

กิตติกรรมประกาศ

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์นี้ ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน มหาวิทยาลัย
นเรศวร ประจำปีงบประมาณ 2553 สาขาเกษตรศาสตร์และชีววิทยา และสำเร็จลุล่วงได้ ผู้วิจัยจึง
ขอขอบพระคุณมหาวิทยาลัยนเรศวร

ผู้วิจัย หวังว่างานวิจัยนี้จะเป็นประโยชน์ต่ออุตสาหกรรมอาหารและการจัดการเรียนการสอนที่
เกี่ยวข้องกับจุลชีววิทยาทางอาหาร เทคโนโลยีอาหาร และผู้สนใจต่อไปในอนาคต

(นางสาวศรีสุตา กวยาสกุล)

หัวหน้าโครงการวิจัย

ตุลาคม 2555

บทสรุปผู้บริหาร

โครงการวิจัย เรื่อง ผลของโอโซนต่อการลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในผักพร้อมบริโภค

(Effect of Ozone to Microbial Decontamination on Minimally-Processed Vegetables)

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบัน การบริโภคผักสดได้รับความนิยมเพิ่มขึ้น เนื่องจากได้ตระหนักถึงคุณค่าในด้านโภชนาการของผักสดที่ส่งผลดีต่อสุขภาพของคนเรา ผักโดยเฉพาะผักสด เป็นอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง ประกอบด้วยสารอาหารที่สำคัญหลายชนิด ได้แก่ วิตามิน เกลือแร่ โยอาหาร และสารต้านอนุมูลอิสระ เป็นต้น ประกอบกับผู้บริโภคในปัจจุบันใช้ชีวิตเร่งรีบ ต้องการความสะดวกรวดเร็วโดยเฉพาะในการประกอบอาหาร จึงทำให้ผักสดชนิดต่างๆ เช่น มะเขือเทศ แตงกวา ถั่วงอก แครอท และผักพร้อมบริโภค (Minimally-processed vegetables) ได้รับความสนใจและนิยมบริโภคกันมากขึ้น ผักพร้อมบริโภค ได้แก่ ผักสลัด หรือ ผักที่ผ่านการล้าง การตัด หั่น ปอกเปลือก แกะเมล็ด เป็นต้น ผักเหล่านี้นิยมรับประทานเป็นผักสด ไม่ผ่านการปรุงสุก ดังนั้นคุณภาพของผักสดหรือผักพร้อมบริโภค จึงเป็นสิ่งสำคัญที่ผู้บริโภคควรคำนึงถึง ตามปกติผักสดและผักพร้อมบริโภคจะมีการปนเปื้อนของยาฆ่าแมลงหรือสารเคมีที่ใช้ในแปลงเพาะปลูกรวมทั้งผักสดยังจะมีการปนเปื้อนโดยเชื้อจุลินทรีย์ได้ในทุกขั้นตอน ตั้งแต่อยู่ในแปลงหรือในสวน และเมื่อผักถูกเก็บเกี่ยวไปจำหน่าย การแปรรูปเป็นผักพร้อมบริโภค ซึ่งในแต่ละปีจะมีรายงานการเกิดการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษจากการบริโภคผักผลไม้สดเพิ่มมากขึ้น พบว่ามีสาเหตุมาจากผักเป็นส่วนมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งผักสลัด ซึ่งมักเป็นผักสดที่ต้องผ่านการแปรรูปจากผู้ประกอบอาหาร ส่วนแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคอาหารเป็นพิษและมักพบว่าปนเปื้อนมากับผักผลไม้พร้อมบริโภค คือ *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Shigella*, *Salmonella typhimurium* และ Hepatitis A (Singh และคณะ 2002) ดังนั้น จำนวนจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในช่วงเริ่มต้น จะบ่งบอกถึงคุณภาพของผลิตภัณฑ์สุดท้าย จึงจำเป็นต้องหาวิธีการที่มีประสิทธิภาพมาช่วยลดปริมาณหรือทำลายจุลินทรีย์ที่ติดมากับผัก ทำให้ผลิตภัณฑ์เหล่านี้ต้องผ่านกระบวนการผลิตที่ทำให้มั่นใจว่าผักนั้นสะอาดและปลอดภัยต่อการบริโภค ควรบรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์ที่สะอาดและสามารถคงความสดของผักไว้ได้ ปัจจุบันได้มีการรายงานมากมายที่สนับสนุนให้มีการนำโอโซนมาใช้ในการถนอมอาหารซึ่งมีความปลอดภัยสูง นอกจากนี้เครื่องผลิตก๊าซโอโซนก็มีราคาถูกลงอย่างมาก ทำให้สามารถนำมาใช้ในระดับอุตสาหกรรมได้

ดังนั้นผู้วิจัยได้เห็นถึงปัญหาและความสำคัญดังกล่าว จึงจะทำการศึกษาวิจัยผลของไอโซนที่มีต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับผักสด และผลของไอโซนต่อการลดปริมาณการปนเปื้อนจากเชื้อ จุลินทรีย์กลุ่มที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพและจุลินทรีย์ที่ทำให้ผักเน่าเสียเร็ว รวมทั้งข้อมูลที่ได้จากการการทดลองนี้ จะสามารถนำไปปรับประยุกต์ใช้กับอุตสาหกรรมอาหารของไทย เพื่อให้ผลิดอาหารให้ได้คุณภาพตามที่กำหนดเพื่อการส่งออกและเพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- 1 เพื่อศึกษาผลของไอโซนต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุทำให้ผักเน่าเสียและทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ
- 2 เพื่อศึกษาผลของไอโซนที่ทำให้โครงสร้างของเซลล์จุลินทรีย์เกิดการเสียหาย ศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน
- 3 เพื่อศึกษาผลของไอโซนต่อการลดปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดมากับผิวผักสดและผักพร้อมบริโภค

ขอบเขตของการวิจัย

- 1 เชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ จำนวน 9 สายพันธุ์ ที่มักพบว่าปนเปื้อนมากับผักสดและผักพร้อมบริโภค และเป็นสาเหตุทำให้ผักเน่าเสียและทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ถูกคัดเลือกมาใช้ในการทดลอง และเป็นเชื้อที่เพาะเลี้ยงได้ง่ายในห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยา
- 2 การศึกษาวิจัยนี้ทำการทดลองภายใน ozone chamber แบบระบบปิดที่ควบคุมความเข้มข้นของไอโซนได้อย่างต่อเนื่องตามระยะเวลาการให้ไอโซนที่กำหนด
- 3 ผักสดและผักพร้อมบริโภค ที่ผู้บริโภคนิยมรับประทานแบบสด และสามารถเป็นตัวแทนผักสดชนิดอื่นๆ ได้แก่ ผักกาดหอม มะเขือเทศ และแตงกวา ถูกคัดเลือกมาใช้ในการทดลองใน ozone chamber

วิธีดำเนินงานวิจัย

ตอนที่ 1 ผลของไอโซนที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

1.1 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ เป็นเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์สายพันธุ์อ้างอิงและมีรายงานว่าเป็นเชื้อที่มักจะปนเปื้อนมากับผักสด ทำให้ ผักเน่าเสีย (microbial spoilage) และทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ได้แก่ Gram negative: *Escherichia coli* TISTR 780, *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781, *Salmonella Typhimurium* DMST 562 Gram positive : *Staphylococcus aureus* TISTR 1466, *Enterococcus faecalis* TISTR 379, *Bacillus cereus* TISTR 687, *Listeria monocytogenes* DMST1327 เชื้อรา ได้แก่ *Aspergillus niger* ยีสต์ ได้แก่ *Candida albicans* TISTR 5239

1.2 เลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ บนอาหาร Trypticase soy agar ยกเว้น เชื้อรา เลี้ยงบนอาหาร Potato dextrose agar นำเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับเชื้อรา และ ยีสต์ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นเตรียมเชื้อเพื่อการ ทดสอบ กับไอโซน โดยเติมน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ลงใน final pellet ของแต่ละเชื้อ ปรับปริมาณเชื้อเริ่มต้น ให้มีค่าเท่ากับ 10^6 - 10^7 cfu/ml. (ทำ 3 ซ้ำ)

1.3 นำแต่ละเชื้อมาผ่านไอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm. ที่เวลา 0, 5, 15 และ 30 นาที ไอโซนผลิต จากเครื่องกำเนิดก๊าซไอโซน Model 02- 3020 ปริมาณความเข้มข้นของก๊าซ ปรับตั้งผ่านวาล์ว แสตนเลส มีอุปกรณ์ป้องกันการกัดกร่อน ความเข้มข้นตรวจวัดโดย เครื่องไอโซนมอนิเตอร์ รุ่น 2B Technologies Model 202, USA

1.4 หลังจากแต่ละเชื้อทดสอบได้รับไอโซนที่ความเข้มข้นและเวลาที่แตกต่างกันแล้ว ให้นำมาตรวจนับ ปริมาณเชื้อที่มีชีวิตรอด โดยทำการเพาะเลี้ยงบนอาหาร Trypticase soy agar และ Potato dextrose agar โดยเปรียบเทียบกับปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่เวลา 0 นาที บันทึกผลการทดลองโดยคำนวณหาค่า cfu/ ml จากนั้น ข้อมูลทั้งหมดของแต่ละเชื้อให้คิดออกมาเป็น $\log_{10}$ cfu/ml.

ตอนที่ 2 ผลของไอโซนที่มีต่อโครงสร้างของเซลล์จุลินทรีย์โดยทำให้เกิดการเสียหายแก่เซลล์ ศึกษา ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

นำเชื้อทดสอบแต่ละเชื้อที่ผ่านไอโซนที่ระดับความเข้มข้น 6 ppm เป็นเวลานาน 30 นาที ไปศึกษา โครงสร้างของเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Scanning electron microscope) เปรียบเทียบกับ โครงสร้างของเซลล์ปกติ ว่ามีการเปลี่ยนแปลงไปอย่างไร ที่ทำให้เซลล์เกิดการตาย

ตอนที่ 3 ผลของไอโซนที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการลดปริมาณการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดมากับ ผักผักสดและผักพร้อมบริโภค

3.1 นำผักตัวอย่าง คือ ผักกาดหอม มะเขือเทศ และแตงกวา มาผ่านการให้โอโซนที่ความเข้มข้นต่างๆ เทียบกับกลุ่มที่ไม่ให้โอโซน โดยขั้นตอนนี้จะแบ่งผักเป็น 3 กลุ่มทดลอง ได้แก่

กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม (control) คือ กลุ่มที่ไม่ผ่านการให้โอโซน (CT)

กลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มตัวอย่างที่ผ่านการให้โอโซนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm เป็นเวลา 30 นาที (OZ)

กลุ่มที่ 3 เป็นกลุ่มตัวอย่างที่ผ่านการให้โอโซนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำมาเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิตู้เย็น (OZF)

3.2 นำผักตัวอย่างกลุ่มที่เป็นกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ผ่านการให้โอโซน (คือ กลุ่มที่ 1, กลุ่มที่ 2 และ กลุ่มที่ 3) ดังในข้อ 3.1 เพื่อทำการตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางด้านจุลชีววิทยา คือ

การศึกษปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (Total aerobic plate count) ตามวิธีมาตรฐานของ U.S.FDA (2003)

การศึกษปริมาณ ยีสต์และ รา ทั้งหมด (Total yeast and mold plate count) ตามวิธีมาตรฐานของ U.S.FDA (2003)

การศึกษปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์ม และ ฟีคัลโคลิฟอร์ม (Coliforms and Fecal coliforms bacteria) ด้วยวิธี multiple-tube technique หรือ เทคนิค MPN ซึ่งเป็น indicator microorganism ตามวิธีมาตรฐานของ U.S.FDA (2003)

การตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Campylobacter* และ การตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Listeria* ตามวิธีมาตรฐานของ U.S.FDA (2003)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ตอนที่ 1 ผลของโอโซนที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

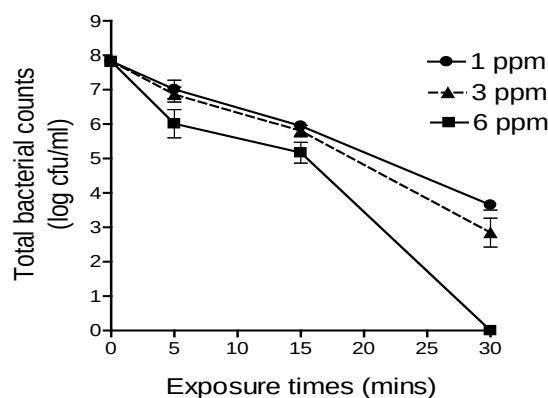
จากการทดลองให้โอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1,3 และ 6 ppm. กับเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆทั้งแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella Typhimurium* และ แบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* และ *Listeria monocytogenes* เชื้อรา ได้แก่ *Aspergillus niger* และ เชื้อยีสต์ ได้แก่ *Candida albicans* เป็นเวลา 0, 5, 15 และ 30 นาที โดยที่เวลา 0 นาที ให้เป็นชุดควบคุม คือ ไม่มีการให้โอโซน ผลการทดลองพบว่า เมื่อเพิ่มระดับ

ความเข้มข้นของโอโซนขึ้นและให้เป็นระยะเวลาขึ้น จะสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆลงได้ โดยจะเห็นได้จากปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆที่ลดลงเมื่อเทียบกับชุดควบคุม ดังผลการทดลองต่อไปนี้

1.1 ผลของโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm. ต่อการลดปริมาณของเชื้อ *Escherichia coli*

ได้ทำการทดลองโดยการเลี้ยงเชื้อ *E. coli* ในอาหาร Tryptic soy broth จากนั้นทำการปรับปริมาณเชื้อให้มีเชื้อเริ่มต้นเท่ากันในทุกชุดการทดลอง คือ 6.9×10^7 cfu/ml. หรือ เท่ากับ 7.83 log cfu/ml โดยให้เชื้อแขวนลอยอยู่ในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อปริมาตร 20 มิลลิลิตร ก่อนนำไปทดสอบกับโอโซนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ จากผลการทดลอง พบว่า โอโซนสามารถลดปริมาณของเชื้อ *E. coli* ลงได้ โดยโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm เป็นเวลานาน 30 นาที จะสามารถลดปริมาณเชื้อลงได้ถึงร้อยละ 53.2, 63.6 และ 100 ตามลำดับ ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของโอโซนขึ้นและเพิ่มระยะเวลาการให้โอโซนที่นานขึ้น จะสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้ ผลการทดลองแสดงดังกราฟที่ 1

Effect of various ozone concentration and exposure times on *Escherichia coli*



กราฟที่ 1 ผลของโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm. ต่อการลดปริมาณของเชื้อ *Escherichia coli*

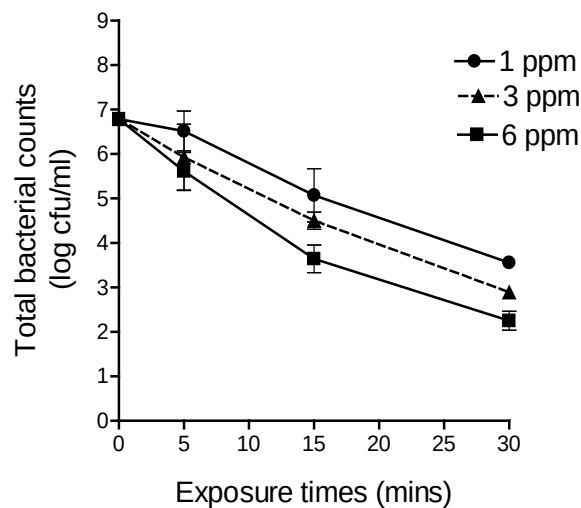
1.2 ผลของโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm. ต่อการลดปริมาณของเชื้อ

Pseudomonas aeruginosa

ได้ทำการทดลองโดยการเลี้ยงเชื้อ *P. aeruginosa* ในอาหาร Tryptic soy broth จากนั้นทำการปรับปริมาณเชื้อให้มีเชื้อเริ่มต้นเท่ากันในทุกชุดการทดลอง คือ 6.3×10^6 cfu/ml. หรือ เท่ากับ 6.79 log cfu/ml โดยให้เชื้อแขวนลอยอยู่ในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อปริมาตร 20 มิลลิลิตร ก่อนนำไปทดสอบกับ

โอโซนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ จากผลการทดลอง พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นโอโซนถึง 6 ppm. เป็นเวลา 0, 5, 15 และ 30 นาที พบว่า โอโซนสามารถลดปริมาณของเชื้อ *P. aeruginosa* ลงได้ จากเชื้อเริ่มต้นที่เวลา 0 นาที 6.79 log cfu/ml ลดลงเหลือ 5.61 log cfu/ml, 3.64 log cfu/ml และ 2.25 log cfu/ml ตามลำดับ โดยที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ผลการทดลองแสดงดังกราฟที่ 2 และจะเห็นว่าเมื่อให้โอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm เป็นเวลานาน 30 นาที จะสามารถลดปริมาณเชื้อลงได้ถึงร้อยละ 47.57, 57.44 และ 66.72 ตามลำดับ

Effect of various ozone concentration and exposure times on *Pseudomonas aeruginosa*



กราฟที่ 2 ผลของโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm. ต่อการลดปริมาณของเชื้อ

Pseudomonas aeruginosa

1.3 ผลของโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm. ต่อการลดปริมาณของเชื้อ

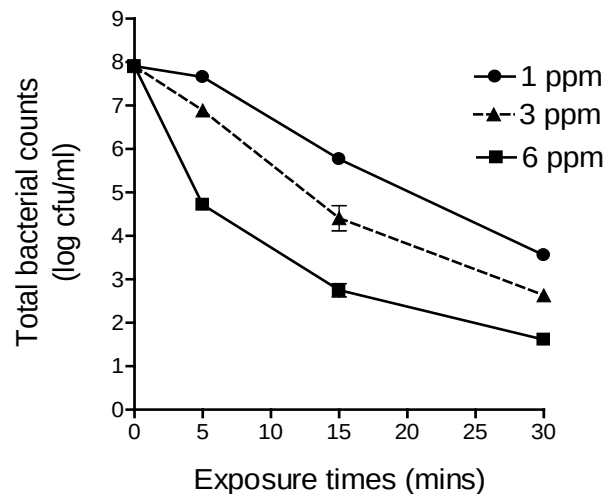
Salmonella Typhimurium

ได้ทำการทดลองโดยการเลี้ยงเชื้อ *S. Typhimurium* ในอาหาร Tryptic soy broth

จากนั้นทำการปรับปริมาณเชื้อให้มีเชื้อเริ่มต้นเท่ากันในทุกชุดการทดลอง คือ 8.2×10^7 cfu/ml หรือ เท่ากับ 7.91 log cfu/ml โดยให้เชื้อแขวนลอยอยู่ในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อปริมาตร 20 มิลลิลิตร ก่อนนำไปทดสอบกับโอโซนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ จากผลการทดลอง พบว่า เมื่อให้โอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm เป็นเวลานาน 30 นาที จะสามารถลดปริมาณเชื้อลงได้ถึงร้อยละ 54.99, 66.75 และ 79.52 ตามลำดับ ผลการ

ทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า โอโซนสามารถลดปริมาณเชื้อ *S. Typhimurium* ลงได้ และปริมาณเชื้อจะลดลงอย่างมีประสิทธิภาพ เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นและระยะเวลาในการสัมผัสกับโอโซนให้นานขึ้น ผลการทดลองแสดงดังกราฟที่ 3

Effect of various ozone concentration and exposure times on *Salmonella typhimurium*



กราฟที่ 3 ผลของโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm. ต่อการลดปริมาณของเชื้อ

Salmonella Typhimurium

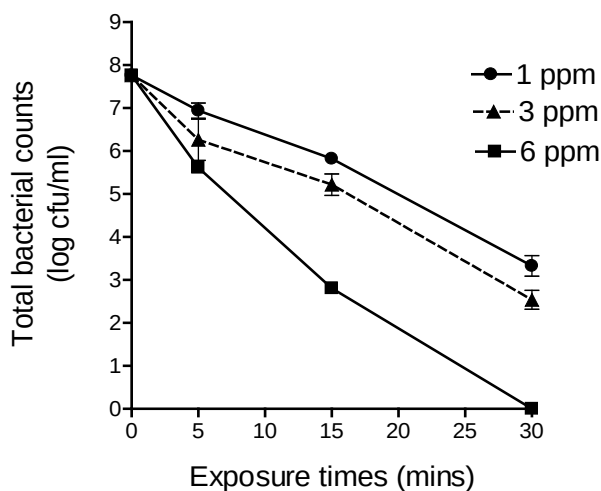
1.4 ผลของโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm. ต่อการลดปริมาณของเชื้อ

Enterococcus faecalis

ได้ทำการทดลองโดยการเลี้ยงเชื้อ *E. faecalis* ในอาหาร Tryptic soy broth จากนั้นทำการปรับปริมาณเชื้อให้มีเชื้อเริ่มต้นเท่ากันในทุกชุดการทดลอง คือ 5.8×10^7 cfu/ml. หรือ เท่ากับ 7.76 log cfu/ml โดยให้เชื้อแขวนลอยอยู่ในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อปริมาตร 20 มิลลิลิตร ก่อนนำไปทดสอบกับโอโซนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ จากผลการทดลอง พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นโอโซนถึง 6 ppm. เป็นเวลา 0, 5, 15 และ 30 นาที พบว่า โอโซนสามารถลดปริมาณของเชื้อ *E. faecalis* ลงได้ จากเชื้อเริ่มต้นที่เวลา 0 นาที 7.76 log cfu/ml ลดลงเหลือ 5.61 log cfu/ml, 2.81 log cfu/ml และ 0.00 log cfu/ml ตามลำดับ โดยที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ผลการทดลองแสดงดัง กราฟที่ 4 และจะเห็นว่าเมื่อให้

โอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm เป็นเวลานาน 30 นาที จะสามารถลดปริมาณเชื้อลงได้ถึงร้อยละ 56.96, 67.27 และ 100 ตามลำดับ

Effect of various ozone concentration and exposure times on *Enterococcus faecalis*



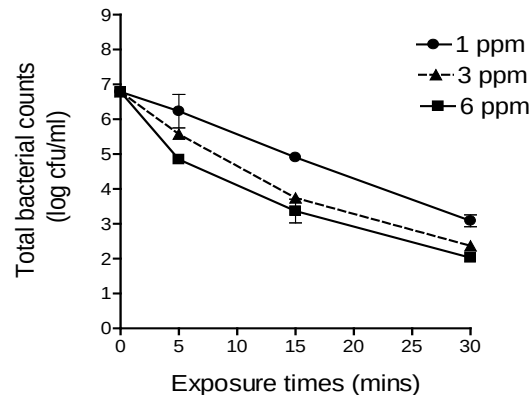
กราฟที่ 4 ผลของโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm. ต่อการลดปริมาณของเชื้อ

Enterococcus faecalis

1.5 ผลของโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm. ต่อการลดปริมาณของเชื้อ *Bacillus cereus*

ได้ทำการทดลองโดยการเลี้ยงเชื้อ *B. cereus* ในอาหาร Tryptic soy broth จากนั้นทำการปรับปริมาณเชื้อให้มีเชื้อเริ่มต้นเท่ากันในทุกชุดการทดลอง คือ 6.3×10^6 cfu/ml. หรือ เท่ากับ 6.79 log cfu/ml โดยให้เชื้อแขวนลอยอยู่ในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อปริมาตร 20 มิลลิลิตร ก่อนนำไปทดสอบกับโอโซนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ จากผลการทดลอง พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นโอโซนถึง 6 ppm. เป็นเวลา 0, 5, 15 และ 30 นาที พบว่า โอโซนสามารถลดปริมาณของเชื้อ *B. cereus* ลงได้ จากเชื้อเริ่มต้นที่เวลา 0 นาที 6.79 log cfu/ml ลดลงเหลือ 4.85 log cfu/ml, 3.37 log cfu/ml และ 2.03 log cfu/ml ตามลำดับ โดยที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ผลการทดลองแสดงดัง กราฟที่ 5 และจะเห็นว่าเมื่อให้โอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm เป็นเวลานาน 30 นาที จะสามารถลดปริมาณเชื้อลงได้ถึงร้อยละ 54.50, 65.00 และ 70.10 ตามลำดับ

Effect of various ozone concentration and exposure times on
Bacillus cereus



กราฟที่ 5 ผลของโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm. ต่อการลดปริมาณของเชื้อ

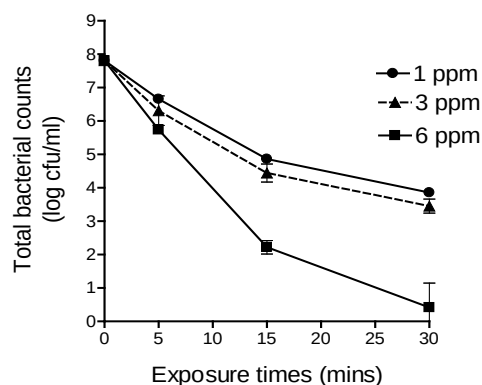
Bacillus cereus

1.6 ผลของโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm. ต่อการลดปริมาณของเชื้อ

Staphylococcus aureus

ได้ทำการทดลองโดยการเลี้ยงเชื้อ *S. aureus* ในอาหาร Tryptic soy broth จากนั้นทำการปรับปริมาณเชื้อให้มีเชื้อเริ่มต้นเท่ากันในทุกชุดการทดลอง คือ 6.5×10^7 cfu/ml. หรือ เท่ากับ 7.81 log cfu/ml โดยให้เชื้อแขวนลอยอยู่ในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อปริมาตร 20 มิลลิลิตร ก่อนนำไปทดสอบกับโอโซนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ จากผลการทดลอง พบว่า เมื่อให้โอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm เป็นเวลานาน 30 นาที จะสามารถลดปริมาณเชื้อลงได้ถึงร้อยละ 50.45, 55.83 และ 94.50 ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงดังกราฟที่ 6

Effect of various ozone concentration and exposure times on
Staphylococcus aureus



กราฟที่ 6 ผลของโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm. ต่อการลดปริมาณของเชื้อ

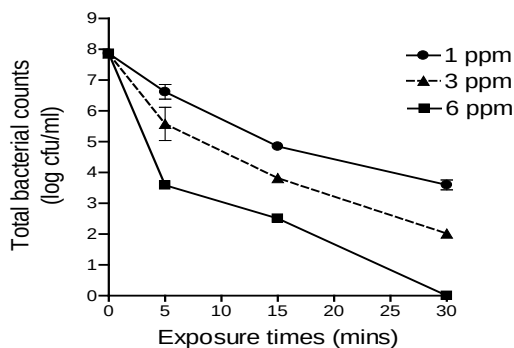
Staphylococcus aureus

1.7 ผลของโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm. ต่อการลดปริมาณของเชื้อ

Listeria monocytogenes

ได้ทำการทดลองโดยการเลี้ยงเชื้อ *L. monocytogenes* ในอาหาร Tryptic soy broth จากนั้นทำการปรับปริมาณเชื้อให้มีเชื้อเริ่มต้นเท่ากันในทุกชุดการทดลอง คือ 7.3×10^7 cfu/ml. หรือ เท่ากับ 7.86 log cfu/ml โดยให้เชื้อแขวนลอยอยู่ในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อปริมาตร 20 มิลลิลิตร ก่อนนำไปทดสอบกับโอโซนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ผลการทดลองแสดงดังกราฟที่ 7 โดยโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm เป็นเวลานาน 30 นาที จะสามารถลดปริมาณเชื้อลงได้ถึงร้อยละ 50.45, 55.83 และ 94.50 ตามลำดับ

Effect of various ozone concentration and exposure times on
Listeria monocytogenes



กราฟที่ 7 ผลของโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm. ต่อการลดปริมาณของเชื้อ

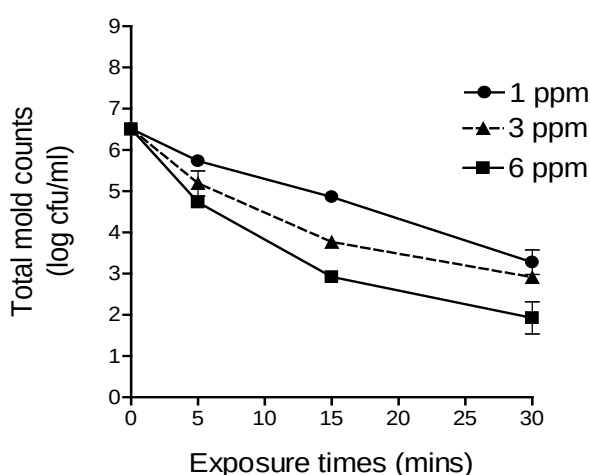
Listeria monocytogenes

1.8 ผลของโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm. ต่อการลดปริมาณของเชื้อ

Aspergillus niger

ได้ทำการทดลองโดยการเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus* sp. ในอาหาร Potato dextrose broth จากนั้นทำการปรับปริมาณเชื้อให้มีเชื้อเริ่มต้นเท่ากันในทุกชุดการทดลอง คือ 3.2×10^6 cfu/ml หรือ เท่ากับ $6.51 \log \text{ cfu/ml}$ โดยให้เชื้อแขวนลอยอยู่ในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อปริมาตร 20 มิลลิลิตร ก่อนนำไปทดสอบกับโอโซนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ จากผลการทดลอง พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นโอโซนถึง 6 ppm. เป็นเวลา 0, 5, 15 และ 30 นาที พบว่า โอโซนสามารถลดปริมาณของเชื้อ *Aspergillus* sp. ลงได้ จากเชื้อเริ่มต้นที่เวลา 0 นาที $6.51 \log \text{ cfu/ml}$ ลดลงเหลือ $4.73 \log \text{ cfu/ml}$, $2.92 \log \text{ cfu/ml}$ และ $1.93 \log \text{ cfu/ml}$ ตามลำดับ โดยพบว่าที่เวลา 15 และ 30 นาที ปริมาณเชื้อลดลงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ผลการทดลองแสดงดัง กราฟที่ 8 และจะเห็นว่าเมื่อให้โอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm เป็นเวลานาน 30 นาที จะสามารถลดปริมาณเชื้อลงได้ถึงร้อยละ 49.62, 55.30 และ 70.35 ตามลำดับ ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของโอโซนขึ้นตามลำดับและเพิ่มระยะเวลาการให้โอโซนที่นานขึ้น จะสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Aspergillus* sp. ได้

Effect of various ozone concentration and exposure times on *Aspergillus* sp.



กราฟที่ 8 ผลของโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm. ต่อการลดปริมาณของเชื้อ

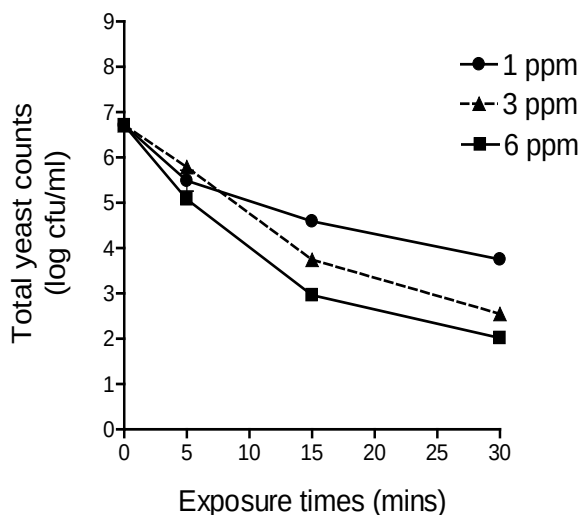
Aspergillus niger

1.9 ผลของโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm. ต่อการลดปริมาณของเชื้อ

Candida albicans

ได้ทำการทดลองโดยการเลี้ยงเชื้อ *C. albicans* ในอาหาร Potato dextrose broth จากนั้นทำการปรับปริมาณเชื้อให้มีเชื้อเริ่มต้นเท่ากันในทุกชุดการทดลอง คือ 5.1×10^6 cfu/ml หรือ เท่ากับ $6.71 \log \text{ cfu/ml}$ โดยให้เชื้อแขวนลอยอยู่ในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อปริมาตร 20 มิลลิลิตร ก่อนนำไปทดสอบกับโอโซนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ จากผลการทดลอง พบว่า เมื่อให้โอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1 ppm. เป็นเวลา 0, 5, 15 และ 30 นาที พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นโอโซนถึง 6 ppm. เป็นเวลา 0, 5, 15 และ 30 นาที พบว่า โอโซนสามารถลดปริมาณของเชื้อ *C. albicans* ลงได้ จากเชื้อเริ่มต้นที่เวลา 0 นาที $6.71 \log \text{ cfu/ml}$ ลดลงเหลือ $5.08 \log \text{ cfu/ml}$, $2.96 \log \text{ cfu/ml}$ และ $2.02 \log \text{ cfu/ml}$ ตามลำดับ โดยที่ปริมาณเชื้อลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ผลการทดลองแสดงดังกราฟที่ 9

Effect of various ozone concentration and exposure times on *Candida albicans*

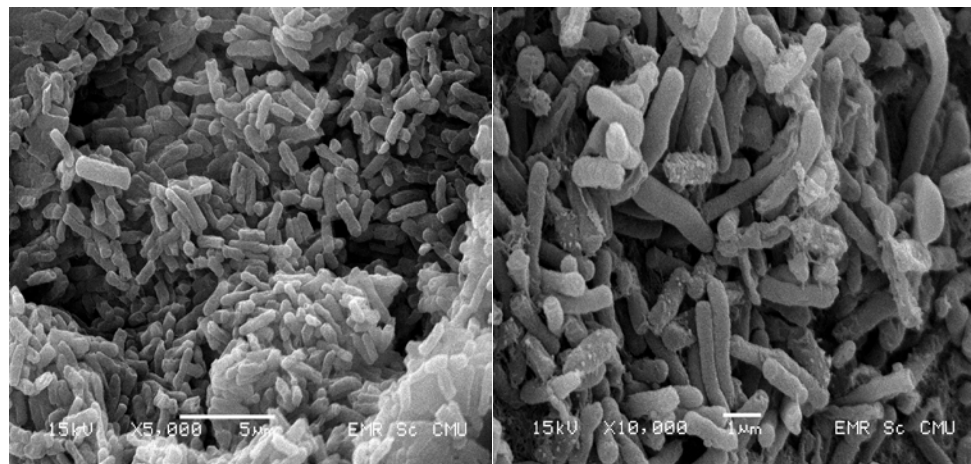


กราฟที่ 9 ผลของโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm. ต่อการลดปริมาณของเชื้อ

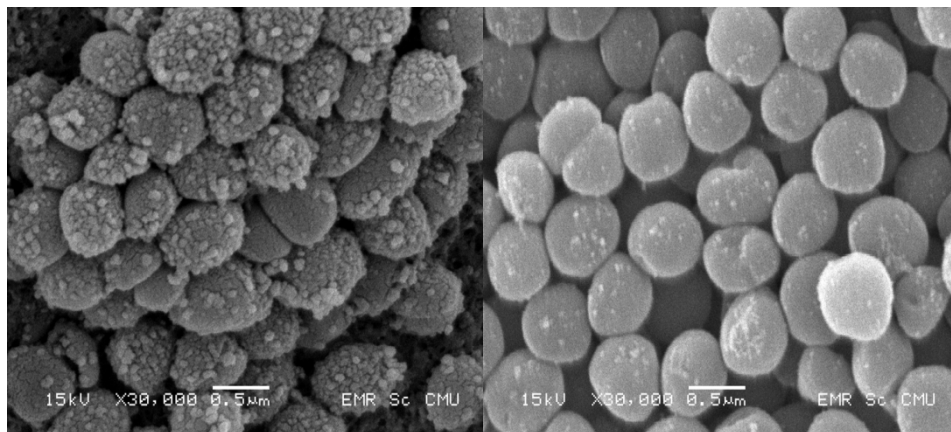
Candida albicans

ตอนที่ 2 ผลของโอโซนที่มีต่อโครงสร้างของเซลล์โดยการทำให้เกิดการเสียหายแก่เซลล์ ศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์

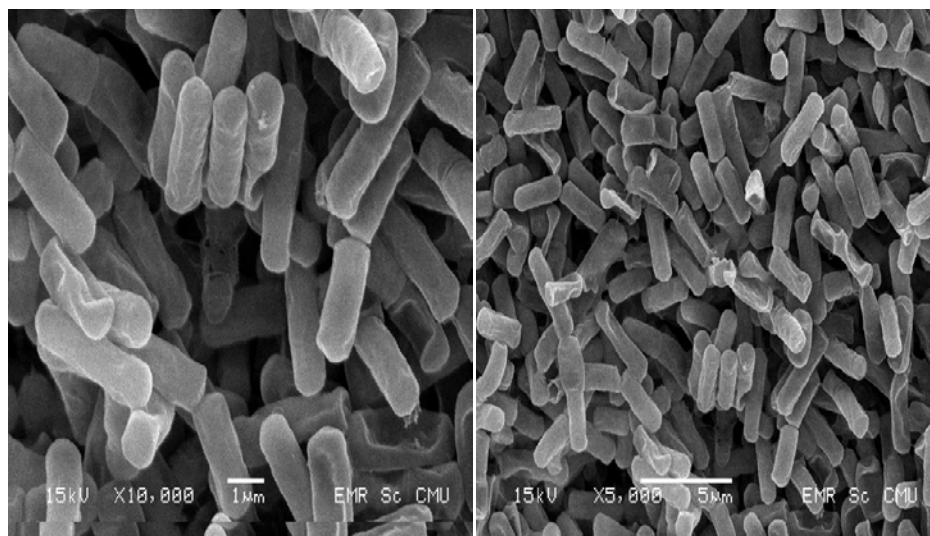
นำเชื้อทดสอบแต่ละเชื้อที่ผ่านไอโซนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm ไปศึกษาโครงสร้างของเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Scanning electron microscope) เปรียบเทียบกับโครงสร้างของเซลล์ปกติ ผลการทดลองพบว่า เมื่อให้ไอโซนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm. กับเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆทั้งแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Escherichia coli* แบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* เชื้อรา ได้แก่ *Aspergillus niger* และ เชื้อยีสต์ ได้แก่ *Candida albicans* เป็นเวลา 30 นาที พบว่า ไอโซนมีผลไปทำลายโครงสร้างของเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์โดยเปรียบเทียบกับโครงสร้างของเซลล์ที่ปกติไม่ผ่านการให้ไอโซน ผลแสดงดังรูปที่ 1-5 จะเห็นว่าโครงสร้างของเซลล์จุลินทรีย์ปกติ(ภาพซ้าย) ผิวเซลล์จะเรียบและโครงสร้างของเซลล์สมบูรณ์ แต่เมื่อนำเซลล์ไปผ่านไอโซนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm. เป็นเวลา 30 นาที โครงสร้างของเซลล์จะเหี่ยวบางเซลล์ก็จะแตกหรือเป็นเศษเซลล์(ภาพขวา)



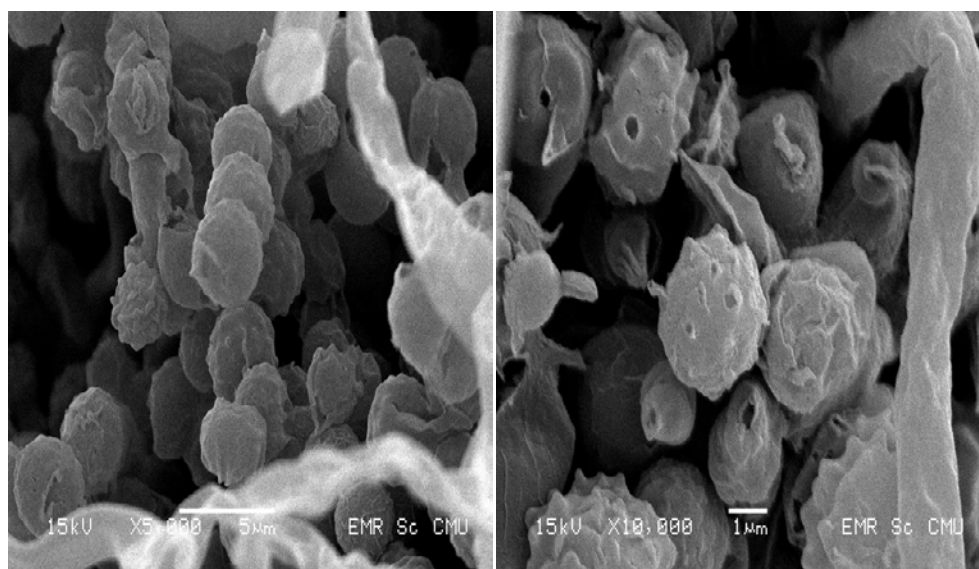
รูปที่ 1 ภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบ SEM ภาพบนแสดง โครงสร้างของเซลล์ *Escherichia coli*



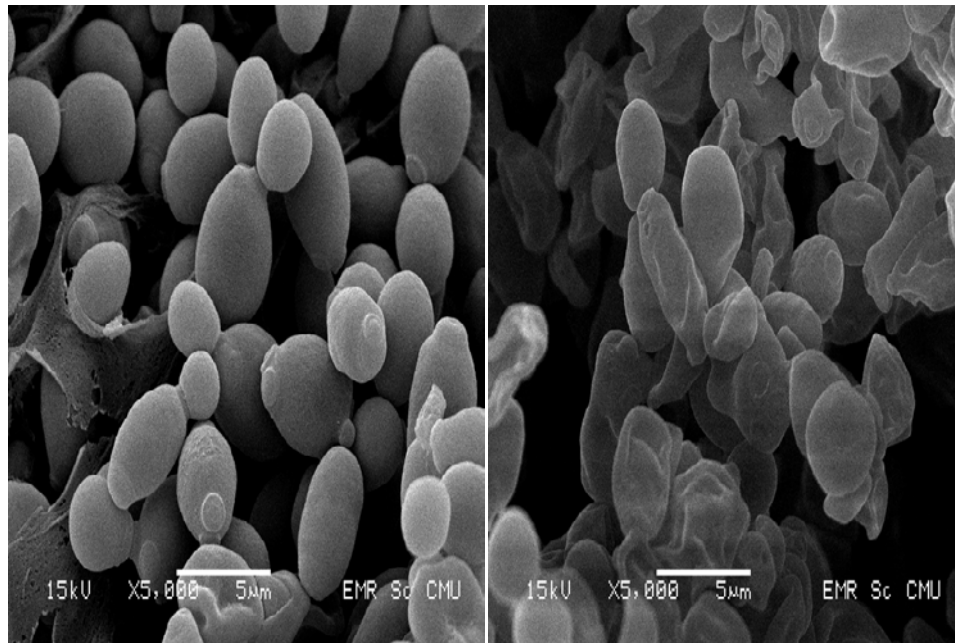
รูปที่ 2 ภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบ SEM ภาพบนแสดง โครงสร้างของเซลล์ *Staphylococcus aureus*



รูปที่ 3 ภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบ SEM ภาพบนแสดง โครงสร้างของเซลล์ *Bacillus cereus*



รูปที่ 4 ภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบ SEM ภาพบนแสดง โคินิเดียของ *Aspergillus niger*



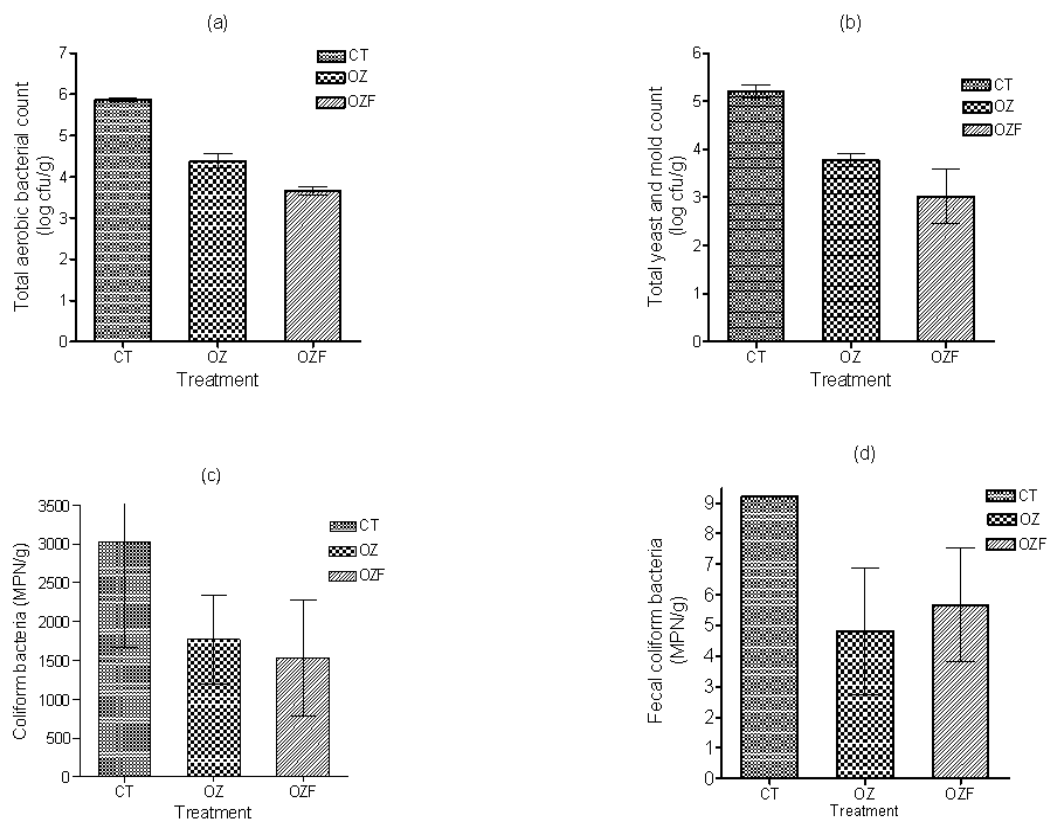
รูปที่ 5 ภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบ SEM ภาพบนแสดง โครงสร้างของยีสต์

Candida albicans

เนื่องจากโมเลกุลของโอโซน ประกอบด้วยออกซิเจน 3 อะตอม (O_3) ไม่เสถียรเมื่ออยู่ในน้ำ เมื่ออุณหภูมิลดลงโอโซนจะละลายน้ำได้เพิ่มขึ้นและละลายได้ดีกว่าก๊าซ และจะสลายไปโดยไม่ทิ้งสารตกค้างที่เป็นพิษ ประกอบกับโอโซนมีคุณสมบัติเป็นตัวออกซิไดซ์ (Oxidizing agent) ที่แรงและดีกว่าคลอรีนถึง 1.5 เท่า โดยโอโซนจะไปทำปฏิกิริยากับหมู่ซัลไฮดริล ซึ่งพบมากในเอนไซม์ของจุลินทรีย์ และทำปฏิกิริยาอย่างช้าๆกับ โพลีแซคาไรด์นำไปสู่การทำลายพันธะไกลโคซิดิก และเกิดการฟอर्मกรดอะลิฟาติก Perez และคณะ (1995) แสดงให้เห็นว่า N-acetyl glucosamine ซึ่งพบมากในชั้นของเปปติโดไกลแคนที่ผนังเซลล์ของแบคทีเรีย และที่แคปซิดของไวรัส จะต้านทานต่อสารละลายโอโซน ที่พีเอช 3-7 จึงสามารถอธิบายได้ว่า แบคทีเรียแกรมบวก ซึ่งมีชั้นของเปปติโดไกลแคนที่หนากว่าแกรมลบจึงทนต่อโอโซนได้ดีกว่าด้วย นอกจากนี้โอโซนยังทำปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วโดยการออกซิไดซ์กับกรดไขมันไม่อิ่มตัว เอนไซม์ที่เมมเบรน ไกลโคโปรตีน ไกลโคลิปิด นำไปสู่การรั่วของเซลล์เมมเบรน โดยไปรบกวนการนำสารผ่านเข้าออกของเซลล์ทำให้เซลล์แตกในที่สุด นอกจากนี้โอโซนยังไปทำลายนิวคลีโอเบสโดยเฉพาะ ไธมีน กวานีน และยูราซิล ไปทำให้ plasmid DNA แตกออก ลดความสามารถในการ transform และ transcript และชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ขึ้น (Benjamas และคณะ 2002) (McNair และคณะ 1962) (Ishizaki และคณะ 1981) (Scott 1985)

ตอนที่ 3 ผลของโอโซนที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการลดปริมาณการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดมากับผิวผักสดและผักพร้อมบริโภค

ตัวอย่างผัก 3 ชนิด คือ ผักกาดหอม มะเขือเทศ และแตงกวา นำมาแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มการทดลองคือ กลุ่มที่ไม่ผ่านการให้โอโซน (CT) และ กลุ่มที่ผ่านการให้โอโซนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm. ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ไม่มีผลต่อสรีรวิทยาของผักสด เป็นเวลา 30 นาที (OZ) และ กลุ่มที่ผ่านการให้โอโซนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm. เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำมาเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นเป็นเวลา 3 วัน (OZF) จากนั้นนำมาศึกษาปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (Total aerobic plate count) ปริมาณ ยีสต์และ รา ทั้งหมด (Total yeast and mold plate count) ปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์ม และ ฟีคัลโคลิฟอร์ม (Coliforms and Fecal coliforms bacteria) ตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Campylobacter* และ ตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Listeria* พบว่า ตัวอย่างผักส่วนใหญ่ที่สุ่มมาไม่พบเชื้อ *Campylobacter* และ เชื้อ *Listeria* และบางตัวอย่างมีปริมาณน้อยมากทำให้ความหนาแน่นของเชื้อไม่เพียงพอต่อการทดสอบด้วยโอโซน จากผลการทดลอง โอโซนสามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดและปริมาณยีสต์ราทั้งหมดที่ติดมากับผักทั้ง 3 ชนิดและทั้ง 3 ชุดการทดลองลงได้อย่างมีนัยยะสำคัญทางสถิติ ในขณะที่เดียวกันโอโซนสามารถลดปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียลงได้เช่นกัน แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนปริมาณฟีคัลโคลิฟอร์มในผักกาดหอมและแตงกวาก็ลดลงเช่นเดียวกัน ส่วนมะเขือเทศไม่พบฟีคัลโคลิฟอร์มและยังพบว่า การเก็บผักตัวอย่างไว้ในตู้เย็นสามารถชะลอการเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วของเชื้อทุกกลุ่มได้ ผลการทดลองแสดงดังกราฟที่ 10-12

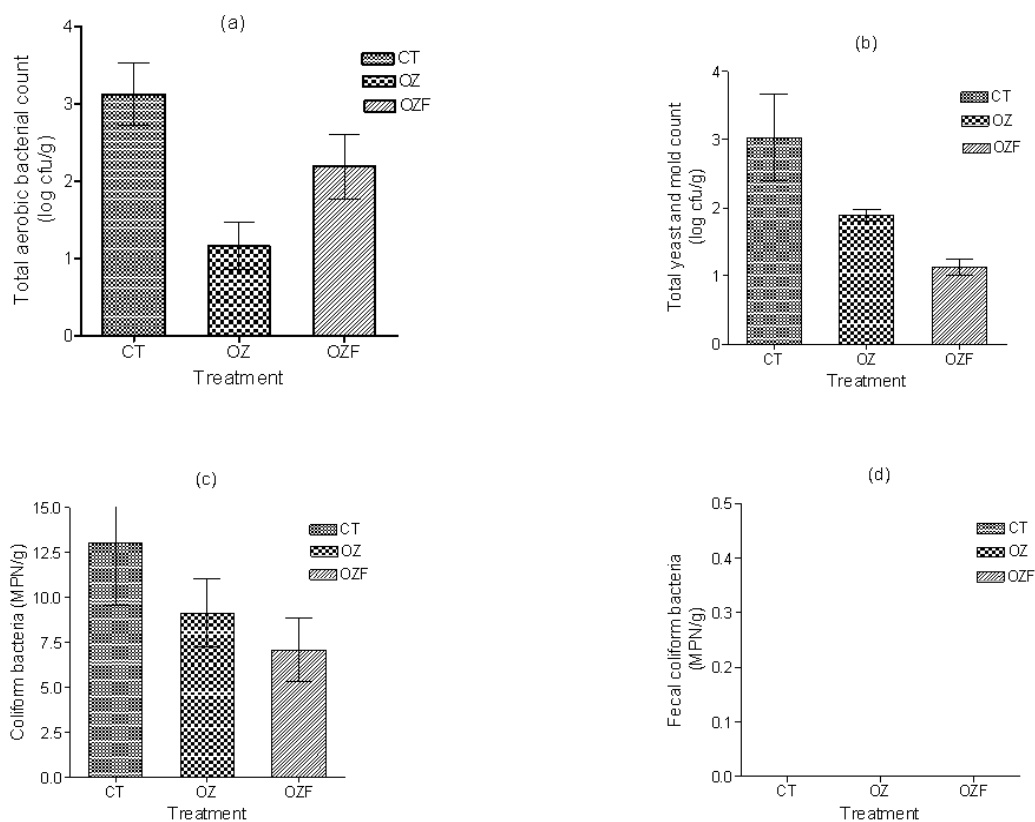


กราฟที่ 10 ผลของโอโซนต่อการลดปริมาณของจุลินทรีย์กลุ่มต่างๆที่ติดมากับผิวของผักกาดหอม

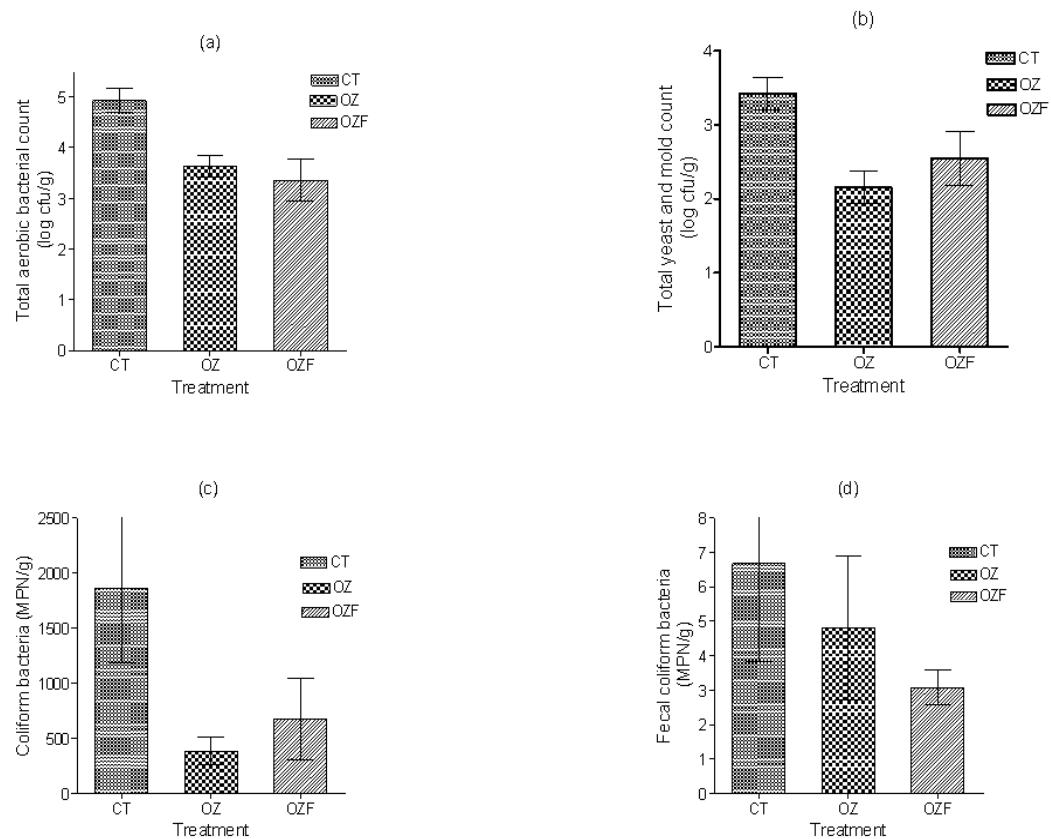
(a);Total bacterial count, (b); Total yeast and mold, (c); Coliform bacteria, and (d); Fecal coliform

bacteria, Treatment CT ; Control (non-ozonated), OZ; 3 ppm ozone concentration for 30 mins. and OZF;

ozonated and storage in refrigerator 3 days



กราฟที่ 11 ผลของโอโซนต่อการลดปริมาณของจุลินทรีย์กลุ่มต่างๆที่ติดมากับผิวของมะเขือเทศ (a); Total bacterial count, (b); Total yeast and mold, (c); Coliform bacteria, and (d); Fecal coliform bacteria, Treatment CT ; Control (non-ozonated), OZ; 3 ppm ozone concentration for 30 mins. and OZF; ozonated and storage in refrigerator 3 days



กราฟที่ 12 ผลของโอโซนต่อการลดปริมาณของจุลินทรีย์กลุ่มต่างๆที่ติดมากับผิวของแตงกวา (a); Total bacterial count, (b); Total yeast and mold, (c); Coliform bacteria, and (d); Fecal coliform bacteria, Treatment CT ; Control (non-ozonated), OZ; 3 ppm ozone concentration for 30 mins. and OZF; ozonated and storage in refrigerator 3 days

สรุปผลการวิจัย

จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่า โอโซนสามารถลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบชนิดต่างๆลงได้อย่างมีประสิทธิภาพโดยจะแปรผันตรงกับระดับความเข้มข้นของโอโซนที่เพิ่มขึ้นตามลำดับ และเพิ่มระยะเวลาการให้โอโซนที่นานขึ้น ก็จะสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้มากขึ้น โดยโอโซนมี

ผลไปทำลายโครงสร้างของเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ จะเห็นโครงสร้างของเซลล์จุลินทรีย์ปกติมีผิวเซลล์เรียบและโครงสร้างของเซลล์สมบูรณ์ แต่เมื่อนำเซลล์ไปผ่านโอโซน โครงสร้างของเซลล์จะเหี่ยวบางเซลล์ก็จะแตกหรือเป็นเศษเซลล์ เนื่องจากโอโซนทำปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วโดยการออกซิไดซ์กับกรดไขมันไม่อิ่มตัว เอนไซม์ที่เมมเบรน ไกลโคโปรตีน ไกลโคลิปิด นำไปสู่การร้าวของเซลล์เมมเบรน และไปรบกวนการนำสารผ่านเข้าออกของเซลล์ทำให้เซลล์แตกในที่สุด ส่วนผลของโอโซนต่อการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดมากับผิวของผักสดสามารถสรุปได้ว่าโอโซนสามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดและปริมาณยีสต์และราทั้งหมดที่ติดมากับผักลงได้อย่างมีอย่างมีนัยยะสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรีย โอโซนก็สามารถลดปริมาณเชื้อดังกล่าวลงได้เช่นกัน แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนปริมาณฟิคัลโคลิฟอร์มแบคทีเรีย ไม่พบปริมาณเชื้อในมะเขือเทศ และโอโซนสามารถลดปริมาณเชื้อดังกล่าวในผักกาดหอมและแตงกวาได้ นอกจากนี้ยังพบว่า การเก็บผักตัวอย่างไว้ในตู้เย็นสามารถชะลอการเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วของเชื้อทุกกลุ่มได้

ชื่อเรื่อง : ผลของโอโซนต่อการลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในผักพร้อมบริโภค

ผู้วิจัย : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ศรีสุดา กวยาสกุล

บทคัดย่อ

ผลการศึกษาการให้โอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm. กับเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ทั้งแบคทีเรียแกรมลบ เชื้อรา และ เชื้อยีสต์ เป็นเวลา 0, 5, 15 และ 30 นาที ผลการทดลองพบว่า เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของโอโซนขึ้นและให้เป็นระยะเวลาขึ้น จะสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ลงได้ โดยจะเห็นได้จากปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ที่ลดลงเมื่อเทียบกับชุดควบคุม ดังนี้ เมื่อให้โอโซนที่ระดับความเข้มข้น 6 ppm เป็นเวลานาน 30 นาที จะสามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* เชื้อรา *Aspergillus sp.* และ ยีสต์ *Candida albicans* ลงได้ถึงร้อยละ 100, 100, 94.5, 94.5, 79.52, 70.1, 66.72, 70.35 และ 69.9 log cfu/ml ตามลำดับ โดยโอโซนมีผลไปทำลายโครงสร้างของเซลล์จุลินทรีย์ ซึ่งเซลล์ปกติมีผิวเซลล์เรียบและโครงสร้างของเซลล์สมบูรณ์ แต่เมื่อนำเซลล์ไปผ่านโอโซน โครงสร้างของเซลล์จะเหี่ยวและบางเซลล์ก็จะแตกหรือเป็นเศษเซลล์ เนื่องจากโอโซนทำปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วโดยการออกซิไดซ์กับกรดไขมันไม่อิ่มตัว เอนไซม์ที่เมมเบรน ไกลโคโปรตีน ไกลโคลิปิดนำไปสู่การรั่วของเซลล์เมมเบรน และไปรบกวนการนำสารผ่านเข้าออกของเซลล์ทำให้เซลล์แตกในที่สุด นอกจากนี้จากการทดลองยังพบว่า โอโซนสามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดและปริมาณยีสต์ราทั้งหมดที่ติดมากับผักทั้ง 3 ชนิดและทั้ง 3 ชุดการทดลองลงได้อย่างมีนัยยะสำคัญทางสถิติ ในขณะที่เดียวกัน โอโซนสามารถลดปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียลงได้เช่นกันแต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนปริมาณฟัคัลโคลิฟอร์มในผักกาดหอมและแตงกวาก็ลดลงเช่นเดียวกัน ส่วนมะเขือเทศไม่พบฟัคัลโคลิฟอร์ม และยังพบว่าการเก็บผักตัวอย่างไว้ในตู้เย็นสามารถชะลอการเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วของเชื้อทุกกลุ่มได้

Title : Effect of Ozone to Microbial Decontamination on Minimally-Processed Vegetables

Researcher : Assist. Prof. Srisuda Kawayasakul

Abstract

This research is aim to investigate the different concentrations of ozone affect to microorganisms. Ozone concentrations were given at 1, 3 and 6 ppm to gram negative bacteria, gram positive bacteria , fungi and yeast at 0, 5, 15 and 30 minutes. The results showed the increasing of ozone concentration for longer exposing time could inhibit the growth of microorganisms. This was significantly affected when compared with the control group. Indeed, exposing to ozone concentration at 6 ppm for 30 minutes could reduce **bacteria** : *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, fungi : *Aspergillus niger* and yeast : *Candida albicans* to 100, 100, 94.5, 94.5, 79.52, 70.1, 66.72 , 70.35 and 69.9 log cfu/ml respectively. Furthermore, cell structure was completely damaged by ozone which non-treated ozone cell was not found. This was observed by leakage of cell membrane and wilted cell as well as cell lysis. Ozone directly oxidized to unsaturated fatty acid, membrane bound enzyme, glycoprotien, glycolipid which causing leakage of cell membrane and lose of cell permeability. Moreover, ozone could significantly reduce the total bacteria count and total fungi and yeast count which contaminated to vegetables. Also coliform bacteria in lettuce and cucumber was affected by ozone but not significantly .Also fecal coliform in tamato was not found. All vegetables were longer kept in refrigerated retarded contamination too.

สารบัญ

บทที่	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	I
บทสรุปผู้บริหาร	II
บทคัดย่อภาษาไทย	XXII
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	XXIII
สารบัญ	XXIV
สารบัญตาราง	XXVI
สารบัญกราฟ	XXVII
สารบัญรูป	XXVIII
1 บทนำ	
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
ขอบเขตของการวิจัย	2
กรอบแนวความคิดของการวิจัย	3
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
3 วิธีดำเนินงานวิจัย	9
ตอนที่ 1 ผลของโอโซนที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์	9
ตอนที่ 2 ผลของโอโซนที่มีต่อโครงสร้างของเซลล์จุลินทรีย์โดยทำให้เกิดการเสียหาย	
แก่เซลล์ ศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน	10
ตอนที่ 3 ผลของโอโซนที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการลดปริมาณการปนเปื้อนเชื้อ	
จุลินทรีย์ที่ติดมากับผิวผักสดและผักพร้อมบริโภค	11
4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	15
ตอนที่ 1 ผลของโอโซนที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์	15
ตอนที่ 2 ผลของโอโซนที่มีต่อโครงสร้างของเซลล์จุลินทรีย์โดยทำให้เกิดการเสียหาย	
แก่เซลล์ ศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน	39

สารบัญ(ต่อ)

บทที่	หน้า
ตอนที่ 3 ผลของไอโซนที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการลดปริมาณการปนเปื้อนเชื้อ จุลินทรีย์ที่ติดมากับผิวผักสดและผักพร้อมบริโภค	46
5 สรุปผลการวิจัย	55
บรรณานุกรม	56

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 ผลของไอโซนที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Escherichia coli</i>	17
2 ผลของไอโซนที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	20
3 ผลของไอโซนที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Salmonella Typhimurium</i>	23
4 ผลของไอโซนที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Enterococcus faecalis</i>	25
5 ผลของไอโซนที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Bacillus cereus</i>	28
6 ผลของไอโซนที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Staphylococcus aureus</i>	31
7 ผลของไอโซนที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Listeria monocytogenes</i>	34
8 ผลของไอโซนที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Aspergillus niger</i>	36
9 ผลของไอโซนที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Candida albicans</i>	38
10 ผลของไอโซนต่อการลดปริมาณเชื้อกลุ่มต่างๆ ที่ติดมากับผิวของผักกาดหอม	48
11 ผลของไอโซนต่อการลดปริมาณเชื้อกลุ่มต่างๆ ที่ติดมากับผิวของมะเขือเทศ	50
12 ผลของไอโซนต่อการลดปริมาณเชื้อกลุ่มต่างๆ ที่ติดมากับผิวของแตงกวา	52

สารบัญกราฟ

กราฟที่	หน้า
1 ผลของโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm. ต่อการลดปริมาณของเชื้อ <i>Escherichia coli</i>	18
2 ผลของโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm. ต่อการลดปริมาณของเชื้อ <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	21
3 ผลของโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm. ต่อการลดปริมาณของเชื้อ <i>Salmonella Typhimurium</i>	23
4 ผลของโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm. ต่อการลดปริมาณของเชื้อ <i>Enterococcus faecalis</i>	25
5 ผลของโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm. ต่อการลดปริมาณของเชื้อ <i>Bacillus cereus</i>	28
6 ผลของโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm. ต่อการลดปริมาณของเชื้อ <i>Staphylococcus aureus</i>	31
7 ผลของโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm. ต่อการลดปริมาณของเชื้อ <i>Listeria monocytogenes</i>	34
8 ผลของโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm. ต่อการลดปริมาณของเชื้อ <i>Aspergillus niger</i>	36
9 ผลของโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm. ต่อการลดปริมาณของเชื้อ <i>Candida albicans</i>	38
10 ผลของโอโซนต่อการลดปริมาณของจุลินทรีย์กลุ่มต่างๆที่ติดมากับผิวของผักกาดหอม	48
11 ผลของโอโซนต่อการลดปริมาณของจุลินทรีย์กลุ่มต่างๆที่ติดมากับผิวของมะเขือเทศ	50
12 ผลของโอโซนต่อการลดปริมาณของจุลินทรีย์กลุ่มต่างๆที่ติดมากับผิวของแตงกวา	53

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1 ภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบ SEM ภาพบนแสดง โครงสร้างของเซลล์ <i>Escherichia coli</i> ที่ปกติ	40
2 ภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบ SEM ภาพบนแสดง โครงสร้างของเซลล์ <i>Staphylococcus aureus</i> ที่ปกติ	41
3 ภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบ SEM ภาพบนแสดง โครงสร้างของเซลล์ <i>Bacillus cereus</i> ที่ปกติ	42
4 ภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบ SEM ภาพบนแสดง โครงสร้างของเซลล์ <i>Aspergillus niger</i> ที่ปกติ	43
5 ภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบ SEM ภาพบนแสดง โครงสร้างของเซลล์ <i>Candida albicans</i> ที่ปกติ	44