การทำลายจุลินทรีย์ก่อโรคที่อยู่ในอาหารด้วยโอโซน

(Inactivation of Pathogenic Microorganisms in Food by Ozone)

ทิพรักษ์ วงษาดี*

*สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร ภาควิชาวิทยาศาสตร์ประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา 1061 ถนนอิสรภาพ แขวงหิรัญรูจี เขตธนบุรี กรุงเทพฯ 10600

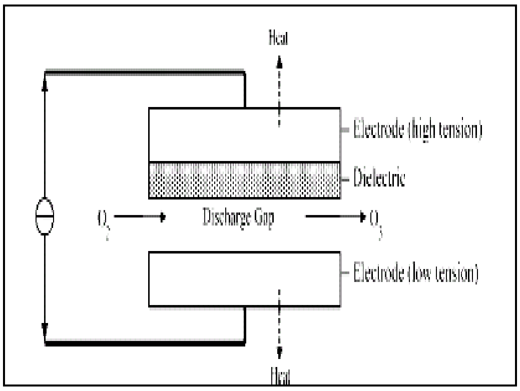
บทนำ

การทำความสะอาดและการฆ่าเชื้อโรคในอุตสาหกรรมอาหารโดยใช้สารเคมีก่อให้เกิดการตกค้างของสารเคมีที่ใช้ทำความสะอาดพื้นผิววัสดุ ทำให้เกิดการกัดกร่อน มีอายุการใช้งานสั้นลง ก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนัง บางชนิดมีกลิ่นฉุนมากซึ่งเป็นอันตรายต่อผู้ใช้งาน และอาจเกิดสารตกค้างในอาหารเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคได้ นอกจากนี้ในฟาร์มสัตว์นิยมใช้ยาปฏิชีวนะในการควบคุมโรคในสัตว์เกินความจำเป็น ซึ่งเป็นสาเหตุส่วนหนึ่งที่ทำให้แบคทีเรียก่อโรคหลายชนิดเริ่มมีการดื้อยาและมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เกิดปัญหาต่อการรักษาโรค (Smith et al., 1999) สารเคมีและเชื้อที่ดื้อยานี้สามารถปนเปื้อนไปสู่คนได้หลายทาง ได้แก่ การได้รับโดยตรงจากการสัมผัส การได้รับจากการปนเปื้อนในอาหารและสิ่งแวดล้อม (Weinstein, 2001) สำหรับการศึกษาวิธีการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคที่อยู่ในอาหารด้วยวิธีที่ไม่ก่อมลพิษและสารเคมีตกค้างจึงเป็นวิธีการที่ดี

การใช้โอโซน (ozone) เป็นวิธีการที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้หลายชนิด การผลิตโอโซนเริ่มแรกในยุโรปมีการผลิตเพื่อนำมาใช้สำหรับฆ่าเชื้อโรคในน้ำดื่ม และต่อมามีการนำมาใช้ฆ่าเชื้อโรคในสระว่ายน้ำ และบำบัดน้ำเสีย ในสหรัฐอเมริกามีการประยุกต์ใช้ในโรงงานอุตสาหกรรมอาหารแต่ก็ไม่เป็นที่แพร่หลาย อย่างไรก็ตามในปี ค.ศ. 1982 สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาของอเมริกา(United States Food and Drug Administration) ได้รับรองว่าโอโซนเป็นสารที่ปลอดภัยต่อสุขภาพ สำหรับใช้ในกระบวนการแปรรูปอาหาร ปัจจุบันประเทศสหรัฐอเมริกายอมรับการใช้โอโซนในการฆ่าเชื้อโรคและทำความสะอาดในโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร รวมทั้งมีการศึกษาและประยุกต์ใช้ประโยชน์จากโอโซนในโรงงานอุตสาหกรรมอาหารมากมาย (Guzel-Seydim et al., 2004; Restaino et al., 1995; Thanomsub et al., 2002)

การผลิตโอโซน

หลักการในขั้นแรกของการผลิตโอโซนต้องทำให้โมเลกุลของออกซิเจนแตกตัวออกเป็นอะตอมออกซิเจน 2 อะตอมก่อน จากนั้นอะตอมออกซิเจนอิสระนี้จะไปรวมตัวกับโมเลกุลของออกซิเจนอื่น กลายเป็นโอโซน ซึ่งในขั้นตอนที่ทำให้โมเลกุลของออกซิเจนแตกตัวออกนั้นต้องใช้พลังงานสูง เช่น ใช้รังสีอัลตราไวโอเล็ต (ultraviolet ray, UV) ที่ความยาวคลื่น 188 นาโนเมตร และวิธีโคโรนา ดิสชาร์จ (corona discharge) ส่วนใหญ่ทางการค้าจะนิยมใช้วิธีโคโรนา ดิสชาร์จ



ภาพที่ 1 แผนภาพการผลิตโอโซนด้วยวิธีโคโรนา ดิสชาร์จ

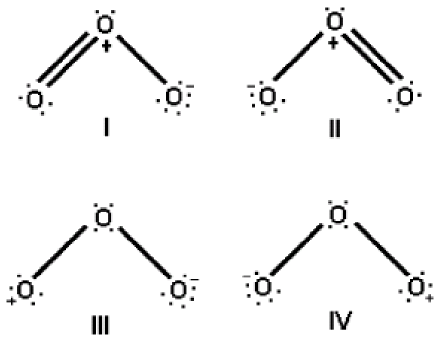
ที่มา (Guzel-Seydim et al., 2004)

การผลิตโอโซนด้วยวิธีโคโรนา ดิสชาร์จ ประกอบด้วยแท่งอิเลคโทรด (electrode) 2 อัน ที่มีความต่างศักย์ไฟฟ้าต่างกัน และเคลือบด้วยสารไดอิเลคทริก (dielectric) โดยให้มีช่องว่างระหว่างอิเลคโทรดทั้งสองเล็กน้อย แล้วผ่านแก๊สออกซิเจนเข้าไปในช่องว่างระหว่างแท่งอิเลคโทรด 2 แท่ง (ภาพที่ 1) การผ่านออกซิเจนในบรรยากาศเข้าไปในเครื่องผลิตโอโซน สามารถผลิตโอโซนได้ประมาณร้อยละ 1-3 แต่ถ้าใช้ออกซิเจนบริสุทธิ์จะสามารถผลิตโอโซนได้สูงกว่าร้อยละ 6 แก๊สโอโซนจะไม่สามารถสะสมอยู่ได้นาน เนื่องจากจะแตกสลายให้แก๊สออกซิเจนและออกซิเจนอะตอมเรื่อยๆ ซึ่งในที่สุดจะกลับไปเป็นแก๊สออกซิเจน

คุณสมบัติของโอโซน

โอโซนเกิดในบรรยากาศชั้นสตาร์โทสเฟียร์ (stratosphere) ได้โดยรังสีอัลตราไวโอเล็ต กระแสไฟฟ้าที่ความต่างศักย์สูง และรังสีแกมมา (gamma ray) ที่อุณหภูมิห้องโอโซนจะสลายตัวอย่างรวดเร็ว ดังนั้นจะไม่เกิดการสะสมของโอโซนหากไม่ได้ทำการผลิตโอโซนอย่างต่อเนื่อง โอโซนจะมีกลิ่นฉุน ซึ่งลักษณะของกลิ่นจะคล้ายกับกลิ่นอากาศหลังฝนตกที่มีพายุและฟ้าแลบ ซึ่งสามารถตรวจวัดโอโซนได้ประมาณ 0.01-0.05 พีพีเอ็ม (ppm) ในธรรมชาติพบในความเข้มข้นต่ำ โอโซนที่อยู่ในสถานะแก๊สจะมีครึ่งชีวิตนานกว่าโอโซนที่ละลายในน้ำ ความสามารถในการละลายน้ำของโอโซนจะละลายได้ดีในช่วงอุณหภูมิของออกซิเจนประมาณ 0-30 °C และจะละลายได้มากขึ้นในน้ำเย็น และสลายตัวอย่างรวดเร็วเมื่อน้ำมีอุณหภูมิสูงขึ้น ในอุณหภูมิระดับต่ำแก๊สโอโซนจะมีสีน้ำ

เงิน แต่โดยปกติจะไม่สามารถสังเกตเห็นสีได้ ที่อุณหภูมิ -112°C โอโซนจะควบแน่นเป็นของเหลวสีน้ำเงินเข้ม ของเหลวนี้จะเกิดขึ้นได้ง่ายและอย่างรวดเร็ว ถ้ามีออกซิเจนมากกว่าร้อยละ 20 อะตอมออกซิเจนทั้งสามอะตอมในโมเลกุลของโอโซนจะจัดเรียงตัวกันเป็นมุมป้าน ซึ่งอะตอมออกซิเจนที่อยู่ตรงกลางจะอยู่ห่างจากอะตอมทั้งสองในระยะทางเท่ากันทำมุม 116° 49′ และมีความยาวพันธะ 1.278 A° (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 โครงสร้างเรโซแนนซ์ (resonance structure) ของโมเลกุลโอโซน

ที่มา (Guzel-Seydim et al., 2004)

ตารางที่ 1 สมบัติทางกายภาพของโอโซนบริสุทธิ์

ลักษณะทางกายภาพ	**สมบัติ**
จุดเดือด	-111.9±0.3°C
จุดหลอมเหลว	-192.5±0.4°C
อุณหภูมิวิกฤต (critical temperature)	-12.1°C
ความดันวิกฤต (critical pressure)	54.6 atm

ที่มา (Guzel-Seydim et al., 2004)

ตารางที่ 2 ค่าศักย์การออกซิเดชัน(oxidation potential) ของตัวออกซิไดซ์ (oxidizing agents) ชนิดต่างๆ

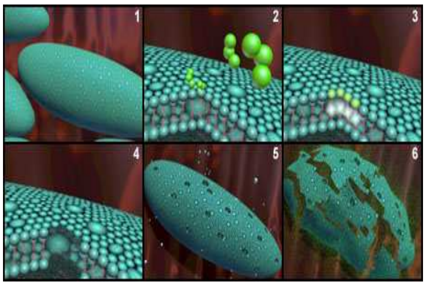
ตัวออกซิไดซ์	**ค่าศักย์การออกซิเดชัน (mV)**
ฟลูออรีน (fluorine)	3.06
โอโซน	2.07
เพอร์แมงกาเนท (permanganate)	1.67
คลอรีนไดออกไซด์ (chlorine dioxide)	1.50
กรดไฮโพคลอรัส (hypochlorus acid)	1.49
แก๊สคลอรีน (chlorine gas)	1.36

ที่มา (Guzel-Seydim et al., 2004)

กลไกการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ด้วยโอโซน

โอโซนสามารถทำลายจุลินทรีย์ โดยการเกิดออกซิเดชันกับส่วนประกอบของเซลล์อย่างเป็นลำดับขั้นตอน ที่ผิวเซลล์ของแบคทีเรียจะเป็นเป้าหมายแรกในการเกิดโอโซเนชัน (ozonation) การทำลายจุลินทรีย์ด้วยโอโซนมีอยู่ 2 กลไกหลัก คือ กลไกแรกโอโซนจะเข้าไปออกซิไดซ์ที่หมู่ซัลไฟด์ (sulfhydryl group) กรดอะมิโนของเอนไซม์ เพปไทด์ (peptide) และโปรตีน กลไกต่อมา คือ โอโซนจะเข้าไปออกซิไดซ์ ที่กรดไขมันอิ่มตัว (polyunsaturated fatty acid) กลายเป็น กรดเพอร์ออกไซด์ (acid peroxide) การแตกตัวของไขมันอิ่มตัว (unsaturated lipid) เยื่อหุ้มเซลล์ (cell envelope) ทำให้เซลล์มีรอยแตกแยก (cell disruption) และ

เกิดการรั่วไหลของสารประกอบในเซลล์ พันธะคู่ของไขมันอิ่มตัว (unsaturated lipid) เป็นส่วนที่ไม่เสถียร ซึ่งโอโซนสามารถทำลายชั้นไลโพโปรตีน (lipoprotein) ของแบคทีเรียแกรมลบได้ง่าย และไลโพพอลิแซคคาไรด์ ((lipopolysaccharide) จะเป็นจุดแรกที่ถูกทำลาย ทำให้เกิดรูรั่วที่ผนังเซลล์ และในที่สุดจะเกิดการแตกสลายของเซลล์ (cell lysis) สำหรับการทำลายจุลินทรีย์ด้วยคลอรีนนั้น คลอรีนจะมีประสิทธิภาพในการทำลายเฉพาะระบบของเอนไซม์ที่อยู่ในเซลล์เท่านั้น แต่สำหรับโอโซนแล้วจะทำให้เกิดการออกซิเดชันของโปรตีนในเซลล์ได้เป็นบริเวณกว้าง ซึ่งมีผลทำให้เซลล์ตายอย่างรวดเร็ว การตายของเซลล์แสดงให้เห็นถึงการถูกทำลายอย่างรุนแรง (ภาพที่ 3) และทำให้เกิดความเสียหายต่อกรดนิวคลีอิค (nucleic acid) ซึ่งไทมีน (thymine) จะมีความไวต่อโอโซนมากกว่าไซโตซีน (cytosine) หรือยูเรซิล (uracil) นอกจากนี้โอโซนยังสามารถทำลายอาร์เอ็นเอ (RNA) ของไวรัส และทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสายโซ่พอลิเพปไทด์ (polypeptide chain) ในโปรตีนที่เป็นปลอกหุ้มตัว (protein coat) (Guzel-Seydim et al., 2004; Restaino et al., 1995; Thanomsub et al., 2002)



ภาพที่ 3 ปฏิกิริยาระหว่างแก๊สโอโซนกับจุลินทรีย์ ที่มา (Ozone Solutions, 2010)

ประสิทธิภาพของโอโซนในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคที่อยู่ในอาหาร

1. การศึกษาประสิทธิภาพของโอโซนในการทำลายและยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ

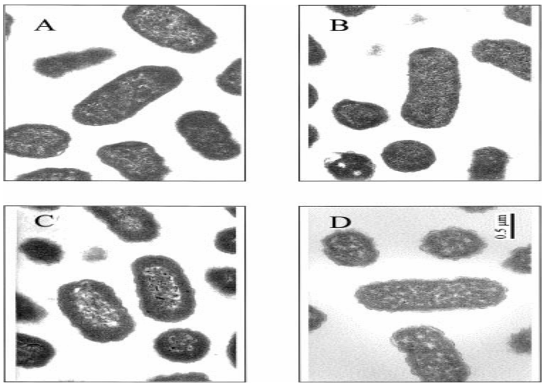
การศึกษาประสิทธิภาพของโอโซนในการฆ่าจุลินทรีย์มีการศึกษากันอย่างแพร่หลายในจุลินทรีย์หลายชนิด คือ แบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียแกรมลบ สปอร์ และเซลล์ปกติ (vegetative cell) ซึ่งมีรายงานว่าในปี ค.ศ. 1995 Restino และคณะ ได้ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำโอโซนที่ความเข้มข้น 0.188 พีพีเอ็ม เป็นเวลา 1-5 นาที ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ พวกแบคทีเรียแกรมบวก คือ *Listeria monocytogenes Staphylococcus aureus Bacillus cereus* และ *Enterococcus faecalis* พวกแบคทีเรียแกรมลบ คือ *Pseudomonas aeruginosa Yersinia enterocolitica Escherichia coli* และ *Salmonella typhimurium* กลุ่มยีสต์ คือ *Candida albicans* และ *Zygosaccharomyces bacilli* และสปอร์ของ *Aspergillus niger* พบว่าโอโซนมีประสิทธิภาพในการฆ่ายีสต์ทั้งสอง ดังกล่าว และฆ่าเชื้อแบคทีเรียกลุ่มแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียกลุ่มแกรมลบ ยกเว้น *L. monocytogenes* จะไวต่อโอโซน ในทางตรงกันข้ามสปอร์ของ *A. niger* จะมีความทนทานต่อโอโซน (Restaino et al., 1995)

2. ผลของโอโซนต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเซลล์ของแบคทีเรียก่อโรคที่อยู่ในอาหาร

มีการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของโอโซนในการยับยั้งการเจริญเติบโตและทำลายแบคทีเรียกลุ่มแกรมบวก (*S. aureus* และ *B. subtilis*) และแกรมลบ (*E. coli* และ *Salmonella* species) โดยการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างพื้นผิวภายนอกของแบคทีเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscopes) หลังจากทำลายแบคทีเรียด้วยโอโซนที่ความเข้มข้น 0.167 มิลลิกรัมต่อนาทีต่อลิตร พบว่าโอโซนสามารถทำลายและยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียทั้งสองชนิด โดยความรุนแรงของการทำลายเพิ่มขึ้นตามช่วงเวลาที่เพิ่มขึ้นของการผ่านโอโซนให้แก่แบคทีเรีย หลังจากผ่านโอโซน พบว่าเซลล์ของแบคทีเรียมีโครงสร้างรูปร่างภายนอกที่ถูกทำลายและสูญเสียสภาพไปจากสภาวะปกติ เซลล์แบคทีเรียมีสภาพการยุบตัว มีการแตกหักของพื้นผิวภายนอก มีลักษณะการถูกทำลายระหว่างโครงสร้างภายนอกและภายในของเชื้อแบคทีเรีย เซลล์มีการแตกสลายอย่างรุนแรง โดยมีส่วนประกอบต่างๆ ภายในเซลล์ถูกปลดปล่อยออกมาภายนอกเซลล์จำนวนมาก ในลักษณะเป็นเศษเล็กๆ รูปร่างไม่แน่นอน (cell debris) ซึ่งเป็นสภาวะที่แสดงสภาพการเสื่อมสลายและการตายของเซลล์ นอกจากนี้พบว่าโอโซนมีประสิทธิภาพที่สามารถทำลายเชื้อและยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียกลุ่มแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียกลุ่มแกรมลบ โดยเฉพาะ *B. subtilis* ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเชื้อแบคทีเรียทั้งสองกลุ่มมีโครงสร้างของเซลล์แตกต่างกัน สำหรับแบคทีเรียกลุ่มแกรมบวกมีผนังเซลล์ (cell wall) ที่หนา คือ เพปทิโดไกลแคน (peptidoglycan) ซึ่งประกอบด้วยสารประเภทโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตเป็นหลัก ในขณะที่แบคทีเรียกลุ่มแกรมลบโดยทั่วไปมีผนังเซลล์ (cell wall) ที่บางกว่า และประกอบด้วยเยื่อหุ้มชั้นนอก (outer membrane) ที่ประกอบด้วยสารประเภทคาร์โบไฮเดรตและไขมันเป็นจำนวนมากคือไลโพพอลิแซคคาไรด์ และไลโพโปรตีน โอโซนมีประสิทธิภาพทำลายและยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์แบคทีเรีย โดยมีผลการทำลายอย่างรวดเร็วและรุนแรงที่สารประเภทโปรตีนมากกว่าสารประเภทคาร์โบไฮเดรต (วิภาวี อนุพันธ์พิศิษฐ์, 2544)

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์หลังจากการทำลายด้วยโอโซน ได้มีการศึกษาใน *E. coli* ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (transmission electron microscopes) ที่ความเข้มข้นต่างๆ ของโอโซน เป็นเวลา 30 วินาที พบการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของโอโซนที่มากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับความสามารถในการเจริญได้ของเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่ความเข้มข้นโอโซน 9 มิลลิกรัมต่อลิตร พบการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์ คือ สารภายในเซลล์มีการจับกลุ่มกันเพียงเล็กน้อย ไม่สามารถสังเกตเห็นได้ชัด ส่วนความเข้มข้นโอโซน 18 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าเยื่อหุ้มเซลล์มีลักษณะขด และบิดเบี้ยว ส่วนประกอบภายใน

เซลล์รวมตัวกันเป็นกลุ่มก้อนมากขึ้น เกิดการแตกแยกของเซลล์อย่างเห็นได้ชัด นิวคลีออยด์ (nucleoid) หดสั้นลง และเกิดการตกตะกอนของดีเอ็นเอ เมื่อโครงสร้างทุติยภูมิของโปรตีนที่เกาะกับดีเอ็นเอ (DNA-binding protein) ถูกทำลาย ทำให้โอโซนทะลุผ่านเข้าไปในเซลล์ และเกิดปฏิกิริยาระหว่างโปรตีนหรือเอนไซม์ที่มีผลต่อการควบคุมการสร้าง ดีเอ็นเอ ในนิวคลีออยด์ และสำหรับความเข้มข้นโอโซน 196 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้เกิดการขดและบิดเบี้ยวของเยื่อหุ้มเซลล์อย่างมาก เซลล์ถูกทำลาย แตกออกเป็นเศษชิ้นเล็กชิ้นน้อย และความหนาแน่นของสารพันธุกรรมลดน้อยลง ซึ่งจะนำไปสู่การสลายของเซลล์ในที่สุด (ภาพที่ 4)

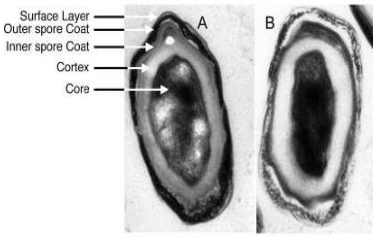


ภาพที่ 4 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเลกตรอนของเซลล์ *E. coli* หลังได้รับโอโซนที่ความเข้มข้น(A) 0 มิลลิกรัมต่อลิตร (B) 9 มิลลิกรัมต่อลิตร (C) 18 มิลลิกรัมต่อลิตร และ(D) 196 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นระยะเวลา 30 วินาที

ที่มา (Hunt et al., 1999)

3. ผลของโอโซนต่อการเปลี่ยนแปลงของสปอร์

การทำลายสปอร์ที่ปนเปื้อนอยู่ในอาหารสามารถทำได้โดยการใช้ความร้อนแต่จะมีผลเสียคือทำให้คุณภาพทางด้านต่างๆ ของผลิตภัณฑ์ลดลง การศึกษาการใช้โอโซนในการทำลายสปอร์ของเชื้อ *Bacillus* spp. จำนวน 8 สายพันธุ์ พบว่าเมื่อใช้โอโซนที่ความเข้มข้น 11 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ 22°C เป็นเวลา 1 นาที สามารถลดสปอร์ของเชื้อ *Bacillus* spp. ได้ทุกสายพันธุ์ ซึ่งสายพันธุ์ที่มีความไวต่อโอโซนมากที่สุด คือ *B. cereus* และสายพันธุ์ที่มีความต้านทานต่อโอโซนมากที่สุด คือ *B. stearothermophilus* ซึ่งสามารถลดสปอร์ลงได้ 6.1 และ 1.3 ล็อกซีเอฟยูต่อมิลลิตร (log cfu/ml) ตามลำดับ จากนั้นได้ศึกษาผลของโอโซนที่มีต่อโครงสร้างสปอร์ของ *B. subtilis* ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน พบว่ามีความเสียหายของผิวชั้นนอก (surface layer) เยื่อหุ้มสปอร์ชั้นนอก (outer spore coat) และพื้นที่บางส่วนของเยื่อหุ้มสปอร์ชั้นใน (inner spore coat) ซึ่งจะทำให้ส่วนคอร์เทก (cortex) สัมผัสกับโอโซนและนำไปสู่การแตกสลายของสปอร์ส่วนใน (spore core) (ภาพที่ 5)



ภาพที่ 5 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเลกตรอนของสปอร์ *B. subtilis* (A) ไม่ใช้โอโซน (B) ใช้โอโซน 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ 22 °C นาน 1 นาที

ที่มา (Khadre et al., 2001)

4. การประยุกต์ใช้โอโซนในการทำลายจุลินทรีย์ที่อยู่ในอาหาร

โอโซนเป็นสารฆ่าเชื้อที่นิยมนำมาใช้ในแถบประเทศยุโรปอย่างแพร่หลาย ซึ่งจากการวิจัยพบว่าโอโซนมีผลต่อการทำลายเชื้อแบคทีเรียได้หลายชนิดรวมทั้งสปอร์ของเชื้อด้วย ดังนั้นจึงมีการนำโอโซนมาใช้ในการกำจัดและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหาร ตัวอย่างเช่น งานวิจัยของ Guzel-Seydim และคณะ (2004) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของโอโซนในการลดเชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่ในส่วนประกอบของอาหาร โดยศึกษาในสารละลายบัพเฟอร์ (buffer) วิปปิ้งครีม (whipping cream) และสารความเข้มข้นร้อยละ1 ได้แก่ โลเคิสต์บีนกัม (locust bean gum) แป้ง (soluble starch) และโซเดียมเคซิเนท (sodium caseinate) ที่ละลายในกลั่น จากนั้นทำการปลูกถ่ายสปอร์ของ *B. stearothermophilus* เซลล์ปกติของ *Escherichia coli* และเซลล์ *Staphylococcus aureus* ลงในส่วนประกอบของอาหารดังกล่าว แล้วนำไปผ่านแก๊สโอโซนเป็นเวลา 0 นาที 2 นาที และ 10 นาที พบว่าเมื่ออาหารสัมผัสกับโอโซนนาน 10 นาทีสปอร์ของ *B. stearothermophilus* ในส่วนประกอบอาหารต่างๆ คือ บัฟเฟอร์ แป้ง โลเคิสต์บีนกัม และเคซิเนท (caseinate) ลดลง 4.93, 4.56, 0.95 และ 0.24 ล็อกไซเคิล (log cycle) ตามลำดับ ซึ่งลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แต่ในวิปปิ้งครีม พบว่าจำนวนสปอร์ของ *B. stearothermo-philus* ไม่ลดลง ($p > 0.05$) สำหรับ *E. coli* พบว่าเซลล์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p< 0.05$) คือ 6.10, 6.11, 3.86, 3.76 และ 1.98 ล็อกไซเคิล ในบัฟเฟอร์ แป้ง โลเคิสต์บีนกัม เคซิเนท และวิปปิงครีม (whipping cream) ตามลำดับ และ *S. aureus* มีการลดลงของเซลล์อย่างมีนัยสำคัญ เช่นกัน ($p< 0.05$) โดยมีจำนวนลดลงในระดับ 6.48, 6.47, 4.94, 1.47 และ 1.02 ล็อกไซเคิล ในบัพเฟอร์ แป้ง โลเคิสต์บีนกัม เคซิเนท และวิปปิ้งครีม ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าโลเคิสต์บีนกัม เป็นอาหารที่สามารถป้องกันจุลินทรีย์ในการถูกทำลายได้ จุลินทรีย์ที่อยู่ในโลเคิสต์บีนกัมจึงมีจำนวนของจุลินทรีย์ลดลงน้อยหลังจากผ่านโอโซน อย่างไรก็ตามพบว่า เคซิเนท และวิปปิ้งครีม สามารถป้องกันจุลินทรีย์ในการถูกทำลายได้ดีกว่า (Guzel-Seydim, et al., 2004)

การศึกษาเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการทำลายจุลินทรีย์ในอาหารร่วมกับสารชนิดอื่นได้แก่ การใช้โอโซนร่วมกับกรดอินทรีย์ในการยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli* O157:H7 และ *Listeria monocytogenes* ในเห็ดอีโนกิ (Enoki mushroom) ที่ความเข้มข้น 1, 3 และ 5 พีพีเอ็ม เป็นเวลา 0.5 นาที 1 นาที 3 นาที และ 5 นาที พบว่าเมื่ออาหารได้สัมผัสโอโซนที่ความเข้มข้น 3 พีพีเอ็ม เวลา 5 นาที สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* O157:H7 ได้ แต่ไม่สามารถยับยั้ง *L. monocytogenes* ได้ในทุกสภาวะ สำหรับการใช้โอโซนร่วมกับกรดอินทรีย์ พบว่าการใช้โอโซนความเข้มข้น 3 พีพีเอ็ม ร่วมกับกรดซิตริก ร้อยละ 1 เป็นเวลา 5 นาที มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ *E. coli* O157:H7 และ *L. monocytogenes* ได้ดีที่สุด (Yuk et al., 2006)

โอโซนสามารถนำมาใช้ในการทำให้ผลไม้และผักมีอายุการเก็บที่ยาวนานขึ้น ดังเช่นการศึกษาของ Perez และคณะ (1999) ที่ได้ทดลองใช้โอโซนในการรักษาคุณภาพของสตรอเบอร์รี่หลังการเก็บเกี่ยว โดยทำการทดลองเก็บสตรอเบอร์รี่ที่ 2 °C ร่วมกับการใช้โอโซน 0.35 พีพีเอ็ม เป็นเวลา 3 วัน และย้ายมาเก็บที่ 20°C เพื่อเลียนแบบสภาวะเสมือนร้านค้าขณะจำหน่าย และศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลสตอร์เบอร์รี่ พบว่าโอโซนมีประสิทธิภาพในการป้องกันการเน่าเสียอันเกิดจากเชื้อราหลังจากตั้งทิ้งไว้ที่ 20°C เป็นเวลา 4 วัน นอกจากนั้นยังมีการใช้โอโซนในผักผลไม้อีกหลายชนิดเช่น แอปเปิ้ล ส้ม แบลคเบอร์รี่ องุ่น กะหล่ำปลี เพื่อลดจำนวนแบคทีเรีย และราตัวอย่างของงานวิจัยที่ประยุกต์ใช้โอโซนเพื่อกำจัดจุลินทรีย์ในอุตสาหกรรมอาหารแสดงในตารางที่ 4 (Oztekin et al., 2006)

ตารางที่ 4 การใช้โอโซนเพื่อทำลายจุลินทรีย์ในอุตสาหกรรมอาหาร

ผลิตภัณฑ์	วิธีการ	เอกสารอ้างอิง
ผักขม	โอโซนในน้ำ 8 พีพีเอ็ม นาน 30 นาที	Qiang และคณะ 2005
ถั่วเขียว		
หน่อไม้ฝรั่ง		
แตงกวา		
พริกหยวกแดง		
น้ำแอปเปิ้ล	โอโซน 0.9 กรัมต่อชั่วโมง ที่ 4, 20 และ 50 °C	Williams และคณะ 2005
น้ำส้มคั้น		
สตอเบอร์รี่	โอโซนในอากาศ 0.35 พีพีเอ็ม ที่ 2 °C	Perez และคณะ 1999

ที่มา (Oztekin et al., 2006)

โอโซนมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิดโดยสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตแบคทีเรียกลุ่มแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียกลุ่มแกรมลบ และสปอร์ โดยทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเซลล์จุลินทรีย์ โดยทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ มีลักษณะขด บิดเบี้ยว และเกิดการรวมตัวกันเป็นกลุ่มก้อนของสารภายในเซลล์ มีผลทำให้โครงสร้างสปอร์ เกิดความเสียหาย สามารถทำลายจุลินทรีย์ก่อโรคที่อยู่ในอาหารหลายชนิด ประสิทธิภาพของโอโซนในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของโอโซน ระยะเวลาที่สัมผัส และชนิดของจุลินทรีย์

เอกสารอ้างอิง

วิภาวี อนุพันธ์พิศิษฐ์. (2544). **การศึกษาระดับจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดถึงผลกระทบของโอโซนที่มีต่อโครงสร้างของเชื้อแบคทีเรียกลุ่มแกรมบวกและแกรมลบ.** ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

Baker, K. H., Hegarty, J.P., Redmond, B., Reed, N.A., and Herson, D.S. (2002). Effect of oxidizing disinfectants (chlorine, monochloramine and ozone) on *Helicobacter pylori*. **Applied and Environmental Microbiology.** 68: 981-984.

Dosti, B., Guzel-Seydim, Z., and Greene, A.K. (2005). Effectiveness of ozone, heat and chlorine for destroying common food spoilage bacteria in synthetic media and biofilms. **International Journal of Dairy Technology,** 58(1): 19-24.

Greene, A.K., Few, B.K., Serafini, J.C. (1993). A comparison of ozonation and chlorine-tion for the disinfection of stainless steel surfaces. **Journal of Dairy Science**, 76: 3617-3620.

Guzel-Seydim, Z., Bever Jr., P.I. and Greene, A.K. (2004). Efficacy of ozone to reduce bacterial populations in the presence of food components. **Food Microbiology,** 21: 475-479.

Guzel-Seydim, Z.B., Greene, A.K., and Seydim, A.C. (2004). Use of ozone in the food industry. **Lebensm-Wiss u-Technol.** 37: 453-60.

Hunt, N.K., and Marinas, B.J. (1999). Inactivation of *Escherichia coli* with ozone chemical and inactivation kinetics. **Water Research,** 33(11): 2633-41.

Khadre, M.A., and Yousef, A.E. (2001). Sporicidal action of ozone and hydrogen peroxide: a comparative study. **International Journal of Food Microbiology.** 71: 131-8.

Ozone Solutions. (2010). **How ozone destroys bacteria.** Retrieved November 22, 2010, from Website: http://www.ozoneapplications.com/info/bacteria_destruction.htm

Oztekin, S., Zorlugenc, B., and Zorlugenc, F. K. (2006). Effect of ozone treatment on microflora of dried figs. **Journal of Food Engineering.** 75: 396-9.

Restaino, L., Frampton, E.W., Hemphill, J.B, Palnikar P. (1995). Efficacy of ozonated water against various food-related microorganisms. **Applied and Environmental Microbiology,** 61: 3471-3475.

Thanomsub, B., Anupunpisit, V., Chanphetch, S., Watcharachaipong, T., Poonkhum, R., Srisukonth, C. (2002). Effect of ozone treatment on cell growth and ultrastructural changes in bacteria. **Journal of General and Applied Microbiology,** 48: 193-199.

Weinstein, R.A. (2001). Controlling antimicrobial resistance in hospitals: infection control and use of antibiotics. **Emerging Infectious Diseases.** 7(2): 188-92.

Yuk, H.G. and others. (2006). Effect of combined ozone and organic acid treatment for control of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* on Enoki mushroom," **Food Control**.