บทที่ 5
อภิปรายและสรุปผลการศึกษา

การศึกษาวิธีการประยุกต์ใช้โอโซนเพื่อลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ ส่วนใหญ่จะมีการศึกษากันมากในอุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น อุตสาหกรรมถนอมอาหาร อุตสาหกรรมแปรรูปอาหาร สด-แห้ง อุตสาหกรรมสัตว์น้ำ อุตสาหกรรมอาหารสด การบำบัดน้ำเสียโรงงาน การบำบัดน้ำในหอทำความเย็น (Cooling Tower) ดับกลิ่นเหม็นในโรงงาน บำบัดน้ำในสระว่ายน้ำ บำบัดน้ำในชุมชน ส่วนการใช้โอโซนในผลิตภัณฑ์อาหารนั้นได้รับความนิยมมากกับการฆ่าเชื้อในน้ำดื่ม งานวิจัยนี้ได้ทดลองนำโอโซนมาช่วยลดการปนเปื้อนในเครื่องดื่มพื้นบ้านซึ่งเป็นที่นิยมบริโภคกันทั่วไป ทั้งนี้การใช้โอโซนสามารถทำได้ง่ายและมีค่าใช้จ่ายไม่มากเมื่อเทียบกับการลดการปนเปื้อนโดยวิธีอื่น โดยเฉพาะในปัจจุบันเครื่องผลิตโอโซนที่ผลิตในประเทศมีคุณภาพดีและราคาไม่แพง สามารถนำมาใช้กันได้ทั่วไปทั้งในครัวเรือนและในอุตสาหกรรมขนาดเล็ก

การตรวจการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในตัวอย่างเครื่องดื่มพื้นบ้านที่เก็บมาจากหลายแหล่ง (ตาราง 5-1) พบว่าตัวอย่างเครื่องดื่มส่วนใหญ่มีการปนเปื้อนของแบคทีเรีย ยีสต์ และรา ในปริมาณสูง โดยเมื่อเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานผลิตภัณฑ์ ในตาราง 5-1 พบว่าเครื่องดื่มพื้นบ้านทุกตัวอย่างที่นำมาทดสอบมีค่าเฉลี่ยจุลินทรีย์ทั้งหมด โคลิฟอร์มทั้งหมดต่อ 100 มิลลิลิตร *Escherichia coli* และยีสต์ รา ไม่ผ่านค่ามาตรฐานทั้งสิ้น แต่ตรวจไม่พบเชื้อ *Salmonella* ในทุกตัวอย่าง

โดยทั่วไปแล้วการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์อาหารสามารถทำได้โดยวิธีพาสเจอร์ไรเซชั่น (Pasteurization) หรือการให้ความร้อนสูงในเวลาสั้น (Sterilization) แต่เทคนิคทั้งสองต้องการการลงทุนที่สูงเนื่องจากเครื่องมือมีราคาแพงและทำได้ยากโดยเฉพาะกับชาวบ้านหรือผู้ประกอบการขนาดเล็ก ในขณะที่โอโซนนั้นเป็นที่ยอมรับและมีใช้กันในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่ม นอกจากนี้บริษัทในประเทศไทยได้ผลิตเครื่องผลิตโอโซนขนาดเล็กซึ่งกำลังเป็นที่นิยมใช้กันมากขึ้น

ผลการทดลองทำลายเชื้อ *Salmonella* Typhimurium, *Escherichia coli* และ *Saccharomyces cerevisiae* ด้วยโอโซนความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อชั่วโมง อัตราการไหล 2.52 ลิตรต่อนาที พบว่าในน้ำตาลสด น้ำลำไย และน้ำมะพร้าว ความสามารถในการยับยั้งเชื้อด้วย

โอโซนที่อุณหภูมิสูง 50 องศาเซลเซียส มากกว่าที่อุณหภูมิต่ำ 4 องศาเซลเซียส และมากกว่าอุณหภูมิห้อง ตามลำดับ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Williams และคณะ (2004) ที่ทำการทดลองในน้ำแอปเปิ้ล ไซเดอร์ และน้ำส้ม ยกเว้นประสิทธิภาพของโอโซนต่อเชื้อ *Salmonella typhimurium* ในน้ำลำไยที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีมากกว่าที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และมากกว่าอุณหภูมิห้อง ตามลำดับ

ตารางที่ 5-1 การปนเปื้อนจุลินทรีย์ในตัวอย่างเครื่องดื่มพื้นบ้านเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐาน

ชนิดเครื่องดื่ม	**แหล่งที่มา**	**ค่าเฉลี่ยจุลินทรีย์ทั้งหมด** (CFU/ml)	**โคลิฟอร์ม** (ต่อ 100 ml)	*Escherichia coli*	*Salmonella*	**ยีสต์และรา**
น้ำตาลสด	สมุทรปราการ/เพชรบุรี	$2.23X10^5$	> 2.2	พบ	ไม่พบ	$1.90X10^2$
น้ำลำไย	สมุทรปราการ	$6.03X10^4$	> 2.2	พบ	ไม่พบ	$1.30X10^4$
น้ำมะพร้าว	สมุทรปราการ	$6.85X10^7$	> 2.2	พบ	ไม่พบ	$6.78X10^5$
มาตรฐานน้ำบริโภค สธ.		-	<2.2	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
มาตรฐานน้ำบริโภค มอก.		<500/ml	<2.2	ไม่พบ	ไม่พบ	-
น้ำผลไม้ชุมชน มผช.		-		<2.2/100 ml	ไม่พบ	<100/ml

หมายเหตุ: สธ. = กระทรวงสาธารณสุข, มอก. = สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, มผช. = มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน

การทดลองผลของโอโซนในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในที่นี้จะเป็นการสร้างการปนเปื้อนให้มีจุลินทรีย์ในปริมาณสูงถึง 7 log CFUต่อมิลลิลิตรทั้งนี้เนื่องจากวิธีมาตรฐานในการตรวจวัดประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์จะต้องมีผลในการลดปริมาณแบคทีเรียได้อย่างน้อย 5 log units (Williams, Sunner and Gloden, 2004) พบว่าการใช้โอโซนสามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ลงได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยการพ่นโอโซนในน้ำตาลสดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส สามารถลดปริมาณ *Salmonella* Typhimurium และ *Escherichia coli* ได้มากกว่า 5 log units ในเวลา 120 นาที และ 180 นาที ตามลำดับ ในขณะที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จะใช้เวลานานกว่า

คือ 240 นาที และ 210 นาที ตามลำดับ ส่วนที่อุณหภูมิห้องโอโซนสามารถลดจำนวน *Escherichia coli* ได้มากกว่า 5 log units ภายในเวลา 240 นาที แต่ไม่สามารถลดจำนวนเชื้อ *Salmonella typhimurium* ได้มากกว่า 5 log unitsในขณะที่การใช้โอโซนจะไม่มีผลลดจำนวนเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ได้มากกว่า 5 log units ที่ทุกอุณหภูมิ ส่วนการพ่นโอโซนในน้ำลำใยที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง สามารถลดปริมาณ *Salmonella typhimurium* ได้มากกว่า 5 log units ในเวลา 150 นาที ในขณะที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ใช้เวลาเพียง 90 นาที สำหรับเชื้อ *Escherichia coli* การพ่นโอโซนที่อุณหภูมิห้อง และ 50 องศาเซลเซียส จะทำให้เชื้อลดจำนวนมากกว่า 5 log units ภายในเวลา 150 นาทีเช่นเดียวกัน ส่วนที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จะใช้เวลาเพียง 90 นาที ในขณะที่เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ต้องพ่นโอโซนนาน 180 นาที ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จึงจะลดจำนวนเชื้อได้ 5.38 log units สำหรับในน้ำมะพร้าวการพ่นโอโซนนาน 90 นาที ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จะลดจำนวนเชื้อ *Salmonella* Typhimurium และ *Escherichia coli* ได้มากกว่า 5 log units ในขณะที่ *Saccharomyces cerevisiae* ต้องใช้เวลานานถึง 120 นาที

จากการทดลองครั้งนี้พบว่าประสิทธิภาพของการพ่นโอโซนเพื่อยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์ในน้ำตาลสด ได้ผลไม่ดีเท่ากับการทดลองกับน้ำลำไยและน้ำมะพร้าว ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าเกิดจากการที่น้ำตาลสดมีสารอินทรีย์ละลายอยู่ในปริมาณมาก ซึ่งสารอินทรีย์จะมีผลกระทบต่อประสิทธิภาพของโอโซนในการยับยั้งเชื้อ โดยโอโซนบางส่วนจะทำปฏิกิริยากับสารอินทรีย์ทำให้ปริมาณโอโซนส่วนที่จะทำปฏิกิริยากับจุลินทรีย์มีน้อยลง (Broadwater *et al*., 1973; Williams *et al*., 2004) และยังมีรายงานว่าสารอินทรีย์แต่ละชนิดก็จะทำปฏิกิริยากับโอโซนแตกต่างกันด้วย (Restaino *et al*., 1995; Moore *et al*., 2000)

จากการตรวจนับปริมาณจุลินทรีย์ที่พบในตัวอย่างเครื่องดื่มตามท้องตลาด พบว่าจะมีความหนาแน่นประมาณ 5-7 log CFUต่อมิลลิลิตร (ตาราง 5-1) ในขณะที่การทดลองผลของโอโซนในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในการทดลอง 4.1 จะเป็นการสร้างการปนเปื้อนให้มีจุลินทรีย์ในปริมาณสูงถึง 7 log CFUต่อมิลลิลิตร ทั้งนี้เนื่องจากวิธีมาตรฐานในการตรวจวัดประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์จะต้องมีผลในการลดปริมาณแบคทีเรียได้อย่างน้อย 5 log units จึงจะถือว่าเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพ แต่ในการนำมาประยุกต์ใช้งานจริง มาตรฐานการปนเปื้อนในน้ำลำไยของมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนยอมให้มี *Escherichia coli* โดยวิธีเอ็มพีเอ็นต้องน้อยกว่า 2.2 ต่อตัวอย่าง 100 มิลลิลิตร ส่วนยีสต์และราจะต้องไม่เกิน 100 CFUต่อมิลลิลิตร(2

log CFU/ml) ซึ่งในทางปฏิบัติการลดปริมาณจุลินทรีย์ลงจาก 5-7 log CFUต่อมิลลิลิตรให้เหลือ 1-2 log CFUต่อมิลลิลิตรก็ควรจะเพียงพอ

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการทดลองลดปริมาณจุลินทรีย์ที่อาจปนเปื้อนมากับผิวของลำไยแห้ง ซึ่งเป็นวัตถุดิบสำคัญในการทำน้ำลำไย ซึ่งก็พบว่าสามารถลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ได้ยกเว้นเชื้อในกลุ่มแกรมบวก สร้างสปอร์ จากรายงานการวิจัยพบว่าการใช้โอโซนเพื่อกำจัดเชื้อที่บนเปื้อนบริเวณผิวของผลไม้สดนั้นจะช่วยยืดเวลาการเก็บรักษาผลไม้ได้ (Perez *et al.,* 1999) อย่างไรก็ตามโอโซนนั้นจะทำปฏิกิริยากับสารระเหย (volatile compounds) ซึ่งอาจจะส่งผลให้กลิ่นของผลไม้มีการเปลี่ยนแปลงไปได้ ส่วนการใช้โอโซนกับผลไม้แห้งเช่นผลมะเดื่อแห้ง (Figs) พบว่าสามารถลดปริมาณแบคทีเรีย โคลิฟอร์ม และยีสต์/รา ได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยจะต้องใช้โอโซนความเข้มข้น 5 ppm เป็นเวลาอย่างน้อย 3 ชั่วโมง (Oztekin *et al*., 2005)

สรุปผลการศึกษา

1. จากการทดลองสร้างการปนเปื้อนของแบคทีเรีย *Escherichia coli*, *Salmonella* Typhimurium และยีสต์ *Sacchaaromyces cerevisiae* ในน้ำตาลสด น้ำลำไย และน้ำมะพร้าว พบว่าโอโซนสามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ในตัวอย่างเครื่องดื่มพื้นบ้านได้เป็นอย่างดี โดยสภาวะที่ให้ผลดีที่สุดก็คือการพ่นโอโซนที่อุณหภูมิสูง 50 องศาเซลเซียส ในขณะที่การพ่นโอโซนที่อุณหภูมิต่ำ 4 องศาเซลเซียส และการพ่นโอโซนที่อุณหภูมิห้องมีประสิทธิภาพลดลงลงตามลำดับ และยีสต์มีความทนทานต่อการพ่นโอโซนได้มากกว่าแบคทีเรีย

2. โอโซนมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในเครื่องดื่มแต่ละชนิดแตกต่างกัน โดยจะมีประสิทธิภาพดีในตัวอย่างน้ำลำไยและน้ำมะพร้าว ในขณะที่การพ่นโอโซนในน้ำตาลสดจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์น้อยกว่าอย่างชัดเจน

3. การตรวจวัดปริมาณจุลินทรีย์ในตัวอย่างน้ำตาลสด น้ำลำไย และน้ำมะพร้าวที่มีจำหน่ายในท้องตลาด พบว่าในทุกตัวอย่างพบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ โดยพบการปนเปื้อนมากที่สุดในน้ำมะพร้าว (6.85×10^7 CFU/ml) รองลงมาคือน้ำตาลสด (2.23×10^5 CFU/ml) และน้ำลำไย (6.03×10^4 CFU/ml) ตามลำดับ

4. การทดลองพ่นโอโซนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นภาวะที่ดีที่สุดในการยับยั้งจุลินทรีย์ของการศึกษานี้ โดยทำการพ่นโอโซนลงในตัวอย่างเครื่องดื่มที่มีจำหน่ายในท้องตลาดเป็น

เวลา 20 นาที พบว่าสามารถลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างน้ำมะพร้าวได้ 97% ในน้ำลำไยได้ร้อยละ 94 ในขณะที่น้ำตาลสดมีการลดลงต่ำที่สุดคือร้อยละ 61.5

5. การพ่นโอโซนลงในตัวอย่างเครื่องดื่มพื้นบ้านเป็นเวลา 5 นาทีขึ้นไป จะส่งผลให้กลิ่นและรสชาติของเครื่องดื่มเปลี่ยนแปลงไปจนผู้บริโภครู้สึกได้

6. โอโซนสามารถช่วยลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ตามธรรมชาติในตัวอย่างลำไยแห้งที่ใช้ทำน้ำลำไย แต่เมื่อนำลำไยไปต้มเพื่อทำเป็นน้ำลำไย พบว่าทั้งชุดควบคุมและชุดทดลองที่มีการพ่นโอโซนในตัวอย่างลำไยแห้ง มีการตรวจพบจุลินทรีย์ได้มากกว่า 100 CFUต่อมิลลิลิตรภายในเวลา 72 ชั่วโมง และลำไยแห้งที่ผ่านการพ่นโอโซนแล้ว เมื่อนำมาทำเป็นน้ำลำไยพบว่าการพ่นโอโซนในลำไยแห้งไม่มีผลต่อกลิ่นและรสชาติของน้ำลำไยที่ผลิตได้

บรรณานุกรม

ปราณี อ่านเปรื่อง (2547) หลักการวิเคราะห์อาหารด้วยประสาทสัมผัส. กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วรพรรณี เผ่าทองศุข, จำรูญศรี พุ่มเทียน และวิไล ปาคำทอง. (2545) "การศึกษาประสิทธิภาพของโอโซนในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ในอากาศ". มฉก.วิชาการ 6(11) หน้า 3-8.

Broadwater, W.T., Hoehn, R. C. and King, P.H. (1973) "Sensitivity of three selected bacterial species to ozone". Appl. Microbiol. 26 page 391-393.

Clesceri, L.cS., Greenberg, A. E. and Eaton, A. D. (1998) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th edition. Washington D.C : American Public Health Association.

Gelman, A., and other. (2005) "Effect of ozone pretreatment on fish storage life at low temperatures". J. Food Prot. 68(4) page 778-784.

Guzel-Seydim, Z. B., Greene, A. K. and Seydim, A. C. (2004) "Use of ozone in the food industry". Lebensm.-wiss. u.-Technol. 37 page 453-460.

Khadre, M. A. and Yousef, A. E. (2001) "Sporicidal action of ozone and hydrogen peroxide: a comparative study". Int. J. Food Microbiol. 71(2-3) page 131-138.

Kim, J. G., Yousef, A. E. and Dave, S. (1999) "Application of ozone for enhancing the microbiological safety andquality of foods: A review". J. Food Prot. 62(9) page 1071-1087.

Kim, J.G., Yousef, A.E and Khadre, M.A. (2003) "Ozone and its current and future application in the food industry". Adv. Food Nutr. Res. 45 page 167-218.

Koseki, S. and other. (2004) "Effecacy of acidic electrolyzed water for microbial decontamination of cucumbers and strawberries". J. Food Prot. 67(6) page 1247-1251.

Kowalski, W. J., Bahnfleth, W. P. and Whittam, T. S. (1998) "Bactericidal effects of high airborne ozone concentrations *on Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*". Ozone Science and Engineering. 20 page 205-211.

Kottapalli, B., Wolf-Hall, C.E. and Schwarz, P. (2005) "Evaluation of gaseous ozone and hydrogen peroxide treatments for reducing *Fusarium* survival in malting barley". J. Food Prot. 68(6) page 1236-1240.

Labbe, R., Kinsley, M. and Wu, J. (2001) "Limitations in the use of ozone to disinfect maple sap". J. Food Prot. 64 page 104-107.

Moore, G., Griffith, C. and Peters, A. (2000) "Bactericidal properties of ozone and its potential application as a terminal disinfectant". J. Food Prot. 63(8) page 100-1106.

Novak, J. S. and Yuan, J. T. (2003) "Viability of *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, and *Listeria monocytogenes* surviving mild heat or aqueous ozone treatment on beef followed by heat, alkali, or salt stress". J. Food Prot. 66(3) page 382-389.

Novak, J. S. and Yuan, J. T. (2004) "Increased inactivation of ozone-treated *Clostridium perfringens* vegetative cells and spores on fabricated beef surfaces using mild heat". J. Food Prot. 67(2) page 342-6.

Oztekin, S., Zorlugenc, B. and Zorlugenc, F. K. (2006) "Effects of ozone treatment on microflora of dried figs". J. Food Eng. 75(3) page 396-399

Perez, A. G. and other. (1999) "Effects of ozone treatment on postharvest strawberry quality". J. Agric. Food Chem. 47page 1652- 1656.

Restaino, L. and other. (1995) "Efficacy of ozonated water against various food-related microorganisms". Appl. Environ. Microbiol. 61(9) page 3471-3475.

Rice, R. G. and other. (1981) "Uses of ozone in drinking water treatment". J. Am. Water Works Assoc. 73(1) page 44-57.

Rodgers, S. L. and other. (2004) "A comparison of different chemical sanitizers for inactivating *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in solution and on apples, lettuce, strawberries, and cantaloupe". J Food Prot. 67(4) page 721-731.

Rodriguez-Romo, L.A. and Yousef, A.E. (2005) "Inactivation of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis on shell eggs by ozone and UV radiation". J. Food Prot. 68(4) page 711-717.

Sechi, L. A. and other. (2001) "Antibacterial activity of ozonized sunflower oil (Oleozon)". J. App. Microbiol. 90(2) page 279-284.

Selma, M. V. and other. (2007) "Elimination by ozone of *Shigella sonnei* in shredded lettuce and water". Food Microbiology 24(5) page 492-499.

Serra, R. and other. (2003) "Use of ozone to reduce molds in a cheese ripening room". J. Food Prot. 66(12) page 2355-2358.

Sharma, R.R. and other. (2002) " Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 on inoculated alfalfa seeds with ozonated water and heat treatment. J Food Prot. 65(3) page 447-51.

Stivarius, M. R., and other. (2002) "Microbial, instrumental color and sensory color and odor characteristics of ground beef produced from beef trimmings treated with ozone or chlorine dioxide". Meat Science. 60(3) page 299-305.

Vadhanasin, S., Bangtrakulnonth, A. and Chidkrau, T. (2004) "Critical control points for monitoring salmonellae reduction In Thai commercial frozen broiler processing". J. Food Prot. 67(7) page 1480-1483.

Victorin, K. (1992) "Review of the genotoxicity of ozone". Mutation Research. 277 page 221-238.

Wade, W.N. and other. (2003) "Efficacy of ozone in killing *Listeria monocytogenes* on alfalfa seeds and sprouts and effects on sensory quality of sprouts". J. Food Prot. 66(1) page 44-51.

Williams, R.C., Sumner, S.S. and Gloden, D.A. (2004) "Survival of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* in apple cider and orange juice as affected by ozone and treatment temperature". J. Food Prot. 67(11) page 2381-2386.

Yuk, H-G. and other. (2007) "Effect of combined ozone and organic acid treatment for control of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* on enoki mushroom". Food control 18(5) page 548-553.