รายงานการวิจัย

เรื่อง

การลดปริมาณ *Listeria monocytogenes* ปนเปื้อนบนผักด้วยสารละลายโอโซน

(Reducing of *Listeria monocytogenes* Contaminated on Vegetables

by Ozone)

จัดทำโดย

ดร. วราภา มหากาญจนกุล และ นายณัฐวุฒิ มาสกรานต์

บทคัดย่อ

ก่อนหน้านี้สารละลายโอโซนได้ถูกนำมาใช้ในการบำบัดน้ำเสีย หรือล้างทำความสะอาดพื้นผิวในโรงงานอุตสาหกรรม ต่อมาได้เริ่มมีการนำสารละลายโอโซนมาใช้ในครัวเรือนเพื่อใช้ล้างทำความสะอาดผักผลไม้สด เพื่อรักษาคุณค่าทางโภชนาการของผักผลไม้ และช่วยยืดอายุการเก็บ เพราะโอโซนมีความสามารถในการเป็นตัวออกซิไดซ์ที่แรงจึงมีประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์ได้ดี และยังไม่สร้างสารพิษตกค้างเหมือนสารประกอบคลอรีนซึ่งเป็นสารฆ่าเชื้อที่นิยมใช้ในปัจจุบัน ดังนั้นการเลือกใช้สารละลายโอโซนจึงน่าจะเป็นอีกทางเลือกที่จะเพิ่มความปลอดภัยในการบริโภคผักผลไม้สด จากการทดลองล้างผักกาดหอม ข้าวโพดฝักอ่อน และกะหล่ำปลีหั่นฝอยสร้างการปนเปื้อนด้วยเซลล์ *L. monocytogenes* ที่ความเข้มข้นเซลล์เริ่มต้นสูง (10^4 CFU/ml) และต่ำ (10^2 CFU/ml) พบว่าการแช่สารละลายโอโซนความเข้มข้นตั้งแต่ 0.2 ppm ที่อุณหภูมิ 30 ($\pm$2)°C เป็นเวลา 5 นาที สามารถทำลายเซลล์ *L. monocytogenes* ลงได้ 4 $\log_{10}$CFU/mL หรือ 100% ที่ความเข้มข้นต่ำกว่า คือ 0.1 ppm นั้นสามารถลดปริมาณ *L. monocytogenes* ในผักทั้งสามชนิดซึ่งปนเปื้อน *L. monocytogenes* ได้ตั้งแต่ 1.4-2.1 $\log_{10}$CFU/mL จากปริมาณเชื้อ *L. monocytogenes* เริ่มต้น 4.6-4.8 $\log_{10}$CFU/mL หากผักปนเปื้อน *L. monocytogenes* ต่ำกว่า คือ 10^2 CFU/ml สามารถทำลายเซลล์ *L. monocytogenes* ลงได้หมดโดยแช่ผักที่สารละลายโอโซนความเข้มข้น 0.1 ppm จากปริมาณเชื้อเริ่มต้นในผักกาดหอม ข้าวโพดฝักอ่อน และกะหล่ำปลีหั่นฝอย 2.7 $\log_{10}$CFU/mL ความเข้มข้นของสารละลายโอโซน 0.3 และ 0.5 ppm มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Aerobic Plate Count หรือ APC) ที่ดีที่สุด ในผักกาดหอมสารละลายโอโซนความเข้มข้น 0.3 ppm สามารถลดปริมาณ APC ลงได้ 1.5 $\log_{10}$CFU/mL และที่ความเข้มข้น 0.5 ppm สามารถลดลงได้ 1.6 $\log_{10}$CFU/mL ขณะที่การล้างด้วยข้าวโพดฝักอ่อนที่สารละลายโอโซนความเข้มข้น 0.3 และ 0.5 ppm สามารถลดปริมาณ APC ลงได้ 1.9 และ 2.0 $\log_{10}$CFU/mL ตามลำดับ และในกะหล่ำปลีหั่นฝอยสามารถลดปริมาณ APC ลงได้ 1.9 และ 1.9 $\log_{10}$CFU/mL ตามลำดับ โดยในผักทั้ง 3 ชนิดไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางลักษณะประสาทสัมผัส เมื่อทำการทดลองล้างผักที่ผ่านการปนเปื้อน *L. monocytogenes* ความเข้มข้นต่ำ (10^2 CFU/ml) และผักที่ไม่ผ่านการปนเปื้อนด้วยสารละลายโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0.3 และ 0.5 ppm เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิห้อง (30$\pm$2°C) ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสม เพื่อลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและปริมาณ *L. monocytogenes* ซึ่งปนเปื้อนในผักระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (30$\pm$2°C) 4$\pm$1°C และ 10$\pm$1°C นั้น การล้างผักด้วยวิธีดังกล่าวนี้ยืดอายุการเก็บของผักได้ไม่แตกต่างจากการล้างด้วยน้ำประปา แม้ว่าจะสามารถลดปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นจาก

การล้างผักได้เฉลี่ย 1.5–2.5 log_{10}CFU/ml ก็ตาม จุลินทรีย์ normal flora ที่เหลือรอดจากการทำลายของสารละลายโอโซนยังสามารถเพิ่มปริมาณได้ในระหว่างการเก็บรักษาแต่เพิ่มจำนวนได้ช้ากว่าการล้างผักด้วยน้ำประปาในช่วง 6 วันแรก อย่างไรก็ดีการใช้สารละลายโอโซนสามารถทำลายแบคทีเรียชนิดก่อให้เกิดโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพทำให้ผู้บริโภคลดความเสี่ยงในการบริโภคผักผลไม้ที่อาจมีการปนเปื้อนของแบคทีเรียชนิดก่อให้เกิดโรคได้

ตรวจเอกสาร

ผักผลไม้มีโอกาสปนเปื้อนจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ตั้งแต่ระหว่างการเพาะปลูก การเก็บเกี่ยว การจัดการหลังการเก็บเกี่ยว การแปรรูป รวมทั้งระหว่างการจัดจำหน่าย (Beuchat, 1999) ซึ่งกระบวนการแปรรูปขั้นต่ำหรือ Minimally Process เป็นอีกกระบวนการหนึ่งที่นิยมใช้ในการแปรรูปผักผลไม้ กระบวนการนี้มีจุดประสงค์เพื่อทำให้ผักผลไม้คงความสดเหมือนธรรมชาติ มีการตัดแต่งเพื่อสะดวกในการบริโภค แต่มีข้อเสีย คือ ทำให้ผักผลไม้มีความบอบบางยิ่งขึ้น จึงง่ายต่อการเข้าทำลายของจุลินทรีย์โดยเฉพาะชนิดที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย นอกเหนือจากจุลินทรีย์กลุ่มนี้ ยังพบการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ชนิดที่ทำให้เกิดโรคเกี่ยวกับระบบทางเดินอาหาร ได้แก่ *Salmonella spp. , Escherichia coli , Listeria spp. , Shigella spp.* และ *Staphylococcus aureus* มีการตรวจพบจุลินทรีย์เหล่านี้ปนเปื้อนใน กะหล่ำปลี ผักกาดขาว ผักกาดหอม มะเขือเทศ แครอท โคลสลอร์ (coleslaw) และสลัด (Beuchat, 1996 ; Beuchat, 1999)

ในบรรดาแบคทีเรียชนิดที่ก่อให้เกิดโรคเนื่องจากผักผลไม้เป็นพาหะ *Listeria monocytogenes* เป็นแบคทีเรียชนิดที่ก่อให้เกิดโรคร้ายแรงได้ในคนและสัตว์ โดยเฉพาะในคนที่มีภูมิคุ้มกันต่ำหรือภูมิคุ้มกันบกพร่อง (Lovette และคณะ, 1985) แบคทีเรียชนิดนี้มีแหล่งจากผักที่เน่าเสีย น้ำที่ใช้รดผัก ในดินที่เพาะปลูก โดยเฉพาะการใช้ปุ๋ยคอกเพื่อเพิ่มผลผลิต ปุ๋ยหมักที่ไม่ได้คุณภาพผลิตจากมูลสัตว์เป็นแหล่งของจุลินทรีย์ชนิดนี้ประกอบกับสมบัติที่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำเช่นอุณหภูมิตู้เย็น จึงมักพบแบคทีเรียชนิดนี้ในอาหารที่เก็บในตู้เย็น ผักผลไม้สดที่เก็บในตู้เย็นจึงจำเป็นต้องล้างให้ถูกวิธีก่อนการบริโภค เพื่อลดปริมาณของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคนี้ที่อาจปนเปื้อนมาได้เพื่อลดโอกาสเสี่ยงต่อโรคที่เกิดจากผักผลไม้เป็นพาหะ ผู้บริโภคจึงถูกแนะนำให้ใช้สารฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งมีจำหน่ายหลายชนิดในท้องตลาดเพื่อล้างผักผลไม้

สารฆ่าเชื้อที่นิยมใช้และจำหน่ายในทางการค้า ได้แก่ ด่างทับทิม สารประกอบไบคาร์บอเนต ตลอดจนสารประกอบคลอรีนชนิดต่างๆ เช่น สารประกอบคลอไรท์ ไฮโปคลอไรท์ แต่พบว่าสารฆ่าเชื้อบางชนิดยังไม่มีประสิทธิภาพดีพอในการฆ่าเชื้อหรือลดจำนวนจุลินทรีย์ สารฆ่าเชื้อบางชนิด เช่น สารสารประกอบคลอรีนเมื่อใช้ในปริมาณมากจะทำให้เกิดสารประกอบฮาโลเจนที่เป็นพิษได้ ด้วยเหตุนี้จึงได้มีการพยายามเลือกใช้สารฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่มีความเป็นพิษน้อยลง เช่น การใช้สารละลายของคลอรีนไดออกไซด์ในการล้างอาหารเนื่องจากพบว่ามีประสิทธิภาพดีในการฆ่าเชื้อโดยเฉพาะในสภาวะที่มีสารอินทรีย์ปะปนซึ่งปกติจะลดประสิทธิภาพของสาร

ประกอบคลอรีน อีกทั้งสารละลายของคลอรีนไดออกไซด์จะมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อสูงกว่าคลอรีนที่ความเข้มข้นต่ำกว่า ช่วยลดปริมาณการใช้สารประกอบคลอรีน ลดแนวโน้มของความเป็นพิษของสารตกค้างที่เกิดขึ้นน้อยลง อย่างไรก็ดียังมีปัจจัยหลายประการที่มีผลต่อประสิทธิภาพของคลอรีนไดออกไซด์ในการทำลายและยับยั้งจุลินทรีย์ ได้แก่ ความเข้มข้น อุณหภูมิ ชนิดของจุลินทรีย์ ชนิดของผักผลไม้ รวมทั้งยังไม่มีกฎหมายในประเทศไทยที่จะยอมรับในการใช้สารละลายคลอรีนไดออกไซด์ในการล้างผักผลไม้ จึงได้นำโอโซนมาใช้ศึกษาเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์เนื่องจากมีความสามารถในการเป็นตัวออกซิไดซ์ที่แรงเช่นกัน และมีรายงานว่าไม่สร้างสารพิษตกค้างเหมือนคลอรีน สามารถใช้ในรูปของน้ำโอโซนเพื่อล้างทำความสะอาดบริเวณพื้นผิวหรือใช้ในรูปของแก๊สโอโซนฉีดพ่นภายในห้องเก็บรักษาได้

Kim และคณะ (1999) ได้ศึกษาการใช้น้ำโอโซน ในการล้างผักกาดหอมหั่นฝอย โดยการพ่นโอโซนความเข้มข้น 1.3 mM ลงในน้ำที่มีผักกาดหอมหั่นฝอย(1:20,w/w) ด้วยอัตราการฉีด 0.5 ลิตร/นาที ทำการคนอย่างเร็วในเวลา 3 นาที พบว่าสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์จากปริมาณเชื้อเริ่มต้นได้ 2 $\log_{10}$CFU/g โดยวิธีการเดียวกันนี้ Kondo และคณะ (1989) (อ้างใน Xu, 1999) พบว่าสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ในผักกาดหอมลงได้มากกว่า 90% ต่อมา Cherry (1999) ได้เสนอให้ใช้โอโซนเป็นทางเลือกใหม่ในการใช้ล้างผักผลไม้โดยรายงานว่าโอโซน 1-4 ppm สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์จากปริมาณเชื้อเริ่มต้นลงได้ 1-3 $\log_{10}$CFU/g โอโซนมีสมบัติออกซิไดซ์ได้ดีกว่าคลอรีนถึง 1.5 เท่า จึงมีประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์ได้หลายชนิดกว่าคลอรีนและสารฆ่าเชื้อชนิดอื่นๆ แต่ข้อจำกัด คือ โอโซนมีครึ่งชีวิตในน้ำที่อุณหภูมิห้องเพียง 20 นาที จึงมีประสิทธิภาพในการทำงานจำกัด แต่หลังจากนั้นโอโซนจะสลายตัวเป็นแก๊สออกซิเจนซึ่งปลอดภัย (Graham, 1997) ยังมีรายงานอีกว่าโอโซนสามารถทำลายฤทธิ์ของยาฆ่าแมลงที่ปนเปื้อนในผักผลไม้รวมทั้งสารตกค้างต่างๆ เช่น อนุพันธ์คลอรีนซึ่งเป็นที่สนใจในเรื่องความปลอดภัยจากการตกค้างของสารเคมีเกษตรโดยเฉพาะในผักผลไม้และผลิตภัณฑ์ (Xu, 1999)

ในการวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษา ประสิทธิภาพของสารละลายโอโซนเพื่อเสนอระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมในการลดปริมาณจุลินทรีย์ปนเปื้อนบนผัก ได้แก่ ผักกาดหอม ข้าวโพดฝักอ่อน และกะหล่ำปลีหั่นฝอย โดยใช้ *Listeria monocytogenes* เป็นตัวแทนของแบคทีเรียชนิดก่อให้เกิดโรค เนื่องจากมีสมบัติทนต่อสารฆ่าเชื้อต่างๆได้ดี ศึกษาชนิดของผักซึ่งคาดว่ามีผลต่อประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อชนิดนี้ในการยับยั้งและทำลายจุลินทรีย์แตกต่างกัน และศึกษาผลของสารละลายโอโซน

ในการยืดอายุการเก็บของผักระหว่างการเก็บรักษาโดยจำลองสภาวะการเก็บในตู้เย็นคล้ายกับการจัดจำหน่ายในตลาดซูเปอร์มาร์เกต

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาประสิทธิภาพของสารละลายโอโซน ภายใต้ปัจจัยของความเข้มข้นที่กำหนดเพื่อลดปริมาณ *L. monocytogenes* ที่สร้างการปนเปื้อนปริมาณมากและปริมาณน้อยในผักกาดหอม ข้าวโพดฝักอ่อน และกะหล่ำปลีหั่นฝอย

2. ศึกษาผลของสารละลายโอโซนในการยืดอายุการเก็บของผักกาดหอม ข้าวโพดฝักอ่อน และกะหล่ำปลีหั่นฝอยที่ปนเปื้อนจุลินทรีย์ตามธรรมชาติและผักที่สร้างการปนเปื้อนปริมาณน้อยในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ($30\pm2^{\circ}C$), อุณหภูมิตู้เย็น $4\pm1^{\circ}C$ และ $10\pm1^{\circ}C$ ภายใต้สภาวะเลียนแบบระหว่างการเก็บรักษาและรอจำหน่าย

วิธีการ

1. การเตรียมเซลล์ *L. monocytogenes*

เพาะเชื้อ *L. monocytogenes* (NCTC 11994) จาก stock culture ($5^{\circ}C$) เขี่ยเชื้อลงใน TSB 10 มิลลิลิตร เพาะเชื้อที่อุณหภูมิ $37^{\circ}C$, 24 ชั่วโมง ถ่ายเชื้อ 1 loop ลงใน TSB 10 มิลลิลิตร หลอดใหม่ นำไปเพาะเชื้อต่อที่อุณหภูมิ $37^{\circ}C$, 24 ชั่วโมง ในวันที่สามของการถ่ายเชื้อ จึงถ่ายเชื้อ 1 มิลลิลิตร ลงใน TSB 100 มิลลิลิตร เพาะเชื้อที่อุณหภูมิ $37^{\circ}C$, 16 ชั่วหลังจากนั้นปรับให้เซลล์มีความเข้มข้น 10^6 และ 10^4 CFU/ml โดยเจือจางด้วยสารละลายเปปโตนร้อยละ 0.1 ตรวจนับจำนวนเซลล์โดยเทคนิค spread plate บนอาหาร Trysticase Soy Agar (TSA, Merck) เพาะเชื้อที่ $37^{\circ}C$ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.ศึกษาประสิทธิภาพของสารละลายโอโซนภายใต้ปัจจัยของความเข้มข้น เวลา และอุณหภูมิเพื่อทำลาย *L. monocytogenes* ในผักกาดหอม ข้าวโพดฝักอ่อน และกะหล่ำปลีหั่นฝอย

2.1 การเตรียมตัวอย่าง

คัดผักกาดหอมที่มีน้ำหนัก 10–12 กรัม/ใบหรือ 2 ใบต่อหนึ่งครั้งการทดลอง ส่วนข้าวโพดฝักอ่อนเลือกที่มีน้ำหนัก 10-12 กรัม/ฝัก หรือประมาณ 2 ฝัก ต่อหนึ่งครั้งการทดลอง เลือกใบหรือฝักที่มีความแก่อ่อนเท่ากัน ขนาดของใบและลำต้นใกล้กัน ผักกาดหอมใช้เฉพาะส่วนใบไม่ใช้ส่วนใจกลางของผัก ตัดหมวกข้าวโพดฝักอ่อนทิ้งเพื่อให้มีขนาดใกล้เคียงกัน กะหล่ำปลีนำใบส่วนนอกสุดออก 2-3 ใบ ผ่าแบ่งออกเป็น 4 ส่วนเท่าๆกัน ตัดแกนกลาง หั่นฝอยให้มีขนาดเท่าๆกันประมาณ 3-5 cm ล้างผักทั้ง 3 ชนิดด้วยน้ำประปาเพื่อเอาสิ่งสกปรกออก สะเด็ดน้ำให้แห้งบนตะแกรงฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 30$\pm$2.0 องศาเซลเซียส ตรวจสอบปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในธรรมชาติ (background flora) ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA อีกส่วนหนึ่งสร้างการปนเปื้อนโดยเติมเชื้อ *L. monocytogenes* ความเข้มข้นสุดท้าย10^6 CFU/ml และ 10^4 CFU/ml เจือจางโดยสารละลายเปปโตน ก่อนนำผักที่สร้างการปนเปื้อนไปล้างที่สภาวะต่างๆ ตรวจนับปริมาณเชื้อเริ่มต้นด้วยอาหาร Oxford agar (OX agar, Oxoid)

2.2 การล้างตัวอย่างผักกาดหอม ข้าวโพดฝักอ่อน และกะหล่ำปลีหั่นฝอยด้วยสารละลายโอโซนเพื่อลดปริมาณ *L. monocytogenes*

นำตัวอย่างผักกาดหอมและข้าวโพดฝักอ่อนที่สร้างการปนเปื้อนเซลล์ *L. monocytogenes* ปริมาณมาก(10^4 CFU/ml) หรือน้อย(10^2 CFU/ml) แช่ในสารละลายโอโซนที่ความเข้มข้น 0.1 0.2 0.3 0.4 หรือ 0.5 ppm โดยผักจะถูกบรรจุในถุงโพลีเอทธีลีน(ขนาด 12X14 นิ้ว) สัดส่วนน้ำ:ผัก คือ 10:1 เขย่าภายใต้ shaker bath ตลอดเวลาเป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิ 30$\pm$2 องศาเซลเซียส วางบนตะแกรงสะเด็ดน้ำบนผักให้แห้งในตู้ laminar flow ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำไปตรวจสอบปริมาณ *L. monocytogenes* ด้วยเทคนิค rinse test โดยเจือจางด้วยสารละลายเปปโตน 0.1% จนได้ความเข้มข้นที่ต้องการ ตรวจนับแบคทีเรียที่รอดชีวิตด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA และ OX ด้วยเทคนิค spread plate (ทำ 2 ซ้ำ) เพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37°C,

24 ชั่วโมง ตรวจจำนวนโคโลนีปรากฏบนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งสองชนิดนั้น บันทึกจำนวนเป็น (CFU/ml)

3.ศึกษาผลของสารละลายโอโซนในการยืดอายุการเก็บผักกาดหอม ข้าวโพดฝักอ่อน และกะหล่ำปลีหั่นฝอย ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (30±2°C) , 4±1°C และ 10±1 °C

นำผักกาดหอม ข้าวโพดฝักอ่อน และกะหล่ำปลีหั่นฝอยล้างด้วยสารละลายโอโซนที่สภาวะที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการลดจำนวนจุลินทรีย์จากการทดลองที่ 2.2 บรรจุในถุงโพลีเอทธีลีน นำไปเก็บที่อุณหภูมิห้อง (30±2°C), 4±1°C และ 10±1°C ผักกาดหอมที่อุณหภูมิห้อง สุ่มเก็บตัวอย่างตรวจทุก 3 ชั่วโมง จนครบ 48 ชั่วโมง ส่วนข้าวโพดฝักอ่อนและกะหล่ำปลีหั่นฝอย ที่อุณหภูมิห้องสุ่มเก็บตัวอย่างตรวจทุกวันเป็นเวลา 6 วัน ส่วนการเก็บรักษาผักทั้งสามชนิดที่อุณหภูมิ 4 และ 10°C นั้นสุ่มเก็บตัวอย่างผักตรวจในวันที่ 0 2 4 6 8 และ 10 วัน ตรวจสอบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในผักกาดหอม ข้าวโพดฝักอ่อน และกะหล่ำปลีหั่นฝอย ในระหว่างการเก็บรักษาใช้เทคนิค rinse test และ spread plate เพาะเชื้อบนอาหาร TSA ที่ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีที่ปรากฏคำนวนเป็น CFU/ml ส่วนผักกาดหอม ข้าวโพดฝักอ่อน และกะหล่ำปลีหั่นฝอยที่ผ่านการสร้างการปนเปื้อน *L. monocytogenes* ปริมาณน้อย (10^2 CFU/ml) ทำการทดลองในทำนองเดียวกัน และนำไปตรวจปริมาณ *L. monocytogenes* ที่รอดชีวิตด้วยเทคนิค rinse test โดยเจือจางด้วยสารละลายเปปโตน 0.1% จนได้ความเข้มข้นที่ต้องการตรวจนับแบคทีเรียที่รอดชีวิตด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA และ OX ด้วยเทคนิค spread plate (ทำ 2 ซ้ำ) เพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37°C , 24 ชั่วโมง

ผลและวิจารณ์การทดลอง

<u>ความเข้มข้นและเวลาที่เหมาะสมในการใช้สารละลายโอโซนล้างผักกาดหอม ข้าวโพดฝักอ่อน และกะหล่ำปลีหั่นฝอย</u>

การล้างผักกาดหอม ข้าวโพดฝักอ่อน และกะหล่ำปลีหั่นฝอยในสารละลายโอโซน ซึ่งจากการทดลองพบว่าสามารถคงตัวได้ที่อุณหภูมิห้อง (30±2°C) เป็นเวลา 5 นาที โดยการที่สารละลายโอโซนมีการคงตัวได้น้อยกว่าปกติ (20 นาที Graham, 1997) เพราะอุณหภูมิห้องของประเทศไทยซึ่งเป็นเมืองร้อนมีอุณหภูมิสูงกว่าของต่างประเทศที่มีสภาพภูมิอากาศต่ำกว่าเป็นเหตุให้ครึ่งชีวิตของโอโซนลดลง รวมทั้งคุณภาพของน้ำประปาที่ใช้ซึ่งมีปริมาณคลอรีนสูง พบว่าสารละลายโอโซนสามารถลดปริมาณ Aerobic Plate Count (APC) ได้มากที่สุด คือ ความเข้มข้น 0.3 และ 0.5 ppm สารละลายโอโซน 0.3 ppm สามารถลดปริมาณ APC ในผักกาดหอมได้ 1.5 $\log_{10}$CFU/mL ที่ความเข้มข้น 0.5 ppm สามารถลดลงได้ 1.6 $\log_{10}$CFU/mL ขณะที่สารละลายโอโซน 0.3 และ 0.5 ppm สามารถลดปริมาณ APC ในข้าวโพดฝักอ่อนได้ 1.9 และ 2.0 $\log_{10}$CFU/mL ตามลำดับ ที่ความเข้มข้นเดียวกันกับข้างต้น พบว่าสามารถลดปริมาณ APC ในกะหล่ำปลีหั่นฝอยลงได้ 1.9 และ 1.9 $\log_{10}$CFU/mL ตามลำดับ (ตารางที่ 1) โดยผักทั้ง 3 ชนิดไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางลักษณะประสาทสัมผัสทั้งสี กลิ่น และเนื้อสัมผัส สารละลายโอโซนที่ใช้ล้างที่ความเข้มข้น 0.3 และ 0.5 ppm ไม่มีสีและกลิ่นรบกวน การที่ยังคงเหลือปริมาณ APC อยู่ในตัวอย่างโดยสารละลายโอโซนไม่สามารถทำลายได้ทั้งหมดเพราะมีการปนเปื้อนในปริมาณที่สูงแม้ว่าสารละลายโอโซนจัดเป็นตัวออกซิไดส์ที่แรงก็ตามแต่การที่สามารถลดได้ในระดับหนึ่งนับว่าจะเป็นประโยชน์ในการยืดอายุการเก็บรักษาเพราะ APC เป็นสาเหตุที่ทำให้ผักเกิดการเสื่อมเสียหากสามารถลดปริมาณลงได้ย่อมเป็นประโยชน์ในอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องได้

<u>ประสิทธิภาพของสารละลายโอโซนในการล้างผักกาดหอม ข้าวโพดฝักอ่อน และกะหล่ำปลีหั่นฝอยที่สร้างการปนเปื้อนด้วย *L. monocytogenes* ระดับต่ำ (10^2CFU/mL) และระดับสูง (10^4CFU/mL)</u>

<u>การปนเปื้อนปริมาณต่ำ</u> การล้างผักปนเปื้อนทั้ง 3 ชนิด ด้วยสารละลายโอโซนความเข้มข้นตั้งแต่ 0.1-0.5 ppm เปรียบเทียบกับการล้างด้วยน้ำประปา พบว่าสารละลายโอโซนความเข้มข้น 0.1 ppm สามารถลดปริมาณการปนเปื้อน *L. monocytogenes* ในผักทั้งสามชนิดลงได้จาก

ปริมาณเชื้อเริ่มต้นเฉลี่ย 2.7 log_{10}CFU/mL ได้หมด ตรวจไม่พบเซลล์ *L. monocytogenes* โดยการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ OX agar ที่ความเข้มข้น 0.3 และ 0.5 ppm สามารถลดปริมาณ APC ได้ดีกว่าความเข้มข้นอื่นๆ ลด APC ในผักกาดหอมลงได้ 1.9-2.0 log_{10}CFU/mL ในข้าวโพดฝักอ่อนลด APC 1.8 log_{10}CFU/mL และในกะหล่ำปลีหั่นฝอยลด APC ลงได้ 2.1-2.2 log_{10}CFU/mL จากปริมาณเชื้อเริ่มต้น 5.0-5.3 log_{10}CFU/mL ในผักทั้งสามชนิด การที่สารละลายโอโซนสามารถทำลายเซลล์ *L. monocytogenes* ได้หมดที่ความเข้มข้น 0.1 ppm เพราะเป็นการปนเปื้อนในระดับต่ำสารละลายโอโซนซึ่งมีสมบัติเป็นตัวออกซิไดซ์ที่แรงจึงสามารถทำลายเซลล์ *L. monocytogenes* ในระดับนี้ได้หมด แต่ปริมาณของ APC ที่มีอยู่ในตามธรรมชาติมีการปนเปื้อนสูงกว่าทำให้ไม่สามารถทำลายได้หมดแต่ทำลายได้เพียงแค่ในระดับหนึ่ง (ตารางที่ 1)

<u>การปนเปื้อนปริมาณสูง</u> ในทำนองเดียวกันการล้างผักทั้งสามชนิดนั้นด้วยสารละลายโอโซนความเข้มข้น 0.1-0.5 ppm และน้ำประปา พบว่าความเข้มข้นของสารละลายโอโซนที่มีประสิทธิภาพดีสามารถลดปริมาณ *L. monocytogenes* ลงได้ทั้งหมด (100%) คือ ความเข้มข้นมากกว่าหรือเท่ากับ 0.2 ppm ที่ความเข้มข้นต่ำกว่า คือ 0.1 ppm นั้น สามารถลดปริมาณ *L. monocytogenes* ลงได้ 2.1, 2.0 และ 1.4 log_{10}CFU/mL จากปริมาณเชื้อ *L. monocytogenes* เริ่มต้น 4.8, 4.6 และ 4.6 log_{10}CFU/mL ในผักกาดหอม ข้าวโพดฝักอ่อน และกะหล่ำปลีหั่นฝอยตามลำดับ สำหรับการลดปริมาณ APC นั้นที่ความเข้มข้นของสารละลายโอโซน 0.3 และ 0.5 ppm ยังคงมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณ APC ในผักทั้ง 3 ชนิดที่มีการปนเปื้อน *L. monocytogenes* ในระดับสูงได้ดี สามารถลดปริมาณ APC ในผักกาดหอมได้ 2.1-2.7 log_{10}CFU/mL ในข้าวโพดฝักอ่อนสามารถลดปริมาณ APC ลงได้ 2.2-2.3 log_{10}CFU/mL และในกะหล่ำปลีหั่นฝอยสามารถลดปริมาณ APC ได้ 2.0-2.5 log_{10}CFU/mL จากปริมาณเชื้อเริ่มต้นเฉลี่ย 5.1 log_{10}CFU/mL (ตารางที่ 1) จะเห็นได้ว่าเมื่อเซลล์ *L. monocytogenes* มีการปนเปื้อนในปริมาณที่สูงขึ้นทำให้ต้องเพิ่มระดับความเข้มข้นสารละลายโอโซนให้สูงขึ้นเพื่อให้สามารถทำลายเซลล์ได้หมดแสดงว่าปริมาณการปนเปื้อนมีผลต่อประสิทธิภาพของสารละลายโอโซน

<u>การเก็บรักษาผักกาดหอมที่ปนเปื้อนเชื้อตามธรรมชาติที่อุณหภูมิห้อง (30±2°C)</u>

ผักกาดหอมที่ปนเปื้อนเชื้อตามธรรมชาติ (normal flora) หรือไม่ผ่านการสร้างการปนเปื้อน มีปริมาณ APC เริ่มต้น 5.3 log_{10}CFU/mL หลังล้างด้วยน้ำประปา ต่อมาเมื่อล้างด้วยสารละลายโอโซน 0.3 และ 0.5 ppm ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 นาที จะมีปริมาณเชื้อเริ่มต้นลดลง

ตารางที่ 1 ประสิทธิภาพของสารละลายโอโซนในการลดปริมาณการปนเปื้อน *L. monocytogenes* ในผักกาดหอม ข้าวโพดฝักอ่อน และกะหล่ำปลีหั่นฝอยที่ไม่ผ่านการปนเปื้อน ผ่านการปนเปื้อนต่ำ (10^2CFU/mL) และผ่านการปนเปื้อนสูง (10^4CFU/mL)

Treatment	Log_{10}CFU/mL					
	Lettuce		Baby corn		Cabbage	
	APC[a]	LM[b]	APC	LM	APC	LM
Uninoculate						
Tap water	5.23±0.42	-	5.60±0.07	-	5.58±0.17	-
0.1 ppm	4.73±0.00	-	4.69±0.05	-	4.65±0.14	-
0.2 ppm	4.60±0.05	-	4.65±0.18	-	4.69±0.05	-
0.3 ppm	3.74±0.09	-	3.68±0.08	-	3.66±0.19	-
0.4 ppm	4.68±0.15	-	4.79±0.05	-	4.78±0.10	-
0.5 ppm	3.60±0.23	-	3.56±0.08	-	3.73±0.11	-
10^2CFU/mL						
Tap water	5.21±0.42	2.65±0.11	4.94±0.09	2.67±0.20	5.30±0.57	2.72±0.00
0.1 ppm	4.62±0.13	ND[c]	4.57±0.15	ND	4.27±0.47	ND
0.2 ppm	4.63±0.15	ND	4.64±0.09	ND	4.31±0.37	ND
0.3 ppm	3.33±0.54	ND	3.11±0.46	ND	3.19±0.83	ND
0.4 ppm	4.24±0.58	ND	4.15±0.67	ND	4.20±0.59	ND
0.5 ppm	3.23±0.64	ND	3.13±0.59	ND	3.05±0.62	ND
10^4CFU/mL						
Tap water	5.30±0.55	4.77±0.09	4.80±0.03	4.62±0.08	5.14±0.49	4.61±0.06
0.1 ppm	4.63±0.03	2.71±0.11	4.64±0.01	2.61±0.21	4.69±0.00	3.19±0.67
0.2 ppm	4.24±0.61	ND	4.21±0.63	ND	4.77±0.06	ND
0.3 ppm	3.23±0.63	ND	2.50±0.07	ND	3.19±0.68	ND
0.4 ppm	3.41±0.61	ND	3.74±0.06	ND	4.26±0.76	ND
0.5 ppm	2.62±0.00	ND	2.64±0.09	ND	2.61±0.06	ND

[a]APC = Population of total microorganisms on TSA

[b]LM = Population of *L. monocytogenes* on OX agar

[c]ND = Not detected (< 25 CFU/mL)

คือ 2.9 และ 2.8 log_{10}CFU/mL ตามลำดับ หรือสารละลายโอโซนสามารถทำลายปริมาณ APC เริ่มต้นลงได้ 2.4-2.5 log_{10}CFU/mL เมื่อเก็บรักษาผักกาดหอมไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30±2°C) ผักกาดหอมที่ผ่านการล้างด้วยสารละลายโอโซนทั้งสองความเข้มข้นยังคงมีปริมาณ APC ต่ำกว่าผักกาดหอมที่ผ่านการล้างด้วยน้ำประปาในเวลา 9 ชั่วโมง แต่เมื่อเวลาผ่านไป 12 ชั่วโมง ปริมาณ APC ในผักที่ล้างด้วยน้ำประปาและสารละลายโอโซนเพิ่มขึ้น APC ในผักที่ล้างด้วยสารละลายโอโซนจะมีปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้นมากจนใกล้เคียงกับผักที่ล้างด้วยน้ำประปาเพียงอย่างเดียว และเมื่อเวลาผ่านไปจนถึง 24 ชั่วโมง มีปริมาณ APC เพิ่มสูงขึ้นไม่แตกต่างกัน และตัวอย่างผักทั้ง 3 ชนิด เน่าเสียบริเวณแกนผักกลายเป็นสีดำ มีน้ำเยิ้มภายในถุงทั้ง 3 การทดลอง และมีกลิ่นเหม็นเปรี้ยวที่เวลา 24-27 ชั่วโมง (ตารางที่ 2) การที่ปริมาณ APC ในผักที่ล้างด้วยสารละลายโอโซนสามารถเพิ่มปริมาณขึ้นมาได้อีกเพราะคุณสมบัติที่เซลล์ของจุลินทรีย์มีความสามารถในการซ่อมแซมตัวเองได้เมื่อเวลาผ่านไปโดยช่วงแรกของการเก็บรักษาเป็นช่วงที่เซลล์อยู่ในระยะ lag phase ต่อมาเมื่อเซลล์เริ่มมีความแข็งแรงสภาพเซลล์อยู่ในระยะสมบูรณ์เต็มที่จัดเป็นช่วง log phase ช่วงนี้เซลล์สามารถเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็วทำให้ตรวจพบว่ามีปริมาณ APC เพิ่มจำนวนขึ้นจนใกล้เคียงกับผักที่ล้างด้วยน้ำประปาแล้วทำให้ตัวอย่างเสียในที่สุด

<u>การเก็บรักษาผักกาดหอมปนเปื้อนเชื้อตามธรรมชาติที่อุณหภูมิ 4±1°C และ 10±1°C</u>

การเก็บรักษาผักกาดหอมที่อุณหภูมิ 4±1°C เป็นระยะเวลา 2 วัน ปริมาณ APC ในผักกาดหอมที่ล้างด้วยน้ำประปา สารละลายโอโซน 0.3 และ 0.5 ppm ไม่เปลี่ยนแปลง ต่อมาในวันที่ 4 ของการเก็บ ปริมาณ APC ในผักกาดหอมที่ผ่านการล้างด้วยสารละลายโอโซนทั้งสองความเข้มข้นมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น ในวันที่ 6-8 ปริมาณ APC ของผักที่ผ่านการล้างด้วยสารละลายโอโซนทั้งสองความเข้มข้นเพิ่มสูงขึ้นใกล้เคียงกับผักที่ล้างด้วยน้ำประปาจนถึงวันสุดท้ายของการเก็บรักษา คือ วันที่ 12 ทุกตัวอย่างจะเหี่ยว ซีด จนไม่เป็นที่ยอมรับในวันที่ 14 ของการเก็บ ส่วนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิสูงกว่า คือ 10±1°C ปริมาณ APC ไม่เปลี่ยนแปลงในช่วง 2 วันแรกของการเก็บมากนัก ปริมาณ APC มีแนวโน้มสูงขึ้น ในวันที่ 4 และ 6 ของการเก็บ ในวันที่ 8 ทุกตัวอย่างมี APC เพิ่มสูง

ตารางที่ 2 ผลการเก็บรักษาผักกาดหอมที่ปนเปื้อนตามธรรมชาติและผ่านการปนเปื้อน *L. monocytogenes* ต่ำ (10^2CFU/mL) ที่อุณหภูมิห้อง (30±2°C) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

Treatment / Time (h)	Log_{10}CFU/mL					
	Tap water		Ozone 0.3 ppm		Ozone 0.5 ppm	
	APC[a]	LM[b]	APC	LM	APC	LM
Uninoculate						
0	5.29±0.56	-	2.90±0.01	-	2.76±0.12	-
3	4.83±0.09	-	2.69±0.15	-	2.64±0.08	-
6	4.89±0.03	-	2.88±0.17	-	2.86±0.06	-
9	5.02±0.03	-	3.82±0.03	-	3.80±0.10	-
12	5.64±0.10	-	4.69±0.08	-	4.76±0.01	-
15	6.03±0.05	-	5.06±0.00	-	5.03±0.04	-
18	5.95±0.07	-	4.94±0.03	-	4.88±0.17	-
21	6.28±0.34	-	4.97±0.04	-	4.94±0.17	-
24	6.91±0.01	-	5.96±0.00	-	5.94±0.03	-
27	ตัวอย่างเสีย	-	ตัวอย่างเสีย	-	ตัวอย่างเสีย	-
10^2CFU/mL						
0	4.91±0.01	2.71±0.01	2.63±0.06	ND[c]	2.75±0.02	ND
3	4.84±0.08	2.70±0.12	2.71±0.04	ND	2.75±0.08	ND
6	4.83±0.00	2.79±0.06	2.87±0.17	ND	3.00±0.00	ND
9	5.04±0.00	2.94±0.06	3.74±0.03	ND	3.88±0.03	ND
12	5.77±0.06	3.74±0.13	4.78±0.00	ND	4.65±0.15	ND
15	5.99±0.02	3.93±0.06	4.95±0.01	ND	4.97±0.03	ND
18	5.87±0.14	3.80±0.19	4.91±0.05	ND	4.88±0.11	ND
21	6.30±0.59	3.95±0.11	4.93±0.09	ND	4.88±0.13	ND
24	6.93±0.01	3.96±0.05	6.19±0.37	ND	6.01±0.01	ND
27	7.81±0.29	4.36±0.46	6.99±0.13	ND	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย
30	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย

[a]APC = Population of total microorganisms on TSA

[b]LM = Population of *L. monocytogenes* on OX agar

[c]ND = Not detected (< 25 CFU/mL)

ขึ้นจนใกล้เคียงกัน วันที่ 12 ซึ่งเป็นวันสุดท้ายของการเก็บรักษาที่อุณหภูมินี้ ผักทั้ง 3 ตัวอย่าง จะมีลักษณะเหี่ยวมาก ใบนิ่ม และก้านใบมีสีดำคล้ำเล็กน้อย (ตารางที่ 3) จะเห็นได้ว่าอุณหภูมิต่ำมีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์แสดงว่าอุณหภูมิต่ำสามารถชะลอการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เน่าเสียได้

<u>การเก็บรักษาผักกาดหอมปนเปื้อน *L. monocytogenes* ระดับต่ำที่อุณหภูมิห้อง (30±2°C)</u>

ทำการสร้างสภาวะการปนเปื้อน *L. monocytogenes* ระดับต่ำในผักกาดหอม แล้วทำการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30±2°C) โดยมีปริมาณ APC เริ่มต้นแตกต่างกันตั้งแต่ 4.9, 2.6 และ 2.8 $\log_{10}$CFU/mL ในผักที่ผ่านการล้างด้วยน้ำประปา และสารละลายโอโซนที่ 0.3 และ 0.5 ppm ตามลำดับ ผักที่ล้างด้วยน้ำประปายังคงมีการปนเปื้อน *L. monocytogenes* อยู่ในระดับต่ำคือ 2.7 $\log_{10}$CFU/mL ขณะที่ผักซึ่งผ่านการล้างด้วยสารละลายโอโซน 0.3 และ 0.5 ppm สามารถทำลาย *L. monocytogenes* ลงได้ทั้งหมด เมื่อเวลาผ่านไป 12 ชั่วโมงของการเก็บรักษา พบว่าผักทั้งสามยังคงมีปริมาณเชื้อทั้ง APC และ *L. monocytogenes* ใกล้เคียงกับที่ 0 ชั่วโมง แต่ที่ 12 ชั่วโมง พบว่าผักที่ผ่านการล้างด้วยน้ำประปามีปริมาณ APC และ *L. monocytogenes* เพิ่มสูงขึ้นเช่นเดียวกับ APC ในผักที่ผ่านการล้างด้วยสารละลายโอโซนทั้งสองความเข้มข้น และ APC มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆหลังจากทำการตรวจสอบทุก 3 ชั่วโมง ปริมาณ APC และ *L. monocytogenes* ในผักที่ผ่านการล้างด้วยน้ำประปามีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นจนถึง 7.8 และ 4.4 $\log_{10}$CFU/mL ที่เวลา 27 ชั่วโมง คือมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นประมาณ 3 และ 1.7 log จากที่ 0 ชั่วโมง ตัวอย่างเสียที่ 30 ชั่วโมง ผักจะเปลี่ยนเป็นสีดำบริเวณก้านและขอบใบ มีน้ำเยิ้มออกมา รวมทั้งมีกลิ่นเหม็นเปรี้ยว ในผักที่ผ่านการล้างด้วยสารละลายโอโซน 0.3 และ 0.5 ppm พบว่าระหว่างการเก็บรักษาตรวจไม่พบการปนเปื้อน *L. monocytogenes* ปริมาณ APC จะค่อยๆเพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ เช่นเดียวกับผักที่ล้างด้วยน้ำประปา แต่ผักที่ผ่านการล้างด้วยสารละลายโอโซน 0.5 ppm ซึ่งปนเปื้อน *L. monocytogenes* ในระดับต่ำจะมีอายุการเก็บน้อยที่สุด คือตัวอย่างจะเริ่มเสียโดยผักกลายเป็นสีดำ และมีน้ำเยิ้มที่ 27 ชั่วโมง โดยผักที่ผ่านการล้างด้วยน้ำประปาและสารละลายโอโซน 0.3 ppm สามารถเก็บได้ 27 ชั่วโมงจะเสียที่ 30 ชั่วโมง (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 3 การเก็บรักษาผักกาดหอมที่ไม่ผ่านการปนเปื้อน *L. monocytogenes* และผ่านการปนเปื้อน *L. monocytogenes* ต่ำ (10^2CFU/mL) ที่อุณหภูมิ 4°C และ 10°C

Treatment / Time (d)	Log_{10}CFU/mL					
	Tap water		Ozone 0.3 ppm		Ozone 0.5 ppm	
	APC[a]	LM[b]	APC	LM	APC	LM
Unionculate						
4±1°C						
0	4.90±0.13	-	2.66±0.07	-	2.65±0.28	-
2	4.68±0.15	-	2.65±0.08	-	2.70±0.03	-
4	4.86±0.09	-	3.31±0.49	-	3.62±0.04	-
6	4.94±0.03	-	3.64±0.01	-	3.79±0.08	-
8	5.66±0.20	-	5.81±0.05	-	5.75±0.08	-
10	6.63±0.03	-	6.77±0.03	-	6.68±0.15	-
12	7.75±0.04	-	7.85±0.05	-	7.59±0.02	-
14	ตัวอย่างเสีย	-	ตัวอย่างเสีย	-	ตัวอย่างเสีย	-
10±1°C						
0	4.90±0.13	-	2.66±0.07	-	2.65±0.28	-
2	4.70±0.15	-	2.77±0.01	-	2.67±0.05	-
4	4.77±0.09	-	4.72±0.05	-	3.74±0.16	-
6	5.32±0.42	-	3.91±0.05	-	3.77±0.07	-
8	5.84±0.02	-	5.89±0.03	-	5.75±0.08	-
10	6.90±0.13	-	6.79±0.12	-	6.88±0.15	-
12	ตัวอย่างเสีย	-	ตัวอย่างเสีย	-	ตัวอย่างเสีย	-
10^2CFU/mL						
4±1°C						
0	4.90±0.06	2.69±0.06	3.12±0.74	ND[c]	2.51±0.08	ND
2	4.76±0.11	2.78±0.04	2.71±0.23	ND	2.73±0.03	ND
4	4.86±0.11	2.86±0.03	2.78±0.03	ND	2.77±0.11	ND
6	4.95±0.02	2.75±0.20	3.62±0.08	ND	3.74±0.13	ND

ตารางที่ 3 (ต่อ)

Treatment / Time (d)	Log_{10}CFU/mL					
	Tap water		Ozone 0.3 ppm		Ozone 0.5 ppm	
	APC[a]	LM[b]	APC	LM	APC	LM
8	5.92±0.00	3.86±0.07	5.84±0.02	ND	5.73±0.15	ND
10	6.83±0.05	3.69±0.03	6.81±0.04	ND	6.75±0.19	ND
12	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย
10±1°C						
0	4.90±0.06	2.69±0.06	3.12±0.74	ND	2.51±0.08	ND
2	4.79±0.06	2.79±0.09	2.59±0.18	ND	2.76±0.12	ND
4	4.90±0.09	2.80±0.08	2.71±0.11	ND	2.68±0.03	ND
6	4.99±0.10	3.58±0.11	3.75±0.04	ND	3.77±0.02	ND
8	5.65±0.31	3.86±0.03	6.12±0.48	ND	6.25±0.63	ND
10	6.89±0.00	3.72±0.05	7.29±0.53	ND	7.74±0.03	ND
12	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย

[a]APC = Population of total microorganisms on TSA

[b]LM = Population of *L. monocytogenes* on OX agar

[c]ND = Not detected (< 25 CFU/mL)

การเก็บรักษาผักกาดหอมที่สร้างการปนเปื้อนด้วย *L. monocytogenes* ระดับต่ำที่อุณหภูมิ 4±1°C และ 10±1°C เป็นเวลา 10 วัน

ผักกาดหอมปนเปื้อน *L. monocytogenes* ระดับต่ำ (10^2CFU/mL) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1°C และ 10±1°C มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณเซลล์ต่ำและมีปริมาณใกล้เคียงกันโดยตั้งแต่การเก็บรักษาวันแรกจนถึงวันที่ 6 แต่ในวันที่ 8 ของการเก็บ จะมีการเปลี่ยนแปลงอย่างเห็นได้ชัด กล่าวคือ ปริมาณ APC และ *L. monocytogenes* ในวันที่ 8 ของการเก็บเพิ่มสูงขึ้นมากจนถึงวันที่ 10 และผักจะเหี่ยวจนไม่เป็นที่ยอมรับในวันที่ 12 ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1°C และ 10±

1°C (ตารางที่ 3) แสดงว่าอุณหภูมิต่ำสามารถชะลอการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เน่าเสียได้รวมทั้งชะงักการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคได้

<u>การเก็บรักษาข้าวโพดฝักอ่อนที่ปนเปื้อนเชื้อตามธรรมชาติที่อุณหภูมิห้อง (30±2°C), 4±1°C และ 10±1°C</u>

จากการทดลองพบว่าสามารถเก็บรักษาข้าวโพดฝักอ่อนที่อุณหภูมิห้อง (30±2°C) ได้ 4 วัน วันที่ 5 ของการเก็บข้าวโพดจะมีราดำเกิดขึ้น ข้าวโพดฝักอ่อนที่ผ่านการล้างด้วยสารละลายโอโซนจะมีปริมาณ APC เพิ่มสูงขึ้นใกล้เคียงกับที่ล้างด้วยน้ำประปาในวันที่ 3 ของการเก็บ สองวันแรกของการเก็บรักษา APC ยังมีปริมาณต่ำกว่า เพราะยังอยู่ในช่วงพักตัวแต่ในวันที่ 3 เป็นช่วงที่เซลล์สมบูรณ์เต็มที่จึงสามารถเพิ่มจำนวนขึ้นได้อย่างรวดเร็วและเมื่อนำข้าวโพดมาเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำ คือ 4±1°C และ 10±1°C ข้าวโพดฝักอ่อนที่ผ่านการล้างด้วยสารละลายโอโซนจะมีปริมาณ APC ต่ำกว่าข้าวโพดฝักอ่อนที่ผ่านการล้างด้วยน้ำประปาในช่วง 6 วันแรก ซึ่งสาเหตุเป็นไปทำนองเดียวกันกับการเก็บที่อุณหภูมิห้อง แต่จะเพิ่มสูงขึ้นใกล้เคียงกันในวันที่ 8 ของการเก็บรักษา โดยที่อุณหภูมิ 4±1°C สามารถเก็บข้าวโพดไว้ได้นานถึง 12 วัน โดยข้าวโพดจะเสียในวันที่ 14 ของการเก็บ แต่ที่อุณหภูมิ 10±1°C จะสามารถเก็บข้าวโพดฝักอ่อนไว้ได้สั้นกว่า คือ 10 วัน (ตารางที่ 4)

<u>การเก็บรักษาข้าวโพดฝักอ่อนปนเปื้อน *L. monocytogenes* ระดับต่ำที่อุณหภูมิห้อง (30±2°C), 4±1°C และ 10±1°C</u>

ข้าวโพดฝักอ่อนที่ปนเปื้อนเชื้อ *L. monocytogenes* 10^2CFU/mL ถูกนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30±2°C), 4±1°C และ 10±1°C พบว่าสามารถเก็บข้าวโพดฝักอ่อนซึ่งปนเปื้อน *L. monocytogenes* ระดับต่ำที่อุณหภูมิห้องได้นาน 4 วัน ส่วนข้าวโพดฝักอ่อนปนเปื้อน *L. monocytogenes* ที่ผ่านการล้างด้วยสารละลายโอโซนทั้ง 0.3 และ 0.5 ppm ตรวจไม่พบ *L. monocytogenes* ภายในระยะแรกของการเก็บรักษา ในขณะที่การล้างด้วยน้ำประปามี *L. monocytogenes* เหลือรอดอยู่ในตัวอย่างและจะมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆจนกระทั่งวันสุดท้ายของการเก็บรักษา แต่ปริมาณจะเพิ่มไม่สูงถึงใกล้เคียงกับปริมาณ APC เพราะความสามารถในการเจริญของ *L. monocytogenes* ต่ำกว่าของ APC เพราะ *L. monocytogenes* ต้องการอาหาร

ตารางที่ 4 ผลการเก็บรักษาข้าวโพดฝักอ่อนที่ปนเปื้อนตามธรรมชาติและผ่านการปนเปื้อน *L. monocytogenes* ระดับต่ำ (10^2CFU/mL) ที่อุณหภูมิห้อง (30±2°C), 4±1°C และ 10±1°C

Treatment /Temp (°C)	Time (d)	Log_{10}CFU/mL					
		Tap water		Ozone 0.3 ppm		Ozone 0.5 ppm	
		APC[a]	LM[b]	APC	LM	APC	LM
Uninoc.							
30±2	0	4.78±0.00	-	2.66±0.03	-	2.59±0.19	-
	1	5.34±0.52	-	3.85±0.08	-	3.56±0.15	-
	2	4.81±0.12	-	3.61±0.09	-	3.60±0.01	-
	3	5.57±0.06	-	5.66±0.16	-	5.65±0.04	-
	4	6.78±0.08	-	6.78±0.04	-	6.89±0.03	-
	5	ตัวอย่างเสีย	-	ตัวอย่างเสีย	-	ตัวอย่างเสีย	-
4±1	0	4.78±0.00	-	2.66±0.03	-	2.59±0.19	-
	2	4.79±0.08	-	2.71±0.11	-	2.67±0.15	-
	4	4.85±0.03	-	3.68±0.19	-	3.75±0.03	-
	6	4.80±0.06	-	3.73±0.23	-	3.82±0.10	-
	8	5.75±0.03	-	5.92±0.03	-	5.81±0.13	-
	10	6.92±0.06	-	6.92±0.08	-	6.95±0.04	-
	12	7.90±0.03	-	7.78±0.03	-	7.88±0.03	-
	14	ตัวอย่างเสีย	-	ตัวอย่างเสีย	-	ตัวอย่างเสีย	-
10±1	0	4.78±0.00	-	2.66±0.03	-	2.59±0.19	-
	2	4.77±0.07	-	2.59±0.13	-	2.53±0.10	-
	4	4.86±0.03	-	3.75±0.15	-	3.74±0.11	-
	6	4.81±0.03	-	3.78±0.00	-	3.66±0.29	-
	8	5.95±0.04	-	5.90±0.18	-	5.77±0.06	-
	10	7.66±0.08	-	6.90±0.01	-	7.41±0.56	-
	12	ตัวอย่างเสีย	-	ตัวอย่างเสีย	-	ตัวอย่างเสีย	-

ตารางที่ 4 (ต่อ)

Treatment /Temp (°C)	Time (d)	Log_{10}CFU/mL					
		Tap water		Ozone 0.3 ppm		Ozone 0.5 ppm	
		APC[a]	LM[b]	APC	LM	APC	LM
10^2CFU/mL							
30±2	0	4.61±0.15	2.59±0.13	2.68±0.06	ND[c]	2.64±0.22	ND
	1	4.82±0.01	2.73±0.09	3.30±0.60	ND	2.69±0.06	ND
	2	4.92±0.21	3.75±0.06	3.75±0.06	ND	3.31±0.75	ND
	3	5.76±0.01	3.80±0.06	5.74±0.18	ND	5.74±0.08	ND
	4	6.45±0.60	3.81±0.12	6.92±0.06	ND	7.02±0.09	ND
	5	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย
4±1	0	4.61±0.15	2.59±0.13	2.68±0.06	ND	2.64±0.22	ND
	2	4.72±0.01	2.60±0.11	2.66±0.02	ND	2.60±0.17	ND
	4	4.85±0.06	2.67±0.13	2.82±0.14	ND	2.72±0.03	ND
	6	4.78±0.00	2.73±0.05	3.77±0.07	ND	3.76±0.20	ND
	8	5.79±0.08	3.80±0.03	5.88±0.02	ND	5.61±0.09	ND
	10	6.73±0.01	3.70±0.06	6.78±0.09	ND	6.72±0.01	ND
	12	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย
10±1	0	4.61±0.15	2.59±0.13	2.68±0.06	ND	2.64±0.22	ND
	2	4.80±0.06	2.73±0.14	2.77±0.01	ND	2.82±0.11	ND
	4	4.81±0.05	2.89±0.11	2.72±0.22	ND	2.77±0.15	ND
	6	4.88±0.01	3.27±0.63	3.86±0.17	ND	3.74±0.21	ND
	8	5.84±0.04	3.67±0.03	5.83±0.06	ND	6.17±0.39	ND
	10	7.84±0.17	3.69±0.01	7.79±0.11	ND	7.80±0.11	ND
	12	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย

[a]APC = Population of total microorganisms on TSA

[b]LM = Population of *L. monocytogenes* on OX agar

[c]ND = Not detected (< 25 CFU/mL)

ที่เฉพาะเจาะจงมากกว่า APC ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ตามธรรมชาติ ปริมาณ APC ของข้าวโพดฝักอ่อนปนเปื้อน *L. monocytogenes* ที่ผ่านการล้างด้วยสารละลายโอโซนจะค่อยๆเพิ่มสูงขึ้นและจะเพิ่มสูงขึ้นใกล้เคียงกับข้าวโพดฝักอ่อนที่ล้างด้วยน้ำประปาธรรมดา ในวันที่ 3 ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องแสดงถึงการแข่งขันของ normal flora เจริญได้ดีกว่า *L. monocytogenes* ส่วนข้าวโพดฝักอ่อนที่ปนเปื้อน *L. monocytogenes* ระดับต่ำเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4±1°C และ 10±1°C จะสามารถเก็บไว้ได้นาน 10 วัน โดยในวันที่ 12 ตัวอย่างทั้งหมดจะเหี่ยวและกลายเป็นสีน้ำตาลเข้ม การล้างข้าวโพดฝักอ่อนปนเปื้อน *L. monocytogenes* ระดับต่ำด้วยสารละลายโอโซนทั้งสองความเข้มข้นตรวจไม่พบเซลล์ *L. monocytogenes* ในข้าวโพดฝักอ่อนตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษา แต่ในข้าวโพดฝักอ่อนปนเปื้อน *L. monocytogenes* ระดับต่ำที่ล้างด้วยน้ำประปาปริมาณของ เซลล์ *L. monocytogenes* จะค่อยๆเพิ่มสูงขึ้นเล็กน้อย อย่างไรก็ดีในตัวอย่างที่ผ่านการล้างด้วยน้ำประปา ปริมาณ APC ของข้าวโพดฝักอ่อนที่เก็บทั้งสองช่วงอุณหภูมิจะค่อยๆเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆแต่ในตัวอย่างที่ล้างด้วยสารละลายโอโซน APC จะเพิ่มสูงขึ้นอย่างช้าๆในช่วง 6 วันแรกจะเพิ่มสูงขึ้นจนมีปริมาณใกล้เคียงกับข้าวโพดฝักอ่อนปนเปื้อน *L. monocytogenes* ที่ล้างด้วยน้ำประปาในวันที่ 8 ของการเก็บรักษา (ตารางที่ 4) นับว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำช่วยยืดอายุการเก็บรักษาได้นานขึ้น

<u>การเก็บรักษากะหล่ำปลีหั่นฝอยที่ที่ปนเปื้อนเชื้อตามธรรมชาติที่อุณหภูมิห้อง (30±2°C), 4±1°C และ 10±1°C</u>

ที่อุณหภูมิห้อง (30±2°C) สามารถเก็บกะหล่ำปลีได้เพียง 1 วัน โดยในวันแรกของการเก็บปริมาณ APC ของกะหล่ำปลีที่ผ่านการล้างด้วยน้ำประปา และสารละลายโอโซนจะเพิ่มสูงขึ้นเร็วมาก อายุการเก็บของกะหล่ำปลีที่อุณหภูมิห้องจึงน้อยกว่าผักกาดหอมและข้าวโพดฝักอ่อน กะหล่ำปลีจะเปลี่ยนเป็นสีดำ มีกลิ่นเหม็นและมีน้ำเยิ้มในวันที่ 2 ของการเก็บ การที่กะหล่ำปลีหั่นฝอยเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องได้น้อยกว่าผักชนิดอื่นแสดงว่าชนิดของผักมีผลต่ออายุการเก็บรักษารวมทั้งปริมาณการปนเปื้อนตามธรรมชาติ และการหั่นฝอยทำให้เซลล์ของกะหล่ำปลีเสียสภาพทำให้ของเหลวภายในเซลล์ซึ่งเป็นแหล่งอาหารของจุลินทรีย์ไหลออกมาส่งผลให้ APC เจริญได้อย่างรวดเร็ว แต่เมื่อนำกะหล่ำปลีมาเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำ คือ 4±1°C และ 10±1°C จะสามารถยืดอายุการเก็บได้นานขึ้นเพราะความเย็นมีส่วนช่วยชะงักการเจริญของจุลินทรีย์ได้แต่ยังสามารถเจริญได้อย่างช้าๆ โดยปริมาณ APC จะเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วในวันที่ 8 ในวันที่ 2 ถึงวันที่ 6 ปริมาณ APC จะค่อยๆเพิ่มสูงขึ้นอย่างช้าๆในกะหล่ำปลีที่ผ่านการล้างด้วยน้ำประปาและสารละลายโอโซน และ

ในวันที่ 12 ของการเก็บกะหล่ำปลีจะเหี่ยวและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลทั้งหมด (ตารางที่ 5)

การเก็บรักษากะหล่ำปลีหั่นฝอยปนเปื้อน *L. monocytogenes* ระดับต่ำที่อุณหภูมิห้อง (30±2°C), 4±1°C และ 10±1°C

ที่อุณหภูมิห้องกะหล่ำปลีหั่นฝอยที่ผ่านการสร้างสภาพการปนเปื้อน *L. monocytogenes* ระดับต่ำสามารถเก็บไว้ได้นาน 1 วัน โดยตรวจไม่พบ *L. monocytogenes* ในตัวอย่างที่ผ่านการล้างด้วยสารละลายโอโซน 0.3 และ 0.5 ppm ปริมาณ APC จะเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วภายในระยะเวลาเพียง 1 วันของการเก็บรักษา ในวันที่ 2 ตัวอย่างทั้งหมดจะกลายเป็นสีดำ มีน้ำเยิ้ม และมีกลิ่นเหม็นเปรี้ยว ในกะหล่ำปลีหั่นฝอยปนเปื้อน *L. monocytogenes* ระดับต่ำที่ผ่านการล้างด้วยน้ำประปาปริมาณของ *L. monocytogenes* มีการเปลี่ยนแปลงน้อยมากในระหว่างการเก็บรักษาภายใน 1 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (30±2°C) เพราะเซลล์ *L. monocytogenes* เจริญได้ช้ากว่า APC ตามธรรมชาติ ส่วนการเก็บรักษากะหล่ำปลีหั่นฝอยปนเปื้อน *L. monocytogenes* ระดับต่ำที่อุณหภูมิต่ำ คือ 4±1°C และ 10±1°C ปริมาณ APC ของตัวอย่างที่ผ่านการล้างด้วยน้ำประปาจะเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆในวันที่ 10 ซึ่งเป็นวันสุดท้ายของการเก็บรักษา ปริมาณของ *L. monocytogenes* ในตัวอย่างที่ล้างด้วยน้ำประปาจะมีแนวโน้มสูงขึ้นเรื่อยๆจนถึงวันสุดท้ายของการเก็บเช่นเดียวกันกับปริมาณ APC และตรวจไม่พบ *L. monocytogenes* ในตัวอย่างที่ผ่านการล้างด้วยสารละลายโอโซนทั้ง 0.3 และ 0.5 ppm ตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษาแสดงว่าเซลล์ถูกทำลายจนไม่สามารถซ่อมแซมตัวเองได้ ปริมาณ APC ของกะหล่ำปลีหั่นฝอยปนเปื้อน *L. monocytogenes* ระดับต่ำที่ผ่านการล้างด้วยสารละลายโอโซนจะเพิ่มสูงขึ้นอย่างช้าๆจนถึงวันที่ 6 ของการเก็บรักษาและจะเพิ่มปริมาณสูงขึ้นในวันที่ 8 ของการเก็บ โดยการเก็บรักษากะหล่ำปลีหั่นฝอยปนเปื้อน *L. monocytogenes* ระดับต่ำที่ระดับอุณหภูมิ 4±1°C และ 10±1°C จะสามารถเก็บผักไว้ได้นาน 10 วัน ในวันที่ 12 ของการเก็บตัวอย่างทั้งหมดจะเหี่ยวและมีสีน้ำตาลเข้มที่ทั้ง 2 อุณหภูมิการเก็บ (ตารางที่ 5) ซึ่งผลการทดลองแสดงถึงความสามารถของอุณหภูมิต่ำในการชะลอการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เน่าเสียรวมทั้งชะงักการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคเหมือนการทดลองในผักกาดหอม และข้าวโพดฝักอ่อน

ตารางที่ 5 ผลการเก็บรักษากะหล่ำปลีหั่นฝอยปนเปื้อนตามธรรมชาติและไม่ผ่านการปนเปื้อน *L. monocytogenes* ระดับต่ำ (10^2CFU/mL) ที่อุณหภูมิห้อง (30±2°C), 4±1°C และ 10±1°C

Treatment /Temp (°C)	Time (d)	Log_{10}CFU/mL					
		Tap water		Ozone 0.3 ppm		Ozone 0.5 ppm	
		APC[a]	LM[b]	APC	LM	APC	LM
Uninoc. 30±2	0	5.54±0.11	-	2.63±0.07	-	2.55±0.10	-
	1	5.47±0.61	-	4.97±0.15	-	5.44±0.61	-
	2	ตัวอย่างเสีย	-	ตัวอย่างเสีย	-	ตัวอย่างเสีย	-
4±1	0	5.54±0.11	-	2.63±0.07	-	2.55±0.10	-
	2	4.92±0.00	-	2.67±0.23	-	2.66±0.14	-
	4	5.35±0.57	-	3.77±0.06	-	3.75±0.22	-
	6	5.75±0.00	-	3.81±0.12	-	4.24±0.42	-
	8	6.76±0.04	-	6.83±0.13	-	7.25±0.68	-
	10	7.80±0.08	-	7.75±0.05	-	7.61±0.08	-
	12	ตัวอย่างเสีย	-	ตัวอย่างเสีย	-	ตัวอย่างเสีย	-
10±1	0	5.54±0.11	-	2.63±0.07	-	2.55±0.10	-
	2	5.22±0.41	-	2.70±0.03	-	2.78±0.16	-
	4	5.63±0.18	-	3.70±0.04	-	3.78±0.13	-
	6	5.83±0.00	-	4.86±0.03	-	4.69±0.00	-
	8	7.36±0.65	-	6.79±0.09	-	7.15±0.51	-
	10	7.35±0.60	-	7.79±0.15	-	7.97±0.13	-
	12	ตัวอย่างเสีย	-	ตัวอย่างเสีย	-	ตัวอย่างเสีย	-

ตารางที่ 5 (ต่อ)

Treatment /Temp (°C)	Time (d)	Log_{10}CFU/mL					
		Tap water		Ozone 0.3 ppm		Ozone 0.5 ppm	
		APC[a]	LM[b]	APC	LM	APC	LM
10^2CFU/mL 30±2	0	5.45±0.58	2.71±0.03	2.79±0.06	ND[c]	2.59±0.06	ND
	1	6.54±0.64	2.82±0.09	5.37±0.54	ND	5.82±0.07	ND
	2	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย
4±1	0	5.45±0.58	2.71±0.03	2.79±0.06	ND	2.59±0.06	ND
	2	5.82±0.21	2.73±0.06	3.17±0.64	ND	2.57±0.07	ND
	4	5.94±0.04	2.77±0.18	2.81±0.13	ND	2.79±0.06	ND
	6	5.79±0.18	3.84±0.11	3.60±0.10	ND	3.75±0.00	ND
	8	6.88±0.06	3.74±0.03	6.78±0.08	ND	6.72±0.15	ND
	10	7.86±0.15	4.26±0.45	6.74±0.08	ND	7.21±0.56	ND
	12	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย
10±1	0	5.45±0.58	2.71±0.03	2.79±0.06	ND	2.59±0.06	ND
	2	5.35±0.67	2.76±0.11	2.88±0.03	ND	2.83±0.04	ND
	4	5.89±0.05	2.84±0.10	3.79±0.15	ND	3.71±0.02	ND
	6	5.90±0.02	3.74±0.13	4.89±0.03	ND	4.79±0.15	ND
	8	7.37±0.50	3.71±0.11	7.27±0.52	ND	7.22±0.62	ND
	10	8.73±0.03	3.71±0.00	7.85±0.12	ND	7.78±0.09	ND
	12	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย	ตัวอย่างเสีย

[a]APC = Population of total microorganisms on TSA

[b]LM = Population of *L. monocytogenes* on OX agar

[c]ND = Not detected (< 25 CFU/mL)

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาประสิทธิภาพของสารละลายโอโซนที่ระดับความเข้มข้น และเวลาที่เหมาะสม เพื่อลดปริมาณจุลินทรีย์ปนเปื้อนในผัก สรุปได้ดังนี้

จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนอยู่ตามธรรมชาติในผักกาดหอม ข้าวโพดฝักอ่อน และกะหล่ำปลีมีปริมาณใกล้เคียงกัน คือ อยู่ระหว่าง 4.8–5.5 $\log_{10}$CFU/ml และตรวจไม่พบการปนเปื้อนของเซลล์ *L. monocytogenes*

ความเข้มข้นของสารละลายโอโซนที่เหมาะสมในการล้างผักกาดหอมเพื่อลดจำนวนจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนควรแช่ผักในสารละลายความเข้มข้น 0.3 และ 0.5 ppm แช่ที่อุณหภูมิห้อง (30$\pm$2°C) เป็นเวลา 5 นาที พบว่าลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดลงได้มากที่สุดไม่ต่างกันมากนัก และไม่ทำให้ผักกาดหอมมีกลิ่นผิดปกติ คุณภาพเป็นที่ไม่ยอมรับ

ผักกาดหอม ข้าวโพดฝักอ่อน และกะหล่ำปลีหั่นฝอยที่มีการปนเปื้อนเซลล์ *L. monocytogenes* สูง (10^4CFU/ml) หากต้องการกำจัดแบคทีเรียชนิดนี้ให้หมดควรแช่ในสารละลายโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0.2 ppm แช่ที่อุณหภูมิห้อง (30$\pm$2°C) เวลา 5 นาที แต่ผักที่ปนเปื้อนเซลล์ *L. monocytogenes* ปริมาณต่ำกว่า คือ 10^2CFU/ml แช่ในสารละลายโอโซนที่ระดับความเข้มข้นต่ำกว่า คือ 0.1 ppm เป็น เวลา 5 นาที ก็เพียงพอที่จะทำลาย *L. monocytogenes* ได้หมด

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์ทั้งหมด (Aerobic Plate Count) และประสิทธิภาพในการทำลายเซลล์ *L. monocytogenes* ที่ปนเปื้อนในผักกาดหอม ข้าวโพดฝักอ่อน และกะหล่ำปลีหั่นฝอย พบว่าอาจเลือกใช้สารละลายโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0.3 และ 0.5 ppm ที่อุณหภูมิห้อง (30$\pm$2°C) แช่เป็นเวลา 5 นาที เพราะมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ปนเปื้อนได้สูงใกล้เคียงกัน แต่สามารถทำลายเซลล์ *L. monocytogenes* ที่ปนเปื้อนได้ทั้งหมด ประกันความปลอดภัยในการบริโภคได้ดีกว่า

ชนิดของผักไม่มีมีผลต่อวิธีการแช่ พบว่าการแช่ผักผักกาดหอม ข้าวโพดฝักอ่อน และกะหล่ำปลีหั่นฝอยในสารละลายโอโซนที่ระดับความเข้มข้นเท่ากันยังคงมีประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์ใกล้เคียงกัน แม้ว่าผักใบน่าจะมีโอกาสที่เซลล์ของจุลินทรีย์เกาะได้ง่ายกว่า ผิว

สัมผัสมากกว่า จึงควรที่จะแช่ผักใบเป็นเวลานานกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวโพดฝักอ่อน แต่สารละลายโอโซนเป็นสารที่มีประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์สูงเนื่องจากมีความสามารถในการเป็นตัวออกซิไดซ์ที่แรงกว่าสารประกอบพวกคลอรีนซึ่งนิยมใช้เป็นสารฆ่าเชื้อกันอยู่ในปัจจุบันจึงทำให้ชนิดของผักไม่มีผลต่อประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ

การเลือกความเข้มข้นของสารละลายโอโซนที่ระดับความเข้มข้น 0.3 และ 0.5 ppm แช่เป็นเวลา 5 นาที เพื่อลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและ *L. monocytogenes* ในผักที่ผ่านและไม่ผ่านการปนเปื้อนต่ำระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ($30\pm2^{\circ}C$), $4\pm1^{\circ}C$ และ $10\pm1^{\circ}C$ สามารถสรุปได้ว่า การล้างผักด้วยสารละลายโอโซนที่ระดับความเข้มข้นและเวลาดังกล่าวยืดอายุการเก็บรักษาผักกาดหอม, ข้าวโพดฝักอ่อน และกะหล่ำปลีหั่นฝอย ในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ($30\pm2^{\circ}C$), $4\pm1^{\circ}C$ และ $10\pm1^{\circ}C$ ได้ไม่แตกต่างจากการใช้น้ำประปาล้าง แม้ว่าในช่วง 6 วันแรกของการเก็บจะมีปริมาณการเพิ่มขึ้นของจุลินทรีย์ทั้งหมดในระดับต่ำกว่าก็ตาม แต่ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดกลับมาเพิ่มสูงขึ้นจนถึงระดับใกล้เคียงกันกับตัวอย่างที่ผ่านการล้างด้วยน้ำประปาในวันที่ 8 ของการเก็บ อย่างไรก็ดีสารละลายโอโซนสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดหลังจากล้างลงได้ในผักทั้ง 3 ชนิด โดยเฉลี่ย 1.5-2.5 $\log_{10}$CFU/ml แม้ว่าการใช้สารละลายโอโซนในความเข้มข้นและเวลาระดับนี้แม้จะยังไม่สามารถช่วยยืดอายุการเก็บของผักได้ แต่จากการทดลองที่ผ่านมายืนยันว่าสามารถทำลายแบคทีเรียชนิดก่อให้เกิดโรคได้ ดังนั้นการล้างผักด้วยสารฆ่าเชื้อชนิดใหม่ที่ไม่ได้เป็นสารประกอบคลอรีน เช่น สารละลายโอโซน ยังจำเป็นที่ต้องมีการศึกษาเพื่อเป็นประโยชน์ต่อการผลิตที่ผักมีโอกาสปนเปื้อนจากเชื้อโรคทางเดินอาหาร แต่เนื่องจากการเก็บรักษาอาหารนั้นมีปัจจัยของอุณหภูมิและเวลาการเก็บรักษาเข้ามาเกี่ยวข้อง การบริโภคผักที่ผ่านการล้างด้วยสารฆ่าเชื้อแล้วและสามารถประกันความปลอดภัยจากเชื้อโรคควรมีเวลาที่เหมาะสม เนื่องจากเวลาการเก็บที่เพิ่มขึ้นแบคทีเรียที่รอดชีวิตสามารถเพิ่มจำนวนได้และก่อให้เกิดความเสี่ยงได้จากการบริโภคอาหารนั้น

เอกสารอ้างอิง

Beuchat, L.R. 1996. *Listeria monocytogenes* : Incidence on vegetables. J. Food Control. 7(4) : 223-228.

_____. 1999. Pathogenic microorganisms associated with fresh produce. J. Food Prot. 59(2) : 204-216.

Cherry, J.P. 1999. Improving the safety of fresh produce with antimicrobials. Food Technol. 53(11) : 54-57.

Gramham, D.M. 1997. Use of ozone for food processing. Food Technol. 51(6) : 72-75.

Kim, J.G., A.E. Yousef and G.W. Chism. 1999. Use of ozone to inactivate microorganisms on lettuce. J. Food Safety. 19 : 17-33.

Kondo, F., K. Utoh and M. Rostamibashman. 1989. Sterilizing effect of ozone water and ozone ice on various microorganisms, p. 93-98. *Cited by* Xu, L. 1999. Use of ozone to improve the safety of fresh fruits and vegetables. Food Technol 53(10) : 58-61.

Lovette, J. 1985. Isolation and identification of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat seafood products. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 71 : 658-660.

Moor, G., C. Griffith and A. Peters. 2000. Bactericidal properties of ozone and its potential application as a terminal disinfectant. J. Food Prot. 63(8) : 110-1106.

Xu, L. 1999. Use of ozone to improve the safety of fresh fruits and vegetables. Food Technol 53(10) : 58-61.