรรมภายในเซลล์ (Straka and Stokes, 1959) สภาวะหลายอย่างที่สามารถทำให้เซลล์ของจุลินทรีย์เกิดการบาดเจ็บ และเซลล์บาดเจ็บจะสูญเสียความสามารถในการเพิ่มจำนวนชั่วคราวในอาหารเลี้ยงเชื้อประเภท Selective media ซึ่งมีการเติมสารประกอบ Selective ลงไปในอาหารมากกว่า 1 ชนิด แต่สามารถเจริญเพิ่มจำนวนในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารอาหารต่ำหรือสูงก็ได้ แต่มีข้อจำกัดว่าต้องไม่มีการเติมสารประกอบ Selective ลงไป (Ray, 1979)

ตารางที่ 14 เปรียบเทียบร้อยละการบาดเจ็บของ *S. Virchow* NE 541 หลังจากเติมสารผสมกรดเปอร้ออกซีแอซิดิก 2 ชนิดคือ Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร้ออกซีแอซิดิก 0, 0.5, 1.0, 5.0, และ 10.0 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

สารเคมี	เวลา (วินาที)	ร้อยละการบาดเจ็บของ <i>S. Virchow</i> NE 541 ที่ความเข้มข้นต่างๆ ของกรดเปอร้ออกซีแอซิดิก ในสารละลาย Butterfield's phosphate buffer ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0				
		0 ppm	0.5 ppm	1.0 ppm	5.0 ppm	10.0 ppm
Inspexx 100 TM	0	-0.50	1.21	1.82	0.95	1.82
	15	1.58	43.22	76.30	99.56	-
	60	1.29	56.38	89.01	- ¹	-
	180	1.43	68.50	95.95	-	-
	300	2.07	78.31	100.00	-	-
Inspexx 200 TM	0	1.50	1.38	0.00	1.50	-0.85
	15	2.11	46.28	79.90	99.89	-
	60	-0.65	58.22	88.56	-	-
	180	2.14	60.48	92.40	-	-
	300	2.07	72.20	99.89	-	-

หมายเหตุ ^{1/} = *S. Virchow* NE 541 ได้ถูกทำลายหมดไม่มีเซลล์บาดเจ็บ

3.2 ผลของอุณหภูมิของกรดเปอร้ออกซีแอซิดิก ในสารผสมกรดเปอร้ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM) ต่อการเกิดเซลล์บาดเจ็บของ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541

จากผลการทดลองในข้อ 2.1 ทำให้ทราบว่าผลของกรดเปอร้ออกซีแอซิดิก ในสารผสมกรดเปอร้ออกซีแอซิดิกทั้ง 2 ชนิด ต่อการเกิดเซลล์บาดเจ็บของเซลล์ *Salmonella* sp. 4 สายพันธุ์ ขึ้นอยู่กับปัจจัย 2 ปัจจัยคือ ระดับความเข้มข้น และระยะเวลาการสัมผัสสารมาเชื้อ โดยเมื่อเพิ่มปัจจัยดังกล่าว จะทำให้อัตราการเกิดเซลล์บาดเจ็บเพิ่มมากขึ้น จึงทำการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเกิดเซลล์บาดเจ็บของ *Salmonella* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ ซึ่งมีสมมุติฐานว่า อุณหภูมิมีผลต่อการเกิดเซลล์บาดเจ็บของ *Salmonella* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์เนื่องจากกรดเปอร้ออกซีแอซิดิก โดยอุณหภูมิที่สูงขึ้นจะส่งเสริมให้เกิดเซลล์บาดเจ็บเพิ่มมากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบที่ระดับความเข้มข้น และระยะเวลาการสัมผัสสารมาเชื้อเท่ากัน การศึกษาผลของอุณหภูมิของกรดเปอร้ออกซีแอซิดิกต่อการเกิดเซลล์บาดเจ็บนี้ ทำการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างอุณหภูมิ 4 ระดับคือ เมื่อใช้กรดเปอร้ออกซีแอซิดิกที่อุณหภูมิ 4, 37, 55 องศาเซลเซียส, และอุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) กำหนดความเข้มข้นสุดท้ายของกรดเปอร้ออกซีแอซิดิกในสารละลาย Butterfield's phosphate buffer ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0 ทั้งสิ้น 5 ระดับคือ 0, 0.5, 1.0, 5.0, และ 10.0 ppm โดยมีเซลล์เริ่มต้นประมาณ 6.00 log₁₀ CFUต่อมิลลิลิตรที่ระดับเวลาต่างๆ กรดเปอร้ออกซีแอซิดิกมีประสิทธิภาพในการทำลายเซลล์ *Salmonella* sp. และยังคงมีผลทำให้เซลล์ *Salmonella* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ เกิดเป็นเซลล์บาดเจ็บ ซึ่งสามารถตรวจได้จากความแตกต่างระหว่างอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Non-selective media และ Selective media

เมื่อเติม *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 เริ่มต้นประมาณ 6.00 log₁₀ CFUต่อมิลลิลิตร ลงในสารละลาย Inspexx 100TM ซึ่งมีความเข้มข้นของกรดเปอร้ออกซีแอซิดิก 0 ppm ที่ระดับอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ผลการทดลองแสดงให้เห็นที่เวลา 15 วินาทีจะมีอัตราการเกิดเซลล์บาดเจ็บคิดเป็น 0.00, 0.62, 0.65, และ 2.42 ตามลำดับ และเมื่อเวลาผ่านไป 60, 180, และ 300 วินาที เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 มีอัตราการเกิดเซลล์บาดเจ็บคิดเป็น 0.62, 0.65, และ 0.65 ตามลำดับ ส่วนเซลล์ *S. Typhimurium* DMST 14921 เกิดเป็นเซลล์บาดเจ็บร้อยละ 0.67, 0.65, และ 0.69 ตามลำดับ เซลล์ *S. Virchow* DMST 14922 เกิดเป็นเซลล์บาดเจ็บร้อยละ 0.65, 0.62, และ 1.21 ตามลำดับ และ เซลล์ *S. Virchow* NE 541 เกิดเป็นเซลล์บาดเจ็บร้อยละ 1.29, 2.00, และ 1.67 ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ที่ระดับอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ ไม่มีการเติมสารมาเชื้อ ไม่มีผลต่อการเกิดเซลล์เกิดการบาดเจ็บ และไม่ได้

ตารางที่ 15 เปรียบเทียบร้อยละการเกิดเซลล์บาดเจ็บของ *Salmonella* sp. ในสารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100™) ความเข้มข้น 0 ppm ที่อุณหภูมิ 4, 37, 55 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (วินาที)	ร้อยละการบาดเจ็บของ <i>Salmonella</i> sp. ที่ความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 0 ppm ในสารละลาย Butterfield's phosphate buffer ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0			
		<i>S. Typhimurium</i>		<i>S. Virchow</i>	
		ATCC 13311	DMST 14921	DMST 14922	NE 541
4	0	0.67	0.61	1.25	1.38
	15	0.00	0.62	0.65	2.42
	60	0.62	0.67	0.65	1.29
	180	0.65	0.65	0.62	2.00
	300	0.65	0.69	1.21	1.67
27 ¹	0	-0.25	-0.61	1.38	-0.50
	15	0.53	0.62	2.42	1.58
	60	0.56	0.67	0.65	1.29
	180	0.54	0.65	2.00	1.43
	300	0.51	0.69	1.67	2.07
37	0	0.36	0.36	1.36	-0.63
	15	0.38	1.15	1.72	-1.25
	60	0.36	1.07	2.50	1.38
	180	0.38	1.11	1.41	1.94
	300	0.74	1.13	1.07	1.24
55	0	0.44	1.33	2.37	2.27
	15	88.91	90.30	85.28	60.27
	60	91.27	93.17	86.32	91.71
	180	95.23	97.17	89.69	93.34
	300	99.35	98.30	95.36	96.36

หมายเหตุ

^{1/} = อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

ตารางที่ 16 เปรียบเทียบร้อยละการเกิดเซลล์บาดเจ็บของ *Salmonella* sp. ในสารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 200™) ความเข้มข้น 0 ppm ที่อุณหภูมิ 4, 37, 55 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (วินาที)	ร้อยละการบาดเจ็บของ <i>Salmonella</i> sp. ที่ความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 0 ppm ในสารละลาย Butterfield's phosphate buffer ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0			
		<i>S. Typhimurium</i>		<i>S. Virchow</i>	
		ATCC 13311	DMST 14921	DMST 14922	NE 541
4	0	0.00	0.62	1.33	1.38
	15	0.00	0.61	0.65	3.03
	60	0.65	0.65	1.25	2.00
	180	0.61	0.69	1.82	2.00
	300	0.67	0.67	0.65	2.40
27 ¹	0	0.50	0.61	1.38	1.50
	15	0.53	0.62	1.82	2.11
	60	0.56	0.67	2.58	-0.65
	180	1.08	0.65	1.33	2.14
	300	0.51	0.69	2.50	2.07
37	0	0.36	0.34	1.54	0.57
	15	-0.36	1.27	1.93	1.27
	60	0.36	1.09	2.17	-0.63
	180	0.36	2.07	2.45	2.35
	300	0.38	1.27	0.39	1.16
55	0	0.35	0.32	3.45	1.36
	15	86.30	87.24	86.27	85.32
	60	90.27	88.27	90.18	88.99
	180	96.21	90.28	95.27	91.26
	300	99.26	92.19	96.35	95.18

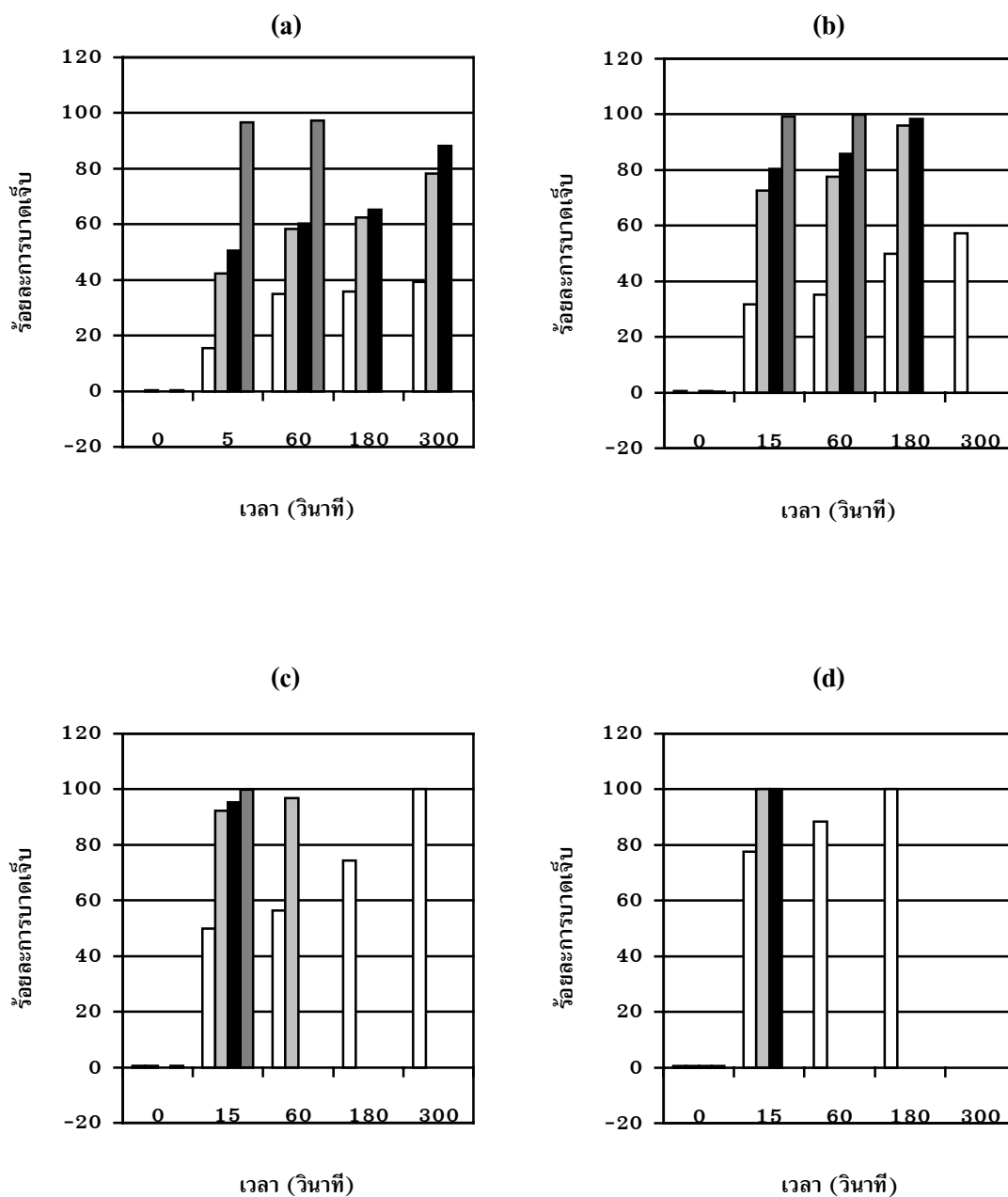
หมายเหตุ

^{1/} = อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

ทำให้ร้อยละการเกิดเซลล์บาดเจ็บเพิ่มสูงขึ้นอย่างชัดเจนเมื่อเวลาผ่านไป 300 วินาที เปรียบเทียบกับที่อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 0 ppm หรืออีกนัยหนึ่งไม่มีการเติมสารฆ่าเชื้อ ที่ระยะเวลาต่างๆ ให้ผลทำนองเดียวกันคือไม่มีผลทำให้เซลล์ *Salmonella* sp. เกิดเป็นเซลล์บาดเจ็บเพิ่มสูงขึ้นอย่างชัดเจน ในขณะที่เมื่อปรับระดับอุณหภูมิให้สูงขึ้นเป็น 55 องศาเซลเซียส และใช้ความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 0.0 ppm เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 เกิดเป็นเซลล์บาดเจ็บคิดเป็นร้อยละ 0.44, 88.91, 91.27, 95.23, และ 99.35 ส่วนเซลล์ *S. Typhimurium* DMST 14921 เกิดเป็นเซลล์บาดเจ็บร้อยละ 1.33, 90.30, 93.17, 97.17, และ 98.30 เซลล์ *S. Virchow* DMST 14922 เกิดเป็นเซลล์บาดเจ็บคิดเป็นร้อยละ 1.36, 85.32, 88.99, 91.26, และ 95.18 สำหรับเซลล์ *S. Virchow* NE 541 เกิดเป็นเซลล์บาดเจ็บร้อยละ 2.27, 90.27, 91.71, 93.34, และ 96.36 เมื่อเวลาผ่านไป 0, 15, 60, 180, และ 300 วินาที ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ความร้อนเพียงอย่างเดียวสามารถทำให้เซลล์ *Salmonella* sp. เกิดเป็นเซลล์บาดเจ็บได้ และมีปริมาณมากขึ้นเมื่อเวลามากขึ้น (ตารางที่ 15)

ส่วนการใช้สารละลาย Inspexx 200™ ซึ่งกำหนดความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกเป็น 0.0 ppm หรืออีกนัยหนึ่งคือไม่มีการเติมสารฆ่าเชื้อ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ที่ระดับอุณหภูมิ 4, 37 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) เซลล์ *Salmonella* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ไม่ได้เกิดเป็นเซลล์บาดเจ็บมากขึ้นจนสังเกตเห็นได้ชัดเจนเมื่อเวลาผ่านไป 0, 15, 16, 180, และ 300 วินาที ในขณะที่เซลล์ *Salmonella* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ จะเกิดเป็นเซลล์บาดเจ็บเมื่อปรับอุณหภูมิจนสูงขึ้นเป็น 55 องศาเซลเซียส โดยที่ระดับอุณหภูมินี้เองทำให้เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 เกิดการบาดเจ็บร้อยละ 0.35, 86.30, 90.27, 96.21, 99.26 เมื่อเวลาผ่านไป 0, 15, 60, 180, และ 300 วินาที ตามลำดับ ทำให้เซลล์ *S. Typhimurium* DMST 14921 เกิดเป็นเซลล์บาดเจ็บร้อยละ 0.32, 87.24, 88.27, 90.28, และ 92.19 ตามลำดับ มีผลทำให้เซลล์ *S. Virchow* DMST 14922 เกิดเป็นเซลล์บาดเจ็บร้อยละ 3.45, 86.27, 90.18, 95.27, และ 96.35 ตามลำดับ และทำให้เซลล์ *S. Virchow* NE 541 เกิดเป็นเซลล์บาดเจ็บร้อยละ 1.36, 85.32, 88.99, 91.26, และ 95.18 ตามลำดับ (ตารางที่ 16)

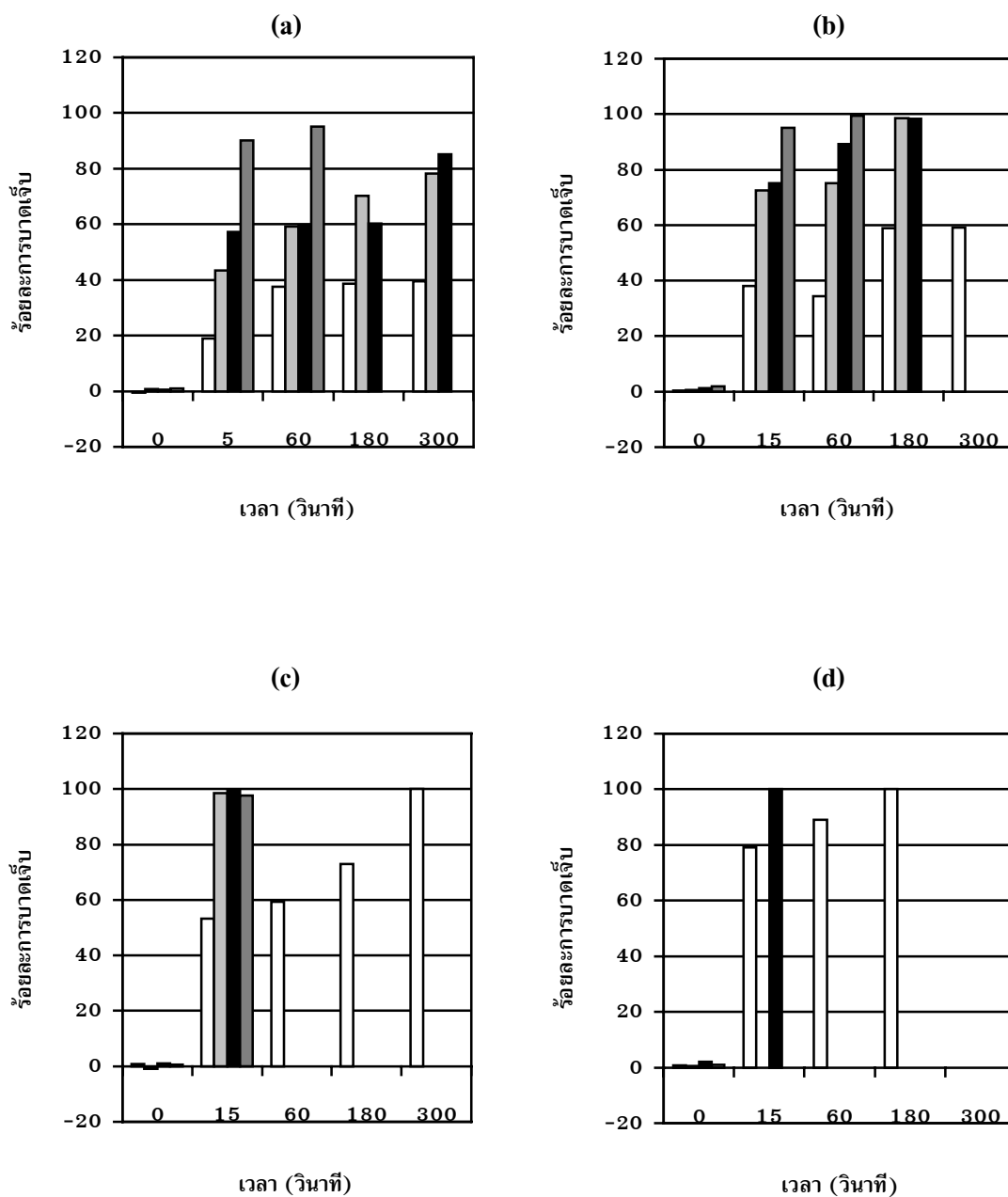
ผลการทดลองที่ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกเป็น 0.5 ppm ในสารละลาย Inspexx 100™ พบว่า เวลาที่ใช้ในการทำให้เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 (ภาพที่ 5) และเซลล์ *S. Virchow* NE 541 (ภาพที่ 8) เกิดการบาดเจ็บมากกว่าร้อยละ 60 ที่ระดับอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ต้องใช้เวลามากกว่า 300 วินาที ในขณะที่ใช้เวลา 180 วินาที ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) ในการทำให้เซลล์ดังกล่าวเกิดการบาดเจ็บในปริมาณใกล้เคียงกัน ส่วนที่ระดับอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ต้องใช้เวลา 60 วินาที และใช้น้อยกว่า 15 วินาที



ภาพที่ 5 เปรียบเทียบร้อยละการเกิดเซลล์ขาดชีพของ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ในสารละลาย Inspexx 100TM ที่ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 0.5 ppm (a), 1.0 ppm (b), 5.0 ppm (c), และ 10.0 ppm (d)

หมายเหตุ

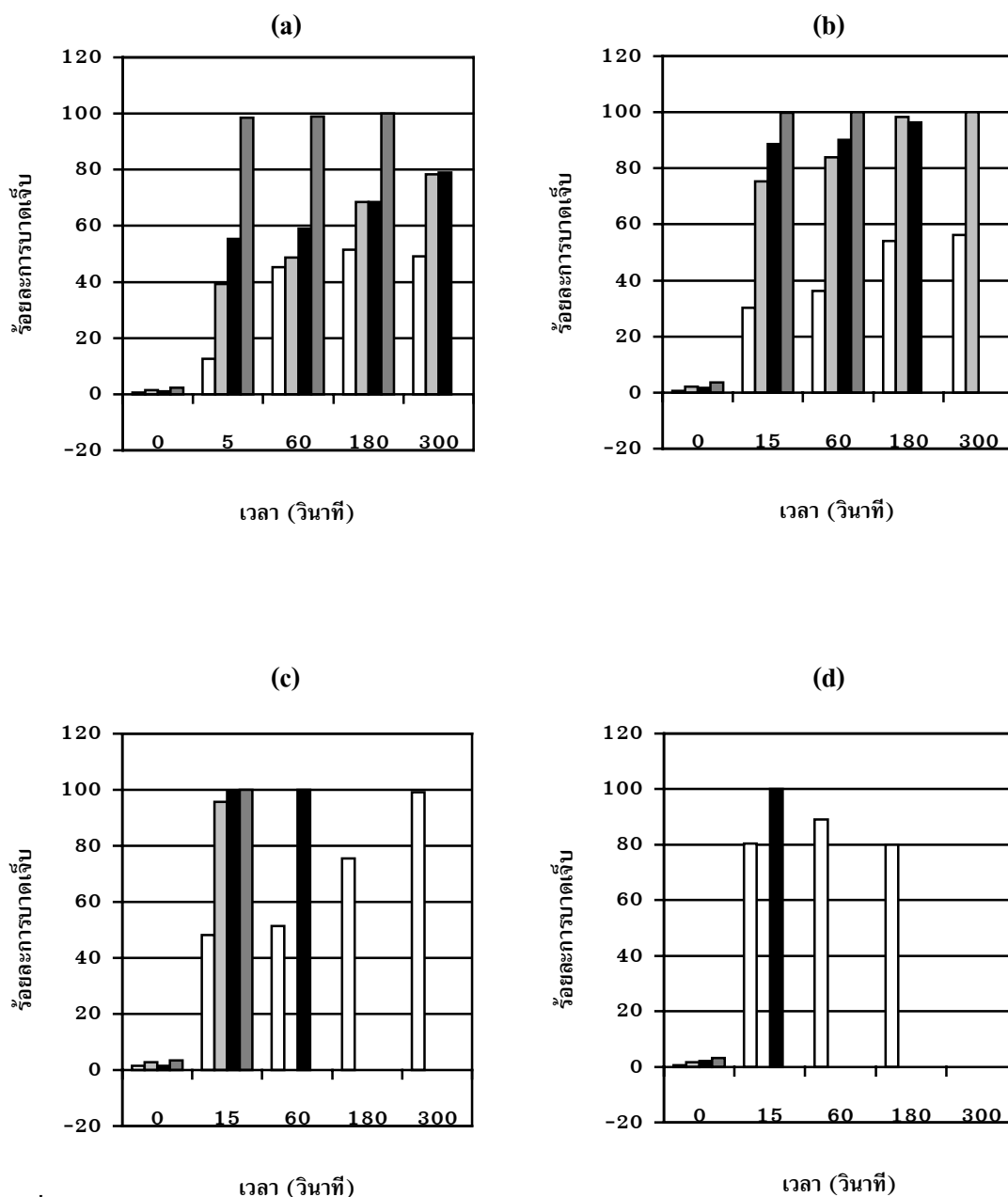
- = ร้อยละการขาดชีพที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
- ▒ = ร้อยละการขาดชีพที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)
- = ร้อยละการขาดชีพที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส
- = ร้อยละการขาดชีพที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 6 เปรียบเทียบร้อยละการเกิดเซลล์บาดเจ็บของ *S. Typhimurium* DMST 14921 ในสารละลาย Inspexx 100TM ที่ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 0.5 ppm (a), 1.0 ppm (b), 5.0 ppm (c), และ 10.0 ppm (d)

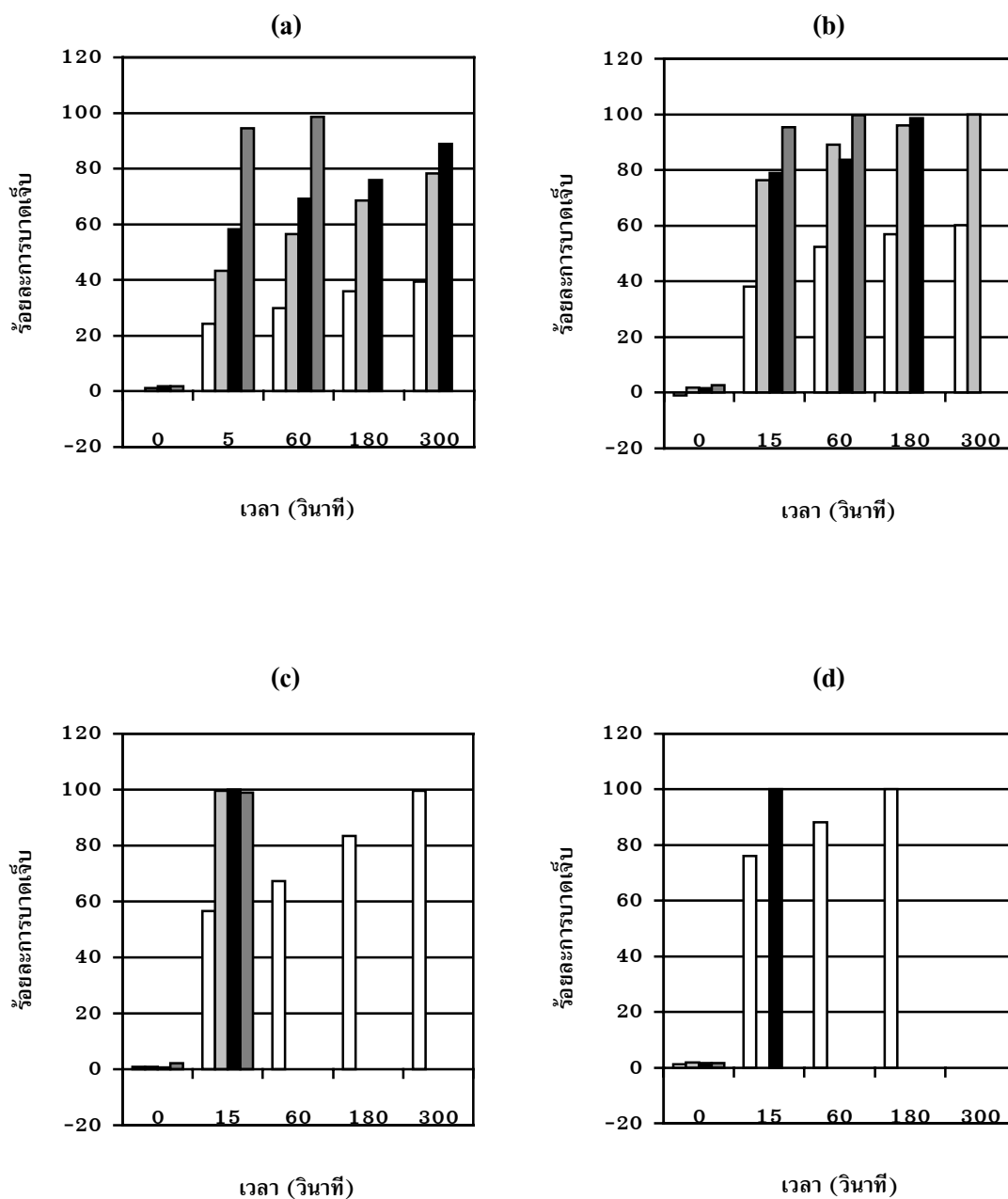
หมายเหตุ

- = ร้อยละการบาดเจ็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
- ▒ = ร้อยละการบาดเจ็บที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)
- = ร้อยละการบาดเจ็บที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส
- = ร้อยละการบาดเจ็บที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 7 เปรียบเทียบร้อยละการเกิดเซลล์บาดเจ็บของ *S. Virchow* DMST 14922 ในสารละลาย Inspexx 100TM ที่ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร้ออกซีแอซิด 0.5 ppm (a), 1.0 ppm (b), 5.0 ppm (c), และ 10.0 ppm (d)

หมายเหตุ □ = ร้อยละการบาดเจ็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
 □ = ร้อยละการบาดเจ็บที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)
 ■ = ร้อยละการบาดเจ็บที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส
 ■ = ร้อยละการบาดเจ็บที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 8 เปรียบเทียบร้อยละการเกิดเซลล์ขาดเจ็บของ *S. Virchow* NE 541 ในสารละลาย Inspexx 100TM ที่ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 0.5 ppm (a), 1.0 ppm (b), 5.0 ppm (c), และ 10.0 ppm (d)

หมายเหตุ □ = ร้อยละการขาดเจ็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
 □ = ร้อยละการขาดเจ็บที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)
 ■ = ร้อยละการขาดเจ็บที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส
 ■ = ร้อยละการขาดเจ็บที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

จึงจะทำให้เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 และเซลล์ *S. Virchow* NE 541 เกิดเป็นเซลล์บาดเจ็บมากกว่าร้อยละ 60

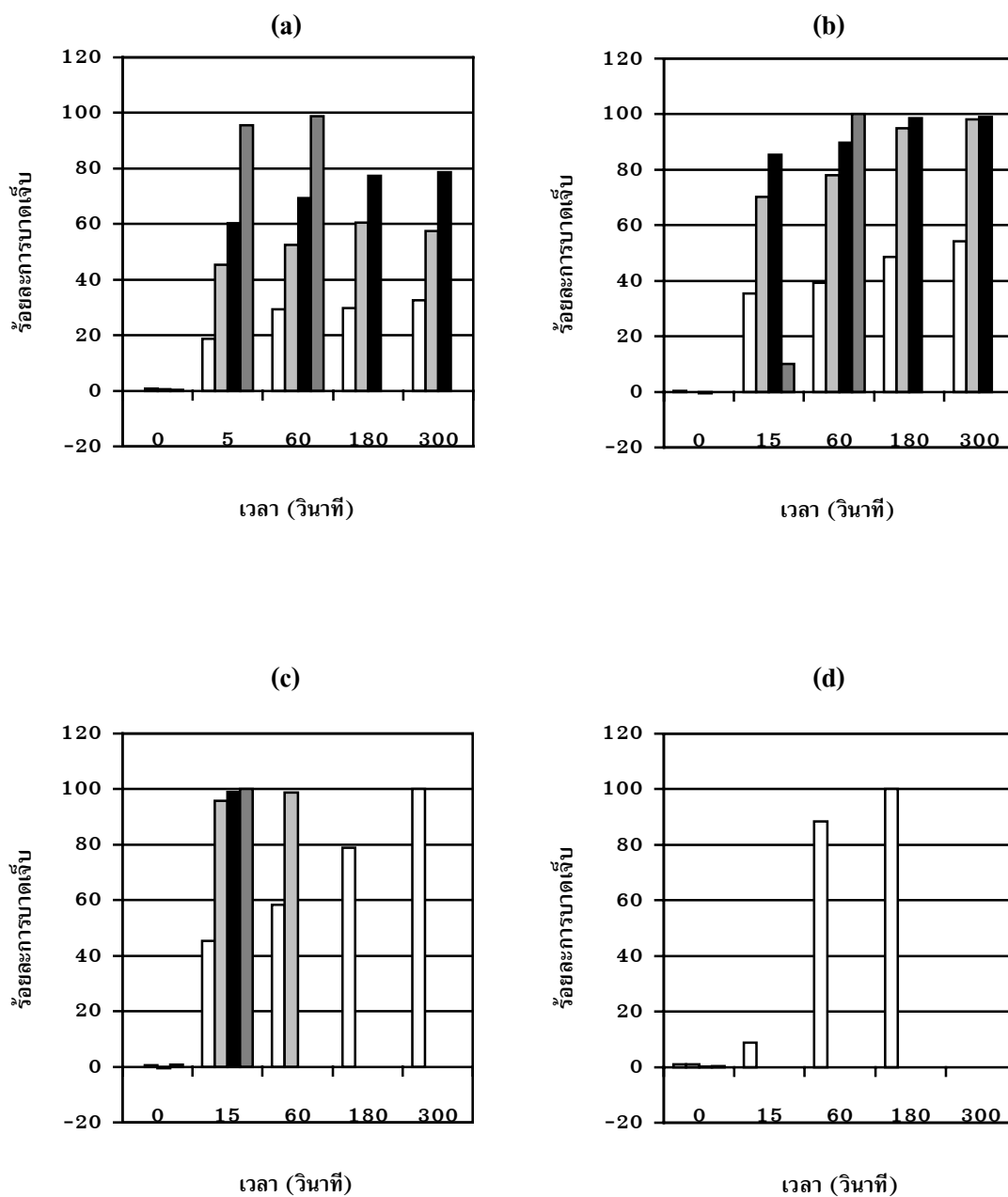
เวลาที่ลดลงเพื่อให้เซลล์ *Salmonella* sp. เกิดการบาดเจ็บมากกว่าร้อยละ 60 ที่ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 0.5 ppm ในสารละลาย Inspexx 100™ เกิดขึ้นกับเซลล์ *Salmonella* sp. อีกทั้ง 2 สายพันธุ์ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า เวลาที่ทำให้เซลล์ *S. Typhimurium* DMST 14921 (ภาพที่ 6) และเซลล์ *S. Virchow* DMST (ภาพที่ 7) 14922 เกิดเป็นเซลล์บาดเจ็บมากกว่าร้อยละ 60 ต้องใช้เวลามากกว่า 300 วินาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มากกว่า 60 วินาที ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) และอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในขณะที่จะใช้เวลาน้อยกว่า 15 วินาที ที่ระดับอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในสารละลาย Inspexx 100™ เป็น 1.0 ppm และพิจารณาเวลาที่ทำให้เซลล์ *Salmonella* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ เกิดเป็นเซลล์บาดเจ็บมากกว่าร้อยละ 80 พบว่าที่ระดับอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ต้องใช้เวลามากกว่า 300 วินาที ในการทำให้เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, และ *S. Virchow* DMST 14922 เกิดเป็นเซลล์บาดเจ็บในปริมาณดังกล่าว โดยที่เวลา 300 วินาทีเซลล์ *Salmonella* sp. ทั้ง 3 สายพันธุ์ เกิดเซลล์บาดเจ็บคิดเป็นร้อยละ 57.20, 59.09, และ 56.19 ตามลำดับ ส่วนเซลล์ *S. Virchow* NE 541 ใช้เวลา 300 วินาที จำนวนเซลล์บาดเจ็บคิดเป็น ร้อยละ 60.17 ผลการทดลองยังคงแสดงให้เห็นว่าการเกิดเซลล์บาดเจ็บมากกว่าร้อยละ 80 ที่อุณหภูมิสูงขึ้นนั้นจะใช้เวลาน้อยลง โดยจะใช้เวลา 180 วินาที สำหรับเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 และ เซลล์ *S. Typhimurium* DMST 14921 และใช้เวลา 60 วินาที สำหรับเซลล์ *S. Virchow* DMST 14922 และ *S. Virchow* NE 541 เกิดการบาดเจ็บมากกว่าร้อยละ 80 ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 เกิดเป็นเซลล์บาดเจ็บในปริมาณดังกล่าวที่เวลา 15, 60, 15, และ 60 วินาที ตามลำดับ ส่วนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส พบว่า ใช้เวลาน้อยกว่า 15 วินาที สำหรับเซลล์ *Salmonella* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ เพื่อทำให้เกิดเซลล์บาดเจ็บมากกว่าร้อยละ 80

การเกิดเซลล์บาดเจ็บมากกว่าร้อยละ 90 ที่ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 5.0 ppm ในสารละลาย Inspexx 100™ ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า อุณหภูมิมีอิทธิพลต่อการเกิดเซลล์บาดเจ็บ โดยเมื่อระดับอุณหภูมิสูงขึ้น เวลาที่ใช้เพื่อให้เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC

13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 เกิดการบาดเจ็บมากกว่าร้อยละ 90 จะลดลง โดยใช้เวลา 300 วินาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และใช้เวลาภายใน 15 วินาที ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส), 37, และ 55 องศาเซลเซียส ส่วนที่ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 10.0 ppm จะมีผลทำลาย เชลล์ *Salmonella* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ จนหมดจนไม่สามารถคำนวณเชลล์บาดเจ็บได้ภายในเวลา 15 วินาที ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส), 37, และ 55 องศาเซลเซียส แต่จะใช้นานถึง 180-300 วินาที สำหรับเชลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 ในการเกิดเชลล์บาดเจ็บสูงสุดร้อยละ 100.00 หรือเพื่อทำลายเชลล์ดังกล่าวทั้งหมด

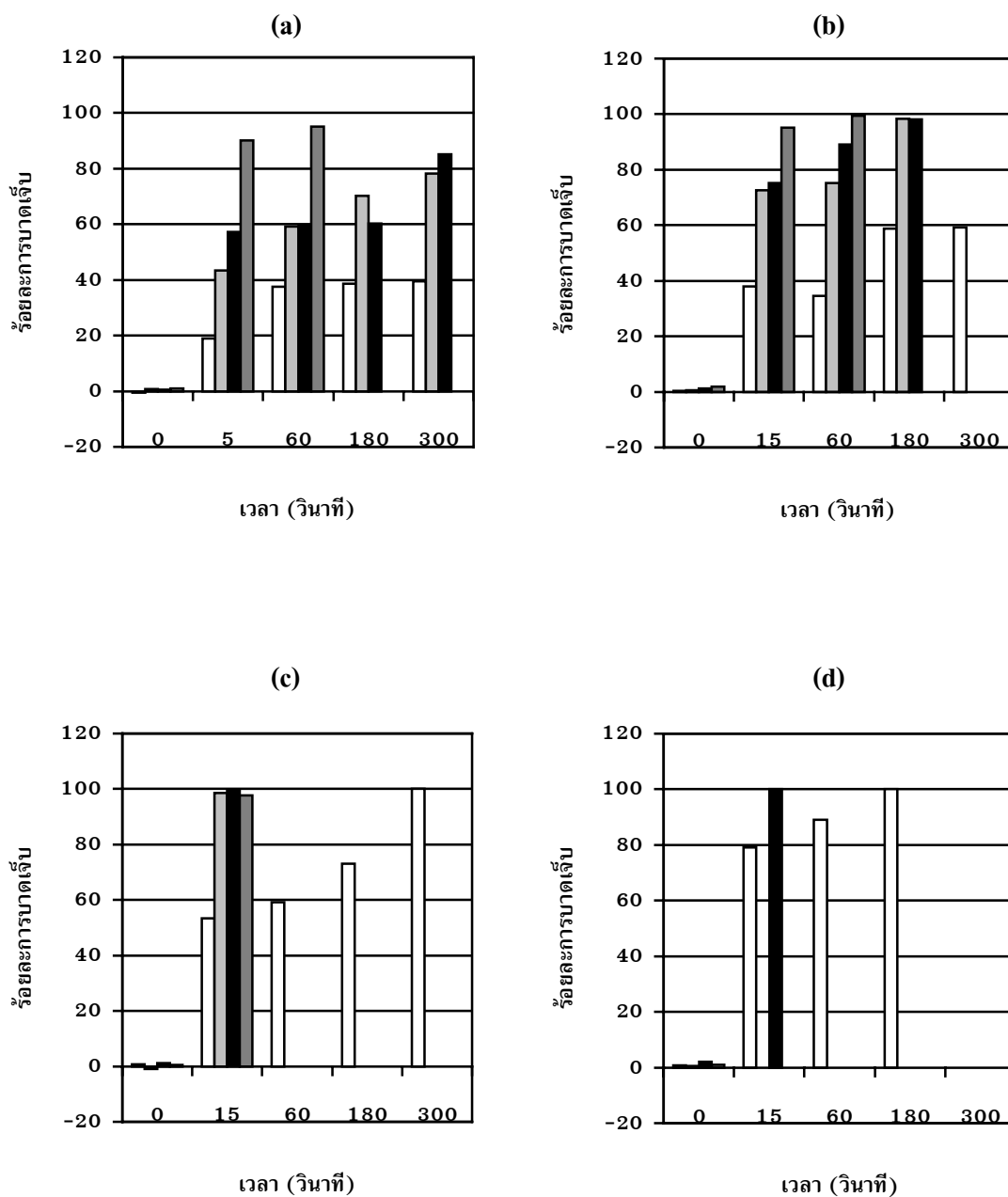
ส่วนการใช้ Inspexx 200™ ที่ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 0.5, 1.0, และ 10.0 ppm ให้ผลทำนองเดียวกับการใช้ Inspexx 100™ โดยอุณหภูมิที่สูงขึ้นส่งผลต่อการเกิดเชลล์บาดเจ็บของ *Salmonella* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ เช่น ที่ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 0.5 ppm ต้องใช้เวลามากกว่า 300 วินาที เพื่อให้เชลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 (ภาพที่ 9), *S. Typhimurium* DMST 14921 (ภาพที่ 10), *S. Virchow* DMST 14922 (ภาพที่ 11), และ *S. Virchow* NE 541 (ภาพที่ 12) เกิดการบาดเจ็บมากกว่าร้อยละ 60 ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แต่เวลาที่ทำให้เกิดเชลล์บาดเจ็บจะลดลงเป็น 180 วินาที ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) เชลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, และ *S. Virchow* NE 541 ใช้เวลา 60 วินาทีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ส่วนเชลล์ *S. Virchow* DMST 14922 ใช้เวลา 180 วินาทีที่อุณหภูมิเดียวกัน เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นเป็น 55 องศาเซลเซียส จะใช้นานน้อยกว่า 15 วินาที สำหรับการทำให้เชลล์ *Salmonella* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ เกิดการบาดเจ็บมากกว่าร้อยละ 60



ภาพที่ 9 เปรียบเทียบร้อยละการเกิดเซลล์ขาดใจของ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ในสารละลาย Inspexx 200TM ที่ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซีติก 0.5 ppm (a), 1.0 ppm (b), 5.0 ppm (c), และ 10.0 ppm (d)

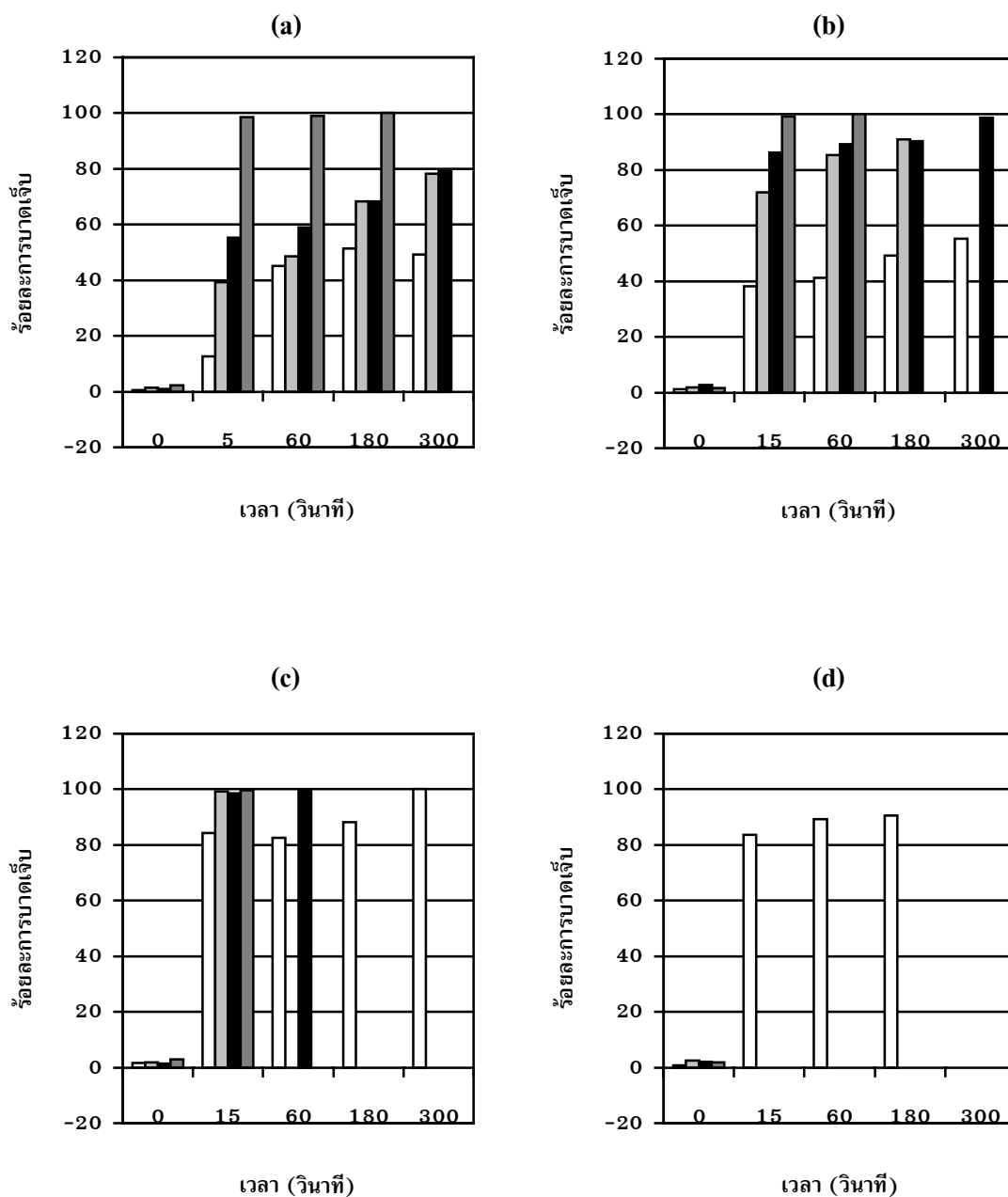
หมายเหตุ

- = ร้อยละการขาดใจที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
- = ร้อยละการขาดใจที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)
- = ร้อยละการขาดใจที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส
- = ร้อยละการขาดใจที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส



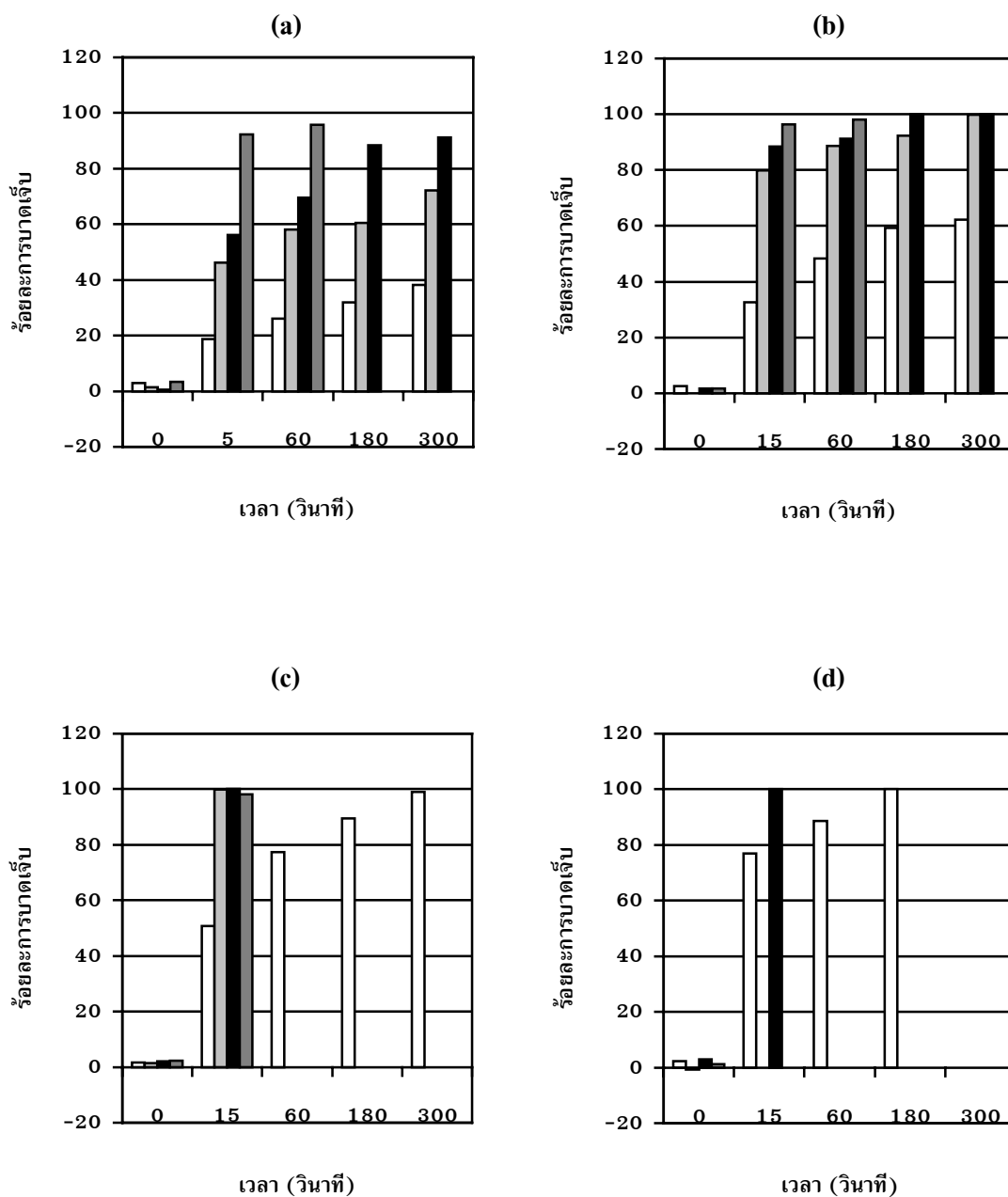
ภาพที่ 10 เปรียบเทียบร้อยละการเกิดเซลล์บาดเจ็บของ *S. Typhimurium* DMST 14921 ในสารละลาย Inspexx 200TM ที่ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซีติก 0.5 ppm (a), 1.0 ppm (b), 5.0 ppm (c), และ 10.0 ppm (d)

หมายเหตุ □ = ร้อยละการบาดเจ็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
 □ = ร้อยละการบาดเจ็บที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)
 ■ = ร้อยละการบาดเจ็บที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส
 ■ = ร้อยละการบาดเจ็บที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 11 เปรียบเทียบร้อยละการเกิดเซลล์บาดเจ็บของ *S. Virchow* DMST 14922 ในสารละลาย Inspexx 200TM ที่ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 0.5 ppm (a), 1.0 ppm (b), 5.0 ppm (c), และ 10.0 ppm (d)

หมายเหตุ □ = ร้อยละการบาดเจ็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
 □ = ร้อยละการบาดเจ็บที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)
 ■ = ร้อยละการบาดเจ็บที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส
 ■ = ร้อยละการบาดเจ็บที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 12 เปรียบเทียบร้อยละการเกิดเซลล์บาดเจ็บของ *S. Virchow* NE 541 ในสารละลาย Inspexx 200™ ที่ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 0.5 ppm (a), 1.0 ppm (b), 5.0 ppm (c), และ 10.0 ppm (d)

หมายเหตุ

- = ร้อยละการบาดเจ็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
- ▒ = ร้อยละการบาดเจ็บที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)
- = ร้อยละการบาดเจ็บที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส
- = ร้อยละการบาดเจ็บที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

3. การศึกษาการคืนสภาพของเซลล์ *Salmonella* Typhimurium ATCC 13311, *Salmonella* Typhimurium DMST 14921, *Salmonella* Virchow DMST 14922, และ *Salmonella* Virchow NE 541 ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

3.1 ระยะเวลาการคืนสภาพของ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Soy Broth (TSB)

การบาดเจ็บจากการสัมผัสกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ความเข้มข้น 1.0 ppm ใน Inspecx 100TM ของเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 เป็นเวลา 180 วินาที พบว่า เกิดเซลล์บาดเจ็บร้อยละ 93.39 และที่เวลา 0 ชั่วโมงของการคืนสภาพ พบว่าเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 เกิดเป็นเซลล์บาดเจ็บเพิ่มมากขึ้นเป็นร้อยละ 98.00 หลังจากปล่อยให้เซลล์บาดเจ็บเกิดกระบวนการคืนสภาพในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB เป็นเวลา 24 ชั่วโมงพบว่า *S. Typhimurium* ATCC 13311 ที่บาดเจ็บพัฒนาเป็นเซลล์ปกติทั้งหมด โดยเพิ่มจำนวนเซลล์ขึ้นเป็น 9.90 log₁₀ CFUต่อมิลลิลิตร (ภาพที่ 13) แสดงว่ากระบวนการคืนสภาพของเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกเกิดขึ้นในช่วงระยะเวลาระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึง ชั่วโมงที่ 24 ของการคืนสภาพ เมื่อพิจารณาที่เวลา 2 ชั่วโมงของการคืนสภาพพบว่า เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 มีร้อยละการคืนสภาพเป็น 0.10 และเพิ่มเป็น 5.90 เมื่อผ่านไป 4 ชั่วโมง โดยในช่วง 4 ชั่วโมงแรกนี้ เซลล์ปกติมีจำนวนค่อนข้างคงที่ แต่พบว่ามีจำนวนลดลงเล็กน้อย เนื่องจากเซลล์บาดเจ็บบางส่วนเสียชีวิตมากขึ้น สำหรับที่เวลา 6 ชั่วโมงของการคืนสภาพพบว่า เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 มีร้อยละการคืนสภาพเป็น 143.40 ซึ่งถือว่าเป็นเวลาที่เกิดการคืนสภาพที่สมบูรณ์ และร้อยละการคืนสภาพนี้จะเพิ่มขึ้นตลอดจนกระทั่ง เกิดเป็นเซลล์ปกติทั้งหมดที่เวลา 24 ชั่วโมงของการคืนสภาพ

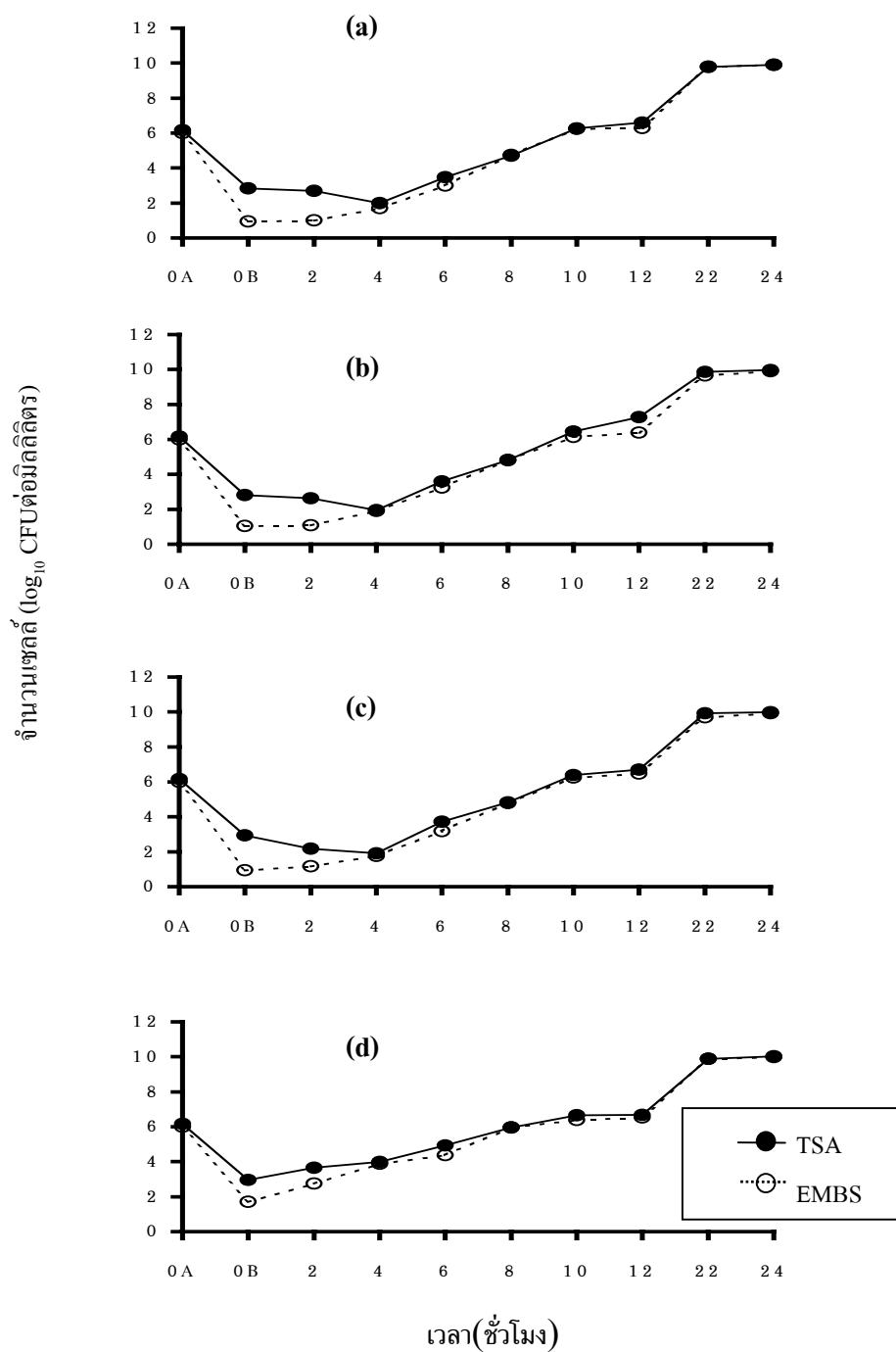
สำหรับการคืนสภาพของเซลล์ *S. Typhimurium* DMST 14921 ซึ่งเป็น *Salmonellae* ที่มีสมบัติคือต่อสารต้านจุลชีพ พบว่าเซลล์ สามารถคืนสภาพภายหลังการบาดเจ็บจากการสัมผัสกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ความเข้มข้น 1.0 ppm ใน Inspecx 100TM ได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB พบว่าเซลล์ *S. Typhimurium* DMST 14921 เกิดเป็นเซลล์บาดเจ็บร้อยละ 98.53 และที่เวลา 0 ชั่วโมงของการคืนสภาพพบว่า เซลล์ *S. Typhimurium* DMST 14921 เกิดเป็นเซลล์บาดเจ็บลดลงเล็กน้อยโดยมีร้อยละการบาดเจ็บเป็น 98.31 และเช่นเดียวกันเมื่อเลี้ยงเซลล์ *S. Typhimurium* DMST 14921 ที่บาดเจ็บ

เจ็บในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะตรวจพบเซลล์ *S. Typhimurium* DMST 14921 พัฒนาเป็นเซลล์ปกติทั้งหมด (ภาพที่ 13) ในช่วงเวลา 0 ชั่วโมง ถึง 24 ชั่วโมง โดยที่เวลา 2 ชั่วโมง พบว่า เซลล์ *S. Typhimurium* DMST 14921 มีร้อยละการคืนสภาพเป็น 0.20 และเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 11.00 ที่เวลา 4 ชั่วโมงของการคืนสภาพ หลังจากนั้นที่เวลา 6 ชั่วโมงของการคืนสภาพ พบว่าเซลล์ *S. Typhimurium* DMST 14921 มีร้อยละการคืนสภาพเป็น 280.00 ซึ่งเป็นเวลาที่เกิดการคืนสภาพ สมบูรณ์ ร้อยละการคืนสภาพจะยังคงเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลา 24 ชั่วโมงของการคืนสภาพ และเกิดเป็นเซลล์ปกติทั้งหมด

เซลล์ *S. Virchow* DMST 14922 ซึ่งไม่มีสมบัติคือต่อสารต้านจุลชีพ ถูกทำให้บาดเจ็บ โดย Inspexx 100TM ที่สภาวะเดียวกับเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 และ *S. Typhimurium* DMST 14921 พบว่า เซลล์ *S. Virchow* DMST 14922 เกิดเป็นเซลล์บาดเจ็บร้อยละ 98.80 เมื่อเลี้ยงเซลล์บาดเจ็บในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB พบว่าที่เวลา 0 ชั่วโมงของการคืนสภาพ เซลล์ *S. Virchow* DMST 14922 มีร้อยละการบาดเจ็บเพิ่มขึ้นเป็น 98.94 และยังไม่เกิดการคืนสภาพของ เซลล์บาดเจ็บ เมื่อเลี้ยงเซลล์บาดเจ็บเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมงพบว่า จำนวนเซลล์บนอาหาร TSA ซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อประเภท Non-selective media และจำนวนเซลล์บนอาหาร EMBS ซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Selective media มีจำนวนใกล้เคียงกัน แสดงว่าเซลล์บาดเจ็บเกิดการคืนสภาพและพัฒนาเป็นเซลล์ปกติได้หมด (ภาพที่ 13) การคืนสภาพของเซลล์ *S. Virchow* DMST 14922 ที่เกิดการบาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร้ออกซีแอซิดจึงเกิดขึ้นในช่วงระยะเวลาระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึง ชั่วโมงที่ 24 ของการคืนสภาพ โดยที่เวลา 2 ชั่วโมงของการคืนสภาพ เซลล์ *S. Virchow* DMST 14922 มีร้อยละการคืนสภาพเป็น 0.70 และเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 6.00 เมื่อเวลาผ่านไป 4 ชั่วโมง สำหรับชั่วโมงที่ 6 ของการคืนสภาพ เซลล์ *S. Virchow* DMST 14922 จะมีร้อยละการคืนสภาพเป็น 177.70 ซึ่งถือว่าเป็นเวลาที่เซลล์ *S. Virchow* DMST 14922 คืนสภาพได้สมบูรณ์ เช่นกันเมื่อเลี้ยงเซลล์ต่อไปจนกระทั่งชั่วโมงที่ 24 ของการคืนสภาพ เซลล์บาดเจ็บของ *S. Virchow* DMST 14922 จะพัฒนาเป็นเซลล์ปกติได้หมด

พิจารณาการคืนสภาพของเซลล์ *S. Virchow* NE 541 ซึ่งแยกได้จากแฮมปิกไก่ และมีสมบัติคือต่อสารต้านจุลชีพสูงถึง 11 ชนิด เซลล์ *S. Virchow* NE 541 ที่ทำให้เกิดการบาดเจ็บด้วยสภาวะเดียวกันกับเซลล์ *S. Virchow* DMST 14922 ที่สภาวะนี้ทำให้เซลล์ *S. Virchow* NE 541 เกิดการบาดเจ็บร้อยละ 95.60 เมื่อเลี้ยงเซลล์ *S. Virchow* NE 541 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB เป็นเวลา 0 ชั่วโมง ไม่มีการคืนสภาพของเซลล์บาดเจ็บ การคืนสภาพเกิดขึ้นที่เวลา 2 ชั่วโมง โดยมีร้อยละการคืน

สภาพเป็น 5.80 และเพิ่มเป็น 87.60 ที่ชั่วโมงที่ 4 ของการคืนสภาพ จากนั้นร้อยละการคืนสภาพจะเพิ่มขึ้นจนเป็น 270.6 ที่ชั่วโมงที่ 6 ของการคืนสภาพ ซึ่งถือว่าเป็นเวลาที่เซลล์บาดเจ็บของ *S. Virchow* NE 541 เกิดการคืนสภาพสมบูรณ์ เซลล์ *S. Virchow* NE 541 ที่บาดเจ็บจะพัฒนาไปเป็นเซลล์ปกติอย่างต่อเนื่องจนใช้เวลา 22 ชั่วโมง เซลล์บาดเจ็บปรับสภาพและกลายเป็นเซลล์ปกติทั้งหมด



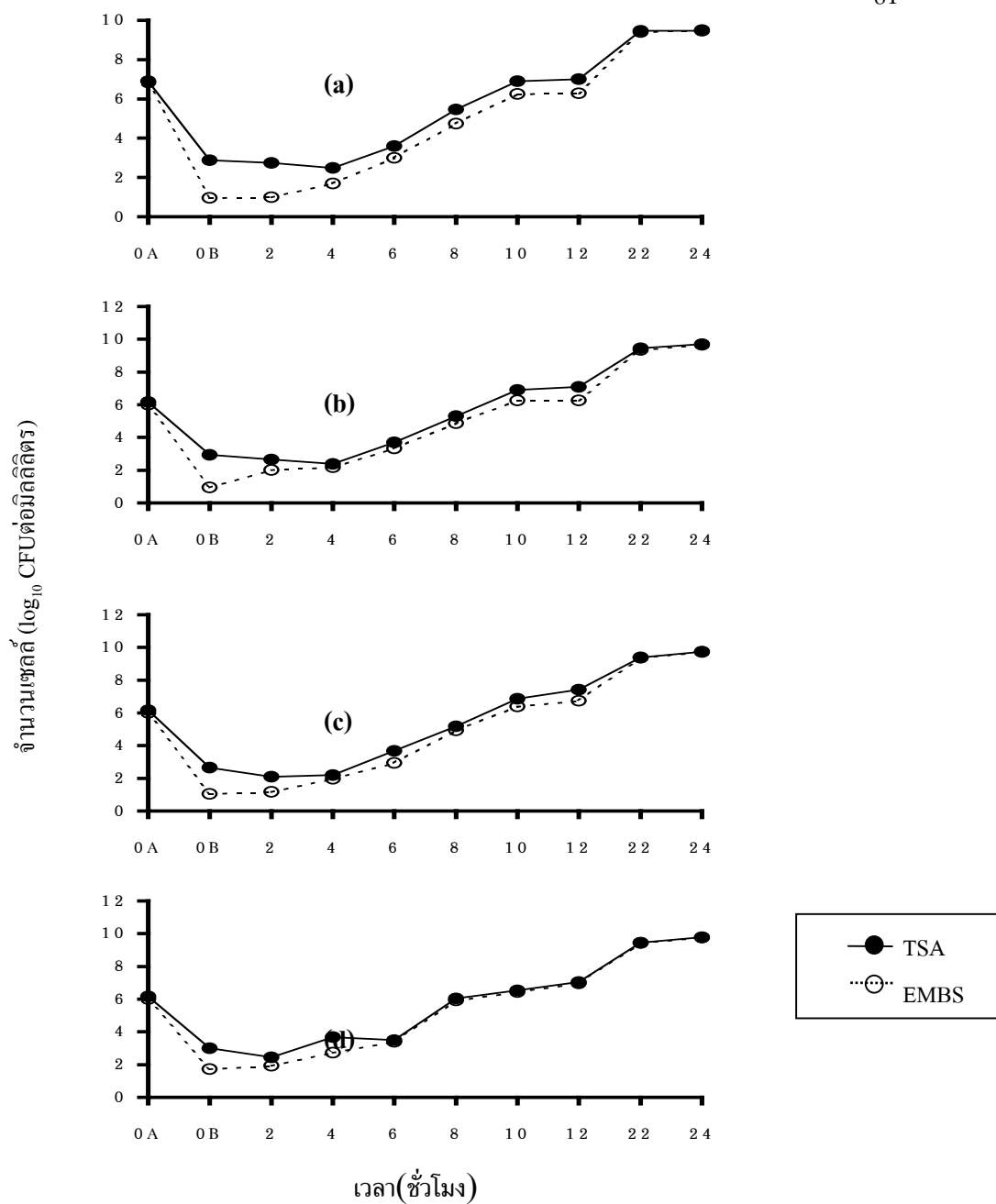
ภาพที่ 13 การคืนสภาพของ *S. Typhimurium* ATCC 13311 (a), *S. Typhimurium* DMST 14921 (b), *S. Virchow* DMST 14922 (c), และ *S. Virchow* NE 541 (d) ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100TM) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

หมายเหตุ 0A = เวลา (นาทิจ) ที่ยังไม่ได้เติมสารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิดกลงไปในสารละลายเซลล์ *Salmonella* sp.
 0B = เวลา (ชั่วโมง) หลังจากเลี้ยงเซลล์ *Salmonella* sp. ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB

อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB มีส่วนประกอบที่ส่งเสริมให้เซลล์ *Salmonella* sp. ซึ่งบาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกเกิดกระบวนการคืนสภาพได้ โดยมีส่วนประกอบที่เป็นโปรตีนจาก Casein และ Soybean meal นอกจากนี้ยังมีน้ำตาลกลูโคส (Glucose) ซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนที่จำเป็นสำหรับกิจกรรมทางชีวเคมีต่างๆ ภายในเซลล์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสไปเป็นสารพลังงานสูงในกระบวนการ oxidative phosphorylation เซลล์จุลินทรีย์ที่บาดเจ็บสามารถนำเอาสารอาหารต่างๆ ไปใช้เพื่อซ่อมแซมเซลล์ และเจริญเพิ่มจำนวน (Ray *et al.*, 1972)

3.2 ระยะเวลาการคืนสภาพของ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Broth (NB)

หลังจาก เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 เกิดการบาดเจ็บจากการสัมผัส กรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 ppm ใน Inspexx 100™ เป็นเวลา 180 วินาที พบว่าเซลล์แบคทีเรียจะเกิดเป็นเซลล์บาดเจ็บร้อยละ 94.24 และที่ 0 ชั่วโมงของการคืนสภาพในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB พบว่าไม่มีเซลล์บาดเจ็บใดที่คืนสภาพ โดยมีร้อยละการคืนสภาพเป็น 0.00 สำหรับที่ 2 ชั่วโมงของการคืนสภาพ เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 มีร้อยละการคืนสภาพเป็น 0.10 และเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 5.50 ที่ชั่วโมงที่ 4 ของการคืนสภาพ จากนั้นร้อยละการคืนสภาพจะเพิ่มขึ้นเป็น 133.70 ที่เวลา 6 ชั่วโมง ซึ่งถือว่าเป็นเวลาที่เกิดการคืนสภาพของเซลล์บาดเจ็บอย่างสมบูรณ์ (ภาพที่ 14) เมื่อเลี้ยงเซลล์ต่อไปเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ผลการทดลองยืนยันว่า เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ที่บาดเจ็บพัฒนาไปเป็นเซลล์ปกติได้หมด โดยมีจำนวนเซลล์ที่เจริญบนอาหาร TSA ใกล้เคียงกับจำนวนเซลล์ที่เจริญบนอาหาร EMBS



ภาพที่ 14 การคืนสภาพของ *S. Typhimurium* ATCC 13311 (a), *S. Typhimurium* DMST 14921 (b), *S. Virchow* DMST 14922 (c), และ *S. Virchow* NE 541 (d) ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100™) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

หมายเหตุ 0A = เวลา (นาฬิกา) ที่ยังไม่ได้เติมสารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกลงไปในการละลายเซลล์ *Salmonella* sp.
 0B = เวลา (ชั่วโมง) หลังจากเลี้ยงเซลล์ *Salmonella* sp. ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB

เซลล์ *S. Typhimurium* DMST 14921 ซึ่งมีสมบัติคือต่อสารต้านจุลชีพ และเกิดการบาดเจ็บโดยกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ความเข้มข้น 1.0 ppm ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 100™) โดยมีระยะเวลาการสัมผัสสารมาเชื้อ 180 วินาที พบว่า เกิดเป็นเซลล์บาดเจ็บร้อยละ 97.47 มีกระบวนการคืนสภาพในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB โดยที่ระยะเวลาการคืนสภาพ 0 ชั่วโมง เซลล์ *S. Typhimurium* DMST 14921 ที่บาดเจ็บจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเป็นร้อยละ 98.94 ในช่วงเวลา 4 ชั่วโมงแรกของการคืนสภาพนี้ พบว่าเซลล์ *S. Typhimurium* DMST 14921 จะมีปริมาณลดลงเล็กน้อย เนื่องจากเซลล์บาดเจ็บบางส่วนที่เกิดความเสียหายมากจะตายไปในระหว่างกระบวนการคืนสภาพนี้ แต่กระนั้นก็ตามร้อยละการคืนสภาพของ *S. Typhimurium* DMST 14921 ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกจะเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 0.00 ที่เวลา 0 ชั่วโมง เป็น ร้อยละ 11.10 และ 16.80 ที่ เวลา 2 และ 4 ชั่วโมงของการคืนสภาพ ตามลำดับ และสำหรับที่เวลา 6 ชั่วโมงนั้น เซลล์ *S. Typhimurium* DMST 14921 ที่บาดเจ็บมีร้อยละการคืนสภาพเป็น 248.60 ซึ่งเป็นการคืนสภาพอย่างสมบูรณ์ (ภาพที่ 14) และเช่นเดียวกันกับเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 กล่าวคือเมื่อเลี้ยงเซลล์ต่อไปเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เซลล์บาดเจ็บจะพัฒนาไปเป็นเซลล์ปกติทั้งหมด โดยจะมีจำนวนเซลล์เพิ่มสูงขึ้นเป็น $9.69 \log_{10}$ CFUต่อมิลลิลิตร

เซลล์ *S. Virchow* DMST 14922 ซึ่งไม่มีสมบัติการต่อต้านสารต้านจุลชีพ สามารถเกิดการคืนสภาพได้เช่นกันในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB โดยหลังจากที่เซลล์ บาดเจ็บของ *S. Virchow* DMST 14922 จากการสัมผัสกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 1.0 ppm ที่ระยะเวลาสัมผัสสารละลาย 180 วินาที เซลล์ *S. Virchow* DMST 14922 จะเกิดเป็นเซลล์บาดเจ็บร้อยละ 95.71 และจำนวนเซลล์บาดเจ็บจะลดลงเมื่อเลี้ยงเซลล์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB โดยที่เวลา 0 ชั่วโมงของการคืนสภาพ จำนวนเซลล์บาดเจ็บจะลดลงเหลือร้อยละ 97.56 และลดลงเหลือร้อยละ 88.00 ที่เวลา 2 ชั่วโมงของการคืนสภาพ โดยร้อยละการคืนสภาพจะเป็น 0.00 และ 0.90 ที่เวลา 0 และ 2 ชั่วโมงของการคืนสภาพตามลำดับ จากนั้นจำนวนเซลล์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ EMBS ซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Selective media จะเพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่าเซลล์บาดเจ็บมีกระบวนการคืนสภาพเกิดขึ้น โดยมีการคืนสภาพร้อยละ 19.10 ที่เวลา 4 ชั่วโมง และเพิ่มเป็นร้อยละ 195.70 ที่เวลา 6 ชั่วโมงของการคืนสภาพ ซึ่งเป็นเวลาที่เซลล์ *S. Virchow* DMST 14922 เกิดการคืนสภาพอย่างสมบูรณ์ (ภาพที่ 14) เมื่อเลี้ยงเซลล์ต่อไปเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เซลล์จะเพิ่มจำนวนเป็น $9.73 \log_{10}$ CFUต่อมิลลิลิตร และพัฒนาเป็นเซลล์ปกติทั้งหมด

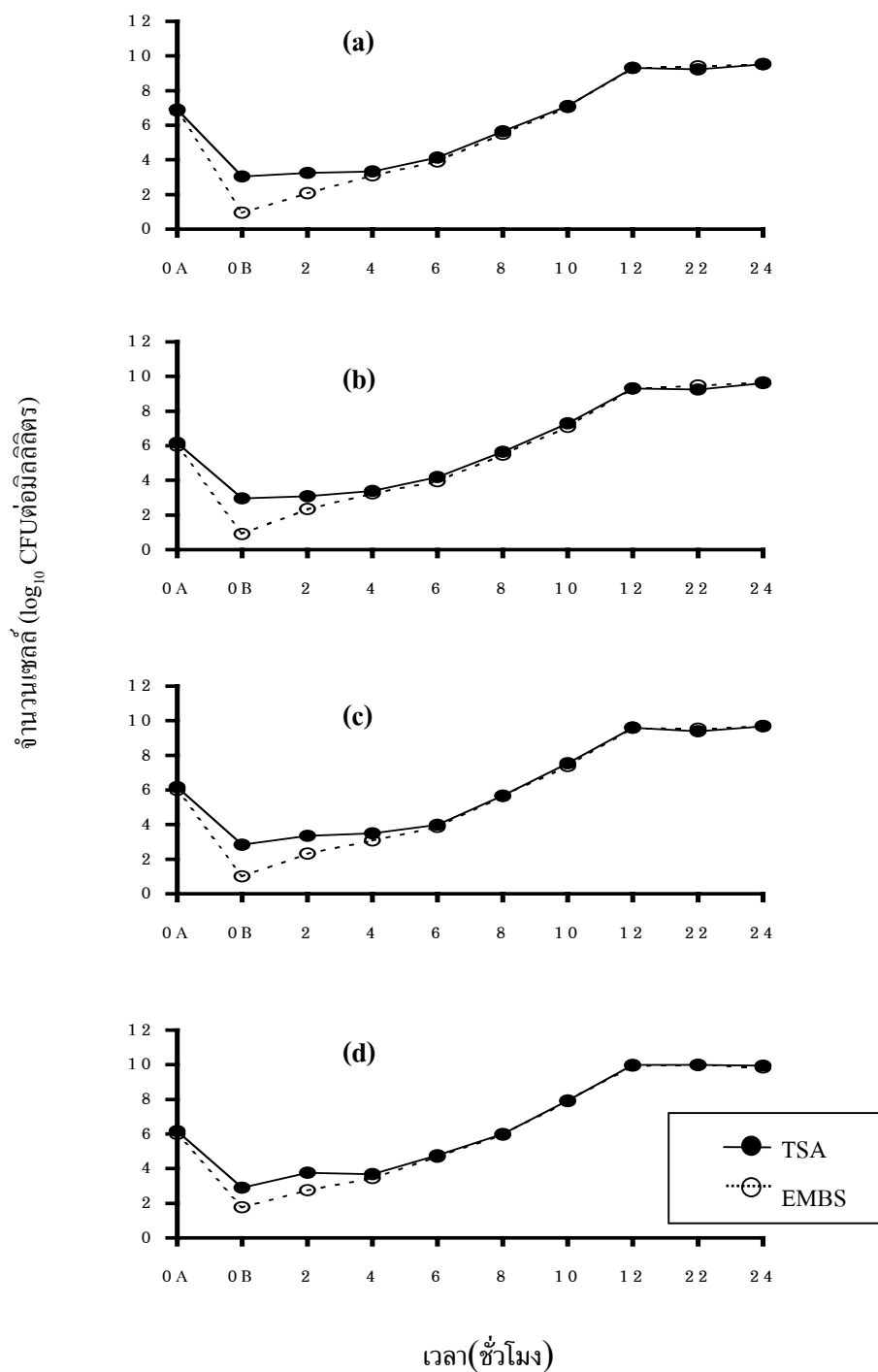
กระบวนการคืนสภาพในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB ของเซลล์ *S. Virchow* NE 541 ซึ่งบาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซิแอซิดิก (Inspexx 100™) ความเข้มข้น 1.0 ppm ระยะเวลาสัมผัสสารฆ่าเชื้อ 180 วินาที เกิดขึ้นในระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึง ชั่วโมงที่ 24 ของการคืนสภาพ โดยก่อนกระบวนการคืนสภาพ เซลล์ *S. Virchow* NE 541 เกิดการบาดเจ็บร้อยละ 94.79 และจะลดลงเป็นร้อยละ 94.49 และ 70.00 เมื่อเลี้ยงเซลล์บาดเจ็บในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB ที่เวลา 0 และ 2 ชั่วโมง ตามลำดับ โดยมีร้อยละการคืนสภาพเป็น 0.00 และ 3.20 ตามลำดับ และร้อยละการคืนสภาพนี้จะเพิ่มสูงขึ้นเป็น 53.60 ที่เวลา 4 ชั่วโมงของการคืนสภาพ สำหรับการคืนสภาพอย่างสมบูรณ์ของเซลล์ *S. Virchow* NE 541 เกิดขึ้นที่เวลา 6 ชั่วโมงของการคืนสภาพ โดยมีร้อยละการคืนสภาพเป็น 253.30 (ภาพที่ 14) เซลล์บาดเจ็บนี้จะค่อยๆ พัฒนาเป็นเซลล์ปกติทั้งหมดโดยที่เวลา 24 ชั่วโมงเซลล์ *S. Virchow* NE 541 จะเพิ่มจำนวนขึ้นเป็น $9.77 \log_{10}$ CFUต่อมิลลิลิตร บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ซึ่งใกล้เคียงกับจำนวนเซลล์บนอาหาร EMBS

องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ NB ส่งเสริมให้เกิดการคืนสภาพได้เนื่องจากมีส่วนประกอบของ Peptone ซึ่งใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนที่สำคัญ นอกจากนั้นในอาหารเลี้ยงเชื้อมีส่วนผสมของ Yeast Extract ซึ่งนอกเหนือจากเป็นแหล่งของคาร์โบไฮเดรตแล้ว ยังเป็นแหล่งของวิตามิน (Vitamin) และ เกลือแร่ที่จำเป็นสำหรับกระบวนการต่างๆ ทางชีวเคมีของเซลล์วิตามิน ทำหน้าที่เป็น Coenzyme ซึ่งมีส่วนช่วยให้เกิดกิจกรรมต่างๆ ของเซลล์ได้ ดังนั้นจากการคืนสภาพได้ของเซลล์ *Salmonella* sp. ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซิแอซิดิกในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB จึงแสดงให้เห็นว่า วิตามินและเกลือแร่อาจมีความสำคัญต่อกระบวนการคืนสภาพของเซลล์บาดเจ็บ

3.3 ระยะเวลาการคืนสภาพของ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซิแอซิดิก ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Lactose Broth (LB)

ภาพที่ 15 แสดงการคืนสภาพของเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* DMST 14922 ซึ่งบาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซิแอซิดิก ความเข้มข้น 1.0 ppm เวลาการสัมผัสสารฆ่าเชื้อ 180 วินาที ซึ่งสภาวะดังกล่าวทำให้เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 เกิดเป็นเซลล์บาดเจ็บร้อยละ 99.00, 98.95, 97.62, และ 99.41 ตามลำดับ การคืนสภาพของเซลล์บาดเจ็บเกิดขึ้นในระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึง

ชั่วโมงที่ 24 ของการคืนสภาพ โดย *S. Typhimurium* ATCC 13311 มีร้อยละการคืนสภาพเป็น 0.00 และ 10.20 ที่ชั่วโมงที่ 0 และ



ภาพที่ 15 การคืนสภาพของ *S. Typhimurium* ATCC 13311 (a), *S. Typhimurium* DMST 14921 (b), *S. Virchow* DMST 14922 (c), และ *S. Virchow* NE 541 (d) ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100TM) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

หมายเหตุ 0A = เวลา (นาทิจ) ที่ยังไม่ได้เติมสารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิดกลงไปในสารละลายเซลล์ *Salmonella* sp.

0B = เวลา (ชั่วโมง) หลังจากเลี้ยงเซลล์ *Salmonella* sp. ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB

ชั่วโมงที่ 2 ของการคืนสภาพ ตามลำดับ สำหรับเซลล์ *S. Typhimurium* DMST 14921 มีร้อยละการคืนสภาพที่เวลา 0 และ 2 ชั่วโมง เป็น 0.00 และ 23.80 ตามลำดับ เซลล์ *S. Virchow* DMST 14922 และ เซลล์ *S. Virchow* NE 541 มีร้อยละการคืนสภาพที่เวลา 0 และ 2 ชั่วโมงเป็น 0.00 และ 29.00 และเป็น 0.00 และ 70.40 ตามลำดับ

ในช่วง 2 ชั่วโมงแรกของการคืนสภาพนี้ เซลล์ปกติซึ่งตรวจได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA จะมีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ จนกระทั่งที่เวลา 4 ชั่วโมงของการคืนสภาพ เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 จะมีร้อยละการคืนสภาพเป็น 113.70 สำหรับร้อยละการคืนสภาพที่เวลาดังกล่าวของเซลล์ *S. Typhimurium* DMST 14921 เป็น 200.90 ส่วนเซลล์ *S. Virchow* DMST 14922 มีร้อยละการคืนสภาพเป็น 172.50 และเซลล์ *S. Virchow* NE 541 มีร้อยละการคืนสภาพเป็น 369.50 แสดงว่า เซลล์ *Salmonella* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ ซึ่งบาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกสามารถคืนสภาพได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB โดยเวลาที่เกิดการคืนสภาพสมบูรณ์คือที่ชั่วโมงที่ 4 ของการคืนสภาพ

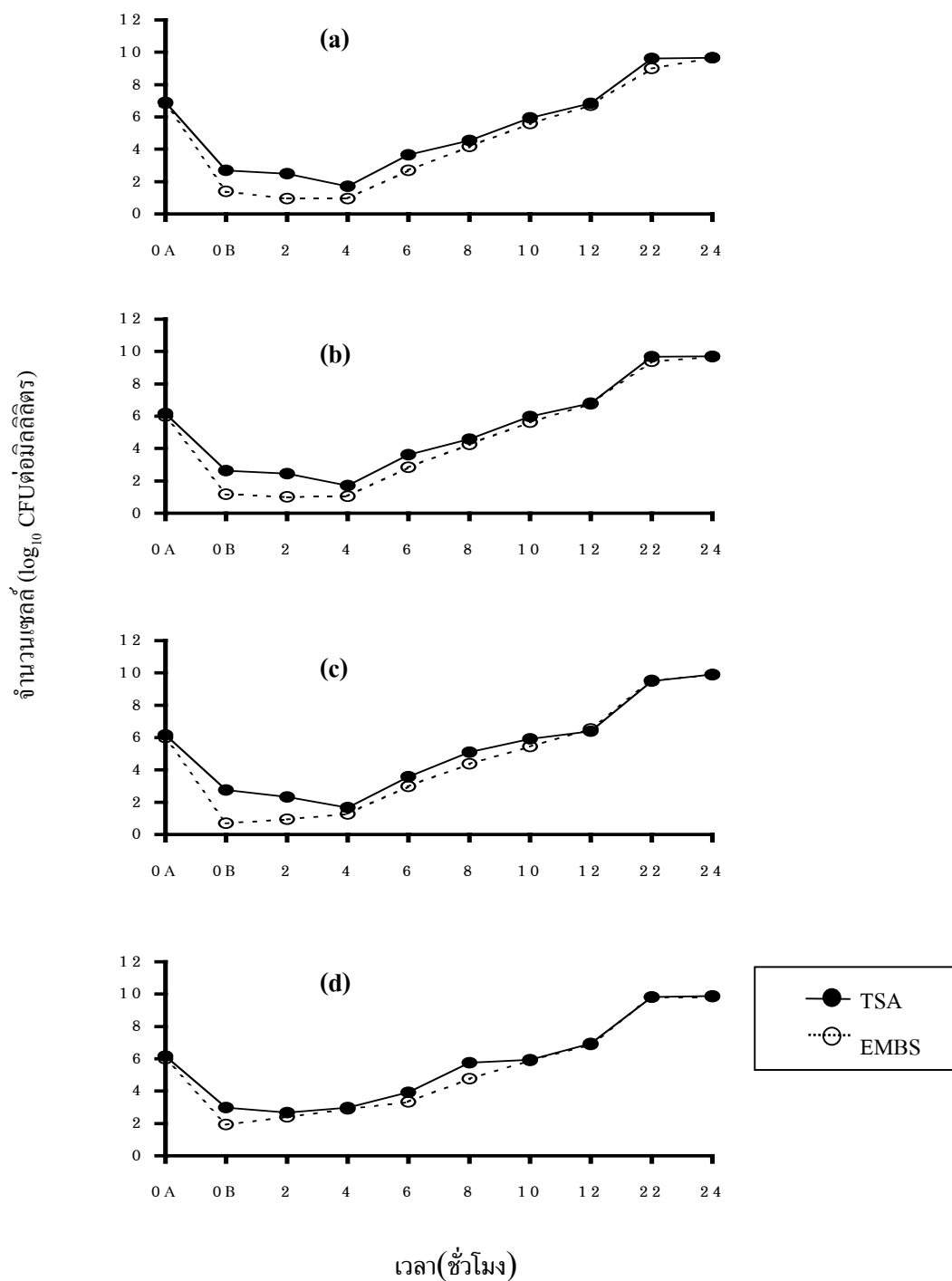
จำนวนเซลล์ของ *Salmonella* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ ที่ผ่านการคืนสภาพอย่างสมบูรณ์แล้ว จะพัฒนาต่อไปเป็นเซลล์ปกติทั้งหมดได้ภายในเวลา 24 ชั่วโมง โดย เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 จะเพิ่มจำนวนขึ้นเป็น $9.51 \log_{10}$ CFU ต่อ มิลลิลิตร สำหรับ *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 จะเพิ่มจำนวนเป็น 9.62, 9.68, และ $9.94 \log_{10}$ CFU ต่อ มิลลิลิตร ตามลำดับ ที่เวลา 24 ชั่วโมง

ส่วนประกอบที่สำคัญของอาหารเลี้ยงเชื้อ LB คือ น้ำตาลแลคโทส (Lactose) แม้ว่า *Salmonella* sp. ไม่สามารถหมักย่อยน้ำตาลแลคโทส ได้ แต่จากการทดลองพบว่าการเจริญคืนสภาพของเซลล์ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสภาพที่มีน้ำตาลแลคโทส แสดงว่าเมื่อเซลล์บาดเจ็บอยู่ในสภาพที่ไม่สามารถใช้สารอาหารที่มีอยู่ในสิ่งแวดล้อมได้ เซลล์บาดเจ็บอาจมีกระบวนการบางอย่างเพื่อปรับปรุง Metabolic pathway เพื่อช่วยให้เกิดการคืนสภาพของเซลล์ *Salmonella* sp. ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก

3.4 ระยะเวลาการคืนสภาพของ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Brain Heart Infusion Broth (BHI)

เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 เกิดการบาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 ppm ระยะเวลาสัมผัสสารมาเชื้อ 180 วินาที คิดเป็นร้อยละ 96.35 ซึ่งสถานะนี้จะทำให้เซลล์ *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 เกิดเป็นเซลล์บาดเจ็บร้อยละ 98.89, 99.40, และ 91.43 ตามลำดับ และเมื่อเลี้ยงเซลล์บาดเจ็บของ *Salmonella* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI พบว่าเซลล์บาดเจ็บสามารถเกิดกระบวนการคืนสภาพได้ โดยเวลาที่ทำให้เกิดการคืนสภาพสมบูรณ์ คือ เวลาที่ 6 ชั่วโมง ของการคืนสภาพ ส่วนที่เวลา 0, 2, และ 4 ชั่วโมงของการคืนสภาพ เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 จะมีร้อยละการคืนสภาพเป็น 0.00, -3.40, และ -3.40 ตามลำดับ สำหรับเซลล์ *S. Typhimurium* DMST 14921 มีร้อยละการคืนสภาพเป็น 0.00, -1.20, และ -1.00 ตามลำดับ และเซลล์ *S. Virchow* DMST 14922 จะมีร้อยละการคืนสภาพเป็น 0.00, 0.70, และ 2.40 ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นว่า เซลล์ *Salmonella* sp. ทั้ง 3 สายพันธุ์ ต้องอาศัยระยะเวลาในการปรับสภาพเซลล์ เพิ่มการซ่อมแซมเซลล์บาดเจ็บ และการเพิ่มจำนวน โดยมีการเพิ่มของระยะ lag phase ให้ยาวนานขึ้น ส่วนเซลล์ *S. Virchow* NE 541 มีร้อยละการคืนสภาพเป็น 0.00, 18.70, และ 78.6 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างไปจากเซลล์ *Salmonella* sp. 3 สายพันธุ์ ข้างต้น กล่าวคือ การเพิ่มขึ้นของระยะ lag phase เป็นไปอย่างไม่ชัดเจน (ภาพที่ 16)

สำหรับที่เวลา 6 ชั่วโมงของการคืนสภาพ เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 เกิดการคืนสภาพอย่างสมบูรณ์ โดยมีร้อยละการคืนสภาพเป็น 100.00, 169.10, 164.30, และ 224.50 ตามลำดับ จากนั้นจำนวนเซลล์จะเพิ่มขึ้นไปตลอดระยะเวลา 24 ชั่วโมงของการคืนสภาพ และเซลล์บาดเจ็บจะพัฒนาตัวเองไปเป็นเซลล์ปกติได้ทั้งหมด ซึ่งเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบปริมาณของ *Salmonella* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Non-selective media และอาหารเลี้ยงเชื้อ EMBS ซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Selective media ปรากฏว่ามีปริมาณใกล้เคียงกัน จึงกล่าวได้ว่าเซลล์ *Salmonella* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ ซึ่งบาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก เกิดกระบวนการคืนสภาพและซ่อมแซมตัวเองจนกลายเป็นเซลล์ปกติทั้งหมดภายในเวลา 24 ชั่วโมง โดยมีจำนวนเซลล์ของ *S. Typhimurium* ATCC 13311,



ภาพที่ 16 การคืนสภาพของ *S. Typhimurium* ATCC 13311 (a), *S. Typhimurium* DMST 14921

(b), *S. Virchow* DMST 14922 (c), และ *S. Virchow* NE 541 (d) ที่ขาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร้ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100™) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

หมายเหตุ 0A = เวลา (นาทิจ) ที่ยังไม่ได้เติมสารละลายกรดเปอร้ออกซีแอซิดกลงไปในสารละลายเซลล์ *Salmonella* sp.

0B = เวลา (ชั่วโมง) หลังจากเลี้ยงเซลล์ *Salmonella* sp. ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร้ออกซีแอซิดิกในอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI

S. Typhimurium DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 ที่เวลา 24 ชั่วโมง เป็น 9.65, 9.70, 9.90, และ 9.89 log₁₀ CFUต่อมิลลิลิตรตามลำดับ

อาหารเลี้ยงเชื้อ BHI เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความสมบูรณ์สูง มีส่วนประกอบที่เป็นโปรตีนในปริมาณสูง นอกจากนั้นอาหารยังมีส่วนประกอบของน้ำตาลกลูโคส ซึ่งจากผลการทดลองในข้อ 4.1 ถึง 4.3 แสดงให้เห็นว่า โปรตีนเป็นปัจจัยสำคัญสำหรับการคืนสภาพของเซลล์ *Salmonella* sp. ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร้ออกซีแอซิดิก แต่อาหารเลี้ยงเชื้อเช่น LB ซึ่งมีส่วนประกอบที่เป็นน้ำตาลสูงกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดอื่น ส่งเสริมให้เกิดกระบวนการคืนสภาพของเซลล์ *Salmonella* sp. ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร้ออกซีแอซิดิก ได้เร็วกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดอื่น หรือแม้แต่การเพิ่มแหล่งไนโตรเจน ในอาหาร BHI ก็ยังไม่เป็นการส่งเสริมให้เกิดกระบวนการคืนสภาพที่เพิ่มขึ้นของเซลล์บาดเจ็บ

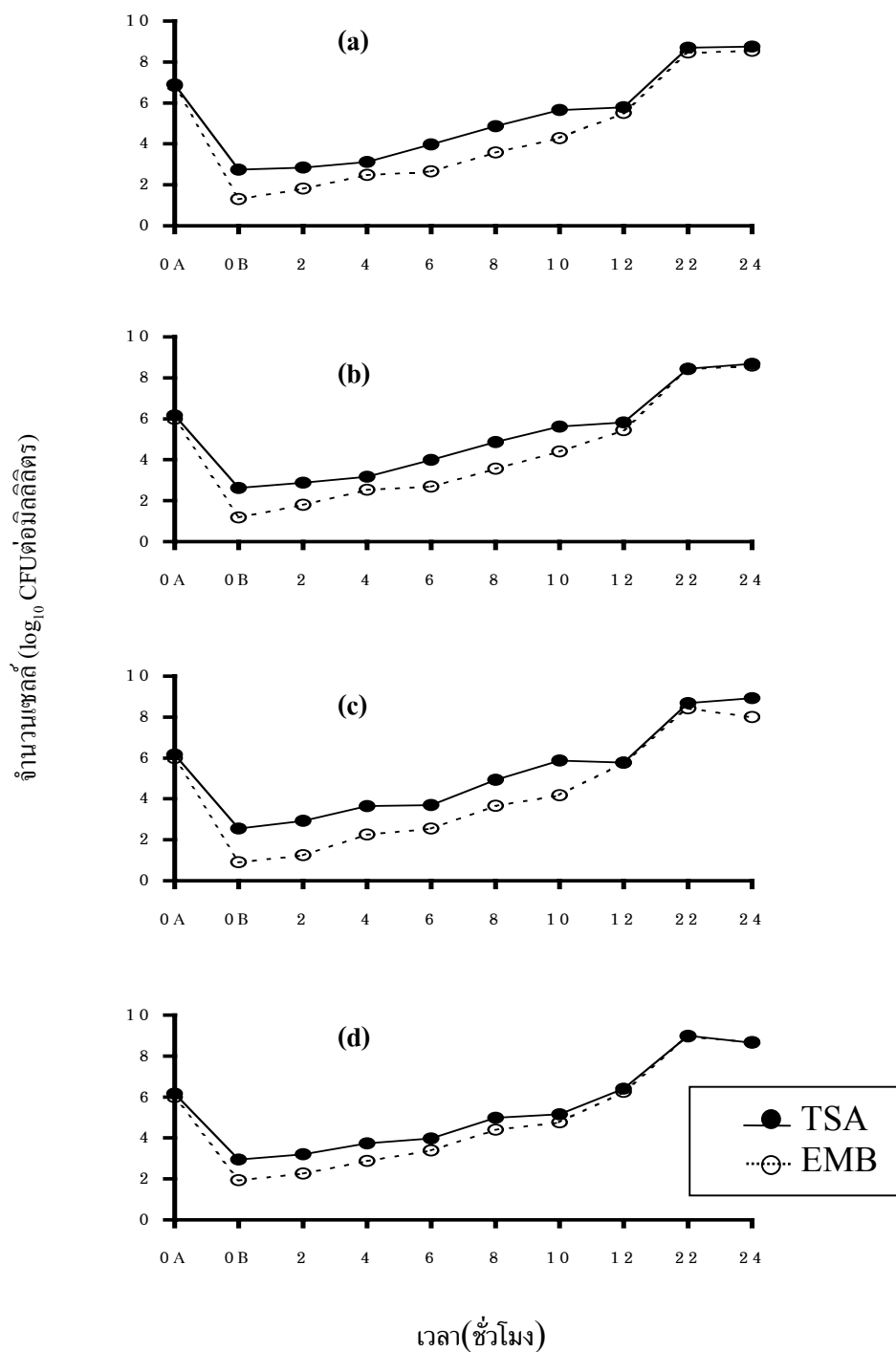
3.5 ระยะเวลาการคืนสภาพของ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร้ออกซีแอซิดิก ในสารละลาย 0.1% Peptone water

สารละลาย 0.1% Peptone water ไม่นิยมใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ แต่มักใช้ทำละลายเพื่อเจือจางปริมาณเซลล์ แต่จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า สารละลาย 0.1% Peptone Water สามารถส่งเสริมให้เซลล์ *Salmonella* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร้ออกซีแอซิดิก เกิดกระบวนการคืนสภาพ และซ่อมแซมตัวเองให้กลับเป็นเซลล์ปกติได้ โดยสภาวะที่ใช้เพื่อทำให้เซลล์ *Salmonella* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ เกิดการบาดเจ็บมากกว่าร้อยละ 90.00 คือการใช้กรดเปอร้ออกซีแอซิดิก 1.0 ppm ใน Inspexx 100™ และระยะเวลาการสัมผัสสารฆ่าเชื้อ 180 วินาที โดยทำให้เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 เกิดการบาดเจ็บคิดเป็นร้อยละ 97.18, 95.81, 98.90, และ 92.29 ตามลำดับ

เมื่อเลี้ยงเซลล์บาดเจ็บ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 ในสารละลาย 0.1% Peptone water พบว่าไม่มีเซลล์ใดเกิดการคืนสภาพที่เวลา 0 ชั่วโมง แต่ที่ชั่วโมงที่ 2 ของการคืนสภาพ พบว่าเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 เกิดการคืนสภาพร้อยละ 8.50, 12.10, 2.90, และ 11.80 ตามลำดับ และที่ 4 ชั่วโมงจะมีร้อยละการคืนสภาพเป็น 52.80, 80.20, 50.30, และ 82.60 ตามลำดับ สำหรับเซลล์ *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 จะเกิดการคืนสภาพอย่างสมบูรณ์ที่เวลา 6 ชั่วโมง โดยมีร้อยละการคืนสภาพเป็น 114.8, 100.00, และ 300.00 ตามลำดับ ส่วนเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ต้องอาศัยเวลาถึง 8 ชั่วโมงจึงสามารถเกิดการคืนสภาพอย่างสมบูรณ์ โดยที่เวลา 6 ชั่วโมงของการคืนสภาพ เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 มีร้อยละการคืนสภาพเป็น 81.10 และเพิ่มเป็นร้อยละ 722.60 ที่เวลา 8 ชั่วโมง (ภาพที่ 17)

อย่างไรก็ตามแม้ว่าจะเกิดการคืนสภาพได้อย่างสมบูรณ์ของเซลล์ *Salmonella* sp. ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซิแอซิดิก แต่พบว่า เซลล์บาดเจ็บไม่ได้พัฒนาไปเป็นเซลล์ปกติได้ตลอดระยะเวลา 24 ชั่วโมงของการคืนสภาพในสารละลาย 0.1% Peptone Water ปริมาณเซลล์บาดเจ็บซึ่งคำนวณได้จากความแตกต่างระหว่างจำนวนเซลล์บนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Non-selective media และ Selective media ยังคงมีปริมาณสูง เช่น เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 มีปริมาณเซลล์บาดเจ็บที่เวลา 10, 12, 22, และ 24 ชั่วโมงของการคืนสภาพเป็นร้อยละ 95.69, 47.54, 40.82, และ 63.54 ตามลำดับ สำหรับเซลล์ *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 มีปริมาณเซลล์บาดเจ็บที่เวลา 24 ชั่วโมงของการคืนสภาพเป็นร้อยละ 59.18, 88.24, และ 49.47 ตามลำดับ

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า แม้จะมีกระบวนการคืนสภาพได้อย่างสมบูรณ์ในสารละลาย 0.1% Peptone water แต่ปริมาณเซลล์บาดเจ็บไม่ได้ลดลงมากนักในระหว่างการเลี้ยงเซลล์ *Salmonella* sp. ที่บาดเจ็บเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงทำให้คาดเดาได้ว่า เซลล์ *Salmonella* sp. ซึ่งบาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซิแอซิดิก ต้องการโปรตีนซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของสารละลาย 0.1% Peptone water เพื่อกระบวนการคืนสภาพ แต่โปรตีน ไม่ได้มีผลต่อการพัฒนา ตัวเองให้เป็นเซลล์ปกติได้ทั้งหมด เซลล์ยังคงต้องการสารอาหารที่จำเป็นอย่างอื่นเพื่อส่งเสริมการพัฒนาตัวเองให้เป็นเซลล์ปกติ และการเพิ่มจำนวนเซลล์



ภาพที่ 17 การคืนสภาพของ *S. Typhimurium* ATCC 13311 (a), *S. Typhimurium* DMST 14921 (b), *S. Virchow* DMST 14922 (c), และ *S. Virchow* NE 541 (d) ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100TM) ในสารละลาย 0.1% Peptone Water ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

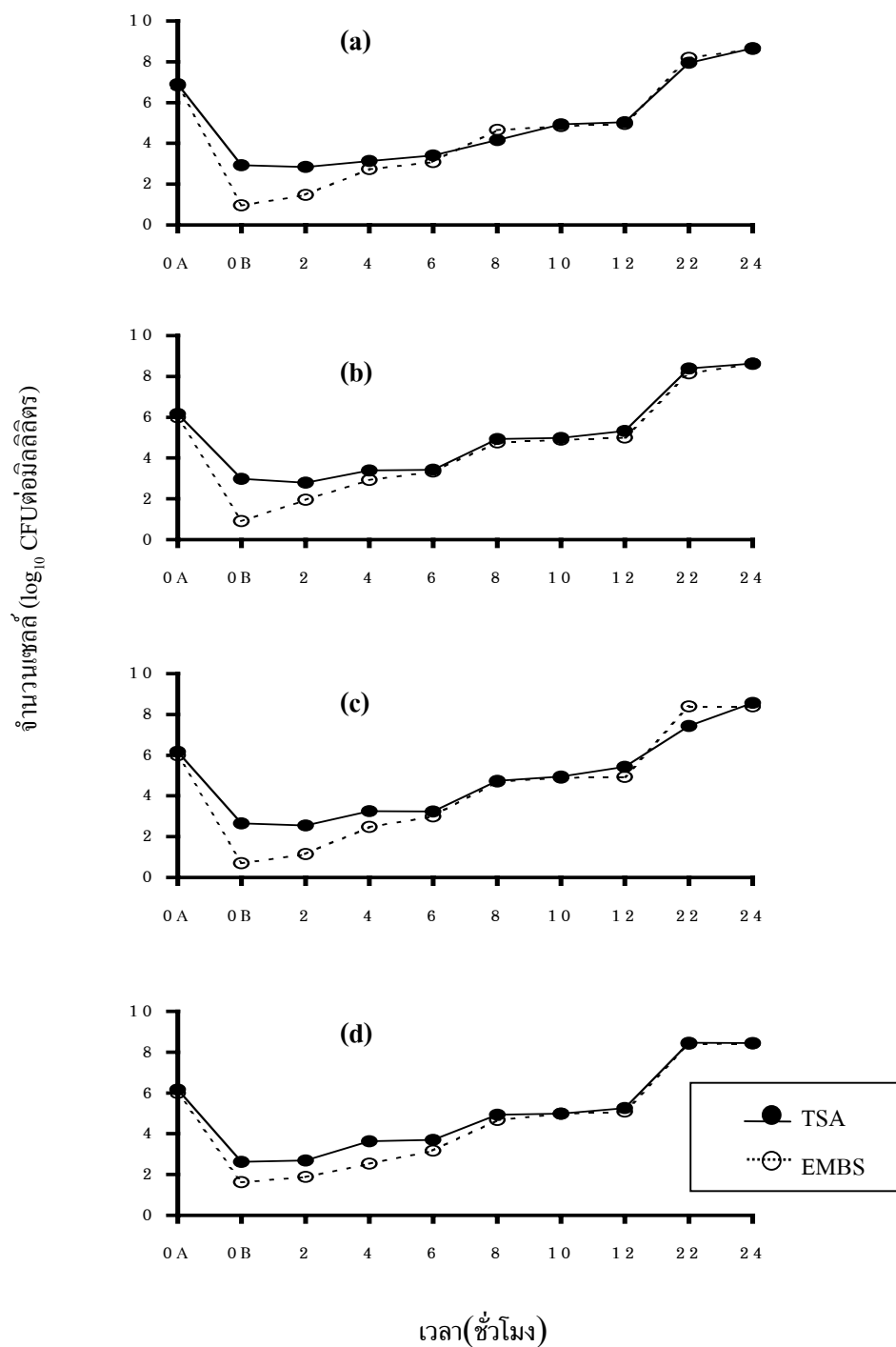
หมายเหตุ 0A = เวลา (นาทิจ) ที่ยังไม่ได้เติมสารละลายกรดเปอร้ออกซีแอซิดกลงไปในสารละลายเซลล์ *Salmonella* sp.

0B = เวลา (ชั่วโมง) หลังจากเลี้ยงเซลล์ *Salmonella* sp. ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร้ออกซีแอซิดในสารละลาย 0.1% Peptone water

3.6 ระยะเวลาการคืนสภาพของ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร้ออกซีแอซิด ในสารละลาย 0.5% Casamino acid

เกิดเซลล์บาดเจ็บของ *S. Typhimurium* ATCC 13311 จากกรดเปอร้ออกซีแอซิด 1.0 ppm ระยะเวลาสัมผัสสารฆ่าเชื้อ 180 วินาที ซึ่งทำให้เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 เกิดการบาดเจ็บคิดเป็นร้อยละ 98.00 เมื่อเลี้ยงเซลล์ที่บาดเจ็บนี้ในสารละลาย 0.5% Casamino acid พบว่าเกิดกระบวนการคืนสภาพเมื่อผ่านไปแล้ว 2 ชั่วโมง โดยที่เวลา 2 ชั่วโมงของการคืนสภาพพบว่าเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 เกิดการคืนสภาพร้อยละ 2.50, และเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 64.30 ที่เวลา 4 ชั่วโมงของการคืนสภาพ สำหรับการคืนสภาพอย่างสมบูรณ์เกิดขึ้นที่เวลา 6 ชั่วโมงของการคืนสภาพ โดยมีร้อยละการคืนสภาพเป็น 141.60 (ภาพที่ 18) นอกจากสารละลาย 0.5% Casamino acid จะส่งเสริมให้เกิดการคืนสภาพของเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร้ออกซีแอซิดแล้ว ยังสามารถส่งเสริมการพัฒนาเซลล์บาดเจ็บ ให้เป็นเซลล์ปกติได้ทั้งหมด โดยร้อยละของเซลล์บาดเจ็บจะค่อยๆ ลดลง จนกระทั่งที่เวลา 22 และ 24 ชั่วโมงของการคืนสภาพเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 มีปริมาณเซลล์บาดเจ็บเหลือเพียงร้อยละ 6.06 และ 8.07 ตามลำดับ

เซลล์ *S. Typhimurium* DMST 14921 บาดเจ็บโดยสภาวะเดียวกับเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 คิดเป็นร้อยละ 98.22 สำหรับกระบวนการคืนสภาพของเซลล์บาดเจ็บในสารละลาย 0.5% Casamino acid เกิดขึ้นในช่วงระยะเวลาระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึง ชั่วโมงที่ 24 ของการคืนสภาพ โดยเมื่อผ่านกระบวนการคืนสภาพไปแล้ว 2 ชั่วโมงพบว่า เซลล์ *S. Typhimurium* DMST 14921 ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร้ออกซีแอซิดมีร้อยละการคืนสภาพในสารละลาย 0.5% Casamino acid ร้อยละ 8.50 และเพิ่มเป็นร้อยละ 89.40 ที่เวลา 4 ชั่วโมงของการคืนสภาพ หลังจากนั้นเซลล์ *S. Typhimurium* DMST 14921 จะเกิดการคืนสภาพอย่างสมบูรณ์ที่เวลา 6 ชั่วโมงของการคืนสภาพ โดยมีร้อยละการคืนสภาพเป็น 232.70 (ภาพที่ 18) นอกจากนี้สารละลาย 0.5% Casamino acid สามารถส่งเสริมให้เซลล์ *S. Typhimurium* DMST 14921 ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร้ออกซีแอซิดเกิดการพัฒนาไปเป็นเซลล์ปกติได้ทั้งหมด โดยที่เวลา 22 และ 24 ชั่วโมงของการคืนสภาพมีเซลล์ *S. Typhimurium* DMST 14921 ที่บาดเจ็บอยู่เพียงร้อยละ 6.67 และ 2.38 ตามลำดับ



ภาพที่ 18 การคืนสภาพของ *S. Typhimurium* ATCC 13311 (a), *S. Typhimurium* DMST 14921 (b), *S. Virchow* DMST 14922 (c), และ *S. Virchow* NE 541 (d) ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100™) ในสารละลาย 0.5% Casamino acid ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

หมายเหตุ 0A = เวลา (นาทิจ) ที่ยังไม่ได้เติมสารละลายกรดเปอร้ออกซีแอซิดกลงไปในสารละลายเซลล์ *Salmonella* sp.

0B = เวลา (ชั่วโมง) หลังจากเลี้ยงเซลล์ *Salmonella* sp. ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร้ออกซีแอซิดในสารละลาย 0.5% Casamino acid

เซลล์บาดเจ็บ *S. Virchow* DMST 14922 จากกรดเปอร้ออกซีแอซิด 1.0 ppm ระยะเวลากการสัมผัสสารฆ่าเชื้อ 180 วินาที คิดเป็นร้อยละ 91.82 แต่เมื่อเลี้ยงเซลล์ *S. Virchow* DMST 14922 ซึ่งบาดเจ็บในสารละลาย 0.5% Casamino acid พบว่าเกิดกระบวนการคืนสภาพ และการซ่อมแซมตัวเองให้กลับเป็นเซลล์ปกติอีกครั้งของเซลล์ *S. Virchow* DMST 14922 โดยที่เวลา 0, 2, และ 4 ชั่วโมงของการคืนสภาพ เซลล์ *S. Virchow* DMST 14922 มีร้อยละการคืนสภาพเป็น 0.00, 2.00, และ 68.50 ตามลำดับ และเกิดการคืนสภาพอย่างสมบูรณ์ที่เวลา 6 ชั่วโมงของการคืนสภาพ โดยมีร้อยละการคืนสภาพเป็น 221.30 (ภาพที่ 18) หลังจากเกิดการคืนสภาพอย่างสมบูรณ์แล้ว เซลล์ *S. Virchow* DMST 14922 ซึ่งบาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร้ออกซีแอซิด จะเข้าสู่กระบวนการพัฒนาไปเป็นเซลล์ปกติ และพัฒนาไปเป็นเซลล์ปกติทั้งหมดที่เวลา 24 ชั่วโมงของการคืนสภาพ โดยมีร้อยละการบาดเจ็บเพียง 7.41 และเพิ่มจำนวนมีสูงถึง $8.43 \log_{10}$ CFU ต่อ มิลลิลิตร

การคืนสภาพของเซลล์ *S. Virchow* NE 541 ในสารละลาย 0.5% Casamino acid เกิดขึ้นระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึง ชั่วโมงที่ 24 ของการคืนสภาพ โดยเซลล์ *S. Virchow* NE 541 เกิดการบาดเจ็บภายใต้สภาวะเดียวกับ *S. Virchow* DMST 14922 คิดเป็นร้อยละ 93.60 เมื่อเลี้ยงเซลล์ที่บาดเจ็บในสารละลาย 0.5% Casamino acid พบว่าเซลล์มีการปรับสภาพ และเพิ่มจำนวนได้ โดยเมื่อเวลาผ่านไป 2 ชั่วโมง เซลล์ *S. Virchow* NE 541 เกิดการคืนสภาพร้อยละ 8.70 และเพิ่มเป็น 78.80 ที่ชั่วโมงที่ 4 ของการคืนสภาพ และที่ชั่วโมงที่ 6 ของการคืนสภาพเซลล์ *S. Virchow* NE 541 เกิดการคืนสภาพอย่างสมบูรณ์ โดยมีร้อยละการคืนสภาพเป็น 385.70 (ภาพที่ 18) เมื่อเลี้ยงเซลล์ต่อไปเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เซลล์ *S. Virchow* NE 541 จะเพิ่มจำนวนขึ้นจนมีปริมาณ $8.44 \log_{10}$ CFU ต่อ มิลลิลิตร และมีเซลล์บาดเจ็บเหลืออยู่เพียงร้อยละ 3.57

สารละลาย 0.5% Casamino acid เป็นแหล่งโปรตีนซึ่งมีความจำเป็นต่อการซ่อมแซมเซลล์บาดเจ็บ และสามารถส่งเสริมให้เซลล์บาดเจ็บพัฒนาไปเป็นเซลล์ปกติได้ คุณสมบัติของสารละลาย Casamino acid ที่แตกต่างจาก สารละลาย Peptone water คือแหล่งที่มาของโปรตีนมาจากแหล่งต่างกัน โดย Casamino acid ได้มาจาก Casein ซึ่งเป็นโปรตีนจากนม และถือเป็นแหล่งโปรตีนจากสัตว์ สำหรับ สารละลาย Peptone water เป็นสารละลาย Peptone ที่เตรียมจาก Peptone from soy meal ซึ่งเป็นโปรตีนจากพืช แม้ว่าโปรตีนจะปัจจัยสำคัญสำหรับการซ่อมแซมเซลล์บาดเจ็บ

เจ็บ แต่จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า โปรตีนจากแหล่งต่างกันส่งผลต่อการกินสภาพและการพัฒนาเซลล์บาดเจ็บไปเป็นเซลล์ปกติ จากผลการทดลองทำให้คาดเดาได้ว่า หากมีการปนเปื้อนของ *Salmonella* sp. ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ จะก่อให้เกิดความเสี่ยงมากขึ้น เนื่องจากเนื้อสัตว์เป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญ และโปรตีนจากเนื้อสัตว์ส่งเสริมให้เซลล์ที่บาดเจ็บเกิดการกินสภาพและพัฒนาไปเป็นเซลล์ปกติได้ดี

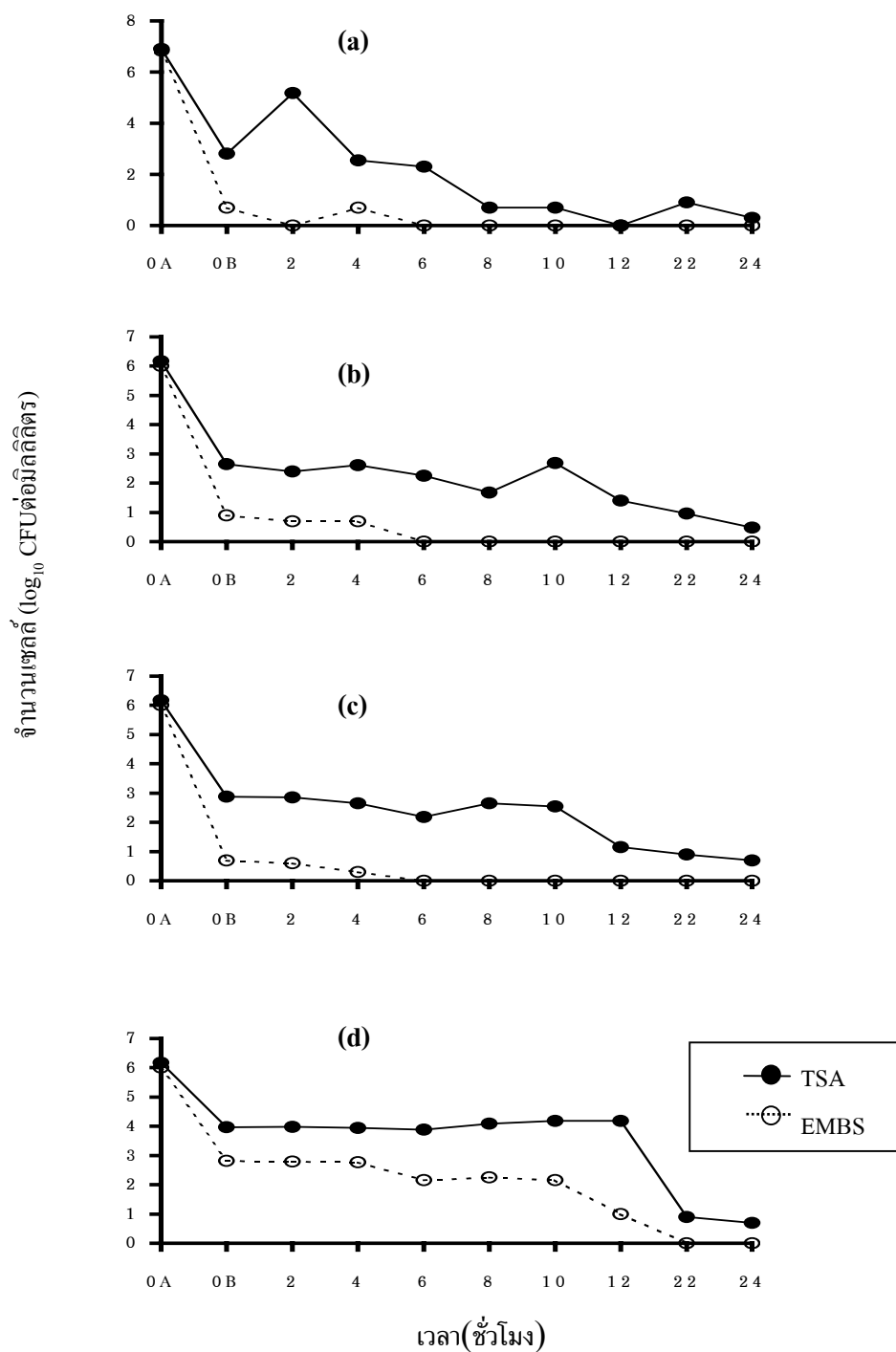
3.7 ระยะเวลาการกินสภาพของ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารละลาย Butterfield's phosphate buffer ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0

จากภาพที่ 19 แสดงการกินสภาพของเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารละลาย Butterfield's phosphate buffer ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0 จะเห็นได้อย่างชัดเจนว่า ไม่มีการกินสภาพของเซลล์บาดเจ็บในสารละลาย Butterfield's phosphate buffer ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0 นอกจากนี้สารละลาย Butterfield's phosphate buffer ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0 ยังไม่มีสมบัติในการส่งเสริมให้เซลล์เกิดการพัฒนาและเพิ่มจำนวนขึ้น โดยเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 จะเริ่มลดลงตั้งแต่ชั่วโมงที่ 4 ของการกินสภาพ และลดลงตลอดระยะเวลา 24 ชั่วโมงของการกินสภาพ ส่วนเซลล์ *S. Typhimurium* DMST 14921 จะเริ่มลดลงที่ชั่วโมงที่ 6 ของการกินสภาพ ถึงแม้ว่าจะมีการเพิ่มขึ้นเล็กน้อย แต่จำนวนเซลล์ยังไม่เพิ่มขึ้น และลดลงเรื่อยๆ จนกระทั่ง สิ้นสุดชั่วโมงที่ 24 ของการกินสภาพ

สำหรับ *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 ก็มีแนวโน้มเช่นเดียวกับเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, และ *S. Typhimurium* DMST 14921 กล่าวคือไม่เกิดการกินสภาพ และไม่มีการเจริญในสารละลาย Butterfield's phosphate buffer ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0 โดยจำนวนเซลล์จะลดลงอย่างชัดเจนที่ชั่วโมงที่ 12 ของการกินสภาพ

สารละลาย Butterfield's phosphate buffer ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0 ไม่มีสารที่จำเป็นต่อการกินสภาพของเซลล์บาดเจ็บอยู่เลย และเป็นการยืนยันได้ว่า การกินสภาพของเซลล์บาดเจ็บจำเป็นต้องอาศัยสภาวะที่เหมาะสม การเก็บอาหารอย่างถูกวิธีในสภาวะที่ไม่ส่งเสริมให้เซลล์แบคทีเรียที่เกิดการบาดเจ็บมีกระบวนการกินสภาพ เป็นวิธีที่ช่วยป้องกันอันตรายจากการบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ได้

การเพิ่มขึ้นของระยะ lag phase เพื่อเป็นการปรับสภาพของเซลล์บาดเจ็บ ดังรายงานของ Verville and Herson (1989) รายงานว่า เซลล์ *Escherichia coli* มีระยะ lag phase ก่อนเพิ่มจำนวนประมาณ 4 ชั่วโมง แต่เมื่อเซลล์เกิดการบาดเจ็บจากสารฆ่าเชื้อประเภทคลอรีน จะมีระยะ lag phase เพิ่มขึ้นอย่างน้อย 3 ชั่วโมง ซึ่งทำให้เซลล์ *Escherichia coli* ที่บาดเจ็บเนื่องจากสารฆ่าเชื้อประเภทคลอรีน จะมีระยะเวลาในการซ่อมแซมเซลล์ มากกว่า 7 ชั่วโมง



ภาพที่ 19 การคืนสภาพของ *S. Typhimurium* ATCC 13311 (a), *S. Typhimurium* DMST 14921 (b), *S. Virchow* DMST 14922 (c), และ *S. Virchow* NE 541 (d) ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100™) ในสารละลาย Butterfield's phosphate buffer ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

หมายเหตุ 0A = เวลา (นาทิจ) ที่ยังไม่ได้เติมสารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิดกลงไปในสารละลายเซลล์ *Salmonella* sp.

0B = เวลา (ชั่วโมง) หลังจากเลี้ยงเซลล์ *Salmonella* sp. ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดในสารละลาย Butterfield's Phosphate buffer pH 7.0

เซลล์ *Salmonella* sp. ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิด จำเป็นต้องอาศัยระยะเวลาในการซ่อมแซมเซลล์ ทำให้มีระยะเวลาในช่วง lag phase นานขึ้น ซึ่งช่วง lag phase นี้เป็นระยะเวลาที่เซลล์รอดชีวิตจากสารฆ่าเชื้อยังไม่มี的增加จำนวน แต่จะมีการเพิ่มองค์ประกอบต่างๆ ภายในเซลล์ เซลล์จะขยายขนาด มีการสังเคราะห์สารโมเลกุลใหญ่มากขึ้น ซึ่งเรียกการเจริญในช่วงนี้ว่า “Tooling up” หมายถึงเซลล์มีการเจริญแต่ไม่มีการแบ่งเซลล์ เซลล์จะมีการสร้างและสะสมสารต่างๆ ที่จำเป็นสำหรับการแบ่งเซลล์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งมีการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของสารอาหารต่างๆ ไปเป็นโมเลกุลของ Adenosine triphosphate เพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงาน มีการสร้างไรโบโซมซึ่งมีความจำเป็นต่อการสังเคราะห์โปรตีน และ เอนไซม์บางชนิดที่จำเป็นต่อการเจริญ (Michael and Chan, 1981; Nester *et al.*, 1983)

3.8 ผลของอาหารเลี้ยงเชื้อต่อระยะเวลาการคืนสภาพของ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิด

ตารางที่ 17 แสดงการเปรียบเทียบร้อยละการคืนสภาพของเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิด ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ ที่เวลา 4 ชั่วโมงของการคืนสภาพ จากตารางพบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อ LB ทำให้เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 ที่บาดเจ็บ มีร้อยละการคืนสภาพสูงสุด และแตกต่างจากอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ทำให้เกิดการคืนสภาพของเซลล์ที่บาดเจ็บน้อยที่สุดคือ สารละลาย Butterfield's Phosphate Buffer ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0 และแตกต่างจากอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) จากผลการทดลองทำให้ทราบว่า เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 ที่บาดเจ็บ มีกลไกการตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง Robinson *et al.* (2000) รายงานว่า เซลล์ *S. Enteritidis* ที่รอดชีวิตจากสภาวะความเป็นกรดจะหยุดการเจริญที่สภาวะซึ่งมีค่าความเป็นกรด-ด่าง ต่ำกว่า 5.4 และพบว่า เซลล์ขาดแคลนสารพลังงานสูงทำให้เซลล์ลดความสามารถในการกำจัดกรดจากสภาพแวดล้อมในตัวเอง เซลล์จะไวต่อการ

เปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง กระบวนการหมักทำให้เซลล์หยุดการเจริญได้ ซึ่งจากการทดลองสามารถบอกได้ว่า *Salmonella* sp. ที่เจริญในสภาพที่มีน้ำตาลแลคโทส ไม่สามารถหมักน้ำตาล แลคโทส แล้วให้กรด ในขณะที่หากเซลล์เจริญในสภาพที่มีน้ำตาลกลูโคส แล้วเกิดกระบวนการหมัก ได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดและแก๊สทำให้มีการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างมากขึ้นดังนั้น

ตารางที่ 17 เปรียบเทียบร้อยละการคืนสภาพของเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ ที่เวลา 4 ชั่วโมงของการคืนสภาพ

สายพันธุ์ของ <i>Salmonella</i> sp.	ร้อยละการคืนสภาพที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ						
	TSB	NB	LB	BHI	PEP	CA	BUF
<i>S. Typhimurium</i> ATCC 13311	5.90d (0.91) ¹	5.55d (0.61)	113.70a (1.11)	-3.40f (0.46)	52.80c (2.95)	64.30b (2.71)	0.00e (0.00)
<i>S. Typhimurium</i> DMST 14921	11.00e (0.70)	16.80d (0.46)	200.90a (1.21)	-1.00f (0.26)	80.20c (0.61)	89.40b (0.92)	-0.70f (0.17)
<i>S. Virchow</i> DMST 14922	6.00e (0.20)	19.10d (1.13)	172.50a (1.73)	2.40f (0.50)	50.30c (2.10)	68.50b (2.57)	-0.40f (0.78)
<i>S. Virchow</i> NE 541	87.60b (1.65)	53.60d (2.55)	369.50a (5.53)	78.60c (1.22)	82.60c (0.80)	78.80c (2.57)	-0.70e (0.78)

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแนวนอนหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

¹ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน, $n = 3$

TSB = Tryptic Soya Broth, NB = Nutrient Broth, LB = Lactose Broth, BHI = Brain Heart Infusion Broth, PEP = สารละลาย 0.1% Peptone Water, CA = สารละลาย 0.5% Casamino acid, BUF = Butterfield's Phosphate Buffer pH 7.0

การเจริญคืบคลานในสภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างน้อยจึงเหมาะสมสำหรับการคืบคลานมากกว่าเมื่อเจริญในสภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างมาก

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB และ BHI พบว่า ร้อยละการคืบคลานของ เชลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB สูงกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เนื่องมาจากปริมาณน้ำตาลกลูโคส ในอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งสองชนิดมีปริมาณไม่เท่ากัน จึงสามารถกล่าวได้ว่า น้ำตาล และชนิดของน้ำตาล เป็นปัจจัยสำคัญที่จะส่งเสริมให้เชลล์บาดเจ็บเกิดกระบวนการคืบคลาน

เมื่อเปรียบเทียบแหล่งโปรตีนซึ่งเป็นส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยพิจารณา ร้อยละการคืบคลานของ เชลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารละลาย 0.1% Peptone water และ สารละลาย 0.5% Casamino acid พบว่า ร้อยละการคืบคลานในสารละลาย 0.5% Casamino acid สูงกว่าร้อยละการคืบคลานในสารละลาย 0.1% Peptone water อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) จึงกล่าวได้ว่า ชนิดของโปรตีน และแหล่งที่มาของโปรตีนมีความเกี่ยวข้องกับการเกิดกระบวนการคืบคลานของเชลล์บาดเจ็บ โดยจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า แหล่งโปรตีนจากสัตว์ (สารละลาย 0.5% Casamino acid) จะเป็นแหล่งโปรตีนที่ดีกว่าแหล่งโปรตีนจากพืช (สารละลาย 0.1% Peptone water)

กระบวนการคืบคลาน หรือการซ่อมแซมเชลล์บาดเจ็บ ยังขึ้นอยู่กับระดับความเป็นกรด-ด่าง ซึ่งระดับความเป็นกรด-ด่าง ที่เหมาะสมควรอยู่ระหว่าง 6.0-7.0 แต่อย่างไรก็ตามการซ่อมแซมเชลล์ไม่ต้องการสารอาหารเพื่อการสังเคราะห์โปรตีน กรดนิวคลีอิก หรือผนังเชลล์ (Cell wall mucopeptide) แต่ต้องการพลังงานจาก ATP ซึ่งสร้างผ่านกระบวนการ Oxidative phosphorylation ด้วยเหตุนี้จึงต้องการสารพลังงานสูงเพื่อซ่อมแซมบริเวณที่เสียหาย โดยปกติเมื่อมีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม สิ่งแรกที่เชลล์กระทำคือ ปรับปรุงความสามารถในการซึมผ่าน (Permeability) เริ่มกระบวนการสร้าง RNA แล้วตามด้วยการสร้างโปรตีน เมื่อกระบวนการซ่อมแซมเชลล์สิ้นสุด เชลล์ก็จะเริ่มสร้าง Deoxyribonucleic acid (Ray *et al.*, 1971)

จากรายงานของ Blankenship (1981) ซึ่งทำการศึกษาการบาดเจ็บเนื่องจากกรดแอซิกติกของเซลล์ *S. Bareilly* และเพาะเลี้ยงเซลล์ที่บาดเจ็บในอาหารเลี้ยงเชื้อต่างชนิดกัน พบว่า เซลล์คืนสภาพได้ดีในสารละลาย Peptone และ Casamino acid มากกว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อทั่วไป ซึ่งเป็นการยืนยันหลักฐานที่ว่า กระบวนการสังเคราะห์โปรตีน และ RNA และกระบวนการถ่ายทอด อิเล็กตรอนจำเป็นสำหรับการซ่อมแซมเซลล์

วิธีการทำให้เซลล์บาดเจ็บเกิดการคืนสภาพเรียกว่า วิธี Preenrichment ช่วยทำให้ จุลินทรีย์เกิดกระบวนการซ่อมแซมเซลล์ที่เสียหายได้เร็วขึ้น ลดความคลาดเคลื่อนในการนับจำนวนเชื้อ (Ray, 1979) แต่อย่างไรก็ตาม ระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับการคืนสภาพโดยวิธี Preenrichment ไม่แน่นอน และขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น หากทำให้เซลล์บาดเจ็บเกิดกระบวนการคืนสภาพบนอาหารแข็งจะใช้เวลาซ่อมแซมเซลล์ประมาณ 1-5 ชั่วโมง แต่หากเลี้ยงในอาหารเหลวจะต้องใช้เวลามากกว่าตั้งแต่ 6-24 ชั่วโมง (Ray, 1979; Mackey and Derrick, 1982; D'Aoust, 1981) นอกจากนี้สิ่งที่ต้องพิจารณาในการคืนสภาพก็คือปริมาณการบาดเจ็บ และลักษณะการบาดเจ็บว่ารุนแรงหรือไม่

3.9 ความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์และสมบัติการต่อต้านจุลชีพต่อระยะเวลาการคืนสภาพของ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก

จากการเปรียบเทียบร้อยละการคืนสภาพของ เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ที่เวลา 4 และ 6 ชั่วโมงของการคืนสภาพ (ตารางที่ 18) พบว่า เซลล์ที่มีสมบัติต่อต้านจุลชีพคือ *S. Typhimurium* DMST 14921 และ *S. Virchow* NE 541 มีร้อยละการคืนสภาพที่สูงกว่าเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 และ *S. Virchow* DMST 14922 ที่ไม่มีสมบัติต่อต้านจุลชีพ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากสมบัติการต่อต้านจุลชีพเป็นสมบัติพิเศษสำหรับเซลล์ ซึ่งผ่านสภาวะเครียดจากสารต้านจุลชีพ และสามารถปรับตัวจนกระทั่งต่อต้านสารต้านจุลชีพได้ ซึ่งสมบัติการต่อต้านหรือไม่ต่อต้านสารต้านจุลชีพเกี่ยวข้องกับระบบพันธุกรรมของเซลล์จุลินทรีย์ เซลล์จุลินทรีย์ที่มีสมบัตินี้ จึงอาจมีสมบัติอย่างอื่นเพิ่มขึ้น จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า เซลล์ซึ่งมีสมบัติต่อต้านสารต้านจุลชีพ

จะมีกระบวนการคืนสภาพจากการบาดเจ็บเนื่องกรดเปอร้ออกซีแอซิดิกได้รวดเร็วกว่าเซลล์บาดเจ็บที่ไม่มีสมบัติต่อต้านจุลชีพ

ตารางที่ 18 เปรียบเทียบร้อยละการคืนสภาพของ เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร้ออกซีแอซิดิก ในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ที่เวลา 4 และ 6 ชั่วโมงของการคืนสภาพ

สายพันธุ์ของ <i>Salmonella</i> sp.	ร้อยละการคืนสภาพของ <i>Salmonella</i> sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ที่เวลา 4 หรือ 6 ชั่วโมงของการคืนสภาพ	
	4 ชั่วโมงของการคืนสภาพ	6 ชั่วโมงของการคืนสภาพ
<i>S. Typhimurium</i> ATCC 13311	113.70d (1.11) ¹	732.40d (1.25)
<i>S. Typhimurium</i> DMST 14921	200.90b (1.21)	996.90c (3.92)
<i>S. Virchow</i> DMST 14922	172.50c (1.73)	1042.00b (15.62)
<i>S. Virchow</i> NE 541	369.50a (5.53)	6461.20a (10.68)

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแนวดังหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

¹ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน , $n = 3$

เซลล์ต่างชนิดกันจะมีระยะเวลาในการซ่อมแซมเซลล์ต่างกัน ระยะเวลาในการซ่อมแซมเซลล์จึงสามารถพิจารณาได้จากระยะเวลา lag phase ของเซลล์ที่บาดเจ็บ โดยปกติระยะ lag phase จะสั้นหรือยาว ขึ้นกับสาเหตุที่ทำให้เซลล์บาดเจ็บ และความรุนแรงของการบาดเจ็บ (Mackey and Derrick, 1982) เช่น *Salmonella* sp. ต้องการระยะ lag phase มากกว่า 12 ชั่วโมงเพื่อซ่อมแซมเซลล์ ซึ่งเป็นเวลาที่มากกว่าแบคทีเรียชนิดอื่นในกลุ่ม Enterobacteriaceae นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า *S. Typhimurium* ที่บาดเจ็บเนื่องจากความร้อน หรือกรด มีระยะ lag phase นานกว่าการบาดเจ็บเนื่องจากการแช่เยือกแข็งหรือการทำแห้ง (Mackey and Derrick, 1984) Bunduki *et al.* (1995) รายงานว่า เซลล์ *Listeria monocytogenes* ที่บาดเจ็บเนื่องจากสารฆ่าเชื้อประเภทคลอรีน ใช้เวลาในการ

ซ่อมแซมเซลล์ หรือระยะ lag phase นานประมาณ 14 ชั่วโมง ซึ่งใช้เวลาในการซ่อมแซมเซลล์นานกว่าแบคทีเรียชนิดเดียวกันที่บาดเจ็บเนื่องจากความร้อน ซึ่งใช้เวลาประมาณ 5 ชั่วโมง

กระบวนการคืนสภาพ หรือการซ่อมแซมเซลล์บาดเจ็บ ยังขึ้นอยู่กับระดับความเป็นกรด-ด่าง ซึ่งระดับความเป็นกรด-ด่าง ที่เหมาะสมควรอยู่ระหว่าง 6.0-7.0 แต่อย่างไรก็ตามการซ่อมแซมเซลล์ไม่ต้องการสารอาหารเพื่อการสังเคราะห์โปรตีน กรดนิวคลีอิก หรือผนังเซลล์ (Cell wall mucopeptide) แต่ต้องการพลังงานจาก ATP ซึ่งสร้างผ่านกระบวนการ Oxidative phosphorylation ด้วยเหตุนี้จึงต้องการสารพลังงานสูงเพื่อซ่อมแซมบริเวณที่เสียหาย โดยปกติเมื่อมีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม สิ่งแรกที่เซลล์กระทำคือ ปรับปรุงความสามารถในการซึมผ่าน (Permeability) เริ่มกระบวนการสร้าง RNA แล้วตามด้วยการสร้างโปรตีน เมื่อกระบวนการซ่อมแซมเซลล์สิ้นสุด เซลล์ก็จะเริ่มสร้าง Deoxyribonucleic acid (Ray *et al.*, 1971)

วิธีการทำให้เซลล์บาดเจ็บเกิดการคืนสภาพเรียกว่า วิธี Preenrichment ช่วยทำให้ จุลินทรีย์เกิดกระบวนการซ่อมแซมเซลล์ที่เสียหายได้เร็วขึ้น ลดความคลาดเคลื่อนในการนับจำนวนเชื้อ (Ray, 1979) แต่อย่างไรก็ตาม ระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับการคืนสภาพโดยวิธี Preenrichment ไม่แน่นอน และขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น หากทำให้เซลล์บาดเจ็บเกิดกระบวนการคืนสภาพบนอาหารแข็งจะใช้เวลาซ่อมแซมเซลล์ประมาณ 1-5 ชั่วโมง แต่หากเลี้ยงในอาหารเหลวจะต้องใช้เวลามากกว่าตั้งแต่ 6-24 ชั่วโมง (Ray, 1979; Mackey and Derrick, 1982; D'Aoust, 1981) นอกจากนี้สิ่งที่ต้องพิจารณาในการคืนสภาพก็คือปริมาณการบาดเจ็บ และลักษณะการบาดเจ็บว่ารุนแรงหรือไม่

เซลล์ต่างชนิดกันจะมีระยะเวลาในการซ่อมแซมเซลล์ต่างกัน ระยะเวลาในการซ่อมแซมเซลล์จึงสามารถพิจารณาได้จากระยะเวลา lag phase ของเซลล์ที่บาดเจ็บ โดยปกติระยะ lag phase จะสั้นหรือยาว ขึ้นกับสาเหตุที่ทำให้เซลล์บาดเจ็บ และความรุนแรงของการบาดเจ็บ (Mackey and Derrick, 1982) เช่น *Salmonella* sp. ต้องการระยะ lag phase มากกว่า 12 ชั่วโมงเพื่อซ่อมแซมเซลล์ ซึ่งเป็นเวลาที่มากกว่าแบคทีเรียชนิดอื่นในกลุ่ม Enterobacteriaceae นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า *S. Typhimurium* ที่บาดเจ็บเนื่องจากความร้อน หรือกรด มีระยะ lag phase นานกว่าการบาดเจ็บเนื่องจากการแช่เยือกแข็งหรือการทำแห้ง (Mackey and Derrick, 1984) Bunduki *et al.* (1995) รายงานว่า เซลล์ *Listeria monocytogenes* ที่บาดเจ็บเนื่องจากสารฆ่าเชื้อประเภทคลอรีน ใช้เวลาในการซ่อมแซมเซลล์ หรือระยะ lag phase นานประมาณ 14 ชั่วโมง ซึ่งใช้เวลาในการซ่อมแซมเซลล์นานกว่าแบคทีเรียชนิดเดียวกันที่บาดเจ็บเนื่องจากความร้อน ซึ่งใช้เวลาประมาณ 5 ชั่วโมง

4. การศึกษาตำแหน่งเซลล์ *Salmonella Typhimurium* ATCC 13311, *Salmonella Typhimurium* DMST 14921, *Salmonella Virchow* DMST 14922, และ *Salmonella Virchow* NE 541 ที่เสียหายเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

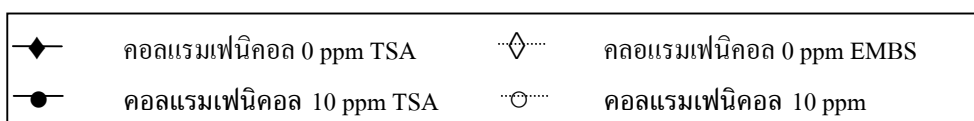
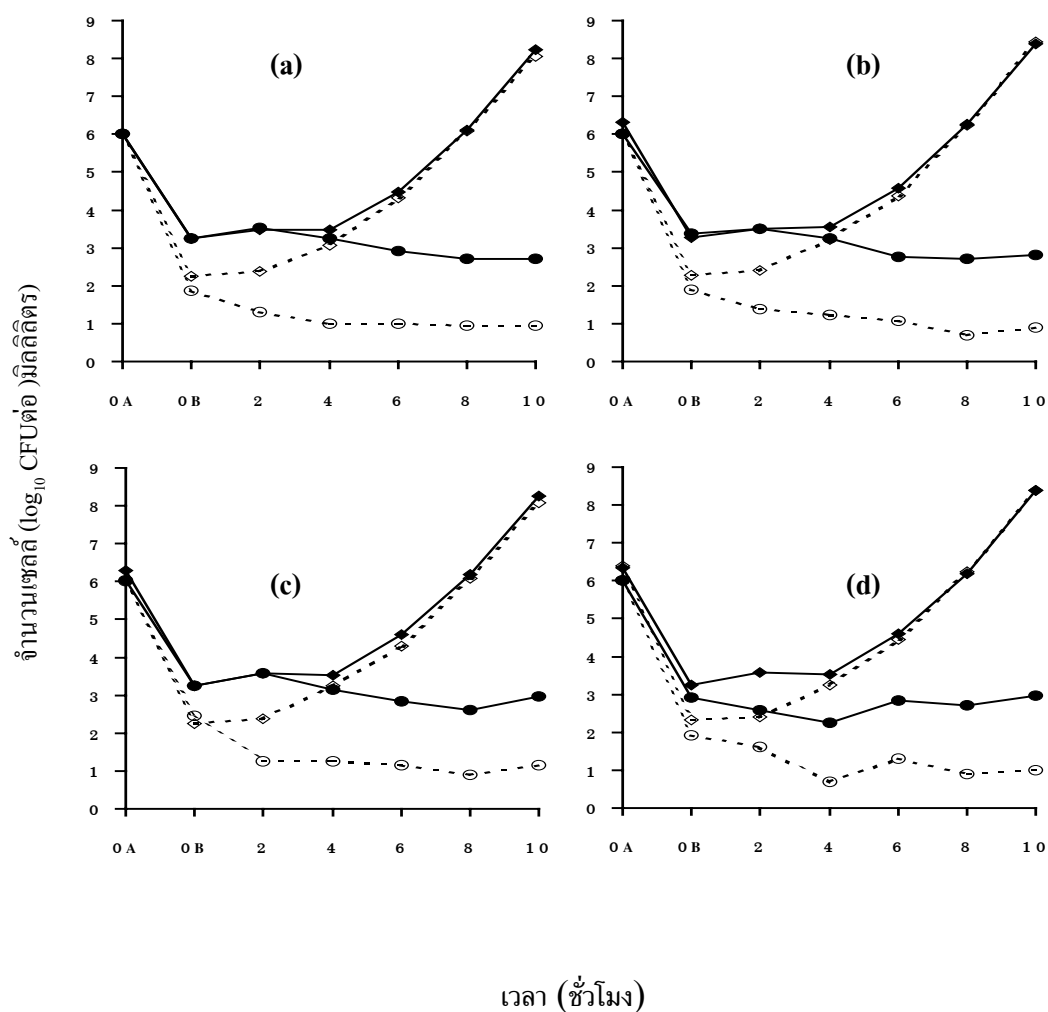
4.1 การศึกษาตำแหน่งของเซลล์ที่เสียหายด้วยสารยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน

เลี้ยงเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 ที่เกิดการบาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ความเข้มข้น 1.0 ppm เวลาการสัมผัสสารมาเชื้อ 180 วินาที มากกว่าร้อยละ 90.00 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ที่มีและไม่มีการเติม คลอแรมเฟนิคอล ที่ระดับความเข้มข้น 10 ppm ซึ่งเป็นระดับความเข้มข้นที่ไม่มีผลต่อการเจริญของเซลล์ปกติของ *Salmonella* sp. (สุภาวดี, 2544) ผลการทดลองพบว่า ที่เวลา 0 ชั่วโมง เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 มีร้อยละการบาดเจ็บในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ที่ไม่เติม คลอแรมเฟนิคอล เท่ากับ 90.00, 90.00, 90.28, และ 88.00 ตามลำดับ ส่วนในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ที่เติม คลอแรมเฟนิคอล มีร้อยละการบาดเจ็บเท่ากับ 95.83, 96.75, 84.44, และ 89.69 ตามลำดับ เมื่อเลี้ยงเซลล์บาดเจ็บต่อไปเป็นเวลา 10 ชั่วโมง และตรวจนับจำนวนเซลล์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA และ EMBS พบว่า เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 ซึ่งบาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกสามารถคืนสภาพเป็นเซลล์ปกติได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ที่ไม่มีการเติม คลอแรมเฟนิคอล สำหรับเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 ซึ่งเกิดการบาดเจ็บ และเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ที่มีการเติมคลอแรมเฟนิคอล 10 ppm พบว่าไม่มีการเจริญคืนสภาพในระยะเวลาภายใน 10 ชั่วโมง ซึ่งหมายความว่า เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกไม่สามารถซ่อมแซมเซลล์ได้ในช่วงเวลา 10 ชั่วโมง หรืออีกนัยหนึ่งคือมีช่วง lag phase นานกว่า 10 ชั่วโมง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก มีความต้องการกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนในขั้นตอนการคืนสภาพ และซ่อมแซมเซลล์ เพื่อพัฒนาไปเป็นเซลล์ปกติ (ภาพที่ 20)

การผลิตสารต้านจุลชีพ คลอแรมเฟนิคอลสามารถผลิตและแยกได้จากเชื้อรา *Streptomyces venezuelae* (Kucers *et al.*, 1997e) โครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนไนโตรเบนซีนที่มีหมู่น้ำไอออนิกคลอรีน (นงลักษณ์ และ ปรีชา, 2541) มีชื่อทางเคมีคือ D(-)-threo-p-nitrophenyl-2-dichloroacetomido-1,3-propanediol (Kucers *et al.*, 1997i) ในการผลิตทางการค้านิยมผลิต คลอแรมเฟนิคอล โดยวิธีทางเคมีมากกว่าวิธีทางชีวภาพ (Frankin and Snow, 1989)

คลอแรมเฟนิคอล ออกฤทธิ์ขัดขวางการสังเคราะห์โปรตีนของจุลินทรีย์โดยเข้าไปขัดขวางการจับโปรตีนของ 50S subunit ของไรโบโซม ที่ตำแหน่ง ribosomal acceptor site ซึ่งเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของเอนไซม์ Peptidyl transferase อันเกี่ยวข้องกับโดยตรงในกระบวนการทรานสเพปติเดชัน (Transpeptidation) ในระหว่างการเกิดกระบวนการสังเคราะห์โปรตีน (Kucers *et al.*, 1997d,h,k)

การจับกันระหว่าง 50S subunit และ คลอแรมเฟนิคอล เป็นการจับกันแบบจำเพาะ โดยจับแบบ 1 โมเลกุลของ คลอแรมเฟนิคอล ต่อ 1 subunit และเป็นการจับแบบจำเพาะที่ย้อนกลับได้ โดย คลอแรมเฟนิคอล จะแย่ง Peptidyl transferase ที่ตำแหน่งปลาย 3' ของ aminoacyl-tRNA ทั้งที่ตำแหน่ง A site และ P site ของไรโบโซม ทำให้กระบวนการสร้างสายโซ่เปปไทด์ไม่สามารถดำเนินต่อไปได้ (Frankin and Snow, 1989) นอกจากกระบวนการ ทรานสเพปติเดชันแล้ว คลอแรมเฟนิคอล ยังสามารถขัดขวางกระบวนการทรานสโลเคชัน (Translocation) ซึ่งเป็นกระบวนการที่เซลล์นำกรดอะมิโนที่เซลล์สร้างขึ้นมาเชื่อมต่อกัน (นงลักษณ์ และ ปรีชา, 2541) โดย คลอแรมเฟนิคอล มีผลยับยั้งเอนไซม์ Peptidyl transferase บนไรโบโซม ทำให้ขั้นตอนการเกิด Elongation ซึ่งเป็นขั้นตอนในการนำกรดอะมิโนมาเชื่อมต่อกันเป็นโปรตีนหยุดชะงัก



ภาพที่ 20 การคืนสภาพของ *S. Typhimurium* ATCC 13311 (a), *S. Typhimurium* DMST 14921 (b), *S. Virchow* DMST 14922 (c), และ *S. Virchow* NE 541 (d) ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100™) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB (ชุดควบคุม) และในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ที่เติม คอลแรมเฟนิคอล 10 ppm ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

หมายเหตุ 0A = เวลา (นาฬิกา) ที่ยังไม่ได้เติมสารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกลงไปในการละลายเซลล์ *Salmonella* sp.

OB = เวลา (ชั่วโมง) หลังจากเลี้ยงเซลล์ *Salmonella* sp. ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรด เปอร์ออกซิแอซิดิกในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB

อย่างไรก็ตามจุลินทรีย์ที่สัมผัสกับ คลอแรมเฟนิคอล อาจกลับมามีกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนได้ใหม่ หากว่าระยะเวลาการสัมผัสไม่นานเพียงพอ Kucers *et al.* (1997b) รายงานว่า จุลินทรีย์ที่สัมผัสกับคลอแรมเฟนิคอลไม่นาน จะกลับมีกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนขึ้นใหม่ เมื่อหยุดการสัมผัสกับ คลอแรมเฟนิคอล และสายโซ่เปปไทด์ที่ถูกขัดขวางสามารถกลับมาสมบูรณ์ได้อีกครั้งหนึ่ง คลอแรมเฟนิคอล มีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของ จุลินทรีย์ มากกว่าออกฤทธิ์ทำลายจุลินทรีย์ การสัมผัสกับ คลอแรมเฟนิคอล ที่ระดับความเข้มข้นสูง และเป็นเวลานาน จะมีผลทำให้สารโมเลกุลใหญ่ภายในเซลล์รั่วออกมาได้ มีการทำลายไรโบโซม คลอแรมเฟนิคอล สามารถทำลายจุลินทรีย์ในระยะแบ่งเซลล์ได้ดีกว่าระยะพัก (Kucers *et al.*, 1997a,i)

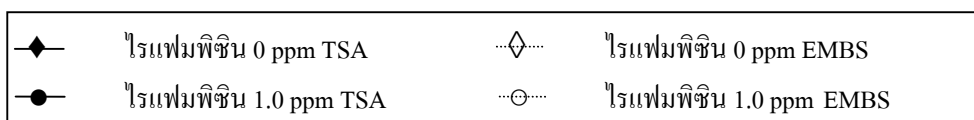
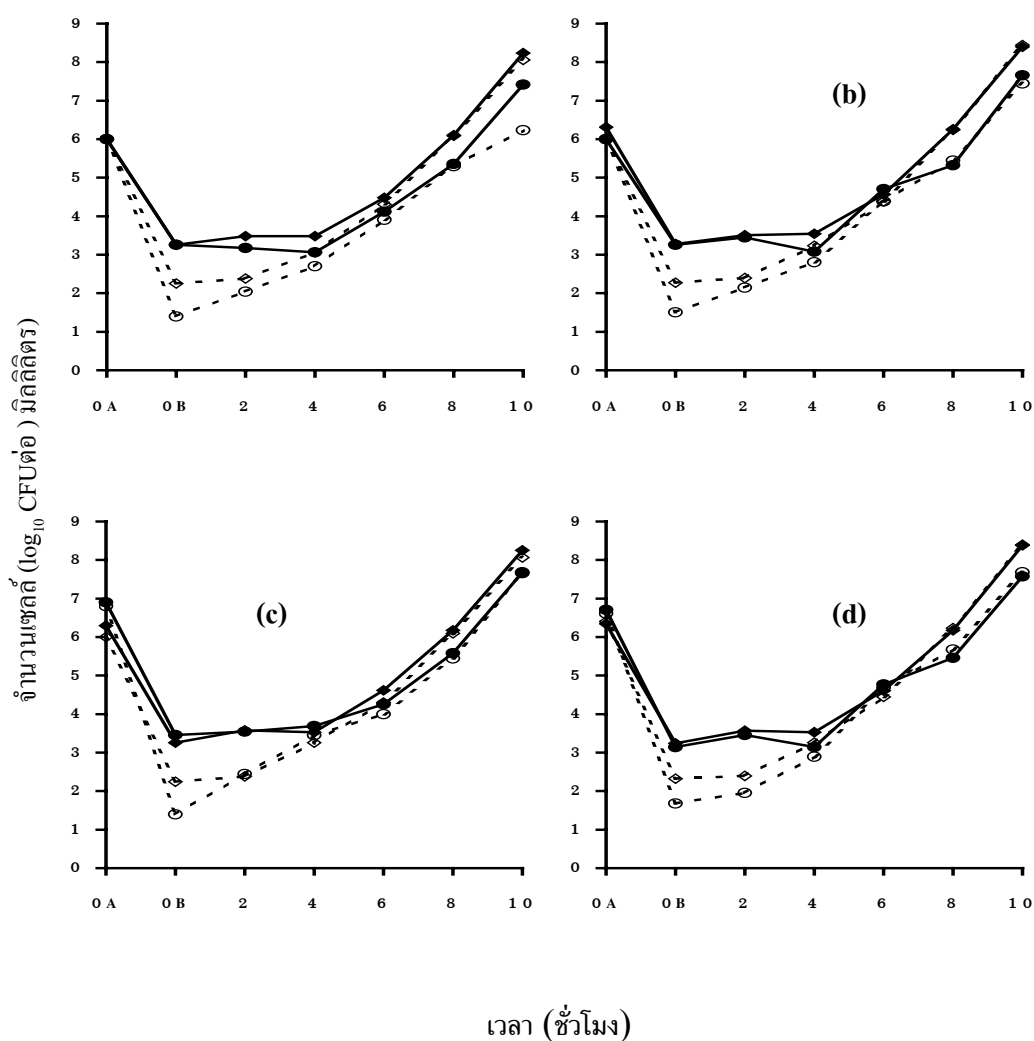
การคืนสภาพของเซลล์บาดเจ็บเนื่องจากกระบวนการอื่นๆ พบว่า การสังเคราะห์โปรตีนเป็นกระบวนการที่มักจะเกี่ยวข้องกับการคืนสภาพของเซลล์บาดเจ็บ งานวิจัยของ Bluhm and Ordal (1969) รายงานว่า เซลล์ *Staphylococcus aureus* ที่บาดเจ็บเนื่องจากความร้อน ต้องการการสังเคราะห์โปรตีน เอนไซม์ รวมทั้ง Ribosomal protein เพื่อเตรียมสภาวะภายในเซลล์ให้มีการเจริญ และแบ่งเซลล์ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Hurst *et al.* (1973) เซลล์ *Staphylococcus aureus* ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดมีความต้องการกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนในช่วงการคืนสภาพและซ่อมแซมเซลล์ (Zayaitz and Ledford, 1985) การศึกษาในเซลล์ *S. Bareilly* ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดพบว่า คลอแรมเฟนิคอล มีบทบาทในการยับยั้งการคืนสภาพของเซลล์ นอกจากนั้นแล้วในเซลล์ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรด โปรตีนจะเสถียรมาก และในการคืนสภาพต้องการกรดแอมิโนเป็นจำนวนมาก และการสังเคราะห์โปรตีนมีความจำเป็นอย่างยิ่งสำหรับการซ่อมแซมเซลล์บาดเจ็บ (Blankenship, 1981) Bunduki (1995) รายงานว่า เซลล์ *Listeria monocytogenes* ซึ่งบาดเจ็บเนื่องจากความร้อน หรือสารฆ่าเชื้อประเภทคลอรีน ไม่มีกระบวนการซ่อมแซมเซลล์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีส่วนประกอบส่วนของ คลอแรมเฟนิคอล ซึ่งคาดว่า การซ่อมแซมเซลล์ *Listeria monocytogenes* ต้องการกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนทั้งเซลล์ที่บาดเจ็บเนื่องจากความร้อน และเซลล์ที่บาดเจ็บเนื่องจากสารฆ่าเชื้อประเภทคลอรีน สุภาวดี (2544) รายงานว่า เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 บาดเจ็บเนื่องจากสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ ร่วมกับกรดซิตริก ไม่สามารถเกิดกระบวนการคืนสภาพได้ภายในระยะเวลา 10 ชั่วโมงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีส่วนผสมของคลอแรมเฟนิคอล อย่างไรก็ตามการศึกษาในเซลล์ *Bacillus subtilis* และ *Pseudomonas fluorescens* ที่บาดเจ็บเนื่องจากความร้อน หรือเซลล์ *Listeria monocytogenes* ที่บาดเจ็บเนื่องจากโซเดียมไฮโปคลอไรต์

พบว่าคลอแรมเฟนิคอล ไม่มีผลต่อกระบวนการกินสภาพ (Gray *et al.*, 1973; Buazzi and Marth, 1991,1992)

4.2 การศึกษาดำเนินงานของเซลล์ที่เสียหายด้วยสารยับยั้งการสังเคราะห์ RNA (Ribonucleic acid)

เมื่อเติมสารละลาย เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 ปริมาณเริ่มต้นประมาณ $6.00 \log_{10}$ CFU ต่อ มิลลิเมตร ลงในสารละลาย Inspexx 100™ ซึ่งกำหนดระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดเป็น 1.0 ppm เวลาสัมผัสสารฆ่าเชื้อ 180 วินาที ซึ่งทำให้เซลล์ *Salmonella* sp. เกิดการบาดเจ็บมากกว่าร้อยละ 90.00 จากนั้นเลี้ยงเซลล์บาดเจ็บในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ที่เติมและไม่เติมสารต้านจุลชีพ ไรแฟมพิซิน ความเข้มข้น 1.0 ppm ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ไม่ทำลายเซลล์ปกติ (สุภาวดี, 2544) พบว่าที่เวลา 0 ชั่วโมง เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 มีร้อยละการบาดเจ็บในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ที่ไม่เติม ไรแฟมพิซิน เท่ากับ 90.00, 90.00, 90.28, และ 88.00 ตามลำดับ และมีร้อยละการบาดเจ็บเท่ากับ 98.61, 98.22, 99.14, และ 96.57 ตามลำดับในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ที่มีการเติม ไรแฟมพิซิน ตรวจสอบจำนวนเซลล์ปกติและเซลล์บาดเจ็บโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ TSA และ EMBS ตลอดระยะเวลาการกินสภาพ 10 ชั่วโมงพบว่า ในตัวอย่างควบคุมคือ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ที่ไม่เติม ไรแฟมพิซิน เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 เกิดกระบวนการกินสภาพได้ และเมื่อพิจารณาการเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ที่มีการเติม ไรแฟมพิซิน ความเข้มข้น 1.0 ppm พบว่ามีกระบวนการเจริญเพิ่มจำนวนเช่นเดียวกับในตัวอย่างควบคุม จากการทดลองแสดงให้เห็นว่า กรดเปอร์ออกซีแอซิดไม่มีผลต่อการทำลายกระบวนการสังเคราะห์ RNA (ภาพที่ 21) เซลล์ยังคงมีกระบวนการกินสภาพต่อไปตลอดระยะเวลาการกินสภาพในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB

สารต้านจุลชีพ ไรแฟมพิซิน ผลิตได้จากเชื้อรา *Streptomyces mediterranei* ซึ่งผลิตได้ครั้งแรกในปี ค.ศ. 1957 สารประกอบตั้งต้นที่แยกได้คือ ไรฟามัยซิน บี ซึ่งไม่มีผลเป็นสารต้านจุลชีพ เมื่อ ไรฟามัยซิน บี แตกตัวจะได้อนุพันธ์ ไรฟามัยซิน เอส และ ไรฟามัยซิน เอสวี ซึ่งมีสูตรทางเคมีคือ 3-(4-methylpiperazinyl-iminomethyl)-rifamycin SV และมีคุณสมบัติเป็นสารต้านจุลชีพได้ (Kucers *et al.*, 1997j) ส่วน ไรแฟมพิซิน ที่จำหน่ายในทางการค้าเป็นอนุพันธ์ของสารกึ่งสังเคราะห์ของ ไรฟามัยซิน เอสวี และมีคุณสมบัติเป็นสารต้านจุลชีพซึ่งออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (Wehrli and Staehelin, 1971; O'Grady *et al.*, 1997)



ภาพที่ 21 การคืนสภาพของ *S. Typhimurium* ATCC 13311 (a), *S. Typhimurium* DMST 14921 (b), *S. Virchow* DMST 14922 (c), และ *S. Virchow* NE 541 (d) ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100™) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB (ชุดควบคุม) และในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ที่เติม โรสแมรี่ 1.0 ppm ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

หมายเหตุ 0A = เวลา (นาฬิกา) ที่ยังไม่ได้เติมสารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกลงไปในการละลายเซลล์ *Salmonella* sp.

OB = เวลา (ชั่วโมง) หลังจากเลี้ยงเซลล์ *Salmonella* sp. ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร้ออกซีแอซิดิกในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB

สารต้านจุลชีพไรแฟมพิซิน สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้โดยสามารถยับยั้งเอนไซม์ RNA polymerase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ DNA transcription (Kucers *et al.*, 1997m) ไรแฟมพิซินสามารถหยุดการสังเคราะห์ RNA ได้อย่างรวดเร็วในกระบวนการสังเคราะห์ RNA ของโปรคาริโอตเซลล์ โดยกลไกการยับยั้งจะเกิดขึ้นตั้งแต่เริ่มต้นกระบวนการสังเคราะห์ RNA ซึ่งไรแฟมพิซินจะสามารถจับกับหน่วยย่อย β ของเอนไซม์ RNA polymerase และก่อให้เกิดการรบกวนการสร้างพันธะฟอสโฟไดเอสเทอร์ ซึ่งเป็นพันธะแรกของสายโซ่ RNA (อาภัสรา, 2537) อย่างไรก็ตาม ไรแฟมพิซินไม่มีผลขัดขวางการจับกันระหว่าง RNA polymerase และแม่พิมพ์ DNA (DNA template) หรือแม้แต่การเติม ไรแฟมพิซินภายหลังการสังเคราะห์ RNA พบว่า ไรแฟมพิซินไม่มีผลต่อกระบวนการสังเคราะห์ DNA หรือการเติมภายหลังการสร้างสารเชิงซ้อนระหว่างเอนไซม์ DNA และ พิวรีน ไตรฟอสเฟส ไรแฟมพิซิน ไม่มีผลต่อการสังเคราะห์ RNA นอกจากนั้นไรแฟมพิซินไม่มีผลต่อกระบวนการสังเคราะห์ RNA ในยูคาริโอตเซลล์ (Wehrli and Staehelin, 1971)

จากการทดลองแสดงว่าเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 ซึ่งบาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร้ออกซีแอซิดิกไม่ต้องการกระบวนการสังเคราะห์ RNA ในการคืนสภาพ ซึ่งเป็นกลไกการคืนสภาพที่เหมือนกับการบาดเจ็บของ *Listeria monocytogenes* เนื่องจากวัตถุกินเสีย โซเดียมโพธิโอเนต (Buazzi and Marth, 1992)

Blankenship (1981) รายงานว่า เซลล์ *S. Bareilly* ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดแอซิดิกต้องการกระบวนการสังเคราะห์ RNA ในการคืนสภาพ และสอดคล้องกับรายงานของ สุภาวดี (2544) ที่กล่าวว่า เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ที่บาดเจ็บจากสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ร่วมกับกรดซิตริกไม่สามารถเกิดกระบวนการคืนสภาพได้ภายใน 10 ชั่วโมงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่เติมไรแฟมพิซิน สำหรับแบคทีเรียแกรมบวก เช่นเซลล์ *Staphylococcus aureus* ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดแล็กติก กรดแอซิดิก และกรดไฮโดรคลอริก ต้องการกระบวนการสังเคราะห์ RNA ในการคืนสภาพ และ ไรแฟมพิซิน มีผลยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์ RNA (Zayaitz and Ledford, 1985) สำหรับการบาดเจ็บของเซลล์ *Staphylococcus aureus* เนื่องจากความร้อนให้ผลในทำนองเดียวกัน (Sogin and Ordal, 1967; Bluhm and Ordal, 1969) การทดลองในเซลล์ *Bacillus subtilis* ที่

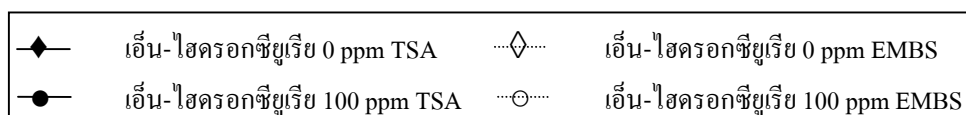
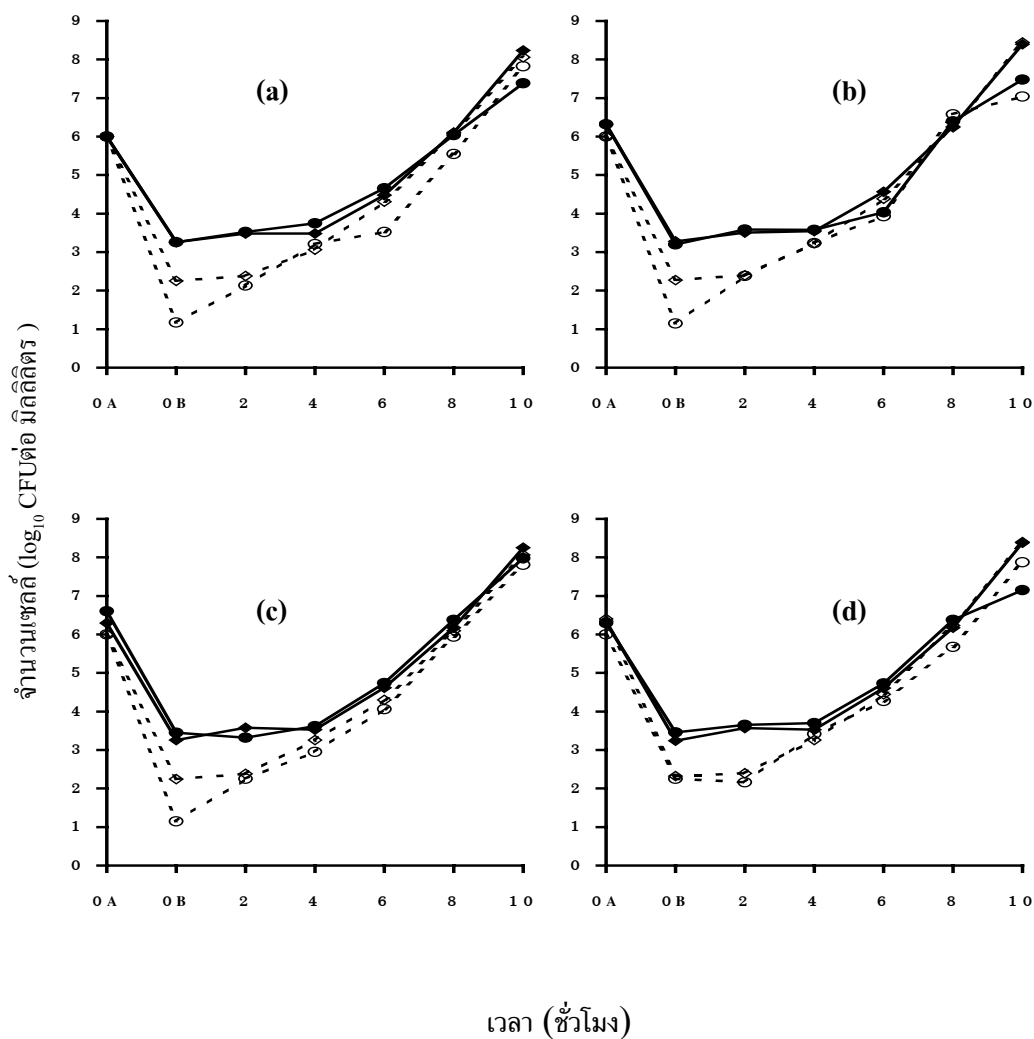
บาดเจ็บเนื่องจากความร้อน พบว่า กระบวนการคืนสภาพถูกยับยั้งโดยสารต้านจุลชีพ ไรแฟมพิซิน (Gray *et al.*, 1973) ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ความร้อนมีผลทำให้เอนไซม์ RNA polymerase และกระบวนการสังเคราะห์ RNA เสียหาย (Rappaport and Goepfert, 1978) Bunduki *et al.* (1995) ศึกษาการบาดเจ็บของเซลล์ *Listeria monocytogenes* เนื่องจากความร้อน หรือสารฆ่าเชื้อประเภท คลอรีน พบว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีส่วนประกอบของไรรแฟมพิซิน เซลล์แบคทีเรียไม่สามารถคืนสภาพเซลล์ได้อย่างสมบูรณ์ภายในเวลา 14 ชั่วโมง

4.3 การศึกษาคำแหน่งของเซลล์ที่เสียหายด้วยสารยับยั้งการสังเคราะห์ DNA (Deoxyribonucleic acid)

เมื่อทำให้ เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 บาดเจ็บโดยกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารผสม กรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 100™) ซึ่งกำหนดความเข้มข้น และระยะเวลาการสัมผัสสารฆ่าเชื้อเช่นเดียวกับผลการทดลองในข้อที่ 5.1 และ 5.2 ซึ่งทำให้เซลล์แบคทีเรียเกิดเป็น เซลล์บาดเจ็บร้อยละ 90.00, 90.00, 90.28, และ 88.00 ตามลำดับ จากนั้นเลี้ยงเซลล์บาดเจ็บเหล่านี้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ที่ไม่เติม เอ็น-ไฮดรอกซียูเรีย ซึ่งเป็นชุดควบคุม และในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ที่เติม เอ็น-ไฮดรอกซียูเรีย ความเข้มข้น 100 ppm เป็นสารยับยั้งการสังเคราะห์ DNA พบว่า เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 ที่บาดเจ็บมีการเจริญคืนสภาพได้ทั้งในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติม และไม่เติม เอ็น-ไฮดรอกซียูเรีย ซึ่งแสดงให้เห็นว่า กรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ไม่มีผลต่อการทำลายกระบวนการสังเคราะห์ DNA ของเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 (ภาพที่ 22)

เอ็น-ไฮดรอกซียูเรียเป็นสารยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์ DNA โดยยับยั้งเอนไซม์ ไรโบนิวคลีโอไทด์รีดักเทส (Ribonucleotide reductase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์ DNA ของเซลล์ โดยเอนไซม์ ไรโบนิวคลีโอไทด์รีดักเทส จะทำหน้าที่ รีดิวซ์ ไรโบนิวคลีโอไทด์ไดฟอสเฟต (Ribonucleotide diphosphate) หรือ NDP ให้เป็น ไดออกซีไรโบนิวคลีโอไทด์ไดฟอสเฟต (Deoxyribonucleotide diphosphate) หรือ dNDP จากนั้น dNDP จะเกิดปฏิกิริยาการเติมหมู่ฟอสเฟต หรือปฏิกิริยา ฟอสโฟริเลชัน (Phosphorylation) โดยอาศัย ATP เป็นแหล่งให้หมู่ฟอสโฟริล โดยอาศัยเอนไซม์นิวคลีโอไทด์ฟอสเฟตไคเนส (Nucleotide phosphate kinase) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ซึ่งจะได้ผลิตภัณฑ์เป็น ไดออกซีไรโบนิวคลีโอไทด์ไตรฟอสเฟต

(Deoxyribonucleotide triphosphate) หรือ dNTP ซึ่งจะเป็นสารตั้งต้นของกระบวนการสังเคราะห์ DNA (อาภัสรา, 2537)



ภาพที่ 22 การคืนสภาพของ *S. Typhimurium* ATCC 13311 (a), *S. Typhimurium* DMST 14921 (b), *S. Virchow* DMST 14922 (c), และ *S. Virchow* NE 541 (d) ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100™) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB (ชุดควบคุม) และในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ที่เติม เอ็น-ไฮดรอกซียูเรีย 100 ppm ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

หมายเหตุ OA = เวลา (นาทิจ) ที่ยังไม่ได้เติมสารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิติกลงไปในการละลายเซลล์ *Salmonella* sp.

OB = เวลา (ชั่วโมง) หลังจากเลี้ยงเซลล์ *Salmonella* sp. ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิติกในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB

จากรายงานของ สุภาวดี (2544) ซึ่งศึกษาดำเน่งของเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ที่เสียหายเนื่องจากไฮเดียมไฮโปคลอไรท์ ร่วมกับกรดซิตริก พบว่า ไม่มีการพัฒนาระบวนการสังเคราะห์ DNA เซลล์สามารถมีกระบวนการซ่อมแซมและคืนสภาพได้ หรือในกระบวนการแซ่เยือกแข็งเซลล์ *Escherichia coli* พบว่า เอ็น-ไฮดรอกซียูเรียไม่มีผลต่อการคืนสภาพของเซลล์ที่เกิดการบาดเจ็บ (Ray and Speck, 1972)

การบาดเจ็บของ *Bacillus subtilis* เนื่องจากความร้อนพบว่า สารยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์ DNA ไม่มีผลต่อการซ่อมแซมเซลล์บาดเจ็บ (Rappaport and Goepfert, 1978) แต่สำหรับในแบคทีเรียต่างจันส์กันกลับพบว่า ความร้อนมีผลต่อกระบวนการสังเคราะห์ DNA เช่นรายงานของ Rappaport and Goepfert (1978) ที่กล่าวว่า เซลล์ *S. Typhimurium* และ *Escherichia coli* ที่บาดเจ็บเนื่องจากความร้อนต้องการกระบวนการสังเคราะห์ DNA ในกระบวนการคืนสภาพ

4.4 การศึกษาดำเน่งของเซลล์ที่เสียหายด้วยสารยับยั้งการสังเคราะห์สารพลังงานสูง ATP (Adenosine triphosphate)

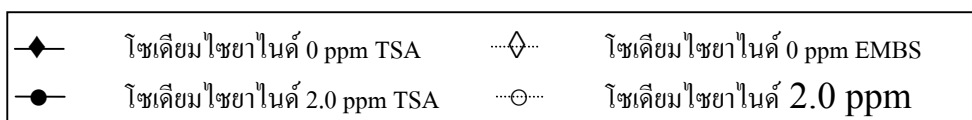
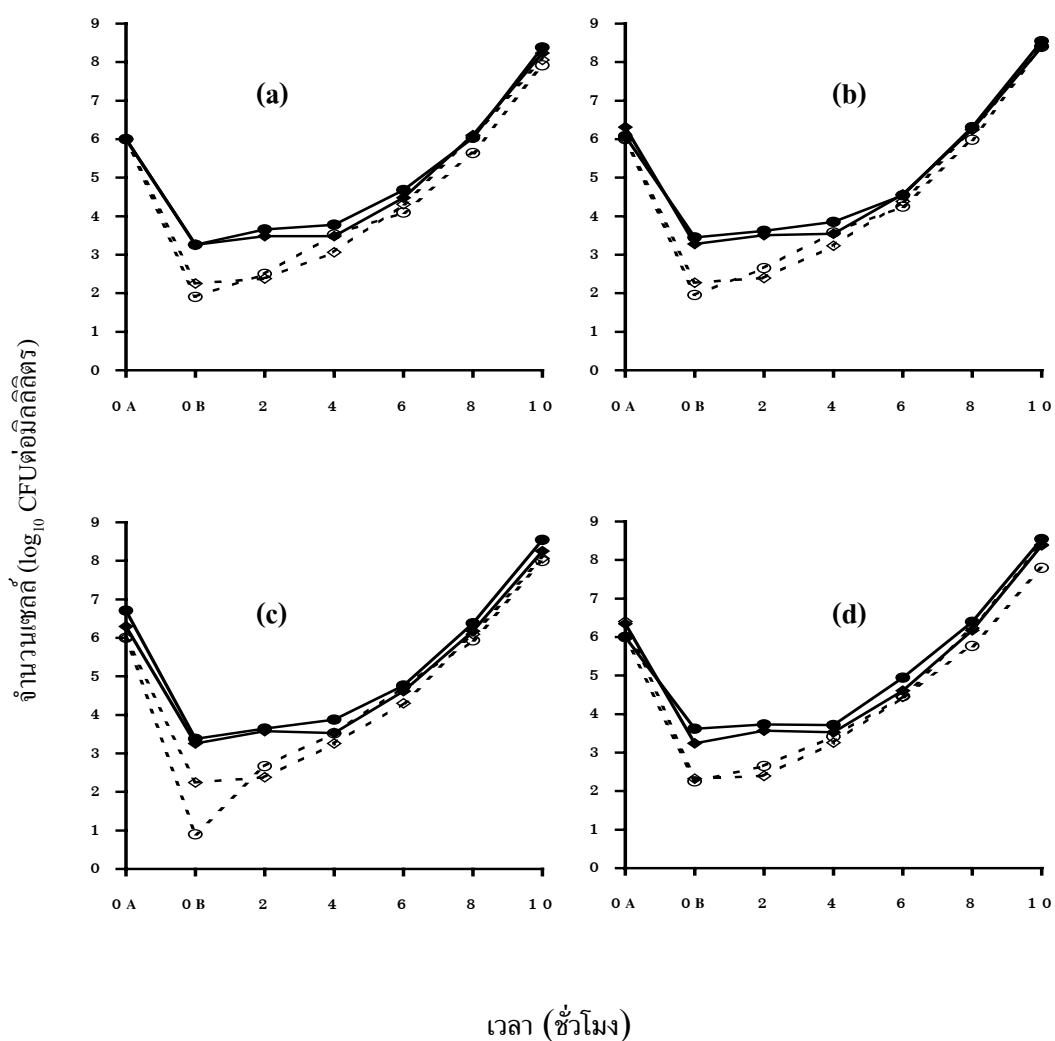
เนื่องจากสารพลังงานสูงมีความจำเป็นสำหรับกิจกรรมทางชีวเคมีต่างๆ ในเซลล์สิ่งมีชีวิต และอาจเกี่ยวข้องกับกระบวนการคืนสภาพของเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิติก สารยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์สารพลังงานสูงที่ใช้ในการทดลองคือ ไฮเดียมไฮยาไนด์ ซึ่งสามารถยับยั้งกระบวนการลูกโซ่ขนส่งอิเล็กตรอน (Electron transport chain) โดยเข้าขัดขวางการทำงานของ Electron carriers ซึ่งไฮยาไนด์ไอออน (CN⁻) สามารถหยุดกระบวนการไหลของอิเล็กตรอน และการสังเคราะห์ ATP โดยการจับแน่นกับเหล็กซึ่งเป็นส่วนประกอบในพอร์ไฟรินริง (Porphyrin ring) ของไซโตโครม (a+a₃) ป้องการการเกิดปฏิกิริยาทั้งออกซิเดชัน และรีดักชัน ทำให้กระบวนการลูกโซ่ขนส่งอิเล็กตรอนถูกยับยั้ง (Brock and Madigan, 1991)

เมื่อทำให้เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 บาดเจ็บโดยกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 100™) ซึ่งกำหนดให้มีระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารละลาย Butterfield's phosphate buffer เท่ากับ 1.0 ppm เวลาการสัมผัสสารฆ่าเชื้อ 180 วินาที ซึ่งสภาวะนี้ทำให้เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 เกิดเป็นเซลล์บาดเจ็บร้อยละ 90.00, 90.00, 90.28, และ 88.00 ตามลำดับ เมื่อเลี้ยงเซลล์บาดเจ็บในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ที่ไม่เติมโซเดียมไฮยาไนด์ เปรียบเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ที่เติมโซเดียมไฮยาไนด์ ระดับความเข้มข้น 2.0 ppm ซึ่งเป็นระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการศึกษาดำเนินงานของเซลล์ที่เสียหายด้วยสารยับยั้งการสังเคราะห์สารพลังงานสูง (สุภาวดี, 2544)

จากการศึกษาพบว่า การเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ที่เติมและไม่เติมโซเดียมไฮยาไนด์ ของเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกไม่มีความแตกต่างกัน (ภาพที่ 23) เซลล์บาดเจ็บสามารถมีกระบวนการคืนสภาพได้ในสภาวะที่มีสารยับยั้งการสังเคราะห์สารพลังงานสูง ซึ่งแสดงให้เห็นว่ากรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ไม่มีผลต่อกระบวนการถูกโซ่ขนส่งอิเล็กตรอน และไม่ส่งผลกระทบต่อกระบวนการขาดแคลนสารพลังงานสูง เพื่อใช้ในกิจกรรมต่างๆ ของเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับการบาดเจ็บของเซลล์ *Listeria monocytogenes* เนื่องจากโปรฟิโอบีโกล กล่าวคือโซเดียมไฮยาไนด์ไม่มีผลต่อการเจริญคืนสภาพของเซลล์บาดเจ็บ (Buazzi and Marth, 1992)

การศึกษาของ Ray *et al.* (1971) รายงานว่า เซลล์ *S. Anatum* ที่บาดเจ็บเนื่องจากการขาดกระบวนการแอ็กเซียล ไม่สามารถมีกลไกการซ่อมแซมตัวเองได้เมื่ออยู่ในสภาวะที่มีโซเดียมไฮยาไนด์ และโซเดียมไฮยาไนด์สามารถขัดขวางกระบวนการสังเคราะห์ ATP ได้ในขั้น Oxidative phosphorylation ในกระบวนการถูกโซ่ขนส่งอิเล็กตรอน และยังแสดงให้เห็นว่ากระบวนการคืนสภาพของเซลล์บาดเจ็บเนื่องจากการแอ็กเซียล ต้องอาศัยกระบวนการสังเคราะห์พลังงาน เนื่องจากเอนไซม์ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งในกระบวนการสังเคราะห์พลังงานต้องอาศัย Divalent cation เช่น แมกนีเซียมไอออน (Mg^{2+}) การซ่อมแซมส่วนที่เสียหายของเซลล์ จึงจำเป็นต้องอาศัยพลังงานจาก ATP เพื่อขับเคลื่อนการเคลื่อนที่ของไอออนเหล่านี้ (Ray *et al.* 1972) สำหรับเซลล์ *S. Bareilly* ซ

ขาดเจ็บเนื่องจากกรด ต้องการกระบวนการสังเคราะห์สารพลังงานสูงเพื่อใช้ในการสังเคราะห์โปรตีน และขับเคลื่อนไฮโดรเจนไอออน (H^+) ให้ออกจากเซลล์เพื่อรักษาสมดุลไอออนของเซลล์ให้เป็นปกติ (Blankenship, 1981) และจากการทดลองของ สุภาวดี (2544) รายงานว่า เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ที่ขาดเจ็บเนื่องการโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ร่วมกับกรด ซิตริก ต้องการกระบวนการสังเคราะห์สารพลังงานสูง เพื่อใช้ในกระบวนการคืนสภาพ เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ไม่สามารถเจริญคืนสภาพได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีการเติมโซเดียมไฮยาไนด์ลงไป



ภาพที่ 23 การคืนสภาพของ *S. Typhimurium* ATCC 13311 (a), *S. Typhimurium* DMST 14921 (b), *S. Virchow* DMST 14922 (c), และ *S. Virchow* NE 541 (d) ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100™) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB (ชุดควบคุม) และในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ที่เติม โซเดียมไซยาไนด์ 2.0 ppm ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

หมายเหตุ 0A = เวลา (นาท) ที่ยังไม่ได้เติมสารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกลงไปในการละลายเซลล์ *Salmonella* sp.

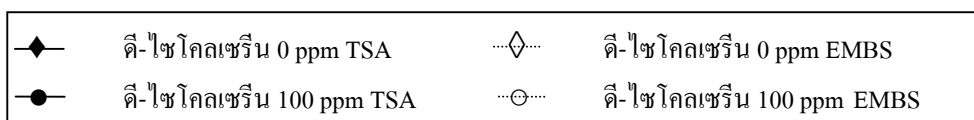
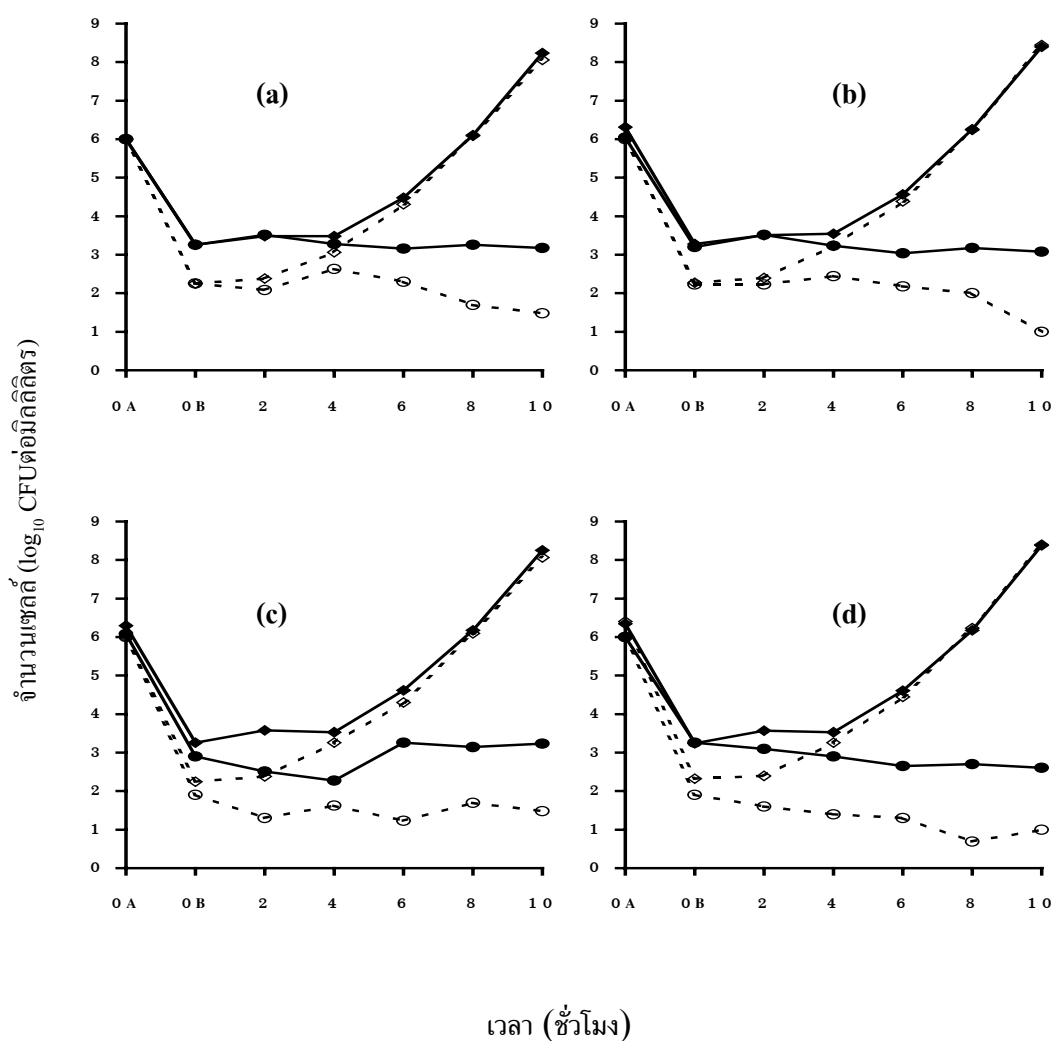
OB = เวลา (ชั่วโมง) หลังจากเลี้ยงเซลล์ *Salmonella* sp. ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร้ออกซีแอซิดิกในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB

4.5 การศึกษาดำรงของเซลล์ที่เสียหายด้วยสารยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ (Cell wall)

สารยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ที่ใช้ในการทดลองได้แก่ ดี-ไซโคลเซรีน มีชื่อทางเคมีคือ D-4-amino-s-isoxazolidone เป็นสารต้านจุลชีพที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ซึ่งแยกได้จากเชื้อรา *Streptomyces orchidaceus* และ *Streptomyces garyphalus* (Kucers *et al.*, 1997e; Newton, 1965)

เมื่อเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 สัมผัสกับกรดเปอร้ออกซีแอซิดิก 1.0 ppm ในสารผสมกรดเปอร้ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 100™) นาน 180 นาที ซึ่งทำให้เกิดการบาดเจ็บของเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 คิดเป็นร้อยละ 90.00, 90.00, 90.28, และ 88.00 ตามลำดับ เมื่อเลี้ยงเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 ที่บาดเจ็บในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ซึ่งเติมดี-ไซโคลเซรีนระดับความเข้มข้น 100 ppm ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสม และไม่ทำลายเซลล์จุลินทรีย์ที่เป็นเซลล์ปกติ (สุภาวดี, 2544) และไม่เติมดี-ไซโคลเซรีน จากการทดลองพบว่า เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 สามารถเกิดการคืนสภาพได้เฉพาะในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ที่ไม่มีการเติม ดี-ไซโคลเซรีน เท่านั้น ส่วนในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ที่มีการเติม ดี-ไซโคลเซรีนนั้น ไม่พบการเจริญคืนสภาพในระยะเวลา 10 ชั่วโมง ในภาพที่ 24 แสดงให้เห็นว่า ดี-ไซโคลเซรีน มีผลต่อกระบวนการคืนสภาพของเซลล์ *Salmonella* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์

ดี-ไซโคลเซรีน สามารถยับยั้งเอนไซม์อะลานีน เรซิเมส (alanine racemase) ซึ่งเกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างเพปติโดไกลแคน (Peptidoglycan) โดยทำหน้าที่เปลี่ยน แอล-อะลานีน (L-alanine) เป็น ดี-อะลานีน (D-alanine) ดี-ไซโคลเซรีน ยังสามารถยับยั้งเอนไซม์ ดี-อะลานิล-ดี-อะลานีน ซินเทเทส (D-alanyl-D-alanine synthetase) ในการรวม ดี-อะลานีน 2 โมเลกุลเข้าด้วยกัน เพื่อพัฒนาเป็นโครงร่างผนังเซลล์ของแบคทีเรีย (นงลักษณ์ และ ปรีชา, 2541)



ภาพที่ 24 การคืนสภาพของ *S. Typhimurium* ATCC 13311 (a), *S. Typhimurium* DMST 14921 (b), *S. Virchow* DMST 14922 (c), และ *S. Virchow* NE 541 (d) ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100™) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB (ชุดควบคุม) และในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ที่เติม ดี-ไซโคลเซรีน 100 ppm ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

หมายเหตุ 0A = เวลา (นาท) ที่ยังไม่ได้เติมสารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกลงไปในการละลายเซลล์ *Salmonella* sp.

OB = เวลา (ชั่วโมง) หลังจากเลี้ยงเซลล์ *Salmonella* sp. ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรด
เปอร์ออกซิแอซิดิกในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB

ดี-ไซโคลเซรีน แพร่เข้าสู่เซลล์แบคทีเรียโดยผ่านเยื่อหุ้มไซโตพลาสซึม ในแบคทีเรียชนิด *Streptococcus faecalis* พบว่า ดี-ไซโคลเซรีนสามารถแย่งและยับยั้งการแพร่ของ ดี-อะลา นีน และ แอล-อะลานีน ผ่านเยื่อหุ้มไซโตพลาสซึม ซึ่งเป็นกระบวนการแพร่ที่ต้องอาศัยพลังงานจากแรงขับเคลื่อนของโปรตรอน (Proton motive force) ดี-ไซโคลเซรีนที่แพร่ผ่านเข้าไปในเซลล์จะไปลดความเข้มข้นของ ดี-อะลานีน และขัดขวางการสังเคราะห์ผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ในระหว่างการสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรีย โมเลกุลของ ดี-อะลานีน จะเข้ามาเชื่อมต่อกัน และพัฒนาไปเป็นร่างแหของผนังเซลล์ ดี-ไซโคลเซรีนเข้าไปขัดขวางการรวมกันของโมเลกุล ดี-อะลานีน โดยไปแย่งจับกับเอนไซม์ ดี-อะลานิล-ดี-อะลานีน ซินเทเทส ที่ใช้ในกระบวนการเชื่อมโมเลกุลของ ดี-อะลานีน 2 โมเลกุลเข้าด้วยกัน เหตุที่ ดี-ไซโคลเซรีนเข้าไปขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ ดี-อะลานิล-ดี-อะลานีน ซินเทเทส ได้เนื่องจากดี-ไซโคลเซรีนมีโครงสร้างที่คล้ายกับ ดี-อะลานีน (Kucers *et al.*, 1997f,g; Frankin and Snow, 1989)

เนื่องจาก ดี-ไซโคลเซรีนมีโครงสร้างคล้ายกับ ดี-อะลานีน และยังสามารถป้องกันการรวมตัวกันตั้งแต่ 2 โมเลกุลขึ้นไปของ ดี-อะลานีน ก่อให้เกิดการสะสมของยูริดีน มูรามิล เพปไทด์ (Uridine muramyl peptide) การศึกษาในแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* พบว่า ดี-ไซโคลเซรีนจะเป็นสาเหตุให้เกิดการสะสมของ UDP-muramyl tripeptide โดยไม่ป้องกันการเติมที่ปลายไลซีนด้วยเพปไทด์ แต่จะยับยั้งเอนไซม์ ดี-อะลานิล-ดี-อะลานีน ซินเทเทส และอะลานีน เรซิเมส เนื่องจากโครงสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียแตกต่างจากโครงสร้างของผนังเซลล์ของสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น การยับยั้งเอนไซม์ที่จำเป็นต่อการสังเคราะห์ผนังเซลล์ 2 ชนิดนี้ จึงพบได้เฉพาะในแบคทีเรียเท่านั้น (Newton, 1965)

สำหรับ *S. Bareilly* ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรด ยังคงมีกระบวนการคืนสภาพได้ในสารละลาย Casamino acid ความเข้มข้น 0.5% ที่เติม ดี-ไซโคลเซรีนเข้มข้น 100 ppm แต่ที่ระดับความเข้มข้นสูงขึ้น ดี-ไซโคลเซรีนจะสามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์ปกติได้ด้วย (Blankenship, 1981) ส่วนการบาดเจ็บเนื่องจากการแช่เยือกแข็ง และการละลายของเซลล์ *Listeria monocytogenes* พบว่ามีการทำลายผนังเซลล์จะถูกทำลายเนื่องจากการเกิดผลึกน้ำแข็งทั้งภายในและภายนอกเซลล์ (El-Kest and Marth, 1992) สุภาวดี (2544) รายงานว่า เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ที่บาดเจ็บเนื่องจากสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์สูงเสียด คุณสมบัติการคืนสภาพในอาหารเลี้ยง

TSB ที่เติมดี-ไซโคลเซรีนเข้มข้น 100 ppm และสรุปว่าสารละลายไซเคียมไฮโปคโลไรท์ร่วมกับกรดซิตริก สามารถทำลายเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ได้โดยรบกวนการสังเคราะห์ผนังเซลล์

แต่อย่างไรก็ตาม รายงานของ Bunduki *et al.* (1995) พบว่า ความร้อน หรือสารฆ่าเชื้อประเภทคลอรีน หรือวัตถุกันเสีย โพรพิโอนेट (Buazzi and Marth, 1992) ไม่มีผลต่อกระบวนการสร้างผนังเซลล์ของ *Listeria monocytogenes*

4.6 การศึกษาการรั่วของโปรตีนและสารพันธุกรรม ของเซลล์บาดเจ็บ

เซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 บาดเจ็บด้วยสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 100TM) โดยเติมเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 ปริมาณเริ่มต้น 6.00 log₁₀ CFU ต่อมิลลิลิตร ลงในสารละลาย Butterfield's phosphate buffer ความเป็นกรด-ด่าง 7.0 เพื่อใช้เป็นตัวอย่างควบคุมที่เวลา 0 วินาที และเติม *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 ปริมาณเริ่มต้นเท่ากัน ลงในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 100TM) ที่กำหนดความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกเท่ากับ 1.0 ppm เก็บตัวอย่างที่เวลา 15, 60, 180, และ 300 วินาทีตามลำดับ นำตัวอย่างเซลล์บาดเจ็บที่เก็บได้มาวิเคราะห์ความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มไซโตพลาสซึม (Cytoplasm membrane) โดยวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงในช่วงความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร สำหรับกรดนิวคลีอิก และ 280 นาโนเมตร สำหรับโปรตีน ตารางที่ 19 แสดงค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร พบว่า ของเหลวที่แยกได้จากเซลล์บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกที่เวลา 15, 60, 180, และ 300 วินาที มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 ปกติที่ยังไม่ผ่านสารฆ่าเชื้อปรากฏว่ามีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P>0.05$)

สำหรับที่ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร (ตารางที่ 20) ซึ่งเป็นความยาวคลื่นแสงในช่วงอัลตราไวโอเลต เนื่องจากกรดแอมิโน 3 ชนิดคือ ไทโรซีน ทรีปโตเฟน และฟีนิลอะลานีน สามารถดูดกลืนแสงที่ช่วงความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร (อาภัสรา,

2537) พบว่า ของเหลวที่แยกได้จากเซลล์บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร้ออกซีแอซิดิกที่เวลา 15, 60, 180, และ 300 วินาที เปรียบเทียบกับเซลล์ปกติ มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ซึ่งแสดงให้เห็นว่ากรดเปอร้ออกซีแอซิดิกไม่สามารถทำลายเยื่อหุ้มไซโตพลาสซึมของเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541

ตารางที่ 19 เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตรของของเหลวที่แยกได้จากเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 ที่บาดเจ็บเนื่องจากสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100™) ที่มีความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 1.0 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

เวลา (วินาที)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตรของของเหลวที่แยกได้จากเซลล์ <i>Salmonella</i> sp.			
	<i>S. Typhimurium</i> ATCC 13311	<i>S. Typhimurium</i> DMST 14921	<i>S. Virchow</i> DMST 14922	<i>S. Virchow</i> NE 541
0	0.994a (0.002) ¹	0.979a (0.014)	0.972a (0.015)	0.980a (0.002)
15	0.988a (0.010)	0.977a (0.012)	0.970a (0.002)	0.987a (0.023)
60	0.992a (0.008)	0.980a (0.014)	0.972a (0.003)	0.988a (0.013)
180	0.993a (0.008)	0.976a (0.007)	0.972a (0.002)	0.987a (0.015)
300	0.990a (0.006)	0.973a (0.002)	0.970a (0.003)	0.987a (0.015)

หมายเหตุ ตัวเลขที่กำกับด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกันในแนวดังหมายถึงมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P > 0.05$)

¹ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน, n=3

ตารางที่ 20 เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตรของของเหลวที่แยกได้จากเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 ที่บาดเจ็บเนื่องจากสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100™) ที่มีความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 1.0 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

เวลา (วินาที)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตรของของเหลวที่แยกได้จากเซลล์ <i>Salmonella</i> sp.			
	<i>S. Typhimurium</i> ATCC 13311	<i>S. Typhimurium</i> DMST 14921	<i>S. Virchow</i> DMST 14922	<i>S. Virchow</i> NE 541
0	0.262a (0.004) ¹	0.260a (0.007)	0.243a (0.011)	0.249a (0.021)
15	0.266a (0.024)	0.248a (0.005)	0.248a (0.006)	0.262a (0.009)
60	0.264a (0.010)	0.255a (0.002)	0.242a (0.011)	0.252a (0.014)
180	0.265a (0.007)	0.250a (0.006)	0.242a (0.003)	0.257a (0.015)
300	0.262a (0.013)	0.252a (0.003)	0.241a (0.007)	0.255a (0.015)

หมายเหตุ ตัวเลขที่กำกับด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกันในแนวดังหมายถึงมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P > 0.05$)

¹ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน, n=3

Blankenship (1981) ศึกษาการรั่วของสารภายในเซลล์ *S. Bareilly* ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรด พบว่าไม่สามารถตรวจพบสารที่ดูคลิ่นแสงที่ความยาวคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตร แต่จากการศึกษาพบว่า ไรโบโซมและกรดนิวคลีอิกเสียหายเนื่องจากกรด ซึ่งสรุปได้ว่า กรดสามารถทำให้ ไรโบโซมเสียหาย แต่ไม่มีผลทำให้นิวคลีโอไทด์ไหลออกนอกเซลล์ จากการศึกษาการดูคลิ่นคลิ่นแสงของของเหลวที่แยกได้จาก เซลล์ *Listeria monocytogenes* ที่บาดเจ็บเนื่องจากความร้อน และ สารฆ่าเชื้อประเภทคลอรีน พบว่าไม่สามารถตรวจพบการดูคลิ่นคลิ่นแสงในช่วงความยาวคลื่น ระหว่าง 200-800 นาโนเมตร ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ไม่มีนิวคลีโอไทด์และโปรตีนภายในเซลล์รั่วออกมา (Bunduki *et al.*, 1995) เช่นเดียวกับการศึกษาการรั่วของโปรตีน และสารพันธุกรรมของเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ที่บาดเจ็บเนื่องจากสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์เข้มข้น 30 ppm ร่วมกับกรดซิตริก พบว่า ไม่สามารถตรวจวัดการดูคลิ่นคลิ่นแสงได้ที่ช่วงความยาวคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตร (สุภาวดี, 2544)

แต่อย่างไรก็ตามพบว่า เซลล์ *Escherichia coli* ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดไม่สามารถทำให้ ไรโบโซม และกรดนิวคลีอิกเกิดการเสียหาย (Przybylski and Witter, 1979) จึงไม่สามารถตรวจพบการดูคลิ่นแสงในช่วงความยาวคลื่น 260-280 นาโนเมตร และมีรายงานสนับสนุนว่า เชื้อหุ้มเซลล์ของ *Staphylococcus aureus* ไม่รั่วเนื่องจากกรด (Zayaitz and Ledford, 1989)

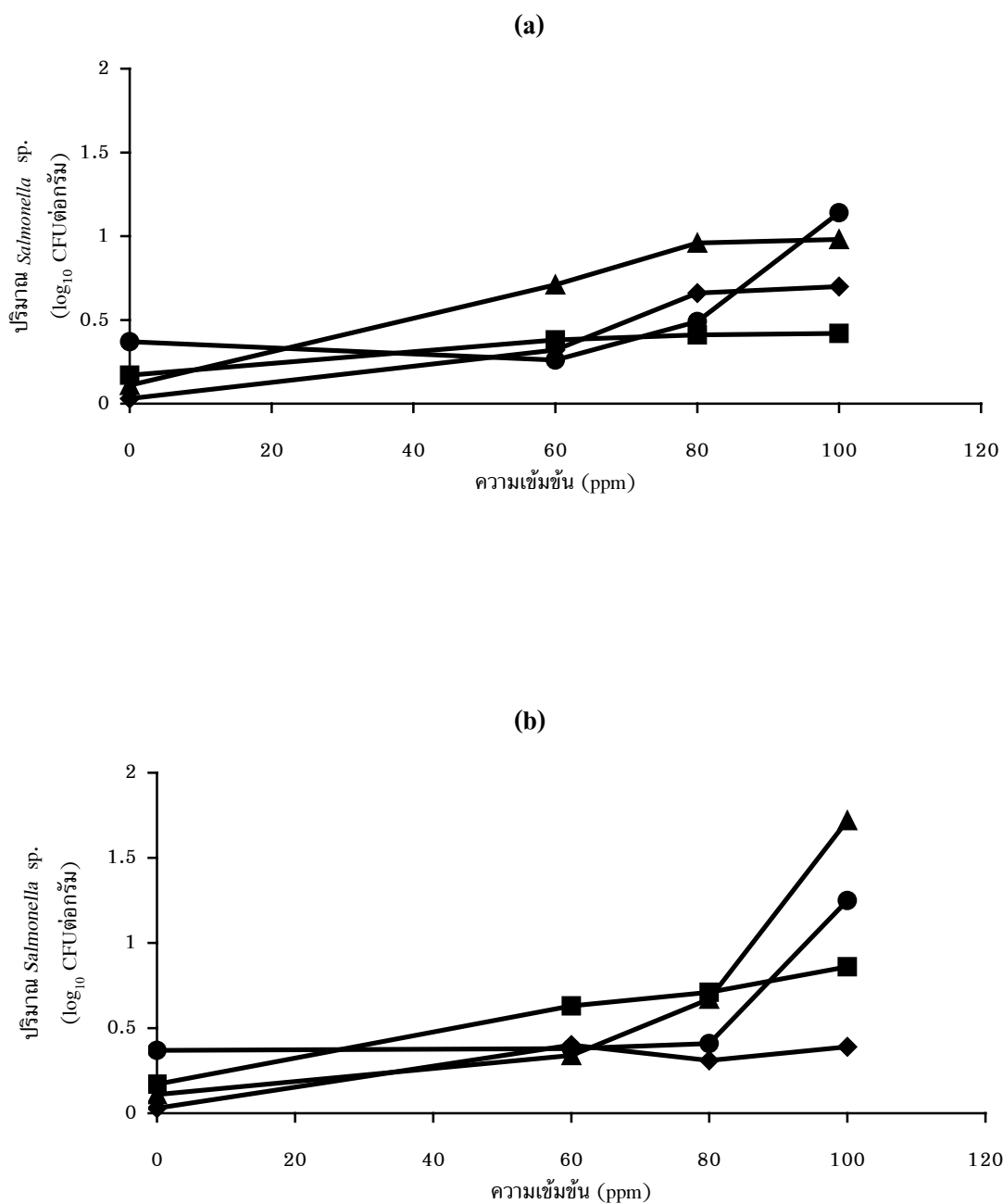
5. ประสิทธิภาพของกรดเปอร์ออกซีแอซิติก ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิติกทางการค้า (Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM) ต่อการลดปริมาณ *Salmonella Typhimurium* ATCC 13311, *Salmonella Typhimurium* DMST 14921, *Salmonella Virchow* NE 541 และ *Salmonella Virchow* DMST 14922 ในกระบวนการผลิตไก่สดแช่เยือกแข็ง

5.1 ความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิติก ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิติกทางการค้า (Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM) ที่ใช้ในการล้างไก่ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

เมื่อล้างเนื้อไก่สดที่สร้างการปนเปื้อนด้วย *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 ซึ่งมีปริมาณเริ่มต้น 4.00 log₁₀ CFUต่อกรัม ด้วยกรดเปอร์ออกซีแอซิติก ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 60, 80, และ 100 ppm ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิติก 2 ชนิด ซึ่งใช้ชื่อทางการค้าว่า Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM โดยเปรียบเทียบกับการใช้น้ำประปาปลอดเชื้อเป็นตัวควบคุม พบว่า กรด

เปอร์ออกซีแอซิติกใน Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM สามารถลดจำนวน *Salmonella* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ได้ กล่าวคือ เมื่อสิ้นสุดการล้างที่เวลา 30 นาที โดยเมื่อใช้ กรดเปอร์ออกซีแอซิติกที่ระดับความเข้มข้น 60 ppm สามารถลดปริมาณ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ได้ 0.32 log₁₀ CFU ต่อกรัม สำหรับ *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541 และ *S. Virchow* DMST 14922 ลดลงได้ 0.38, 0.71, และ 0.26 log₁₀ CFU ต่อกรัม ตามลำดับ และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิติกใน Inspexx 100TM เป็น 80 และ 100 ppm พบว่า จะทำลายเชื้อได้เพิ่มขึ้น (ภาพที่ 25) ล้างไก่ด้วยกรดเปอร์ออกซีแอซิติกความเข้มข้น 80 ppm เป็นเวลา 30 นาที จะสามารถลดปริมาณ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541 และ *S. Virchow* DMST 14922 ได้ 0.66, 0.41, 0.96, และ 0.77 log₁₀ CFU ต่อกรัม ตามลำดับ และลดลง 0.70, 0.42, 0.98, 1.14 log₁₀ CFU ต่อกรัม ตามลำดับ เมื่อใช้กรดเปอร์ออกซีแอซิติกความเข้มข้น 100 ppm ล้างไก่เป็นเวลาเท่ากัน

เมื่อพิจารณาการใช้กรดเปอร์ออกซีแอซิติกที่ระดับความเข้มข้น 60 ppm ใน Inspexx 200TM ล้างไก่เป็นเวลา 30 นาที พบว่า สามารถลดปริมาณ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541 และ *S. Virchow* DMST 14922 ได้ 0.66, 0.41, 0.96, และ 1.14 log₁₀ CFU ต่อกรัม ตามลำดับ เช่นเดียวกันหากเพิ่มความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิติก ใน Inspexx 200TM เป็น 80 และ 100 ppm จะทำลายปริมาณเชื้อที่ถูกทำลายเพิ่มขึ้น จะเห็นว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ Inspexx 200TM เป็น



ภาพที่ 25 ปริมาณ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ($\square$), *S. Typhimurium* DMST 14921 ($\square$), *S. Virchow* NE 541 ($\blacktriangle$), และ *S. Virchow* DMST 14922 ($\square$) ($\log_{10}$ CFUต่อกรัม) บนเนื้อไก่ที่ลดลงหลังจากสัมผัสกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 100TM (a) และ Inspexx 200TM (b)) ที่ระดับความเข้มข้น 0, 60, 80, และ 100 ppm เป็นเวลา 30 นาที

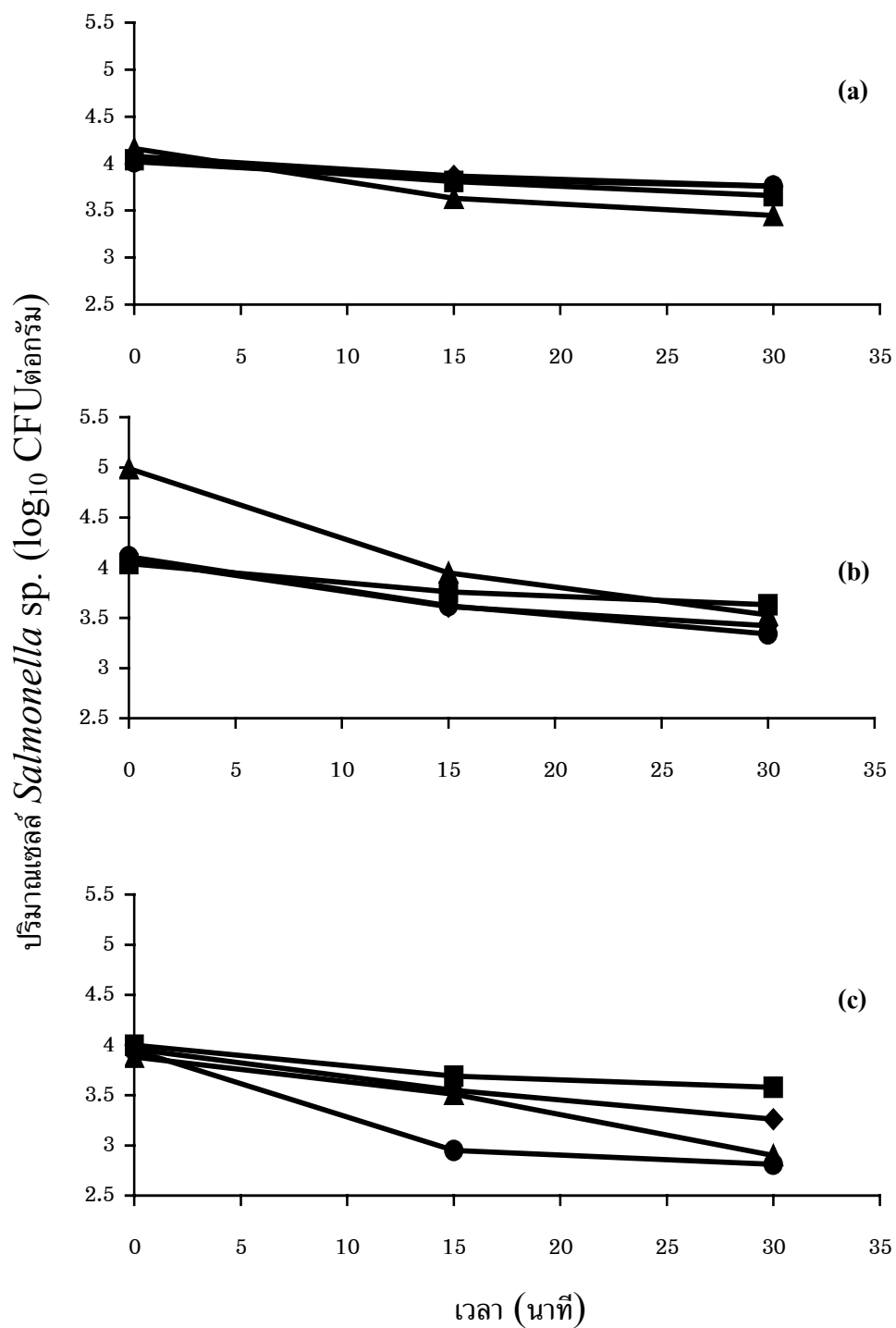
80 ppm ล้างไก่เป็นเวลา 30 นาที จะทำให้ปริมาณ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541 และ *S. Virchow* DMST 14922 ลดลง 0.31, 0.71, 0.67, และ 0.59 $\log_{10}$ CFUต่อกรัม ตามลำดับ และเมื่อใช้ความเข้มข้น 100 ppm ปริมาณเชื้อจะลดลง 0.39, 0.86, 1.72, และ 1.25 $\log_{10}$ CFUต่อกรัม ตามลำดับ

จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกจะแปรตามความเข้มข้น Weissinger และ Beuchat (2000) รายงานว่าการใช้สารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 2 ชนิด ซึ่งใช้ชื่อทางการค้าว่า TsunamiTM และ VortexTM สามารถลดปริมาณ *Salmonella* sp. บนเมล็ด Alfalfa ได้โดยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ TsunamiTM จาก 0 ppm เป็น 270, 530, และ 1060 ppm จะสามารถลดปริมาณ *Salmonella* sp ได้ 0.79, 1.12, และ 1.50 $\log_{10}$ CFUต่อกรัม ตามลำดับ และเมื่อใช้ VortexTM ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน สามารถลดได้ 0.78, 1.29, และ 1.62 $\log_{10}$ CFUต่อกรัม ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าการทดลองที่ศึกษาถึงประสิทธิภาพของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกที่ต่างชนิดกัน ให้ผลต่างกัน ในการทดลองครั้งนี้ใช้ Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM ในระดับความเข้มข้นที่ต่ำกว่า แต่มีประสิทธิภาพใกล้เคียงกัน ซึ่งแสดงให้เห็นว่า Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM สามารถลดจำนวน *Salmonella* sp. ได้ดี

5.2 ระยะเวลาที่ใช้กรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในการล้างไก่ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

จากการศึกษาเช่นเดียวกับข้อ 6.1 แต่พิจารณาการล้างที่ระดับเวลาต่างๆ กัน คือ 0, 15, และ 30 นาที โดยใช้กรดเปอร์ออกซีแอซิดิก จากสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทั้งสองชนิดคือ Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM พบว่าเมื่อเวลาการล้างเพิ่มขึ้น จำนวน *Salmonella* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ คือ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541 และ *S. Virchow* DMST 14922 ที่สร้างการปนเปื้อนบนเนื้อไก่ปริมาณเริ่มต้นประมาณ 4.00 $\log_{10}$ CFUต่อกรัม ลดลง ถ้าพิจารณาการใช้กรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 60 ppm ใน Inspexx 100TM ล้างไก่เป็นเวลา 0, 15, และ 30 นาที ปริมาณ *S. Typhimurium* ATCC 13311 จะลดลง จาก 4.08 $\log_{10}$ CFUต่อกรัม เหลือ 3.61, และ 3.42 $\log_{10}$ CFU ต่อกรัม ตามลำดับ และให้ผลเช่นเดียวกับ *Salmonella* sp. อีกทั้ง 3 สายพันธุ์ กล่าวคือ *S. Typhimurium* DMST 14921 จะลดลงจาก 4.00 $\log_{10}$ CFUต่อกรัม เหลือ 3.69, และ 3.58 $\log_{10}$ CFUต่อกรัม ตามลำดับ *S. Virchow* NE 541 ลดลงจาก 4.16 $\log_{10}$ CFUต่อกรัม

เหลือ 3.63, และ 3.45 $\log_{10}$ CFUต่อกรัม ตามลำดับ และ *S. Virchow* DMST 14922 ลดลงจาก 4.02 $\log_{10}$ CFUต่อกรัม เหลือ 3.83, และ 3.76 $\log_{10}$ CFUต่อกรัม ตามลำดับ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ



ภาพที่ 26 ปริมาณ *S. Typhimurium* ATCC 13311 (◆), *S. Typhimurium* DMST 14921 (■), *S. Virchow* NE 541 (▲), และ *S. Virchow* DMST 14922 (●) (log₁₀ CFUต่อกรัม) บนเนื้อไก่ที่รอดชีวิตหลังจากสัมผัสกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารผสมกรดเปอร์ออกซี

แอซิดิกทางการค้า (Inspexx 100™) ที่ระดับความเข้มข้น 60 (a), 80 (b), และ 100 ppm (c) เป็นเวลา 0, 15, และ 30 นาที

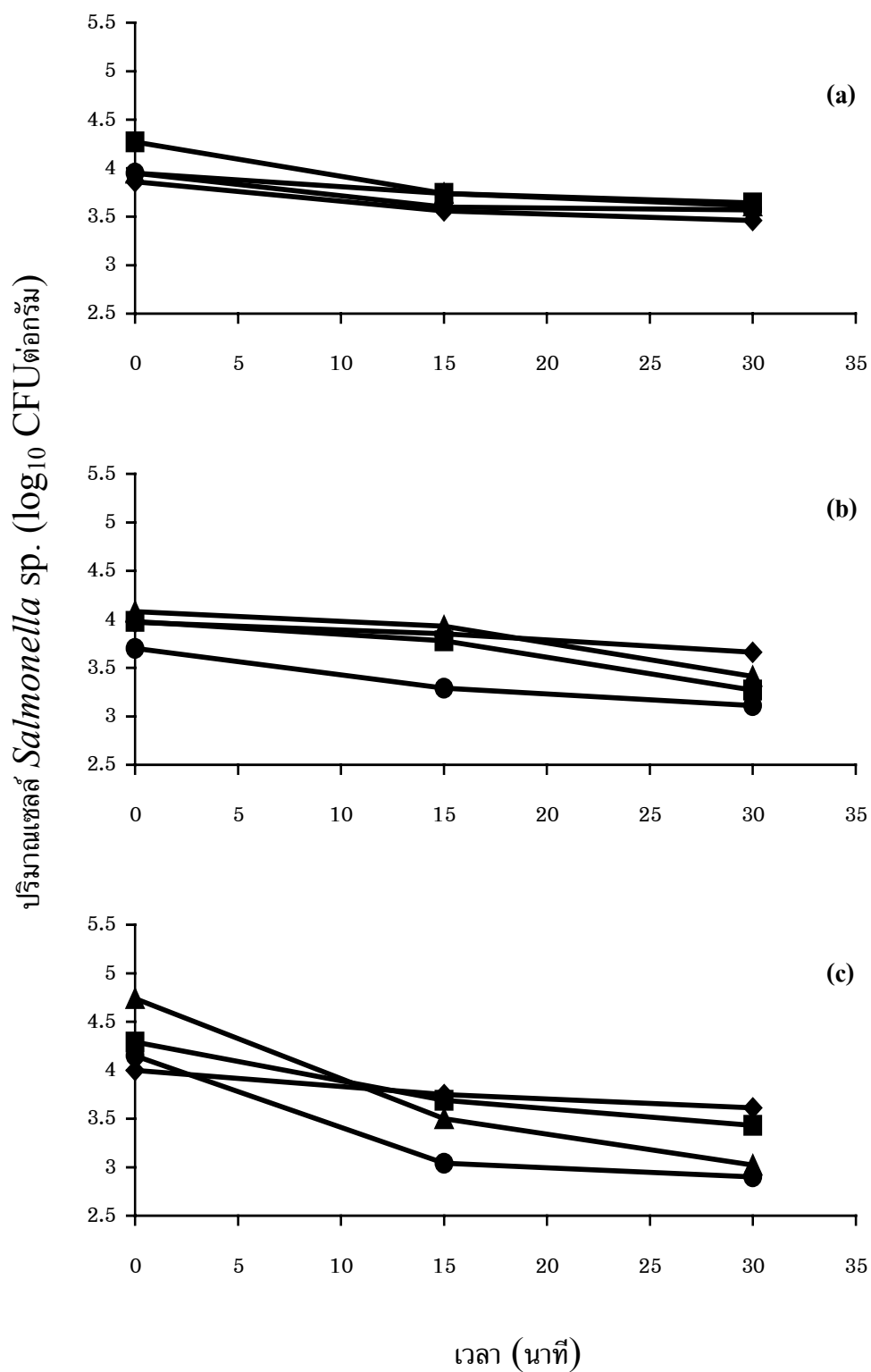
กรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ใน Inspexx 100™ จาก 60 ppm เป็น 80, และ 100 ppm ประสิทธิภาพในการลดปริมาณ *Salmonella* sp. ก็จะเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 26)

เมื่อพิจารณาการใช้ Inspexx 200™ ความเข้มข้น 60 ppm ล้างไก่เป็นเวลา 0, 15, และ 30 นาที จะทำให้ปริมาณ *S. Typhimurium* ATCC 13311 จะลดลง จาก 3.86 log₁₀ CFUต่อกรัม เหลือ 3.56, และ 3.46 log₁₀ CFUต่อกรัม ตามลำดับ และยังคงให้ผลเช่นเดียวกับ *Salmonella* sp. อีก ทั้ง 3 สายพันธุ์ กล่าวคือ *S. Typhimurium* DMST 14921 จะลดลงจาก 4.27 log₁₀ CFUต่อกรัม เหลือ 3.74, และ 3.64 log₁₀ CFUต่อกรัม ตามลำดับ *S. Virchow* NE 541 ลดลงจาก 3.95 log₁₀ CFUต่อกรัม เหลือ 3.74, และ 3.61 log₁₀ CFUต่อกรัม ตามลำดับ และ *S. Virchow* DMST 14922 ลดลงจาก 4.15 log₁₀ CFUต่อกรัม เหลือ 3.04 และ 2.90 log₁₀ CFUต่อกรัม ตามลำดับ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกใน Inspexx 200™ จาก เป็น 80, และ 100 ppm ประสิทธิภาพในการลดปริมาณ *Salmonella* sp. ก็จะเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 27)

พบว่าประสิทธิภาพในการทำลาย *Salmonella* sp. ซึ่งสร้างการปนเปื้อนบนเนื้อไก่ของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก จะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นและระยะเวลาในการล้าง สอดคล้องกับการศึกษาของ Taormina and Beuchat (1999) ซึ่งรายงานว่า สารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 2 ชนิด ซึ่งใช้ชื่อทางการค้าว่า Tsunami™ และ Vortex™ มี ประสิทธิภาพในการลดปริมาณ *Escherichia coli* O157:H7 ปนเปื้อนบนเมล็ด Alfalfa ได้ และประสิทธิภาพจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้น และเวลาในการสัมผัสสารฆ่าเชื้อเพิ่มขึ้น

5.3 ผลของอุณหภูมิของน้ำล้างที่เติมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก จากสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการทำลาย *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541 และ *S. Virchow* DMST 14922

ศึกษาการใช้ Inspexx 100™ ล้างไก่ที่สร้างการปนเปื้อนด้วย *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541 หรือ *S. Virchow* DMST 14922 โดยใช้ อุณหภูมิของน้ำล้างเป็น 4, 37 องศาเซลเซียส กำหนดระดับความเข้มข้นสุดท้ายของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในน้ำล้างเป็น 60, 80, และ 100 ppm ทำการล้างไก่เป็นเวลา 15, และ 30 นาที



ภาพที่ 27 ปริมาณ *S. Typhimurium* ATCC 13311 (◆), *S. Typhimurium* DMST 14921 (■), *S. Virchow* NE 541 (▲), และ *S. Virchow* DMST 14922 (●) (log₁₀ CFUต่อกรัม) บนเนื้อไก่ที่รอดชีวิตหลังจากสัมผัสกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารผสมกรดเปอร์ออกซี

แอซิดิกทางการค้า (Inspexx 200™) ที่ระดับความเข้มข้น 60 (a), 80 (b), และ 100 ppm (c) เป็นเวลา 0, 15, และ 30 นาที

จากตารางที่ 21 พบว่า ทุกความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ใน Inspexx 100™ สามารถลดจำนวน *Salmonella* sp. ได้ทั้ง 4 สายพันธุ์ เมื่อใช้กรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ที่มีความเข้มข้น 60 ppm ล้างไก่เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สามารถทำลาย *S. Typhimurium* ATCC 13311 (จากปริมาณเริ่มต้น $3.70 \log_{10}$ CFUต่อกรัม) ได้ $0.25 \log_{10}$ CFUต่อกรัม เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ใน Inspexx 100™ เป็น 80 และ 100 ppm เมื่อสิ้นสุดการล้างที่เวลา 30 นาที สามารถลดเชื้อได้ 0.44, และ $0.67 \log_{10}$ CFUต่อกรัม ตามลำดับ สำหรับ *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541 และ *S. Virchow* DMST 14922 ก็ให้ผลทำนองเดียวกัน คือเมื่อใช้ความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ใน Inspexx 100™ เป็น 60, 80, และ 100 ppm และสิ้นสุดการล้างที่เวลา 30 นาที สามารถลด *S. Typhimurium* DMST 14921 ได้ $0.51, 0.60,$ และ $0.64 \log_{10}$ CFUต่อกรัม ตามลำดับ ลด *S. Virchow* NE 541 ได้ $0.49, 0.62,$ และ $0.73 \log_{10}$ CFU ต่อกรัมตามลำดับ และลด *S. Virchow* DMST 14922 ได้ $0.30, 0.52,$ และ $0.75 \log_{10}$ CFU ต่อกรัม ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาการล้างที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสพบว่า ให้ผลเช่นเดียวกับการล้างที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส คือสามารถลดจำนวน *Salmonella* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ได้ โดยมีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อ ไม่แตกต่างไปจากการใช้ inspexx 100™ ล้างไก่ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) และที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

สำหรับการใช้ Inspexx 200™ ล้างไก่ที่สร้างการปนเปื้อนด้วย *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541 และ *S. Virchow* DMST 14922 ปนเปื้อนที่ระดับประมาณ $4.00 \log_{10}$ CFUต่อกรัม กำหนดให้ความเข้มข้นสุดท้ายของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในน้ำล้างเป็น 60, 80, และ 100 ppm ล้างไก่เป็นเวลา 15 และ 30 นาที (ตารางที่ 22) พบว่า ทุกความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ใน Inspexx 200™ สามารถลดจำนวน *Salmonella* sp. ได้ทั้ง 4 สายพันธุ์ เมื่อใช้ Inspexx 200™ ซึ่งมีเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 60 ppm ล้างไก่เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สามารถทำลาย *S. Typhimurium* ATCC 13311 (จากปริมาณเริ่มต้น $3.60 \log_{10}$ CFUต่อกรัม) ได้ $0.32 \log_{10}$ CFUต่อกรัม เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ใน Inspexx 200™ เป็น 80 และ 100 ppm สิ้นสุดการล้างที่เวลา 30 นาที สามารถลดเชื้อได้ $0.39,$ และ $0.88 \log_{10}$ CFUต่อกรัม ตามลำดับ สำหรับ *S. Typhimurium* DMST 14921, *S.*

Virchow NE 541 และ *S. Virchow* DMST 14922 ให้ผลทำนองเดียวกัน คือเมื่อใช้ความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ใน Inspexx 200TM เป็น 60, 80, และ 100 ppm และสิ้นสุดการล้างที่เวลา 30 นาที สามารถลด *S. Typhimurium* DMST 14921 ได้ 0.36, 0.47, และ 0.61 log₁₀ CFU ต่อกรัม ตามลำดับ ลดจำนวน *S. Virchow* NE 541 ได้ 0.29, 0.29, และ 0.32 log₁₀ CFU ต่อกรัม

ตารางที่ 21 จำนวนเซลล์ ($\log_{10}$ CFUต่อกรัม) ของ *Salmonella* sp. บนเนื้อไก่สดที่รอดชีวิตภายหลัง
สัมผัสกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า
(Inspexx 100TM) ที่อุณหภูมิ 4 และ 37 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ความเข้มข้นของ Inspexx 100 TM (ppm)	เวลา (นาที)	จำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิต ($\log_{10}$ CFU ต่อกรัม)			
			<i>S. Typhimurium</i>		<i>S. Virchow</i>	
			ATCC 13311	DMST 14921	NE 541	DMST 14922
4	60	0	3.70	3.74	3.85	3.74
		15	3.54	3.45	3.75	3.47
		30	3.45	3.23	3.23	3.22
	80	0	3.70	3.78	3.88	4.18
		15	3.48	3.45	3.63	3.85
		30	3.26	3.18	3.15	3.43
	100	0	3.85	3.98	3.65	3.78
		15	3.30	3.50	3.19	3.51
		30	3.18	3.34	3.16	3.48
37	60	0	3.64	3.65	3.75	3.56
		15	3.40	3.37	3.60	3.54
		30	3.40	3.23	3.49	3.38
	80	0	3.60	3.85	4.04	3.74
		15	3.58	3.31	3.60	3.62
		30	3.32	3.23	3.42	3.06
	100	0	3.22	4.02	4.13	3.74
		15	3.06	3.34	3.64	3.00
		30	2.48	2.70	3.41	2.95

ตามลำดับ และลดปริมาณ *S. Virchow* DMST 14922 ได้ 0.68, 0.79, และ 0.94 log₁₀ CFUต่อกรัมตามลำดับ

เมื่อพิจารณาการล้างที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสพบว่า ให้ผลเช่นเดียวกับการล้างที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส คือสามารถลดจำนวน *Salmonella* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ได้ โดยมีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อ ไม่แตกต่างไปจากการใช้ Inspexx 200™ ล้างไก่ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) และที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

และผลการสังเกตประสิทธิภาพในการลดปริมาณ *Salmonella* sp. พบว่าประสิทธิภาพในการลดปริมาณ *Salmonella* sp. เป็นไปในแนวทางเดียวกับข้อ 6.1 และ 6.2 คือประสิทธิภาพขึ้นอยู่กับปัจจัย 2 ปัจจัยที่สำคัญคือความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทั้งสองชนิด และเวลาในการสัมผัสสารฆ่าเชือดังกล่าว

จากการทดลองจะเห็นได้ว่า แม้จะใช้ความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทั้งสองชนิดสูงถึง 100 ppm และให้เวลาสัมผัสสารฆ่าเชื้อนานถึง 30 นาที รวมทั้งปรับอุณหภูมิของน้ำล้าง ก็ไม่สามารถทำลาย *Salmonella* sp. บนเนื้อไก่ให้หมดไปได้ ในกรณีที่เพิ่มความเข้มข้นของสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทั้ง 2 ชนิด ในน้ำล้างมากกว่า 100 ppm จะมีผลต่อสีของเนื้อไก่ และจะเกิดกลิ่นผิดปกติ เช่นเดียวกันหากใช้เวลาในการล้างมากกว่า 30 นาทีก็จะส่งผลต่อสีของเนื้อไก่เช่นกัน เนื่องจากเนื้อไก่เป็นรูปแบบลักษณะของพื้นผิวเชิงซ้อน (Complex surface) ซึ่งประกอบด้วยไขมัน โปรตีน และเนื้อเยื่อเกี่ยวพันจำนวนมาก ทำให้เซลล์ *Salmonella* sp. ยึดเกาะแน่นกับพื้นผิว ซึ่งส่งผลต่อการเข้าทำลายของสารฆ่าเชื้อ ประสิทธิภาพในการลดปริมาณ *Salmonella* sp. จึงแตกต่างจากการศึกษาในเชื้อบริสุทธิ์ ซึ่งสารฆ่าเชื้อมีโอกาสสัมผัสกับเซลล์ของ *Salmonella* sp. ได้ง่ายขึ้น

5.4 การใช้กรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 100™ และ Inspexx 200™) ในขั้นตอนการลวกไก่ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

ขั้นตอนแรกในกระบวนการผลิตไก่สดแช่เยือกแข็งขั้นตอนแรกหลังจากเชือดแล้วก็คือการลวก เพื่อเป็นการเตรียมซากไก่สำหรับการถนอมขน สำหรับการลวกซากไก่จะลวกที่อุณหภูมิ 55-60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-2.5 นาที โดยวิธีการจุ่มในน้ำร้อน จะเพิ่มอุณหภูมิของน้ำให้สูงถึง 65 องศาเซลเซียส เมื่อใช้วิธีฉีดพ่นด้วยน้ำร้อน (Parry, 1989) การทดลองเลียนแบบการลวกซากไก่ โดยใช้สารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 2 ชนิดคือ Inspexx 100TM และ

ตารางที่ 22 จำนวนเซลล์ ($\log_{10}$ CFUต่อกรัม) ของ *Salmonella* sp. บนเนื้อไก่สดที่รอดชีวิตภายหลังสัมผัสกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 200TM) ที่อุณหภูมิ 4 และ 37 องศาเซลเซียส

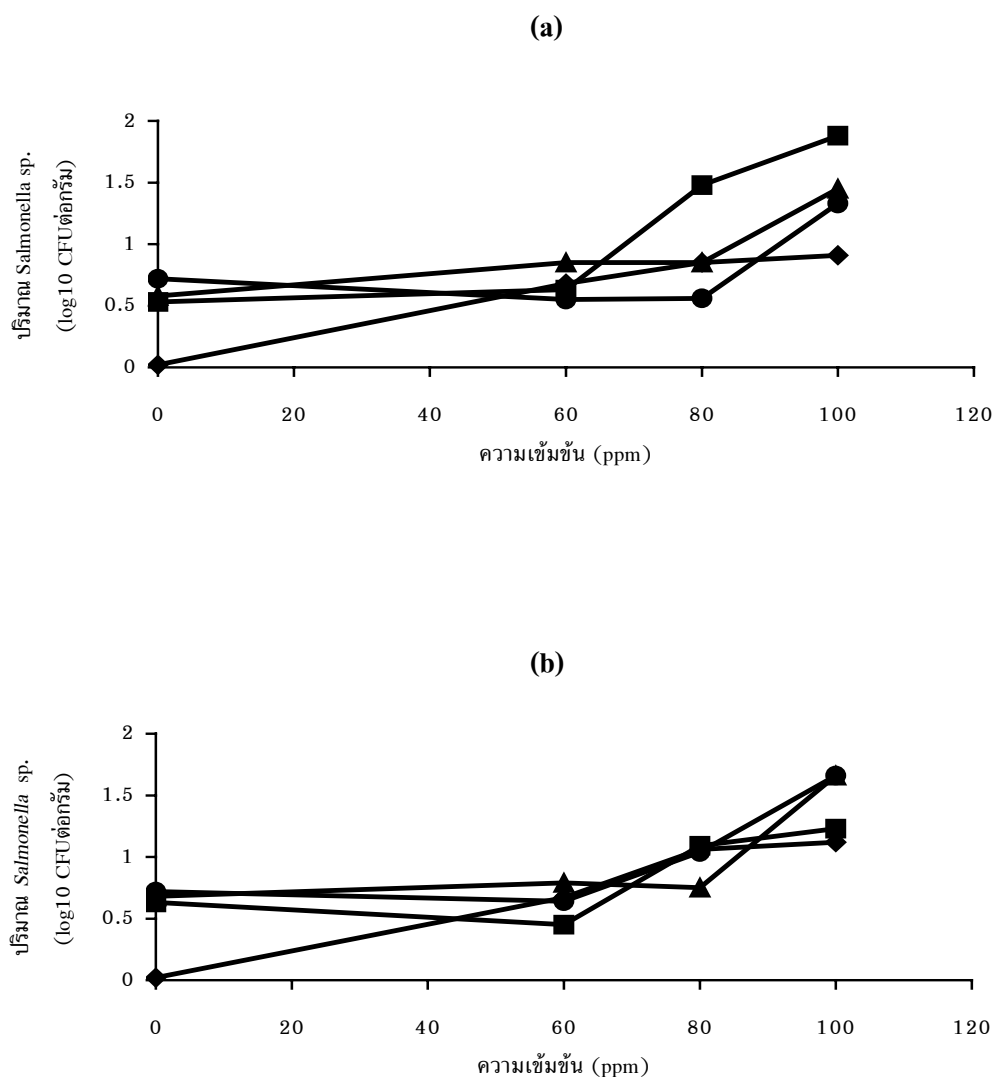
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ความเข้มข้นของ Inspexx 200 TM (ppm)	เวลา (นาที)	จำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิต ($\log_{10}$ CFUต่อกรัม)			
			<i>S. Typhimurium</i>		<i>S. Virchow</i>	
			ATCC 13311	DMST 14921	NE 541	DMST 14922
4	60	0	3.60	3.54	3.40	3.98
		15	3.37	3.40	3.38	3.60
		30	3.28	3.18	3.11	3.30
	80	0	3.70	3.60	3.70	3.95
		15	3.53	3.80	3.50	3.63
		30	3.31	3.33	3.41	3.16
	100	0	3.88	4.02	3.48	4.04
		15	3.30	3.49	3.30	3.53
		30	3.00	3.41	3.16	3.10
37	60	0	3.60	4.04	3.65	3.81
		15	3.51	3.60	3.63	3.00
		30	3.41	3.32	3.29	3.00
	80	0	3.74	4.20	4.11	3.98
		15	3.52	3.53	3.68	3.40
		30	3.51	3.20	3.43	3.15
	100	0	4.00	4.11	4.37	3.74
		15	3.16	3.60	3.70	3.31
		30	3.02	3.20	3.10	2.74

Inspexx 200™ ผสมในน้ำที่ใช้ในการลวกไก่ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส กำหนดให้ความเข้มข้นสุดท้ายของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกเป็น 60, 80, และ 100 ppm และใช้น้ำประปาฆ่าเชื้อเป็นตัวอย่างควบคุม ใช้เวลาในการลวก 0, 90, และ 180 วินาที พบว่า การใช้ Inspexx 100™ ที่มีระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 60 ppm ลวกไก่ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เมื่อสิ้นสุดการลวกที่ 180 วินาที สามารถลดจำนวน *S. Typhimurium* ATCC 13311 ได้ $0.68 \log_{10}$ CFU ต่อกรัม และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 80, และ 100 ppm สามารถลดเชื้อได้ 0.62, และ $0.91 \log_{10}$ CFU ต่อกรัม ตามลำดับ และให้ผลเช่นเดียวกันกับ *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541 และ *S. Virchow* DMST 14922 กล่าวคือ เมื่อใช้ Inspexx 100™ ที่ระดับความเข้มข้น 60 ppm และลวกไก่เป็นเวลา 180 วินาที สามารถลดปริมาณเชื้อดังกล่าวได้ 0.63, 0.85, และ $0.66 \log_{10}$ CFU ต่อกรัม เมื่อเพิ่มความเข้มข้นพบว่าประสิทธิภาพของ Inspexx 100™ ก็จะเพิ่มขึ้นด้วย โดยลดจำนวนเซลล์ ($\log_{10}$ CFU ต่อกรัม) ของ *Salmonella* sp. ทั้ง 3 สายพันธุ์ ได้เพิ่มขึ้น (ภาพที่ 16) สำหรับการใช้ Inspexx 200™ ที่ระดับความเข้มข้น 60 ppm ลวกไก่เป็นเวลา 180 วินาที สามารถจำนวน *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541 และ *S. Virchow* DMST 14922 ได้ 0.67, 0.45, 0.79, และ $0.64 \log_{10}$ CFU ต่อกรัม ตามลำดับ และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 80 ppm สามารถลดจำนวนเชื้อได้ 1.06, 1.09, 0.75, และ $1.04 \log_{10}$ CFU ต่อกรัม ตามลำดับ

ในการทำงานเกี่ยวกับการใช้ Inspexx 200™ ที่ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 100 ppm สามารถลดจำนวนเชื้อได้ 1.12, 1.23, 1.65, และ $1.56 \log_{10}$ CFU ต่อกรัม ตามลำดับ จะเห็นว่าเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น จำนวนเชื้อที่ลดลง ($\log_{10}$ CFU ต่อกรัม) เพิ่มขึ้น (ภาพที่ 28)

เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมพบว่า น้ำร้อนเพียงอย่างเดียวก็สามารถลดจำนวน *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541 และ *S. Virchow* DMST 14922 ได้ กล่าวคือ เมื่อลวกไก่ในน้ำร้อน 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 วินาที สามารถเชื้อได้ 0.43, 0.57, 0.48, และ $0.48 \log_{10}$ CFU ต่อกรัม ตามลำดับ และเมื่อเพิ่มเวลาการลวกเป็น 180 วินาทีจะสามารถลดได้ 0.50, 0.53, 0.58, และ $0.56 \log_{10}$ CFU ต่อกรัม ตามลำดับ

5.5 ศึกษาความแตกต่างของคุณสมบัติในการต่อต้านจุลชีพของ *Salmonella* sp. มีผลต่อการทำลายเชื้อด้วยกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 100™ และ Inspexx 200™) ที่ระดับความเข้มข้น ระยะเวลา และอุณหภูมิต่างกัน



ภาพที่ 28 ปริมาณ *S. Typhimurium* ATCC 13311 (◆), *S. Typhimurium* DMST 14921 (■), *S. Virchow* NE 541 (▲), และ *S. Virchow* DMST 14922 (●) (log₁₀ CFUต่อกรัม) บนเนื้อไก่ที่ลดลงหลังจากสัมผัสกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 100™ (a) และ Inspexx 200™ (b)) ที่ระดับความเข้มข้น 60, 80, และ 100 ppm เป็นเวลา 180 วินาที อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

จากคุณสมบัติในการต่อต้านจุลชีพของ *Salmonella* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ซึ่งมีแบบแผนการต่อต้านจุลชีพเป็น S_3 , *S. Typhimurium* DMST 14921 มีแบบแผนการต่อต้านจุลชีพเป็น Amp C S Te S_3 W, *S. Virchow* NE 541 มีแบบแผนการต่อต้านจุลชีพเป็น Amp Aml Cn E F K Na P S W Pb และ *S. Virchow* DMST 14922 ซึ่งมีแบบแผนการต่อต้านจุลชีพเป็น Non Resistance พบว่าประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อของสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิติก 2 ชนิดคือ Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM ที่ทุกระดับความเข้มข้น เวลา และอุณหภูมิที่ต่างกัน ประสิทธิภาพของ Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM จะแปรตามความเข้มข้น และระยะเวลา โดยความแตกต่างของสายพันธุ์ และคุณสมบัติการต่อต้านจุลชีพ ไม่ส่งผลต่อการทำลายเชื้อด้วยกรดเปอร์ออกซีแอซิติก ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิติกทั้งสองชนิด เมื่อพิจารณาการใช้ Inspexx 100TM ที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm ล้างไก่ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 30 นาที การลดลงของปริมาณ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541, และ *S. Virchow* DMST 14922 ใกล้เคียงกันคือลดลงไป 0.67, 0.64, 0.73, และ 0.75 log₁₀ CFUต่อกรัม ตามลำดับ การล้างที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสโดยใช้ความเข้มข้นและระยะเวลาเดียวกันกับการล้างที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทำให้เชื้อมีปริมาณลดลง 0.74, 1.32, 0.72, และ 0.79 log₁₀ CFUต่อกรัม ตามลำดับ และถ้าล้างที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) เชื้อจะมีปริมาณลดลง 0.70, 0.42, 0.98, และ 1.14 log₁₀ CFUต่อกรัม ตามลำดับ และยังให้ผลเช่นเดียวกันเมื่อเปรียบเทียบที่ระดับอุณหภูมิของน้ำล้างต่างกัน (ตารางที่ 23) เมื่อพิจารณาการลวกไก่ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 180 วินาที ที่ความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิติก ใน Inspexx 100TM เป็น 100 ppm สามารถลดปริมาณ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541, และ *S. Virchow* DMST 14922 ลดลง 0.91, 1.88, 1.45, และ 1.33 log₁₀ CFUต่อกรัม ตามลำดับ

เมื่อใช้ Inspexx 200TM ที่ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิติก 100 ppm ล้างไก่ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 30 นาที สามารถทำให้ *Salmonella* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ ลดลงในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน คือสามารถลด *S. Typhimurium* ATCC 13311 ได้ 0.88 log₁₀ CFUต่อกรัม และลดได้ 0.61, 0.32, และ 0.94 log₁₀ CFUต่อกรัม สำหรับ *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541, และ *S. Virchow* DMST 14922 ตามลำดับ และให้ผลเช่นเดียวกันเมื่อล้างไก่ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) (ตารางที่ 31) เมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างสายพันธุ์ พบว่าแม้จะมีความแตกต่างกันแต่ไม่ชัดเจน จนอาจกล่าวได้ว่า กรดเปอร์ออกซีแอซิติกในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิติกทางการค้า (Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM)

สามารถทำลาย *Salmonella* sp. ได้ทุกสายพันธุ์

ตารางที่ 23 จำนวนเซลล์ ($\log_{10}$ CFU ต่อกรัม) ของ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541, และ *S. Virchow* DMST 14922 บนเนื้อไก่ที่ลดลงหลังจากสัมผัสกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100™) ความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 100 ppm ที่เวลา 30 นาที และอุณหภูมิต่างกัน

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (นาที)	จำนวนเชื้อที่ลดลง ($\log_{10}$ CFU ต่อกรัม)			
		<i>S. Typhimurium</i>		<i>S. Virchow</i>	
		ATCC 13311	DMST 14921	NE 541	DMST 14922
4	30	0.67	0.64	0.73	0.75
37	30	0.74	1.32	0.72	0.79
27 ^{1/}	30	0.70	0.42	0.98	1.14

หมายเหตุ ^{1/} = อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

ตารางที่ 24 จำนวนเซลล์ ($\log_{10}$ CFUต่อกรัม) ของ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541, และ *S. Virchow* DMST 14922 บนเนื้อไก่ที่ลดลงหลังจากสัมผัสกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 200™) ความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 100 ppm ที่เวลา 30 นาที และอุณหภูมิต่างกัน

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (นาที)	จำนวนเชื้อที่ลดลง ($\log_{10}$ CFU ต่อกรัม)			
		<i>S. Typhimurium</i>		<i>S. Virchow</i>	
		ATCC 13311	DMST 14921	NE 541	DMST 14922
4	30	0.88	0.61	0.32	0.94
37	30	0.98	1.00	1.27	1.00
27 ¹	30	0.39	0.86	1.72	1.25

หมายเหตุ ^{1/} = อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

6. ผลของการใช้สารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกต่อการลดปริมาณ *Salmonella* sp. ปนเปื้อนบนเนื้อไก่และการเปลี่ยนแปลงปริมาณ และค่าความเป็นกรด-ด่าง ในน้ำล้างที่อุณหภูมิต่างๆ

กระบวนการผลิตไก่สดแช่เยือกแข็ง โดยเฉพาะการล้างทำความสะอาด รวมถึงการแช่เย็นเพื่อลดอุณหภูมิ พบว่าในน้ำล้างมีการปะปนของสารอินทรีย์จากตัวไก่ เช่น ไขมัน โปรตีน เศษสิ่งสกปรก รวมถึงเกลือแร่ชนิดต่างๆ ซึ่งเป็นผลทำให้สารอินทรีย์ในน้ำเพิ่มขึ้น (Lillard, 1979; Schade *et al.*, 1990) และอาจส่งผลทำให้เกิดปฏิกิริยากันระหว่างกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกและสารอินทรีย์ในน้ำ เช่นเดียวกับปฏิกิริยาของสารประกอบคลอรีน (Thomson *et al.*, 1979) และอาจทำให้ประสิทธิภาพของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกลดลง

จากการทดลองล้างเนื้อไก่ซึ่งปนเปื้อนด้วยเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC ปริมาณเริ่มต้นประมาณ 4.00 $\log_{10}$ CFUต่อกรัม พบว่า การใช้สารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า 2 ชนิด คือ Inspexx 100™ และ Inspexx 200™ ซึ่งกำหนดความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 3 ระดับ

คือ 60, 80, และ 100 ppm ล้างเนื้อไก่ที่อุณหภูมิ 4, 37, และอุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 0, 15, และ 30 นาที สามารถลดปริมาณเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ได้ ดังแสดงในผลการทดลองข้อที่ 6 และเมื่อทดลองล้างเนื้อไก่ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 90, และ 180 วินาที พบว่า สารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดสามารถลดปริมาณเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ได้เช่นกัน

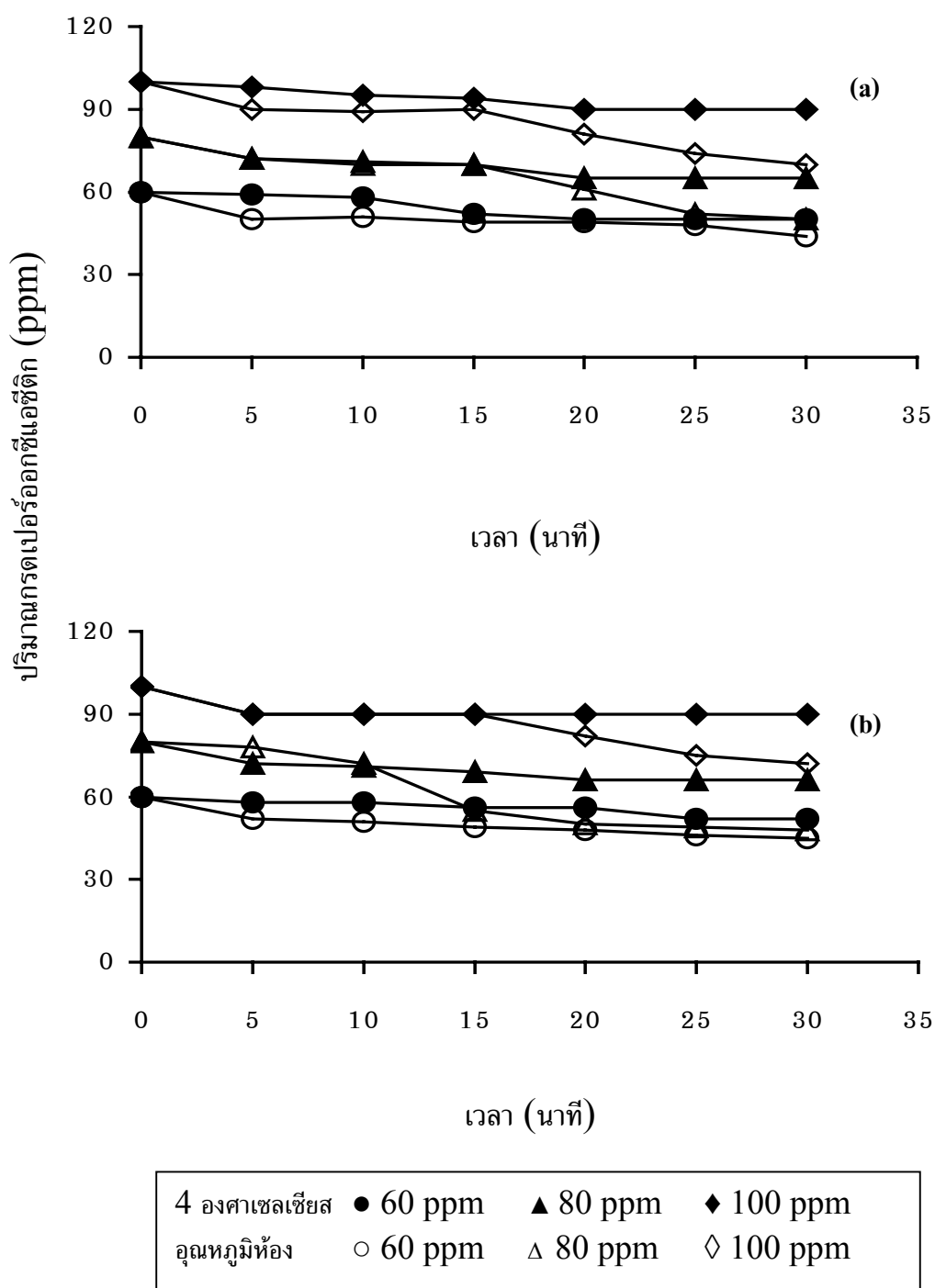
เมื่อนำน้ำที่ใช้ล้างเนื้อไก่ที่อุณหภูมิ 4, 37 และ อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) และน้ำที่ใช้ล้างเนื้อไก่ มาวัดการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง และการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (ภาคผนวก ข) พบว่า เมื่อระยะเวลาที่สารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100TM) สัมผัสกับเนื้อไก่อานขึ้น จะส่งผลให้ปริมาณกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกลดลง พิจารณาการใช้ Inspexx 100TM ซึ่งกำหนดความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกเป็น 100 ppm ล้างเนื้อไก่ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) พบว่า ปริมาณกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกจะลดลงจาก 100 ppm เหลือ 90 ppm ภายในเวลา 5 นาที และปริมาณจะลดลงเรื่อยๆ ตลอดระยะเวลาการล้างเนื้อไก่ จนเหลือปริมาณเพียง 70 ppm ที่เวลา 30 นาที การลดลงของปริมาณกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในน้ำล้างนี้ ให้ผลเช่นเดียวกันเมื่อใช้ Inspexx 200TM ในระหว่างการล้างเนื้อไก่ โดยปริมาณกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกจะลดลงจาก 100 ppm เหลือเพียง 72 ppm ที่เวลา 30 นาที

สำหรับที่ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกใน Inspexx 100TM เท่ากับ 80 และ 60 ppm ให้ผลในทำนองเดียวกันโดยที่เวลา 30 นาที ปริมาณกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกจะลดลงเหลือ 50 และ 48 ppm ตามลำดับในระยะเวลา 30 นาที การใช้ Inspexx 200TM ให้ผลเช่นเดียวกันกล่าวคือที่เวลา 30 นาที ปริมาณกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกจะลดลงจาก 80 ppm เหลือ 48 ppm และลดลงจาก 60 ppm เหลือ 45 ppm (ภาพที่ 29) นอกจากนั้นเมื่อพิจารณาการแช่เย็นไก่ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่านอกจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกจะยังคงมีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อแล้ว ยังปรากฏว่ามีการลดลงของปริมาณกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก การแช่เย็นไก่ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสสามารถทำให้ปริมาณกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในน้ำล้างลดลงได้เช่นเดียวกัน ในภาพที่ 29 แสดงให้เห็นว่า การแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสจะมีปริมาณกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกคงเหลืออยู่ในน้ำมากกว่าการล้างที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) โดยจะเห็นได้ว่าการล้างไก่โดย Inspexx 100TM ที่กำหนดความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 100 ppm นาน 30 นาที จะมีปริมาณกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกเหลืออยู่ 90 ppm ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 70 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) ในขณะที่เมื่อใช้ Inspexx 200TM ก็จะให้ผลในทำนองเดียวกัน กล่าวคือ เมื่อล้างไก่ด้วย Inspexx

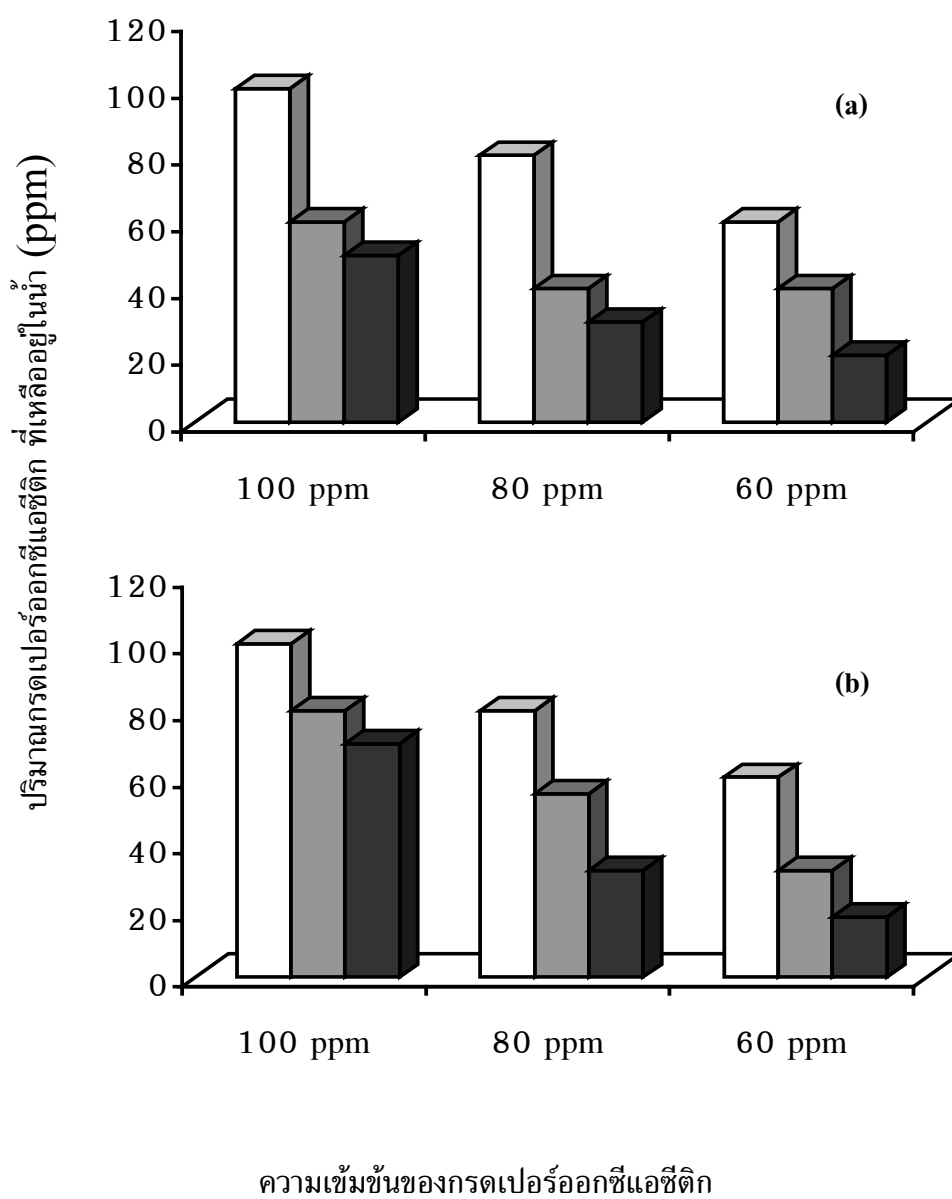
200TM ที่กำหนดความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกเป็น 100 ppm นาน 30 นาที จะมีประมาณกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกเหลืออยู่ในน้ำล้าง 90 ppm ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และเหลืออยู่ 70 ppm เมื่อล้างที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

สำหรับการลวกเนื้อไก่ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ทั้ง Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM ลดลงอย่างรวดเร็ว โดยเมื่อใช้ Inspexx 100TM ที่มีความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 100 ppm ลวกไก่อาน 180 วินาที ปริมาณกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกจะลดลงเหลือ 50 ppm เมื่อลดความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกลงเป็น 80 และ 60 ppm พบว่ามีปริมาณกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกเหลืออยู่ในน้ำ 30 และ 20 ppm ตามลำดับ ภายหลังจากลวกไก่อาน 180 วินาที สำหรับการใช้ Inspexx 200TM ลวกไก่ที่ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 100, 80, และ 60 ppm พบว่าให้ผลในทำนองเดียวกัน กล่าวคือ ปริมาณกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกเหลืออยู่ในน้ำเพียง 70, 32, และ 18 ppm ตามลำดับ เมื่อลวกไก่อาน 180 วินาที (ภาพที่ 23)

Roshner (1987) and Dychdala (1988 a,b) รายงานว่า กรดเปอร์ออกซีแอซิดิกมีเสถียรภาพสูงที่อุณหภูมิต่ำ และที่อุณหภูมิห้อง เสถียรภาพของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกยังไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก การเก็บรักษาสารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ความเข้มข้น 225 ppm ที่อุณหภูมิ 21 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาได้นานกว่า 24 ชั่วโมงโดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก เมื่อเพิ่มอุณหภูมิการเก็บรักษาสูงขึ้นเป็น 37 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 29 ปริมาณกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกของสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 100TM (a), Inspexx 200TM (b)) ที่เหลืออยู่ในน้ำล้างไคที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)



ภาพที่ 30 ปริมาณกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 100TM (a) และ Inspexx 200TM (b)) ที่เหลืออยู่ในน้ำภายหลังการลวกเนื้อไก่ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 0 (□), 90 (▣), และ 180 (■) วินาที

ปริมาณกรดเปอร์ออกซีแอซิดจะลดลงจาก 225 ppm เหลืออยู่ 175 ppm ภายในเวลา 24 ชั่วโมง ในขณะที่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 82 องศาเซลเซียส กรดเปอร์ออกซีแอซิดจะสูญเสียเสถียรภาพ และปริมาณกรดเปอร์ออกซีแอซิดจะลดลงจาก 225 ppm จนไม่มีกรดเปอร์ออกซีแอซิดเหลืออยู่เลย ภายในเวลา 6 ชั่วโมง

ยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับปฏิกิริยาของกรดเปอร์ออกซีแอซิดเมื่อละลายน้ำ แต่คาดว่าเมื่อกรดเปอร์ออกซีแอซิดละลายน้ำ จะให้ไฮโดรเจนไอออน (H^+) ซึ่งจะมีผลทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำลดลง และจากผลการทดลองพบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำที่มีกรดเปอร์ออกซีแอซิดความเข้มข้น 100, 80, และ 60 ppm ละลายอยู่ก่อนนำมาล้างไก่ เป็น 1.92, 2.01, และ 2.41 ตามลำดับ สำหรับ Inspexx 100TM และเป็น 1.89, 2.54, และ 2.12 ตามลำดับ สำหรับ Inspexx 200TM ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) สำหรับที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสนั้น ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำที่มีกรดเปอร์ออกซีแอซิดความเข้มข้น 100, 80, และ 60 ppm ละลายอยู่เป็น 1.82, 1.81, และ 2.59 ตามลำดับ สำหรับ Inspexx 100TM และเป็น 2.39, 2.64, และ 2.68 ตามลำดับ สำหรับ Inspexx 200TM ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากตารางที่ 32 พบว่า หลังจากนำเนื้อไก่มาล้างด้วยสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิด (Inspexx 100TM) ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงแรก และหลังจากนั้นจะเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ ตามระยะเวลาการล้างที่เพิ่มขึ้น

ตารางที่ 25 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง ของน้ำล้างไก่ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) ที่ใช้กรดเปอร์ออกซีแอซิดความเข้มข้นต่างๆ ใน Inspexx 100TM

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ความเข้มข้น (ppm)	ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำล้างที่เวลาต่างๆ (นาท)						
		0	5	10	15	20	25	30
4	60	2.59	3.45	3.87	3.63	3.67	3.81	3.82
	80	1.81	3.48	3.51	3.67	3.69	3.72	3.82
	100	1.82	3.38	3.58	3.68	3.67	3.66	3.65
27 ¹	60	2.41	4.31	4.38	4.35	4.60	4.61	4.61
	80	2.01	4.39	4.40	4.55	4.60	4.61	4.70
	100	1.92	4.30	4.35	4.37	4.36	4.42	4.50

หมายเหตุ ^{1/} = อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสจะเปลี่ยนแปลงน้อยกว่าการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) กล่าวคือ เมื่อล้างเนื้อไก่ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ที่ระดับความเข้มข้นกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 100 ppm ค่าความเป็นกรด-ด่างจะเปลี่ยนแปลงจาก 1.82 ไปเป็น 3.38 ภายในเวลา 5 นาที ซึ่งเปลี่ยนแปลงไป ร้อยละ 33.20 และที่เวลา 30 นาที ค่าความเป็นกรด-ด่างเปลี่ยนแปลงไป ร้อยละ 47.49 ส่วนการล้างด้วยกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกเข้มข้น 100 ppm ใน Inspexx 100TM ที่อุณหภูมิห้อง ค่าความเป็นกรด-ด่างจะเพิ่มขึ้นจาก 1.92 ไปเป็น 4.30 ภายในเวลา 5 นาที ซึ่งเปลี่ยนแปลงไปถึงร้อยละ 123.95 และที่เวลา 30 นาที ค่าความเป็นกรด-ด่างเปลี่ยนแปลงไปร้อยละ 134.37 สำหรับการล้างด้วย Inspexx 200TM ให้ผลในทำนองเดียวกันคือ ค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาล้างเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 26)

ตารางที่ 26 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง ของน้ำล้างไก่ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) ที่ใช้กรดเปอร์ออกซีแอซิดิกความเข้มข้นต่างๆ ใน Inspexx 200TM

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ความเข้มข้น (ppm)	ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำล้างที่เวลาต่างๆ (นาที)						
		0	5	10	15	20	25	30
4	60	2.68	3.47	3.47	4.01	3.92	4.02	4.02
	80	2.64	3.09	3.58	3.55	3.59	4.05	4.05
	100	2.39	3.34	3.52	3.58	3.62	3.64	3.66
27 ¹	60	2.12	3.45	4.45	4.61	4.7	4.8	4.61
	80	2.54	4.61	4.72	4.88	4.9	4.95	4.95
	100	1.89	4.31	4.35	4.36	4.36	4.45	4.50

หมายเหตุ ^{1/} = อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

สำหรับการลวกที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส พบว่าสารละลายกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกมีค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาการลวกเพิ่มขึ้นเช่นกัน โดย เมื่อลวกด้วยกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกความเข้มข้น 100, 80, และ 60 ppm จาก Inspexx 100TM เป็นเวลา 90 วินาที ค่าความเป็นกรด-ด่างจะเพิ่มขึ้นร้อยละ 42.53, 42.80, และ 54.58 ตามลำดับ และเมื่อเวลาการลวกเป็น 180 วินาที ค่าความ

เป็นกรด-ด่างจะเพิ่มขึ้นร้อยละ 43.68, 49.81, และ 56.67 ตามลำดับ การใช้ Inspexx 200™ ให้ผลเป็นไปในทำนองเดียวกัน กล่าวคือ เมื่อลวกด้วยกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ความเข้มข้น 100, 80, และ 60 ppm เป็นเวลา 90 วินาที ใน Inspexx 200™ ค่าความเป็นกรด-ด่างจะเพิ่มขึ้นร้อยละ 37.88, 37.31, และ 41.25 ตามลำดับ และเมื่อเวลาการลวกเป็น 180 วินาที ค่าความเป็นกรด-ด่างจะเพิ่มขึ้นร้อยละ 45.45, 37.69, และ 49.81 ตามลำดับ (ตารางที่ 27)

ตารางที่ 27 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างในน้ำลวกไก่ที่มีกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกความเข้มข้นต่างๆ ของสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก Inspexx 100™ และ Inspexx 200™ ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

สารเคมี	ความเข้มข้น (ppm)	ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำล้างที่เวลาต่างๆ (วินาที)		
		0	90	180
Inspexx 100™	60	2.61	3.72	3.75
	80	2.57	3.67	3.85
	100	2.4	3.71	3.76
Inspexx 200™	60	2.64	3.64	3.84
	80	2.68	3.68	3.69
	100	2.57	3.63	3.85

Pavals (1967) รายงานว่า สารอินทรีย์ต่างๆ ส่งผลต่อประสิทธิภาพของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในการทำลายเซลล์ *Mycobacterium bovis* โดยประสิทธิภาพการทำลายเซลล์จะลดลงประมาณร้อยละ 0.05 เมื่อในน้ำมีองค์ประกอบของ Bovine feces แต่ถ้าหากมีองค์ประกอบที่เป็นโปรตีนในน้ำเป็นจำนวนมาก จะทำให้ประสิทธิภาพลดลงร้อยละ 0.2 อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบกับสารฆ่าเชื้อชนิดอื่นๆ ที่ออกฤทธิ์แบบ Oxidizing agent พบว่า กรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทำปฏิกิริยากับสารอินทรีย์น้อยที่สุด (Davidson and Branen, 1993)

ค่าความเป็นกรด-ด่างมีความสัมพันธ์กับประสิทธิภาพของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในการทำลายจุลินทรีย์ โดยกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกจะมีประสิทธิภาพดีในสภาพสิ่งแวดล้อมที่มีค่าความ

เป็นกรด-ด่างต่ำ Dychdala and Koroma (1986) รายงานว่า กรดเปอร้ออกซีแอซิดิกความเข้มข้น 500 ppm มีประสิทธิภาพมากกว่าร้อยละ 99.99 ในการทำลายเซลล์ *Escherichia coli* ที่ค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ระหว่าง 3.50-7.00 หากเพิ่มค่าความเป็นกรด-ด่างให้อยู่ระหว่าง 7.00-8.00 ประสิทธิภาพจะลดลงเล็กน้อย

ตารางที่ 28 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดเปอร้ออกซีแอซิดิกของสารละลายสารผลมกรดเปอร้ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM) ค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณเซลล์ *Salmonella* sp. ในน้ำล้างที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

สารเคมี	ความเข้มข้น (ppm)	เวลา (นาที)	การเปลี่ยนแปลงของ		
			A	B	C
Inspexx 100 TM	60	0	60	2.41	4.07
		15	49	4.35	3.87
		30	44	4.61	3.63
	80	0	80	2.01	4.03
		15	70	4.55	3.63
		30	50	4.70	3.32
	100	0	100	1.92	4.11
		15	90	4.37	3.57
		30	70	4.50	3.32
Inspexx 200 TM	60	0	60	2.12	4.01
		15	49	4.61	3.66
		30	45	4.61	3.52
	80	0	80	2.54	3.93
		15	55	4.88	3.71
		30	48	4.95	3.36
	100	0	100	1.89	4.30
		15	90	4.36	3.50
		30	72	4.50	3.28

หมายเหตุ A = ปริมาณกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (ppm)
 B = ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำล้าง
 C = ปริมาณเซลล์ *Salmonella* sp. ($\log_{10}$ CFUต่อกรัม)

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกที่เหลืออยู่ ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เพิ่มขึ้น และปริมาณ *Salmonella* sp. ที่ลดลง สำหรับการล้างที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) (ตารางที่ 35) พบว่า เมื่อเวลาการล้างเพิ่มขึ้น ปริมาณ *Salmonella* sp. ที่สร้างการปนเปื้อนบนเนื้อไก่ และปริมาณกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในการสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทั้งสองชนิดลดลง แต่ค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้น เมื่อสิ้นสุดการล้างด้วย Inspexx 100TM (30 นาที) ที่มีระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 60, 80, และ 100 ppm ปรากฏว่า ปริมาณกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกจะลดลงร้อยละ 26.67, 37.50, และ 30.00 ตามลำดับ ค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้นร้อยละ 91.29, 133.83, และ 134.38 ตามลำดับ ส่วนปริมาณเซลล์ *Salmonella* sp. จะลดลงร้อยละ 10.81, 17.62, และ 19.22 ตามลำดับ สำหรับการใช้ Inspexx 200TM ให้ผลทำนองเดียวกัน กล่าวคือ ปริมาณกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกจะลดลงร้อยละ 25.00, 40.00, และ 28.00 ตามลำดับ ค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้นร้อยละ 117.45, 94.88, และ 138.10 ตามลำดับ ส่วนปริมาณเซลล์ *Salmonella* sp. จะลดลงร้อยละ 12.22, 7.63, และ 23.72 ตามลำดับ

ตารางที่ 36 แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกของสารละลายสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM) ค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณเซลล์ *Salmonella* sp. เมื่อล้างที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ซึ่งจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า เมื่อเวลาการล้างที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเพิ่มขึ้น จะทำให้ปริมาณกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกของสารละลายสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้าทั้งสองชนิดในน้ำล้างลดลง ปริมาณเซลล์ของ *Salmonella* sp. ก็ลดลง ในขณะที่ค่าความเป็นกรด-ด่างจะเพิ่มขึ้น โดยเมื่อใช้ Inspexx 100TM ความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 60, 80, และ 100 ppm ล้างไก่อาน 30 นาที ทำให้ปริมาณกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในน้ำล้างลดลงร้อยละ 16.67, 18.75, และ 10.00 ตามลำดับ ค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้นร้อยละ 47.49, 111.05, 100.55 ตามลำดับ ส่วนปริมาณเซลล์ *Salmonella* sp. ลดลงร้อยละ 12.77, 16.20, และ 13.65 ตามลำดับ สำหรับผลการทดลองการล้างเนื้อไก่ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ให้ผลในทำนองเดียวกัน คือเมื่อล้างเนื้อไก่อาน 30 นาที ปริมาณกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในน้ำล้างจะลดลงร้อยละ 13.33, 17.50, และ 10.00 ตามลำดับ ค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้นร้อยละ

50.00, 53.41, และ 53.14 ตามลำดับ และปริมาณเซลล์ *Salmonella* sp. ลดลงร้อยละ 11.29, 11.76, และ 17.88 ตามลำดับ

สำหรับความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดเปอร้ออกซีแอซิดิกของสารละลายสารผสมกรดเปอร้ออกซีแอซิดิกที่เหลืออยู่ในน้ำ การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณเซลล์ *Salmonella* sp. ที่ลดลง เมื่อลวกเนื้อไก่ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส แสดงในตารางที่ 29 ซึ่งจากรายงานพบว่า นอกเหนือจากประสิทธิภาพในการทำลายเซลล์ *Salmonella* sp. ที่เพิ่มขึ้นแล้ว ที่

ตารางที่ 29 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดเปอร์ออกซีเอซีติกของสารละลายสารผลมกรดเปอร์ออกซีเอซีติกทางการค้า (Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM) ค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณเซลล์ *Salmonella* sp. ในน้ำล้างที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

สารเคมี	ความเข้มข้น (ppm)	เวลา (นาที)	การเปลี่ยนแปลงของ		
			A	B	C
Inspexx 100 TM	60	0	60	2.59	3.76
		15	52	3.63	3.55
		30	50	3.82	3.28
	80	0	80	1.81	3.89
		15	70	3.67	3.60
		30	65	3.82	3.26
	100	0	100	1.82	3.81
		15	94	3.68	3.38
		30	90	3.65	3.29
Inspexx 200 TM	60	0	60	2.68	3.63
		15	56	4.01	3.44
		30	52	4.02	3.22
	80	0	80	2.64	3.74
		15	69	3.55	3.62
		30	66	4.05	3.33
	100	0	100	2.39	3.86
		15	90	3.58	3.41
		30	90	3.66	3.17

หมายเหตุ A = ปริมาณกรดเปอร์ออกซีเอซีติก (ppm)

B = ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำล้าง

C = ปริมาณเซลล์ *Salmonella* sp. ($\log_{10}$ CFUต่อกรัม)

ตารางที่ 30 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดเปอร์ออกซีเอซีติกของสารละลายสารผลมกรดเปอร์ออกซีเอซีติกทางการค้า (Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM) ค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณเซลล์ *Salmonella* sp. ในน้ำที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

สารเคมี	ความเข้มข้น (ppm)	เวลา (วินาที)	การเปลี่ยนแปลงของ		
			A	B	C
Inspexx 100 TM	60	0	60	2.61	3.93
		90	40	3.72	3.56
		180	20	3.75	3.38
	80	0	80	2.57	3.97
		90	40	3.67	3.32
		180	30	3.85	3.01
	100	0	100	2.40	4.01
		90	60	3.71	3.24
		180	50	3.78	2.62
Inspexx 200 TM	60	0	60	2.64	4.05
		90	32	3.64	3.55
		180	18	3.84	3.42
	80	0	80	2.68	4.05
		90	55	3.68	3.58
		180	32	3.69	3.07
	100	0	100	2.57	4.13
		90	80	3.63	3.22
		180	70	3.85	2.74

หมายเหตุ A = ปริมาณกรดเปอร์ออกซีเอซีติก (ppm)
 B = ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำล้าง
 C = ปริมาณเซลล์ *Salmonella* sp. ($\log_{10}$ CFUต่อกรัม)

อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสยังมีผลทำให้ปริมาณกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกของสารละลายสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในน้ำลดลงอย่างรวดเร็ว กล่าวคือ เมื่อใช้ Inspexx 100™ ความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 60, 80, และ 100 ppm ลวกเนื้อไก่เป็นเวลา 180 วินาที พบว่าปริมาณกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในน้ำจะลดลงร้อยละ 66.67, 62.50, และ 60.00 ตามลำดับ ค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้นร้อยละ 43.68, 49.81, และ 57.50 ตามลำดับ และปริมาณเซลล์ลดลงร้อยละ 13.99, 24.18, และ 34.66 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาการใช้ Inspexx 200™ ให้ผลในทำนองเดียวกัน คือเมื่อเพิ่มเวลาการลวก จะทำให้ปริมาณกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก และปริมาณเซลล์ *Salmonella* sp. ลดลง ในขณะที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้น การลวกโดยใช้ Inspexx 200™ ซึ่งกำหนดความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 60, 80, และ 100 ppm ลวกเนื้อไก่ก่อน 180 วินาที มีผลทำให้ปริมาณกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในน้ำลดลงร้อยละ 70.00, 60.00, และ 30.00 ตามลำดับ ค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้นร้อยละ 45.45, 37.69, และ 49.81 ตามลำดับ และปริมาณเซลล์ *Salmonella* sp. ลดลงร้อยละ 16.56, 24.20, และ 33.66 ตามลำดับ

การลดลงของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในน้ำล้าง และการเพิ่มขึ้นของค่าความเป็นกรด-ด่างนี้ส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพการทำลายเชื้อของสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ซึ่งปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อประสิทธิภาพของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกคือ ระดับความเข้มข้น โดยประสิทธิภาพจะแปรตามความเข้มข้น เมื่อเนื้อไก่ได้รับสัมผัสกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในระดับที่ลดลงทำให้ประสิทธิภาพของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในการทำลายเชื้อลดลง การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิที่ใช้ในการล้างเนื้อไก่ ส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพการเปลี่ยนแปลงปริมาณ ค่าความเป็นกรด-ด่างของสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในน้ำล้างด้วย

7. ผลของการเติมและไม่เติมกรดเปอร์ออกซีแอซิดในขั้นตอนการล้างและการแช่เย็น มีต่อการลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella* sp. ในไก่

ในกระบวนการผลิตไก่สดแช่เยือกแข็ง มีขั้นตอนการล้างทำความสะอาดภายหลังจากการฆ่า เพื่อจุดประสงค์ในการทำความสะอาด ชำระคราบเลือด รวมไปถึงสิ่งสกปรกต่างๆ ที่ติดอยู่ตามตัวไก่ นอกจากนั้น การล้างทำความสะอาดเป็นการช่วยกำจัดจุลินทรีย์ที่อาจปนเปื้อนมาในไก่ได้อีกด้วย (Parry, 1989)

ก่อนขั้นตอนการล้างซากไก่ มีขั้นตอนหนึ่งที่สำคัญและสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับไก่ได้คือ ขั้นตอนการลวกเพื่อเตรียมถอนขน ซึ่งคุณภาพของน้ำลวกไก่เป็นปัจจัยที่ต้องคำนึงถึง มีรายงานว่าน้ำลวกไก่อักมีจำนวนจุลินทรีย์ไม่เกิน 5×10^4 CFU ต่อ มิลลิตร (Walker and Ayres, 1956; Mead and Impey, 1970; Mulder and Veerkamp, 1974) และหลังจากจุ่มซากไก่อมาแล้วตลอดทั้งวัน จำนวนจุลินทรีย์ก็เพิ่มขึ้นไม่มากนัก และตรวจพบได้ใกล้เคียงกับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดบนตัวไก่ (Mulder and Veerkamp, 1974) นักวิจัยหลายคนได้พยายามชี้ให้เห็นว่า การใช้ไอน้ำภายใต้ความกดดันบรรยากาศปิดบนตัวไก่ สามารถลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ได้ (Klose *et al*, 1971; Kaufman *et al*, 1972; Lillard, 1973) แต่กระบวนการผลิตในขั้นถัดมา เช่น กระบวนการถอนขน การล้างทำความสะอาด หรือการแช่เย็น มีอัตราการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในไก่ที่ผ่านการลวกไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (Grossklaus and Lessing, 1964) จึงกล่าวได้ว่า กระบวนการผลิตในขั้นต่อไปหลังการลวกล้วนทำให้เกิดการปนเปื้อนกลับมาสู่ตัวไก่ได้อีก ด้วยเหตุนี้ในการทดลองเพื่อศึกษาปัจจัยร่วมระหว่างการเติมหรือไม่เติมกรดเปอร์ออกซีแอซิดในกระบวนการผลิตไก่สดแช่เยือกแข็ง จึงไม่ทำการศึกษาการลวกที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ร่วมกับการล้าง และการแช่เย็น เนื่องจาก ในกระบวนการผลิตจริงแล้ว การปนเปื้อนกลับมาอาจเกิดขึ้นได้อีก

จากการผลทดลองข้อ 6 ทำให้ทราบว่า การล้างเนื้อไก่ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) หรือการแช่เย็นเนื้อไก่ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ด้วยสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดสองชนิดคือ Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM ที่กำหนดระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิด 100 ppm ซึ่งเป็นระดับความเข้มข้นสูงสุดที่ไม่ทำให้เนื้อไก่เปลี่ยนแปลงสี และล้างเป็นเวลา 30 นาทีไม่สามารถลดปริมาณเซลล์ *Salmonella* sp. ได้หมด แต่ถ้าทดลองศึกษาประสิทธิภาพของกรดเปอร์ออกซีแอซิดร่วมกับการล้างและการแช่เย็นเนื้อไก่ อาจทำให้ประสิทธิภาพของกรดเปอร์ออกซีแอซิดในการลดปริมาณ *Salmonella* sp. เพิ่มขึ้น

การล้างที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) จะเป็นการทำความสะอาดเบื้องต้น และกรดเปอร้ออกซีแอซิดก็มีประสิทธิภาพดีในการล้างที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) ส่วนการแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสนั้น นอกจากจะเป็นการนำความร้อนออกจากตัวไก่เพื่อเตรียมแช่เยือกแข็งเพื่อเป็นการประหยัดพลังงานความร้อนของกระบวนการแช่เยือกแข็งแล้ว การแช่เย็นยังช่วยรักษาคุณภาพของเนื้อไก่ และช่วยทำความสะอาด รวมถึงลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ได้ด้วย (สุภัทราพร, 2536) จากเหตุผลดังกล่าวจึงเลือกทำการศึกษการใช้สารผสมกรดเปอร้ออกซีแอซิดิก ทางการค้าทั้งสองชนิดคือ Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM ในขั้นตอนการล้างทำความสะอาด และการแช่เย็น โดยเลือกความเข้มข้นของกรดเปอร้ออกซีแอซิดิก 100 ppm ซึ่งเป็นความเข้มข้นสูงสุดที่ไม่ทำให้เนื้อไก่เปลี่ยนสี และเกิดกลิ่นผิดปกติ ล้างและแช่เย็นนาน 30 นาที การใช้กรดเปอร้ออกซีแอซิดิก 2 ขั้นตอนน่าจะเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพของกรดเปอร้ออกซีแอซิดิกในการทำลาย *Salmonella* sp. ได้ดีขึ้น

เมื่อเปรียบเทียบผลการใช้ Inspexx 100TM ในขั้นตอนการล้างและแช่เย็นไก่ เพื่อลดปริมาณเชื้อผสมระหว่าง *Salmonella* sp. 4 สายพันธุ์ ปริมาณเริ่มต้นประมาณ 4.00 log₁₀ CFUต่อกรัม ซึ่งประกอบด้วย *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 เพื่อเลียนแบบการปนเปื้อนของ *Salmonella* sp. ในธรรมชาติ และจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count) กับการล้างหรือแช่เย็นด้วย Inspexx 100TM เพียงอย่างเดียว พบว่า การใช้ Inspexx 100TM ในขั้นตอนการล้างรวมกับการแช่เย็นเนื้อไก่สามารถลดปริมาณ *Salmonella* sp. และจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดบนเนื้อไก่ได้ดีกว่าการล้างหรือแช่เย็นด้วย Inspexx 100TM เพียงอย่างเดียว โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) จากตารางที่ 38 ซึ่งเปรียบเทียบการล้างและแช่เย็นเนื้อไก่ที่สภาวะต่างกัน พบว่า เมื่อล้างและแช่เย็นเนื้อไก่ด้วยน้ำประปาฆ่าเชื้อเพียงอย่างเดียว จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดจะลดลง 0.53 log₁₀ CFUต่อกรัม ในขณะที่ปริมาณ *Salmonella* sp. ลดลงเพียง 0.26 log₁₀ CFUต่อกรัม หากเปลี่ยนวิธีการล้างโดยล้างด้วยสารผสมกรดเปอร้ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100TM) ความเข้มข้นของกรดเปอร้ออกซีแอซิดิก 100 ppm ในขั้นตอนการล้างเพียงอย่างเดียว และแช่เย็นด้วยน้ำประปา จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดจะลดลง 0.64 log₁₀ CFUต่อกรัม และปริมาณ *Salmonella* sp. ลดลง 0.47 log₁₀ CFUต่อกรัม เมื่อล้างด้วยน้ำประปาฆ่าเชื้อแล้ว และแช่เย็นด้วยสารผสมกรดเปอร้ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100TM) ความเข้มข้นของกรดเปอร้ออกซีแอซิดิก 100 ppm ทำให้จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดลดลง 0.54 log₁₀ CFUต่อกรัม และปริมาณ *Salmonella* sp. ลดลง 0.38 log₁₀ CFUต่อกรัม ซึ่งการล้างทั้ง 3 แบบนี้ ให้ผลการลดจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และปริมาณ *Salmonella* sp. แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ใน

ขณะที่เมื่อล้างและแช่เย็นเนื้อไก่ด้วย Inspexx 100TM ซึ่งกำหนดระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 100 ppm เป็นเวลา 30 นาที พบว่า จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดลดลง 1.63 log₁₀ CFUต่อกรัม และปริมาณ *Salmonella* sp. ลดลง 1.28 log₁₀ CFUต่อกรัม ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 31 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และปริมาณ *Salmonella* sp. ที่เหลืออยู่หลังจากการใช้กรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100TM) ในขั้นตอนการล้างและ/หรือ แช่เย็นเนื้อไก่

วิธีการล้าง	จำนวนจุลินทรีย์ที่เหลืออยู่ (log ₁₀ CFUต่อกรัม)	
	จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด	ปริมาณ <i>Salmonella</i> sp.
A	4.28 a (0.18) ¹	3.75 a (0.52)
B	3.73 b (0.08)	3.49 a (0.09)
C	3.64 b (0.45)	3.28 a (0.49)
D	3.74 b (0.05)	3.37 a (0.08)
E	2.65 c (0.08)	2.47 b (0.10)

หมายเหตุ

ตัวเลขที่กำกับด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแนวดิ่ง หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

¹ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน, n=4

A = ตัวอย่างควบคุม (ไม่ผ่านการล้างและแช่เย็น)

B = ล้างและแช่เย็น 30 นาทีด้วยน้ำประปาตลอดเชื้อ

C = ล้างด้วยกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 100 ppm 30 นาที แช่เย็นด้วยน้ำประปา 30 นาที

D = ล้างด้วยน้ำประปา 30 นาที แช่เย็นด้วยกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 100 ppm 30 นาที

E = ล้างด้วยกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 100 ppm 30 นาที และแช่เย็นด้วยกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 100 ppm นาน 30 นาที

เมื่อพิจารณาการใช้ Inspexx 200™ (ตารางที่ 31) ก็ให้ผลในทำนองเดียวกัน กล่าวคือ เมื่อใช้ Inspexx 200™ ในขั้นตอนการล้างร่วมกับการแช่เย็นเนื้อไก่ ให้ผลดีกว่าการใช้ Inspexx 200™ เพียงตอนใดขั้นตอนหนึ่ง และประสิทธิภาพในการการลดจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด รวมถึงการลดปริมาณ *Salmonella* sp. บนเนื้อไก่แต่ละวิธีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยเมื่อล้างและแช่เย็นเนื้อไก่ด้วยน้ำประปาปลอดเชื้อเพียงอย่างเดียว จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดจะลดลง 0.47 $\log_{10}$ CFUต่อกรัม ในขณะที่ปริมาณ *Salmonella* sp. ลดลง 0.38 $\log_{10}$ CFUต่อกรัม เมื่อเปลี่ยนเป็นการล้างด้วยกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกความเข้มข้น 100 ppm จาก Inspexx 200™ ในขั้นตอนการล้างและแช่เย็นด้วยน้ำประปา จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดลดลง 0.54 $\log_{10}$ CFUต่อกรัม และปริมาณ *Salmonella* sp. ลดลง 0.52 $\log_{10}$ CFUต่อกรัม เมื่อล้างด้วยน้ำประปาปลอดเชื้อ และแช่เย็นด้วยกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 100 ppm จาก Inspexx 100™ ทำให้จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดลดลง 0.61 $\log_{10}$ CFUต่อกรัม และปริมาณ *Salmonella* sp. ลดลง 0.52 $\log_{10}$ CFUต่อกรัม จากการทดลองทำให้ทราบว่า ผลการลดจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และปริมาณ *Salmonella* sp. ของการล้างทั้ง 3 แบบมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ในขณะที่ล้างและแช่เย็นเนื้อไก่ด้วยกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกความเข้มข้น 100 ppm ใน Inspexx 200™ เป็นเวลา 30 นาที พบว่า จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดลดลง 1.86 $\log_{10}$ CFUต่อกรัม และปริมาณ *Salmonella* sp. ลดลง 1.84 $\log_{10}$ CFUต่อกรัม ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) กับการล้างทั้ง 3 แบบข้างต้น

ภาพที่ 31 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของการล้างเนื้อไก่ด้วยสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า 2 ชนิดคือ Inspexx 100™ และ Inspexx 200™ วิธีต่างๆ คือ ล้างและแช่เย็น 30 นาที ด้วยน้ำประปาปลอดเชื้อ (B), ล้างด้วยกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกเข้มข้น 100 ppm 30 นาที และแช่เย็นด้วยน้ำประปาปลอดเชื้อ 30 นาที (C), ล้างด้วยน้ำประปาปลอดเชื้อ 30 นาที และแช่เย็นด้วยกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกเข้มข้น 100 ppm 30 นาที (D), และ ล้างด้วยกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ความเข้มข้น 100 ppm และแช่เย็นด้วยกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ความเข้มข้น 100 ppm 30 นาที (E) พบว่า วิธีการล้างแบบ E เป็นวิธีการล้างที่ให้ประสิทธิภาพดีที่สุดทั้งการใช้ Inspexx 100™ และ Inspexx 200™

ตารางที่ 32 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และปริมาณ *Salmonella* sp. ที่เหลืออยู่หลังจากการใช้กรดเปอร้ออกซีแอซิดิกในสารผสมกรดเปอร้ออกซีแอซิดิก (Inspexx 200™) ในขั้นตอนการล้างและ/หรือ แช่เย็นเนื้อไก่

วิธีการล้าง	จำนวนจุลินทรีย์ที่เหลืออยู่ ($\log_{10}$ CFUต่อกรัม)	
	จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด	ปริมาณ <i>Salmonella</i> sp.
A	4.50 a (0.15) ¹	4.11 a (0.07)
B	4.03 b (0.06)	3.73 b (0.18)
C	3.96 b (0.04)	3.59 b (0.36)
D	3.89 b (0.11)	3.59 b (0.12)
E	2.64 c (0.12)	2.27 c (0.06)

หมายเหตุ

ตัวเลขที่กำกับด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแนวดิ่ง หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

¹ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน, n=4

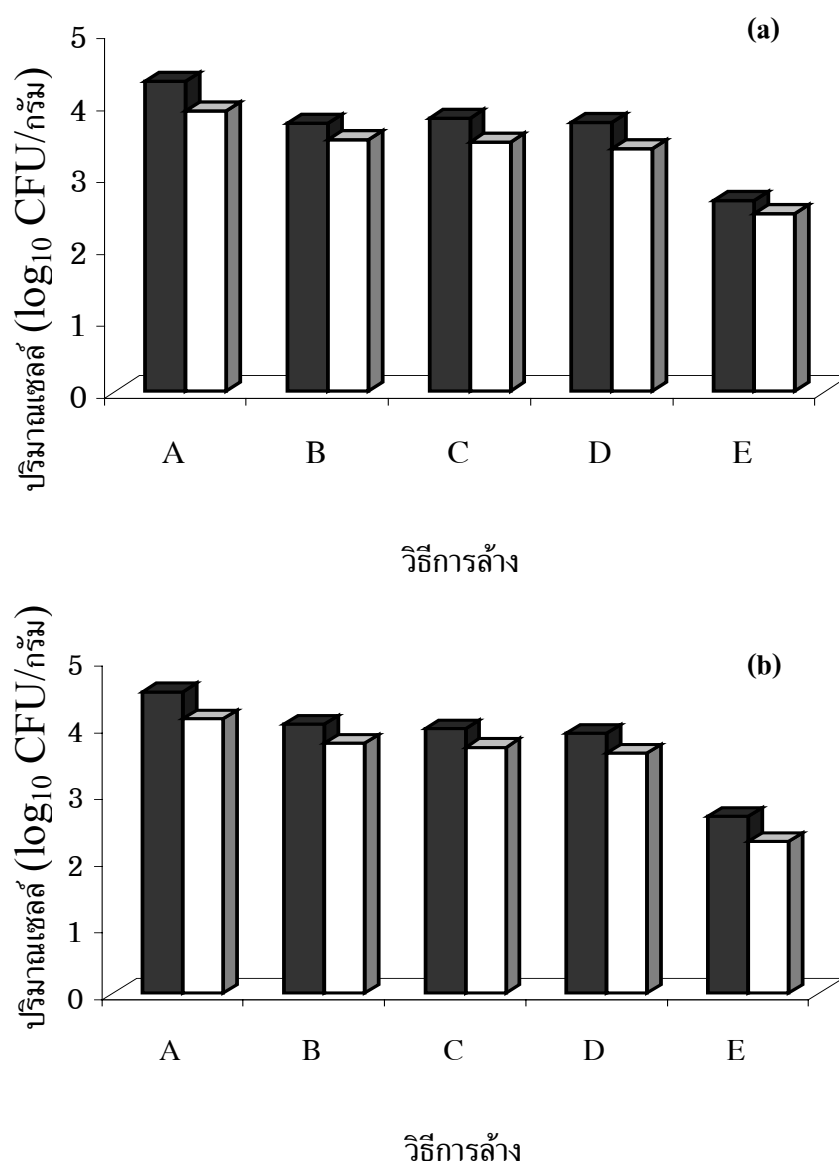
A = ตัวอย่างควบคุม (ไม่ผ่านการล้างและแช่เย็น)

B = ล้างและแช่เย็น 30 นาทีด้วยน้ำประปาตลอดเชื้อ

C = ล้างด้วยกรดเปอร้ออกซีแอซิดิก 100 ppm 30 นาที แช่เย็นด้วยน้ำประปา 30 นาที

D = ล้างด้วยน้ำประปา 30 นาที แช่เย็นด้วยกรดเปอร้ออกซีแอซิดิก 100 ppm 30 นาที

E = ล้างด้วยกรดเปอร้ออกซีแอซิดิก 100 ppm 30 นาที และแช่เย็นด้วยกรดเปอร้ออกซีแอซิดิก 100 ppm นาน 30 นาที



ภาพที่ 31 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (■) และ *Salmonella* sp. (□) ในเนื้อไก่ที่ลดลงหลังจากล้างด้วยกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก และ/หรือ แช่เย็นด้วยกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 100TM (a) และ Inspexx 200TM (b))

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์ใหญ่ ได้แก่ A, B, C, D และ E มีความหมายเหมือนกับตารางที่ 38 และ 39

ในกระบวนการผลิตไส้สดแช่เยือกแข็ง มีกระบวนการที่เรียกว่า “Multiple hurdle” ซึ่งเป็นเทคโนโลยีการผลิตที่มีการผสมผสานวิธีการลดจำนวนจุลินทรีย์หลายวิธีเข้าด้วยกัน (Leistner, 1995) เพื่อเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการทำลายจุลินทรีย์ให้มากขึ้น มีรายงานว่า การใช้ น้ำร้อน ไอ น้ำ และการปรับสภาพความกดดันอากาศร่วมกัน จะมีประสิทธิภาพมากขึ้นในการลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในกระบวนการฆ่าโค (Dorsa *et al.*, 1997) หรือการเพิ่มอุณหภูมิในน้ำล้างเนื้อ จะส่งเสริมประสิทธิภาพของกรดอินทรีย์ในการลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน (Cutter *et al.*, 1997) Graves Delmore *et al.* (1997) ศึกษาการลดปริมาณ *Escherichia coli* ที่ปนเปื้อนในเนื้อโคโดยล้างด้วยกรดแอซิดิก หลังจากการชำแหละเปิดซาก แล้วล้างด้วยน้ำร้อน จากนั้นล้างซ้ำอีกครั้งด้วยกรดแอซิดิก พบว่าสามารถลดปริมาณ *Escherichia coli* ได้ประมาณ $4.30 \log_{10}$ CFU ต่อตารางเซนติเมตรของขนาดเนื้อโคที่ชำแหละ นอกจากนั้น มีรายงานว่า การล้างเนื้อโคด้วย น้ำประปา ร่วมกับกรดแอซิดิก และล้างซ้ำด้วยน้ำประปา และน้ำร้อนอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสสามารถลดปริมาณ *Escherichia coli* ได้ประมาณ $2.80 \log_{10}$ CFU ต่อกรัม (Graves Delmore *et al.* 1997) ส่วนการล้างเนื้อโคด้วยน้ำร้อน และล้างซ้ำด้วยกรดแอซิดิก สามารถลดปริมาณ *Escherichia coli*, *S. Typhimurium*, และจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ได้ 1.10 , 1.80 , และ $1.50 \log_{10}$ CFU ต่อกรัม ตามลำดับ (Ellebracht *et al.*, 1999) สำหรับการล้าง และแช่เย็นเนื้อไก่โดยใช้ น้ำประปา สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ และสารละลาย Electrolyte water พบว่า สามารถลดจำนวน *Salmonella* sp. ได้ 0.74 , 1.41 , และ $1.36 \log_{10}$ CFU ต่อกรัม ตามลำดับ (Yang *et al.*, 1999)

จากที่กล่าวมาแล้วจึงสรุปได้ว่า การเติมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในขั้นตอนการล้างและแช่เย็นเนื้อไก่ เป็นวิธีการแปรรูปทำให้ประสิทธิภาพของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในการลดจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และปริมาณ *Salmonella* sp. ได้ดีกว่าการใช้กรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในขั้นตอนใดขั้นตอนหนึ่ง การผสมสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในน้ำล้าง และแช่เย็น จะช่วยลดปริมาณ จุลินทรีย์ได้ เพราะในทางปฏิบัติ ในน้ำอาจมีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์อื่นๆ อยู่แล้ว การเติมสารฆ่าเชื้อลงไปในน้ำจึงมีผลในการลดปริมาณจุลินทรีย์ได้ดีกว่าการใช้น้ำเพียงอย่างเดียว

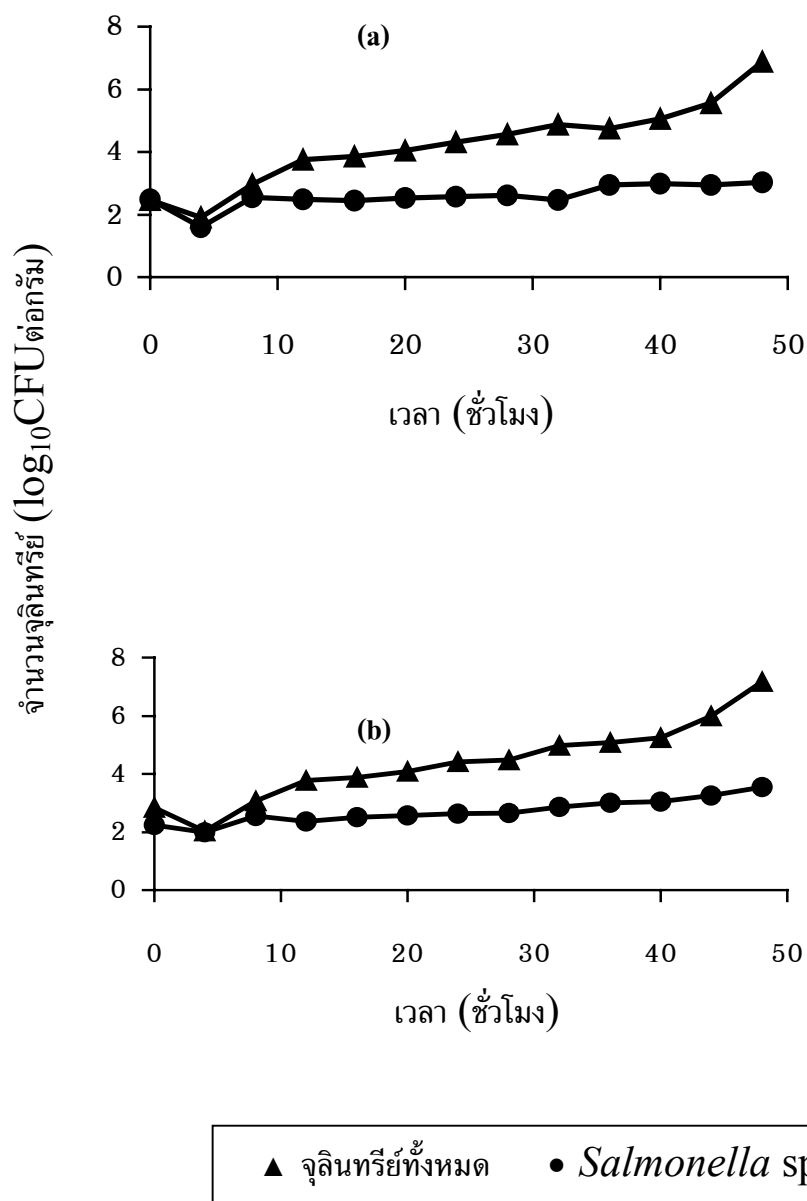
8. ผลของการล้างและแช่เย็นเนื้อไก่ด้วยสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM) ต่อการเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella* sp. ในระหว่างการเก็บรักษาเนื้อไก่แช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิต่างๆ

จากผลการทดลองในข้อที่ 8 ทำให้ทราบว่า เมื่อใช้สารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM) ในขั้นตอนการล้างและแช่เย็นเนื้อไก่ เป็นการช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในการลดจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella* sp. ซึ่งเป็นเชื้อผสมระหว่าง *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 ที่ปนเปื้อนบนเนื้อไก่ได้ดีกว่าการใช้สารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในขั้นตอนใดขั้นตอนหนึ่งเพียงอย่างเดียว จึงทำการศึกษาผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาเนื้อไก่แช่เยือกแข็งที่ผ่านการล้างและแช่เย็นด้วยสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทั้งสองชนิด (Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM) โดยล้างเนื้อไก่ที่มีการปนเปื้อนด้วยเชื้อธรรมชาติ และสร้างการปนเปื้อนด้วยเชื้อผสมระหว่าง *Salmonella* sp. 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* DMST 14922, และ *S. Virchow* NE 541 เพื่อเป็นการเลียนแบบการปนเปื้อนตามธรรมชาติ ด้วย Inspexx 100TM หรือ Inspexx 200TM กำหนดความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 100 ppm นาน 30 นาที และแช่เย็นด้วย Inspexx 100TM หรือ Inspexx 200TM ที่ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 100 ppm นาน 30 นาที เก็บเนื้อไก่ที่ผ่านกระบวนการแล้วในถุงพลาสติก แล้วปิดผนึกด้วยความร้อน นำไปแช่เยือกแข็งจนอุณหภูมิใจกลางของชิ้นเนื้อเท่ากับ -18 องศาเซลเซียส แล้วนำเนื้อไก่แช่เยือกแข็งไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ

8.1 การเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella* sp. ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

เนื้อไก่แช่เยือกแข็งที่ผ่านการล้าง และแช่เย็นด้วย Inspexx 100TM และเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) เมื่อนำเนื้อไก่มาตรวจจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella* sp. พบว่า การเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella* sp. ในระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 48 ชั่วโมงเป็นไปอย่างรวดเร็ว โดยจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดจะเพิ่มขึ้นจาก 2.45 เป็น 4.25 log₁₀ CFUต่อกรัม และเพิ่มขึ้นเป็น 6.78 CFUต่อกรัม ภายในเวลา 48 ชั่วโมง และที่เวลา 48 ชั่วโมงนี้เอง เนื้อไก่แช่เยือกแข็งเริ่มมีกลิ่น และมีสีเขียวคล้ำขึ้น สำหรับ *Salmonella* sp. มีปริมาณเพิ่ม

ขึ้นจาก 2.37 เป็น 2.56 $\log_{10}$ CFUต่อกรัม ภายในเวลา 24 ชั่วโมง และเพิ่มขึ้นเป็น 3.08 $\log_{10}$ CFUต่อกรัม ซึ่งจะเห็นว่าเพิ่มขึ้นน้อยกว่าการเพิ่มขึ้นของจำนวน จุลินทรีย์ทั้งหมด (ภาพที่ 32)



ภาพที่ 32 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella* sp. บนเนื้อไก่แช่เยือกแข็ง เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง; (a) ล้างและแช่เย็นด้วย Inspexx 100™, (b) ล้างและแช่เย็นด้วย Inspexx 200™

จากตารางที่ 40 พบว่า การเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) แต่ในชั่วโมงที่ 4 ของการเก็บรักษามีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดลดลงเล็กน้อย ซึ่งอาจเกิดมาจากการละลายของผลึกน้ำแข็ง และไปมีผลต่อเซลล์ของจุลินทรีย์เหล่านั้น ทำให้เกิดความเสียหายขึ้นในช่วงนี้ จึงทำให้ตรวจพบจำนวนจุลินทรีย์ลดลง แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อทิ้งเนื้อไก่ไว้ที่อุณหภูมิห้องต่อไป จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดจะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณ *Salmonella* sp. ที่เปลี่ยนแปลงไปแล้ว พบว่า ปริมาณ *Salmonella* sp. เปลี่ยนแปลงอย่างช้าๆ โดยจำนวนเซลล์ตั้งแต่เวลา 8 ชั่วโมง จนกระทั่งเวลา 32 ชั่วโมงมีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) และจะเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ที่เวลา 36 ชั่วโมง

สำหรับการเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella* sp. ของเนื้อไก่แช่เยือกแข็งที่ผ่านการล้างและแช่เย็นด้วย Inspexx 200™ เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) ให้ผลในทำนองเดียวกัน (ภาพที่ 32) กล่าวคือ เมื่อเก็บรักษาเนื้อไก่แช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิห้อง จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดจะเพิ่มขึ้นจาก 2.84 เป็น 4.41 $\log_{10}$ CFUต่อกรัม ภายในเวลา 24 ชั่วโมง และเพิ่มขึ้นเป็น 7.18 $\log_{10}$ CFUต่อกรัม ภายใน 48 ชั่วโมง สำหรับ *Salmonella* sp. นั้นเพิ่มขึ้นจาก 2.24 เป็น 2.63 $\log_{10}$ CFUต่อกรัม ภายในเวลา 24 ชั่วโมง และเพิ่มขึ้นเป็น 3.54 $\log_{10}$ CFUต่อกรัม ภายในเวลา 48 ชั่วโมง และที่เวลาการเก็บรักษา 48 ชั่วโมงนี้ จะสังเกตเห็นได้ว่าเนื้อไก่แช่เยือกแข็งเริ่มเน่า มีกลิ่นเหม็น และมีสีเขียวคล้ำขึ้น เช่นเดียวกับการล้างด้วย Inspexx 100™ พบว่าการเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 8 ของการเก็บรักษา และตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 48 ชั่วโมง จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดก็เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) สำหรับการเพิ่มขึ้นของ *Salmonella* sp. พบว่า ในช่วงเวลาการเก็บรักษา 0 ถึง 22 ชั่วโมงการเพิ่มขึ้นของ *Salmonella* sp. มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่ที่เวลา 24 ชั่วโมง ปริมาณ *Salmonella* sp. จะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) และจะเพิ่มขึ้นตลอดไปจนกระทั่งมีปริมาณสูงสุดเป็น 3.54 $\log_{10}$ CFUต่อกรัม ที่เวลา 48 ชั่วโมง

ตารางที่ 33 เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella* sp. บนเนื้อไก่ที่ผ่านการล้างและแช่เย็นด้วยสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

สารฆ่าเชื้อ	เชื้อจุลินทรีย์	จำนวนจุลินทรีย์ (log ₁₀ CFUต่อกรัม) ที่เวลา (ชั่วโมง) ระหว่างการเก็บรักษาเนื้อไก่แช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)												
		0	4	8	12	16	20	24	28	32	36	40	44	48
Inspexx 100 TM	จุลินทรีย์ทั้ง	2.47b	1.91a	2.96c	3.75d	3.85d	4.05e	4.31f	4.56g	4.87hi	4.74gh	5.06i	5.55j	6.88k
	หมด	(0.02) ¹	(0.08)	(0.02)	(0.02)	(0.01)	(0.04)	(0.07)	(0.05)	(0.11)	(0.31)	(0.07)	(0.14)	(0.12)
	<i>Salmonella</i> sp.	2.48b	1.60a	2.55b	2.48b	2.44b	2.53b	2.57b	2.61b	2.46b	2.94c	2.99c	2.94c	3.30d
		(0.12)	(0.21)	(0.06)	(0.02)	(0.08)	(0.06)	(0.02)	(0.07)	(0.01)	(0.05)	(0.02)	(0.08)	(0.34)
Inspexx 200 TM	จุลินทรีย์ทั้ง	2.84b	2.04a	3.07c	3.77d	3.87d	4.09e	4.41f	4.47f	4.97g	5.07g	5.25h	5.99i	7.18j
	หมด	(0.13)	(0.08)	(0.02)	(0.08)	(0.12)	(0.11)	(0.04)	(0.04)	(0.03)	(0.12)	(0.20)	(0.11)	(0.12)
	<i>Salmonella</i> sp.	2.24b	1.99a	2.54de	2.37bc	2.50cd	2.56de	2.63de	2.65e	2.87f	3.00fg	3.04h	3.26i	3.54j
		(0.14)	(0.03)	(0.13)	(0.06)	(0.14)	(0.03)	(0.08)	(0.18)	(0.02)	(0.01)	(0.03)	(0.02)	(0.02)

หมายเหตุ ¹ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน, n=3

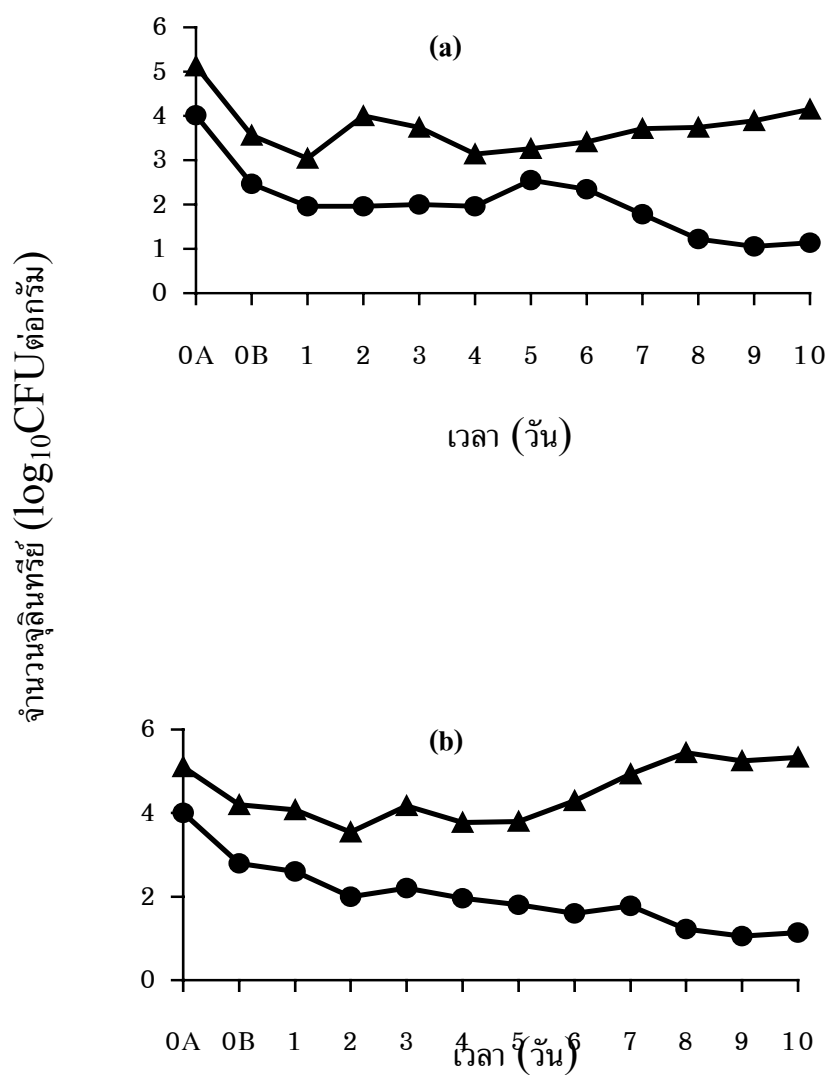
ตัวเลขที่กำกับด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแนวนอนหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

จากการทดลองสามารถสรุปได้ว่า การเก็บรักษาเนื้อไก่แช่เยือกแข็งที่ผ่านการล้าง และแช่เย็นด้วยสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM) ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 100 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) ไม่สามารถเก็บไว้ได้นานเกิน 48 ชั่วโมง เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดไปถึง 4.41 และ 4.34 log₁₀ CFUต่อกรัม เมื่อใช้ Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM ตามลำดับ แม้ว่าการเปลี่ยนแปลงของ *Salmonella* sp. จะเปลี่ยนแปลงไปเพียง 0.82 และ 1.30 log₁₀ CFUต่อกรัม ตามลำดับ และที่เวลา 48 ชั่วโมงนี้ เนื้อไก่แช่เยือกแข็งเริ่มเน่า และส่งกลิ่น รวมทั้งมีสีเขียวคล้ำขึ้น มีการสร้างเมือก และเกิดเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางกายภาพมากเกินที่จะยอมรับได้

8.2 การเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella* sp. ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็น (5±2 องศาเซลเซียส)

การเก็บรักษาเนื้อไก่แช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) อาจเป็นการช่วยยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อไก่แช่เยือกแข็งให้นานขึ้น ซึ่งจากการทดลองเก็บรักษาเนื้อไก่แช่เยือกแข็งที่ผ่านการล้างและแช่เย็นด้วยสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100TM) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าสามารถเก็บเนื้อไก่แช่เยือกแข็งได้นานถึง 7 วัน โดยคุณภาพของเนื้อไก่แช่เยือกแข็งยังเป็นที่ยอมรับได้ แต่หลังจากนั้นในวันที่ 8 ถึง วันที่ 10 ของการเก็บรักษา เนื้อไก่แช่เยือกแข็งเริ่มส่งกลิ่นเหม็น เนื้อมีลักษณะไม่แน่นแข็ง และเริ่มมีสีเข้มขึ้น เมื่อพิจารณาแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในระหว่างการเก็บรักษาพบว่า จำนวน จุลินทรีย์ทั้งหมดจะลดลงในวันที่ 1 ของการเก็บรักษา และเพิ่มขึ้นอีกในวันที่ 2 แต่จากนั้นจำนวน จุลินทรีย์จะลดลง จนกระทั่งวันที่ 5 ของการเก็บรักษา จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดจะเพิ่มขึ้นอีก และเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งวันที่ 10 ของการเก็บรักษา (ภาพที่ 33a) สำหรับการเปลี่ยนแปลงของ *Salmonella* sp. ให้ผลแตกต่างกัน โดย *Salmonella* sp. จะมีแนวโน้มคงที่ และเพิ่มขึ้นในวันที่ 5 ของการเก็บรักษา แต่หลังจากนั้นจะมีจำนวนลดลง เมื่อพิจารณาค่าการเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella* sp. ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็น (5±2 องศาเซลเซียส) พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดมีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ในวันที่ 2 และ 3 ของการเก็บรักษา โดยเพิ่มขึ้นจาก 3.56 เป็น 4.03 และ 3.84 log₁₀ CFUต่อกรัม ตามลำดับ ส่วนในวันที่ 4, 5, และ 6 ของการเก็บรักษา จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเมื่อเปรียบเทียบกับวันที่ 3 ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยลดลงเป็น 3.28, 3.28, และ 3.45 log₁₀ CFUต่อกรัม ตั้งแต่วันที่ 7 ของการเก็บรักษาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดจะเพิ่มขึ้นจากวันที่ 6 ของการเก็บรักษา เป็น 3.75 log₁₀ CFU

ต่อกรัม และในวันที่ 7 ของการเก็บรักษาจะสังเกตเห็นลักษณะผิดปกติของเนื้อไก่แช่เยือกแข็ง จาก
นั้นจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดจะ



▲ จุลินทรีย์ทั้งหมด • *Salmonella* sp.

ภาพที่ 33 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella* sp. บนเนื้อไก่แช่เยือกแข็ง เก็บรักษาที่อุณหภูมิ
ตู้เย็น (5 ± 2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 10 วัน; (a) ล้างและแช่เย็นด้วย Inspexx 100™, (b)
ล้างและแช่เย็นด้วย Inspexx 200™

หมายเหตุ 0A = เวลา (ชั่วโมง) ก่อนล้างและแช่เย็นด้วยสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก
0B = เวลา (ชั่วโมง) หลังแช่เยือกแข็งเนื้อไก่ที่ผ่านการล้างและแช่เย็นด้วยสารผสม
กรดเปอร์ออกซีแอซิดิก

เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) และเพิ่มขึ้นเป็น $4.24 \log_{10}$ CFUต่อกรัม ในวันที่ 10 ของ
การเก็บรักษา (ตารางที่ 41) ส่วนปริมาณ *Salmonella* sp. มีการเปลี่ยนแปลงแตกต่างกันอย่างไม่มีนัย
สำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ในระหว่างวันที่ 2, 3, และ 4 ของการเก็บรักษา และมีการเปลี่ยนแปลงเพิ่ม
ขึ้นเป็น $2.67 \log_{10}$ CFUต่อกรัม ในวันที่ 5 ของการเก็บรักษา ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัย
สำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) หลังจากนั้นจำนวน *Salmonella* sp. จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P
 ≤ 0.05) โดยลดลงจาก $2.67 \log_{10}$ CFUต่อกรัม ในวันที่ 5 ของการเก็บรักษาเป็น 2.37, 1.73, 1.25,
1.05, และ $1.17 \log_{10}$ CFUต่อกรัม ในวันที่ 6, 7, 8, 9, และ 10 ของการเก็บรักษา ตามลำดับ

สำหรับเนื้อไก่แช่เยือกแข็งที่ผ่านการล้างและแช่เย็นด้วย Inspexx 200™ ซึ่งกำหนด
ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 100 ppm พบว่า ให้ผลในการทำงานเดียวกัน กล่าวคือ
จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดจะเพิ่มขึ้นจาก 4.20 เป็น $5.70 \log_{10}$ CFUต่อกรัม ในวันที่ 10 ของการเก็บ
รักษา โดยแนวโน้มของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดจะลดลงในช่วง 2 วันแรกของการเก็บรักษา และ
หลังจากวันที่ 5 ของการเก็บรักษา จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดจะเพิ่มขึ้น สำหรับ *Salmonella* sp. มี
แนวโน้มลดลง โดยลดลงจาก 2.26 เป็น $1.22 \log_{10}$ CFUต่อกรัม ในวันที่ 10 ของการเก็บรักษา (รูปที่
33b) เมื่อพิจารณาค่าการเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดระหว่างการเก็บรักษาพบว่า จำนวนจุ
ลินทรีย์ทั้งหมดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเก็บรักษาเนื้อไก่แช่เยือกแข็งไว้ 5 วัน
หลังจากนั้นจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดจะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เป็น $4.38 \log_{10}$
CFUต่อกรัม ในวันที่ 6 และเพิ่มขึ้นเป็น $4.90 \log_{10}$ CFUต่อกรัม ซึ่งเป็นการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ
ทางสถิติ ($P \leq 0.05$) แต่หลังจากนั้นจำนวน จุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P >$
 0.05) ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 10 วันที่อุณหภูมิตู้เย็น (5 ± 2 องศาเซลเซียส) สำหรับค่าการ
เปลี่ยนแปลงของ *Salmonella* sp. พบว่า จำนวน *Salmonella* sp. เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P
 ≤ 0.05) จาก $2.26 \log_{10}$ CFUต่อกรัม เมื่อเริ่มเก็บรักษา (วันที่ 0) เป็น $2.71 \log_{10}$ CFUต่อกรัม ในวันที่
1 ของการเก็บรักษา แต่หลังจากนั้น จำนวน *Salmonella* sp. จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P

≤ 0.05) โดยลดลงเป็น $2.30 \log_{10}$ CFUต่อกรัม ในวันที่ 2 ของการเก็บรักษา และลดลงอย่างต่อเนื่องเรื่อยไปจนกระทั่งวันที่ 10 ของการเก็บรักษา ซึ่งสามารถตรวจพบ *Salmonella* sp. ได้เพียง $1.22 \log_{10}$ CFUต่อกรัม (ตารางที่ 33)

ตารางที่ 34 เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella* sp. บนเนื้อไก่ที่ผ่านการล้างและแช่เย็นด้วยสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็น (5±2 องศาเซลเซียส)

สารฆ่าเชื้อ	เชื้อจุลินทรีย์	จำนวนจุลินทรีย์ (log ₁₀ CFUต่อกรัม) ที่เวลา (วัน) ระหว่างการเก็บรักษาเนื้อไก่แช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิตู้เย็น (5±2 องศาเซลเซียส)										
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Inspexx 100 TM	จุลินทรีย์ทั้งหมด	3.56cd	3.06a	4.03g	3.84ef	3.28b	3.28b	3.45bc	3.75de	3.80ef	3.91ef	4.24h
		(0.26) ¹	(0.03)	(0.06)	(0.13)	(0.18)	(0.02)	(0.04)	(0.05)	(0.10)	(0.07)	(0.12)
	<i>Salmonella</i> sp.	2.51fg	1.80b	2.20cd	1.97bc	1.83b	2.67h	2.37de	1.73b	1.25a	1.05a	1.17a
		(0.06)	(0.27)	(0.18)	(0.03)	(0.14)	(0.26)	(0.25)	(0.10)	(0.10)	(0.03)	(0.01)
Inspexx 200 TM	จุลินทรีย์ทั้งหมด	4.20b	4.20b	3.68a	4.37b	3.75a	3.86b	4.38c	4.90d	5.54d	5.75d	5.70d
		(0.35)	(0.13)	(0.26)	(0.12)	(0.04)	(0.19)	(0.20)	(0.18)	(0.12)	(0.22)	(0.31)
	<i>Salmonella</i> sp.	2.26c	2.71d	2.30c	2.22c	1.65b	1.87b	1.67b	1.85b	1.31a	1.04a	1.22a
		(0.02)	(0.26)	(0.30)	(0.02)	(0.32)	(0.02)	(0.02)	(0.14)	(0.12)	(0.03)	(0.28)

หมายเหตุ

¹ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน, n=3

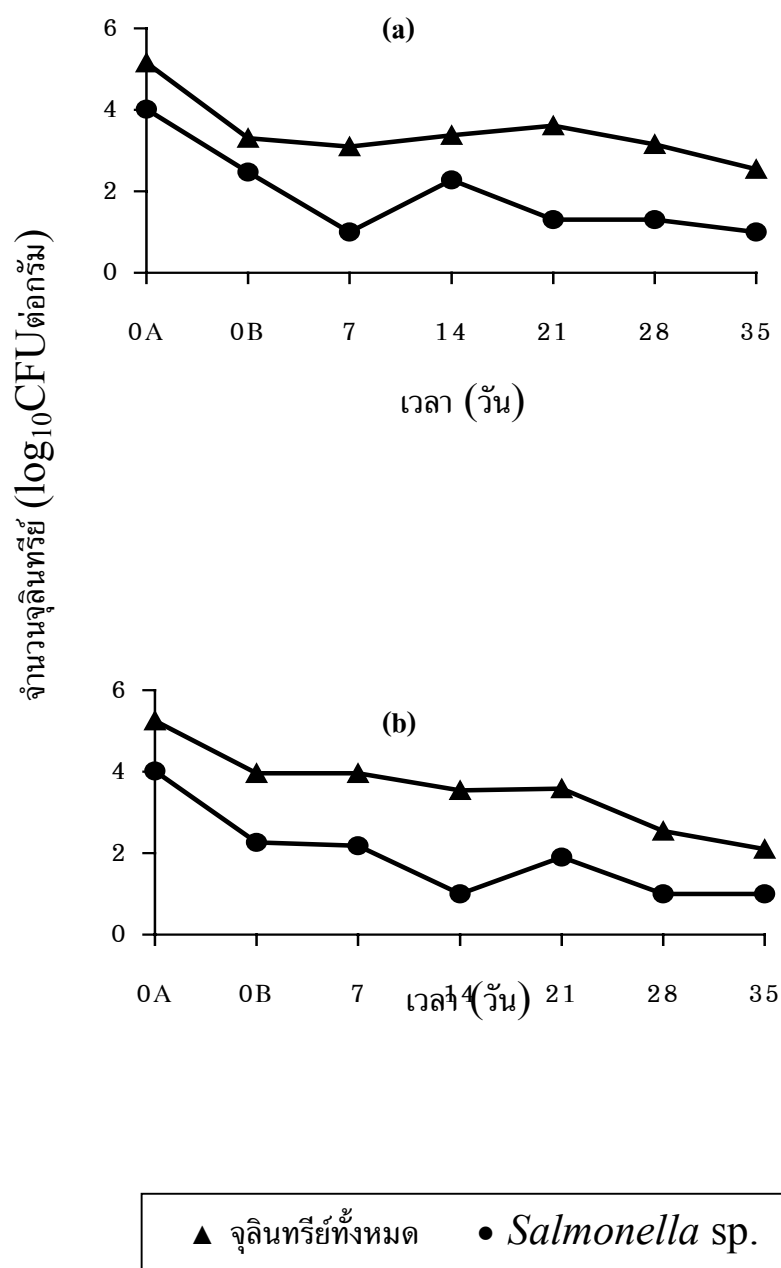
ตัวเลขที่กำกับด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแนวนอนหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

การเพิ่มขึ้นของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็น (5 ± 2 องศาเซลเซียส) คาดว่าอาจเกิดจากการเจริญเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์กลุ่ม psychotropic ซึ่งสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ (Bailey *et al.*, 2000) การศึกษาของ Bailey *et al.* (2000) รายงานว่า เนื้อไก่แช่เยือกแข็งที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่ม mesophilic โดยเพิ่มจำนวนจาก 4.62 เป็น 6.78 และ 6.63 $\log_{10}$ CFUต่อมิลลิลิตร เมื่อเก็บรักษาไว้ 7 และ 14 วัน ตามลำดับ ส่วนจุลินทรีย์กลุ่ม psychotropic เจริญเพิ่มขึ้นจาก 3.60 เป็น 7.47 และ 7.60 $\log_{10}$ CFUต่อมิลลิลิตร เมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 และ 14 วัน ตามลำดับ ในขณะที่ *Salmonella* sp. ไม่เพิ่มขึ้นเลย และการศึกษาของ วชิราภรณ์ (2545) รายงานว่า เมื่อเก็บรักษาผักกาดหอมซึ่งล้างด้วยสารละลาย TsunamiTM ซึ่งเป็นสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า โดยกำหนดระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 40 ppm และเก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็น (9 ± 2 องศาเซลเซียส) จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในวันที่ 10 ของการเก็บรักษา สำหรับการเก็บรักษาเนื้อไก่แช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิตู้เย็น (5 ± 2 องศาเซลเซียส) ไม่ส่งผลกระทบต่อจำนวน *Salmonella* sp. ปนเปื้อนในเนื้อไก่ ถึงแม้ว่า *Salmonella* sp. สามารถเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิ 2-54 องศาเซลเซียส แต่อย่างไรก็ตามมีรายงานว่า *Salmonella* sp. มีการเจริญที่อุณหภูมิต่ำกว่า 7 องศาเซลเซียสได้เฉพาะในอาหารเลี้ยงเชื้อ ไม่พบในอาหารจริงตามธรรมชาติ (Robinson *et al.*, 2000) การเก็บรักษาเนื้อไก่แช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิตู้เย็น (5 ± 2 องศาเซลเซียส) ซึ่งไม่ใช่อุณหภูมิปกติสำหรับการเจริญ และการตรวจพบการลดลงของ *Salmonella* sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD ซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อประเภท selective media จึงกล่าวได้ว่า อุณหภูมิตู้เย็น (5 ± 2 องศาเซลเซียส) ไม่เหมาะสมแก่การเจริญเติบโตของเซลล์ *Salmonella* sp. ที่บาดเจ็บเนื่องจากสารฆ่าเชื้อ

8.3 การเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella* sp. ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้แช่แข็ง (-2 ± 2 องศาเซลเซียส)

จากภาพ 34a ซึ่งแสดงแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดและ *Salmonella* sp. บนเนื้อไก่ซึ่งผ่านการล้างและแช่เย็นด้วยสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก Inspexx 100TM พบว่า จำนวนจุลินทรีย์มีแนวโน้มลดลงเล็กน้อย โดยในวันที่ 35 ของการเก็บรักษา จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดลดลงจาก 3.30 เหลืออยู่ 2.54 $\log_{10}$ CFUต่อกรัม อย่างไรก็ตามในวันที่ 21 ของการเก็บรักษาสังเกตพบว่ามีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นเล็กน้อย สำหรับ *Salmonella* sp. มีแนวโน้มลดลงเช่นกัน โดยในวันที่ 35 ของการเก็บรักษา จำนวน *Salmonella* sp. ลดลงจาก 2.47 เหลืออยู่เพียง 1.00 $\log_{10}$ CFUต่อกรัม ในวันที่ 14 พบว่ามีจำนวน *Salmonella* sp. เพิ่มขึ้นเล็กน้อยโดยมี

จำนวนเพิ่มขึ้นเป็น $2.28 \log_{10}$ CFUต่อกรัม แต่อย่างไรก็ตามการเพิ่มของจำนวน *Salmonella* sp. ในวันที่ 14 ของการเก็บรักษานี้ยังน้อยกว่าจำนวน *Salmonella* sp. ใน



ภาพที่ 34 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella* sp. บนเนื้อไก่แช่เยือกแข็ง เก็บรักษาที่อุณหภูมิ
ตู้แช่แข็ง (-2±2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 35 วัน; (a) ล้างและแช่เย็นด้วย Inspexx 100™,
(b) ล้างและแช่เย็นด้วย Inspexx 200™

หมายเหตุ 0A = เวลา (ชั่วโมง) ก่อนล้างและแช่เย็นด้วยสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก
0B = เวลา (ชั่วโมง) หลังแช่เยือกแข็งเนื้อไก่ที่ผ่านการล้างและแช่เย็นด้วยสารผสม
กรดเปอร์ออกซีแอซิดิก

วันเริ่มต้นของการเก็บรักษา (0B) การเก็บรักษาเนื้อไก่แช่เยือกแข็งที่ผ่านการล้างและแช่เย็นด้วยสาร
ผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก Inspexx 100™ สามารถเก็บได้นานกว่า 35 วัน โดยวันที่ 35 ของการ
เก็บรักษา เนื้อไก่แช่เยือกแข็งไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางด้านกายภาพ สีเนื้อไม่เปลี่ยนแปลง และไม่มี
กลิ่นผิดปกติเกิดขึ้น รวมถึงไม่มีการสร้างเมือก

เมื่อพิจารณาค่าการเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella* sp. (ตา
รางที่ 42) พบว่า ในระหว่าง 7 ถึง 14 วันของการเก็บรักษา จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเปลี่ยนแปลงไป
อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ส่วนในวันที่ 21 ของการเก็บรักษาจำนวนมีการเปลี่ยนแปลง
ของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดไปเป็น $3.62 \log_{10}$ CFUต่อกรัม ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงลดลงอย่างมีนัย
สำคัญทางสถิติ ($P\leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในวันที่ 7 ของการเก็บรักษา
และในวันที่ 28 และ 35 ของการเก็บรักษา จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดจะเหลืออยู่ 3.15 และ $2.54 \log_{10}$
CFUต่อกรัม ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq 0.05$) สำหรับ *Salmonella*
sp. มีปริมาณเปลี่ยนแปลงลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P\leq 0.05$) เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 7 วัน แต่ในวันที่
14 จำนวน *Salmonella* sp. เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับวันที่ 7
ของการเก็บรักษา แต่เป็นการเพิ่มขึ้นของจำนวน *Salmonella* sp. อย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P>0.05$) หาก
เปรียบเทียบกับวันแรกก่อนการเก็บรักษา (0B) และหลังจากนี้จำนวน *Salmonella* sp. จะเปลี่ยน
แปลงลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq 0.05$) โดยมีจำนวนลดลงเป็น 1.30, 1.30, และ $1.00 \log_{10}$
CFUต่อกรัม ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 21, 28, และ 35 วัน ตามลำดับ

การเก็บรักษาเนื้อไก่แช่เยือกแข็งที่ผ่านการล้างและแช่เย็นด้วย Inspexx 200™ ในตู้แช่
แข็ง พบว่า จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดมีแนวโน้มลดลงตลอดอายุการเก็บรักษา โดยลดลงจาก 3.96
เป็น $2.10 \log_{10}$ CFUต่อกรัม ภายใน 35 วันของการเก็บรักษา สำหรับ *Salmonella* sp. ก็ให้ผลใน
ทำนองเดียวกัน กล่าวคือ จำนวน *Salmonella* sp. มีแนวโน้มลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา

โดยที่เวลา 35 วันของการเก็บรักษา จำนวน *Salmonella* sp. ลดลงจาก 2.27 เป็น 1.00 log₁₀ CFUต่อกรัม อย่างไรก็ตามมีการเจริญเพิ่มขึ้นเล็กน้อยของจำนวน *Salmonella* sp. ในวันที่ 21 ของการเก็บรักษา โดยเพิ่มขึ้นจากวันที่ 14 ของการเก็บรักษา ประมาณ 0.90 log₁₀ CFUต่อกรัม (ภาพที่ 34b) ถึงแม้จะมีการเพิ่มของ *Salmonella* sp. แต่จำนวนที่เพิ่มขึ้นนี้ ไม่มากเกินไปกว่าจำนวน *Salmonella* sp. ก่อนการเก็บรักษา (0B)

เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบค่าการเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดของเนื้อไก่แช่เยือกแข็งที่ผ่านการล้างด้วยสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก Inspexx 200™ (ตารางที่ 34) พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ตลอดระยะเวลาการเก็บ

ตารางที่ 35 เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella* sp. บนเนื้อไก่ที่ผ่านการล้างและแช่เย็นด้วยสารผสมกรดเปอร์ออกซีเอซิดิก (Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้แช่แข็ง (-2±2 องศาเซลเซียส)

สารฆ่าเชื้อ	เชื้อจุลินทรีย์	จำนวนจุลินทรีย์ (log ₁₀ CFUต่อกรัม) ที่เวลา (วัน) ในการเก็บรักษาเนื้อไก่แช่แข็งที่อุณหภูมิตู้แช่แข็ง (-2±2 องศาเซลเซียส)					
		0	7	14	21	28	35
Inspexx 100 TM	จุลินทรีย์ทั้งหมด	3.30b	3.10b	3.37bc	3.62c	3.15b	2.54a
		(0.07) ¹	(0.45)	(0.04)	(0.04)	(0.04)	(0.10)
	<i>Salmonella</i> sp.	2.47c	1.00a	2.28c	1.30b	1.30b	1.00a
		(0.11)	(0.03)	(0.24)	(0.12)	(0.13)	(0.38)
Inspexx 200 TM	จุลินทรีย์ทั้งหมด	3.96c	3.96c	3.54c	3.58c	2.54b	2.10a
		(0.06)	(0.03)	(0.13)	(0.11)	(0.44)	(0.37)
	<i>Salmonella</i> sp.	2.27c	2.18bc	1.00a	1.90b	1.00a	1.00a
		(0.10)	(0.26)	(0.02)	(0.35)	(0.31)	(0.05)

หมายเหตุ ¹ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน, n=3

ตัวเลขที่กำกับด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันเหมือนกันในแนวนอนหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤0.05)

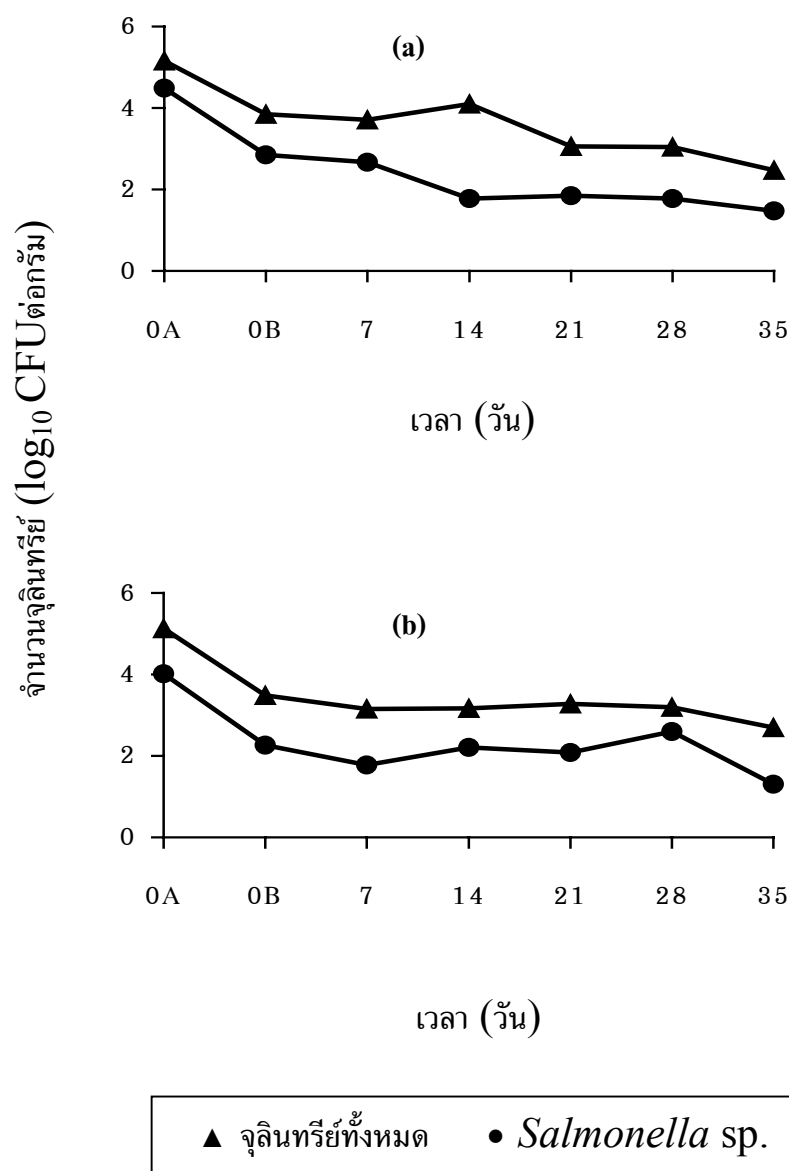
รักษา (35 วัน) โดยจำนวนจุลินทรีย์ที่ 0, 7, 14, และ 21 วันของการเก็บรักษา ซึ่งมีจำนวน จุลินท รีย์ทั้งหมด 3.96, 3.96, 3.54, และ 3.58 $\log_{10}$ CFUต่อกรัม ตามลำดับ ซึ่งเปลี่ยนแปลงไปอย่างไม่มีนัย สำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) หลังจากนั้นจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเริ่มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ส่วนจำนวน *Salmonella* sp. ลดลงจาก 2.27 เป็น 2.18 และ 1.00 $\log_{10}$ CFUต่อกรัม ที่เวลา 7 และ 14 วันของการเก็บรักษา ซึ่งการลดลงที่เวลา 14 วันของการ เก็บรักษา เป็นการลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ในวันที่ 21 ของการเก็บรักษา จำนวน *Salmonella* sp. เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวน *Salmonella* sp. ที่เวลา 14 วันของการเก็บรักษา แต่อย่างไรก็ตามยังคงน้อยกว่าจำนวน *Salmonella* sp. ที่เวลาเริ่ม ต้นของการเก็บรักษาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) หลังจากวันที่ 21 ของการเก็บรักษา จำนวน *Salmonella* sp. จะลดลง จนมีจำนวนเหลืออยู่เพียง 1.00 $\log_{10}$ CFUต่อกรัม ซึ่งลดลงจากวัน แรกของการเก็บรักษาถึง 1.27 $\log_{10}$ CFUต่อกรัม

8.4 การเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella* sp. ในระหว่างการเก็บรักษา ที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส

เมื่อเก็บรักษาเนื้อไก่แช่เยือกแข็งที่ผ่านการล้างและแช่เย็นด้วย Inspexx 100™ ความ เข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 100 ppm ไว้ที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส พบว่า จำนวนจุลินท รีย์ทั้งหมดมีแนวโน้มลดลง โดยลดลงจาก 3.85 $\log_{10}$ CFUต่อกรัม ในวันแรกของการเก็บรักษา เหลือเพียง 2.48 $\log_{10}$ CFUต่อกรัม ในวันที่ 35 ของการเก็บรักษา สำหรับ *Salmonella* sp. ลดลงจาก 2.85 $\log_{10}$ CFUต่อกรัม ในวันแรกของการเก็บรักษา เหลือเพียง 1.48 $\log_{10}$ CFUต่อกรัม ในวันที่ 35 ของการเก็บรักษา (ภาพที่ 35a) การเก็บรักษาเนื้อไก่แช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส นอก จากไม่ทำให้จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella* sp. เพิ่มขึ้น ยังไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง ทางกายภาพของเนื้อไก่แช่เยือกแข็ง กล่าวคือ เนื้อไก่ไม่เปลี่ยนสี ไม่มีกลิ่นผิดปกติ เนื้อไก่อยังคง สภาพดี ไม่มีเมือก จากผลการทดลองตรวจพบว่าจำนวน *Salmonella* sp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD ซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด selective media ได้ลดลง แสดงให้เห็นว่าไม่มีการคืนสภาพของเซลล์ बादเจ็บภายใต้สภาวะการเก็บรักษา -18 องศาเซลเซียส นาน 35 วัน

เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบค่าการเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella* sp. พบว่า จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดมีการเปลี่ยนแปลงลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P

≤ 0.05) ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาเนื้อไก่แช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -18°C องศาเซลเซียสเป็นเวลา 35 วัน โดยเมื่อเริ่มต้นการเก็บรักษา (วันที่ 0) เนื้อไก่แช่เยือกแข็งมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด



ภาพที่ 35 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella* sp. บนเนื้อไก่แช่เยือกแข็ง เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18°C องศาเซลเซียส เป็นเวลา 35 วัน; (a) ด้างและแช่เย็นด้วย Inspexx 100TM, (b) ด้างและแช่เย็นด้วย Inspexx 200TM

หมายเหตุ OA = เวลา (ชั่วโมง) ก่อนล้างและแช่เย็นด้วยสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก
OB = เวลา (ชั่วโมง) หลังแช่เยือกแข็งเนื้อไก่ที่ผ่านการล้างและแช่เย็นด้วยสารผสม
กรดเปอร์ออกซีแอซิดิก

3.85 log₁₀ CFUต่อกรัม และเพิ่มขึ้นอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เป็น 4.03, และ 4.10 log₁₀ CFUต่อกรัม เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 7, และ 14 ตามลำดับ หลังจากนั้นมีการลดลงของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq 0.05$) เป็น 3.06 log₁₀ CFUต่อกรัม เมื่อเก็บรักษานาน 21 วัน และลดลงเป็น 3.04 log₁₀ CFUต่อกรัม เมื่อเก็บรักษาไว้ 28 วัน จนกระทั่งเหลือ 2.48 log₁₀ CFUต่อกรัม เมื่อเก็บรักษาไว้ 35 วัน สำหรับ *Salmonella* sp. พบว่า วันที่ 7 ของการเก็บรักษา มีจำนวน *Salmonella* sp. ลดลงจาก 2.85 เป็น 2.67 log₁₀ CFUต่อกรัม ซึ่งเป็นการลดลงอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ส่วนในวันที่ 14 ของการเก็บรักษา จำนวน *Salmonella* sp. ลดลงเหลือ 1.78 log₁₀ CFUต่อกรัม ซึ่งเปลี่ยนแปลงไปจากวันที่ 7 ของการเก็บรักษาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq 0.05$) หลังจากนั้นจำนวน *Salmonella* sp. ก็เปลี่ยนแปลงไปอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) จนกระทั่งวันที่ 35 ของการเก็บรักษา ปรากฏว่า *Salmonella* sp. เหลืออยู่เพียง 1.48 log₁₀ CFUต่อกรัม (ตารางที่ 43)

สำหรับการเก็บรักษาเนื้อไก่แช่เยือกแข็งซึ่งผ่านการล้างและแช่เย็นด้วยสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก Inspexx 200™ ที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส พบว่าให้ผลในทำนองเดียวกันโดยภาพที่ 35b แสดงแนวโน้มของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella* sp. ที่เปลี่ยนแปลงไประหว่างการเก็บรักษาเนื้อไก่แช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดมีแนวโน้มลดลง จาก 3.48 log₁₀ CFUต่อกรัม ในวันแรกที่เริ่มเก็บรักษาเหลืออยู่ 2.70 log₁₀ CFUต่อกรัม ในวันที่ 35 ของการเก็บรักษา เช่นกันสำหรับ *Salmonella* sp. มีแนวโน้มลดลง โดยลดลงจาก 2.27 เหลืออยู่ 1.30 log₁₀ CFUต่อกรัม ในวันที่ 35 ของการเก็บรักษา ในช่วงวันที่ 14, 21, และ 28 พบว่าจำนวน *Salmonella* sp. เพิ่มขึ้น ซึ่งการเพิ่มขึ้นของ *Salmonella* sp. ในช่วงนี้อาจเกิดมาจากจำนวนเชื้อที่ติดอยู่บนเนื้อไก่ไม่เท่ากันตั้งแต่เริ่มทำการทดลอง แต่อย่างไรก็ตาม จำนวน *Salmonella* sp. ที่เพิ่มขึ้นนี้ ไม่ได้สูงมากเกินไปจนเป็นที่สังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 35 วัน กลับพบว่าจำนวน *Salmonella* sp. มีแนวโน้มลดลง จากผลการทดลองพบว่า เนื้อไก่ที่ผ่านการล้างและแช่เย็นด้วย Inspexx 200™ สามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียสได้นานมากกว่า 35 วัน โดยไม่พบการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพจนไม่สามารถยอมรับได้ของเนื้อไก่แช่เยือกแข็งที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิดังกล่าว

จากตารางที่ 35 เมื่อพิจารณาค่าการเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดของเนื้อไก่แช่เยือกแข็ง ซึ่งผ่านการล้างและแช่เย็นด้วย Inspexx 200TM พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดมีการเปลี่ยนแปลงอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ตั้งแต่วันแรกของการเก็บรักษาจนกระทั่งวันที่ 28 ของการเก็บรักษา โดยจำนวนจุลินทรีย์จะเปลี่ยนแปลงจาก 3.48, 3.15, 3.16, 3.28, และ 3.19 $\log_{10}$ CFUต่อกรัม ที่เวลาการเก็บรักษา 0, 7, 14, 21, และ 28 วัน ตามลำดับ แต่

ตารางที่ 36 เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella* sp. บนเนื้อไก่ที่ผ่านการล้างและแช่เย็นด้วยสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส

สารฆ่าเชื้อ	เชื้อจุลินทรีย์	จำนวนจุลินทรีย์ (log ₁₀ CFUต่อกรัม) ที่เวลา (วัน) ระหว่างการเก็บรักษาเนื้อไก่แช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส					
		0	7	14	21	28	35
Inspexx 100 TM	จุลินทรีย์ทั้งหมด	3.85c	4.03c	4.10c	3.06b	3.04b	2.48a
		(0.14) ¹	(0.46)	(0.10)	(0.08)	(0.15)	(0.11)
	<i>Salmonella</i> sp.	2.85b	2.67b	1.78a	1.85a	1.78a	1.48a
		(0.60)	(0.36)	(0.52)	(0.17)	(0.22)	(0.22)
Inspexx 200 TM	จุลินทรีย์ทั้งหมด	3.48b	3.15b	3.16b	3.28b	3.19b	2.70a
		(0.33)	(0.16)	(0.02)	(0.26)	(0.07)	(0.13)
	<i>Salmonella</i> sp.	2.27c	1.78b	2.20c	2.08c	2.59d	1.30a
		(0.23)	(0.08)	(0.06)	(0.06)	(0.12)	(0.06)

หมายเหตุ ¹ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน, n=3

ตัวเลขที่กำกับด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแนวนอนหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

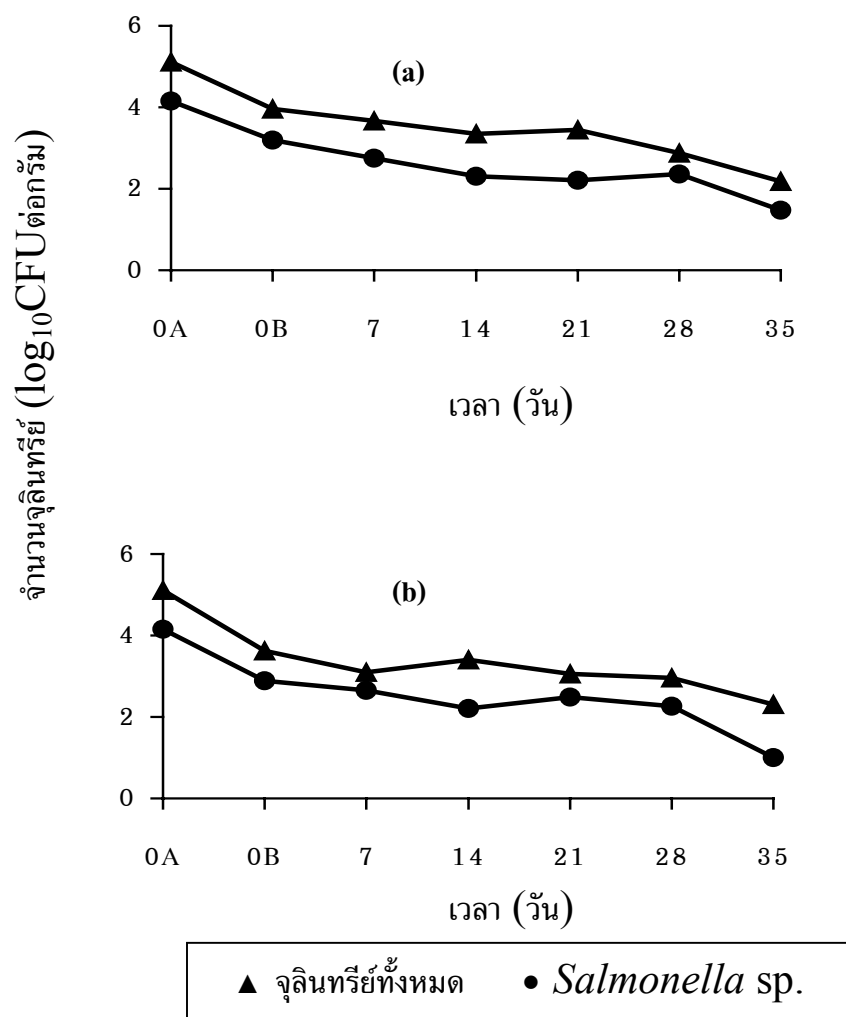
สำหรับวันที่ 35 ของการเก็บรักษา จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เหลือ $2.70 \log_{10}$ CFUต่อกรัม สำหรับ *Salmonella* sp. มีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ตั้งแต่วันที่ 14 ของการเก็บรักษา แต่เมื่อผ่านไป 35 วัน พบว่า จำนวน *Salmonella* sp. ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยมีจำนวนเหลืออยู่เพียง $1.30 \log_{10}$ CFU ต่อกรัม

เปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Bailey *et al.* (2000) พบว่าให้ผลในทำนองเดียวกัน กล่าวคือ เมื่อเก็บเนื้อไก่แช่เยือกแข็งไว้ที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส ไม่พบการเจริญเพิ่มขึ้นของ จุลินทรีย์ทั้งกลุ่ม Mesophilic, Psychrotropic, Coliforms bacteria, และ *Salmonella* sp.

8.5 การเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella* sp. ในระหว่างการเก็บรักษา ที่อุณหภูมิ -30 องศาเซลเซียส

การเก็บรักษาเนื้อไก่แช่เยือกแข็งซึ่งผ่านการล้างและแช่เย็นด้วย Inspexx 100™ ซึ่งกำหนดระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซีติก 100 ppm ที่อุณหภูมิ -30 องศาเซลเซียส พบว่าทั้งจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella* sp. มีแนวโน้มลดลง โดยจำนวน จุลินทรีย์ทั้งหมด ลดลงจาก $3.96 \log_{10}$ CFUต่อกรัม ในวันแรกของการเก็บรักษา เหลือ $2.18 \log_{10}$ CFUต่อกรัม ในวันที่ 35 ของการเก็บรักษา และ *Salmonella* sp. ลดลงจาก $3.20 \log_{10}$ CFUต่อกรัม ในวันแรก เหลืออยู่เพียง $1.48 \log_{10}$ CFUต่อกรัม ในวันที่ 35 ของการเก็บรักษา (ภาพที่ 36a) ซึ่งจากการตรวจสอบลักษณะทางกายภาพของเนื้อไก่แช่เยือกแข็งพบ ไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพจนเป็นที่สังเกตเห็นได้ชัดเจน เนื้อไก่ไม่เปลี่ยนสี ไม่มีกลิ่นผิดปกติ และไม่มีเมือก

เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบค่าการเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella* sp. ระหว่างการเก็บรักษาเนื้อไก่แช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -30°C องศาเซลเซียส เป็นเวลา 35 วัน (ตารางที่ 36) พบว่า จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) สำหรับการเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดระหว่างวันที่ 14 และ วันที่ 21 ของการเก็บรักษา พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่อย่างไรก็ตาม ที่เวลา 28 วัน และ 21 วันของการเก็บรักษา จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดมีการเปลี่ยนแปลงลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) สำหรับการเปลี่ยนแปลงของ *Salmonella* sp. พบว่า มีการเปลี่ยนแปลงลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เช่นกัน แต่ในระหว่างวันที่ 14 ถึง วันที่ 28 ของการเก็บรักษา พบว่าการเปลี่ยนแปลงของ *Salmonella* sp. ในเนื้อไก่แช่เยือกแข็ง แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) และเปลี่ยนแปลงลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ในวันที่ 35 ของการเก็บรักษา



ภาพที่ 36 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella* sp. บนเนื้อไก่แช่เยือกแข็ง เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 35 วัน; (a) ล้างและแช่เย็นด้วย Inspexx 100™, (b) ล้างและแช่เย็นด้วย Inspexx 200™

หมายเหตุ 0A = เวลา (ชั่วโมง) ก่อนล้างและแช่เย็นด้วยสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก

0B = เวลา (ชั่วโมง) หลังแช่เยือกแข็งเนื้อไก่ที่ผ่านการล้างและแช่เย็นด้วยสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก

ตารางที่ 37 เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella* sp. บนเนื้อไก่ที่ผ่านการล้างและแช่เย็นด้วยสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -30 องศาเซลเซียส

สารฆ่าเชื้อ	เชื้อจุลินทรีย์	จำนวนจุลินทรีย์ (log ₁₀ CFUต่อกรัม) ที่เวลา (วัน) ระหว่างการเก็บรักษาเนื้อไก่แช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -30 องศาเซลเซียส					
		0	7	14	21	28	35
Inspexx 100 TM	จุลินทรีย์ทั้งหมด	3.96e	3.66cd	3.35c	3.44c	2.88b	2.18a
		(0.15) ¹	(0.26)	(0.29)	(0.07)	(0.41)	(0.02)
	<i>Salmonella</i> sp.	3.20d	2.75cd	2.30bc	2.20b	2.36bc	1.48a
		(0.11)	(0.24)	(0.31)	(0.11)	(0.26)	(0.39)
Inspexx 200 TM	จุลินทรีย์ทั้งหมด	3.63d	3.10b	3.40c	3.06b	2.95b	2.30a
		(0.12)	(0.12)	(0.12)	(0.03)	(0.05)	(0.17)
	<i>Salmonella</i> sp.	2.89bc	2.65bc	2.20ab	2.48ab	2.26ab	1.00a
		(0.16)	(0.34)	(0.12)	(2.07)	(0.10)	(0.05)

หมายเหตุ ¹ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน, n=3

ตัวเลขที่กำกับด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแนวนอนหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

การศึกษาการเก็บรักษาเนื้อไก่แช่เยือกแข็งซึ่งผ่านการล้างและแช่เย็นด้วย Inspexx 200™ ที่อุณหภูมิ -30 องศาเซลเซียส พบว่าให้ผลในการทำงานเดียวกันกับการใช้ Inspexx 100™ จากภาพที่ 36b ซึ่งแสดงแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella* sp. บนเนื้อไก่ที่ผ่านการล้างและแช่เย็นด้วย Inspexx 200™ และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -30 องศาเซลเซียส พบว่า จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดมีแนวโน้ม ลดลงอย่างต่อเนื่อง โดยลดลงจาก 3.63 เหลือ 2.30 log₁₀ CFUต่อกรัม ในวันที่ 35 ของการเก็บรักษา ส่วน *Salmonella* sp. มีแนวโน้มเป็นไปในทางเดียวกัน คือ จำนวน *Salmonella* sp. มีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่อง ก็ลดลงจาก 2.89 เหลือ 1.00 log₁₀ CFUต่อกรัม ในวันที่ 35 ของการเก็บรักษา โดยในวันที่ 35 ของการเก็บรักษา เนื้อไก่แช่เยือกแข็งยังไม่มีเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ สีไม่เปลี่ยน ไม่มีกลิ่นเหม็น และไม่มีเมือก

เมื่อพิจารณาค่าการเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella* sp. (ตารางที่ 44) บนเนื้อไก่แช่เยือกแข็งซึ่งผ่านการล้างและแช่เย็นด้วย Inspexx 200™ และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -30 องศาเซลเซียส พบว่า จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเปลี่ยนแปลงลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 7 วัน ส่วนในวันที่ 14 จำนวนจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นจากวันที่ 7 ทั้งสิ้น 0.3 log₁₀ CFUต่อกรัม ซึ่งเป็นการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) หลังจากนั้น ในวันที่ 21 ของการเก็บรักษา ตรวจจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดได้ 3.06 log₁₀ CFUต่อกรัม ซึ่งเปลี่ยนแปลงลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) และจะลดลงเหลือ 2.30 log₁₀ CFUต่อกรัม ในวันที่ 35 ของการเก็บรักษา ซึ่งลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อพิจารณาจำนวน *Salmonella* sp. พบว่า ในช่วงเวลาระหว่างวันแรกของการเก็บรักษา จนกระทั่งถึงวันที่ 28 ของการเก็บรักษา การเปลี่ยนแปลงของ *Salmonella* sp. แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่สำหรับวันที่ 35 ของการเก็บรักษาพบว่า จำนวน *Salmonella* sp. ลดลงเหลือ 1.00 log₁₀ CFUต่อกรัม ซึ่งลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

จากผลการทดลองเก็บรักษาเนื้อไก่ซึ่งผ่านการล้างและแช่เย็นด้วยสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100™ และ Inspexx 200™) พบว่าสามารถเก็บเนื้อไก่แช่เยือกแข็งไว้ได้นานถึง 35 วันหากเก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้แช่แข็ง (-2±2 องศาเซลเซียส), -18, และ -30 องศาเซลเซียส โดยไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella* sp. แต่สำหรับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็น (5±2 องศาเซลเซียส) ไม่สามารถเก็บได้เกิน 7 วัน ซึ่งนอกจากเนื้อไก่แช่เยือกแข็งจะมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพแล้ว จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดก็เพิ่มขึ้น แม้ว่า *Salmonella* sp. ไม่เพิ่มขึ้นก็ตาม ส่วนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) ไม่สามารถเก็บรักษาได้นาน

กว่า 2 วัน เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella* sp. และมีการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของเนื้อไก่ คือมีสีเขียวคล้ำขึ้น สังกลิ้นเหม็น และมีเมือกขึ้น

การใช้สารฆ่าเชื้อไม่สามารถทำลายจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนบนเนื้อไก่ได้หมด ดังนั้นการเก็บรักษาเนื้อไก่ให้ถูกวิธีคือการเก็บที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส จะช่วยเพิ่มความปลอดภัยจากการจุลินทรีย์ที่เป็นอันตราย โดยเฉพาะ *Salmonella* sp. ซึ่งพบปนเปื้อนได้บนเนื้อไก่ นอกจากนี้ การปรุงเนื้อไก่ให้สุกอย่างเพียงพอก่อนรับประทานย่อมเป็นหนทางที่ดีในการป้องกันอันตรายจาก *Salmonella* sp.

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาประสิทธิภาพของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกที่เวลาต่างๆ กันคือ 0, 15, 60, 180, 300 วินาที พบว่าการใช้ Inspexx 100™ ที่ความเข้มข้น 10.0 ppm สามารถทำลายเชื้อทั้ง 4 สายพันธุ์ ได้หมดภายในเวลา 15 วินาที และเมื่อลดระดับความเข้มข้นเป็น 5.0 ppm พบว่าจะใช้เวลานานขึ้นในการทำลายเชื้อได้หมด กล่าวคือ ที่ระดับความเข้มข้น 5.0 ppm สามารถทำลาย *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE541, และ *S. Virchow* DMST 14922 ได้หมดภายในระยะเวลา 60 วินาที สำหรับ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ต้องใช้เวลา 180 วินาที จึงสามารถทำลายได้หมด เมื่อระยะเวลาในการฆ่าเชื้อเท่ากัน พบว่า เมื่อระดับความเข้มข้นของ Inspexx 100™ เพิ่มขึ้นร้อยละการอยู่รอดจะลดลง สำหรับการใช้น้ำ Inspexx 200™ พบว่าก็ให้ผลทำนองเดียวกัน สำหรับผลของระยะเวลาในการสัมผัสเชื้อของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้าจะแปรตามความเข้มข้นและระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น จากผลการทดลองกล่าวได้ว่า ประสิทธิภาพของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า 2 ชนิด คือ Inspexx 100™ และ Inspexx 200™ แปรตามปัจจัยที่สำคัญ 3 ปัจจัยคือ ความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก เวลาในการสัมผัสสารฆ่าเชื้อ และอุณหภูมิ โดยเมื่อปัจจัยเหล่านี้มีค่าเพิ่มขึ้น ประสิทธิภาพของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกเพิ่มขึ้น ผลของความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100™ และ Inspexx 200™) และระยะเวลาการสัมผัส ต่อการเกิดเซลล์ขาดเจ็บ พบว่าปริมาณเซลล์ขาดเจ็บนี้จะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกใน Inspexx 100™ และ Inspexx 200™ เพิ่มขึ้น ในการศึกษากระบวนการคืนสภาพเซลล์ขาดเจ็บของ *Salmonella* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ เนื่องจาก POAA ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 ppm ระยะเวลาการสัมผัสสารฆ่าเชื้อ 180 วินาที ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB พบว่าเซลล์ขาดเจ็บมีกระบวนการคืนสภาพได้ โดยใช้เวลา 4 ชั่วโมง

ระยะเวลาในการเกิดกระบวนการซ่อมแซมเซลล์และการคืนสภาพของเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541, และ *S. Virchow* DMST 14922 ที่ขาดเจ็บโดยสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 100™) ที่ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 1.0 ppm นาน 180 วินาที เปลี่ยนแปลงไปตามสายพันธุ์ของ *Salmonella* sp. และอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยเซลล์ขาดเจ็บของ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ไวต่อสารต้านจุลชีพ มีกระบวนการคืนสภาพช้ากว่า *S. Typhimurium* DMST 14921 ซึ่งเป็นเซลล์ที่ไวต่อสารต้านจุลชีพ ในขณะที่เซลล์ขาดเจ็บของ *S. Virchow* NE 541 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ไวต่อสารต้านจุลชีพ มีกระบวนการคืนสภาพที่เร็วกว่าเซลล์ *S. Virchow* DMST

14922 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ไม่มีสมบัติต่อต้านจุลชีพ ทั้งนี้เมื่อเลี้ยงเซลล์บาดเจ็บเหล่านี้ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเดียวกัน

ในระหว่างกระบวนการคืนสภาพของเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541, และ *S. Virchow* DMST 14922 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เซลล์บาดเจ็บจะต้องใช้เวลาในการซ่อมแซมเซลล์ โดยมีระยะ lag phase เพิ่มขึ้นตั้งแต่ 4 ชั่วโมงหรือมากกว่า เมื่อทำให้เกิดกระบวนการคืนสภาพในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB และเพิ่มขึ้นตั้งแต่ 6 ชั่วโมงหรือมากกว่า เมื่อเกิดการคืนสภาพในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB, NB, BHI และในสารละลาย 0.1% Peptone water และ 0.5% Casamino acid สำหรับในสารละลาย Butterfield's phosphate buffer ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0 เซลล์บาดเจ็บไม่มีกระบวนการคืนสภาพ

เมื่อเลี้ยงเซลล์บาดเจ็บในอาหาร LB ที่เติมสารละลายคอลแรมเฟนิคอล 10 ppm ไม่พบกระบวนการคืนสภาพใน 10 ชั่วโมง แสดงว่า คอลแรมเฟนิคอล 10 ppm สามารถยับยั้งกระบวนการคืนสภาพของเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541, และ *S. Virchow* DMST 14922 ที่บาดเจ็บได้ ทำให้ทราบว่ากรดเปอร์ออกซีแอซิดอาจทำลายโปรตีนภายในเซลล์ถูกทำลายและเสียหาย เซลล์บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดจึงต้องการกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนในการซ่อมแซมเซลล์เพื่อคืนสภาพสู่เซลล์ปกติ

เมื่อเติมสารละลายไรแฟมพิซิน 1 ppm ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB และเลี้ยงเซลล์บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดในอาหารเลี้ยงเชื้อนี้ ไรแฟมพิซินไม่สามารถยับยั้งกระบวนการคืนสภาพของเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541, และ *S. Virchow* DMST 14922 ที่บาดเจ็บได้ แสดงว่ากรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100TM) ไม่มีผลต่อ RNA และกระบวนการสังเคราะห์ RNA ของเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541, และ *S. Virchow* DMST 14922 ที่บาดเจ็บ

ในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ที่เติม เอ็น-ไฮดรอกซียูเรีย 100 ppm และใช้เลี้ยงเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541, และ *S. Virchow* DMST 14922 ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100TM) เอ็น-ไฮดรอกซียูเรีย ไม่สามารถหยุดกระบวนการคืนสภาพของเซลล์บาดเจ็บได้ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า กรดเปอร์ออกซีแอซิดิกไม่มีผลกระทบต่อการทำลาย DNA และกระบวนการสังเคราะห์ DNA ภายในเซลล์

เซลล์บาดเจ็บ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541, และ *S. Virchow* DMST 14922 เนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100TM) และเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ที่เติมสารละลายโซเดียมไซยาไนด์เข้มข้น 2 ppm ลงไป พบว่า กระบวนการคืนสภาพยังคงดำเนินต่อไป โซเดียมไซยาไนด์ ไม่สามารถยับยั้งกระบวนการคืน

สภาพได้ แสดงให้เห็นว่า กรดเปอร์ออกซีแอซิดิกไม่มีผลต่อกระบวนการสังเคราะห์ ATP ของเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541, และ *S. Virchow* DMST 14922 ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก

สารละลาย ดี-ไซโคลเซอร์ริน เข้มข้น 100 ppm ที่เติมลงไปในการอาหาร LB สำหรับการคืนสภาพของเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541, และ *S. Virchow* DMST 14922 ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก (Inspexx 100™) มีผลยับยั้งกระบวนการคืนสภาพ แสดงให้เห็นว่า กรดเปอร์ออกซีแอซิดิกมีผลทำลายเซลล์ โดยไม่มีผลต่อกระบวนการสร้างผนังเซลล์

การตรวจสอบการรั่วของเยื่อหุ้มไซโตพลาสซึมของเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541, และ *S. Virchow* DMST 14922 ที่บาดเจ็บเนื่องจากกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 100™) โดยการวิเคราะห์สารภายในเซลล์ที่อาจจะรั่วออกมาได้แก่ โปรตีน และ กรดนิวคลีอิก ด้วยวิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตร ของของเหลวที่แยกได้จากเซลล์บาดเจ็บ ที่เวลา 0, 15, 60, 180, และ 300 วินาที พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของของเหลวที่แยกได้มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \geq 0.05$) ทั้งที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร และ ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร สำหรับ Inspexx 200™ ให้ผลในทำนองเดียวกัน จึงกล่าวได้ว่า กรดเปอร์ออกซีแอซิดิกที่ระดับความเข้มข้น 1.0 ppm ซึ่งก่อให้เกิดเซลล์บาดเจ็บมากกว่าร้อยละ 90 ที่เวลา 180 วินาที และทำลายเซลล์ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541, และ *S. Virchow* DMST 14922 เริ่มต้นประมาณ 6.00 log₁₀ CFU ต่อ มิลลิลิตร ได้หมดภายใน 300 วินาที ไม่มีผลต่อการทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของ *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541, และ *S. Virchow* DMST 14922

จากการศึกษาการใช้ Inspexx 100™ และ Inspexx 200™ ลดจำนวน *S. Typhimurium* ATCC 13311, และ *S. Virchow* DMST 14922, ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ไม่ดีต่อสารต้านจุลชีพ และ *S. Typhimurium* DMST 14921, และ *S. Virchow* NE 541 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ดีต่อสารต้านจุลชีพ เลียนแบบการผลิตในกระบวนการผลิตไก่สดแช่เยือกแข็ง สรุปได้ดังนี้

เมื่อเลียนแบบการล้างไก่ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) ประสิทธิภาพของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก จากสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทั้ง 2 ชนิด แปรตามความเข้มข้น และระยะเวลาในการสัมผัสสารฆ่าเชื้อ พบว่า เมื่อล้างไก่ที่มีการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ ที่

ระดับความเข้มข้น 100 ppm เป็นระยะเวลา 30 นาที สามารถลดจำนวนเชื้อได้มากที่สุดคือ $0.42 - 1.14 \log_{10}$ CFUต่อกรัม เมื่อใช้ Inspexx 100TM และ $0.39 - 1.72 \log_{10}$ CFUต่อกรัม เมื่อใช้ Inspexx 200TM โดยเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างคุณสมบัติการคือหรือไม่ต่อสารต้านจุลชีพของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการศึกษาพบว่า มีความแตกต่างกันอย่างไม่ชัดเจน เมื่อเปลี่ยนอุณหภูมิของน้ำล้างเป็น 37 องศาเซลเซียส ก็ไม่สามารถสังเกตเห็นความแตกต่างกันของความสามารถในการลดจำนวนเชื้อ

เมื่อเลียนแบบการแช่เย็นซากไก่ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ประสิทธิภาพของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก จากสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทั้งสองชนิดยังคงแปรตามความเข้มข้น และเวลาที่สัมผัสสารฆ่าเชื้อ โดยพบว่า เมื่อแช่เย็นซากไก่ที่มีการปนเปื้อน *Salmonella* sp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ ที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm เป็นระยะเวลา 30 นาที สามารถลดจำนวนเชื้อได้มากที่สุดคือ $0.64 - 0.75 \log_{10}$ CFUต่อกรัม เมื่อใช้ InspexxTM 100 และ $0.32 - 0.88 \log_{10}$ CFUต่อกรัม เมื่อใช้ Inspexx 200TM และยังพบว่าความแตกต่างระหว่างคุณสมบัติการคือหรือไม่ต่อสารต้านจุลชีพไม่มีผลอย่างชัดเจนต่อประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าว

การเลียนแบบการลวกซากไก่ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาดั้งแต่ 0 - 180 วินาทีพบว่า ประสิทธิภาพของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก จากสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทั้งสองชนิดยังคงแปรตามความเข้มข้น และระยะเวลา ที่ระดับความเข้มข้น 100 จากสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทั้งสองชนิดยังคงแปรตามความเข้มข้น ppm ระยะเวลาการลวก 180 วินาที สามารถลดจำนวนได้มากที่สุดคือ $0.91 - 1.88 \log_{10}$ CFUต่อกรัม เมื่อใช้ Inspexx 100TM และ $1.12 - 1.65 \log_{10}$ CFUต่อกรัม เมื่อใช้ Inspexx 200TM และเป็นเช่นเดียวกันคือความแตกต่างระหว่างคุณสมบัติการคือหรือไม่ต่อสารต้านจุลชีพไม่มีผลอย่างชัดเจน

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ *Salmonella* sp. บนเนื้อไก่ ปริมาณกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก ในสารละลายสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM) และค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำล้าง ที่เปลี่ยนแปลงไปตลอดระยะเวลาการล้างเนื้อไก่ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) แช่เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส และลวกที่ 55 องศาเซลเซียส พบว่า เมื่อระยะเวลาการล้าง แช่เย็น หรือลวก เนื้อไก่เพิ่มขึ้น ปริมาณ *Salmonella* sp. บนเนื้อไก่ และปริมาณกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในน้ำล้างลดลง ในขณะที่ค่าความเป็นกรด-ด่างจะเพิ่มขึ้น โดยอัตราการลด

ลงของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก จะแปรตามอุณหภูมิของน้ำล้าง เป็นไปในทำนองเดียวกันทั้งการใช้ Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM

เมื่อเปรียบเทียบการเติมสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM) ซึ่งกำหนดระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 100 ppm ในขั้นตอนการล้างที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) และแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เห็นได้ว่า การเติมสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทั้งขั้นตอนการล้าง และแช่เย็น สามารถลดจำนวน จุลินทรีย์ทั้งหมด ซึ่งปนเปื้อนตามธรรมชาติและ *Salmonella* sp. ซึ่งเป็นเชื้อผสมระหว่าง *S. Typhimurium* ATCC 13311, *S. Typhimurium* DMST 14921, *S. Virchow* NE 541, และ *S. Virchow* DMST 14922 และสร้างการปนเปื้อนบนเนื้อไก่เลียนธรรมชาติได้มากกว่าการใช้กรดเปอร์ออกซีแอซิดิกในขั้นตอนใดขั้นตอนหนึ่งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยเมื่อใช้ Inspexx 100TM จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดลดลง $1.63 \log_{10}$ CFUต่อกรัม ในขณะที่ *Salmonella* sp. ลดลง $1.28 \log_{10}$ CFUต่อกรัม เมื่อใช้ Inspexx 200TM พบว่า จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดลดลง $1.86 \log_{10}$ CFUต่อกรัม และ *Salmonella* sp. ลดลง $1.83 \log_{10}$ CFUต่อกรัม

การศึกษาผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาไก่สดแช่เยือกแข็งที่ผ่านการล้างและแช่เย็นด้วยสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิกทางการค้า (Inspexx 100TM และ Inspexx 200TM) ที่ระดับความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก 100 ppm ผ่านขั้นตอนการล้างและแช่เย็นขั้นตอนละ 30 นาที สรุปได้ว่า

เมื่อเก็บรักษาเนื้อไก่แช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) มีการเจริญเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ทั้งหมดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 8 ทั้งเนื้อไก่ที่ล้างด้วย Inspexx 100TM หรือ Inspexx 200TM สำหรับ *Salmonella* sp. จะเจริญเพิ่มจำนวนได้ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 เมื่อล้างด้วย Inspexx 100TM และที่ชั่วโมงที่ 32 เมื่อล้างด้วย Inspexx 200TM การเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องไม่สามารถเก็บได้นานเกิน 48 ชั่วโมง เนื่องจากเนื้อไก่แช่เยือกแข็งเริ่มมีกลิ่น มีสีเขียวคล้ำ และมีเมือกขึ้น

การเก็บรักษาเนื้อไก่แช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิตู้เย็น (5 ± 2 องศาเซลเซียส) พบว่า ไม่สามารถเก็บเนื้อไก่แช่เยือกแข็งได้นานเกิน 10 วัน โดยเนื้อไก่แช่เยือกแข็งเริ่มเน่าตั้งแต่วันที่ 7 ของการเก็บรักษา ในวันที่ 8, 9, และ 10 เนื้อไก่เริ่มมีกลิ่นเหม็น และมีสีเขียวคล้ำขึ้น แม้ว่าแนวโน้มของ *Salmonella* sp. จะมีการเปลี่ยนแปลงลดลงตลอดอายุการเก็บรักษา แต่จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดจะเพิ่มขึ้น ตั้งแต่วันที่ 6 ของการเก็บรักษา ก่อนการสังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ 1 วัน ทั้งนี้

แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด เป็นไปในแนวทางเดียวกันทั้งการใช้ Inspexx 100™ และ Inspexx 200™ สำหรับจำนวน *Salmonella* sp. ให้ผลในทางเดียวกัน แต่เป็นการเปลี่ยนแปลงลดลง

การเก็บรักษาเนื้อไก่แช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส คือที่อุณหภูมิตู้แช่แข็ง (-2±2 องศาเซลเซียส), -18, และ -30 องศาเซลเซียส พบว่าให้ผลในทำนองเดียวกันคือ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella* sp. มีแนวโน้มลดลงในระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 35 วัน แสดงให้เห็นว่า อุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส สามารถยับยั้งการเจริญของ *Salmonella* sp. และจุลินทรีย์กลุ่มอื่นๆ ได้ การเก็บรักษาเนื้อไก่สดแช่เยือกแข็งที่ผ่านการล้างและแช่เย็นด้วยสารผสมกรดเปอร์ออกซีแอซิดิก สามารถเก็บได้นานมากกว่า 35 วัน โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงของเนื้อไก่ทางด้านกายภาพ และแนวโน้มของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella* sp. จะลดลง

เอกสารอ้างอิง

- สุภาวดี ตั้งจิตร. 2543. ผลของสารฆ่าเชื้อประเภทคลอรีนต่อการบาดเจ็บของ *Salmonella* Typhimurium. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร.
- อาภัสสร ฆมิศ. 2537. ชีวเคมี. ภาควิชาสรีรวิทยา, คณะสัตวแพทยศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร.
- อรุณ บ้างตระกูลนนท์. 2540. การตรวจหาเชื้อ *Salmonella* ในอาหารและผลิตภัณฑ์: ผลการสำรวจเชื้อ *Salmonella* spp. ในประเทศไทย. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข, กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, กระทรวงสาธารณสุข, กรุงเทพมหานคร.
- Boonmar, S., Aroon, B., Srirat, P., Nopharat, M., Kenichi, K., and Masuo, O. 1998. *Salmonella* in Broiler Chickens in Thailand with Special Reference to Contamination of Retail Meat with *S. Enteritidis*. **J. of Vet. Med. Sci.** 60(11): 1233-1236.
- Blankenship, L.C. 1981. Some characteristics of acid injury and recovery of *Salmonella* Bareilly in a model system. **J. Food Prot.** 44: 73-77.
- Bluhm, L. and Z.J. Ordal. 1969. Effect of sublethal heat on the metabolic activity of *Staphylococcus aureus*. **J. Bacteriol.** 97: 140-150.
- Buazzi, M.M. and E.H. Marth. 1991. Mechanisms in the inhibition of *Listeria monocytogenes* by potassium sorbate. **Food Microbiol.** 8: 249-256.
- Bunduki, M.M., K.L. Flanders and C.W. Donnelly. 1995. Metabolic and structural sites of damage in heat-and sanitizer-injured populations of *Listeria monocytogenes*. **J. Food Prot.** 58: 410-415.

- D'Aoust, J.Y. 1981. Update on preenrichment and selective enrichment condition for detection on *Salmonella* in foods. **J. Food Prot.** 44: 369-374.
- Dangprom, K., Saitanu, K., Jerngklinchan, J., and Koowatanukul, C. 1993. Distribution of *Salmonellae* in The Poultry Processing Plants pp. 15-19. *In* **Proceeding the 11th International Symposium of The World Association of Veterinary Food Hygienist.** Bangkok, Thailand.
- Dickson, J.S. 1991. Attachment of *Salmonella* Typhimurium and *Listeria monocytogenes* to beef tissue: effects of inoculum level, growth temperature and bacterial culture age. **Food Microbiol.** 8(2): 143-151
- Dorsa, W.J., C.N. Cutter and G.R. Siragusa. 1997. Effect of steam vacuuming and hot water spray wash on the microflora of refrigerated beef carcass surface tissue inoculated with *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria innocua*, and *Clostridium sporogenes*. **J. Food Prot.** 60: 619-624.
- Dychdala, G.R. 1983a. Chlorine and chlorine compound, pp. 157-182. *In* S. Block, S. S. Lea and Febiger, eds. 1983. **Disinfection, Sterilization and Preservation.** 3rd ed., Philadelphia.
- , 1983b. Acid-anionic surfactant sanitizers, pp. 330-334. *In* S. Block, S. S. Lea and Febiger, eds. 1983. **Disinfection, Sterilization and Preservation.** 3rd ed., Philadelphia.
- Ellebracht, E.A., A. Castillo, L.M. Lucia, R.K. Miller and G.R. Acuff. 1999. Reduction of pathogens using hot water and lactic acid on beef trimming. **J. Food Sci.** 64(6):1094-1099.
- Bailet, J.S., B.G. Lyon, C.E. Lyon and W.R. Windham. 2000. The microbiological profile of chilled and frozen chicken. **J. Food Prot.** 63(9): 1228-1230

Ek-Kest, S.E. and E.H. Marth. 1988. Inactivation of *Listeria monocytogenes* by chlorine. **J.**

Food Prot. 51: 520-524.

Franklin, T.J. and G.A. Snow. 1989. **Biochemistry of Antimicrobial Action**. 4th ed., Chapman and Hall, New York.

Klose, A.A., V.F. Koufman and M.F. Poole. 1971. Scalding poultry by steam at subatmospheric pressures. **Poultry Sci.** 50: 302-305.

Glass, K.A. and M.P. Doyle. 1991. Stunning and slaughter, pp. 31-64. *In* G. C. Mead (ed.).

Processing of Poultry. Elsevier Science Publishers Ltd., London.

Gray, R.J. H., L. D. Witter and Z.J. Ordal. 1973. Characterization of mild thermal stress in *Pseudomonas fluorescens* and its repair. **Appl. Microbiol.** 26: 78-85.

Hurst, A., A. Hughes, J.L. Beare-Rogers and D.L.C. Thompson. 1973. Physiological studies on the recovery of salt tolerance by *Staphylococcus aureus* after sublethal heating. **J.**

Bacteriol. 116: 901-907.

Kucers, A., S.M. Crowe, M.L. Grayson and J.F. Hoy. 1997a. **The Use of Antibiotic: A Clinical**

Review of Antibacterial, Antifungal and Antiviral Drugs. 5th ed. Butterworth-

Heinemann, Oxford. Cited A.N., Bacchus and G.T. Javor. 1975. Stability of *Escherichia coli* membrane proteins during chloramphenicol treatment. **Antimicrob. Ag Chemother.** 8: 387.

———. 1997b. **The Use of Antibiotic: A Clinical Review of Antibacterial, Antifungal and Antiviral Drugs**. 5th ed. Butterworth-Heinemann, Oxford. Cited C.E. Green, H.J.

Cameron and G.R. Julian. 1975. Recovery of polysome function of T4-infected

Escherichia coli after brief treatment with chloramphenicol and rifampicin. **Antimicrob. Ag Chemother.** 7: 549.

- . 1997c. **The Use of Antibiotic: A Clinical Review of Antibacterial, Antifungal and Antiviral Drugs**. 5th ed. Butterworth-Heinemann, Oxford. Cited D.A. Harris, M. Ruger and M.A. Reagan. 1955. Discovery development and antimicrobial properties of D-4-amino-3-isoxazolidone (oxamycin), a new antibiotic produced by *Streptomyces garyphalus* n. Sp. **Antib. Chemo.** 5: 183.
- . 1997d. **The Use of Antibiotic: A Clinical Review of Antibacterial, Antifungal and Antiviral Drugs**. 5th ed. Butterworth-Heinemann, Oxford. Cited E.F. Gale, E. Cundiffe and P.E. Reynolds. 1972. The Molecular Basis of Antibiotic Action. **Antimicrob. Ag Chemother.** 8: 254.
- . 1997e. **The Use of Antibiotic: A Clinical Review of Antibacterial, Antifungal and Antiviral Drugs**. 5th ed. Butterworth-Heinemann, Oxford. Cited J. Enrich, Q.R. Bartz and R.M. Smith. 1974. Chloramycetin, a new antibiotic from a soil antimomycete. **Anticrib Ag Chemother.** 7: 650.
- . 1997f. **The Use of Antibiotic: A Clinical Review of Antibacterial, Antifungal and Antiviral Drugs**. 5th ed. Butterworth-Heinemann, Oxford. Cited J. L. Strominger, R.H. Threnn and S.S. Scott. 1959. Oxamycin, a competitive antagonist of the incorporation of D-alanine into a uridine nucleotide in *Staphylococcus aureus*. **J. Amer. Chem. Soc.** 81: 3803.
- . 1997g. **The Use of Antibiotic: A Clinical Review of Antibacterial, Antifungal and Antiviral Drugs**. 5th ed. Butterworth-Heinemann, Oxford. Cited J. L. Strominger and D.J. Tipper. 1965. Bacterial cell wall synthesis and structure in relation to the mechanism of action of penicillins and other antibacterial agents. **Amer. J. Med.** 39: 708.
- . 1997h. **The Use of Antibiotic: A Clinical Review of Antibacterial, Antifungal and Antiviral Drugs**. 5th ed. Butterworth-Heinemann, Oxford. Cited R.J. Harvey and A.L.

Kock. 1980. How partially inhibitory concentrations of chloramphenicol affect the growth of *Escherichia coli*. **Antimicrob. Ag Chemother.** 18: 323.

———. 1997i. **The Use of Antibiotic: A Clinical Review of Antibacterial, Antifungal and Antiviral Drugs.** 5th ed. Butterworth-Heinemann, Oxford. Cited R.S. Gupta. 1975. Killing and lysis of *Escherichia coli* in the presence of chloramphenicol: relation to cellular magnesium. **Antimicrob. Ag Chemother.** 7: 748.

———. 1997j. **The Use of Antibiotic: A Clinical Review of Antibacterial, Antifungal and Antiviral Drugs.** 5th ed. Butterworth-Heinemann, Oxford. Cited P. Sensi, N. Maggi, S. Furesz and G. Maffii. 1967. Chemical modification and biological properties of rifamycins. **Antimicrob. Ag Chemother.** 1966: 699.

———. 1997k. **The Use of Antibiotic: A Clinical Review of Antibacterial, Antifungal and Antiviral Drugs.** 5th ed. Butterworth-Heinemann, Oxford. Cited R. Vince, R.G. Almquist, C.L. Ritter and S. Daluge. 1975. Chloramphenicol binding site with analogues of chloramphenicol and puromycin. **Antimicrob. Ag Chemother.** 8: 148.

———. 1997l. **The Use of Antibiotic: A Clinical Review of Antibacterial, Antifungal and Antiviral Drugs.** 5th ed. Butterworth-Heinemann, Oxford. Cited T.E. Woodward and C.L. Wisseman, Jr. 1958. Chloromycetin (chloramphenicol). **Rev. Infect. Dis** 5: (suppl3): 415.

———. 1997m. **The Use of Antibiotic: A Clinical Review of Antibacterial, Antifungal and Antiviral Drugs.** 5th ed. Butterworth-Heinemann, Oxford. Cited W. Wehrli. 1983. Rifampin: mechanisms of action and resistance. **Rev. Infect. Dis** 5: (suppl3) : 407.

Mackey, B.M. and C.M. Derrick. 1982. The effect of sublethal injury by heating, freezing, drying and gamma-radiation on the duration of the lag phase of *Salmonella* Typhimurium. **J. Appl. Bacteriol.** 53: 243-251.

- Mulder, R.W.A.W. 1996. Impact of transport on the incidence of human pathogens in poultry. **World Poultry Sci. J.** 12: 18-19.
- Newton, B.A. 1965. Mechanisms of antibiotic action. **Annu. Rev. Microbiol.** 19: 209-240.
- O'Grady, F., R.G. Finch, H.P. Lambert and D. Greenwood. 1997. **Antibiotic and Chemotherapy: Anti-Infective Agents and Their Use in Therapy.** 7th ed., Longman Singapore Publishers (Pte) Ltd., Singapore.
- Parry, R.T. 1989. Technological developments in pre-slaughter handling and processing, pp. 65-102. In G.C. Mead, ed. **Processing of Poultry.** Elsevier Science Publishers Ltd., London
- Pavlas, M. 1967. Disinfectant effect of chloramine B and peracetic acid on *Mycobacterium bovis*. **Mikrobiol. Immunol.** 16(5):282-286.
- Rappaport, H. and J.M. Goepfert. 1978. Thermal injury and recovery of *Bacillus cereus*. **J. Food Prot.** 41: 533-537.
- Ray, B. 1979. Method to detect stressed microorganisms. **J. Food Prot.** 42: 346-355.
- and M.L. Speck. 1972. Metabolic process during the repair of freeze-injury in *Escherichia coli*. **Appl. Microbiol.** 24: 585-590.
- and M.L. Speck. 1972. Metabolic process during the repair of freeze-injury in *Escherichia coli*. **Appl. Microbiol.** 24: 585-590.
- Robinson, R.K., C.A. Balt and P.D. Patel. 2000. **Encyclopedia of Food Microbiology.** Academic Press, New York.

- Sogin, S.J. and Z.J. Ordal. 1967. Regeneration of ribosomal ribonucleic acid during repair of thermal injury of *Staphylococcus aureus*. **J. Bacteriol.** 94: 1082-1087.
- Straka, R.P. and J.L. Stokes. 1959. Metabolic injury to bacteria at low temperatures. **J. Bacteriol.** 78: 181-185.
- Tartakow, I.J. and J.H. Voperian. 1981. **Food Borne and Water Borne Diseases: Their Epidemiologic Characteristics**. The AVI Publishing Company Inc., Connecticut.
- Thayer, D.W., S. Songprasertchai and G. Boyd. 1991. Effects of heat and ionizing radiation on *Salmonella* Typhimurium in mechanically deboned chicken meat. **J. Food. Prot.** 54(9): 718-724.
- Verville, K.M. and D.S. herson. 1989. The effect of free chlorine on *Escherichia coli* population. **Current Microbiol.** 18: 235-241.
- Wehrli, W. and M. Staehelin. 1971. Actions of rifamycins. **Bacteriol. Rev.** 35: 290-309.
- Yang, Z., Y. Li and M.F. Slavik. 1999. Antimicrobial efficacy of electrochemically activated solution for poultry spraying and chilling. **J. Food Sci.** 64(3): 469-472.
- Zayaitz, A.E.K. and R.A. Ledford. 1985. Characteristics of acid-injury and recovery of *Staphylococcus aureus* in model system. **J. Food Prot.** 48: 616-620.

Output จากโครงการวิจัยที่ได้รับทุนจาก สกอ. และ สกว.

1. ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติ (กำลังอยู่ในระหว่างดำเนินการ)
2. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ในเชิงวิชาการ โดยมีการเสนอผลงานในการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 41 วันเกษตรแห่งชาติ ปี 2546
เรื่อง การใช้กรดเปอร์ออกซีแอสติก เพื่อลดปริมาณ *Salmonella* Virchow สายพันธุ์ที่ก่อโรคด้านจุลชีพที่ปนเปื้อนเนื้อไก่
3. ใช้เป็นตัวอย่างในการบรรยายสำหรับนิสิตปริญญาโทในเรื่อง ความต้านทานของจุลินทรีย์ต่อสภาวะความเครียด
4. มีการนำเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้จากงานวิจัยมาใช้ในการศึกษาคุณสมบัติในการต้านทานต่อความร้อนและสารเคมี โดยนิสิตปริญญาโท นางสาว สุธาวลัย สิริวิชาพร ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

