Agricultural Sci. J. 41 : 1 (Suppl.) : 349-352 (2010) ว. วิทย. กษ. 41 : 1 (พิเศษ) : 349-352 (2553)

ผลของโอโซนต่อการลดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์และสารอะฟลาท็อกซินในพริกขี้หนูแห้ง

Effect of Ozone on Microbial Contaminants and Aflatoxin Reduction of Dried Chilli (*Capsicum frutescens L.*)

ณัฐพงษ์ จิตรักธรรม[1], กานดา หวังชัย[2] และ จำนงค์ อุทัยบุตร[2]
Nattapong Jitraktham[1] Kanda Whangchai[2] and Jamnong Uthaibutra[2]

Abstract

The effects of ozone on microbial contaminants and aflatoxin reduction of chilli (*Capsicum frutescens L.*) was investigated. The samples were exposed to ozone gas at the concentrations of 120 ppm for 20, 40 and 60 minutes. Then, they were stored in plastic bag (polypropylene bag) at room temperature for 6 months. The microbial population was determined by total plate count (CFU/g) yeast and mold and aflatoxin was determined by ELISA. The samples were measured every 15 days. It was found that exposing chilli to ozone for 60 minutes significantly reduced microbial population. For the detoxification of aflatoxin by ozone, the results showed that the content of aflatoxin in chilli was reduced after exposure to ozone for 60 minutes. However, when stored it longer times in plastic bag, aflatoxin contents tended to increase when compared with treated chilli at the beginning day of storage time.

Key word: ozone, aflatoxin, Chilli (*Capsicum frutescens L.*)

บทคัดย่อ

จากการศึกษาผลของก๊าซโอโซนในการลดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์และปริมาณสารอะฟลาท็อกซินในพริกขี้หนูแห้ง (*Capscicum frutescens L.*) โดยการนำพริกขี้หนูแห้งไปรมด้วยก๊าซโอโซนที่มีความเข้มข้น 120 ppm เป็นเวลา 20,40 และ 60 นาที และนำมาบรรจุใส่ถุงพลาสติก (polypropylene bag) เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 เดือน โดยทำการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (total plate count (CFU/g)) ยีสต์ รา และสารอะฟลาท็อกซินโดยวิธี ELISA ทุก 15 วัน พบว่า การรมด้วยก๊าซโอโซนเป็นเวลา 60 นาที สามารถลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์และสารอะฟลาท็อกซินได้ดีที่สุด แต่การเก็บรักษาเป็นเวลานานขึ้นมีแนวโน้มทำให้ปริมาณของอะฟลาท็อกซินเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับสารอะฟลาท็อกซินในพริกหลังจากการรมโอโซนในวันแรกของการเก็บรักษา

คำสำคัญ โอโซน, อะฟลาท็อกซิน, พริกขี้หนู

คำนำ

พริกแห้งมักจะมีจุลินทรีย์ปนเปื้อนในปริมาณมาก ทั้งก่อนการเก็บเกี่ยวและหลังจากเก็บเกี่ยวที่ไม่เหมาะสม (อนงค์, 2546) อีกทั้งสภาพภูมิอากาศประเทศไทยเป็นเขตร้อนชื้น อาจทำให้พริกดูดความชื้นจากสภาพแวดล้อมที่เก็บรักษาและมีความชื้นเพิ่มขึ้น จึงเป็นปัจจัยเสริมที่สนับสนุนการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์โดยเฉพาะเชื้อราจะสามารถเจริญเติบโตและสร้างสารพิษขึ้นมา การที่ผลิตผลถูกเชื้อจุลินทรีย์เข้าทำลายนั้น ก่อให้เกิดการสูญเสียทั้งทางด้านปริมาณและคุณภาพ นอกจากนี้ยังพบการปนเปื้อนสารอะฟลาท็อกซินมากกว่า 20 ppb ซึ่งเกินจากค่ามาตรฐานที่ Codex (Codex Alimentarius Commission) กำหนดไว้ให้มีการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซินในถั่วลิสงไม่เกิน 15 ppb ดังนั้นจึงต้องหากรรมวิธีที่สามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์และสารอะฟลาท็อกซินได้ และต้องมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคมากสุด จึงสนใจการใช้โอโซนร่วมกับการเก็บรักษา เนื่องจากโอโซนเป็นก๊าซที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี สลายตัวอัตโนมัติ ทำให้มีพิษตกค้างน้อย มีคุณสมบัติเป็นตัวออกซิไดซ์สารชีวโมเลกุลอื่นได้ดี ดังนั้นจากคุณสมบัติที่ดีของโอโซนการใช้โอโซนเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการใช้ลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์และสารอะฟลาท็อกซินในพริกหลังการเก็บเกี่ยว เพื่อแก้ปัญหาด้านคุณภาพและมาตรฐานของผลิตภัณฑ์

[1] สถาบันวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว / ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200
[1] Postharvest Technology Research Institute / Postharvest Technology Innovation Center, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200
[2] ภาควิชาชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่ 50200
[2] Department of biology, Faculty of Science, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

อุปกรณ์และวิธีการ

ตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ จากพริกแห้งที่ซื้อจากแหล่งต่าง ๆในจังหวัดเชียงใหม่

นำพริกแห้งที่ซื้อจากแหล่งต่างๆในจังหวัดเชียงใหม่ มาตรวจหาการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ โดยนำพริกที่ซื้อมาแช่ย่าในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ นำสารละลายมาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ DG 18 (Dichloran-Glycerol-Agar) และอาหาร AFAP (*Aspergillus flavus - Aspergillus parasiticus* agar) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมงและ 5 วัน ตามลำดับ จากนั้นนำมาวิเคราะห์การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง แบคทีเรียและเชื้อรา โดยเฉพาะเชื้อราที่สร้างอะฟลาท็อกซิน ด้วยวิธี viable count method (Kogure et al., 1979) คำนวณหาปริมาณเชื้อปนเปื้อนที่พบในตัวอย่าง

ศึกษากรรมวิธีที่เหมาะสมในการให้โอโซนเพื่อลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ ที่ปนเปื้อนในพริกแห้ง

นำตัวอย่างพริกแห้งที่ผ่านการตรวจวัดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนข้างต้น มาใช้ในการทดลอง

1.นำตัวอย่างพริกแห้ง 300 กรัม ใส่ใน chamber ขนาด 20 x 20 x 40 เซนติเมตร แล้วรมด้วยโอโซนความเข้มข้น 120 ppm เป็นเวลา 0, 20, 40 และ 60 นาที โดยติดตั้ง ozone generator แบบ fluidized bed พร้อมกับเครื่องวัดปริมาณโอโซนในอากาศ glass tube ozone detector แล้วนำตัวอย่างที่ผ่านและไม่ผ่านการรมโอโซนไปไว้ที่อุณหภูมิห้อง (~25 องศาเซลเซียส) เพื่อรอการตรวจสอบต่อไป

2.นำพริกแห้งข้างต้นมาตรวจหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (total plate count (CFU/g) เชื้อรา และเชื้อแบคทีเรีย หลังการให้โอโซน

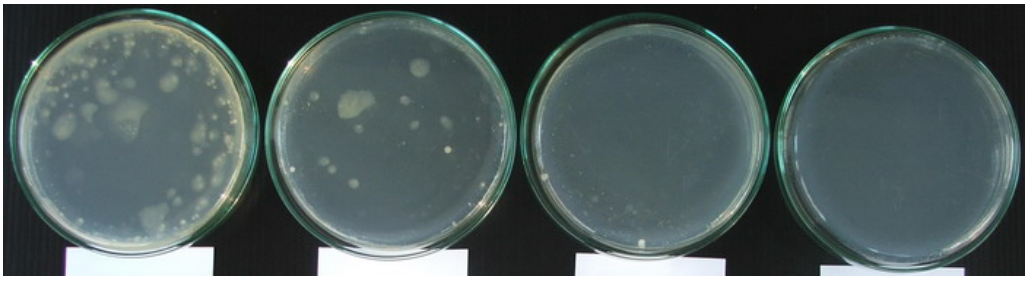
โดยวางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) มี 4 treatment แต่ละ treatment มี 5 ซ้ำ

การศึกษาผลของโอโซนต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ รา และสารอะฟลาท็อกซินของพริกแห้งระหว่างการเก็บรักษา

นำพริกแห้งที่ผ่านการให้โอโซนตามกรรมวิธีที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 1 มาเปรียบเทียบกับชุดที่ไม่ได้รมโอโซนมาเก็บรักษาใส่ในถุงพลาสติก (polypropylene bag) ซึ่งแบ่งเป็นถุงย่อย เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง (~25 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 6 เดือน สุ่มตัวอย่างพริกแห้ง มาวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ รา และสารอะฟลาท็อกซิน โดยตรวจวิเคราะห์ทุก 15 วัน

ผลและวิจารณ์

การตรวจหาการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ของพริกแห้งจากแหล่งต่างๆในจังหวัดเชียงใหม่ พบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง แบคทีเรียและเชื้อราในปริมาณที่สูงมาก โดยมีปริมาณจุลินทรีย์ที่นับได้เท่ากับ 1×10^6 CFU/g และปริมาณเชื้อราและยีสต์ 1×10^7 CFU/g ซึ่งเกินกว่าค่าคุณลักษณะของพริกแห้งที่ต้องการตามมาตรฐานที่กำหนดไว้คือมีจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่เกิน 5×10^5 CFU/g และมีเชื้อราและยีสต์ไม่เกิน 1×10^2 CFU/g (วิเชียรและคณะ, 2548) นำตัวอย่างพริกแห้งมารมโอโซนเป็นเวลา 0, 20, 40 และ 60 นาที จากนั้นนำมาตรวจหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด โดยทำระยะเวลาละ 5 ซ้ำ พบว่าโอโซนสามารถลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ได้ โดยการรมโอโซนที่ 60 นาที สามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ได้มากกว่าระยะเวลาอื่นๆ (Figure 1) โดยลดลงจาก 1×10^6 CFU/g เหลือ 5×10^5 CFU/g (Figure 2) เช่นเดียวกับ เพ็ญแขและคณะ (2550) ได้ศึกษาผลของน้ำโอโซน โซเดียมไฮโปคลอไรท์ และไอน้ำร้อน ในการลดเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดบนผิวพริกขี้หนูสด พบว่าทุกวิธีสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ได้มากขึ้นเมื่อระยะเวลาสัมผัสนานขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับ Palou et al. (2001) ที่ศึกษาผลของการได้รับก๊าซโอโซนความเข้มข้น 0.3 ppm กับส้มพันธุ์วาเลนเซีย (valencia) พบว่าสามารถชะลอการเกิดโรคราสีเขียวและราสีน้ำเงิน (green and blue mold)



(a) **(b)** **(c)** **(d)**

Figure 1 Total plate count [CFU/ml (x 10^5)] of dried chilli treated with gaseous ozone for 20 (b), 40 (c), 60 minutes (d) and control (a)

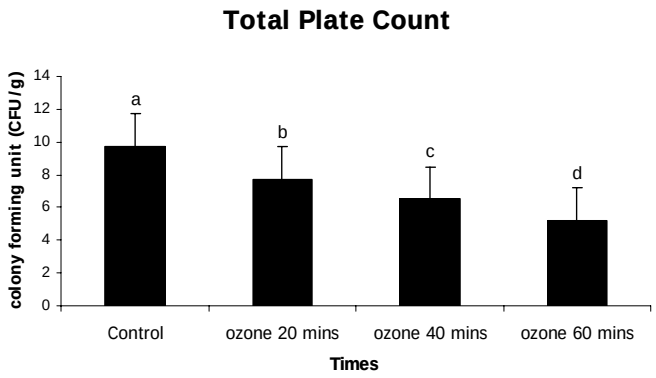


Figure 2 Total plate count [CFU/ml (x 10^5)] of Dried Chilli treated with gaseous ozone for 0,20,40 and 60 minutes

จากการทดลองโดยนำพริกแห้งมารมด้วยโอโซนตามกรรมวิธีที่ดีที่สุดจากการทดลองข้างต้นคือ 60 นาที จากนั้นนำมาทดสอบดูการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ ก่อนและหลังรม 5 ซ้ำ จากนั้นนำไปเก็บรักษาเป็นเวลา 6 เดือน พบว่าปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ลดลงจาก 23.6 x 10^5 CFU/g เหลือ 5.7 x 10^5 CFU/g นอกจากนี้สามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อราและยีสต์จาก 87.6 x 10^5 CFU/g เหลือ 13.4 x 10^5 CFU/g (Figure 3) จากการศึกษาการปนเปื้อนสารอะฟลาท็อกซิน พบว่าพริกแห้งก่อนการรมด้วยโอโซนมีปริมาณอะฟลาท็อกซินถึง 5.4 ppb แต่เมื่อทำการรมด้วยโอโซน 60 นาที ปริมาณอะฟลาท็อกซินใน พริกแห้งลดลงเหลือ 3.6 ppb (Figure 4) อาจเนื่องจากการเป็นสารออกซิไดส์ของโอโซนทำให้สารประกอบต่างๆเกิดการแตกตัวได้ เช่นเดียวกันกับ Inan et al. (2007) ซึ่งใช้ก๊าซโอโซนในการลดความเป็นพิษของอะฟลาท็อกซิน B_1 ในพริกแดง พบว่าสามารถลดได้ 80% และ 93% เมื่อได้รับโอโซนความเข้มข้น 33 และ 66 mg/l เป็นเวลา 60 นาที ตามลำดับ โดยไม่มีผลต่อคุณภาพและสี และสอดคล้องกับ Zorlugen et al. (2008) ซึ่งศึกษาผลของแก๊สและน้ำโอโซนที่มีต่อเชื้อจุลินทรีย์และปริมาณสารอะฟลาท็อกซิน-บี1 ในผลมะเดื่อแห้ง พบว่าอัตราการสลายสารอะฟลาท็อกซินจะเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มเวลาในการได้รับโอโซน โดยที่แก๊สโอโซนมีประสิทธิภาพในการลดสารอะฟลาทอกซิน-บี1ได้มากกว่าใช้น้ำโอโซนโดยโอโซนจะเข้าไปทำลายเชื้อราที่สร้างอะฟลาท็อกซิน จึงทำให้ปริมาณของอะฟลาท็อกซินลดจำนวนลงไปด้วย

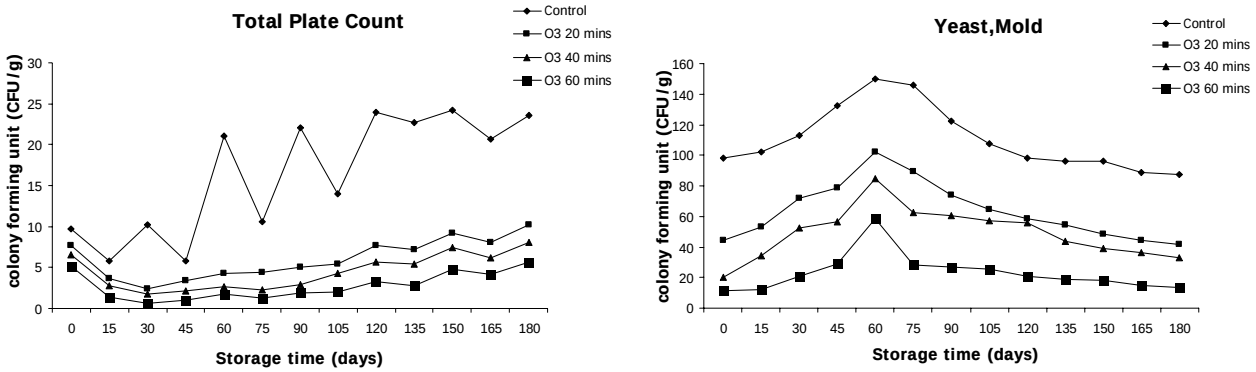


Figure 3 Change in microbial contaminant of dried chilli after ozone exposure and storage at ambient temperature for 6 months

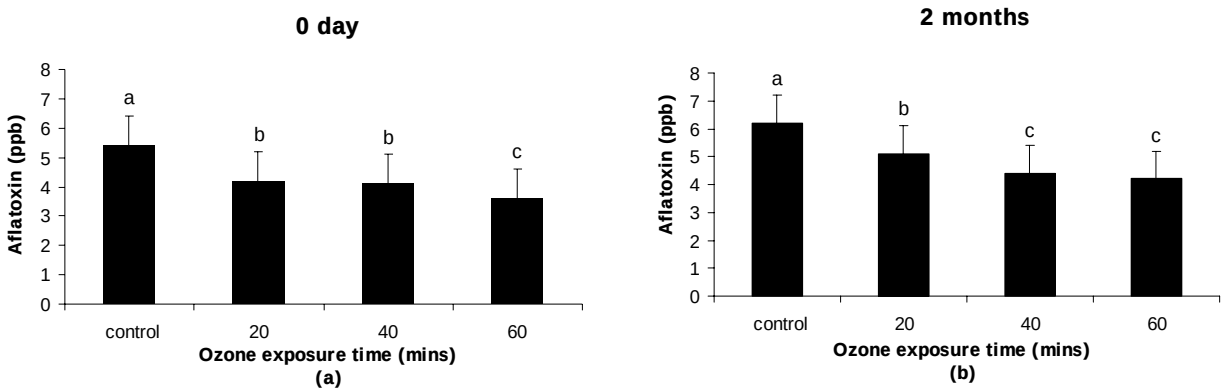


Figure 4 Aflatoxin (ppb) of dried chilli treated with gaseous ozone for 20, 40, 60 minutes (a) and storage at ambient temperature for 2 months (b)

สรุป

การรมพริกแห้งด้วยโอโซนเป็นระยะเวลา 60 นาที มีผลต่อการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดรวมทั้งเชื้อราและยีสต์ นอกจากนี้โอโซนยังมีผลทำให้สารอะฟลาท็อกซินลดลง แต่เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 2 เดือน โอโซนไม่มีผลต่อปริมาณสารอะฟลาท็อกซิน

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว / ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ และบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่สนับสนุนงานวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

เพ็ญแข จิรอัสดร. ประเวทย์ ตุ้ยเต็มวงศ์. ฆรณี ตุ้ยเต็มวงศ์ และภัณฑิรา เกตุแก้ว. 2550. การใช้คลอรีน ไอน้ำ และโอโซนในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวพริกขี้หนูสด. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 38(5) (พิเศษ): 197-200.

วิเชียร ยงมานิตชัย. วราภา มหากาญจนกุล. สุวรรณา กลัดพันธุ์. อมรา ชินภูติมาลัย และมาลัย บุญรัตนกรกิจ. 2548. การจัดการเพื่อลดการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในพริกแห้งและพริกป่น. รายงานการวิจัย. สำนักงานคณะกรรมวิจัยแห่งชาติ, กรุงเทพฯ. 110 หน้า.

อนงค์ บิณฑวิหค. 2546. สารพิษจากเชื้อรา : อะฟลาทอกซิน. พิมพ์ครั้งที่ 1. โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ. 322 หน้า.

Inan F., M. Pala and I. Doymaz. 2007. Use of ozone in detoxification of aflatoxin B_1 in red pepper. *Journal of Stored Products Research* 43: 425–429.

Kogure K., U. Simidu and N. Taga N. 1979. A tentative direct microscopic method for counting living marine bacteria. *Canadian Journal of Microbiology* 25(3): 415–420.

Palou, L., J. L. Smilanick, C. H. Crisosto and M. Mansour. 2001. Effect of gaseous ozone exposure on the development of green and blue molds on cold stored citrus fruit. *Plant Disease* 85: 632-638.

Zorlugenc, B., F. K. Zorlugenc, S. Oztekin and I. Bulend Evliya. 2008. The influence of gaseous ozone and ozonated water on microbial flora and degradation of aflatoxin B_1 in dried figs. *Food and Chemical Toxicology* 46: 3593-3597.