

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ไอโซนถูกค้นพบเป็นครั้งแรกโดย C.F. Schonbein นักวิจัยชาวยุโรปในปีค.ศ. 1839 และเริ่มถูกนำมาใช้ประโยชน์ในปีค.ศ.1907 โดยนำมาบำบัดน้ำเสียที่เมือง Nice ซึ่งเป็นเมืองท่าทางตะวันออกเฉียงใต้ของฝรั่งเศส และในปี ค.ศ. 1910 ที่เมือง St. Petersburg คุณสมบัติทางกายภาพที่สำคัญของไอโซนแสดงดังตารางที่ 2-1 ไอโซนจัดเป็นสารประเภท oxidizing agent ที่มีความแรงเป็นอันดับสองรองจากแก๊สฟลูออรีน (ตารางที่ 2-2)

ตารางที่ 2-1 คุณสมบัติทางกายภาพของไอโซน

จุดเดือด	-111.9+0.3 องศาเซลเซียส
จุดหลอมเหลว	-192.5+0.4 องศาเซลเซียส
Critical temperature	-12.1 องศาเซลเซียส
Critical pressure	54.6 atm*

* หน่วยความกดอากาศเท่ากับ 14.7 ปอนด์ต่อหนึ่งตารางนิ้ว

ตารางที่ 2-2 Oxidizing agents และค่า oxidation potential

Oxidizing agent	Oxidation potential (mV)
Fluorine	3.06
Ozone	2.07
Permanganate	1.67
Chlorine dioxide	1.50
Hypochlorous acid	1.49
Chlorine gas	1.36

(Guzel-Seydim, Greene and Seydim, 2004)

โอโซนถูกสร้างขึ้นในชั้นสตราโตสเฟียร์อากาศชั้นบนซึ่งอยู่นอกโลกสูงกว่า 11 กิโลเมตรขึ้นไป และเกิดขึ้นได้จากการใช้หลอด UV sterilization เครื่องกำเนิดไฟฟ้ากำลังสูง และเครื่องผลิตรังสีแกมมา

โอโซนคืออะตอมของออกซิเจน 3 อะตอม รวมกันเป็น 1 โมเลกุลของโอโซน (O_3) ตามปรกติออกซิเจนจะประกอบกันในลักษณะ 2 อะตอม เป็น 1 โมเลกุล (O_2) ซึ่งมีคุณสมบัติต่างกันมากคือ O_2 จะสามารถคงสภาพอยู่ได้หลายสภาวะ หรือ กล่าวได้ว่ามีความเสถียร (Stable) นั้นเอง แต่โอโซน (O_3) จะไม่คงตัวหรือไม่เสถียร (Unstable) เนื่องจากปัจจัยต่างๆ เช่น อุณหภูมิ ความร้อน ความดัน และการสัมผัสกับสารที่มีพลังงานต่ำกว่าจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation) อย่างรวดเร็วโดยเมื่อทำปฏิกิริยาแล้วจะไม่เหลือสารพิษตกค้างใด ๆ นอกจากออกซิเจน ที่อุณหภูมิห้องโอโซนเป็นแก๊สไม่มีสีมีกลิ่นคล้ายอากาศภายหลังฝนฟ้าคะนอง โอโซนจะละลายน้ำได้ดีกว่าออกซิเจน 13 เท่าที่อุณหภูมิ 0-30 องศาเซลเซียส และละลายได้ดีขึ้นในน้ำเย็น แสดงดังตารางที่ 2-3

ตารางที่ 2-3 ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิกับความสามารถในการละลายของโอโซนในน้ำ

(Rice et al., 1981)

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	การละลาย (โอโซน 1 ลิตรน้ำ 1 ลิตร)
0	0.640
15	0.456
27	0.270
40	0.112
60	0.000

โอโซนที่ความเข้มข้นต่ำ ๆ ไม่มีความเป็นพิษ โอโซนในอากาศจะเกิดความเป็นพิษเมื่อคนได้รับโอโซนที่มีความเข้มข้นสูง โดยส่งผลกระทบต่อระบบทางเดินหายใจ คนที่เกิดพิษจากโอโซนที่ความเข้มข้นสูง ๆ จะมีอาการปวดศีรษะ คอแห้ง เกิดการระคายเคืองที่ทางเดินหายใจส่วนต้นและปอดถูกทำลาย รวมทั้งและหากได้รับโอโซน 50 ppm (part per million: ส่วนในล้านส่วน) นาน 30 นาทีจะทำให้คนเสียชีวิตได้ ความปลอดภัยของการใช้โอโซนอยู่ที่ระดับโอโซนในอากาศระหว่าง

0-1 ppm ส่วนการใช้โอโซนในน้ำพบว่าที่ความเข้มข้นสูง ๆ จะส่งผลทำให้เกิดการระคายเคืองกับตา และผิวหนังได้เช่นกัน

การผลิตโอโซน

ในการผลิตโอโซน โมเลกุลของออกซิเจนที่ประกอบไปด้วยสองอะตอมจะถูกแยกออก เกิดเป็นออกซิเจนอิสระ (free radical oxygen) ที่พร้อมจะทำปฏิกิริยากับโมเลกุลออกซิเจนอื่นๆ กลายเป็นโมเลกุลของโอโซนที่ประกอบไปด้วยออกซิเจนจำนวนสามอะตอม อย่างไรก็ตามการแยกพันธะที่เชื่อมระหว่างอะตอมของออกซิเจนนั้นต้องใช้พลังงานอย่างมาก ซึ่งการใช้รังสีอัลตราไวโอเล็ตที่มีความยาวคลื่น 188 นาโนเมตร และการใช้ประจุไฟฟ้า (corona discharge) นั้นสามารถสร้างอะตอมออกซิเจนอิสระได้จึงมักนำวิธีดังกล่าวมาใช้กับเครื่องผลิตโอโซน ซึ่งเครื่องผลิตโอโซนที่ผลิตขายโดยทั่วไปจะใช้วิธีผลิตโอโซนจากประจุไฟฟ้าเป็นส่วนใหญ่ โดยอุปกรณ์สำคัญคือขั้วไฟฟ้า (electrode) แรงสูงสองขั้วที่วางขนานกัน กันด้วยแผ่นเซรามิกที่มีคุณสมบัติไดอิเล็กทริกซึ่งประจุไฟฟ้าสามารถวิ่งผ่านได้ และมีช่องว่างแคบๆ ตรงกลาง เมื่อปล่อยกระแสไฟฟ้าไปที่ขั้วไฟฟ้าทำให้อิเลคตรอนมีพลังงานมากเพียงพอที่จะแยกอะตอมของออกซิเจน และในเวลาเดียวกันก็จะมีอากาศผ่านเข้าไปในบริเวณขั้วไฟฟ้า วิธีนี้จะทำให้เกิดโอโซนได้ในปริมาณ 1-3% ของอากาศที่ไหลผ่าน และหากพ่นด้วยออกซิเจนบริสุทธิ์ ผลผลิตโอโซนจะเพิ่มขึ้นได้เป็น 6% อย่างไรก็ตาม โอโซนที่เกิดขึ้นนี้ไม่สามารถเก็บรักษาไว้ได้เนื่องจากโอโซนจะสลายตัวกลับไปเป็นโมเลกุลของออกซิเจนได้อย่างรวดเร็ว (Guzel-sedim, Greene and Seydim, 2004)

ประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์

รายงานวิจัยที่ผ่านมาในอดีตเกี่ยวกับประสิทธิภาพของโอโซนในการทำลายจุลินทรีย์ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2-4 และ 2-5 (Kowalski, Bahnfleth and Whittam, 1998) (วรพรตณี เผ่าทองสุข และคณะ, 2545) ซึ่งให้เห็นว่าโอโซนสามารถฆ่าแบคทีเรียและไวรัสในน้ำได้เป็นอย่างดี โดยระดับความเข้มข้นของโอโซนที่ใช้อย่างน้อยเชื้อไวรัส และแบคทีเรียในการบำบัดน้ำมีปริมาณต่ำ จากข้อมูลดังกล่าวจะเห็นได้ว่า *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella Typhimurium* ในน้ำจะถูกทำลายที่ความเข้มข้นโอโซน 0.36-2.2 ppm ระยะเวลา 15-90 นาที

ตารางที่ 2-4 ผลของไอโซนต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

แหล่ง	แบคทีเรีย	ไอโซน (ppm)	เวลา (วินาที)	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต	ผู้วิจัย
อากาศ	<i>S. salivarius</i>	0.6	600	2	Elford และ van de Eude (1942)
	<i>S. epidermidis</i>	0.6	240	0.6	Heindel และคณะ (1993)
	<i>E. coli</i>	5	240	0.27	วรพรรณี และคณะ (2002)
	<i>S. aureus</i>	5	240	0.03	วรพรรณี และคณะ (2002)
น้ำ	<i>B. subtilis</i>	2.2	90	0.01	Botzenhart และคณะ (1993)
	<i>E. coli</i>	1.3	10	0.003	Katzenelson และ Shuval (1973)
	<i>S. Typhimurium</i>	0.36	36	0.0002	Farooq และคณะ (1983)
	<i>E. coli</i>	0.81	30	0.00003	Finch และคณะ (1988)
	<i>E. coli</i>	12	62	0.00015	Bunning และ Hempel (1995)
	<i>E. coli</i>	2	15	0	Burleson และคณะ (1995)
	<i>S. aureus</i>	2	15	0	Burleson และคณะ (1975)

S. salivarius = *Streptococcus salivarius*, *S. epidermidis* = *Staphylococcus epidermidis*,
E. coli = *Escherichia coli*, *S. aureus* = *Staphylococcus aureus*, *B. subtilis* = *Bacillus subtilis*,
S. Typhimurium = *Salmonella Typhimurium*

ตารางที่ 2-5 ผลของไอโซนต่อการยับยั้งการเจริญของไวรัส

แหล่ง	ไวรัส	ไอโซน (ppm)	เวลา (วินาที)	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต	ผู้วิจัย
อากาศ	PX 174	0.04	480	0.1	De Mik (1977)
น้ำ	Poliovirus 1	0.20	360	1	Harakeh และ Butler (1985)
	NDV	2.00	417	1	Perez-Rey (1995)
	Poliovirus 1	0.21	120	0.1	Roy และคณะ (1982)
	Poliovirus 1	1.50	8	0.5	Katzenelson และคณะ (1979)
	T2 phage	1.30	70	0.003	Katzenelson (1973)
	T7 phage	0.95	240	0.001	Lockowitz (1973)
	Rotavirus SA-11	0.25	10	0.001	Vaughn และคณะ (1987)
	Hepatitis A	1.66	5	0.00001	Hall และ Sobsey (1993)

กลไกการทำลายจุลินทรีย์ของโอโซน

โอโซนทำลายจุลินทรีย์โดยการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันขององค์ประกอบภายในเซลล์ที่มีชีวิตที่เพิ่มขึ้น เชื่อว่าบริเวณเซลล์ผิวด้านนอกของจุลินทรีย์เป็นบริเวณเป้าหมายแรก ได้มีผู้เสนอกลไกในการทำละลายเชื้อจุลินทรีย์โดยโอโซนไว้ 2 ประการ กลไกแรกโอโซนจะไปออกซิไดซ์หมู่ซัลไฮดริล และกรดอะมิโนของเอนไซม์ เปปไทด์ และโปรตีนให้กลายเป็นเปปไทด์สายสั้นลง กลไกที่สองโอโซนจะไปออกซิไดซ์กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวให้เป็นกรดเปอรอกไซด์ (Victorin, 1992) เมื่อกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวบริเวณเปลือกนอกของเซลล์ถูกทำลายมีผลทำให้เซลล์แตกและองค์ประกอบต่าง ๆ ภายในเซลล์จะรั่วออกนอกเซลล์ พันธะคู่ของไขมันชนิดไม่อิ่มตัวจะเป็นบริเวณที่ถูกโอโซนทำลาย ในแบคทีเรียแกรมลบส่วนของลิโปโปรตีน และลิโปโพลีแซคคาไรด์เป็นตำแหน่งแรกที่ถูกทำลายทำให้เกิดการเพิ่มของการผ่านเข้าออกของสารในเซลล์จนกระทั่งเซลล์แตก เบสไนโตรเจนจะไวต่อโอโซนมากกว่าไซโตซีน หรือยูราซิล (Kim, Yousef and Dave, 1999)

การศึกษาการนำโอโซนมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

โอโซนได้ถูกนำมาใช้ในการฆ่าเชื้อสำหรับน้ำดื่มในยุโรปมาเป็นเวลานาน นอกจากนั้นยังถูกนำมาใช้ทางการค้าด้านอื่น ๆ เช่นการฆ่าเชื้อในน้ำดื่มบรรจุขวด สระว่ายน้ำ น้ำป้องกันน้ำในหอทำความเย็น (cooling towers) เกิดการเน่าเสีย และใช้ในการบำบัดน้ำเสีย แต่โอโซนยังไม่ได้ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารอย่างกว้างขวางนักในประเทศสหรัฐอเมริกา แต่อย่างไรก็ตามองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกาอนุญาตให้ใช้โอโซนในน้ำดื่มบรรจุขวดในปี 1982 โอโซนได้รับการยอมรับโดยกระทรวงเกษตรของสหรัฐอเมริกาในการนำไปใช้ปรับปรุงน้ำที่นำกลับมาใช้อีกเพื่อการแช่เย็นสัตว์ปีกในปี ค.ศ. 1997 จากนั้นได้มีการทบทวนการใช้โอโซนในปี ค.ศ. 1997 คณะผู้เชี่ยวชาญมีการประกาศว่าโอโซนสามารถนำมาใช้ในการฆ่าเชื้อหรือทำให้อาหารสะอาดเมื่อใช้ให้สอดคล้องกับกระบวนการผลิตที่ดี (Good Manufacturing Practice) เนื่องด้วย FDA ของอเมริกาไม่คัดค้านคำวินิจฉัยของคณะผู้เชี่ยวชาญโอโซนจึงได้รับการยอมรับในการใช้ฆ่าเชื้อในอาหาร และใช้ในกระบวนการประกอบอาหารในอเมริกา (Guzel-Seydim, Greene and Seydim, 2004)

จากข้อมูลที่นักวิจัยได้ศึกษาพบผลดีของโอโซนต่อการทำลายแบคทีเรียได้หลายชนิดทั้งแบคทีเรียแกรมบวก แกรมลบ รวมทั้งสปอร์ของเชื้อด้วย ดังนั้นจึงมีความพยายามลดการปนเปื้อนของเชื้อก่อโรคโดยนำโอโซนมาใช้ในการกำจัดและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหารน้ำผลไม้ และผิวภายนอกของผลไม้

Restaino และคณะ (1995) ศึกษาถึงผลของโอโซนต่อการต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก แกรมลบ ยีสต์ และรา พบว่าเชื้อ *Salmonella* Typhimurium และ *Escherichia coli* จะถูกฆ่าได้มากกว่า 5 log units (5 log units หมายถึงการลดจำนวนเชื้อลงร้อยละ 99.999) ในน้ำที่พ่นโอโซนโดยอัตราการตายของแบคทีเรียแกรมลบ *Salmonella* Typhimurium, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, และ *Yersinia enterocolitica* ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) ส่วนแบคทีเรียแกรมบวก *Listeria monocytogenes* มีความไวต่อโอโซนมากกว่า *Staphylococcus aureus* และ *Enterococcus faecalis* อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) การใช้โอโซนในสภาวะที่ประกอบด้วยสารอินทรีย์นั้นอัตราการตายของ *Staphylococcus aureus* เมื่อเปรียบเทียบกับ *Listeria monocytogenes* และ *Escherichia coli* เปรียบเทียบกับ *Salmonella* Typhimurium ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) เมื่อมีการเติมสารคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้ (soluble starch) แต่จำนวนเชื้อลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เมื่อเติม bovine serum albumin: BSA ความเข้มข้น 20 ppm ส่วน *Candida albicans* และ *Zygosaccharomyces bailii* จะถูกทำลายด้วยโอโซนได้มากกว่า 4.5 log units ในขณะที่สปอร์ของ *Aspergillus niger* จะถูกทำลายหลังจากสัมผัสโอโซน 5 นาที

Perez และคณะ (1999) ได้ทดลองใช้โอโซนในการรักษาคุณภาพของสตอเบอร์รี่หลังการเก็บเกี่ยว โดยทำการทดลองเก็บสตอเบอร์รี่ที่ 2 องศาเซลเซียส ร่วมกับการใช้โอโซน 0.35 ppm เป็นเวลา 3 วัน และย้ายมาเก็บที่ 20 องศาเซลเซียส เพื่อเลียนแบบภาวะเสมือนร้านค้าขณะจำหน่าย เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลสตอเบอร์รี่ พบว่าโอโซนมีประสิทธิภาพในการป้องกันการเน่าเสียอันเกิดจากเชื้อราหลังจากตั้งทิ้งไว้ที่ 20 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 วัน

Moore, Griffith และ Peters (2000) ได้ศึกษาผลของโอโซนต่อการฆ่าแบคทีเรียและความสามารถในการนำไปประยุกต์ใช้เป็นสารต้านเชื้อ โดยทำการทดลองเพาะลงบนแผ่นแอสตันเลส และบ่มที่อุณหภูมิต่าง ๆ นาน 4 ชั่วโมง เปรียบเทียบการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ของแผ่นที่ผ่านและไม่ผ่านโอโซน โดยใช้โอโซนความเข้มข้น 2 ppm นาน 4 ชั่วโมง ผลการทดลองพบว่าโอโซนมีผลต่อการทำลายจุลินทรีย์ทุกชนิดอย่างมีนัยสำคัญ แบคทีเรียแกรมลบจะถูกทำลายด้วยโอโซนได้

มากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก แต่ยีสต์มีความทนต่อโอโซนมากกว่าแบคทีเรีย การใช้โอโซน 2 ppm นาน 4 ชั่วโมง กับนมชนิด UHT (Ultra-High Temperature) มีผลลดจำนวนแบคทีเรียอยู่ในช่วง 5.64 ถึง 1.65 log unit โดยทั่วไปแล้วการลดลงของแบคทีเรียจะน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับชุดการทดลองที่ไม่มีสารอินทรีย์ แต่ก็ยังสูงกว่าชุดการทดลองที่ไม่ได้ใช้โอโซน ดังนั้น สารละลาย (อาหารเพาะเชื้อ) ที่มีสารสกัดจากเนื้อเป็นส่วนประกอบจึงลดประสิทธิภาพของโอโซนลงได้มาก แต่จำนวนของแบคทีเรียแกรมลบที่รอดชีวิตก็ยังไม่ต่ำกว่าชุดทดลองที่ไม่มีโอโซนอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่จะพบการลดลงของยีสต์น้อยกว่า 1 log unit เมื่อทำการพ่นโอโซนในนม UHT หรือสารละลายที่มีสารสกัดจากเนื้อ ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าการยับยั้งเชื้อของโอโซนจะมีประสิทธิภาพสูงหากมีการผ่านขั้นตอนการล้างทำความสะอาดเสียก่อน

Sechi และคณะ (2001) ทำการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อ ของน้ำมันดอกทานตะวันที่ผ่านการเติมโอโซน (Oleozone) โดยทำการทดสอบกับ Mycobacteria, Staphylococci, Streptococci, Enterococci, *Pseudomonas* และ *Escherichia coli* ผลการทดลองพบว่าน้ำมัน oleozone มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อทุกสายพันธุ์ที่นำมาทดสอบโดยมีค่า MIC อยู่ระหว่าง 1.18 ถึง 9.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Khadre และ Yousef (2001) ได้ศึกษาถึงประสิทธิภาพของโอโซนเปรียบเทียบกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในการกำจัด *Bacillus* spp. พบว่าโอโซนความเข้มข้น 11 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในน้ำสามารถลดปริมาณสปอร์ของเชื้อลง 1.3-6.1 log CFU (colony forming units) ต่อ มิลลิลิตร ขึ้นกับชนิดของแบคทีเรีย ขณะที่ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (10% w/w) ลดปริมาณสปอร์ของเชื้อได้เพียง 0.32-1.6 log CFU ต่อ มิลลิลิตร พบว่าสปอร์ของ *Bacillus stearothermophilus* มีความทนต่อโอโซนได้มากที่สุด ส่วนสปอร์ของ *Bacillus cereus* ทนต่อโอโซนได้น้อยที่สุด

Stivarius, Pohlman, McElyea และ Apple (2002) ศึกษาถึงผลของโอโซนและคลอรีนไดออกไซด์ในน้ำ เพื่อลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในเนื้อวัวตัดแต่ง โดยทำการเพาะ *Escherichia coli* และ *Salmonella* Typhimurium ลงบนเนื้อวัว และนำไปแช่ในน้ำที่มีโอโซนร้อยละ 1 นาน 7 และ 15 นาที และได้ทำการทดลองใช้โอโซนร่วมกับคลอรีนไดออกไซด์ความเข้มข้น 200 ppm (parts per million) พบว่าการใช้โอโซนนาน 15 นาที และการใช้โอโซนร่วมกับคลอรีนไดออกไซด์สามารถลดปริมาณแบคทีเรียได้ทุกชนิด

Sharma และคณะ (2002) ได้ทำการทดลองฆ่า *Escherichia coli* O157:H7 บนเมล็ด alfalfa โดยการจุ่มลงไปใต้น้ำที่มีไอโซน และโดยการใช้ความร้อน พบว่าการใช้ไอโซน 4, 8, 10, and 21 ppm นาน 2, 4, 8, 16, 32 และ 64 นาที ที่ 4 องศาเซลเซียส สามารถลดปริมาณ *E. coli* O157:H7 ได้ร้อยละ 59.6 - 98.2 ในขณะที่เมื่อใช้การพ่นไอโซนลงในน้ำสามารถลดจำนวนเชื้อลงร้อยละ 92.1 ภายในเวลา 2 นาที และลดลงร้อยละ 99.4 ภายในเวลา 64 นาที เมื่อใช้การพ่นไอโซนที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมงลดจำนวนเชื้อลงจนไม่สามารถตรวจพบได้ และไอโซนไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดพืช

Serra และคณะ (2003) ศึกษาการใช้ไอโซนเพื่อลดเชื้อราในห้องบ่มชีส พบว่าไอโซนสามารถลดจำนวนเชื้อราในอากาศได้ แต่ไม่มีผลต่อเชื้อราที่อยู่บริเวณพื้นผิว โดยเชื้อราที่พบในอากาศของห้องบ่มชีสที่ตรวจพบถึงร้อยละ 89.9 คือ *Penicillium*, *Cladosporium* และ *Aspergillus*

Novak และ Yuan (2003) ศึกษาความสามารถในการรอดชีวิตของเชื้อ *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, และ *Listeria monocytogenes* ในเนื้อวัวหลังจากการใช้ความร้อน หรือไอโซน 3 ppm นาน 5 นาทีร่วมกับความร้อน ต่าง หรือเกลือ ผลการทดลองพบว่าการลดลงของเชื้อทั้งสามชนิดเมื่อใช้ความร้อน 55 องศาเซลเซียส นาน 30 นาทีบนเนื้อวัวเท่ากับ 0.14, 0.77 และ 1.47 log CFU ต่อกรัม ตามลำดับ ในขณะที่การลดลงของเชื้อเมื่อใช้ไอโซนเท่ากับ 1.28, 0.85 และ 1.09 log CFU ต่อกรัม ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าการรอดชีวิตของเชื้อก่อโรคหลังจากใช้ไอโซน สรุปได้ว่าเชื้อที่ผ่านการบำบัดไอโซนจะมีอันตรายต่อความปลอดภัยอาหารน้อยกว่าเชื้อผ่านการบำบัดด้วยอุณหภูมิสูงในระดับที่ไม่ทำให้เชื้อตาย

Wade และคณะ (2003) ศึกษาถึงผลของไอโซนในการฆ่า *Listeria monocytogenes* ในเมล็ดและต้นอ่อนของหญ้า alfafa และผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของต้นอ่อนของหญ้า alfafa โดยทำการทดลองพ่นน้ำที่ผ่านไอโซนไปบนเมล็ด 21.3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นาน 20 นาทีสามารถลดปริมาณเชื้อลง 1.48 log CFU ต่อกรัม เมื่อทำการแช่ต้นอ่อนของหญ้า alfafa ในน้ำที่พ่นไอโซนความเข้มข้น 5.0, 9.0, หรือ 23.2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรให้ผลลดปริมาณเชื้อลง 0.78, 0.81, และ 0.91 log CFU ต่อกรัม ตามลำดับ แต่เมื่อใช้ไอโซนความเข้มข้น 23.3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรนาน 2 นาที กลับไม่สามารถลดปริมาณเชื้อชนิดนี้ให้อากาศได้อย่างมีนัยสำคัญ และเมื่อพ่นน้ำไอโซนลงบนต้นอ่อนนาน 5-20 นาที พบว่าสามารถลดปริมาณ *Listeria*

monocytogenes และจุลินทรีย์อื่นในธรรมชาติได้เมื่อเปรียบเทียบกับชุดที่แช่ไว้ในน้ำธรรมดาซึ่งเป็นชุดควบคุม การใช้ไอโซน 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรนาน 5 หรือ 10 นาที กับต้นอ่อนของ alfafa นั้นเป็นสาเหตุให้คุณภาพทางประสาทสัมผัสลดลงตลอดการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส นาน 7-11 วัน

Williams และคณะ (2004) พบว่าการใช้ไอโซนที่ 50 องศาเซลเซียส จะสามารถลดปริมาณเชื้อ *Escherichia coli* O157:H7 ในน้ำแอปเปิ้ลและในน้ำส้มได้ 6.0 log CFU ต่อ มิลลิลิตรภายในเวลา 45 และ 75 นาที ตามลำดับ ส่วนการทดลองกับ *Salmonella* พบว่าการพ่นไอโซนเป็นเวลา 15 นาทีสามารถลดปริมาณ *Salmonella* ลงได้ 4.8 log CFU ต่อ มิลลิลิตรในน้ำแอปเปิ้ล ในขณะที่ใช้น้ำส้มไอโซนสามารถลดจำนวนเชื้อลงจนทำให้ตรวจไม่พบเชื้อเลย

Vadhanasin, Bangtrakulnonh และ Chidkrau (2004) ได้ศึกษาถึงการลดปริมาณ *Salmonella* ในไก่ต้มสุกแช่แข็งส่งออกของประเทศไทย โดยใช้ไอโซน 125 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อดังกล่าวได้

Koseki และคณะ (2004) ทำการทดลองลดปริมาณจุลินทรีย์บนเปลือกแตงกวาและสตรอเบอรี่โดยใช้น้ำที่มีไอโซนความเข้มข้น 5 ppm ภายในเวลา 10 นาที เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมี พบว่าไอโซนสามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ได้บางส่วนเท่านั้น

Rodgers และคณะ (2004) ศึกษาเปรียบเทียบความแตกต่างของสารต้านจุลินทรีย์ ได้แก่ ไอโซน 3 ppm คลอรีนไดออกไซด์ 3 ppm คลอรีน 100 และ 200 ppm และ กรดเปอร์ออกซีอะซิติก 80 ppm ในการทำลาย *Escherichia coli* O157:H7 และ *Listeria monocytogenes* ในแอปเปิ้ล ผักกาดหอม และสตรอเบอรี่ พบว่าไอโซนมีประสิทธิภาพดีที่สุดในการทำลายจุลินทรีย์ รองลงมาคือคลอรีนไดออกไซด์ คลอรีนและ กรดเปอร์ออกซีอะซิติก ตามลำดับ หลังจากการทดสอบประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อแล้วได้ทดลองเก็บตัวอย่างที่ 4 องศาเซลเซียส นาน 9 วัน พบว่าปริมาณเชื้อก่อโรคทั้งสองชนิดยังคงไม่เปลี่ยนแปลง ในขณะที่ปริมาณแบคทีเรียราเส้นใย และยีสต์สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในชุดการทดลองที่ใช้คลอรีนไดออกไซด์ และไอโซน

Novak และ Yuan (2004) ศึกษาการใช้ไอโซนในการทำลาย *Clostridium perfringens* สายพันธุ์ที่สร้างสารพิษที่ทำให้เกิดอาหารเป็นพิษที่ผิวของชิ้นเนื้อตัดแต่ง พบว่าไอโซนสามารถลดจำนวนเชื้อที่เป็นเซลล์ปกติจากจำนวนเริ่มต้น 5.59 ± 0.17 log CFU ต่อกรัม หลังจากใช้ไอโซนความเข้มข้น 5 ppm ในน้ำ ลดลงเหลือ 4.09 ± 0.72 log CFU ต่อกรัม และเมื่อใช้ไอโซน

ร่วมกับการให้ความร้อนที่ 45 และ 55 องศาเซลเซียส สามารถลดปริมาณเชื้อลงเหลือ 3.50 ± 0.90 log CFU ต่อกรัม ส่วนสปอร์ของเชื้อบนผิวของชิ้นเนื้อลดลงจาก 2.94 ± 0.37 log สปอร์ต่อกรัมขึ้นเนื้อ เหลือ 2.07 ± 0.38 สปอร์ต่อกรัมขึ้นเนื้อเมื่อใช้โอโซน และเมื่อใช้โอโซนร่วมกับความร้อนที่ 55 และ 75 องศาเซลเซียส ปริมาณสปอร์ลดลงเหลือ 1.70 ± 0.37 สปอร์ต่อกรัมขึ้นเนื้อ

Kottapalli Wolf-Hall และ Schwarz (2005) ทำการทดลองศึกษาการใช้โอโซน และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในการลดจำนวนเชื้อ *Fusarium* ในข้าวบาร์เลย์ พบว่าโอโซนสามารถลดจำนวนเชื้อที่ปนเปื้อนในข้าวบาร์เลย์ได้ร้อยละ 24-36 ภายในเวลา 15 นาที ที่ความเข้มข้นของโอโซน 11 และ 26 มิลลิกรัมต่อกรัม

Gelman และคณะ (2005) ศึกษาถึงผลของการใช้โอโซนกับปลาหมอเทศ (*tilapia*) ในขณะที่ยังมีชีวิตอยู่ เพื่อเพิ่มอายุการเก็บรักษาที่ 0 และ 5 องศาเซลเซียสพบว่าการใช้โอโซนร่วมกับอุณหภูมิต่ำจะช่วยยืดอายุการเก็บรักษาปลาได้นานขึ้น 12 วันที่ 0 องศาเซลเซียส

Rodriguez-Romo และ Yousef (2005) ทำการศึกษาถึงวิธีการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* ที่ปนเปื้อนบนเปลือกไข่ โดยการใช้อุณหภูมิ รังสียูวี และใช้รังสียูวีร่วมกับโอโซน ผลการทดลองพบว่าเปลือกไข่ที่ถูกนำไปฆ่าเชื้อด้วยโอโซนหรือยูวี และแบบใช้ร่วมกันทั้งสองวิธีสามารถลดจำนวน *Salmonella* อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับเปลือกไข่ที่ไม่ได้รับการฆ่าเชื้อ โดยการใช้โอโซนที่ 4-8 องศาเซลเซียส 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 10 นาที หรือการใช้รังสียูวี 1,500-2,500 ไมโครวัตต์/ตารางเซนติเมตร ที่อุณหภูมิ 22-25 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที สามารถลดจำนวนเชื้อลง 5.9 และ 4.3 log units ตามลำดับ และการใช้โอโซนร่วมกับรังสียูวีให้ผลเสริมฤทธิ์กันโดยสามารถลดจำนวนเชื้อได้ 4.6 log units ภายในเวลา 2 นาที

Oztekin, Aorlugenc และ Zorlugenc (2006) ศึกษาความสามารถของโอโซนในสภาวะแก๊สเพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อที่ปนเปื้อนมากับผลมะเดื่อ (Figs) ตากแห้ง โดยใช้ความเข้มข้นของโอโซน 5 และ 10 ppm นาน 3 และ 5 ชั่วโมง ผลการทดลองพบว่าโอโซนสามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด โคลิฟอร์ม และรวมถึงยีสต์ และรา ได้อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

Yuk และคณะ (2007) ได้ศึกษาถึงผลของโอโซนในน้ำ และการใช้โอโซนร่วมกับกรดอินทรีย์ความเข้มข้นร้อยละ 1 เพื่อควบคุมการเจริญของ *Escherichia coli* O157:H7 และ *Listeria monocytogenes* ในเห็ดโคนิกิ รวมทั้งศึกษาถึงระยะเวลาในการเก็บรักษา ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าโอโซนมีความสามารถในการลดจำนวนเชื้อ *Escherichia coli* O157:H7 ได้

น้อยกว่า 1 log units และลดเชื้อ *Listeria monocytogenes* ได้น้อยกว่า 0.5 log units แต่ประสิทธิภาพของโอโซนจะดีขึ้นหากใช้ร่วมกับกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 หลังจากเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 วัน พบว่ามีเชื้อเพิ่มขึ้นมากกว่า 8 log CFU ต่อกรัม แสดงให้เห็นว่าไม่มีผลของสารต้านเชื้อเหลืออยู่ในระหว่างการเก็บรักษา

Selma และคณะ (2007) ได้ศึกษาถึงความสามารถของโอโซนในการกำจัดเชื้อ *Shigella sonnei* ในผักกะหล่ำหั่นฝอย โดยใช้โอโซนความเข้มข้น 1.6-2.2 ppm นาน 1 นาที ในน้ำ พบว่าสามารถลดจำนวนเชื้อได้ 3.7 และ 5.6 log CFU ต่อมิลลิเมตร ได้ตามลำดับ

ปัจจุบันมีการนำโอโซนไปใช้งานอย่างแพร่หลายทั้งในครัวเรือน สำนักงานจนถึงโรงงานอุตสาหกรรมฆ่าเชื้อโรคเนื่องจากโอโซนมีคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อโรคทั้ง เชื้อรา ไวรัส และแบคทีเรียได้ โอโซนมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อได้ดีกว่าและเร็วกว่าคลอรีนอีกทั้งยังไม่เหลือสารเคมีตกค้าง สามารถสลายโครงสร้างของไอระเหยจากสารอินทรีย์ และอนินทรีย์ส่วนใหญ่ให้เป็นโมเลกุลที่ไม่มีกลิ่น และไม่มีพิษ สามารถสลายโครงสร้างของสารเคมี ยาฆ่าแมลง สี และสารพิษต่างๆ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ยังมีผลทำลายผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ซึ่งเป็นต้นกำเนิดของไบโอฟิล์ม และแหล่งสะสมตะกอน จุดเด่นของโอโซนได้แก่

1. ฆ่าเชื้อโรคได้รวดเร็ว โดยเฉพาะแบคทีเรีย (ทำให้เกิดโรคและกลิ่นเหม็น) ที่ความเข้มข้นเพียง 0.01-0.04 ppm.
2. ทำลาย กลิ่น สารเคมี และแก๊สพิษได้อย่างมีประสิทธิภาพ
3. ไม่ทิ้งพิษตกค้าง เพราะเมื่อทำปฏิกิริยากับมลพิษเสร็จทุกครั้ง จะได้ ออกซิเจน (O₂) จึงเป็นการรักษาสิ่งแวดล้อมที่ดี
4. สามารถผลิตขึ้นได้จากอากาศทั่วไป และบริเวณที่มีไฟฟ้าใช้
5. ค่าใช้จ่ายในการใช้งานและบำรุงรักษาต่ำมากและใช้ได้ตลอดไป ไม่ต้องคอยเปลี่ยนอันใหม่ เหมือนเครื่องมือชนิดอื่น ๆ

จากประสิทธิภาพของโอโซนในการกำจัดจุลินทรีย์โอโซนจึงได้ถูกนำมาใช้ในครัวเรือน และในอุตสาหกรรมหลายประเภทได้แก่

1. ใช้ล้างผัก ผลไม้ และล้างอาหารสด ขจัดสารพิษ ยาฆ่าแมลง และเชื้อโรค
2. ใช้ประกอบกับเครื่องกรองน้ำทำน้ำดื่ม
3. ใช้ขจัดกลิ่นอับตามห้องต่างๆ

4. ใช้ในรถยนต์ เพื่อปรับสภาพอากาศในห้องโดยสารรถยนต์
5. ใช้ในการแพทย์ เช่น ใช้ฆ่าเชื้อในห้องผ่าตัดหรือห้องผู้ป่วย
6. ใช้กับระบบน้ำดื่มเพื่อการพาณิชย์ และระบบน้ำดื่มชุมชนทั่วไป
7. บำบัดน้ำเสียเพื่อการขจัดสารเคมี สารแขวนลอย ฟอสฟอรัส โลหะหนัก และเชื้อโรคในขั้นตอนสุดท้าย
8. ใช้ในขบวนการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เช่น บ่อปลา บ่อเพาะฟักลูกกุ้ง และบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ
9. บำบัดน้ำในสระว่ายน้ำ เพื่อขจัดสารปนเปื้อนและเชื้อโรค
10. ใช้ในระบบน้ำของหอระบายความร้อน เพื่อควบคุมตะไคร่น้ำ การเกิดตะกอน และลดการกัดกร่อน
11. ขจัดกลิ่นเหม็นต่างๆ ในอุตสาหกรรมและชุมชน เช่น โรงงานอาหารสัตว์ และกลิ่นจากน้ำเสีย
12. ใช้ในขบวนการล้างอาหารสดก่อนการแช่แข็งเพื่อขจัดสิ่งปนเปื้อนและเชื้อโรค
13. ดับกลิ่น และฆ่าเชื้อโรคในสถานบริการต่างๆ เช่น โรงแรม โรงพยาบาล อาบอบนวด
14. ใช้ในขบวนการซักผ้าซึ่งทำให้ลดค่าใช้จ่ายการใช้ผงซักฟอกและยังช่วยฆ่าเชื้อได้ดีด้วย
15. ใช้ขจัดกลิ่นเหม็นกิมพ์ และกลิ่นทินเนอร์ตามโรงพิมพ์ และห้องพ่นสีรถยนต์
16. ใช้ขจัดแก๊สไฮโดรเจนตามที่จอดรถใต้อาคารสูง

ในอุตสาหกรรมอาหารได้มีการใช้โอโซนในการเพิ่มความปลอดภัยให้กับอาหารรวมทั้งยืดอายุอาหารในการวางขายอีกด้วยซึ่งเป็นการนำโอโซนไปใช้ในด้านสุขาภิบาลอาหาร โดยได้รับการยอมรับจากรัฐบาลสหรัฐอเมริกาในการนำโอโซนไปใช้ได้ทั้งในสถานะแก๊ส และในรูปของเหลว โอโซนเป็นสารต้านจุลินทรีย์ที่มีผลต่อแบคทีเรีย รา โปรตีน และไวรัส โอโซนเหมาะสำหรับล้างอาหารที่มีลักษณะเป็นของแข็งและมีพื้นผิวเรียบ เช่น ผัก และผลไม้ นอกจากนี้โอโซนยังถูกนำมาใช้ในการทำความสะอาดอุปกรณ์ วัสดุที่ใช้ในการบรรจุอาหาร ได้มีความพยายามในการนำโอโซนไปใช้ร่วมกับสารเคมีอื่น ๆ เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ หรือใช้โอโซนร่วมกับวิธีทางกายภาพรังสียูวี เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ นอกจากนี้ในอุตสาหกรรมอาหารยังนำโอโซนไปใช้ในการบำบัดน้ำเสียโดยการลดการปนเปื้อนของเชื้อในน้ำ ใช้บำบัดน้ำเพื่อลดปริมาณสารเคมีที่ปนเปื้อนและลดค่า BOD (Biological Oxygen Demand) (Kim, Yousef and Khadre, 2003)

คุณภาพทางจุลชีววิทยาของน้ำบริโภค

ประเทศไทยได้กำหนดมาตรฐานหลักของน้ำบริโภค โดยหน่วยงานที่มีหน้าที่รับผิดชอบคือ สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) กระทรวงสาธารณสุข และสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (สมอ.) กระทรวงอุตสาหกรรม ซึ่งทั้งสองหน่วยงานมีรายละเอียดในการกำหนดคุณภาพทางจุลชีววิทยาแตกต่างกันดังนี้

1. มาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 61 (พ.ศ. 2524) และฉบับที่ 135 (พ.ศ. 2534) เรื่องน้ำบริโภคในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท ได้กำหนดคุณสมบัติเกี่ยวกับจุลินทรีย์ไว้ดังนี้

- ก. ตรวจพบแบคทีเรียชนิดโคลิฟอร์ม น้อยกว่า 2.2 ต่อน้ำบริโภค 100 มิลลิลิตร โดยวิธีเอ็มพีเอ็น (Most Probable Number)
- ข. ตรวจไม่พบแบคทีเรียชนิด *Escherichia coli*
- ค. ไม่มีจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค

ส่วนประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 214) พ.ศ. 2543 เรื่องเครื่องดื่มในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท ซึ่งรวมถึงเครื่องดื่มที่ทำจากผลไม้ ผักหรือพืช ซึ่งได้กำหนดคุณภาพหรือมาตรฐานที่เกี่ยวข้องกับจุลินทรีย์ไว้ดังนี้

1. ตรวจพบแบคทีเรียชนิดโคลิฟอร์ม น้อยกว่า 2.2 ต่อน้ำบริโภค 100 มิลลิลิตร โดยวิธีเอ็มพีเอ็น (Most Probable Number)
2. ตรวจไม่พบแบคทีเรียชนิด *Escherichia coli*
3. ไม่มีจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค
4. ไม่มีสารเป็นพิษจากจุลินทรีย์หรือสารเป็นพิษอื่นในปริมาณที่อาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพ
5. ไม่มียีสต์ และเชื้อรา

2. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมของสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม มอก. 257-2521 เรื่องน้ำบริโภค ได้กำหนดคุณภาพทางจุลชีววิทยาไว้ดังนี้

สแตนด์การ์ดเพลตเคาน์ (โคโลนี/ซม ³)	ต้องไม่เกิน 500
โคลิฟอร์ม (เอ็มพีเอ็น/100 ซม ³)	ต้องน้อยกว่า 2.2
<i>Escherichia coli</i>	ต้องไม่พบ

นอกจากนี้สำหรับน้ำผลไม้ที่ผลิตโดยชุมชนยังมีมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนในเรื่องของน้ำผลไม้โดยจะยกตัวอย่างครอบคลุมเฉพาะน้ำลำไยพร้อมดื่มที่ทำจากลำไยแห้ง บรรจุในภาชนะบรรจุมีมาตรฐานด้านจุลินทรีย์ดังนี้

1. *Staphylococcus aureus* ต้องไม่พบในตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร
2. *Escherichia coli* โดยวิธีเอ็มพีเอ็น ต้องน้อยกว่า 2.2 ต่อตัวอย่าง 100 มิลลิลิตร
3. ยีสต์ และราต้องน้อยกว่า 100 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร

เชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในน้ำมีหลายชนิดทั้งแบคทีเรีย รา ไวรัส เป็นต้น ในตรวจวิเคราะห์เพื่อบ่งบอกถึงคุณภาพและความปลอดภัยของน้ำดื่มนิยมตรวจหาจุลินทรีย์กลุ่มที่เป็นดัชนีบ่งชี้สุขภาพลักษณะของน้ำ หรือบ่งชี้สุขภาพิบาลอาหาร (indicator microorganisms) และการตรวจหาจุลินทรีย์ชนิดก่อโรค (pathogenic microorganisms)

1. จุลินทรีย์ที่เป็นดัชนีบ่งชี้สุขภาพลักษณะของน้ำหรือบ่งชี้สุขภาพิบาลอาหาร (Indicator microorganisms) ได้แก่

1.1 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (aerobic plate count / total plate count / standard plate count) เป็นการตรวจหาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่มีชีวิตในน้ำ

1.2 โคลิฟอร์มแบคทีเรีย (coliforms bacteria) จัดเป็นกลุ่มแบคทีเรียในวงศ์ Enterobacteriaceae มีลักษณะเป็นเซลล์รูปแท่ง ติดสีแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ สามารถเจริญได้ทั้งในที่ที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน มีความสามารถในการหมักย่อยน้ำตาลแลคโตส แล้วให้กรดกับแก๊ส ภายในเวลา 24-48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส โคลิฟอร์มแบ่งตามแหล่งที่ปนเปื้อนได้เป็น 2 กลุ่มคือ ฟีคัลโคลิฟอร์ม (Fecal coliform) เช่น *Escherichia coli* เป็นแบคทีเรียในกลุ่มโคลิฟอร์มที่สามารถใช้น้ำตาลแลคโตสแล้วให้กรดและแก๊สที่อุณหภูมิประมาณ 44.5-45.5 องศาเซลเซียสได้ อาศัยอยู่ในลำไส้ของคน และสัตว์ถูกขับถ่ายออกมาทั้งอุจจาระ อีกกลุ่มหนึ่งเรียก นันฟีคัลโคลิฟอร์ม (non-fecal coliform) เป็นแบคทีเรียกลุ่มที่อาศัยอยู่ในดิน ในน้ำ เช่น *Enterobacter aerogenes*

แบคทีเรียในกลุ่มโคลิฟอร์มจะใช้เป็นตัวบ่งชี้สุขภาพลักษณะในน้ำ อาหาร รวมถึงกระบวนการผลิตอาหารด้วยเนื่องจากพบได้ในระบบทางเดินอาหารของสิ่งมีชีวิต และสามารถ

ดำรงชีวิตอยู่ในสภาวะแวดล้อมเช่นในน้ำ ในดินได้ดี ถ้าตรวจพบเชื้อกลุ่มนี้ในอาหารและน้ำแสดงถึงโอกาสในการปนเปื้อนมาจากสิ่งขับถ่ายของคนและสัตว์ โดยเชื้อถูกกำหนดให้เป็นตัวบ่งชี้ที่สำคัญได้แก่ *Escherichia coli* ซึ่งถ้าตรวจพบในอาหารหรือน้ำแสดงให้เห็นโอกาสของการปนเปื้อนมาจากอุจจาระในขั้นตอนการผลิตหรือการเก็บรักษาที่ไม่มีสุขลักษณะที่ดี ขาดการควบคุมการปนเปื้อนจากเชื้อที่ไม่ต้องการ นอกจากจะเป็นดัชนีบ่งชี้ความสะอาดแล้วยังทำให้ทราบถึงอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคจากแบคทีเรียอื่น ๆ ในระบบทางเดินอาหารอีกด้วย

2. จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค (Pathogenic microorganisms)

กลุ่มจุลินทรีย์ที่ใช้ตรวจสอบคือกลุ่มแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ซึ่งจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคตามประกาศของกระทรวงสาธารณสุข เรื่องน้ำบริโภคในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิทแก่ *Salmonella*, *Clostridium perfringens* และ *Staphylococcus aureus* เป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่บ่งบอกถึงความปลอดภัยของผู้บริโภคต่อโรคอาหารเป็นพิษที่มีอาการโดยทั่วไปคือ ปวดท้อง ท้องเสีย และบางครั้งอาจมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน หรืออาจมีไข้ร่วมด้วย (Clesceri, Greenberg, and Eaton, 1998)

นักวิจัยได้พยายามค้นคว้าหาวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารที่ผลิตออกมานั้นปลอดภัยปราศจากการปนเปื้อนจากสารปนเปื้อนโดยเฉพาะอย่างยิ่งการปนเปื้อนของเชื้อก่อโรค จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าโอโซนสามารถนำมาใช้ในการลดจำนวนจุลินทรีย์ในน้ำได้อย่างมีประสิทธิภาพ และมีผู้นำโอโซนมาใช้ในการผลิตน้ำดื่มชนิดบรรจุขวด แต่ปัจจุบันยังไม่มีการศึกษาถึงการนำโอโซนมาใช้ในการผลิตเครื่องดื่มชนิดไม่บรรจุขวด ในการวิจัยครั้งนี้ได้ใช้ตัวอย่างเครื่องดื่มพื้นบ้านได้แก่น้ำลำไย น้ำตาลสด และน้ำมะพร้าว ซึ่งเป็นเครื่องดื่มที่ได้รับความนิยมมาก และมักจะขายในรูปแบบของการตักขายตามตลาดต่าง ๆ ซึ่งจากการเก็บข้อมูลเบื้องต้นพบว่าเครื่องดื่มชนิดตักขายไม่ได้บรรจุขวดมักมีการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์หลายชนิดทั้งแบคทีเรียกลุ่มที่ปนเปื้อนมาจากอุจจาระของคน และสัตว์ และยีสต์ที่เป็นสาเหตุของการเน่าเสีย คุณภาพไม่ได้มาตรฐานตามสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) กระทรวงสาธารณสุข และสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (สมอ.) กระทรวงอุตสาหกรรม แต่ทางผู้บริโภคจะไม่สามารถทราบได้ว่าเครื่องดื่มใดมีการปนเปื้อนบ้าง เนื่องจากต้องนำเครื่องดื่มมาตรวจด้วยเทคนิคในห้องปฏิบัติการเท่านั้นจึงจะทราบได้ ดังนั้นการศึกษาผลของโอโซนและอุณหภูมิต่อการกำจัดจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มพื้นบ้านไทย คาดว่าจะสามารถนำมาประยุกต์ใช้

ในการผลิตเครื่องตีมีพื้นบ้านของผู้ผลิตรายย่อย เพื่อเป็นแนวทางหนึ่งที่จะลดต้นทุนการผลิตในการผลิตเครื่องตีที่มีคุณภาพ ปลอดภัย รวมทั้งยืดอายุการเก็บรักษาเครื่องตี

