

บทสรุปสำหรับผู้บริหาร

โครงการวิจัย เรื่อง ผลของโอโซนต่อการลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในผักพร้อมบริโภค

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

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบัน การบริโภคผักสดได้รับความนิยมเพิ่มขึ้น เนื่องจากได้ตระหนักถึงคุณค่าในด้านโภชนาการของผักสดที่ส่งผลดีต่อสุขภาพของคนเรา ผักโดยเฉพาะผักสด เป็นอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง ประกอบด้วยสารอาหารที่สำคัญหลายชนิด ได้แก่ วิตามิน แร่ธาตุ ไฟเบอร์ และสารต้านอนุมูลอิสระ เป็นต้น ประกอบกับผู้บริโภคในปัจจุบันใช้ชีวิตเร่งรีบ ต้องการความสะดวกรวดเร็วโดยเฉพาะในการประกอบอาหาร จึงทำให้ผักสดชนิดต่างๆ เช่น มะเขือเทศ แตงกวา ถั่วงอก แครอท และผักพร้อมบริโภค (Minimally-processed vegetables) ได้รับความนิยมบริโภคกันมากขึ้น 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) ดังนั้นจำนวนจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในช่วงเริ่มต้น จะบ่งบอกถึงคุณภาพของผลิตภัณฑ์สุดท้าย จึงจำเป็นต้องหาวิธีการที่มีประสิทธิภาพมาช่วยลดปริมาณหรือทำลายจุลินทรีย์ที่ติดมากับผัก ทำให้ผลิตภัณฑ์เหล่านี้ต้องผ่านกระบวนการ การผลิตที่ทำให้มั่นใจว่าผักนั้นสะอาดและปลอดภัยต่อการบริโภค ควรบรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์ที่สะอาดและสามารถคงความสดของผักไว้ได้ ปัจจุบันได้มีรายงานมากมายที่สนับสนุนให้มีการนำโอโซนมาใช้ในการถนอมอาหารซึ่งมีความปลอดภัยสูง นอกจากนี้เครื่องผลิตก๊าซโอโซนก็มีราคาถูกลงอย่างมาก ทำให้สามารถนำมาใช้ในระดับอุตสาหกรรมได้

ดังนั้นผู้วิจัยได้เห็นถึงปัญหาและความสำคัญดังกล่าว จึงจะทำการศึกษาวิจัยผลของโอโซนที่มีต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับผักสด และผลของโอโซนต่อการลดปริมาณการปนเปื้อนจากเชื้อ จุลินทรีย์กลุ่มที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพและจุลินทรีย์ที่ทำให้ผักเน่าเสียเร็ว รวมทั้งข้อมูลที่ได้จากการการทดลองนี้ จะสามารถนำไปปรับประยุกต์ใช้กับอุตสาหกรรมอาหารของไทย เพื่อให้ผลิอาหารให้ได้คุณภาพตามที่กำหนดเพื่อการส่งออกและเพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- 1 เพื่อศึกษาผลของโอโซนต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุทำให้ผักเน่าเสียและทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ
- 2 เพื่อศึกษาผลของโอโซนที่ทำให้โครงสร้างของเซลล์จุลินทรีย์เกิดการเสียหาย ศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน
- 3 เพื่อศึกษาผลของโอโซนต่อการลดปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดมากับผิวผักสดและผักพร้อมบริโภค

ขอบเขตของการวิจัย

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

วิธีดำเนินงานวิจัย

ตอนที่ 1 ผลของโอโซนที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

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 นำเชื้อไปป้อนที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับเชื้อรา และ ยีสต์ ป้อนที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นเตรียมเชื้อเพื่อการ ทดสอบ กับโอโซน โดยเติมน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ลงใน final pellet ของแต่ละเชื้อ ปรับปริมาณเชื้อเริ่มต้น ให้มีค่าเท่ากับ 10^6 - 10^7 cfu/ml. (ทำ 3 ซ้ำ)

1.3 นำแต่ละเชื้อมาผ่านโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm. ที่เวลา 0, 5, 15 และ 30 นาที โอโซนผลิต จากเครื่องกำเนิดก๊าซโอโซน Model 02- 3020 ปริมาณความเข้มข้นของก๊าซ ปรับตั้งผ่านวาล์ว แสตนเลส มีอุปกรณ์ป้องกันการกัดกร่อน ความเข้มข้นตรวจวัดโดย เครื่องโอโซนมอนิเตอร์ รุ่น 2B Technologies Model 202, USA

1.4 หลังจากแต่ละเชื้อทดสอบได้รับโอโซนที่ความเข้มข้นและเวลาที่แตกต่างกันแล้วให้นำมาตรวจนับปริมาณเชื้อที่มีชีวิตรอด โดยทำการเพาะเลี้ยงบนอาหาร Trypticase soy agar และ Potato dextrose agar โดยเปรียบเทียบกับปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่เวลา 0 นาที บันทึกผลการทดลองโดยคำนวณหาค่า cfu/ ml จากนั้นข้อมูลทั้งหมดของแต่ละเชื้อให้คิดออกมาเป็น log₁₀ cfu/ml.

ตอนที่ 2 ผลของโอโซนที่มีต่อโครงสร้างของเซลล์จุลินทรีย์โดยทำให้เกิดการเสียหายแก่เซลล์ ศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

นำเชื้อทดสอบแต่ละเชื้อที่ผ่านโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 6 ppm เป็นเวลานาน 30 นาที ไปศึกษาโครงสร้างของเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Scanning electron microscope) เปรียบเทียบกับโครงสร้างของเซลล์ปกติ ว่ามีการเปลี่ยนแปลงไปอย่างไร ที่ทำให้เซลล์เกิดการตาย

ตอนที่ 3 ผลของโอโซนที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการลดปริมาณการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดมากับผิวผักสดและผักพร้อมบริโภค

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 จากนั้นนำมาเก็บรักษาไว้ในตู้เย็น (OZ)

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

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

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

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

การนับปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์ม 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. กับเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ทั้ง แบคทีเรียแกรมลบ 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 เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของโอโซนขึ้นและให้เป็นระยะเวลาขึ้น 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 เมื่อให้โอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1 ppm. เป็นเวลา 0, 5, 15 และ 30 นาที พบว่า โอโซนสามารถลดปริมาณของเชื้อ *E. coli* ลงได้ จากเชื้อเริ่มต้นที่เวลา 0 นาที 7.83 log cfu/ml ลดลงเหลือ 7.01 log cfu/ml, 5.95 log cfu/ml และ 3.65 log cfu/ml ตามลำดับ โดยที่ระยะเวลา 15 และ 30 นาที ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม และเมื่อให้โอโซนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm. เป็นเวลา 0, 5, 15 และ 30 นาที พบว่า โอโซนสามารถลดปริมาณของเชื้อ *E. coli* ลงได้ จากเชื้อเริ่มต้นที่เวลา 0 นาที 7.83 log cfu/ml ลดลงเหลือ 6.86 log cfu/ml, 5.80 log cfu/ml และ 2.85 log cfu/ml ตามลำดับ โดยที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม เมื่อเพิ่มความเข้มข้นโอโซนถึง 6 ppm. เป็นเวลา 0, 5, 15 และ 30 นาที พบว่า โอโซนสามารถลดปริมาณของเชื้อ *E. coli* ลงได้ จากเชื้อเริ่มต้นที่เวลา 0 นาที 7.83 log cfu/ml ลดลงเหลือ 6.01 log cfu/ml, 5.17 log cfu/ml และ 0.00 log cfu/ml ตามลำดับ โดยที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 1 และ กราฟที่ 1 และจะเห็นว่าเมื่อให้โอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm เป็นเวลานาน 30 นาที จะสามารถลดปริมาณเชื้อลงได้ถึงร้อยละ 53.2, 63.6 และ 100 ตามลำดับ ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของโอโซนขึ้นตามลำดับและเพิ่มระยะเวลาการให้โอโซนที่นานขึ้น จะสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้

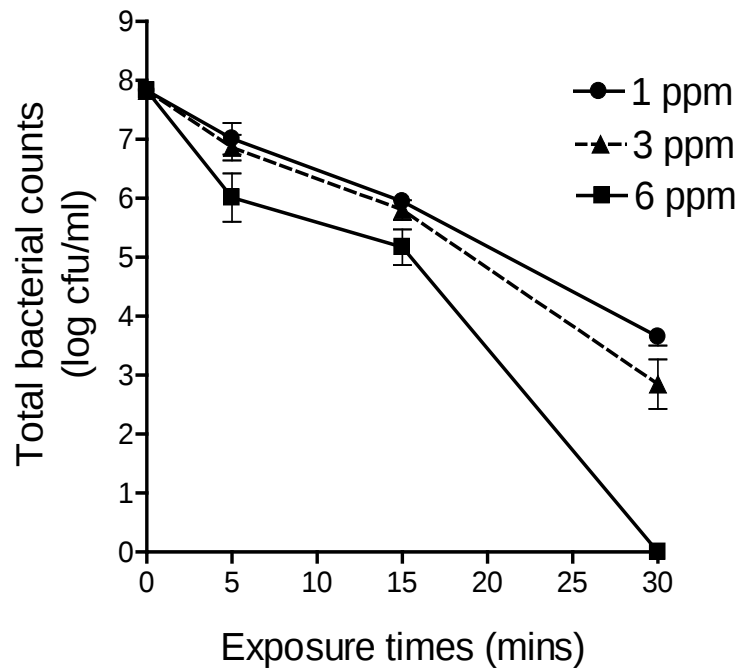
จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า โอโซนสามารถลดปริมาณเชื้อ *E. coli* ลงได้ และปริมาณเชื้อจะลดลงอย่างมีประสิทธิภาพ เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นและระยะเวลาในการสัมผัสกับโอโซนให้

นานขึ้น ดังรายงานการศึกษาของ Hyun-Gyun Yuk และคณะ (2007) พบว่า เมื่อให้โอโซนที่ความเข้มข้น 1, 3 และ 5 ppm. เป็นเวลา 1, 3 และ 5 นาที พบว่า ที่ความเข้มข้น 3 ppm. สามารถลดปริมาณเชื้อ *E. coli* ลงไป 0.94 log cfu/g และ เมื่อให้โอโซนที่ความเข้มข้น 15 ppm. สามารถลดปริมาณเชื้อ *E. coli* ลงได้ถึง 10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ที่เวลา 30 นาที (Rahimi และคณะ, 2005) เช่นเดียวกับ Singh และคณะ (2002) พบว่า น้ำโอโซนที่ความเข้มข้น 9.7 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 10 นาที สามารถลดปริมาณของเชื้อ *E. coli* O157:H7 ได้ 1.48-1.97 log cfu/g นอกจากนี้ Kim และ Yousef (2000) พบว่า เมื่อให้โอโซนที่ความเข้มข้น 0.3 และ 1 ppm. กับเชื้อ *E. coli* O157:H7 เป็นเวลา 30 วินาที ปริมาณเชื้อจะลดลง 1.3 และ 3.8 log ตามลำดับ

ตารางที่ 1 ผลของโอโซนที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli*

<i>Escherichia coli</i> Plate count (log cfu/ml)			
Ozone concentration (ppm.)			
Exposure times	1	3	6
0	7.83 ^{a*} ± 0.00	7.83 ^a ± 0.00	7.83 ^a ± 0.00
5	7.01 ^a ± 0.26	6.86 ^b ± 0.21	6.01 ^b ± 0.41
15	5.95 ^b ± 0.08	5.80 ^c ± 0.16	5.17 ^c ± 0.30
30	3.65 ^c ± 0.14	2.85 ^d ± 0.42	0.00 ^d ± 0.00
Value are means±standard deviation of three replicates plate count (log cfu/ml)			
Means within same column with different letters are significantly different (p ≤ 0.05)			

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 ก่อนนำไปทดสอบกับโอโซนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ จากผลการทดลอง พบว่า เมื่อให้โอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1 ppm. เป็นเวลา 0, 5, 15 และ 30 นาที พบว่า โอโซนสามารถลดปริมาณของเชื้อ *P. aeruginosa* ลงได้ จากเชื้อเริ่มต้นที่เวลา 0 นาที 6.79 log cfu/ml ลดลงเหลือ 6.52 log cfu/ml, 5.07 log cfu/ml และ 3.56 log cfu/ml ตามลำดับ โดยที่ระยะเวลา 15 และ 30 นาที ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม และเมื่อให้โอโซนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm. เป็นเวลา 0, 5, 15 และ 30 นาที พบว่า โอโซนสามารถลดปริมาณของเชื้อ

P. aeruginosa ลงได้ จากเชื้อเริ่มต้นที่เวลา 0 นาที 6.79 log cfu/ml ลดลงเหลือ 5.93 log cfu/ml, 4.50 log cfu/ml และ 2.89 log cfu/ml ตามลำดับ โดยที่ระยะเวลา 15 และ 30 นาที ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม เมื่อเพิ่มความเข้มข้นไอโชนถึง 6 ppm. เป็นเวลา 0, 5, 15 และ 30 นาที พบว่า ไอโชนสามารถลดปริมาณของเชื้อ *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 ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 2 และ กราฟที่ 2 และจะเห็นว่า เมื่อให้ไอโชนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm เป็นเวลานาน 30 นาที จะสามารถลดปริมาณเชื้อลงได้ถึง ร้อยละ 47.57, 57.44 และ 66.72 ตามลำดับ ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของไอโชนขึ้นตามลำดับและเพิ่มระยะเวลาการให้ไอโชนที่นานขึ้น จะสามารถลดการเจริญของเชื้อ *P. aeruginosa* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

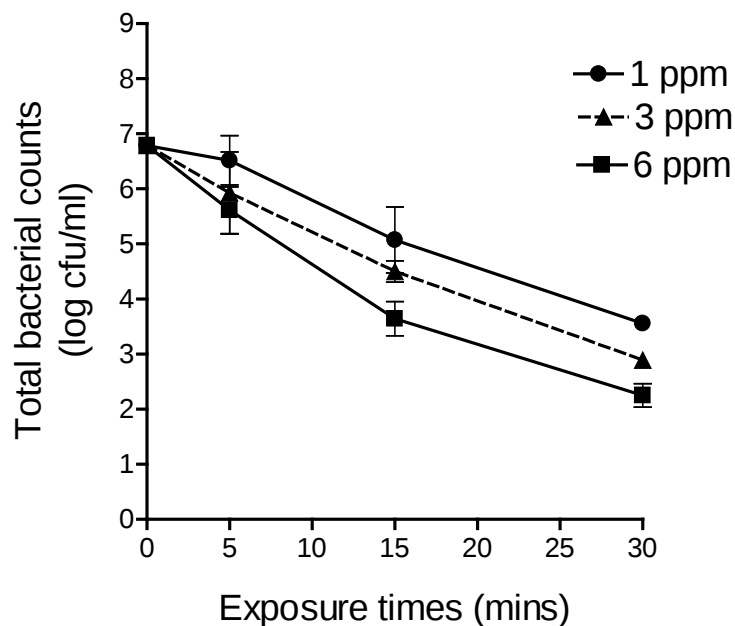
P. aeruginosa เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อน ที่พบได้อย่างกว้างขวาง เป็นแบคทีเรียก่อโรคในคนที่สำคัญ รวมทั้งยังมีความสามารถต้านต่อสารปฏิชีวนะและน้ำยาฆ่าเชื้อได้ดีอีกด้วย จากการศึกษาของ Kim และ Yousef (2000) พบว่า เมื่อให้ไอโชนที่ความเข้มข้น 0.2 ppm. สามารถลดปริมาณเชื้อ *P. fluorescens* ลงได้ 0.9 log ภายใน 30 วินาที และเมื่อความเข้มข้นถึง 1.2 ppm. จะสามารถลดปริมาณเชื้อลงได้ 5 log นอกจากนี้ยังพบว่า pigmented *Pseudomonas* จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อให้ไอโชนที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.6 mg/m^3 (Kaess และ Weidemann, 1968) และ Manousaridis และ คณะ (2005) ได้ศึกษาผลของไอโชนที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เวลา 60 และ 90 นาที พบว่าสามารถลดการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas* ในหอยนางรมลง 0.5 -1.1 log cycle

ตารางที่ 2 ผลของโอโซนที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ

Pseudomonas aeruginosa

	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Plate count (log cfu/ml)		
	Ozone concentration (ppm.)		
Exposure times	1	3	6
0	6.79 ^a ± 0.00	6.79 ^a ± 0.00	6.79 ^a ± 0.00
5	6.52 ^a ± 0.45	5.93 ^a ± 0.74	5.61 ^b ± 0.43
15	5.07 ^b ± 0.61	4.50 ^b ± 0.19	3.64 ^c ± 0.31
30	3.56 ^c ± 0.07	2.89 ^c ± 0.05	2.25 ^d ± 0.21
*Value are means±standard deviation of three replicates plate count (log cfu/ml)			
Means within same column with different letters are significantly different (p ≤ 0.05)			

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 ppm. เป็นเวลา 0, 5, 15 และ 30 นาที พบว่า โอโซนสามารถลดปริมาณของเชื้อ *S. Typhimurium* ลงได้ จากเชื้อเริ่มต้นที่เวลา 0 นาที 7.91 log cfu/ml ลดลงเหลือ 7.66 log cfu/ml, 5.77 log cfu/ml และ 3.56 log cfu/ml ตามลำดับ โดยที่ระยะเวลา 15 และ 30 นาที ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม และเมื่อให้โอโซนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm. เป็นเวลา 0, 5, 15 และ 30 นาที พบว่า โอโซนสามารถลดปริมาณของเชื้อ

S. Typhimurium ลงได้ จากเชื้อเริ่มต้นที่เวลา 0 นาที 7.91 log cfu/ml ลดลงเหลือ 6.89 log cfu/ml, 4.41 log cfu/ml และ 2.63 log cfu/ml ตามลำดับ โดยทุกช่วงเวลาลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม เมื่อเพิ่มความเข้มข้นโอโซนถึง 6 ppm. เป็นเวลา 0, 5, 15 และ 30 นาที พบว่า โอโซนสามารถลดปริมาณของเชื้อ *S. Typhimurium* ลงได้ จากเชื้อเริ่มต้นที่เวลา 0 นาที 7.91 log cfu/ml ลดลงเหลือ 4.72 log cfu/ml, 2.75 log cfu/ml และ 1.61 log cfu/ml ตามลำดับ โดยที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 3 และ กราฟที่ 3 และจะเห็นว่าเมื่อให้โอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm เป็นเวลานาน 30 นาที จะสามารถลดปริมาณเชื้อลงได้ถึงร้อยละ 54.99, 66.75 และ 79.52 ตามลำดับ ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า โอโซนสามารถลดปริมาณเชื้อ *S. Typhimurium* ลงได้ และปริมาณเชื้อจะลดลงอย่างมีประสิทธิภาพ เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นและระยะเวลาในการสัมผัสกับโอโซนให้นานขึ้น

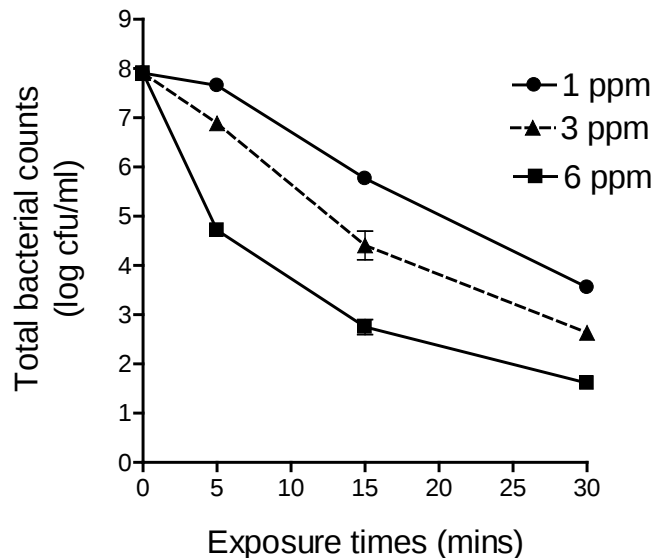
เชื้อ *Salmonella Typhimurium* เป็นแบคทีเรียที่พบได้ในอาหารหลายชนิดรวมทั้งผักผลไม้สด ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ จากรายงานการศึกษาของ Elif และคณะ 2006 พบว่า ถ้าให้โอโซนปริมาณ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 20 นาที จะสามารถทำลายเชื้อ *Salmonella* ได้หมด แต่ถ้าให้โอโซนปริมาณ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร จะสามารถทำลายเชื้อ *Salmonella* ได้หมด ภายในเวลา 10 นาที และจากการศึกษาประสิทธิภาพของสารละลายโอโซนต่อการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* spp. ที่ปนเปื้อนบนเบคอนบนหนังหมู พบว่า ถ้ามีปริมาณเชื้อเริ่มต้นบนหนังหมู 4-5 log cfu/g เมื่อนำมาแช่ในสารละลายโอโซนเข้มข้น 6.3 ppm. 30 นาที ปริมาณจะลดลง 1.56-2.76 log cfu/g

ตารางที่ 3 ผลของโอโซนที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ

Salmonella Typhimurium

	<i>Salmonella typhimurium</i> Plate count (log cfu/ml)		
	Ozone concentration (ppm.)		
Exposure times	1	3	6
0	7.91 ^{a*} ± 0.00	7.91 ^a ± 0.00	7.91 ^a ± 0.00
5	7.66 ^a ± 0.07	6.89 ^b ± 0.12	4.72 ^b ± 0.06
15	5.77 ^b ± 0.13	4.41 ^c ± 0.29	2.75 ^c ± 0.15
30	3.56 ^c ± 0.10	2.63 ^d ± 0.10	1.61 ^d ± 0.07
*Value are means±standard deviation of three replicates plate count (log cfu/ml)			
Means within same column with different letters are significantly different (p ≤ 0.05)			

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

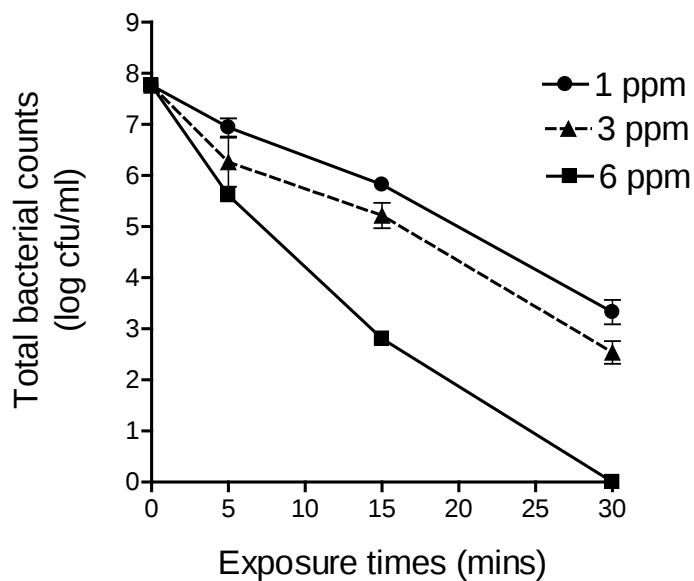
ได้ทำการทดลองโดยการเลี้ยงเชื้อ *E. faecalis* ในอาหาร Tryptic soy broth จากนั้นทำการปรับปริมาณเชื้อให้มีเชื้อเริ่มต้นเท่ากันในทุกชุดการทดลอง คือ 5.8×10^7 cfu/ml. หรือ เท่ากับ 7.76 log cfu/ml โดยให้เชื้อแขวนลอยอยู่ในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อปริมาตร 20 มิลลิลิตร ก่อนนำไปทดสอบกับโอโซนที่ระดับ

ความเข้มข้นต่างๆ จากผลการทดลอง พบว่า เมื่อให้โอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1 ppm. เป็นเวลา 0, 5, 15 และ 30 นาที พบว่า โอโซนสามารถลดปริมาณของเชื้อ *E. faecalis* ลงได้ จากเชื้อเริ่มต้นที่เวลา 0 นาที 7.76 log cfu/ml ลดลงเหลือ 6.94 log cfu/ml, 5.82 log cfu/ml และ 3.33 log cfu/ml ตามลำดับ โดยที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม และเมื่อให้โอโซนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm. เป็นเวลา 0, 5, 15 และ 30 นาที พบว่า โอโซนสามารถลดปริมาณของเชื้อ *E. faecalis* ลงได้ จากเชื้อเริ่มต้นที่เวลา 0 นาที 7.76 log cfu/ml ลดลงเหลือ 6.26 log cfu/ml, 5.22 log cfu/ml และ 2.54 log cfu/ml ตามลำดับ โดยที่ระยะเวลา 15 และ 30 นาที ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม 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 ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4 และ กราฟที่ 4 และจะเห็นว่าเมื่อให้โอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm เป็นเวลานาน 30 นาที จะสามารถลดปริมาณเชื้อลงได้ถึงร้อยละ 56.96, 67.27 และ 100 ตามลำดับ ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของโอโซนขึ้นตามลำดับและเพิ่มระยะเวลาในการสัมผัสกับโอโซนให้นานขึ้น จะสามารถลดการเจริญของเชื้อ *E. faecalis* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Restaino และคณะ (1995) พบว่า เมื่อให้โอโซนที่ความเข้มข้น 20 ppm. จะสามารถลดปริมาณเชื้อ *E. faecalis* ได้น้อยกว่าเชื้อ *Listeria monocytogenes*

ตารางที่ 4 ผลของโอโซนที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ
Enterococcus faecalis

	<i>Enterococcus faecalis</i> Plate count (log cfu/ml)		
	Ozone concentration (ppm.)		
Exposure times	1	3	6
0	7.76 ^{a*} ± 0.00	7.76 ^a ± 0.00	7.76 ^a ± 0.00
5	6.94 ^b ± 0.18	6.26 ^{ab} ± 0.48	5.61 ^b ± 0.10
15	5.82 ^c ± 0.14	5.22 ^b ± 0.25	2.81 ^c ± 0.12
30	3.33 ^d ± 0.24	2.54 ^c ± 0.22	0.00 ^d ± 0.00
*Value are means±standard deviation of three replicates plate count (log cfu/ml)			
Means within same column with different letters are significantly different (p ≤ 0.05)			

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 จากนั้นทำการ

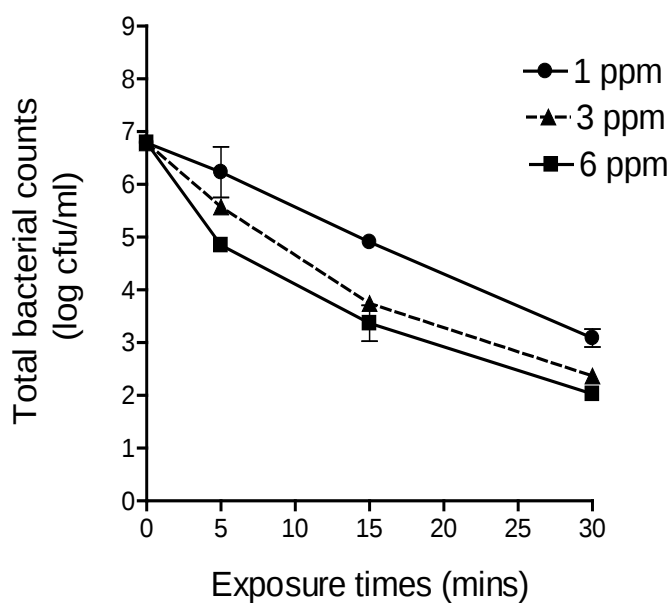
ปรับปริมาณเชื้อให้มีเชื้อเริ่มต้นเท่ากันในทุกชุดการทดลอง คือ 6.3×10^6 cfu/ml. หรือ เท่ากับ 6.79 log cfu/ml โดยให้เชื้อแขวนลอยอยู่ในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อปริมาตร 20 มิลลิลิตร ก่อนนำไปทดสอบกับโอโซนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ จากผลการทดลอง พบว่า เมื่อให้โอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1 ppm. เป็นเวลา 0, 5, 15 และ 30 นาที พบว่า โอโซนสามารถลดปริมาณของเชื้อ *B. cereus* ลงได้ จากเชื้อเริ่มต้นที่เวลา 0 นาที 6.79 log cfu/ml ลดลงเหลือ 6.23 log cfu/ml, 4.91 log cfu/ml และ 3.09 log cfu/ml ตามลำดับ โดยที่ระยะเวลา 30 นาที ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ดังตารางที่ 5 และเมื่อให้โอโซนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm. เป็นเวลา 0, 5, 15 และ 30 นาที พบว่า โอโซนสามารถลดปริมาณของเชื้อ *B. cereus* ลงได้ จากเชื้อเริ่มต้นที่เวลา 0 นาที 6.79 log cfu/ml ลดลงเหลือ 5.57 log cfu/ml, 3.74 log cfu/ml และ 2.37 log cfu/ml ตามลำดับ โดยที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม 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 ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 5 และ กราฟที่ 5 และจะเห็นว่าเมื่อให้โอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm เป็นเวลานาน 30 นาที จะสามารถลดปริมาณเชื้อลงได้ถึงร้อยละ 54.50, 65.00 และ 70.10 ตามลำดับ

จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า โอโซนสามารถลดปริมาณเชื้อ *B. cereus* ลงได้ และปริมาณเชื้อจะลดลงอย่างมีประสิทธิภาพ เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นและระยะเวลาในการสัมผัสกับโอโซนให้นานขึ้น ดังรายงานการศึกษาของ Restaino และคณะ (1995) ได้ศึกษาผลของน้ำโอโซนต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบและแกรมบวก พบว่า ที่ความเข้มข้นของโอโซนเท่ากับ 20 ppm. สามารถลดปริมาณเชื้อ *S. Typhimurium*, *E. coli*, *P. aeruginosa* และ *B. cereus* ลงได้ถึง 5 log cycle นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า เมื่อให้โอโซนที่ความเข้มข้น 0.4 ppm. เป็นเวลา 7 ชั่วโมง แก่เชื้อ *B. cereus* พบว่า สามารถลดปริมาณเชื้อดังกล่าวลงเหลือ 3.62 log cfu/g (Karim Shah และคณะ, 2009) นอกจากนี้ยังมีรายงานการศึกษาพบว่า เมื่อให้โอโซนที่ความเข้มข้น 1.5 mg/l เป็นเวลา 15 นาที ที่พีเอช 3 จะสามารถลดการสร้างสปอร์ของเชื้อ *B. cereus* ได้ถึง 90-99% จากปริมาณเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 10^7 cfu/ml ในขณะที่ *B. sterothermophilus* จะต้านทานต่อโอโซนได้สูงกว่า *B. cereus* (Foegeding, 1985)

ตารางที่ 5 ผลของไฮโดรเจนที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus cereus*

	<i>Bacillus cereus</i> Plate count (log cfu/ml)		
	Ozone concentration (ppm.)		
Exposure times	1	3	6
0	6.79 ^{a*} ± 0.00	6.79 ^a ± 0.00	6.79 ^a ± 0.00
5	6.23 ^{ab} ± 0.48	5.57 ^b ± 0.08	4.85 ^b ± 0.06
15	4.91 ^b ± 0.10	3.74 ^c ± 0.05	3.37 ^c ± 0.34
30	3.09 ^c ± 0.17	2.37 ^d ± 0.11	2.03 ^d ± 0.08
*Value are means±standard deviation of three replicates plate count (log cfu/ml)			
Means within same column with different letters are significantly different (p ≤ 0.05)			

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 ppm. เป็นเวลา 0, 5, 15 และ 30 นาที พบว่า โอโซนสามารถลดปริมาณของเชื้อ *S. aureus* ลงได้ จากเชื้อเริ่มต้นที่เวลา 0 นาที 7.81 log cfu/ml ลดลงเหลือ 6.66 log cfu/ml, 4.86 log cfu/ml และ 3.86 log cfu/ml ตามลำดับ โดยที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม และเมื่อให้โอโซนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm. เป็นเวลา 0, 5, 15 และ 30 นาที พบว่า โอโซนสามารถลดปริมาณของเชื้อ *S. aureus* ลงได้ จากเชื้อเริ่มต้นที่เวลา 0 นาที 7.81 log cfu/ml ลดลงเหลือ 6.31 log cfu/ml, 4.44 log cfu/ml และ 3.45 log cfu/ml ตามลำดับ โดยที่ระยะเวลา 15 และ 30 นาที ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม เมื่อเพิ่มความเข้มข้นโอโซนถึง 6 ppm. เป็นเวลา 0, 5, 15 และ 30 นาที พบว่า โอโซนสามารถลดปริมาณของเชื้อ *S. aureus* ลงได้ จากเชื้อเริ่มต้นที่เวลา 0 นาที 7.81 log cfu/ml ลดลงเหลือ 5.74 log cfu/ml, 2.22 log cfu/ml และ 0.42 log cfu/ml ตามลำดับ โดยที่ระยะเวลา 5 และ 15 นาที ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ในขณะที่ ระยะเวลา 30 นาที การลดลงของปริมาณเชื้อไม่แตกต่างจากระยะเวลา 15 นาที ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 6 และ กราฟที่ 6 และจะเห็นว่าเมื่อให้โอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm เป็นเวลานาน 30 นาที จะสามารถลดปริมาณเชื้อลงได้ถึงร้อยละ 50.45, 55.83 และ 94.50 ตามลำดับ ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของโอโซนขึ้นตามลำดับและเพิ่มระยะเวลาการให้โอโซนที่นานขึ้น จะสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้

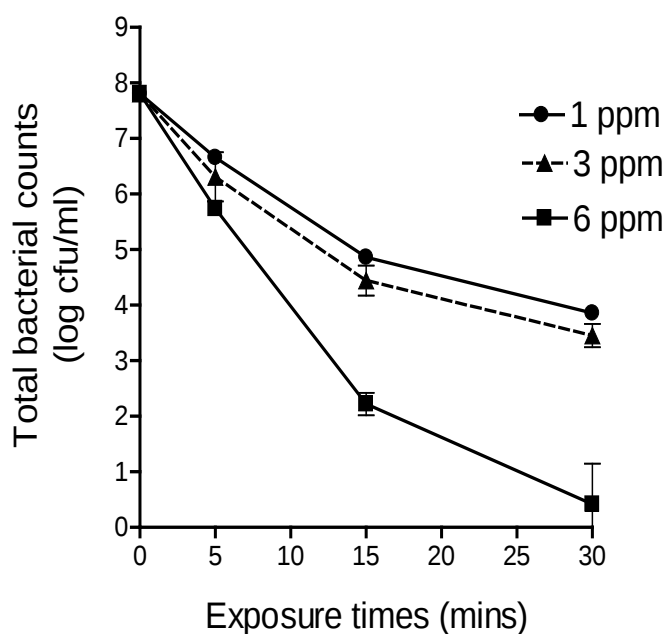
S. aureus เป็นแบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญที่มักพบปนเปื้อนในอาหารสารพิษ Enterotoxin ที่เชื้อสร้างขึ้นปนเปื้อนในปริมาณน้อยกว่า 1 ไมโครกรัม จะสามารถทำให้เกิดอาการเจ็บป่วยได้ มีอาการคลื่นไส้ อาเจียน วิงเวียน เป็นตะคริวในช่องท้องและอ่อนเพลีย <http://www.foodnetworksolution.com/vocab/word/1197> การศึกษาเกี่ยวกับการยับยั้งการเจริญของเชื้อนี้จึงมีความสำคัญ การใช้โอโซนเป็นแนวทางหนึ่งที่สามารถลดปริมาณเชื้อดังกล่าวลงได้ ดังรายงานการวิจัยของ Benjamas และคณะ 2002 พบว่าโอโซนสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ ได้ โดยทดลองให้โอโซนเข้มข้น 0.167 mg/l ที่เวลาแตกต่างกัน ผลการทดลองพบว่า การให้โอโซนนาน 30 นาที สามารถลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* ได้ทั้งหมด ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Habibi

Najafi และHaddad Khodaparast 2009 พบว่า ที่ความเข้มข้นของไอโซน 5 ppm. เป็นเวลานาน 30 และ 45 นาที่สามารถลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* ลงได้ 0.85 และ 0.41 log cfu/g ตามลำดับ

ตารางที่ 6 ผลของไอโซนที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ
Staphylococcus aureus

	<i>Staphylococcus aureus</i> Plate count (log cfu/ml)		
	Ozone concentration (ppm.)		
Exposure times	1	3	6
0	7.81 ^{a*} ± 0.00	7.81 ^a ± 0.00	7.81 ^a ± 0.00
5	6.66 ^b ± 0.14	6.31 ^a ± 0.44	5.74 ^b ± 0.05
15	4.86 ^c ± 0.04	4.44 ^b ± 0.27	2.22 ^c ± 0.20
30	3.86 ^d ± 0.08	3.45 ^c ± 0.21	0.42 ^c ± 0.73
*Value are means±standard deviation of three replicates plate count (log cfu/ml)			
Means within same column with different letters are significantly different (p ≤ 0.05)			

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

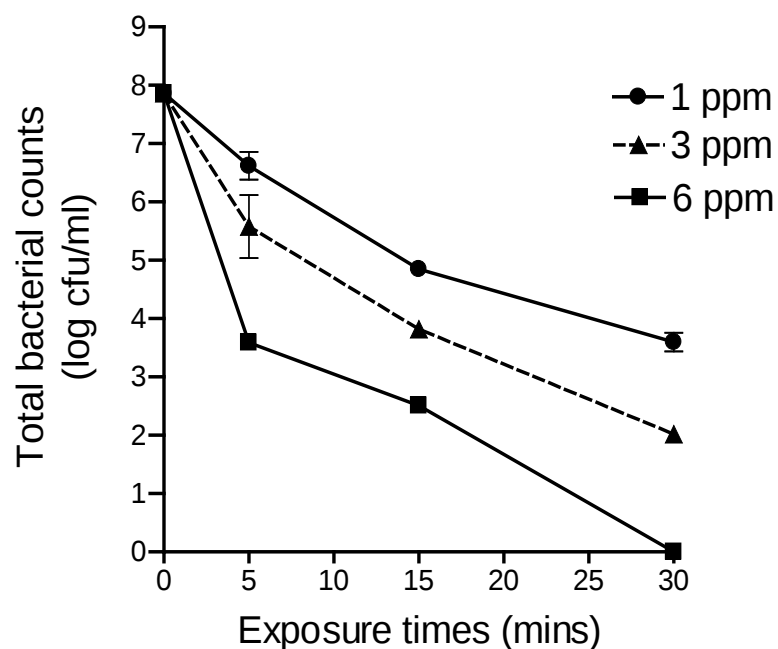
ได้ทำการทดลองโดยการเลี้ยงเชื้อ *L. monocytogenes* ในอาหาร Tryptic soy broth จากนั้นทำการปรับปริมาณเชื้อให้มีเชื้อเริ่มต้นเท่ากันในทุกชุดการทดลอง คือ 7.3×10^7 cfu/ml. หรือ เท่ากับ 7.86 log cfu/ml โดยให้เชื้อแขวนลอยอยู่ในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อปริมาตร 20 มิลลิลิตร ก่อนนำไปทดสอบกับไอโซนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ จากผลการทดลอง พบว่า เมื่อให้ไอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1 ppm. เป็นเวลา 0, 5, 15 และ 30 นาที พบว่า ไอโซนสามารถลดปริมาณของเชื้อ *L. monocytogenes* ลงได้ จากเชื้อเริ่มต้นที่เวลา 0 นาที 7.86 log cfu/ml ลดลงเหลือ 6.62 log cfu/ml, 4.85 log cfu/ml และ 3.60 log cfu/ml ตามลำดับ โดยที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม และเมื่อให้ไอโซนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm. เป็นเวลา 0, 5, 15 และ 30 นาที พบว่า ไอโซนสามารถลดปริมาณของเชื้อ *L. monocytogenes* ลงได้ จากเชื้อเริ่มต้นที่เวลา 0 นาที 7.86 log cfu/ml ลดลงเหลือ 5.58 log cfu/ml, 3.81 log cfu/ml และ 2.02 log cfu/ml ตามลำดับ โดยที่ระยะเวลา 5 นาที การลดลงของปริมาณเชื้อไม่แตกต่างจากชุดควบคุม และที่เวลา 15 นาที การลดลงของปริมาณเชื้อไม่แตกต่างจากที่เวลา 5 นาที ส่วนที่เวลา 30 นาที ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม เมื่อเพิ่มความเข้มข้นไอโซนถึง 6 ppm. เป็นเวลา 0, 5, 15 และ 30 นาที พบว่า ไอโซนสามารถลดปริมาณของเชื้อ *L. monocytogenes* ลงได้ จากเชื้อเริ่มต้นที่เวลา 0 นาที 7.86 log cfu/ml ลดลงเหลือ 3.59 log cfu/ml, 2.51 log cfu/ml และ 0.00 log cfu/ml ตามลำดับ โดยที่พบว่าปริมาณเชื้อลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 7 และ กราฟที่ 7 และจะเห็นว่าเมื่อให้ไอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm เป็นเวลานาน 30 นาที จะสามารถลดปริมาณเชื้อลงได้ถึงร้อยละ 50.45, 55.83 และ 94.50 ตามลำดับ ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของไอโซนขึ้นตามลำดับและเพิ่มระยะเวลาการให้ไอโซนที่นานขึ้น จะสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. monocytogenes* ได้

L. monocytogenes เป็นแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษที่สำคัญ พบรายงานการระบาดทุกปี เป็นแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ จึงทำให้อาหารที่เก็บรักษาในตู้เย็นเกิดการเน่าเสียและมีสารพิษที่สร้างจากเชื้อนี้ปะปนอยู่ ก่อให้เกิดปัญหาที่สำคัญ อย่างไรก็ตามพบว่าการใช้ไอโซนสามารถลดปริมาณเชื้อลงได้ เช่น รายงานการศึกษา ของ Kim, Jin-Gab, 1998 พบว่า ไอโซนที่ความเข้มข้น 2.5 mg/l สามารถลดปริมาณเชื้อ *L. monocytogenes* ได้ 5-6 log cfu/ml ในเวลา 40 วินาที และ ที่ความเข้มข้น 0.2-1.8 mu/ml. เวลา 0.5-10 นาที ที่พีเอช 7.2 สามารถลดปริมาณเชื้อลง 0.7-7 log หรือประมาณ 60-70% (Khadre และคณะ , 2001)

ตารางที่ 7 ผลของไอโซนที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ
Listeria monocytogenes

	<i>Listeria monocytogenes</i> Plate count (log cfu/ml)		
	Ozone concentration (ppm.)		
Exposure times	1	3	6
0	7.86 ^a ± 0.00	7.86 ^a ± 0.00	7.86 ^a ± 0.00
5	6.62 ^b ± 0.24	5.58 ^{ab} ± 0.54	3.59 ^b ± 0.09
15	4.85 ^c ± 0.02	3.81 ^b ± 0.07	2.51 ^c ± 0.13
30	3.60 ^d ± 0.16	2.02 ^c ± 0.06	0.00 ^d ± 0.00
*Value are means±standard deviation of three replicates plate count (log cfu/ml)			
Means within same column with different letters are significantly different (p ≤ 0.05)			

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

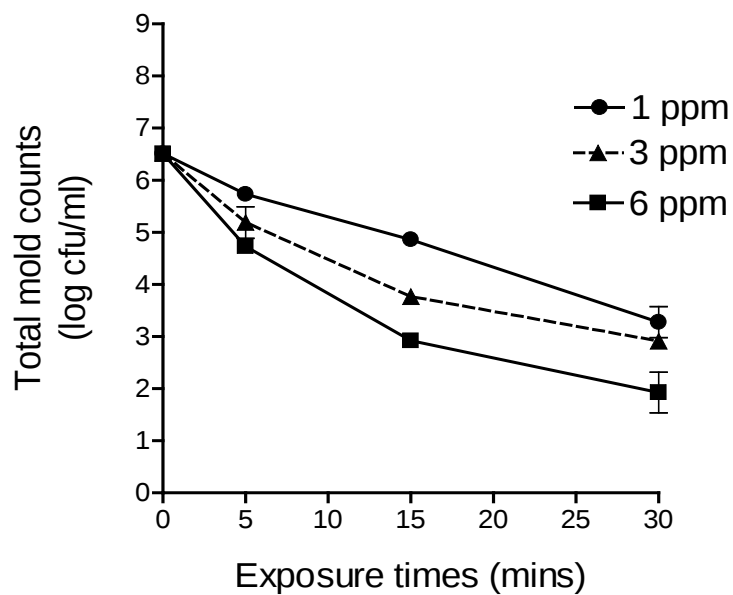
จากนั้นทำการปรับปริมาณเชื้อให้มีเชื้อเริ่มต้นเท่ากันในทุกชุดการทดลอง คือ 3.2×10^6 cfu/ml หรือ เท่ากับ $6.51 \log$ cfu/ml โดยให้เชื้อแขวนลอยอยู่ในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อปริมาตร 20 มิลลิลิตร ก่อนนำไปทดสอบกับโอโซนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ จากผลการทดลอง พบว่า เมื่อให้โอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1 ppm. เป็นเวลา 0, 5, 15 และ 30 นาที พบว่า โอโซนสามารถลดปริมาณของเชื้อ *Aspergillus* sp. ลงได้ จากเชื้อเริ่มต้นที่เวลา 0 นาที $6.51 \log$ cfu/ml ลดลงเหลือ $5.73 \log$ cfu/ml, $4.86 \log$ cfu/ml และ $3.27 \log$ cfu/ml ตามลำดับ โดยที่ปริมาณเชื้อลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม และเมื่อให้โอโซนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm. เป็นเวลา 0, 5, 15 และ 30 นาที พบว่า โอโซนสามารถลดปริมาณของเชื้อ *Aspergillus* sp. ลงได้ จากเชื้อเริ่มต้นที่เวลา 0 นาที $6.51 \log$ cfu/ml ลดลงเหลือ $5.18 \log$ cfu/ml, $3.77 \log$ cfu/ml และ $2.91 \log$ cfu/ml ตามลำดับ โดยที่ปริมาณเชื้อลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเพิ่มความเข้มข้นโอโซนถึง 6 ppm. เป็นเวลา 0, 5, 15 และ 30 นาที พบว่า โอโซนสามารถลดปริมาณของเชื้อ *Aspergillus* sp. ลงได้ จากเชื้อเริ่มต้นที่เวลา 0 นาที $6.51 \log$ cfu/ml ลดลงเหลือ $4.73 \log$ cfu/ml, $2.92 \log$ cfu/ml และ $1.93 \log$ cfu/ml ตามลำดับ โดยพบว่าที่เวลา 15 และ 30 นาที ปริมาณเชื้อลดลงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 8 และ 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

รายงานการวิจัยของ Habibi Najafi และ Haddad Khodaparast 2009 พบว่า เมื่อให้โอโซนเข้มข้น 1, 3 และ 5 ppm. สามารถลดปริมาณเชื้อราและยีสต์ ลงได้ 3.80, 3.63 และ 3.5 $\log$ cfu/g ตามลำดับ และพบว่าเมื่อให้โอโซนเข้มข้น 5 ppm สามารถยับยั้งการเจริญ การสร้างสปอร์และการสร้างสารพิษของเชื้อรา *A. flavus* (Mason และคณะ 1997) (Stephen และคณะ 2001)

ตารางที่ 8 ผลของโอโซนที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ
Aspergillus niger

	<i>Aspergillus</i> sp. Plate count (log cfu/ml)		
	Ozone concentration (ppm.)		
Exposure times	1	3	6
0	6.51 ^a ± 0.00	6.51 ^a ± 0.00	6.51 ^a ± 0.00
5	5.73 ^b ± 0.05	5.18 ^b ± 0.29	4.73 ^b ± 0.13
15	4.86 ^c ± 0.08	3.77 ^c ± 0.07	2.92 ^c ± 0.11
30	3.27 ^d ± 0.30	2.91 ^d ± 0.08	1.93 ^c ± 0.39
*Value are means±standard deviation of three replicates plate count (log cfu/ml)			
Means within same column with different letters are significantly different (p ≤ 0.05)			

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 ก่อนนำไปทดสอบกับไอโซนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ จากผลการทดลอง พบว่า เมื่อให้ไอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1 ppm. เป็นเวลา 0, 5, 15 และ 30 นาที พบว่า ไอโซนสามารถลดปริมาณของเชื้อ *C. albicans* ลงได้ จากเชื้อเริ่มต้นที่เวลา 0 นาที $6.71 \log \text{ cfu/ml}$ ลดลงเหลือ $5.49 \log \text{ cfu/ml}$, $4.59 \log \text{ cfu/ml}$ และ $3.75 \log \text{ cfu/ml}$ ตามลำดับ โดยที่ระยะเวลา 5 และ 15 นาที ปริมาณเชื้อลดลงไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม และเมื่อให้ไอโซนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm. เป็นเวลา 0, 5, 15 และ 30 นาที พบว่า ไอโซนสามารถลดปริมาณของเชื้อ *C. albicans* ลงได้ จากเชื้อเริ่มต้นที่เวลา 0 นาที $6.71 \log \text{ cfu/ml}$ ลดลงเหลือ $5.79 \log \text{ cfu/ml}$, $3.74 \log \text{ cfu/ml}$ และ $2.55 \log \text{ cfu/ml}$ ตามลำดับ โดยที่ปริมาณเชื้อลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นไอโซนถึง 6 ppm. เป็นเวลา 0, 5, 15 และ 30 นาที พบว่า ไอโซนสามารถลดปริมาณของเชื้อ *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 ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 9 และ กราฟที่ 9 และจะเห็นว่าเมื่อให้ไอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm เป็นเวลานาน 30 นาที จะสามารถลดปริมาณเชื้อลงได้ถึงร้อยละ 43.96, 62.00 และ 69.90 ตามลำดับ ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของไอโซนขึ้นตามลำดับและเพิ่มระยะเวลาการให้ไอโซนที่นานขึ้น จะสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. albicans* ได้

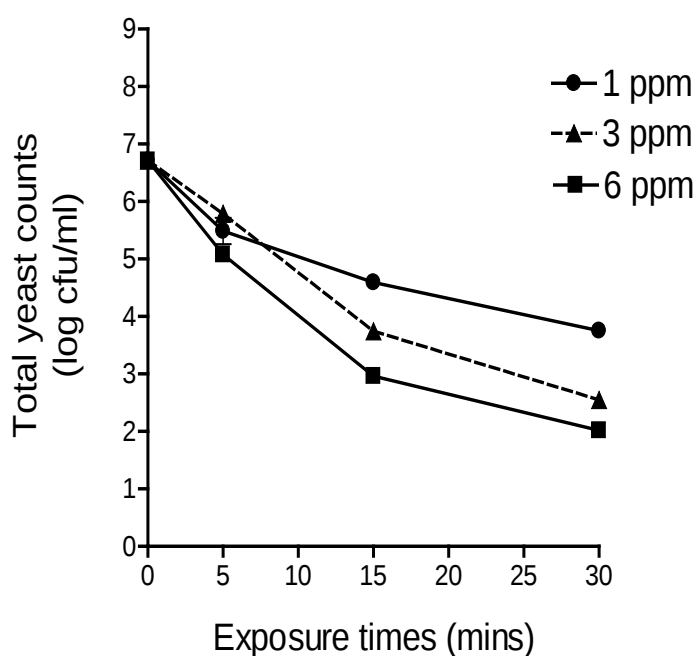
รายงานการวิจัยของ Arita และ คณะ 2005 พบว่า ไอโซนเข้มข้น 2 และ 4 mg/l เป็นเวลา 1 นาที สามารถลดปริมาณของเชื้อ *Candida albicans* ได้ สอดคล้องกับรายงานของ Habibi Najafi และ Haddad Khodaparast 2009 พบว่า เมื่อให้ไอโซนเข้มข้น 1, 3 และ 5 ppm. สามารถลดปริมาณเชื้อราและยีสต์ ลงได้ 3.80, 3.63 และ 3.5 $\log \text{ cfu/g}$ ตามลำดับ และเมื่อให้ไอโซนเข้มข้น 0.53-2.0 mg/ml พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของ *Candida albicans* ได้

ตารางที่ 9 ผลของไอโซนที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ

Candida albicans

	<i>Candida albicans</i> Plate count (log cfu/ml)		
	Ozone concentration (ppm.)		
Exposure times	1	3	6
0	6.71 ^a ± 0.00	6.71 ^a ± 0.00	6.71 ^a ± 0.00
5	5.49 ^b ±0.23	5.79 ^b ± 0.08	5.08 ^b ± 0.08
15	4.59 ^b ± 0.03	3.74 ^c ± 0.10	2.96 ^c ± 0.03
30	3.75 ^c ± 0.03	2.55 ^d ± 0.05	2.02 ^d ± 0.06
*Value are means±standard deviation of three replicates plate count (log cfu/ml)			
Means within same column with different letters are significantly different (p ≤ 0.05)			

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



กราฟที่ 9 ผลของโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 1, 3 และ 6 ppm. ต่อการลดปริมาณของเชื้อ

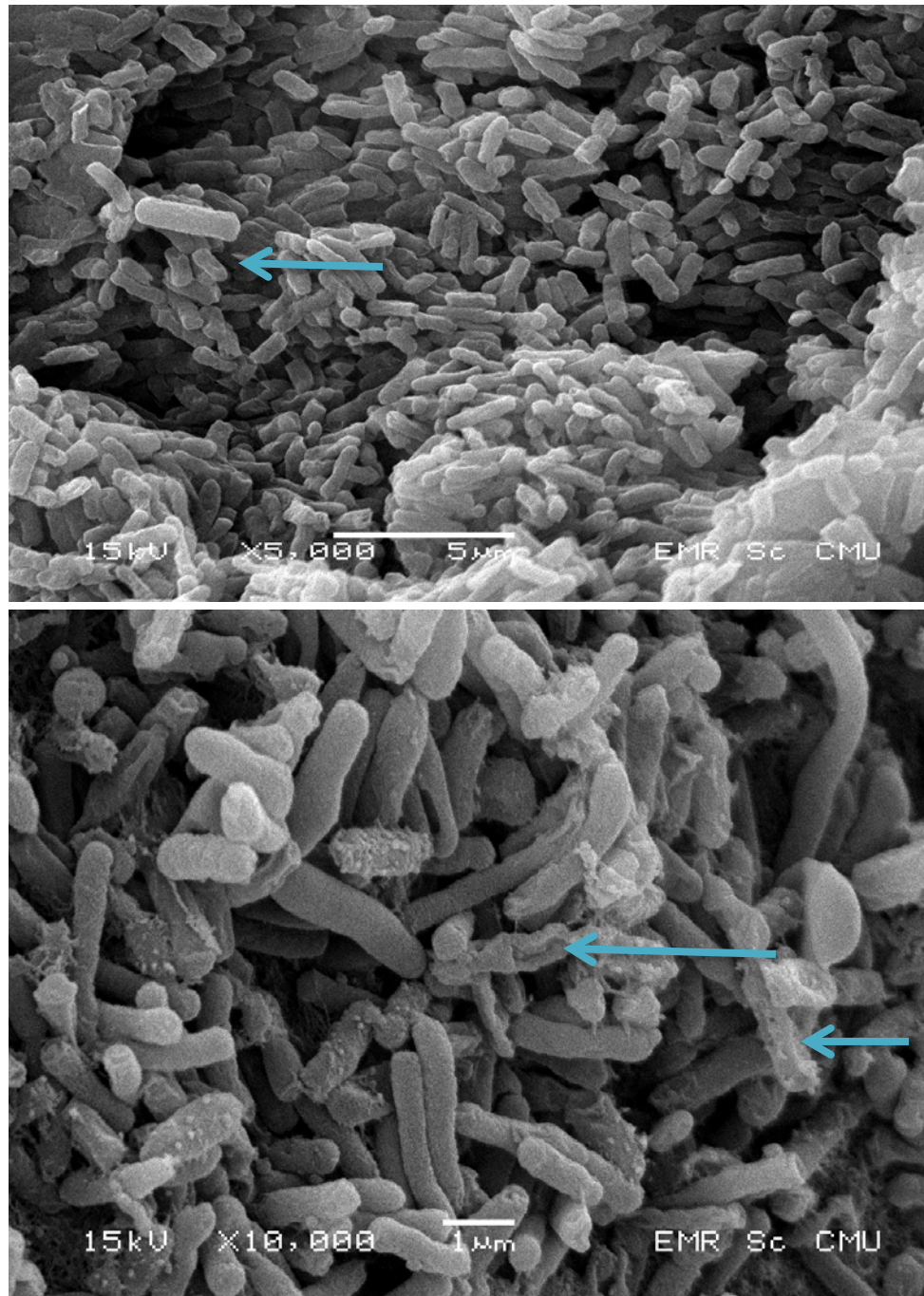
Candida albicans

ประสิทธิภาพของโอโซน สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย เชื้อรา ไวรัส โปรโตซัวและสปอร์ อย่างไรก็ตาม จุลินทรีย์ตามที่กล่าวมาจะตอบสนองต่อโอโซนมากหรือน้อยขึ้นกับ อายุและปริมาณของเชื้อ องค์ประกอบของ

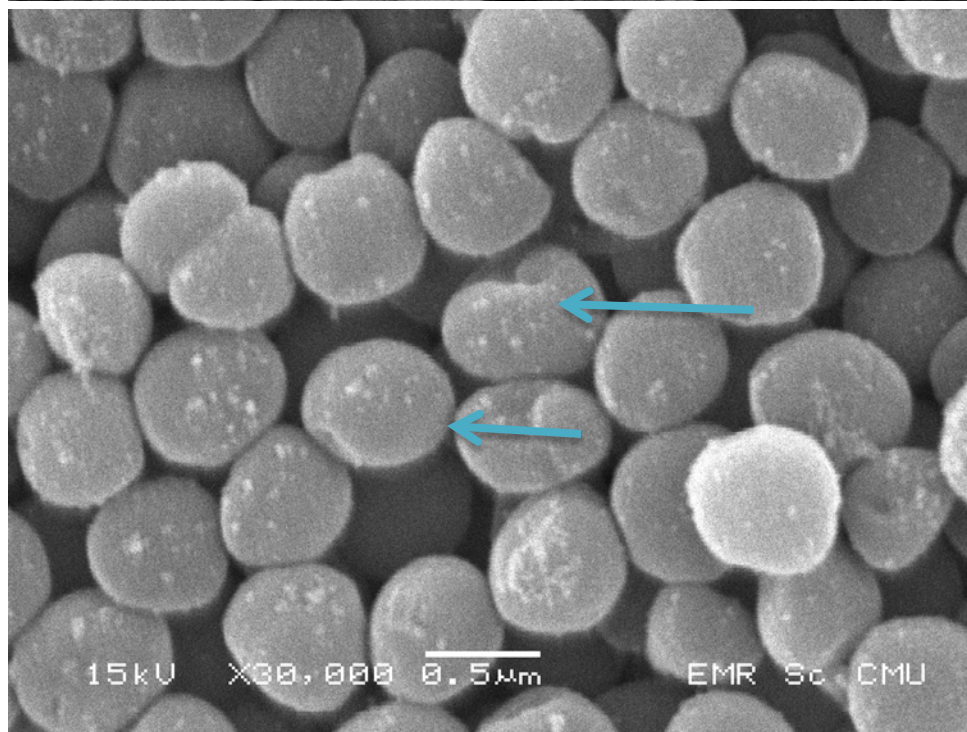
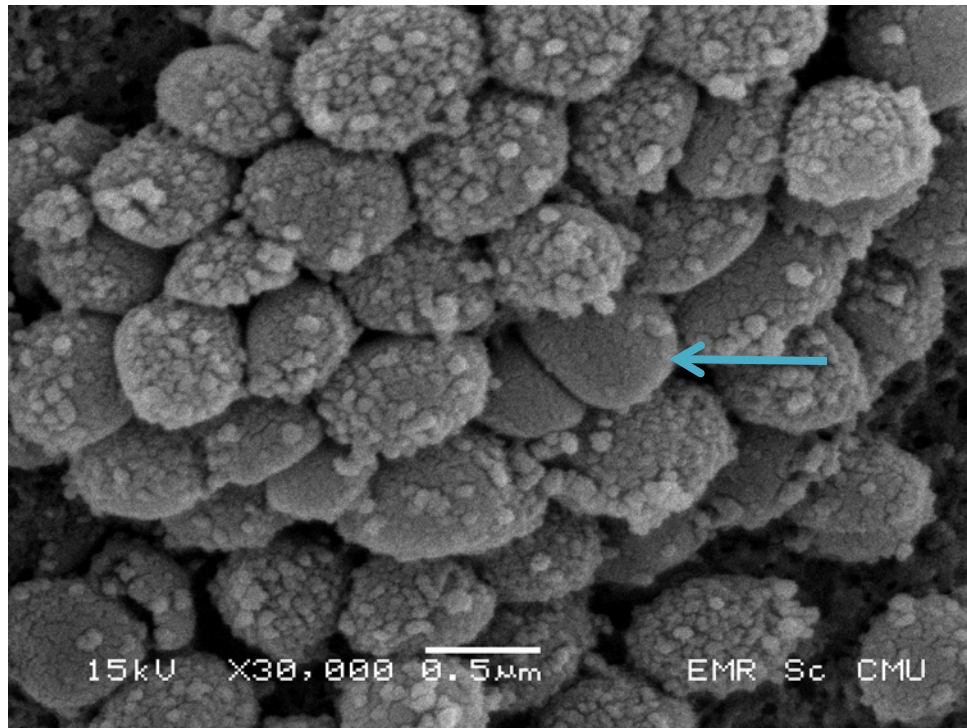
อาหารเลี้ยงเชื้อ รวมทั้งรูปแบบของไอโซนที่ให้ เครื่องมือที่ใช้วัด เป็นต้น (Kim และ Yousef 2000) (Khaerd และคณะ 2001)

ตอนที่ 2 ผลของไอโซนที่มีต่อโครงสร้างของเซลล์โดยการทำให้เกิดการเสียหายแก่เซลล์ ศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์

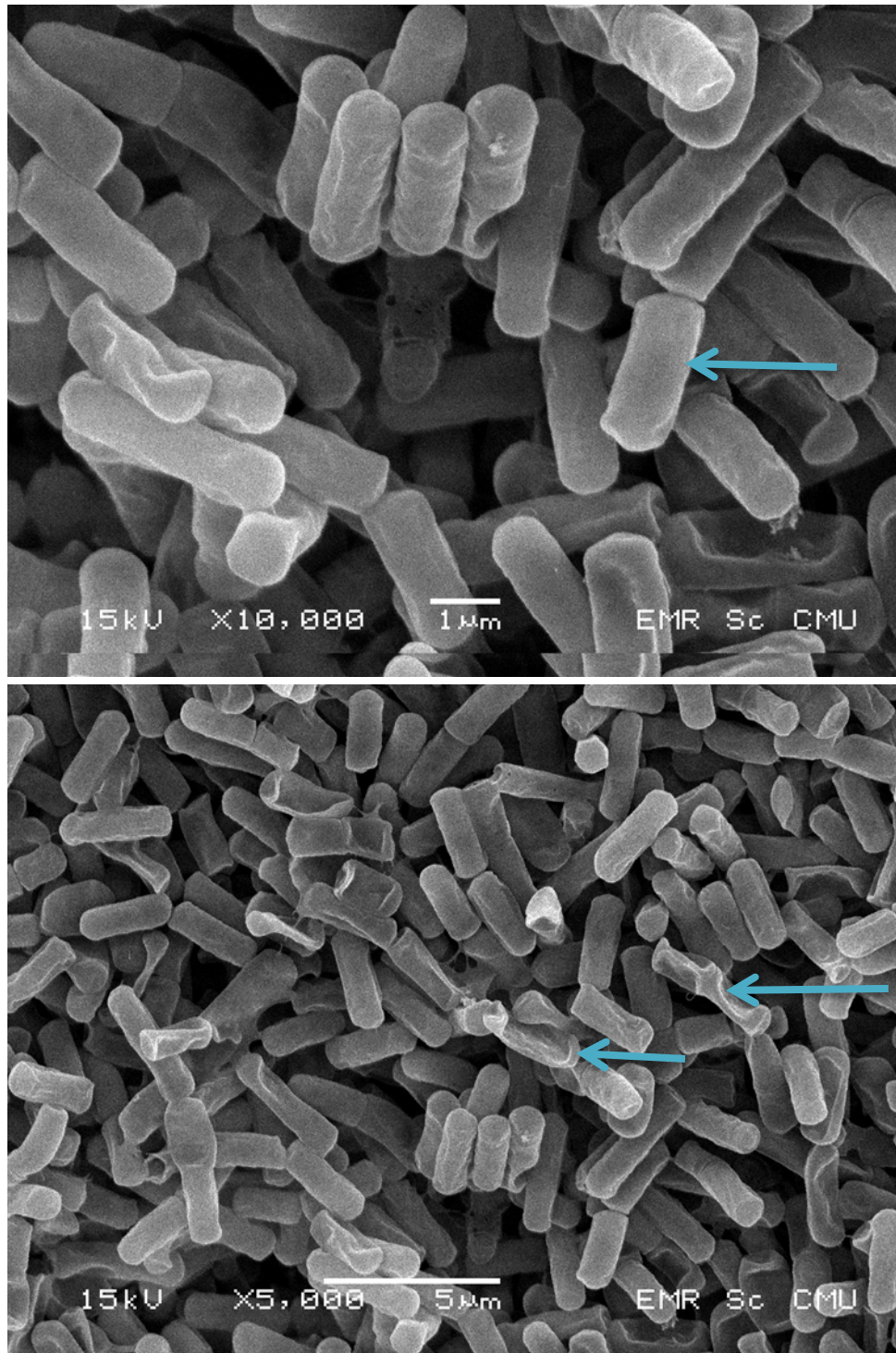
นำเชื้อทดสอบแต่ละเชื้อที่ผ่านไอโซนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm ไปศึกษาโครงสร้างของเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Scanning electron microscope) เปรียบเทียบกับโครงสร้างของเซลล์ปกติ ตามวิธีของ Benjamas และคณะ (2002) โดยการตรึงเซลล์ด้วย ice cold 2.5 % glutaraldehyde ใน 0.05 M sodium cacodylate buffer pH 7.4 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ตามด้วยการล้างด้วย buffer 3 ครั้ง จากนั้น ตรึงเซลล์ด้วย 1 % osmium tetroxide ใน 0.05 M sodium cacodylate ที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง จากนั้น dehydrated ด้วยแอลกอฮอล์ที่ความเข้มข้นต่างๆ แล้วทำให้แห้งด้วย vacuum dryer จากนั้นนำตัวอย่างเชื้อที่เตรียมได้ไปฉาบด้วยทอง ด้วยเครื่อง ion- sputtering เป็นเวลา 4 นาที จากนั้นนำไปส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบ Scanning electron microscope (SEM) 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(ภาพบน) ผิวเซลล์จะเรียบและโครงสร้างของเซลล์สมบูรณ์ แต่เมื่อนำเซลล์ไปผ่านไอโซนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm. เป็นเวลา 30 นาที โครงสร้างของเซลล์จะเหี่ยวบางเซลล์ก็จะแตกหรือเป็นเศษเซลล์(ภาพล่าง)



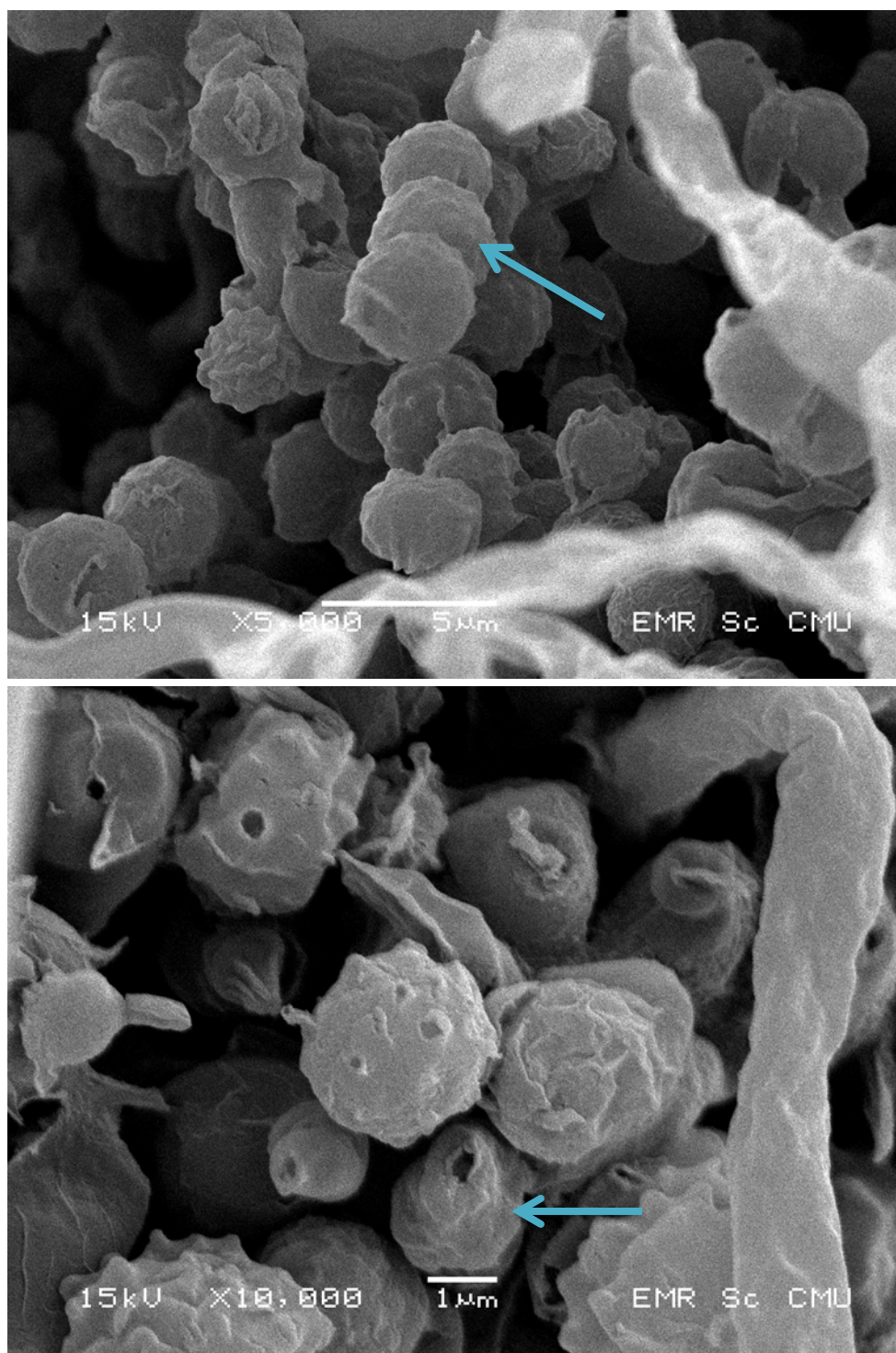
รูปที่ 1 ภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบ SEM ภาพบนแสดง โครงสร้างของเซลล์ *Escherichia coli* ที่ปกติ ภาพล่างแสดง โครงสร้างของเซลล์ *Escherichia coli* ที่ผ่านไอโซนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm เป็นเวลา 30 นาที



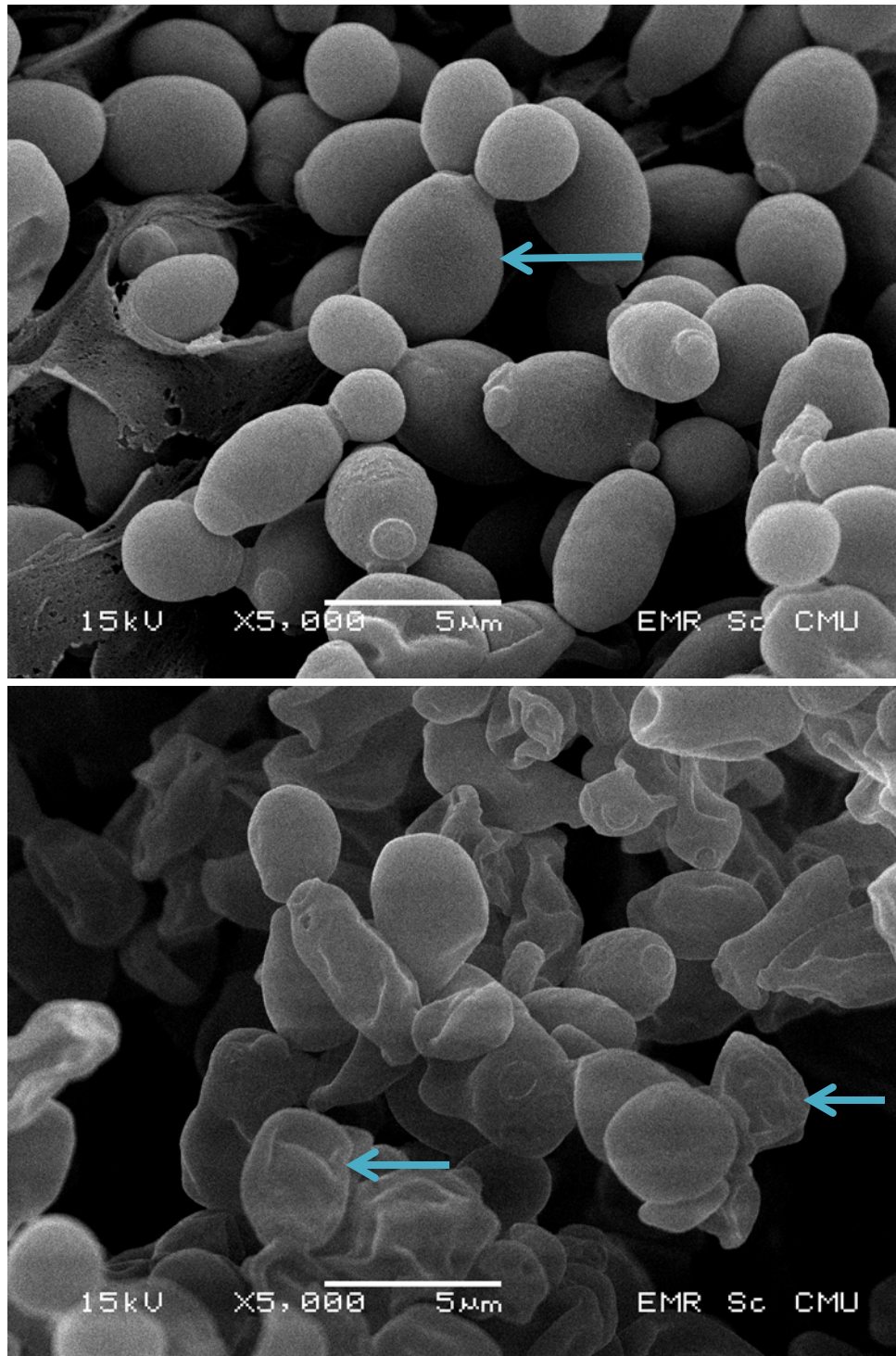
รูปที่ 2 ภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบ SEM ภาพบนแสดง โครงสร้างของเซลล์ *Staphylococcus aureus* ที่ปกติ ภาพล่างแสดง โครงสร้างของเซลล์ *Staphylococcus aureus* ที่ผ่านไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm เป็นเวลา 30 นาที



รูปที่ 3 ภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบ SEM ภาพบนแสดง โครงสร้างของเซลล์ *Bacillus cereus* ที่ปกติ ภาพล่างแสดง โครงสร้างของเซลล์ *Bacillus cereus* ที่ผ่านไอโซนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm เป็นเวลา 30 นาที



รูปที่ 4 ภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบ SEM ภาพบนแสดง โคนิเดียของ *Aspergillus niger* ที่ปกติ ภาพล่างแสดง โคนิเดียของ *Aspergillus niger* ที่ผ่านไอโซนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm เป็นเวลา 30 นาที



รูปที่ 5 ภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบ SEM ภาพบนแสดง โครงสร้างของยีสต์ *Candida albicans* ที่ปกติ ภาพล่างแสดง โครงสร้างของยีสต์ *Candida albicans* ที่ผ่านไอโซนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm เป็นเวลา 30 นาที

เนื่องจากโมเลกุลของโอโซน ประกอบด้วยออกซิเจน 3 อะตอม (O_3) ไม่เสถียรเมื่ออยู่ในน้ำ เมื่ออุณหภูมิลดลงโอโซนจะละลายน้ำได้เพิ่มขึ้นและละลายได้ดีกว่าก๊าซ และจะสลายไปโดยไม่ทิ้งสารตกค้างที่เป็นพิษ ประกอบกับโอโซนมีคุณสมบัติเป็นตัวออกซิไดซ์ (Oxidizing agent) ที่แรงและดีกว่าคลอรีนถึง 1.5 เท่า โดยโอโซนจะไปทำปฏิกิริยากับหมู่ซัลไฮดริล ซึ่งพบมากในเอนไซม์ของจุลินทรีย์ และทำปฏิกิริยาอย่างช้าๆกับ โพลีแซคคาไรด์นำไปสู่การทำลายพันธะไกลโคซิดิก 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)

โอโซน สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย เชื้อรา ไวรัส โปรโตซัวและสปอร์ อย่างไรก็ตาม จุลินทรีย์ตามที่กล่าวมาจะตอบสนองต่อโอโซนมากหรือน้อยขึ้นกับ อายุและปริมาณของเชื้อ องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ รวมทั้งรูปแบบของโอโซนที่ให้ เครื่องมือที่ใช้วัด เป็นต้น (Kim และ Yousef 2000) (Khaerd และคณะ 2001)

ปัจจุบันได้มีการรายงานการวิจัยแสดงให้เห็นว่าโอโซนสามารถใช้แทนคลอรีนได้ และในปี 1997 โอโซนได้รับการยอมรับจาก Generally Recognized As Safe (GRAS) ว่ามีความปลอดภัยในการนำมาใช้งาน มากกว่าสารคลอรีนและไม่มีสารเคมีตกค้างที่เป็นอันตราย (Zeynep และคณะ 2004) โดยการใช้โอโซนในการเป็นสารทำความสะอาดและฆ่าเชื้อ (<http://www.amitbiotech.com>, Zeynep และคณะ 2004)

ตอนที่ 3 ผลของโอโซนที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการลดปริมาณการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดมากับผิวผักสดและผักพร้อมบริโภค

สุ่มเก็บตัวอย่างผักชนิดต่างๆที่นิยมบริโภคสด และผักพร้อมบริโภค ที่สามารถเป็นตัวแทนผักสดชนิดอื่นๆ แต่เนื่องจากว่า ผักบางชนิดที่นิยมบริโภคสดแตเมื่อนำมาตรวจนับปริมาณเชื้อพบว่าปริมาณเชื้อที่ติดมากับผิวของผักไม่เพียงพอต่อการนำทดลอง จึงเลือกสุ่มเก็บตัวอย่างผัก 3 ชนิด คือ ผักกาดหอม มะเขือเทศ และแตงกวา ชนิดละไม่น้อยกว่า 500 กรัมต่อตัวอย่าง นำตัวอย่างผักชนิดต่างๆ มาทำความสะอาด แบ่งผักออกเป็น 3 กลุ่มการทดลองคือ กลุ่มที่ไม่ผ่านการให้โอโซน (CT) และ กลุ่มที่ผ่านการให้โอโซนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm. ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ไม่มีผลต่อสรีรวิทยาของผักสด เป็นเวลา 30 นาที (OZ) และ กลุ่มที่ผ่านการให้โอโซนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm. เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำมาเก็บรักษาไว้ในอุณหภูมิตู้เย็น เป็นเวลา 3 วัน 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* เป็นแบคทีเรียที่มักตรวจพบว่าปนเปื้อนมากับผักสด และทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ผลการตรวจนับปริมาณเชื้อ *Campylobacter* และ ตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Listeria* จากตัวอย่างผัก พบว่า ตัวอย่างผักส่วนใหญ่ที่สุ่มมาไม่พบเชื้อ และบางตัวอย่างมีปริมาณน้อยมากทำให้ความหนาแน่นของเชื้อไม่เพียงพอต่อการทดสอบด้วยโอโซน

3.1 ผลของโอโซนต่อการลดปริมาณเชื้อกลุ่มต่างๆที่ติดมากับผิวของผักกาดหอม (Lettuce)

ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (Total aerobic plate count) ผักกาดหอมที่ไม่ผ่านการให้โอโซนพบว่า มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเท่ากับ 5.87 log cfu/g และเมื่อนำผักกาดหอมไปผ่านการให้โอโซนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm. เป็นเวลา 30 นาที พบว่า ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดลดลงเหลือ 4.38 log cfu/g ส่วนผักกาดหอมที่ผ่านการให้โอโซนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm. เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำมาเก็บรักษาไว้ในอุณหภูมิตู้เย็น เป็นเวลา 3 วัน พบว่า ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดลดลงเหลือ 3.66 log cfu/g โดยที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ผ่านการให้โอโซน (CT) ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 10 และกราฟที่ 10

ปริมาณ ยีสต์และ รา ทั้งหมด (Total yeast and mold plate count) ผักกาดหอมที่ไม่ผ่านการให้โอโซน พบว่า มีปริมาณยีสต์และ รา ทั้งหมดเท่ากับ 5.20 log cfu/g และเมื่อนำผักกาดหอมไปผ่านการให้โอโซนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm. เป็นเวลา 30 นาที พบว่า ปริมาณยีสต์และรา ทั้งหมดลดลงเหลือ 3.78 log cfu/g ส่วนผักกาดหอมที่ผ่านการให้โอโซนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm. เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำมาเก็บรักษาไว้ในอุณหภูมิตู้เย็น เป็นเวลา 3 วัน พบว่า ปริมาณยีสต์และรา ทั้งหมดลดลงเหลือ 3.02 log cfu/g โดยที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ผ่านการให้โอโซน (CT) ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 10 และ กราฟที่ 10

ปริมาณ แบคทีเรียโคลิฟอร์ม ผักกาดหอมที่ไม่ผ่านการให้โอโซน พบว่า มีปริมาณปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์มเท่ากับ 3033.33 MPN/g และเมื่อนำผักกาดหอมไปผ่านการให้โอโซนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm. เป็นเวลา 30 นาที พบว่า ปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์ม ลดลงเหลือ 1766.67 MPN/g ส่วนผักกาดหอมที่ผ่านการให้โอโซนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm. เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำมาเก็บรักษาไว้ในอุณหภูมิตู้เย็น เป็นเวลา 3 วัน พบว่า ปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์ม ลดลงเหลือ 1533.33 MPN/g โดยที่ลดลงอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ผ่านการให้โอโซน (CT) ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 10 และ กราฟที่ 10

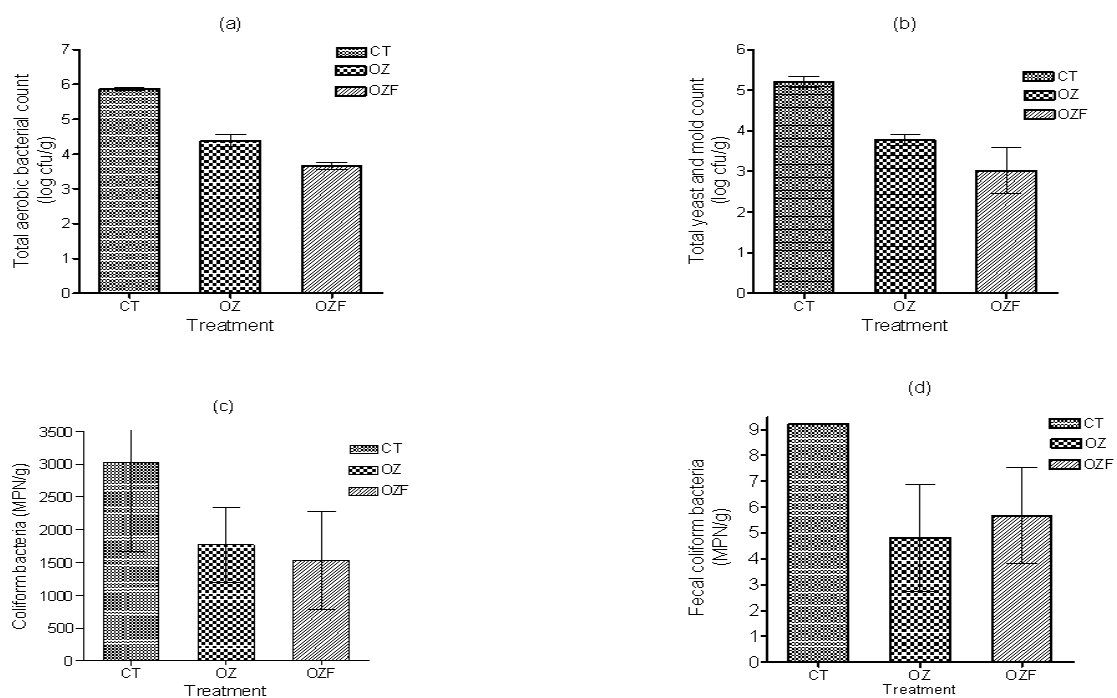
ปริมาณ ฟีคัลโคลิฟอร์ม ผักกาดหอมที่ไม่ผ่านการให้โอโซน พบว่า มีปริมาณปริมาณฟีคัลโคลิฟอร์มเท่ากับ 9.20 MPN/g และเมื่อนำผักกาดหอมไปผ่านการให้โอโซนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm. เป็นเวลา 30 นาที พบว่า ปริมาณฟีคัลโคลิฟอร์ม ลดลงเหลือ 4.80 MPN/g ส่วนผักกาดหอมที่ผ่านการให้โอโซนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm. เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำมาเก็บรักษาไว้ในอุณหภูมิตู้เย็น เป็นเวลา 3 วัน พบว่า ปริมาณฟีคัลโคลิฟอร์ม ลดลงเหลือ 5.67 MPN/g โดยที่ลดลงอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ผ่านการให้โอโซน (CT) ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 10 และ กราฟที่ 10

ตารางที่ 10 ผลของโอโซนต่อการลดปริมาณเชื้อกลุ่มต่างๆที่ติดมากับผิวของผักกาดหอม (Lettuce)

Microorganisms count (Mean±SD.)				
Treatment	Total aerobic plate count (log cfu/g)	Total yeast and mold plate count (log cfu/g)	Coliform bacteria (MPN/g)	Fecal coliform bacteria (MPN/g)
Control (non-ozonated)	5.87 ^a ±0.05	5.20 ^a ±0.14	3033.33 ^a ±1365.04	9.20 ^a ±0.00
3 ppm. Ozone concentration for 30 mins.	4.38 ^b ±0.18	3.78 ^b ±0.13	1766.67 ^a ±577.35	4.80 ^a ±2.07
Ozonated with keep in refrigerator 3 days	3.66 ^c ±0.10	3.02 ^c ±0.56	1533.33 ^a ±750.56	5.67 ^a ±1.86

*Value are means±standard deviation of three replicates plate count (log cfu/ml)

Means within same column with different letters are significantly different ($p \leq 0.05$)



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

3.2 ผลของโอโซนต่อการลดปริมาณเชื้อกลุ่มต่างๆที่ติดมากับผิวของมะเขือเทศ (Tamato)

ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (Total aerobic plate count) มะเขือเทศที่ไม่ผ่านการให้อิโคโน พบว่า มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเท่ากับ 3.12 log cfu/g และเมื่อนำมะเขือเทศไปผ่านการให้อิโคนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm. เป็นเวลา 30 นาที พบว่า ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดลดลงเหลือ 1.61 log cfu/g ส่วนมะเขือเทศที่ผ่านการให้อิโคนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm. เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำมาเก็บรักษาไว้ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน พบว่า ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดลดลงเหลือ 2.19 log cfu/g โดยที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ผ่านการให้อิโคน (CT) ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 11 และกราฟที่ 11

ปริมาณ ยีสต์และ รา ทั้งหมด (Total yeast and mold plate count) มะเขือเทศที่ไม่ผ่านการให้อิโคน พบว่า มีปริมาณยีสต์และ รา ทั้งหมดเท่ากับ 3.03 log cfu/g และเมื่อนำมะเขือเทศไปผ่านการให้อิโคนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm. เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำมาเก็บรักษาไว้ในอุณหภูมิห้อง พบว่า ปริมาณยีสต์และรา ทั้งหมดลดลงเหลือ 1.89 log cfu/g ส่วนมะเขือเทศที่ผ่านการให้อิโคนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm. เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำมาเก็บรักษาไว้ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน พบว่า ปริมาณยีสต์และรา ทั้งหมดลดลงเหลือ 1.13 log cfu/g โดยที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ผ่านการให้อิโคน (CT) ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 11 และ กราฟที่ 11

ปริมาณ แบคทีเรียโคลิฟอร์ม มะเขือเทศที่ไม่ผ่านการให้อิโคน พบว่า มีปริมาณปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์มเท่ากับ 13.07 MPN/g และเมื่อนำมะเขือเทศไปผ่านการให้อิโคนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm. เป็นเวลา 30 นาที พบว่า ปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์ม ลดลงเหลือ 9.13 MPN/g ส่วนมะเขือเทศที่ผ่านการให้อิโคนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm. เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำมาเก็บรักษาไว้ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน พบว่า ปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์ม ลดลงเหลือ 7.17 MPN/g โดยที่ลดลงอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ผ่านการให้อิโคน (CT) ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 11 และ กราฟที่ 11

ปริมาณ ฟีคัลโคลิฟอร์ม มะเขือเทศทุกชุดการทดลองไม่พบปริมาณฟีคัลโคลิฟอร์ม ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 11 และ กราฟที่ 11

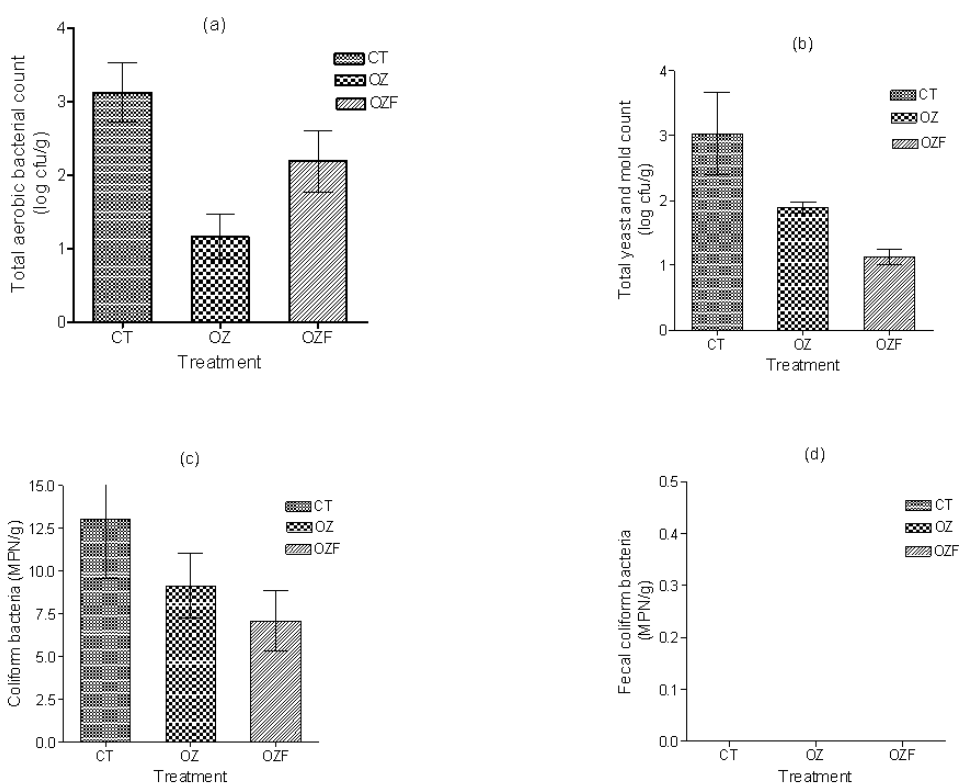
ตารางที่ 11 ผลของอิโคนต่อการลดปริมาณเชื้อกลุ่มต่างๆที่ติดมากับผิวของมะเขือเทศ (Tamato)

Microorganisms count (Mean±SD.)				
Treatment	Total aerobic plate count (log cfu/g)	Total yeast and mold plate count (log cfu/g)	Coliform bacteria (MPN/g)	Fecal coliform bacteria (MPN/g)
Control (non-ozonated)	3.12 ^a ±0.39	3.03 ^a ±0.64	13.07 ^a ±3.49	ND**
3 ppm. Ozone concentration for 30 mins.	1.61 ^b ±0.29	1.89 ^b ±0.08	9.13 ^a ±1.90	ND
Ozonated with keep in refrigerator 3 days	2.19 ^{ab} ±0.46	1.13 ^c ±0.11	7.17 ^a ±1.76	ND

*Value are means±standard deviation of three replicates plate count (log cfu/ml)

Means within same column with different letters are significantly different ($p \leq 0.05$)

**ND not determined



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

3.3 ผลของโอโซนต่อการลดปริมาณเชื้อกลุ่มต่างๆที่ติดมากับผิวของแตงกวา (Cucumber)

ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (Total aerobic plate count) แดงกว่าที่ไม่ผ่านการให้อิโคโน พบว่ามีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเท่ากับ $4.93 \log \text{ cfu/g}$ และเมื่อนำแดงกว่าไปผ่านการให้อิคโนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm. เป็นเวลา 30 นาที พบว่า ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดลดลงเหลือ $3.63 \log \text{ cfu/g}$ ส่วนแดงกว่าที่ผ่านการให้อิคโนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm. เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำมาเก็บรักษาไว้ในอุณหภูมิตู้เย็น เป็นเวลา 3 วัน พบว่า ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดลดลงเหลือ $3.36 \log \text{ cfu/g}$ โดยที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ผ่านการให้อิคโน (CT) ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 12 และ กราฟที่ 12

ปริมาณ ยีสต์และ รา ทั้งหมด (Total yeast and mold plate count) แดงกว่าที่ไม่ผ่านการให้อิคโน พบว่า มีปริมาณยีสต์และ รา ทั้งหมดเท่ากับ $3.42 \log \text{ cfu/g}$ และเมื่อนำแดงกว่าไปผ่านการให้อิคโนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm. เป็นเวลา 30 นาที พบว่า ปริมาณยีสต์และรา ทั้งหมดลดลงเหลือ $2.15 \log \text{ cfu/g}$ ส่วนแดงกว่าที่ผ่านการให้อิคโนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm. เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำมาเก็บรักษาไว้ในอุณหภูมิตู้เย็น เป็นเวลา 3 วัน พบว่า ปริมาณยีสต์และรา ทั้งหมดลดลงเหลือ $2.55 \log \text{ cfu/g}$ โดยที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ผ่านการให้อิคโน (CT) ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 12 และ กราฟที่ 12

ปริมาณ แบคทีเรียโคลิฟอร์ม แดงกว่าที่ไม่ผ่านการให้อิคโน พบว่า มีปริมาณปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์มเท่ากับ 1866.67 MPN/g และเมื่อนำแดงกว่าไปผ่านการให้อิคโนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm. เป็นเวลา 30 นาที พบว่า ปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์ม ลดลงเหลือ 386.67 MPN/g ส่วนแดงกว่าที่ผ่านการให้อิคโนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm. เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำมาเก็บรักษาไว้ในอุณหภูมิตู้เย็น เป็นเวลา 3 วัน พบว่า ปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์ม ลดลงเหลือ 367.33 MPN/g โดยที่ลดลงอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ผ่านการให้อิคโน (CT) ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 12 และ กราฟที่ 12

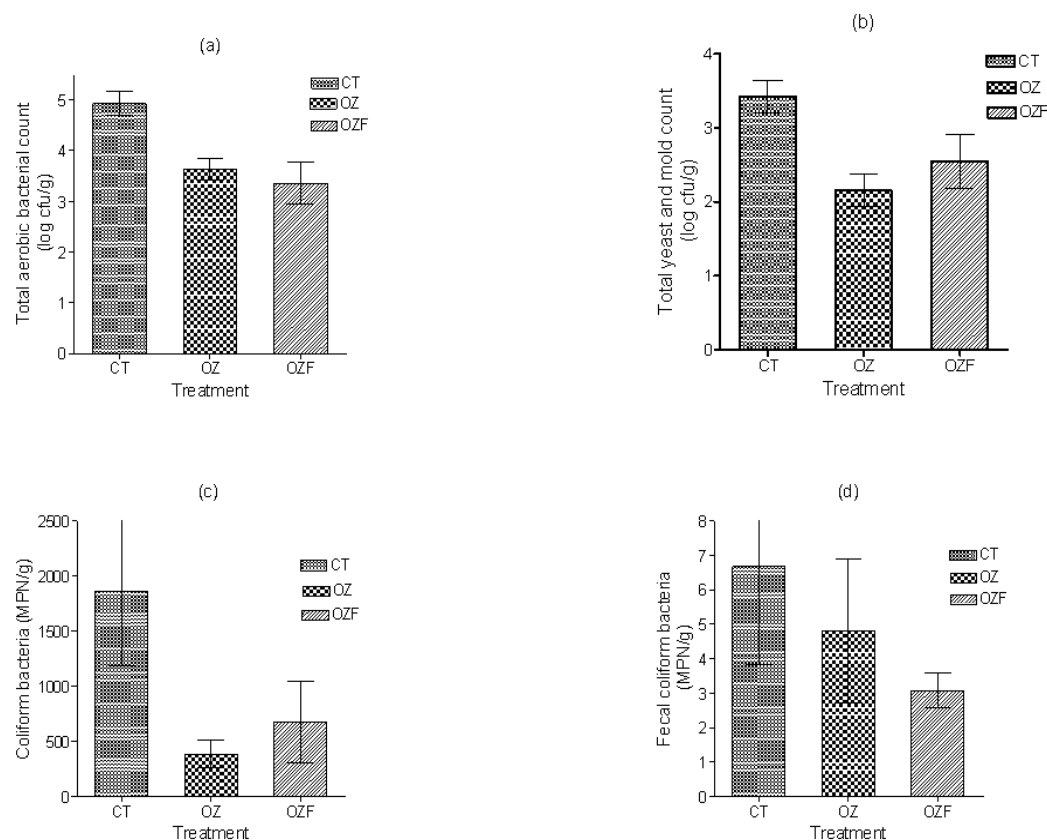
ปริมาณ ฟีคัลโคลิฟอร์ม แดงกว่าที่ไม่ผ่านการให้อิคโน พบว่า มีปริมาณปริมาณฟีคัลโคลิฟอร์ม เท่ากับ 6.67 MPN/g และเมื่อนำแดงกว่าไปผ่านการให้อิคโนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm. เป็นเวลา 30 นาที พบว่า ปริมาณฟีคัลโคลิฟอร์ม ลดลงเหลือ 4.80 MPN/g ส่วนแดงกว่าที่ผ่านการให้อิคโนที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm. เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำมาเก็บรักษาไว้ในอุณหภูมิตู้เย็น เป็นเวลา 3 วัน พบว่า ปริมาณฟีคัลโคลิฟอร์ม ลดลงเหลือ 3.07 MPN/g โดยที่ลดลงอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ผ่านการให้อิคโน (CT) ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 12 และ กราฟที่ 12

ตารางที่ 12 ผลของโอโซนต่อการลดปริมาณเชื้อกลุ่มต่างๆที่ติดมากับผิวของแตงกวา (Cucumber)

Microorganisms count (Mean±SD.)				
Treatment	Total aerobic plate count (log cfu/g)	Total yeast and mold plate count (log cfu/g)	Coliform bacteria (MPN/g)	Fecal coliform bacteria (MPN/g)
Control (non-ozonated)	4.93 ^a ±0.23	3.42 ^a ± 0.22	1866.67 ^a ± 680.69	6.67 ^a ± 2.84
3 ppm. Ozone concentration for 30 mins.	3.63 ^b ± 0.21	2.15 ^b ±0.22	386.67 ^a ± 127.02	4.80 ^a ± 2.08
Ozonated with keep in refrigerator 3 days	3.36 ^{bc} ±0.41	2.55 ^{ab} ±0.36	673.33 ^a ±369.50	3.07 ^a ± 0.50

*Value are means±standard deviation of three replicates plate count (log cfu/ml)

Means within same column with different letters are significantly different ($p \leq 0.05$)



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

จากตารางที่ 10-12 แสดงให้เห็นว่า โอโซนสามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดและปริมาณยีสต์และราทั้งหมดที่ติดมากับผักทั้ง 3 ชนิดและทั้ง 3 ชุดการทดลองลงได้อย่างมีนัยยะสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรีย โอโซนก็สามารถลดปริมาณเชื้อดังกล่าวลงได้เช่นกัน แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนปริมาณฟิคัลโคลิฟอร์มแบคทีเรีย ไม่พบปริมาณเชื้อในมะเขือเทศ และโอโซนสามารถลดปริมาณเชื้อดังกล่าวในผักกาดหอมและแตงกวาได้ นอกจากนี้ยังพบว่า การเก็บผักตัวอย่างไว้ในตู้เย็นสามารถชะลอการเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วของเชื้อทุกกลุ่มได้

ผักสดหรือผักพร้อมบริโภค มักจะมีจุลินทรีย์ปนเปื้อนติดมากับผักเสมอ โดยทั่วไปจะพบจุลินทรีย์สูงสุดที่ติดมากับผักกาดหอมอยู่ในช่วง 6.2-6.3 log cfu/g พบราและยีสต์อยู่ในช่วง 4.4-4.6 log cfu/g และพบกลุ่ม Enterobacteriaceae อยู่ในช่วง 4.4-4.8 log cfu/g (Abadas และคณะ 2008) โดยผักสดยังจะมีการปนเปื้อนโดยเชื้อจุลินทรีย์ได้ในทุกขั้นตอน ตั้งแต่อยู่ในแปลงหรือในสวน และเมื่อผักถูกเก็บเกี่ยวไปจำหน่าย โดยพบว่าแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคอาหารเป็นพิษและมักปนเปื้อนมากับผักผลไม้พร้อมบริโภค คือ *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Shigella* , *Salmonella Typhimurium* และ Hepatitis A (Singh และคณะ 2002) ทำให้ผลิตภัณฑ์เหล่านี้ ต้องผ่านกระบวนการผลิตที่ทำให้มั่นใจว่าผักนั้นสะอาดและปลอดภัยต่อการบริโภค โอโซน พบว่าสามารถใช้เป็นสารทำความสะอาดและฆ่าเชื้อโรคที่ดีดังรายงานการวิจัยพบว่า โอโซนบริสุทธิ์ที่ให้กับห้องเย็นที่เก็บผักและผลไม้ สามารถลดปริมาณเชื้อ *Listeria monocytogenes* อย่างมีนัยสำคัญและสามารถลดปริมาณเชื้อราที่ทำให้เกิดการเน่าเสียลง นอกจากนี้โอโซนใช้เพื่อป้องกันการเจริญของแบคทีเรีย รา และยีสต์บนผิวของอาหาร และใช้ในการควบคุมแมลง สามารถใช้เพื่อการกำจัดกลิ่นที่ผลิตจากแบคทีเรียและสามารถลดปริมาณก๊าซเอทิลีนที่มีผลต่อการสุกของผักและผลไม้ได้ (Rice และคณะ 1982, Palou และคณะ 2001 และ 2002) Kondo และคณะ (1989)

พบว่า โอโซนสามารถลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดบนกะหล่ำปลี ได้ถึงร้อยละ 90 โดยใช้ปริมาณโอโซน 2.3 mg/ml. เป็นเวลา 60 นาที และพบว่า การใช้น้ำโอโซนล้างแครอท สามารถลดปริมาณแบคทีเรียลงได้ 3 log (Williams และคณะ 1995) นอกจากนี้ Jin-Gab และ คณะ (1999) ได้รายงานการใช้โอโซน ในการล้าง ผักกาดหอมพร้อมบริโภค พบว่าสามารถลดปริมาณแบคทีเรียในกลุ่มของ mesophilic และ psychrotrophic ได้ถึง 1.4 และ 1.8 log CFU/g.

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย

จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่า โอโซนสามารถลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบชนิดต่างๆลงได้อย่างมีประสิทธิภาพโดยจะแปรผันตรงกับระดับความเข้มข้นของโอโซนที่เพิ่มขึ้นตามลำดับ และเพิ่มระยะเวลาการให้โอโซนที่นานขึ้น ก็จะสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้มากขึ้น โดยโอโซนมีผลไปทำลายโครงสร้างของเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ จะเห็นโครงสร้างของเซลล์จุลินทรีย์ปกติมีผิวเซลล์เรียบและโครงสร้างของเซลล์สมบูรณ์ แต่เมื่อนำเซลล์ไปผ่านโอโซน โครงสร้างของเซลล์จะเหี่ยวบางเซลล์ก็จะแตกหรือเป็นเศษเซลล์ เนื่องจากโอโซนทำปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วโดยการออกซิไดซ์กับกรดไขมันไม่อิ่มตัว เอนไซม์ที่เมมเบรน ไกลโคโปรตีน ไกลโคลิปิด นำไปสู่การรั่วของเซลล์เมมเบรน และไปรบกวนการนำสารผ่านเข้าออกของเซลล์ทำให้เซลล์แตกในที่สุด ส่วนผลของโอโซนต่อการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดมากับผิวของผักสดสามารถสรุปได้ว่าโอโซนสามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดและปริมาณยีสต์และราทั้งหมดที่ติดมากับผักลงได้อย่างมีนัยยะสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรีย โอโซนก็สามารถลดปริมาณเชื้อดังกล่าวลงได้เช่นกัน แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนปริมาณฟิคัลโคลิฟอร์มแบคทีเรีย ไม่พบปริมาณเชื้อในมะเขือเทศ และโอโซนสามารถลดปริมาณเชื้อดังกล่าวในผักกาดหอมและแตงกวาได้ นอกจากนี้ยังพบว่าการเก็บผักตัวอย่างไว้ในตู้เย็นสามารถชะลอการเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วของเชื้อทุกกลุ่มได้

