การทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยด้วยความร้อนในผลิตภัณฑ์เนื้อสุกร

นางสาวปรัชญา อยู่เอี่ยมยุทธ์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาสัตวแพทยสาธารณสุข ภาควิชาสัตวแพทยสาธารณสุข
คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2551
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

THERMAL INACTIVATION OF FOOT-AND-MOUTH DISEASE VIRUSES IN PORK PRODUCTS.

Miss Pratya Youeaimyut

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Veterinary Public Health
Department of Veterinary Public Health
Faculty of Veterinary Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2008
Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยด้วยความร้อนในผลิตภัณฑ์เนื้อสุกร
โดย	นางสาวปรัชญา อยู่เอี่ยมยุทธ์
สาขาวิชา	สัตวแพทยสาธารณสุข
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. ศุภชัย เนื้อนวลสุวรรณ

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะสัตวแพทยศาสตร์
(ศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. อรรณพ คุณาวงษ์กฤต)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. อลงกร อมรศิลป์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. ศุภชัย เนื้อนวลสุวรรณ)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สัตวแพทย์หญิง ดร. รุ่งทิพย์ ชวนชื่น)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(สัตวแพทย์หญิง ดร. สุดารัตน์ ดำรงค์วัฒนโภคิน)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปรัชญา อยู่เอี่ยมยุทธ์ : การทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยด้วยความร้อนในผลิตภัณฑ์เนื้อสุกร. (THERMAL INACTIVATION OF FOOT-AND-MOUTH DISEASE VIRUSES IN PORK PRODUCTS.) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : ผศ.น.สพ.ดร.ศุภชัย เนื้อนวล สุวรรณ, 101 หน้า.

ไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์ โอ เอ และเอเชียวัน ที่แยกสกัดได้จากการระบาดในประเทศไทย ได้ถูกนำมาศึกษาถึงความสามารถในการต้านทานความร้อนในผลิตภัณฑ์เนื้อสุกร 4 ชนิด ได้แก่ การทอด การชุบแป้งทอด การอบ และการอบเกลือ ที่อุณหภูมิ 50, 60, 70 และ 80 องศาเซลเซียส วิเคราะห์ค่าความต้านทานความร้อนในรูปของค่า Decimal reduction time (D) โดยใช้วิธี linear regression ค่า D ของไวรัสซีโรไทป์โอ ที่อุณหภูมิ 50, 60, 70 และ 80 องศาเซลเซียส อยู่ระหว่าง 3,158-4,412 วินาที, 117.79-177.78 วินาที, 31.81-44.58 วินาที และ 4.19-5.93 วินาที ตามลำดับ ค่า D ของไวรัสซีโรไทป์เอ ที่อุณหภูมิ 50, 60, 70 และ 80 องศาเซลเซียส อยู่ระหว่าง 3,036-5,801 วินาที, 122.75-210.61 วินาที, 51.99-81.52 วินาที และ 2.42-8.69 วินาที ตามลำดับ และค่า D ของไวรัสซีโรไทป์เอเชียวัน ที่อุณหภูมิ 50, 60, 70 และ 80 องศาเซลเซียส อยู่ระหว่าง 2,092-5,171 วินาที, 67.93-142.91 วินาที, 20.76-31.26 วินาที และ 2.56-8.26 วินาที ตามลำดับ เมื่อทำการวิเคราะห์ค่า D ทางสถิติพบว่า ความต้านทานความร้อนของไวรัสที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) จากอุณหภูมิอื่นๆ ในไวรัสซีโรไทป์เดียวกันในผลิตภัณฑ์เนื้อสุกรทั้ง 4 ชนิด แต่สำหรับค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยที่อุณหภูมิและในผลิตภัณฑ์เดียวกัน พบว่า ค่า D ของทุกซีโรไทป์ ส่วนใหญ่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ส่วนค่า D ของผลิตภัณฑ์ทั้ง 4 พบว่า ส่วนใหญ่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการทำลายไวรัสคือ อุณหภูมิ โดยอุณหภูมิที่มีประสิทธิภาพในการทำลายไวรัส คือ 60 องศาเซลเซียสขึ้นไป ไม่ว่าจะเป็นผลิตภัณฑ์เนื้อสุกรชนิดใด หรือไวรัสซีโรไทป์ใดก็ตาม

ภาควิชา สัตวแพทยสาธารณสุข ..... ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา สัตวแพทยสาธารณสุข ..... ลายมือชื่ออ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก .....

ปีการศึกษา 2551 .....

4975589731 : MAJOR VETERINARY PUBLIC HEALTH

KEYWORDS : FOOT-AND-MOUTH DISEASE VIRUSES / PORK PRODUCTS / THERMAL INACTIVATION / D-VALUE

PRATYA YOUEAIMYUT : THERMAL INACTIVATION OF FOOT-AND-MOUTH DISEASE VIRUSES IN PORK PRODUCTS. ADVISOR : SUPHACHAI NUANUALSUWAN, 101 pp.

Foot-and-mouth disease viruses (FMDV) serotypes O, A, and Asia1 isolated from outbreaks in Thailand were examined for their heat resistance in four pork products; deep-fried, tonkatsu, roasted, and salt roasted pork at 50, 60, 70, and 80°C. The heat resistance was calculated with respect to decimal-reduction time (*D*-values) obtained by linear regression. The ranges of *D*-values of FMDV serotype O in pork products at 50, 60, 70, and 80°C were 3,158 to 4,412 s, 117.79 to 177.78 s, 31.81 to 44.58 s, and 4.19 to 5.93 s, respectively. The ranges of *D*-values of FMDV serotype A in pork products at 50, 60, 70, and 80°C were 3,036 to 5,801 s, 122.75 to 210.61 s, 51.99 to 81.52 s, and 2.42 to 8.69 s, respectively. And the ranges of *D*-values of FMDV serotype Asia1 at 50, 60, 70, and 80°C were 2,092 to 5,171 s, 67.93 to 142.91 s, 20.76 to 31.26 s, and 2.56 to 8.26 s, respectively. There were differences ($p<0.05$) among 50°C and other temperatures in the same viral serotypes for all four pork products. However, almost *D*-values of FMDV serotype O, A, and Asia1 were not significantly different ($p>0.05$) at the same temperatures and the same pork products. Furthermore, almost *D*-values of FMDV in different cooking methods were not significantly different ($p>0.05$) at the same temperatures and the same viral serotypes. The results demonstrated that the important factor to inactivate virus was temperature and that the effective temperatures to inactivate FMDV were > 60°C in any studied pork products or in any FMDV serotypes.

Department : Veterinary Public Health Student's Signature Pratya Youeaimyut

Field of Study : Veterinary Public Health Advisor's Signature S. Nuanualsuwan

Academic Year : 2008

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ น.สพ.ดร.ศุภชัย เนื้อนวลสุวรรณ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ซึ่งได้กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำ คำปรึกษา ข้อคิดเห็น ความช่วยเหลือ ตลอดจนความดูแลเอาใจใส่ต่อผู้วิจัยและการทำวิจัยในครั้งนี้ ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ คณาจารย์ เพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ นิสิตปริญญาโท-เอก และเจ้าหน้าที่ประจำภาควิชาสัตวแพทยสาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ทุกๆท่าน ที่คอยให้คำปรึกษา คำแนะนำ ตลอดจนข้อคิดเห็นต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ และเป็นกำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอขอบพระคุณ สพ.ญ.วิไล ลินจงสุบงกช น.สพ.ร่มพฤกษ์ อุดล น.สพ.ปณิธาน ทองทา คุณรัตนีย์ ทองทา และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการประจำศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อยภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา ทุกท่าน ซึ่งกรุณาให้ความช่วยเหลือในขั้นตอนการปฏิบัติการเป็นอย่างดี รวมถึงกรุณาให้ความรู้ คำแนะนำ ตลอดจนข้อคิดเห็นต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อการวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบพระคุณบริษัท Aditya Birla Group จำกัด ที่ให้การอนุเคราะห์สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

ขอขอบพระคุณ บุคลากร และเจ้าหน้าที่ ประจำหน่วยชันสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ทุกท่าน ซึ่งกรุณาถ่ายทอดความรู้เกี่ยวกับเทคนิคการใช้เครื่องมือทางห้องปฏิบัติการ การเพาะเลี้ยงเซลล์ และการเตรียมสารเคมีต่างๆ ตลอดจนข้อแนะนำที่เป็นประโยชน์ต่อการวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ เพื่อนๆ พี่ๆ ท่านอื่นๆ ทุกท่าน ที่มีส่วนช่วยให้การวิจัยและวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณครอบครัวของผู้วิจัยที่ให้การสนับสนุน และเป็นกำลังใจให้แก่ผู้วิจัยเสมอมา

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว) ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยในครั้งนี้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ
กิตติกรรมประกาศ..... ฉ
สารบัญ..... ช
สารบัญตาราง..... ฌ
สารบัญภาพ..... ญ

บทที่

1 บทนำ..... 1
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 6
1. ลักษณะทั่วไปของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย..... 6
2. โรคปากและเท้าเปื่อย..... 6
3. การระบาดของโรคปากและเท้าเปื่อย..... 7
4. การคงตัวของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย..... 8
5. การพบไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในเนื้อเยื่อต่างๆของสุกร..... 8
6. การทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยด้วยความร้อน..... 10
3 วิธีดำเนินการวิจัย..... 13
วัตถุประสงค์ของการวิจัย..... 13
วิธีดำเนินการวิจัย..... 13
เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย..... 20
ผลการศึกษานำร่อง..... 22
4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล..... 23
ผลการวิเคราะห์การทำลายไวรัส (D-value)..... 23
ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ..... 28

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หน้า

5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ..... 35
สรุปผลการวิจัย..... 35
อภิปรายผลการวิจัย..... 36
ข้อเสนอแนะ..... 40

รายการอ้างอิง..... 41
ภาคผนวก..... 45
ภาคผนวก ก..... 46
ภาคผนวก ข..... 51
ภาคผนวก ค..... 52
ภาคผนวก ง..... 53
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์..... 101

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

1 ระยะเวลาที่ใช้ในการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในเนื้อสุกรแต่ละอุณหภูมิ…….. 15

2 ค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในผลิตภัณฑ์เนื้อสุกรจากการศึกษานำร่อง..... 22

3 ค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในเนื้อสุกรทอด ที่อุณหภูมิ 50-80 องศาเซลเซียส…….. 24

4 ค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในเนื้อสุกรชุบแป้งทอด ที่อุณหภูมิ 50-80 องศาเซลเซียส…… 25

5 ค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในเนื้อสุกรอบ ที่อุณหภูมิ 50-80 องศาเซลเซียส……. 26

6 ค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในเนื้อสุกรอบเกลือ ที่อุณหภูมิ 50-80 องศาเซลเซียส……. 27

7 การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่า D ในเนื้อสุกรทอด ระหว่างช่วงอุณหภูมิและระหว่างซีโรไทป์ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย……... 28

8 การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่า D ในเนื้อสุกรชุบแป้งทอด ระหว่างช่วงอุณหภูมิ และระหว่างซีโรไทป์ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย…… 29

9 การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่า D ในเนื้อสุกรอบ ระหว่างช่วงอุณหภูมิและระหว่างซีโรไทป์ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย……... 30

10 การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่า D ในเนื้อสุกรอบเกลือ ระหว่างช่วงอุณหภูมิ และระหว่างซีโรไทป์ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย…… 31

11 การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่า D ระหว่างวิธีการให้ความร้อน ที่อุณหภูมิเดียวกัน ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์โอ…… 32

12 การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่า D ระหว่างวิธีการให้ความร้อน ที่อุณหภูมิเดียวกัน ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอ…… 33

13 การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่า D ระหว่างวิธีการให้ความร้อน ที่อุณหภูมิเดียวกัน ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอเชียวัน……. 34

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	รอยโรคปากและเท้าเปื่อยในสุกร ในบริเวณไรกีบ จมูก และโคนลิ้น	7
2	การทำลายไวรัสด้วยความร้อนด้วยวิธีการทอด.....	14
3	การทำลายไวรัสด้วยความร้อนด้วยวิธีการอบ.....	14
4	ไมโครเพลท 24 หลุม ที่ใช้ในขั้นตอนการหาปริมาณไวรัสด้วยวิธี $TCID_{50}$.....	16
5	เซลล์เพาะเลี้ยงชนิด BHK-21 ปกติ.....	17
6	เซลล์เพาะเลี้ยงชนิด BHK-21 ที่เกิด Cytopathic Effect (CPE).....	17
7	ตัวอย่างกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย.....	18

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมที่มีการเลี้ยงสัตว์เพื่อใช้ในการบริโภค ไม่ว่าจะเป็น โค กระบือ แพะ แกะ สุกร สัตว์ปีก หรือสัตว์น้ำ ซึ่งอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ของประเทศไทยในปัจจุบันมีความก้าวหน้ามากยิ่งขึ้นทั้งในด้านการเลี้ยงและศักยภาพในการผลิต จนสามารถนำเนื้อสัตว์ที่ได้มาผลิตเป็นสินค้าเพื่อการส่งออกได้ ทั้งในรูปของเนื้อดิบและผลิตภัณฑ์แปรรูป โดยเฉพาะอุตสาหกรรมการเลี้ยงและการผลิตไก่เนื้อ ซึ่งถือเป็นอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ที่มีศักยภาพมากที่สุด นอกจากการเลี้ยงไก่เนื้อแล้ว อุตสาหกรรมการเลี้ยงสุกรก็ถือว่าเป็นอุตสาหกรรมที่มีศักยภาพในการเลี้ยงและการผลิตใกล้เคียงกัน แต่ประสบปัญหาด้านการตลาดที่มีวงจำกัดเฉพาะตลาดภายในประเทศ

ในแต่ละปีประเทศไทยสามารถผลิตสุกรได้ประมาณ 15-16 ล้านตัว โดยบริโภคภายในประเทศประมาณ 9-10 ล้านตัว หรือประมาณร้อยละ 98 ของปริมาณสุกรที่ผลิตได้ ส่วนอีกร้อยละ 2 ของปริมาณสุกรที่ผลิตได้ จะส่งออกไปยังต่างประเทศ ซึ่งเนื้อสุกรที่ประเทศไทยส่งออกนั้น มีหลายประเภท ไม่ว่าจะเป็น สุกรมีชีวิต เนื้อสุกรสดแช่เย็น เนื้อสุกรสดแช่แข็ง เนื้อสุกรในน้ำเกลือ เนื้อสุกรแห้ง เนื้อสุกรรมควัน และเนื้อสุกรแปรรูป (กรมเจรจาการค้าระหว่างประเทศ, 2007) ถึงแม้ว่าประเทศไทยจะสามารถส่งออกเนื้อสุกรประเภทต่างๆ ไปยังต่างประเทศได้ แต่ก็ยังถือว่ามีปริมาณที่น้อยมากเมื่อเทียบกับกำลังความสามารถในการผลิตสุกรของประเทศไทย ซึ่งอุปสรรคที่สำคัญประการหนึ่งที่ทำให้การส่งออกเนื้อสุกรของประเทศไทยยังมีปัญหาอยู่ คือ การระบาดของโรคปากและเท้าเปื่อย ที่ส่งผลให้ประเทศผู้นำเข้าผลิตภัณฑ์เนื้อสุกรใช้เป็นข้อกีดกันทางการค้าในการนำเข้าเนื้อสุกรจากประเทศไทย (สำนักบริหารการนำเข้าส่งออกสินค้าทั่วไป กลุ่มวิเคราะห์สินค้า 3 กรมการค้าต่างประเทศ, 2006)

กระทรวงเกษตรประเทศสหรัฐอเมริกา (United States Department of Agriculture; USDA) (2008) ได้รายงานว่าในปี พ.ศ. 2550 การผลิตเนื้อสุกรจากทั่วโลกมีปริมาณ 95,658,000 ตัน และคาดการณ์ว่าในปี พ.ศ. 2551 การผลิตเนื้อสุกรจะเพิ่มมากขึ้นอีกร้อยละ 1.5 หรือมีปริมาณ 97,130,000 ตัน ส่วนการบริโภคเนื้อสุกรทั่วโลกในปี พ.ศ. 2550 มีปริมาณ 95,514,000 ตัน และคาดว่าความต้องการบริโภคเนื้อสุกรทั่วโลกจะเพิ่มขึ้นอีกร้อยละ 1.5 หรือประมาณ 96,924,000 ตัน ในปีพ.ศ. 2551 โดยมีปริมาณการนำเข้าเนื้อสุกรรวมของทุกประเทศทั่วโลกในปี พ.ศ. 2550 เท่ากับ 5,082,000 ตัน และคาดว่าจะเพิ่มขึ้นอีกร้อยละ 2 หรือประมาณ

5,183,000 ตัน ในด้านการส่งออกเนื้อสุกรจากประเทศต่างๆทั่วโลกในปี พ.ศ. 2550 มีปริมาณ 5,152,000 ตัน และคาดว่าในปี พ.ศ. 2551 จะมีปริมาณที่เพิ่มขึ้นถึงร้อยละ 6.4 หรือประมาณ 5,481,000 ตัน (Foreign Agricultural Service/USDA, 2008) ซึ่งจะเห็นว่าทั้งปริมาณการผลิต การบริโภค การนำเข้า และการส่งออกในปี พ.ศ. 2551 นั้น มีแนวโน้มที่จะเพิ่มสูงขึ้นจากปี พ.ศ. 2550 นอกจากนี้กระทรวงเกษตรประเทศสหรัฐอเมริกา ยังได้รายงานว่า ประเทศที่สามารถผลิตเนื้อสุกรและบริโภคเนื้อสุกรมากเป็นอันดับหนึ่งของโลกในปี พ.ศ. 2550 คือ ประเทศจีน ประเทศที่ส่งออกเนื้อสุกรมากที่สุด คือ ประเทศสหรัฐอเมริกา รองลงมาคือ ประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรป ประเทศแคนาดา ประเทศบราซิล และประเทศจีน ตามลำดับ ส่วนประเทศที่นำเข้าเนื้อสุกรจากต่างประเทศมากที่สุด คือ ประเทศญี่ปุ่น รองลงมาคือ ประเทศรัสเซีย ประเทศเกาหลี ประเทศเม็กซิโก ประเทศสหรัฐอเมริกา และประเทศฮ่องกง ตามลำดับ

ประเทศญี่ปุ่นถือได้ว่าเป็นประเทศที่นำเข้าเนื้อสุกรเป็นอันดับหนึ่งของโลก ในปี พ.ศ. 2550 ปริมาณเนื้อสุกรที่นำเข้ามีจำนวน 1,210,000 ตัน คิดเป็นร้อยละ 23.81 ของปริมาณเนื้อสุกรทั่วโลก ประเภทของเนื้อสุกรที่ประเทศญี่ปุ่นนำเข้านั้น ประกอบด้วย เนื้อสุกรแช่เย็น 306,000 ตัน เนื้อสุกรแช่แข็ง 682,000 ตัน และผลิตภัณฑ์เนื้อสุกรแปรรูป 222,000 ตัน โดยประเทศสหรัฐอเมริกาเป็นประเทศผู้ส่งออกเนื้อสุกรไปยังประเทศญี่ปุ่นมากที่สุดทั้งในรูปแบบของเนื้อสุกรแช่เย็น แช่แข็ง และผลิตภัณฑ์สุกรแปรรูป ส่วนประเทศไทยนั้นถือเป็นประเทศผู้ส่งออกผลิตภัณฑ์สุกรแปรรูปให้แก่ประเทศญี่ปุ่นมากเป็นอันดับที่ 4 โดยมีปริมาณการส่งออก 4,621 ตัน หรือคิดเป็นร้อยละ 3 ของปริมาณการนำเข้าผลิตภัณฑ์สุกรแปรรูปทั้งหมดของประเทศญี่ปุ่น (GAIN Report/USDA, 2008) และในปี 2008 สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร คาดว่าการส่งออกเนื้อสุกรแปรรูปจากประเทศไทยไปยังประเทศญี่ปุ่นจะมีแนวโน้มที่เพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากประเทศญี่ปุ่นให้การยอมรับในเรื่องคุณภาพและมาตรฐานเนื้อสุกรแปรรูปของประเทศไทยเพิ่มมากขึ้น รวมทั้งได้มีการทำความตกลงหุ้นส่วนเศรษฐกิจระหว่างประเทศไทยและประเทศญี่ปุ่น(JTEPA)ขึ้น ซึ่งถือเป็นปัจจัยที่ช่วยส่งเสริมให้มีการส่งออกเพิ่มมากขึ้น อย่างไรก็ตามกฎหมาย Domestic Animal Infection Disease Control Law (Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, 2007) และ Food Sanitation Law (Japan External Trade Organization, 2006) ของประเทศญี่ปุ่น ยังจัดให้ประเทศไทยเป็นประเทศต้องห้ามในการนำเข้าเนื้อสุกร เนื่องจากประเทศไทยยังมีโรคปากและเท้าเปื่อยระบาดอยู่ จึงทำให้ประเทศไทยส่งออกผลิตภัณฑ์สุกรไปยังประเทศญี่ปุ่นได้เฉพาะผลิตภัณฑ์เนื้อสุกรที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนตามที่กระทรวงเกษตร ป่าไม้ และการประมง (Ministry of Agriculture, Forestry, and Fisheries) ของประเทศญี่ปุ่นกำหนดเท่านั้น (สุวิมล และคณะ, 1997ข)

โรคปากและเท้าเปื่อย (Foot-and-mouth disease) เป็นโรคที่ Office International des Epizootics (OIE; World Organisation for Animal Health, 2000) จัดให้อยู่ใน List A ซึ่งถือเป็นโรคระบาดสัตว์ที่รุนแรง สามารถแพร่กระจายได้อย่างรวดเร็วและกว้างขวางทั้งภายในประเทศและระหว่างประเทศ และยังก่อให้เกิดการสูญเสียทางเศรษฐกิจอย่างรุนแรงอีกด้วย ซึ่งโรคนี้จะก่อให้เกิดโรคอย่างรุนแรงและเฉียบพลันในสัตว์กีบคู่ทุกชนิด สัตว์ที่ป่วยมักพบตุ่มน้ำใสทั้งภายในและรอบๆบริเวณปาก และบริเวณกีบ ส่งผลให้สัตว์เกิดอาการเดินกะเผลก ซึม เบื่ออาหาร และมีไข้ (Alaxandersen et al., 2003)

ดังนั้นเพื่อป้องกันการแพร่ระบาดของโรคปากและเท้าเปื่อย ประเทศที่ปลอดโรคปากและเท้าเปื่อยจึงไม่อนุญาตให้มีการนำเข้าสัตว์มีชีวิต เนื้อสัตว์ และผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์จากประเทศที่ยังมีการระบาดของโรคปากและเท้าเปื่อย โดย OIE ได้กำหนดให้การส่งออกเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์จากประเทศที่ยังมีการระบาดของโรคปากและเท้าเปื่อย ต้องมีการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ โดยเนื้อสัตว์จะต้องผ่านการปรุงสุกด้วยความร้อนจนอุณหภูมิใจกลางชิ้นเนื้อมากกว่าหรือเท่ากับ 70 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาอย่างน้อย 30 นาที (OIE, 2006) ในขณะที่กระทรวงเกษตร ป่าไม้ และการประมงของประเทศญี่ปุ่น ซึ่งเป็นตลาดหลักในการส่งออกผลิตภัณฑ์เนื้อสุกรแปรรูปของประเทศไทยนั้น ได้กำหนดมาตรฐานการให้ความร้อนแก่ผลิตภัณฑ์ต่างๆที่ได้จากเนื้อของสัตว์กีบไว้ว่า เนื้อสัตว์จะต้องผ่านกระบวนการการให้ความร้อนด้วยวิธีการต้มในน้ำเดือด หรือนึ่งด้วยไอน้ำร้อนที่มีอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสหรือสูงกว่า จนอุณหภูมิใจกลางชิ้นเนื้อมากกว่าหรือเท่ากับ 70 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาอย่างน้อย 1 นาที หรือหากเนื้อสัตว์นั้นผ่านกระบวนการการให้ความร้อนโดยวิธีอื่นๆ จะต้องได้รับความร้อนจนอุณหภูมิใจกลางชิ้นเนื้อมากกว่าหรือเท่ากับ 70 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาอย่างน้อย 30 นาที (สุวิมล และคณะ,1997ก)

นอกจากข้อกำหนดต่างๆ ของประเทศคู่ค้าแล้ว การส่งออกผลิตภัณฑ์แปรรูปไปยังประเทศใดๆนั้น จะต้องคำนึงถึงความนิยมในการบริโภคในประเทศนั้นๆด้วย หากประเทศไทยจะส่งออกเนื้อสุกรไปยังประเทศญี่ปุ่นซึ่งเป็นตลาดส่งออกเนื้อสุกรแปรรูปที่สำคัญของประเทศไทยแล้วนั้น ผลิตภัณฑ์แปรรูปที่น่าสนใจ คือ เนื้อสุกรชุบแป้งทอด (Tonkatsu) และเนื้อสุกรอบ ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์เนื้อสุกรปรุงสุกที่เข้าข่ายการให้ความร้อนด้วยวิธีการอื่นๆ ตามข้อกำหนดของกระทรวงเกษตร ป่าไม้ และประมงของประเทศญี่ปุ่น ดังนั้นผลิตภัณฑ์แปรรูปจากเนื้อสุกรทั้งสองชนิดนี้ ต้องผ่านความร้อนด้วยวิธีการทอด หรืออบ ให้อุณหภูมิกึ่งกลางเป็น 70 องศาเซลเซียสหรือสูงกว่า เป็นระยะเวลาไม่น้อยกว่า 30 นาที (สุวิมล และคณะ, 1997ข) ซึ่งผลิตภัณฑ์เนื้อสุกรประเภทอบและทอดนั้น ถือเป็นวิธีการหุงต้มโดยการใช้ความร้อนแบบแห้ง ซึ่งเนื้อสุกรอบจะอาศัยอากาศในการพา

ความร้อน ส่วนเนื้อสุกรทอดจะอาศัยน้ำมันในการพาความร้อน (สุวิมล และคณะ, 1997ก) ซึ่งตามข้อกำหนดของประเทศญี่ปุ่นนั้น ไม่ได้มีการแจกแจงในเรื่องของกระบวนการการให้ความร้อนโดยคำนึงถึงกลไกการพาความร้อนไว้อย่างชัดเจน ดังนั้นอุณหภูมิ และช่วงเวลาที่กำหนดอาจไม่สอดคล้องกับลักษณะของผลิตภัณฑ์ ทำให้การควบคุมการผลิตเป็นไปได้ยากมาก และผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะปรากฏไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคได้ รวมทั้งหากนำเนื้อสุกรไปผ่านความร้อนตามที่กำหนดไว้นั้น ผลิตภัณฑ์เนื้อสุกรที่ได้จะมีความน่ารับประทานลดน้อยลงมาก ดังนั้นหากต้องการพัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อสุกรเพื่อการส่งออกไปยังประเทศญี่ปุ่นให้มีรูปแบบผลิตภัณฑ์ที่หลากหลายมากยิ่งขึ้น ประเทศไทยจึงควรทำการศึกษาวิจัยเพื่อหาอุณหภูมิและระยะเวลาที่เหมาะสมในการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์ที่มีการระบาดจริงในประเทศไทย โดยใช้ผลิตภัณฑ์เนื้อสุกรที่ผ่านวิธีการให้ความร้อนที่ต้องการจะส่งออก ซึ่งการศึกษาหาอุณหภูมิและระยะเวลาที่เหมาะสมในการทำลายไวรัสนั้น สามารถคำนวณได้จากค่า D หรือ Decimal reduction time (DRT หรือ D-value หรือ D_T) ซึ่งเป็นค่าของระยะเวลาที่ใช้ในการลดจำนวนไวรัสลงร้อยละ 90 ณ อุณหภูมิหนึ่ง ที่จำเพาะกับสภาวะที่ใช้ในการทดลองนั้น และค่า D ยังใช้ในการเปรียบเทียบความต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์ได้อีกด้วย (ศุภชัย และคณะ, 2005)

จากการรวบรวมข้อมูลของ Ryan และคณะ (2008) ในเรื่อง “ความเข้มข้นของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสัตว์” พบว่ามีการศึกษาหาปริมาณของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย และช่วงเวลาในการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยด้วยความร้อนจำนวนมาก โดยเป็นการศึกษาในเนื้อเยื่อและผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสัตว์ชนิดต่างๆ แต่พบว่าวิธีการที่ใช้ในการศึกษานั้นมีความแตกต่างกันออกไป ทำให้ผลการศึกษาที่ได้ไม่สามารถจะนำมาเปรียบเทียบกันได้ ดังนั้นหากจะทำการศึกษาหาช่วงเวลาและอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยด้วยความร้อนเพื่อให้นำมาใช้ประโยชน์ได้จริง จึงควรทำการศึกษาโดยอาศัยค่าทางวิทยาศาสตร์ นั่นคือ ค่า D แต่กลับพบว่าการศึกษาค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในผลิตภัณฑ์อาหารนั้นมีผู้ทำการศึกษาเป็นจำนวนน้อยมาก

ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้ จึงได้มุ่งเน้นที่จะศึกษาในเรื่องการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์โอ เอ และเอเชียวัน ซึ่งเป็นไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยที่มีการระบาดอยู่ในประเทศไทย โดยทำการศึกษาในผลิตภัณฑ์เนื้อสุกรปรุงสุกที่ผ่านวิธีการให้ความร้อน 4 วิธี ได้แก่ เนื้อสุกรทอด (Deep Fried Pork), เนื้อสุกรชุบแป้งทอด (Tonkatsu Pork), เนื้อสุกรอบ (Roasted Pork), และเนื้อสุกรอบเกลือ (Salt Roasted Pork) โดยมีช่วงอุณหภูมิเป้าหมายอยู่ระหว่าง 50-80 องศาเซลเซียส ในรูปของค่า D ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่ออุตสาหกรรมการผลิตผลิตภัณฑ์แปรรูปจาก

เนื้อสุกรเพื่อทำการส่งออกจากประเทศไทยไปยังประเทศญี่ปุ่น โดยค่า D ที่ได้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในขั้นตอนการผลิตได้อย่างแท้จริง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. ลักษณะทั่วไปของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย

ไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย (Foot-and-mouth disease virus) จัดอยู่ในสกุล Aphthovirus วงศ์ *Picornaviridae* (Belsham, 1993 อ้างถึงโดย Alaxandersen et al., 2003) เป็นอาร์เอนเอไวรัสสายเดี่ยว (single-stranded RNA virus) (Garland and Donaldson อ้างถึงโดย Davies, 2002) ที่ไม่มีเปลือกหุ้ม (non-enveloped) มีรูปร่างเป็น Icosahedral ขนาดเส้นผ่านจุดศูนย์กลาง 26 นาโนเมตร (Alaxandersen et al., 2003) สามารถแบ่งได้เป็น 7 ซีโรไทป์ ได้แก่ O, A, C, SAT1, SAT2, SAT3 และ Asia1 (OIE, 2000) ประเทศไทยพบมีการระบาดอยู่ 3 ซีโรไทป์ ได้แก่ ซีโรไทป์ O, A และ Asia1 (Kitching, 1999)

2. โรคปากและเท้าเปื่อย

โรคปากและเท้าเปื่อย (Foot-and-mouth disease) เป็นโรคติดต่อที่สำคัญมากในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดความสูญเสียทางด้านเศรษฐกิจอย่างรุนแรงในสัตว์กีบคู่ที่ติดโรค (OIE, 2000) โดยโรคนี้จะก่อให้เกิดโรคอย่างรุนแรง และเฉียบพลันในสัตว์กีบคู่ทุกชนิด ไม่ว่าจะเป็นสัตว์เคี้ยวเอื้อง สุกร และสัตว์ป่าอีกมากกว่า 70 สปีชีส์ (Coetzer et al., 1994 อ้างถึงโดย Alaxandersen et al., 2003)

สัตว์ที่ป่วยด้วยโรคปากและเท้าเปื่อย มักพบตุ่มน้ำใสทั้งภายในและรอบๆบริเวณปาก และในบริเวณกีบซึ่งส่งผลให้เกิดอาการเดินกะเผลกเมื่อตุ่มน้ำแตกเป็นแผลเปิด นอกจากนี้ยังอาจพบตุ่มน้ำใสได้ในบริเวณจมูก หัวนม เต้านม หนังหุ้มลึงค์ ปากมดลูก และบริเวณผิวหนังส่วนอื่นๆ อาการทางคลินิกมักพบว่าเป็นรุนแรงในสุกร โดยจะพบว่าสุกรมีอาการเดินกะเผลกอย่างเฉียบพลัน ยืนน้อยลง มักนั่งอยู่ในท่าคล้ายกับสุนัข (dog-sitting posture) ซึม เบื่ออาหาร และมีไข้ อัตราการตายในสัตว์ที่โตเต็มวัยมีไม่มากนัก แต่จะพบอัตราการตายสูงมากในสัตว์ที่อายุน้อย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในลูกสุกร เนื่องจากอาการกล้ามเนื้อหัวใจอักเสบ (myocarditis) (Alaxandersen et al., 2003) นอกจากนี้ยังพบว่า ไวรัสสามารถแพร่กระจายออกจากร่างกายของสุกรได้ในปริมาณที่มากกว่าในโค และแกะ แต่กลับพบว่าสุกรที่หายป่วยแล้ว ไม่มีภาวะเป็นตัวกักเก็บไวรัส (Carrier) เหมือนในโค แพะ หรือแกะ (Davies, 2002)

ภาพที่ 1 รอยโรคปากและเท้าเปื่อยในสุกร ในบริเวณไรกีบ จมูก และโคนลิ้น
(Alexandersen et al., 2003)

3. <u>การระบาดของโรคปากและเท้าเปื่อย</u>

โรคปากและเท้าเปื่อยพบว่ามีการระบาดตั้งแต่ในช่วงปลายศตวรรษที่ 19 จนถึงช่วงต้นของศตวรรษที่ 20 ในทวีปยุโรป หลังจากนั้นได้มีการพัฒนาวัคซีนที่ใช้ในการป้องกันโรคปากและเท้าเปื่อยขึ้นเพื่อช่วยในการควบคุมป้องกันโรค ต่อมาในช่วงปี 1992-2001 พบว่ามีการระบาดเกิดขึ้นอีกในประเทศแถบยุโรป ได้แก่ บัลแกเรีย อิตาลี รัสเซีย กรีซ อัลบาเนีย มาซีโดเนีย และยูโกสลาเวีย และในประเทศแถบเอเชีย และแอฟริกา

ต่อมาในปี 1997 พบว่ามีการระบาดของโรคปากและเท้าเปื่อยขึ้นในประเทศไต้หวัน หลังจากที่ปลอดจากโรคปากและเท้าเปื่อยไปแล้ว 68 ปี ซึ่งการระบาดครั้งนี้ทำให้ประชากรสุกรที่มีอยู่ลดลงประมาณร้อยละ 38 ของประชากรสุกรทั้งหมด ซึ่งคิดเป็นมูลค่าประมาณ 6 ล้านเหรียญสหรัฐ ซึ่งไวรัสที่ก่อให้เกิดการระบาดในครั้งนี้ คือ ไวรัสซีโรไทป์โอ (O/Taw/97) และในการระบาดครั้งนี้นั้นเกิดขึ้นเฉพาะในสุกร

ในปี 1999-2000 พบมีการระบาดของโรคปากและเท้าเปื่อยในประเทศแถบเอเชียตะวันออก แอฟริกาใต้ และในประเทศสหราชอาณาจักร ซึ่งเกิดจากไวรัสซีโรไทป์โอ และพบว่ามีการระบาดซ้ำในประเทศไต้หวัน ในโคและแพะ

ในปี 2000 พบมีการระบาดของโรคปากและเท้าเปื่อยในประเทศเกาหลีใต้ (O/SKR/2000) ญี่ปุ่น (O/JPN/2000) และแอฟริกาใต้ (PanAsian type O) และในปี 2001 พบมีการระบาดของโรคปากและเท้าเปื่อยขึ้นในประเทศสหราชอาณาจักรซึ่งถือเป็นการระบาดครั้งใหญ่และส่งผลกระทบต่อเศรษฐกิจอย่างรุนแรง (Grubman และ Baxt, 2004)

4. <u>การคงตัวของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย</u>

การศึกษาของ Parker (1971) โดยการฉีดไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์โอที่ชั้นใต้ผิวหนังบริเวณลิ้นของโค และที่ชั้นใต้ผิวหนังบริเวณไรกีบของสุกรและแกะ แล้วเก็บอุจจาระของสัตว์แต่ละชนิดมาตรวจหาไวรัส พบว่าไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยสามารถคงอยู่ได้ในอุจจาระของโคเป็นเวลา 12 วัน ในอุจจาระสุกรเป็นเวลา 10 วัน และในอุจจาระของแกะพบไวรัสเฉพาะในวันที่ 2 ที่ได้ทำการศึกษา

Lasta และคณะ (1992) ได้ทำการศึกษาการพบไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในเนื้อเยื่อต่างๆ ได้แก่ กล้ามเนื้อ ต่อมน้ำเหลือง ลิ่มเลือด และไขกระดูก ในโคที่ทำให้เกิดโรคปากและเท้าเปื่อย พบว่า หลังจากที่สัตว์ตายมีไวรัสในตัวอย่างเนื้อเยื่อต่างๆ คิดเป็นร้อยละ 88.8 ของตัวอย่างเนื้อเยื่อทั้งหมด และเมื่อทำการเก็บซากที่อุณหภูมิ 1 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 2 และ 7 วัน พบว่า ยังคงมีไวรัสอยู่ในเนื้อเยื่อต่างๆ ยกเว้นในกล้ามเนื้อที่ไม่พบไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยอยู่เลย ทั้งนี้เนื่องจากในกล้ามเนื้อมีความเป็นกรดด่าง (pH) ต่ำกว่า 6 แต่ในเนื้อเยื่ออื่นๆ มีความเป็นกรดด่างมากกว่า 6 นั่นเอง

รายงานของ Davies (2002) พบว่า ไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยสามารถคงอยู่ได้เป็นเวลานานในสภาวะที่มีความเป็นกรดด่างเป็นกลาง โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่อุณหภูมิต่ำ เช่น ในตู้เย็น ในช่องแช่แข็ง แต่จะถูกทำลายได้เมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมที่มีอุณหภูมิสูงกว่า 50 องศาเซลเซียส หรืออยู่ในสภาวะที่มีความเป็นกรดด่าง ต่ำกว่า 6.0 หรือสูงกว่า 9.0

5. <u>การพบไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในเนื้อเยื่อต่างๆของสุกร</u>

ไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยสามารถพบได้ในต่อมน้ำเหลือง และในไขกระดูกที่มีค่าความเป็นกรดด่างเป็นกลาง แต่จะไม่พบในกล้ามเนื้อ เนื่องจากการเกิด rigor mortis ทำให้ความเป็นกรดด่างในกล้ามเนื้อลดลงต่ำกว่า 6 (OIE, 2000)

การศึกษาของ Cottral ในปี 1960 พบว่าหลังจากที่สัตว์ตาย กล้ามเนื้อของสัตว์จะเกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมี ที่เรียกว่า การเกิด Rigor mortis ขึ้น โดยไกลโคเจนในกล้ามเนื้อจะถูกเปลี่ยนไปเป็นกรดแลกติก ซึ่งมีผลทำให้ความเป็นกรดด่างของกล้ามเนื้อลดต่ำลง โดยในเนื้อโคพบว่าความเป็นกรดด่างจะลดลงจาก 7.2 หลังจากที่สัตว์ถูกเชือด เป็น 5.4-6.0 หลังจากที่เกิด Rigor mortis แล้ว แต่สำหรับในเนื้อสุกรกลับพบว่าความเป็นกรดด่างจะลดลงไปไม่ต่ำกว่า 5.7 ทั้งนี้เนื่องจากเนื้อสุกรมีปริมาณของไกลโคเจนอยู่ไม่มากเท่าในเนื้อโค จึงทำให้ความเป็นกรดด่างลดลงเพียงเล็กน้อย ซึ่งอาจทำให้เนื้อสุกรมีโอกาสที่จะพบไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยได้มากกว่าในเนื้อโค

เช่นเดียวกับการรายงานของ Donaldson (1987) ที่อ้างถึงโดย Alexandersen และคณะ (2003) พบว่าในช่วงที่ซากโคเกิด rigor mortis ภายในกล้ามเนื้อจะเกิดการสร้างกรดขึ้น ซึ่งมีผลในการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย แต่ในเนื้อสุกรกลับพบว่าความเป็นกรดในกล้ามเนื้อ อาจมีผลต่อการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยได้ไม่แน่นอนเหมือนในเนื้อโค ส่วนในเนื้อแกะนั้นยังไม่มีผู้ใดทำการศึกษา นอกจากกล้ามเนื้อแล้ว ความเป็นกรดด่างในไขกระดูก ต่อมน้ำเหลือง และอวัยวะภายในบางอย่างนั้นกลับไม่ลดลงในระหว่างที่เกิด rigor mortis จึงสามารถพบไวรัสในอวัยวะเหล่านี้ได้เป็นระยะเวลานาน และอาจจะเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการแพร่ระบาดของโรคได้ หากนำเอาอวัยวะเหล่านี้ไปเป็นอาหารสัตว์โดยที่ไม่ผ่านความร้อน

สุกรที่เครียดก่อนถูกเชือด และโดยเฉพาะอย่างยิ่งในบางสายพันธุ์ พบว่า ความเป็นกรดด่างหลังจากที่สัตว์ตายนั้น กลับไม่ลดลง ทำให้เกิดเนื้อ ‘dry, firm, and dark’ (DFD) ได้ ซึ่งทำให้ผู้ค้าเนื้อสุกรไม่เชื่อว่าความเป็นกรดด่างของเนื้อจะลดลงต่ำกว่า 6 ได้ (Have, 2003 อ้างถึงโดย Ryan et al., 2008)

ปี 1997 Mebus และคณะ ได้ทำการศึกษาการคงอยู่ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในผลิตภัณฑ์เนื้อสุกรอบแห้งแบบสเปน โดยทำการเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อต่างๆ หลังจากที่สัตว์ตาย แล้วทำการหาปริมาณไวรัสโดยใช้เซลล์ไตแกะ พบว่าในเลือด ต่อมน้ำเหลือง ไขกระดูก ไขมัน และ กล้ามเนื้อ มีปริมาณไตเตอร์ของไวรัสเท่ากับ 3.6, 3.4, 1.9, 0.5 และ 0.03 Log_{10} Plaque Forming Unit (PFU)/ml ตามลำดับ และในวันที่ 14 หลังจากที่ผ่านกระบวนการไปแล้ว ไม่สามารถตรวจพบไวรัสในกล้ามเนื้อ แต่ในวันที่ 84 ยังสามารถตรวจพบไวรัสในไขกระดูกอยู่

6. <u>การทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยด้วยความร้อน</u>

ปี 1982 Blackwell และคณะ ได้ทำการศึกษาถึงผลของอุณหภูมิที่มีผลต่อการคงตัวของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในต่อมน้ำเหลือง และเนื้อบดผสมต่อมน้ำเหลือง ที่ผ่านความร้อน พบว่าในต่อมน้ำเหลืองที่ผ่านความร้อนอุณหภูมิ 69, 82 และ 90 องศาเซลเซียส สามารถพบไวรัสได้ในระยะเวลา 2, 1 และ 0.25 ชั่วโมง ตามลำดับ และที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส สามารถพบไวรัสได้ในเวลา 0.5 ชั่วโมงในต่อมน้ำเหลืองที่มีโซเดียมคลอไรด์ผสมอยู่ร้อยละ 1 ส่วนในเนื้อบดผสมต่อมน้ำเหลืองที่ผ่านความร้อนโดยมีอุณหภูมิใจกลาง 98.8 องศาเซลเซียส สามารถทำลายไวรัสได้จนหมด

การศึกษาของ Garcia-Vidal และคณะ ในปี 1988 พบว่าเนื้อที่ได้จากโคที่ได้รับไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย โดยการฉีดเข้าใต้ผิวหนังบริเวณลิ้นด้วยไวรัสที่มีความเข้มข้น 6.2 $\log_{10}$ Tissue Culture Infective $Dose_{50}$ ($TCID_{50}$)/ml จำนวน 2 มิลลิลิตร แล้วนำเนื้อโคที่ได้ใส่ลงในถุง เมื่อเนื้อโคผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที หรือ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ไวรัสที่มีอยู่ในเนื้อโคจะถูกทำลายจนหมด

ปี 1998 Dekker ได้ทำการศึกษาการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยด้วยความร้อน, ฟอร์มัลดีไฮด์, เอทิลลีนออกไซด์ และรังสีแกมม่า โดยนำเอาสารละลายไวรัสหยดลงบนสไลด์แล้วทำให้แห้ง พบว่าไวรัสที่ผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 37, 50 และ 80 องศาเซลเซียส จะถูกทำลายหมดในเวลา 7 วัน, 2 วัน และ 3.75 นาที ตามลำดับ

ปี 1989 Blackwell และ Rickansrud ได้ทำการศึกษาการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยด้วยความร้อนในผลิตภัณฑ์ปรุงรสหลายชนิดที่ได้จากเนื้อโคที่ทำให้เกิดโรคปากและเท้าเปื่อย โดยก่อนจะผ่านความร้อนได้ทำการวัดความเป็นกรดด่างในผลิตภัณฑ์แต่ละชนิด พบว่ามีค่าความเป็นกรดด่างเฉลี่ยเท่ากับ 5.58 และพบไวรัสในทุกผลิตภัณฑ์ ยกเว้นใน Salisbury steak เมื่อนำผลิตภัณฑ์เนื้อโคที่มีส่วนผสมของเกลืออินทรีย์ เช่น เกลือโซเดียมคลอไรด์ เกลือโพลีฟอสเฟต เกลือไนไตรท์ หรือเครื่องเทศ ไปผ่านความร้อนให้มีอุณหภูมิใจกลางเท่ากับ 79.4 องศาเซลเซียสแล้ว ความร้อนจะสามารถทำลายไวรัสได้จนหมด ยกเว้นในผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของนมหรือหัวใจซึ่งมีไวรัสอยู่ แต่อย่างไรก็ตามไวรัสจะถูกทำลายจนหมดได้ เมื่อผลิตภัณฑ์เหล่านั้นได้รับความร้อนที่มีอุณหภูมิใจกลางเป็น 93 องศาเซลเซียส ดังนั้นการคงตัวของไวรัสในระหว่างกระบวนการการให้ความร้อนจึงไม่ได้ขึ้นอยู่กับความเป็นกรดด่าง หรือส่วนผสมของเครื่องปรุงที่ใช้ในผลิตภัณฑ์แต่เพียงอย่างเดียว แต่ขึ้นอยู่กับส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ ว่ามีส่วนผสมที่ปนเปื้อนไวรัสอยู่ด้วยหรือไม่

การศึกษาผลของความร้อน รังสี และค่าความเป็นกรดด่างที่มีผลต่อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในเนื้อเยื่อโคของ Lasta และคณะ (1992) โดยการนำเนื้อเยื่อต่อมน้ำเหลือง ลิ่มเลือดที่แข็งตัว ไขกระดูก และกล้ามเนื้อของโคที่ทำให้เกิดโรคปากและเท้าเปื่อย มาผ่านวิธีการต่างๆ ได้แก่ การหมักด้วยเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และ 5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร การผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 78 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที และการฉายรังสี พบว่า การหมักด้วยเกลือโซเดียมคลอไรด์ไม่มีผลต่อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยแต่อย่างใด การผ่านความร้อนสามารถทำลายไวรัสได้เป็นจำนวนมาก ส่วนการฉายรังสีนั้น พบว่าสามารถทำลายไวรัสได้เช่นกัน แต่ไม่มากเท่ากับการผ่านความร้อน นอกจากนี้ยังพบว่าวิธีการที่สามารถทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด คือ การฉายรังสีร่วมกับการผ่านความร้อน

การศึกษาการทำลายและการลดลงของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยเสตรนโอไต้หวัน 97 (*O Taiwan97*) ในการผลิตไส้กรอกสุกรของ Chou และ Yang (2004) โดยทำการเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อต่อมน้ำเหลือง ก้อนลิ่มเลือดที่แข็งตัว และกล้ามเนื้อ จากสุกรที่ได้รับไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย 10^6 $TCID_{50}$ /ml ปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร ฉีดเข้าทางผิวหนังบริเวณอุ้งเท้าด้านหน้าข้างขวา แล้วนำเนื้อเยื่อที่ได้นั้นมาทำการศึกษา โดยศึกษาแยกเป็นตัวอย่างที่ได้จากกล้ามเนื้อ กล้ามเนื้อผสมต่อมน้ำเหลือง กล้ามเนื้อผสมก้อนลิ่มเลือดที่แข็งตัว และกล้ามเนื้อที่ไม่มีไวรัสแต่ใช้มีดที่ถูกพ่นด้วยไวรัสทำการเฉือนบนชิ้นเนื้อ แล้วนำตัวอย่างเหล่านี้มาผ่านกระบวนการต่างๆ ได้แก่ การเก็บในห้องเย็นที่อุณหภูมิ 2-5 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน, การหมักเนื้อด้วยเครื่องปรุงต่างๆ แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน, การอบแห้งโดยให้มีอุณหภูมิเริ่มต้นที่ 50 องศาเซลเซียสแล้วเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นเป็น 70 องศาเซลเซียสภายในเวลา 12 นาที และอบต่อไปที่ 70 องศาเซลเซียส อีกเป็นเวลา 5 นาที, และการอบด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที โดยทำการวัดค่าความเป็นกรดด่าง และหาปริมาณของไวรัสด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเซลล์ และวิธี RT-PCR (Reverse transcription polymerase chain reaction) ในแต่ละขั้นตอนการผลิต ซึ่งพบว่า กล้ามเนื้อมีค่าความเป็นกรดด่างหลังจากที่สัตว์ถูกเชือดเท่ากับ 6.5±0.3 และเมื่อทำการเก็บซากในห้องเย็น และทำการหมักเนื้อด้วยเครื่องปรุงต่างๆแล้ว ความเป็นกรดด่างลดลงเหลือเท่ากับ 5.7±0.1 และ 5.9±0.2 ตามลำดับ ส่วนปริมาณของไวรัสที่พบในเนื้อเยื่อต่างๆ หลังผ่านกระบวนการผลิตในแต่ละขั้นตอน พบว่ามีไวรัสลดลงมากกว่าร้อยละ 90 ยกเว้นในตัวอย่างกล้ามเนื้อผสมต่อมน้ำเหลืองหลังจากผ่านการอบแห้ง พบว่าไวรัสลดลงน้อยกว่าร้อยละ 80 และไม่พบไวรัสเลยในเนื้อเยื่อที่มีเฉพาะกล้ามเนื้อ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าต่อมน้ำเหลืองเป็นเนื้อเยื่อที่ไวรัสสะสมอยู่ได้มากที่สุด ในส่วนของการตรวจหาจีโนม (genome) ของไวรัสด้วยวิธี RT-PCR พบว่า ในกล้ามเนื้อก่อนการผ่านกระบวนการต่างๆ มีจีโนมของไวรัสอยู่ร้อยละ 88 และพบว่ามีจีโนมของไวรัสอยู่ในซีรั่ม ก้อนลิ่มเลือดที่แข็งตัว และต่อมน้ำเหลืองด้วย และเมื่อนำตัวอย่างต่างๆ

รวมทั้งตัวอย่างของกล้ามเนื้อที่ถูกเฉือนด้วยมีดที่มีไวรัสไปผ่านกระบวนการต่างๆแล้ว พบว่าจีโนมของไวรัสในแต่ละตัวอย่างลดลงจากเดิมน้อยกว่าร้อยละ 60 ยกเว้นในกระบวนการอบด้วยไอน้ำที่จีโนมของไวรัสลดลงมากกว่าร้อยละ 60 ซึ่งจากการศึกษาครั้งนี้จะเห็นได้ว่าเนื้อสุกรมีโอกาสที่จะมีไวรัสปนเปื้อนจากเนื้อเยื่ออื่นๆ หรือจากอุปกรณ์ที่มีการปนเปื้อนไวรัสที่ใช้ในการผลิตเนื้อสุกรได้ และกระบวนการต่างๆที่ใช้นั้น ก็ไม่ใช่ทุกกระบวนการที่จะสามารถทำลายไวรัสได้จนหมด ดังนั้นสิ่งสำคัญของกระบวนการการผลิตผลิตภัณฑ์จากเนื้อสุกรที่ต้องคำนึงถึง คือ ค่าความเป็นกรดด่างของเนื้อเยื่อ และอุณหภูมิที่ใช้ในการทำลายไวรัส เพื่อให้สามารถทำลายไวรัสได้จนหมดแม้ว่าระหว่างกระบวนการผลิตจะมีการปนเปื้อนของไวรัสก็ตาม

ปี 2007 Kamolsiripichaiporn และคณะ ได้ทำการศึกษาการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในสารละลายด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 50, 60, 70, 80, 90 และ 100 องศาเซลเซียส โดยไวรัสที่ทำการศึกษานี้เป็นไวรัสที่แยกได้จากการระบาดที่เกิดขึ้นในประเทศไทย ในรูปของค่าอัตราการทำลายไวรัส หรือค่า D จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า ค่า D ที่อุณหภูมิ 50, 60, 70, 80, 90 และ 100 องศาเซลเซียสเท่ากับ 732-1,275 วินาที, 16.37-42.00 วินาที, 6.06-10.87 วินาที, 2.84-5.99 วินาที, 1.65-3.18 วินาที และ 1.90-2.94 วินาที ตามลำดับ ซึ่งอุณหภูมิที่มีประสิทธิภาพในการทำลายไวรัสคืออุณหภูมิในช่วง 60 องศาเซลเซียสหรือสูงกว่า แต่กลับพบว่าอุณหภูมิที่สูงกว่า 80 องศาเซลเซียสนั้นสามารถทำลายไวรัสได้แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาหาการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์โอ เอ และเอเชียวัน ที่มีการระบาดในประเทศไทยในผลิตภัณฑ์เนื้อสุกรปรุงสุกด้วยความร้อน 4 วิธี ได้แก่ เนื้อสุกรทอด เนื้อสุกรอบ เนื้อสุกรชุบแป้งทอด และเนื้อสุกรอบเกลือ โดยมีช่วงอุณหภูมิเป้าหมายที่ 50, 60, 70, และ 80 องศาเซลเซียส ในรูปของค่า D

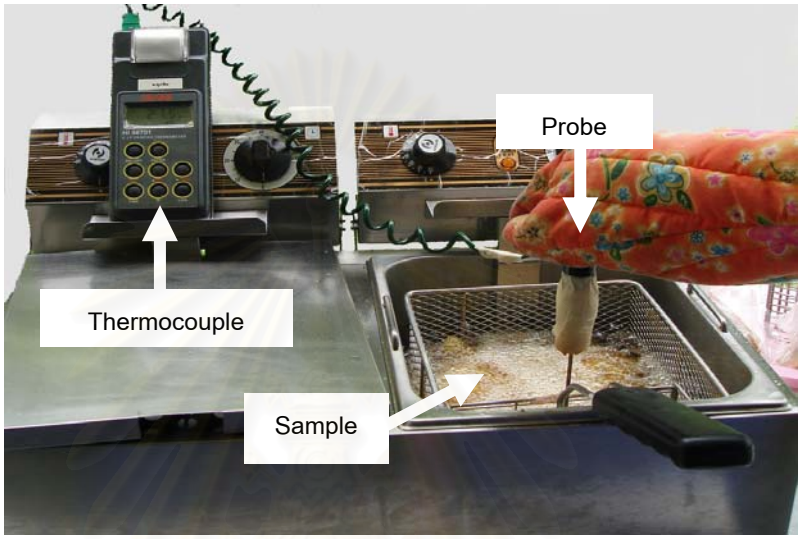
วิธีดำเนินการวิจัย

ทำการศึกษาการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์โอ เอ และเอเชียวัน ในเนื้อสุกรและผลิตภัณฑ์สุกร ที่อุณหภูมิ 50, 60, 70 และ 80 องศาเซลเซียส ซึ่งระยะเวลานั้นจะกำหนดจากผลการศึกษานำร่อง (Preliminary Study) เพื่อให้สามารถตรวจพบไวรัสที่เหลือได้ก่อนที่ไวรัสจะถูกทำลายจนหมด โดยใช้ความร้อนในการทำลายไวรัส 4 วิธี ได้แก่ การทอด การอบ การชุบแป้งทอด และการอบเกลือ จากนั้นนำตัวอย่างเนื้อสุกรที่มีไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยที่ผ่านความร้อนด้วยวิธีต่างๆมาวัดระดับความเข้มข้นของไวรัส (Virus Titration) เพื่อนำไปใช้ในการสร้างกราฟการทำลายไวรัส และวิเคราะห์หาเวลาที่ใช้ในการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยหรือค่า D โดยในแต่ละอุณหภูมิ แต่ละซีโรไทป์ของไวรัส และแต่ละวิธีการให้ความร้อน จะทำการศึกษาซ้ำ 3 ครั้ง

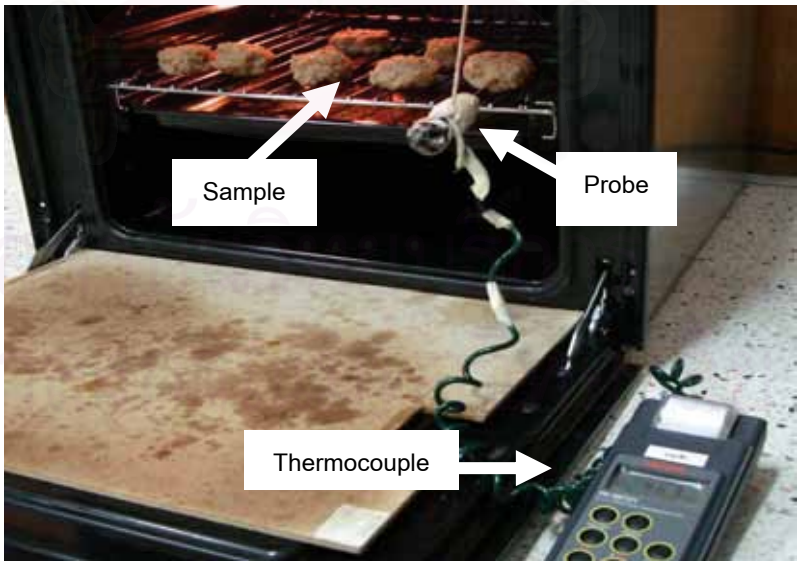
ก. <u>การทำลายไวรัสในเนื้อสุกรและผลิตภัณฑ์สุกรด้วยความร้อน</u>

1. วัดค่า pH ในเนื้อสุกรบด โดยใช้แถบวัด pH (Merck®) ทำการปรับ pH ให้ได้ 7-8 โดยเติมสารละลาย $NaHCO_3$ เข้มข้นร้อยละ 7 ลงในเนื้อสุกร (สำหรับเนื้อสุกรที่จะนำไปผ่านความร้อนด้วยการชุบแป้งทอด และอบเกลือ ให้เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ และเกลือโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต เข้มข้นร้อยละ 0.8 (w/w) และร้อยละ 0.04 (w/w) ตามลำดับ ลงในเนื้อสุกร ทิ้งไว้ข้ามคืน แล้วจึงนำมาวัดค่า pH)
2. ปั้นเนื้อสุกรให้เป็นชิ้นขนาดเส้นผ่านจุดศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร หนา 2 เซนติเมตร น้ำหนักประมาณ 60 กรัมต่อชิ้น

3. นำเนื้อสุกรมาผ่านความร้อนด้วยวิธีการต่างๆ ได้แก่ ทอด, ชุบแป้งทอด (เนื้อสุกรบดคลุกกับแป้ง ไข่ไก่ และเกล็ดขนมปัง), อบ, และอบเกลือ จนอุณหภูมิใจกลางเนื้อสุกรถึงอุณหภูมิเป้าหมาย (50°C, 60°C, 70°C, และ 80°C) โดยการวัดอุณหภูมิใจกลางเนื้อสุกรจะใช้หัววัดอุณหภูมิ (Probe) ของเครื่องวัดอุณหภูมิ (Thermocouple; Hanna® HI98701) สอดลงในเนื้อสุกรชิ้นควบคุม (Control) (ภาพที่ 2 และ ภาพที่ 3)



ภาพที่ 2 การทำลายไวรัสด้วยความร้อนด้วยวิธีการทอด



ภาพที่ 3 การทำลายไวรัสด้วยความร้อนด้วยวิธีการอบ

4. เมื่อถึงอุณหภูมิเป้าหมาย นำไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์โอ (O118/87) เข้มข้น 10^7 $TCID_{50}$/ml ซีโรไทป์เอ (A118/87) เข้มข้น 10^6 $TCID_{50}$/ml ซีโรไทป์เอเชียวัน (AS1) เข้มข้น 10^8 $TCID_{50}$/ml ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ฉีดเข้าไปตรงจุดกึ่งกลางของชิ้นเนื้อสุกร (ยกเว้นชิ้นควบคุม จะยังไม่ฉีดไวรัส แต่จะฉีดเมื่อเนื้อสุกรเย็นลงแล้ว) เมื่อครบระยะเวลาที่กำหนดดังตารางที่ 1 ให้เก็บเนื้อสุกรแช่ลงในน้ำแข็งทันที เพื่อให้อุณหภูมิในเนื้อสุกรลดลงอย่างรวดเร็ว ซึ่งถือเป็นการหยุดการทำลายไวรัสด้วยความร้อน (De Leeuw et al., 1980; Blackwell et al., 1982)

ตารางที่ 1 ระยะเวลาที่ใช้ในการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในเนื้อสุกรแต่ละอุณหภูมิ

ระยะเวลาที่ใช้ในการทำลายไวรัส*	อุณหภูมิเป้าหมาย (°C)			
	50	60	70	80
T0	0 นาที	0 วินาที	0 วินาที	0 วินาที
T1	30 นาที	50 วินาที	30 วินาที	5 วินาที
T2	60 นาที	100 วินาที	60 วินาที	10 วินาที
T3	90 นาที	150 วินาที	90 วินาที	15 วินาที
T4	120 นาที	200 วินาที	120 วินาที	20 วินาที

*ระยะเวลากำหนดจากผลการศึกษานำร่อง

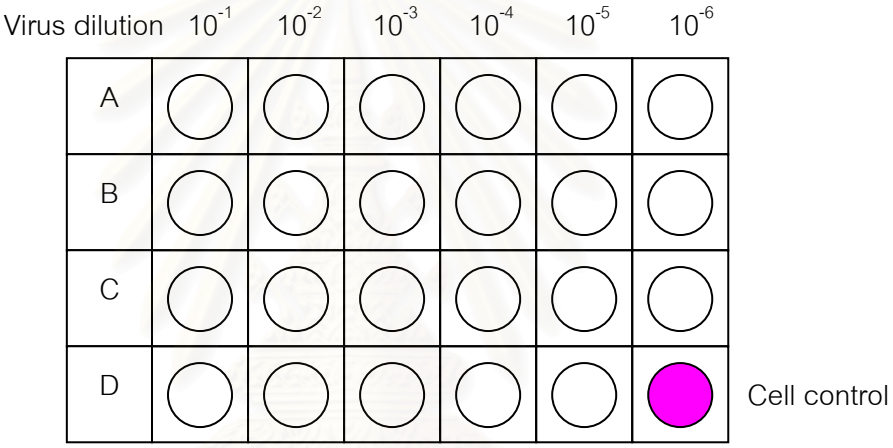
5. หลังจากเนื้อสุกรเย็นลงแล้ว นำพิมพ์วงกลมขนาดเส้นผ่านจุดศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร กดลงตรงกลางชิ้นเนื้อสุกรแต่ละชิ้น (จะได้เนื้อสุกรที่มีน้ำหนัก 8-10 กรัม) นำไปแช่ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส รอการแยกสกัดไวรัสต่อไป

ข. <u>การแยกสกัดไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยจากตัวอย่างเนื้อสุกรและผลิตภัณฑ์สุกร</u>

ทำการแยกสกัดไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยตามวิธีการแยกสกัดไวรัส (Virus isolation) จากเนื้อเยื่อของ Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animal (OIE, 2000) (สามารถดูเทคนิคการแยกสกัดไวรัสประกอบได้ในภาคผนวก ค)

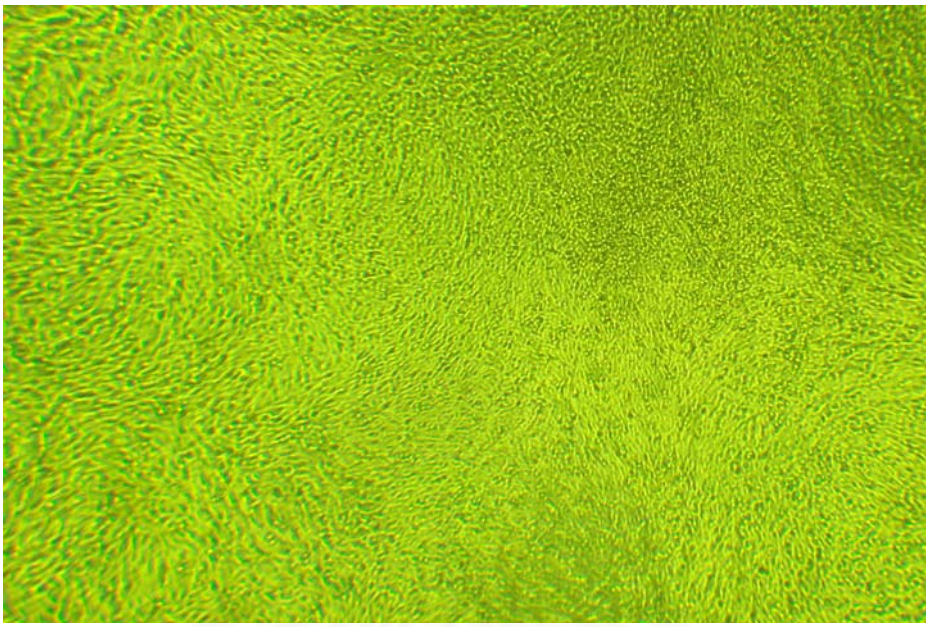
ค. <u>การหาปริมาณไวรัส</u>

1. เตรียมเซลล์ BHK-21 ที่เพาะเลี้ยงใน Growth Medium (GM) (สามารถดูเทคนิคการเตรียม Growth Medium ประกอบได้ในภาคผนวก ก) ลงบนไมโครเพลทขนาด 24 หลุม หลุมละ 500 ไมโครลิตร
2. เจือจางไวรัสแบบ 10-fold serial dilution ด้วย Maintenance Medium (MM) (สามารถดูเทคนิคการเตรียม Maintenance Medium ประกอบได้ในภาคผนวก ก)
3. ใส่สารละลายไวรัสที่ได้จากการเจือจาง ในข้อ 2 ลงในไมโครเพลท 24 หลุม ตามภาพที่ 4 หลุมละ 200 ไมโครลิตร และเติม MM 200 ไมโครลิตร ลงในหลุมสุดท้าย เพื่อเป็น Cell control เขย่าให้ไวรัสและเซลล์ผสมเข้ากัน

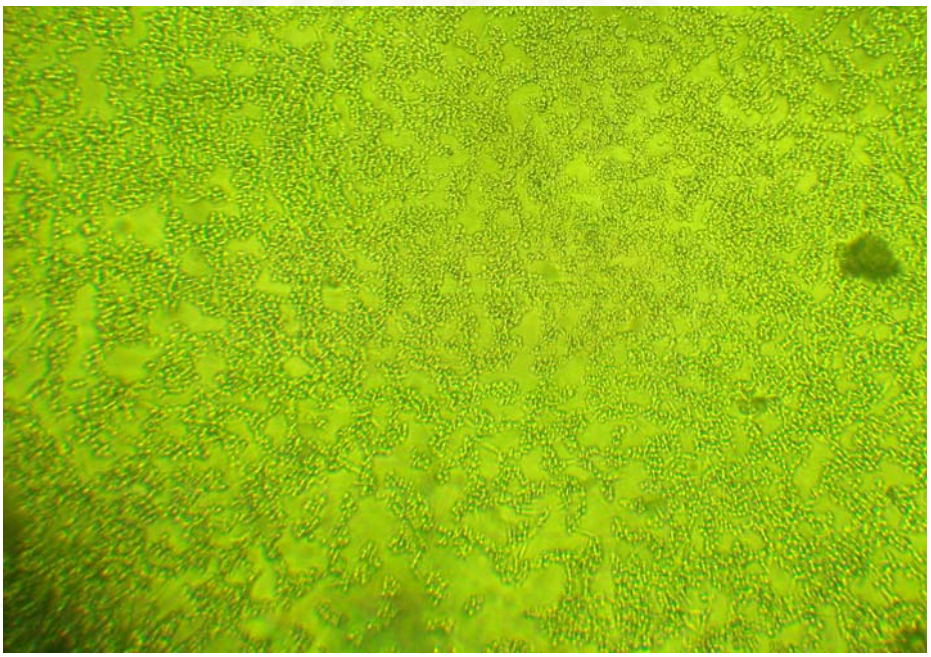


ภาพที่ 4 ไมโครเพลท 24 หลุม ที่ใช้ในขั้นตอนการหาปริมาณไวรัสด้วยวิธี $TCID_{50}$

4. นำเพลทเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
5. อ่านผลการเกิดการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เพาะเลี้ยง (cytopathic effect: CPE) โดยการส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ Inverted microscope โดยหลุมที่ไม่เกิด CPE อ่านผลเป็นลบ (ภาพที่ 5) และหลุมที่เกิด CPE อ่านผลเป็นบวก (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 5 เซลล์เพาะเลี้ยงชนิด BHK-21 ปกติ



ภาพที่ 6 เซลล์เพาะเลี้ยงชนิด BHK-21 ที่เกิด Cytopathic Effect (CPE)

6. นำผลที่ได้มาคำนวณหาปริมาณความเข้มข้นของไวรัสในหน่วยร้อยละ 50 Tissue Culture Infective Dose ($TCID_{50}$) ต่อมิลลิลิตร ตามวิธีของ Spearman-Karber (Karber, 1931 อ้างถึงโดย Marmion and Simmons, 1996; Brain and Kangro, 1996 อ้างถึงโดย Villegas, 1998) ซึ่งคำนวณได้จากสูตร

$$\text{Log } TCID_{50} = X_{p=1} + \tfrac{1}{2}\, d - d\sum p$$

$X_{p=1}$ = ค่า log ของลำดับการเจือจางของไวรัสที่มากที่สุดที่ให้ผลบวกทั้งหมด

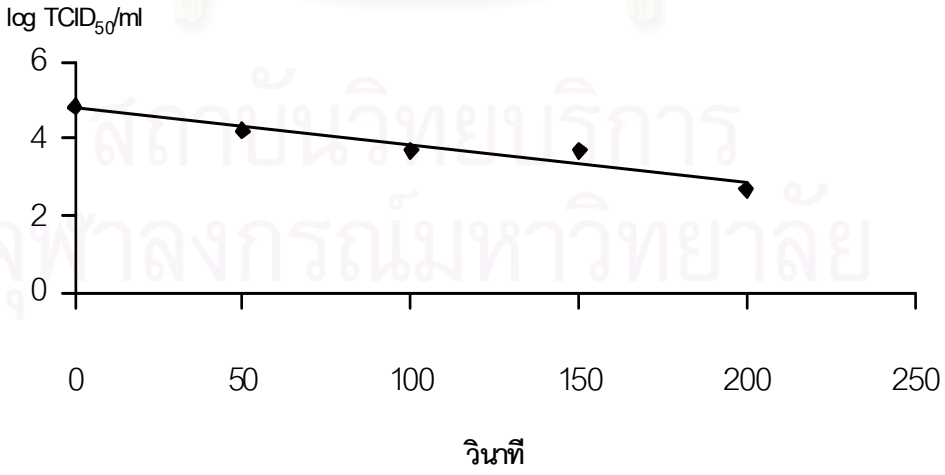
p = อัตราการเกิด CPE ที่ให้ผลบวกในแต่ละลำดับการเจือจาง

d = ค่าลำดับการเจือจางของไวรัส = 1

$\sum p$ = ค่ารวมของ p ตั้งแต่ลำดับการเจือจางที่ให้ผลบวกทั้งหมด จนถึงลำดับการเจือจางสุดท้าย

ง. <u>การวิเคราะห์หาระยะเวลาที่ใช้ในการทำลายไวรัส (D-value)</u>

1. สร้างกราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในแต่ละอุณหภูมิ โดยใช้โปรแกรม Microsoft Excel ซึ่งกำหนดให้แกน Y แสดงถึงระดับความเข้มข้นของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในหน่วย log $TCID_{50}$/ml ส่วนแกน X แสดงถึงระยะเวลาในการให้ความร้อนในหน่วยวินาที ดังภาพที่ 7



ภาพที่ 7 ตัวอย่างกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย

2. คำนวณค่าสมการเส้นตรงมาตรฐาน คือ

$$Y = aX + b$$

โดยที่ a คือ ค่าความชันของสมการเส้นตรง

b คือ จุดตัดของเส้นตรงบนแกน y

X คือ ระยะเวลาในการทำลายไวรัส หน่วยเป็น วินาที

Y คือ ปริมาณความเข้มข้นของไวรัส หน่วยเป็น log $TCID_{50}$/ml

3. คำนวณ D-value ซึ่งเป็นระยะเวลาที่ใช้ในการลดจำนวนไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยลง 1 Log หรือ ร้อยละ 90 ณ อุณหภูมิหนึ่ง ภายใต้สภาวะการทดลองนั้น ซึ่งคำนวณได้จากค่าลบของส่วนกลับของความชันจากสมการเส้นตรงที่ได้ ดังสูตร

$$\text{D-value} = -1/a$$

จ. <u>การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ</u>

วิเคราะห์ค่าความชัน (Slope) ของกราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยที่คำนวณได้จากสมการเส้นตรงด้วยวิธี Linear Regression เพื่อทำการทดสอบสมมุติฐานว่าค่าความชันที่ได้มีความแตกต่างจากศูนย์หรือไม่ ($H_0 = \beta_1 = 0$) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และทำการประเมินว่าสมการเส้นตรงที่ได้สามารถเป็นตัวแทนของข้อมูลดิบที่ได้มากน้อยเพียงใด (goodness of fit) โดยพิจารณาจากค่า root mean square error (RMSE) โดยค่า RMSE ยิ่งน้อยสมการเส้นตรงที่ได้ก็จะยิ่งมีความเหมาะสมกับข้อมูลดิบมากขึ้นเท่านั้น (Juneja et al., 2001 อ้างถึงโดย ศุภชัย และคณะ, 2005)

จากนั้นทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในเนื้อสุกรและผลิตภัณฑ์สุกร ระหว่างผลิตภัณฑ์ทั้ง 4 ชนิด, ระหว่างอุณหภูมิ 50-80 องศาเซลเซียส, และระหว่างซีโรไทป์ของไวรัส โดยใช้วิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวน (One-way ANOVA) และทำการวิเคราะห์ความแตกต่างของปัจจัยซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ คือ ชนิดของผลิตภัณฑ์, อุณหภูมิ, หรือซีโรไทป์ โดยใช้ multiple comparison ด้วยวิธีการของ Tukey โดยกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ร้อยละ 5

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

1. วัตถุดิบที่ใช้ในงานวิจัย (สามารถดูเทคนิคการเตรียมประกอบได้ในภาคผนวก ก และ ข)
    1.1. อาหารเลี้ยงเซลล์ Modified Eagle's Medium (MEM)
    1.2. Bacto Tryptose Phosphate Broth
    1.3. L-glutamine
    1.4. Normal Bovine Serum
    1.5. สารต้านเชื้อรา (Fungizone)
    1.6. สารต้านจุลชีพ (Antibiotic)
    1.7. Trypsin
    1.8. Ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt (EDTA) หรือ Versene
    1.9. เซลล์เพาะเลี้ยงชนิด Baby Hamster Kidney-21 (BHK-21)
    1.10. 0.04 M Phosphate Buffer Saline สำหรับแยกสกัดไวรัสจากตัวอย่างเนื้อเยื่อ
    1.11. 0.01 M Phosphate Buffer Saline สำหรับล้างเซลล์
    1.12. เนื้อสุกรบด
    1.13. น้ำมันปาล์ม

2. สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย (สามารถดูเทคนิคการเตรียมประกอบได้ในภาคผนวก ก)
    2.1. โซเดียมไบคาร์บอเนต ($NaHCO_3$)
    2.2. โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต ($Na_5P_3O_{10}$; STPP)
    2.3. โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)
    2.4. โปแตสเซียมคลอไรด์ (KCl)
    2.5. ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4)
    2.6. โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)
    2.7. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

3. อุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย
    3.1. ไมโครเพลท 24 หลุม (24-well microplate)
    3.2. ไมโครปิเปต ขนาด 50-200 µl และ 200-1000 µl
    3.3. ไมโครปิเปตทิป ขนาด 200 µl และ 1000 µl
    3.4. ขวดเพาะเลี้ยงเซลล์ขนาด 50 มิลลิลิตร พร้อมจุกยาง
    3.5. โกร่งบดตัวอย่าง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.6. กรรไกรและปากคีบ

3.7. หลอดเซนตริฟิวจ์ ขนาด 50 มิลลิลิตร

3.8. พาราฟินฟิล์ม

3.9. ขวดแก้วขนาด 10, 100, 500 และ 1000 มิลลิลิตร

3.10. กระดาษกรอง (Syringe filter) ขนาด 0.45 µm

3.11. กระบอกฉีดยาพลาสติก ขนาด 10 มิลลิลิตร

3.12. ถ้วยพลาสติกสำหรับชั่งตัวอย่าง

3.13. ปิเปตแก้ว ขนาด 1, 2, 5 และ 10 มิลลิลิตร

3.14. pH-indicator strips (Merck®)

3.15. ทรายละเอียด

3.16. กระติกน้ำแข็ง

3.17. พิมพ์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร หนา 2 เซนติเมตร สำหรับขึ้นรูปเนื้อสุกร

3.18. พิมพ์วงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร

3.19. ถุงพลาสติก

3.20. ปิเปตปลายงอ (Komagome pipette) ขนาด 10 มิลลิลิตร และลูกยาง

4. เครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย

4.1. ตู้ Lamina flow biological safety cabinet class II (BSC-II)

4.2. เครื่องชั่งสาร

4.3. เครื่องปั่นเหวี่ยงชนิดทำความเย็น

4.4. ตู้เย็น 2-8 องศาเซลเซียส

4.5. เตาอบไฟฟ้า

4.6. เตาทอดไฟฟ้า

4.7. เครื่องวัดอุณหภูมิพร้อมแท่งวัดอุณหภูมิ (Thermocouple; Hanna® HI98701)

4.8. ตู้ CO_2 Incubator (Sanyo® MCO-17AC, Japan)

4.9. นาฬิกาจับเวลา

4.10. กล้องจุลทรรศน์แบบ inverted microscope

4.11. เครื่องชั่งขนาด 1 กิโลกรัม สำหรับชั่งเนื้อสุกร

4.12. เครื่องชั่งดิจิตอลขนาด 1 กรัม (Miki®)

4.13. เครื่อง magnetic stirrer และแท่งแม่เหล็ก

4.14. เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5. ตัวอย่างไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยที่ใช้ในงานวิจัย

ตัวอย่างไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยที่ใช้ในการวิจัยควรเป็นไวรัสที่เป็นตัวแทนของไวรัสที่มีการระบาดในประเทศไทย ดังนั้น การวิจัยครั้งนี้จึงได้เลือกไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์ โอ เอ และเอเชียวัน ซึ่งเป็นซีโรไทป์ที่พบว่ามีการระบาดในประเทศไทย ซึ่งแยกได้โดยศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อย อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา และเป็นสเตรนเดียวกับที่ทางกรมปศุสัตว์ได้นำมาใช้ผลิตวัคซีนเพื่อป้องกันโรคปากและเท้าเปื่อย สเตรนของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยที่นำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้ ได้แก่ O189/87, A118/87 และ Asia1

ผลการศึกษานำร่อง

จากการศึกษานำร่อง โดยทำการศึกษาหาค่า D หรือช่วงเวลาที่ใช้ในการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอเชียวัน แสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในผลิตภัณฑ์เนื้อสุกรจากการศึกษานำร่อง

อุณหภูมิ	ค่า D (วินาที)			
(องศาเซลเซียส)	ทอด	ชุบแป้งทอด	อบ	อบเกลือ
50	1,972.60	1,596.74	1,311.76	2,880.00
60	93.02	114.29	57.97	133.33
70	21.47	13.49	20.73	22.15
80	4.50	3.27	10.81	2.70

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการวิเคราะห์การทำลายไวรัส (D-value)

จากการศึกษาการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์โอ เอ และเอเชียวัน ในเนื้อสุกรและผลิตภัณฑ์สุกร ที่อุณหภูมิ 50, 60, 70 และ 80 องศาเซลเซียส โดยใช้วิธีการให้ความร้อนในการทำลายไวรัส 4 วิธี ได้แก่ การทอด การอบ การชุบแป้งทอด และการอบเกลือ จากนั้นนำตัวอย่างเนื้อสุกรที่ผ่านความร้อนด้วยวิธีต่างๆมาวัดระดับความเข้มข้นของไวรัส (Virus Titration) แล้วจึงนำข้อมูลที่ได้ไปใช้ในการสร้างกราฟการทำลายไวรัส และวิเคราะห์หาค่า D โดยแยกออกเป็นค่า D ในแต่ละวิธีการให้ความร้อน ของแต่ละอุณหภูมิ และแต่ละซีโรไทป์ของไวรัส ซึ่งได้ทำการศึกษาซ้ำทั้งหมด 3 ครั้ง ซึ่งในแต่ละครั้งจะทำการวิเคราะห์ค่าความชันของกราฟการทำลายไวรัสด้วยวิธี Linear Regression ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ควบคู่ไปด้วย แล้วจึงนำค่า D จากการศึกษาซ้ำทั้ง 3 ครั้ง มาทำการหาค่าเฉลี่ย คิดเป็นค่า D จำเพาะของแต่ละวิธีการศึกษานั้นๆ โดยค่า D ที่ได้จะทำการพิจารณาค่าของ root mean square error (RMSE) ร่วมด้วย ซึ่งได้ผลดังต่อไปนี้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ก. <u>เนื้อสุกรทอด (Deep Fried Pork)</u>

ค่า D (วินาที) ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์ต่างๆ ในเนื้อสุกรที่ผ่านความร้อนด้วยวิธีการทอด ที่อุณหภูมิ 50, 60, 70 และ 80 องศาเซลเซียส แสดงในตารางที่ 3 (สามารถดูกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย ค่า D สมการกราฟเส้นตรง และตารางการวิเคราะห์ค่าความชันของกราฟการทำลายไวรัสได้ในภาคผนวก ง)

ตารางที่ 3 ค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในเนื้อสุกรทอด ที่อุณหภูมิ 50-80 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิ (°C)		**ซีโรไทป์**					
		โอ		**เอ**		**เอเชียวัน**	
		D-value	*RMSE*	*D-value*	*RMSE*	*D-value*	*RMSE*
50	ซ้ำที่ 1	2,880.00	0.390	2,880.00	0.217	1,972.60	0.310
	ซ้ำที่ 2	4,363.64*	0.357	5,929.41*	0.134	2,666.67	0.337
	ซ้ำที่ 3	4,235.29	0.411	3,063.83	0.222	1,636.36	0.129
	ค่าเฉลี่ย[a]	3,826.31		3,957.75		2,091.88	
	SD[b]	822.04		1,709.98		525.41	
60	ซ้ำที่ 1	65.82	0.507	142.86*	0.362	93.02	0.048
	ซ้ำที่ 2	285.71*	0.292	114.29*	0.051	285.71*	0.742
	ซ้ำที่ 3	181.82	0.121	111.11*	0.296	50.00	0.489
	ค่าเฉลี่ย	177.78		122.75		142.91	
	SD	110.00		17.48		125.53	
70	ซ้ำที่ 1	48.55*	0.795	77.42	0.074	21.47*	0.950
	ซ้ำที่ 2	25.32	0.579	58.54*	0.339	38.71*	0.693
	ซ้ำที่ 3	21.55*	0.855	20.00*	0.408	18.64	0.718
	ค่าเฉลี่ย	31.81		51.99		26.27	
	SD	14.62		29.26		10.86	
80	ซ้ำที่ 1	3.19*	0.950	3.31	0.365	4.50	0.021
	ซ้ำที่ 2	4.23	0.709	1.92	0.081	5.13*	0.592
	ซ้ำที่ 3	5.60*	0.856	2.02	0.021	4.04	0.021
	ค่าเฉลี่ย	4.34		2.42		4.56	
	SD	1.21		0.78		0.55	

หมายเหตุ : [a] ค่า D เฉลี่ย (วินาที) ของทั้ง 3 ซ้ำ, [b] ค่า SD (Standard Deviation) ของค่า D ทั้ง 3 ซ้ำ

* ค่า p-value > 0.05 ในการทดสอบค่าความชันของกราฟการทำลายไวรัสทางสถิติด้วย Linear Regression

ข. <u>เนื้อสุกรชุบแป้งทอด (Tonkatsu Pork)</u>

ค่า D (วินาที) ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์ต่างๆ ในเนื้อสุกรที่ผ่านความร้อนด้วยวิธีการชุบแป้งทอด ที่อุณหภูมิ 50, 60, 70 และ 80 องศาเซลเซียส แสดงในตารางที่ 4 (สามารถดูกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย ค่า D สมการกราฟเส้นตรง และตารางการวิเคราะห์ค่าความชันของกราฟการทำลายไวรัสได้ในภาคผนวก ง)

ตารางที่ 4 ค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในเนื้อสุกรชุบแป้งทอด ที่อุณหภูมิ 50-80 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิ (°C)		**ซีโรไทป์**					
		โอ		**เอ**		**เอเชียวัน**	
		D-value	*RMSE*	*D-value*	*RMSE*	*D-value*	*RMSE*
50	ซ้ำที่ 1	3,428.57	0.254	3,348.84*	0.436	7,200.00*	0.408
	ซ้ำที่ 2	4,235.29	0.299	2,880.00	0.217	3,512.20*	0.591
	ซ้ำที่ 3	2,880.00	0.740	2,880.00*	0.468	4,800.00*	0.217
	ค่าเฉลี่ย[a]	3,514.62		3,036.28		5,170.73	
	SD[b]	681.73		270.68		1,871.65	
60	ซ้ำที่ 1	125.00	0.224	250.00*	0.387	142.86*	0.712
	ซ้ำที่ 2	142.86	0.258	181.82*	0.406	114.29*	0.459
	ซ้ำที่ 3	105.26	0.237	200.00*	0.316	155.56*	0.134
	ค่าเฉลี่ย	124.37		210.61		137.57	
	SD	18.80		35.31		21.14	
70	ซ้ำที่ 1	52.50*	0.871	28.99	0.571	18.99*	0.843
	ซ้ำที่ 2	37.50	0.316	60.00	0.483	23.08*	0.536
	ซ้ำที่ 3	30.47	0.956	120.00*	0.258	24.00*	0.468
	ค่าเฉลี่ย	40.16		69.66		22.02	
	SD	11.25		46.27		2.67	
80	ซ้ำที่ 1	3.32*	0.978	8.86*	0.505	3.27*	0.911
	ซ้ำที่ 2	6.93*	0.556	4.72	0.105	10.00*	0.408
	ซ้ำที่ 3	3.44*	0.791	3.82	0.699	5.71*	0.714
	ค่าเฉลี่ย	4.56		5.80		6.33	
	SD	2.05		2.69		3.41	

หมายเหตุ : [a] ค่า D เฉลี่ย (วินาที) ของทั้ง 3 ซ้ำ, [b] ค่า SD (Standard Deviation) ของค่า D ทั้ง 3 ซ้ำ

* ค่า p-value > 0.05 ในการทดสอบค่าความชันของกราฟการทำลายไวรัสทางสถิติด้วย Linear Regression

ค. <u>เนื้อสุกรอบ (Roasted Pork)</u>

ค่า D (วินาที) ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์ต่างๆ ในเนื้อสุกรที่ผ่านความร้อนด้วยวิธีการอบ ที่อุณหภูมิ 50, 60, 70 และ 80 องศาเซลเซียส แสดงในตารางที่ 5 (สามารถดูกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย ค่า D สมการกราฟเส้นตรง และตารางการวิเคราะห์ค่าความชันของกราฟการทำลายไวรัสได้ในภาคผนวก ง)

ตารางที่ 5 ค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในเนื้อสุกรอบ ที่อุณหภูมิ 50-80 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิ (°C)		**ซีโรไทป์**					
		โอ		**เอ**		**เอเชียวัน**	
		D-value	*RMSE*	*D-value*	*RMSE*	*D-value*	*RMSE*
50	ซ้ำที่ 1	4,500.00	0.233	5,142.86*	0.194	1,311.76*	1.051
	ซ้ำที่ 2	4,500.00	0.183	6,260.87*	0.398	2,482.76*	0.458
	ซ้ำที่ 3	4,235.29	0.137	6,000.00*	0.366	2,880.00*	0.331
	ค่าเฉลี่ย[a]	4,411.76		5,801.24		2,224.84	
	SD[b]	152.83		584.91		815.31	
60	ซ้ำที่ 1	105.26	0.246	250.00*	0.158	57.97	0.074
	ซ้ำที่ 2	105.26	0.426	160.00*	0.300	62.50	0.296
	ซ้ำที่ 3	142.86	0.183	137.06	0.271	83.33	0.079
	ค่าเฉลี่ย	117.79		182.35		67.93	
	SD	21.70		59.70		13.53	
70	ซ้ำที่ 1	42.86	0.474	80.00*	0.217	20.73	0.381
	ซ้ำที่ 2	38.71	0.254	96.00*	0.325	21.67	0.517
	ซ้ำที่ 3	52.17	0.219	68.57*	0.845	19.87	0.365
	ค่าเฉลี่ย	44.58		81.52		20.76	
	SD	6.90		13.78		0.90	
80	ซ้ำที่ 1	4.22	0.565	14.00*	0.267	10.81*	0.714
	ซ้ำที่ 2	5.00	0.574	5.39	0.147	6.99*	0.895
	ซ้ำที่ 3	3.36	0.561	6.67*	0.408	6.97	0.727
	ค่าเฉลี่ย	4.19		8.69		8.26	
	SD	0.82		4.65		2.21	

หมายเหตุ : [a] ค่า D เฉลี่ย (วินาที) ของทั้ง 3 ซ้ำ, [b] ค่า SD (Standard Deviation) ของค่า D ทั้ง 3 ซ้ำ

* ค่า p-value > 0.05 ในการทดสอบค่าความชันของกราฟการทำลายไวรัสทางสถิติด้วย Linear Regression

ง. <u>เนื้อสุกรอบเกลือ (Salt Roasted Pork)</u>

ค่า D (วินาที) ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์ต่างๆ ในเนื้อสุกรที่ผ่านความร้อนด้วยวิธีการอบเกลือ ที่อุณหภูมิ 50, 60, 70 และ 80 องศาเซลเซียส แสดงในตารางที่ 6 (สามารถดูกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย ค่า D สมการกราฟเส้นตรง และตารางการวิเคราะห์ค่าความชันของกราฟการทำลายไวรัสได้ในภาคผนวก ง)

ตารางที่ 6 ค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในเนื้อสุกรอบเกลือ ที่อุณหภูมิ 50-80 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิ (°C)		**ซีโรไทป์**					
		โอ		**เอ**		**เอเชียวัน**	
		D-value	*RMSE*	*D-value*	*RMSE*	*D-value*	*RMSE*
50	ซ้ำที่ 1	3,927.27	0.299	4,363.64*	0.310	3,512.20	0.261
	ซ้ำที่ 2	2,666.67	0.299	3,130.44	0.079	3,600.00	0.177
	ซ้ำที่ 3	2,880.00	0.374	3,130.44	0.326	2,880.00*	0.510
	ค่าเฉลี่ย[a]	3,157.98		3,541.50		3,330.73	
	SD[b]	674.71		711.99		392.81	
60	ซ้ำที่ 1	200.00	0.194	250.00*	0.465	88.89*	0.496
	ซ้ำที่ 2	139.53	0.294	100.00	0.258	39.69*	0.658
	ซ้ำที่ 3	166.67	0.274	166.67	0.183	133.33*	0.102
	ค่าเฉลี่ย	168.73		172.22		87.30	
	SD	30.29		75.15		46.84	
70	ซ้ำที่ 1	36.00	0.203	104.35*	0.575	22.15*	0.727
	ซ้ำที่ 2	44.44	0.435	66.67*	0.237	24.30	0.512
	ซ้ำที่ 3	38.71	0.121	42.86*	0.581	47.32	0.100
	ค่าเฉลี่ย	39.72		71.29		31.26	
	SD	4.31		31.01		13.96	
80	ซ้ำที่ 1	4.29	0.732	10.00*	0.530	2.70*	0.489
	ซ้ำที่ 2	7.06	0.585	6.67*	0.530	2.45	0.072
	ซ้ำที่ 3	6.45	0.237	6.45*	0.842	2.53*	0.225
	ค่าเฉลี่ย	5.93		7.71		2.56	
	SD	1.45		1.99		0.13	

หมายเหตุ : [a] ค่า D เฉลี่ย (วินาที) ของทั้ง 3 ซ้ำ, [b] ค่า SD (Standard Deviation) ของค่า D ทั้ง 3 ซ้ำ

* ค่า p-value > 0.05 ในการทดสอบค่าความชันของกราฟการทำลายไวรัสทางสถิติด้วย Linear Regression

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ของ ค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในเนื้อสุกรและผลิตภัณฑ์สุกร ในแต่ละวิธีการให้ความร้อน ระหว่างไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยทั้ง 3 ซีโรไทป์ และระหว่างช่วงอุณหภูมิทั้ง 4 ช่วงอุณหภูมิ แสดงดังตารางที่ 7-10 ซึ่งค่าที่ได้สามารถนำมาเปรียบเทียบให้ทราบถึงประสิทธิภาพของการให้ความร้อนแต่ละวิธีที่ใช้ในการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในเนื้อสุกรและผลิตภัณฑ์สุกรของแต่ละช่วงอุณหภูมิ และทราบถึงความต้านทานความร้อนของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยแต่ละซีโรไทป์ที่แตกต่างกันได้

ก. <u>เนื้อสุกรทอด (Deep Fried Pork)</u>

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติเพื่อเปรียบเทียบหาความแตกต่างของค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในเนื้อสุกรทอด ระหว่างอุณหภูมิ 50, 60, 70 และ 80 องศาเซลเซียส พบว่าค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยทั้ง 3 ซีโรไทป์ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส มีความแตกต่างจากอุณหภูมิอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และเมื่อทำการเปรียบเทียบค่า D ระหว่างไวรัสทั้ง 3 ซีโรไทป์ ที่อุณหภูมิเดียวกัน พบว่า ที่ทุกอุณหภูมิ ไวรัสทั้ง 3 ซีโรไทป์ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ยกเว้นที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากซีโรไทป์โอและซีโรไทป์เอเชียวัน ($p<0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่า D ในเนื้อสุกรทอด ระหว่างช่วงอุณหภูมิ และระหว่างซีโรไทป์ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย

อุณหภูมิ (°C)	ค่า D เฉลี่ย (วินาที) *		
	ซีโรไทป์โอ	ซีโรไทป์เอ	ซีโรไทป์เอเชียวัน
50	3,826.31 [A, a]	3,957.75 [A, a]	2,091.88 [A, a]
60	177.78 [B, a]	122.75 [B, a]	142.91 [B, a]
70	31.81 [B, a]	51.99 [B, a]	26.27 [B, a]
80	4.34 [B, a]	2.42 [B, b]	4.56 [B, a]

หมายเหตุ : * ค่า D เฉลี่ย (วินาที) ของทั้ง 3 ซ้ำ, ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05) ระหว่างอุณหภูมิในการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เดียวกัน (A ถึง B), ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับที่แตกต่างกันในแถวเดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05) ระหว่างซีโรไทป์ในการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยที่อุณหภูมิเดียวกัน (a ถึง b)

ข. <u>เนื้อสุกรชุบแป้งทอด (Tonkatsu Pork)</u>

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติเพื่อเปรียบเทียบหาความแตกต่างของค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในเนื้อสุกรชุบแป้งทอด ระหว่างอุณหภูมิ 50, 60, 70 และ 80 องศาเซลเซียส พบว่าค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยทั้ง 3 ซีโรไทป์ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส มีความแตกต่างจากอุณหภูมิอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และเมื่อทำการเปรียบเทียบค่า D ระหว่างไวรัสทั้ง 3 ซีโรไทป์ ที่อุณหภูมิเดียวกัน พบว่า ที่ทุกอุณหภูมิ ไวรัสทั้ง 3 ซีโรไทป์ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ยกเว้นที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากซีโรไทป์โอและซีโรไทป์เอเชียวัน ($p<0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่า D ในเนื้อสุกรชุบแป้งทอด ระหว่างช่วงอุณหภูมิ และระหว่างซีโรไทป์ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย

อุณหภูมิ (°C)	ค่า D เฉลี่ย (วินาที) *		
	ซีโรไทป์โอ	ซีโรไทป์เอ	ซีโรไทป์เอเชียวัน
50	3,514.62 $^{A, a}$	3,036.28 $^{A, a}$	5,170.73 $^{A, a}$
60	124.37 $^{B, a}$	210.61 $^{B, b}$	137.57 $^{B, a}$
70	40.16 $^{B, a}$	69.66 $^{B, a}$	22.02 $^{B, a}$
80	4.56 $^{B, a}$	5.80 $^{B, a}$	6.33 $^{B, a}$

หมายเหตุ : * ค่า D เฉลี่ย (วินาที) ของทั้ง 3 ซ้ำ, ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05) ระหว่างอุณหภูมิในการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เดียวกัน (A ถึง B), ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับที่แตกต่างกันในแถวเดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05) ระหว่างซีโรไทป์ในการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยที่อุณหภูมิเดียวกัน (a ถึง b)

ค. <u>เนื้อสุกรอบ (Roasted Pork)</u>

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติเพื่อเปรียบเทียบหาความแตกต่างของค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในเนื้อสุกรอบ (ดังแสดงในตารางที่ 9) ระหว่างอุณหภูมิ 50, 60, 70 และ 80 องศาเซลเซียส พบว่าค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยทั้ง 3 ซีโรไทป์ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส มีความแตกต่างจากอุณหภูมิอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และเมื่อทำการเปรียบเทียบค่า D ระหว่างไวรัสทั้ง 3 ซีโรไทป์ ที่อุณหภูมิเดียวกัน พบว่า

- ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอเชียวัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) จากซีโรไทป์โอ และซีโรไทป์เอ
- ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอ และซีโรไทป์เอเชียวัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่ค่า D ของซีโรไทป์โอไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากซีโรไทป์อื่น ($p>0.05$)
- ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยทั้ง 3 ซีโรไทป์ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)
- ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยทั้ง 3 ซีโรไทป์ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ 9 การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่า D ในเนื้อสุกรอบ ระหว่างช่วงอุณหภูมิ และระหว่างซีโรไทป์ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย

อุณหภูมิ (°C)	ค่า D เฉลี่ย (วินาที) *		
	ซีโรไทป์โอ	ซีโรไทป์เอ	ซีโรไทป์เอเชียวัน
50	4,411.76 $^{A, a}$	5,801.24 $^{A, a}$	2,224.84 $^{A, b}$
60	117.79 $^{B, a,b}$	182.35 $^{B, a}$	67.93 $^{B, b}$
70	44.58 $^{B, a}$	81.52 $^{B, b}$	20.76 $^{B, c}$
80	4.19 $^{B, a}$	8.69 $^{B, a}$	8.26 $^{B, a}$

หมายเหตุ : * ค่า D เฉลี่ย (วินาที) ของทั้ง 3 ซ้ำ, ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ระหว่างอุณหภูมิในการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เดียวกัน (A ถึง B), ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับที่แตกต่างกันในแถวเดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ระหว่างซีโรไทป์ในการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยที่อุณหภูมิเดียวกัน (a ถึง c)

ง. <u>เนื้อสุกรอบเกลือ (Salt Roasted Pork)</u>

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติเพื่อเปรียบเทียบหาความแตกต่างของค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในเนื้อสุกรอบเกลือ ระหว่างอุณหภูมิ 50, 60, 70 และ 80 องศาเซลเซียส พบว่าค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยทั้ง 3 ซีโรไทป์ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส มีความแตกต่างจากอุณหภูมิอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และเมื่อทำการเปรียบเทียบค่า D ระหว่างไวรัสทั้ง 3 ซีโรไทป์ ที่อุณหภูมิเดียวกัน พบว่า ที่ทุกอุณหภูมิ ไวรัสทั้ง 3 ซีโรไทป์ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ยกเว้นที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอ และซีโรไทป์เอเชียวัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่ทั้งสองซีโรไทป์ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับซีโรไทป์โอ ($p>0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 10

ตารางที่ 10 การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่า D ในเนื้อสุกรอบเกลือ ระหว่างช่วงอุณหภูมิ และระหว่างซีโรไทป์ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย

อุณหภูมิ (°C)	ค่า D เฉลี่ย (วินาที) *		
	ซีโรไทป์โอ	ซีโรไทป์เอ	ซีโรไทป์เอเชียวัน
50	3,157.98 $^{A, a}$	3,541.50 $^{A, a}$	3,330.73 $^{A, a}$
60	168.73 $^{B, a}$	172.22 $^{B, a}$	87.30 $^{B, a}$
70	39.72 $^{B, a}$	71.29 $^{B, a}$	31.26 $^{B, a}$
80	5.93 $^{B, a,b}$	7.71 $^{B, a}$	2.56 $^{B, b}$

หมายเหตุ : * ค่า D เฉลี่ย (วินาที) ของทั้ง 3 ซ้ำ, ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ระหว่างอุณหภูมิในการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เดียวกัน (A ถึง B), ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับที่แตกต่างกันในแถวเดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ระหว่างซีโรไทป์ในการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยที่อุณหภูมิเดียวกัน (a ถึง b)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

นอกจากนี้เมื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ของค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในเนื้อสุกรและผลิตภัณฑ์สุกร ระหว่างวิธีการให้ความร้อน ในไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เดียวกัน และที่อุณหภูมิเดียวกัน แสดงดังตารางที่ 11-13 ซึ่งค่าที่ได้สามารถนำมาเปรียบเทียบให้ทราบถึงความแตกต่างของประสิทธิภาพในแต่ละวิธีการให้ความร้อนที่ใช้ในการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในเนื้อสุกรและผลิตภัณฑ์สุกรของแต่ละอุณหภูมิได้

ก. <u>ซีโรไทป์โอ</u>

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติเพื่อเปรียบเทียบหาความแตกต่างของค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในเนื้อสุกรและผลิตภัณฑ์สุกร ในไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์โอที่อุณหภูมิ 50, 60, 70 และ 80 องศาเซลเซียส ระหว่างวิธีการทอด, ชุบแป้งทอด, อบ และอบเกลือ พบว่าค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยระหว่างแต่ละวิธีการให้ความร้อน ที่อุณหภูมิเดียวกันนั้น ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติต่อกัน ($p>0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 11

ตารางที่ 11 การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่า D ระหว่างวิธีการให้ความร้อน ที่อุณหภูมิเดียวกันของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์โอ

อุณหภูมิ	ค่า D เฉลี่ย (วินาที) *			
(°C)	เนื้อสุกรทอด	เนื้อสุกรชุบแป้งทอด	เนื้อสุกรอบ	เนื้อสุกรอบเกลือ
50	3,826.31 ^{A}	3,514.62 ^{A}	4,411.76 ^{A}	3,157.98 ^{A}
60	177.78 ^{A}	124.37 ^{A}	117.79 ^{A}	168.73 ^{A}
70	31.81 ^{A}	40.16 ^{A}	44.58 ^{A}	39.72 ^{A}
80	4.34 ^{A}	4.56 ^{A}	4.19 ^{A}	5.93 ^{A}

หมายเหตุ : * ค่า D เฉลี่ย (วินาที) ของทั้ง 3 ซ้ำ, ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับที่แตกต่างกันในแถวเดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ระหว่างวิธีการให้ความร้อนในการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยที่อุณหภูมิเดียวกัน (A)

ข. <u>ซีโรไทป์เอ</u>

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติเพื่อเปรียบเทียบหาความแตกต่างของค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในเนื้อสุกรและผลิตภัณฑ์สุกร ในไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอ ที่อุณหภูมิ 50, 60, 70 และ 80 องศาเซลเซียส ระหว่างวิธีการทอด, ชุบแป้งทอด, อบ และอบเกลือ พบว่าค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยระหว่างแต่ละวิธีการให้ความร้อน ที่อุณหภูมิเดียวกันนั้น ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติต่อกัน ($p>0.05$) ยกเว้นที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ซึ่งพบว่าการให้ความร้อนด้วยวิธีการชุบแป้งทอด มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับการให้ความร้อนด้วยวิธีการอบ ดังแสดงในตารางที่ 12

ตารางที่ 12 การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่า D ระหว่างวิธีการให้ความร้อน ที่อุณหภูมิเดียวกันของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอ

อุณหภูมิ (°C)	ค่า D เฉลี่ย (วินาที) *			
	เนื้อสุกรทอด	เนื้อสุกรชุบแป้งทอด	เนื้อสุกรอบ	เนื้อสุกรอบเกลือ
50	3,957.75 ^{A,B}	3,036.28 ^{A}	5,801.24 ^{B}	3,541.50 ^{A,B}
60	122.75 ^{A}	210.61 ^{A}	182.35 ^{A}	172.22 ^{A}
70	51.99 ^{A}	69.66 ^{A}	81.52 ^{A}	71.29 ^{A}
80	2.42 ^{A}	5.80 ^{A}	8.69 ^{A}	7.71 ^{A}

หมายเหตุ : * ค่า D เฉลี่ย (วินาที) ของทั้ง 3 ซ้ำ, ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับที่แตกต่างกันในแถวเดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ระหว่างวิธีการให้ความร้อนในการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยที่อุณหภูมิเดียวกัน (A ถึง B)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ค. <u>ซีโรไทป์เอเชียวัน</u>

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติเพื่อเปรียบเทียบหาความแตกต่างของค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในเนื้อสุกรและผลิตภัณฑ์สุกร ในไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอเชียวัน ที่อุณหภูมิ 50, 60, 70 และ 80 องศาเซลเซียส ระหว่างวิธีการทอด, ชุบแป้งทอด, อบ และอบเกลือ พบว่าค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยระหว่างแต่ละวิธีการให้ความร้อน ที่อุณหภูมิเดียวกันนั้น ที่อุณหภูมิ 60 และ 70 องศาเซลเซียส ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติต่อกัน ($p>0.05$) แต่ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส พบว่าการให้ความร้อนด้วยวิธีการทอดและการอบ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับการให้ความร้อนด้วยวิธีการชุบแป้งทอด และที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส พบว่าการให้ความร้อนด้วยวิธีการอบ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับการให้ความร้อนด้วยวิธีการอบเกลือ ดังแสดงในตารางที่ 13

ตารางที่ 13 การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่า D ระหว่างวิธีการให้ความร้อน ที่อุณหภูมิเดียวกันของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอเชียวัน

อุณหภูมิ (°C)	ค่า D เฉลี่ย (วินาที) *			
	เนื้อสุกรทอด	เนื้อสุกรชุบแป้งทอด	เนื้อสุกรอบ	เนื้อสุกรอบเกลือ
50	2,091.88 ^{A}	5,170.73 ^{B}	2,224.84 ^{A}	3,330.73 ^{A,B}
60	142.91 ^{A}	137.57 ^{A}	67.93 ^{A}	87.30 ^{A}
70	26.27 ^{A}	22.02 ^{A}	20.76 ^{A}	31.26 ^{A}
80	4.56 ^{A,B}	6.33 ^{A,B}	8.26 ^{A}	2.56 ^{B}

หมายเหตุ : * ค่า D เฉลี่ย (วินาที) ของทั้ง 3 ซ้ำ, ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับที่แตกต่างกันในแถวเดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ระหว่างวิธีการให้ความร้อนในการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยที่อุณหภูมิเดียวกัน (A ถึง B)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์โอ เอ และเอเชียวัน ในผลิตภัณฑ์สุกร ที่อุณหภูมิ 50, 60, 70 และ 80 องศาเซลเซียส โดยใช้วิธีการให้ความร้อนในการทำลายไวรัส 4 วิธี ได้แก่ การทอด การอบ การชุบแป้งทอด และการอบเกลือ พบว่า ระยะเวลาที่ใช้ในการทำลายไวรัสลง 1 log หรือค่า D จะมีค่าน้อยลงเรื่อยๆ เมื่อใช้อุณหภูมิที่เพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ (ตารางที่ 3-13)

จากการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เดียวกัน ในผลิตภัณฑ์สุกรชนิดเดียวกัน ระหว่างอุณหภูมิต่างๆ ที่ใช้ทำลายไวรัส พบว่า ค่า D ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) จากอุณหภูมิ 60, 70 และ 80 องศาเซลเซียส ในทุกการศึกษา (ตารางที่ 7-10)

จากการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยที่ได้รับความร้อนที่อุณหภูมิเดียวกัน ในผลิตภัณฑ์สุกรชนิดเดียวกัน แต่แตกต่างซีโรไทป์กัน พบว่า ค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยส่วนใหญ่ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ระหว่างซีโรไทป์โอ เอ และเอเชียวัน (ตารางที่ 7-10)

จากการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เดียวกัน ที่ได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 50, 60, 70 และ 80 องศาเซลเซียส ระหว่าง เนื้อสุกรทอด, เนื้อสุกรชุบแป้งทอด, เนื้อสุกรอบ และเนื้อสุกรอบเกลือ พบว่า ค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในผลิตภัณฑ์ที่แตกต่างกันนั้น ส่วนใหญ่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 11-13)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อภิปรายผลการวิจัย

ค่า D คือ ระยะเวลาที่ใช้ในการลดจำนวนไวรัสลง 1 log ซึ่งสามารถคำนวณได้จากค่าลบของส่วนกลับความชันของสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟแสดงการทำลายไวรัส ซึ่งค่า D ที่ได้นั้น ก็คือ ค่าอัตราการเปลี่ยนแปลงของระดับความเข้มข้นของไวรัสจากจุดเริ่มต้นจนถึงจุดสุดท้ายเทียบกับหน่วยของเวลา ดังนั้นไม่ว่าไวรัสจะเริ่มต้นในระดับความเข้มข้นเท่าใด และสุดท้ายหลังจากที่ผ่านความร้อนแล้ว ความเข้มข้นของไวรัสจะลดลงจนเป็น 0 หรือไม่ก็ตาม ก็สามารถคำนวณหาค่า D ได้ และสามารถนำค่า D ที่ได้มาเปรียบเทียบกันได้ ไม่ว่าการทดลองนั้นจะใช้หน่วยวัดความเข้มข้นของไวรัสที่แตกต่างกันก็ตาม นอกจากนี้ค่า D ยังมีประโยชน์ในแง่ของการนำไปใช้จริง เพราะในความเป็นจริงแล้ว ไม่สามารถกำหนดให้ระดับความเข้มข้นของไวรัสในเนื้อเยื่อของสัตว์มีค่าเท่ากับระดับความเข้มข้นของไวรัสที่ใช้ในการทดลองได้เสมอไป ดังนั้นหากต้องการทราบว่าที่ระดับอุณหภูมิที่กำหนด จะต้องใช้เวลานานเท่าใดในการทำลายไวรัสจนหมดจากชิ้นเนื้อ ก็สามารถนำค่า D ที่ได้นี้ไปประยุกต์ใช้ได้เลย แต่อย่างไรก็ตาม ค่า D ที่ได้นี้ จะมีความจำเพาะต่อสภาวะที่ใช้ในการทดลองเท่านั้น นอกจากนี้เพื่อให้เกิดความมั่นใจในการนำค่า D ไปใช้ ควรทำการวิเคราะห์ค่าความชันของกราฟว่ามีความแตกต่างจาก 0 หรือไม่

จากการวิเคราะห์ค่าความชันของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยทั้ง 3 ซีโรไทป์ ระหว่างอุณหภูมิ 50-80 องศาเซลเซียส ในทุกผลิตภัณฑ์ พบว่ากราฟส่วนใหญ่มีค่าความชันของกราฟแตกต่างจาก 0 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่ 3-6 และสามารถดูกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย ค่า D สมการกราฟเส้นตรง และตารางการวิเคราะห์ค่าความชันของกราฟการทำลายไวรัสประกอบได้ในภาคผนวก ง) แสดงว่า ค่า D ที่คำนวณได้ มีประสิทธิภาพในการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยได้อย่างแท้จริง ส่วนกราฟที่มีค่าความชันไม่แตกต่างจาก 0 ($p>0.05$) นั้น เนื่องจากบางการทดลองใช้ระยะเวลาที่นานเกินไปทำให้ระดับของไวรัสลดลงจนถึง 0 ก่อนจะถึงจุดเวลาสุดท้าย หรืออาจเกิดจากวิธีที่ใช้ในการหาระดับความเข้มข้นของไวรัส ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ใช้เซลล์เพาะเลี้ยงชนิด BHK-21 ในบางครั้ง ระดับปริมาณของไวรัสมีน้อยมากๆ จนถึงระดับที่ต่ำกว่าระดับต่ำสุดที่เซลล์เพาะเลี้ยงจะเกิด CPE ทำให้ค่าระดับความเข้มข้นที่อ่านได้มีค่าเท่ากับ 0 ได้ ซึ่งอาจจะมีผลเมื่อนำค่าที่ได้มาทำการสร้างกราฟการทำลายไวรัส หรือในบางการทดลองอาจมีระดับความเข้มข้นของไวรัส ณ จุดเวลาใดเวลาหนึ่ง ที่แตกต่างออกไปจากกราฟเส้นตรง จึงทำให้ค่าความชันของกราฟเบี่ยงเบนออกไปได้ อย่างไรก็ตามนอกจากพิจารณาค่าความชันแล้ว ควรจะต้องทำการพิจารณาค่า root mean square error (RMSE) ร่วมด้วย ซึ่งค่า RMSE นี้จะใช้ในการประเมินว่าสมการเส้นตรงที่ได้นั้น สามารถอธิบายข้อมูลดิบที่

ได้มากน้อยเพียงใด ซึ่งพบว่าค่า RMSE ส่วนใหญ่จะมีค่าต่ำกว่า 0.5 ซึ่งจัดว่าต่ำ ดังนั้นสมการเส้นตรงที่ได้ จึงมีความเหมาะสมในการใช้วิเคราะห์ค่า D

การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยระหว่างซีโรไทป์เดียวกัน ในผลิตภัณฑ์สุกรชนิดเดียวกัน แต่ใช้ความร้อนที่อุณหภูมิแตกต่างกันในการทำลายไวรัส พบว่า ค่า D ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) จากอุณหภูมิ 60, 70 และ 80 องศาเซลเซียส แต่ระหว่างอุณหภูมิ 60, 70 และ 80 องศาเซลเซียส ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ในทุกการศึกษา (ตารางที่ 7-10) นั่นแสดงว่าอุณหภูมิที่ต่างกันมีผลต่อประสิทธิภาพในการทำลายไวรัส โดยเฉพาะในช่วงอุณหภูมิตั้งแต่ 60 องศาเซลเซียสขึ้นไป จะสามารถทำลายไวรัสได้ดีกว่าที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส หรือในทางกลับกัน ไวรัสมีความไวต่ออุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสขึ้นไปนั่นเอง โดยความร้อนที่อุณหภูมิสูงๆ จะไปทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ viral capsid proteins และไปทำลายโครงสร้างทุติยภูมิของโมเลกุล RNA (Chou and Yang, 2004) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Kamolsiripichaiporn และคณะ ในปี 2007 ที่ได้ทำการศึกษาอัตราการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยด้วยความร้อนในสารละลาย ซึ่งพบว่า อุณหภูมิที่สามารถทำลายไวรัสได้อย่างมีประสิทธิภาพ คือ อุณหภูมิในช่วงตั้งแต่ 60 องศาเซลเซียสขึ้นไป

การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยระหว่างซีโรไทป์โอ เอ และเอเชียวัน ที่ได้รับความร้อนที่อุณหภูมิเดียวกัน ในผลิตภัณฑ์สุกรชนิดเดียวกัน (ตารางที่ 7-10) พบว่า ค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยทั้ง 3 ซีโรไทป์ส่วนใหญ่ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แต่ก็ยังพบว่า ค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยทั้ง 3 ซีโรไทป์ ยังมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติอยู่บ้าง เช่น ค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอในเนื้อสุกรทอด ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากซีโรไทป์โอ และซีโรไทป์เอเชียวัน ($p<0.05$) และโดยเฉพาะในเนื้อสุกรอบที่พบว่า ค่า D ของไวรัสทั้ง 3 ซีโรไทป์นั้น มีความแตกต่างกันออกไปในแต่ละอุณหภูมิ ซึ่งนั่นแสดงให้เห็นว่าไวรัสชนิดเดียวกัน แต่ต่างซีโรไทป์ จะมีความสามารถในการต้านทานความร้อนที่แตกต่างกันได้ ไม่จำเป็นต้องเหมือนกันเสมอไป ทั้งนี้เนื่องจากการแบ่งแยกชนิดของไวรัสนั้น อาศัยลักษณะและความใกล้เคียงกันของรหัสพันธุกรรมเป็นหลัก ส่วนการแบ่งแยกซีโรไทป์ของไวรัสก็อาศัยลักษณะของภูมิคุ้มกันโรคที่ร่างกายของสัตว์สร้างขึ้นเพื่อตอบสนองต่อโครงสร้างของอนุภาคไวรัสเป็นหลัก (Rueckert, 1996) ดังนั้นจึงไม่จำเป็นที่ไวรัสชนิดเดียวกันจะต้องมีคุณสมบัติในการต้านทานความร้อนของไวรัสเหมือนกัน

ดังที่ได้กล่าวไว้ข้างต้นแล้วว่า ค่า D จะเป็นค่าคุณสมบัติที่มีความจำเพาะต่อสื่อหรือสภาวะที่ใช้ในการทดลองนั้นๆ ดังนั้นหากจะทำการเปรียบเทียบค่า D ควรจะทำการเปรียบเทียบค่า D ที่ได้จากการศึกษาในสื่อชนิดเดียวกัน ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ สื่อที่ใช้คือ เนื้อสุกร ซึ่งเนื้อสุกรหรือผลิตภัณฑ์สุกรที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท คือ ผลิตภัณฑ์สุกรที่ได้รับความร้อนด้วยวิธีการทอด (เนื้อสุกรทอด และเนื้อสุกรชุบแป้งทอด) และผลิตภัณฑ์สุกรที่ได้รับความร้อนด้วยวิธีการอบ (เนื้อสุกรอบ และเนื้อสุกรอบเกลือ) จากการเปรียบเทียบค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เดียวกัน ที่อุณหภูมิเดียวกัน ในผลิตภัณฑ์ต่างชนิดกัน พบว่า ค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในแต่ละผลิตภัณฑ์นั้น ส่วนใหญ่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ยกเว้น ค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ซึ่งพบว่าค่า D ของเนื้อสุกรชุบแป้งทอด มีความแตกต่างจากค่า D ของเนื้อสุกรอบ และค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอเชียวัน ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ซึ่งพบว่าค่า D ของเนื้อสุกรชุบแป้งทอด มีความแตกต่างจากค่า D ของเนื้อสุกรทอด และเนื้อสุกรอบ และที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ซึ่งพบว่าค่า D ของเนื้อสุกรอบ มีความแตกต่างจากค่า D ของเนื้อสุกรอบเกลือ ทั้งนี้ความแตกต่างที่เกิดขึ้น อาจเกิดจากความแตกต่างกันในแง่ของตัวกลางในการพาความร้อน โดยเนื้อสุกรประเภททอดจะอาศัยน้ำมันเป็นตัวกลางในการพาความร้อน ส่วนเนื้อสุกรประเภทอบจะอาศัยอากาศเป็นตัวกลางในการพาความร้อน (สุวิมล และคณะ, 1997ก) นอกจากนี้ หากเป็นเนื้อสุกรประเภทอบ หรือประเภททอดเหมือนกัน แต่มีความแตกต่างกันนั้น น่าจะมีสาเหตุมาจากส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์ที่ต่างกัน โดยในเนื้อสุกรประเภททอด ได้แก่ เนื้อสุกรทอด และเนื้อสุกรชุบแป้งทอดนั้น มีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน คือเนื้อสุกรชุบแป้งทอดนั้นจะมีการเติมเกลือ และคลุกด้วยแป้ง, ไข่ไก่ และเกล็ดขนมปัง ซึ่งส่วนประกอบเหล่านี้จะไปห่อหุ้มชิ้นเนื้อสุกรอีกที ทำให้มีผลต่อการนำความร้อนเข้าสู่ใจกลางชิ้นเนื้อได้ (Karel and Lund, 2003) และในส่วนของเนื้อสุกรประเภทอบ ได้แก่ เนื้อสุกรอบ และเนื้อสุกรอบเกลือนั้น มีส่วนประกอบที่แตกต่างกัน คือ ในเนื้อสุกรอบเกลือจะมีการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ และเกลือโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตลงไป โดยเกลือทั้งสองชนิดนี้จะมีผลช่วยเพิ่มน้ำหนัก, คุณสมบัติในการทำลายจุลินทรีย์, ลักษณะที่ดีของผลิตภัณฑ์ และ ความชุ่มชื้นของผลิตภัณฑ์ (Detienne and Wicker, 1999) ซึ่งจากคุณสมบัติเหล่านี้เองอาจทำให้ค่า D ของผลิตภัณฑ์สองชนิดนี้มีความแตกต่างกันได้

ถึงแม้ว่าค่า D จะต้องทำการเปรียบเทียบในสื่อชนิดเดียวกัน แต่เนื่องจากก่อนหน้านี้ยังไม่เคยมีผู้ศึกษาค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในเนื้อสุกรมาก่อน จึงขอทำการเปรียบเทียบค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ กับการศึกษาของ

สุพัฒนศักดิ์ (2005) ซึ่งได้ทำการศึกษาการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยสเตรนที่มีการระบาดในประเทศไทยด้วยความร้อนแทน เนื่องจากไวรัสที่ใช้เป็นไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยเหมือนกันและเป็นซีโรไทป์ที่แยกได้จากประเทศไทยเช่นเดียวกัน แต่ทำการศึกษาค่า D ในสารละลาย PBS ซึ่งพบว่า ค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยทั้ง 3 ซีโรไทป์ ในผลิตภัณฑ์สุกรทุกชนิด จากการศึกษาครั้งนี้ ที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส มีค่าสูงกว่า ค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เดียวกันในสารละลาย PBS จากการศึกษาของสุพัฒนศักดิ์ มาก ส่วนที่ 80 องศาเซลเซียส พบว่า ค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยทั้ง 3 ซีโรไทป์ จากการศึกษาครั้งนี้มีค่ามากกว่าค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เดียวกันในสารละลาย PBS จากการศึกษาของสุพัฒนศักดิ์ เพียงเล็กน้อย ทั้งนี้น่าจะมาจากการนำความร้อนผ่านไปในเนื้อสุกรจนถึงไวรัสนั้นจะต้องใช้พลังงานในการนำความร้อนมากกว่าการนำความร้อนผ่านไปในสารละลาย PBS เพราะในเนื้อสุกรจะประกอบไปด้วย คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมันที่มากกว่าในสารละลาย PBS ซึ่งส่วนประกอบเหล่านี้ หากมีมากก็จะยิ่งส่งผลให้ต้องใช้พลังงานในการนำความร้อนเข้าไปยังใจกลางชิ้นเนื้อเพิ่มมากขึ้นด้วย (Karel and Lund, 2003)

เมื่อนำค่า D ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยทั้ง 3 ซีโรไทป์ที่มีการระบาดอยู่ในประเทศไทย ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส มาคำนวณหาระยะเวลาที่จะต้องใช้ในการทำลายไวรัส โดยกำหนดให้มีไวรัสเริ่มต้นที่ 10 log $TCID_{50}$/g ในเนื้อสุกร ซึ่งค่านี้เป็นปริมาณไวรัสที่พบบริเวณผิวหนังของสุกร ซึ่งเป็นระดับความเข้มข้นสูงสุดของไวรัสที่พบว่ามีรายงานในสุกร (Alexandersen et al., 2001 อ้างถึงโดย Ryan et al., 2008) และใช้ค่า D ของไวรัสในซีโรไทป์ที่มีค่า D สูงสุดจากทั้ง 3 ซีโรไทป์ ซึ่งคือค่า D ของไวรัสซีโรไทป์เอ พบว่า จะต้องใช้เวลาอย่างน้อย 8 นาที 40 วินาที, 11 นาที 37 วินาที, 13 นาที 36 วินาที และ 11 นาที 53 วินาที ในการให้ความร้อนแก่เนื้อสุกรทอด, ชุบแป้งทอด, อบ และอบเกลือ ตามลำดับ ในการทำลายไวรัสจนหมด ซึ่งเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับข้อกำหนดของ OIE (2006) และกฎหมาย Domestic Animal Infection Disease Control Law (Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, 2007) และ Food Sanitation Law (Japan External Trade Organization, 2006) ของประเทศญี่ปุ่น ที่กำหนดให้การส่งออกเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์จากประเทศที่ยังมีการระบาดของโรคปากและเท้าเปื่อย ต้องมีการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ โดยเนื้อสัตว์จะต้องผ่านการปรุงสุกด้วยความร้อนจนอุณหภูมิใจกลางชิ้นเนื้อมากกว่าหรือเท่ากับ 70 องศาเซลเซียส อย่างน้อย 30 นาที นั้น จะเห็นได้ว่าระยะเวลาในการให้ความร้อนแก่ผลิตภัณฑ์สุกรชนิดต่างๆ ที่คำนวณจากค่า D ที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้นั้น ใช้ระยะเวลาในการให้ความร้อนน้อยกว่าข้อกำหนดของทั้ง OIE และของประเทศญี่ปุ่น ซึ่งหากต้องการจะส่งออกเนื้อสุกรจากประเทศไทยก็สามารถนำข้อมูลเหล่านี้ไป

เป็นข้อมูลพื้นฐานในการต่อรองทางการค้าได้ แต่อย่างไรก็ตาม จะต้องทำการทวนสอบค่าที่คำนวณได้นั้นว่า สามารถนำมาใช้ทำลายไวรัสได้อย่างแท้จริงเสียก่อน

ข้อเสนอแนะ

ค่า D ที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ เป็นค่า D ที่ได้จากการหาระดับความเข้มข้นของไวรัสในเซลล์เพาะเลี้ยง BHK-21 ซึ่งหากจะนำค่า D นี้ไปใช้ในทางอุตสาหกรรมอาหาร ก็ควรที่จะทำการทวนสอบค่า D นี้อีกครั้งหนึ่ง โดยทวนสอบโดยใช้เซลล์ปฐมภูมิ (primary cell) เช่น เซลล์ไตแกะ เป็นต้น เนื่องจากเซลล์ปฐมภูมินี้จะมีความไวต่อไวรัสมากกว่าเซลล์เพาะเลี้ยงมาก ทำให้สามารถตรวจพบระดับของไวรัสที่มีความเข้มข้นต่ำๆ ได้

นอกจากนี้ควรทำการวิเคราะห์หาค่าส่วนประกอบทางโภชนาการของเนื้อสัตว์เพื่อให้เกิดความแม่นยำในการนำค่า D ไปใช้จริง เนื่องจากปริมาณของคาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมันมีส่วนสำคัญในแง่ของการนำความร้อน

และสิ่งที่สำคัญในการกำจัดไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยให้หมดไปจากผลิตภัณฑ์เนื้อสุกรนั้น อาจจะต้องเริ่มต้นจากความเข้มงวดในการคัดกรองสัตว์ที่อาจติดโรคปากและเท้าเปื่อยไม่ให้ผ่านเข้าไปในโรงเชือด ซึ่งจะช่วยลดอุบัติการณ์ของไวรัสที่อาจปนเปื้อนไปกับเนื้อสัตว์ได้จำนวนหนึ่ง แต่สิ่งที่สำคัญคือ ขั้นตอนต่างๆในกระบวนการการผลิต จะต้องเลือกใช้กระบวนการการผลิตที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพ ทั้งในแง่ของความน่ารับประทาน และในแง่ของความปลอดภัยในการแพร่กระจายโรคด้วย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

กรมเจรจาการค้าระหว่างประเทศ. 2007 (2550). "สุกร." [On line]. Available:http://www.dtn.moc.go.th/dtn/cms/count_download.php

ศุภชัย เนื้อนวลสุวรรณ สมใจ กมลศิริพิชัยพร ร่มพฤกษ์ อุดล และปณิธาน ทองทา. 2005 (2548). การศึกษาอัตราการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยด้วยความร้อน. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย. 15.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2008 (2551). "ผลการพยากรณ์ปริมาณการผลิตสุกร ปี 2551." [On line]. Available: http://www.oae.go.th/mis/Forecast/sit_t_24.htm.

สำนักบริหารการนำเข้าส่งออกสินค้าทั่วไป กลุ่มวิเคราะห์สินค้า 3 กรมการค้าต่างประเทศ. 2006 (2549). "สินค้าสุกร." [On line]. Available: http://www.dft.moc.go.th/the_files

สุพัฒนศักดิ์ ศุภารัตน์. 2005 (2548). การทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยสเตรนที่มีการระบาดในประเทศไทยด้วยความร้อน. (มหาบัณฑิต) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 65.

สุวิมล กีรติพิบูล กิตติพงษ์ ห่วงรักษ์ และมณีวรรณ รักวาทิน. 1997ก (2540). บทนำ แนวเหตุผลและทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง. ใน: การทดลอง พัฒนา ถ่ายทอดกรรมวิธีการผลิตและสูตรการแปรรูปผลิตภัณฑ์เนื้อสุกรที่สำคัญและเป็นที่นิยมในประเทศญี่ปุ่น เกาหลีใต้ และสิงคโปร์. รายงานฉบับสมบูรณ์. สำนักบริการวิชาการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 1-2 – 1-3.

สุวิมล กีรติพิบูล รุจ วัลยะเสวี และมณีวรรณ รักวาทิน. 1997ข (2540). กฎระเบียบ การนำเข้าผลิตภัณฑ์เนื้อสุกรของประเทศญี่ปุ่น. ใน: การศึกษากฎ ระเบียบ ข้อบังคับเกี่ยวกับกระบวนการควบคุมการผลิตผลิตภัณฑ์จากเนื้อสุกรชนิดบรรจุกระป๋อง ถุงผนึก และแช่แข็ง ในประเทศสหรัฐอเมริกา แคนาดา ญี่ปุ่น เกาหลีใต้ และสิงคโปร์. รายงานฉบับสมบูรณ์. สำนักบริการวิชาการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 2-1 - 2-38.

Alaxandersen, S., Zhang, Z., Donaldson, A.I., and Garland, A.J.M. 2003. The Pathogenesis and Diagnosis of Foot-and-Mouth Disease. J. Comp. Path. 129: 1-36.

Blackwell, J.H., and Rickansrud, D.A. 1989. Ingredient Effects on the Thermal Inactivation of Foot-and-Mouth Disease Virus in Formulated, Comminuted Meat Products. J. Food Sci. 54(6): 1479-1484.

Blackwell, J.H., Rickansurd, D., McKercher, P.D., and McVicar, J.W. 1982. Effect of Thermal Processing on the Survival of Foot-and-Mouth Disease Virus in Ground Meat. J. Food Sci. 47: 388-392.

Chou, C.C., and Yang, S.E. 2004. Inactivation and Degradation of *O Taiwan97* Foot-and-Mouth Disease Virus in Pork Sausage Processing. Food Microbiol. 21: 737-742.

Cottral, G.E., Cox, B.F., and Baldwin D.E. 1960. The Survival of Foot-and-Mouth Disease Virus in Cured and Uncured Meat. Am. J. Vet. Res. 21: 288-297.

Davies, G. 2002. Foot and mouth disease. Res. Vet. Sci. 73: 195-199.

Dekker, A. 1998. Inactivation of Foot-and-Mouth Disease Virus by Heat, Formaldehyde, Ethylene Oxide and γ Radiation . Vet. Rec. 143: 168-169.

Detienne, N.A. and Wicker, L. 1999. Sodium Chloride and Tripolyphosphate Effects on Physical and Quality Characteristics of Injected Pork Loins. J. Food Sci. 64(6): 1042-1047.

De Leeuw, P.W., Tiessink, J.W.A. and Van Bekkum, J.G. 1980. Aspects of Heat Inactivation of Foot-and-Mouth Disease Virus in Milk from Intramammarily Infected Susceptible Cow. J. Hyg., Camb. 84: 159-172.

Foreign Agricultural Service/USDA. 2008. " Livestock and Poultry: World Markets and Trade PSD." [On line]. Available: http://www.fas.usda.gov.psdonline.

GAIN Report/USDA. 2008. "Japan Livestock and Products Semiannual Report 2008." [On line]. Available: http://www.fas.usda.gov/gainfiles/200804/146294149.pdf.

Garcia-Vidal, W., Blackwell, J.H., Correa, C.A., Huertas, S., and Urrestarazu, V. 1988. Virucidal Effectiveness of Flexible Pouch Processing of Meat Products Prepared from Foot-and-Mouth Disease Affected Cattle. J. Food Sci. 53(6): 1650-1652.

Grubman, M.,J. and Baxt, B. 2004. Foot-and-Mouth Disease. Clin. Microbiol. Rev. 17(2): 465-493.

Japan External Trade Organization. 2006. "Food Sanitation Law in Japan." [On line]. Available: http://www.jetro.go.jp/en/market/regulations/pdf/food-e.pdf.

Kamolsiripichaiporn, S., Subharat, S., Udon, R., Thongtha, P., and Nuanualsuwan, S. 2007. Thermal Inactivation of Foot-and-Mouth Disease Viruses in Suspension. Appl. Environ. Microbiol. 73(22): 7177-7184.

Karel, M. and Lund, D.B. 2003. Heat Processing. In: Physical Principles of Food Preservation. 2nd ed. New York: Marcel Dekker, Inc. 170-234.

Kitching, R.P. 1999. Foot-and-Mouth Disease: Current World Situation. Vaccine. 17: 1772-1774.

Lasta, J., Blackwell, J.H., Sadir, A., Gallinger, M., Marcoveccio, F., Zamorano, M., Ludden, B., and Rodriguez, R. 1992. Combined Treatments of Heat, Irradiation, and pH Effects on Infectivity of Foot-and-Mouth Disease Virus in Bovine Tissues. J. Food Sci. 57(1): 36-39.

Marmion, B.P. and Simmons, A. 1996. Cell and Virus Culture. In : Practical Medical Microbiology. 14th ed. J.G. Collee, A.G. Fraser, B.P. Marmion, and A. Simmons (eds.) New York: Churchill livingstone. 675-692.

Mebus, C., Arias, M., Pineda, J.M., Tapiador, J., House, C., and Sánchez-Vizcaíno, J.M. 1997. Survival of Several Porcine Viruses in Different Spanish Dry-Cured Meat Products. Food Chem. 59(4): 555-559.

Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries. 2007. "Domastic Animal Infectious Diseases Control Law." [On line]. Available: http://www5.cao.go.jp/otodb/english/houseido/hou/lh_01030.html.

OIE. 2000. Chapter 2.1.1 Foot and Mouth Disease. In : OIE Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines. 4th ed. Paris: Office International des Epizootics 2001. 77-92.

OIE. 2006. Appendix 3.6.2 Foot and Mouth Disease Virus Inactivation Procedures. In : OIE Terrestrial Animal Health Code. 15th ed. Paris: World organisation for Animal Health 2006. 402-404.

Parker, J. 1971. Presence and Inactivation of Foot-and-Mouth Disease Virus in Animal Faeces. Vet. Rec. 88: 659-662.

Rueckert, R.R. 1996. *Picornaviridae*: The Viruses and Their Replication. In: Fields Virology. 3rd ed. Fields, B.N., Knipe, D.M., Howley, P.M. (ed.) Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers. 610-645.

Ryan, E., Mackay, D., and Donaldson, A. 2008. Foot-and-Mouth Disease Virus Concentrations in Products of Animal Origin. Transboundary and Emerging Diseases. 55: 89-98.

Villegas, P. 1998. Titration of Biological Suspensions. In : A Laboratory Manual for the Isolation and Identification of Avian Pathogens. 4th ed. D.E. Swayne, J.R. Glisson, M.W. Jackwood, J.E. Pearson, and W.M. Reed (eds.) Kennett Square: University of Pensylvania. 248-253.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

การเตรียมสารที่ใช้ในการวิจัย

<u>การเตรียมอาหารเลี้ยงเซลล์ (Modified Eagle's Medium; MEM) ปริมาตร 20 ลิตร</u>

1. ชั่งสาร Modified Eagle's Medium (MEM) 188 กรัม เทลงในขวดแก้วขนาด 20 ลิตร
2. เติม Deionized water ให้ได้ปริมาตร 20 ลิตร ทำการปั่น จนสารละลายหมด
3. ชั่งสาร Bacto Tryptose Phosphate Broth 59 กรัม เทลงในขวดแก้วเดิม ทำการปั่นจนสารละลายหมด
4. นำไปกรองโดยใช้กระดาษกรองขนาด 0.2 ไมครอน
5. แจกใส่ขวดแก้วขนาด 1 ลิตร จำนวน 20 ขวด ปิดปากขวดให้สนิท
6. ตรวจสอบความปนเปื้อนของสารละลาย MEM ด้วย Thioglycollate จำนวน 4 หลอด โดยสุ่ม MEM จาก 1 ขวด
7. เก็บสารละลาย MEM ที่ 4 องศาเซลเซียส โดยมีอายุการใช้งานนาน 2 เดือน

<u>การเตรียมสต็อก 2.92% L-Glutamine ปริมาตร 100 มิลลิลิตร</u>

1. ชั่ง L-Glutamine ชนิดผง 2.92 กรัม เทใส่ขวดขนาด 250 มิลลิลิตร
2. เติม Deionized water 100 มิลลิลิตร ลงในขวด ทำการปั่น จนสารละลายหมด
3. นำไปกรองโดยใช้กระดาษกรองขนาด 0.2 ไมครอน
4. ตรวจสอบความปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียของสาร L-Glutamine ด้วย Thioglycollate จำนวน 4 หลอด
5. แจกสารละลายสต็อก L-Glutamine ใส่หลอดแก้ว หลอดละ 1 มิลลิลิตร ปิดจุกยางให้แน่น
6. เก็บรักษาที่ -20 องศาเซลเซียส โดยมีอายุการใช้งานนาน 1 ปี

<u>การเตรียมสารต้านเชื้อรา (Fungizone) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร</u>

1. ชั่ง Fungizone ชนิดผง จำนวน 50 กรัม เทใส่ Flask ขนาด 250 มิลลิลิตร
2. เติม Deionized water 100 มิลลิลิตร เทลงใน Flask ทำการปั่น จนสารละลายหมด
3. นำไปกรองโดยใช้ชุดกรองขนาดรู 0.2 ไมครอน
4. ทำการตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรีย ด้วย Thioglycollate จำนวน 4 หลอด
5. แจกสารละลาย Fungizone ใส่หลอดแก้ว หลอดละ 1 มิลลิลิตร ปิดขวดให้แน่นด้วยจุกยาง

6. เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส โดยมีอายุการใช้งานนาน 1 ปี

<u>การเตรียมสารต้านจุลชีพ (Antibiotic) ปริมาตร 1 ลิตร</u>

1. ชั่ง Kanamycin 10 กรัม เทลงใน Flask ขนาด 1000 มิลลิลิตร
2. เติม Deionized water ปริมาตร 250 มิลลิลิตร ลงใน Flask ทำการปั่น จนสารละลายหมด
3. ชั่ง Streptomycin 10 กรัม เทลงใน Flask ทำการปั่น จนสารละลายหมด
4. ชั่ง Penicillin 1.173 กรัม เทลงใน Flask ทำการปั่น จนสารละลายหมด
5. กรองสารละลายด้วยชุดกรองขนาดรู 0.2 ไมครอน
6. ตรวจสอบการปนเปื้อนโดยใช้ Fluid thioglycollate จำนวน 4 หลอด
7. แจกสารละลาย Antibiotic ใส่หลอดแก้ว หลอดละ 3 มิลลิลิตร ปิดขวดให้แน่นด้วยจุกยาง
8. เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส โดยมีอายุการใช้งาน 1 ปี

<u>การเตรียมสต็อก 1% Trypsin ปริมาตร 200 มิลลิลิตร</u>

1. ชั่ง Trypsin 2 กรัม เทลงในขวดขนาด 250 มิลลิลิตร
2. เทสารละลาย 0.01M PBS ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ลงในขวด
3. ปั่นสารละลาย Trypsin ค้างคืนที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ปั่นจนละลายหมด
4. กรองสารละลายผ่านแผ่นกรองขนาดรู 0.45 ไมครอน

<u>การเตรียมสต็อก 1% Versene ปริมาตร 200 มิลลิลิตร</u>

1. ชั่ง Ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt จำนวน 2 กรัม เทลงในขวดขนาด 250 มิลลิลิตร
2. เติม 0.01M PBS ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ลงในขวด ทำการปั่น จนสารละลายหมด
3. นำสารละลายไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

<u>การเตรียมสารผสม 0.125% Trypsin + 0.025% Versene ปริมาตร 1 ลิตร</u>

1. ตวง 1% Trypsin 125 มิลลิลิตร เทลงในขวดแก้วขนาด 1000 มิลลิลิตร
2. เติม 1% Versene 25 มิลลิลิตร ลงในขวดแก้ว
3. เติม 0.01M PBS ปริมาตร 850 มิลลิลิตร ลงในขวดแก้ว เพื่อให้ปริมาตรครบ 1000 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน
4. แจกสารละลายใส่หลอดแก้ว หลอดละ 2 มิลลิลิตร ปิดจุกให้แน่นด้วยจุกยาง

5. ตรวจสอบความปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียของสารละลายด้วย Thioglycollate จำนวน 4 หลอด
6. เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส โดยมีอายุการใช้งานได้ 1 ปี

<u>การเตรียม 0.04M Phosphate Buffer Saline (0.04M PBS) ปริมาตร 1 ลิตร</u>

1. ชั่ง Na_2HPO_4 4.87 กรัม เทลงในขวดแก้วขนาด 1000 มิลลิลิตร
2. เติม Deionized water ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ลงในขวด นำไปปั่นให้สารละลายจนหมด
3. ชั่ง KH_2PO_4 0.777 กรัม เทลงในขวด นำไปปั่นให้สารละลายจนหมด
4. ปรับ pH ให้เป็น 7.6 โดยการหยดสารละลาย 5M NaOH
5. แบ่งสารละลายใส่ขวดแก้ว ขวดละ 100 มิลลิลิตร
6. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที
7. เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง โดยมีอายุการใช้งาน 6 เดือน

<u>การเตรียม 0.01M Phosphate Buffer Saline (0.01M PBS)</u>

1. เตรียมสารละลายสต็อก 10x PBS ปริมาตร 5 ลิตร โดยชั่งสารแต่ละชนิด แล้วทำการใส่สารทีละชนิดลงในขวดแก้วขนาด 5 ลิตร และปั่นจนสารละลายน้ำหมด จึงใส่สารตัวอื่นต่อไป เรียงตามลำดับดังนี้
    ก. NaCl 400 กรัม
    ข. Deionized water เทลงในขวดพอประมาณ
    ค. KCl 10 กรัม
    ง. Na_2HPO_4 57.5 กรัม
    จ. KH_2PO_4 10 กรัม
    ฉ. เติม Deionized water จนปริมาตรครบ 5 ลิตร
2. ปรับ pH ให้เป็น 7.6 โดยการหยดสารละลาย 5M NaOH ทีละน้อย
3. เมื่อต้องการใช้สารละลายเพื่อล้างเซลล์ ต้องทำการเจือจางเป็น 1x PBS ดังนี้
    ก. เจือจางสารละลายจากสต็อก 10x PBS ในอัตราส่วน 1:10 โดยตวง 10x PBS ปริมาตร 500 มิลลิลิตร เจือจางด้วย Deionized water ปริมาตร 4500 มิลลิลิตร
    ข. แจกสารละลายที่ได้ใส่ขวดแก้ว ขวดละ 100 มิลลิลิตร
    ค. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที
4. เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง โดยมีอายุการใช้งาน 1 ปี

การเตรียม 7% $NaHCO_3$ ปริมาตร 1 ลิตร

1. ชั่งสาร $NaHCO_3$ ปริมาณ 70 กรัม ใส่ลงใน Flask ขนาด 1000 มิลลิลิตร
2. เติม Deionized water ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ลงใน Flask นำไปปั่น จนสารละลายหมด
3. นำไปกรองด้วยชุดกรอง ขนาดรู 0.2 ไมครอน
4. ตรวจสอบความปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียด้วย Thioglycollate จำนวน 4 หลอด
5. แจกสารละลายใส่หลอดแก้ว หลอดละ 3 มิลลิลิตร ปิดจุกให้แน่นด้วยจุกยาง
6. เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส โดยมีอายุการใช้งาน 1 ปี

การเตรียม 3% Thioglycollate

1. ชั่ง Thioglycollate 15 กรัม ใส่ใน flask ขนาด 1000 มิลลิลิตร
2. เติม Deionized water 500 มิลลิลิตร ลงใน flask
3. วาง flask ใน water bath อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ทำการปั่น จนสารละลายหมด
4. ปล่อยให้สารละลายเย็นลง แจกสารใส่ลงในหลอดทดลองหลอดละ 10 มิลลิลิตร ปิดหลอดให้แน่นสนิท
5. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 30 นาที
6. เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง โดยมีอายุการใช้งาน 6 เดือน

การเตรียม Maintenance Medium (MM) ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

1. ตวง MEM ปริมาตร 960 มิลลิลิตร ใส่ในขวดขนาด 1000 มิลลิลิตร
2. เติมสต็อก 2.92% L-Glutamine ลงไป 1% หรือ 10 มิลลิลิตร
3. เติมสารต้านจุลชีพ (Antibiotic) ลงไป 1% หรือ 10 มิลลิลิตร
4. เติมสต็อก 7% $NaHCO_3$ ลงไป 3% หรือ 30 มิลลิลิตร
5. เติมสารต้านเชื้อรา (Fungizone) ลงไป 0.25% หรือ 2.5 มิลลิลิตร
6. วัด pH ให้อยู่ในช่วง 7.4-7.6 โดยใช้ pH-indicator strips (Merck®)
7. เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส ควรเตรียมและใช้ทันทีภายใน 1 วัน

การเตรียม Growth Medium (GM) ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

1. ตวง MEM ปริมาตร 920 มิลลิลิตร ใส่ในขวดขนาด 1000 มิลลิลิตร
2. เติม Normal Bovine Serum ลงไป 5% หรือ 50 มิลลิลิตร
3. เติมสารต้านจุลชีพ (Antibiotic) ลงไป 1% หรือ 10 มิลลิลิตร
4. เติมสต็อก 7% $NaHCO_3$ ลงไป 1% หรือ 10 มิลลิลิตร

5. เติมสารต้านเชื้อรา (Fungizone) ลงไป 0.25% หรือ 2.5 มิลลิลิตร
6. เติมสต็อก 2.92% ของ L-Glutamine ลงไป 1% หรือ 10 มิลลิลิตร
7. เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส ควรเตรียมและใช้ทันที เพื่อรักษาสภาวะความเป็นกรดด่างให้คงที่ และควรอุ่น GM ในอ่างน้ำอุ่น (water bath) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสก่อนใช้ เพื่อให้มีอุณหภูมิใกล้เคียงกับอุณหภูมิที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข

เทคนิคการเพาะเลี้ยงเซลล์

การเพาะเลี้ยงเซลล์ BHK-21

1. เตรียม Growth medium (GM) (ตามวิธีการในภาคผนวก ก) จำนวน 4-6 เท่าของปริมาตรของเซลล์ในขวด seed cell เดิม (ปริมาตรที่เตรียมขึ้นอยู่กับความสมบูรณ์และความหนาแน่นของเซลล์ในขวด seed cell เดิม)
2. นำ seed BHK-21 cell ที่เลี้ยงใน GM ปริมาตร 100 มิลลิลิตร อายุ 2-3 วัน นำมาถ่าย GM เก่าออก
3. ทำการล้างเซลล์ในขวด โดยการเติม 0.01M phosphate buffer saline (PBS) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร และทำการเอียงขวดไปมาอย่างช้าๆ
4. เติม 0.125% Trypsin – 0.025% Versene ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในขวด seed cell เพื่อย่อยเซลล์ โดยเอียงขวดไปมาอย่างช้าๆ และทำการเคาะขวดเบาๆ จนกระทั่งเซลล์หลุดออกจากผิวขวดแก้วจนหมด
5. เติม GM ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในขวด เพื่อหยุดปฏิกิริยาของ Trypsin-Versene
6. ใช้ Komagome pipette แก้วปลายงอ ดูดเซลล์ขึ้นลงเบาๆ เพื่อทำให้เซลล์แยกเป็นเซลล์เดี่ยว แล้วทำการดูดเซลล์แขวนลอยทั้งหมดใส่ใน GM ใหม่ที่ได้เตรียมไว้
7. แจกเซลล์แขวนลอย ใส่ในขวดเพาะเซลล์ใหม่ตามขนาดปริมาตรต่างๆ
8. นำขวดเซลล์ใหม่ ไปบ่มไว้ใน Incubator อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-3 วัน จนเซลล์เพิ่มปริมาณและเจริญเติบโตอย่างสมบูรณ์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ค

เทคนิคการแยกสกัดไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย

การแยกสกัดไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยจากตัวอย่างเนื้อสุกรและผลิตภัณฑ์สุกร

1. ชั่งเนื้อสุกรหรือผลิตภัณฑ์สุกร 1 กรัม
2. นำเนื้อสุกรที่ได้ใส่ลงในโกร่ง ตัดให้เป็นชิ้นเล็กๆ
3. เททรายประมาณ 1 กรัม ลงบนตัวอย่าง
4. เติม 0.04M PBS 1-2 มิลลิลิตร ลงบนตัวอย่าง แล้วทำการบดเนื้อสุกรให้ละเอียด
5. ทำการเจือจางตัวอย่างให้เป็น 10% ใน 0.04M PBS โดยใช้ 0.04M PBS ในอัตราส่วนเนื้อสุกร 1 กรัม ต่อ 0.04M PBS 9 มิลลิลิตร โดยการเติมสารละลาย 0.04M PBS ให้ครบตามปริมาตร
6. เทสารละลายตัวอย่างจากโกร่งใส่ในหลอดเซนตริฟิวจ์ ขนาด 50 มิลลิลิตร ปิดฝาให้แน่นและปิดทับด้วยพาราฟินฟิล์ม
7. นำหลอดเซนตริฟิวจ์ไปปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงชนิดทำความเย็น ด้วยความเร็วรอบ 2,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที
8. นำสารละลายตัวอย่างที่ได้กรองผ่านแผ่นกรองขนาด 0.45 µm ใส่ลงในขวดแก้ว แล้วปิดฝาให้สนิท
9. นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอการหาปริมาณไวรัสต่อไป

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

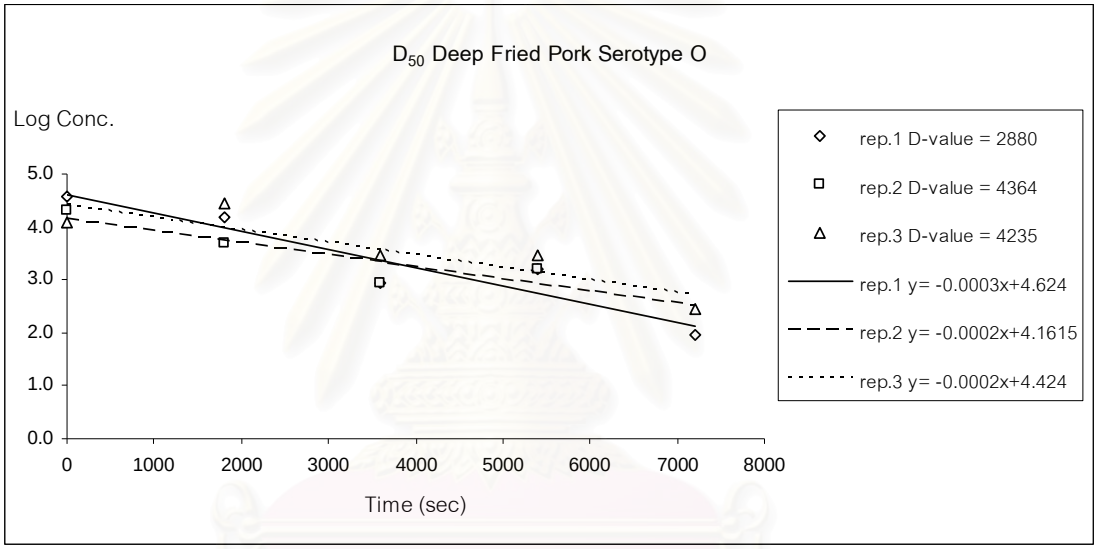
ภาคผนวก ง

กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย ค่า D สมการกราฟเส้นตรง และตารางการวิเคราะห์ค่าความชันของกราฟการทำลายไวรัสในแต่ละซีโรไทป์

1. **เนื้อสุกรทอด**

   ก. ซีโรไทป์ โอ

   - อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส



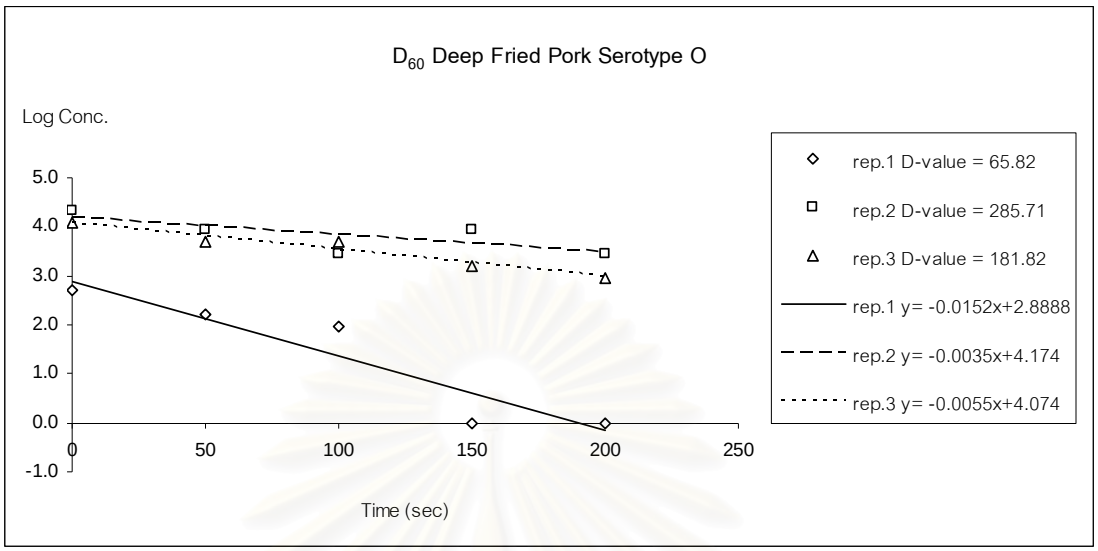
กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์โอ ค่า D และสมการกราฟเส้นตรงในเนื้อสุกรทอด ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์โอในเนื้อสุกรทอด ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.00035	0.0001	-5.068	0.015	-0.000565	-0.000129
2	-0.00023	0.0001	-2.585	0.123*	-0.000611	0.000152
3	-0.00024	0.0001	-3.272	0.047	-0.000466	-0.000006

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

- อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส



กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์โอ ค่า D และสมการกราฟเส้นตรง ในเนื้อสุกรทอด ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

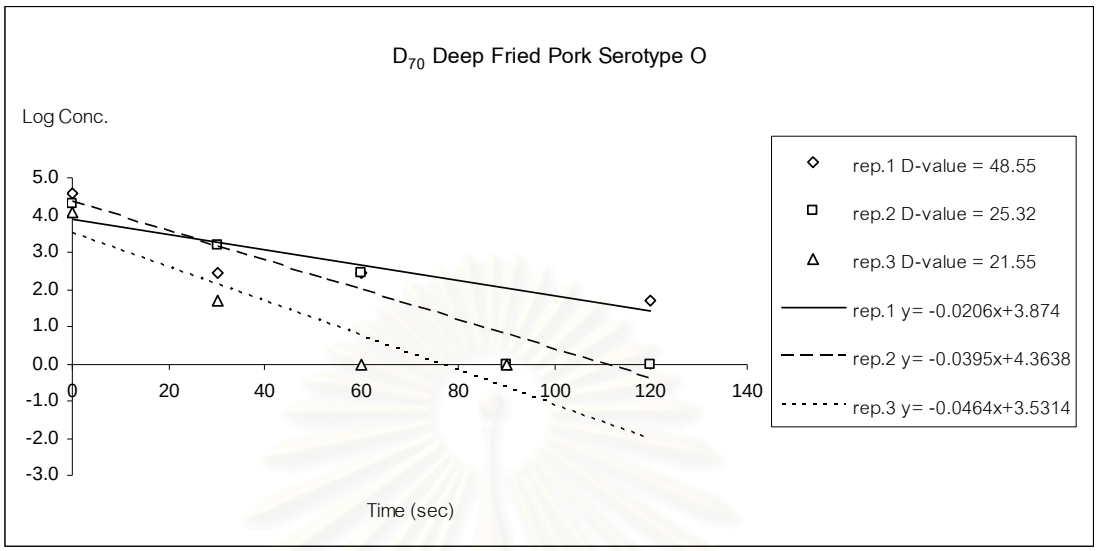
ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์โอในเนื้อสุกรทอด ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.01519	0.0032	-4.739	0.018	-0.025398	-0.004990
2	-0.00350	0.0018	-1.894	0.155*	-0.009383	0.002383
3	-0.00550	0.0008	-7.201	0.006	-0.007931	-0.003069

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส



กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์โอ ค่า D และสมการกราฟเส้นตรง ในเนื้อสุกรทอด ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

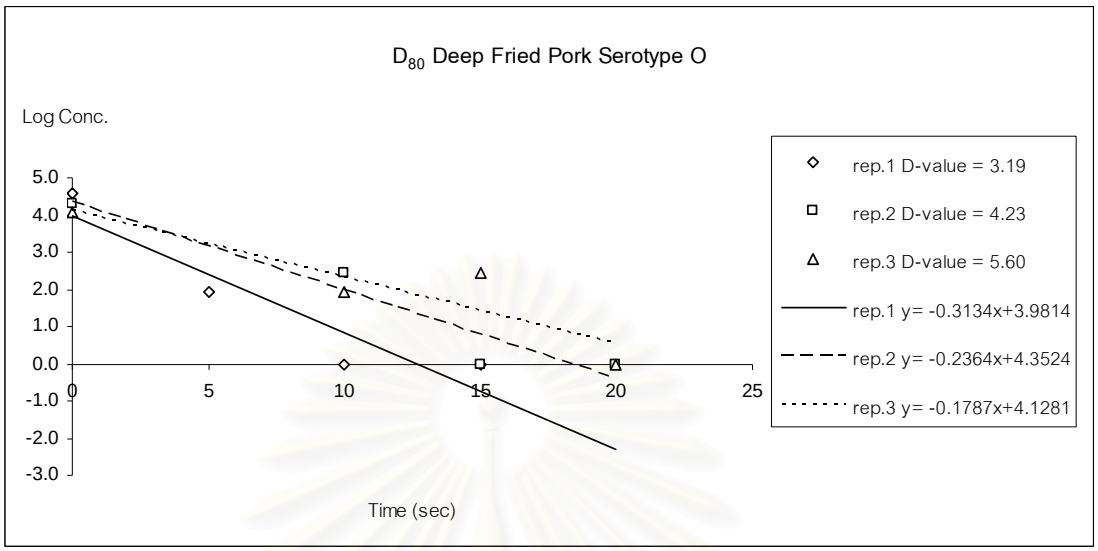
ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์โอในเนื้อสุกรทอด ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.02060	0.0090	-2.298	0.148*	-0.059158	0.017968
2	-0.03949	0.0061	-6.473	0.007	-0.058905	-0.020075
3	-0.04640	0.0127	-3.640	0.068*	-0.101251	0.008445

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส



กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์โอ ค่า D และสมการกราฟเส้นตรง ในเนื้อสุกรทอด ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์โอในเนื้อสุกรทอด ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

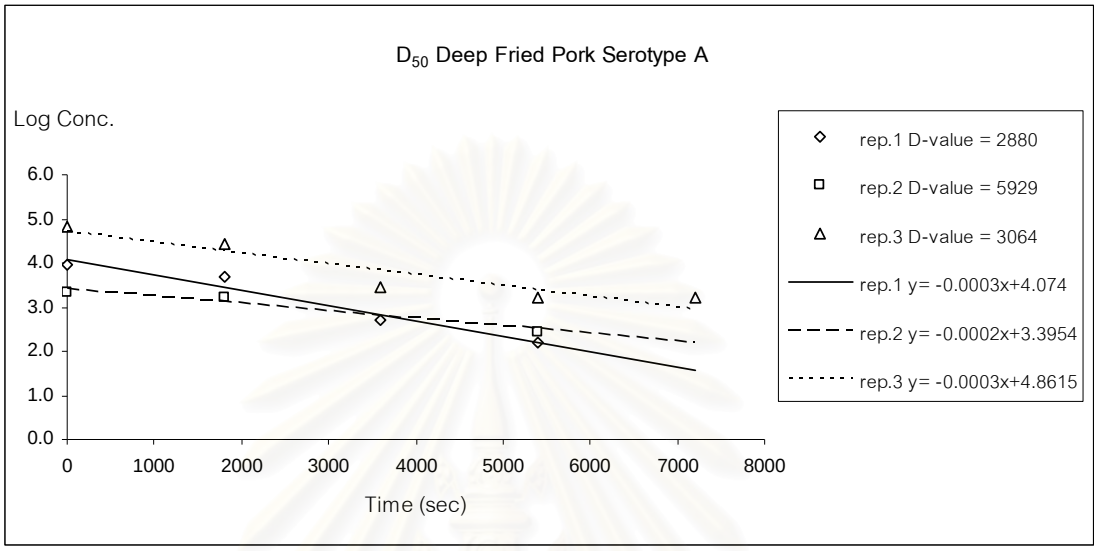
ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.31342	0.0849	-3.690	0.066*	-0.678885	0.052045
2	-0.23637	0.0479	-4.933	0.039	-0.442521	-0.030222
3	-0.17867	0.0579	-3.086	0.091*	-0.427782	0.070434

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข. <u>ซีโรไทป์ เอ</u>

- อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส



กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอ ค่า D และสมการกราฟเส้นตรง ในเนื้อสุกรทอด ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

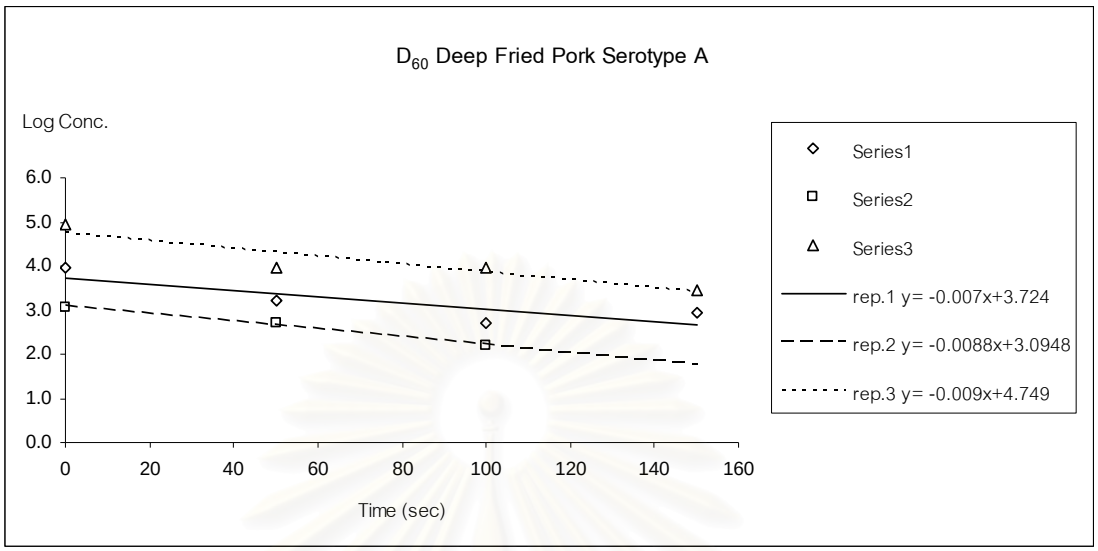
ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอในเนื้อสุกรทอด ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.00035	0.0001	-6.455	0.023	-0.000579	-0.000116
2	-0.00017	0.0000	-4.907	0.128*	-0.000605	0.000268
3	-0.00033	0.0001	-5.921	0.027	-0.000564	-0.000089

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส



กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอ ค่า D และสมการกราฟเส้นตรง ในเนื้อสุกรทอด ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

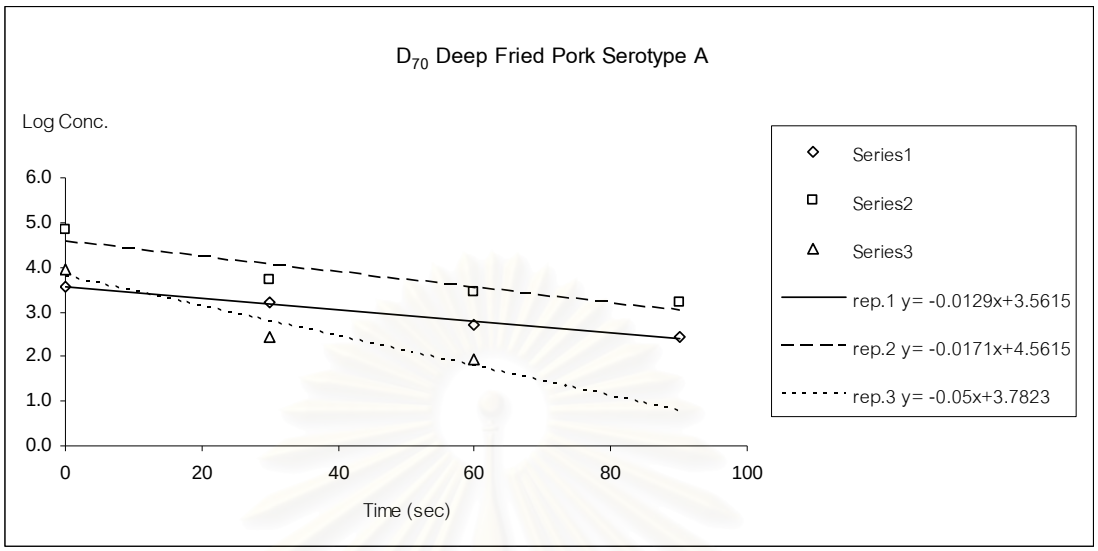
ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอในเนื้อสุกรทอด ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.00700	0.0032	-2.160	0.163*	-0.020942	0.006942
2	-0.00875	0.0007	-12.124	0.052*	-0.017920	0.000420
3	-0.00900	0.0026	-3.402	0.077*	-0.020384	0.002384

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส



กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอ ค่า D และสมการกราฟเส้นตรง ในเนื้อสุกรทอด ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

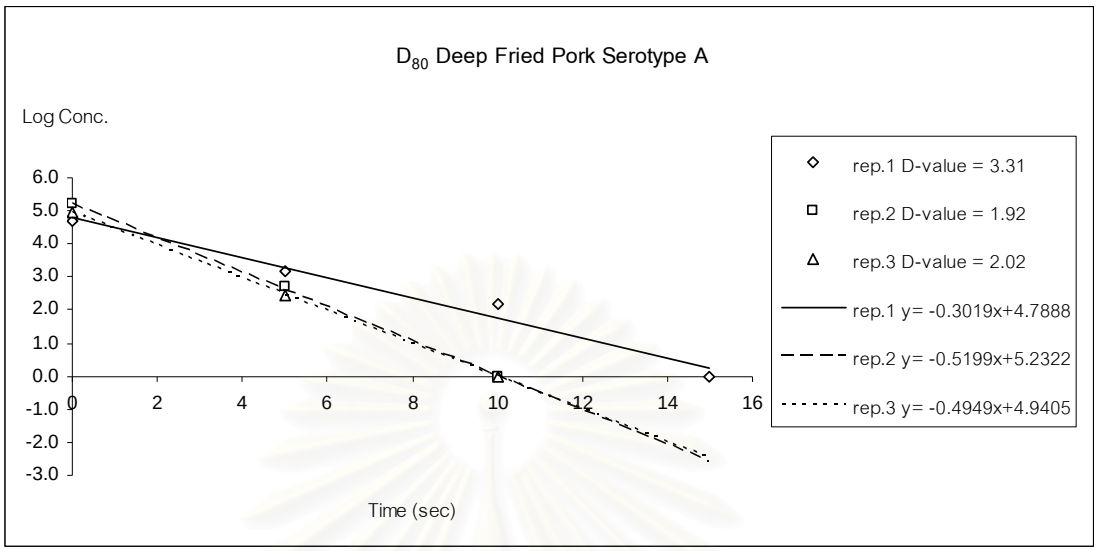
ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอในเนื้อสุกรทอด ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.01292	0.0011	-11.717	0.007	-0.017660	-0.008173
2	-0.01708	0.0051	-3.382	0.077*	-0.038820	0.004653
3	-0.05000	0.0144	-3.464	0.179*	-0.233398	0.133398

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส



กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอ ค่า D และสมการกราฟเส้นตรง ในเนื้อสุกรทอด ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอในเนื้อสุกรทอด ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

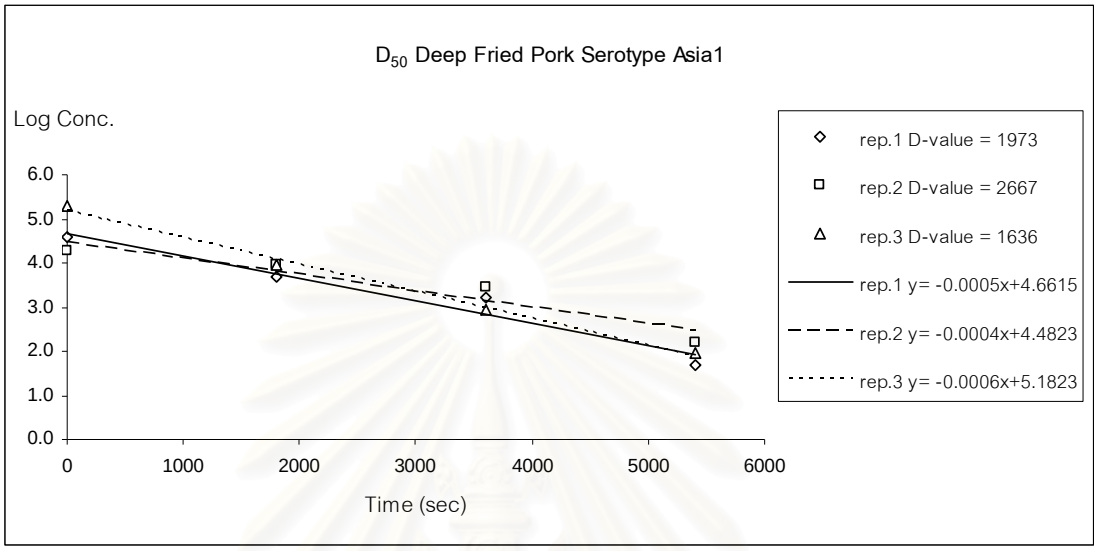
ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.30194	0.0326	-9.248	0.011	-0.442415	-0.161465
2	-0.51990	0.0115	-45.251	0.014	-0.665885	-0.373915
3	-0.49490	0.0029	-168.077	0.004	-0.532313	-0.457487

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ค. <u>ซีโรไทป์ เอเชียวัน</u>

- อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส



กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอเชียวัน ค่า D และสมการกราฟเส้นตรงในเนื้อสุกรทอด ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

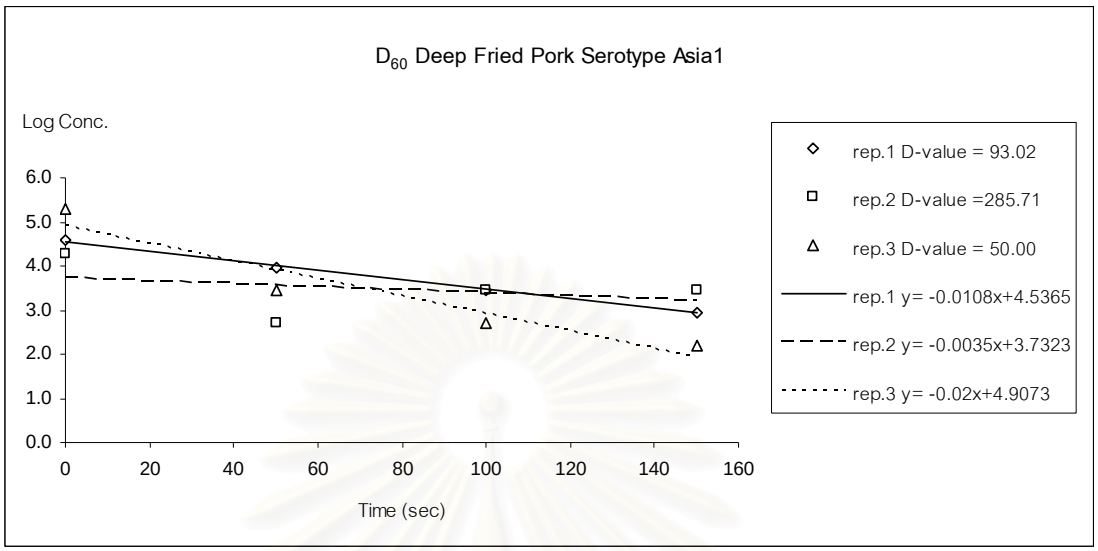
ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอเชียวันในเนื้อสุกรทอด ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.00051	0.0001	-6.582	0.022	-0.000838	-0.000176
2	-0.00038	0.0001	-4.479	0.046	-0.000735	-0.000015
3	-0.00061	0.0000	-19.053	0.003	-0.000749	-0.000473

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส



กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอเชียวัน ค่า D และสมการกราฟเส้นตรง ในเนื้อสุกรทอด ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

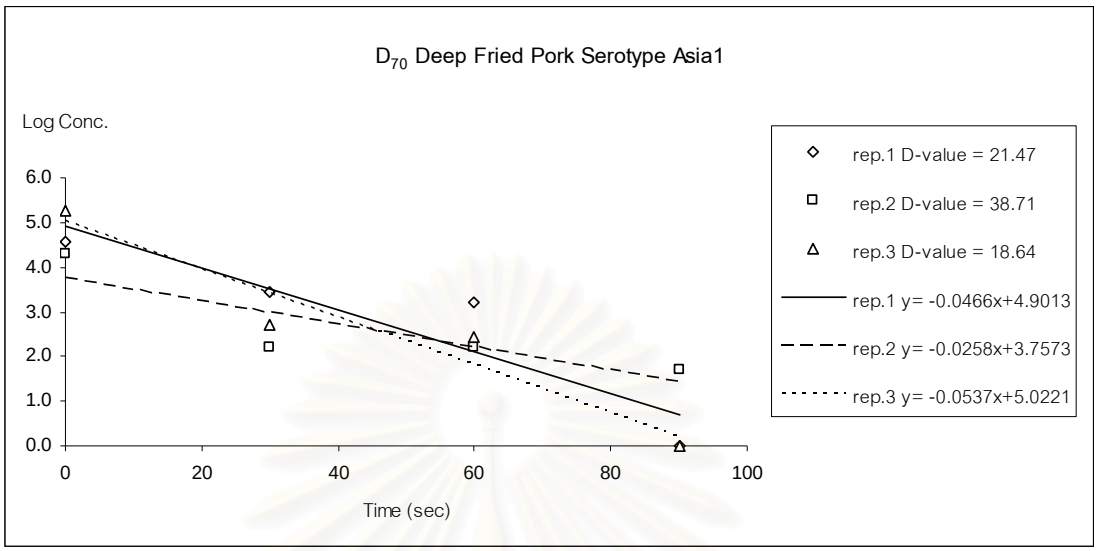
ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอเชียวัน ในเนื้อสุกรทอด ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.01075	0.0004	-24.826	0.002	-0.012613	-0.008887
2	-0.00350	0.0066	-0.527	0.651*	-0.032068	0.025068
3	-0.02000	0.0044	-4.568	0.045	-0.038837	-0.001163

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส



กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอเชียวัน ค่า D และสมการกราฟเส้นตรง ในเนื้อสุกรทอด ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

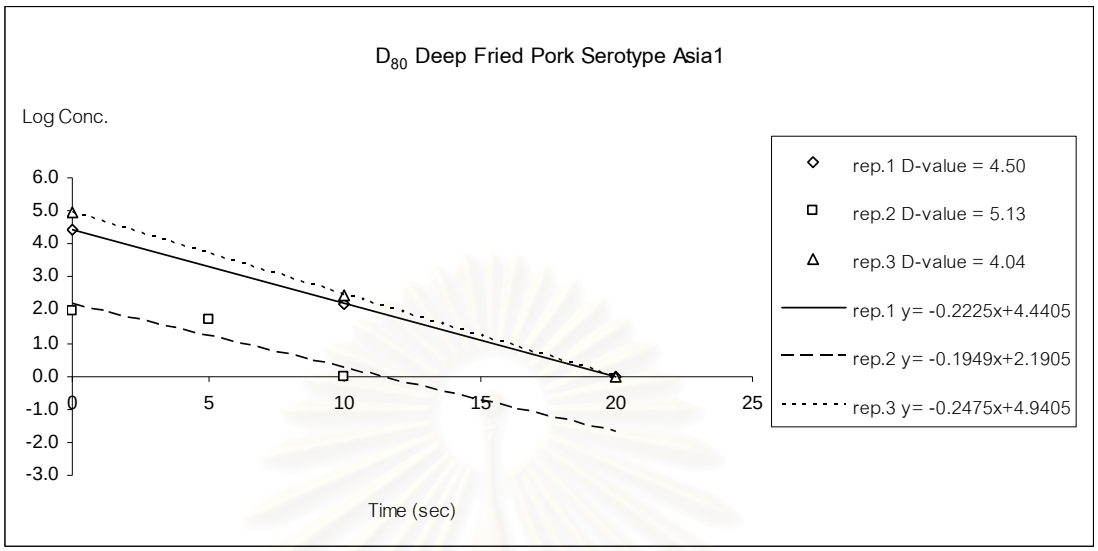
ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอเชียวัน ในเนื้อสุกรทอด ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.04657	0.0142	-3.287	0.081*	-0.107532	0.014385
2	-0.02583	0.0103	-2.501	0.130*	-0.070281	0.018614
3	-0.05366	0.0107	-5.012	0.038	-0.099722	-0.007591

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส



กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอเชียวัน ค่า D และสมการกราฟเส้นตรง ในเนื้อสุกรทอด ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอเชียวัน ในเนื้อสุกรทอด ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.22245	0.0015	-151.096	0.004	-0.241157	-0.203743
2	-0.19490	0.0837	-2.330	0.258*	-1.257876	0.868076
3	-0.24745	0.0015	-168.077	0.004	-0.266157	-0.228743

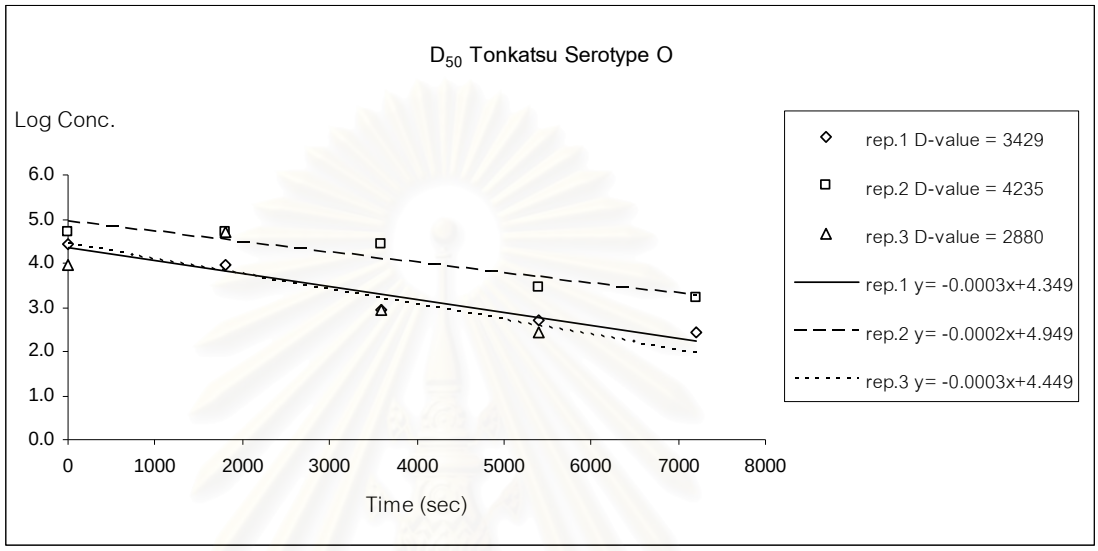
หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. **เนื้อสุกรซุบแป้งทอด**

ก. <u>ซีโรไทป์ โอ</u>

- อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส



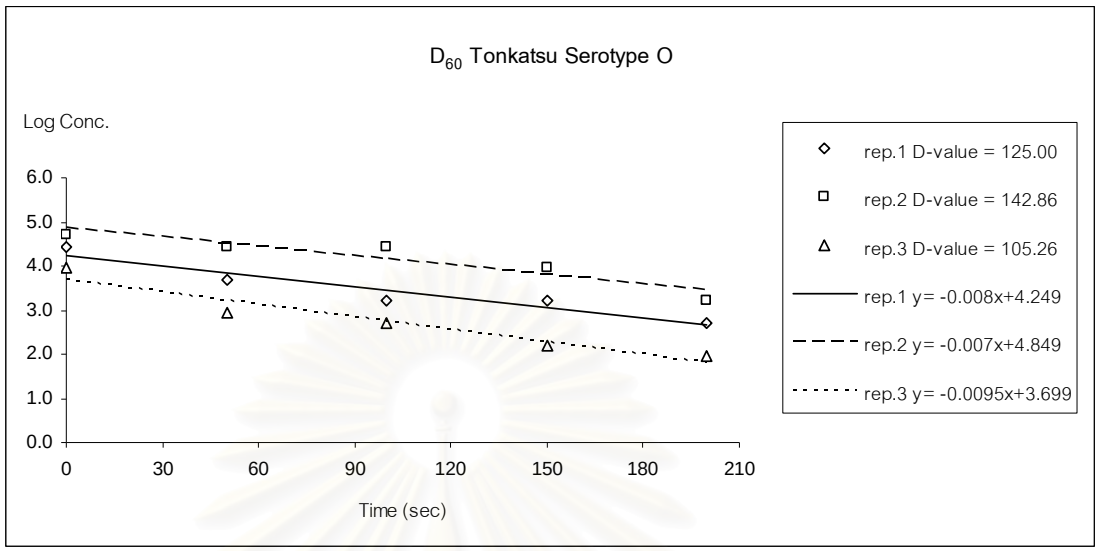
กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์โอ ค่า D และสมการกราฟเส้นตรง ในเนื้อสุกรซุบแป้งทอด ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์โอในเนื้อสุกรซุบแป้งทอด ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.00029	0.0000	-6.533	0.007	-0.000434	-0.000150
2	-0.00024	0.0001	-4.490	0.021	-0.000403	-0.000069
3	-0.00035	0.0002	-1.890	0.199	-0.001138	0.000443

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

- อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส



กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์โอ ค่า D และสมการกราฟเส้นตรงในเนื้อสุกรซุบแป้งทอด ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

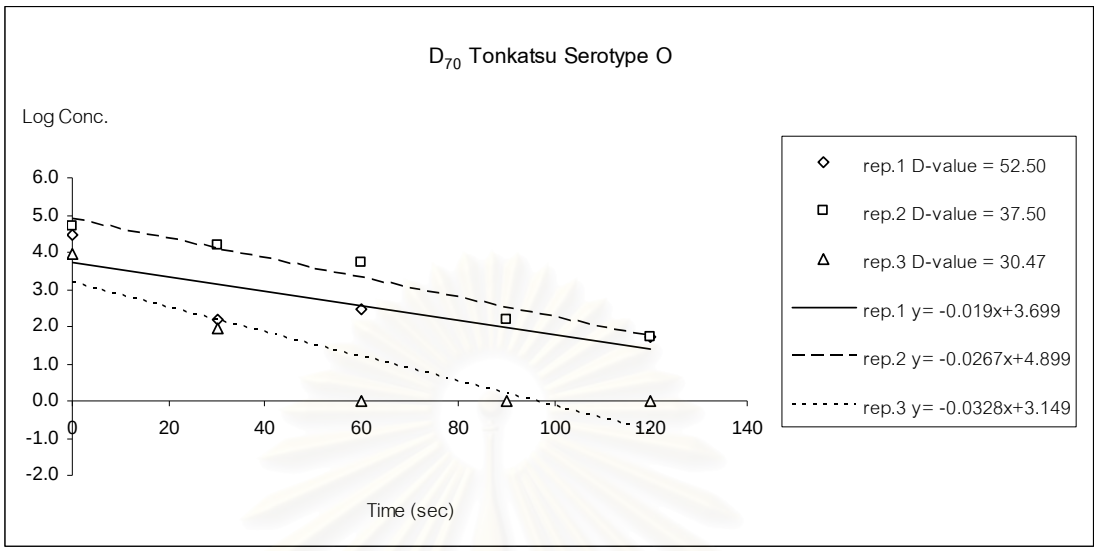
ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์โอในเนื้อสุกรซุบแป้งทอด ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.00800	0.0014	-5.657	0.011	-0.012501	-0.003499
2	-0.00700	0.0016	-4.287	0.023	-0.012197	-0.001803
3	-0.00950	0.0015	-6.333	0.008	-0.014274	-0.004726

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส



กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์โอ ค่า D และสมการกราฟเส้นตรง ในเนื้อสุกรซุบแป้งทอด ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

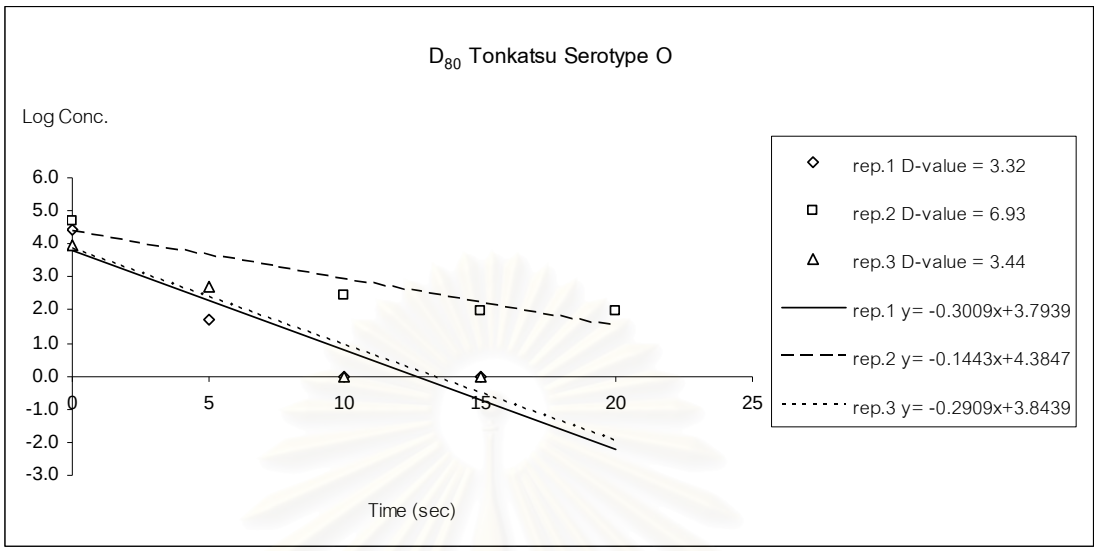
ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์โอในเนื้อสุกรซุบแป้งทอด ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.01905	0.0098	-1.940	0.192*	-0.061286	0.023191
2	-0.02667	0.0033	-8.000	0.004	-0.037275	-0.016059
3	-0.03282	0.0101	-3.259	0.047	-0.064880	-0.000766

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส



กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์โอ ค่า D และสมการกราฟเส้นตรง ในเนื้อสุกรซุบแป้งทอด ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์โอในเนื้อสุกรซุบแป้งทอด ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

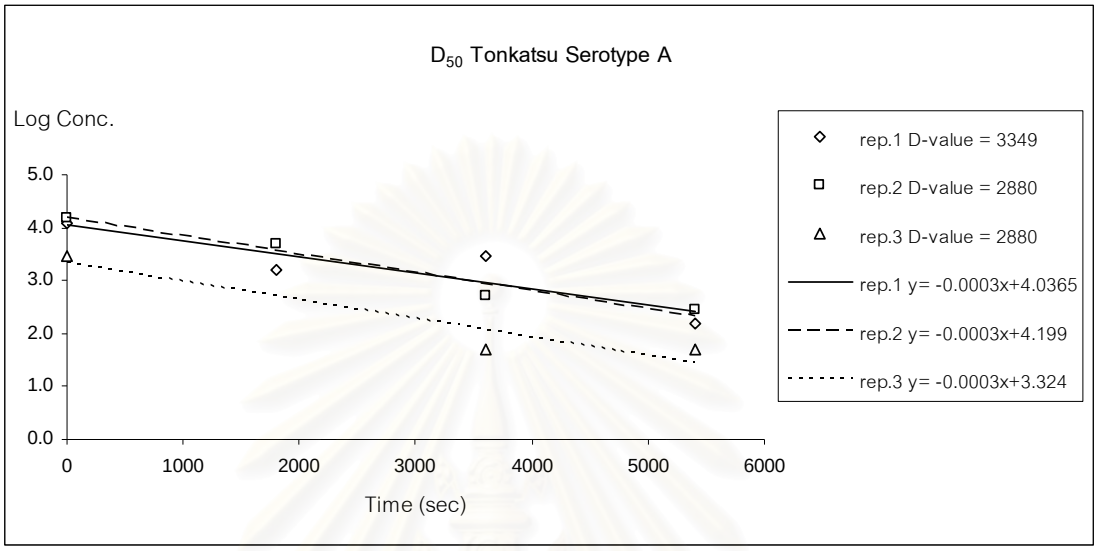
ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.30092	0.0874	-3.441	0.075*	-0.677162	0.075322
2	-0.14429	0.0376	-3.839	0.062*	-0.305979	0.017407
3	-0.29092	0.0707	-4.113	0.054*	-0.595275	0.013435

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข. ซีโรไทป์ เอ

- อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส



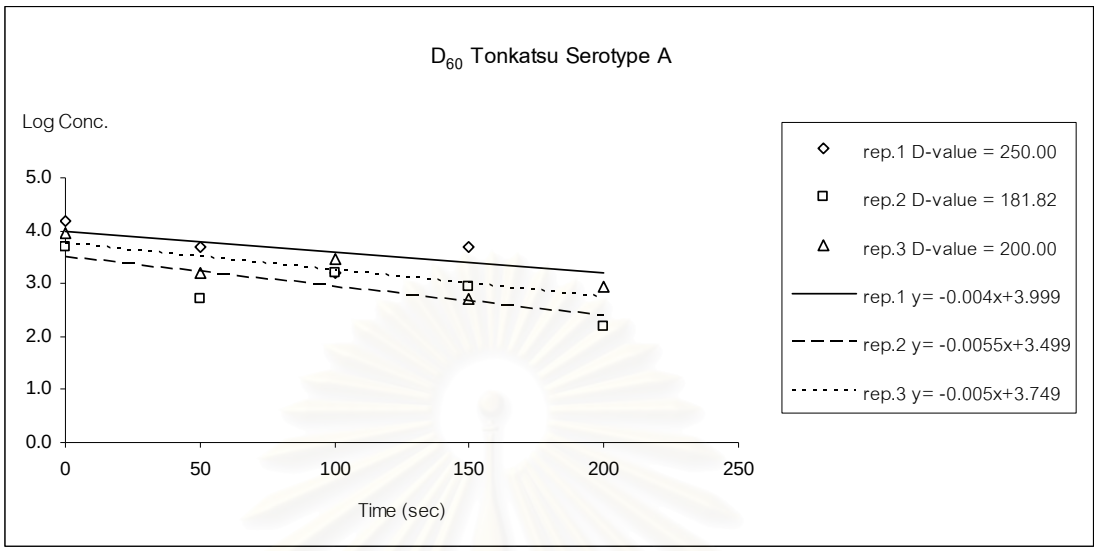
กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอ ค่า D และสมการกราฟเส้นตรง ในเนื้อสุกรซุบแป้งทอด ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอในเนื้อสุกรซุบแป้งทอด ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.00030	0.0001	-2.758	0.110*	-0.000764	0.000167
2	-0.00035	0.0001	-6.455	0.023	-0.000579	-0.000116
3	-0.00035	0.0001	-2.887	0.212*	-0.001876	0.001181

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

- อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส



กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอ ค่า D และสมการกราฟเส้นตรง ในเนื้อสุกรซุบแป้งทอด ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

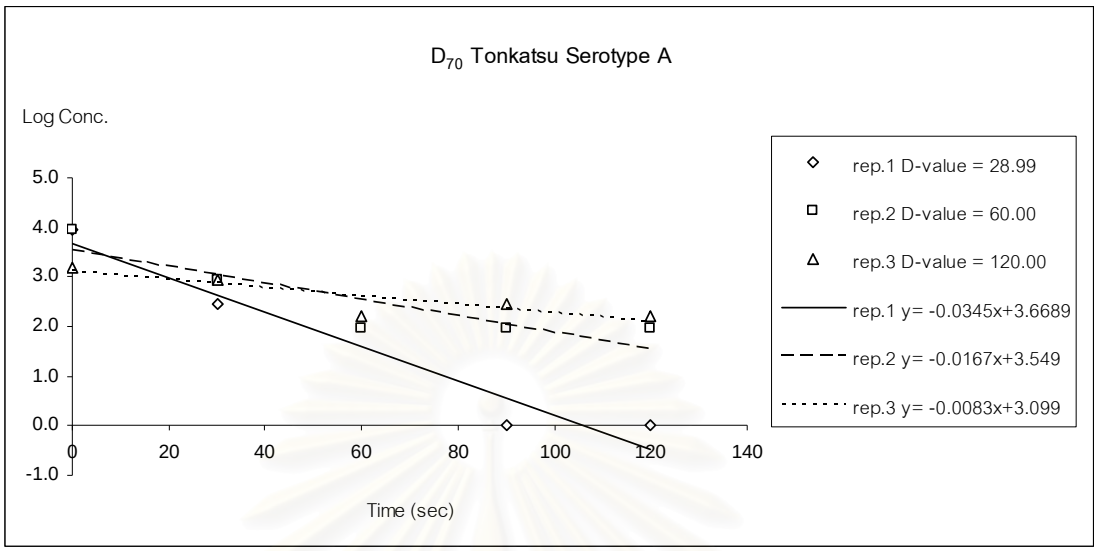
ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอในเนื้อสุกรซุบแป้งทอด ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.00400	0.0035	-1.155	0.368*	-0.018905	0.010905
2	-0.00550	0.0026	-2.144	0.121*	-0.013666	0.002666
3	-0.00500	0.0020	-2.500	0.088*	-0.011365	0.001365

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส



กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอ ค่า D และสมการกราฟเส้นตรง ในเนื้อสุกรซุบแป้งทอด ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

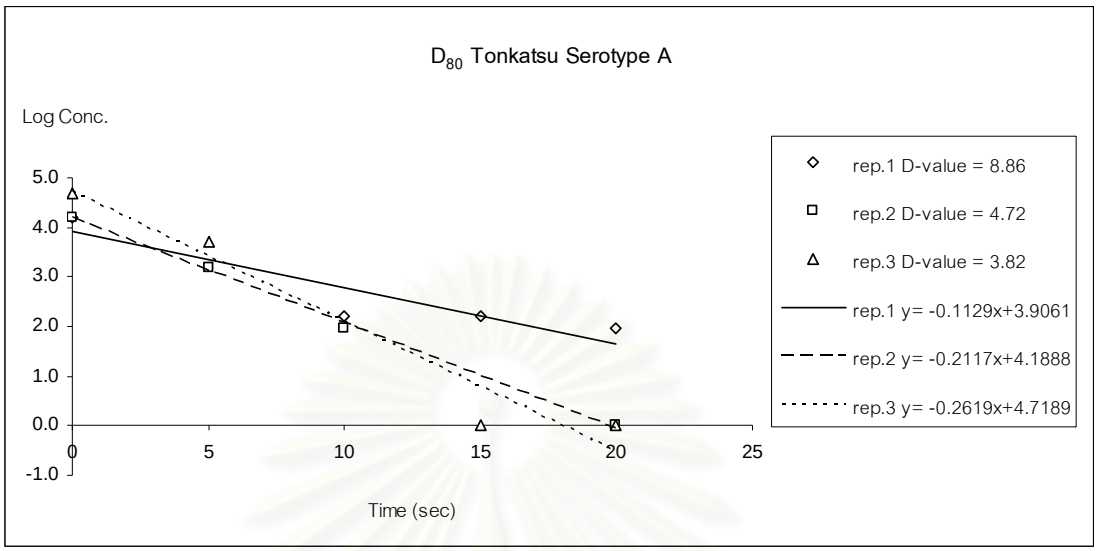
ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอในเนื้อสุกรซุบแป้งทอด ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.03449	0.0060	-5.728	0.029	-0.060397	-0.008583
2	-0.01667	0.0051	-3.273	0.047	-0.032871	-0.000462
3	-0.00833	0.0027	-3.062	0.055*	-0.016995	0.000328

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส



กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอ ค่า D และสมการกราฟเส้นตรงในเนื้อสุกรซุบแป้งทอด ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอในเนื้อสุกรซุบแป้งทอด ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

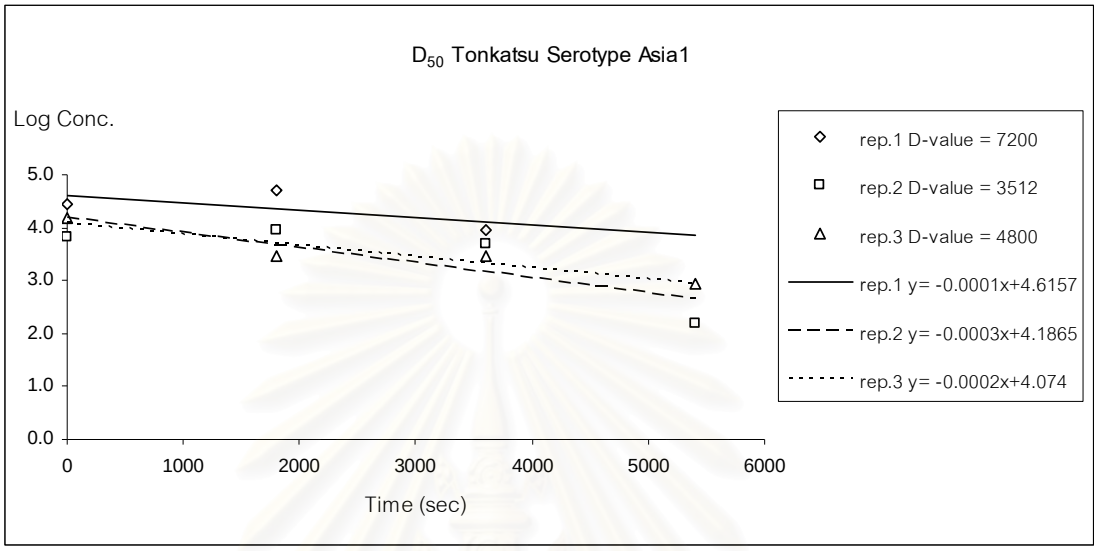
ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.11286	0.0342	-3.303	0.081*	-0.259864	0.034149
2	-0.21166	0.0071	-29.885	0.001	-0.242136	-0.181189
3	-0.26194	0.0442	-5.921	0.027	-0.452277	-0.071603

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ค. <u>ซีโรไทป์ เอเชียวัน</u>

- อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส



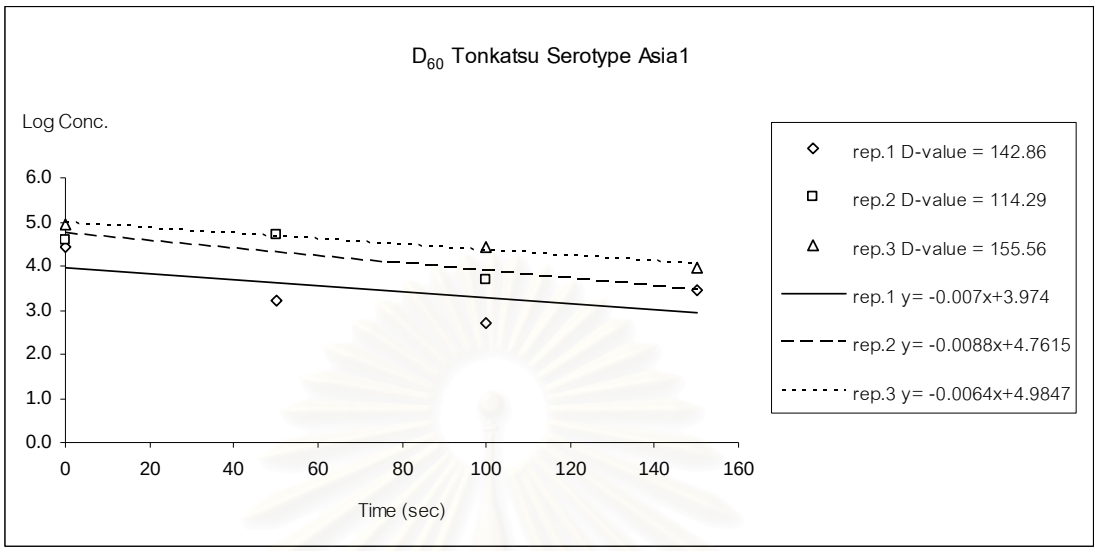
กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอเชียวัน ค่า D และสมการกราฟเส้นตรง ในเนื้อสุกรชุบแป้งทอด ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอเชียวัน ในเนื้อสุกรชุบแป้งทอด ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.00014	0.0002	-0.866	0.546*	-0.002177	0.001899
2	-0.00028	0.0001	-1.939	0.192*	-0.000916	0.000347
3	-0.00021	0.0001	-3.873	0.061*	-0.000440	0.000023

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

- อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส



กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอเชียวัน ค่า D และสมการกราฟเส้นตรง ในเนื้อสุกรซุบแป้งทอด ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

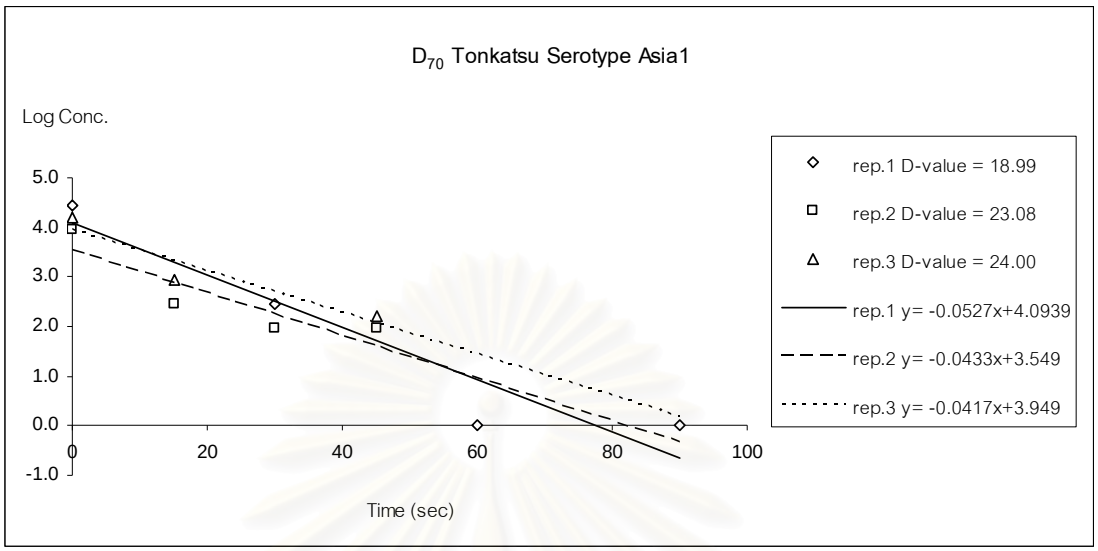
ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอเชียวัน ในเนื้อสุกรซุบแป้งทอด ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.00700	0.0064	-1.100	0.386*	-0.034382	0.020382
2	-0.00875	0.0065	-1.347	0.407*	-0.091279	0.073779
3	-0.00643	0.0012	-5.196	0.121*	-0.022148	0.009291

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส



กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอเชียวัน ค่า D และสมการกราฟเส้นตรง ในเนื้อสุกรซุบแป้งทอด ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

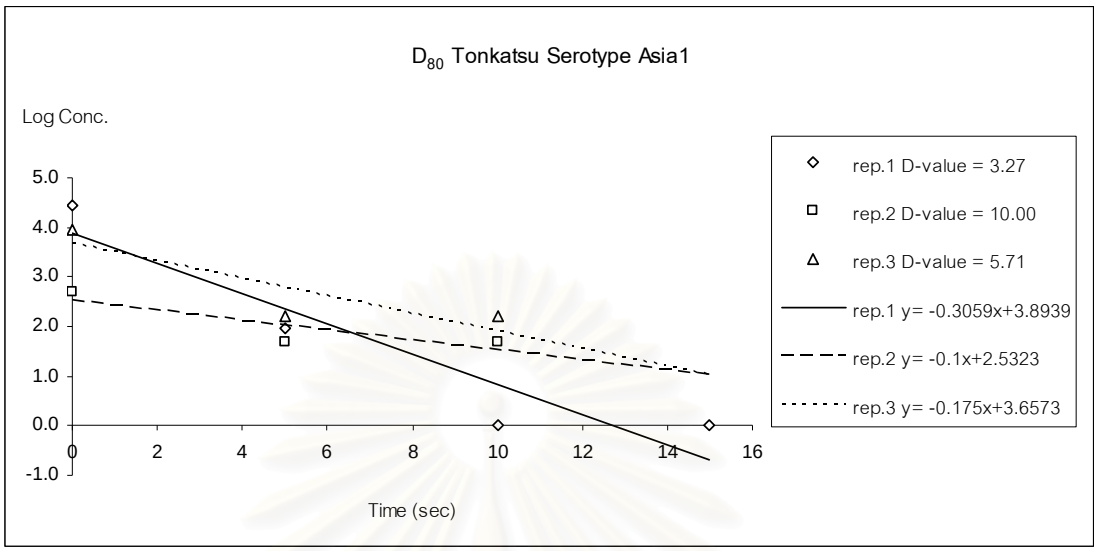
ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอเชียวัน ในเนื้อสุกรซุบแป้งทอด ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.05265	0.0126	-4.192	0.052*	-0.106697	0.001391
2	-0.04333	0.0160	-2.711	0.113*	-0.112116	0.025449
3	-0.04167	0.0144	-2.887	0.212*	-0.225065	0.141732

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส



กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอเชียวัน ค่า D และสมการกราฟเส้นตรง ในเนื้อสุกรซุบแป้งทอด ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอเชียวัน ในเนื้อสุกรซุบแป้งทอด ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.30592	0.0815	-3.754	0.064*	-0.656550	0.044710
2	-0.10000	0.0577	-1.732	0.333*	-0.833593	0.633593
3	-0.17500	0.1010	-1.732	0.333*	-1.458788	1.108788

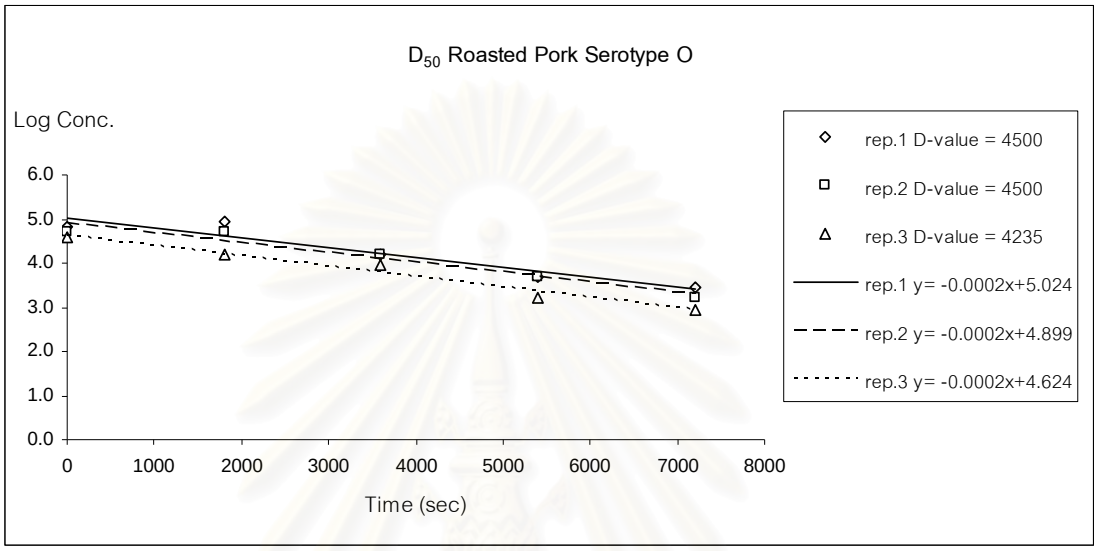
หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3. **เนื้อสุกรอบ**

ก. ซีโรไทป์ โอ

- อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส



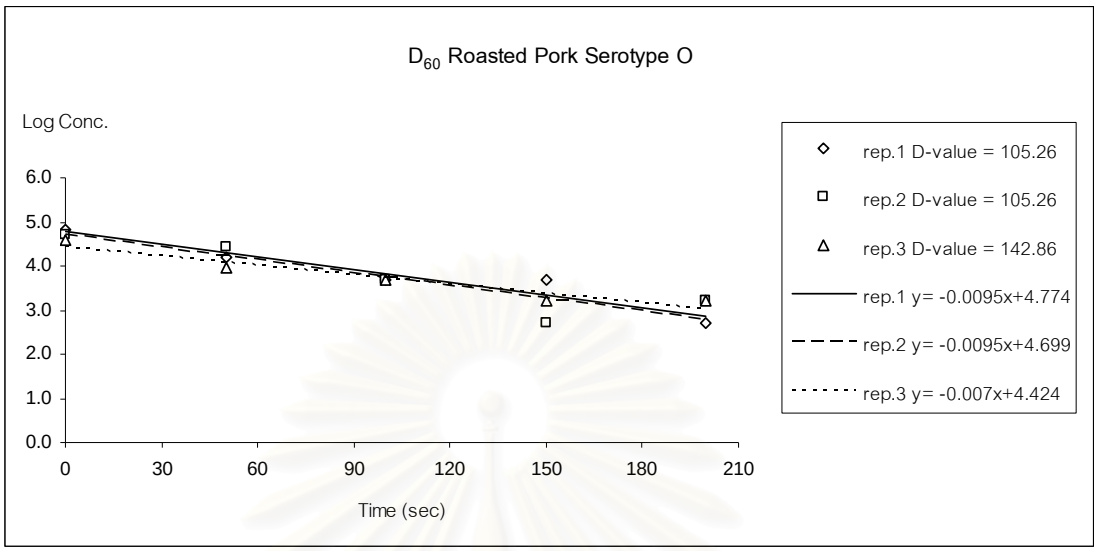
กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์โอ ค่า D และสมการกราฟเส้นตรง ในเนื้อสุกรอบ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์โอในเนื้อสุกรอบ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.00022	0.0000	-5.435	0.012	-0.000352	-0.000092
2	-0.00022	0.0000	-6.928	0.006	-0.000324	-0.000120
3	-0.00024	0.0000	-9.815	0.002	-0.000313	-0.000160

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

- อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส



กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์โอ ค่า D และสมการกราฟเส้นตรง ในเนื้อสุกรอบ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

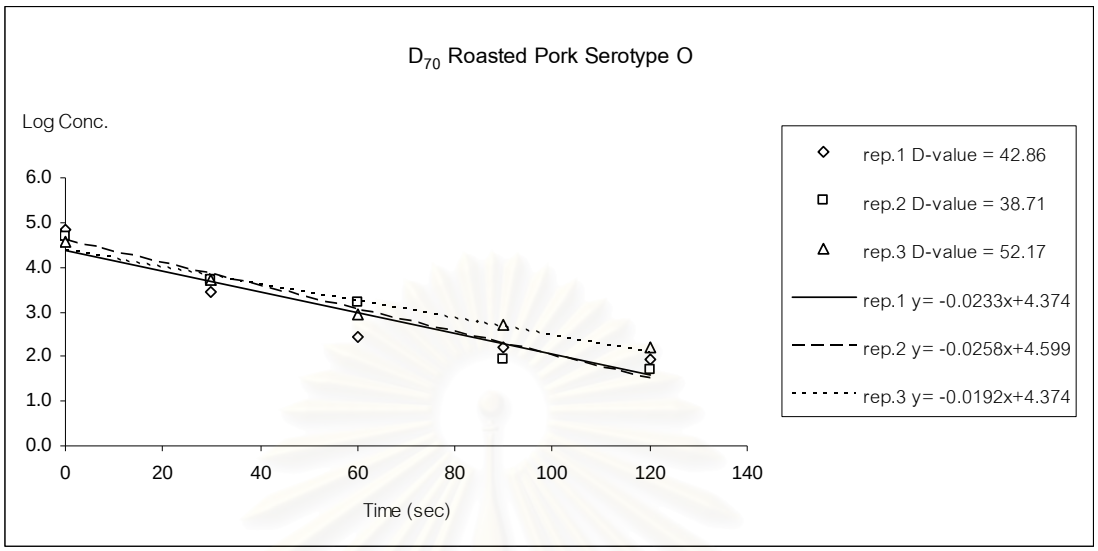
ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์โอในเนื้อสุกรอบ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.00950	0.0016	-6.111	0.009	-0.014447	-0.004553
2	-0.00950	0.0027	-3.528	0.039	-0.018069	-0.000931
3	-0.00700	0.0012	-6.062	0.009	-0.010675	-0.003325

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส



กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์โอ ค่า D และสมการกราฟเส้นตรง ในเนื้อสุกรอบ ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

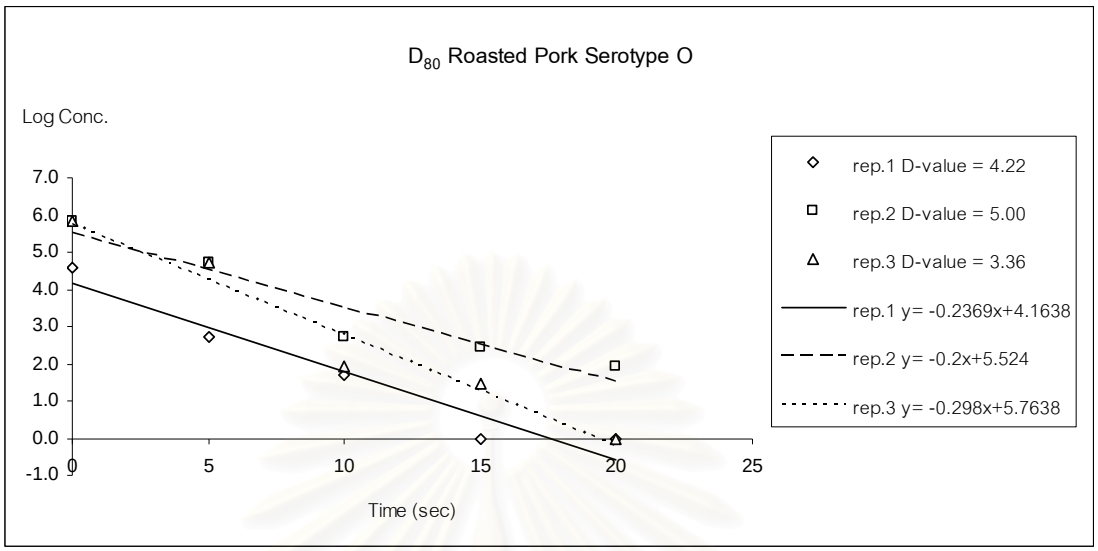
ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์โอในเนื้อสุกรอบ ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.02333	0.0050	-4.667	0.019	-0.039246	-0.007421
2	-0.02583	0.0027	-9.644	0.002	-0.034358	-0.017308
3	-0.01917	0.0023	-8.307	0.004	-0.026510	-0.011824

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส



กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์โอ ค่า D และสมการกราฟเส้นตรง ในเนื้อสุกรอบ ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์โอในเนื้อสุกรอบ ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

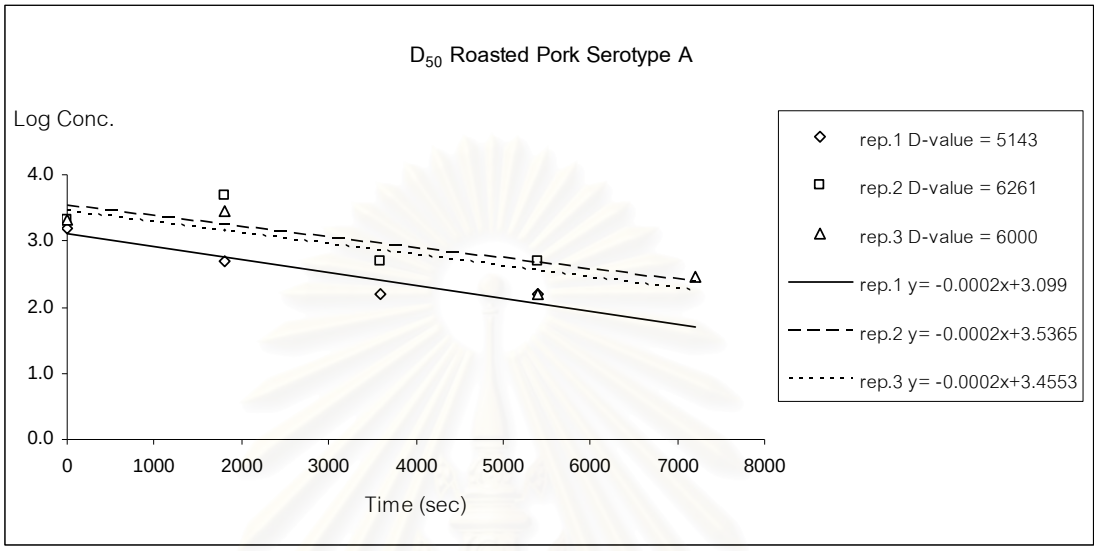
ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.23694	0.0357	-6.629	0.007	-0.350691	-0.123189
2	-0.20000	0.0363	-5.512	0.012	-0.315478	-0.084522
3	-0.29796	0.0355	-8.399	0.004	-0.410859	-0.185061

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข. *ซีโรไทป์ เอ*

- อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส



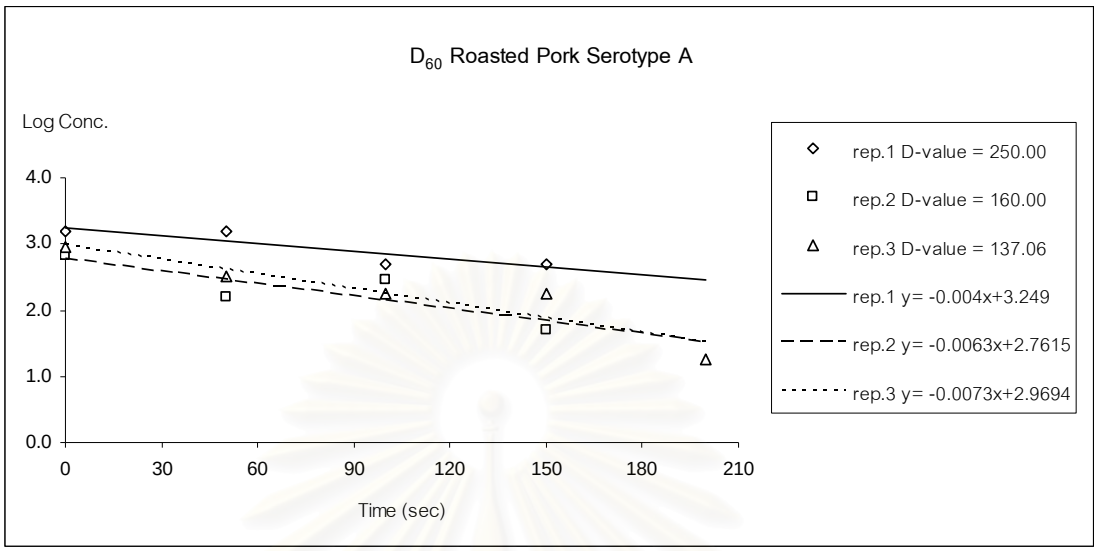
กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอ ค่า D และสมการกราฟเส้นตรงในเนื้อสุกรอบ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอในเนื้อสุกรอบ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.00019	0.0000	-4.041	0.056*	-0.000401	0.000013
2	-0.00016	0.0001	-1.614	0.248*	-0.000585	0.000266
3	-0.00017	0.0001	-2.592	0.122*	-0.000443	0.000110

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

- อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส



กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอ ค่า D และสมการกราฟเส้นตรงในเนื้อสุกรอบ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

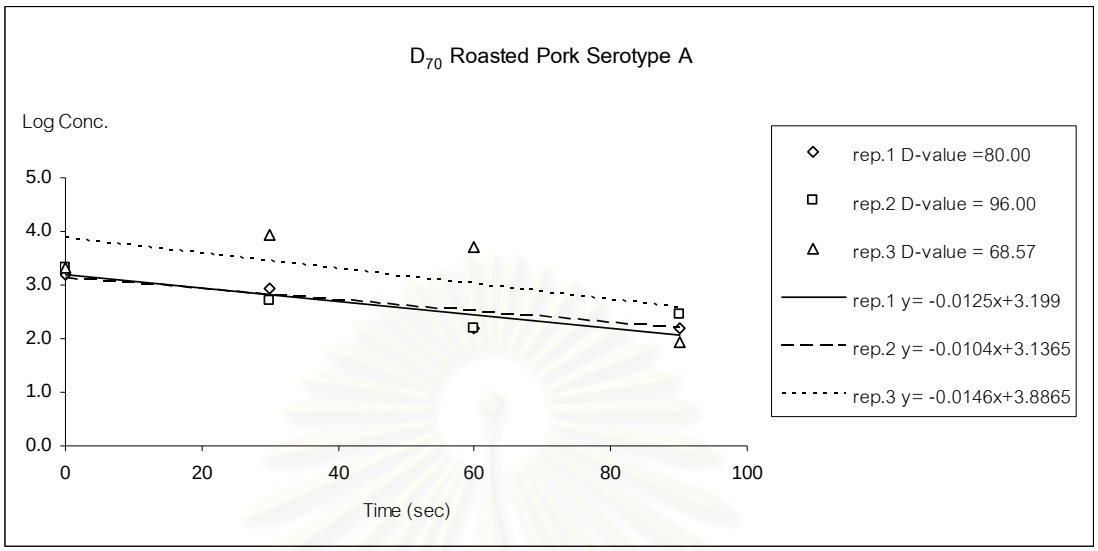
ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอในเนื้อสุกรอบ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.00400	0.0014	-2.828	0.106*	-0.010085	0.002085
2	-0.00625	0.0027	-2.331	0.145*	-0.017785	0.005285
3	-0.00730	0.0017	-4.262	0.024	-0.012744	-0.001848

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส



กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอ ค่า D และสมการกราฟเส้นตรงในเนื้อสุกรอบ ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

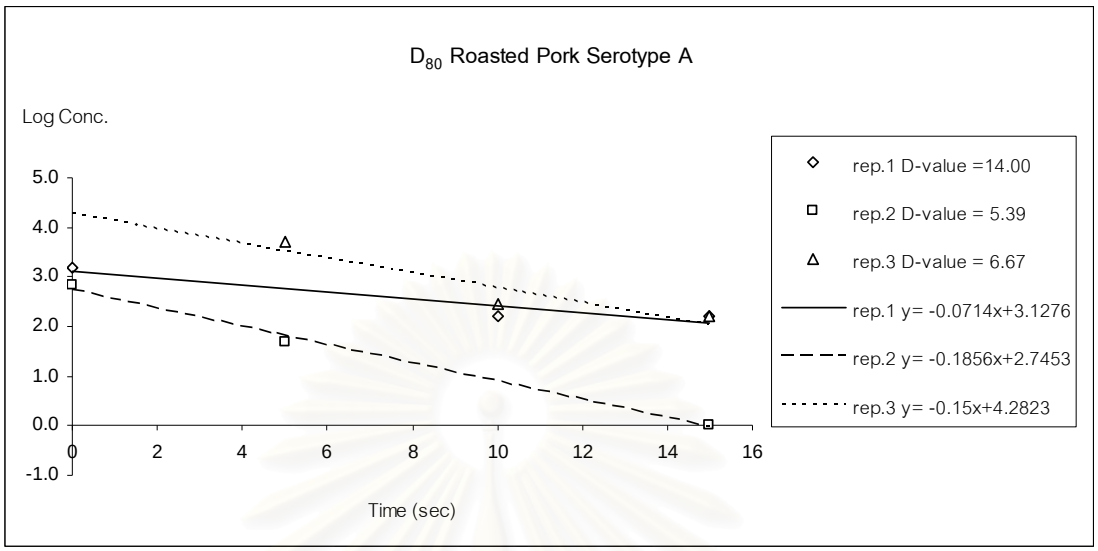
ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอในเนื้อสุกรอบ ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.01250	0.0032	-3.873	0.061*	-0.026387	0.001387
2	-0.01042	0.0048	-2.152	0.164*	-0.031247	0.010413
3	-0.01458	0.0126	-1.157	0.367*	-0.068813	0.039646

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส



กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอ ค่า D และสมการกราฟเส้นตรงในเนื้อสุกรอบ ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอในเนื้อสุกรอบ ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

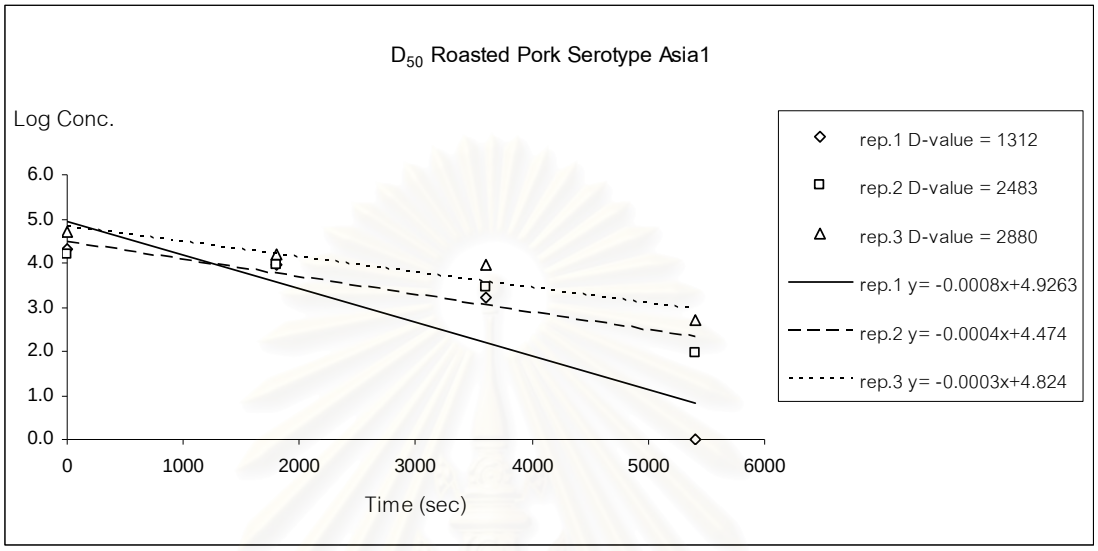
ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.07143	0.0247	-2.887	0.212*	-0.385826	0.242968
2	-0.18564	0.0136	-13.616	0.047	-0.358876	-0.012410
3	-0.15000	0.0577	-2.598	0.234*	-0.883593	0.583593

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ค. ซีโรไทป์ เอเชียวัน

- อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส



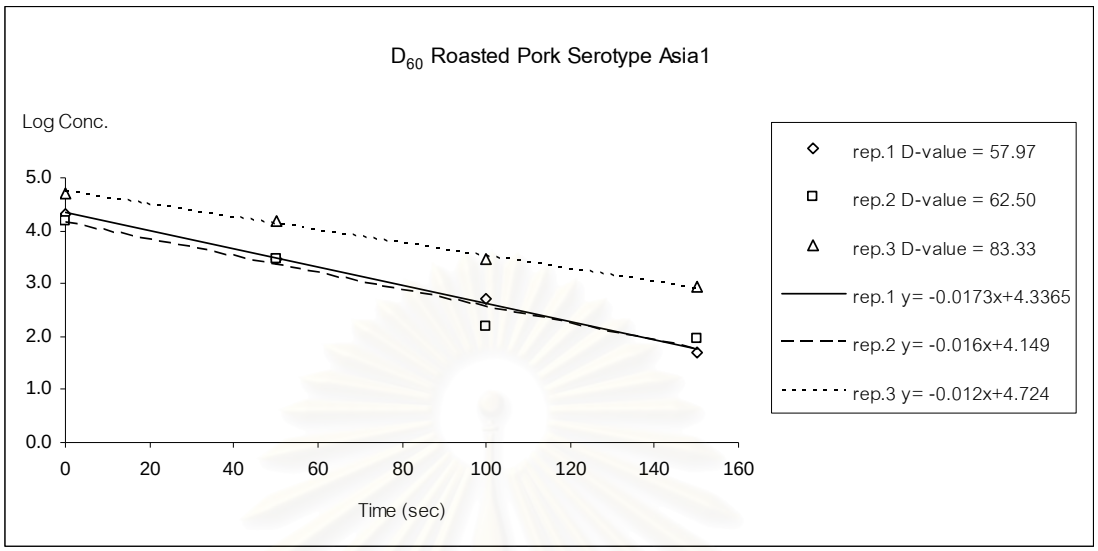
กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอเชียวัน ค่า D และสมการกราฟเส้นตรงในเนื้อสุกรอบ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอเชียวันในเนื้อสุกรอบ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.00076	0.0003	-2.920	0.100*	-0.001886	0.000361
2	-0.00040	0.0001	-3.543	0.071*	-0.000892	0.000086
3	-0.00035	0.0001	-4.226	0.052*	-0.000701	0.000006

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

- อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส



กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอเชียวัน ค่า D และสมการกราฟเส้นตรง ในเนื้อสุกรอบ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

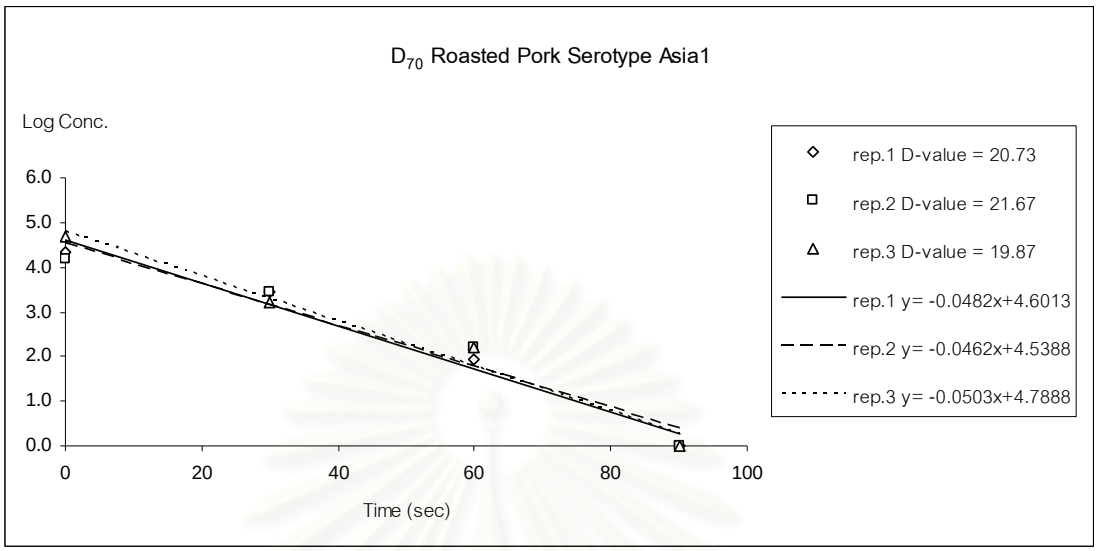
ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอเชียวัน ในเนื้อสุกรอบ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.01725	0.0007	-26.080	0.001	-0.020096	-0.014404
2	-0.01600	0.0026	-6.047	0.026	-0.027384	-0.004616
3	-0.01200	0.0007	-16.971	0.003	-0.015042	-0.008958

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส



กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอเชียวัน ค่า D และสมการกราฟเส้นตรง ในเนื้อสุกรอบ ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

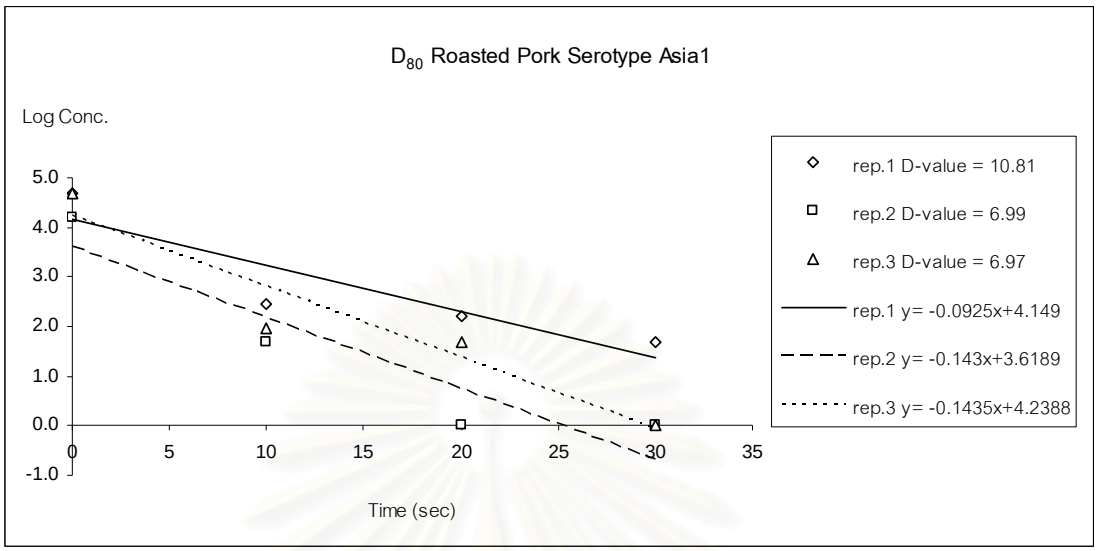
ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอเชียวัน ในเนื้อสุกรอบ ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.04824	0.0057	-8.499	0.014	-0.072660	-0.023820
2	-0.04616	0.0077	-5.987	0.027	-0.079330	-0.012984
3	-0.05032	0.0054	-9.248	0.011	-0.073736	-0.026911

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส



กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอเชียวัน ค่า D และสมการกราฟเส้นตรง ในเนื้อสุกรอบ ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอเชียวัน ในเนื้อสุกรอบ ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.09250	0.0319	-2.898	0.101*	-0.229831	0.044831
2	-0.14296	0.0400	-3.571	0.070*	-0.315218	0.029298
3	-0.14347	0.0325	-4.415	0.048	-0.283282	-0.003658

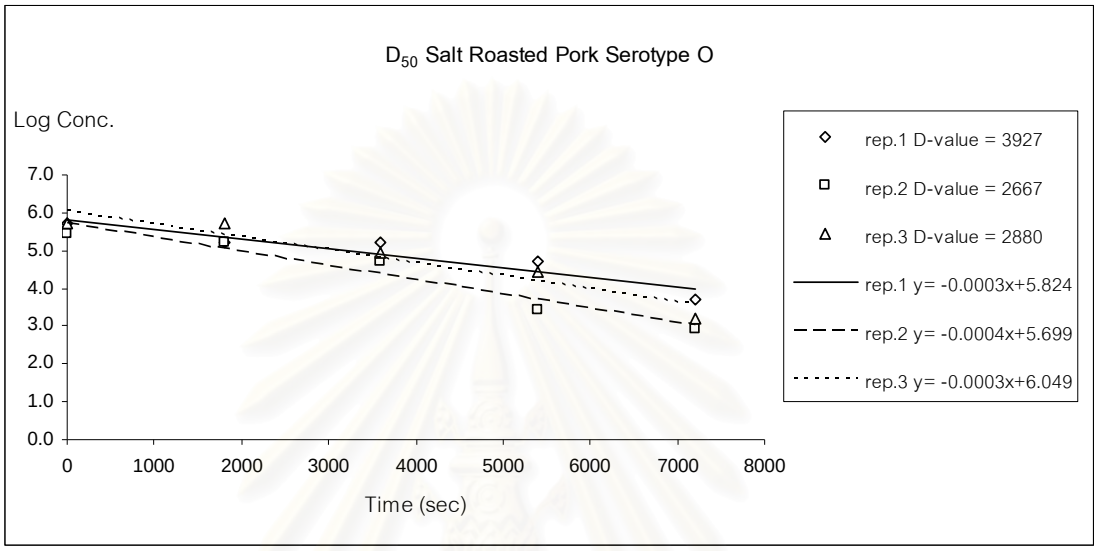
หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4. **เนื้อสุกรอบเกลือ**

ก. ซีโรไทป์ โอ

- อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส



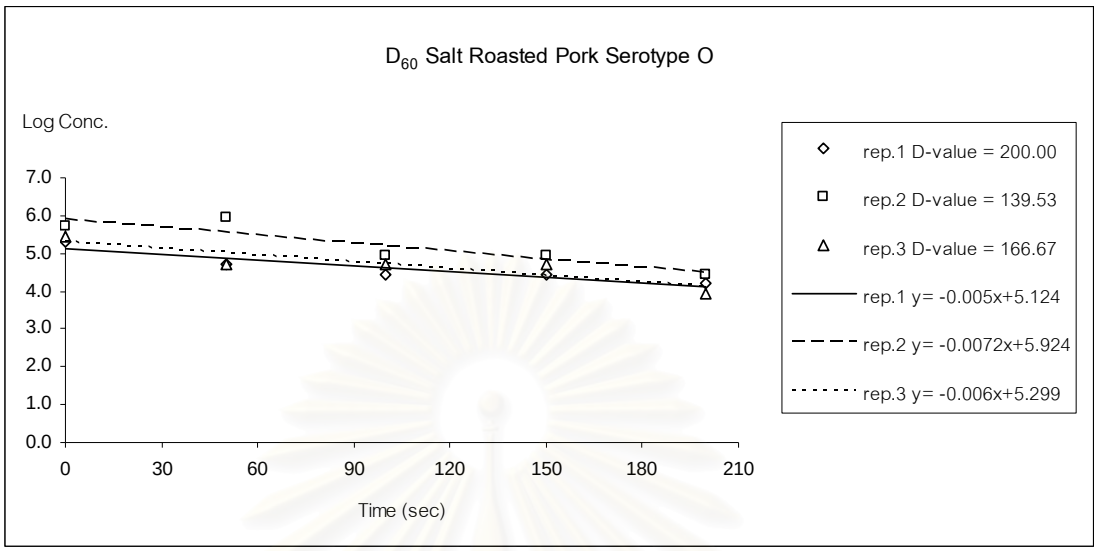
กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์โอ ค่า D และสมการกราฟเส้นตรง ในเนื้อสุกรอบเกลือ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์โอในเนื้อสุกรอบเกลือ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.00025	0.0001	-4.855	0.017	-0.000422	-0.000088
2	-0.00038	0.0001	-7.132	0.006	-0.000542	-0.000208
3	-0.00035	0.0001	-5.290	0.013	-0.000556	-0.000138

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

- อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส



กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์โอ ค่า D และสมการกราฟเส้นตรง ในเนื้อสุกรอบเกลือ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

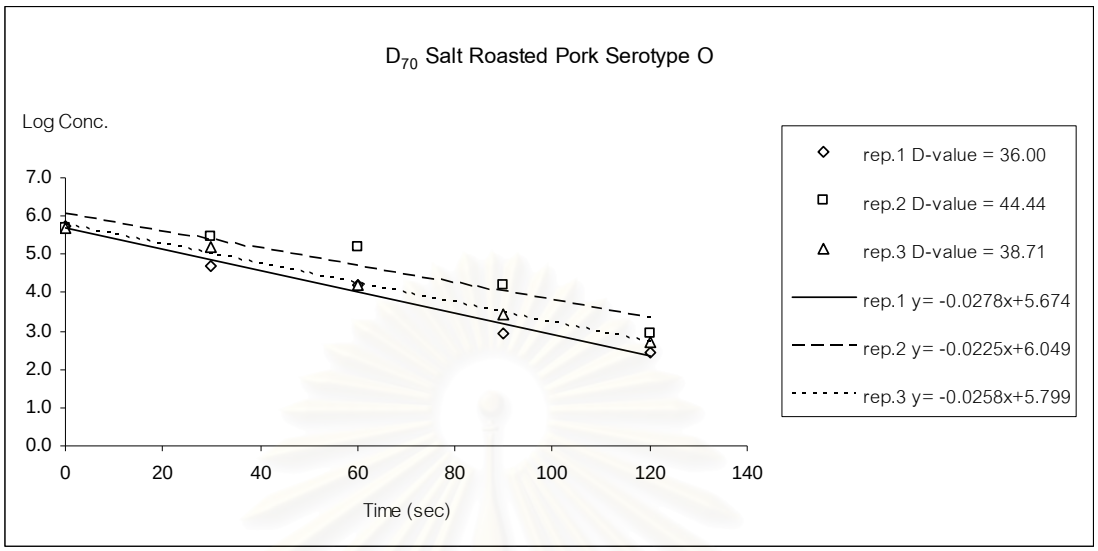
ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์โอในเนื้อสุกรอบเกลือ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.00500	0.0012	-4.082	0.027	-0.008898	-0.001102
2	-0.00717	0.0019	-3.856	0.031	-0.013081	-0.001252
3	-0.00600	0.0017	-3.464	0.041	-0.011512	-0.000488

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส



กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์โอ ค่า D และสมการกราฟเส้นตรง ในเนื้อสุกรอบเกลือ ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

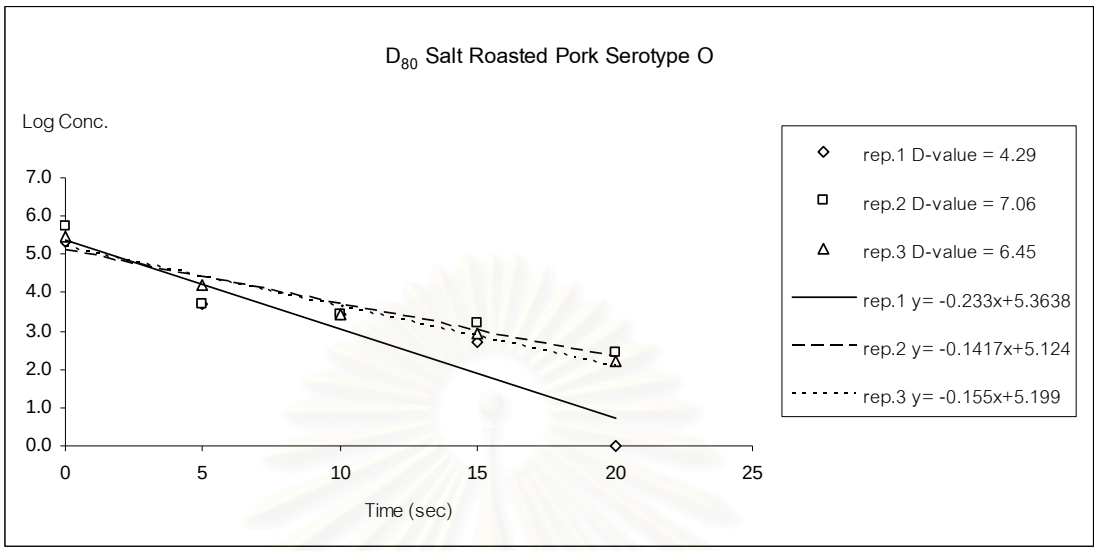
ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์โอในเนื้อสุกรอบเกลือ ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.02778	0.0021	-12.982	0.001	-0.034587	-0.020968
2	-0.02250	0.0046	-4.902	0.016	-0.037106	-0.007894
3	-0.02583	0.0013	-20.294	0.000	-0.029884	-0.021782

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส



กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์โอ ค่า D และสมการกราฟเส้นตรง ในเนื้อสุกรอบเกลือ ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์โอในเนื้อสุกรอบเกลือ ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

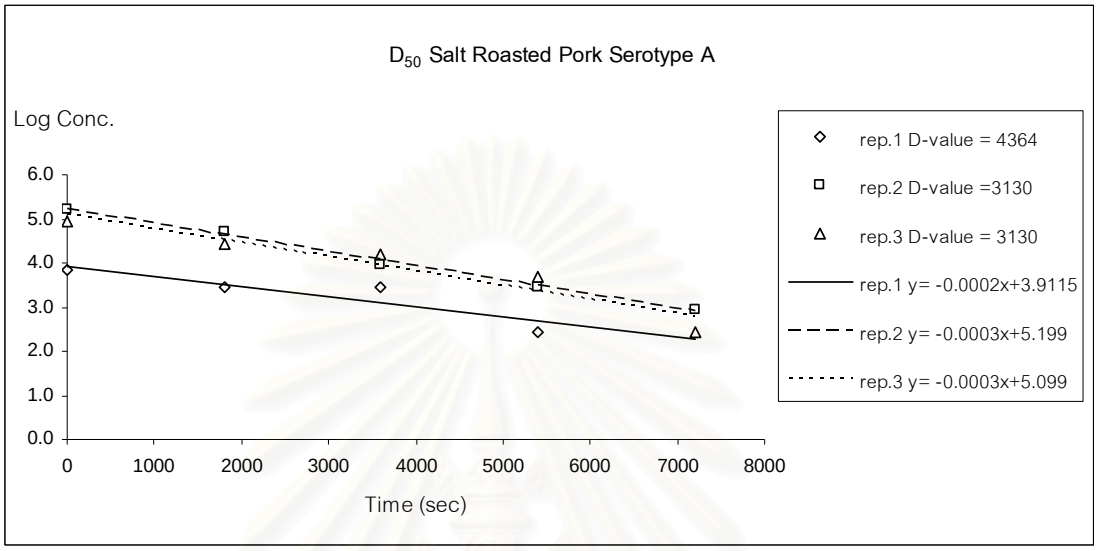
ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.23296	0.0463	-5.031	0.015	-0.380334	-0.085586
2	-0.14167	0.0370	-3.831	0.031	-0.259357	-0.023977
3	-0.15500	0.0150	-10.333	0.002	-0.202737	-0.107263

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข. <u>ซีโรไทป์ เอ</u>

- อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส



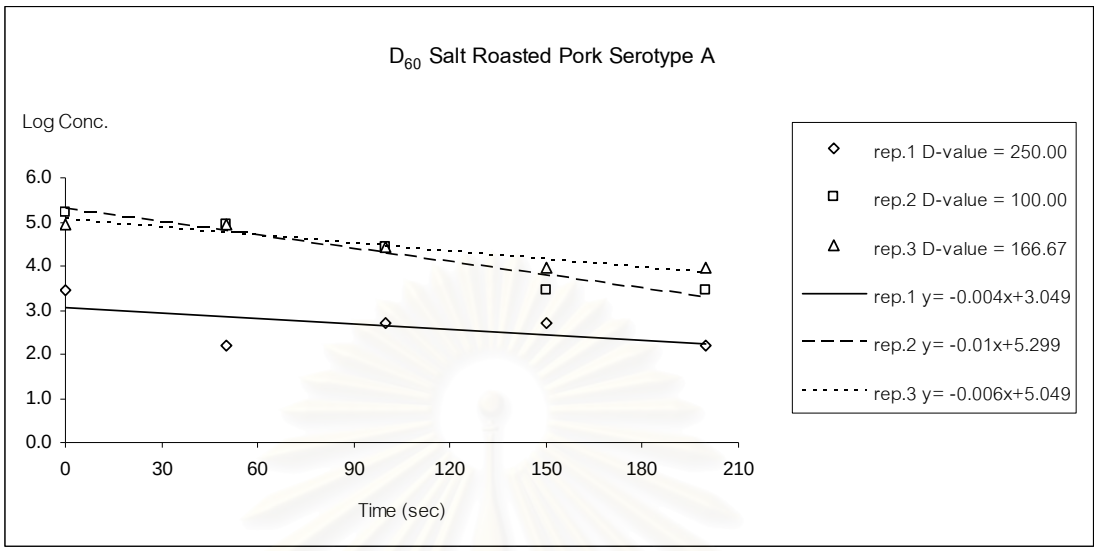
กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอ ค่า D และสมการกราฟเส้นตรงในเนื้อสุกรอบเกลือ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอในเนื้อสุกรอบเกลือ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.00023	0.0001	-2.976	0.097*	-0.000561	0.000102
2	-0.00032	0.0000	-23.000	0.000	-0.000364	-0.000275
3	-0.00032	0.0001	-5.578	0.011	-0.000502	-0.000137

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

- อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส



กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอ ค่า D และสมการกราฟเส้นตรงในเนื้อสุกรอบเกลือ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

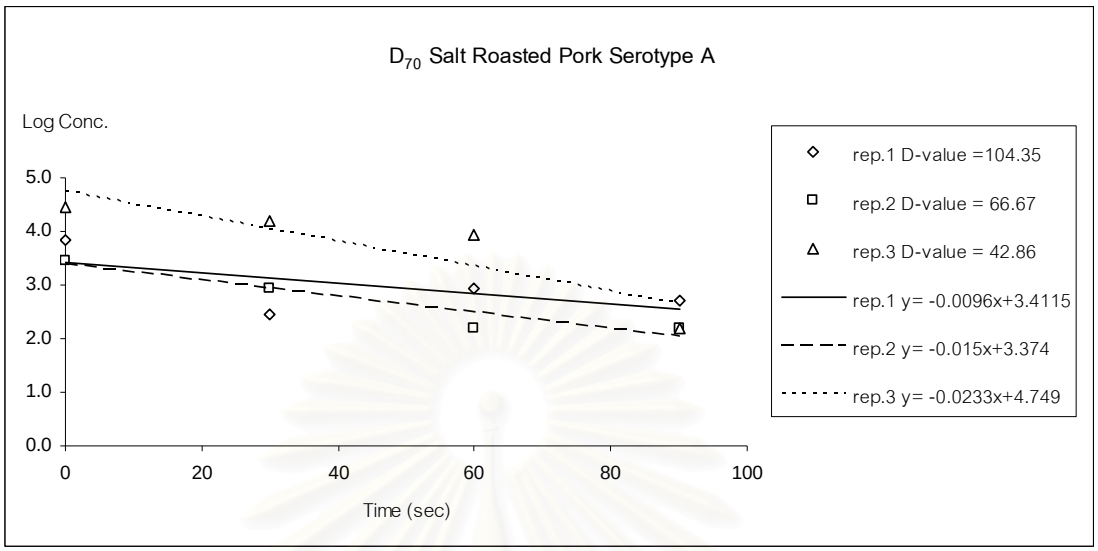
ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอในเนื้อสุกรอบเกลือ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.00400	0.0029	-1.359	0.267*	-0.013369	0.005369
2	-0.01000	0.0016	-6.124	0.009	-0.015197	-0.004803
3	-0.00600	0.0012	-5.196	0.014	-0.009675	-0.002325

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส



กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอ ค่า D และสมการกราฟเส้นตรงในเนื้อสุกรอบเกลือ ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

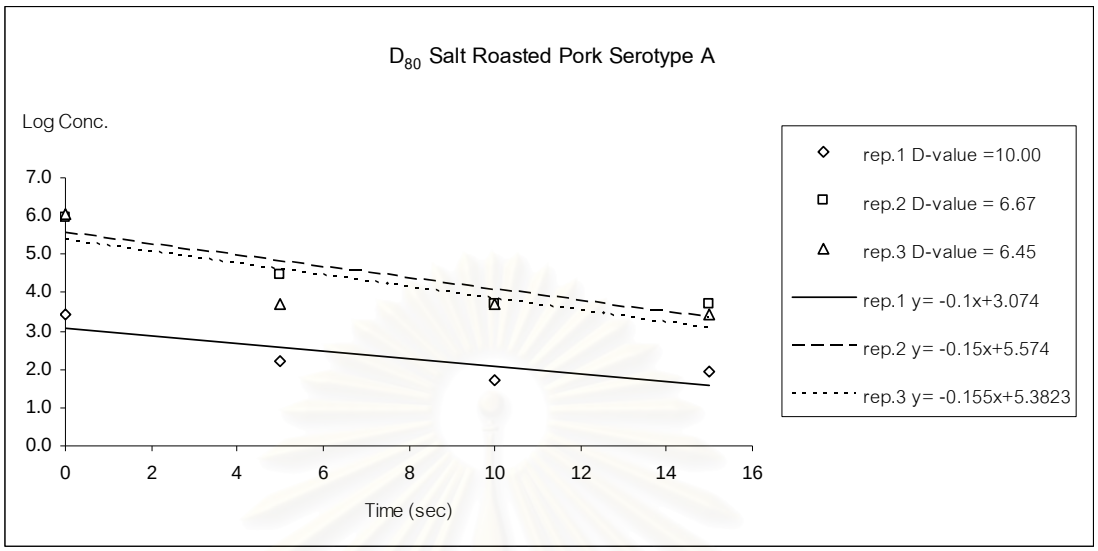
ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอในเนื้อสุกรอบเกลือ ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.00958	0.0086	-1.118	0.380*	-0.046455	0.027289
2	-0.01500	0.0035	-4.243	0.051*	-0.030212	0.000212
3	-0.02333	0.0087	-2.694	0.115*	-0.060595	0.013929

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส



กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอ ค่า D และสมการกราฟเส้นตรงในเนื้อสุกรอบเกลือ ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอในเนื้อสุกรอบเกลือ ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

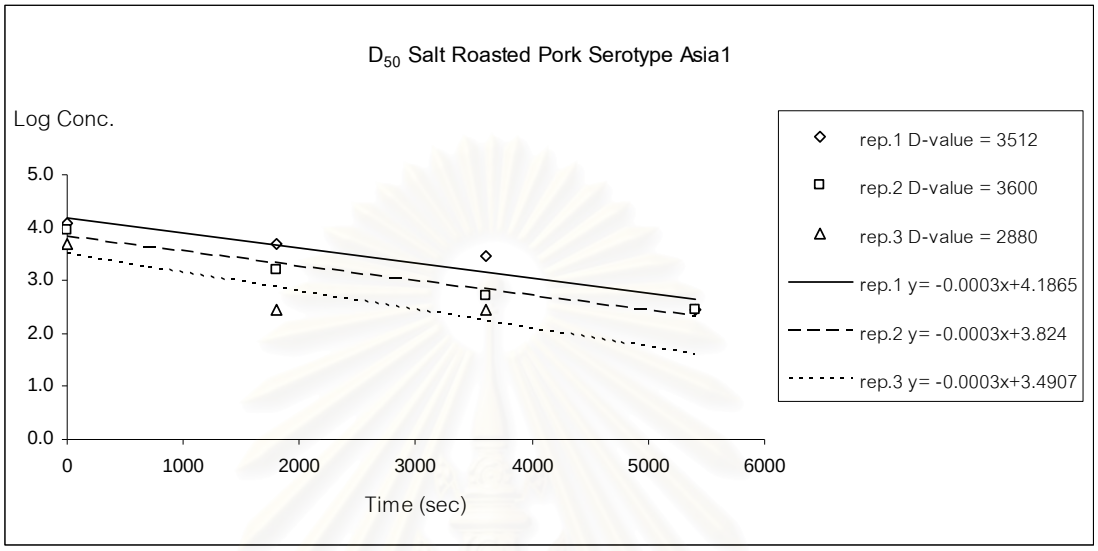
ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.10000	0.0474	-2.108	0.170*	-0.304093	0.104093
2	-0.15000	0.0474	-3.162	0.087*	-0.354093	0.054093
3	-0.15500	0.0753	-2.058	0.176*	-0.479130	0.169130

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ค. ซีโรไทป์ เอเชียวัน

- อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส



กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอเชียวัน ค่า D และสมการกราฟเส้นตรง ในเนื้อสุกรอบเกลือ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

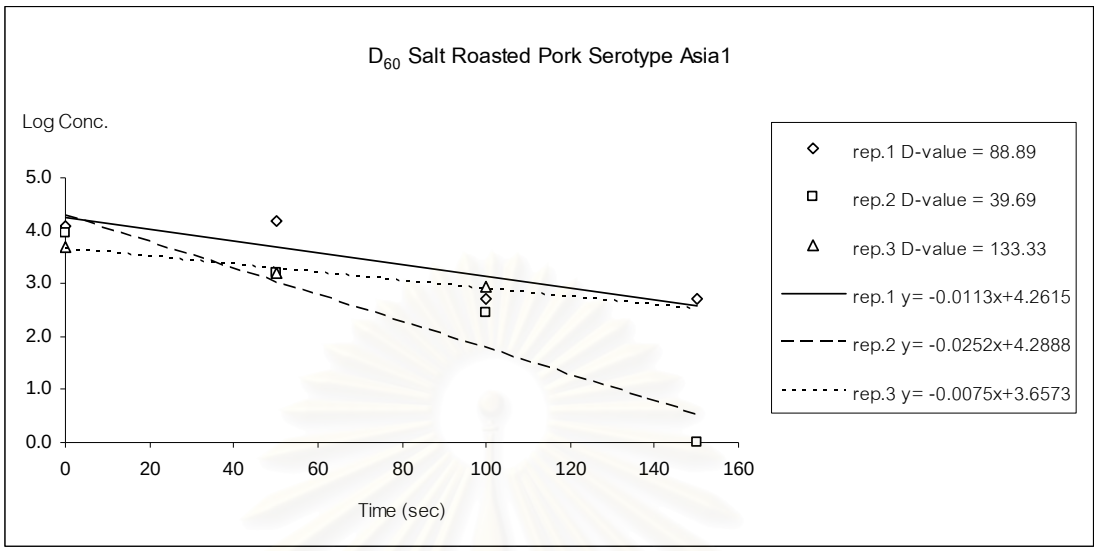
ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอเชียวัน ในเนื้อสุกรอบเกลือ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.00028	0.0001	-4.396	0.048	-0.000563	-0.000006
2	-0.00028	0.0000	-6.325	0.024	-0.000467	-0.000089
3	-0.00035	0.0002	-1.732	0.333*	-0.002894	0.002200

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส



กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอเชียวัน ค่า D และสมการกราฟเส้นตรง ในเนื้อสุกรอบเกลือ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

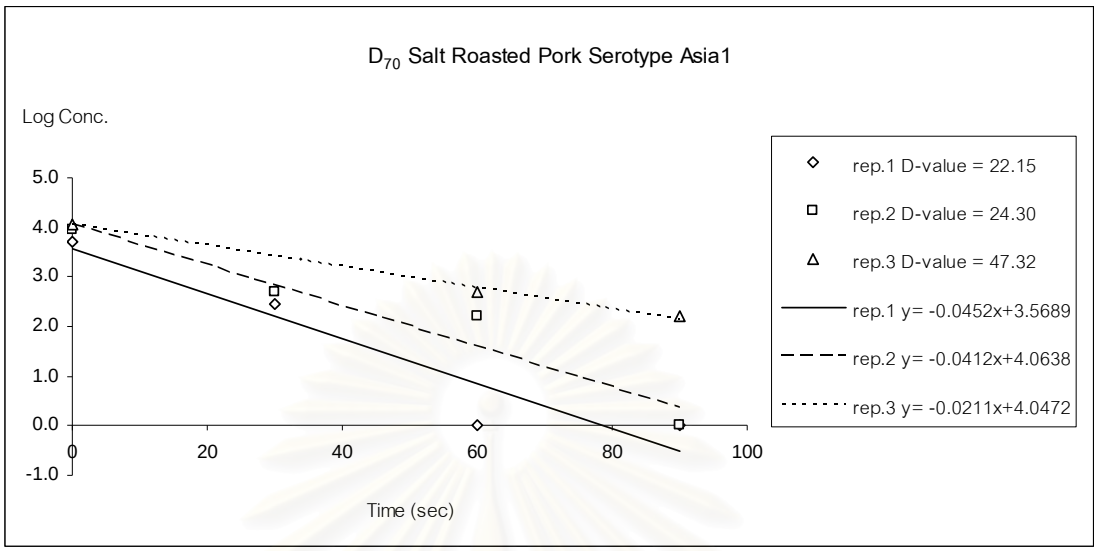
ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอเชียวัน ในเนื้อสุกรอบเกลือ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.01125	0.0044	-2.535	0.127*	-0.030341	0.007841
2	-0.02519	0.0059	-4.281	0.050*	-0.050517	0.000129
3	-0.00750	0.0014	-5.196	0.121*	-0.025840	0.010840

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส



กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอเชียวัน ค่า D และสมการกราฟเส้นตรง ในเนื้อสุกรอบเกลือ ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

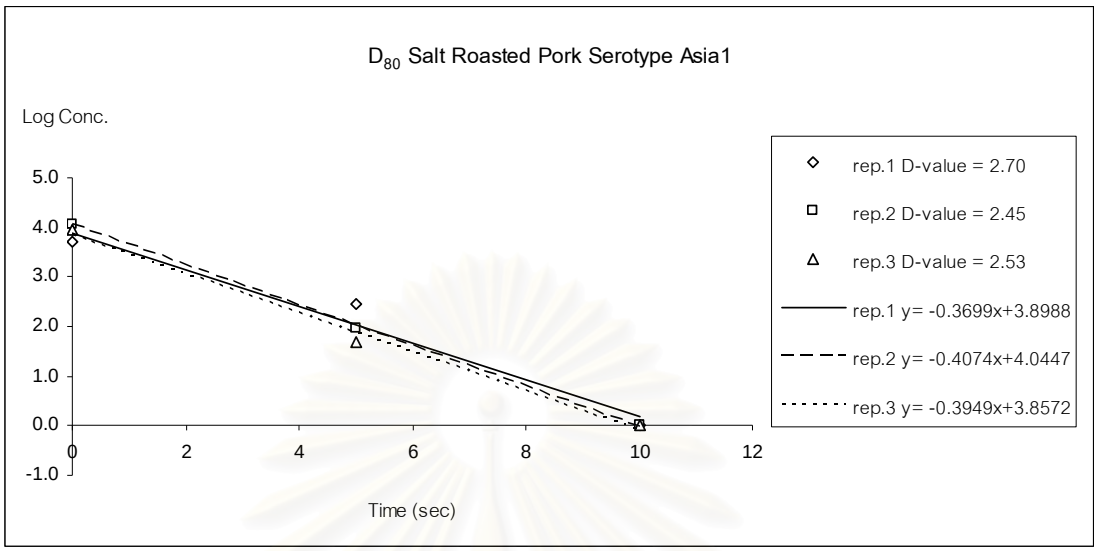
ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอเชียวัน ในเนื้อสุกรอบเกลือ ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.04515	0.0108	-4.168	0.053*	-0.091760	0.001454
2	-0.04116	0.0076	-5.389	0.033	-0.074020	-0.008294
3	-0.02113	0.0015	-13.664	0.047	-0.040781	-0.001481

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส



กราฟแสดงการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอเชียวัน ค่า D และสมการกราฟเส้นตรง ในเนื้อสุกรอบเกลือ ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

ตารางวิเคราะห์ค่าความชัน (β) ของกราฟการทำลายไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์เอเชียวัน ในเนื้อสุกรอบเกลือ ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

ซ้ำที่	ความชัน (β)	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
1	-0.36990	0.0692	-5.343	0.118*	-1.249478	0.509678
2	-0.40740	0.0102	-40.093	0.016	-0.536512	-0.278288
3	-0.39490	0.0318	-12.414	0.051*	-0.799110	0.009310

หมายเหตุ : Std. Error = ค่า Standard Error, t Stat = ค่า Reliability Coefficient, * ค่า p-value > 0.05

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

สัตวแพทย์หญิงปรัชญา อยู่เอี่ยมยุทธ์ เกิดเมื่อวันที่ 22 กรกฎาคม พ.ศ. 2523 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร เข้าศึกษาที่โรงเรียนเซนต์ฟรังซีสซาเวียร์ คอนแวนต์ ตั้งแต่ระดับอนุบาล จนถึงระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย ต่อมาได้เข้าศึกษาต่อในระดับปริญญาตรีที่คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จนกระทั่งสำเร็จการศึกษาปริญญาตรีสัตวแพทยศาสตรบัณฑิต (เกียรตินิยมอันดับ 2) เมื่อปีการศึกษา 2547 จากนั้นได้เข้าทำงานที่บริษัท เบ็ทเทอร์ ฟาร์ม่า จำกัด เป็นระยะเวลา 2 ปี และได้เข้าศึกษาต่อในระดับปริญญาโท หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาสัตวแพทยสาธารณสุข ภาควิชาสัตวแพทยสาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2549

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย