The Journal of Applied Science **Vol. 17 No. 2: Y-Z [2018]**
วารสารวิทยาศาสตร์ประยุกต์ doi: 10.14416/j.appsci.2018.08.001
ISSN 1513-7805 (Printed in Thailand) ISSN 2586-9663 (Online)

Research Article

ผลในการควบคุมการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในบรรยากาศของฟิล์มเจาะรูขนาดไมครอนเข้าสู่บรรจุภัณฑ์

Effect of airborne microbial contamination control of micro-perforated film into packaging

ศุภาพิชย์ วิธุรัติ[1], นพดล เกิดดอนแฝก[2], เบญจวรรณ ธรรมธนารักษ์[1] และ สาวิตรี วทัญญูไพศาล[1*]
Supapit Viturat [1], Noppadon Kerddonfag [2], Benjawan Thumthanaruk[1] and Savitri Vatanyoopaisarn[1*]
[1]ภาควิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร อาหาร และสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ บางซื่อ กรุงเทพฯ 10800
[2] หน่วยวิจัยโพลิเมอร์ ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120
[1] Department of Agro-Industrial, Food, and Environmental Technology, Faculty of Applied Science, King Mongkut's University of Technology North Bangkok, Bangsue, Bangkok 10800, Thailand
[2] Polymer Research Unit, National Metal and Materials Technology Center (MTEC), Klong Luang, Pathumthani 12120
***E-mail**: savitri.v@sci.kmutnb.ac.th

Received: 15/05/2018; Accepted: 28/08/2018

บทคัดย่อ

ฟิล์มปิดหน้าพอลิโพรพิลีนชนิด BOPP (biaxillaly polypropylene film) ที่มีการเจาะรูขนาดไมครอนได้มีการพัฒนาขึ้นเพื่อให้เกิดสภาวะดัดแปลงบรรยากาศแบบสมดุลภายในบรรจุภัณฑ์ให้เหมาะกับการยืดอายุผลิตผลตัดแต่งสดพร้อมบริโภค โดยชะลอเน่าเสียทางกายภาพ อย่างไรก็ตามเนื่องจากรูเจาะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 80 ไมครอนซึ่งมีขนาดใหญ่กว่าจุลินทรีย์ทั่วไป งานวิจัยนี้จึงมีจุดประสงค์เพื่อตรวจสอบโอกาสการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์จากบรรยากาศผ่านรูเจาะของฟิล์มปิดหน้าถาด การทดสอบทำโดยเทอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ลงในถาดพอลิโพรพิลีนและปิดผนึกถาดด้วยฟิล์มพอลิโพรพิลีนที่ผ่านการเจาะรูขนาด 80 ไมครอน จำนวน 0 รู (BOPP-0H), 5 รู (BOPP-5H) และ 80 รู (BOPP-80H) บ่มที่ 25 ºC และ 8 ºC ภายในตู้แช่แบบเปิด และปิด ที่ระยะเวลา 10 วัน พบว่าหากบรรยากาศที่วางถาดมีจุลินทรีย์ปะปนอยู่มากจุลินทรีย์สามารถตกผ่านรูเจาะขนาด 80 ไมครอนเข้าสู่ถาดได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อเก็บที่ 25 ºC มีจำนวนจุลินทรีย์ในอากาศสูงกว่าที่ 8 ºC มาก โดยฟิล์ม BOPP-80H พบ

เชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนมากกว่า BOPP-5H ในขณะที่ BOPP-0H ไม่พบจุลินทรีย์เจริญเลย ดังนั้นการยืดอายุการเก็บผลิตผลโดยการใช้ฟิล์มปิดหน้าถาดประเภทนี้จึงต้องจัดวางในสภาพบรรยากาศที่มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในอากาศน้อยด้วยจึงจะป้องกันการเสื่อมเสียทั้งทางกายภาพและชีวภาพ

คำสำคัญ: ฟิล์มพอลิโพรพิลีนชนิดยืดขึ้นรูปสองทิศทาง, รูเจาะขนาดไมครอน, ผลิตผลสดตัดแต่ง, จุลินทรีย์ในอากาศ, การเน่าเสีย

Abstract

Recently biaxially polypropylene (BOPP) film or micro-perforated film was developed to create a modified atmosphere to physically extend the shelf-life of fresh-cut produces. However, the size of microhole was 80 micron which is bigger than the size of typical microorganism, thus the biological contamination from the air may occur. This research, therefore, aimed to study the possibility of microbial contamination via the hole of micro-perforated film The experiment was conducted by pouring plate count agar in the tray and sealed with micro-perforated films of different pore numbers, 0 holes (BOPP-0H), 5 holes (BOPP-5H) and 80 holes (BOPP-80H). The trays were incubated at 25 ºC and 8 ºC (open and close refrigerator) for 10 days. The number of airborne microorganisms was also examined by settle plate method. The result showed that the number of microbes found in the tray related to that of airborne, especially when stored at 25 ºC which had higher contamination of airborne microorganisms than at 8 ºC. Therefore, the microbes contaminated in the air could pass through the perforated film of 80-micrometer size. This was due to the size of the hole bigger than the cell and spore of microorganism. In addition, the tray covered with BOPP-80H had higher microbial contamination than that with BOPP-5H. Whilst, the tray covered with BOPP-0H had no microbial colony. In order to prolong the storage life of the fresh cut produces using micro-perforated film, the packaging must be placed in the atmosphere with low airborne contamination to delay both physical and biological spoilage.

Keywords: biaxially polypropylene film, micro-perforated, fresh-cut produce, airborne microorganism, spoilage

บทนำ

เทคนิคการเจาะรูขนาดไมครอนได้ถูกนำมาใช้ร่วมกับการผลิตฟิล์มบรรจุภัณฑ์ทำให้เพิ่มประสิทธิภาพในการสร้างสมดุลสภาวะบรรยากาศดัดแปลงภายในภาชนะบรรจุของผลิตผลสดตัดแต่ง (Chantanop et al., 2014) ทั้งนี้ศูนย์เอ็มเทคได้พัฒนาต้นแบบเครื่องเจาะรูฟิล์มด้วยเลเซอร์ และสามารถผลิตฟิล์มเจาะรูขนาดไมครอน (micro-perforated films) ที่ควบคุมอัตราการผ่านของแก๊สได้ เนื้อฟิล์มมีความใส แข็งแรงไม่เกิดฝ้าขณะใช้งาน ซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลางรูเจาะอยู่ในช่วง 50-80 ไมครอน เหมาะสำหรับผลิตผลสดเขตร้อนของไทยมีสมบัติการผ่านของแก๊สออกซิเจนเป็นช่วงกว้างหรือมีค่า oxygen transmission rate (OTR) 3,000-25,000 cc/m².day โดยอัตราการแพร่ผ่านของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ต่อแก๊สออกซิเจน (O_2) (permeability ratio, PCO_2)/PO_2, b) มีค่า ~0.8-1 (NSTDA, 2012) เมื่อนำเทคนิคการเจาะรูด้วยเลเซอร์ดังกล่าวมาใช้กับฟิล์มพอลิโพรพิลีนชนิด BOPP (biaxillaly polypropylene film) ที่มีคุณสมบัติการแพร่ผ่านของแก๊สต่ำ (Winotapun et al., 2015) จึงช่วยเพิ่มอัตราการซึมผ่านของแก๊สออกซิเจนและอัตราการซึมผ่านของไอน้ำสูงขึ้นได้ตามจำนวนรูเจาะ ส่งผลให้ภายในภาชนะบรรจุสามารถสร้างสภาวะบรรยากาศดัดแปลงให้เหมาะสมต่ออัตราการหายใจ การคายน้ำ ของผลิตผลแต่ละประเภท (Mastromatteo et al., 2012) จึงลดการเสื่อมสภาพและสามารถยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตผลได้ ตัวอย่างเช่น การใช้ภาชนะบรรจุชนิดพอลิโพรพิลีน (PP) ปิดด้วยฟิล์ม BOPP ที่เจาะรูขนาดไมครอนจำนวน 9 รู ทำให้มีค่า OTR อยู่ที่ 98,000 ml/m^2.day สามารถยืดอายุการเก็บรักษาข้าวโพดฝักอ่อน ได้นานถึง 22 วัน เมื่อเทียบกับฟิล์มที่ไม่เจาะรูที่เก็บได้เพียง 9 วัน (Boonthanakorn et al., 2015) นอกจากนี้ยังมีรายงานการศึกษาในเงาะโดยใช้บรรจุภัณฑ์ BOPP เจาะรูขนาดไมครอนที่มีค่า OTR เป็น 3,765 ml/m^2.day ช่วยลดการสูญเสียน้ำหนักและชะลอการเกิดสีน้ำตาลดำของขนและผิวเปลือกของเงาะได้นาน 14 วัน (Winotapun et al., 2010) อย่างไรก็ตามการศึกษาก่อนหน้านั้นศึกษาอายุการเก็บผลิตผลจากลักษณะทางกายภาพ และการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสเป็นสำคัญ หากแต่การสูญเสียของผลิตผลสดนั้นอาจเกิดเนื่องจากจุลินทรีย์ได้อีกด้วย

โดยทั่วไปผลิตภัณฑ์อาหารจะปรากฏการเน่าเสียที่ผู้บริโภครับรู้ได้จากการเปลี่ยนแปลงสี กลิ่นหรือรสนั้นเมื่อมีจำนวนจุลินทรีย์ ราว $10^5 – 10^6$ CFU/g ในขณะที่จำนวนจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคแก่ผู้บริโภคได้มีน้อยกว่านั้นมาก (<10 CFU/g ในเชื้อแบคทีเรียก่อโรคบางชนิด) (Garbutt, 1997) จุลินทรีย์สามารถปนเปื้อนมาได้ทุกขั้นตอนการผลิต ตั้งแต่แปลงปลูก การเก็บเกี่ยว กระบวนการตัดแต่ง และบรรจุ และระหว่างรอการจำหน่าย ผลิตผลตัดแต่งสดที่รอจำหน่ายอยู่ในบรรจุภัณฑ์จึงเป็นขั้นสุดท้ายก่อนถึงมือผู้บริโภค เนื่องจากขนาดของรูเจาะบนฟิล์มมีเส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ในช่วง 50-80 ไมครอน ในขณะที่เชื้อจุลินทรีย์เช่นแบคทีเรียโดยทั่วไปมีขนาด 1-10 ไมครอน ขณะสปอร์ของเชื้อราทั่วไปมีผ่านศูนย์กลาง 5-20 ไมครอน (Talaro & Chess, 2015) ซึ่งเล็กกว่าขนาดรูเจาะ 4-80 เท่า จุลินทรีย์แพร่กระจายอยู่ทั่วไปรวมทั้งในอากาศ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาโอกาสการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์จากบรรยากาศผ่านรูเจาะขนาดไมครอนของฟิล์มปิดหน้าถาด การทดสอบทำโดยเทอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ลงในถาดพอลิโพรพิลีนและปิดผนึกถาดด้วยฟิล์มพอลิโพรพิลีนที่ผ่านการเจาะรูขนาด 80 ไมครอน จำนวน 0 รู

(BOPP-0H), 5 รู (BOPP-5H) และ 80 รู (BOPP-80H) บ่มที่ 25ºC และ 8ºC ภายในตู้แช่แบบเปิด และปิด ที่ระยะเวลา 10 วัน เปรียบเทียบกับการตรวจจนับจำนวนจุลินทรีย์ในอากาศที่เก็บรักษาด้วยการวางจานเปิดฝาไว้

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. การตรวจนับจุลินทรีย์ในอากาศด้วยวิธี Settle plates

นำจานอาหารเพาะเชื้อ plate count agar (PCA) (SRL, อินเดีย) ที่ผ่านการเตรียมให้ปราศจากเชื้อแล้ว เปิดฝาจานเพาะเชื้อจำนวน 5 จาน วางเรียงบนโต๊ะสูงจากพื้นประมาณ 80 ซม. ในห้องที่เปิดเครื่องปรับอากาศอุณหภูมิ 25±2 ºC เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ปิดฝาจานและบ่มต่อที่อุณหภูมิเดียวกัน ในขณะที่การตรวจนับจุลินทรีย์ในอากาศที่อยู่ในตู้แช่เย็นแบบปิดและและแบบเปิด ทำการเตรียมอาหารเช่นเดียวกันแต่นำจานอาหาร PCA ไปวางเปิดฝาทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 8 ± 2 ºC ในตู้แช่หน้าเปิด (Sanden Intercool, รุ่น SMO-0900, เยอรมัน) และตู้แช่แบบปิด (ตู้เย็น 3 ประตู Siemens, อิตาลี) โดยเปิดฝาจานเพาะเชื้อตลอด 10 วัน (ปรับจากวิธีการของ Vatanyoopaisarn et al., 2015) บันทึกจำนวนโคโลนีทุกวันจนครบ 10 วันโดยแยกนับระหว่างจำนวนแบคทีเรีย ซึ่งเป็นโคโลนีที่เจริญมาก่อนภายใน 1-2 วันแรก ทำเครื่องหมายใต้จานบริเวณที่นับจำนวนไปแล้ว ส่วนเชื้อราสังเกตเบื้องต้นจากโคโลนีที่สร้างเส้นใยและเจริญหลังจาก 3 วัน หยุดการบันทึกผลเมื่อเกิดการลามของโคโลนีจนไม่สามารถแยกได้ก่อน 10 วัน

2. การศึกษาผลของรูเจาะขนาด 80 ไมครอนบนฟิล์มบรรจุภัณฑ์ต่อการผ่านของเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในบรรยากาศ

เทอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ที่ผ่านการเตรียมให้ปราศจากเชื้อ ลงในถาดพลาสติกชนิดพอลิโพรพิลีน (PP) ขนาด 14 ซม. x 19 ซม. x 3.5 ซม. และปิดผนึกด้วยฟิล์มพลาสติก (BOPP) ที่ทำการเจาะรูด้วยเลเซอร์ขนาด 80 ไมครอนโดยมีจำนวนรูตั้งแต่ 0, 5 และ 80 รู ทำการทดลองอย่างละ 5 ซ้ำ จากนั้นส่งไปฉายรังสีแกมม่าที่สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน) องครักษ์ จ.นครนายก ใช้ปริมาณรังสี 25 กิโลเกรย์ รอบการดำเนินการนาน 8-10 ชั่วโมง เพื่อกำจัดเชื้อที่อาจปนเปื้อนอยู่ในบรรจุภัณฑ์ ก่อนนำไปวางเรียงบนโต๊ะในห้องที่เปิดเครื่องปรับอากาศอุณหภูมิ 25±2 ºC และที่อุณหภูมิ 8±2 ºC ในตู้แช่แบบปิด และตู้แช่แบบเปิด (โดยชุดควบคุมคืออาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมในบรรจุภัณฑ์เดียวกัน เปิดแผ่นฟิล์ม BOPP ที่ไม่เจาะรูวางไว้ในห้องที่เปิดเครื่องปรับอากาศอุณหภูมิ 25±2 ºC เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วปิดผนึกด้วยฟิล์มชนิดเดิม) บันทึกจำนวนโคโลนีแยกระหว่างแบคทีเรียและราเช่นเดียวกับที่ได้อธิบายไว้ในข้อ 1 เมื่อครบเวลาตรวจสอบยืนยันโดยเปิดฟิล์มพลาสติกและฝาจานเพาะเชื้อออกเพื่อเขี่ยโคโลนีแบคทีเรียมาย้อมสีแบบแกรม และย้อมสีเชื้อราด้วย lactophenol cotton blue ก่อนบันทึกลักษณะที่เห็นใต้กล้องจุลทรรศน์ (Meji, ญี่ปุ่น: ต่อกับกล้องดิจิตอล รุ่น MDCE-5C ที่เชื่อมต่อเข้าคอมพิวเตอร์และซอฟแวร์บันทึกภาพ ScopeImage 9.0, บริษัทไทยจุลทรรศน์) บันทึกภาพที่กำลังขยาย 400 เท่า และทำการเปรียบเทียบลักษณะของจุลินทรีย์ที่พบในอากาศกับจุลินทรีย์ที่พบในถาดพอลิโพรพิลีนที่ปิดผนึกด้วยฟิล์ม BOPP รูเจาะขนาด 80 ไมครอน

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการตรวจนับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ปะปนในบรรยากาศที่วางบรรจุภัณฑ์ แสดงดังตารางที่ 1 พบว่า ในห้องที่เปิดเครื่องปรับอากาศอุณหภูมิประมาณ 25 ºC เมื่อเปิดฝาจาน 1 ชม. มีจำนวนโคโลนีสะสมรวม 25 โคโลนี ในขณะที่จำนวนโคโลนีในถาดพลาสติกพอลิโพรพิลีนที่เปิดทิ้งไว้นาน 1 ชม. ก่อนปิดหน้าถาดด้วยฟิล์ม BOPP ไม่เจาะรู พบจำนวนจุลินทรีย์สะสมรวม 258 โคโลนี ทั้งนี้พบว่าโคโลนีของแบคทีเรียเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อตั้งแต่วันแรก และเชื้อราเริ่มเห็นโคโลนีในวันที่ 3 เมื่อบ่มที่อุณหภูมิเดียวกัน ดังนั้นจานอาหารที่มีแบคทีเรียเจริญมักพบว่าในวันที่ 5 ของการบ่มโคโลนีแผ่ลามจนไม่สามารถบันทึกผลต่อได้ ในขณะที่ถาดอื่นที่เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและปิดด้วยฟิล์ม BOPP ทั้งที่ไม่เจาะรู และเจาะรูขนาด 80 ไมครอน ก่อนนำไปทำให้ปราศจากเชื้อ และวางไว้ที่อุณหภูมิเดียวกันนี้ จะเห็นได้ว่าถาดที่ปิดด้วยฟิล์มที่ไม่เจาะรูไม่พบการเจริญของจุลินทรีย์เลย ตลอดระยะเวลาการบ่ม ในขณะที่เจาะรู 5 และ 8 รู พบจุลินทรีย์สะสม 12 และ 17 โคโลนีตามลำดับ พบเป็นเชื้อรามากกว่าแบคทีเรียและเนื่องจากมีจำนวนแบคทีเรียเจริญน้อยจึงสามารถบันทึกผลได้ตลอดระยะเวลา 10 วัน

การเปิดจานอาหารเลี้ยงเชื้อไว้ในบริเวณที่ต้องการตรวจสอบชนิดของเชื้อจุลินทรีย์เป็นวิธีการตรวจสอบจุลินทรีย์ในอากาศวิธีหนึ่งที่เตรียมได้ง่ายและมีการปฏิบัติมานานแล้ว (Collins et al., 1995) และโดยอาศัยหลักการที่ปล่อยให้อนุภาคจากอากาศตกลงมาตามแรงดึงดูดของโลก (gravitational settling) (Pepper & Gerba, 2011) อนุภาคที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางต่ำกว่า 10 ไมครอนมีความเร็วในการตกอยู่ในช่วง 3.75 x 10^{-3} ถึง 7.6 x 10^{-3} เมตรต่อวินาที ส่วนอนุภาคที่มีขนาดใหญ่กว่านี้ อัตราเร็วในการตกต่ำกว่าซึ่งสูงสุดได้ถึง 3.6 x 10^{-2} เมตรต่อวินาที (Chorel et al., 2010) ดังนั้นสปอร์เชื้อราที่มีขนาดใหญ่กว่าจึงมีโอกาสตกตามแรงดึงดูดของโลกได้เร็วกว่าแบคทีเรียที่มีขนาดเล็กกว่า นอกจากนี้อนุภาคขนาดเล็กยังอาจถูกพัดพาให้เปลี่ยนทิศทางการตกจากแรงลมที่พัดเวียนอยู่ภายในบริเวณนั้น ลมที่เปลี่ยนทิศทางของอนุภาคได้มีทั้งที่เกิดจากการเป่าโดยตรงมีทิศทางแน่นอน และการเดินผ่านไปมาของคนทำให้เกิดลมแบบไม่มีทิศทาง (Pepper & Gerba, 2011) ห้องที่วางถาด 25ºC ดังกล่าวเป็นบริเวณที่อยู่ภายในอาคาร มีคนผ่านเข้าออกห้องเป็นระยะ และภายในห้องมีคนอยู่ตลอดเวลา ส่งผลทำให้พบเชื้อจุลินทรีย์หมุนเวียนอยู่ในอากาศที่มาจากการเปิดปิดประตูบ่อย และกิจกรรมของผู้คนที่เข้าออก จุลินทรีย์จากอากาศที่ปะปนภายในอาคารส่วนใหญ่มีสาเหตุจากกิจวัตรของผู้คนที่อยู่ภายในอาคารหลัก ๆ ได้แก่ ละอองที่ปลดปล่อยออกมาจากทางเดินหายใจ เศษผิวหนังที่หลุดร่อนของมนุษย์ การเดินเข้าออกที่พาฝุ่นดินติดมากับเสื้อผ้าและรองเท้า รวมทั้ง เครื่องปรับอากาศที่มีฝุ่นเกาะ (Deisingh, 2004) นอกจากนี้จากการตรวจสอบความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศในห้องนี้มีค่าเฉลี่ย 54 %

ส่วนที่อุณหภูมิ 8 ºC ในตู้แช่แบบเปิดและปิด เมื่อเปิดฝาจานเพาะเชื้อไว้ จากจำนวน 5 จานพบโคโลนีเจริญเพียง 1-2 จาน ส่วนใหญ่ไม่พบเลยแม้จะเปิดจานทิ้งไว้นาน 10 วัน (ตารางที่ 2) แตกต่างจากอากาศที่อุณหภูมิ 25 ºC (ตารางที่ 1) อย่างชัดเจน ที่มีจุลินทรีย์ปนเปื้อนอยู่ในบรรยากาศมากกว่า อย่างไรก็ตามในถาดที่ปิดด้วยฟิล์มที่มีรูเจาะยังพบการเจริญของโคโลนีอยู่ในบางถาดและพบในถาดที่วางไว้ในตู้แช่แบบเปิดมากกว่าแบบปิด ซึ่งพบโคโลนีขึ้นจาก 3 ถาดใน 5 ถาดทั้งที่ปิดหน้าด้วยฟิล์ม 5 รู และ 80 รู ตู้แช่ทั้งสองแบบดังกล่าวถูกวางไว้ในบริเวณที่มีคนผ่านเข้าน้อยมากจึงส่งผลให้เชื้อจุลินทรีย์ในอากาศที่พบในตู้แบบปิดและตู้แบบเปิดไม่แตกต่างกัน

ตารางที่ 1. จำนวนโคโลนีสะสมในอากาศ และบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ที่เตรียมในบรรจุภัณฑ์ PP และปิดด้วยฟิล์ม BOPP เมื่อวางไว้ที่อุณหภูมิ 25 ºC นาน 10 วัน

อุณหภูมิ 25ºC ความชื้นสัมพัทธ์ 54 %				
จุลินทรีย์ที่ตรวจสอบ	**ภาชนะ และสภาวะที่ทดสอบ**	**จำนวนโคโลนี**		**จำนวนโคโลนีสะสม**
		แบคทีเรีย	**เชื้อรา**	
จุลินทรีย์ในอากาศ (วิธี settle plates)	จานเพาะเชื้อ เปิดทิ้งไว้ 1 ชม. ก่อนปิดฝา	8**	17**	25
	ถาด PP เปิดทิ้งไว้ 1 ชม. ก่อนปิดด้วย BOPP-0H	31**	227**	258
จุลินทรีย์จากอากาศที่ปนเปื้อนลงในถาดผ่านรูเจาะ	ถาด PP ปิดด้วย BOPP-0H	0*	0*	0
	ถาด PP ปิดด้วย BOPP-5H	2*	10*	12
	ถาด PP ปิดด้วย BOPP-80H	5*	12*	17

<u>หมายเหตุ</u> *จำนวนโคโลนีสะสมในวันที่ 10, **จำนวนโคโลนีสะสมที่บันทึกในวันที่ 4 ก่อนการขยายลามจนไม่สามารถนับจำนวนได้, BOPP-0H = ฟิล์มไม่เจาะรู, BOPP-5H = ฟิล์มเจาะ 5 รู, BOPP-80H = ฟิล์มเจาะ 80 รู

เนื่องจากในอากาศไม่มีสารอาหาร จุลินทรีย์ที่ปนอยู่จึงไม่เพิ่มจำนวน แต่สามารถอยู่รอดได้นานเท่าใดขึ้นปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการอยู่รอดของจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรียที่สร้างเอนโดสปอร์ได้มีชีวิตรอดในอากาศได้นานกว่าเซลล์แบคทีเรียทั่วไป (Maier et al., 1999) อุณหภูมิส่งผลต่อจุลินทรีย์เช่นกัน หากจุลินทรีย์ที่ปะปนในอากาศมีแหล่งที่มาจากกิจกรรมของมนุษย์หรือหลุดร่อนจากผิวหนังร่างกายแล้ว อุณหภูมิที่สามารถอยู่รอดได้ดีย่อมเป็นอุณหภูมิห้องหรืออุณภูมิร่างกายซึ่งเรียกจุลินทรีย์กกลุ่มนี้ว่า mesophiles (Talaro & Chess, 2015) อุณหภูมิเย็นส่งผลต่อเมตาบอลิซึมของจุลินทรีย์ mesophiles ให้ทำงานได้น้อยลง ในขณะที่ psychrophiles อยู่รอดได้ดีกว่าที่อุณหภูมิต่ำ (Garbutt, 1997) ความชื้นสัมพัทธ์ก็ส่งผลต่อการอยู่รอดของจุลินทรีย์เช่นกัน แบคทีเรียแกรมบวกอยู่รอดในสภาพความชื้นสัมพัทธ์สูงได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (Maier et al., 1999) และสปอร์ของเชื้อราทนสภาวะแห้งได้ดีกว่า

ตารางที่ 2. จำนวนโคโลนีสะสมในอากาศ และบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCAที่เตรียมในบรรจุภัณฑ์ PP และปิดด้วยฟิล์ม BOPP เมื่อบ่มในตู้แช่แบบเปิดและปิดอุณหภูมิ 8±2 ºC นาน 10 วัน

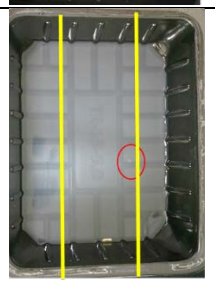
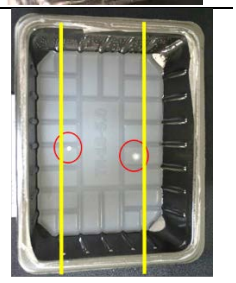
จุลินทรีย์ที่ตรวจสอบ	**ภาชนะ และสภาวะที่ทดสอบ**	**ตู้แช่แบบเปิด อุณหภูมิ 8±2ºC ความชื้นสัมพัทธ์ 7.2 %**		**ตู้แช่แบบปิด อุณหภูมิ 8±2ºC ความชื้นสัมพัทธ์ 6.6 %**	
		แบคทีเรีย	**เชื้อรา**	**แบคทีเรีย**	**เชื้อรา**
จุลินทรีย์ในอากาศ	จานเพาะเชื้อ	0	2	0	1
จุลินทรีย์จากอากาศที่ปนเปื้อนลงในถาดผ่านรูเจาะ	ถาด PP ปิดด้วย BOPP-0H	0	0	0	0
	ถาด PP ปิดด้วย BOPP-5H	1	5	0	1
	ถาด PP ปิดด้วย BOPP-80H	1	4	0	2

<u>หมายเหตุ</u> BOPP-0H = ฟิล์มไม่เจาะรู, BOPP-5H = ฟิล์มเจาะ 5 รู, BOPP-80H = ฟิล์มเจาะ 80 รู

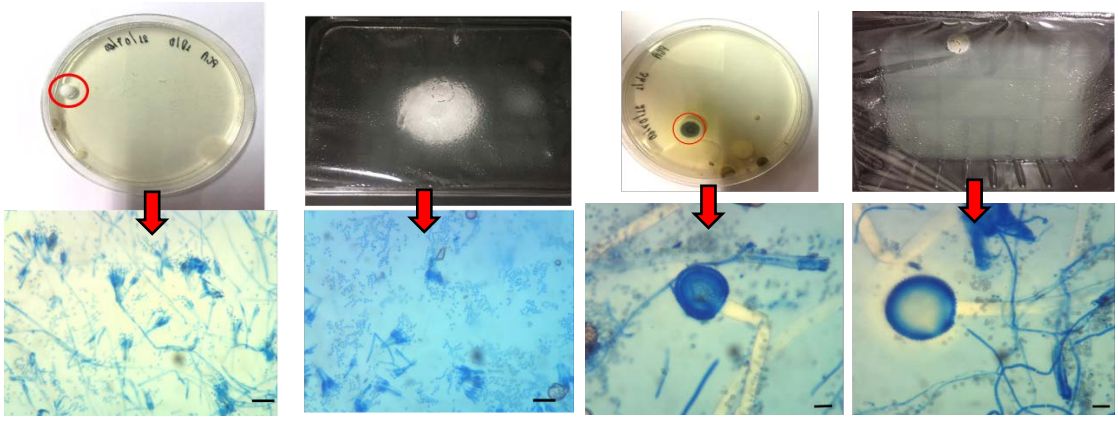
เมื่อพิจารณาลักษณะของโคโลนีที่เจริญบนอาหารเพาะเชื้อที่เตรียมในถาด PP และบ่มที่อุณหภูมิห้อง (25 ºC) พบว่าฟิล์ม BOPP ที่มีจำนวนรูเจาะ 80 รูพบจุลินทรีย์สามารถผ่านรูเจาะได้มากกว่า 5 รู ในทุกสภาวะการเตรียม อีกทั้งบริเวณที่พบจำนวนโคโลนีเกิดขึ้นจะอยู่ตามแนวรูเจาะและตำแหน่งการเกิดโคโลนีอยู่ในระยะทางห่างจากตำแหน่งรูเจาะบนฟิล์มปิดหน้าถาดไม่เกิน 2 ซม. (ดังรูปที่ 1) แบคทีเรียโดยทั่วไปมีขนาด 1-10 ไมครอน และสปอร์ของเชื้อรามีขนาด 5-20 ไมครอน (Talaro & Chess, 2015) ดังนั้นรูเจาะขนาด 80 ไมครอนจึงมีขนาดกว้างกว่าจุลินทรีย์ 8-40 เท่า พอที่จุลินทรีย์ในอากาศสามารถตกผ่านรูลงไปได้

เมื่อนำโคโลนีที่พบจากอากาศในห้องที่มีอุณหภูมิ 25 ºC กับโคโลนีที่พบในถาดพอลิโพรพิลีนที่ปิดผนึกด้วยฟิล์ม BOPP เจาะรูขนาด 80 ไมครอน ทั้ง 5 รู (BOPP-5H) และ 80 รู (BOPP-80H) ที่เกิดขึ้นในวันที่ 10 พบว่าลักษณะโคโลนีมีความสอดคล้องกัน และเมื่อนำไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบลักษณะการสร้างสปอร์แบบไม่อาศัยเพศคล้ายกับเชื้อราในสกุล *Penicillium* spp. และ *Aspergillus* spp. (รูปที่ 2) ส่วนแบคทีเรียมีทั้งแกรมลบ และแกรมบวก รวมทั้งชนิดที่สร้างเอนโดสปอร์ แบคทีเรียที่มักพบภายในอาคารได้แก่ *Bacillus* spp. *Pseudomonas* spp. *Staphylococcus* spp. *Micrococcus* spp. และ *Flavobacterium* spp. ส่วนเชื้อราได้แก่สกุล *Cladosporium* spp. *Penicillium* spp. และ *Aspergillus* spp. (Deisingh, 2004) จุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเสื่อมคุณภาพมีแหล่งที่มาได้ทั้งจากมือของผู้สัมผัสอาหาร ดิน น้ำ รวมทั้งอากาศ ในสภาพแวดล้อมที่เตรียมอาหาร และเก็บอาหารนั้น (Erkmen & Bozoglu, 2016)

Vol. 17 No. 2: Y-Z [2018]
doi: 10.14416/j.appsci.2018.08.001

จำนวนรูเจาะ	โคโลนีที่เกิดขึ้นในถาดพอลิโพรพิลีน			
	อุณหภูมิ 25ºC		อุณหภูมิ 8ºC	
BOPP-0H				
BOPP-5H				
BOPP-80H				
ถาด PP เปิดทิ้งไว้ 1 ชม. ก่อนปิดด้วย BOPP-0H				

รูปที่ 1. บริเวณที่เกิดโคโลนีขึ้นในถาดพอลิโพรพิลีนที่ปิดด้วยฟิล์ม BOPP ในจำนวนรูต่างๆ วงกลมสีแดงแทนตำแหน่งการเกิดโคโลนี และวงกลมสีเหลืองหรือเส้นสีเหลืองแทนตำแหน่งรูเจาะบนฟิล์ม



ก ข

รูปที่ 2. ลักษณะโคโลนีเชื้อราที่อุณหภูมิ 25 ºC เปรียบเทียบโคโลนีที่คล้ายกันจากอากาศ (settle plate) และ ในถาดพอลิโพรพิลีนที่ปิดด้วย BOPP 80 รู ก) เส้นใยสีขาว สปอร์แก่เป็นสีเขียว (พบ asexual spore คล้ายสกุล *Penicillium* spp.) ข) เส้นใยสีขาว สปอร์แก่เป็นสีเทา (พบ asexual spore คล้ายสกุล *Aspergillus* spp.) สเกลเทียบเท่า 20 ไมครอน ภาพแถวล่างบันทึกจากจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Meji, ญี่ปุ่น) ที่กำลังขยาย 400 เท่า

ผลการเปรียบเทียบจำนวนรูเจาะขนาด 80 ไมครอนที่แตกต่างกันบนฟิล์มบรรจุภัณฑ์ต่อการผ่านของเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนจากอากาศ พบว่าถาดชุดแรกที่เปิดทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง พบจำนวนจุลินทรีย์เจริญมากแสดงว่ามีจุลินทรีย์ปนเปื้อนอยู่ในอากาศ และทำให้เชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนจากอากาศสามารถผ่านไปเกิดโคโลนีทั่วทั้งถาดพอลิโพรพิลีน แต่ในขณะฟิล์ม BOPP จำนวนรูเจาะ 5 รู และ 80 รู เชื้อจุลินทรีย์สามารถผ่านได้แค่บริเวณที่มีรูเจาะขนาดไมครอน จึงทำให้ถาดที่ปิดหน้าถาดด้วยฟิล์ม BOPP จำนวนรูเจาะ 5 รู พบจำนวนโคโลนีมีจำนวนเกิดขึ้นน้อยกว่าที่ปิดหน้าถาดด้วยฟิล์ม BOPP จำนวนรูเจาะ 80 รู ดังนั้นจากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าหากนำถาดที่ปิดด้วยฟิล์มเจาะรูนี้ไปใช้ในการบรรจุผลิตผลสดตัดแต่ง และวางจำหน่ายในบริเวณที่มีการกระจายของจุลินทรีย์ในอากาศน้อยย่อมไม่ส่งผลต่อการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ลงในผลิตภัณฑ์ อย่างไรก็ตามจำนวนจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนนั้นไม่ได้เป็นปฏิภาคโดยตรงกับจำนวนรูเจาะ เนื่องจากการกระจายของเชื้อจุลินทรีย์และการตกลงบนพื้นผิวมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องหลายประการ เช่นอนุภาคขนาดเล็ก ตกได้ช้ากว่า การเคลื่อนไหวของลมที่เกิดจากการเดินไปมาของผู้คน รวมทั้งการหมุนเวียนของอากาศ หรือลมที่พัดอยู่ในบริเวณนั้นยังส่งผลต่อทิศทางการตกของอนุภาคได้ (Kanaani et al., 2008)

สรุปผลการทดลอง

การทดลองนำบรรจุภัณฑ์ที่มักใช้สำหรับบรรจุผลไม้ตัดแต่งและปิดหน้าถาดด้วยฟิล์มเจาะรูขนาดไมครอนที่ถูกพัฒนาขึ้นให้ควบคุมการผ่านเข้าออกของแก๊สเพื่อช่วยยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ ได้บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดวางไว้ในห้องที่ที่มีผู้คนเดินผ่านเข้าออกเปิดเครื่องปรับอากาศที่ 25 °C และวางในตู้แช่เย็น 8 °C ได้แสดงให้เห็นว่าหากบรรยากาศมีจุลินทรีย์ปะปนอยู่ ฟิล์มที่เจาะรูขนาด 80 ไมครอนยังสามารถมีจุลินทรีย์ผ่านรูเข้ามาได้ เนื่องจากขนาดของรูเจาะมีขนาดที่ใหญ่กว่าเชื้อจุลินทรีย์ จำนวนรูเจาะมาก มีโอกาสปนเปื้อนมาก อย่างไรก็ตามเมื่อคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การป้องกันเชื้อจุลินทรีย์ที่ผ่านฟิล์ม BOPP โดยเทียบ 0 รู สามารถป้องกันได้ 100% แล้ว ฟิล์ม BOPP-80 รู สามารถการป้องกันจำนวนเชื้อจุลินทรีย์คิดเป็น 91.8% ขณะที่ ฟิล์ม BOPP-5 รู สามารถการป้องกันจำนวนเชื้อจุลินทรีย์คิดเป็น 95.4% ดังการใช้ฟิล์ม BOPP เจาะรูขนาดไมครอนแม้ทำให้เกิดสภาวะดัดแปลงบรรยากาศภายในบรรจุภัณฑ์ซึ่งมีผลดีต่อการชะลอการสูญเสียน้ำและลดเมตาบอลิซึมของผลิตผลสดได้ แต่ในการนำไปใช้จริงเมื่อวางจำหน่ายหรือเก็บรักษายังต้องคำนึงถึงการควบคุมการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในบรรยากาศต่ำด้วยจึงจะส่งเสริมการยืดอายุการการเก็บรักษาผลิตผลตัดแต่งสดได้ดียิ่งขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานนี้ได้รับการสนับสนุนทุนจากโครงการสร้างปัญญาวิทย์ผลิตนักเทคโน (YSTP) สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช) ที่ให้ทุนสนับสนุนสำหรับนักศึกษาสหกิจศึกษา รหัสโครงการ P-14-51356 ขอขอบคุณนางสาวอัจฉรา อ้นที ผู้ช่วยนักวิจัยห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีพลาสติก หน่วยวิจัยโพลิเมอร์ สวทช. ที่ช่วยอำนวยความสะดวกและช่วยเหลือให้คำแนะนำเป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

Boonthanakorn, J., Chinsirikul, W., Kerddonfag, N., Winotapun, C., Hutangura, P. & Thumthanaruk, B. (2015). Shelf life extension of baby corn (*Zea mays* L.) using micro-perforated films. *The Jourmal of KMUTNB*, *25*(3), 439-448. http://dx.doi.org/10.14416/j.kmutnb.2015.06.004 (in Thai)

Chantanop, P., Chinsirikul, W., Winotapun, C., Domrongpokkaphan, V. & Thumthanaruk, B. (2014). Quality and shelf-life of fresh longan under modified atmosphere packaging. *The Journal of KMUTNB*, *24*(3), 615-623. (in Thai)

Chorel, F., Kondjoyan, A & Mirade, P. -S. (2010). Toward quantitative CFD prediction of contaminant particle deposition against surfaces in large forced-ventilation food plants. *Aerosol Science and Technology*, *44*, 10-28. https://doi.org/10.1080/02786820903325410

Collins, C. H., Lyne, P. M. & Grange, J. M. (1995). *Collins & Lyne's Microbiological Methods* (7th ed.). London, UK: Butterworth-Heinemenn Ltd.

Deisingh, A. (2004). Sick building syndrome. *Microbiologist*, *5*(2), 26-30.

Erkmen, O. & Bozoglu, T.F. (2016). Food Microbiology Principles into Practice, Volume 1: Microorganisms Related to Foods, Foodborne Diseases, and Food Spoilage. UK: John Wiley & Sons, Ltd.

Garbutt, J. (1997). Essentials of Food Microbiology. London, UK: Arnold.

Kanaani, H., Hargreaves, M., Ristovski, Z. & Morawska, L. (2008). Deposition rates of fungal spores in indoor environments, factors effecting them and comparison with non-biological aerosols. *Atmospheric Environment*, *42*, 7141-7154.

Maier, R. M., Pepper, I. L. & Gerba, C. P. (1999). *Environmental Microbiology*. San Diego, USA: Academic Press.

Mastromatteo, M., Lucera, A., Lampignano, V. & Alessandro, M. (2012). A new approach to predict the mass transport properties of micro-perforated films intended for food packaging applications. *Journal of Food Engineering*, *113*, 41-46.

NSTDA for Commercialization (2012). *Micro-perforated films for packaging, shelf life of fresh fruits and vegetables.* Retrieved November 15, 2017, from https://www.nstda.or.th (in Thai)

Pepper, I. L. & Gerba, C. P. (2011). Aeromicrobiology. In I. L. Pepper, C. P. Gerba & T. J. Gentry (Eds.), *Environmental Microbiology* (3rd ed.) pp. 89-110, Amsterdam, NL: Elsevier.

Talaro, K. P. and Chess, B. (2015). *Foundations in Microbiology* (9th ed.). New York, USA: Mc Graw Hill Education.

Vatanyoopaisarn, S., Chongchareon, R., Nopchareonkul, W. & Pornwongtong, P. (2015). *Microbiology Laboratory for Environmental Technologist*. Bangkok, Thailand: Sahamit Press. (in Thai)

Winotapun, C., Kerddonfag, N., Klintham, P. & Chinsirikul, W. (2010) Shelf-life extension of rambutan by micro-perforated films. *Agricultural Science Journal*, *41:1* (Suppl.), 175-178. (in Thai)

Winotapun, C., Kerddonfag, N., Kumsang, P., Hararak, B., Chonhenchob, V., Yamwong, T. & Chinsirikul, W. (2015). Microperforation of three common plastic films by laser and their enhanced oxygen transmission for fresh produce packaging. *Packaging Technology and Science*, *28*(4), 367-383. https://doi.org/10.1002/pts.2108.