

แอกทิวิตีัยบัยัย *Listeria monocytogenes* และ *Escherichia coli* ของฟิล์มเคลือบ
เซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์โดยใช้เทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง



นางสาวสุชาวลี จำเือง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาควิชาจุลชีววิทยา

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2557

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ANTIMICROBIAL ACTIVITY AGAINST *Listeria monocytogenes* and
Escherichia coli OF CETYLPYRIDINIUM CHLORIDE COATED FILM USING
ELECTROSPINNING TECHNIQUE

Miss Suchawalee Chamuang



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Industrial Microbiology

Department of Microbiology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2014

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์ แอกทีวิตีที่ยับยั้ง *Listeria monocytogenes* และ
Escherichia coli ของฟิล์มเคลือบเซทิลไพริดิเนียมคลอ
ไรด์โดยใช้เทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง
โดย นางสาวสุชาวลี จำเมือง
สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุพัฒน์ เจริญพรวัฒนา
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ดร.ปิยวิทย์ คุ่มพงษ์

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

.....คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร.สุพจน์ หารหนองบัว)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์
.....ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กอบชัย ภัทรกุลวณิชย์)
.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุพัฒน์ เจริญพรวัฒนา)
.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(ดร.ปิยวิทย์ คุ่มพงษ์)
.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปาหนัน เรืองสำราญ)
.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ดร.ณัฐพันธุ์ ศุภกา)

5472131123 : MAJOR INDUSTRIAL MICROBIOLOGY

KEYWORDS: ANTIMICROBIAL PACKAGING / CETYLPYRIDINIUM CHLORIDE / POLYVINYLIDENE CHLORIDE / POLY(VINYL ALCOHOL) / ELECTROSPINNING

SUCHAWALEE CHAMUANG: ANTIMICROBIAL ACTIVITY AGAINST *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* OF CETYLPYRIDINIUM CHLORIDE COATED FILM USING ELECTROSPINNING TECHNIQUE. ADVISOR: SUPAT CHAREONPORNWATTANA, CO-ADVISOR: DR.PIYAWIT KOOMBHONGSE, 119 pp.

Cetylpyridinium chloride (CPC) coated on polyvinylidene chloride (PVDC) film (CPC-PVA film) was produced by electrospinning technique. This research was to study the antimicrobial activity of CPC-coated PVDC film, method of CPC-coated films preparation, the controlled release CPC from CPC-PVA film and the stability of antimicrobial activity upon storage. It was found that 20% PVA (w/v) was the optimal concentration for coating CPC on film due to its smooth CPC-PVA fibers on film and also the effective controlled release of CPC against *Listeria monocytogenes* DMST 17303 and *Escherichia coli* ATCC 25922 throughout 14 days of study. The HPLC analysis showed that CPC was released rapidly on the first day of study and then gradually released throughout 14 days. Increasing CPC concentration on film from 0.2-1.0% (w/w) led to an increase in the degree of inhibition against tested microorganisms. The antimicrobial activity of CPC-PVA film on sliced pork, inoculated with *L. monocytogenes* DMST 17303 and *E. coli* ATCC 25922 and stored at 4°C demonstrated that these films could inhibit bacterial growth on sliced pork during 7 days of study. However, CPC-PVA film showed less antimicrobial efficiency against *E. coli* ATCC 25922 than that of *L. monocytogenes* DMST 17303 at the same concentration of CPC. This film maintained its antimicrobial activity after stored at room temperature for 3 months.

Department: Microbiology

Student's Signature

Field of Study: Industrial Microbiology

Advisor's Signature

Academic Year: 2014

Co-Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีด้วยความช่วยเหลืออย่างดีของผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุพัฒน์ เจริญพรวัฒนา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และ ดร.ปิยวิทย์ คุ่มพงษ์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำ และข้อเสนอแนะต่างๆ ทุกขั้นตอน ตลอดจนตรวจแก้ไขต้นฉบับวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้ด้วย

กราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กอบชัย ภัทรกุลวณิช ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปาหนัน เรืองสำราญ และ ดร.ณัฐพันธ์์ ศุภกา ที่กรุณารับเป็นประธานกรรมการ และกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และได้ให้ความรู้ คำแนะนำต่างๆ แก่ผู้วิจัย ตลอดจนช่วยตรวจทานแก้ไขให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณนักวิจัย และเจ้าหน้าที่ทุกท่านในศูนย์นาโนเทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ ที่อำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือต่างๆ แก่ผู้วิจัย ตลอดจนให้คำปรึกษาแนะนำเป็นอย่างดี มาโดยตลอด

ขอขอบคุณ “ทุน 90 ปี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย” กองทุนรัชดาภิเษกสมโภชที่ให้ ความสนับสนุนทุนวิจัยในการทดลองครั้งนี้

กราบขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านในภาควิชาจุลชีววิทยาที่กรุณาให้ความรู้และ คำแนะนำต่างๆ แก่ผู้วิจัย และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ในภาควิชาจุลชีววิทยาทุกท่านที่ช่วยเหลือและ เอื้ออำนวยความสะดวกตลอดระยะเวลาการศึกษา

ขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ น้องๆ ทุกคน สำหรับคำแนะนำเกี่ยวกับงานวิจัย ขอขอบคุณทุก ความช่วยเหลือ และขอบคุณสำหรับทุกความห่วงใยและกำลังใจที่มีให้ตลอดมา

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ และทุกคนในครอบครัวที่ให้การสนับสนุน ให้กำลังใจ และให้ความช่วยเหลือกับผู้วิจัยตลอดมา

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
คำย่อและสัญลักษณ์.....	ด
บทที่ 1 บทนำ.....	1
บทที่ 2 วารสารปริทัศน์.....	4
2.1 จุลินทรีย์ปนเปื้อนในเนื้อสัตว์แปรรูป.....	5
2.1.1 <i>Listeria monocytogenes</i>	5
2.1.2 <i>Escherichia coli</i>	7
2.2 การลดการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์.....	10
2.2.1 การลดการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์โดยใช้สารยับยั้งจุลินทรีย์	11
2.3 เซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์ (Cetylpyridinium chloride; CPC).....	14
2.3.1 โครงสร้างของเซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์	15
2.3.2 กลไกการยับยั้งจุลินทรีย์ของเซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์	15
2.4 บรรจุภัณฑ์แอคทีฟ (Active packaging).....	19
2.4.1 บรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์ (Antimicrobial packaging).....	20
2.5 ฟิล์มยับยั้งจุลินทรีย์.....	22
2.5.1 การใช้สารยับยั้งจุลินทรีย์ในรูปแบบฟิล์ม	25
2.6 อิเล็กโทรสปินนิง (Electrospinning).....	25
2.6.1 อุปกรณ์หลักพื้นฐานที่ใช้ในเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง	26
2.6.2 หลักการพื้นฐานของเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง.....	27

2.6.3	กระบวนการเกิดเส้นใยโดยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง.....	29
2.6.4	ปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง.....	31
2.6.5	การเตรียมสารละลายเพื่อใช้สร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง.....	39
2.7	พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (Polyvinyl alcohol : PVA).....	40
บทที่ 3	อุปกรณ์และวิธีดำเนินงานวิจัย.....	44
3.1	อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง.....	44
3.2	เคมีภัณฑ์.....	45
3.3	จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ.....	45
3.4	วิธีดำเนินงานวิจัย.....	46
3.4.1	หาภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมสารละลายเซทิลไพรดีเนียมคลอไรด์ (CPC) เพื่อใช้เคลือบฟิล์ม.....	46
3.4.1.1	การเตรียมสารละลายผสมระหว่างเซทิลไพรดีเนียมคลอไรด์ (CPC) และพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) เพื่อเคลือบฟิล์มด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง.....	46
3.4.1.2	การเคลือบสารละลายผสมระหว่าง CPC และ PVA ลงบนแผ่นฟิล์มด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง.....	46
3.4.1.3	ทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ของ CPC เมื่อเคลือบอยู่บนแผ่นฟิล์ม.....	47
3.4.1.4	ศึกษาความเข้มข้นของสารละลาย PVA ที่มีต่อการปลดปล่อย CPC ออกจากแผ่นฟิล์ม เคลือบสารละลายผสมระหว่าง CPC และ PVA.....	48
3.4.2	ศึกษาผลของความเข้มข้น CPC ต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียของฟิล์มเคลือบสารละลายผสมระหว่าง CPC และ PVA ที่ผลิตด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง ..	48
3.4.3	ศึกษารูปแบบการปลดปล่อย CPC ออกจากแผ่นฟิล์มเคลือบสารละลายผสม CPC และ PVA ที่เตรียมได้.....	49
3.4.4	ทดสอบความสามารถในการออกฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของฟิล์มเคลือบสารละลายผสม CPC และ PVA บนเนื้อหมู.....	49

3.4.5 ศึกษาความเสถียรในการออกฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของฟิล์มเคลือบสารละลายผสม CPC และ PVA ที่เตรียมได้.....	50
บทที่ 4 ผลการทดลอง.....	51
4.1 การหาภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมสารละลายเซทิลไพรดีเนียมคลอไรด์เพื่อใช้เคลือบฟิล์ม	51
4.1.1 การเตรียมสารละลายผสมระหว่างเซทิลไพรดีเนียมคลอไรด์ (CPC) และพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) เพื่อใช้ในการเคลือบฟิล์มด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง	51
4.1.2 การเคลือบสารละลายผสมระหว่างเซทิลไพรดีเนียมคลอไรด์ (CPC) และพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) ลงบนแผ่นฟิล์ม ด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง.....	52
4.2 ฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ของเซทิลไพรดีเนียมคลอไรด์ (CPC) เมื่อเคลือบบนแผ่นฟิล์ม.....	59
4.3 ผลของความเข้มข้นของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) ที่มีต่อการปลดปล่อยเซทิลไพรดีเนียมคลอไรด์ (CPC) ออกจากแผ่นฟิล์ม	61
4.4 ผลของความเข้มข้นของเซทิลไพรดีเนียมคลอไรด์ (CPC) ต่อฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่ผลิตด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง.....	64
4.5 รูปแบบการปลดปล่อยเซทิลไพรดีเนียมคลอไรด์ (CPC) ที่เคลือบอยู่บนแผ่นฟิล์ม.....	68
4.6 ประสิทธิภาพของฟิล์มเคลือบสารละลายผสมระหว่างเซทิลไพรดีเนียมคลอไรด์ (CPC) และพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) ที่ผลิตด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง ต่อการยับยั้งจุลินทรีย์บนเนื้อหมูแช่เย็น	71
4.7 ความเสถียรในการยับยั้งจุลินทรีย์ของฟิล์มเคลือบสารละลายผสมระหว่างเซทิลไพรดีเนียมคลอไรด์ (CPC) และพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) ที่ผลิตด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง.....	75
บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง.....	83
รายการอ้างอิง	95
ภาคผนวก ก.....	113
ภาคผนวก ข.....	115

ญ

หน้า

ภาคผนวก ค..... 117

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ 119



สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
3.1 อัตราส่วนสารละลายผสมระหว่าง CPC และ PVA โดยให้ความเข้มข้นของ CPC คงที่.....	46
4.1 สรุปลักษณะการไหลของสารละลาย และลักษณะการเกิดเส้นใยของสารละลาย CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ PVA ที่แตกต่างกัน จากการทดลองสร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง.....	53
4.2 ปริมาณ CPC (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ที่ปลดปล่อยออกมาในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.02 โมลาร์ ซึ่งมีค่าความเป็นกรด-เบส 7.0 ในระยะเวลา 14 วัน ของแผ่นฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ซึ่งมีความเข้มข้นของ CPC 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) และมีความเข้มข้นของ PVA 20% (น้ำหนัก/ปริมาตร).....	69



สารบัญภาพ

รูปที่	หน้า
2.1 โครงสร้างของเซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์ (cetylpyridinium chloride; CPC).....	15
2.2 อุปกรณ์พื้นฐานสำหรับสร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง.....	27
2.3 ส่วนประกอบของเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง.....	28
2.4 การเปลี่ยนรูปร่างของสารละลายพอลิเมอร์ด้วยแรงทางไฟฟ้า (ก) สารละลายที่รวมตัวอยู่บริเวณปลายเข็มเมื่อยังไม่ให้แรงทางไฟฟ้า, (ข) การสะสมของประจุบริเวณผิวของสารละลายพอลิเมอร์ และ (ค) กรวยเทเลอร์ (Taylor's cone) และการพุ่งออกจากปลายเข็มของสารละลาย.....	29
2.5 การเริ่มต้นความไม่เสถียรแบบบิดงอ (bending instability).....	30
2.6 ความไม่เสถียรแบบบิดงอ (bending instability).....	31
2.7 ภาพเส้นใยของพอลิสไตรีน (PS) ที่ได้จากกระบวนการอิเล็กโทรสปินนิง ซึ่งมีความเข้มข้นที่แตกต่างกัน (ก) 18 wt %; (ข) 20 wt %; (ค) 25 wt %; (ง) 28 wt %; (จ) 30 wt % และ (ฉ) 35 wt %	33
2.8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายพอลิเอไมด์ต่อ (ก) แรงตึงผิว และ (ข) ความหนืดของสารละลาย ซึ่งส่งผลต่อเส้นใยที่ได้จากกระบวนการอิเล็กโทรสปินนิง	34
2.9 ภาพเส้นใยพอลิเอไมด์ (PA) ที่ได้จากกระบวนการอิเล็กโทรสปินนิง (ก) ก่อน และ (ข) หลังเติมสารลดแรงตึงผิวลงในสารละลาย (Graham และคณะ, 2004).....	34
2.10 ภาพเส้นใยพอลิเอทิลีนออกไซด์ (PEO) ที่ได้จากกระบวนการอิเล็กโทรสปินนิง ซึ่งมีค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าแตกต่างกัน: (ก) 5.5 kV, (ข) 7 kV และ (ค) 9 kV	36
2.11 ภาพเส้นใยบิสฟีนอล เอ พอลิซัลโฟน (PSF) ที่ได้จากกระบวนการอิเล็กโทรสปินนิง โดยมีอัตราการไหลของสารละลายที่แตกต่างกัน (ก) 0.40 ml/h และ (ข) 0.66 ml/h.....	36
2.12 วัสดุรองรับเส้นใยรูปแบบต่างๆ ซึ่งส่งผลให้เส้นใยที่ได้จากกระบวนการมีลักษณะแตกต่างกัน ..	37
2.13 ภาพเส้นใยเจลลาตินจากกระบวนการอิเล็กโทรสปินนิง โดยมีระยะห่างระหว่างปลายเข็มกับวัสดุรองรับเส้นใยที่แตกต่างกัน (ก) 7.5 เซนติเมตร และ (ข) 20 เซนติเมตร	38

2.14	ภาพจากกล้อง AFM เส้นใยพอลิสไตรีน (PS) ที่สร้างได้จากเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิงซึ่งมีปริมาณความชื้นแตกต่างกัน: (ก) 50% (ข) 30% และ (ค) 20%	39
2.15	โครงสร้างของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA).....	41
2.16	ปฏิกิริยาการตัดแปรรโครงสร้างเคมีของพอลิไวนิลอะซิเตตไปสู่ผลิตภัณฑ์พอลิไวนิลแอลกอฮอล์	41
3.1	อุปกรณ์ที่ใช้ในกระบวนการสร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง	47
4.1	สารละลายผสมระหว่าง CPC 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) และสารละลายพอลิเมอร์ PVA ที่มีความเข้มข้น 10, 15, 20 และ 25% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ในน้ำกลั่นปลอดประจุ.....	51
4.2	(ก) ผลที่เกิดขึ้นบนแผ่นฟิล์ม PVDC ในระหว่างการเคลือบสารละลายที่มีพอลิเมอร์ PVA 10% (น้ำหนัก/ปริมาตร) และ CPC 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) (ข) ลักษณะแผ่นฟิล์มที่ได้ภายหลังเคลือบสารละลาย CPC-PVA ลงบนแผ่นฟิล์ม PVDC ด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง.....	54
4.3	(ก) ผลที่เกิดขึ้นบนแผ่นฟิล์ม PVDC ในระหว่างการเคลือบสารละลายที่มี CPC 1.0% (น้ำหนัก/ปริมาตร) (ข) ลักษณะแผ่นฟิล์มที่ได้ภายหลังเคลือบสารละลาย CPC ลงบนแผ่นฟิล์ม PVDC ด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง.....	54
4.4	(ก) ผลที่เกิดขึ้นบนแผ่นฟิล์ม PVDC ในระหว่างการเคลือบสารละลายที่มีพอลิเมอร์ PVA 15% (น้ำหนัก/ปริมาตร) และ CPC 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) (ข) ลักษณะแผ่นฟิล์มที่ได้ภายหลังเคลือบสารละลาย CPC-PVA ลงบนแผ่นฟิล์ม PVDC ด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง.....	55
4.5	ขั้นตอนการเกิดกรวยเทเลอร์ที่เกิดขึ้นในระหว่างการเคลือบสารละลาย CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ PVA 20% (น้ำหนัก/ปริมาตร) และมีความเข้มข้นของ CPC 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA).....	56
4.6	(ก) ผลที่เกิดขึ้นบนแผ่นฟิล์ม PVDC ในระหว่างการเคลือบสารละลายที่มีพอลิเมอร์ PVA 20% (น้ำหนัก/ปริมาตร) และ CPC 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) (ข) ลักษณะแผ่นฟิล์มที่ได้ภายหลังเคลือบสารละลาย CPC-PVA ลงบนแผ่นฟิล์ม PVDC ด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง.....	56

- 4.7 ลักษณะของกรวยเทเลอร์ที่สังเกตได้ในระหว่างการเคลือบสารละลาย CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ PVA 25% (น้ำหนัก/ปริมาตร) และมีความเข้มข้นของ CPC 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA)..... 57
- 4.8 (ก) ผลที่เกิดขึ้นบนแผ่นฟิล์ม PVDC ในระหว่างการเคลือบสารละลายที่มีพอลิเมอร์ PVA 25% (น้ำหนัก/ปริมาตร) และ CPC 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) (ข) ลักษณะแผ่นฟิล์มที่ได้ภายหลังเคลือบสารละลาย CPC-PVA ลงบนแผ่นฟิล์ม PVDC ด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง 57
- 4.9 เปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพของฟิล์มที่ได้จากกระบวนการอิเล็กโทรสปินนิง (ก) ฟิล์มที่มีความเข้มข้นของ PVA 20% (น้ำหนัก/ปริมาตร) โดยไม่มี CPC (ข) ฟิล์มที่มีความเข้มข้นของ PVA 20% (น้ำหนัก/ปริมาตร) และมีความเข้มข้นของ CPC 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA)..... 58
- 4.10 บริเวณใสที่เกิดขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ซึ่งมี *L. monocytogenes* DMST 17303 เจริญอยู่ (ก) ฟิล์มเคลือบ PVA (ข) แผ่นฟิล์มเคลือบ 1.0% CPC-20% PVA (ค) แผ่นฟิล์มเคลือบ 1.0% CPC-25% PVA 60
- 4.11 บริเวณใสที่เกิดขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ซึ่งมี *E. coli* ATCC 25922 เจริญอยู่ (ก) ฟิล์มเคลือบ PVA (ข) แผ่นฟิล์มเคลือบ 1.0% CPC-20% PVA (ค) แผ่นฟิล์มเคลือบ 1.0% CPC-25% PVA 60
- 4.12 การยับยั้งของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ CPC 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) และมีความเข้มข้นของ PVA 20% และ 25% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ต่อ *L. monocytogenes* DMST 17303 ในระยะเวลา 14 วัน 63
- 4.13 การยับยั้งของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ CPC 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) และมีความเข้มข้นของ PVA 20% และ 25% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ต่อ *E. coli* ATCC 25922 ในระยะเวลา 14 วัน 63
- 4.14 การยับยั้งแบคทีเรียของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ PVA 20% (น้ำหนัก/ปริมาตร) และมีความเข้มข้นของ CPC 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) ต่อการยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ปริมาตร 3 มล..... 65

4.15	ประสิทธิภาพของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ CPC 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) และมีความเข้มข้นของ PVA 20% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ต่อการยับยั้ง <i>E. coli</i> ATCC 25922 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ปริมาตร 1 มล.....	67
4.16	ปริมาณ CPC (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ที่ปลดปล่อยออกมาในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.02 โมลาร์ ซึ่งมีค่าความเป็นกรด-เบส 7.0 ในระยะเวลา 14 วัน ของแผ่นฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ PVA 20% (น้ำหนัก/ปริมาตร) และมีความเข้มข้นของ CPC 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA)	70
4.17	ประสิทธิภาพของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ในการยับยั้ง <i>L. monocytogenes</i> DMST 17303 บนเนื้อหมูแช่เย็น ที่อุณหภูมิ 4 ^o ซ.....	74
4.18	ประสิทธิภาพของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ในการยับยั้ง <i>E. coli</i> ATCC 25922 บนเนื้อหมูแช่เย็น ที่อุณหภูมิ 4 ^o ซ.....	74
4.19	ประสิทธิภาพการยับยั้งของฟิล์มเคลือบ 1.0% CPC-PVA ที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 1 เดือน บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ในการยับยั้ง (ก) <i>L. monocytogenes</i> DMST 17303 (ข) <i>E. coli</i> ATCC 25922	76
4.20	ฤทธิ์การยับยั้ง <i>L. monocytogenes</i> DMST 17303 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ปริมาตร 3 มล. ของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 1 เดือน.....	76
4.21	ฤทธิ์การยับยั้ง <i>E. coli</i> ATCC 25922 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ปริมาตร 1 มล. ของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 1 เดือน.....	77
4.22	ประสิทธิภาพการยับยั้งของฟิล์มเคลือบ 1.0% CPC-PVA ที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 2 เดือน บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ในการยับยั้ง (ก) <i>L. monocytogenes</i> DMST 17303 (ข) <i>E. coli</i> ATCC 25922	78
4.23	ฤทธิ์การยับยั้ง <i>L. monocytogenes</i> DMST 17303 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ปริมาตร 3 มล. ของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 2 เดือน.....	79
4.24	ฤทธิ์การยับยั้ง <i>E. coli</i> ATCC 25922 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ปริมาตร 1 มล. ของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 2 เดือน.....	79
4.25	ประสิทธิภาพการยับยั้งของฟิล์มเคลือบ 1.0% CPC-PVA ที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 3 เดือน บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ในการยับยั้ง (ก) <i>L. monocytogenes</i> DMST 17303 (ข) <i>E. coli</i> ATCC 25922.....	81

- 4.26 ฤทธิ์การยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ปริมาตร 3 มล. ของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 3 เดือน 81
- 4.27 ฤทธิ์การยับยั้ง *E. coli* ATCC 25922 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ปริมาตร 1 มล. ของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 3 เดือน..... 82



คำย่อและสัญลักษณ์

ซม.	=	เซนติเมตร
มล.	=	มิลลิลิตร
มก.	=	มิลลิกรัม
°ซ	=	องศาเซลเซียส
%	=	เปอร์เซ็นต์



บทที่ 1

บทนำ

ปัจจุบันอุตสาหกรรมการผลิตอาหารแปรรูปมีอัตราการขยายตัวสูงขึ้นมาก เนื่องจากความต้องการของตลาดที่เพิ่มขึ้นแม้ในขณะที่เศรษฐกิจเกิดภาวะชะงักงัน แต่ธุรกิจอาหารแปรรูปยังคงได้รับการตอบรับจากผู้บริโภคเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง เนื่องจากพฤติกรรมของผู้บริโภคได้มีการเปลี่ยนแปลงไปตามภาวะเศรษฐกิจเช่นกัน โดยมีการหันมาบริโภคอาหารสำเร็จรูป อาหารพร้อมรับประทาน อาหารแช่เย็น และอาหารแช่แข็งเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากผลิตภัณฑ์อาหารดังกล่าวง่ายต่อการบริโภค สะดวกสบายต่อการนำไปปรุงอาหาร และยังสามารถเก็บรักษาไว้ได้เป็นระยะเวลาอันยาวนาน นอกจากนี้ในปัจจุบันยังพบว่าผู้บริโภคหันมาใส่ใจเรื่องสุขภาพ และสนใจในคุณภาพของอาหารเพิ่มมากขึ้นด้วย คือมีความต้องการอาหารที่มีคุณภาพ มีความสดใหม่ สะดวกรวดเร็ว และที่สำคัญผู้บริโภคหันมาสนใจเรื่องความปลอดภัยในผลิตภัณฑ์อาหารเพิ่มมากขึ้นด้วย

ประเทศไทยเป็นผู้ผลิตและส่งออกผลิตภัณฑ์อาหารแปรรูปที่สำคัญประเทศหนึ่ง ซึ่งมีการผลิตและส่งออกผลิตภัณฑ์อาหารแปรรูปเพื่อจำหน่ายไปทั่วโลก โดยส่วนใหญ่จะเป็นสินค้าประเภท ผัก ผลไม้แช่แข็งและแปรรูป รองลงมาเป็นสินค้าประเภทเนื้อสัตว์แช่แข็งและแปรรูป ในขณะเดียวกันก็มีการขยายตลาดภายในประเทศเพิ่มมากขึ้นด้วย แม้ว่าผลิตภัณฑ์อาหารแปรรูปจะได้รับความนิยมเพิ่มขึ้นอย่างแพร่หลายทั่วโลก แต่ปัญหาหนึ่งที่สำคัญของผลิตภัณฑ์ดังกล่าวคือมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ได้ง่าย โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูป ซึ่งก่อให้เกิดการเน่าเสียของผลิตภัณฑ์ก่อนกำหนด และส่งผลให้ผู้บริโภคไม่ยอมรับในผลิตภัณฑ์อาหารนั้น (Wani และคณะ, 2014) หลายครั้งที่ผู้ประกอบการผลิตภัณฑ์อาหารแปรรูปของไทย ต้องได้รับความเสียหายจากการตรวจพบจุลินทรีย์ก่อโรคที่ด่านกักกันของประเทศผู้นำเข้า ซึ่งปัจจุบันพบว่ามีความมาตรฐานด้านความปลอดภัยที่เข้มงวดมากขึ้นเรื่อย ๆ ซึ่งทำให้เกิดอุปสรรคในการส่งออกผลิตภัณฑ์อาหารแปรรูป นอกจากนี้ในอดีตที่ผ่านมา ยังมีรายงานข่าวจากทั่วโลกถึงการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ซึ่งเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคจนถึงขั้นเสียชีวิต จากการบริโภคอาหารที่มีจุลินทรีย์เข้าไปในปริมาณที่เพียงพอที่จะส่งผลต่อร่างกาย ดังนั้นผู้ผลิตผลิตภัณฑ์อาหารแปรรูปจึงต้องพยายามหาวิธีการลดปัญหาการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในกระบวนการผลิตและแปรรูปผลิตภัณฑ์ให้เกิดขึ้นน้อยที่สุด ซึ่งวิธีการที่นิยมใช้ทั่วไปคือการใช้สารต้านจุลินทรีย์ต่างๆ เช่น กรดอินทรีย์ สารถนอมอาหารทางชีวภาพ เกลือของกรดอินทรีย์ และสารอื่นๆ (Dorsa และคณะ, 1997) โดยจะมีการใช้สารต้านจุลินทรีย์ในการล้างจุ่มหรือฉีดพ่นลงบนผลิตภัณฑ์โดยตรงในกระบวนการแปรรูป เพื่อยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ซึ่งทำให้เกิดการเน่าเสียของผลิตภัณฑ์ (Han, 2005) แต่ในปัจจุบันพบว่ามีการลดจำนวนจุลินทรีย์ใน

ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์โดยใช้กรดอินทรีย์โดยตรง เช่น กรดแลคติก กรดอะซิติก กรดซิตริก เป็นต้น มีผลทำให้เนื้อสัตว์มีค่า pH ลดลง เกิดการสูญเสียน้ำ และเกิดการเปลี่ยนแปลงสีในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ ซึ่งจะทำให้เกิดการสูญเสียมูลค่าของเนื้อสัตว์ได้ (Mendonca และคณะ, 1989)

เซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์ (cetylpyridinium chloride; CPC) เป็นอนุพันธ์ของสารประกอบเกลือแอมโมเนียมควอเทอร์นารี (quaternary ammonium compound) สามารถละลายน้ำได้ดี ปราศจากสี และใช้ในด้านการแพทย์มากกว่า 50 ปี (Cutter และคณะ, 2000) นอกจากนี้ยังได้รับการยอมรับว่ามีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งจุลินทรีย์และนิยมใช้เป็นสารเพื่อลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์ผักสดแปรรูป และเนื้อสัตว์แปรรูปกันอย่างกว้างขวาง (Wang และคณะ, 2001; FDA, 2004; UAMS, 2004; Yang และคณะ, 2003) เซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์มีสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์อาหารได้หลายชนิด อาทิเช่น *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium*, *Campylobacter jejuni* และ *Listeria monocytogenes* (FDA, 1998; Pohlman และคณะ, 2002) เป็นต้น นอกจากนี้เซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์ยังได้รับการรับรองจากองค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกา (FDA) โดยอนุญาตให้ใช้เป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์ในขั้นตอนสุดท้ายของกระบวนการได้ (Al-Musallam และคณะ, 2006)

แม้เซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์จะเป็นสารต้านจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพและเป็นทางเลือกที่ปลอดภัย แต่อย่างไรก็ตามยังคงมีรายงานว่าเซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์สามารถสูญเสียประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้เมื่อใช้ที่อุณหภูมิสูง เนื่องจากสารละลายจะเปลี่ยนรูปไปเป็นฟองเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ทำให้สารสัมผัสกับผลิตภัณฑ์ได้ลดลง (Wang และคณะ, 1997) นอกจากนี้ งานวิจัยที่ผ่านมา มีเพียงการศึกษาการใช้เซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์โดยตรงกับผลิตภัณฑ์ เช่น เนื้อสัตว์ปีก เนื้อวัว กุ้ง และผักสดแปรรูป (Cutter และคณะ, 2000; Wang และคณะ, 2001; Lim และ Mustapha, 2004; Yang และคณะ, 2003) โดยการใช้การล้าง จุ่ม ฉีดพ่น หรือใช้การฉีดพ่นร่วมกับการใช้ความดันสูงหรืออุณหภูมิสูงเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ ซึ่งอุณหภูมิหรือความดันสูงนี้อาจส่งผลกระทบต่อลักษณะของผลิตภัณฑ์ได้ และจากงานวิจัยที่ผ่านมา ยังพบว่าประสิทธิภาพของเซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์ในการลดปริมาณจุลินทรีย์จะมีสูงกว่าเมื่อสารสัมผัสกับผลิตภัณฑ์เป็นเวลานานขึ้น (Kim และ Slavik, 1996) ดังนั้นการประยุกต์ใช้เซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์ในรูปแบบอื่นจึงเป็นวิธีการที่น่าสนใจ

งานวิจัยนี้จึงสนใจนำเซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์มาใช้ในรูปแบบฟิล์มบรรจุภัณฑ์ โดยนำเทคนิคอิเล็กทรอนิกส์ป็นิงมาใช้เพื่อช่วยเคลือบเซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์ลงบนแผ่นฟิล์ม ซึ่งข้อดีของเทคนิคอิเล็กทรอนิกส์ป็นิงคือเป็นระบบที่ไม่ซับซ้อน สามารถเตรียมเส้นใยได้อย่างรวดเร็ว และใช้สารตั้งต้นเพื่อเคลือบลงบนแผ่นฟิล์มในปริมาณน้อย นอกจากนี้เทคนิคอิเล็กทรอนิกส์ป็นิงยังมีหลักการที่

สามารถเข้าใจได้ง่าย โดยเซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์จะถูกเคลือบอยู่บริเวณผิวของแผ่นฟิล์ม ทำให้สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้โดยตรงที่บริเวณผิวหน้าของอาหาร (Deitzel และคณะ, 2002) การประยุกต์ใช้เซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์ในรูปแบบฟิล์มเป็นการหลีกเลี่ยงปัญหาการสูญเสียปริมาณสารหรือสูญเสียประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อในระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ และยังเป็นการลดขั้นตอนการฉีดพ่นในขั้นตอนสุดท้ายของกระบวนการผลิตก่อนการบรรจุผลิตภัณฑ์ด้วย โดยสารที่เคลือบอยู่บนแผ่นฟิล์มด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิงสามารถปลดปล่อยออกจากฟิล์มได้ในอัตราที่เหมาะสมในระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ และยังคงมีประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดีหลังจากผ่านกระบวนการเตรียมฟิล์มจนถึงการนำไปประยุกต์ใช้ (Quintavalla และ Vicini, 2002) นอกจากนี้เทคนิคนี้ยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมได้ในอนาคตอีกด้วย

ในงานวิจัยนี้จะศึกษาเอกทิวิตียับยั้งจุลินทรีย์ของฟิล์มเคลือบเซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์ต่อ *Listeria monocytogenes* DMST 17303 และ *Escherichia coli* ATCC 25922 ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มักพบปนเปื้อนในอาหารพร้อมบริโภค (ready-to-eat foods) เช่น ผักดิบ เนื้อดิบ อาหารทะเล เนื้อไก่ เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบปนเปื้อนไปกับภาชนะบรรจุ หรืออุปกรณ์ในกระบวนการผลิตได้อีกด้วย (Singh และคณะ, 2005)

บทที่ 2 วารสารปริทัศน์

อุตสาหกรรมอาหารเป็นอุตสาหกรรมที่มีอัตราการขยายตัวในระดับสูง โดยประเทศไทยเป็นประเทศผู้ผลิตและส่งออกผลิตภัณฑ์อาหารที่มีคุณภาพ และมีชื่อเสียงที่สำคัญแห่งหนึ่งของโลก เนื่องจากอุตสาหกรรมอาหารในประเทศไทยมีศักยภาพในการผลิตเพื่อการส่งออก มีความพร้อมทางด้านวัตถุดิบ รวมถึงศักยภาพของผู้ประกอบการอุตสาหกรรมอาหารไทยที่สามารถพัฒนาคุณภาพและรูปแบบของสินค้าให้เป็นที่ต้องการของตลาดได้ ประกอบกับตลาดอุปกรณ์แปรรูปและบรรจุหีบห่อของไทยมีการขยายตัวเพื่อรองรับอย่างต่อเนื่อง ทำให้ประเทศไทยเป็นประเทศผู้ส่งออกผลิตภัณฑ์อาหารแปรรูปในอันดับต้น ๆ ของโลกหลายรายการ อาทิเช่น ผัก ผลไม้แช่แข็งและแปรรูป เนื้อสัตว์แช่แข็งและแปรรูป เป็นต้น (มานพ จันทุนทต และคณะ, 2547)

อุตสาหกรรมอาหารแปรรูปแช่เย็นและแช่แข็งเป็นอุตสาหกรรมหนึ่งที่สำคัญซึ่งนำรายได้เข้าสู่ประเทศไทย และมีแนวโน้มการส่งออกที่ขยายตัวสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง เนื่องจากภาวะเศรษฐกิจในปัจจุบันทำให้พฤติกรรมของผู้บริโภคเปลี่ยนแปลงไปอย่างมาก ผลิตภัณฑ์อาหารแปรรูปกลายเป็นหนึ่งในปัจจัยสี่ซึ่งมีความต้องการสูงของท้องตลาด เนื่องจากสามารถตอบสนองความต้องการของผู้บริโภคได้เป็นอย่างดี โดยเฉพาะผู้บริโภคที่มีเวลาจำกัด ไม่ต้องการเสียเวลาในการทำอาหาร อาหารแปรรูปแช่เย็นและแช่แข็งจึงเป็นทางเลือกที่มีความสะดวก และราคาไม่แพง เมื่อเทียบกับการซื้ออาหารรับประทานตามปกติ นอกจากนี้ยังมีให้เลือกมากมายหลายประเภทอีกด้วย ด้วยเหตุนี้ผลิตภัณฑ์อาหารแช่เย็นและอาหารแช่แข็งจึงเข้ามามีบทบาทและเป็นทางเลือกที่ได้รับความนิยมเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว แต่ในปัจจุบันผู้ประกอบการด้านอุตสาหกรรมอาหารแปรรูปแช่เย็นและแช่แข็งมีการแข่งขันกันมากขึ้น ไม่ว่าจะเป็นด้านราคาและคุณภาพ รวมทั้งข้อบังคับด้านความปลอดภัยจากประเทศคู่ค้า ซึ่งไม่ยอมรับสินค้าที่มีการปนเปื้อนจุลินทรีย์ ส่งผลให้เกิดความเสียหายทางด้านเศรษฐกิจ (อรุณ บ่างตระกูล และคณะ, 2536) ผู้ประกอบการอุตสาหกรรมอาหารแปรรูปจึงหันมาให้ความสนใจและพัฒนาารูปแบบผลิตภัณฑ์อาหารอย่างต่อเนื่อง มีการปรับปรุงรูปแบบของผลิตภัณฑ์เพื่อตอบสนองและให้สอดคล้องต่อความต้องการของผู้บริโภค ซึ่งเน้นความสะดวกและรวดเร็วมากขึ้น

2.1 จุลินทรีย์ปนเปื้อนในเนื้อสัตว์แปรรูป

จุลินทรีย์สามารถพบได้ทั่วไปในธรรมชาติทั้งในดิน น้ำ รวมทั้งตัวสัตว์เอง และเนื่องจากเนื้อสัตว์เป็นแหล่งอาหารที่สำคัญที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์หลายชนิดจึงสามารถเกิดการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์บนผลิตภัณฑ์ได้ง่าย และส่งผลให้เกิดการเน่าเสียของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ในเวลาต่อมา โดยการเน่าเสียจะเริ่มต้นจากการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในเนื้อสัตว์ และนำไปสู่อันตรายต่อผู้บริโภคที่รับประทานผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์นั้นได้

2.1.1 *Listeria monocytogenes*

L. monocytogenes เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่ไม่สร้างสปอร์ สามารถพบได้ทั่วไปในธรรมชาติและสามารถเจริญเติบโตได้อย่างแพร่หลายในสภาพแวดล้อมภายในกระบวนการ (Fenlon, 1999) *L. monocytogenes* เจริญเติบโตได้ง่าย โดยสามารถอยู่รอดได้ในอุจจาระ นม ดิน น้ำ และบนพืช โดยสามารถเพิ่มจำนวนได้สูงถึง 10% ในภาวะที่มีโซเดียมคลอไรด์ (Seeliger, 1961) และเจริญเติบโตได้ดีในภาวะที่มีค่าความเป็นกรดเบสตั้งแต่ 4.6 จนถึง 9.6 (Seeliger, 1961; Gray และ Killinger, 1966; AFSSA, 2000) โดยพบว่า *L. monocytogenes* ไม่สามารถเจริญได้เมื่อค่าความเป็นกรดเบสน้อยกว่าหรือเท่ากับ 4.4 และค่าออกซิเจนแอคทีวิตี้น้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.92 (Sorrells และคณะ, 1989; Tienungoon และคณะ, 2000) อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของ *L. monocytogenes* คือ 30-37 องศาเซลเซียส แต่อย่างไรก็ตามพบว่า *L. monocytogenes* สามารถเจริญได้ในอุณหภูมิกว้างตั้งแต่ -2 องศาเซลเซียส ถึง 45 องศาเซลเซียสได้ (Bajard และคณะ, 1996; Hitchins, 1996) ด้วยเหตุนี้ *L. monocytogenes* จึงสามารถเจริญได้ในอุณหภูมิแช่เย็นซึ่งจุลินทรีย์ชนิดอื่นไม่สามารถเจริญได้ (Swaminathan และคณะ, 2007) นอกจากนี้ *L. monocytogenes* ยังสามารถทนต่อความร้อนได้สูงกว่าจุลินทรีย์ก่อโรคในผลิตภัณฑ์อาหารที่ไม่สร้างสปอร์อื่นๆ (Fleming และคณะ, 1985) ซึ่งการทนต่อความร้อนของ *L. monocytogenes* ขึ้นอยู่กับสภาวะแวดล้อมในการเจริญเติบโตและปัจจัยแวดล้อมภายในกระบวนการ นอกจากนี้ยังพบว่า *L. monocytogenes* สามารถปรับตัวให้ทนต่อความเป็นกรดเบสในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ซึ่งมีค่าประมาณ 5.0-5.5 ได้ (Swaminathan และคณะ, 2007) ดังนั้นจึงเป็นเรื่องยากที่จะกำจัด *L. monocytogenes* จากโรงงานผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์

- การอยู่รอดของ *L. monocytogenes* ในผลิตภัณฑ์อาหาร

L. monocytogenes เป็นจุลินทรีย์ที่สำคัญซึ่งส่งผลกระทบต่อผู้บริโภคจำนวนมาก โดยผลิตภัณฑ์อาหารที่พบการระบาดและสนับสนุนการเจริญของ *L. monocytogenes* ส่วนใหญ่จะเป็นผลิตภัณฑ์อาหารพร้อมรับประทาน (RTE) เช่น ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูป ไส้กรอก เนย ซีสมูม และ

สลัด เป็นต้น (Levine และคณะ, 2001) โดยพบรายงานการปนเปื้อนของ *L. monocytogenes* ในผลิตภัณฑ์แชลมนอร์มควันแช่เย็นและผลิตภัณฑ์ปลาสุกถึง 6-36% (Gombas และคณะ, 2003) ดังนั้นการอยู่รอดของ *L. monocytogenes* และความสามารถในการเจริญเติบโตในผลิตภัณฑ์อาหารได้จึงเป็นสิ่งที่น่ากังวลใจ อย่างไรก็ตามจากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าการให้ความเย็นอย่างรวดเร็วกับผลิตภัณฑ์สามารถลดความสามารถในการเจริญเติบโตของ *L. monocytogenes* ในผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ได้ นอกจากนี้ยังพบว่าการเติมสารยับยั้งจุลินทรีย์ร่วมกับการแช่แข็ง หรือใช้ความร้อนที่มีอุณหภูมิสูงเพียงพอ (CFSAN, 2000) สามารถยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* ในผลิตภัณฑ์อาหารพร้อมทานซึ่งอาจมีการปนเปื้อนเชื้อดังกล่าวมาจากกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์ได้เช่นกัน (Zhu และคณะ, 2005) จากความเสี่ยงของการปนเปื้อน *L. monocytogenes* ในระหว่างกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์และภายหลังการเก็บรักษา จึงมีความจำเป็นอย่างมากในการหาวิธีการที่มีประสิทธิภาพมาใช้เพื่อยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* ในผลิตภัณฑ์อาหารพร้อมปรุงพร้อมทาน

มาตรการควบคุม *L. monocytogenes* ที่มีประสิทธิภาพและเป็นที่ยอมรับโดยทั่วไป ต้องสามารถกำจัด *L. monocytogenes* ออกจากผลิตภัณฑ์อาหารพร้อมปรุงพร้อมทานได้อย่างน่าพอใจ (Young และ Foegeding, 1993) เนื่องจาก *L. monocytogenes* พบได้ทั่วไปอย่างแพร่หลายในสิ่งแวดล้อม สามารถทนต่อสภาพแวดล้อมต่างๆ และความเครียดในกระบวนการได้ (Wang และ Muriana, 1994) จากลักษณะดังกล่าวทำให้พบ *L. monocytogenes* ในสภาพแวดล้อมของกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ (Tompkin, 2002) โดย *L. monocytogenes* สามารถทนกับวิธีการใช้ความร้อนภายหลังกระบวนการผลิตจนถึงการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ และเจริญเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนมากขึ้นในระหว่างการเก็บรักษาในตู้เย็นและในสภาวะที่มีออกซิเจนต่ำได้ (Farber และ Peterkin, 1999)

L. monocytogenes สามารถเจริญเติบโตได้ในผลิตภัณฑ์อาหารแช่เย็น (Samelis และคณะ, 2002) แม้จะมีการปนเปื้อนอยู่ในระดับต่ำ ซึ่งการเริ่มต้นปนเปื้อนของ *L. monocytogenes* ในผลิตภัณฑ์อาหารจะส่งผลให้เกิดการระบาดของโรคลิสเทอริโอซิส (listeriosis) ในเวลาต่อมา เนื่องจาก *L. monocytogenes* สามารถเจริญได้ในระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็นได้สูงสุด > 100 โคโลนี/กรัม (AFSSA, 2000) ส่งผลให้ *L. monocytogenes* กลายเป็นปัญหาสำคัญที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อแก่ผู้บริโภคภายหลังจากการรับประทานผลิตภัณฑ์อาหารที่ปนเปื้อนเข้าไป (Jin และคณะ, 2009)

- การปนเปื้อนของ *L. monocytogenes* ในผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์

ในปี ค.ศ. 1983 ได้พบการปนเปื้อนของ *L. monocytogenes* เกิดขึ้นครั้งแรกในห้องปฏิบัติการ (Schlech และคณะ, 1983) และเริ่มพบการปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆ เช่น เนื้อสัตว์ดิบและ

แปรรูป ผลิตภัณฑ์อาหารทะเล ซีสนุ่ม นมดิบ และผักสด ซึ่งส่งผลให้เกิดการระบาดของโรคลิสเทอริโอซิสตามมา (AFSSA, 2000; FICT, 2000) *L. monocytogenes* ถือเป็นจุลินทรีย์ปนเปื้อนที่สำคัญ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ (Encinas และคณะ, 1999; AFSSA, 2000; FICT, 2000) จากการศึกษาที่ผ่านมาพบการปนเปื้อนของ *L. monocytogenes* 6.7% ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์พร้อมรับประทานแบบสุญญากาศและผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ปีก (Samelis และ Metaxopoulos, 1999) และพบการปนเปื้อนของ *L. monocytogenes* มากถึง 22.9% ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูดและไส้กรอก (Duffy และคณะ, 2001)

L. monocytogenes เป็นสาเหตุของการเกิดโรคลิสเทอริโอซิส ซึ่งผู้ป่วยจะมีอาการคล้ายกับโรคไข้หวัดใหญ่ คือมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน และท้องเสีย (CFSSAN, 2000) โดยพบว่าผู้สูงอายุและผู้ที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง เช่น เป็นโรคเอดส์ หรือได้รับการปลูกถ่ายอวัยวะ มีความเสี่ยงที่จะเป็นโรคลิสเทอริโอซิสเนื่องจากมีระบบภูมิคุ้มกันที่อ่อนแอ (CFSSAN, 2000) *L. monocytogenes* สามารถทำให้เกิดการแท้งในหญิงตั้งครรภ์ได้ โดยพบว่าทารกในครรภ์และทารกแรกเกิดมีความเสี่ยงสูงในการติดเชื้อ *L. monocytogenes* ถ้ามารดามีการสัมผัสกับเชื้อในระหว่างตั้งครรภ์ ซึ่งจะส่งผลให้หญิงมีครรภ์ที่ติดเชื้อเกิดการแท้ง ทารกตายในครรภ์ คลอดก่อนกำหนด หรือคลอดแล้วตายได้ (Seeliger และ Finger, 1983) ความรุนแรงของโรคที่เกิดจาก *L. monocytogenes* จะแตกต่างกันไปตามปริมาณของเชื้อที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ และปริมาณของผลิตภัณฑ์อาหารที่รับประทานเข้าไป (Risk Assessment Drafting Group, 2004) จากข้อมูลทางระบาดวิทยาในอาหารพบว่าการติดเชื้อลิสเทอริโอซิสจะเกิดขึ้นเมื่อ *L. monocytogenes* เพิ่มจำนวนในระดับ $> 1,000$ โคโลนี/กรัม (Ross และคณะ, 2002; Group, 2004)

ดังนั้นในอุตสาหกรรมผลิตเนื้อสัตว์แปรรูปจึงจำเป็นต้องหาวิธีการเพื่อควบคุมการปนเปื้อนของ *L. monocytogenes* ในผลิตภัณฑ์ โดยมีการนำหลักการ HACCP มาใช้เพื่อเป็นแนวทางในการผลิตและการควบคุมการปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูปซึ่งมีการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ และเป็นภาวะที่สนับสนุนการเจริญเติบโตของ *L. monocytogenes*

2.1.2 *Escherichia coli*

E. coli เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปแท่ง ไม่สร้างสปอร์ สามารถเจริญได้ในภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน *E. coli* จัดอยู่ในกลุ่มของแบคทีเรียที่เป็นโคลิฟอร์ม ซึ่งสามารถพบได้ทั่วไปในลำไส้และอุจจาระของมนุษย์และสัตว์เลื้อยคืบ (Ray, 2001) โดยจะมี *E. coli* บางสายพันธุ์เท่านั้นที่สามารถก่อให้เกิดโรคกับมนุษย์ได้ ส่วน *E. coli* สายพันธุ์ที่ไม่ก่อให้เกิดโรคกับมนุษย์มักจะใช้เป็น

ตัวชี้วัดสุขภาพลักษณะของอาหารและน้ำ โดยสามารถแบ่ง *E. coli* สายพันธุ์ที่ก่อเกิดโรคร่วมกับมนุษย์ได้เป็น สี่กลุ่มตามความรุนแรงของเชื้อ (Ray, 2001) ดังนี้ 1. Enteropathogenic *E. coli* (EPEC) 2. Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) 3. Enteroinvasive *E. coli* (EIEC) และ 4. Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) (Ray, 2001)

โดย Enterohemorrhagic *E. coli* O157:H7 เป็นสายพันธุ์ที่เป็นปัญหาสำคัญ ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้ผู้บริโภคเกิดความเจ็บป่วยจากการรับประทานผลิตภัณฑ์อาหารที่มีการปนเปื้อนเข้าไป โดย *E. coli* สายพันธุ์นี้เป็นสายพันธุ์แรกที่พบว่าสามารถก่อให้เกิดโรคร่วมกับผู้บริโภคตั้งแต่ปี ค.ศ. 1982 (Doyle และคณะ, 1997) และพิเศษกว่า *E. coli* สายพันธุ์อื่นเนื่องจากสามารถผลิตสารพิษที่ส่งผล ร้ายแรงต่อลำไส้ใหญ่ ทำให้เกิดโรคลำไส้ใหญ่อักเสบจนเกิดการตกเลือดได้ โดยผู้ป่วยจะมีอาการปวด ท้องรุนแรง และท้องเสียอย่างรุนแรง เริ่มจากอุจจาระเป็นน้ำและกลายเป็นมูกเลือด โดยอาการที่พบ จะขึ้นอยู่กับความรุนแรงของโรค และพบว่า *E. coli* O157:H7 เพียง 10 เซลล์ก็สามารถทำให้ ผู้บริโภคที่รับประทานผลิตภัณฑ์อาหารที่มีการปนเปื้อนเชื้อเข้าไปเกิดโรคลำไส้อักเสบได้ (Todd, 2004) นอกจากนี้ยังอาจพบอาการอาเจียน หรือมีไข้ต่ำ บางรายอาจมีอาการแทรกซ้อนอื่นๆ เกิดขึ้น ได้ เช่น การเกิดเม็ดเลือดแดงแตก ส่วนใหญ่จะพบในเด็ก ซึ่งจะส่งผลให้เกิดภาวะไตวายเฉียบพลัน และเกิดภาวะโลหิตจางได้ นอกจากนี้ยังพบว่าผู้สูงอายุที่เจ็บป่วยจาก *E. coli* O157:H7 อาจมีไข้และ เกิดอาการทางระบบประสาทได้ด้วย (Hara-Kudo และคณะ, 2000)

- การอยู่รอดของ *E. coli* O157:H7 ในผลิตภัณฑ์อาหาร

E. coli O157:H7 เป็นจุลินทรีย์ปนเปื้อนสำคัญที่ผู้ประกอบการอุตสาหกรรมอาหารมีความ กังวลอย่างมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งผลิตภัณฑ์อาหารที่ไม่ผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อ ซึ่งอาจมีการ ปนเปื้อนจุลินทรีย์ดังกล่าวได้หลังจากผ่านกระบวนการผลิตและก่อนการบรรจุภัณฑ์ เช่น ผลิตภัณฑ์ อาหารพร้อมทาน (RTE) โดยมีรายงานการระบาดของ *E. coli* O157: H7 ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1993 (Bell และคณะ, 1994) โดยพบปนเปื้อนอยู่ในผลิตภัณฑ์เนื้อวัวบด ซึ่งถือเป็นครั้งแรกในการพบ *E. coli* O157: H7 ในผลิตภัณฑ์เนื้อดิบ (Heuvelink และคณะ, 2001) นอกจากนี้ยังพบ *E. coli* O157: H7 ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์อาหารอีกหลายชนิด เช่น เนื้อวัวบดและผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ (Bell และคณะ, 1994; Brandt และคณะ, 1994) น้ำแอปเปิ้ล (Besser และคณะ, 1993) (Cody และคณะ, 1999) หัวไชเท้า (Michino และคณะ, 1999) ถั่วงอกดิบและผักกาดหอม (Ackers และคณะ, 1998; Hilborn และคณะ, 1999) ผักสดอื่นๆ รวมถึงสลัด เป็นต้น (Ackers และคณะ, 1998; Sivapalasingam และคณะ, 2004)

ก่อนหน้านี้ได้มีการศึกษาการปนเปื้อนของ *E. coli* O157: H7 ในผลิตภัณฑ์อาหารแปรรูป เช่น สตรอเบอร์รี่ หัวไชเท้า และกะหล่ำปลี หลังจากเก็บรักษา 2 และ 4 สัปดาห์ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่แข็ง -20 องศาเซลเซียส โดยพบว่า *E. coli* O157: H7 สามารถอยู่รอดได้นานถึง 4 สัปดาห์หลังจากการเก็บรักษาที่ -20 องศาเซลเซียส (Ansary และคณะ, 1999) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการรอดชีวิตของ *E. coli* O157: H7 ในเนื้อวัวบดซึ่งเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่แข็ง -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 เดือน พบว่า *E. coli* O157: H7 ยังคงอยู่รอดและสามารถฟื้นตัวได้ โดยมีการลดลงของเชื้อประมาณ 1.0 log CFU ซึ่งแสดงให้เห็นว่า *E. coli* O157: H7 มีความสามารถในการอยู่รอดเป็นระยะเวลานานที่อุณหภูมิแช่แข็ง โดยมีการรอดชีวิตของเชื้อลดลงเล็กน้อย (Hara-Kudo และคณะ, 2000)

- การปนเปื้อนของ *E. coli* O157:H7 ในผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์

E. coli O157:H7 ถูกพบในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ครั้งแรกในปี ค.ศ. 1998 ทำให้ผู้ผลิตต้องพยายามหาวิธีการที่มีประสิทธิภาพมาใช้เพื่อลดการปนเปื้อนของ *E. coli* O157:H7 ที่เกิดขึ้น (Lawrie, 1998) แต่อย่างไรก็ตามยังคงพบการปนเปื้อนของ *E. coli* O157:H7 ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง แหล่งที่มาของการปนเปื้อน *E. coli* O157:H7 ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ จะเริ่มต้นมาจากลำไส้และอุจจาระของสัตว์ จากนั้นจะปนเปื้อนไปสู่ผิวหนังและเนื้อสัตว์ นอกจากนี้อุปกรณ์ที่ใช้ในกระบวนการฆ่าและกระบวนการผลิตก็สามารถปนเปื้อน *E. coli* O157:H7 ได้เช่นกัน (Kvenberg และคณะ, 2000) รวมไปถึงสภาพแวดล้อมภายในโรงฆ่า โรงงานผลิต และตัวบุคลากรซึ่งหากไม่มีสุขอนามัยที่ดีพอ *E. coli* O157:H7 จะสามารถปนเปื้อนจากห้องน้ำไปสู่คน และไปสู่ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ได้ในที่สุด ดังนั้นการฝึกอบรมด้านความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์อาหารให้แก่บุคลากรจึงเป็นสิ่งจำเป็น (Clayton และคณะ, 2002) นอกจากแหล่งปนเปื้อนทั้งหมดที่กล่าวมาแล้วยังสามารถพบ *E. coli* O157:H7 ปนเปื้อนจากอากาศ สัตว์ต่างๆ เช่น หนู แมลงและอื่น ๆ ได้ด้วย (Bonardi และคณะ, 2001)

จากรายงานของประเทศสหรัฐอเมริกาในช่วง 10 ที่ผ่านมา พบว่ามีการเรียกคืนผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูปที่มีการปนเปื้อนของ *E. coli* O157: H7 อย่างต่อเนื่อง ก่อให้เกิดความเสียหายอย่างมากแก่อุตสาหกรรมเนื้อสัตว์แปรรูป (Food Safety and Inspection Services, 2007) โดยพบว่าในเดือนตุลาคมปี ค.ศ. 2007 มีการเรียกคืนผลิตภัณฑ์เนื้อวัวบดที่พบการปนเปื้อนของ *E. coli* O157: H7 ครั้งใหญ่ถึง 21.7 ล้านปอนด์ โดยพบว่าผู้บริโภคที่รับประทานผลิตภัณฑ์ดังกล่าวเข้าไปมีอาการไตล้มเหลว แต่ไม่มีรายงานผู้เสียชีวิต (Food Safety and Inspection Services, 2007) ดังนั้นหน่วยบริการตรวจสอบความปลอดภัยด้านอาหาร (FSIS) จึงต้องมีการติดตามการเรียกคืนและพยายาม

ศึกษาวิจัยร่วมกับมหาวิทยาลัยหลายแห่งเพื่อหาเทคโนโลยีใหม่ๆ มาใช้ในการควบคุมการปนเปื้อน *E. coli* O157: H7 ให้มีประสิทธิภาพที่สุด (McClure และ Hall, 2000)

จากที่กล่าวมาข้างต้นจะเห็นได้ว่า *E. coli* O157:H7 มีความสามารถในการอยู่รอดได้ในผลิตภัณฑ์อาหารได้หลากหลายชนิด ในภาวะที่แตกต่างกันภายในกระบวนการผลิตจนถึงระยะเวลาการเก็บรักษา ส่งผลผลิตภัณ์อาหารที่มีการปนเปื้อน *E. coli* O157:H7 ก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคได้ ดังนั้นจึงจำเป็นอย่างยิ่งในการหาวิธีการที่มีประสิทธิภาพต่างๆ มาใช้เพื่อลดการปนเปื้อน *E. coli* O157:H7 ในผลิตภัณฑ์

2.2 การลดการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์

การลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์มีวัตถุประสงค์เพื่อช่วยขยายระยะเวลาในการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ ทำให้เนื้อสัตว์มีอายุการเก็บรักษาที่ยาวนานขึ้น ซึ่งวิธีที่นิยมใช้ในการลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์มีหลายวิธีด้วยกัน ซึ่งแต่ละวิธีจะมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณจุลินทรีย์ที่แตกต่างกันไป โดยวิธีการลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่นิยมใช้ มีดังนี้

- การฉีดพ่นด้วยน้ำ (Water sprays)

การลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์บนเนื้อสัตว์โดยการฉีดพ่นด้วยน้ำ โดยฉีดพ่นน้ำที่ความดันสูงเพื่อให้แบคทีเรียที่ยึดเกาะแน่นบนผิวเนื้อสัตว์หลุดออก ซึ่งน้ำที่ใช้ในการฉีดพ่นจะมีอุณหภูมิประมาณ 75 องศาเซลเซียส เนื่องจากอุณหภูมิที่สูงเกินไปจะมีผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ได้ อย่างไรก็ตามการฉีดพ่นด้วยน้ำอาจส่งผลให้เกิดการแพร่กระจายของจุลินทรีย์บนผิวของเนื้อสัตว์ได้ จึงมีการฉีดพ่นโดยใช้ไอน้ำ (steam sprays) เกิดขึ้น ซึ่งเป็นวิธีการที่น่าสนใจอีกทางหนึ่ง (Appendini และ Hotchkiss, 2002)

- วิธีทางกายภาพ (Physical methods)

การลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์โดยวิธีทางกายภาพ ได้แก่ การใช้รังสีอัลตราไวโอเล็ต การฉายรังสี (radiation) เช่น รังสีแกมมา (gamma rays) รังสีเอกซ์ (X-rays) และอัลตราซาวด์ (Ultrasound) โดยพบว่าการใช้แสงอัลตราไวโอเล็ตมีประสิทธิภาพในการลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์บนพื้นผิวของเนื้อสัตว์ต่ำ เนื่องจากมีการแทรกซึมต่ำ และทำให้เกิดพื้นที่มืด (shadow) บนพื้นผิวของเนื้อสัตว์ ส่วนการฉายรังสีพบว่ามีประสิทธิภาพสูงในการลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรค แต่ไม่ได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคเท่าที่ควร ส่วนการใช้อัลตราซาวด์นิยมใช้ในการทำลาย

จุลินทรีย์บนพื้นผิวอุปกรณ์ในการผลิตมากกว่าใช้เพื่อลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์บนพื้นผิวของเนื้อสัตว์ (Han, 2005)

- วิธีการทางเคมี (Chemical methods)

เป็นวิธีการฉีดพ่นสารเคมีลงบนพื้นผิวของเนื้อสัตว์ หรือจุ่มเนื้อสัตว์ลงในสารเคมี โดยสารเคมีที่นิยมใช้เพื่อลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์บนเนื้อสัตว์ ได้แก่ คลอรีน ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ และกรดอินทรีย์ต่างๆ เช่น กรดแลคติกและกรดแอสซิดิก ซึ่งเป็นกรดอินทรีย์ตามธรรมชาติที่นิยมใช้ นอกจากนี้ยังมีการใช้กรดฟูมาริก กรดโพธิ์โอนิก กรดซอร์บิก กรดซิตริก กรดกลูโคนิก และไตรโซเดียมฟอสเฟต ซึ่งเป็นสารเคมีที่มีประสิทธิภาพในการทำลายแบคทีเรีย เนื่องจากเป็นสารที่มีค่าความเป็นเบสสูง (Singh และคณะ, 2005)

นอกจากวิธีการที่ใช้ในการลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์บนเนื้อสัตว์ที่กล่าวมาทั้งหมดแล้วยังมีวิธีการและเทคโนโลยีใหม่ๆ อีกมากมาย เช่น การใช้สารเคมีต่างๆ ร่วมกับแบคทีเรียโอซิน การใช้ความดันสูง (High pressure processing) การใช้สนามไฟฟ้าแบบจังหวะ (Pulsed electric field) หรืออาจใช้วิธีการและเทคโนโลยีต่างๆ ร่วมกัน (Corry และคณะ, 1995) เพื่อช่วยให้การควบคุมการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์มีประสิทธิภาพสูงสุด

2.2.1 การลดการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์โดยใช้สารยับยั้งจุลินทรีย์

ในปัจจุบันผู้ประกอบการอุตสาหกรรมเนื้อสัตว์แปรรูปมีบทบาทอย่างมาก ในการหาวิธีการที่เหมาะสมเพื่อลดความเสี่ยงในการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ก่อโรคหรือก่อให้เกิดการเน่าเสียในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ และเพื่อลดการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์วัตถุดิบ ซึ่งจะนำมาเข้าสู่กระบวนการผลิตและแปรรูปให้เกิดขึ้นน้อยที่สุด จึงได้มีการพยายามหาวิธีการและเทคโนโลยีต่างๆ มาใช้เพื่อลดการปนเปื้อนดังกล่าว โดยพบว่าวิธีการที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพสูงในการป้องกันและลดปัญหาความไม่ปลอดภัยของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูปจากจุลินทรีย์ คือการใช้สารยับยั้งจุลินทรีย์กับเนื้อสัตว์ โดยอาจใช้ในขั้นตอนการล้างหรือใช้สารยับยั้งจุลินทรีย์เป็นส่วนผสมในระหว่างกระบวนการผลิต โดยพบว่ามีการใช้กรดอินทรีย์และสารเคมีที่ปลอดภัยต่างๆ เพื่อลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์กันอย่างกว้างขวาง (Dorsa และคณะ, 1996)

การพัฒนาวิธีการเพื่อลดปริมาณการปนเปื้อนของจุลินทรีย์โดยใช้สารเคมีเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพและได้กลายเป็นทางเลือกที่น่าสนใจทางหนึ่ง โดยจำนวนชนิดของสารยับยั้งจุลินทรีย์ทางเคมีที่ได้รับการอนุญาตสำหรับใช้ในอุตสาหกรรมอาหารยังมีปริมาณที่จำกัด นอกจากนี้ยังพบว่าสารยับยั้งจุลินทรีย์บางชนิดมีความสามารถในการละลายต่ำและอาจส่งผลกระทบต่อลักษณะทาง

กายภาพและลักษณะสัมผัสของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ได้ (Podolak และคณะ, 1996) โดย Wederquist และคณะ (1994) ได้เสนอว่า การใช้สารยับยั้งจุลินทรีย์ที่เป็นสารเคมีในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูปเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมและลดปริมาณการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ โดยเฉพาะเมื่อมีการใช้ร่วมกับกระบวนการและเทคนิคต่างๆ จึงได้มีการนำกรดอินทรีย์ต่างๆ เช่น กรดแอซีติก กรดแลคติก กรดซิตริก และกรดโพรพิโอนิก มาใช้เป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิตและแปรรูปเนื้อสัตว์ (Timm และคณะ, 2000) และพบว่าสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ใช้ในผลิตภัณฑ์จะยังคงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์อย่างต่อเนื่องในระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ ซึ่งถือเป็นการเพิ่มคุณภาพและความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ และเป็นการช่วยยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูปได้ (Farid และคณะ, 1998)

จากรายงานการศึกษาก่อนหน้านี้ได้มีการอนุญาตให้ใช้กรดต่างๆ เพื่อลดการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์กับผลิตภัณฑ์อาหารอย่างถูกกฎหมาย หนึ่งในนั้นคือกรดแอซีติกซึ่งพบว่ามีประสิทธิภาพที่ดีในการยับยั้ง *E. coli*, *L. monocytogenes* และ *S. Typhimurium* โดยจุลินทรีย์ดังกล่าวถือว่าเป็นจุลินทรีย์ปนเปื้อนที่สำคัญในอุตสาหกรรมแปรรูปเนื้อสัตว์ (Bell และคณะ, 1997) นอกจากนี้ Dickson (1988) ยังได้ทดลองใช้สารยับยั้งจุลินทรีย์โดยวิธีการล้างและฉีดพ่นโดยตรงบนเนื้อสัตว์เพื่อลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นบริเวณพื้นผิว และกล่าวว่าวิธีการที่ใช้ในขั้นตอนของการฆ่าสัตว์และขั้นตอนการผลิตและแปรรูปที่มีความเหมาะสมและถูกสุขลักษณะจะมีประสิทธิภาพในการป้องกันและลดปนเปื้อนเริ่มต้นของเนื้อสัตว์จากจุลินทรีย์ก่อโรคและจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเน่าเสียในผลิตภัณฑ์ เช่น *Salmonella*, *Campylobacter*, *E. coli* และ *L. monocytogenes* ได้

ภายหลังได้มีการประยุกต์ใช้สารยับยั้งจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิต โดยใช้สารยับยั้งจุลินทรีย์รวมเข้ากับวิธีการและขั้นตอนต่างๆ ในกระบวนการ ซึ่งพบว่าสารยับยั้งจุลินทรีย์เหล่านี้สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งที่บริเวณพื้นผิวของผลิตภัณฑ์ที่มีการปนเปื้อนและเกาะติดของจุลินทรีย์ได้ทันที ในระหว่างกระบวนการสไลด์และการบรรจุภัณฑ์ (Samelis และคณะ, 2001) นอกจากนี้ยังมีรายงานด้วยว่าการลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์โดยใช้กรดอินทรีย์ต่างๆ จะมีความสัมพันธ์กับค่าความเป็นกรดเบส และระดับของการแตกตัวของกรดอินทรีย์นั้นๆ โดยพบว่ากรดอินทรีย์ที่สามารถแตกตัวได้ดีจะส่งผลให้สารสามารถผ่านเข้าไปภายในเซลล์เมมเบรนของจุลินทรีย์ได้ง่าย จึงเป็นผลให้เกิดการทำลายจุลินทรีย์ได้ดีกว่ากรดอินทรีย์ที่มีรูปแบบที่แตกตัวได้ยากหรือไม่แตกตัว (El-Shenawy และ Marth, 1988) นอกจากนี้ Sorrells และคณะ (1989) ยังพบว่าค่าความเป็นกรดเบสเป็นปัจจัยที่สำคัญในการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารยับยั้งในผลิตภัณฑ์อาหารหลายๆประเภท โดยการลดการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์อาจใช้สารยับยั้งจุลินทรีย์เพียงตัวเดียวหรือใช้ร่วมกับเทคนิคและวิธีการอื่นๆ เช่น การเก็บรักษาโดยการแช่เย็นหรือแช่แข็ง เป็นต้น Brackett (1987) ได้ชี้ให้เห็นว่า

สารประกอบคลอรีนมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์อาหารได้หลากหลาย โดยแสดงให้เห็นประสิทธิภาพของสารประกอบคลอรีนในการยับยั้ง *L. monocytogenes* และ แบคทีเรียที่ไม่สร้างสปอร์อื่นๆ นอกจากนี้ Dickson (1988) ยังได้ทดสอบประสิทธิภาพของโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมไฮดรอกไซด์ โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ และกรดอินทรีย์ต่างๆ ในการยับยั้ง *L. monocytogenes* โดยพบว่าสารยับยั้งจุลินทรีย์ดังกล่าวมีประสิทธิภาพที่ดีในการยับยั้ง *L. monocytogenes* บนผิวของเนื้อสัตว์

Xiong และคณะ (1998) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของการใช้กับสารยับยั้งจุลินทรีย์ร่วมกับ ความดัน โดยการฉีดพ่นสารยับยั้งเพื่อลดปริมาณจุลินทรีย์ทั่วไปบริเวณพื้นผิวของเนื้อวัว แต่พบว่าการใช้สารยับยั้งร่วมกับความดันมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้น้อย เพราะเมื่อมีการเพิ่มความดันจะส่งผลให้จุลินทรีย์ซึ่งอยู่บริเวณพื้นผิวของเนื้อสัตว์ถูกดูดซึมเข้าไปในเนื้อเยื่อของเนื้อสัตว์ นอกจากนี้ยังมีรายงานวิจัยเพิ่มเติมเกี่ยวกับการใช้แลคเทต อะซิเตต และสารเคมีอื่นๆ ร่วมกับวิธีการต่างๆ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการออกฤทธิ์ยับยั้งของสารยับยั้งจุลินทรีย์ โดยใช้การจุ่มหรือฉีดพ่นบนเนื้อสัตว์ แต่วิธีการดังกล่าวนี้ยังไม่ได้มีการยอมรับและกำหนดให้ใช้ในอุตสาหกรรมแปรรูปเนื้อสัตว์ (Samelis และคณะ, 2001) นอกจากนี้ Xiong และคณะ (1998) ยังได้แสดงให้เห็นว่าการลดการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์โดยการฉีดพ่นด้วยสารเคมีนั้น ระยะเวลาที่ใช้ในการฉีดพ่นสารถือเป็นปัจจัยที่สำคัญในการลดปริมาณจุลินทรีย์ โดยนอกจากระยะเวลาที่ใช้แล้ว วิธีการที่ใช้ก็สามารถส่งผลต่อประสิทธิภาพในการลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ได้เช่นกัน และอาจส่งผลกระทบต่อลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ได้อีกด้วย (Breen และคณะ, 1997) นอกจากนี้ยังพบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารยับยั้ง เช่น อะซิเตต แลคเทต และสารประกอบเคมีอื่นๆ ขึ้นอยู่กับปัจจัยที่หลากหลาย เช่น ค่าความเป็นกรดเบส ค่าออกเตอรแอกทิวิตี้ (a_w) ความชื้น ไขมัน สารอาหาร และความเข้มข้นของเกลือในผลิตภัณฑ์ เป็นต้น นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับภาวะของการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ ซึ่งได้แก่ อุณหภูมิ ด้วย (Bedie และคณะ, 2001)

Samelis และคณะ (2001) กล่าวว่ายังไม่มีการอนุญาตให้ใช้เทคโนโลยีใหม่ๆ เช่น การฉายรังสีในบรรจุภัณฑ์เนื้อสัตว์พร้อมรับประทานอย่างถูกกฎหมาย ดังนั้นการใช้สารเคมีที่ปลอดภัย เช่น แลคเทต อะซิเตต และซอร์เบต หรือสารทางชีวภาพ เช่น แบคทีเรียโอซิน เป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์ เพื่อช่วยป้องกันความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์อาหารจึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจและได้รับการยอมรับ ในเวลาต่อมา Samelis และคณะ (2002) ได้ศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการฉีดพ่นสารยับยั้งจุลินทรีย์หรือจุ่มผลิตภัณฑ์ลงในสารยับยั้งจุลินทรีย์ก่อนทำการบรรจุภัณฑ์ โดยมีการพาสเจอร์ไรส์ด้วยความร้อนร่วมด้วยพบว่าวิธีการดังกล่าวสามารถเพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ Islam และคณะ (2002) ได้ชี้ให้เห็นว่าการประยุกต์ใช้สารยับยั้งจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิตที่บริเวณพื้นผิว

ของเนื้อสัตว์ สามารถป้องกันและยับยั้งการปนเปื้อนของ *L. monocytogenes* ได้ อย่างไรก็ตาม สารยับยั้งจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในกระบวนการผลิตต้องเป็นสารที่ได้รับการยอมรับว่ามีความปลอดภัย โดยผ่านการทดสอบจากองค์การอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกา (Food and Drug Administration: FDA) และได้รับการอนุญาตให้ใช้ในกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารได้อย่างถูกต้องตามกฎหมาย นอกจากนี้ยังต้องการอนุมัติเพิ่มเติมโดยหน่วยบริการตรวจสอบความปลอดภัยของอาหาร (Food Safety and Inspection Service: FSIS) ภายใต้กระทรวงเกษตรของประเทศสหรัฐอเมริกา (U.S. Department of Agriculture: USDA) เพื่ออนุญาตให้ใช้สารยับยั้งจุลินทรีย์บนผลิตภัณฑ์อาหาร และต้องมีการกำหนดระดับของสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ยอมรับได้ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ด้วย (Han, 2005)

ในปัจจุบันพบว่าการลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์โดยใช้กรดอินทรีย์ เช่น กรดแลคติก กรดอะซิติก กรดซิตริก กรดฟูมาริก และกรดซอร์บิก มีผลทำให้เนื้อสัตว์มีค่าความเป็นกรดเบสลดลง นอกจากนี้ยังส่งผลต่อลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ โดยทำให้ความสามารถการจับของน้ำกับโปรตีนในกล้ามเนื้อลดลง เกิดการสูญเสียน้ำและของเหลว นอกจากนี้ยังส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสีในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ด้วย จึงอาจกล่าวได้ว่าการใช้สารดังกล่าวเพื่อลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์อาจส่งผลให้เกิดการสูญเสียมูลค่าของเนื้อสัตว์ได้ (Mendonca และคณะ, 1989) ดังนั้นการหาวิธีการหรือสารยับยั้งจุลินทรีย์อื่นๆ มาใช้เพื่อลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคหรือก่อให้เกิดการเน่าเสียในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูปจึงมีความจำเป็น นอกจากนี้วิธีการที่ใช้หรือสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่จะนำมาใช้ต้องไม่ส่งผลกระทบต่อลักษณะทางกายภาพหรือลักษณะสัมผัสของผลิตภัณฑ์ด้วย

2.3 เซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์ (Cetylpyridinium chloride; CPC)

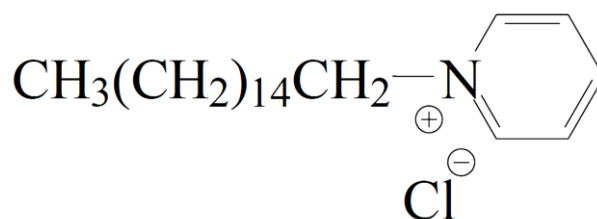
เซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์เป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่มีการใช้งานกันอย่างกว้างขวางในน้ำยาทำความสะอาดและน้ำยาฆ่าเชื้อโรค ชื่อทางการค้าที่รู้จักกันโดยทั่วไปคือ CECURE (Safe Foods Corporation, North Little Rock, Arkansas) CECURE มีความเข้มข้นของเซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์ 40% เป็นส่วนผสม เซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์มีการใช้ในด้านการแพทย์มากกว่า 50 ปี (Cutter และคณะ, 2000) โดยใช้เป็นส่วนผสมในยาอมแก้เจ็บคอ ผลิตภัณฑ์เพื่อสุขลักษณะทางช่องปาก ได้แก่ ยาสีฟัน และน้ำยาล้างปาก (Breen และคณะ, 1995) ซึ่งได้รับการรับรองจากองค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกา (FDA) ว่ามีประสิทธิภาพในการช่วยรักษาสุขอนามัยในช่องปาก

อย่างกว้างขวาง โดยเป็นสารยับยั้งคราบจุลินทรีย์ (plaque) ที่มีประสิทธิภาพ (Jimenez-Villarreal และคณะ, 2003; Bosilevac และคณะ, 2004)

2.3.1 โครงสร้างของเซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์

เซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์เป็นอนุพันธ์ของสารประกอบเกลือแอมโมเนียมควอเทอร์นารี (quaternary ammonium compound; QAC) มีชื่อทางเคมีว่า 1-เฮกซะเดซิลไพริดีเนียมคลอไรด์ $[(\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}(\text{CH})_5\text{NCl})]$ มีน้ำหนักโมเลกุล 358.07 (Al-musallam และคณะ, 2006) มีสมบัติเป็นสารลดแรงตึงผิวที่มีประจุบวก (cation surfactant) สามารถละลายน้ำได้ดี ปรากฏใน

เซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์เป็นสารประกอบเกลือแอมโมเนียมซึ่งสามารถจัดได้อยู่ในกลุ่มของเกลือแอมโมเนียมเฮเทอโรมาติก (heteroaromatic ammonium salt) เนื่องจากมีหมู่แอลคิลสายหนึ่ง และส่วนที่เหลือเป็นเฮเทอโรมาติก จึงกล่าวได้ว่ามีไนโตรเจนควอเทอร์นารี (quaternary nitrogen) ซึ่งเป็นส่วนประกอบของเฮเทอโรมาติกเหมือนไพริดีน (Pyridine)



รูปที่ 2.1 โครงสร้างของเซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์ (cetylpyridinium chloride; CPC)

2.3.2 กลไกการยับยั้งจุลินทรีย์ของเซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์

กลไกการยับยั้งจุลินทรีย์ของเซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์มีลักษณะคล้ายกับกลไกการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารประกอบเกลือแอมโมเนียม (quaternary ammonium compound) (Kim และ Slavik, 1996) โดยเซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์ซึ่งมีสมบัติเป็นสารลดแรงตึงผิวที่มีประจุบวก จะจับกับประจุลบบริเวณผิวเซลล์ของแบคทีเรีย เช่น โพรตีนของแบคทีเรีย (Petrocci, 1977) ซึ่งการยับยั้งจุลินทรีย์โดยทั่วไปของสารประกอบเกลือแอมโมเนียมจะเกิดการดูดซับอยู่ที่บริเวณผิวเซลล์ของแบคทีเรีย หลังจากนั้นจะซึมผ่านเข้าไปและทำลายผนังเซลล์และเซลล์เมมเบรน ส่งผลกระทบโดยตรงกับเซลล์ โดยฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ของสารประกอบเกลือแอมโมเนียมจะมีความสัมพันธ์โดยตรงกับความยาวของสายคาร์บอน โดยสารประกอบเกลือแอมโมเนียมที่มีหมู่แอลคิลในช่วง C_{12} -

C_{16} จะมีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อมาก โดยที่ C_{14} จะมีการออกฤทธิ์ยับยั้งมากที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่าประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารประกอบเกลือแอมโมเนียมจะมีความสัมพันธ์โดยตรงกับเวลาที่สารสัมผัสกับจุลินทรีย์เป้าหมาย ค่าความเป็นกรดเบส อุณหภูมิ และความกระด้างของน้ำด้วย (Cords, 1983)

นอกจากนี้ยังพบว่าการออกฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ของเซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์มีความสัมพันธ์กับความไม่ชอบน้ำด้วย (Cutter และคณะ, 2000) โดยพบว่าการยับยั้งจุลินทรีย์ของเซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์เกิดจากแรงดึงดูดระหว่างขั้วที่แตกต่างกัน (electrostatic interaction) ซึ่งโครงสร้างของเซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์ประกอบไปด้วยส่วนที่ชอบน้ำและไม่ชอบน้ำ โดยโครงสร้างส่วนที่ชอบน้ำหรือส่วนที่เป็นประจุบวกสามารถเกิดปฏิกิริยาโดยจับกับฟอสเฟตซึ่งมีประจุลบของเยื่อหุ้มชั้นนอกของแบคทีเรีย ทำให้เยื่อหุ้มชั้นนอกของเซลล์แบคทีเรียเสียหาย ส่งผลให้เกิดการรั่วของสารประกอบภายในเซลล์ ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ ส่งผลให้เกิดการตายของเซลล์ต่อมา (Albert-Kiszely และคณะ, 2007; Lim และ Mustapha, 2007)

การออกฤทธิ์ของเซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์จะมีความแตกต่างกันในแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ตามโครงสร้างเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ โดยพบว่าประจุลบของกรดไทโคอิกซึ่งจะพบเฉพาะในแบคทีเรียแกรมบวก สามารถเกิดปฏิกิริยาได้ง่ายกับโมเลกุลของเซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์ ผิวเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกจะมีส่วนที่ไม่ชอบน้ำซึ่งมีประจุลบมากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ จึงสามารถเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลส่วนที่ชอบน้ำหรือโครงสร้างส่วนที่เป็นประจุบวกของเซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์ได้มากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับแบคทีเรียแกรมลบ โดยปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจะรบกวนกระบวนการหายใจของแบคทีเรียแกรมบวก (Kim และ Slavik, 1996; Lim และ Mustapha, 2007)

เซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์สามารถใช้แช่หรือฉีดพ่นเพื่อป้องกันการยึดเกาะของแบคทีเรีย *Salmonella* ได้ (Wang และคณะ, 1997) โดยมีรายงานการใช้เซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์อย่างปลอดภัยมานานกว่า 30 ปี อาทิเช่น การใช้เป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์เกี่ยวกับสุขอนามัยในช่องปาก นอกจากนี้ยังพบว่าเซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์มีประสิทธิภาพในการลดการปนเปื้อนของ *Salmonella* sp. บนเนื้อสัตว์ปีกได้ (Breen และคณะ, 1995) นอกจากนี้เซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์จะเป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพแล้วยังมีความคงตัวสูงในช่วงอุณหภูมิที่กว้าง และสามารถทนต่อน้ำกระด้างได้ ซึ่งส่งผลให้เซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์ยังคงมีประสิทธิภาพดีในการป้องกันการยึดเกาะของแบคทีเรีย (Breen และคณะ, 1997) ดังนั้นเซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์จึงมีความสามารถในการลดอันตรายจากการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ได้โดยไม่ส่งผลกระทบต่อลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ปีกแปรรูป (Breen และคณะ, 1997) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์

มีความสามารถในการป้องกันและลดการปนเปื้อนของแบคทีเรียได้เป็นอย่างดี Kim และ Slavik (1996) ได้ศึกษาการใช้สารละลายเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์โดยการจุ่มหรือฉีดพ่นกับผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์เป็นเวลา 3 นาที พบว่าสามารถลดการปนเปื้อนของแบคทีเรียลงได้ 5 log และพบว่าเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.1% มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *S. Typhimurium* ได้โดยลดลง 1.0 ถึง 1.6 โดยการจุ่มและลดลง 0.9 ถึง 1.7 log โดยการฉีดพ่น Xiong และคณะ (1998) ศึกษาประสิทธิภาพของเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์โดยฉีดพ่นบนเนื้อไก่ก่อนการทำให้เย็นที่เวลาต่างๆ โดยใช้เซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.1% ฉีดพ่นที่ความดัน 138 kpa เป็นเวลา 1 นาที พบว่าสามารถลดปริมาณ *Salmonella* ได้ 0.7 logs โดยการลดลงจะเพิ่มขึ้น 1.1 log ที่เวลา 2 นาที และ 1.7 log ที่เวลา 3 นาที

นอกจากนี้ Pohlmana และคณะ (2002) ได้ศึกษาผลของเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 0.5% ในการยับยั้งเชื้อ *Salmonella Typhimurium*, *E. coli* บนเนื้อบด ก่อนเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ภายใต้ภาวะที่มีอากาศและภายใต้ภาวะสุญญากาศ ซึ่งภายหลังจากทดลองพบว่าเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์มีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ในทั้งสองภาวะตลอดระยะเวลา 7 วัน นอกจากนี้ยังทำให้ลักษณะเนื้อสัมผัสมีสีแดงที่ดีขึ้น จึงสรุปว่าเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.5% ไม่ส่งผลกระทบต่อสีและกลิ่นของเนื้อบดตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา

ประภาพร ขอไพบูลย์ (2548) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.5% ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ในตัวอย่างเนื้อสันนอกหมูที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยแสง UV ซึ่งภายหลังจากทดลองพบว่าเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.5% มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้ และทำให้เกิดการสูญเสียของเหลวในเนื้อต่ำ นอกจากนี้ยังช่วยรักษาสีแดงและคุณภาพทางประสาทสัมผัสของเนื้อหมูอีกด้วย

Singh และคณะ (2005) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์บนชิ้นเนื้อสไลด์ (slice) และก้อนชิ้นเนื้อ (exterior) ที่บ่มด้วยเชื้อ *L. monocytogenes* ก่อนเก็บรักษา โดยภายหลังจากทดลองพบว่าเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณ *L. monocytogenes* โดยบนชิ้นเนื้อสไลด์จะลดลงทันที 2 log CFU/cm² และในก้อนชิ้นเนื้อลดลงทันที 4 log CFU/cm² โดยตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 42 วัน พบว่าชิ้นเนื้อที่เก็บรักษาโดยใช้เซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์ยังคงมีปริมาณเชื้อต่ำกว่าชิ้นเนื้อตัวอย่างควบคุมซึ่งไม่มีการใช้เซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์ในเนื้อทั้งสองแบบ นอกจากนี้ยังพบว่าเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์มีผลกระทบต่อเพียงเล็กน้อยกับสีของชิ้นเนื้อในระหว่างการเก็บรักษา จึงสรุปได้ว่าเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณ *L. monocytogenes* ในระหว่างการเก็บรักษาชิ้นเนื้อสไลด์และก้อน

ขึ้นเนื้อได้ และเซทิลไพรดิเนียมคลอไรด์สามารถนำมาประยุกต์ใช้สำหรับยับยั้งจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์อาหารสำเร็จรูปได้

Lim และ Mustapha (2007) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของเซทิลไพรดิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.5% ในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes* และ *S. aureus* บนชิ้นเนื้อสไลด์ โดยภายหลังการทดลองพบว่าเซทิลไพรดิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.5% มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes* และ *S. aureus* แตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด โดยพบว่าเซทิลไพรดิเนียมคลอไรด์มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณ *L. monocytogenes* ได้ดีที่สุด โดยตรวจไม่พบเชื้อตั้งแต่วันแรกที่ใช้สารดังกล่าวและไม่พบตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา นอกจากนี้ยังพบว่าเซทิลไพรดิเนียมคลอไรด์ส่งผลกระทบต่อลักษณะเนื้อสัมผัส สี และกลิ่นของชิ้นเนื้อสไลด์เพียงเล็กน้อยเท่านั้น

บุษกร ทองใบ (2553) ได้มีการศึกษาเพื่อประเมินประสิทธิภาพของเซทิลไพรดิเนียมคลอไรด์ในการยับยั้ง *E. coli* O157:H7 ที่ปนเปื้อนบนถั่วงอก โดยแปรผันความเข้มข้นของเซทิลไพรดิเนียมคลอไรด์ที่ 0, 0.5, 1.0, 2.0 และ 4.0% w/v ซึ่งภายหลังการทดลองพบว่าเซทิลไพรดิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 4.0% มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณ *E. coli* O157:H7 บนถั่วงอกได้มากที่สุด คือ ลดลง $3.38 \log \text{CFU/cm}^2$ จึงสรุปว่าความเข้มข้นของเซทิลไพรดิเนียมคลอไรด์มีผลต่อประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ และเซทิลไพรดิเนียมคลอไรด์มีประสิทธิภาพที่ดีในการยับยั้งจุลินทรีย์ดังกล่าว นอกจากนี้เซทิลไพรดิเนียมคลอไรด์ยังมีความน่าสนใจในการนำมาใช้เพื่อเป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์ในการล้างผักและผลไม้สดเพื่อเพิ่มความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

นอกจากนี้กระทรวงเกษตรของประเทศสหรัฐอเมริกา (U.S. Department of Agriculture) ยังได้มีการหารือเกี่ยวกับการใช้สารเซทิลไพรดิเนียมคลอไรด์ โดยกล่าวว่านอกจากเซทิลไพรดิเนียมคลอไรด์ 1% จะสามารถควบคุมการเจริญของ *L. monocytogenes* ได้แล้ว ยังสามารถลดปริมาณแบคทีเรียแลคติก โคลิฟอร์ม ยีสต์และราได้ด้วย นอกจากนี้การใช้เซทิลไพรดิเนียมคลอไรด์จะตรวจพบปริมาณ *E. coli* ที่ปนเปื้อนบนผลิตภัณฑ์ได้ในต่ำกว่าระดับที่สามารถตรวจพบได้อีกด้วย (Albert-Kiszely และคณะ, 2007)

เซทิลไพรดิเนียมคลอไรด์ได้รับการยอมรับว่ามีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งจุลินทรีย์และนิยมใช้เป็นสารเพื่อลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์ผักสดแปรรูป และเนื้อสัตว์แปรรูปกันอย่างกว้างขวาง (Wang และคณะ, 2001; FDA, 2004; UAMS, 2004; Yang และคณะ, 2003) นอกจากนี้เซทิลไพรดิเนียมคลอไรด์ยังมีสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ปนเปื้อนที่ก่อให้เกิดการ

เน่าเสียในผลิตภัณฑ์อาหารได้หลายชนิด อาทิเช่น *E. coli*, *S. Typhimurium*, *Campylobacter jejuni* และ *L. monocytogenes* (FDA, 1998; Pohlmana และคณะ, 2002) เป็นต้น

สำหรับการควบคุมทางกฎหมาย เมื่อวันที่ 2 เมษายน 2004 องค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกาได้แก้ไขเพิ่มเติมเกี่ยวกับข้อกำหนดของสารเติมแต่งในอาหารอนุญาตให้ใช้เซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์เป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ได้ โดยอนุญาตให้ใช้ในขั้นตอนสุดท้ายของกระบวนการในระดับไม่เกิน 0.3 กรัมต่อปอนด์ของเนื้อสัตว์ (Al-Musallam และคณะ, 2006) สำหรับการควบคุมทางกฎหมายในประเทศไทย ยังไม่พบข้อกำหนดที่อนุญาตให้ใช้เซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์กับผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่แช่แข็ง พบเพียงการอนุญาตให้ใช้เซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์รักษาสุขอนามัยในช่องปาก โดยอนุญาตให้ใช้ได้ไม่เกิน 0.06 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

จากงานวิจัยหลายงานที่ผ่านมาจะเห็นได้ว่าเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์มีประสิทธิภาพที่ดีในการลดปริมาณการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์อาหารแปรรูปต่างๆ โดยเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้หลากหลาย อย่างไรก็ตามจะเห็นได้ว่าจากงานวิจัยที่ผ่านมาการใช้เซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์ในการยับยั้งจุลินทรีย์มีเพียงการใช้แบบจุ่มหรือฉีดพ่นโดยตรงกับผลิตภัณฑ์เท่านั้น ดังนั้นการนำเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์มาประยุกต์ใช้ในรูปแบบอื่นจึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจ

2.4 บรรจุภัณฑ์แอคทีฟ (Active packaging)

ปัจจุบันบรรจุภัณฑ์แอคทีฟกำลังได้รับความสนใจและได้รับการพัฒนาเพื่อรองรับกับอุตสาหกรรมอาหารที่มีอัตราการขยายตัวเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง และเพื่อตอบสนองความต้องการของผู้บริโภคซึ่งหันมาสนใจในสุขภาพเพิ่มมากขึ้น โดยต้องการบริโภคผลิตภัณฑ์อาหารที่ผ่านกระบวนการแปรรูปน้อยที่สุดและมีความปลอดภัย (Vermeiren และคณะ, 1999; Sonneveld, 2000) บรรจุภัณฑ์แอคทีฟเป็นแนวคิดริเริ่มเกี่ยวกับการทำงานร่วมกันของบรรจุภัณฑ์ ผลิตภัณฑ์ และสิ่งแวดล้อม โดยอาจหมายถึงประเภทของบรรจุภัณฑ์ซึ่งมีการดัดแปลงสภาพให้มีความสามารถในการยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้ ซึ่งเป็นการเพิ่มความปลอดภัยและรักษาคุณภาพหรือลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ในขณะที่เก็บรักษาผลิตภัณฑ์ด้วย (Labuza และ Breene, 1989; Suppakul, 2002; Vermeiren และคณะ, 2004) การระบอบของจุลินทรีย์ซึ่งปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์อาหารเป็นแรงผลักดันให้เกิดการผลิตบรรจุภัณฑ์อาหารหรือวัสดุที่มีสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ขึ้น โดยเทคโนโลยีบรรจุภัณฑ์อาหารยับยั้งจุลินทรีย์สามารถทำหน้าที่ในการยับยั้งหรือชะลอการเจริญของจุลินทรีย์ ลดความเสี่ยงจากจุลินทรีย์ก่อโรคในผลิตภัณฑ์อาหาร นอกจากนี้บรรจุภัณฑ์อาหารยับยั้ง

จุลินทรีย์ยังเป็นรูปแบบของบรรจุภัณฑ์ที่มีศักยภาพสูงและมีการใช้งานมากที่สุดด้วย (Lopez-Rubio และคณะ, 2004)

2.4.1 บรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์ (Antimicrobial packaging)

การใช้สารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในบรรจุภัณฑ์อาหารมีวัตถุประสงค์เพื่อปกป้องตัวบรรจุภัณฑ์หรือวัตถุดิบที่ใช้ผลิตบรรจุภัณฑ์ และช่วยปกป้องอาหารที่อยู่ในบรรจุภัณฑ์จากการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ โดยสารออกฤทธิ์ดังกล่าวสามารถลดอัตราการเจริญของจุลินทรีย์หรือยืดระยะแล็ก (lag phase) ของการเจริญของจุลินทรีย์ได้ เป็นการช่วยขยายอายุการเก็บรักษาคุณภาพและความปลอดภัยในผลิตภัณฑ์อาหาร (Han, 2005) เนื่องจากฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ของสารยับยั้งจุลินทรีย์ซึ่งรวมอยู่ภายในวัสดุบรรจุภัณฑ์ (Schiffmann และ Schlösser, 2011) สารยับยั้งจุลินทรีย์ส่วนใหญ่สามารถใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารได้โดยไม่เป็นอันตราย ถ้าใช้ในปริมาณที่เหมาะสม แต่ทั้งนี้ต้องคำนึงว่าสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ใช้ในบรรจุภัณฑ์อาหารนั้นจะต้องไม่ส่งผลกระทบต่อลักษณะของอาหารที่อยู่ในบรรจุภัณฑ์ ซึ่งถือเป็นการประกันความปลอดภัยของอาหารและเป็นการคงคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหารไว้ได้นานด้วย

การใช้บรรจุภัณฑ์ที่มีสมบัติยับยั้งจุลินทรีย์นับว่าเป็นแนวทางที่ได้เปรียบกว่าการใช้สารยับยั้งจุลินทรีย์โดยตรงกับผลิตภัณฑ์อาหาร คือสามารถควบคุมการปลดปล่อยสารยับยั้งจุลินทรีย์จากบรรจุภัณฑ์ได้ จึงสามารถใช้สารยับยั้งจุลินทรีย์ในปริมาณที่น้อยกว่าการเติมโดยตรงลงในอาหาร นอกจากนี้ข้อได้เปรียบของการใช้สารยับยั้งจุลินทรีย์ในรูปแบบของบรรจุภัณฑ์คือสารยับยั้งจุลินทรีย์สามารถออกฤทธิ์ได้โดยตรงที่บริเวณผิวหน้าของอาหารด้วย (Appendini และ Hotchkiss, 2002)

บรรจุภัณฑ์อาหารต้านจุลินทรีย์สามารถทำได้โดยการผสมหรือตรึงสารยับยั้งจุลินทรีย์ในวัสดุบรรจุภัณฑ์ ดัดแปลงหรือเคลือบสารยับยั้งจุลินทรีย์บนผิวของวัสดุบรรจุภัณฑ์อาหาร โดยเฉพาะพื้นผิวที่มีลักษณะเรียบซึ่งสัมผัสกับพื้นผิวด้านในของบรรจุภัณฑ์โดยตรง โดยทั่วไปบรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์มีหลากหลายประเภทหรือหลากหลายรูปแบบ (Appendini และ Hotchkiss, 2002) ได้แก่

- ซองหรือแผ่นปลดปล่อยสารระเหยที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์อยู่ในบรรจุภัณฑ์
- การเติมสารยับยั้งจุลินทรีย์ลงในพอลิเมอร์โดยตรง
- การเคลือบหรือดูดซับสารยับยั้งจุลินทรีย์บนพื้นผิวของพอลิเมอร์
- การตรึงสารยับยั้งจุลินทรีย์บนพอลิเมอร์โดยอาศัยพันธะโคเวเลนต์
- การใช้พอลิเมอร์ที่มีสมบัติยับยั้งจุลินทรีย์โดยกำเนิด

การใช้สารยับยั้งจุลินทรีย์เพียงตัวเดียวเพื่อป้องกันการเน่าเสียในผลิตภัณฑ์อาหาร เพื่อให้ครอบคลุมทุกความต้องการในการเก็บรักษาเป็นไปได้อย่าง และถือเป็นสิ่งสำคัญมากในการพัฒนาวิธีการเพื่อยับยั้งจุลินทรีย์ซึ่งมีขนาดเล็กและส่งผลกระทบต่อลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์อาหาร ดังนั้นการรวมสารยับยั้งจุลินทรีย์ในบรรจุภัณฑ์อาหารจึงต้องพิจารณาถึงลักษณะชั่วคราวไฟฟ้าและน้ำหนักโมเลกุลของสารยับยั้งจุลินทรีย์ เพื่อให้แน่ใจว่าสารยับยั้งจุลินทรีย์สามารถทำงานได้เมื่อรวมอยู่ภายในโครงสร้างของบรรจุภัณฑ์ ประจุไอออนและการละลายน้ำของสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่แตกต่างกันอาจส่งผลกระทบต่อการทำงานของสาร (Cooksey, 2005) โดยอาหารแต่ละชนิดมีลักษณะทางกายภาพและลักษณะทางเคมีที่แตกต่างกัน การเก็บรักษาภายใต้อุณหภูมิที่แตกต่างกันก็อาจส่งผลกระทบต่อการทำงานของบรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์ได้ นอกจากนี้การออกฤทธิ์ของสารยับยั้งจุลินทรีย์สามารถเสื่อมประสิทธิภาพได้ที่อุณหภูมิสูงเนื่องจากมีอัตราการแพร่กระจายสูง ส่งผลให้ไม่สามารถรักษาคุณภาพตลอดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ได้ (Vojdani และ Torres, 1990; Wong และคณะ, 1996; Cooksey, 2005)

ในแต่ละประเทศมีข้อกำหนดสำหรับการอนุญาตให้ใช้สารยับยั้งจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์อาหารที่แตกต่างกันไป องค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกาอนุญาตให้ใช้สารยับยั้งจุลินทรีย์บางประเภทได้โดยตรงกับผลิตภัณฑ์อาหาร (Brody, 2001) แต่ยังไม่มียกเว้นข้อกำหนดที่แน่ชัดสำหรับการใช้สารยับยั้งจุลินทรีย์ในบรรจุภัณฑ์อาหาร ในประเทศไทยก็เช่นกัน สหภาพยุโรปได้มีข้อกำหนดให้สามารถเติมสารยับยั้งจุลินทรีย์ลงในบรรจุภัณฑ์อาหารได้ แต่ไม่ควรเกิน 60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งขัดแย้งกับกลไกและวัตถุประสงค์ของระบบบรรจุภัณฑ์ซึ่งจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ โดยการปลดปล่อยสารยับยั้งจุลินทรีย์ไปสู่ผลิตภัณฑ์อาหาร (Suppakul, 2002) ดังนั้นข้อกำหนดของการใช้สารยับยั้งจุลินทรีย์ในอาหารจึงเป็นสิ่งที่จำเป็น (Van Beest, 2001) เพื่อให้การประยุกต์ใช้สารยับยั้งจุลินทรีย์ในบรรจุภัณฑ์ได้รับการยอมรับว่าเป็นเทคโนโลยีที่มีศักยภาพ

ปัจจุบันการขนส่งและการจัดจำหน่ายทั่วโลกกำลังมีการขยายตัว เนื่องจากความต้องการของผู้บริโภคที่มีเพิ่มขึ้น โดยผู้บริโภคมีความต้องการผลิตภัณฑ์อาหารที่สดใหม่และมีความปลอดภัย ซึ่งแสดงให้เห็นถึงแนวโน้มที่ดีสำหรับบรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์ (Lopez-Rubio และคณะ, 2004) บรรจุภัณฑ์เชิงการค้าในปัจจุบันมีอยู่จำนวนจำกัด โดยส่วนใหญ่จะนำมาใช้งานกับผลิตภัณฑ์อาหารที่มีมูลค่าสูง (Cooksey, 2005) เช่น ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูปแช่เย็นและแช่แข็ง เป็นต้น ดังนั้นนักวิจัยจำนวนมากจึงให้ความสำคัญกับการศึกษาประสิทธิภาพของบรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์สำหรับการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ เพื่อกำหนดชนิดของผลิตภัณฑ์อาหารที่เหมาะสมแก่การใช้งานเพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดในการควบคุมหรือลดค่าใช้จ่าย (Han, 2005) นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยจำนวนมากที่มี

การทดสอบคุณภาพของรสชาติและกลิ่นของผลิตภัณฑ์อาหาร เมื่อสารยับยั้งจุลินทรีย์ถูกปลดปล่อยจากบรรจุภัณฑ์สู่อาหารสำหรับการใช้บรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์ในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ด้วย

2.5 พิล์มยับยั้งจุลินทรีย์

ในช่วงที่ผ่านมาการพัฒนาวัสดุบรรจุภัณฑ์อาหารแบบยับยั้งจุลินทรีย์ได้รับความสนใจอย่างมาก ซึ่งการดัดแปลงฟิล์มเพื่อให้มีสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์เป็นรูปแบบหนึ่งของบรรจุภัณฑ์อาหารแบบยับยั้งจุลินทรีย์ที่ได้รับความสนใจมากที่สุด เนื่องจากสามารถใช้งานได้สะดวก ช่วยปรับปรุงในเรื่องความปลอดภัยของอาหารและช่วยในการยืดอายุการเก็บรักษาอาหารให้ยาวนานขึ้นด้วย โดยฟิล์มยับยั้งจุลินทรีย์ได้รับการยอมรับอย่างกว้างขวางว่าเป็นหนึ่งในรูปแบบของบรรจุภัณฑ์ที่มีศักยภาพและมีการใช้งานมากที่สุด ฟิล์มยับยั้งจุลินทรีย์มีประสิทธิภาพสูงในการฆ่าและยับยั้งการเน่าเสียจากจุลินทรีย์ก่อโรคที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์อาหาร (Salleh และคณะ, 2007) นอกจากนี้ยังสามารถป้องกันการซึมผ่านของแก๊สและไอน้ำได้อย่างดี (Gennadios และ Weller, 1997) โดยมีการศึกษาและวิจัยจำนวนมากที่สนใจศึกษาการขึ้นรูปฟิล์มที่มีสมบัติยับยั้งจุลินทรีย์ โดยใช้สารที่มีสมบัติยับยั้งจุลินทรีย์ต่างๆ

เป็นที่ทราบกันดีอยู่แล้วว่าจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดความสูญเสียอย่างมากในผลิตภัณฑ์อาหารมีมากมาย ด้วยเหตุนี้หลายปีที่ผ่านมาจึงได้มีการศึกษาโดยใช้กระบวนการทางกายภาพและทางเคมีต่างๆ มากมาย เพื่อพัฒนาและการขยายอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์อาหาร โดยกระบวนการผลิตและการบรรจุผลิตภัณฑ์ ถือเป็นปัจจัยพื้นฐานที่สำคัญในการช่วยขยายอายุเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์อาหาร นอกจากนี้ต้องสามารถรักษาคุณภาพและลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์อาหารไว้ได้ตลอดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ด้วย จึงได้ริเริ่มการใช้บรรจุภัณฑ์แบบยับยั้งจุลินทรีย์เพื่อป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์กับผลิตภัณฑ์อาหาร โดยมีการใช้วัสดุบรรจุภัณฑ์ เช่น ฟิล์มที่มีสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์กับผลิตภัณฑ์อาหาร นอกจากนี้ยังมีการใช้เทคนิคต่างๆ ร่วมด้วย เช่นการปรับปรุงภาวะภายในบรรจุภัณฑ์ เนื่องจากปัจจุบันความต้องการของผู้บริโภคมีเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นจึงมีการนำสารธรรมชาติหรือสารยับยั้งจุลินทรีย์ มาประยุกต์ใช้ในกระบวนการผลิต หรือนำมาใช้กับผลิตภัณฑ์โดยตรงในระดับต่ำสำหรับสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่มีการสัมผัสกับอาหาร เพื่อตอบสนองกับความต้องการของผู้บริโภคที่เกิดขึ้น ซึ่งฟิล์มยับยั้งจุลินทรีย์ถือว่ามีประสิทธิภาพมากกว่าบรรจุภัณฑ์รูปแบบอื่นๆ แม้ว่าจะมีความยุ่งยากเล็กน้อยในการนำไปประยุกต์ใช้ (Neetoo และคณะ, 2008)

Pranoto และคณะ (2005) ได้ศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ของฟิล์มโคโคซานที่มีน้ำมันกระเทียม โปแทสเซียมซอร์เบท และไนซิน ผสมอยู่ในโครงสร้างฟิล์ม โดยได้เปรียบเทียบ

ประสิทธิภาพฟิล์มไคโตซานที่มีสารยับยั้งจุลินทรีย์ดังกล่าวต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหาร ได้แก่ *E. coli*, *S. aureus*, *S. Typhimurium*, *L. monocytogenes* และ *Bacillus cereus* ซึ่งภายหลังจากการทดลองพบว่าฟิล์มดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus*, *L. monocytogenes* และ *B. cereus* นอกจากนี้ฟิล์มดังกล่าวยังได้รับการยอมรับได้ในด้านกลไกและสมบัติทางกายภาพของฟิล์มด้วย

Sanjurjo และคณะ (2006) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของฟิล์มไนซินในการยับยั้ง *L. innocua* และศึกษาลักษณะการปลดปล่อยไนซินจากฟิล์ม โดยผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าไนซินที่อยู่ภายในโครงสร้างพื้นฐานของฟิล์มมีประสิทธิภาพที่ดีในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ นอกจากนี้ยังพบว่าการปลดปล่อยสารยับยั้งจุลินทรีย์จากฟิล์มที่ละน้อย สามารถช่วยป้องกันการแพร่กระจายของจุลินทรีย์ได้ดีกว่าการได้รับไนซินโดยตรง ซึ่งอาจเป็นการรักษาสมดุลของฤทธิ์การยับยั้งของไนซิน นอกจากนี้ยังได้กล่าวไว้ว่าฟิล์มยับยั้งจุลินทรีย์ดังกล่าวนี้จะมีประโยชน์ในการป้องกันการปนเปื้อนของผลิตภัณฑ์อาหารจากจุลินทรีย์ได้ในอนาคต

Neetoo และคณะ (2008) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ (LDPE) เคลือบไนซิน โดยใช้วิธี Thin Layer Chromatography (TLC) เพื่อช่วยป้องกันความปลอดภัยจากจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์แชลมนอนนมควั่นแช่เย็น รวมทั้งควบคุมการเน่าเสียจาก *L. monocytogenes* พบว่าฟิล์ม LDPE เคลือบไนซินมีประสิทธิภาพในการยืดอายุการเก็บรักษาและยับยั้ง *L. monocytogenes* บนแชลมนอนนมควั่นได้ โดยประสิทธิภาพการยับยั้งจะขึ้นอยู่กับวิธีการและอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษา โดยพบว่าการยับยั้งจะมีประสิทธิภาพสูงสุดที่อุณหภูมิแช่เย็น

Nguyen และคณะ (2008) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของฟิล์มเซลลูโลสที่มีไนซินรวมอยู่ในโครงสร้างฟิล์ม โดยจากการศึกษานี้พบว่าฟิล์มดังกล่าวมีประสิทธิภาพที่ดีในการควบคุมการเจริญของ *L. monocytogenes* และแบคทีเรียชนิดใช้อากาศทั้งหมดบนผิวของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเยอรมันสุญญากาศ และสามารถที่จะนำมาประยุกต์ใช้เป็นฟิล์มบรรจุภัณฑ์อาหารเพื่อยับยั้งจุลินทรีย์ หรือใช้ในกระบวนการผลิตและแปรรูปเนื้อสัตว์ได้

Ye และคณะ (2008) ได้ศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ของฟิล์ม Surlyn เคลือบไคโตซานร่วมกับสารยับยั้งจุลินทรีย์ generally recognized as safe (GRAS) ได้แก่ ไนซิน โซเดียมแลคเตต โซเดียมไดอะซีเตต โปแทสเซียมซอร์เบต และโซเดียมเบนโซเอต ด้วยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ภายหลังจากการทดลองพบว่าไคโตซานเพียงลำพังไม่สามารถควบคุมการเจริญของ *L. monocytogenes* ได้ ดังนั้นจึงต้องใช้สารยับยั้งจุลินทรีย์ร่วมกับฟิล์มพลาสติกไคโตซานเพื่อช่วยชะลอหรือเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* โดยพบว่าฟิล์ม

พลาสติกเคลือบไคโตซานที่ผสมโซเดียมแลคเตตมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes* ที่ดีที่สุด โดยสามารถควบคุมการเจริญของเชื้อได้ตลอดระยะเวลา 12 สัปดาห์ ภายใต้อุณหภูมิ 4^oซ

Pintado และคณะ (2010) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของฟิล์มที่มีโนซิน นาพาไมซิน และกรดมาลิก รวมอยู่ในฟิล์ม โดยพบว่าฟิล์มยับยั้งจุลินทรีย์ดังกล่าวมีประสิทธิภาพที่ดีในการยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Yarrowia lipolytica*, *Penicillium commune* และ *Penicillium chrysogenum* จึงสรุปว่ารูปแบบของฟิล์มยับยั้งจุลินทรีย์ดังกล่าวมีประสิทธิภาพที่ดีในการป้องกันและยับยั้งการเน่าเสียและจุลินทรีย์ก่อโรคที่แยกจากผิวของชีส

Concha-Meyer และคณะ (2011) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของฟิล์มแอลจินेटที่มีแบคทีเรียแลคติกและโนซินรวมอยู่ในโครงสร้างฟิล์ม เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของ *L. monocytogenes* บนบรรจุภัณฑ์แชลมอนนมวันแช่เย็น ภายหลังจากทดลองพบว่าแชลมอนที่ปิดทับด้วยฟิล์มซึ่งไม่มีแบคทีเรียแลคติกและโนซินรวมอยู่ในโครงสร้างฟิล์มนั้น *L. monocytogenes* จะสามารถเจริญเพิ่มขึ้นจากปริมาณเริ่มต้น 2.4 log CFU ในขณะที่ฟิล์มแอลจินेटที่มีแบคทีเรียแลคติกและโนซินรวมอยู่ในโครงสร้างฟิล์มสามารถยับยั้ง *L. monocytogenes* บนแชลมอนได้ โดยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเป็นระยะเวลามากกว่า 28 วัน ซึ่งเกินกว่ามาตรฐานของระยะเวลาการเก็บรักษาในอุตสาหกรรมสำหรับแชลมอนแช่เย็น

ความปลอดภัยในการใช้สารยับยั้งจุลินทรีย์ถือเป็นพื้นฐานหนึ่งในการพัฒนาด้านเทคโนโลยีบรรจุภัณฑ์ใหม่ๆ นอกจากนี้ยังพบแนวโน้มว่าความปลอดภัยในการใช้สารยับยั้งจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์อาหารจะเข้ามามีบทบาทสำคัญในการพัฒนาและปรับปรุงบรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์เพื่อนำไปใช้งานจริงในอนาคตด้วย (Brody, 2001) ฟิล์มยับยั้งจุลินทรีย์เป็นบรรจุภัณฑ์ที่มีความสามารถในการป้องกันเกินกว่าลักษณะสมบัติพื้นฐาน โดยได้รับการเติมสารนอมอาหารหรือสารยับยั้งจุลินทรีย์ลงในระหว่างการผลิตบรรจุภัณฑ์ หรือใช้พอลิเมอร์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์เพื่อให้ได้ฟิล์มที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ ฟิล์มบรรจุภัณฑ์ที่ได้จึงมีลักษณะเฉพาะหรือมีความสามารถในการป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์ได้ โดยจะทำให้อัตราการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ช้าลงหรือลดจำนวนจุลินทรีย์ที่มีชีวิตลง (Han, 2005) ซึ่งเป้าหมายหลักของระบบบรรจุภัณฑ์โดยทั่วไปคือการประกันความปลอดภัย การรักษาคุณภาพและขยายอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ ความปลอดภัยในผลิตภัณฑ์อาหารถือเป็นปัญหาใหญ่ที่สำคัญของทั่วโลก ดังนั้นบรรจุภัณฑ์ในรูปแบบฟิล์มยับยั้งจุลินทรีย์อาจมีบทบาทสำคัญในการประกันความปลอดภัยให้กับผลิตภัณฑ์อาหารได้ แต่ปัจจุบันการประยุกต์ใช้บรรจุภัณฑ์ในรูปแบบฟิล์มยับยั้งจุลินทรีย์กับผลิตภัณฑ์อาหารมีข้อจำกัดในด้านของการใช้สารยับยั้งจุลินทรีย์ที่เหมาะสม วัสดุพอลิเมอร์ชนิดใหม่ วิธีการที่เหมาะสม

และข้อกังวลเรื่องกฎหมาย (Jin และ Zhang, 2008) โดยบรรจุภัณฑ์รูปแบบฟิล์มยับยั้งจุลินทรีย์ได้รับการตรวจสอบความสามารถในการป้องกันความชื้น ออกซิเจน กลิ่น และการขนส่งสารละลาย (Gennadios และ Weller, 1997) ในปัจจุบันได้มีการพัฒนาฟิล์มยับยั้งจุลินทรีย์และวิธีการสร้างหรือตัดแปลงฟิล์ม เพื่อให้ได้ฟิล์มที่มีสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ยังได้มีการทดสอบถึงประสิทธิภาพในการใช้งานจริง ซึ่งอาจจะเป็นประโยชน์ในการนำฟิล์มยับยั้งจุลินทรีย์เหล่านี้ไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เพื่อขยายอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหารให้มีคุณภาพต่อไปในอนาคต

2.5.1 การใช้สารยับยั้งจุลินทรีย์ในรูปแบบฟิล์ม

การใช้สารยับยั้งจุลินทรีย์ในรูปแบบฟิล์ม เหมาะกับผลิตภัณฑ์อาหารที่มีลักษณะแข็ง เช่น ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ ซีส ผลไม้ เป็นต้น เพราะผลิตภัณฑ์อาหารลักษณะนี้จะมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่บริเวณพื้นผิวของอาหารเท่านั้น ซึ่งการปนเปื้อนบริเวณพื้นผิวนี้จะเป็นตัวบ่งชี้ถึงความปลอดภัยหรือการเสื่อมเสียของอาหารหลายชนิด (Limjaroen และคณะ, 2003) การใช้สารยับยั้งจุลินทรีย์ในรูปแบบฟิล์มนี้สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 รูปแบบใหญ่ๆ ดังนี้

- การผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์ลงในฟิล์มระหว่างการขึ้นรูป

การผสมสารยับยั้งจุลินทรีย์ลงในฟิล์มระหว่างขึ้นรูป ส่วนประกอบและภาวะที่ใช้ในขั้นตอนการเตรียมฟิล์มต้องไม่มีผลต่อการออกฤทธิ์ของสารยับยั้งจุลินทรีย์ เช่น อุณหภูมิที่ใช้ในกระบวนการขึ้นรูปฟิล์ม เป็นต้น (Cooksey, 2005)

- การเคลือบหรือดูดซับสารยับยั้งจุลินทรีย์ลงบนฟิล์มสำเร็จรูป

การเตรียมฟิล์มในรูปแบบของการเคลือบหรือดูดซับสารจะใช้เมื่อส่วนประกอบหรือภาวะที่ใช้ในขั้นตอนการเตรียมฟิล์มมีผลต่อการออกฤทธิ์ของสารยับยั้งจุลินทรีย์ (Quintavalla และ Vicini, 2002)

2.6 อิเล็กโทรสปินนิง (Electrospinning)

เทคนิคอิเล็กโทรสปินนิงเป็นเทคนิคหนึ่งในการผลิตเส้นใยในระดับนาโนเมตร เป็นเทคนิคที่อาศัยแรงทางไฟฟ้าที่เกิดจากศักย์ไฟฟ้าความต่างศักย์สูงในการผลิตเส้นใยพอลิเมอร์ เทคนิคอิเล็กโทรสปินนิงสามารถสร้างเส้นใยที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 10 นาโนเมตร ถึงมากกว่า 1 ไมโครเมตร (Fang และคณะ, 2010) ทำให้ได้เส้นใยที่มีลักษณะเฉพาะ เช่น มีพื้นที่ผิวจำเพาะสูง

(Specific surface area) อัตราส่วนยาวต่อส่วนกว้างสูง (Aspect ratio) และความพรุนตัวสูง (Porosity) เทคนิคอิเล็กโทรสปินนิ่งสามารถเตรียมเส้นใยพอลิเมอร์ขนาดเล็กในระดับนาโนเมตรได้หลากหลายชนิด จึงสามารถนำไปประยุกต์ใช้งานในด้านต่างๆ ได้หลากหลาย เช่น นำไปประยุกต์ใช้ ในด้านการแพทย์ เกษษกรรม วิศวกรรม การทหาร และอื่นๆ (Rutledge และคณะ, 2000)

2.6.1 อุปกรณ์หลักพื้นฐานที่ใช้ในเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิ่ง

การสร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิ่งใช้อุปกรณ์หลักพื้นฐานเพียง 3 ส่วน (Rutledge และ Fridrikh, 2007) ดังแสดงในรูป 2.2 ซึ่งประกอบด้วย

- เครื่องกำเนิดไฟฟ้าความต่างศักย์สูง (High-voltage power supply)

เครื่องกำเนิดไฟฟ้าความต่างศักย์สูงสามารถปรับค่าความต่างศักย์ได้ในช่วง 0-50 กิโลโวลต์ (kV) กำลังเคลื่อนไฟฟ้าของเครื่องควรมีค่าน้อยในระดับมิลลิแอมป์ (mA) หรือต่ำกว่า หรือไม่ให้เกิดอันตรายต่อผู้ปฏิบัติงาน

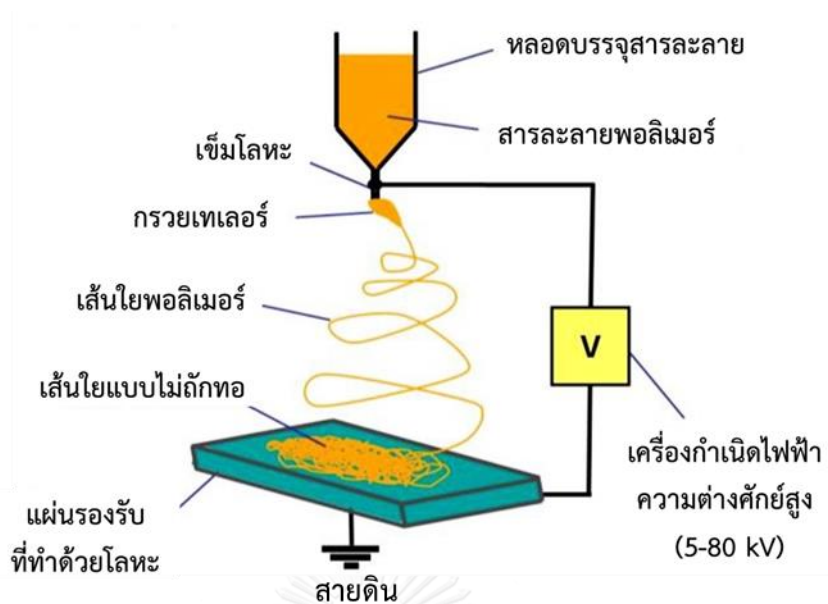
- หลอดสำหรับบรรจุพอลิเมอร์ตัวอย่าง (Capillary tube)

หลอดสำหรับบรรจุพอลิเมอร์ตัวอย่างอาจเป็นปิเปตหรือกระบอกฉีดยา (Syringe) ซึ่งมีช่องเปิดเพื่อให้สารละลายพอลิเมอร์ตัวอย่างสามารถไหลออกมาได้ ในกรณีที่ใช้กระบอกฉีดยาสามารถใช้เข็มฉีดยาต่อบริเวณปลายที่มีช่องปิดได้

- แผ่นรองรับเส้นใยที่ทำด้วยโลหะ (Collector)

อุปกรณ์ที่ใช้รองรับเส้นใยมีได้หลายลักษณะ เช่น แผ่นหรือตะแกรงโลหะ ลูกกลิ้งที่หุ้มด้วยแผ่นโลหะ ซึ่งสามารถควบคุมอัตราความเร็วรอบของการหมุนของลูกกลิ้งได้ หรืออาจเป็นอ่างสารละลาย (ในกรณีที่ต้องการให้เส้นใยตกตะกอนเหมือนกับในกรณีการสร้างเส้นใยแบบเปียก)

พอลิเมอร์ที่ใช้ในการสร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิ่ง อาจเป็นได้ทั้งสารละลายพอลิเมอร์หรือพอลิเมอร์หลอมเหลว โดยการสร้างเส้นใยสามารถกระทำได้ทั้งแนวราบและแนวตั้ง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความหนืดของสารละลายพอลิเมอร์ตัวอย่างที่ใช้ เทคนิคอิเล็กโทรสปินนิ่งเป็นเทคนิคที่ไม่มี ความซับซ้อน มีค่าใช้จ่ายน้อย และสามารถใช้งานได้สะดวก นอกจากนี้เทคนิคอิเล็กโทรสปินนิ่งยังสามารถพัฒนาให้ดีขึ้นได้โดยเพิ่มอุปกรณ์สำหรับควบคุมอัตราการไหลของสารละลาย (Syringe Pump) เพื่อให้การสร้างเส้นใยมีประสิทธิภาพสูงขึ้น



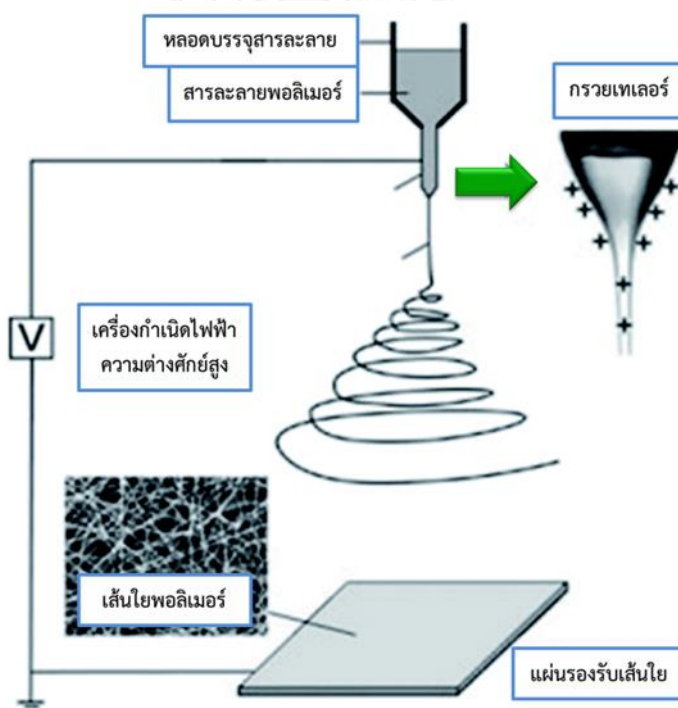
รูปที่ 2.2 อุปกรณ์พื้นฐานสำหรับสร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง

ที่มา: <http://www.artivasc.eu/content/dam/artivasc/en/images/publication-andpress/Electrospunmats-as-cell-scaffolds-Feb2013.jpg>

2.6.2 หลักการพื้นฐานของเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง

อิเล็กโตรสปินนิงเป็นเทคนิคการผลิตเส้นใยพอลิเมอร์ในระดับนาโนเมตร เทคนิคนี้จะใช้หลักการพื้นฐานทางไฟฟ้าสถิต ซึ่งมีส่วนประกอบหลักเพียง 3 ส่วน คือ เครื่องกำเนิดไฟฟ้าความต่างศักย์สูง หลอดสำหรับบรรจุสารละลายพอลิเมอร์ที่ต่ออยู่กับเข็มโลหะ และแผ่นรองรับเส้นใยที่ทำด้วยโลหะ ซึ่งการสร้างเส้นใยด้วยเทคนิคนี้สามารถกระทำได้ในแนวราบและแนวตั้ง จากตัวอย่างส่วนประกอบของเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิงในรูปที่ 2.3 เมื่อยังไม่มีการให้ศักย์ไฟฟ้าแก่สารละลายพอลิเมอร์จะรวมตัวกันเป็นรูปร่างครึ่งทรงกลมอยู่บริเวณปลายเข็ม เมื่อเริ่มให้ศักย์ไฟฟ้าแก่สารละลายพอลิเมอร์จะเริ่มมีการสะสมประจุไฟฟ้าที่บริเวณผิว ทำให้เกิดสนามไฟฟ้าระหว่างปลายเข็มและแผ่นรองรับเส้นใย ประจุไฟฟ้าภายในสารละลายจะเกิดแรงผลักทางไฟฟ้าสถิต (Electrostatic Repulsion) เมื่อศักย์ไฟฟ้าที่ให้แก่สารละลายเพิ่มมากขึ้นจนมีค่าเท่ากับแรงตึงผิวของสารละลายพอลิเมอร์ ในขณะเดียวกันแรงหนืด (Viscous force) ของสารละลายจะต้านทานการเคลื่อนที่ของสารละลาย และแรงตึงผิว (Surface tension) ของสารละลายก็พยายามยึดบริเวณผิวของสารละลายไว้เช่นกัน จึงส่งผลให้สารละลายพอลิเมอร์ซึ่งมีลักษณะรูปร่างครึ่งทรงกลมบริเวณปลายเข็มเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง โดยยืดออกเป็นลักษณะรูปร่างกรวย ที่เรียกว่า กรวยเทเลอร์

(Taylor's cone) และเมื่อศักย์ไฟฟ้าที่ให้แก่สารละลายจนแรงผลัทางไฟฟ้าสถิตมีค่ามากกว่าแรงตึงผิวของสารละลาย จนสามารถเอาชนะแรงหนืด (Viscous force) และแรงตึงผิว (Surface tension) ของสารละลายได้ สารละลายพอลิเมอร์จะพุ่งออกจากปลายเข็มลงสู่แผ่นรองรับเส้นใยที่ทำด้วยโลหะ ซึ่งขณะนั้นลำของสารละลายพอลิเมอร์ (Solution jet) ที่พุ่งออกมายังคงมีประจุไฟฟ้าสะสมอยู่จึงส่งผลให้เกิดแรงผลัทางไฟฟ้าสถิตภายในลำของสารละลายพอลิเมอร์ เกิดการระบัดตัวของลำสารละลายตามแนวขวาง ทำให้เกิดความไม่เสถียรแบบบิดงอของลำสารละลายพอลิเมอร์ (bending instability) ภายใต้อิทธิพลของสนามไฟฟ้า (Reneker และคณะ, 2010) โดยรอบของการบิดงอที่เพิ่มขึ้นนี้ส่งผลให้ลำของสารละลายพอลิเมอร์เกิดการยืดออกได้เป็นเส้นใยที่มีขนาดเล็กและยาว ในระหว่างนี้ตัวทำละลายจะเกิดการระเหยไป ทำให้เหลือเพียงเส้นใยพอลิเมอร์ที่มีขนาดเล็กตกลงสู่แผ่นรองรับเส้นใย โดยเส้นใยที่ตกลงบนแผ่นรองรับเส้นใยจะมีลักษณะซ้อนทับกันอย่างไม่เป็นระเบียบ เป็นลักษณะเส้นใยแบบไม่ถักทอ (Non-woven) (Rutledge และ Fridrikh, 2007) โดยเส้นใยที่ได้จากเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิงจะมีเส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ในช่วงนาโนเมตรถึงไมโครเมตร ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ที่ใช้ภายในระบบ



รูปที่ 2.3 ส่วนประกอบของเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง

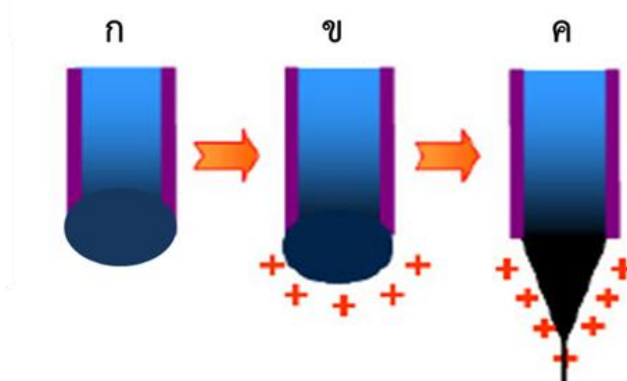
ที่มา : https://www.google.co.th/search?q=electrospinning&es_sm=93&source=lnms

2.6.3 กระบวนการเกิดเส้นใยโดยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง

กระบวนการเกิดเส้นใยโดยใช้เทคนิคอิเล็กโตรสปินนิงสามารถแบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอนสำคัญ (Reneker และคณะ, 2010) ดังต่อไปนี้

2.6.3.1 การเปลี่ยนแปลงรูปร่างของสารละลายพอลิเมอร์ด้วยแรงทางไฟฟ้า

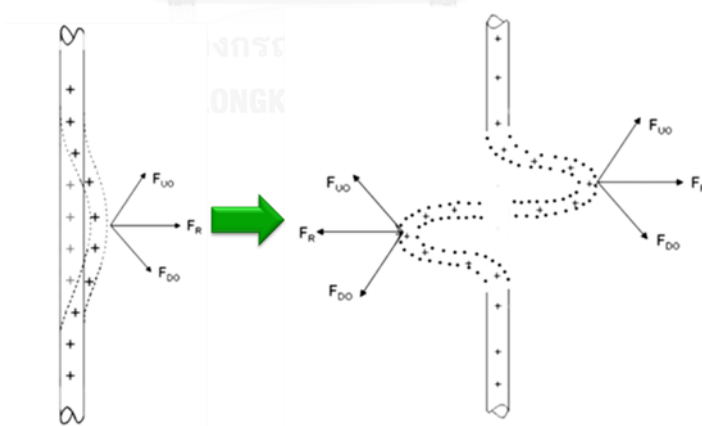
กระบวนการเกิดเส้นใยโดยใช้เทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง ในขั้นตอนแรกจะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของสารละลายพอลิเมอร์ด้วยแรงทางไฟฟ้า โดยเมื่อยังไม่มีการให้ศักย์ไฟฟ้าแก่ระบบสารละลายพอลิเมอร์จะรวมตัวกันอยู่บริเวณปลายเข็มเป็นลักษณะครึ่งทรงกลม ดังแสดงในรูป 2.4 (ก) และเมื่อเริ่มให้ศักย์ไฟฟ้าแก่สารละลายพอลิเมอร์ จะเริ่มเกิดการสะสมของประจุที่บริเวณผิวของสารละลาย ดังแสดงในรูป 2.4 (ข) และเมื่อศักย์ไฟฟ้าที่ให้แก่สารละลายมีค่าเพิ่มมากขึ้นจนเท่ากับแรงตึงผิวของสารละลาย ประจุที่มีการสะสมอยู่ภายในสารละลายพอลิเมอร์จะเกิดการผลักทางไฟฟ้าสถิต (Electrostatic force) ในทิศทางตรงข้ามกับแรงตึงผิวของสารละลายพอลิเมอร์ที่พยายามจะยึดบริเวณผิวของสารละลายไว้ จึงส่งผลให้สารละลายพอลิเมอร์ที่บริเวณปลายเข็มเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเป็นลักษณะของกรวยเทเลอร์ ดังแสดงในรูป 2.4 (ค) และเมื่อศักย์ไฟฟ้าที่ให้แก่สารละลายมีค่ามากกว่าแรงตึงผิวของสารละลาย ประจุที่สะสมอยู่ภายในสารละลายพอลิเมอร์จะมีแรงผลักกันมากขึ้นจนสามารถเอาชนะแรงหนืด (Viscous force) และแรงตึงผิว (Surface tension) ของสารละลายได้ จึงเหนี่ยวนำให้สารละลายพอลิเมอร์พุ่งออกจากปลายเข็ม โดยเกิดการรัดตัวของลำของสารละลาย (Slender thinning jet) ดังแสดงในรูป 2.4 (ค) แล้วพุ่งออกจากปลายเข็มลงสู่แผ่นรองรับเส้นใย (Rutledge และ Fridrikh, 2007)



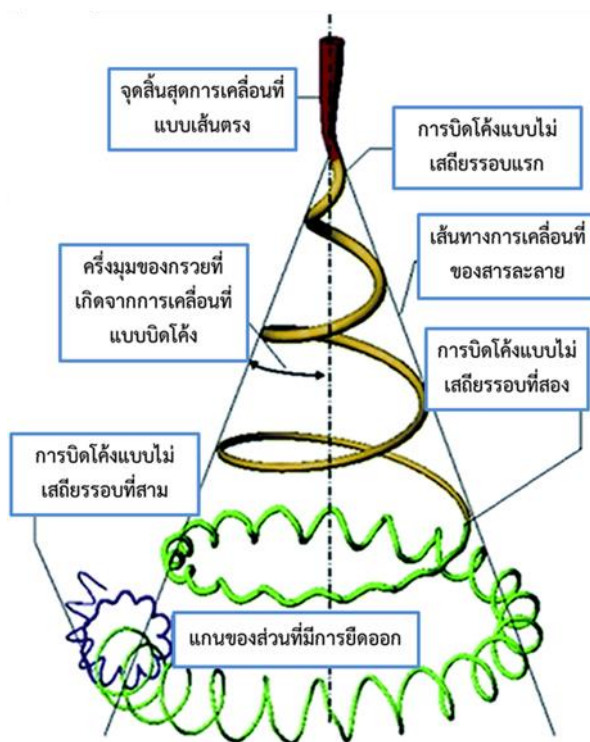
รูปที่ 2.4 การเปลี่ยนรูปร่างของสารละลายพอลิเมอร์ด้วยแรงทางไฟฟ้า (ก) สารละลายที่รวมตัวอยู่บริเวณปลายเข็มเมื่อยังไม่ให้แรงทางไฟฟ้า, (ข) การสะสมของประจุบริเวณผิวของสารละลายพอลิเมอร์ และ (ค) กรวยเทเลอร์ (Taylor's cone) และการพุ่งออกจากปลายเข็มของสารละลาย
ที่มา: <http://www.ubmthai.com/leksoundsmf3/index.php?topic=67099.0>

2.6.3.2 บริเวณที่เกิดความไม่เสถียรแบบเหวี่ยง (Whipping instability region)

ในระหว่างกระบวนการสร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง ความไม่เสถียรแบบเหวี่ยงจะเกิดขึ้นเมื่อมีการให้ศักย์ไฟฟ้าแก่สารละลายพอลิเมอร์มากขึ้นจนมากกว่าแรงตึงผิวของสารละลาย ทำให้แรงผลักรวมของประจุที่สะสมอยู่ภายในสารละลายพอลิเมอร์มีค่ามากกว่าแรงตึงผิวของสารละลาย พอลิเมอร์จึงพุ่งออกมาจากปลายเข็มลงสู่แผ่นรองรับเส้นใย ซึ่งในขณะนั้นลำของสารละลายพอลิเมอร์ที่พุ่งออกมาจากปลายเข็มมีประจุสะสมอยู่จึงเกิดแรงผลักรวม ประกอบกับสนามไฟฟ้าที่เกิดจากความต่างศักย์ไฟฟ้าระหว่างปลายเข็มกับแผ่นรองรับเส้นใย จึงทำให้ลำของสารละลายพอลิเมอร์ที่พุ่งออกมาเกิดความไม่เสถียรแบบบิดงอ (bending instability) โดยเมื่อลำของสารละลายพอลิเมอร์เริ่มเกิดความไม่เสถียรแบบบิดงอในรอบแรก ลำของสารละลายจะเคลื่อนไหวไปตามองค์ประกอบภายนอก กล่าวคือลำของสารละลายจะเคลื่อนไปตามวิถีจากสนามไฟฟ้าระหว่างปลายเข็มและแผ่นรองรับเส้นใย โดยการบิดงอที่เกิดขึ้นจะตั้งฉากกับแกนของลำสารละลาย ดังแสดงในรูปที่ 2.5 และเมื่อระยะเวลาการเคลื่อนที่ของลำสารละลายเพิ่มมากขึ้น ลำสารละลายจะเกิดการบิดงออย่างรวดเร็วและต่อเนื่อง ทำให้เส้นผ่านศูนย์กลางของการบิดงอเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องเช่นกัน นอกจากนี้ยังพบการบิดงอที่ตั้งฉากกับสนามไฟฟ้าซึ่งเกิดจากการผลักรวมของประจุภายในลำของสารละลายด้วย (Reneker และคณะ, 2000) ดังแสดงในรูปที่ 2.6 ความไม่เสถียรแบบบิดงอดังกล่าวส่งผลให้ลำของสารละลายพอลิเมอร์เกิดการยืดออกได้เป็นเส้นใยที่มีขนาดเล็กและยาว ทำให้เส้นใยที่ได้มีเส้นผ่านศูนย์กลางระดับนาโนเมตรในที่สุด



รูปที่ 2.5 การเริ่มต้นความไม่เสถียรแบบบิดงอ (bending instability) (Reneker และ Yarin, 2008)



รูปที่ 2.6 ความไม่เสถียรแบบบิดงอ (bending instability) (Reneker และ Yarin, 2008)

2.6.3.3 การเกิดพอลิเมอร์เป็นเส้นใยขนาดนาโนเมตร (Solidification into nanofibers)

ในกระบวนการสร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง เมื่อสารละลายพอลิเมอร์ได้รับแรงทางไฟฟ้าแล้วพุ่งออกจากปลายเข็ม ลำสารละลายพอลิเมอร์ที่พุ่งออกมาจะเกิดความไม่เสถียรแบบบิดงอ โดยมีการยืดออกได้เป็นเส้นใยที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาดเล็กและยาว ในขณะเดียวกันตัวทำละลายจะเกิดการระเหยไปในระหว่างกระบวนการยืดของสารละลายพอลิเมอร์ ทำให้เหลือเพียงเส้นใยพอลิเมอร์ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาดเล็กตกลงบนแผ่นรองรับเส้นใยในลักษณะซ้อนทับกันหรือตกลงบนแผ่นรองรับเส้นใยในลักษณะอื่นๆ ตามชนิดของแผ่นรองรับเส้นใยที่ใช้ในกระบวนการ จึงได้เส้นใยพอลิเมอร์ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางระดับนาโนเมตรในที่สุด (Reneker และคณะ, 2010)

2.6.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง

เส้นใยที่ได้จากเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิงซึ่งมีการกองรวมกันอย่างไม่เป็นระเบียบบนแผ่นรองรับเส้นใย จะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและลักษณะสัณฐานของเส้นใยที่แตกต่างกัน โดยขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ที่ใช้ในกระบวนการ โดยสามารถแบ่งปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดผลกระทบต่อลักษณะเส้นใยออกเป็น 3 กลุ่ม (Ramakrishna และคณะ, 2005) ดังนี้

2.6.4.1 ปัจจัยในด้านสารละลาย

สมบัติของสารละลายถือเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อลักษณะขนาด และรูปร่างของเส้นใยที่สร้างด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง โดยปัจจัยในด้านของสารละลายประกอบไปด้วย

- น้ำหนักโมเลกุลและความหนืดของสารละลาย

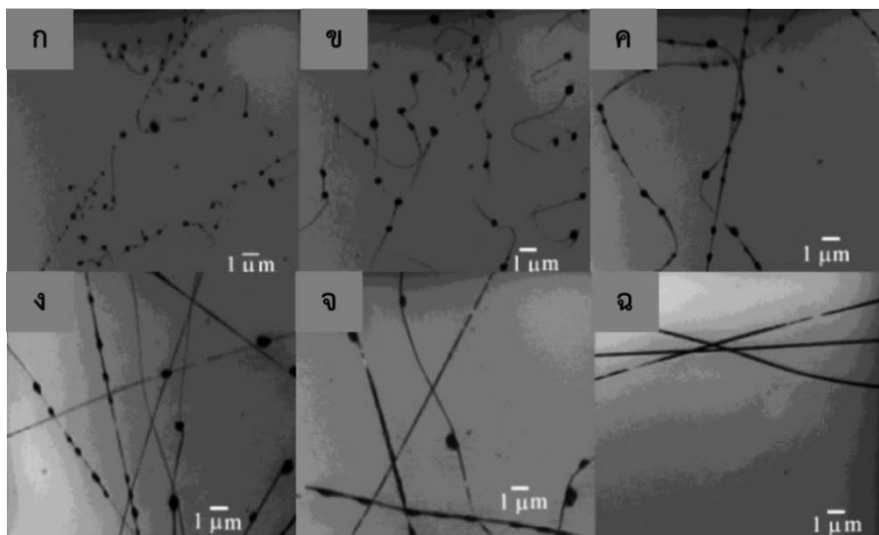
น้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์ขึ้นอยู่กับความยาวของสายโซ่พอลิเมอร์ โดยน้ำหนักโมเลกุลจะส่งผลอย่างมากต่อความหนืดของสารละลาย เนื่องจากพอลิเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง สายโซ่พอลิเมอร์จะยาว ส่งผลทำให้มีส่วนเกี่ยวพัน (Entanglement) ของสายโซ่พอลิเมอร์มาก ทำให้ในสารละลายพอลิเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงเคลื่อนไหวสายโซ่ได้ยาก ส่งผลให้ความหนืดของพอลิเมอร์สูงขึ้น

Suthamnoi และคณะ (2008) ได้ศึกษาการสร้างเส้นใยโคโตนโพลิโกแซคคาไรด์ (COS) และพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) โดยนำ COS ที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันคือ 14,000 37,000 และ 99,000 ดัดต้น มาละลายในน้ำและนำมาสร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง ซึ่งภายหลังการทดลองพบว่าเส้นใย COS/PVA ที่ได้จะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 57-200 นาโนเมตร โดยเมื่อใช้ COS ที่มีมวลโมเลกุล 14,000 และ 37,000 ในการสร้างเส้นใย COS/PVA เส้นใยที่ได้จะมีเส้นผ่านศูนย์กลางลดลง ซึ่งตรงข้ามกับที่สังเกตได้เมื่อใช้ COS ที่มีมวลโมเลกุล 99,000 ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าน้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์ซึ่งมีผลต่อความหนืดของสารละลาย และมีผลต่อการสร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิงด้วย (Suthamnoi และคณะ, 2008)

ความหนืดของสารละลายมีผลอย่างมากต่อการสร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิงเช่นกัน สารละลายพอลิเมอร์ที่มีความเข้มข้นสูง ความหนืดของสารละลายจะสูงขึ้น ส่วนเกี่ยวพันของสายโซ่พอลิเมอร์จะดึงรั้งการพุ่งออกของลำพอลิเมอร์ จึงได้เส้นใยที่มีลักษณะเป็นเส้นใยที่เรียบ (Smooth fibers) ไม่มีลูกปัด (Shenoy และคณะ, 2005) หรือมีลูกปัดลดลง แต่เมื่อความหนืดของสารละลายพอลิเมอร์ต่ำเกินไปอาจทำให้เกิดอิเล็กโตรสเปรย์ โดยจะเกิดเป็นอนุภาคแทนการเกิดเส้นใย สอดคล้องกับการศึกษาของ Suthamnoi และคณะ (2008) ซึ่งศึกษาการสร้างเส้นใยโคโตนโพลิโกแซคคาไรด์ (COS) และพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) ด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิงและพบว่าเส้นใย COS/PVA ที่ได้จากกระบวนการจะไม่มีเม็ดลูกปัดเกิดขึ้นถ้าใช้สารละลายที่มีความเข้มข้น 30% ขึ้นไป

Megelski และคณะ (2002) ได้ศึกษาการสร้างเส้นใยพอลิไทรินด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิงพบว่าเมื่อความหนืดของสารละลายพอลิเมอร์ต่ำ สายโซ่พอลิเมอร์เกิดการเชื่อมโยงกันน้อย จึงเกิดเม็ดลูกปัดแทนการเกิดเส้นใย ดังแสดงในรูป 2.7 จึงกล่าวได้ว่าความหนืดของสารละลายที่

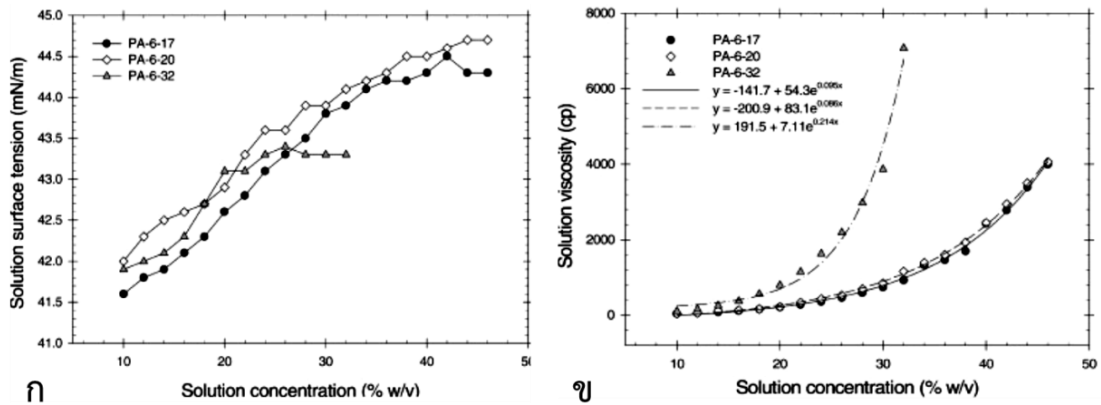
เหมาะสมสำหรับการสร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิงคือความหนืดที่ไม่ทำให้เส้นใยที่ได้จากกระบวนการมีเม็ดลูกปัดนั่นเอง (Fong และคณะ, 1999; Fong และ Reneker, 1999; Megelski และคณะ, 2002)



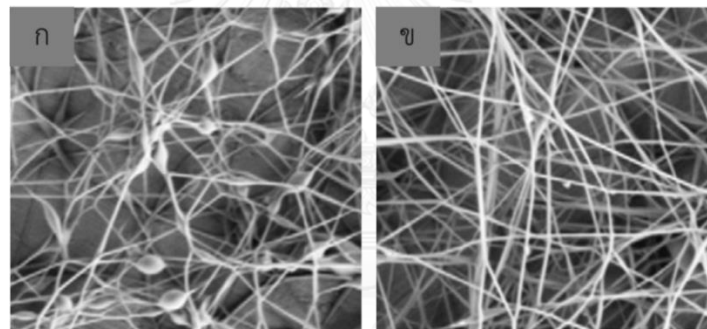
รูปที่ 2.7 ภาพเส้นใยของพอลิสไตรีน (PS) ที่ได้จากกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิง ซึ่งมีความเข้มข้นที่แตกต่างกัน (ก) 18 wt %; (ข) 20 wt %; (ค) 25 wt %; (ง) 28 wt %; (จ) 30 wt % และ (ฉ) 35 wt % (Megelski และคณะ, 2002)

- แรงตึงผิว (Surface tension)

แรงตึงผิวของสารละลายเป็นปัจจัยหนึ่งซึ่งส่งผลต่อลักษณะการเกิดเม็ดลูกปัดบนเส้นใยที่ได้จากเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง (Baumgarten, 1971) Mit-uppatham และคณะ (2004) พบว่าความเข้มข้น ความหนืดและแรงตึงผิวของสารละลายจะมีความสัมพันธ์กัน ดังแสดงในรูป 2.8 กล่าวคือเมื่อสารละลายมีความเข้มข้นสูง พื้นที่ผิวต่อหน่วยของของไหลมีมาก ความหนืดของสารละลายและแรงตึงผิวของสารละลายจะสูง จึงส่งผลให้สารละลายเกิดการรวมตัวกันบริเวณปลายเข็ม มีลักษณะเป็นหยดรูปครึ่งทรงกลมเนื่องจากแรงตึงผิวของสารละลาย การควบคุมแรงตึงผิวของสารละลายสามารถทำได้โดยใช้ตัวทำละลาย เช่น เอทานอล ซึ่งเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่มีแรงตึงผิวต่ำจึงสามารถช่วยให้เส้นใยที่เกิดขึ้นมีลักษณะเรียบ นอกจากนี้ยังสามารถเติมสารลดแรงตึงผิวลงในสารละลาย เพื่อช่วยให้เส้นใยที่ได้มีความสม่ำเสมอ มีลักษณะเรียบ และไม่มีลูกปัดได้ (Graham และคณะ, 2004) ดังแสดงในรูป 2.9



รูปที่ 2.8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายพอลิเอไมด์ต่อ (ก) แรงตึงผิว และ (ข) ความหนืดของสารละลาย ซึ่งส่งผลต่อเส้นใยที่ได้จากกระบวนการอิเล็กโทรสปินนิง (Mit-uppatham และคณะ, 2004)



รูปที่ 2.9 ภาพเส้นใยพอลิเอไมด์ (PA) ที่ได้จากกระบวนการอิเล็กโทรสปินนิง (ก) ก่อน และ (ข) หลังเติมสารลดแรงตึงผิวลงในสารละลาย (Graham และคณะ, 2004)

- ค่าการนำไฟฟ้าของสารละลาย (Solution conductivity)

ค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการสร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง โดยเมื่อสารละลายพอลิเมอร์มีค่าการนำไฟฟ้าสูงขึ้น จะเกิดประจุในสารละลายพอลิเมอร์มาก ส่งผลให้ลำของสารละลายพอลิเมอร์พุ่งออกมาได้ง่าย สารละลายยืดอกได้เส้นใยที่มีเม็ดลูกปัดน้อยลง (Son และคณะ, 2004) นอกจากนี้ตัวทำละลายที่นำมาใช้ในการเตรียมสารละลายพอลิเมอร์ที่มีค่าการนำไฟฟ้าสูงจะช่วยให้เส้นใยที่ได้มีเม็ดลูกปัดน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายที่เตรียมได้จากตัวทำละลายที่มีค่าการนำไฟฟ้าต่ำ

Jarusuwannapoom และคณะ (2005) ได้ศึกษาผลกระทบจากสมบัติของตัวทำละลายที่มีต่ออัตราการผลิตเส้นใยพอลิสไตรีน โดยใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน 18 ชนิด ซึ่งมีความเข้มข้นแตกต่างกันตั้งแต่ 10 ถึง 30% (น้ำหนัก/ปริมาตร) และใช้แรงไฟฟ้าและระยะห่างระหว่างปลายเข็มกับแผ่นรองรับเส้นใยที่แตกต่างกัน ซึ่งภายหลังการทดลองพบว่าสารละลายพอลิสไตรีนมีโอกาสที่จะไม่สามารถสร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิงได้เมื่อใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วไฟฟ้าสูงและความหนืดต่ำ และพบว่าตัวทำละลายที่สามารถสร้างเส้นใยพอลิสไตรีนด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิงได้ดีที่สุดคือ DMF ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วไฟฟ้าสูง ส่งผลให้มีความสามารถในการสร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิงสูงด้วย

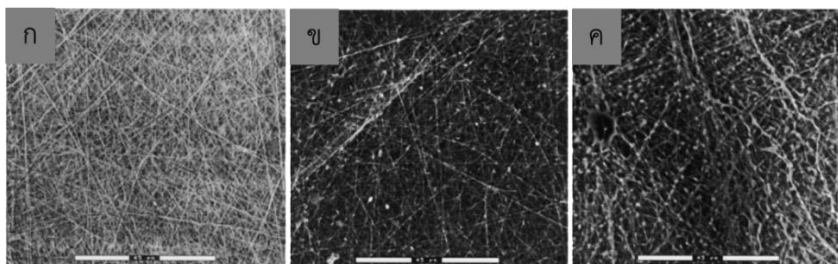
Pattamapron และคณะ (2006) ได้ศึกษาผลกระทบของตัวทำละลายที่มีต่อการสร้างเส้นใยพอลิสไตรีนด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง โดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเส้นใยพอลิสไตรีนที่เตรียมได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) โดยเตรียมสารละลายพอลิสไตรีน (PS) ในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน 18 ชนิด ซึ่งภายหลังการทดลองพบว่าสารละลายพอลิสไตรีนที่ใช้ 1,2-ไดคลอโรอีเทน, DMF, เอทิลอะซิเตต, เมทิลเอทิลคีโตน และ THF เป็นตัวทำละลายสามารถสร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิงได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในขณะที่สารละลายพอลิสไตรีนที่ใช้เบนซีน, โซโคลเฮกเซน, decalin, เอทิลเบนซีน, ไนโตรเบนซีน และ tetralin เป็นตัวทำละลาย ไม่สามารถสร้างเส้นใยพอลิสไตรีนด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิงได้ จากผลการศึกษาประสิทธิภาพของการเส้นใยพอลิสไตรีนทั้งหมดข้างต้น กล่าวได้ว่าการเตรียมสารละลายเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อความสามารถในการสร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง ซึ่งสารละลายจะต้องมีขั้วและมีค่าการนำไฟฟ้าเพียงพอทั้งในตัวทำละลายและสารละลายที่เตรียมได้ (Pattamapron และคณะ, 2006)

2.6.4.2 ปัจจัยในระบบ

- ความต่างศักย์ไฟฟ้า (Voltage)

ความต่างศักย์ไฟฟ้าเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อการสร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง เนื่องจากในการเกิดลำของสารละลายจำเป็นต้องใช้ความต่างศักย์ไฟฟ้าเพื่อให้เกิดกรวยเทเลอร์ที่เสถียร (Taylor, 1987) โดยแรงคูลอมบ์ในลำของสารละลายจะทำให้สารละลายยืดออก ถ้าเพิ่มความต่างศักย์ไฟฟ้าจำนวนประจุก็จะเพิ่มขึ้นด้วย ส่งผลให้ลำของสารละลายมีความเร่งเพิ่มขึ้น ปริมาตรของสารละลายที่ถูกดึงออกจากปลายเข็มจึงมีปริมาตรเพิ่มขึ้นด้วย ซึ่งจะส่งผลให้กรวยเทเลอร์ที่เกิดขึ้นมีความเสถียรน้อยลง

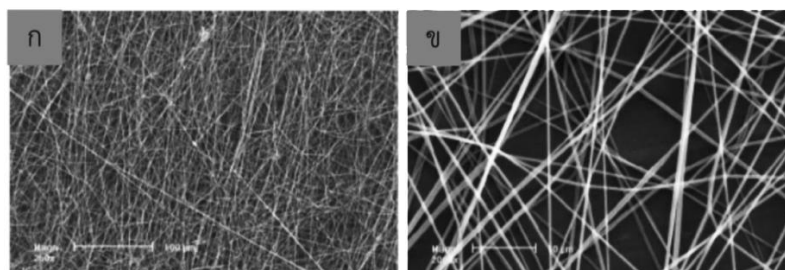
Deitzel และคณะ (2001) พบว่าการให้ความต่างศักย์ไฟฟ้าในปริมาณที่สูงเกินไปแก่ระบบ จะเกิดลักษณะของเม็ดลูกปัดบนเส้นใยที่ได้จากกระบวนการมากขึ้น และเมื่อให้ความต่างศักย์ไฟฟ้า ปริมาณต่ำแก่ระบบ ความเร็วในการเปลี่ยนเป็นลำของสารละลายพอลิเมอร์จะลดลง ส่งผลให้ไม่เกิด เป็นเส้นใยของพอลิเมอร์บนวัสดุรองรับเส้นใย (Deitzel และคณะ, 2001; Megelski และคณะ, 2002; Zong และคณะ, 2002) ดังแสดงในรูป 2.10



รูปที่ 2.10 ภาพเส้นใยพอลิเอทิลีนออกไซด์ (PEO) ที่ได้จากกระบวนการอิเล็กโทรสปินนิง ซึ่งมีค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าแตกต่างกัน: (ก) 5.5 kV, (ข) 7 kV และ (ค) 9 kV (Deitzel และคณะ, 2002)

- อัตราการไหลของสารละลาย (Feed rate)

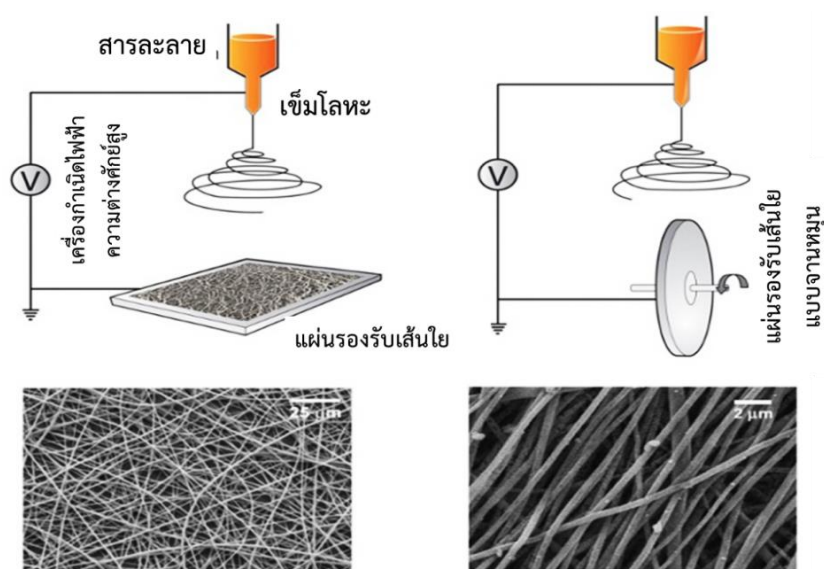
อัตราการไหลของสารละลายเป็นตัวกำหนดปริมาณสารละลายที่ใช้ในกระบวนการอิเล็กโทรสปินนิง และมีผลต่อลักษณะเส้นใยที่ได้จากกระบวนการด้วย ซึ่งอัตราการไหลของสารละลายที่ใช้จะต้องสอดคล้องกับความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ให้แก่ระบบ เพื่อให้เกิดกรวยเทเลอร์ที่มีความเสถียร โดยพบว่าเมื่อมีการเพิ่มอัตราการไหลของสารละลาย เส้นใยที่ได้จะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและเม็ดลูกปัดเพิ่มขึ้นด้วย (Rutledge และคณะ, 2000) และเมื่อใช้อัตราการไหลของสารละลายต่ำเกินไป จะทำให้ตัวทำละลายมีเวลามากพอในการระเหย ความหนืดของสารละลายจะเพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้การสร้างเส้นใยเกิดได้ยากขึ้นด้วย (Yuan และคณะ, 2004) ดังแสดงในรูป 2.11



รูปที่ 2.11 ภาพเส้นใยโพลิสตีเรน เอ พอลิซัลโฟน (PSF) ที่ได้จากกระบวนการอิเล็กโทรสปินนิง โดยมีอัตราการไหลของสารละลายที่แตกต่างกัน (ก) 0.40 ml/h และ (ข) 0.66 ml/h (Yuan และคณะ, 2004)

- ชนิดของวัสดุรองรับเส้นใย (Type of collector)

วัสดุรองรับเส้นใยที่ใช้ในกระบวนการอิเล็กโทรสปินนิง มีผลทำให้ได้ลักษณะเส้นใยที่แตกต่างกันไป โดยวัสดุรองรับเส้นใยที่ใช้อาจมีลักษณะเป็นแผ่นตาข่าย (Screen) หรือรูปทรงกระบอก (Drum) ซึ่งส่วนมากจะทำจากวัสดุที่ไม่นำไฟฟ้า และใช้แผ่นอลูมิเนียมติดลงบนวัสดุรองรับเส้นใยเพื่อให้วัสดุรองรับเส้นใยสามารถนำไฟฟ้าได้ ดังแสดงในรูป 2.12 นอกจากนี้ยังพบว่าวัสดุรองรับเส้นใยแบบหมุนจะทำให้ได้เส้นใยที่มีการจัดเรียงตัวบนวัสดุรองรับเส้นใยแตกต่างจากการใช้วัสดุรองรับเส้นใยแบบแผ่น ซึ่งเส้นใยจะมีการจัดเรียงตัวแบบสุ่ม (Liu และ Hiseh, 2002; Kessicka และคณะ, 2004)

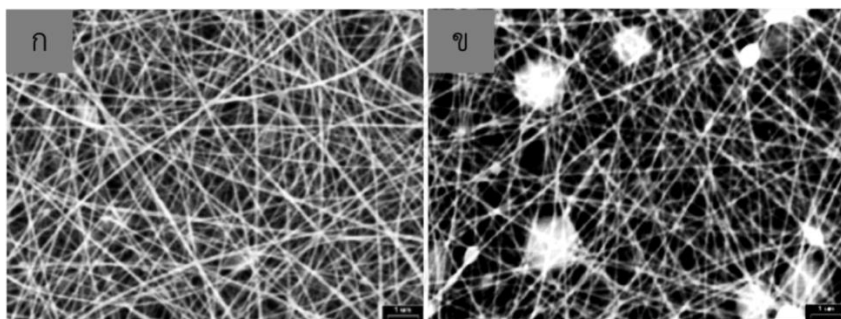


รูปที่ 2.12 วัสดุรองรับเส้นใยรูปแบบต่างๆ ซึ่งส่งผลให้เส้นใยที่ได้จากกระบวนการมีลักษณะแตกต่างกัน
ที่มา: <http://www.intechopen.com/source/html/10026/media/image3.jpeg>

- ระยะห่างระหว่างปลายเข็มกับวัสดุรองรับเส้นใย (Tip to collector distance)

ระยะห่างระหว่างปลายเข็มกับวัสดุรองรับเส้นใยมีผลต่อลักษณะเส้นใยที่ได้จากเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิงเช่นกัน โดยเมื่อระยะห่างระหว่างปลายเข็มกับวัสดุรองรับเส้นใยลดลง สารละลายพอลิเมอร์จะใช้เวลาในการเคลื่อนที่จากปลายเข็มไปยังวัสดุรองรับเส้นใยน้อยลง ซึ่งระยะห่างที่ลดลงนี้จะทำให้ตัวทำละลายมีเวลาในการระเหยลดลงด้วย สารละลายจึงตกลงบนวัสดุรองรับเส้นใยก่อนแห้งตัว และอาจพบลักษณะของเม็ดลูกปัดเกิดบนเส้นใยได้ง่ายขึ้น แต่เมื่อมีการเพิ่มระยะห่างระหว่างปลายเข็มกับวัสดุรองรับเส้นใย จะทำให้เกิดการระเหยของตัวทำละลายได้อย่างสมบูรณ์ จึงทำให้ได้เส้นใยที่มีแนวโน้มการเกิดเม็ดลูกปัดลดลง

Ki และคณะ (2005) ได้ศึกษาการเตรียมเส้นใยพอลิเอทิลีนออกไซด์ และเจลาติน จากเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิงพบว่าเมื่อระยะห่างระหว่างปลายเข็มกับวัสดุรองรับเส้นใยเพิ่มขึ้น จะทำให้เส้นใยที่ได้มีเส้นผ่านศูนย์กลางลดลง ดังแสดงในรูป 2.13 และพบว่าเมื่อระยะห่างระหว่างปลายเข็มกับวัสดุรองรับน้อยเกินไป จะทำให้เส้นใยที่ได้มีเม็ดลูกปัดเกิดมากขึ้นด้วย นอกจากนี้ Homyonia และคณะ (2009) ยังได้ศึกษาการสร้างเส้นใยไคโตซานด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง โดยพบว่าเมื่อระยะห่างระหว่างปลายเข็มกับวัสดุรองรับเส้นใยเพิ่มขึ้นจะทำให้เส้นใยที่ได้มีเส้นผ่านศูนย์กลางลดลง เนื่องจากมีระยะเวลาการยืดยาวของการยืดของสารละลาย และมีระยะเวลาให้เกิดการระเหยของตัวทำละลายได้อย่างสมบูรณ์ในกระบวนการ



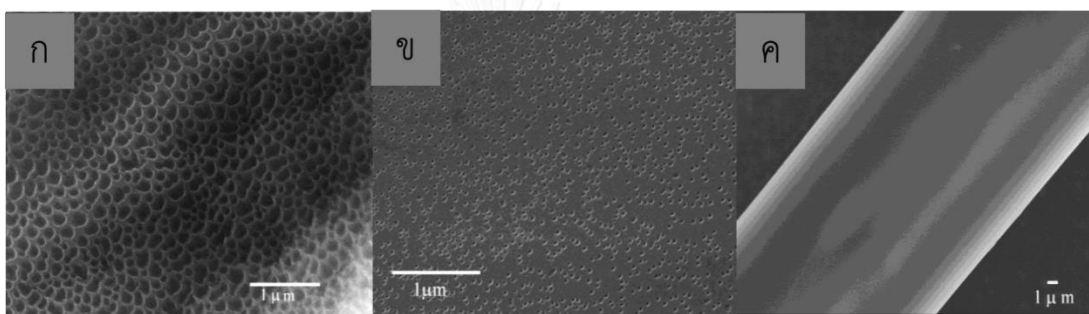
รูปที่ 2.13 ภาพเส้นใยเจลาตินจากกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิง โดยมีระยะห่างระหว่างปลายเข็มกับวัสดุรองรับเส้นใยที่แตกต่างกัน (ก) 7.5 เซนติเมตร และ (ข) 20 เซนติเมตร (Ki และคณะ, 2005)

- ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเข็มโลหะ

ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเข็มโลหะมีผลต่อการสร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง โดยเมื่อใช้เข็มที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาดเล็กลง จะส่งผลให้เส้นใยที่ได้จากกระบวนการมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลดลงด้วยเมื่อเทียบกับการใช้เข็มโลหะที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาดใหญ่กว่า เนื่องจากขนาดหยดของสารละลายที่ปลายเข็มมีขนาดเล็กลง แรงตึงผิวของสารละลายเพิ่มขึ้น ที่ความต่างศักย์ไฟฟ้าเดียวกันเมื่อแรงคูลอมบ์มีมากพอ จะส่งผลให้ความเร่งของลำพอลิเมอร์ลดลง ดังนั้นสารละลายพอลิเมอร์จึงมีเวลามากขึ้นในการยืดเป็นเส้นใยก่อนที่จะตกลงบนแผ่นรองรับเส้นใย อย่างไรก็ตามเมื่อใช้เข็มโลหะที่มีขนาดเล็กในกระบวนการ อาจเกิดปัญหาการอุดตันของสารละลายพอลิเมอร์บริเวณปลายเข็มโลหะได้ง่าย (Chen และคณะ, 2008)

2.6.4.3 ปัจจัยในด้านสภาพแวดล้อม

สภาพแวดล้อมเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลการสร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง เนื่องจากสภาพแวดล้อมมีผลต่อสารละลายที่ใช้ในกระบวนการ ทำให้เส้นใยที่ได้จากกระบวนการเปลี่ยนแปลงไป สภาพแวดล้อมที่พบว่ามีผลต่อการสร้างเส้นใย เช่น ความชื้น ซึ่งในการสร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิงนั้นถ้ามีความชื้นในระบบสูง จะส่งผลให้เส้นใยที่ได้จากกระบวนการมีรูพรุนบนเส้นใยมากขึ้น (Reneker และคณะ, 2010) ดังแสดงในรูป 2.14 นอกจากนี้ยังมีปัจจัยในด้านสภาพแวดล้อมอื่นๆ เช่น ความดัน อุณหภูมิ ความเร็วลม ชนิดและความเข้มข้นของประจุอิสระในบรรยากาศโดยรอบ สนามไฟฟ้าหรือสนามแม่เหล็กภายนอก เป็นต้น (Casper และคณะ, 2004) ซึ่งปัจจัยต่างๆเหล่านี้ สามารถส่งผลต่อลักษณะเส้นใยที่ได้จากกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิงได้เช่นกัน



รูปที่ 2.14 ภาพจากกล้อง AFM เส้นใยพอลิสไตรีน (PS) ที่สร้างได้จากเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิงซึ่งมีปริมาณความชื้นแตกต่างกัน: (ก) 50% (ข) 30% และ (ค) 20% (Megelski และคณะ, 2002)

จากปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิงที่กล่าวมาทั้งหมด จะเห็นได้ว่าการสร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิงจำเป็นต้องคำนึงถึงปัจจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้อง เพื่อให้ได้เส้นใยที่เหมาะสมสำหรับการนำไปประยุกต์ใช้ต่อไป ดังนั้นการใช้ระบบที่สามารถควบคุมปัจจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องเหล่านี้ได้อย่างสะดวกและแม่นยำ จะช่วยให้การสร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิงมีประสิทธิภาพสูงมากยิ่งขึ้น

2.6.5 การเตรียมสารละลายเพื่อใช้สร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง

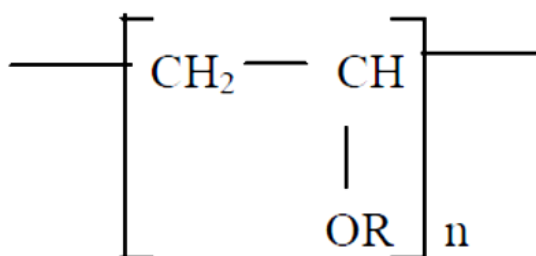
การเตรียมสารละลายเซทิลไพรดิเนียมคลอไรด์เพื่อสร้างเส้นใยบนแผ่นฟิล์มด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง จำเป็นต้องมีพอลิเมอร์เพื่อช่วยในการสร้างเส้นใย เนื่องจากการศึกษาเบื้องต้นพบว่าสารละลายเซทิลไพรดิเนียมคลอไรด์เพียงอย่างเดียวไม่สามารถสร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิงได้ เป็นไปได้ว่าการใช้สารละลายเซทิลไพรดิเนียมคลอไรด์เพียงอย่างเดียว สารละลายไม่มี

ความหนืดเพียงพอสำหรับการสร้างเส้นใย นอกจากนี้ยังอาจเป็นไปได้ว่าเซทิลไพรดิเนียมคลอไรด์ซึ่งเป็นสารที่มีประจุสามารถก่อให้เกิดแรงผลักทางไฟฟ้า จึงส่งผลให้ไม่สามารถสร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิงได้ สอดคล้องกับการศึกษาโดย Suthamnoi และคณะ (2008) ซึ่งได้พยายามสร้างเส้นใยโคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (COS) ซึ่งเป็นสารที่มีประจุด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง ซึ่งภายหลังการทดลองพบว่าประจุภายในโครงสร้างของ COS สามารถส่งผลกระทบต่อลักษณะการกระจายตัวของเส้นใยได้ โดยพบการเกิดหยดของสารละลายแทนการเกิดเส้นใย นอกจากนี้เซทิลไพรดิเนียมคลอไรด์ยังเป็นสารที่มีสายโมเลกุลสั้น ดังนั้นจึงจำเป็นต้องผสมสารละลายพอลิเมอร์ซึ่งเป็นสารที่มีสายโมเลกุลยาวมีการเกี่ยวพันของสายโซ่โมเลกุล และมีสมบัติที่ดีในการสร้างเส้นใยเพื่อให้เซทิลไพรดิเนียมคลอไรด์สามารถยึดเกาะได้และช่วยในการกระจายประจุ โดยพอลิเมอร์ที่นิยมใช้ในการสร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง ได้แก่ พอลิยูเรเทน (PU) พอลิเอทิลีนออกไซด์ (PEO) พอลิเอทิลีน (PE) พอลิโพรพิลีน (PP) พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) และคอลลาเจน เป็นต้น ซึ่งในการทดลองนี้สนใจเลือกใช้พอลิไวนิลแอลกอฮอล์เป็นพอลิเมอร์เพื่อช่วยในการสร้างเส้นใยเซทิลไพรดิเนียมคลอไรด์ลงบนแผ่นฟิล์ม เนื่องจากมีงานวิจัยจำนวนมากชี้ให้เห็นว่าพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เป็นพอลิเมอร์ที่มีสมบัติที่เหมาะสม โดย Safi และคณะ (2007) ได้ใช้พอลิไวนิลแอลกอฮอล์เป็นพอลิเมอร์เพื่อช่วยในการสร้างเส้นใยโซเดียมแอลจีเนต (Sodium alginate) ซึ่งมีสมบัติเป็นสารพอลิอิเล็กโทรไลต์ที่สามารถแตกตัวเป็นประจุลบ ทำให้ยากต่อการสร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง โดยพบว่าเมื่อผสมพอลิไวนิลแอลกอฮอล์กับโซเดียมแอลจีเนตสารละลายที่ได้จะมีประจุลดลง และเมื่อนำไปสร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิงพอลิไวนิลแอลกอฮอล์จะช่วยทำให้เกิดรูปร่างและเส้นใยที่ดีขึ้น ด้วยเหตุนี้งานวิจัยจำนวนมากจึงมีการใช้พอลิไวนิลแอลกอฮอล์เป็นพอลิเมอร์เพื่อใช้ในการสร้างเส้นใยในระดับนาโนเมตรด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง โดยใช้ร่วมกับสารออกฤทธิ์ชีวภาพอื่นๆ เพื่อประยุกต์ใช้งานในด้านต่างๆ อย่างกว้างขวาง เช่น ด้านการแพทย์ เกษษกรรม อุตสาหกรรมสิ่งทอ เป็นต้น

2.7 พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (Polyvinyl alcohol : PVA)

พอลิไวนิลแอลกอฮอล์เป็นพอลิเมอร์สังเคราะห์ (Synthetic polymer) แบบโซ่ตรงไร้ประจุ โครงสร้างโมเลกุลของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ประกอบไปด้วยหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) ซึ่งชอบน้ำอยู่ในสายโซ่โมเลกุล ดังแสดงในรูป 2.15 ด้วยเหตุนี้จึงทำให้พอลิไวนิลแอลกอฮอล์สามารถละลายน้ำได้ และมีความสามารถในการต้านทานตัวทำละลายที่เป็นสารอินทรีย์ทั่วไปได้เป็นอย่างดี พอลิไวนิลแอลกอฮอล์จัดเป็นเทอร์โมพลาสติกแบบพอลิเมอร์มีขั้วกึ่งผลึก (Semi-crystalline) มีสูตรโมเลกุล $(C_2H_4O)_x$ โดยส่วนที่มีขั้วจะทำปฏิกิริยาได้ดีและทนความร้อน มีจุดหลอมเหลว $230^{\circ}C$

และจุดเดือด 228^oซ พอลิไวนิลแอลกอฮอล์สามารถเกิดปฏิกิริยาทางชีวภาพได้ดีและไม่มีพิษ ไม่เป็นสารก่อมะเร็ง สามารถย่อยสลายได้โดยวิธีทางชีวภาพ และติดไฟได้คล้ายกระดาษ นอกจากนี้พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ยังทนต่อน้ำมัน ไขมัน และตัวทำละลายต่างๆ โดยมีค่าความเค้นแรงดึงและค่าความอ่อนตัวสูง (Zhang และคณะ, 2005)

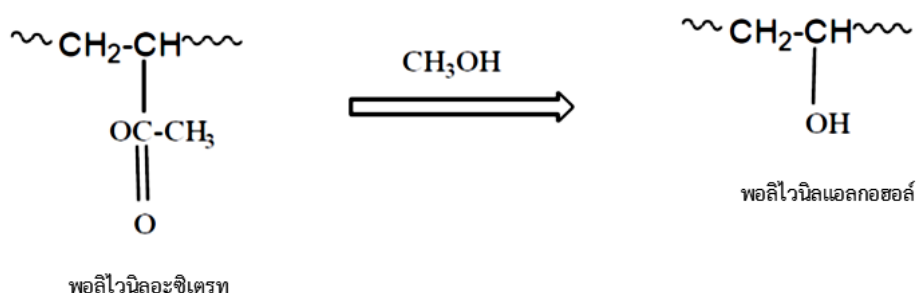


โดย R = H หรือ COCH₃

รูปที่ 2.15 โครงสร้างของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA)

ที่มา: ftp://ftp.fao.org/es/esn/jecfa/cta/CTA_61_PVA

โดยทั่วไปพอลิไวนิลแอลกอฮอล์สังเคราะห์ได้จากปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชัน (polymerization) ของไวนิลอะซิเตต (vinyl acetate) ซึ่งเกิดเป็นพอลิไวนิลอะซิเตต (polyvinyl acetate) แล้วตามด้วยปฏิกิริยาไฮโดรลิซิส (hydrolysis) ดังแสดงในรูป 2.16 นอกจากนี้พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ยังสามารถเตรียมได้จากปฏิกิริยาแอลกอฮอล์ิซิสของพอลิไวนิลอะซิเตต เมื่อมีกรดแก่หรือเบสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (Zhang และคณะ, 2005)



รูปที่ 2.16 ปฏิกิริยาการตัดแปรรูปโครงสร้างเคมีของพอลิไวนิลอะซิเตตไปสู่ผลิตภัณฑ์พอลิไวนิลแอลกอฮอล์

ที่มา: <http://www.seem.kmutt.ac.th/research/pentec/download/Chapter%2012>

พอลิไวนิลแอลกอฮอล์เป็นพอลิเมอร์ที่สามารถนำมาพัฒนาและประยุกต์ใช้งานได้ในหลายๆ ด้าน เนื่องจากมีสมบัติที่เหมาะสม โดยเฉพาะการนำมาสร้างเส้นใยด้วยกระบวนการต่างๆ เช่น การใช้พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ในการสร้างโครงข่าย PVA โดยใช้กระบวนการ Freezing-thawing เพื่อควบคุมการปลดปล่อยยา (Hassan และ Peppas, 2000) โปรัตน์ (Ficek และ Peppas, 1993) ฮอร์โมน (Cascone และคณะ, 1995) นอกจากนี้ยังมีการนำพอลิไวนิลแอลกอฮอล์มาใช้ในการสร้างโครงข่าย PVA เพื่อควบคุมการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ (Takamura และคณะ, 1992)

พอลิไวนิลแอลกอฮอล์เมื่อนำมาขึ้นรูปเป็นฟิล์มจะมีลักษณะใส เป็นมันเงา เหนียว และไม่จับฝุ่น นอกจากนี้พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ทนต่อแรงดึง ทนต่อการฉีก การกระแทก มีความยืดหยุ่นและสามารถต้านทานการซึมผ่านของแก๊สออกซิเจนได้เป็นอย่างดี (Franco และคณะ, 2012) ดังนั้นจึงเหมาะสมในการนำมาทำบรรจุภัณฑ์สำหรับผลิตภัณฑ์อาหาร และบรรจุภัณฑ์ที่ต้องการสมบัติด้านการละลายน้ำ เนื่องจากพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เป็นพอลิเมอร์ที่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ และมีความเป็นพิษต่ำ (Mayer และคณะ, 1994) นอกจากนี้พอลิไวนิลแอลกอฮอล์สามารถทำการขึ้นรูปได้ง่าย จึงเหมาะสมกับการนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ โดยผลิตภัณฑ์พลาสติกในรูปแบบแผ่นฟิล์มของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์นอกจากสามารถนำไปใช้เป็นบรรจุภัณฑ์หีบห่อทั่วไปแล้ว ยังสามารถนำไปใช้ทางด้านอื่นๆ อีกมากมาย เช่น ด้านการแพทย์ ด้านเภสัชกรรม และด้านการเกษตร เป็นต้น

จากสมบัติของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ตามที่ได้กล่าวมาข้างต้น ในงานวิจัยนี้จึงเลือกพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เพื่อเป็นพอลิเมอร์เพื่อช่วยในการสร้างใยให้เซทิลไพรดิเนียมคลอไรด์ยึดเกาะ เนื่องจากพอลิไวนิลแอลกอฮอล์สามารถใช้น้ำเป็นตัวทำละลายได้ ซึ่งสามารถหาได้ง่ายและมีความปลอดภัยในการนำไปประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์อาหาร (Shao และคณะ, 2003) นอกจากนี้พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ยังได้รับการรับรองจากสำนักงานความปลอดภัยแห่งสหภาพยุโรป (EFSA) ว่าเป็นสารที่ปลอดภัย และสามารถใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารได้ (Tripathi และคณะ, 2009) และจากงานวิจัยที่ผ่านมายังพบว่าพอลิไวนิลแอลกอฮอล์มีสมบัติที่ดีในการสร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิงอีกด้วย (Shao และคณะ, 2003)

จากข้อมูลทั้งหมดที่กล่าวมาข้างต้นจะเห็นได้ว่าเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิงเป็นกระบวนการการสร้างเส้นใยที่มีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ยังเป็นระบบที่มีหลักการที่ไม่ซับซ้อน ใช้งานได้สะดวก สามารถเตรียมเส้นใยได้เร็ว และสามารถสร้างเส้นใยได้โดยใช้ปริมาณสารน้อย เทคนิคนี้จึงเป็นเทคนิคที่น่าสนใจในการนำมาประยุกต์ใช้เพื่อเคลือบเซทิลไพรดิเนียมคลอไรด์ลงบนแผ่นฟิล์ม นอกจากนี้ยังเป็นเทคนิคที่จะสามารถนำไปประยุกต์ใช้จริงทางอุตสาหกรรมในอนาคตได้อีกด้วย

โดยงานวิจัยนี้จะเลือกใช้วิธีการสร้างเส้นใยเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์ลงบนแผ่นฟิล์มพอลิไวนิลิดีนคลอไรด์ (PVDC) ซึ่งเป็นฟิล์มที่นิยมใช้ในการบรรจุผลิตภัณฑ์อาหาร เครื่องดื่ม ผลิตภัณฑ์ยา และเครื่องสำอางที่ไวต่อออกซิเจน เนื่องจากมีความสามารถในการป้องกันการซึมผ่านของแก๊ส ไอน้ำ และกลิ่นได้เป็นอย่างดี แม้จะอยู่ในสภาพที่มีความชื้นสูง (Gait และ Hancock, 1970)

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้คือ การประยุกต์ใช้เซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์รูปแบบใหม่ โดยเคลือบเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์ลงบนแผ่นฟิล์มด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง เพื่อเป็นการหลีกเลี่ยงการเติมสารลงในโครงสร้างฟิล์มโดยตรง โดยพบว่าฟิล์ม PVDC มีจุดหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 104-210 °C ในขณะที่เซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์สามารถเชื่อมสภาพได้ที่อุณหภูมิ 234 °C ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์จะเชื่อมสภาพขณะทำการขึ้นรูปฟิล์มด้วยวิธีการเติมสารลงในโครงสร้างฟิล์มโดยตรง นอกจากนี้วิธีการเคลือบเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์ลงบนแผ่นฟิล์มด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิงยังเป็นการเพิ่มความสามารถให้สารสามารถตั้งอยู่บนผิวของแผ่นฟิล์มได้ดี หลีกเลี่ยงการเติมสารลงในผลิตภัณฑ์อาหารโดยตรง ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อลักษณะทางกายภาพและลักษณะสัมผัสของผลิตภัณฑ์ และเป็นการช่วยลดขั้นตอนการฉีดพ่นในขั้นตอนสุดท้ายของกระบวนการผลิตก่อนการบรรจุผลิตภัณฑ์ได้ โดยจะทดสอบประสิทธิภาพของฟิล์มเคลือบเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์ในการยับยั้ง *Listeria monocytogenes* DMST17303 และ *Escherichia coli* ATCC25922 ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มักพบปนเปื้อนในอาหารพร้อมบริโภค (ready to eat foods) และยังพบปนเปื้อนไปกับภาชนะบรรจุ หรืออุปกรณ์ในกระบวนการผลิตได้ (Singh และคณะ, 2005) และศึกษาความสามารถของฟิล์มในการควบคุมการปลดปล่อยเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์ออกมาในอัตราที่เหมาะสมระหว่างการเก็บรักษา นอกจากนี้ยังมีการศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์บนผลิตภัณฑ์เนื้อหมูแช่เย็น เพื่อทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเมื่อมีการนำไปใช้งานจริง และศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งของฟิล์มเคลือบดังกล่าวเมื่อมีการเก็บรักษาฟิล์มไว้ในอุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 3 เดือนหลังจากผ่านกระบวนการเตรียมฟิล์ม เพื่อเป็นแนวทางในการนำฟิล์มเคลือบเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์ไปประยุกต์ใช้งานจริงต่อไปในอนาคต

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1. เครื่องนึ่งอบฆ่าเชื้อ รุ่น MLS3020 ของบริษัท Sanyo, ญี่ปุ่น
2. ตู้อบฆ่าเชื้อ รุ่น D06063 ของบริษัท Memmert, เยอรมัน
3. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิพร้อมเครื่องเขย่า รุ่น PL-08 ของบริษัท Memmert, เยอรมัน
4. เครื่องชั่ง รุ่น PG2002-S และ AG285 ของบริษัท Mettler Toledo, สวิสเซอร์แลนด์
5. เครื่องปั่นผสม รุ่น G-560E ของบริษัท Scientific Industries, สหรัฐอเมริกา
6. เครื่อง Stomacher 400 circulator รุ่น 43007 ของบริษัท IKA werke, สหรัฐอเมริกา
7. เครื่องกวนสารให้ความร้อน (hotplate stirrer) รุ่น PMC 502P-2 ของบริษัท Scientific Industries, สหรัฐอเมริกา
8. เครื่องแยกสารโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง (HPLC) รุ่น Waters 1283 ของบริษัท Waters, เยอรมัน
9. เครื่องวัดความเป็นกรด-เบส (pH meter) รุ่น Cyberscan 1000 ของบริษัท Eutech Cybematics, สหรัฐอเมริกา
10. เครื่องจ่ายศักย์ไฟฟ้า (High voltage power supply) รุ่น MJ30PO400 Glassman, ญี่ปุ่น
11. เครื่องเขย่าสาร (vortex) รุ่น G-560E ของบริษัท Scientific Industries, สหรัฐอเมริกา
12. ตู้บ่มเชื้อ รุ่น D06061 ของบริษัท Memmert, เยอรมัน
13. ตู้เขี่ยเชื้อ รุ่น Clean model. V4 ของบริษัท LAB Service, ไทย
14. ไมโครปิเปตต์ รุ่น P20, P200 และ P1000 ของบริษัท Gilson, ฝรั่งเศส
15. ชุดกรองสำเสร็จรูปชนิดเซลลูโลสอะซิเตต ขนาดความกว้างรู 0.45 ไมโครเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 25 มิลลิเมตร รุ่น DISMIC-25SC ของบริษัท Tokyo Roshi Kaisha, ญี่ปุ่น
16. จานเพาะเชื้อพลาสติกปราศจากเชื้อ (Sterile petridish) Greiner bio-one, ออสเตรีย
17. กระจกฉีดยาพลาสติก ขนาด 5 มิลลิลิตร ของบริษัท Nissho Nipro, ญี่ปุ่น
18. หัวเข็มฉีดยาสแตนเลส เบอร์ 18 ของบริษัท Nissho Nipro, ญี่ปุ่น
19. แผ่นอนุเมียมเนียมฟอยล์ ของบริษัท เอ็มเอ็มพี คอร์ปอเรชัน (MMP), ไทย
20. ฟิล์มห่อหุ้มอาหารชนิดพอลิไวนิลิดีนคลอไรด์ (PVDC) ชื่อทางการค้า “SARAN” ของบริษัท Asahi Kasei, ญี่ปุ่น

3.2 เคมีภัณฑ์

1. กรดไพรฟลูออโรอะซิติก ของบริษัท Fluka, สวิสเซอร์แลนด์
2. เซทิลไพรดิเนียมคลอไรด์ ของบริษัท Sigma-Aldrich, สหรัฐอเมริกา
3. โซเดียมคลอไรด์ ของบริษัท Merck, เยอรมัน
4. ไดโปแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4) ของบริษัท J.T. Baker, สหรัฐอเมริกา
5. ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตโตเดคะไฮเดรต ($Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$) ของบริษัท Carlo ERBA, อิตาลี
6. พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (Mw = 13,000-23,000) ของบริษัท Sigma-Aldrich, สหรัฐอเมริกา
7. อะซีโทไนไตรล์ ของบริษัท BDH Chemical, สหราชอาณาจักร

หมายเหตุ สารเคมีที่ใช้ในการทดลองทุกชนิดเป็นชนิดเพื่อการวิเคราะห์ (Analytical grade)

3.3 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ

Listeria monocytogenes DMST 17303

Escherichia coli ATCC 25922

3.4 วิธีดำเนินงานวิจัย

3.4.1 หากภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมสารละลายเซทิลไพรดิเนียมคลอไรด์ (CPC) เพื่อใช้เคลือบฟิล์ม

3.4.1.1 การเตรียมสารละลายผสมระหว่างเซทิลไพรดิเนียมคลอไรด์ (CPC) และพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) เพื่อเคลือบฟิล์มด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง

เตรียมสารละลายผสมระหว่าง CPC และ PVA โดยละลาย PVA ในน้ำกลั่นปลอดประจุ ให้มีความเข้มข้นร้อยละ 10, 15, 20 และ 25 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (% w/v) ตามลำดับ จากนั้นชั่ง CPC (Sigma, UK) ให้มีความเข้มข้น 1.0% โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักของ PVA (% w/w) แล้วผสมลงในสารละลายพอลิเมอร์ PVA ซึ่งมีความเข้มข้นต่างๆ ตามที่ได้เตรียมไว้ ตามลำดับ (ตารางที่ 3.1) สังเกตความสามารถในการละลายของสารและศึกษาความหนืดของสารละลายผสม CPC และ PVA ที่เตรียมได้ด้วยตาเปล่า

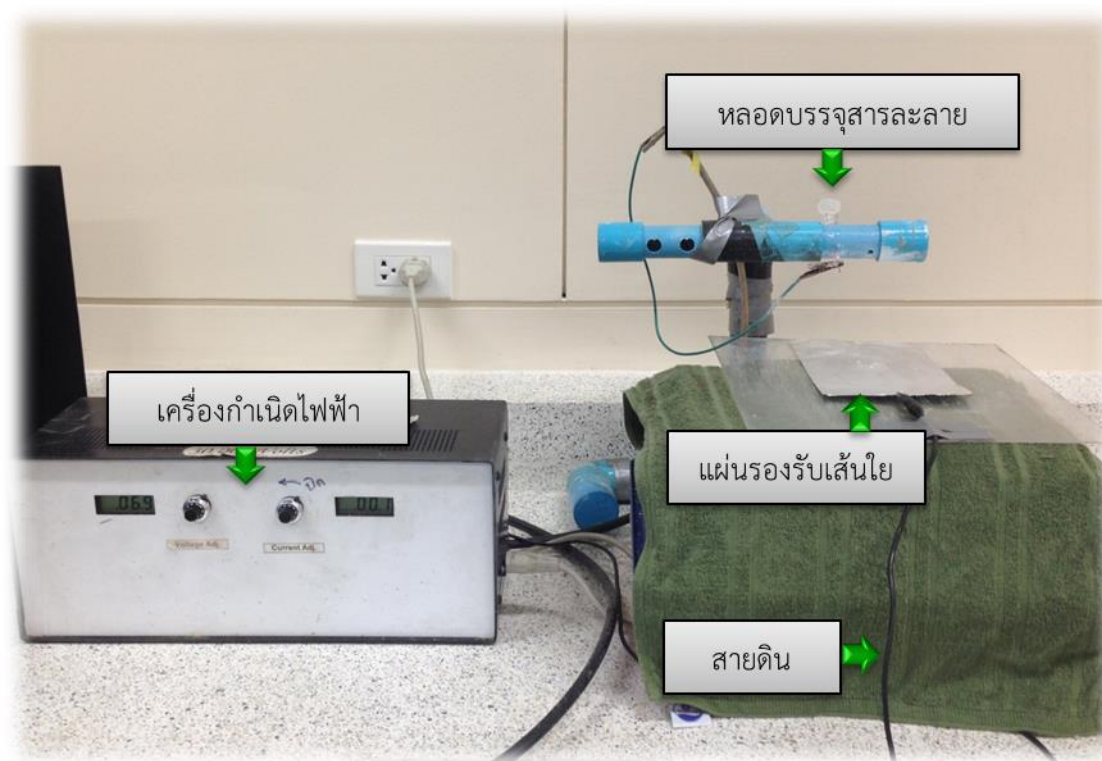
ตารางที่ 3.1 อัตราส่วนสารละลายผสมระหว่าง CPC และ PVA โดยให้ความเข้มข้นของ CPC คงที่

อัตราส่วน PVA (%w/v) : CPC (%w/w)	น้ำกลั่นปลอดประจุ (มิลลิลิตร)	PVA (กรัม)	CPC (มิลลิกรัม)
10 : 1	5	0.50	5
15 : 1	5	0.75	7.5
20 : 1	5	1.00	10
25 : 1	5	1.25	12.5

3.4.1.2 การเคลือบสารละลายผสมระหว่าง CPC และ PVA ลงบนแผ่นฟิล์มด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง

นำสารละลายผสมระหว่าง CPC และ PVA ที่เตรียมได้ ไปเคลือบลงบนแผ่นฟิล์มพอลิไวนิลดีนคลอไรด์ (PVDC) ด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง โดยเริ่มจากการพันแผ่นฟิล์ม PVDC ลงบนอะลูมิเนียมฟอยล์ ขนาด 10x10 เซนติเมตร จากนั้นนำไปวางบนฐานของอุปกรณ์รองรับเส้นใย เติสารละลายผสมระหว่าง CPC และ PVA ที่เตรียมไว้ลงในหลอดบรรจุสารละลายขนาด 5 มิลลิลิตร นำหลอดบรรจุสารละลายประกอบเข้ากับชุดอุปกรณ์การปั่นเส้นใยในส่วนที่เป็นขาตั้ง (รูปที่ 3.1) โดยให้ระยะห่างระหว่างปลายหลอดบรรจุสารละลายซึ่งบรรจุสารละลาย CPC กับอุปกรณ์รองรับเส้นใยคงที่เท่ากับ 10 เซนติเมตร และให้เข็มฉีดยาเอียงทำมุม 45 องศากับแนวตั้ง จากนั้นต่อศักย์ไฟฟ้าขั้วประจุไฟฟ้าขั้วบวกเข้ากับปลายเข็มและต่อสายดินเข้ากับอุปกรณ์รองรับเส้นใย เปิดเครื่องกำเนิดไฟฟ้า

แล้วปรับความต่างศักย์ไฟฟ้าให้มีความแรงที่ 20 กิโลโวลต์ ปั่นสะสมเส้นใยลงบนแผ่นฟิล์มจนสารละลายในหลอดบรรจุสารละลายหมด แล้วปิดเครื่องกำเนิดไฟฟ้า แกะแผ่นฟิล์มออกจากอุปกรณ์รองรับเส้นใย ผึ่งเส้นใยให้แห้งสนิท นำแผ่นฟิล์มที่ได้ไปวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป



รูปที่ 3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในกระบวนการสร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

3.4.1.3 ทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ของ CPC เมื่อเคลือบอยู่บนแผ่นฟิล์ม

การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์เบื้องต้นของ CPC เมื่อเคลือบอยู่บนแผ่นฟิล์มจะนำฟิล์มเคลือบสารละลายผสมระหว่าง CPC และ PVA ที่มีความเข้มข้นของ PVA 20 และ 25% (w/v) ซึ่งมีความเข้มข้นของ CPC สูงสุดคือ 1.0% (% w/w ของ PVA) มาใช้ในการทดสอบ และใช้ฟิล์มเคลือบ PVA ซึ่งไม่มี CPC เป็นชุดควบคุม โดยนำฟิล์มมาตัดให้มีขนาด 3x3 ซม. จำนวน 1 แผ่น แล้วนำมาวางบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Trypticase soy agar จากนั้นเททับด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase soy agar แบบกึ่งแข็ง ปริมาตร 10 มล. ที่มีการเติม *L. monocytogenes* DMST 17303 หรือ *E. coli* ATCC 25922 ปริมาณเชื้อ 10^4 - 10^5 CFU/ml ปริมาตร 100 ไมโครลิตร วางไว้ให้แห้ง จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตบริเวณการยับยั้งรอบๆแผ่นฟิล์ม ซึ่งมีลักษณะเป็นบริเวณใส (clear zone) บนบริเวณผิวหน้าอาหาร

3.4.1.4 ศึกษาความเข้มข้นของสารละลาย PVA ที่มีต่อการปลดปล่อย CPC ออกจากแผ่นฟิล์ม เคลือบสารละลายผสมระหว่าง CPC และ PVA

การศึกษาค่าผลของความเข้มข้นของ PVA ที่มีต่อการปลดปล่อย CPC สามารถทำได้โดยแปรผันความเข้มข้นของ PVA ให้มีความเข้มข้น 20 และ 25% (w/v) และมีความเข้มข้นของ CPC คงที่ คือ 1% (w/w ของ PVA) ซึ่งเตรียมได้ตามข้อ 3.4.1.1 และ 3.1.4.2 ตามลำดับ โดยใช้ฟิล์มเคลือบ PVA ซึ่งไม่มี CPC เป็นชุดควบคุม โดยตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาด 1x1 ซม. จำนวน 1 แผ่น แล้วนำมาใส่ในหลอดทดลองที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว TSB ซึ่งมี *L. monocytogenes* DMST 17303 หรือ *E. coli* ATCC 25922 ปริมาณเชื้อตั้งต้น 10^4 - 10^5 CFU/ml จากนั้นนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C แล้วเก็บตัวอย่างในวันที่ 0, 1, 3, 5, 7 และ 14 วัน โดยนำตัวอย่างปริมาตร 100 ไมโครลิตร มาเจือจางใน 0.85% NaCl จากนั้นนำไปเกลี่ยในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีและคำนวณอัตราการรอดชีวิตของ *L. monocytogenes* DMST 17303 และ *E. coli* ATCC 25922 โดยทำการทดลองสามซ้ำ ตามวิธีข้างต้น

3.4.2 ศึกษาผลของความเข้มข้น CPC ต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียของฟิล์มเคลือบสารละลายผสมระหว่าง CPC และ PVA ที่ผลิตด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง

การศึกษาค่าผลของความเข้มข้น CPC ต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ของฟิล์มเคลือบสารละลายผสมระหว่าง CPC และ PVA โดยเตรียมสารละลาย PVA ในน้ำกลั่นปลอดประจุ ให้มีความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดในการสร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง จากนั้นชั่ง CPC (Sigma, UK) ให้มีความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 (% w/w ของ PVA) แล้วผสมลงในสารละลายพอลิเมอร์ PVA ซึ่งมีความเข้มข้นเหมาะสมที่สุดที่เตรียมไว้ ตามลำดับ จากนั้นนำสารละลายที่เตรียมได้มาเคลือบลงแผ่นฟิล์ม PVDC โดยใช้ภาวะการขึ้นรูปเส้นใยตามข้อที่ 3.4.1.2 เก็บตัวอย่างฟิล์มที่ได้ทั้งหมดมาทดสอบผลความเข้มข้นของ CPC ที่มีต่อประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ โดยตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาด 1x1 ซม. จำนวน 1 แผ่น แล้วนำมาใส่ในหลอดทดลองที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Trypticase soy broth ปริมาตร 3 มล. และ 1 มล. ซึ่งมี *L. monocytogenes* DMST 17303 หรือ *E. coli* ATCC 25922 ปริมาณเชื้อตั้งต้น 10^4 - 10^5 CFU/ml ตามลำดับ โดยใช้ฟิล์มเคลือบ PVA ซึ่งไม่มี CPC เป็นชุดควบคุม จากนั้นนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C แล้วเก็บตัวอย่างในวันที่ 0, 1, 3, 5, 7 และ 14 วัน โดยนำตัวอย่างปริมาตร 100 ไมโครลิตร มาเจือจางใน 0.85% NaCl จากนั้นนำไปเกลี่ยในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับ

จำนวนโคโลนีและคำนวณอัตราการรอดชีวิตของ *L. monocytogenes* DMST 17303 และ *E. coli* ATCC 25922 โดยทำการทดลองสามซ้ำ ตามวิธีข้างต้น

3.4.3 ศึกษาารูปแบบการปลดปล่อย CPC ออกจากแผ่นฟิล์มเคลือบสารละลายผสม CPC และ PVA ที่เตรียมได้

การศึกษารูปแบบการปลดปล่อย CPC โดยตัดตัวอย่างฟิล์มที่เตรียมได้แต่ละความเข้มข้น ให้มีขนาด 1x1 ซม. จำนวน 1 แผ่น นำมาใส่ในหลอดทดลองที่บรรจุสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.02 โมลาร์ 1 มิลลิลิตร ซึ่งมีความเข้มข้นกรด-เบสเท่ากับ 7.0 จากนั้นนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4^oซ โดยจะเก็บตัวอย่างทุก 0, 1, 3, 5, 7 และ 14 วัน โดยใช้เครื่องเขย่าสารละลายให้ทั่วแล้วเก็บตัวอย่างสารละลายปริมาตร 100 ไมโครลิตร เพื่อส่งวิเคราะห์หาปริมาณ CPC ที่ปลดปล่อยออกมาในสารละลายด้วย reverse phase HPLC โดยมีคอลัมน์ตัวยึดเกาะคือ C-18 และมีตัวชะคอลัมน์ตัวที่ 1 (สารละลาย A) เป็นกรดไตรฟลูโอโรอะซีติก (TFA) ร้อยละ 0.05 (ปริมาตร/ปริมาตร) ละลายในน้ำ และตัวชะคอลัมน์ตัวที่ 2 (สารละลาย B) เป็นกรดไตรฟลูโอโรอะซีติก (TFA) ร้อยละ 0.05 (ปริมาตร/ปริมาตร) ละลายในอะซิโตนไทรโอล โดยคำนวณเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ CPC และวิเคราะห์ความเข้มข้นของ CPC บนแผ่นฟิล์ม

3.4.4 ทดสอบความสามารถในการออกฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของฟิล์มเคลือบสารละลายผสม CPC และ PVA บนเนื้อหมู

การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียของฟิล์มเคลือบสารละลายผสม CPC และ PVA บนเนื้อหมู โดยการตัดเนื้อหมูสไลด์ให้มีขนาด 3x3 ซม. จากนั้นแช่ดบริเวณผิวทุกด้านของเนื้อหมูตัวอย่างด้วย 70% เอทานอล และตั้งผ่าน UV ไว้นในตู้ปลอดเชื้อเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นหยดเชื้อ *L. monocytogenes* DMST 17303 หรือ *E. coli* ATCC 25922 ปริมาณเชื้อตั้งต้น 10⁸-10⁹ CFU/ml ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ลงด้านบนของเนื้อหมูตัวอย่าง จากนั้นทิ้งให้เชื้อเกาะติดบนผิวเนื้อหมูเป็นเวลา 5 นาที โดยในทุกขั้นตอนของการเตรียมตัวอย่างเนื้อหมูจะทำในตู้ปลอดเชื้อ จากนั้นตัดตัวอย่างฟิล์มที่เตรียมได้แต่ละความเข้มข้น ให้มีขนาด 3x3 ซม. และนำมาปิดทับลงด้านบนของชิ้นเนื้อหมูตัวอย่าง โดยใช้ชิ้นเนื้อหมูซึ่งปิดด้วยฟิล์มเคลือบสารละลาย PVA เป็นชุดควบคุม จากนั้นเก็บรักษาเนื้อหมูตัวอย่างในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปิดด้วยพาราฟิล์ม นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4^oซเป็นเวลา 14 วัน และทำการเก็บตัวอย่างทุกวันที่ 0, 1, 3, 5, 7 และ 14 วัน โดยนำชิ้นเนื้อหมูตัวอย่างมาใส่ลงในถุงตีปน (Stomacher bag) ซึ่งมีฟอสเฟตบัฟเฟอร์ปริมาตร 20 มล. นำไปตีปน

ด้วยเครื่องตีปน (Stomacher) เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นเจือจางด้วย NaCl 0.85% และนำไปเกลี่ยลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PALCAM และ MacConkey สำหรับเชื้อ *L. monocytogenes* DMST 17303 และ *E. coli* ATCC 25922 ตามลำดับ จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีและคำนวณอัตราการรอดชีวิตของ *L. monocytogenes* DMST 17303 และ *E. coli* ATCC 25922 โดยทำการทดลองสามซ้ำ ตามวิธีข้างต้น

3.4.5 ศึกษาความเสถียรในการออกฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของฟิล์มเคลือบสารละลายผสม CPC และ PVA ที่เตรียมได้

การศึกษความเสถียรในการออกฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA โดยการเก็บตัวอย่างฟิล์มทุกความเข้มข้นที่เตรียมได้ไว้ที่อุณหภูมิห้องภายใต้ภาวะดูดความชื้นเป็นเวลา 3 เดือน และในระหว่างการเก็บรักษาฟิล์ม จะทำการนำตัวอย่างฟิล์มแต่ละความเข้มข้นมาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ โดยทดสอบตามขั้นตอนที่ 3.4.1.3 และ 3.4.1.4 เมื่อครบเวลา 1, 2 และ 3 เดือน ในระหว่างการเก็บรักษาฟิล์ม ตามลำดับ

บทที่ 4

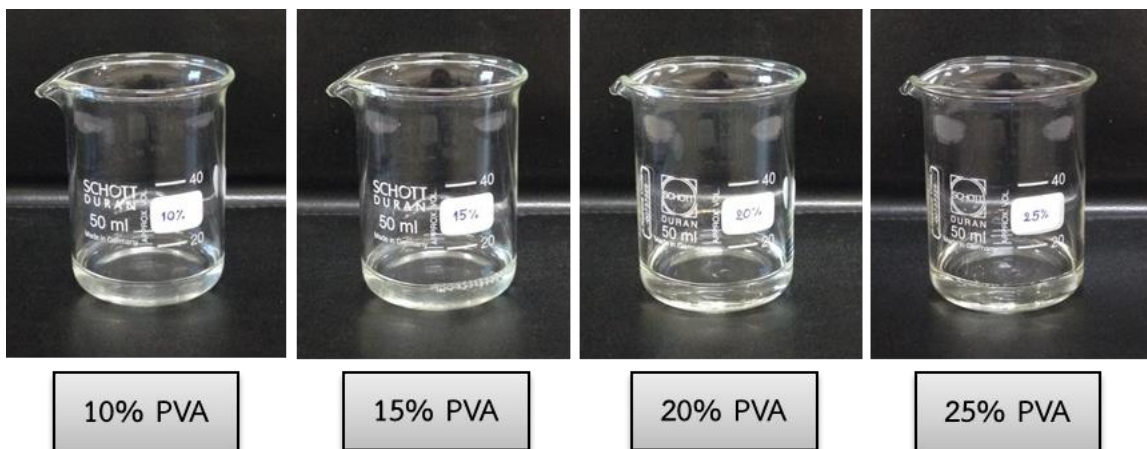
ผลการทดลอง

4.1 การหาภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมสารละลายเซทิลไพรดิเนียมคลอไรด์เพื่อใช้เคลือบฟิล์ม

4.1.1 การเตรียมสารละลายผสมระหว่างเซทิลไพรดิเนียมคลอไรด์ (CPC) และพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) เพื่อใช้ในการเคลือบฟิล์มด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง

การเตรียมสารละลายผสม CPC และ PVA เพื่อหาความเข้มข้นของ PVA ที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นพอลิเมอร์เพื่อช่วยในการเคลือบ CPC ลงบนแผ่นฟิล์ม โดยละลายพอลิเมอร์ PVA ลงในน้ำกลั่นปลอดประจุ ให้มีความเข้มข้น 10, 15, 20 และ 25% (น้ำหนัก/ปริมาตร) จากนั้นละลายผง CPC ให้มีความเข้มข้นสูงสุดคือ 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) ลงในสารละลายพอลิเมอร์ PVA ที่เตรียมไว้ ตามลำดับ เนื่องจาก CPC เป็นสารที่มีประจุซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อการใช้งานด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิงได้ (Bani-Jaber และคณะ, 2000) โดยการทดลองนี้จะสังเกตความสามารถในการละลายของพอลิเมอร์ และความหนืดของสารละลายพอลิเมอร์ที่เตรียมได้ ซึ่งถือเป็นปัจจัยที่สำคัญปัจจัยหนึ่งในการสร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง

ภายหลังจากการทดลองพบว่าพอลิเมอร์ PVA ทุกความเข้มข้น มีความสามารถในการละลายน้ำได้ดี สารละลายที่ได้มีลักษณะใส ไม่มีสี และเมื่อผสม CPC ลงในสารละลายพอลิเมอร์ PVA ทุกความเข้มข้นที่เตรียมไว้ สารละลายพอลิเมอร์ PVA ยังคงมีลักษณะใส และไม่มีสีเหมือนเช่นเดิม ดังแสดงในรูปที่ 4.1 นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อ PVA มีปริมาณความเข้มข้นสูงขึ้น ต้องใช้ระยะเวลาในการละลายสารเพิ่มขึ้น และสารละลายพอลิเมอร์ที่ได้จะมีความหนืดสูงขึ้นด้วย ตามลำดับ



รูปที่ 4.1 สารละลายผสมระหว่าง CPC 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) และสารละลายพอลิเมอร์ PVA ที่มีความเข้มข้น 10, 15, 20 และ 25% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ในน้ำกลั่นปลอดประจุ

4.1.2 การเคลือบสารละลายผสมระหว่างเซทิลไพรดิเนียมคลอไรด์ (CPC) และพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) ลงบนแผ่นฟิล์ม ด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง

การเคลือบสารละลายผสม CPC-PVA ลงบนแผ่นฟิล์ม โดยนำสารละลายผสม CPC-PVA ที่เตรียมได้ ซึ่งมีความเข้มข้นของ CPC คงที่คือ 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) และมีความเข้มข้นของ PVA 10, 15, 20 และ 25% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ในน้ำกลั่นปลอดประจุ มาเคลือบลงบนแผ่นฟิล์ม PVDC ด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง และให้ภาวะที่ใช้ในกระบวนการสร้างเส้นใยซึ่งเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อลักษณะของเส้นใย ได้แก่ เข้มฉืดยาซึ่งติดอยู่กับหลอดบรรจุสารละลายพอลิเมอร์เอียงทำมุม 45 องศากับแนวตั้ง ระยะห่างระหว่างปลายเข็มฉืดยาและอุปกรณ์รองรับเส้นใยเท่ากับ 10 เซนติเมตร และปรับค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าให้มีความแรง 20 กิโลโวลต์ โดยให้ปัจจัยดังกล่าวนี้มีค่าคงที่ตลอดการทดลอง ซึ่งภายหลังจากการสร้างเส้นใยของสารละลายผสม CPC-PVA ด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิงพบว่าอัตราการไหลและลักษณะการเกิดเส้นใยของสารละลายผสมดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของ PVA ที่ใช้ โดยสรุปได้ดังแสดงในตาราง 4.1

ภายหลังจากทดลองพบว่าเมื่อใช้สารละลายพอลิเมอร์ PVA ที่มีความเข้มข้น 10% (น้ำหนัก/ปริมาตร) เพื่อช่วยในการเส้นใยบนแผ่นฟิล์มด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง สารละลายผสม CPC-PVA จะพุ่งออกจากปลายเข็มฉืดยาลงสู่อุปกรณ์รองรับเส้นใยอย่างรวดเร็ว ในลักษณะกระจายเป็นละอองฝอยของสารละลาย และเมื่อใช้ระยะเวลาในการสร้างเส้นใยเพิ่มขึ้น ละอองของสารละลายจะเกิดการรวมตัวเป็นแองสารละลายขนาดใหญ่บนแผ่นฟิล์ม ดังแสดงในรูป 4.2 ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าการใช้สารละลายพอลิเมอร์ PVA ที่ความเข้มข้น 10% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ไม่สามารถเคลือบหรือทำให้เกิดเส้นใยบนแผ่นฟิล์มด้วยเทคนิค อิเล็กโทรสปินนิง ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการศึกษาในเบื้องต้นที่พบว่าสารละลาย CPC ในน้ำกลั่นปลอดประจุ ไม่สามารถเคลือบหรือสร้างเส้นใยลงบนแผ่นฟิล์มด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิงได้ ซึ่งอาจเกิดขึ้นเนื่องจากความหนืดของสารละลายที่ต่ำเกินไป จึงเกิดการรวมตัวของสารละลายแทนการเกิดเส้นใยบนแผ่นฟิล์ม หรือเกิดเนื่องจากผลของประจุของสารที่มีต่อแรงผลักทางไฟฟ้าสถิตที่เกิดขึ้นในกระบวนการ ส่งผลให้เกิดหยดสารละลายขนาดเล็กพุ่งออกมาจากปลายเข็มฉืดยา แล้วแตกเป็นละอองฝอยบนแผ่นฟิล์มแทนการเกิดเส้นใย ดังแสดงในรูป 4.3 ดังนั้นการทดลองนี้จึงจำเป็นต้องใช้สารพอลิเมอร์ PVA ที่มีสมบัติในการช่วยสร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิงได้ดี มาเป็นตัวช่วยเพิ่มความหนืดของสารละลายและช่วยในการกระจายประจุของ CPC ให้สามารถยึดเกาะอยู่บนเส้นใยที่สร้างขึ้นบนแผ่นฟิล์มได้ แต่การสร้างเส้นใยนี้ต้องใช้สารละลายพอลิเมอร์ PVA ที่ความเข้มข้นสูงกว่า 10% (น้ำหนัก/ปริมาตร) โดยพบว่าสารละลายพอลิเมอร์ PVA ที่มีความเข้มข้น 15% โดยน้ำหนัก/ปริมาตร

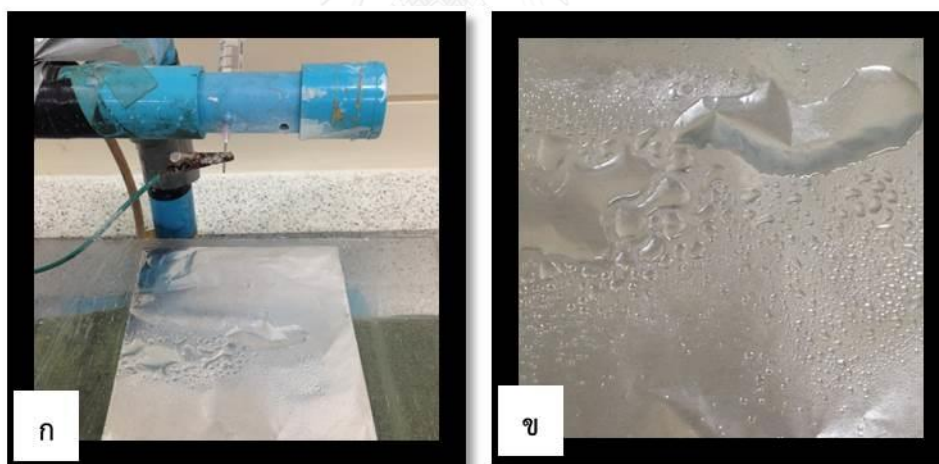
จะเริ่มสังเกตเห็นเส้นใยซึ่งมีลักษณะเป็นฝ้าขาวบนแผ่นฟิล์มเกิดขึ้นได้เล็กน้อย และพบหยดสารละลายกระจายเป็นละอองฝอย หรือเกิดการรวมตัวกันของละอองฝอยของสารละลายเป็นหยดสารละลายกระจายอยู่บนแผ่นฟิล์มจำนวนมาก และเมื่อใช้ระยะเวลาในการสร้างเส้นใยนานขึ้น จะเกิดฝ้าขาวปิดทับบนหยดสารละลายที่กระจายอยู่บนแผ่นฟิล์ม ส่งผลให้ได้แผ่นฟิล์มที่มีลักษณะเป็นฝ้าขาวของสารละลายซึ่งเคลือบอยู่บนแผ่นฟิล์มแบบไม่สม่ำเสมอ ดังแสดงในรูปที่ 4.4

ตารางที่ 4.1 สรุปลักษณะการไหลของสารละลาย และลักษณะการเกิดเส้นใยของสารละลาย CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ PVA ที่แตกต่างกัน จากการทดลองสร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง

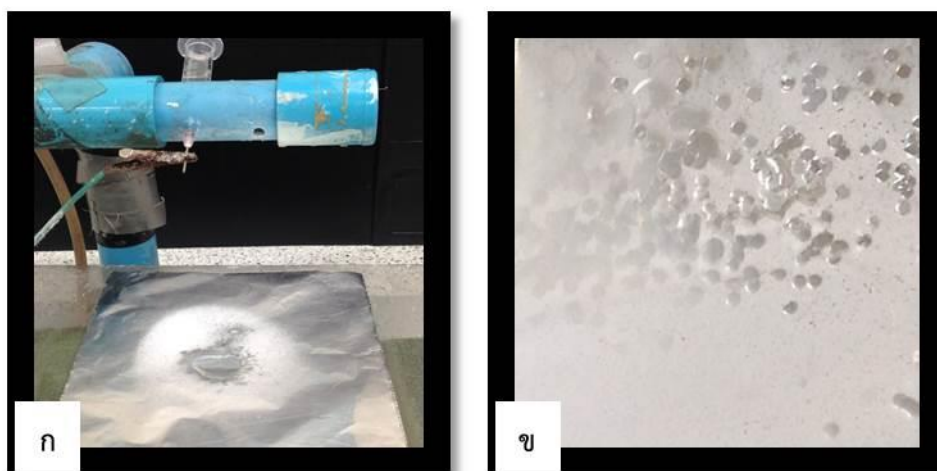
ความเข้มข้นของ PVA (%โดยน้ำหนัก/ปริมาตร)	ลักษณะการไหลของสารละลาย (จากปลายเข็มสู่แผ่นรองรับ)	ผลที่สังเกตได้ บนแผ่นฟิล์ม
0	สารละลายพุ่งออกจากปลายเข็ม อย่างรวดเร็ว เป็นละอองฝอย	ไม่เกิดฝ้าบนแผ่นฟิล์ม มีเพียง หยดสารละลายที่รวมตัวกัน
10	สารละลายพุ่งออกจากปลายเข็ม อย่างรวดเร็ว เป็นละอองฝอย	ไม่เกิดฝ้าบนแผ่นฟิล์ม แต่ เกิดหยดสารละลายกระจาย หรือรวมตัวกันบนแผ่นฟิล์ม
15	สารละลายพุ่งออกมาจากปลายเข็ม อย่างรวดเร็ว แต่ช้ากว่าที่ความ เข้มข้น PVA 10%	เริ่มเกิดฝ้าขาวบางๆ บน แผ่นฟิล์ม และมีสารละลายตกเป็นหยด กระจายบนแผ่นฟิล์ม
20	สารละลายพุ่งออกมาจากปลายเข็ม ช้าลงกว่าความเข้มข้น PVA 15% และสามารถเห็นการยืดของหยด สารละลายเป็นลักษณะกรวยเทเลอร์	เกิดฝ้าขาวมากขึ้น และมี หยดของสารละลายน้อยลง
25	สารละลายพุ่งออกมาช้า และสามารถเห็นการยืดของหยด สารละลายเป็นลักษณะกรวยเทเลอร์ ได้อย่างชัดเจน	เกิดฝ้าขาวหนาสม่ำเสมอบน แผ่นฟิล์ม และมีหยดสารละลายน้อย



รูปที่ 4.2 (ก) ผลที่เกิดขึ้นบนแผ่นฟิล์ม PVDC ในระหว่างการเคลือบสารละลายที่มีพอลิเมอร์ PVA 10% (น้ำหนัก/ปริมาตร) และ CPC 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) (ข) ลักษณะแผ่นฟิล์ม ที่ได้ภายหลังเคลือบสารละลาย CPC-PVA ลงบนแผ่นฟิล์ม PVDC ด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง

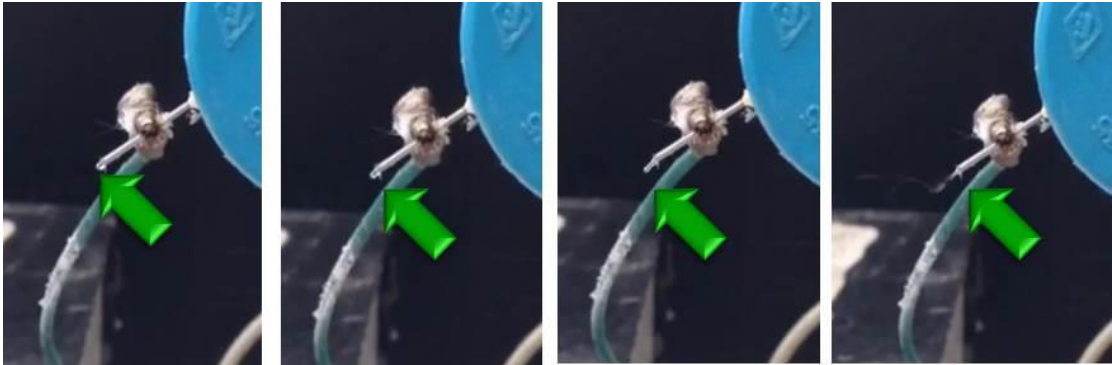


รูปที่ 4.3 (ก) ผลที่เกิดขึ้นบนแผ่นฟิล์ม PVDC ในระหว่างการเคลือบสารละลายที่มี CPC 1.0% (น้ำหนัก/ปริมาตร) (ข) ลักษณะแผ่นฟิล์มที่ได้ภายหลังเคลือบสารละลาย CPC ลงบนแผ่นฟิล์ม PVDC ด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง

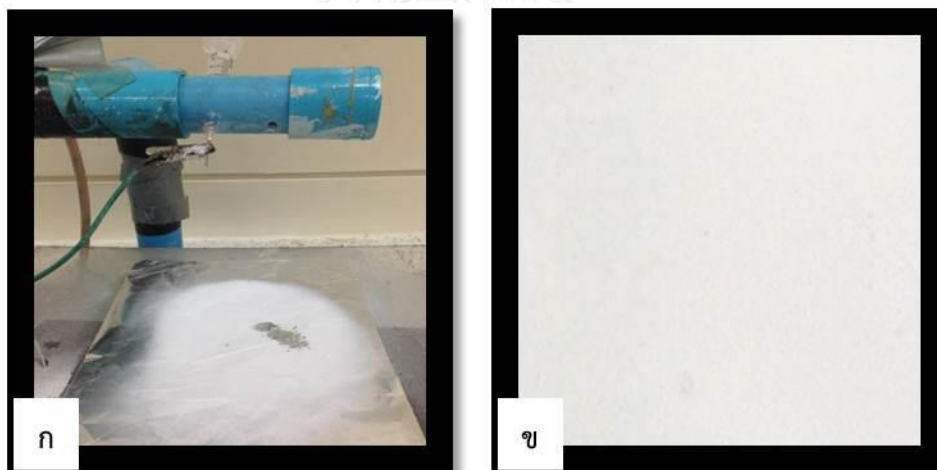


รูปที่ 4.4 (ก) ผลที่เกิดขึ้นบนแผ่นฟิล์ม PVDC ในระหว่างการเคลือบสารละลายที่มีพอลิเมอร์ PVA 15% (น้ำหนัก/ปริมาตร) และ CPC 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) (ข) ลักษณะแผ่นฟิล์มที่ได้ภายหลังเคลือบสารละลาย CPC-PVA ลงบนแผ่นฟิล์ม PVDC ด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง

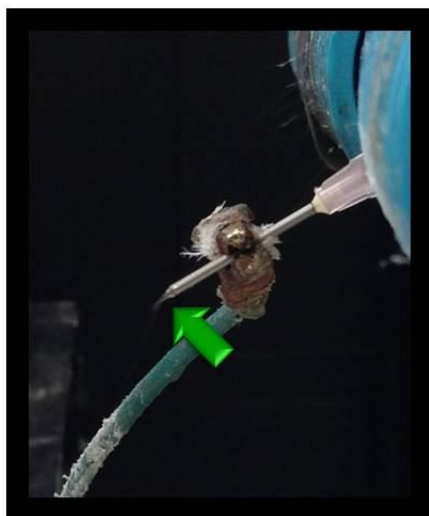
เมื่อใช้สารละลายพอลิเมอร์ PVA ที่มีความเข้มข้น 20% (น้ำหนัก/ปริมาตร) จะสังเกตเห็นฝ้าขาวเกิดขึ้นบนแผ่นฟิล์มอย่างชัดเจน มีหยดของสารละลายน้อยลง นอกจากนี้ยังสามารถสังเกตเห็นการยึดของหยดสารละลายเป็นลักษณะกรวยเทเลอร์ได้ ดังแสดงในรูปที่ 4.5 โดยลักษณะเส้นใยหรือฝ้าขาวที่เกิดขึ้นบนแผ่นฟิล์มมีความสม่ำเสมอมากขึ้น (รูปที่ 4.6) ผลการทดลองดังกล่าวมีลักษณะคล้ายกับสารละลายพอลิเมอร์ PVA ที่มีความเข้มข้น 25% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ซึ่งจะสังเกตเห็นฝ้าขาวของเส้นใยหนากว่าสารละลาย PVA ที่มีความเข้มข้น 20% (น้ำหนัก/ปริมาตร) เล็กน้อย และพบหยดของสารละลายเกิดขึ้นน้อย สารละลายพุ่งออกจากปลายเข็มช้าทำให้สามารถสังเกตเห็นการยึดของหยดสารละลายเป็นลักษณะกรวยเทเลอร์ได้ชัดเจน ดังแสดงในรูปที่ 4.7 สามารถเกิดเส้นใยซึ่งมีลักษณะเป็นฝ้าขาวได้ดี โดยเส้นใยที่ได้มีความสม่ำเสมอ (รูปที่ 4.8) นอกจากนี้ยังพบว่าความเข้มข้นสูงสุดของ CPC 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) ไม่มีผลต่อความหนืดของสารละลายผสม แต่ด้วยสมบัติในด้านประจุของ CPC อาจส่งผลเล็กน้อยต่อลักษณะการกระจายของเส้นใย เมื่อเปรียบเทียบกับแผ่นฟิล์มเคลือบ PVA ดังแสดงในรูปที่ 4.9



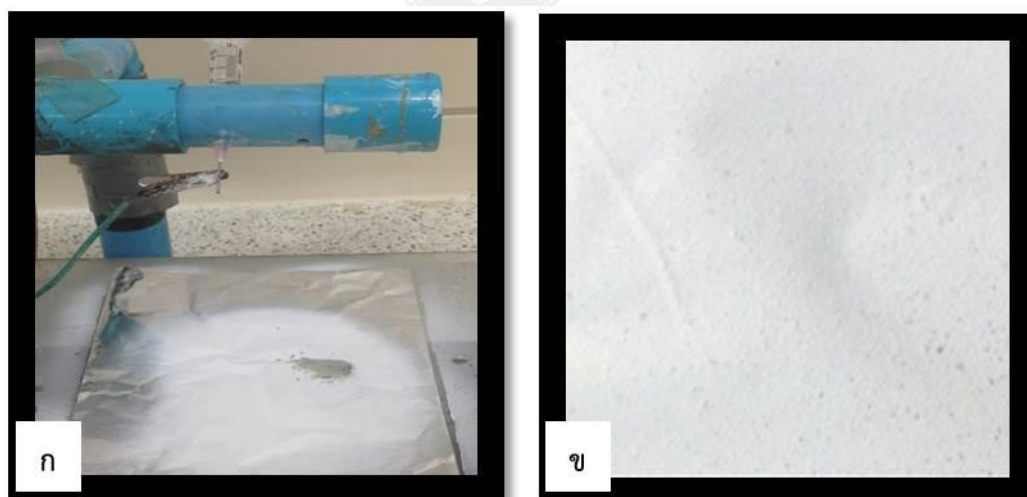
รูปที่ 4.5 ขั้นตอนการเกิดกรวยเทเลอร์ที่เกิดขึ้นในระหว่างการเคลือบสารละลาย CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ PVA 20% (น้ำหนัก/ปริมาตร) และมีความเข้มข้นของ CPC 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA)



รูปที่ 4.6 (ก) ผลที่เกิดขึ้นบนแผ่นฟิล์ม PVDC ในระหว่างการเคลือบสารละลายที่มีพอลิเมอร์ PVA 20% (น้ำหนัก/ปริมาตร) และ CPC 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) (ข) ลักษณะแผ่นฟิล์มที่ได้ภายหลังเคลือบสารละลาย CPC-PVA ลงบนแผ่นฟิล์ม PVDC ด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง



รูปที่ 4.7 ลักษณะของกรวยเทเลอร์ที่สังเกตได้ในช่วงการเคลือบสารละลาย CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ PVA 25% (น้ำหนัก/ปริมาตร) และมีความเข้มข้นของ CPC 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA)



รูปที่ 4.8 (ก) ผลที่เกิดขึ้นบนแผ่นฟิล์ม PVDC ในช่วงการเคลือบสารละลายที่มีพอลิเมอร์ PVA 25% (น้ำหนัก/ปริมาตร) และ CPC 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) (ข) ลักษณะแผ่นฟิล์มที่ได้ภายหลังจากเคลือบสารละลาย CPC-PVA ลงบนแผ่นฟิล์ม PVDC ด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง



รูปที่ 4.9 เปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพของฟิล์มที่ได้จากกระบวนการอิเล็กโทรสปินนิง (ก) ฟิล์มที่มีความเข้มข้นของ PVA 20% (น้ำหนัก/ปริมาตร) โดยไม่มี CPC (ข) ฟิล์มที่มีความเข้มข้นของ PVA 20% (น้ำหนัก/ปริมาตร) และมีความเข้มข้นของ CPC 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA)

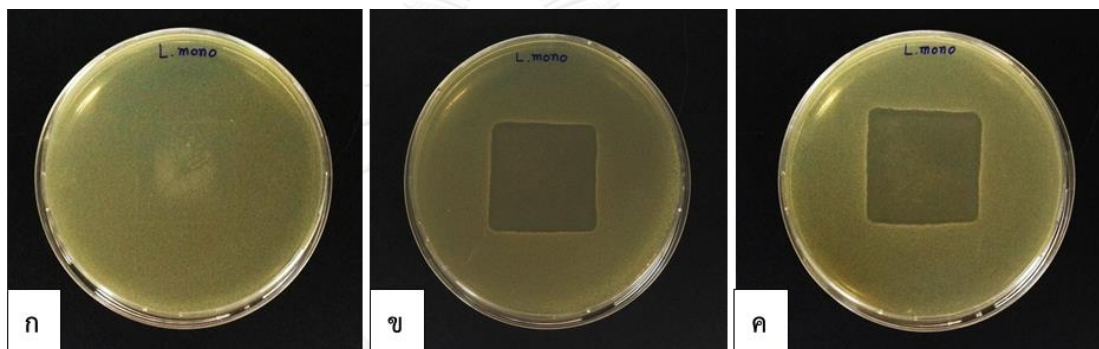
จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าสารละลายพอลิเมอร์ PVA ที่มีความเข้มข้น 20 และ 25% (น้ำหนัก/ปริมาตร) เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมของ PVA ในการช่วยสร้างเส้นใยบนแผ่นฟิล์มด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง เพื่อให้ CPC สามารถยึดเกาะเส้นใยบนแผ่นฟิล์มได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้นจึงเลือกฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ PVA 20 และ 25% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่ได้ไปศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ของ CPC เมื่อเคลือบอยู่บนแผ่นฟิล์มด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง และศึกษาผลของความเข้มข้น PVA ที่มีต่อการปลดปล่อย CPC ซึ่งเคลือบอยู่บนแผ่นฟิล์มเป็นลำดับต่อไป

4.2 ฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ของเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์ (CPC) เมื่อเคลือบบนแผ่นฟิล์ม

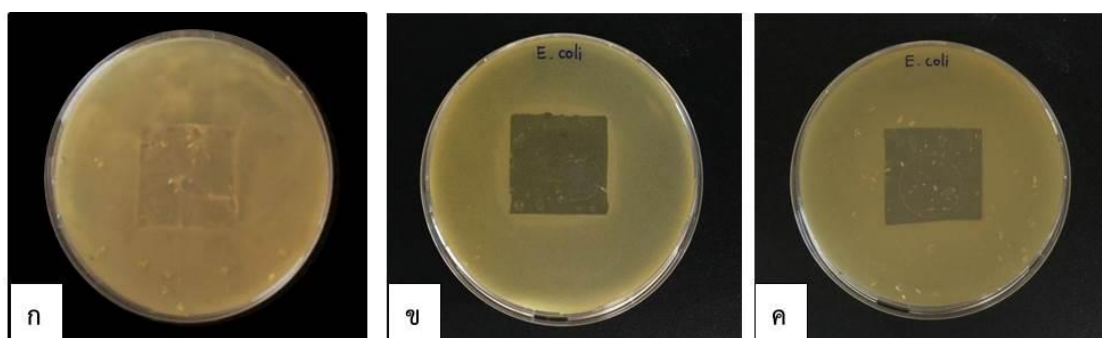
การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ของ CPC เมื่อเคลือบอยู่บนแผ่นฟิล์ม โดยนำฟิล์ม CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ PVA 20 และ 25% (น้ำหนัก/ปริมาตร) และมีความเข้มข้นของ CPC 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) วางคว่ำลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA จากนั้นเททับด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อแบบกึ่งแข็งที่มี *L. monocytogenes* DMST 17303 หรือ *E. coli* ATCC 25922 10^4 - 10^5 CFU/ml ผสมอยู่ วางไว้ให้แข็ง แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วสังเกตบริเวณการยับยั้ง ซึ่งมีลักษณะเป็นบริเวณใส (clear zone) บนบริเวณผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ภายหลังจากการทดลองพบว่าฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ PVA 20 และ 25% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ซึ่งวางอยู่ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ *L. monocytogenes* DMST 17303 สามารถสังเกตเห็นบริเวณใสที่เกิดจากการยับยั้งเชื้อบนผิวหน้าอาหารได้อย่างชัดเจนไม่แตกต่างกัน ดังแสดงในรูปที่ 4.10 โดยสังเกตเห็นการเจริญของเชื้อ *L. monocytogenes* DMST 17303 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ แต่ไม่พบการเจริญตรงบริเวณผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อบริเวณที่มีแผ่นฟิล์มวางอยู่ และพบว่ามิโซไนส์เกิดขึ้นรอบๆ แผ่นฟิล์มด้วย โดยวัดความกว้างได้ 0.2 ซม. ในขณะที่ฟิล์มเคลือบ PVA ซึ่งวางอยู่ในจานอาหารที่มี *L. monocytogenes* DMST 17303 ไม่พบบริเวณใสของการยับยั้งเกิดขึ้น ผลการออกฤทธิ์ยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 นี้ไม่แตกต่างจากฟิล์มเคลือบ PVA-CPC ที่มีความเข้มข้นของ PVA 20 และ 25% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ซึ่งวางอยู่ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ *E. coli* ATCC 25922 ที่พบบริเวณใสซึ่งเกิดขึ้นจากการยับยั้ง *E. coli* ATCC 25922 บนผิวหน้าอาหารได้อย่างชัดเจนไม่แตกต่างกันเช่นกัน ดังแสดงในรูป 4.11 จากรูปจะเห็นว่า *E. coli* ATCC 25922 สามารถเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อได้ แต่ไม่สามารถเจริญตรงบริเวณผิวหน้าของอาหารที่มีแผ่นฟิล์มวางอยู่ และไม่พบมิโซไนส์เกิดขึ้นรอบๆ แผ่นฟิล์ม นอกจากนี้ยังพบว่าฟิล์มเคลือบ PVA ไม่สามารถยับยั้ง *E. coli* ATCC 25922 ได้ โดยสังเกตไม่พบบริเวณใสเกิดขึ้นในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ผลการออกฤทธิ์ยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 และ *E. coli* ATCC 25922 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ที่เกิดขึ้นนี้ แสดงให้เห็นว่า CPC ที่เคลือบบนแผ่นฟิล์มยังคงมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อทดสอบทั้งสองได้แตกต่างจากชุดควบคุมที่เป็นฟิล์มเคลือบ PVA ซึ่งไม่พบบริเวณใสของการยับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes* DMST 17303 หรือ *E. coli* ATCC 25922 เกิดขึ้นบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

จากผลการทดลองข้างต้นชี้ให้เห็นในเบื้องต้นว่าเมื่อนำ CPC มาใช้ในรูปแบบฟิล์ม โดยการเคลือบ CPC ลงบนแผ่นฟิล์มด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง CPC ที่ถูกเคลือบอยู่บนแผ่นฟิล์มยังคงสามารถออกฤทธิ์ยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 และ *E. coli* ATCC 25922 ได้ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า CPC ที่เคลือบอยู่บนแผ่นฟิล์มสามารถแพร่จากแผ่นฟิล์มออกมาได้ จึงส่งผลให้เกิดการยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* DMST 17303 และ *E. coli* ATCC 25922 นอกจากนี้ฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ PVA แตกต่างกันคือ 20 และ 25% โดยน้ำหนัก/ปริมาตร ไม่มีความแตกต่างกันในการออกฤทธิ์ยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 และ *E. coli* ATCC 25922 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ดังนั้นจึงเลือกฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ PVA 20 และ 25% โดยน้ำหนัก/ปริมาตร ไปศึกษาผลของความเข้มข้นของ PVA ที่มีต่อการปลดปล่อยเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์ (CPC) ออกจากแผ่นฟิล์มในขั้นตอนต่อไป



รูปที่ 4.10 บริเวณใสที่เกิดขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ซึ่งมี *L. monocytogenes* DMST 17303 เจริญอยู่ (ก) ฟิล์มเคลือบ PVA (ข) แผ่นฟิล์มเคลือบ 1.0% CPC-20% PVA (ค) แผ่นฟิล์มเคลือบ 1.0% CPC-25% PVA



รูปที่ 4.11 บริเวณใสที่เกิดขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ซึ่งมี *E. coli* ATCC 25922 เจริญอยู่ (ก) ฟิล์มเคลือบ PVA (ข) แผ่นฟิล์มเคลือบ 1.0% CPC-20% PVA (ค) แผ่นฟิล์มเคลือบ 1.0% CPC-25% PVA

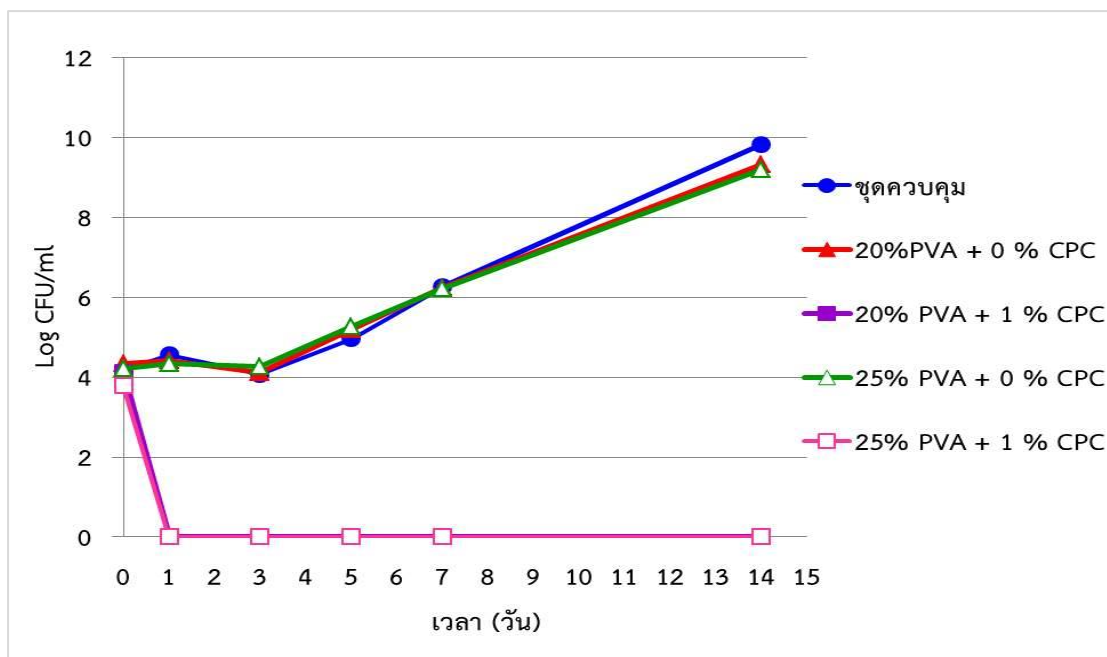
4.3 ผลของความเข้มข้นของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) ที่มีต่อการปลดปล่อยเซทิลไพริดิเนียม คลอไรด์ (CPC) ออกจากแผ่นฟิล์ม

จากผลการทดลองในข้อ 4.1 และ 4.2 แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของ PVA ที่เหมาะสมในการสร้างเส้นใยลงบนแผ่นฟิล์มด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง เพื่อช่วยให้ CPC สามารถยึดเกาะบนเส้นใยได้ คือความเข้มข้นของ PVA ที่ 20 และ 25% (น้ำหนัก/ปริมาตร) นอกจากนี้ยังพบว่า CPC ยังคงมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อที่ใช้ทดสอบได้แม้อยู่ในรูปของฟิล์มเคลือบสารดังกล่าว ต่อมาจึงศึกษาผลของความเข้มข้นของ PVA ที่มีต่อการปลดปล่อย CPC ออกจากแผ่นฟิล์ม โดยเลือกใช้ฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่มีการแปรผันความเข้มข้นของปริมาณ PVA ที่ 20 และ 25% (น้ำหนัก/ปริมาตร) และให้ความเข้มข้นของ CPC คงที่คือ 1% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) ในการศึกษา เพื่อเลือกความเข้มข้นของสารละลาย PVA ที่เหมาะสมที่สุดเพียงความเข้มข้นเดียวสำหรับการทดลองในขั้นตอนต่อไป สำหรับการทดลองนี้จะทำการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ของฟิล์มเคลือบสารละลายผสมดังกล่าว โดยให้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มี *L. monocytogenes* DMST 17303 หรือ *E. coli* ATCC 25922 ซึ่งไม่มีการเติมฟิล์มใดๆลงไปเป็นชุดควบคุม และฟิล์มเคลือบ PVA เป็นชุดควบคุมลบ โดยการตัดตัวอย่างฟิล์มที่เตรียมได้มาใส่ในหลอดทดลองซึ่งบรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มี *L. monocytogenes* DMST 17303 หรือ *E. coli* ATCC 25922 เจริญอยู่ โดยมีปริมาณเชื้อตั้งต้น 10^4 - 10^5 CFU/ml นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C จากนั้นเก็บตัวอย่างในวันที่ 0, 1, 3, 5, 7 และ 14 วัน โดยนำตัวอย่างมาเจือจางด้วย 0.85% NaCl แล้วนำไปเกลี่ยลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA บ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนี/มิลลิลิตร (CFU/ml) และคำนวณอัตราการรอดชีวิตของ *L. monocytogenes* DMST 17303 และ *E. coli* ATCC 25922

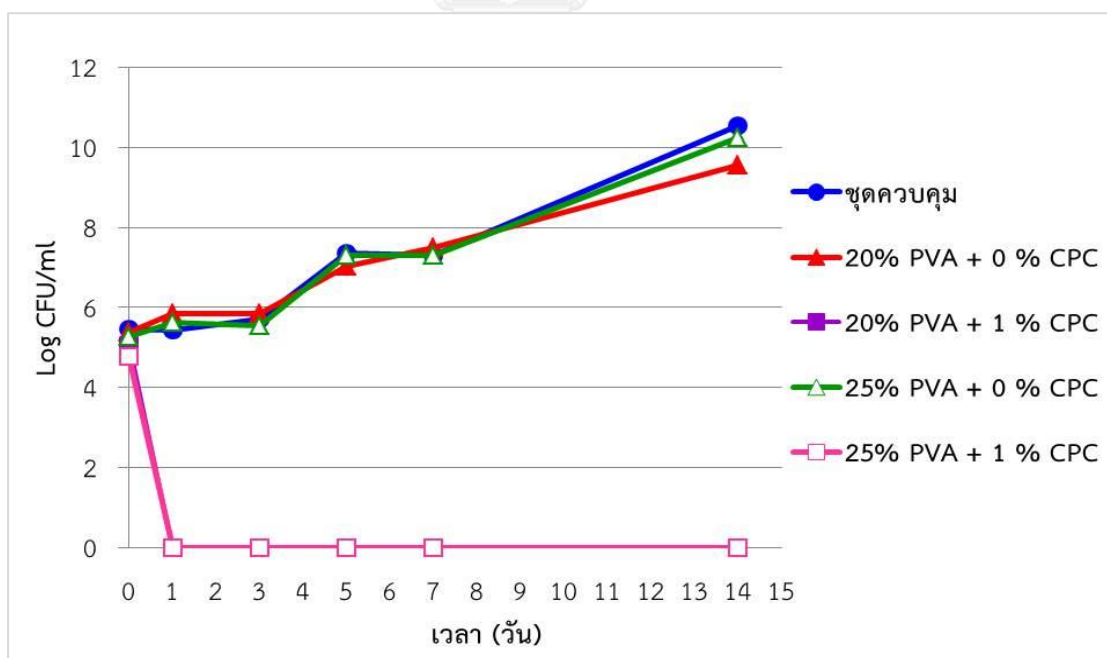
ภายหลังการทดลองพบว่าฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่ความเข้มข้น PVA แตกต่างกันคือ 20 และ 25% (น้ำหนัก/ปริมาตร) สามารถปลดปล่อย CPC ออกมาจากแผ่นฟิล์มได้ และยังคงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อที่ใช้ในการทดสอบได้ตลอดระยะเวลา 14 วันของการทดลอง ดังแสดงในรูป 4.12 และ 4.13 โดยพบว่าฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ PVA 20% (น้ำหนักต่อปริมาตร) และมีความเข้มข้นของ CPC คงที่คือ 1% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) สามารถลดการเจริญของ *L. monocytogenes* DMST 17303 หรือ *E. coli* ATCC 25922 ได้ตั้งแต่วันแรกของการทดลอง โดยลดลงเล็กน้อยในวันแรก เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และฟิล์มเคลือบ PVA ซึ่งเป็นชุดควบคุมลบ และยังคงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อที่ใช้ในการทดสอบทั้ง

สองได้อย่างต่อเนื่อง โดยตรวจไม่พบการรอดชีวิตของเชื้อตั้งแต่วันที่ 1 จนถึงวันที่ 14 ของการทดลอง เช่นเดียวกับฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ PVA 25% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่สามารถลดการเจริญของเชื้อที่ใช้ในการทดสอบทั้งสองได้เล็กน้อยในวันแรกของการทดลอง เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และตรวจไม่พบการรอดชีวิตของเชื้อทั้งสองตลอดระยะเวลา 14 วันของการทดลอง ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของ PVA ที่ 20 และ 25% (น้ำหนัก/ปริมาตร) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* DMST 17303 และ *E. coli* ATCC 25922 ที่ไม่แตกต่างกัน ซึ่งแสดงว่าฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่ความเข้มข้นของ PVA 20 และ 25% (น้ำหนัก/ปริมาตร) มีความเหมาะสมในการใช้สร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิงเพื่อให้ CPC ยึดเกาะ โดยมีประสิทธิภาพในการปลดปล่อย CPC ออกมาจากแผ่นฟิล์มได้ดี และยังคงมีประสิทธิภาพยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 และ *E. coli* ATCC 25922 ได้ดีตลอดระยะเวลา 14 วันของการทดลอง ในงานวิจัยนี้เลือกสารละลาย PVA ที่มีความเข้มข้น 20% (น้ำหนัก/ปริมาตร) มาใช้เป็นพอลิเมอร์เพื่อช่วยในการเคลือบ CPC ลงบนแผ่นฟิล์ม PVDC เพื่อแปรผันความเข้มข้นของ CPC ตั้งแต่ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0% โดยน้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA เนื่องจากผลการทดลองข้างต้นแสดงให้เห็นว่าฟิล์มเคลือบ 1.0% CPC+20% PVA มีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดี นอกจากนี้การใช้สารละลาย PVA ที่ความเข้มข้น 20% (น้ำหนัก/ปริมาตร) จะใช้ปริมาณสาร PVA และ CPC ในปริมาณที่ต่ำกว่า ดังนั้นจึงเป็นข้อได้เปรียบเมื่อนำฟิล์มเคลือบสารละลายผสมดังกล่าวไปใช้จริงกับผลิตภัณฑ์อาหาร ซึ่งต้องมีการสัมผัสกับผลิตภัณฑ์อาหารโดยตรง และยังเป็นทางเลือกต้นทุนในการผลิตฟิล์มเคลือบสารละลายผสมดังกล่าวด้วย นอกจากนี้การใช้ PVA ที่ความเข้มข้น 20% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ในการสร้างเส้นใยบนแผ่นฟิล์มด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิงยังทำได้ง่ายกว่าคือใช้เวลาในการเคลือบสารละลายผสมลงบนแผ่นฟิล์มสั้นกว่าการใช้ความเข้มข้นของ PVA ที่ 25% (น้ำหนัก/ปริมาตร) อีกด้วย

จากผลการทดลองข้างต้นแสดงให้เห็นว่าฟิล์มเคลือบสารละลายผสมระหว่าง CPC และ PVA ที่มีความเข้มข้นของ PVA 20% (น้ำหนัก/ปริมาตร) เป็นความเข้มข้นของ PVA ที่เหมาะสมที่สุด ในการใช้สร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิงเพื่อให้ CPC ยึดเกาะ และช่วยให้ CPC ปลดปล่อยออกจากแผ่นฟิล์มได้ดี ดังนั้นจึงเลือกใช้ฟิล์มเคลือบสารที่ความเข้มข้นดังกล่าวเพื่อศึกษาความเข้มข้นของ CPC ที่มีต่อประสิทธิภาพในการยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 และ *E. coli* ATCC 25922 ในขั้นตอนต่อไป



รูปที่ 4.12 ทฤษฎีการยับยั้งของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ CPC 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) และมีความเข้มข้นของ PVA 20% และ 25% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ต่อ *L. monocytogenes* DMST 17303 ในระยะเวลา 14 วัน



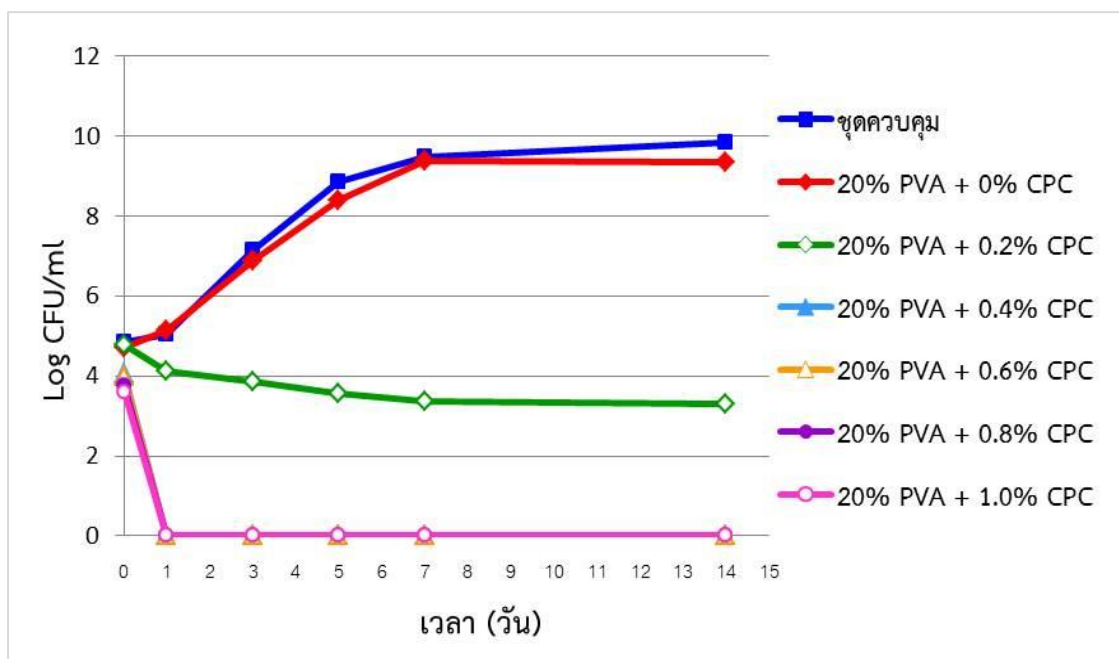
รูปที่ 4.13 ทฤษฎีการยับยั้งของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ CPC 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) และมีความเข้มข้นของ PVA 20% และ 25% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ต่อ *E. coli* ATCC 25922 ในระยะเวลา 14 วัน

4.4 ผลของความเข้มข้นของเซทิลไพรดิเนียมคลอไรด์ (CPC) ต่อฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่ผลิตด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง

การศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ และผลของความเข้มข้นของ CPC ที่มีต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA จะทำการศึกษาโดยแปรผันความเข้มข้นของ CPC บนแผ่นฟิล์ม โดยให้ความเข้มข้นของพอลิเมอร์ PVA คงที่คือ 20% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดในการเคลือบสารละลายผสมดังกล่าวลงบนแผ่นฟิล์ม และแปรผัน CPC ให้มีความเข้มข้น 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) โดยนำตัวอย่างฟิล์มทั้งหมดที่เตรียมได้มาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 และ *E. coli* ATCC 25922 ซึ่งเจริญอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ปริมาตร 3 มล. และ 1 มล. ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 4°C และใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มี *L. monocytogenes* DMST 17303 หรือ *E. coli* ATCC 25922 ที่ไม่มีการใส่ฟิล์มทดสอบใดๆเป็นชุดควบคุม

ภายหลังจากทดลองพบว่าฟิล์มเคลือบ CPC-PVA มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ปริมาตร 3 มล. ที่อุณหภูมิ 4°C ได้ดี นอกจากนี้ยังพบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ของฟิล์มเคลือบสารละลายผสมดังกล่าวจะแปรผันโดยตรงกับความเข้มข้นของ CPC กล่าวคือเมื่อความเข้มข้นของ CPC บนแผ่นฟิล์มสูงขึ้น ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* DMST 17303 จะดีขึ้น โดยสามารถสังเกตได้ในวันแรกของการทดลอง ดังแสดงในรูปที่ 4.14 ซึ่งพบว่าฟิล์มเคลือบสารละลายผสมที่มีความเข้มข้นของ CPC สูงกว่า จะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้ดีกว่า โดยฟิล์มเคลือบสารละลายผสมที่มีความเข้มข้นของ CPC สูงสุดคือ 1.0% โดยน้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA สามารถยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 ได้ตั้งแต่วันแรกของการทดลอง โดยพบปริมาณเชื้อลดลง 1.26 log CFU/ml เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มี *L. monocytogenes* DMST 17303 ซึ่งไม่มีการใส่ฟิล์มทดสอบใดๆ ลงไป ในขณะที่ฟิล์มที่มีความเข้มข้นของ CPC ต่ำสุดคือ 0.2% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) ไม่สามารถยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 ได้ในวันแรกของการทดลอง แต่จะเริ่มสังเกตเห็นการยับยั้งเชื้อได้ในวันที่ 1 โดยพบการลดลงของเชื้อ 0.92 log CFU/ml เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และพบว่าที่ความเข้มข้นต่ำสุดนี้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้อย่างต่อเนื่องตลอดระยะเวลา 14 วัน โดยในวันที่ 14 ของการทดลองพบการรอดชีวิตของเชื่อน้อยกว่าชุดควบคุม 6.02 log CFU/ml ในขณะที่ฟิล์มเคลือบสารละลายผสมที่มีความเข้มข้นของ CPC ตั้งแต่ 0.4, 0.6 และ 0.8% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA)

มีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อได้ดีตั้งแต่วันแรกของการทดลอง และตรวจไม่พบการรอดชีวิตของเชื้อ ในวันที่ 1 จนถึงวันที่ 14 ของการทดลอง นอกจากนี้ยังพบว่าฟิล์มเคลือบ 0% CPC+20% PVA ไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* DMST 17303 โดยเชื้อยังคงมีการเจริญเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องไม่แตกต่างจากชุดควบคุม (รูปที่ 4.14)



รูปที่ 4.14 ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ PVA 20% (น้ำหนัก/ปริมาตร) และมีความเข้มข้นของ CPC 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) ต่อการยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ปริมาตร 3 มล.

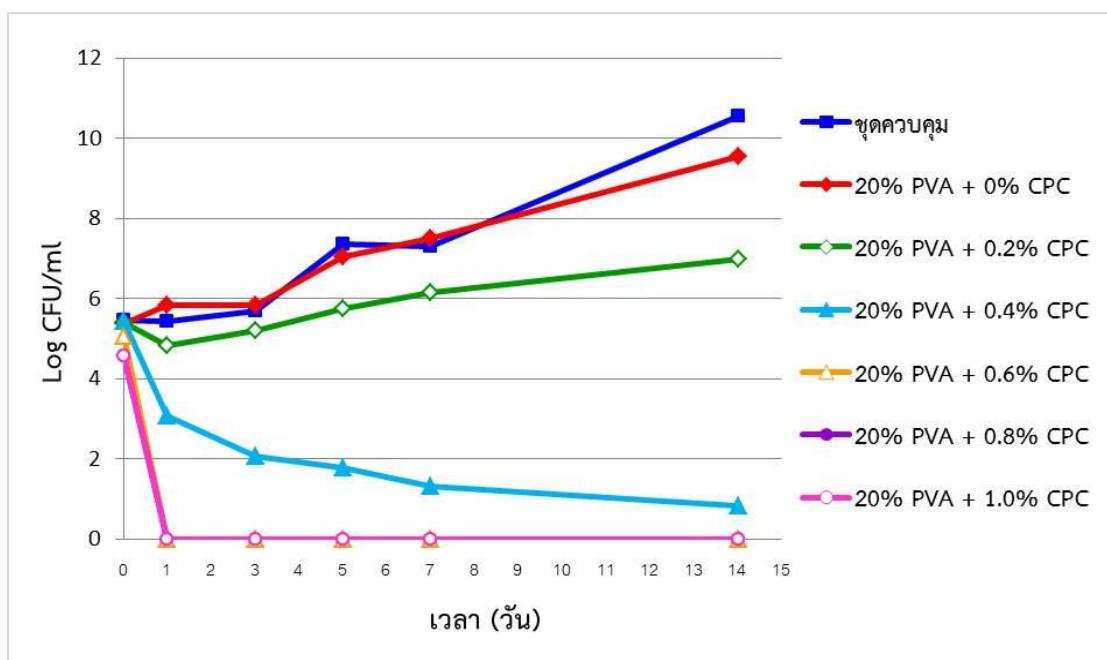
เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ในการยับยั้ง *E. coli* ATCC 25922 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 4°C ภายหลังจากการทดลองพบว่าฟิล์มเคลือบสารละลายผสมดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *E. coli* ATCC 25922 ได้คล้ายกับการยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 ดังแสดงในรูป 4.15 โดยพบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้ง *E. coli* ATCC 25922 จะเพิ่มขึ้น เมื่อมีปริมาณความเข้มข้นของ CPC บนแผ่นฟิล์มสูงขึ้น ซึ่งสังเกตได้ในวันแรกของการทดลอง จากรูปแสดงให้เห็นว่าฟิล์มเคลือบ CPC-PVA มีผลในการยับยั้งเชื้อได้ดีเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งไม่มีการใส่ฟิล์มใดๆ ลงไป โดยพบว่าฟิล์มเคลือบสารละลายผสมที่มีความเข้มข้นของ CPC สูงสุดคือ 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) สามารถ

ลดปริมาณ *E. coli* ATCC 25922 ในวันแรกของการทดลองได้ 0.88 log CFU/ml เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้อย่างต่อเนื่อง โดยตรวจไม่พบในวันที่ 1 จนกระทั่งถึงวันที่ 14 ของการทดลอง ในขณะที่ฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ CPC ต่ำสุดคือ 0.2% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) ไม่สามารถยับยั้ง *E. coli* ATCC 25922 ในวันแรกของการทดลองได้ แต่จะสังเกตเห็นการยับยั้งเกิดขึ้นในวันที่ 1 ของการทดลอง โดยพบปริมาณเชื้อน้อยกว่าชุดควบคุมลง 0.6 log CFU/ml และหลังจากนั้นในวันที่ 3 พบว่าเชื้อเริ่มมีการเจริญเพิ่มขึ้นจนถึงวันที่ 14 ของการทดลอง อย่างไรก็ตามปริมาณเชื้อในวันที่ 14 ยังคงน้อยกว่าปริมาณเชื้อในชุดควบคุม 3.57 log CFU/ml และพบว่าฟิล์มที่มีความเข้มข้นของ CPC 0.4% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) ไม่สามารถยับยั้ง *E. coli* ATCC 25922 ในวันแรกของการทดลองได้เช่นกัน แต่การยับยั้งจะเกิดขึ้นในวันที่ 1 ของการทดลอง โดยพบการรอดชีวิตของเชื่อน้อยกว่าชุดควบคุมลง 2.64 log CFU/ml และยังคงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้อย่างต่อเนื่องตลอดระยะเวลา 14 วันของการทดลอง และฟิล์มที่มีความเข้มข้นของ CPC 0.6 และ 0.8% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) พบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *E. coli* ATCC 25922 ได้ตั้งแต่วันแรกของการทดลอง โดยมีปริมาณเชื้อลดลงเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และยังคงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้ออย่างต่อเนื่อง โดยตรวจไม่พบเชื้อตั้งแต่วันที่ 1 จนถึงวันที่ 14 ของการทดลอง นอกจากนี้ยังพบว่าฟิล์มเคลือบ 0% CPC-PVA ไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *E. coli* ATCC 25922 โดยเชื้อยังคงมีการเจริญเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องไม่แตกต่างจากชุดควบคุม (รูปที่ 4.15)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาผลการทดสอบประสิทธิภาพของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ในการยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 และ *E. coli* ATCC 25922 (รูปที่ 4.14 และ 4.15) อาจกล่าวได้ว่าฟิล์มเคลือบ CPC-PVA มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 ได้ดีกว่า *E. coli* ATCC 25922 โดยสังเกตได้จากประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อของฟิล์มในอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งมีปริมาตรแตกต่างกัน และสังเกตได้ที่ความเข้มข้นของ CPC เท่ากันคือ CPC 0.4% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) ซึ่งสามารถลดปริมาณ *L. monocytogenes* DMST 17303 ได้ทันทีในวันแรกของการทดลอง และยังคงมีประสิทธิภาพยับยั้งเชื้ออย่างต่อเนื่องจนไม่สามารถตรวจพบได้ตลอดระยะเวลา 14 วันของการทดลอง ในขณะที่ความเข้มข้นนี้ไม่สามารถลดปริมาณ *E. coli* ATCC 25922 ได้ในวันแรกของการทดลอง แต่จะสามารถลดปริมาณของเชื้อลงได้ในวันที่ 1 จากนั้นจะมีการลดลงของปริมาณเชื้ออย่างต่อเนื่องจนถึงวันที่ 14 ของการทดลองโดยตรวจพบปริมาณเชื่อน้อยกว่าชุดควบคุม 9.72 log CFU/ml นอกจากนี้ยังสามารถสังเกตได้ที่ความเข้มข้นของ CPC สูงสุดคือ 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) ที่สามารถลดปริมาณ *L. monocytogenes*

DMST 17303 ได้ทันทีในวันแรก โดยพบปริมาณเชื้อลดลงน้อยกว่าชุดควบคุม 1.26 log CFU/ml ในขณะที่ความเข้มข้นนี้สามารถลดปริมาณ *E. coli* ATCC 25922 ในวันแรกของการทดลองได้เพียง 0.85 log CFU/ml เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม จึงอาจเป็นไปได้ว่าฟิล์มเคลือบ CPC-PVA จะมีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 ได้ดีกว่า *E. coli* ATCC 25922 นอกจากนี้ภายหลังจากการทดลองยังพบว่าฟิล์มเคลือบ 0% CPC-PVA ไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 และ *E. coli* ATCC 25922 โดยเชื้อทดสอบทั้งสองยังสามารถเจริญได้ไม่แตกต่างจากชุดควบคุม จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า PVA ไม่ส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อที่ใช้ทดสอบทั้งสองชนิด



รูปที่ 4.15 ประสิทธิภาพของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ CPC 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) และมีความเข้มข้นของ PVA 20% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ต่อการยับยั้ง *E. coli* ATCC 25922 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ปริมาตร 1 มล.

4.5 รูปแบบการปลดปล่อยเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์ (CPC) ที่เคลือบอยู่บนแผ่นฟิล์ม

จากผลการทดลองในข้อ 4.4 แสดงให้เห็นว่าฟิล์มเคลือบ CPC-PVA มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 และ *E. coli* ATCC 25922 ได้ดีตั้งแต่วันแรกของการทดลอง และยังคงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อทั้งสองชนิดอย่างต่อเนื่อง ตลอดระยะเวลา 14 วันของการทดลอง ดังนั้นจึงทำการศึกษารูปแบบการปลดปล่อย CPC จากแผ่นฟิล์มเป็นขั้นตอนต่อไป เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของการเคลือบ CPC ลงบนแผ่นฟิล์มและศึกษาประสิทธิภาพในการปลดปล่อย CPC ออกจากแผ่นฟิล์มในระยะเวลา 14 วันของการทดลอง ซึ่งการทดลองนี้จะใช้ฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ PVA 20% (น้ำหนัก/ปริมาตร) และมีความเข้มข้นของ CPC 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) โดยตัดตัวอย่างฟิล์มใส่ลงในหลอดทดลองซึ่งบรรจุสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.02 โมลาร์ ที่มีค่าความเป็นกรด-เบส เท่ากับ 7.0 จากนั้นนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 14 วัน และเก็บตัวอย่างสารละลายปริมาตร 100 ไมโครลิตร ในวันที่ 0, 1, 3, 5, 7 และ 14 วัน เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณ CPC ที่ปลดปล่อยออกมาจากแผ่นฟิล์มด้วย reverse phase HPLC จากนั้นวิเคราะห์ความเข้มข้นของ CPC ที่ปลดปล่อยออกมาจากแผ่นฟิล์ม โดยคำนวณเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ CPC

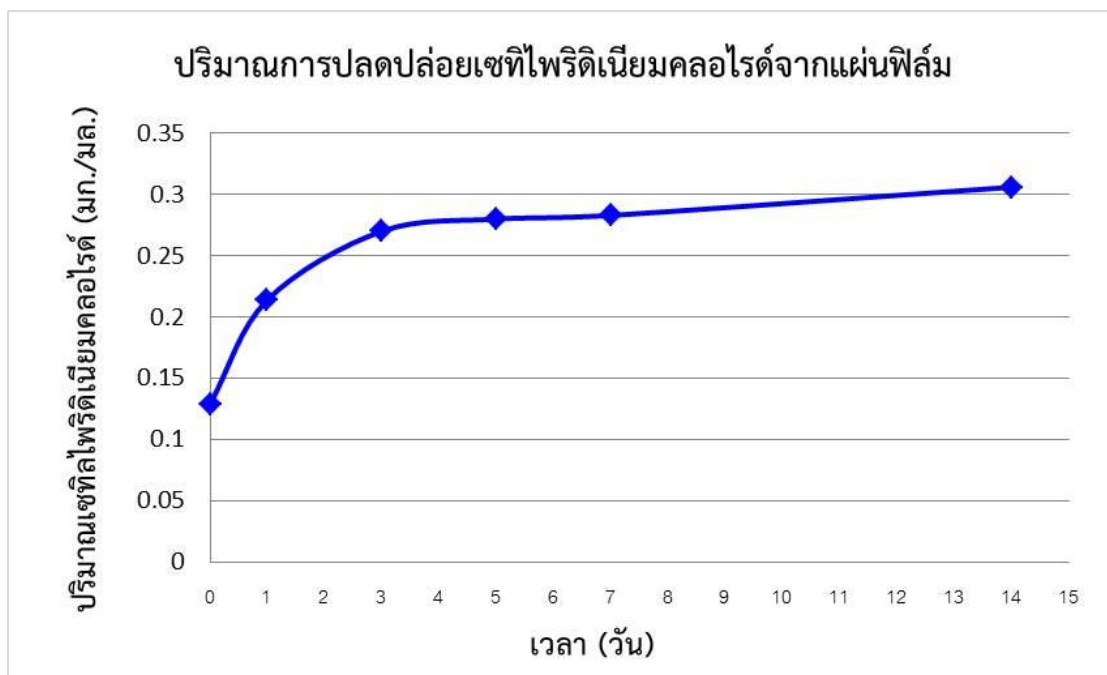
ภายหลังการทดลองพบว่าฟิล์มเคลือบสารละลายผสมระหว่าง CPC และ PVA สามารถปลดปล่อย CPC ออกมาในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ได้ตั้งแต่วันแรกที่มีการนำแผ่นฟิล์มใส่ลงในหลอดทดลอง ซึ่งบรรจุสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์อยู่ ดังแสดงในตารางที่ 4.2 จากตารางแสดงให้เห็นว่าในวันแรกของการทดลองคือในวันที่ 0 ตรวจพบปริมาณ CPC ที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากแผ่นฟิล์ม 0.129 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร หลังจากนั้นจะเริ่มมีการสะสมของปริมาณ CPC ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เพิ่มขึ้นเรื่อยๆเมื่อเวลาผ่านไป 1, 3, 5, 7 และ 14 วัน โดยพบว่าในวันที่ 1 ปริมาณ CPC จะเพิ่มขึ้นจากเดิมเป็น 0.214 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในวันที่ 3, 5 และ 7 ตรวจพบปริมาณ CPC ถูกปลดปล่อยออกมาสะสมอยู่ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ในปริมาณที่แตกต่างกันเพียงเล็กน้อย คือ 0.270, 0.280 และ 0.283 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ และตรวจพบปริมาณ CPC สะสมอยู่ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์สูงสุดในวันที่ 14 ของการทดลอง โดยปริมาณที่ตรวจพบคือ 0.306 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ดังแสดงในรูปที่ 4.16

จากผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่าฟิล์มเคลือบ CPC-PVA สามารถควบคุมการปลดปล่อย CPC ออกจากแผ่นฟิล์มได้ โดยฟิล์มเคลือบสารละลายดังกล่าวจะปลดปล่อย CPC ออกจากแผ่นฟิล์มทีละน้อย โดยผลการปลดปล่อย CPC ออกจากแผ่นฟิล์มเคลือบสารละลายผสมนี้

สอดคล้องกับผลการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ในข้อที่ 4.4 (รูปที่ 4.14 และ 4.15) ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าการเคลือบ CPC-PVA ลงบนแผ่นฟิล์ม PVDC ด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิงเป็นวิธีการที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพ

ตารางที่ 4.2 ปริมาณ CPC (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ที่ปลดปล่อยออกมาในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.02 โมลาร์ ซึ่งมีความเป็นกรด-เบส 7.0 ในระยะเวลา 14 วัน ของแผ่นฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ซึ่งมีความเข้มข้นของ CPC 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) และมีความเข้มข้นของ PVA 20% (น้ำหนัก/ปริมาตร)

เวลา (วัน)	ปริมาณ CPC (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)
0	0.129
1	0.214
3	0.270
5	0.280
7	0.283
14	0.306



รูปที่ 4.16 ปริมาณ CPC (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ที่ปลดปล่อยออกมาในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.02 โมลาร์ ซึ่งมีความเป็นกรด-เบส 7.0 ในระยะเวลา 14 วัน ของแผ่นฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ซึ่งมีความเข้มข้นของ PVA 20% (น้ำหนัก/ปริมาตร) และมีความเข้มข้นของ CPC 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA)

4.6 ประสิทธิภาพของฟิล์มเคลือบสารละลายผสมระหว่างเซทิลไพริติเนียมคลอไรด์ (CPC) และ พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) ที่ผลิตด้วยเทคนิคอิเล็กทรอนิกส์สปินนิง ต่อการยับยั้งจุลินทรีย์บนเนื้อ หมูแช่เย็น

การศึกษาความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA บนเนื้อหมู จะทำการศึกษาโดยใช้ฟิล์มที่มีความเข้มข้นของสารละลาย PVA คงที่คือ 20% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดในการเคลือบสารละลาย CPC-PVA ลงบนแผ่นฟิล์ม และมีความเข้มข้นของ CPC บนแผ่นฟิล์มตั้งแต่ 0.4 ถึง 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 และ *E. coli* ATCC 25922 ได้ดีที่สุดเมื่ออยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยหดยคเชื้อ *L. monocytogenes* DMST 17303 หรือ *E. coli* ATCC 25922 ปริมาณเชื้อตั้งต้น 10^8 - 10^9 CFU/ml ลงด้านบนของเนื้อหมู ตัวอย่าง แล้วตัดตัวอย่างฟิล์มที่เตรียมได้แต่ละความเข้มข้นของ CPC นำมาปิดทับลงด้านบนของ ชิ้นเนื้อหมูตัวอย่าง จากนั้นนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 14 วัน และเก็บตัวอย่างทุก วันที่ 0, 1, 3, 5, 7 และ 14 วัน โดยนำชิ้นเนื้อหมูตัวอย่างมาตีปนด้วยเครื่องตีปน เจือจางด้วย NaCl 0.85% และนำไปเกลี่ยลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PALCAM ซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับ ตรวจนับ *L. monocytogenes* DMST 17303 และ MacConkey ซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับ ตรวจนับ *E. coli* ATCC 25922 นำไปปั่นที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนี และคำนวณอัตราการรอดชีวิตของ *L. monocytogenes* DMST 17303 และ *E. coli* ATCC 25922 โดยให้ตัวอย่างเนื้อหมูที่ปิดทับด้วยฟิล์มเคลือบ PVA เป็นชุดควบคุม

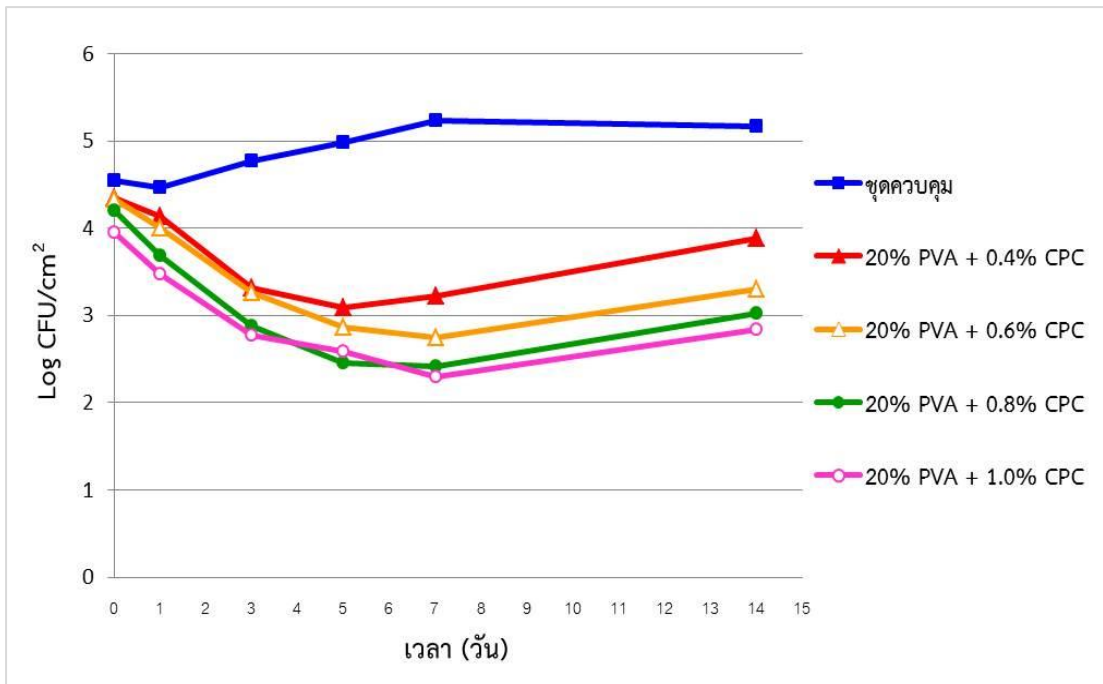
ภายหลังการทดลองพบว่าฟิล์มเคลือบ CPC-PVA สามารถยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 บนเนื้อหมู ซึ่งเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C ได้ ดังแสดงในรูปที่ 4.17 จากรูปแสดงให้เห็นว่าฟิล์มเคลือบสารละลายผสมที่มีความเข้มข้นของ CPC สูงกว่า จะมีประสิทธิภาพในการยับยั้ง เชื้อได้ดีกว่า โดยฟิล์มเคลือบสารละลายผสมที่มีความเข้มข้นของ CPC ต่ำสุดคือ 0.4% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) ก็สามารถแสดงให้เห็นประสิทธิภาพในการยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 ได้ตั้งแต่วันแรกของการทดลอง แต่จะมีการยับยั้งเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อย โดยพบการลดลงของเชื้อ 0.19 log CFU/ml เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และพบว่าที่ความเข้มข้นต่ำสุดนี้มี ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้อย่างต่อเนื่องจนถึงวันที่ 7 ของการทดลอง โดยพบปริมาณเชื้อ น้อยกว่าชุดควบคุม 2.01 log CFU/ml หลังจากนั้นเชื้อจะเริ่มมีการเจริญเพิ่มขึ้นในวันที่ 14 ของ การทดลอง แต่ยังคงพบปริมาณการรอดชีวิตของเชื่อน้อยกว่าในชุดควบคุม นอกจากนี้ยังพบว่าฟิล์ม

เคลือบ CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ CPC 0.6 และ 0.8% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) มีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อได้ตั้งแต่วันแรกของการทดลองเช่นกัน โดยพบปริมาณการรอดชีวิตของเชื้อน้อยกว่าชุดควบคุมเล็กน้อย คือ 0.21 และ 0.34 log CFU/ml ตามลำดับ และยังคงพบการลดลงของเชื้ออย่างต่อเนื่องจนถึงวันที่ 7 ของการทดลอง โดยพบปริมาณเชื้อน้อยกว่าชุดควบคุม 2.47 และ 2.8 log CFU/ml ตามลำดับ หลังจากนั้นเชื้อจะเริ่มเจริญเพิ่มขึ้นจนถึงวันที่ 14 ของการทดลอง อย่างไรก็ตามยังคงพบปริมาณการรอดชีวิตของเชื้อน้อยกว่าในชุดควบคุมเช่นกัน ในขณะที่ฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ซึ่งมีความเข้มข้นของ CPC สูงสุดคือ 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) สามารถยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 บนเนื้อหมูได้ตั้งแต่วันแรกของการทดลอง โดยพบปริมาณเชื้อลดลง 0.6 log CFU/ml เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งเป็นเนื้อหมูที่มี *L. monocytogenes* DMST 17303 และปิดทับด้วยฟิล์มเคลือบ PVA และยังคงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้อย่างต่อเนื่องจนถึงวันที่ 7 ของการทดลอง โดยพบปริมาณการรอดชีวิตของเชื้อน้อยกว่าชุดควบคุม 2.92 log CFU/ml หลังจากนั้นพบว่าปริมาณเชื้อจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อยจากวันที่ 7 จนถึงวันที่ 14 ของการทดลอง แต่ยังคงพบการรอดชีวิตของเชื้อน้อยกว่าในชุดควบคุมเช่นเดิม ผลการทดลองที่ได้ยังคงแสดงให้เห็นว่าประสิทธิภาพในการยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 ของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA บนเนื้อหมูแช่เย็นจะแปรผันโดยตรงกับความเข้มข้นของ CPC บนแผ่นฟิล์ม กล่าวคือประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อบนเนื้อหมูจะมากขึ้นเมื่อความเข้มข้นของ CPC บนแผ่นฟิล์มสูงขึ้น

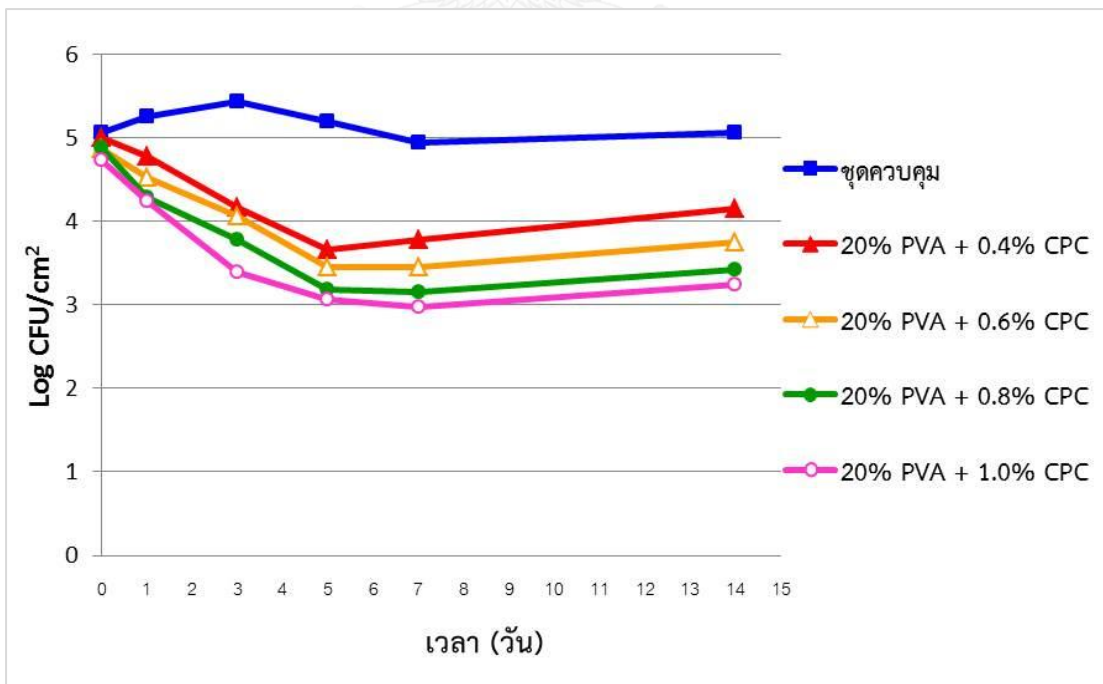
เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของฟิล์มเคลือบ PVA-CPC ในการยับยั้ง *E. coli* ATCC 25922 บนเนื้อหมู ซึ่งเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C ภายหลังจากการทดลองพบว่าฟิล์มเคลือบสารละลายผสมดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *E. coli* ATCC 25922 ได้แตกต่างจากชุดควบคุม ซึ่งเป็นเนื้อหมูที่มี *E. coli* ATCC 25922 และปิดทับด้วยฟิล์มเคลือบ PVA โดยพบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้ง *E. coli* ATCC 25922 จะเพิ่มขึ้น เมื่อมีปริมาณความเข้มข้นของ CPC บนแผ่นฟิล์มสูงขึ้น ดังแสดงในรูป 4.18 จากรูปแสดงให้เห็นว่าฟิล์มเคลือบ CPC-PVA มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *E. coli* ATCC 25922 ได้ดีเมื่อเทียบกับชุดควบคุม โดยพบว่าฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ CPC ต่ำสุดคือ 0.4% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) ไม่สามารถยับยั้ง *E. coli* ATCC 25922 ในวันแรกของการทดลองได้ แต่จะสังเกตเห็นการยับยั้งเกิดขึ้นในวันที่ 1 ของการทดลอง โดยพบปริมาณเชื้อน้อยกว่าชุดควบคุม 0.49 log CFU/ml และยังคงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้อย่างต่อเนื่องจนถึงวันที่ 7 ของการทดลอง โดยพบปริมาณเชื้อน้อยกว่าชุดควบคุม 1.17 log CFU/ml หลังจากนั้นในวันที่ 14 พบเชื้อเจริญเพิ่มขึ้นแต่ยังคงพบว่ามีปริมาณน้อยกว่าในชุดควบคุม ในขณะที่ฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ซึ่งมีความเข้มข้นของ CPC 0.6 และ 0.8% (น้ำหนัก/น้ำหนัก

ของ PVA) พบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *E. coli* ATCC 25922 ได้เล็กน้อยในวันแรกของการทดลอง โดยมีปริมาณเชื้อเท่ากันคือลดลง 0.18 log CFU/ml เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม แต่ที่ความเข้มข้นของ CPC ทั้งสองความเข้มข้นนี้ยังคงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้อย่างต่อเนื่อง จนกระทั่งถึงวันที่ 7 ของการทดลอง โดยตรวจพบปริมาณเชื่อน้อยกว่าชุดควบคุม 1.49 และ 1.79 log CFU/ml หลังจากนั้นเชื้อจะเริ่มมีการเจริญเพิ่มขึ้น โดยตรวจพบได้ในวันที่ 14 ของการทดลอง อย่างไรก็ตามยังคงตรวจพบปริมาณการรอดชีวิตของเชื่อน้อยกว่าในชุดควบคุมเช่นกัน ในขณะที่ฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ CPC สูงสุดคือ 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) สามารถลดปริมาณ *E. coli* ATCC 25922 ในวันแรกของการทดลองได้ 0.32 log CFU/ml เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้อย่างต่อเนื่อง โดยพบปริมาณเชือลดลงจนถึงวันที่ 7 ซึ่งตรวจพบปริมาณเชือลดลงน้อยกว่าชุดควบคุม 1.96 log CFU/ml และพบปริมาณเชื้อเพิ่มมากขึ้นในวันที่ 14 ของการทดลอง อย่างไรก็ตามปริมาณการรอดชีวิตของเชื้อยังคงน้อยกว่าในชุดควบคุม

เมื่อพิจารณาผลการทดสอบประสิทธิภาพของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ในการยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 และ *E. coli* ATCC 25922 บนเนื้อหมูแช่เย็น (รูปที่ 4.17 และ 4.18) พบว่าฟิล์มเคลือบสารละลายผสมดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 และ *E. coli* ATCC 25922 บนเนื้อหมูได้แตกต่างกัน และอาจกล่าวได้ว่าฟิล์มเคลือบ CPC-PVA มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 ได้ดีกว่า *E. coli* ATCC 25922 โดยสังเกตได้จากประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อของฟิล์มเคลือบสารละลายผสมทุกความเข้มข้นของ CPC จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า CPC มีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์แต่ละสายพันธุ์แตกต่างกัน โดยพบว่า CPC มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก ได้ดีกว่า *E. coli* ATCC 25922 ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ ดังนั้นหากต้องการให้ฟิล์มเคลือบสารละลายผสมดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *E. coli* ATCC 25922 ได้ดีขึ้น ควรใช้ฟิล์มที่มีปริมาณความเข้มข้นของ CPC สูงกว่านี้ แต่อย่างไรก็ตามยังคงพบว่าฟิล์มเคลือบสารละลายผสมที่มีความเข้มข้นของ CPC ที่ใช้ในการทดลองยังคงมีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *E. coli* ATCC 25922 ได้ โดยยังคงพบปริมาณการรอดชีวิตของเชื่อน้อยกว่าในชุดควบคุม ตลอดระยะเวลา 14 วันของการทดลอง



รูปที่ 4.17 ประสิทธิภาพของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ในการยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 บนเนื้อหมูแช่เย็น ที่อุณหภูมิ 4°C



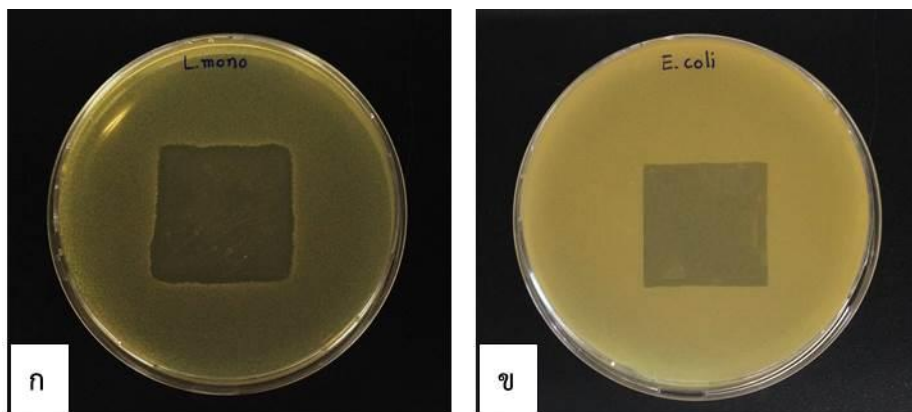
รูปที่ 4.18 ประสิทธิภาพของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ในการยับยั้ง *E. coli* ATCC 25922 บนเนื้อหมูแช่เย็น ที่อุณหภูมิ 4°C

4.7 ความเสถียรในการยับยั้งจุลินทรีย์ของฟิล์มเคลือบสารละลายผสมระหว่างเซทิลไพรดิเนียม คลอไรด์ (CPC) และพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) ที่ผลิตด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง

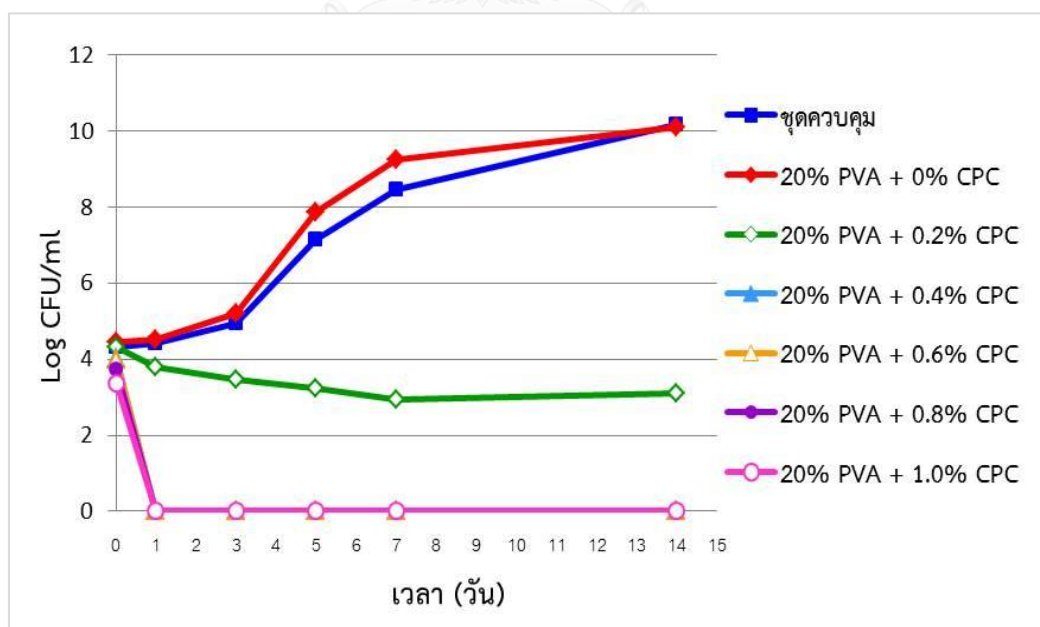
การศึกษาความเสถียรในการออกฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA จะนำฟิล์มเคลือบสารละลาย CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ PVA 20% (น้ำหนัก/ปริมาตร) และมีความเข้มข้นของ CPC 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) มาใช้ในการทดสอบ โดยนำตัวอย่างฟิล์มทั้งหมดมาเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้องภายใต้ภาวะดูดความชื้น เป็นระยะเวลา 3 เดือน และในช่วงระยะเวลาเก็บรักษาฟิล์มนี้ จะนำฟิล์มเคลือบ CPC-PVA แต่ละความเข้มข้นของ CPC มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 และ *E. coli* ATCC 25922 เมื่อครบเวลา 1, 2 และ 3 เดือนที่เก็บรักษาฟิล์ม ตามลำดับ โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มี *L. monocytogenes* DMST 17303 หรือ *E. coli* ATCC 25922 ที่ไม่มีการใส่ฟิล์มทดสอบใดๆ เป็นชุดควบคุม

การทดสอบความเสถียรในการยับยั้งจุลินทรีย์ของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 1 เดือน โดยนำฟิล์มเคลือบ 1.0% CPC-PVA ซึ่งเป็นฟิล์มที่มีความเข้มข้นของ CPC สูงสุดมาทดสอบประสิทธิภาพการออกฤทธิ์ยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 และ *E. coli* ATCC 25922 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ในเบื่องตัน ภายหลังการทดลองพบว่าฟิล์มเคลือบ 1.0% CPC-PVA ยังคงมีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อที่ใช้ทดสอบทั้งสองได้ดี โดยสามารถสังเกตเห็นบริเวณใสของการยับยั้งเกิดขึ้นอย่างชัดเจน ดังแสดงในรูปที่ 4.19 จากรูปแสดงให้เห็นว่าฟิล์มที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 1 เดือนยังคงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อที่ใช้ทดสอบทั้งสองได้ไม่แตกต่างจากฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่เตรียมได้ทันที (การทดลองที่ 4.2 รูปที่ 4.10 และรูปที่ 4.11) และเมื่อนำฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ทุกความเข้มข้นของ CPC มาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อทดสอบทั้งสองในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB พบว่าฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ทุกความเข้มข้นของ CPC สามารถลดปริมาณการรอดชีวิตของ *L. monocytogenes* DMST 17303 ได้ดี และยังคงแยกทิวดีในการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้อย่างต่อเนื่องตลอดระยะเวลา 14 วันของการทดลอง ดังแสดงในรูปที่ 4.20 สำหรับการยับยั้ง *E. coli* ATCC 25922 พบว่าฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ CPC ตั้งแต่ 0.4% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) ขึ้นไป สามารถลดปริมาณ *E. coli* ATCC 25922 ลงได้ และสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้อย่างต่อเนื่องตลอดระยะเวลา 14 วันของการทดลอง ดังแสดงในรูป 4.21 โดยฤทธิ์การยับยั้งเชื้อทดสอบทั้งสองนี้แตกต่างจากฟิล์มเคลือบ 0% CPC-PVA และชุดควบคุมอย่างชัดเจน ผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่าฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่ผ่านการเก็บ

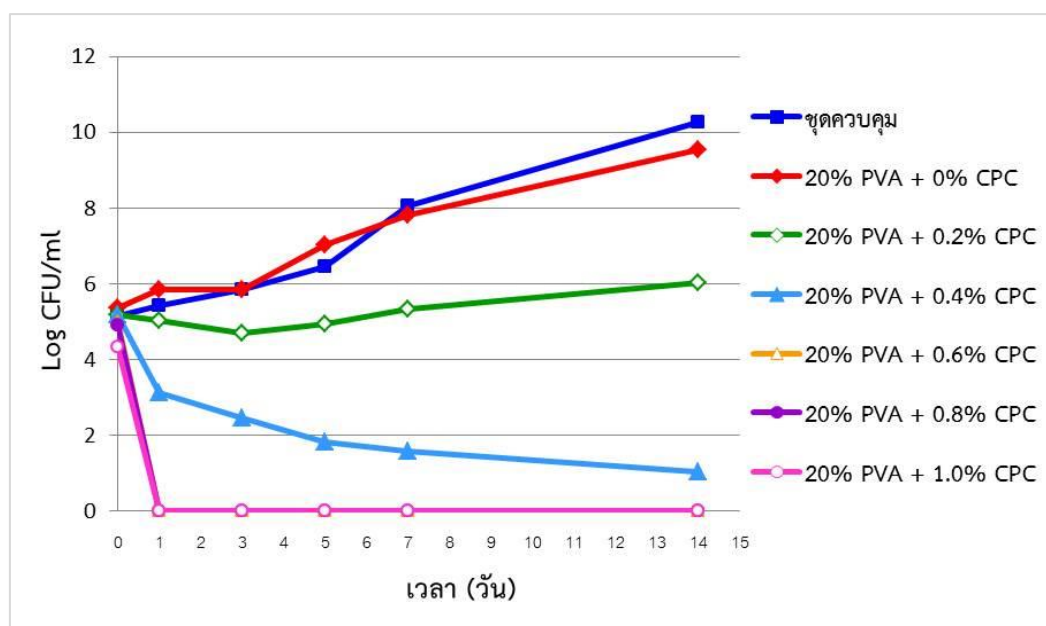
รักษาเป็นระยะเวลา 1 เดือน มีความเสถียรในการยับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes* DMST 17303 และ *E. coli* ATCC 25922 โดยมีประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อทดสอบทั้งสองได้ไม่แตกต่างจากฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่เตรียมได้ทันที (การทดลองที่ 4.4 รูปที่ 4.14 และ 4.15)



รูปที่ 4.19 ประสิทธิภาพการยับยั้งของฟิล์มเคลือบ 1.0% CPC-PVA ที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 1 เดือน บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ในการยับยั้ง (ก) *L. monocytogenes* DMST 17303 (ข) *E. coli* ATCC 25922



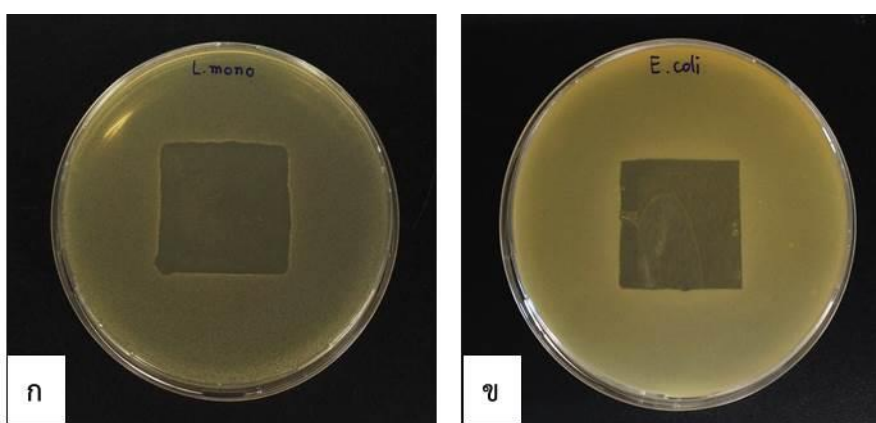
รูปที่ 4.20 ฤทธิ์การยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ปริมาตร 3 มล. ของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 1 เดือน



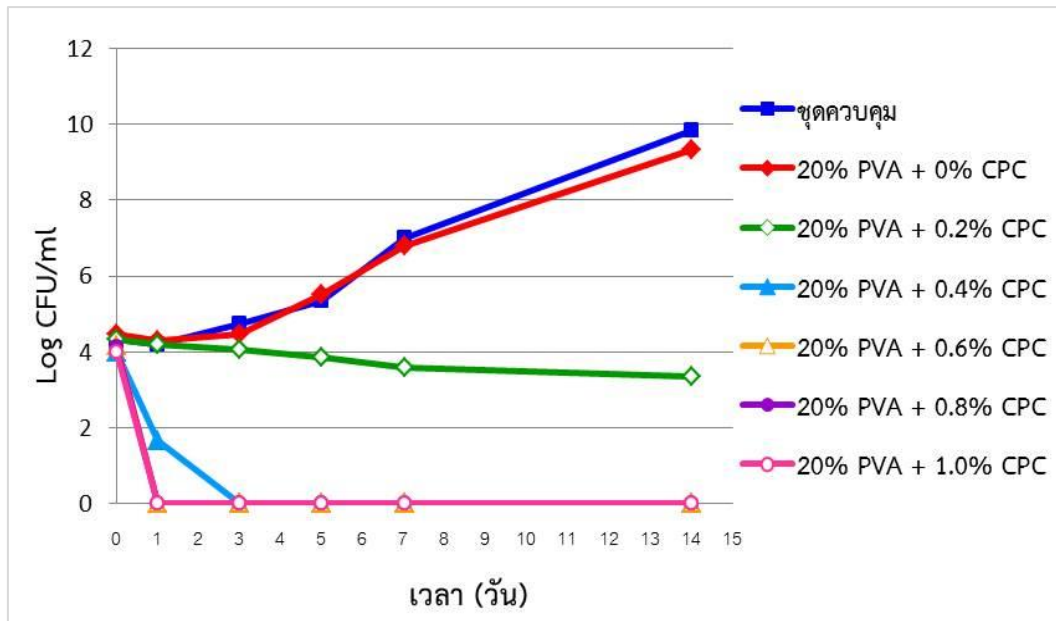
รูปที่ 4.21 การยับยั้ง *E. coli* ATCC 25922 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ปริมาตร 1 มล. ของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 1 เดือน

ภายหลังการเก็บรักษาฟิล์มเคลือบ CPC-PVA เป็นระยะเวลา 2 เดือน แล้วนำมาทดสอบการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* DMST 17303 และ *E. coli* ATCC 25922 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ในเบื้องต้น พบว่าฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ยังคงมีเอกลักษณ์ในการยับยั้งเชื้อทดสอบทั้งสองได้ดี ดังแสดงในรูป 4.22 โดยยังคงสังเกตเห็นบริเวณใสของการยับยั้งเกิดขึ้นอย่างชัดเจน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 2 เดือนยังคงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อที่ใช้ทดสอบทั้งสองไม่แตกต่างจากฟิล์มที่เตรียมได้ทันที (การทดลองที่ 4.2 รูปที่ 4.10 และรูปที่ 4.11) และฟิล์มที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 1 เดือน (รูปที่ 4.19) และเมื่อทดสอบประสิทธิภาพการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อทดสอบทั้งสองในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB พบว่าฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ทุกความเข้มข้นของ CPC สามารถลดปริมาณการรอดชีวิตของ *L. monocytogenes* DMST 17303 ได้ดี และยังคงเอกลักษณ์ในการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้อย่างต่อเนื่องตลอดระยะเวลา 14 วันของการทดลอง แตกต่างจากฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่เตรียมได้ทันที (การทดลองที่ 4.4 รูปที่ 4.14) และที่เก็บรักษาไว้เป็นระยะเวลา 1 เดือน (รูปที่ 4.20) เพียงเล็กน้อย โดยสังเกตได้ในฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ CPC 0.4% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) ดังแสดงในรูปที่ 4.23 สำหรับการยับยั้ง *E. coli* ATCC 25922 พบว่าฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ CPC ตั้งแต่ 0.4% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) ขึ้นไป

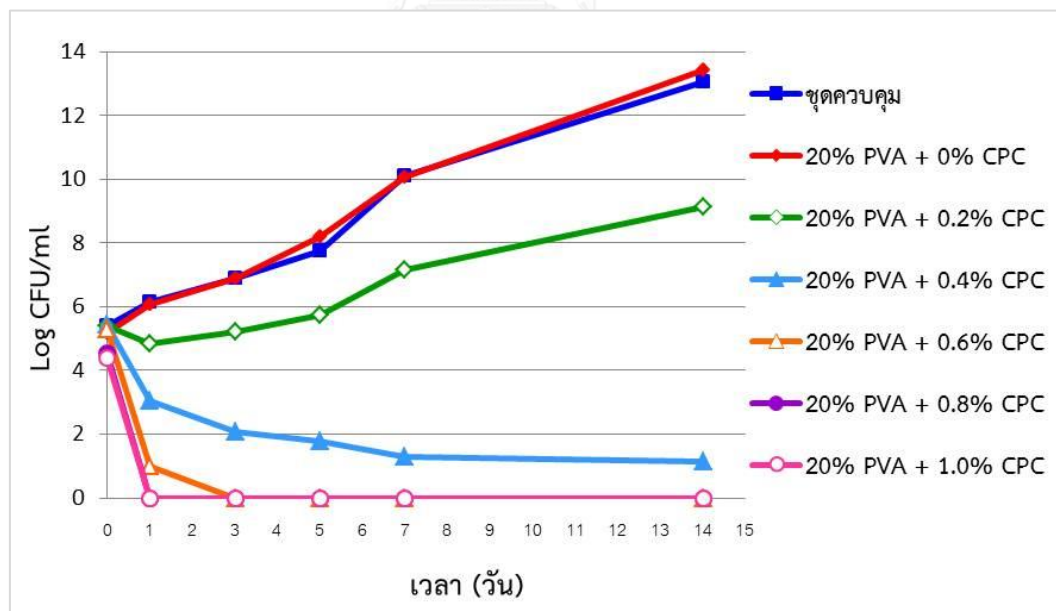
ยังคงแอกทิวิตีในการยับยั้งการเจริญของ *E. coli* ATCC 25922 ได้ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 14 วัน โดยสังเกตเห็นความแตกต่างจากฟิล์มที่เตรียมได้ทันที (การทดลองที่ 4.4 รูปที่ 4.15) และที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 1 เดือน (รูปที่ 4.21) เพียงเล็กน้อย ซึ่งสังเกตได้ในฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ CPC 0.6% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) ดังแสดงในรูป 4.24 ผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่าฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 2 เดือน มีความเสถียรในการยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 และ *E. coli* ATCC 25922 ได้ โดยมีประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแตกต่างจากฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่เตรียมได้ทันที และที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 1 เดือนเพียงเล็กน้อยเท่านั้น



รูปที่ 4.22 ประสิทธิภาพการยับยั้งของฟิล์มเคลือบ 1.0% CPC-PVA ที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 2 เดือน บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ในการยับยั้ง (ก) *L. monocytogenes* DMST 17303 (ข) *E. coli* ATCC 25922

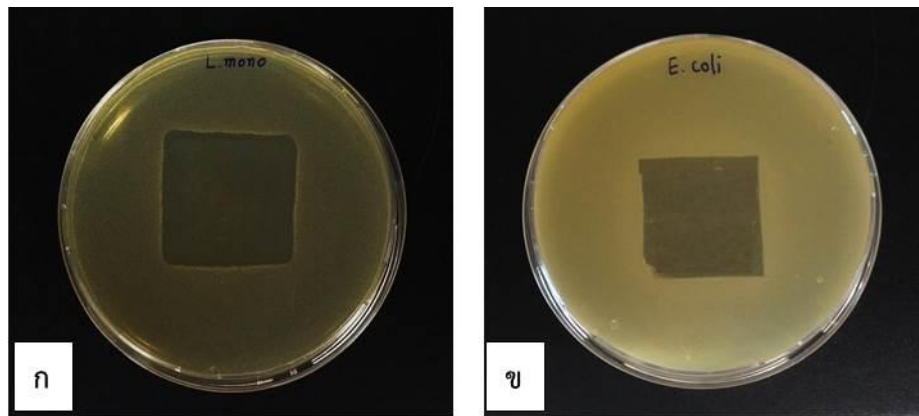


รูปที่ 4.23 การยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ปริมาตร 3 มล. ของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 2 เดือน

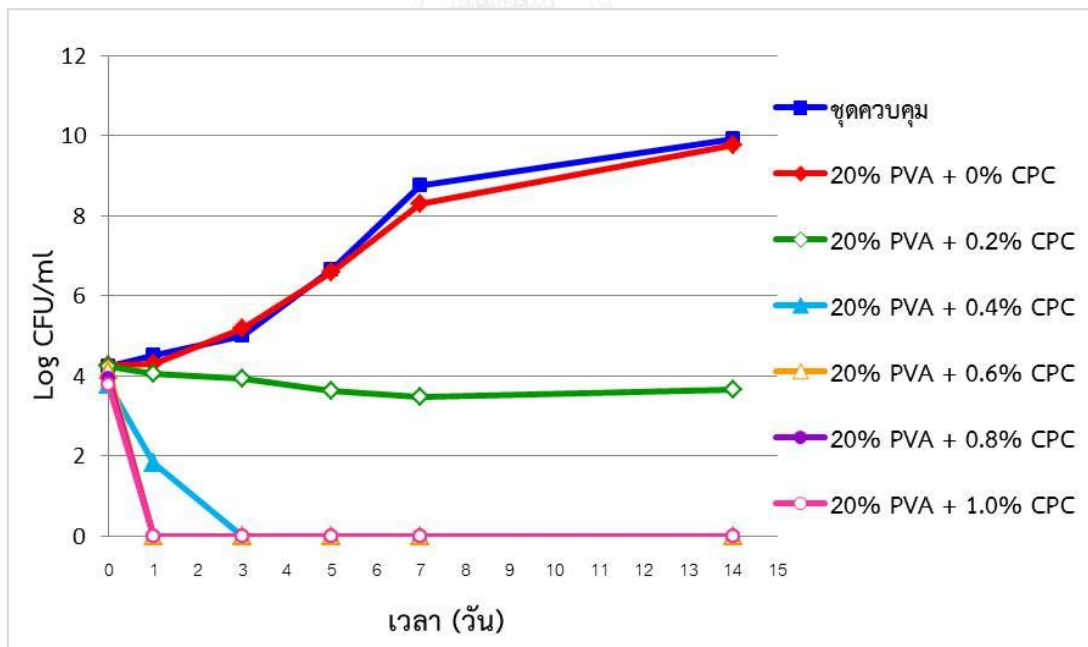


รูปที่ 4.24 การยับยั้ง *E. coli* ATCC 25922 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ปริมาตร 1 มล. ของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 2 เดือน

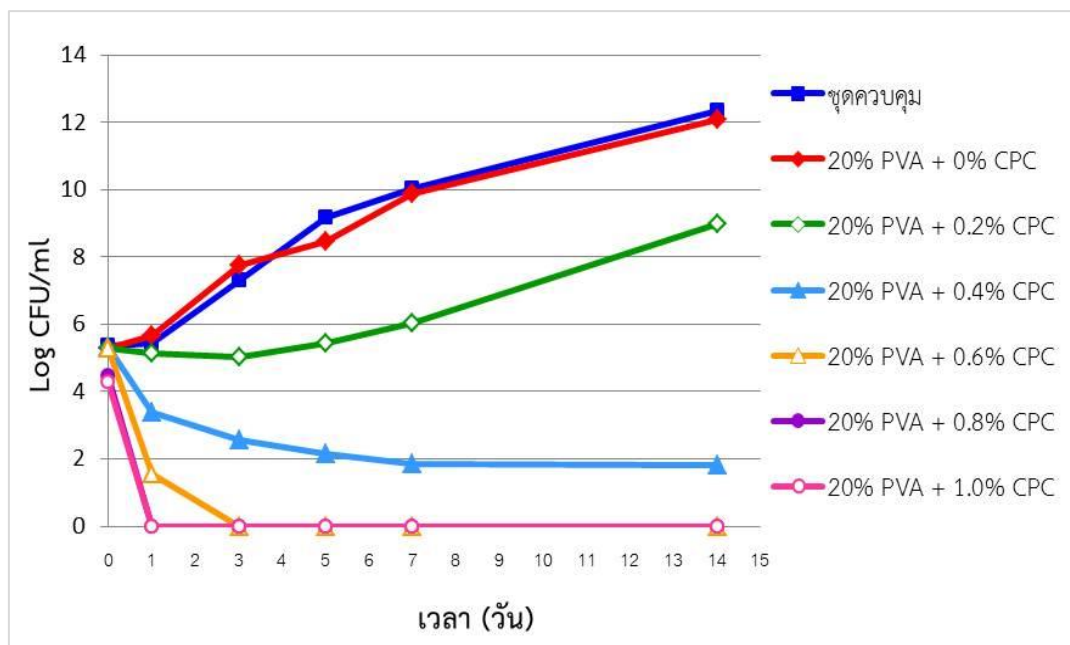
เมื่อศึกษาความเสถียรของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่ผ่านการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 3 เดือน ต่อการยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 และ *E. coli* ATCC 25922 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ในเบื่องตัน ภายหลังจากทดลองพบว่าฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ยังคงมีเอกลักษณ์ในการยับยั้งเชื้อที่ใช้ทดสอบทั้งสองได้ดี โดยยังสามารถสังเกตเห็นบริเวณใสของการยับยั้งเชื้อทดสอบทั้งสองได้อย่างชัดเจน ดังแสดงในรูป 4.25 ไม่แตกต่างจากฟิล์มที่เตรียมได้ทันที (ผลการทดลองข้อ 4.2 รูปที่ 4.10 และ 4.11) ฟิล์มที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 1 เดือน (รูปที่ 4.19) และฟิล์มที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 2 เดือน (รูปที่ 4.22) และเมื่อทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อที่ใช้ทดสอบทั้งสองในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB พบว่าฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ทุกความเข้มข้นของ CPC สามารถลดปริมาณการรอดชีวิตของ *L. monocytogenes* DMST 17303 ลงได้ และสามารถคงเอกลักษณ์ในการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้อย่างต่อเนื่องตลอดระยะเวลา 14 วันของการทดลอง ซึ่งฤทธิ์การยับยั้งนี้มีความแตกต่างจากฟิล์มที่เตรียมได้ทันที (การทดลองที่ 4.4 รูปที่ 4.14) และฟิล์มที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 1 (รูปที่ 4.20) และ 2 เดือนเพียงเล็กน้อย (รูปที่ 4.23) โดยสังเกตได้ในฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ CPC 0.4% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) แสดงในรูป 4.26 สำหรับประสิทธิภาพในการยับยั้ง *E. coli* ATCC 25922 พบว่าฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ CPC ตั้งแต่ 0.4% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) ขึ้นไป มีประสิทธิภาพที่ดีในการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้อย่างต่อเนื่องตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 14 วันของการทดลอง ซึ่งฤทธิ์การยับยั้งนี้แตกต่างจากฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่เตรียมได้ทันที (การทดลองที่ 4.4 รูปที่ 4.15) และที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 1 (รูปที่ 4.21) และ 2 เดือนเพียงเล็กน้อยเช่นกัน (รูปที่ 4.24) โดยสังเกตได้ในฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ CPC 0.4 และ 0.6% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) ดังแสดงในรูป 4.27 ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 3 เดือน มีความเสถียรในการยับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes* DMST 17303 และ *E. coli* ATCC 25922 ได้ โดยมีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อทดสอบทั้งสองแตกต่างจากฟิล์มเคลือบ PVA-CPC ที่เตรียมได้ทันที และที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 1 และ 2 เดือนเพียงเล็กน้อย



รูปที่ 4.25 ประสิทธิภาพการยับยั้งของฟิล์มเคลือบ 1.0% CPC-PVA ที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 3 เดือน บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ในการยับยั้ง (ก) *L. monocytogenes* DMST 17303 (ข) *E. coli* ATCC 25922



รูปที่ 4.26 ฤทธิ์การยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ปริมาตร 3 มล. ของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 3 เดือน



รูปที่ 4.27 ฤทธิ์การยับยั้ง *E. coli* ATCC 25922 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ปริมาตร 1 มล. ของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 3 เดือน

จากผลการทดลองข้างต้นชี้ให้เห็นว่าฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่เตรียมได้จากเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิงมีความความเสถียรในการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* DMST 17303 และ *E. coli* ATCC 25922 แม้ผ่านการเก็บรักษาฟิล์มที่อุณหภูมิห้องภายใต้ภาวะดูดความชื้น เป็นระยะเวลา 3 เดือน โดยฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่ความเข้มข้นของ CPC 0.4% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) ขึ้นไป ยังคงแสดงให้เห็นประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อที่ใช้ทดสอบทั้งสองได้ดี โดยไม่สูญเสียแอกทิวิตีในการยับยั้งเชื้อทดสอบทั้งสอง ตลอดระยะเวลา 3 เดือนที่ทำการเก็บรักษาฟิล์มเคลือบดังกล่าว

บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

เซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์ (CPC) เป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ถูกนำมาใช้งานอย่างแพร่หลาย โดยได้รับการยอมรับว่าเป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพและสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้หลายชนิด อาทิเช่น *L. monocytogenes*, *E. coli*, *S. Typhirium* และ *Campylobacter jejuni* (Pohlmana และคณะ, 2002) เป็นต้น และเนื่องจากเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์สามารถละลายน้ำได้ง่าย ไม่มีสี และมีค่าความเป็นกรด-เบสที่เป็นกลาง จึงไม่ส่งผลกระทบต่อลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์อาหาร (Cutter และคณะ, 2000) ดังนั้นจึงมีการนำเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์มาใช้เป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์ในอุตสาหกรรมอาหารแปรรูปต่างๆ หลายชนิด โดยส่วนใหญ่นิยมใช้เป็นสารลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิตเนื้อสัตว์ ผักสดและผลไม้แปรรูป (Yang และคณะ, 2003) นอกจากนี้เซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์ยังได้รับการรับรองจากองค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกา (FDA) ว่าเป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพและมีความปลอดภัย จึงอนุญาตให้ใช้เซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์เป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์อาหารได้ (Al-Musallam และคณะ, 2006) อย่างไรก็ตามจากงานวิจัยที่ผ่านมาการใช้เซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์ในกระบวนการผลิตเนื้อสัตว์ ผักสดและผลไม้แปรรูป พบเพียงวิธีการจุ่มหรือฉีดพ่นโดยตรงลงบนผลิตภัณฑ์เท่านั้น (Cutter และคณะ, 2000; Wang และคณะ, 2001; Lim และ Mustapha, 2004) ดังนั้นการนำเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์มาใช้ในรูปแบบอื่นจึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจ

จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าประสิทธิภาพของเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์ในการลดปริมาณจุลินทรีย์จะมีสูงกว่าเมื่อสารสัมผัสกับผลิตภัณฑ์เป็นเวลานานขึ้น (Kim และ Slavik, 1996) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมีแนวคิดประยุกต์ใช้เซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์ในรูปแบบใหม่ โดยสนใจประยุกต์ใช้เซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์ในรูปแบบของฟิล์มบรรจุภัณฑ์อาหาร ซึ่งเป็นรูปแบบของบรรจุภัณฑ์ที่ได้รับความนิยมและมีการใช้งานมากที่สุด เนื่องจากสามารถใช้งานได้สะดวก และพบว่ามีประสิทธิภาพในการช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ได้ (Tripathi และคณะ, 2010) การประยุกต์ใช้เซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์ในรูปแบบฟิล์มบรรจุภัณฑ์ยังเป็นการหลีกเลี่ยงการใช้สารโดยตรงกับผลิตภัณฑ์อาหาร ซึ่งถือเป็นการเพิ่มความปลอดภัยและรักษาคุณภาพหรือลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์อาหารในระหว่างการเก็บรักษาด้วย โดยสิ่งที่จะต้องคำนึงถึงในการนำเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์มาประยุกต์ใช้ในรูปแบบฟิล์มคือวิธีการ และภาวะที่ใช้ในขั้นตอนการเตรียมฟิล์ม ซึ่งต้องไม่ส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพของเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์ในการออกฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ (Cooksey, 2005) นอกจากนี้เซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์ที่อยู่ในรูปแบบแผ่นฟิล์มต้องสามารถปลดปล่อยออกมาในอัตราที่

เหมาะสม และยังคงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดีหลังจากผ่านกระบวนการเตรียมและการนำไปประยุกต์ใช้ (Quintavalla และ Vicini, 2002)

งานวิจัยนี้จึงสนใจการเคลือบเซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์ (CPC) ลงบนแผ่นฟิล์มโดยใช้เทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง ซึ่งเป็นเทคนิคที่ใช้ประจุไฟฟ้าในการสร้างเส้นใยพอลิเมอร์ในระดับนาโนเมตร และมีการนำไปประยุกต์ใช้งานในด้านต่างๆ อย่างหลากหลาย เนื่องจากเป็นเทคนิคที่ไม่ซับซ้อน มีหลักการการทำงานที่เข้าใจได้ง่าย สะดวก และสามารถควบคุมปัจจัยต่างๆ ในกระบวนการได้ง่าย (Deitzel และคณะ, 2002; Fong และคณะ, 2002) โดยเลือกสร้างเส้นใยเซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์ด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิงลงบนแผ่นฟิล์มพอลิไวนิลิดีนคลอไรด์ (PVDC) ซึ่งมีชื่อทางการค้าว่า “SARAN” ฟิล์ม PVDC เป็นฟิล์มพลาสติกชนิดโปร่งใสที่นิยมใช้ห่อหุ้มอาหาร เนื่องจากมีความเหนียวและสามารถป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำ แก๊ส และกลิ่นได้เป็นอย่างดี (Bachman และคณะ, 1951; Gait และ Hancock, 1970)

จากการศึกษาในเบื้องต้นพบว่า CPC ที่ละลายในน้ำกลั่นปลอดประจุ ไม่สามารถเคลือบหรือสร้างเส้นใยลงบนแผ่นฟิล์มด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิงได้ ซึ่งอาจเกิดขึ้นเนื่องจากความเหนียวของสารละลายที่ต่ำเกินไป ส่งผลให้สารละลายไหลออกจากหลอดบรรจุสารละลายลงสู่แผ่นรองรับเส้นใยอย่างรวดเร็ว จึงเกิดการรวมตัวของอนุภาคแทนการเกิดเส้นใยบนแผ่นฟิล์ม หรืออาจเกิดจากผลของประจุภายในโครงสร้างของ CPC ซึ่งมีทั้งประจุบวกและประจุลบ จึงมีผลต่อแรงผลัทางไฟฟ้าสถิตที่เกิดขึ้นภายในกระบวนการ ส่งผลให้เกิดหยดสารละลายขนาดเล็กพุ่งออกมาจากปลายเข็มฉีดยาแล้วแตกเป็นละอองฝอยบนแผ่นฟิล์มแทนการเกิดเส้นใย โดยลักษณะดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัยของ Bani-Jaber และคณะ (2000) ซึ่งศึกษาการเคลือบไนซินซึ่งเป็นสารที่มีทั้งประจุบวกและประจุลบอยู่ภายในโครงสร้างลงบนแผ่นฟิล์มด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง โดยพบว่าประจุภายในโครงสร้างไนซินสามารถส่งผลกระทบต่อลักษณะและการกระจายตัวของเส้นใยได้ จึงเป็นไปได้ว่าประจุภายในโครงสร้างของ CPC อาจส่งผลกระทบต่อลักษณะและการกระจายตัวของเส้นใยได้เช่นกัน ดังนั้นการสร้างเส้นใย CPC ลงบนแผ่นฟิล์มด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิงจึงจำเป็นต้องมีพอลิเมอร์เพื่อช่วยในการสร้างเส้นใย เพื่อให้ CPC สามารถเคลือบอยู่บนแผ่นฟิล์มได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) เป็นพอลิเมอร์เพื่อช่วยในการสร้างเส้นใย เนื่องจาก PVA ได้รับการรับรองจากสำนักงานความปลอดภัยแห่งสหภาพยุโรป (EFSA) ว่าเป็นสารที่ปลอดภัย และสามารถใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารได้ (Tripathi และคณะ, 2009) และจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าเมื่อใช้ PVA กับผลิตภัณฑ์อาหารที่มีค่าความเป็นกรด-เบสเป็นกลาง และเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องหรืออุณหภูมิต่ำ PVA จะไม่เกิดการสลายตัวและไม่มีผลต่อสมบัติการละลายน้ำ โดยโครงสร้างของ PVA จะไม่เกิดปฏิกิริยาไฮโดรลิซิสของหมู่เอสเทอร์ที่เหลืออยู่ หรือ

เกิดปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน (esterification) ภายใต้ภาวะการใช้งานและการเก็บรักษา โดย PVA อาจส่งผลกระทบต่อองค์ประกอบของอาหารเพียงเล็กน้อยเท่านั้น (Taniguchi และ Ohkita, 1977) ดังนั้น PVA จึงเหมาะสมอย่างยิ่งที่จะนำมาประยุกต์ใช้งานกับผลิตภัณฑ์อาหาร นอกจากนี้ในตัวอย่างงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า PVA มีสมบัติที่ดีในการสร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิงอีกด้วย (Shao และคณะ, 2003) และเนื่องจาก PVA เป็นสารที่ไม่มีประจุและไม่เป็นพิษ (Safi และคณะ, 2007) จึงมีความเหมาะสมที่จะนำมาใช้เพื่อช่วยเพิ่มความหนืดของสาร และช่วยในการกระจายประจุของเซทิลไพริดีนียมคลอไรด์ในระหว่างกระบวนการสร้างเส้นใยลงบนแผ่นฟิล์ม (Ignatova และคณะ, 2006)

นอกจากนี้ในงานวิจัยนี้ยังได้ศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่ผลิตด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง โดยนำฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่ผลิตได้ไปทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 และ *E. coli* ATCC 25922 บนผลิตภัณฑ์เนื้อหมูแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4°C ทั้งนี้เพื่อแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่ผลิตด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิงเมื่อมีการนำไปประยุกต์ใช้งานกับผลิตภัณฑ์อาหารจริงในอนาคตต่อไป

ในการเคลือบเซทิลไพริดีนียมคลอไรด์ (CPC) ลงบนแผ่นฟิล์มโดยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง ได้ศึกษาหาความเข้มข้นของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) ที่เหมาะสมสำหรับใช้เตรียมสารละลายผสม CPC-PVA เพื่อใช้เคลือบลงบนแผ่นฟิล์ม โดยควบคุมปัจจัยต่างๆที่ใช้ในกระบวนการสร้างเส้นใยให้คงที่ตลอดการทดลอง ภายหลังจากเตรียมสารละลาย CPC-PVA เพื่อเตรียมเคลือบลงบนแผ่นฟิล์มพบว่า PVA ที่มีความเข้มข้น 10-25% (น้ำหนัก/ปริมาตร) สามารถละลายในน้ำกลั่นปลอดประจุได้ดี สารละลายที่ได้มีลักษณะใส ไม่มีสี และเมื่อผสมกับ CPC ที่มีความเข้มข้นสูงสุดคือ 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) สารละลายที่ได้ยังคงมีลักษณะใส ไม่มีสีเช่นเดิม และพบว่าเมื่อ PVA มีความเข้มข้นสูงขึ้น จะต้องใช้เวลาในการละลายสารเพิ่มขึ้น ซึ่งสารละลายที่ได้จะมีความหนืดสูงขึ้นตามความเข้มข้น โดยความเข้มข้นสูงสุดของ CPC ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ไม่ส่งผลกระทบต่อความหนืดของสารละลาย PVA นอกจากนี้หากต้องการให้ PVA ที่มีความเข้มข้นสูงสามารถละลายน้ำได้เร็วขึ้น สามารถให้ความร้อนเล็กน้อยประมาณ 40°C แก่สารละลายได้ หลังจากนั้นตั้งทิ้งไว้ให้อุณหภูมิลดลงเท่าอุณหภูมิห้อง แล้วจึงเติม CPC ลงในสารละลาย PVA ภายหลัง โดยอุณหภูมิถือเป็นปัจจัยสำคัญที่สามารถส่งผลต่อความหนืดของสารละลาย กล่าวคือเมื่อมีการเพิ่มอุณหภูมิให้แก่สารละลาย จะเป็นการเพิ่มพลังงานจลน์ทำให้แรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลของสารละลายลดน้อยลง ส่งผลให้สารละลายมีความความหนืดและความต้านทานการไหลลดลงด้วย (Modarress และคณะ, 2005) ซึ่ง

อาจส่งผลกระทบต่อกระบวนการเคลือบสารละลายผสม CPC-PVA ลงบนแผ่นฟิล์มด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิงเนื่องจากความหนืดของสารละลายได้

เมื่อนำสารละลายผสม CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ PVA 10, 15, 20 และ 25% (น้ำหนัก/ปริมาตร) และมีความเข้มข้นของ CPC สูงสุดคือ 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) ไปเคลือบลงบนแผ่นฟิล์ม PVDC ด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง พบว่าอัตราการไหลและเส้นใยของสารละลายผสม CPC-PVA ที่เกิดขึ้นบนแผ่นฟิล์มมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารละลาย PVA โดยสารละลาย CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ PVA 10 และ 15% (น้ำหนัก/ปริมาตร) จะมีอัตราการไหลของสารละลายออกจากปลายเข็มอย่างรวดเร็ว จึงเกิดเป็นหยดของสารละลายที่รวมตัวกันและเกิดฝ้าขาวเพียงเล็กน้อยบนแผ่นฟิล์ม ไม่สามารถเกิดฝ้าขาวของเส้นใยสารละลายที่สม่ำเสมอบนแผ่นฟิล์มได้ จึงไม่เหมาะสมสำหรับใช้สร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง แต่เมื่อใช้สารละลายผสมที่มีความเข้มข้นของ PVA 20 และ 25% (น้ำหนัก/ปริมาตร) พบว่าอัตราการไหลของสารละลายออกจากปลายเข็มจะช้าลง และสามารถเกิดเส้นใยของสารละลายบนแผ่นฟิล์มได้ดี เส้นใยที่ได้มีความสม่ำเสมอ ผลทดลองนี้สอดคล้องกับผลงานวิจัยของ Khajavi และ Damerchely (2007) ที่ศึกษาลักษณะของเส้นใยที่เกิดจากเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง ซึ่งมี PVA เป็นพอลิเมอร์เพื่อช่วยในการสร้างเส้นใย โดยแปรผันความเข้มข้นของ PVA ให้มีความเข้มข้นตั้งแต่ 5-20% (น้ำหนัก/ปริมาตร) และควบคุมภาวะที่ใช้ในการสร้างเส้นใยซึ่งเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อลักษณะของเส้นใยให้คงที่ตลอดการทดลอง โดยพบว่าที่ความเข้มข้นของ PVA 5-7 % (น้ำหนัก/ ปริมาตร) สารละลายมีความหนืดต่ำ จึงพุ่งออกจากปลายเข็มแล้วแตกออกเป็นละอองฝอย ลักษณะเช่นเดียวกับที่พบในอิเล็กโตรสเปร์รี่ จึงไม่สามารถเกิดเส้นใยบนแผ่นได้ ในขณะที่ความเข้มข้นของ PVA 8-12% (น้ำหนัก/ปริมาตร) เริ่มเกิดเป็นเส้นใยขนาดเล็กได้เล็กน้อย และพบว่าที่ความเข้มข้นของ PVA 13-20% (น้ำหนัก/ปริมาตร) สามารถเกิดเส้นใยของ PVA ได้ดี เนื่องจากมีความเข้มข้นของพอลิเมอร์ PVA ที่สูงขึ้น จึงส่งผลให้สารละลายจึงมีความหนืดสูงขึ้นด้วย สารละลายจึงสามารถยืดออกเป็นเส้นใยได้โดยไม่ขาดออกจากกันจนกว่าจะไปตกบนวัสดุรองรับเส้นใย นอกจากนี้ยังมีการศึกษาลักษณะของเส้นใย PVA ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดเพิ่มเติม พบว่าเมื่อความเข้มข้นของพอลิเมอร์ PVA สูงขึ้น ลักษณะของเส้นใยที่เกิดขึ้นจะมีขนาดสม่ำเสมอมากขึ้น โดยมีขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางเพิ่มขึ้น และมีลักษณะของลูกปัด (bead) บนเส้นใยลดลงด้วย (Khajavi และ Damerchely, 2007)

ผลของความเข้มข้นของพอลิเมอร์ PVA ซึ่งสัมพันธ์กับการเกิดเส้นใยของสารละลาย CPC-PVA บนแผ่นฟิล์มในงานวิจัยนี้ สอดคล้องกับการศึกษาของ Rutledge และ Fridrikh (2007) ที่อธิบายว่าเส้นใยของสารละลายในกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิง เกิดขึ้นเนื่องจากแรงดึงของความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ดึงสารโพลีเมอร์ (polymer entanglement) ที่เกี่ยวพันกันของสารละลาย เมื่อ

ใช้สารละลายที่มีความเข้มข้นของพอลิเมอร์ต่ำ สารละลายที่มีความหนืดต่ำเกินไป จึงมีการเกี่ยวกันของสายโซ่พอลิเมอร์น้อย เมื่อถูกเหนี่ยวนำด้วยความต่างศักย์ไฟฟ้า จึงทำให้สารละลายแตกเป็นละอองฝอยเกิดเป็นอิเล็กโทรสเปรย์ เกิดการรวมตัวกันของอนุภาคพอลิเมอร์แทนการเกิดเส้นใย แต่เมื่อมีการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายพอลิเมอร์ ความหนืดของสารละลายจะสูงขึ้น ส่งผลให้สารละลายพอลิเมอร์สามารถยืดยาวออกเป็นเส้นใยโดยไม่ขาดออกจากกันจนไปตกบนวัสดุรองรับเส้นใย (Munir และคณะ, 2009) และจากการศึกษาก่อนหน้านี้โดย Min และคณะ (2004) ซึ่งศึกษาการเตรียมเส้นใยไคโตซานด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง ยังพบว่าไคโตซานที่มีความเข้มข้นต่ำจะมีความหนืดของสารละลายต่ำ ส่งผลให้ไม่สามารถสร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิงได้ แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายจะเริ่มเห็นลักษณะของเส้นใยเกิดขึ้น จากผลที่เกิดขึ้นดังกล่าวจึงสามารถสรุปได้ว่าความหนืดของสารละลายพอลิเมอร์ PVA เป็นปัจจัยที่สำคัญปัจจัยหนึ่งซึ่งส่งผลต่อการสร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง ดังนั้นความเข้มข้นของสารละลาย PVA ที่ 20 และ 25% (น้ำหนัก/ปริมาตร) จึงเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมเพื่อใช้ในการสร้างเส้นใยบนแผ่นฟิล์มเพื่อนำไปศึกษาผลของความเข้มข้นของ PVA ที่มีต่อการปลดปล่อย CPC ออกจากแผ่นฟิล์มในขั้นตอนต่อไป

เมื่อได้ฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่มีลักษณะเป็นฝ้าขาวของเส้นใยสารละลาย CPC-PVA ที่สม่ำเสมอบนแผ่นฟิล์มแล้ว ขั้นตอนต่อไปคือการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ของ CPC เมื่อถูกเคลือบบนแผ่นฟิล์ม PVDC ด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง ซึ่งภายหลังจากทดลองพบว่าเมื่อ CPC ที่เคลือบอยู่บนแผ่นฟิล์มด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิงมีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 และ *E. coli* ATCC 25922 ได้ สังเกตได้จากการเกิดบริเวณใสของการยับยั้งขึ้น โดยไม่มีความแตกต่างกันทั้งในฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ PVA 20 และ 25% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ซึ่งให้เห็นว่าเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิงเป็นวิธีการเคลือบสาร CPC ลงบนแผ่นฟิล์มได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดย CPC ที่เคลือบอยู่บนแผ่นฟิล์ม PVDC สามารถแพร่ออกจากแผ่นฟิล์มได้ จึงส่งผลให้เกิดยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* DMST 17303 และ *E. coli* ATCC 25922 เกิดขึ้น ดังนั้นจึงเลือกฟิล์มที่มีความเข้มข้นของสารละลาย PVA 20 และ 25% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ไปศึกษาผลของความเข้มข้นของ PVA ที่มีต่อการปลดปล่อย CPC ออกจากแผ่นฟิล์ม เพื่อเลือกความเข้มข้นของพอลิเมอร์ PVA ที่เหมาะสมที่สุดเพียงความเข้มข้นเดียวไปศึกษาผลความเข้มข้นของ CPC ต่อฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิงต่อไป

การศึกษาผลของความเข้มข้นของ PVA ที่มีต่อการปลดปล่อย CPC ออกจากแผ่นฟิล์ม ซึ่งศึกษาได้จากความสามารถในการยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 และ *E. coli* ATCC

25922 โดยภายหลังจากทดลองพบว่าฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ PVA 20 และ 25% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ซึ่งมีความเข้มข้นของ CPC 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) สามารถควบคุมการปลดปล่อย CPC ออกจากแผ่นฟิล์มได้ โดยแสดงให้เห็นประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อทดสอบทั้งสองตลอดระยะเวลา 14 วันของการทดลอง กล่าวคือสามารถลดการรอดชีวิตของเชื้อทดสอบทั้งสองลงได้เล็กน้อยในวันแรกของการทดลอง จากนั้นจะตรวจไม่พบการรอดชีวิตของเชื้อทดสอบทั้งสองในวันที่ 1 จนถึงวันที่ 14 ของการทดลอง โดยให้ผลในการยับยั้งเชื้อทดสอบทั้งสองชนิดไม่แตกต่างกันทั้งที่ความเข้มข้นของ PVA 20% และ 25% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ในขณะที่ฟิล์มเคลือบ PVA ที่ไม่มี CPC บนแผ่นฟิล์มไม่มีแอกทิวิตีในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบทั้งสอง

ความเข้มข้นของสารละลายพอลิเมอร์ที่ใช้สร้างเส้นใยด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิงเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อลักษณะและขนาดของเส้นใย กล่าวคือเมื่อใช้พอลิเมอร์ที่มีความเข้มข้นสูงขึ้น จะส่งผลให้เส้นใยที่เกิดขึ้นมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางใหญ่ขึ้นด้วย (Ramakrishna และคณะ, 2005) สอดคล้องกับการศึกษาลักษณะและขนาดของเส้นใยเจลลาตินที่ได้จากกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิง โดยแปรผันความเข้มข้นของพอลิเมอร์เจลลาตินจาก 20-24% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ซึ่งภายหลังจากพบว่ามีโอกาสที่เส้นใยเจลลาตินที่มีความเข้มข้นสูงขึ้น เส้นใยเจลลาตินที่ได้จะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางใหญ่ขึ้นด้วย (Dheraprasart และคณะ, 2009) จากผลการทดลองนี้จึงอาจเป็นไปได้ว่าการใช้ความเข้มข้นของพอลิเมอร์ PVA 25% (น้ำหนัก/ปริมาตร) เส้นใยที่ได้จะมีเส้นผ่านศูนย์กลางใหญ่กว่า จึงมีโอกาสดังกล่าว CPC จะถูกกักเก็บอยู่ภายในเส้นใยมากกว่าความเข้มข้น PVA 20% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ซึ่งได้เส้นใยที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเล็กกว่า มีโอกาสที่ CPC จะกระจายอยู่บนผิวของเส้นใยได้มากกว่า CPC จึงถูกปลดปล่อยออกจากแผ่นฟิล์มได้อย่างรวดเร็ว และส่งผลให้การยับยั้งเชื้อเกิดขึ้นได้ดีกว่า ดังนั้นความเข้มข้นของ PVA ที่ 20% (น้ำหนัก/ปริมาตร) จึงเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดสำหรับใช้เคลือบ CPC บนแผ่นฟิล์ม เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการเคลือบสารและควบคุมการปลดปล่อย CPC ได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ที่ความเข้มข้นของ PVA 20% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ยังใช้ปริมาณสาร PVA และ CPC ในปริมาณที่ต่ำกว่า ดังนั้นจึงเป็นข้อได้เปรียบเมื่อมีการนำฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ไปใช้จริงกับผลิตภัณฑ์อาหาร ซึ่งต้องมีการสัมผัสกับผลิตภัณฑ์อาหารโดยตรง และยังเป็นทางเลือกต้นทุนในการผลิตฟิล์มเคลือบสารละลายผสมดังกล่าวด้วย นอกจากนี้การใช้ PVA ที่ความเข้มข้น 20% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ในการสร้างเส้นใยบนแผ่นฟิล์มด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิงยังทำได้ง่ายกว่า คือใช้เวลาในการเคลือบสารละลาย CPC-PVA ลงบนแผ่นฟิล์มสั้นกว่าการใช้ความเข้มข้นของ PVA ที่ 25% (น้ำหนัก/ปริมาตร) อีกด้วย

เมื่อศึกษาผลของความเข้มข้นของ CPC บนแผ่นฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่ผลิตด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิงต่อประสิทธิภาพการยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 และ *E. coli*

ATCC 25922 โดยแปรผันปริมาณ CPC ให้มีความเข้มข้น 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) ที่มีความเข้มข้นของ PVA 20% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ซึ่งเป็นความเข้มข้นของ PVA ที่เหมาะสมที่สุดสำหรับช่วยในการสร้างเส้นใย CPC บนแผ่นฟิล์ม และให้ผลการควบคุมการปลดปล่อย CPC ได้ดี ภายหลังจากทดลองพบว่าประสิทธิภาพการยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 ของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ CPC ต่ำสุดคือ 0.2% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) ไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ในวันแรกของการทดลอง แต่จะเริ่มออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้ในวันที่ 1 และสามารถยับยั้งเชื้อได้อย่างต่อเนื่องตลอดระยะเวลา 14 วันของการทดลอง ในขณะที่ฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ CPC ตั้งแต่ 0.4% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) ขึ้นไป สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้ตั้งแต่วันแรกของการทดลอง และสามารถคงแอกทิวิตีในการยับยั้งเชื้อได้โดยตรวจไม่พบเชื้อตั้งแต่วันที่ 1 จนถึงวันที่ 14 ของการทดลอง

สำหรับประสิทธิภาพของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ต่อการยับยั้ง *E. coli* ATCC 25922 พบว่าฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่มีปริมาณความเข้มข้นของ CPC ต่ำสุดคือ 0.2% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) ไม่สามารถยับยั้ง *E. coli* ATCC 25922 ได้ และฟิล์มที่มีความเข้มข้นของ CPC สูงขึ้นคือ 0.4% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) จะไม่สามารถยับยั้ง *E. coli* ATCC 25922 ในวันแรกของการทดลอง แต่การยับยั้งจะเกิดขึ้นในวันที่ 1 และยังคงมีแอกทิวิตียับยั้งเชื้อได้อย่างต่อเนื่องตลอดระยะเวลา 14 วันของการทดลอง ในขณะที่ฟิล์มซึ่งมีความเข้มข้นของ CPC 0.6% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) ขึ้นไป จะมีประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ยับยั้ง *E. coli* ATCC 25922 ได้ตั้งแต่วันแรกของการทดลอง และยังคงมีแอกทิวิตียับยั้งเชื้อได้อย่างต่อเนื่อง โดยตรวจไม่พบเชื้อตั้งแต่วันที่ 1 จนถึงวันที่ 14 ของการทดลอง ผลการทดลองดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อทดสอบทั้งสองของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA จะแปรผันโดยตรงกับความเข้มข้นของ CPC บนแผ่นฟิล์ม กล่าวคือเมื่อมีปริมาณความเข้มข้นของ CPC บนแผ่นฟิล์มสูงขึ้น จาก 0.2 ถึง 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) จะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อทดสอบทั้งสองได้ดีขึ้น ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าฟิล์มเคลือบ PVA ไม่สามารถยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 และ *E. coli* ATCC 25922 ได้ โดยเชื้อทดสอบทั้งสองยังคงสามารถเจริญเพิ่มขึ้นได้เรื่อยๆ ไม่แตกต่างจากชุดควบคุม จึงกล่าวได้ว่า PVA ไม่มีผลกระทบต่อแอกทิวิตีในการยับยั้งเชื้อทดสอบทั้งสองชนิด

ผลของประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อทดสอบทั้งสองชนิดซึ่งสัมพันธ์กับความเข้มข้นของ CPC บนแผ่นฟิล์มนี้ สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Lim และ Mustapha (2004) ที่ศึกษาประสิทธิภาพของ CPC ที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน ในการยับยั้ง *L. monocytogenes* และ *E. coli* บนเนื้อสด โดยฉีดพ่นสารละลาย CPC บนเนื้อสดโดยตรงและฉีดพ่นในสภาพบรรจุภัณฑ์ก่อนการเก็บรักษา ภายหลังจากทดลองพบว่าประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อของ CPC จะเพิ่มขึ้น เมื่อปริมาณความเข้มข้น

ของ CPC ที่ใช้สูงขึ้น จึงสามารถสรุปได้ว่าประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ของ CPC มีความสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณความเข้มข้นของ CPC ที่ใช้ (Wang และคณะ, 2001)

จากผลการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ข้างต้นที่แสดงให้เห็นว่าฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ CPC 0.6% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) ขึ้นไป สามารถลดปริมาณ *L. monocytogenes* DMST 17303 และ *E. coli* ATCC 25922 ลงได้ทันทีตั้งแต่วันแรกของการทดลอง และยังคงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้ออย่างต่อเนื่อง ซึ่งให้เห็นว่า CPC อาจถูกปลดปล่อยออกจากแผ่นฟิล์มได้อย่างรวดเร็ว จึงส่งผลให้การยับยั้งเชื้อเกิดขึ้นทันที ซึ่งผลดังกล่าวอาจเกิดขึ้นเนื่องจากจากเส้นใย PVA ที่ CPC ยึดเกาะ มีสมบัติในการละลายน้ำได้ดี จึงทำให้เกิดการปลดปล่อย CPC ออกมาอย่างรวดเร็วภายในวันแรกของการทดลอง ดังนั้นขั้นตอนต่อไปจะศึกษารูปแบบการปลดปล่อย CPC ออกจากแผ่นฟิล์ม โดยใช้ฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ CPC สูงสุด คือ 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) ซึ่งเป็นฟิล์มที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อทดสอบทั้งสองได้ดีที่สุด มาศึกษารูปแบบการปลดปล่อย CPC จากแผ่นฟิล์ม และศึกษาประสิทธิภาพการเคลือบ CPC ลงบนแผ่นฟิล์มด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง

ภายหลังการศึกษารูปแบบการปลดปล่อย CPC ที่เคลือบอยู่บนแผ่นฟิล์ม โดยวิเคราะห์หาปริมาณ CPC ที่ปลดปล่อยออกมาในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ด้วย reverse phase HPLC แล้วคำนวณเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ CPC พบว่าฟิล์มเคลือบ CPC-PVA สามารถปลดปล่อย CPC ออกจากแผ่นฟิล์มได้ตั้งแต่วันแรกที่ใส่แผ่นฟิล์มลงในหลอดทดลองซึ่งบรรจุสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ โดยในวันที่ 0 สามารถตรวจพบปริมาณของ CPC เริ่มต้นที่ปลดปล่อยออกมาจากแผ่นฟิล์มในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์อย่างรวดเร็ว จากนั้นในวันที่ 1 จะเริ่มมีปริมาณของ CPC สะสมเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เมื่อเวลาผ่านไปในวันที่ 3, 5, 7 จนกระทั่งมีปริมาณ CPC สะสมสูงสุดในวันที่ 14 ของการทดลอง ซึ่งการที่ CPC สามารถปลดปล่อยออกจากแผ่นฟิล์มได้อย่างรวดเร็วในระยะแรกของการทดลอง อาจเป็นการช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อเป้าหมายได้ดียิ่งขึ้นด้วยผลการทดลองนี้สอดคล้องกับผลการยับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes* DMST 17303 และ *E. coli* ATCC 25922 ข้างต้น ที่แสดงให้เห็นว่าฟิล์มเคลือบ CPC-PVA สามารถควบคุมอัตราการปลดปล่อย CPC ออกจากแผ่นฟิล์มได้อย่างเหมาะสม จึงให้ผลการยับยั้งเชื้อทดสอบทั้งสองได้ดีตลอดระยะเวลา 14 วันของการทดลอง

สำหรับผลการทดสอบประสิทธิภาพของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ต่อการยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 หรือ *E. coli* ATCC 25922 บนเนื้อหมูแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4°C โดยใช้ฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ CPC ตั้งแต่ 0.4 จนถึง 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) ซึ่งเป็นความเข้มข้นของ CPC ที่พบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อทดสอบทั้ง

สองได้จากการทดลองในขั้นต้น โดยภายหลังการทดลองพบว่าฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ CPC 0.4% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) ขึ้นไป สามารถออกฤทธิ์ยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวกได้โดย CPC ที่ถูกปลดปล่อยออกจากแผ่นฟิล์มตั้งแต่วันแรกของการทดลอง และปริมาณ CPC ที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากแผ่นฟิล์มจะมีปริมาณสะสมเพิ่มขึ้นเรื่อยๆในแต่ละวัน ส่งผลให้ฟิล์มเคลือบดังกล่าวสามารถคงแอกทิวิตีในการยับยั้งเชื้อได้ โดยสามารถทำให้เชื้อมีปริมาณการรอดชีวิตของลดลงอย่างต่อเนื่องจนถึงวันที่ 7 แต่หลังจากนั้นในวันที่ 14 ของทดลองพบว่าเชื้อมีปริมาณเพิ่มขึ้น ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ (Dupard, 2005) ซึ่งศึกษาประสิทธิภาพของ CPC ในการยับยั้ง *L. monocytogenes* ในกึ่งแปรรูป โดยล้างกึ่งด้วยสารละลาย CPC ซึ่งมีความเข้มข้นแตกต่างกัน (0.05-1.0%) ภายหลังการทดลองพบว่าประสิทธิภาพการยับยั้ง *L. monocytogenes* ที่เกิดขึ้นจะแปรผันโดยตรงกับความเข้มข้นของ CPC ที่ใช้

ในขณะที่ประสิทธิภาพของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่มีความเข้มข้นของ CPC ตั้งแต่ 0.4 ถึง 1.0% (น้ำหนัก/น้ำหนักของ PVA) ต่อการยับยั้ง *E. coli* ATCC 25922 ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ บนเนื้อหมูแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4°C พบว่าปริมาณความเข้มข้นของ CPC ที่ถูกปลดปล่อยออกแผ่นฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ซึ่งมีปริมาณความเข้มข้นของ CPC ต่ำ จะให้ผลการยับยั้ง *E. coli* ATCC 25922 ได้น้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับผลการยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 เมื่อใช้ฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่มีปริมาณความเข้มข้นของ CPC บนแผ่นฟิล์มเท่ากัน แต่อย่างไรก็ตามเมื่อปริมาณความเข้มข้นของ CPC บนแผ่นฟิล์มเพิ่มขึ้น สามารถทำให้ปริมาณการรอดชีวิตของ *E. coli* ATCC 25922 บนเนื้อหมูลดลงได้มากขึ้น แต่ยังคงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้ต่ำกว่า *L. monocytogenes* DMST 17303 ตลอดระยะเวลา 14 วันของการทดลอง โดยประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อทดสอบทั้งสองชนิดจะแปรผันโดยตรงกับปริมาณความเข้มข้นของ CPC ที่ใช้ในการทดลอง (Lim และ Mustapha, 2004) ผลการยับยั้ง *E. coli* ATCC 25922 ของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ (Dumas, 2006) ซึ่งศึกษาประสิทธิภาพของ CPC ในการยับยั้ง *E. coli* บนแคนตาลูปแปรรูป โดยล้างแคนตาลูปด้วยสารละลาย CPC ที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน (0.6-1.0%) ภายหลังการทดลองพบว่าประสิทธิภาพการยับยั้ง *E. coli* จะแปรผันโดยตรงกับความเข้มข้นของ CPC ที่ใช้ และพบว่า CPC มีประสิทธิภาพที่ดีในการลดปริมาณ *E. coli* ได้แตกต่างจากชุดควบคุม เช่นเดียวกับในงานวิจัยนี้ซึ่งพบว่าในชุดควบคุม *L. monocytogenes* DMST 17303 และ *E. coli* ATCC 25922 บนเนื้อหมูแช่เย็นยังคงสามารถเจริญได้ โดยเฉพาะ *L. monocytogenes* DMST 17303 ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่เป็นเชื้อก่อโรคอาหารเป็นพิษที่สำคัญในคน ที่มักพบปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์อาหารแปรรูปแช่แข็ง

ต่างๆ และสามารถทนต่อภาวะต่างๆในสิ่งแวดล้อมได้ดี โดยเฉพาะทนต่ออุณหภูมิที่กว้างตั้งแต่ระดับอุณหภูมิร่างกายจนถึงอุณหภูมิในตู้เย็น (Tompkin, 2002)

ผลของประสิทธิภาพการยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 และ *E. coli* ATCC 25922 ของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA บนเนื้อหมู่นี้ สอดคล้องกับการศึกษาของ Lim และ Mustapha (2007) ที่พบว่าการออกฤทธิ์ยับยั้งของ CPC จะมีความแตกต่างกันในแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ตามโครงสร้างเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ โดยโครงสร้างของ CPC ประกอบไปด้วยส่วนที่ชอบน้ำและไม่ชอบน้ำ ซึ่งโครงสร้างส่วนที่ชอบน้ำหรือส่วนที่เป็นประจุบวกจะเกิดปฏิกิริยากับฟอสเฟตซึ่งมีประจุลบของเยื่อหุ้มชั้นนอกของแบคทีเรีย โดยประจุลบของกรดไทโคอิกซึ่งจะพบเฉพาะในแบคทีเรียแกรมบวกสามารถจับกันได้ง่ายกับโมเลกุลของ CPC (Huyck, 1944; Ketchum, 1988) นอกจากนี้ผิวเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกจะมีส่วนที่ไม่ชอบน้ำมากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ จึงทำให้แบคทีเรียแกรมบวกสามารถเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลส่วนที่ชอบน้ำของ CPC ได้มากกว่า โดย CPC จะทำให้เยื่อหุ้มชั้นนอกของเซลล์แบคทีเรียเสียหาย ส่งผลให้เกิดการรั่วของสารประกอบภายในเซลล์ ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ ส่งผลให้เกิดการตายของเซลล์ต่อมา (Albert-Kiszely และคณะ, 2007) ด้วยเหตุนี้จึงสามารถสรุปได้ว่า CPC มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแกรมลบ

สำหรับผลการทดสอบความเสถียรในการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่ผลิตโดยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิง เมื่อผ่านการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ภายใต้ภาวะความชื้นเป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่าฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่ความเข้มข้นของ CPC ต่างๆ มีความเสถียรในการออกฤทธิ์ยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 หรือ *E. coli* ATCC 25922 เมื่อผ่านการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 1, 2 และ 3 เดือน โดยยังคงแสดงให้เห็นประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อทดสอบทั้งสองได้ แตกต่างจากฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่เตรียมได้ทันทีเพียงเล็กน้อยเท่านั้น และฟิล์มเคลือบดังกล่าวยังสามารถคงแอกทิวิตีในการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อทดสอบทั้งสองได้ตลอดระยะเวลา 14 วันของการทดลอง โดยประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อยังคงเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ CPC บนแผ่นฟิล์ม

ความเสถียรของฟิล์มเคลือบ CPC-PVA ที่ผลิตด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิงในการออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียได้ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ เมื่อผ่านการเก็บรักษาฟิล์มเคลือบดังกล่าวเป็นระยะเวลา 3 เดือน ถือเป็นข้อได้เปรียบกว่าการใช้เซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์โดยการจุ่มหรือฉีดพ่นโดยตรงบนผลิตภัณฑ์ ซึ่งจากหลายงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าการใช้เซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์โดยวิธีการดังกล่าวต้องเตรียมสารละลายเซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์ใหม่ก่อนใช้งานภายใน 1 ชั่วโมง (Cutter และคณะ, 2000; Dupard, 2005) ดังนั้นการประยุกต์ใช้เซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์ในรูปแบบของฟิล์ม

เคลือบ CPC-PVA จึงถือเป็นแนวทางที่สะดวก เนื่องจากสามารถใช้งานได้ทันที นอกจากนี้ยังเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพและน่าสนใจสำหรับการใช้เพื่อลดปริมาณการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ ยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์อาหาร เพิ่มความปลอดภัยและรักษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหารในระหว่างการเก็บรักษาอีกด้วย

จากผลการวิจัยทั้งหมดข้างต้นแสดงให้เห็นว่าเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิงเป็นวิธีการที่เหมาะสมสำหรับใช้เคลือบเซทิลไพรดิเนียมคลอไรด์ลงบนแผ่นฟิล์ม โดยเซทิลไพรดิเนียมสามารถเคลือบอยู่บนแผ่นฟิล์มได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิงถือเป็นเทคนิคการเคลือบสารลงบนแผ่นฟิล์มที่ได้เปรียบกว่าการใช้วิธีอื่น เนื่องจากเป็นระบบที่ไม่ซับซ้อน สามารถเตรียมเส้นใยได้อย่างรวดเร็ว โดยใช้ปริมาณสารตั้งต้นน้อย สารจะถูกตรึงอยู่บริเวณผิวของแผ่นฟิล์ม ทำให้ฟิล์มเคลือบดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้โดยตรงที่บริเวณผิวหน้าของอาหาร (Deitzel และคณะ, 2002) นอกจากนี้เทคนิคนี้ยังสามารถพัฒนาและนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมในอนาคตได้อีกด้วย โดยพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ซึ่งใช้เป็นพอลิเมอร์เพื่อช่วยเคลือบสารลงบนแผ่นฟิล์มมีสมบัติที่ดีในการช่วยสร้างเส้นใยของเซทิลไพรดิเนียมคลอไรด์ลงบนแผ่นฟิล์ม PVDC ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ฟิล์มเคลือบเซทิลไพรดิเนียมคลอไรด์ที่ได้จากเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิงสามารถออกฤทธิ์ยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 และ *E. coli* ATCC 25922 ได้ และเมื่อนำไปใช้งานจริงกับผลิตภัณฑ์เนื้อหมูแปรรูปแช่เย็น ฟิล์มเคลือบดังกล่าวยังคงมีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *L. monocytogenes* DMST 17303 และ *E. coli* ATCC 25922 บนเนื้อหมูได้ ดังนั้นการประยุกต์ใช้เซทิลไพรดิเนียมคลอไรด์ในรูปแบบฟิล์มนี้จึงถือเป็นแนวทางที่น่าสนใจในการใช้เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหาร และสามารถนำไปพัฒนาเพื่อประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารอื่นๆ ต่อไปได้อีกหลายชนิด โดยใช้ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ อาทิเช่น ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูปต่างๆ ผักและผลไม้ เป็นต้น

นอกจากนี้การเคลือบเซทิลไพรดิเนียมคลอไรด์ลงบนแผ่นฟิล์มโดยใช้เทคนิคอิเล็กโทรสปินนิงยังสามารถศึกษาเพื่อพัฒนาเพิ่มเติมต่อไปได้ โดยการนำเซทิลไพรดิเนียมคลอไรด์ไปเคลือบลงบนฟิล์มชนิดอื่นๆ เพื่อให้เหมาะสมแก่การใช้งานกับผลิตภัณฑ์อาหารแต่ละชนิด หรือพัฒนาระบบการเคลือบเซทิลไพรดิเนียมคลอไรด์ลงบนแผ่นฟิล์ม โดยใช้เครื่องมือที่สามารถควบคุมอัตราการไหลของสารละลายที่เคลือบลงบนแผ่นฟิล์ม และใช้วัสดุรองรับเส้นใยที่สามารถเคลื่อนที่ได้อย่างสม่ำเสมอ เพื่อให้เซทิลไพรดิเนียมคลอไรด์สามารถกระจายตัวได้ดีบนแผ่นฟิล์ม ซึ่งจะเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการเคลือบเซทิลไพรดิเนียมบนแผ่นฟิล์มให้ดีขึ้น นอกจากนี้ยังสามารถศึกษาการเคลือบเซทิลไพรดิเนียมคลอไรด์ลงบนแผ่นฟิล์มด้วยเทคนิคอิเล็กโทรสปินนิงโดยใช้สารพอลิเมอร์อื่นๆ ในการช่วยสร้างเส้นใย เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการปลดปล่อยสารออกจากฟิล์มเคลือบดังกล่าว ทั้งนี้พอลิ

เมอร์ที่นำมาใช้ศึกษาต้องได้รับการรับรองว่ามีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคและอนุญาตให้ใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารได้

อย่างไรก็ตามการใช้ฟิล์มเคลือบเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์กับผลิตภัณฑ์เนื้อหมูแปรรูปยังสามารถพบการเพิ่มขึ้นของปริมาณเชื้อทดสอบทั้งสองและการเน่าเสียของผลิตภัณฑ์ได้ในวันที่ 14 ของการเก็บรักษา ซึ่งอาจเกิดขึ้นเนื่องจากเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์ถูกปลดปล่อยออกมาจากแผ่นฟิล์มจนหมดในระหว่างการเก็บรักษา นอกจากนี้ยังเป็นไปได้ว่าปริมาณความเข้มข้นของเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์บนแผ่นฟิล์มซึ่งมีปริมาณน้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้เซทิลไพริดิเนียมโดยตรงกับผลิตภัณฑ์ จึงไม่เพียงพอแก่การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมดบนเนื้อหมู ดังนั้นเพื่อการแก้ปัญหาดังกล่าวจึงควรเพิ่มปริมาณความเข้มข้นของเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์บนแผ่นฟิล์มให้มากขึ้นกว่าเดิม และปรับปรุงสมบัติการควบคุมการปลดปล่อยเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์ออกจากแผ่นฟิล์มให้มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้นโดยการเชื่อมขวางด้วยไอระเหย แต่ทั้งนี้ต้องมีการทดสอบการตกค้างของสารระเหยที่ใช้ในการเชื่อมขวางด้วย เพื่อไม่ให้เกิดการตกค้างของสารระเหยบนผลิตภัณฑ์อาหารเมื่อมีการนำฟิล์มเคลือบดังกล่าวไปใช้งานจริง จากนั้นทำการศึกษาความเสถียรของฟิล์มเคลือบดังกล่าวเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ต่อไป นอกจากนี้ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับปริมาณเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์และพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ที่ตกค้างอยู่บนผลิตภัณฑ์ภายหลังการเก็บรักษาด้วย เพื่อเป็นการยืนยันว่าฟิล์มเคลือบเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์ที่ผลิตด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิงนั้นสามารถนำไปใช้เป็นฟิล์มบรรจุภัณฑ์ยับยั้งจุลินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ มีความปลอดภัย และสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารได้จริงในอนาคต

รายการอ้างอิง

- บุษกร ทองใบ. 2553. ผลของเซทิลไพริดีเนียมคลอไรด์และกรดแลคติกต่อการยับยั้ง *Escherichia coli* O157:H7 บนถั่วงอก. ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหารและโภชนศาสตร์ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.
- ประภาพร ขอไพบูลย์. 2548. ผลของ Cetylpyridinium chloride , Potassium sorbate และ Trisodium phosphate และการใช้สารร่วมกันต่อการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* บนผิวเนื้อสุกร. รายงานประชุมวิชาการ สาขาสัตวบาล/สัตวศาสตร์/สัตวแพทย์ ครั้งที่ 5 คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- มานพ จันทุนทด , เกียรติศักดิ์ นามรุ่ง และ ณัฐนนท์ ตราชู. 2547. อาหารแปรรูปต่ำ (Minimally processed food). วารสารจารย์พา 11 (มกราคม-กุมภาพันธ์): 76.
- อรุณ บ่างตระกูล, แพรวพกา ทองระอาต และ มยุรา กุสุมภ์. 2536. การปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* ในเนื้อไก่สดแช่แข็งเพื่อการส่งออก. วารสารอาหาร 23(4): 418-483.
- Ackers, M. L., B. E. Mahon, E. Leahy, B. Goode, T. Damrow, P. S. Hayes, W. F. Bibb, D. H. Rice, T. J. Barrett and L. Hutwagner. 1998. An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with leaf lettuce consumption. Journal of Infectious Diseases 177(6): 1588-1593.
- AFSSA. 2000. Rapport de la Commission D'étude des Risques lie's a` *Listeria monocytogenes*, Available at: <http://www.afssa.fr> (accessed in 9 May 2006).
- Al-Musallam, T. A., C. A. Evans, J. L. Drummond, C. Matasa and C. D. Wu. 2006. Antimicrobial properties of an orthodontic adhesive combined with cetylpyridinium chloride. American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics 129(2): 245-251.
- Albert-Kiszely, A., B. E. Pjetursson, G. E. Salvi, J. Witt, A. Hamilton, G. R. Persson and N. P. Lang. 2007. Comparison of the effects of cetylpyridinium chloride with an essential oil mouth rinse on dental plaque and gingivitis - a six-month randomized controlled clinical trial. Journal Clinical Periodontol 34(8): 658-667.
- Ansary, S. E., K. A. Darling and C. W. Kaspar. 1999. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in ground-beef patties during storage at 2,-2, 15 and then -2°C, and -20°C. Journal of Food Protection 62(11): 1243-1247.

- Appendini, P. and J. H. Hotchkiss. 2002. Review of antimicrobial food packaging. Innovative Food Science & Emerging Technologies 3(2): 113-126.
- Bachman, G. B., L. Filar, R. Finholt, L. Heisey, H. Hellman, L. Lewis and D. Micucci. 1951. Properties of new synthetic rubbers and plastics. Industrial & Engineering Chemistry 43(4): 997-1002.
- Bajard, S., L. Rosso, G. Fardel and J. Flandrois. 1996. The particular behaviour of *Listeria monocytogenes* under sub-optimal conditions. International Journal of Food Microbiology 29(2): 201-211.
- Bani-Jaber, A., J. McGuire, J. Ayres and M. Daeschel. 2000. Efficacy of the antimicrobial peptide nisin in emulsifying oil in water. Journal of Food Science 65(3): 502-506.
- Baumgarten, P. K. 1971. Electrostatic spinning of acrylic microfibers. Journal of Colloid and Interface Science 36(1): 71-79.
- Bedie, G. K., J. Samelis, J. N. Sofos, K. E. Belk, J. A. Scanga and G. C. Smith. 2001. Antimicrobials in the formulation to control *Listeria monocytogenes* postprocessing contamination on frankfurters stored at 4 °C in vacuum packages. Journal Food Protection 64(12): 1949-1955.
- Bell, B. P., M. Goldoft, P. M. Griffin, M. A. Davis, D. C. Gordon, P. I. Tarr, C. A. Bartleson, J. H. Lewis, T. J. Barrett and J. G. Wells. 1994. A multistate outbreak of *Escherichia coli* O157: H7 associated bloody diarrhea and hemolytic uremic syndrome from hamburgers: the Washington experience. Jama 272(17): 1349-1353.
- Bell, K. Y., C. N. Cutter and S. S. Sumner. 1997. Reduction of foodborne microorganisms on beef carcass tissue using acetic acid, sodium bicarbonate, and hydrogen peroxide spray washes. Food Microbiology 14(5): 439-448.
- Besser, R. E., S. M. Lett, J. T. Weber, M. P. Doyle, T. J. Barrett, J. G. Wells and P. M. Griffin. 1993. An outbreak of diarrhea and hemolytic uremic syndrome from *Escherichia coli* O157: H7 in fresh-pressed apple cider. Jama 269(17): 2217-2220.
- Bonardi, S., E. Maggi, G. Pizzin, S. Morabito and A. Caprioli. 2001. Faecal carriage of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 and carcass contamination in

- cattle at slaughter in northern Italy. International Journal of Food Microbiology 66(1): 47-53.
- Bosilevac, J. M., T. M. Arthur, T. L. Wheeler, S. D. Shackelford, M. Rossman, J. O. Reagan and M. Koohmaraie. 2004. Prevalence of *Escherichia coli* O157 and levels of aerobic bacteria and *Enterobacteriaceae* are reduced when hides are washed and treated with cetylpyridinium chloride at a commercial beef processing plant. Journal Food Protection 67(4): 646-650.
- Brackett, R. 1987. Antimicrobial effect of chlorine on *Listeria monocytogenes*. Journal of Food Protection 50(12): 999-1008.
- Brandt, J. R., L. S. Fouser, S. L. Watkins, I. Zelikovic, P. I. Tarr, V. Nazar-Stewart and E. D. Avner. 1994. *Escherichia coli* O157: H7-associated hemolytic-uremic syndrome after ingestion of contaminated hamburgers. The Journal of Pediatrics 125(4): 519-526.
- Breen, P. J., C. M. Compadre, E. Fifer, H. Salari, D. C. Serbus and D. L. Lattin. 1995. Quaternary ammonium compounds inhibit and reduce the attachment of viable *Salmonella typhimurium* to poultry tissues. Journal of Food Science (6): 1191-1196.
- Breen, P. J., H. Salari and C. M. Compadre. 1997. Elimination of *Salmonella* contamination from poultry tissues by cetylpyridinium chloride solutions. Journal of Food Protection 60(9): 1019-1021.
- Brody, A. L. 2001. What's the hottest food packaging technology today? Food Technology, 55, 82-84.
- Cascone, M. G., B. Sim and D. Sandra. 1995. Blends of synthetic and natural polymers as drug delivery systems for growth hormone. Biomaterials 16(7): 569-574.
- Casper, C. L., J. S. Stephens, N. G. Tassi, D. B. Chase and J. F. Rabolt. 2004. Controlling surface morphology of electrospun polystyrene fibers: Effect of humidity and molecular weight in the electrospinning process. Macromolecules 37: 573-578.
- Center for Food Safety and Applied Nutrition (CFSAN). 2000. Listeria. Risk Assessment.

- Chen, F., X. Li, X. Mo, C. He, H. WANG and Y. Ikada. 2008. Electrospun chitosan-P(LLA-CL) nanofibers for biomimetic extracellular matrix. Journal Biomater Science 19(5): 677-691.
- Clayton, D. A., C. J. Griffith, P. Price and A. C. Peters. 2002. Food handlers' beliefs and self-reported practices. International Journal of Environmental Health Research 12(1): 25-39.
- Cody, S. H., M. K. Glynn, J. A. Farrar, K. L. Cairns, P. M. Griffin, J. Kobayashi, M. Fyfe, R. Hoffman, A. S. King and J. H. Lewis. 1999. An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection from unpasteurized commercial apple juice. Annals of Internal Medicine 130(3): 202-209.
- Concha-Meyer, A., R. Schöbitz, C. Brito and R. Fuentes. 2011. Lactic acid bacteria in an alginate film inhibit *Listeria monocytogenes* growth on smoked salmon. Food Control 22(3): 485-489.
- Cooksey, K. 2005. Effectiveness of antimicrobial food packaging materials. Food additives and contaminants 22(10): 980-987.
- Cords, B. R. 1983. Sanitizers: Halogens and Surface-Active Agents. In Antimicrobials in Foods, edited by A.L Brannen and P.M.Davidson. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Corry, J. E., D. Post, P. Colin and M. Laisney. 1995. Culture media for the isolation of *Campylobacters*. Progress in industrial microbiology 34: 129-162.
- Cutter, C. N., W. J. Dorsa, A. Handie, S. Rodriguez-Morales, X. Zhou, P. J. Breen and C. M. Compadre. 2000. Antimicrobial activity of cetylpyridinium chloride washes against pathogenic bacteria on beef surfaces. Journal of Food Protection 63(5): 593-600.
- Deitzel, J., J. Kleinmeyer, D. Harris and N. B. Tan. 2001. The effect of processing variables on the morphology of electrospun nanofibers and textiles. Polymer 42(1): 261-272.
- Deitzel, J., W. Kosik, S. McKnight, N. B. Tan, J. DeSimone and S. Crette. 2002. Electrospinning of polymer nanofibers with specific surface chemistry. Polymer 43(3): 1025-1029.

- Dheraprasart, C., S. Rengpipat, P. Supaphol and J. Tattiyakul. 2009. Morphology, release characteristics, and antimicrobial effect of nisin-loaded electrospun gelatin fiber mat. Journal of Food Protection 72(11): 2293-2300.
- Dickson, J. S. 1988. Reduction of bacteria attached to meat surfaces by washing with selected compounds. Journal of Food Protection 51(11): 869-873.
- Dorsa, W. J., C. N. Cutter and G. R. Siragusa. 1997. Effects of acetic acid, lactic acid and trisodium phosphate on the microflora of refrigerated beef carcass surface tissue inoculated with *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria innocua*, and *Clostridium sporogenes*. Journal of Food Protection 60(6): 619-624.
- Dorsa, W. J., C. N. Cutter, G. R. Siragusa and M. Koohmaraie. 1996. Microbial decontamination of beef and sheep carcasses by steam, hot water spray washes, and a steam-vacuum sanitizer. Journal of Food Protection 59(2): 127-135.
- Doyle, M. P., J. Meng and S. Zhao. 1997. *Escherichia coli* O157:H7. In M. P. Doyle, L. R. Beauchat, & T. J. Montville (Ed.), Food microbiology – Fundamentals and frontiers (pp. 171–191). Washinton, DC: ASM Press.
- Duffy, E., K. Belk, J. Sofos, G. Bellinger, A. Pape and G. Smith. 2001. Extent of microbial contamination in United States pork retail products. Journal of Food Protection 64(2): 172-178.
- Dumas, A. M. 2006. Antimicrobial activity of CPC and ASC against foodborne pathogens and the physiological effect on fresh-cut cantaloupe cubes at refrigerator temperatures. Food Science, Louisiana State University. Master of Science.
- Dupard, T. M. 2005. Antimicrobial effect of cetylpyridinium chloride against *Listeria monocytogenes* growth on the surface of raw and cooked shrimp. Food Science, Xavier University of Louisiana. Master of Science.
- El-Shenawy, M. A. and E. H. Marth. 1988. Inhibition and inactivation of *Listeria monocytogenes* by sorbic acid. Journal of Food Protection 51(11): 842-847.
- Encinas, J.P., J.J. Sanz, M.L. García-López and A. Otero. 1999. Behaviour of *Listeria* spp. in naturally contaminated chorizo (Spanish fermented sausage). International Journal of Food Microbiology 46(2): 167-171.

- Farber, J. M. and P. I. Peterkin. 1999. Incidence and behavior of *Listeria monocytogenes* in meat products. In: Ryser, E.T., Marth, E.H. (Eds.), *Listeria, listeriosis and food safety*. Marcel Dekker Inc., New York. Pp, 505-564.
- Farid, M., A. Bal'a and D. L. Marshall. 1998. Organic Acid Dipping of Catfish Fillets: Effect on Color, Microbial Load, and *Listeria monocytogenes*. Journal of Food Protection 61(11): 1470-1474.
- FDA. 1998. Draft dental plaque subcommittee report on cetylpyridinium chloride. Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research, Division of OTC Drug Products On; D-560, 9201 Corporate Blvd., Rockville, MD 20850.
- FDA. 2004. Secondary direct food additives permitted in food for human consumption. Available at:<http://www.cfsan.fda.gov/~lrd/fr040402.html>, (Accessed 5 June 2004).
- Fenlon, D. R. 1999. *Listeria monocytogenes* in the natural environment. Food Science and technology-newyork-marcel dekker. 21-38.
- Ficek, B. J. and N. A. Peppas. 1993. Novel preparation of poly (vinyl alcohol) microparticles without crosslinking agent for controlled drug delivery of protien. Journal of Controlled Release. 27:259-264.
- FICT. 2000. Production Industrielle, Available at:<http://www.fict.fr>, (Accessed 9 May 2006).
- Fleming, D. W., S. L. Cochi and K. L. MacDonald. 1985. Pasteurized milk as a vehicle of infection in an outbreak of listeriosis. New England Journal of Medicine. 312, 404-407.
- Fong, H., I. Chun and D. Reneker. 1999. Beaded nanofibers formed during electrospinning. Polymer 40(16): 4585-4592.
- Fong, H., W. Liu, C.S. Wang and R. A. Vaia. 2002. Generation of electrospun fibers of nylon 6 and nylon 6-montmorillonite nanocomposite. Polymer 43(3): 775-780.
- Fong, H. and D. H. Reneker. 1999. Elastomeric nanofibers of styrene-butadiene-styrene triblock copolymer. Journal of Polymer Science Part B Polymer Physics 37(24): 3488-3493.

- Food Safety and Inspection Services. 2007. Multistate Outbreak of *E. coli* O157 infections linked to Topp's brand ground beef patties, Available at: <http://www.cdc.gov/ecoli/2007/october/100207.html>. (Accessed 9 June 2007).
- Franco, R. A., Y.K. Min, H.M. Yang and B.T. Lee. 2012. On stabilization of PVPA/PVA electrospun nanofiber membrane and its effect on material properties and biocompatibility. Journal of Nanomaterials 2012: 27.
- Gait, A. J. and E. G. Hancock. 1970. Plastics and Synthetic Rubber. Pergamon Press.
- Gennadios, A. and C. L. Weller. 1997. Edible films and coatings from wheat and corn proteins. Food Technology 12: 31-36.
- Gombas, D. E., Y. Chen, R. S. Clavero and V. N. Scott. 2003. Survey of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. Journal of Food Protection 66(4): 559-569.
- Graham, K., H. Schreuder-Gibson and M. Gogins. 2004. Incorporation of electrospun nanofibers into functional structures. International Nonwovens summer 13: 21-27.
- Gray, M. L. and A. Killinger. 1966. *Listeria monocytogenes* and listeric infections. Bacteriological reviews 30(2): 309.
- Group, R. A. D. 2004. Risk Assessment in Ready to Eat Foods, Available at: <http://www.fao.org/es/esn> (Accessed 9 May 2006).
- Han, J. H. 2005. Antimicrobial packaging systems. Innovations in Food Packaging. In: Han JH. San Diego, Calif: Academic Press: 80–101.
- Hara-Kudo, Y., M. Ikedo, H. Kodaka, H. Nakagawa, K. Goto, T. Masuda, H. Konuma, T. Kojima and S. Kumagai. 2000. Selective enrichment with a resuscitation step for isolation of freeze-injured *Escherichia coli* O157: H7 from foods. Applied and Environmental Microbiology 66(7): 2866-2872.
- Hassan, C. M. and N. A. Peppas. 2000. Structure and applications of poly (vinyl alcohol) hydrogels produced by conventional crosslinking or by freezing/thawing methods. Biopolymers: PVA Hydrogels, Anionic Polymerisation Nanocomposites, Springer: 37-65.
- Heuvelink, A. E., G. L. Roessink, K. Bosboom and E. de Boer. 2001. Zero-tolerance for faecal contamination of carcasses as a tool in the control of *Escherichia coli* O157:H7 VTEC infections. International Journal of Food Microbiology 66(1): 13-20.

- Hilborn, E. D., J. H. Mermin, P. A. Mshar, J. L. Hadler, A. Voetsch, C. Wojtkunski, M. Swartz, R. Mshar, M.A. Lambert-Fair and J. A. Farrar. 1999. A multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with consumption of mesclun lettuce. Archives of Internal Medicine 159(15): 1758-1764.
- Hitchins, A. D. 1996. Assessment of alimentary exposure to *Listeria monocytogenes*. International Journal of Food Microbiology 30(1): 71-85.
- Homayonia, H., S. A. H. Ravandia and M. Valizadeh. 2009. Electrospinning of chitosan nanofibers: Processing optimization. Carbohydrate polymers 77: 656-661.
- Huyck, C. L. 1944. Cetylpyridinium chloride. American Journal Pharmaceutical 116: 50-59.
- Ignatova, M., K. Starbova, N. Markova, N. Manolova and I. Rashkov. 2006. Electrospun nano-fibre mats with antibacterial properties from quaternised chitosan and poly (vinyl alcohol). Carbohydrate Research 341(12): 2098-2107.
- Islam, M., J. Chen, M. P. Doyle and M. Chinnan. 2002. Control of *Listeria monocytogenes* on turkey frankfurters by generally-recognized-as-safe preservatives. Journal of Food Protection 65(9): 1411-1416.
- Jarusuwannapoom, T., W. Hongrojjanawiwat, S. Jitjaicham, L. Wannatong, M. Nithitanakul, C. Pattamaprom, P. Koombhongse, R. Rangkupan, P. Supaphol. 2005. Effect of solvents on electro-spinnability of polystyrene solutions and morphological appearance of resulting electrospun polystyrene fibers. European Polymer Journal 41: 409-421.
- Jimenez-Villarreal, J. R., F. W. Pohlman, Z. B. Johnson and A. H. Brown. 2003. Effects of chlorine dioxide, cetylpyridinium chloride, lactic acid and trisodium phosphate on physical, chemical and sensory properties of ground beef. Meat Science 65(3): 1055-1062.
- Jin, T., L. Liu, H. Zhang and K. Hicks. 2009. Antimicrobial activity of nisin incorporated in pectin and polylactic acid composite films against *Listeria monocytogenes*. International journal of food science & technology 44(2): 322-329.
- Jin, T. and H. Zhang. 2008. Biodegradable polylactic acid polymer with nisin for use in antimicrobial food packaging. Journal of Food Science 73(3): M127-M134.

- Kessicka, R., Fenn, J. and G. Tepper. 2004. The use of AC potentials in electrospraying and electrospinning processes. Polymer 45: 2981-2984.
- Ketchum, P. A. 1988. Prokaryotic cells: organization, structure and function. In: Microbiology: Concepts and Applications, Wiley, Toronto, Ontario, Canada.
- Khajavi, R. and R. Damerchely. 2007. Effect of polyvinyl alcohol concentration in spinning dope on diameter, beads and HHS of produced nanofibers. Pakistan Journal of Biological Science 10: 314-317.
- Ki, C. S., D. H. Baek, K. D. Gang, K. H. Lee, I. C. Um and Y. H. Park. 2005. Characterization of gelatin nanofiber prepared from gelatin-formic acid solution. Polymer 46: 5094-5102.
- Kim, J.W. and M. F. Slavik. 1996. Cetylpyridinium chloride (CPC) treatment on poultry skin to reduce attached *Salmonella*. Journal of Food Protection 59(3): 322-326.
- Kim, J.-W. and M. F. Slavik. 1996. Cetylpyridinium chloride (CPC) treatment on poultry skin to reduce attached *Salmonella*. Journal of Food Protection 59(3): 322-326.
- Kvenberg, J., P. Stolfa, D. Stringfellow and E. S. Garrett. 2000. HACCP development and regulatory assessment in the United States of America. Food Control 11(5): 387-401.
- Labuza, T. and W. Breene. 1989. Applications of "Active packaging" for improvement of shelf-life and nutritional quality of fresh and extended shelf-life food. Journal of Food Processing and Preservation 13(1): 1-69.
- Lawrie, A. 1998. Lawrie's meat science. Lancaster, Pennsylvania: Technomic Publishing Company.
- Levine, P., B. Rose, S. Green, G. Ransom and W. Hill. 2001. Pathogen testing of ready-to-eat meat and poultry products collected at federally inspected establishments in the United States, 1990 to 1999. Journal of Food Protection 64(8): 1188-1193.
- Lim, K. and A. Mustapha. 2004. Effects of cetylpyridinium chloride, acidified sodium chlorite, and potassium sorbate on populations of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and *Staphylococcus aureus* on fresh beef. Journal of Food Protection 67(2): 310-315.

- Lim, K. and A. Mustapha. 2007. Inhibition of *Escherichia coli* O157: H7, *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* on sliced roast beef by cetylpyridinium chloride and acidified sodium chlorite. Food microbiology 24(1): 89-94.
- Limjaroen, P., E. Ryser, H. Lockhart and B. Harte. 2003. Development of a food packaging coating material with antimicrobial properties. Journal of plastic film and sheeting 19(2): 95-109.
- Liu, H. Q. and Y. L. Hiseh. 2002. Ultrafine fibrous cellulose membranes from electrospinning of cellulose acetate. Polymer Physics 40: 2119-2129.
- Lopez-Rubio, A., E. Almenar, P. Hernandez-Muñoz, J. M. Lagarón, R. Catalá and R. Gavara. 2004. Overview of active polymer-based packaging technologies for food applications. Food Reviews International 20(4): 357-387.
- Mayer, J., A. Allen, P. Dell, J. McCassie, A. Shupe, P. Stenhouse, E. Welch and D. Kaplan. 1994. Development of biodegradable materials: balancing degradability and performance, American Chemical Society, Washington, DC (United States).
- McClure, P. and S. Hall. 2000. Survival of *Escherichia coli* in foods. Journal of Applied Microbiology 88(S1): 615-705.
- Megelski, S., J. S. Stephens, D. B. Chase and J. F. Rabolt. 2002. Micro- and nanostructured surface morphology on electrospun polymer fibers. Macromolecules 35(22): 8456-8466.
- Mendonca, A., R. Molins, A. Kraft and H. Walker. 1989b. Effects of Potassium sorbate, sodium acetate, phosphates and sodium chloride alone or in combination on shelf life of vacuum-packaged pork chops. Journal of Food Science 54(2): 302-306.
- Mendonca, A. F., R. A. Molins and H. W. Walker. 1989a. Microbiological, chemical, and physical changes in fresh, vacuum-packaged pork treated with organic acid and salts. Journal of Food Science 54: 18-21.
- Michino, H., K. Araki, S. Minami, S. Takaya, N. Sakai, M. Miyazaki, A. Ono and H. Yanagawa. 1999. Massive outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection in schoolchildren in Sakai City, Japan, associated with consumption of white radish sprouts. American Journal of Epidemiology 150(8): 787-796.

- Min, B.M., S. W. Lee, J. N. Lim, Y. You, T. S. Lee, P. H. Kang and W. H. Park. 2004. Chitin and chitosan nanofibers: electrospinning of chitin and deacetylation of chitin nanofibers. Polymer 45(21): 7137-7142.
- Mit-uppatham, C., M. Nithitanakul and P. Supaphol. 2004. Ultrafine electrospun polyamide-6 fibers: effect of solution conditions on morphology and average fiber diameter. Macromolecular Chemistry and Physics 205(17): 2327-2338.
- Modarress, H., M. M. Nia and R. Mostafa. 2005. Viscosity measurements and modelling of aqueous polyvinyl alcohol mixtures. Iranian Polymer Journal 14(2): 181-184.
- Munir, M. M., A. B. Suryamas, F. Iskandar and K. Okuyama. 2009. Scaling law on particle-to-fiber formation during electrospinning. Polymer 50(20): 4935-4943.
- Neetoo, H., M. Ye, H. Chen, R. D. Joerger, D. T. Hicks and D. G. Hoover. 2008. Use of nisin-coated plastic films to control *Listeria monocytogenes* on vacuum-packaged cold-smoked salmon. International Journal of Food Microbiology 122(1): 8-15.
- Nguyen, V., M. Gidley and G. Dykes. 2008. Potential of a nisin-containing bacterial cellulose film to inhibit *Listeria monocytogenes* on processed meats. Food Microbiology 25(3): 471-478.
- Pattamapron, C., W. Hongrojjanawiwat, P. Koombhongse, P. Supaphol, T. Jarusuwannapoom, R. Rangkupan. 2006. The influence of solvent properties and functionality on the electrospinnability of polystyrene nanofibers. Macromolecular Materials and Engineering 291: 840-847.
- Petrocci, A. N. 1977. Quaternary ammonium compounds. In disinfection, sterilization, and preservation, edited by S.S.Block. Lea and Febiger, Philadelphia.
- Pintado, C. M., M. A. Ferreira and I. Sousa. 2010. Control of pathogenic and spoilage microorganisms from cheese surface by whey protein films containing malic acid, nisin and natamycin. Food Control 21(3): 240-246.
- Podolak, R., J. Zayas, C. Kastner and D. Fung. 1996. Inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157: H7 on beef by application of organic acids. Journal of Food Protection 59(4): 370-373.

- Pohlmana, F. W., M. R. Stivariusb, K. S. McElyeaa and A. L. Waldroupc. 2002. Reduction of *E. coli*, *Salmonella typhimurium*, coliforms, aerobic bacteria, and improvement of ground beef color using trisodium phosphate or cetylpyridinium chloride before grinding. Meat Science 60: 349–356.
- Pranoto, Y., S. Rakshit and V. Salokhe. 2005. Enhancing antimicrobial activity of chitosan films by incorporating garlic oil, potassium sorbate and nisin. LWT-Food Science and Technology 38(8): 859-865.
- Quintavalla, S. and L. Vicini. 2002. Antimicrobial food packaging in meat industry. Meat Science 62(3): 373-380.
- Ramakrishna, S., K. Fujihara, W. E. Teo, T. C. Lim and Z. Ma. 2005. An introduction to electrospinning and nanofibers. World Scientific.
- Ray, B. 2001. Fundamental Food Microbiology 2nd ed. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Reneker, D. H., A. L. Yarin, H. Fong and S. Koombhongse. 2000. Bending instability of electrically charged liquid jets of polymer solutions in electrospinning. Journal of Applied Physics 87:4531-4547.
- Reneker, D. H. and A. L. Yarin . 2008. Electrospinning jets and polymer nanofibers. Polymer 49:2387-2425.
- Reneker, D. H., A. L. Yarin, H. Fong and S. Koombhongse. 2010. Evolution of fiber morphologies during poly (acrylonitrile) electrospinning. Polymer 49:2387-2425
- Risk Assessment Drafting Group. 2004. Risk assessment in ready to eat foods, Available at:<http://www.fao.org/es/esn> (Accessed 9 May 2006).
- Ross, R. P., S. Morgan and C. Hill. 2002. Preservation and fermentation: past, present and future. International journal of Food Microbiology 79(1): 3-16.
- Rutledge, G. C. and S. V. Fridrikh. 2007. Formation of fibers by electrospinning. Advanced Drug Delivery Reviews 59(14): 1384-1391.
- Rutledge, G. C., Y. Li, S. Fridrikh, S. Warner, V. Kalayci and P. Patra. 2000. Electrostatic spinning and properties of ultrafine fibers. National Textile Center, Technical Report (M98-D01).
- Safi, S., M. Morshed, S. Hosseini Ravandi and M. Ghiaci. 2007. Study of electrospinning of sodium alginate, blended solutions of sodium alginate/poly (vinyl alcohol)

- and sodium alginate/poly (ethylene oxide). Journal of Applied Polymer Science 104(5): 3245-3255.
- Salleh, E., I. Muhamad and N. Khairuddin. 2007. Preparation, characterization and antimicrobial analysis of antimicrobial starch-based film incorporated with chitosan and lauric acid. Asian Chitin Journal 3: 55-68.
- Samelis, J., G. K. Bedie, J. N. Sofos, K. E. Belk, J. A. Scanga and G. C. Smith. 2002. Control of *Listeria monocytogenes* with combined antimicrobials after postprocess contamination and extended storage of frankfurters at 4°C in vacuum packages. Journal of Food Protection 65(2): 299-307.
- Samelis, J. and J. Metaxopoulos. 1999. Incidence and principal sources of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* contamination in processed meats and a meat processing plant. Food microbiology 16(5): 465-477.
- Samelis, J., J. N. Sofos, M. L. Kain, J. A. Scanga, K. E. Belk and G. C. Smith. 2001. Organic acids and their salts as dipping solutions to control *Listeria monocytogenes* inoculated following processing of sliced pork bologna stored at 4°C in vacuum packages. Journal Food Protection 64(11): 1722-1729.
- Sanjurjo, K., S. Flores, L. Gerschenson and R. Jagus. 2006. Study of the performance of nisin supported in edible films. Food Research International 39(6): 749-754.
- Schiffmann, J. and H. Schlösser 2011. Antimicrobial food packaging, Google Patents.
- Schlech, W. F., P. M. Lavigne, R. A. Bortolussi, A. C. Allen, E. V. Haldane, A. J. Wort, A. W. Hightower, S. E. Johnson, S. H. King and E. S. Nicholls. 1983. Epidemic listeriosis—evidence for transmission by food. New England Journal of Medicine 308(4): 203-206.
- Seeliger, H. P. R. 1961. Listeriosis. Hafner Publ. Co., Inc., New York, NY.
- Seeliger, H. P. R. and H. Finger. 1983. Listeriosis. In: Remington, J.S., Klein, J. (Eds), Saunders Infectious diseases of the fetus and the newborn infant. pp. 333-365.
- Shao, C., H.Y. Kim, J. Gong, B. Ding, D.R. Lee and S.J. Park. 2003. Fiber mats of poly (vinyl alcohol)/silica composite via electrospinning. Materials Letters 57(9): 1579-1584.
- Shenoy, S. L., W. D. Bates, H. L. Frisch and G. E. Wnek. 2005. Role of chain entanglements on fiber formation during electrospinning of polymer solutions:

- good solvent, non-specific polymer–polymer interaction limit. Polymer 46(10): 3372-3384.
- Singh, M., V. Gill, H. Thippareddi, R. K. Phebus, J. L. Marsden, T. Herald and A. L. Nutsch. 2005. Antimicrobial activity of cetylpyridinium chloride against *Listeria monocytogenes* on frankfurters and subsequent effect on quality attributes. Journal of Food Protection 68(9): 1823-1830.
- Sivapalasingam, S., C. R. Friedman, L. Cohen and R. V. Tauxe. 2004. Fresh produce: a growing cause of outbreaks of foodborne illness in the United States, 1973 through 1997. Journal of Food Protection 67(10): 2342-2353.
- Son, W. K., J. H. Youk, T. S. Lee and W. H. Park. 2004. Electrospinning of ultrafine cellulose acetate fibers: studies of a new solvent system and deacetylation of ultrafine cellulose acetate fibers. Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics 42(1): 5-11.
- Sonneveld, K. 2000. What drives (food) packaging innovation? Packaging Technology and Science 13(1): 29-35.
- Sorrells, K. M., D. C. Enigl and J. R. Hatfield. 1989. Effect of pH, acidulant, time, and temperature on the growth and survival of *Listeria monocytogenes*. Journal of Food Protection 52(8): 571-573.
- Suppakul, P., Miltz, J., Sonneveld, K., Bigger, S.W., 2002. Preliminary study of antimicrobial films contaminating the principal constituents of basil. World conference on packaging: World conference on packaging: proceedings of the 13th Intl. Assoc. of packaging Res. Inst., Michigan State Univ., East Lansing, Mich., June 23-28. Fla.:CRC Press LLC. Pp, 834-839.
- Suthamnoi, O., P. Danwanichakul, P. Koombhongse, S. Loykulnant and O. Chaikumpollert. 2008. Electrospinning of Chito-Oligosaccharide/Poly(vinyl alcohol) dissolved in water. International Journal of Electrospun Nanofibers and Applications 2(2): 135-150.
- Swaminathan, B., D. Cabanes, W. Zhang and P. Cossart 2007. *Listeria monocytogenes*. In: Doyle, M.P. and Beuchat, L.R. (Eds). Food microbiology: fundamentals and frontiers. 3rd ed., Washington, D.C., ASM Press. pp 457-91.

- Takamura, A., F. Ishii and H. Hidaka. 1992. Drug release from poly (vinyl alcohol) gel prepared by freeze-thaw procedure. Journal of Controlled Release 20(1): 21-27.
- Taniguchi, J. and K. Ohkita. 1977. Testing paper for measuring poly(vinyl alcohol) concentration. In Shikishima Spinning Co., Ltd, ed. J. Patent, Japanese.
- Taylor, G. 1987. Disintegration of water drops in an electric field. Proceedings of the Royal Society of London A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences, The Royal Society.
- Tienungoon, S., D. Ratkowsky, T. McMeekin and T. Ross. 2000. Growth limits of *Listeria monocytogenes* as a function of temperature, pH, NaCl, and lactic acid. Applied and Environmental Microbiology 66(11): 4979-4987.
- Timm, R. R., M. N. Hajmeer and J. L. Marsden. 2000. Efficacy of peracetic acid against *Listeria monocytogenes* inoculated on commercial sausages. The Food Safety Consortium report. Fayetteville, Ar. 83-90.
- Todd, E. C. 2004. Microbiological safety standards and public health goals to reduce foodborne disease. Meat Science 66(1): 33-43.
- Tompkin, R. 2002. Control of *Listeria monocytogenes* in the food-processing environment. Journal of Food Protection 65(4): 709-725.
- Tripathi, S., G. Mehrotra and P. Dutta. 2009. Physicochemical and bioactivity of cross-linked chitosan-PVA film for food packaging applications. International Journal of Biological Macromolecules 45(4): 372-37
- Tripathi, S., G. Mehrotra and P. Dutta. 2010. Preparation and physicochemical evaluation of chitosan/poly (vinyl alcohol)/pectin ternary film for food-packaging applications. Carbohydrate polymers 79(3): 711-716.
- UAMS. 2004. UAMS discovery enhances safety of world's food supply. Safe Foods Corporation receives FDA approval for Cecure™ Available at: <http://www.uams.edu/update/absolutenm/templates/news2003v2>.(Accessed 5 June 2004).
- Van Beest, M. 2001. Objectives, tasks and results from the EC fair project: ACTIPAK. World conference on packaging. proceeding of the 13th Intl assoc. of packaging Rec. Inst., centralny osrodek badawczo-rozwojowy opakowan, Warsaw, June 18-20. Warsaw: COBRO. Subsession 1, paper3.

- Vermeiren, L., F. Devlieghere, N. de Kruijf and J. Debevere. 2004. Development in the active packaging of foods. Journal of Food Technology in Africa 5(1): 6-13.
- Vermeiren, L., F. Devlieghere, M. Van Beest, N. De Kruijf and J. Debevere. 1999. Developments in the active packaging of foods. Trends in food science & technology 10(3): 77-86.
- Vojdani, F. and J. A. Torres. 1990. Potassium sorbate permeability of polysaccharide films: chitosan, methylcellulose and hydroxypropyl methylcellulose. Journal of Food Process Engineering 12(1): 33-48.
- Wang, C. and P. M. Muriana. 1994. Incidence of *Listeria monocytogenes* in packages of retail franks. Journal of Food Protection 57(5): 382-386.
- Wang, H., Y. Li and M. F. Slavik. 2001. Efficacy of cetylpyridinium chloride in immersion treatment for reducing populations of pathogenic bacteria on fresh-cut vegetables. Journal of Food Protection 64(12): 2071-2074.
- Wang, W.C., Y. Li, M. F. Slavik and H. Xiong. 1997. Trisodium phosphate and cetylpyridinium chloride spraying on chicken skin to reduce attached *Salmonella typhimurium*. Journal of Food Protection 60(8): 992-994.
- Wani, A. A., P. Singh and H. C. Langowski. 2014. Food Technologies: Packaging. Encyclopedia of Food Safety 3: 211-218.
- Wederquist , H. J., J. N. Sofos and G. R. Schmidt. 1994. *Listeria monocytogenes* inhibition in refrigerated vacuum packaged turkey bologna by chemical additives. Journal of Food Science 59(3): 498-500.
- Wong, D. W., K. S. Gregorski, J. S. Hudson and A. E. Pavlath. 1996. Calcium alginate films: thermal properties and permeability to sorbate and ascorbate. Journal of Food Science 61(2): 337-341.
- Xiong, H., Y. Li, M. Slavik and J. Walker. 1998. Chemical spray conditions for reducing bacteria on chicken skins. Journal of Food Science 63(4): 699-701.
- Yang, H., Y. Cheng, B. L. Swem and Y. Li. 2003. Efficacy of cetylpyridinium chlorine on *Salmonella Typhimurium* and *Escherichia coli* O157:H7 in immersion spray treatment of fresh-cut lettuce. Journal of Food Science 68: 1008-1012.

- Ye, M., H. Neetoo and H. Chen. 2008. Control of *Listeria monocytogenes* on ham steaks by antimicrobials incorporated into chitosan-coated plastic films. Food Microbiology 25(2): 260-268.
- Young, K. and P. Foegeding. 1993. Acetic, lactic and citric acids and pH inhibition of *Listeria monocytogenes* Scott A and the effect on intracellular pH. The Journal of Applied Bacteriology 74(5): 515-520.
- Yuan, X., Y. Zhang, C. Dong and J. Aheng. 2004. Morphology of ultrafine polysulfone fibers prepared by electrospinning. Polymer International 53: 1704-1710.
- Zhang, C., X. Yuan, L. Wu, Y. Han and J. Sheng. 2005. Study on morphology of electrospun poly (vinyl alcohol) mats. European Polymer Journal 41(3): 423-432.
- Zhu, M., M. Du, J. Cordray and D. Uk Ahn. 2005. Control of *Listeria monocytogenes* contamination in ready-to-eatmeat products. Comp Rev Food Sci Food Safety. 4, 34-42.
- Zong, X., K. Kim, D. Fang, S. Ran, B. S. Hsiao and B. Chua. 2002. Structure and process relationship of electrospun bioabsorbable nanofiber membranes. Polymer 43: 4403-4412.



ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาคผนวก ก

สูตรอาหารและวิธีการเตรียมอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อ

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB (Trypticase soy broth)

ในอาหาร 1 ลิตร ประกอบด้วย

ทริปโตเน	17.0	กรัม
ซอยโตเน	3.0	กรัม
กลูโคส	2.5	กรัม
โซเดียมคลอไรด์	5.0	กรัม
ไดโพรเทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	2.5	กรัม

ละลายสารทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-เบสให้เท่ากับ 7.0 จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121^oซ เป็นเวลา 15 นาที

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ TSA (Trypticase soy agar)

ในอาหาร 1 ลิตร ประกอบด้วย

ทริปโตเน	17.0	กรัม
ซอยโตเน	3.0	กรัม
กลูโคส	2.5	กรัม
โซเดียมคลอไรด์	5.0	กรัม
ไดโพรเทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	2.5	กรัม
วุ้นผง	15.0	กรัม

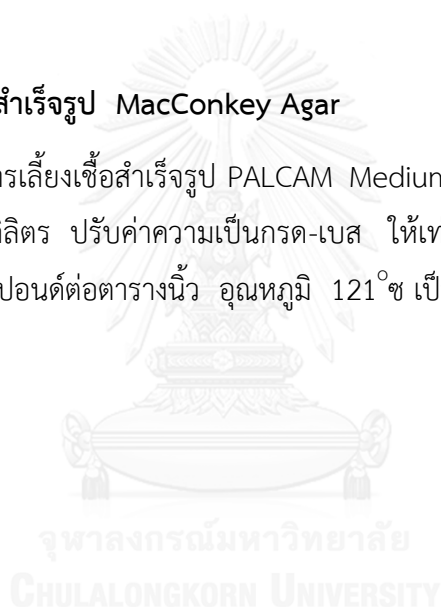
ละลายสารทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-เบส ให้เท่ากับ 7.0 จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121^oซ เป็นเวลา 15 นาที

3. อาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป PALCAM Medium Base

ละลายอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป PALCAM Medium Base 68 กรัม ลงในน้ำกลั่น ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-เบส ให้เท่ากับ 7.0 จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121^oซ เป็นเวลา 15 นาที

4. อาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป MacConkey Agar

ละลายอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป PALCAM Medium Base 50 กรัม ลงในน้ำกลั่น ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-เบส ให้เท่ากับ 7.0 จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121^oซ เป็นเวลา 15 นาที



ภาคผนวก ข

สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. สารละลายฟอสเฟต บัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ค่าความเป็นกรด-เบส เท่ากับ 7.0

ในสารละลายบัฟเฟอร์ 1 ลิตร ประกอบด้วย

โซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (NaH_2PO_4)	5.49	กรัม
ไดโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	8.55	กรัม

ปรับค่าความเป็นกรด-เบส เท่ากับ 7.0 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

2. สารละลายกรดไตรฟลูโอโรอะซิติก ร้อยละ 0.05 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ในน้ำ

ในสารละลาย 1 ลิตร ประกอบด้วย

กรดไตรฟลูโอโรอะซิติก (Trifluoroacetic acid)	0.5	มิลลิลิตร
น้ำปลอดประจุ (Double Distillation of Deionized Water)	99.5	มิลลิลิตร

นำไปกรองด้วยชุดกรองสำเร็จรูปชนิดเซลลูโลสอะซิเตต ขนาดความกว้างรู 0.45 ไมโครเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 47 มิลลิเมตร

3. สารละลายกรดไตรฟลูโอโรอะซิติก ร้อยละ 0.05 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ในอะซิโตรไนไตรล์

ในสารละลาย 1 ลิตร ประกอบด้วย

กรดไตรฟลูโอโรอะซิติก (Trifluoroacetic acid)	0.5	มิลลิลิตร
อะซิโตรไนไตรล์ (Acetonitrile)	99.5	มิลลิลิตร

นำไปกรองด้วยชุดกรองสำเร็จรูปชนิดเซลลูโลสอะซิเตต ขนาดความกว้างรู 0.45 ไมโครเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 47 มิลลิเมตร

4. สารละลาย Normal saline ความเข้มข้น 0.85%

โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	8.5	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121^oซ เป็น

เวลา 15 นาที



ภาคผนวก ค

ข้อมูลผลการทดลอง

กราฟมาตรฐานเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์

ละลายเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์ ปริมาณ 2 มิลลิกรัม ในน้ำกลั่นปลอดประจุ ปริมาตร 1 มิลลิตร จากนั้นเจือจางสารละลายให้มีความเข้มข้น 1.0, 0.5, 0.25, 0.125, 0.0625 และ 0.0312 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร ตามลำดับ จากนั้นนำไปวิเคราะห์ปริมาณเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์ในแต่ความเข้มข้นด้วยเครื่องแยกสารโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูงแบบรีเวิร์สเฟส (Reverse phase HPLC)

โดยมี คอลัมน์ตัวยัดเกาะ : C-18

ตัวชะคอลัมน์ตัวที่ 1 (สารละลาย A) : กรดไตรฟลูโอโรอะซีติก (TFA) ร้อยละ 0.05

(ปริมาตร/ปริมาตร) ละลายในน้ำ

ตัวชะคอลัมน์ตัวที่ 2 (สารละลาย B) : กรดไตรฟลูโอโรอะซีติก (TFA) ร้อยละ 0.05

(ปริมาตร/ปริมาตร) ละลายในอะซิโตนไนโตรล์

โดยในช่วง 5 นาทีแรกของการวิเคราะห์ จะทำการชะคอลัมน์ด้วยสารละลาย A และสารละลาย B ในปริมาณเท่ากับร้อยละ 20 และร้อยละ 80 ตามลำดับ จากนั้นที่เวลา 5-20 นาที จะค่อยๆปรับความเข้มข้นของสารละลาย A เพิ่มขึ้นจากร้อยละ 20 ไปจนถึงร้อยละ 80 และสารละลาย B ค่อยๆลดจากร้อยละ 80 ไปจนถึงร้อยละ 20 โดยใช้อัตราไหล 1 มิลลิิตรต่อนาที บันทึกพื้นที่ใต้กราฟจากโปรแกรมของเครื่องแยกสารโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง (รุ่น Water 1283 ของบริษัท Water) จากนั้นสร้างกราฟมาตรฐานเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์จากพื้นที่ใต้กราฟที่ได้มาดังกล่าว

ตารางที่ 1 พื้นที่ใต้กราฟมาตรฐานเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์



รูปที่ 1 กราฟมาตรฐานเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวสุชาวลี จำเมือง เกิดเมื่อวันที่ 12 มกราคม พ.ศ. 2532 ที่จังหวัดราชบุรี สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ภาคชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในปีการศึกษา 2553 และเข้ารับการศึกษต่อในระดับปริญญาโทบริหารธุรกิจ สาขาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาคจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2554

ส่วนหนึ่งของงานวิจัยนี้ได้เข้าร่วมเสนอผลงานการประชุมวิชาการระดับนานาชาติในงาน International Graduate Research Conference 2014 ในวันที่ 12 ธันวาคม 2557 ที่ โรงแรมดิเอ็มเพรส จังหวัดเชียงใหม่ ประเทศไทย ในหัวข้อเรื่อง ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF CETYLPYRIDINIUM CHLORIDE COATED FILM USING ELECTROSPINNING TECHNIQUE หน้า ST 15 - ST 20