

บทที่ 2

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

แหล่งการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์บนเนื้อสัตว์

การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์สามารถเกิดได้ในทุกขั้นตอนของขบวนการผลิต โดย การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์สามารถพบได้ตั้งแต่อยู่ในฟาร์ม มีรายงานพบการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* ในอาหารสัตว์ (Pearson and Dutson, 1986; อรุณและคณะ 2536) และยังพบว่าน้ำเป็นแหล่งการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* O157:H7 (Huffman, 2002) ในการขนส่งสัตว์จากฟาร์มไปยังโรงฆ่า พบว่าระหว่างขนส่งสัตว์อาจมีการขับถ่าย ซึ่งในมูลสัตว์สามารถแยกเชื้อ *Salmonella*, *E. coli* และ *Yersinia enterocolitica* (Gunter and Reuter, 1992; Smulders and Van Laack, 1992) นอกจากนี้ในการขนส่งไก่มักพบการปนเปื้อนของอุจจาระบริเวณหน้าอก และขนไก่ (Kotula and Pandya, 1995) โดย Warriss (2000) ได้รายงานแหล่งที่เชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถปนเปื้อนในเนื้อสัตว์ โดยพบว่า *Salmonella* sp., *Salmonella* sp., *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenese*, *Escherichia coli* O157:H7 และ *Yersinia enterocolitica* มักพบปนเปื้อนจากลำไส้สัตว์ ส่วนเชื้อ *Clostridium botulinum* พบแหล่งการปนเปื้อนในดินและ *Staphylococcus aureus* มักพบบริเวณผิวหนังงอกของโคนและสัตว์

ปัจจุบันการขนส่งไก่ด้วยกรงไม้ได้ถูกแทนที่ด้วยกรงพลาสติก ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของการปฏิบัติที่ดีต่อสัตว์ ทำให้ไก่มีความเครียดน้อยลง และการบาดเจ็บระหว่างการขนส่งน้อยลง นอกจากนี้กรงพลาสติกยังง่ายต่อการทำความสะอาดและฆ่าเชื้อ ความเครียดในระหว่างการขนส่งทำให้มีผลต่อการขับถ่ายของเสียออกจากร่างกาย เนื่องจากการรบกวนการทำงานของลำไส้ หรืออาจทำให้ระบบภูมิคุ้มกันลดลง ทำให้ระบบลำไส้ถูกทำลาย เพิ่มการขับถ่าย อาจพบเชื้อ *Salmonella* ถูกขับออกมา การที่เชื้อก่อโรคถูกขับออกมาจากร่างกายในระหว่างการขนส่ง ทำให้เกิดการปนเปื้อนข้ามระหว่างตัวสัตว์ ถ้าหากการทำความสะอาดและการฆ่าเชื้อไม่มีประสิทธิภาพจะยิ่งส่งผลให้เกิดการปนเปื้อนข้าม (Bolder, 1998) ในระหว่างการขนส่งไก่อาจมีการปนเปื้อนมูลไก่ที่หน้าอกไก่ ขนไก่และกรงไก่ ทำให้สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียจากบริเวณดังกล่าว (Brown, 1982) นอกจากนี้ยังพบแบคทีเรียพวก psychrotrope ที่บริเวณขนไก่ เช่น *Pseudomonas*, *Achromobacter* และ *Micrococcus* เป็นต้น โดยเชื้อแบคทีเรียเหล่านี้มาจากดิน น้ำและสภาพแวดล้อมทั่วไป (Newton et al., 1978)

พบรายงานการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารไก่ พบว่าเป็นชนิดเดียวกับที่ตรวจพบในไก่สดแช่แข็ง แสดงให้เห็นว่าอาหารสัตว์เป็นแหล่งการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ (อรุณ และคณะ, 2536) ส่วนใหญ่สามารถตรวจพบเชื้อ *Salmonella* sp. ในอาหารสัตว์และลำไส้ซึ่งนำไปสู่การปนเปื้อนในไข่และเนื้อสัตว์ได้ทางมูล (Humphrey, 1990) ในกระเพาะปัสสาวะของสัตว์ปีกเป็นบริเวณที่สำคัญในการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์มากกว่ากระเพาะจริงและลำไส้ เนื่องจากอาหารใช้เวลาอยู่ในกระเพาะพักนานกว่ากระเพาะจริงและลำไส้ (Miller, 1989) ไก่ที่มีชีวิตนับว่าเป็นพาหะสำคัญในการแพร่ระบาดของเชื้อจุลินทรีย์โดยสามารถแยกเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้จากผิวหนังและโพรงจมูกของไก่ที่อยู่ในฟาร์ม (Brown, 1982)

เชื้อจุลินทรีย์ที่มักพบปนเปื้อนในเนื้อไก่

เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคที่มักพบปนเปื้อนในเนื้อไก่ได้แก่ *Salmonella* sp. และ *Campylobacter* sp. (Whyte *et al.*, 2003; Kozacinski *et al.*, 2006) โดยเนื้อไก่เป็นแหล่งการปนเปื้อนที่สำคัญของเชื้อ *Campylobacter* sp. และสายพันธุ์ที่พบเป็นส่วนใหญ่ในฝูงสัตว์ปีก คือ *C. jejuni* ซึ่งเชื้อ *Campylobacter* sp. มักพบทั่วไปตามสภาพแวดล้อมในฟาร์มไก่ (Newell and Fearnley, 2003) นอกจากนี้ยังพบเชื้อ *Listeria monocytogenes* (Kozacinski *et al.*, 2006) ได้มีรายงานว่าตรวจพบเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp. และ *Campylobacter jejuni/coli* (เพ็ญศรีและอรุณรัตน์, 2536) ไก่เป็นพาหะสำคัญในการแพร่ระบาดของเชื้อโดยสามารถแยกเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้จากผิวหนังและโพรงจมูกของไก่ (Brown, 1982) โดยทั่วไปแล้วเชื้อ *Campylobacter jejuni/coli*, *Salmonella* spp. และ *E. coli* O157:H7 จะพบในระบบทางเดินอาหารของสัตว์ปีก และสามารถเจริญได้ดีในระบบทางเดินอาหารของไก่ (Huis in't Veal *et al.*, 1994)

วิธีการลดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์บนเนื้อสัตว์

การลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์บนเนื้อสัตว์มีหลายวิธี เช่น การใช้สารเคมี (Chemical method) การใช้วิธีทางกายภาพต่างๆ (Physical method) หรือการนำเทคโนโลยีการลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์มาใช้ร่วมกันกับสารเคมี และใช้ร่วมกับระบบ HACCP นับว่าเป็นแนวทางเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์บนเนื้อสัตว์ (Bolder, 1997) สารเคมีที่ได้รับการรับรองให้นำมาใช้ในการลดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์บนเนื้อสัตว์ได้แก่ กรดอินทรีย์ (organic acids) ชนิดต่างๆ เช่น กรดอะซิติก (acetic acid), กรดแลกติก (lactic acid) กรดซิตริก (citric acid) กรดมาลิก (malic

acid) กรดโพรพิโอนิก (propionic acid) และกรดทาร์ทาริก (tartaric acid) เป็นต้น นอกจากกรดอินทรีย์แล้วยังมีสารเคมีอีกหลายชนิดที่นำมาใช้ เช่น ไตรโซเดียมฟอสเฟต (trisodium phosphate; TSP), คลอรีนและคลอรีนไดออกไซด์ (chlorine and chlorine dioxide), ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogenperoxide), โอโซน (ozone), โซเดียมไบซัลเฟต (sodium bisulphate), โซเดียมคลอไรด์ (sodium chloride), โพแทสเซียมซอร์เบต (potassium sorbate), ซีทิลไพริเดเนียมคลอไรด์ (cetylpyridinium chloride) เป็นต้น (Belk, ไม่ระบุปีที่พิมพ์)

1. คลอรีน

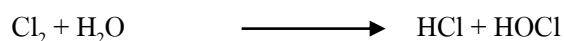
คลอรีนแบ่งเป็น 5 กลุ่มใหญ่ ๆ ได้แก่ กลุ่มของก๊าซคลอรีน (Cl_2) สารประกอบไฮโปคลอไรท์ (Hypochlorite) สารอนินทรีย์คลอรามิน (inorganic chloramines) สารอินทรีย์คลอรามิน (organic chloramines) และคลอรีนไดออกไซด์ (chlorine dioxide) ซึ่งมีประสิทธิภาพแตกต่างกัน (Odlaug, 1981) สารประกอบไฮโปคลอไรท์เกิดจากเกลือของคลอรีน ได้แก่ โซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) มีลักษณะเป็นของเหลว และแคลเซียมไฮโปคลอไรท์ ($\text{Ca}(\text{OCl})_2$) จะเป็นของแข็งสีขาวเรียกว่า bleaching powder หรือ Chlorinate lime (Foegeding, 1983; James, 2002) การนำสารประกอบคลอรีนมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารมีจุดประสงค์ที่แตกต่างกัน เช่น ใช้เป็นสารทำความสะอาด หรือใช้เป็นสารฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ โดยมักเติมสารละลายคลอรีนในน้ำที่ใช้ในกระบวนการต่างๆ (Wei *et al.*, 1995)

การใช้สารละลายคลอรีนในกระบวนการฆ่าสัตว์เพื่อลดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์อนุญาตให้มีการใช้ในบางประเทศเท่านั้น อย่างไรก็ตามในกลุ่ม EU ไม่อนุญาตให้ใช้คลอรีนบนเนื้อสัตว์ โดยเฉพาะในขั้นตอนการลดอุณหภูมิซากไก่ที่ต้องแช่ซากไก่ในถังแช่น้ำเย็น (James, 2002) โดยทั่วไปแล้วความเข้มข้นของสารละลายคลอรีนที่อนุญาตให้ใช้ได้ไม่เกิน 50 ppm ซึ่งความเข้มข้นดังกล่าวสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ได้เพียง 1 log cfu เท่านั้น (Bolder, 1997) ในขณะที่การใช้คลอรีนความเข้มข้น 200 ppm สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ได้ 2 log CFU (James, 2002) การเพิ่มประสิทธิภาพของสารละลายคลอรีนสามารถทำได้โดยการใช้ร่วมกับกรดอินทรีย์ (Bolder, 1997) หรือการเพิ่มอุณหภูมิของสารละลายคลอรีน (James, 2002)

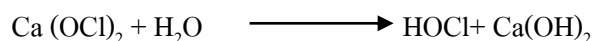
การใช้สารประกอบคลอรีนเป็นสารสำหรับฆ่าเชื้อนั้น จะต้องนำมาละลายน้ำเพื่อใช้ในรูปแบบสารละลาย ซึ่งเมื่อละลายน้ำแล้วสารคลอรีนจะแตกตัวให้ได้กรดไฮโปคลอรัส (HOCl) (Wei *et al.*, 1995) อย่างไรก็ตาม คลอรีนที่หลงเหลือจากการรวมตัวกับสารอนินทรีย์และสารอินทรีย์แล้วเรียกว่า คลอรีนหลงเหลืออิสระ (free residual chlorine หรือกรดไฮโปคลอรัส) ดังนั้นการเติมคลอรีนในน้ำจึงเติมในปริมาณที่มากเพียงพอที่จะทำให้เกิด free residual chlorine ที่มีประสิทธิภาพเพียงพอในการฆ่าเชื้อ (สุวิมลและคณะ, 2547)

ซึ่งกรดดังกล่าวมีผลในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ดังสมการต่อไปนี้

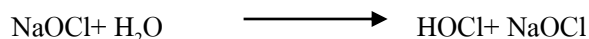
ก๊าซคลอรีน



แคลเซียมไฮโปคลอไรท์



โซเดียมไฮโปคลอไรท์



(Wei *et al.*, 1995)

กลไกในการฆ่าเชื้อของสารประกอบคลอรีน

1. คลอรีนทำปฏิกิริยาที่บริเวณที่ห่อหุ้มเซลล์จุลินทรีย์ เช่น ผนังเซลล์ และเยื่อหุ้มเซลล์ คลอรีนทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ถูกทำลาย ทำให้การผ่านเข้าออกของสารภายนอกเซลล์และภายในเซลล์เสียสมดุล ทำให้การเจริญเติบโตหยุดชะงัก และเซลล์จุลินทรีย์ตายในที่สุด
2. คลอรีนทำให้โปรตีนของเซลล์ตกตะกอน ทำให้ขบวนการเมตาโบลิซึมเสียผิดปกติ
3. คลอรีนทำให้โปรตีนตกตะกอนจึงทำให้รบกวนระบบการทำงานของเอนไซม์

(Kirk and Mitchell, อ้างโดย คมแข, 2540)

ในการลดอุณหภูมิซากไก่โดยการแช่ซากไก่ในถังน้ำเย็น มักใช้คลอรีนผสมลงไปเพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ (Wei *et al.*, 1995) ซึ่งการใช้สารละลายคลอรีนจะมีประสิทธิภาพมากขึ้นอยู่กับสารแขวนลอยและสิ่งสกปรกในน้ำ เนื่องจากคลอรีนจะไปจับกับสารแขวนลอย และสิ่งสกปรกก่อนที่จะไปจับกับจุลินทรีย์ ดังนั้นถ้ามีสารแขวนลอยมาก โอกาสที่คลอรีนจะไปจับกับสารแขวนลอยก็มีมากทำให้ไปจับกับจุลินทรีย์ได้น้อยลง ทำให้ประสิทธิภาพการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ลดลง นอกจากนี้บางครั้งพบว่าสารแขวนลอยไปห่อหุ้มเซลล์จุลินทรีย์ไว้ไม่ให้ถูกทำลายโดยคลอรีน (Condie, 1986)

อย่างไรก็ตามกรดไฮโปคลอรัสเมื่อทำปฏิกิริยากับสารอินทรีย์ต่างๆ จะก่อให้เกิดสารประกอบพวกฮาโลเจน (Halogenated compound) ได้แก่ ฟีนอล และคลอโรฟอร์มซึ่งเป็นสารก่อมะเร็ง แต่พบว่าต้องใช้เวลาสะสมนาน จึงจะทำให้หนูเป็นมะเร็ง (Wei *et al.*, 1995) เมื่อนำเนื้อโค เนื้อสุกรและเนื้อไก่มาแช่ไว้ในน้ำที่มีคลอรีนความเข้มข้น 200 ppm พบว่ามีปริมาณคลอรีนสะสมในเนื้อสัตว์ 2-3% เมื่อแช่ทิ้งไว้ 2-3 ชั่วโมง และเพิ่มเป็น 6-8 % เมื่อแช่ไว้ 24 ชั่วโมง ดังนั้นการนำคลอรีนมาใช้กับเนื้อสัตว์อาจ

ทำให้ผู้บริโภคได้รับสารประกอบคลอรีนที่ตกค้างบนเนื้อสัตว์อย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ (Cunningham and Lawrence, 1977)

สารละลายคลอรีนอีกรูปหนึ่งที่น่าสนใจนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารคือคลอรีนไดออกไซด์ซึ่งมีประสิทธิภาพในการในการลดเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่าสารประกอบไฮโปคลอไรท์ จึงนิยมนำมาใช้ในการทำลายแบคทีเรียในรูป biofilm เนื่องจากสามารถฆ่าเชื้อได้แม้ในที่ที่มีสิ่งสกปรกตกค้างอยู่ นอกจากนี้ยังทำให้เกิดสารประกอบพวกลอโรฟอร์มน้อยลง ทำให้มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคมากขึ้น (Wei *et al.*, 1995) แต่คลอรีนไดออกไซด์มีข้อเสียคือไม่มีความคงตัวในที่ที่ใช้ ต้องเตรียมในที่ใช้ และยังมีราคาแพง คลอรีนไดออกไซด์มีคุณสมบัติเป็นสารออกซิไดซ์ที่รุนแรง อาจเกิดระเบิดได้ง่ายเมื่อถูกแสงหรืออุณหภูมิสูงขึ้น (White, 1972; สุวิมลและคณะ, 2547)

2. กรดอินทรีย์

ถึงแม้ว่าในปัจจุบันได้มีกระบวนการผลิตเนื้อสัตว์ที่มีมาตรฐานในการลดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในระหว่างการผลิตเช่น ระบบ HACCP และ GMP แต่ยังพบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ โดยเฉพาะเชื้อแบคทีเรียก่อโรค เช่น *E. coli*, *Listeria* spp. และ *Yersinia* spp. นอกจากนี้ยังพบการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เนือเน่าเสีย (Smulders, 1995) การใช้กรดอินทรีย์เป็นอีกวิธีหนึ่งที่ได้รับการนิยมนำมาใช้ในการลดจำนวนจุลินทรีย์บนซากสัตว์และบนเนื้อสัตว์ ในประเทศสหรัฐอเมริกาอนุญาตให้ใช้สารละลายกรดแลกติกในการล้างซาก แต่ในกลุ่ม EU มีเพียงบางประเทศที่อนุญาตให้ใช้กรดอินทรีย์ในการลดจำนวนจุลินทรีย์บนเนื้อสัตว์ ได้แก่ เบลเยียมและเยอรมนี ส่วนประเทศที่ไม่อนุญาตให้ใช้กรดอินทรีย์ในการลดจำนวนจุลินทรีย์บนเนื้อสัตว์ได้แก่ ฝรั่งเศส เนเธอร์แลนด์ และ ลักเซมเบิร์ก ส่วนประเทศอื่นๆ ในยุโรปยังไม่ได้มีข้อกำหนด (Bolder, 1997)

กลไกของการทำลายและยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์เมื่อใช้กรดอินทรีย์ขึ้นอยู่กับปัจจัยดังต่อไปนี้คือ

1. ผลของค่า pH ที่ต่ำลง เชื้อแต่ละชนิดสามารถเจริญในค่า pH ที่แตกต่างกัน โดยเฉพาะแบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดได้ ยีสต์และรา มักจะทนต่อค่า pH ที่ต่ำได้ดี เมื่อค่า pH ในอาหารมีค่าลดลง จะส่งผลให้เชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ทนต่อกรดมีช่วง lag phase ยาวนานออกไปทำให้เซลล์ตายในที่สุด ภายหลังการฉีดพ่นสารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 1.25 % บนซากลูกโคพบว่าค่า pH บริเวณผิวซากลดลง 3 หน่วย อย่างไรก็ตามเมื่อเวลาผ่านไป 72 ชั่วโมงพบว่าค่า pH บริเวณผิวซากกลับมามีค่าเท่าเดิมกับค่า pH เริ่มต้น

2. ผลของการแตกตัวของกรด ค่า pH มีผลต่อการแตกตัวของกรด กรดที่ไม่แตกตัว (undissociated acid) จะแทรกเข้าไปในเซลล์ของจุลินทรีย์โดยวิธีการแพร่จากนั้นกรดจะแตกตัวและทำให้ภายในเซลล์จุลินทรีย์มีค่าเป็นกรดส่งผลให้กระบวนการเมตาโบลิซึมภายในเซลล์ลดลง ดังนั้น

สามารถสรุปได้ว่ากระบวนการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์โดยใช้กรดอินทรีย์มีผลมาจากปริมาณกรดในรูปแบบที่ไม่แตกตัวมีอย่างเพียงพอ ซึ่งกรดในรูปแบบที่ไม่แตกตัวมักพบที่ค่า pH ต่ำหรือความเข้มข้นของกรดมีค่ามาก ซึ่งกรดอินทรีย์มักมีประสิทธิภาพเมื่อใช้ในสภาวะที่ค่า pH ต่ำ อย่างไรก็ตามมีรายงานว่ากรดซอร์บิกที่มีค่า pH สูงกว่า 6 จะพบกรดในรูปแบบที่แตกตัวมากกว่า 50 %

3. ผลจำเพาะเจาะจง (specific effect) ของโมเลกุลของกรดต่อเชื้อชนิดต่างๆ มีผลเกี่ยวเนื่องกับปัจจัยอื่นดังนี้

- 3.1 ฤทธิ์ของการแทรกซึมเข้าไปในเซลล์
- 3.2 ส่วนของเซลล์ที่กรดเข้าไปทำลาย เช่น ผนังเซลล์
- 3.3 ลักษณะการเข้าทำลายของสารเคมี

ในบรรดากรดอินทรีย์ กรดแลกติกได้รับความนิยมเนื่องจากเป็นกรดอินทรีย์ที่ได้จากธรรมชาติจากกระบวนการหมักน้ำตาลโดยเชื้อในตระกูล Lactobacillaceae (Snijders *et al.*, 1985) กรดแลกติกได้รับการรับรองความปลอดภัยจากองค์การอนามัยโลก (FAO/WHO, 1974) โดยร่างกายของคนเราและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมส่วนใหญ่สามารถรับได้มากกว่า 1500 mg/kg ซึ่งถือว่าเป็นปริมาณที่สูงมาก (Smulders *et al.*, 1986) กรดแลกติกมีผลในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์โดยกรดทำให้ค่าความเป็นกรดต่างลดต่ำลง ทำให้สภาพแวดล้อมไม่เหมาะต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ซึ่งค่าความเป็นกรดต่างที่ลดลงนั้นทำให้ช่วง lag phase มีระยะเวลานานขึ้น ทำให้อัตราการเจริญเติบโตของ เชื้อจุลินทรีย์ช้าลง (Woolthuis and Smulders, 1985) ผลของการยับยั้งจุลินทรีย์โดยกรดนั้นเกิดจากส่วนที่เป็น lipophilic ของกรดที่ใช้ซึ่งอยู่ในรูปโมเลกุลที่ไม่แตกตัวและซึมผ่านเข้าไปใน plasma membrane ของแบคทีเรียที่มีค่าความเป็นกรดต่างค่อนข้างเป็นกลาง (pH 7) ซึ่งสูงกว่าค่าความเป็นกรดต่างของไซโตพลาสซึม ดังนั้นกรดอยู่ในรูปที่ไม่แตกตัวเข้าไปก็จะเกิดสภาวะแตกตัวในรูปของ protons และ conjugated base และมีผลในการทำลาย oxidative phosphorylation form ของ electron transport system รวมถึงการยับยั้งระบบขนถ่าย substrate molecule เข้าสู่เซลล์ มีผลต่อการทำลายหรือยับยั้งการเจริญเติบโต (Adam and Hall, 1988)

การใช้สารละลายกรดแลกติกในการลดจำนวนจุลินทรีย์บนเนื้อสัตว์

Pipek *et al.* (2004) รายงานว่าการใช้กรดแลกติกในการลดจุลินทรีย์บนเนื้อสัตว์ได้รับการยอมรับให้ใช้ได้ในระดับความเข้มข้น 1-2 % ซึ่งอาจใช้ในขั้นตอนที่แตกต่างกันได้ในแต่ละ โรงฆ่าและได้แนะนำให้ใช้บนซากสัตว์ภายหลังฆ่าให้เร็วที่สุด เพื่อป้องกันเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนบนผิวซากไม่ให้เจริญและแทรกตัวลงไปในเนื้อเยื่อสัตว์ Van Netten *et al.* (1995) กล่าวว่า การใช้สารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 1-2 % ที่อุณหภูมิของสารละลายกรดแลกติก 70°C เป็นเวลา 15 วินาที มีผลในการลดจำนวนจุลินทรีย์บนซากโค และยังกล่าวเสริมว่าการใช้สารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 2 % ที่

อุณหภูมิของสารละลายกรดแลกติก 37°C เป็นเวลา 120 วินาที สามารถจัดเชื้อ *Salmonella* บนซากไก่ โดยไม่มีผลต่อคุณภาพของซากไก่ ซึ่งในการศึกษา *In vitro* พบว่าการใช้สารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 2 % ที่ค่าความเป็นกรดต่าง 2.6 อุณหภูมิของสารละลาย 37°C สามารถลดจำนวนเชื้อ *Salmonella* ได้ถึง 5 log cfu/ml

กรดแลกติกมีผลในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ เนื่องจากทำให้ค่าความเป็นกรดต่างลดต่ำลง ทำให้สภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ซึ่งในสภาวะนี้จะทำให้ช่วง เจริญเติบโต (lag phase) ใช้ระยะเวลานานขึ้น จึงทำให้อัตราการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ช้าลง (Woolthuis and Smulders, 1985) การยับยั้งจุลินทรีย์โดยกรดนั้นเกิดจากส่วนที่เป็น lipophilic ของกรด ซึ่งอยู่ในรูปโมเลกุลที่ไม่แตกตัวซึมผ่านเข้าไปใน plasma membrane ของจุลินทรีย์ ซึ่งปกติมีค่าความเป็นกรดต่างค่อนข้างเป็นกลาง (pH 7) เมื่อกรดเข้าไปภายในจะทำให้เกิดสภาวะแตกตัวของโปรตอน (proton) และคอนจูเกตเตด เบส (conjugated base) มีผลในการทำลายออกซิเดทีฟ ฟอสฟอริเลชัน ฟอรั่ม (oxidative phosphorylation form) ของระบบการขนส่งอิเล็กตรอน (electron transport system) รวมถึงการยับยั้งระบบการขนถ่ายสารโมเลกุล (substrate molecule) เข้าสู่เซลล์ เป็นผลให้เกิดการทำลายหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (Adam and Hall, 1988)

Van Netten *et al.* (1995) ได้ทำการศึกษาเพิ่มเติมถึงผลของอุณหภูมิสารละลายกรดแลกติกต่อประสิทธิภาพในการลดจำนวนเชื้อ *Salmonella* spp. บนซากสุกร โดยมีอุณหภูมิของกรดที่ใช้คือ 11°C (cold lactic) และ 55°C (hot lactic) แต่เมื่อฉีดพ่นลงบนซากสุกรอุณหภูมิบนผิวซากจะมีค่าเท่ากับ 16 - 18°C และ 36-38°C ตามลำดับ ความเข้มข้นของสารละลายกรดแลกติกที่ใช้คือ 2 และ 5 % มีระยะเวลาที่ใช้ในการฉีดพ่นสำหรับ cold lactic เท่ากับ 30, 60 และ 120 วินาที สำหรับ hot lactic เท่ากับ 30, 60, 90 และ 120 วินาที ส่วนกลุ่มควบคุมฉีดพ่นด้วยน้ำอุณหภูมิ 11 และ 55°C เป็นเวลา 120 วินาที ผลการทดลองพบว่าสารละลายกรดแลกติกที่มีอุณหภูมิสูงมีประสิทธิภาพ ในการลดจำนวนเชื้อ *Salmonella* spp. บนซากสุกรได้ดีกว่าสารละลายกรดแลกติกที่มีอุณหภูมิต่ำ ส่วนการฉีดพ่นด้วยน้ำเย็นและน้ำร้อนสามารถลดจำนวนเชื้อ *Salmonella* ได้ 0.2 และ 0.3 log₁₀ cfu/cm² ตามลำดับ ในขณะที่สารละลายกรดแลกติกที่อุณหภูมิต่ำความเข้มข้น 2 และ 5% ฉีดพ่นนาน 60 วินาทีหรือสารละลายกรดแลกติกที่อุณหภูมิสูงความเข้มข้น 2 และ 5% ฉีดพ่นนาน 30 วินาที สามารถลดเชื้อ *Salmonella* บนซากสุกรได้ 1.7 log₁₀ cfu/cm² การใช้สารละลายกรดแลกติกอุณหภูมิสูงที่ความเข้มข้น 2 และ 5% เป็นเวลา 60 วินาที สามารถลดจำนวนเชื้อ *Salmonella* ได้ถึง 2.9 log₁₀ cfu/cm²

อย่างไรก็ตามพบว่าการใช้สารละลายกรดแลกติกที่อุณหภูมิสูงทั้งสองความเข้มข้น มีผลทำให้สีของเนื้อแดงซีดจางลงและไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ซึ่ง Pipek *et al.* (2004) สนับสนุนว่าประสิทธิภาพของสารละลายกรดแลกติกในการลดจำนวนจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้นเมื่อสารละลายกรดแลกติกมีอุณหภูมิสูงขึ้น อย่างไรก็ตามอิทธิพลของกรดแลกติกที่มีต่อสีของเนื้อ บางรายงานพบว่ากรดแลกติกไม่มีอิทธิพลต่อสีเนื้อ Pipek *et al.* (2005) รายงานว่าการใช้สารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 2% นิดพ่นบนซากโคและซากสุกร จะทำให้สีของเนื้อซีดจาง

Nissen *et al.* (2001) รายงานว่าสารละลายกรดแลกติกสามารถลดจำนวน *E. coli* O157:H7, *Yersinia enterocolitica* และ *Salmonella* sp. และจุลินทรีย์ที่เจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำบนเนื้อสัตว์ โดยพบว่าเชื้อกลุ่มนี้ถูกทำลายได้มากกว่าเชื้อกลุ่มที่เจริญที่อุณหภูมิปานกลาง จุฑารัตน์และคณะ (2540) ได้ทำการศึกษาดังกล่าวการใช้สารละลายกรดแลกติกเพื่อลดจำนวนจุลินทรีย์บนซากสุกร โดยใช้สารละลายกรดแลกติกที่ความเข้มข้น 1, 2 และ 3% นิดพ่นบนซากสุกร ผลการทดลองพบว่าจำนวนจุลินทรีย์รวมบนผิวซากสุกรหลังนิดพ่นสารละลายกรดแลกติกลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ทางสถิติ เป็นที่น่าสังเกตว่าภายหลังที่ใช้สารละลายกรดแลกติก ผิวเนื้อที่สัมผัสกับกรดแลกติกจะมีสีซีดจางลงเล็กน้อยเมื่อพิจารณาด้วยสายตา โดยเฉพาะเมื่อเพิ่มความเข้มข้นสารละลายกรดแลกติก แต่พบว่าสีของเนื้อจะกลับคืนสู่สภาพปกติเมื่อผ่านกระบวนการเก็บรักษาในห้องเย็น จากข้อจำกัดดังกล่าวของการใช้กรดแลกติกในการลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์บนเนื้อสัตว์ ทำให้มีผู้ศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพของกรดแลกติกโดยการใช้ร่วมกับวิธีการอื่น เช่นการใช้ น้ำนึ่งล้างซากร่วมกับการนิดพ่นซากโคด้วยสารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 2% พบว่าวิธีดังกล่าวสามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* O157:H7 ได้ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ น้ำนึ่งล้างซากเพียงอย่างเดียว (Hardin *et al.*, 1995) ได้มีการศึกษาการใช้กรดแลกติกร่วมกับระบบ HACCP (Hazard analysis critical control point) ในโรงฆ่าสัตว์โดย Smulders and Greer (1998) รายงานว่าการใช้กรดโดยตรงกับเนื้อสัตว์อาจทำให้คุณภาพของเนื้อไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค หรือการใช้ระบบ HACCP เพียงอย่างเดียวอาจมีประสิทธิภาพไม่มากพอให้การกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคมักพบปนเปื้อนในเนื้อสัตว์ ดังนั้นการใช้กรดแลกติกระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมร่วมกับการลดการปนเปื้อนเชื้อวิธีอื่น นอกจากจะเพิ่มประสิทธิภาพการลดจำนวนเชื้อแล้วยังไม่มีผลต่อคุณภาพของเนื้ออีกด้วย

3. Ozone

โอโซน (O_3) เป็นก๊าซที่ละลายได้ในน้ำ (water soluble) มีคุณสมบัติเป็นสารออกซิไดซ์ มักไม่มีความคงตัว เมื่อสัมผัสกับอากาศและน้ำจะแตกตัวได้ออกซิเจน โดยทั่วไปแล้วแบคทีเรียจะทนต่อการถูก

ทำลายด้วยโอโซนมากกว่าราและยีสต์ แบคทีเรียแกรมบวกจะถูกทำลายได้ง่ายกว่าแบคทีเรียแกรมลบ การใช้โอโซนเพื่อลดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์บนเนื้อสัตว์ได้รับการรับรองความปลอดภัยจาก FDA ของประเทศสหรัฐอเมริกา และได้เริ่มมีการใช้ตั้งแต่ปี 1940 โดยใช้ในรูปก๊าซกับเนื้อที่แช่เย็น (Bolder, 1997) และจัดให้โอโซนจัดอยู่ในกลุ่ม GRAS (Generally Recognized As Safe) โดยอนุญาตให้ใช้ในขั้นตอนลดอุณหภูมิซากไก่ (chilling water) ในปี 1997 นอกจากนี้ยังพบว่าได้มีการใช้โอโซนในประเทศยุโรปมาเป็นเวลานานแล้ว โดยใช้ฆ่าเชื้อในน้ำดื่ม การฆ่าเชื้อขวดน้ำ การฆ่าเชื้อในสระว่ายน้ำ เป็นต้น แต่ก็ได้มีการนำโอโซนมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารกันอย่างกว้างขวาง โดยใช้เพื่อวัตถุประสงค์ความปลอดภัยในอาหาร (Guzel-Seydim *et al.*, 2004)

การใช้โอโซนเพื่อลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์บนเนื้อสัตว์หรือซากสัตว์มีกลไกคือ โอโซนสามารถทำลายกรดไขมันและโปรตีนของผนังเซลล์เชื้อจุลินทรีย์ การใช้โอโซนความเข้มข้น 0.5% ในน้ำล้างซากโคสามารถลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ได้ $1.49 \log \text{ cfu/cm}^2$ อย่างไรก็ตามการใช้โอโซนมีผลต่อสีของเนื้อโดยเนื้อมีสีซีดมากกว่าการไม่ใช้โอโซน การใช้โอโซนได้ผลในเนื้อโค แต่การใช้โอโซนในกระบวนการลดอุณหภูมิบนซากไก่พบว่ามีผลในการลดจำนวนจุลินทรีย์เพียงเล็กน้อย หรือน้อยกว่า $1 \log \text{ cfu}$ ซึ่งไม่มีผลต่อการยืดอายุการเก็บรักษาซากไก่ (Bolder, 1997) Al-Haddad *et al.* (2005) รายงานว่า การใช้โอโซนความเข้มข้น 6-8 mg/l มีผลทำให้เชื้อจุลินทรีย์รวมบนซากไก่ลดลง และพบว่าการใช้โอโซนความเข้มข้นมากกว่า 2000 ppm นาน 30 นาที ล้างซากไก่ สามารถลดเชื้อ *Salmonella* sp. และ *Pseudomonas* sp. ได้ถึง 97 และ 95% ตามลำดับ Pohlman *et al.* (2002) ทำการศึกษาการลดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์บนเนื้อวัว โดยใช้โอโซน 1% ร่วมกับกรดอะซิติก 5% (OA) และอีกการศึกษาทดลองใช้โอโซน 1% ร่วมกับ สารซีทิลไพริเดเนียม (Cetylpyridinium chloride) (OC) ในการลดจุลินทรีย์บนเนื้อโคบาล ผลการศึกษาพบว่าทั้งสองวิธีสามารถลดเชื้อ *E. coli*, coliform, *Salmonella* Typhimurium และเชื้อจุลินทรีย์รวมบนเนื้อโคบาล และผลจากการทดสอบการยอมรับกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์โดยใช้คนทดสอบ พบว่าการใช้สารดังกล่าวไม่มีความแตกต่างของกลิ่นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม นอกจากนี้ Crowe *et al.* (2012) ได้ทำการศึกษาลดเชื้อ *Listeria innocua* บนเนื้อปลาซลมอนโดยการฉีดพ่นน้ำโอโซน ความเข้มข้น 1 mg/l และ 1.5 mg/l พบว่าสามารถลดเชื้อ *Listeria innocua* บนเนื้อปลาที่ฉีดพ่นด้วยน้ำโอโซนทั้งสองความเข้มข้น

จากข้อมูลดังกล่าวมาข้างต้น การศึกษาการใช้สารละลายกรดแลกติก สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ และโอโซน นับว่าเป็นวิธีการที่ไม่ยุ่งยากและราคาไม่แพง ในขณะที่ยีสต์สารดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการควบคุมและยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์บนอาหาร ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้นำวิธีการดังกล่าว

มาศึกษาเพื่อยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคและจุลินทรีย์ที่ทำให้เน่าเสียบนเนื้อไก่ เนื่องจากเนื้อไก่เป็นเนื้อสัตว์ที่สามารถบริโภคได้ทุกกลุ่มผู้บริโภค และมักพบการปนเปื้อนเชื้อก่อโรคบนเนื้อไก่ ส่งผลต่อสุขภาพของผู้บริโภค ดังนั้นการควบคุมเชื้อจุลินทรีย์บนเนื้อไคนับว่าจะเป็นประโยชน์โดยตรงต่อทั้งผู้บริโภคและผู้ประกอบการ