

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

4.1 ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ของเนื้อสุกรและแฮมที่จำหน่ายในกรุงเทพมหานคร

จากการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ของเนื้อสุกรและแฮม ชนิดละ 30 ตัวอย่าง ได้ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.1 พบว่าในเนื้อสุกรมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดอยู่ในช่วง 4.6×10^6 - 2.3×10^9 โคโลนีต่อกรัม แบคทีเรียโคลิฟอร์ม 240 ถึงมากกว่า 1100 MPN ต่อกรัม ส่วนใหญ่มีจำนวนโคลิฟอร์มมากกว่า 1100 MPN ต่อกรัม (ร้อยละ 96.67) พบ *Salmonella* ในเนื้อสุกร 26 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 86.67 และพบ *S. aureus* อยู่ในช่วง 3.0×10^2 - 5.2×10^6 โคโลนีต่อกรัม

ตารางที่ 4.1 คุณภาพทางจุลินทรีย์ของเนื้อสุกรและแฮมที่จำหน่ายในกรุงเทพมหานคร

จุลินทรีย์ที่วิเคราะห์	ชนิดของตัวอย่างที่วิเคราะห์	
	เนื้อสุกร	แฮม
จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (โคโลนีต่อกรัม)	4.6×10^6 - 2.3×10^9	1.0×10^8 - 2.8×10^8
เชื้อราและยีสต์ (โคโลนีต่อกรัม)	- ^a	1.0×10^2 - 6.9×10^5
แบคทีเรียโคลิฟอร์ม (MPN ต่อกรัม)	240-มากกว่า 1100	-
<i>Salmonella</i> spp.	พบ ร้อยละ 86.67	พบ ร้อยละ 36.67
<i>S. aureus</i> (โคโลนีต่อกรัม)	3.0×10^2 - 5.2×10^6 (ร้อยละ 43.33)	4.0×10^2 - 5.9×10^3 (ร้อยละ 26.67)
<i>E. coli</i> (MPN ต่อกรัม)	-	น้อยกว่า 3.0 – มากกว่า 1100
<i>C. perfringens</i> (โคโลนีต่อกรัม)	-	1.0×10^2 (ร้อยละ 6.67)
จำนวนตัวอย่างทั้งหมดที่วิเคราะห์ (ตัวอย่าง)	30	30

^a ไม่ได้ทำการวิเคราะห์

จากมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ มกอช.6000-2547 เกี่ยวกับมาตรฐานของเนื้อสุกร โดยสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ได้กำหนดว่าเนื้อสุกรจะต้องมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่เกิน 5.0×10^5 โคโลนีต่อกรัม แบคทีเรียโคลิฟอร์มต้องมีจำนวนไม่เกิน 5.0×10^3 MPN ต่อกรัม *S. aureus* ต้องมีจำนวนไม่เกิน 1.0×10^2 MPN ต่อกรัม และต้องไม่พบ *Salmonella* spp. ในตัวอย่าง 25 กรัม ซึ่งจากตารางที่ 4.1 พบว่าทุกตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเกินกว่าที่มาตรฐานกำหนด คิดเป็นร้อยละ 100 และมีเพียง 1 ตัวอย่างเท่านั้น ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 3.33 ที่มีจำนวนแบคทีเรียโคลิฟอร์มผ่านข้อกำหนดตามมาตรฐาน (240 MPN ต่อกรัม) ส่วนตัวอย่างที่พบ *S. aureus* มีทั้งหมด 13 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 43.33 ก็มีค่าเกินกว่าที่มาตรฐานกำหนด และยังพบ *Salmonella* spp. ในตัวอย่างมากถึงร้อยละ 86.67 แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างเนื้อสุกรที่จำหน่ายในตลาดสดทั่วไป ส่วนใหญ่มีคุณภาพทางจุลินทรีย์ต่ำไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของนักวิจัยหลายท่าน เช่น ในปี พ.ศ. 2543 นงคราญ ได้ศึกษาคุณภาพทางจุลินทรีย์ของเนื้อสุกร จำนวน 36 ตัวอย่าง และดับสุกร จำนวน 41 ตัวอย่าง ที่จำหน่ายในจังหวัดเชียงใหม่ พบว่าเนื้อสุกรมีการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli*, *S. aureus*, *C. perfringens* และ *Salmonella* spp. ร้อยละ 75.0, 44.4, 68.8 และ 2.8 ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมดที่ตรวจสอบ ตามลำดับ ส่วนในดับสุกรมีการปนเปื้อนของเชื้อดังกล่าวในอัตราร้อยละ 65.9, 58.5, 2.4 และ 9.8 ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมดที่ตรวจสอบ ตามลำดับ และในปี พ.ศ. 2537 กระทรวงสาธารณสุข ได้ทำการตรวจหาเชื้อ *Salmonella* spp. ในเนื้อสุกร เนื้อไก่ และเนื้อโค ในตลาดสด 50 แห่งในจังหวัดชลบุรี ปรากฏว่าพบเชื้อ *Salmonella* spp. ในตัวอย่างเนื้อดังกล่าว ร้อยละ 90, 72 และ 86 ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมดที่ตรวจสอบ ตามลำดับ นอกจากนี้ในปี พ.ศ. 2544 วันทนา และคณะ ได้สำรวจการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในเนื้อสุกรจำนวน 110 ตัวอย่าง พบว่ามีการปนเปื้อนของแบคทีเรียโคลิฟอร์ม *E. coli*, *S. aureus* และ *Salmonella* ร้อยละ 100, 37.3, 56.4 และ 51.8 ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมดที่ตรวจสอบ ตามลำดับ

การที่พบเชื้อเหล่านี้ในเนื้อสุกรอาจเป็นไปได้ที่เชื้อจากลำไส้ของสุกรจะปนเปื้อนมายังเนื้อสุกรในขั้นตอนการฆ่า ซึ่งบ่งบอกถึงสุขลักษณะที่ไม่ดีในฟาร์มและในโรงฆ่าสัตว์ โดยเฉพาะพบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคเช่นเดียวกับการรายงานของ Kuri และคณะ (1996) ซึ่งได้ศึกษาคุณภาพทางจุลินทรีย์ของเนื้อสุกรที่จำหน่ายในร้านค้าปลีกในเมืองเม็กซิโก โดยตรวจนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดและจำนวนของ *Enterobacteriaceae* และวิเคราะห์หา *Salmonella* spp. พบว่าเนื้อสุกรที่จำหน่ายในซูเปอร์มาร์เก็ตและในร้านขายเนื้อมีคุณภาพทางจุลินทรีย์ต่ำเช่นเดียวกับเนื้อสุกรที่จำหน่ายในตลาดสด และพบว่ามีการปนเปื้อน *Salmonella* spp. สูงถึงร้อยละ 76 ของตัวอย่างทั้งหมดที่ทดสอบ และ *Salmonella* ที่ตรวจพบมีมากกว่า 1 ซีโรไทป์ และพบว่าแบคทีเรียทั้งหมดและ *Enterobacteriaceae* มีปริมาณมากทั้งในเนื้อสุกรที่แช่เย็นและไม่แช่เย็น นอกจากนี้ สุริย์ และคณะ (2545) ได้ศึกษาการปนเปื้อนของ *Salmonella* ในเนื้อสุกร ระหว่างเดือนเมษายนถึงพฤษภาคม

พ.ศ. 2545 ปรากฏว่าได้ตรวจพบเชื้อ *Salmonella* ในเนื้อสุกร จำนวน 16 ตัวอย่าง และเชื้อ *Salmonella* ที่แยกได้มีจำนวน 13 ซีโรไทป์ ได้แก่ *S. Amsterdam*, *S. Agona*, *S. Anatum*, *S. Albany*, *S. Hadar*, *S. London*, *S. Orion*, *S. Panama*, *S. Schwarzengrund*, *S. Senftenberg*, *S. Stanley*, *S. Typhimurium* และ *S. Weltevreden*

นอกจาก *Salmonella* แล้วยังมีแบคทีเรียชนิดอื่นที่ปนเปื้อนในเนื้อสุกร เช่น *S. aureus* โดย Atanassova และคณะ (2001) ได้ตรวจหา *S. aureus* ในเนื้อสุกร เนื้อสุกรตากแห้ง และแฮม ทั้งหมด จำนวน 135 ตัวอย่าง โดยใช้วิธีการเพาะเชื้อและวิธี PCR ในการตรวจหา *S. aureus* ด้วยวิธีการเพาะเชื้อ พบว่าในจำนวนตัวอย่างร้อยละ 25.9 ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมดมีการปนเปื้อน *S. aureus* ขณะที่การตรวจโดยวิธี PCR พบเชื้อ *S. aureus* ในตัวอย่างร้อยละ 51.1 ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมด นอกจากนี้ Inoue และคณะ (2000) ได้สำรวจการปนเปื้อน *Listeria monocytogenes* ในเนื้อสัตว์ที่จำหน่ายในประเทศญี่ปุ่น พบว่าสามารถแยกเชื้อชนิดนี้ได้จากเนื้อวัวบด เนื้อสุกรบด เนื้อไก่บด และเนื้อสุกรบดผสมเนื้อวัวบด คิดเป็นร้อยละ 12.2, 20.6, 37.0 และ 25.0 ของจำนวนตัวอย่างที่วิเคราะห์ทั้งหมด ได้แก่ เนื้อวัวบด 41 ตัวอย่าง เนื้อสุกรบด 34 ตัวอย่าง เนื้อไก่บด 46 ตัวอย่าง และเนื้อสุกรบดผสมเนื้อวัวบด 16 ตัวอย่าง ตามลำดับ

การที่พบเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในเนื้อสุกรนี้ ชี้ให้เห็นถึงความเสี่ยงต่อการบริโภคเนื้อสุกร ดังรายงานวิจัยของ Berends และคณะ (1998) ได้ศึกษาผลกระทบของการปนเปื้อน *Salmonella* ในเนื้อสุกร ต่อสุขภาพของประชากรในประเทศเนเธอร์แลนด์ พบว่าในแต่ละปีมีผู้ที่เสี่ยงต่อการเป็นโรคที่เกิดจากเชื้อ *Salmonella* (Salmonellosis) ประมาณ 450 คน ต่อประชากร 100,000 คน และพบว่าร้อยละ 15 ของการเป็นโรค salmonellosis เกี่ยวข้องกับการบริโภคเนื้อสุกร จุลินทรีย์ก่อโรค เช่น *Salmonella* สามารถเข้าสู่และแพร่กระจายในเนื้อสุกรได้ในทุกขั้นตอนของกระบวนการตั้งแต่ขั้นตอนแรก โดยปนเปื้อนจากอาหารสัตว์ ในระหว่างการขนส่ง และขณะอยู่ที่โรงฆ่าสัตว์ โดยอาจเกิดการปนเปื้อนข้ามจากสิ่งแวดล้อมหรือสัตว์ที่ติดเชื้อ (van der Gaag และคณะ. 2004) ดังนั้น ถ้าหากนำเนื้อสุกรที่ปนเปื้อนด้วยจุลินทรีย์ก่อโรคนี้ไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก ก็อาจทำให้ผู้บริโภคมีความเสี่ยงสูงต่อการเกิดโรคอาหารเป็นพิษจากการบริโภคผลิตภัณฑ์เนื้อหมักนั้น ถ้าหากจุลินทรีย์ก่อโรคอยู่รอดได้ในระหว่างการหมัก

ในการทดลองครั้งนี้ได้ตรวจคุณภาพทางจุลินทรีย์ของแฮม จำนวน 30 ตัวอย่าง พบว่ามีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดอยู่ในช่วง 1.0×10^8 - 2.8×10^8 โคโลนีต่อกรัม เชื้อราและยีสต์อยู่ในช่วง 1.0×10^2 - 6.9×10^5 โคโลนีต่อกรัม ตรวจพบ *Salmonella* ใน 11 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 36.67 พบ *S. aureus* อยู่ในช่วง 4.0×10^2 - 5.9×10^3 ใน 8 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 26.67 *E. coli* พบจำนวนตั้งแต่ น้อยกว่า 3.0 ถึงมากกว่า 1100 MPN ต่อกรัม และพบเชื้อ *C. perfringens* 1.0×10^2 โคโลนีต่อกรัม ในแฮม 2 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 6.67 จากมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน มพช. 145/2546 เกี่ยวกับมาตรฐานของแฮม โดยสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม ได้

กำหนดว่าต้องไม่พบ *Salmonella* ในตัวอย่างแฮม 25 กรัม ไม่พบ *C. perfringens* และ *S. aureus* ในแฮม 0.1 กรัม *E. coli* ต้องมีน้อยกว่า 3.0 MPN ต่อกรัม และมีเชื้อราและยีสต์น้อยกว่า 10 โคโลนีต่อกรัม ซึ่งจากตารางที่ 4.1 พบว่าทุกตัวอย่างมีเชื้อราและยีสต์เกินมาตรฐาน คิดเป็นร้อยละ 100 และตัวอย่างที่มี *S. aureus* เกินมาตรฐาน คิดเป็นร้อยละ 26.67 ส่วนตัวอย่างที่พบ *E. coli* มีค่า MPN ต่อกรัมมากกว่าที่มาตรฐานกำหนดคือมีทั้งหมด 16 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 53.33 และพบว่าร้อยละ 6.67 ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมด มีจำนวน *C. perfringens* เกินมาตรฐาน และพบ *Salmonella* ในตัวอย่างแฮมที่ตรวจสอบ คิดเป็นร้อยละ 36.67 ซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับการวิเคราะห์ของบุญมา และคณะ ในปี พ.ศ. 2540 ซึ่งได้ตรวจหา *Salmonella* ในผลิตภัณฑ์จากเนื้อสุกร เช่น ไส้กรอก แฮม และกุนเชียง พบว่ามี *Salmonella* ปนเปื้อนร้อยละ 24 ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมดที่ตรวจสอบ นอกจากนี้ สุริย์ และคณะ (2545) ได้รายงานพบเชื้อ *Salmonella* ในแฮม 9 ตัวอย่าง ซึ่งวิเคราะห์ด้วยวิธีมาตรฐาน (standard conventional method) และพบ *Salmonella* ในแฮม 11 และ 14 ตัวอย่างที่วิเคราะห์ด้วยวิธี ELISA โดยใช้ชุดทดสอบขององค์การเกษตรกรรม (GPO ELISA Kit) และชุดทดสอบของ TECRA ตามลำดับ โดยตรวจพบ *Salmonella* ทั้งหมด 5 ซีโรไทป์ ได้แก่ *S. Agona*, *S. Anatum*, *S. Panama*, *S. Rissen* และ *S. Senftenberg* เมื่อเปรียบเทียบจำนวนจุลินทรีย์ที่ตรวจพบในเนื้อสุกรกับจำนวนจุลินทรีย์ที่ตรวจพบในแฮม จะเห็นได้ว่าในแฮมมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ต่ำกว่า การที่ตรวจพบเชื้อปนเปื้อนในแฮมน้อยกว่าในเนื้อสุกรนั้น เนื่องจากการทำแฮมมีการเติมส่วนผสมต่างๆลงไปด้วย เช่น เกลือ กระเทียม โปแตสเซียมไนไตรต์ (potassium nitrite) และอื่นๆ ซึ่งสารเหล่านี้มีคุณสมบัติในการต้านจุลินทรีย์ หรืออาจมีการเติมแบคทีเรียกรดแลคติกบางชนิดลงไปเพื่อชักนำให้เกิดการหมักได้เร็วขึ้น เช่น *Lactobacillus curvatus* (Visedsanguan และคณะ. 2006) เชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกนี้จะสร้างกรดอินทรีย์ ทำให้แฮมมีสภาพเป็นกรดมาก นอกจากนี้แบคทีเรียกรดแลคติกยังสามารถสร้างสารแบคเทอริโอซิน และสารชนิดอื่นที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ ได้ (Daeschel. 1989) ทำให้เชื้อที่ไม่ต้องการมีจำนวนลดลง แต่ที่ยังตรวจพบการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในแฮมได้นั้น อาจเนื่องมาจากจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับเนื้อสุกรที่ใช้เป็นวัตถุดิบมีการต้านทาน หรือปรับตัวต่อส่วนผสมและสารที่จุลินทรีย์ผลิตขึ้น ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้ง ทำให้สามารถอยู่รอดได้ในแฮม ดังที่ได้มีการรายงานเกี่ยวกับการอยู่รอดได้ดีขึ้นของ *Salmonella* ที่ผ่านการปรับตัวต่อกรดระหว่างการหมัก โดย สุริย์ และ กัญญารัตน์ (2547) พบว่า *S. Rissen* ที่ผ่านการปรับตัวต่อกรดที่พีเอช 5.5 อยู่รอดได้ดีขึ้นในช่วง 48 ชั่วโมงแรกของการหมักใน nham model broth (NMB) ที่มีการเติมแบคทีเรียกรดแลคติก *Lactobacillus plantarum* TISTR 050 และ *Pediococcus acidilactici* TISTR 051 ดังนั้นการปนเปื้อนของแบคทีเรียก่อโรคในแฮมมีผลต่อความปลอดภัยของผู้บริโภค ดังเช่นรายงานของ Moore (2004) ได้รายงานการระบาดของโรคในระบบลำไส้ ซึ่งมีสาเหตุจากการบริโภคเนื้อหมัก ทำให้ต้อง

มีการควบคุมการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในเนื้อสุกรที่จะนำมาใช้เป็นวัตถุดิบ โดยการใช้เกลือของกรดอินทรีย์ ซึ่งมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย

นอกจากนี้ Mrema และคณะ (2006) ยังได้รายงานว่าพบการปนเปื้อนของ *Salmonella* ในไส้กรอกเนื้อ จำนวน 120 ตัวอย่าง จากร้านค้าปลีกในเมืองกาโบโรเน ประเทศบอตสวานา พบว่าอัตราการปนเปื้อนเท่ากับร้อยละ 20 และ serogroup ของ *Salmonella* ที่พบบ่อยที่สุดคือ group B Little และคณะ (1998) พบว่าไส้กรอกแห้งร้อยละ 0.9 ของตัวอย่างไส้กรอกทั้งหมด มีการปนเปื้อน *S. aureus* การที่ผลิตภัณฑ์เนื้อหมักมีการปนเปื้อนแบคทีเรียก่อโรค ทำให้ผู้บริโภคเกิดโรคอาหารเป็นพิษได้ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Sauer และคณะ (1997) ซึ่งได้รายงานการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษที่เกิดจากการบริโภคไส้กรอกหมัก

นอกจากการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ของเนื้อสุกรและแฮมแล้ว ยังได้ตรวจวัดค่าพีเอชและค่า a_w ด้วย ซึ่งค่าพีเอชและค่า a_w เหลือของเนื้อสุกรและแฮมแสดงดังตารางที่ 4.2 พบว่าค่าพีเอชเหลือของเนื้อสุกรมีค่าสูงกว่าค่าพีเอช และ a_w เหลือของแฮม ดังนั้นสภาพพีเอชและ a_w ของเนื้อสุกร จึงเอื้ออำนวยให้จุลินทรีย์เจริญได้ดีกว่าในแฮม และทำให้พบจุลินทรีย์ปนเปื้อนในเนื้อสุกรมากกว่า

ตารางที่ 4.2 ค่าพีเอชและ a_w เหลือของเนื้อสุกรและแฮม

ค่าที่วิเคราะห์	เนื้อสุกร	แฮม
พีเอช	5.65	4.60
a_w	0.98	0.95
จำนวนตัวอย่าง	30	30

จากการที่ตรวจพบว่า เนื้อสุกรมีการปนเปื้อนด้วยจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในปริมาณที่มากกว่ามาตรฐานกำหนด ดังนั้นหากมีการนำเนื้อสุกรไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น แฮม ไส้กรอกอีสาน หมูส้ม เกี้ยวหมู ที่ต้องมีการหมักหรือวางไว้ในอุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลานานก็จะทำให้เชื้อที่ปนเปื้อนเจริญเพิ่มจำนวนได้ และบางชนิดอาจสร้างสารพิษที่ทนต่อความร้อนได้ทำให้เนื้อสุกรนั้นมีความเสี่ยงต่อการทำให้ผู้บริโภคเกิดโรคอาหารเป็นพิษ และอาจเป็นอันตรายถึงชีวิตได้ ดังนั้นหากสามารถลดจำนวนแบคทีเรียที่ปนเปื้อนหรือยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในเนื้อสุกรก็จะทำให้ลดความเสี่ยงต่อการเป็นโรคอาหารเป็นพิษ ซึ่งการเติมเกลือของกรดอินทรีย์ลงในอาหารเป็นวิธีหนึ่งที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ แต่ต้องใช้ในปริมาณที่เหมาะสมเนื่องจากมีผลต่อลักษณะทางประสาทสัมผัสของอาหาร

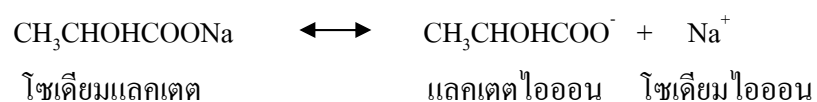
4.2 ผลการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารละลายโซเดียมแลคเตต โซเดียมอะซิเตต และโพแทสเซียมซอร์เบต ที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียต่างๆ

จากการศึกษาผลของเกลือของกรดอินทรีย์ ได้แก่ โซเดียมแลคเตต โซเดียมอะซิเตต และ โพแทสเซียมซอร์เบต ต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียจำนวน 8 ชนิด ในอาหาร MHB ที่ปรับให้มีค่าพีเอช (pH) ต่างกัน 6 ระดับ ได้แก่ 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5 และ 7.0 ได้ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (MIC) ดังตารางที่ 4.2 ซึ่งพบว่าประสิทธิภาพการยับยั้งของเกลือทั้งสามชนิด ขึ้นอยู่กับชนิดของแบคทีเรียและค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยพบว่าแบคทีเรียส่วนใหญ่ที่ทดสอบต้านทานต่อโซเดียมอะซิเตตได้ดีกว่าโพแทสเซียมซอร์เบตและโซเดียมแลคเตต ในสภาพพีเอชส่วนใหญ่ที่ทดสอบ เกลือโซเดียมแลคเตตมีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียส่วนใหญ่ที่ทดสอบ ในสภาพพีเอชต่ำ (พีเอช 4.5-5.5) ซึ่งจะเห็นได้จากค่า MIC ของโซเดียมแลคเตตที่ต่ำกว่าค่า MIC ของโซเดียมอะซิเตต และโพแทสเซียมซอร์เบต โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่พีเอช 4.5 พบว่าโซเดียมแลคเตตยับยั้ง *L. monocytogenes* และ *E. coli* ได้ดีที่สุด ซึ่งมีค่า MIC ต่ำสุด (23.9 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และในช่วงพีเอช 4.5-5.5 พบว่า *L. monocytogenes* ไวต่อโซเดียมแลคเตตมากที่สุด สำหรับเชื้อ *S. aureus*, *S. Typhimurium*, *S. Rissen* และ *Y. enterocolitica* ถูกยับยั้งด้วยโซเดียมแลคเตตที่ค่า MIC เท่ากันคือ 47.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และพบว่า *V. parahaemolyticus* สามารถต้านทานต่อโซเดียมแลคเตตได้ดีที่สุด เนื่องจากมีค่า MIC ส่วนใหญ่สูงกว่า 191.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โพแทสเซียมซอร์เบตสามารถยับยั้ง *S. aureus*, *P. fluorescens* และ *E. coli* ได้ดีในช่วงพีเอชต่ำกว่า 6.0 (ค่า MIC ตั้งแต่ 16.02-64.08 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และในสภาพที่พีเอช 6.0 พบว่า *S. aureus*, *S. Rissen*, *P. fluorescens* และ *E. coli* ถูกยับยั้งโดยโพแทสเซียมซอร์เบตได้ดีกว่าโซเดียมแลคเตตและโซเดียมอะซิเตต และที่พีเอช 6.5 พบว่า *L. monocytogenes* และ *E. coli* ไวต่อการถูกยับยั้งด้วยโพแทสเซียมซอร์เบตมากที่สุด (MIC เท่ากับ 32.04 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ส่วนที่พีเอช 7.0 โพแทสเซียมซอร์เบตยับยั้ง *S. Typhimurium* ได้ดีที่สุด (MIC 32.04 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) อย่างไรก็ตามที่พีเอช 4.5-5.5 โพแทสเซียมซอร์เบตมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียบางชนิดที่นำมาทดสอบ เช่น *E. coli* ส่วนประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียโดยโซเดียมอะซิเตต พบว่าค่าพีเอชมีผลน้อยมาก โดยเฉพาะในช่วงพีเอช 5.0-6.5 พบว่าค่า MIC ในการยับยั้งแบคทีเรียทุกชนิดที่นำมาทดสอบไม่เปลี่ยนแปลงไปตามค่าพีเอช และ *Y. enterocolitica* ไวต่อโซเดียมอะซิเตตมากที่สุด โดยมีค่า MIC ต่ำสุดในช่วงพีเอช 4.5-7.0 (MIC 13.12-52.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และพบว่า *S. aureus*, *V. parahaemolyticus* และ *E. coli* สามารถต้านทานต่อโซเดียมอะซิเตตได้ดีที่สุด เนื่องจากมีค่า MIC ส่วนใหญ่สูงกว่า 210 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ 4.3 ความเข้มข้นต่ำสุดของสารละลายโซเดียมแลคเตต โซเดียมอะซิเตต และโพแทสเซียมซอร์เบต ที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียที่พืเศษต่างๆ

ชนิดของแบคทีเรีย	ความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่ยับยั้งได้ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)																	
	โซเดียมแลคเตต						โซเดียมอะซิเตต						โพแทสเซียมซอร์เบต					
	pH 4.5	pH 5.0	pH 5.5	pH 6.0	pH 6.5	pH 7.0	pH 4.5	pH 5.0	pH 5.5	pH 6.0	pH 6.5	pH 7.0	pH 4.5	pH 5.0	pH 5.5	pH 6.0	pH 6.5	pH 7.0
<i>Staphylococcus aureus</i>	47.8	47.8	47.8	95.62	95.62	95.62	>210	>210	>210	>210	>210	>210	64.08	64.08	64.08	64.08	128.17	128.17
<i>Salmonella</i> Typhimurium	47.8	47.8	47.8	47.8	95.62	95.62	210	210	210	210	210	105	>256.38	>256.38	64.08	64.08	64.08	32.04
<i>Salmonella</i> Rissen	47.8	47.8	47.8	47.8	47.8	191.25	210	210	210	210	210	210	>256.38	64.08	64.08	32.04	64.08	64.08
<i>Listeria monocytogenes</i>	23.9	23.9	23.9	23.9	47.8	47.8	52.5	210	210	210	210	210	64.08	>256.38	>256.38	>256.38	64.08	64.08
<i>Yersinia enterocolitica</i>	47.8	47.8	47.8	47.8	47.8	47.8	13.12	52.5	52.5	52.5	52.5	52.5	64.08	>256.38	64.08	64.08	32.04	>256.38
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	47.8	23.9	47.8	47.8	47.8	47.8	105	105	105	105	105	210	32.04	32.04	64.08	32.04	64.08	64.08
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	>191.25	>191.25	47.8	>191.25	>191.25	>191.25	>210	>210	>210	>210	>210	>210	>256.38	>256.38	>256.38	64.08	>256.38	>256.38
<i>Escherichia coli</i>	23.9	47.8	191.25	95.62	95.62	95.62	105	>210	>210	>210	>210	>210	16.02	16.02	64.08	64.08	32.04	64.08

โดยทั่วไปแล้วความสามารถในการต้านแบคทีเรียของกรดและเกลือของกรดอินทรีย์ ส่วนใหญ่มักอยู่ในรูปของกรดหรือเกลือในรูปที่ไม่แตกตัว ซึ่งเป็นส่วนที่สามารถแทรกผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เข้าสู่ข้างในเซลล์ได้ (Davidson และ Juneja, 1990) เมื่อโมเลกุลในรูปที่ไม่แตกตัวผ่านเข้าสู่เซลล์ที่มีชีวิต ส่วนที่ไม่แตกตัวนั้นจะเกิดการแตกตัวเนื่องจากค่าพีเอชภายในเซลล์ที่ปกติจะมีสภาพใกล้เคียงกับสภาวะเป็นกลาง (พีเอช 6.5) ซึ่งสูงกว่าค่า pK_a ของกรด ซึ่งโปรตอนที่เกิดขึ้นมีผลให้โซเดียมพลาสซึมมีสภาพเป็นกรดมากขึ้น ดังนั้นเซลล์จึงต้องพยายามรักษาพีเอชภายในเซลล์ให้ใกล้เคียงกับสภาวะเป็นกลาง จึงต้องขับโปรตอนออกนอกเซลล์ ซึ่งการขับโปรตอนออกนอกเซลล์นั้นต้องใช้กระบวนการแอคทีฟทรานสปอร์ต (active transport) เซลล์จึงสูญเสียพลังงาน (ATP) ที่ใช้ในการเจริญ (Barsosa-Cánovas และคณะ, 1998) ทำให้แบคทีเรียเจริญได้ช้าลง การแตกตัวของกรดหรือเกลือของกรดอินทรีย์จึงมีผลต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรีย โดยปัจจัยที่มีผลต่อการแตกตัวของกรด ได้แก่ พีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ ค่า pK_a ของกรดหรือเกลือแต่ละชนิด (Ray, 1996) เมื่อค่าพีเอชเท่ากับค่า pK_a ของกรด นั่นคือมีส่วนของกรดที่ไม่แตกตัวร้อยละ 50 ถ้าค่าพีเอชเพิ่มขึ้น ทำให้การแตกตัวของกรดเพิ่มขึ้นด้วย ซึ่งเมื่อพีเอชเท่ากับ pK_a+1 ทำให้กรดในรูปที่ไม่แตกตัวมีน้อยกว่ากรดในรูปที่แตกตัวถึง 10 เท่า ในทำนองเดียวกันเมื่อค่าพีเอชลดลงต่ำกว่าค่า pK_a ส่วนของกรดที่ไม่แตกตัวจะเพิ่มขึ้น (Adams และ Moss, 1995) ดังนั้นในสภาพที่อาหารเลี้ยงเชื้อมีพีเอชต่ำจึงสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ดีกว่าที่พีเอชสูง แต่ประสิทธิภาพการยับยั้งยังขึ้นอยู่กัชนิดของแบคทีเรีย และชนิดของกรดหรือเกลือด้วย ในสภาพที่อาหารเลี้ยงเชื้อมีพีเอชต่ำ (พีเอช 4.5-5.5) พบว่า โซเดียมแลคเตตมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียส่วนใหญ่ที่ทดสอบได้ดีกว่าโซเดียมอะซิเตตและโพแทสเซียมซอร์เบต ซึ่งพีเอชช่วงนี้โซเดียมแลคเตตจะแตกตัวได้มากกว่าเนื่องจากมีค่า pK_a 3.79 (Davidson, 2001) ซึ่งต่ำกว่าค่า pK_a ของโซเดียมอะซิเตตและโพแทสเซียมซอร์เบต (ค่า pK_a เท่ากับ 4.75) (Davidson, 2001) แต่การที่โซเดียมแลคเตตสามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ดีกว่า น่าจะเป็นเพราะการแตกตัวของโซเดียมแลคเตตทำให้มีส่วนของโซเดียมแลคเตตที่ไม่แตกตัว แลคเตตไอออนและโซเดียมไอออนอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื่อดังสมการ



ซึ่งนอกจากส่วนของโซเดียมแลคเตตที่ไม่แตกตัวจะมีผลยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้แล้ว ยังพบว่าส่วนของแลคเตตไอออน ก็มีผลในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้เช่นกัน (Shelef. 1994) เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาคีเลชัน (chelating) กับโลหะไอออนที่มีในอาหาร หรือโลหะไอออนที่อยู่ในผนังเซลล์ เช่น เหล็ก (III) ไอออน (Fe^{3+}) เป็นต้น เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่มีความเสถียร ทำให้แบคทีเรียไม่สามารถใช้โลหะไอออนเหล่านั้นได้ การเจริญจึงหยุดลง (Russell และ Gould. 2003)

ซึ่งต่างจากโซเดียมอะซิเตตและโพแทสเซียมซอร์เบตที่ประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรียส่วนใหญ่เกิดจากเกลือในรูปแบบที่ไม่แตกตัว (Shelef, 1994) อาจจะทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียต่ำกว่าโซเดียมแลคเตตที่มีทั้งส่วนที่อยู่ในรูปไม่แตกตัวและแลคเตตไอออนที่ไปยับยั้งการเจริญของเซลล์ และจากทฤษฎีการแตกตัวของกรดอ่อนพบว่าปฏิกิริยาการแตกตัวเป็นปฏิกิริยาที่ผันกลับได้ และเมื่อพีเอชต่ำโปรตอนที่มีความเข้มข้นสูงจะผลักดันให้เกิดปฏิกิริยาผันกลับทำให้ส่วนของกรดมีเพิ่มขึ้น และแอนไอออนมีเพียงเล็กน้อย (Russell และ Gould, 2003) ในทำนองเดียวกันเมื่อโซเดียมแลคเตตแตกตัว ปริมาณของโซเดียมไอออนที่ได้จากการแตกตัวของโซเดียมแลคเตต และส่วนที่ถูกขับออกมาจากเซลล์มีเป็นจำนวนมากมากพอที่จะทำให้เกิดปฏิกิริยาผันกลับ และโซเดียมไอออนจะรวมตัวกับแลคเตตไอออนได้เป็นโซเดียมแลคเตตและผ่านเข้าสู่เซลล์ได้ นอกจากนี้โซเดียมแลคเตตยังทำให้ค่า a_w ลดลงได้มากกว่ากรดอินทรีย์อื่นๆ ที่ความเข้มข้นเดียวกัน (Bogaert and Naidu, 2000) ซึ่งอาจมีผลต่อการเจริญของแบคทีเรียได้

การที่พบว่า *L. monocytogenes* และ *E. coli* ไวต่อโซเดียมแลคเตตมากที่สุดที่พีเอช 4.5 สอดคล้องกับ Ita และ Hutkins (1991) ได้รายงานไว้ว่า *L. monocytogenes* ไวต่อการถูกยับยั้งด้วยกรดแลคติกและเกลือของกรดแลคติกเช่นเดียวกัน และยังได้ศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงของพีเอชภายในเซลล์ พบว่าเซลล์รักษาความแตกต่างของพีเอชภายในและพีเอชภายนอกเซลล์ให้อยู่ในช่วง 1.0-1.5 หน่วยของพีเอช ในสภาพพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อในช่วง 3.5-6.5

กลไกการยับยั้งจุลินทรีย์โดยโซเดียมแลคเตตนั้นยังไม่ทราบแน่ชัด สันนิษฐานว่าอาจมีผลให้พีเอชของไซโตพลาสซึมลดลงหรือลดค่าพีเอชของอาหาร (Stratford และ Eklund, 2003) อย่างไรก็ดีตาม ยังมีรายงานวิจัยมากมายที่ศึกษาเกี่ยวกับการใช้โซเดียมแลคเตตในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ เช่น Houtsma และคณะ (1996) ได้คัดเลือกจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสียและจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหาร เพื่อนำมาศึกษาความไวต่อโซเดียมแลคเตต โดยศึกษาผลของพีเอช (5.7-7.0) และอุณหภูมิ (4-37 องศาเซลเซียส) ต่อค่า minimum inhibitory concentration (MIC) ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเปปโตนและยีสต์สกัด (peptone-yeast extract medium) และใช้โซเดียมคลอไรด์เป็นตัวอ้างอิงเพื่อแบ่งแยกระหว่างผลของค่า a_w และผลการยับยั้งจำเพาะของโซเดียมแลคเตต พบว่าค่า MIC ของโซเดียมแลคเตตในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียส่วนใหญ่มีค่าลดลงในสภาพที่มีค่าพีเอชต่ำ ที่พีเอช 5.7 เมื่อมีโซเดียมแลคเตต (มากกว่าหรือเท่ากับ 268 มิลลิโมลาร์) มักไม่พบการเจริญของจุลินทรีย์ อย่างไรก็ตามสำหรับ *Staphylococcus aureus*, *Lactococcus cremoris*, *L. lactis* และแบคทีเรียกรดแลคติกบางตัวที่แยกได้จากผลิตภัณฑ์เนื้อเน่าเสีย พบว่าค่า MIC ของโซเดียมแลคเตตจะไม่เปลี่ยนแปลงไปตามพีเอช ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้จะถูกยับยั้งได้ดีที่พีเอชสูง (7.0) และพบว่ายีสต์ส่วนใหญ่ไวต่อโซเดียมแลคเตตน้อยกว่าแบคทีเรีย เนื่องจากมีค่า MIC มากกว่าความเข้มข้นสูงสุดที่ใช้ในการศึกษา (1,339 มิลลิโมลาร์) และไม่ขึ้นกับพีเอชของอาหารในการเจริญ ส่วนค่า MIC ของโซเดียมคลอไรด์ไม่ขึ้นอยู่กับพีเอชในช่วง 5.7-7.0 สำหรับจุลินทรีย์ทุกชนิดที่นำมาศึกษา

ในสภาพที่มีพีเอชสูง (พีเอช 6.0-6.5) พบว่าแบคทีเรียบางชนิดที่ทดสอบโดยเฉพาะ *E. coli* ถูกยับยั้งโดยสารละลายโพแทสเซียมซอร์เบตได้ดีกว่าโซเดียมแลคเตตและโซเดียมอะซิเตต และในพีเอชช่วงนี้พบว่า *S. Typhimurium* ถูกยับยั้งโดยโพแทสเซียมซอร์เบตด้วยค่า MIC 64.08 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และค่า MIC ในการยับยั้ง *E. coli* เท่ากับ 64.08 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 32.04 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่พีเอช 6.0 และ 6.5 ตามลำดับ สอดคล้องกับการทดลองของ Doell (1962) พบว่าซอร์เบตความเข้มข้นร้อยละ 0.075 สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. Typhimurium* และ *E. coli* การที่ซอร์เบตมีประสิทธิภาพในการยับยั้งที่พีเอชสูงนี้ อาจเนื่องมาจากซอร์เบตสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ที่พีเอชสูงสุดประมาณ 6.0-6.5 (Sofos และ Busta. 1981) อย่างไรก็ตามที่พีเอช 4.5-5.5 โพแทสเซียมซอร์เบตมีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียบางชนิดที่นำมาทดสอบ เช่น *E. coli* เนื่องจากพีเอชในช่วงนี้มีค่าใกล้เคียงกับค่า pKa ของโพแทสเซียมซอร์เบต (4.75) ซึ่งที่พีเอชนี้มีโพแทสเซียมซอร์เบตในรูปที่ไม่แตกตัวร้อยละ 50 (Sofos และ Busta. 1981) มีรายงานว่าการใช้โพแทสเซียมซอร์เบตความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ร่วมกับอบเชยความเข้มข้นร้อยละ 0.3 สามารถกำจัดเชื้อ *E. coli* O157:H7 ที่มีเซลล์เริ่มต้นในน้ำแอปเปิ้ล จำนวน $5.2 \log_{10}$ CFU ต่อมิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส (Ceylan และคณะ. 2004) และนอกจากนี้การที่พบว่าโพแทสเซียมซอร์เบตสามารถยับยั้ง *Salmonella* ได้ดีนั้น ผลการทดลองสอดคล้องกับการทดลองของ LaRocco และ Martin (1981) ซึ่งได้ศึกษาผลของโพแทสเซียมซอร์เบตอย่างเดี่ยว และผลของโพแทสเซียมซอร์เบตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 2 หรือ 3 ต่อการยับยั้งการเจริญของ *S. Typhimurium* ATCC 7136 ในอาหาร TSB ซึ่งปรับพีเอชเท่ากับ 6.3 ที่อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน และอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าการใช้ซอร์เบตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ *S. Typhimurium* ได้มากกว่าการใช้โพแทสเซียมซอร์เบตอย่างเดี่ยวภายใต้สภาวะที่ศึกษา การใช้โพแทสเซียมซอร์เบตความเข้มข้นร้อยละ 0.3 ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 3 มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการยับยั้ง *S. Typhimurium* การที่เกลือซอร์เบตสามารถยับยั้งการเจริญหรือทำลายจุลินทรีย์ได้นั้นเนื่องมาจากเกลือซอร์เบตเมื่อผ่านเข้าสู่เซลล์และแตกตัวภายในเซลล์ ทำให้มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ เช่น เอนอลาส (enolase) และแลคเตตดีไฮโดรจีเนส (lactate dehydrogenase) และเอนไซม์ในวัฏจักรเครปส์ เช่น มาเลต ดีไฮโดรจีเนส (malate dehydrogenase) ไอโซซิเตรต ดีไฮโดรจีเนส (isocitrate dehydrogenase) แอลฟา-คีโตกลูตาเรต ดีไฮโดรจีเนส (α -ketoglutarate dehydrogenase) ซัคซิเนต ดีไฮโดรจีเนส (succinate dehydrogenase) ฟูมาเรส (fumarase) และแอสพาร์เทส (aspartase) และโดยเฉพาะอย่างยิ่งเอนไซม์ที่มีหมู่ซัลไฟดริล (sulphydryl) เช่น เอนไซม์ฟูมาเรสในแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์คะตะเลสบวกได้ (catalase positive) รวมทั้งเอนไซม์ที่สร้างโดยยีสต์และรา ได้แก่ เอนไซม์แอสพาร์เทส (aspartase) ซัคซินิก ดีไฮโดรจีเนส (succinic dehydrogenase) และ yeast alcohol dehydrogenase ซึ่งหมู่ซัลไฟดริลนี้จะทำปฏิกิริยากับซอร์เบต นอกจากนี้ซอร์เบตยังมี

ผลต่อผนังเซลล์ของจุลินทรีย์โดยยอมให้มีการยืดยาวของเซลล์ (elongation) แต่ไม่มีการงอกของสปอร์ *Bacillus* และยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน อาร์เอ็นเอ และดีเอ็นเอ ใน *Pseudomonas fluorescens* (Kabara และ Eklund. 1991) จะเห็นได้ว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียชนิดต่างๆ โดยโพแทสเซียมซอร์เบตแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับชนิดของแบคทีเรียและค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ ดังนั้นการเลือกความเข้มข้นของโพแทสเซียมซอร์เบตที่เหมาะสมสำหรับนำไปประยุกต์ใช้ในอาหารต้องคำนึงถึงชนิดของแบคทีเรียที่สำคัญที่ปนเปื้อนในอาหารชนิดนั้น และต้องคำนึงถึงพีเอชของอาหารนั้นด้วย เพื่อให้โพแทสเซียมซอร์เบตมีประสิทธิภาพดีในการยับยั้ง ดังเช่น Sofos และ Busta (1981) ได้กล่าวว่าประสิทธิภาพในการต้านจุลินทรีย์ของซอร์เบตนั้นขึ้นอยู่กับความเข้มข้นที่ใช้ ค่าพีเอชของผลิตภัณฑ์ ส่วนผสมของผลิตภัณฑ์ ปริมาณความชื้นของผลิตภัณฑ์ วัตถุดิบเสียอื่นๆที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์ การปนเปื้อนของผลิตภัณฑ์ การแปรรูป การบรรจุ และการเก็บรักษา

ส่วนประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรียของโซเดียมอะซิเตตพบว่าไม่ขึ้นอยู่กับค่าพีเอช และสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้น้อยกว่าโซเดียมแลคเตตและโพแทสเซียมซอร์เบต อาจจะเนื่องมาจากกรดอะซิติกเป็นสารประกอบที่ระเหยได้ ดังนั้นอาจมีการระเหยของเกลืออะซิเตตออกไปในระหว่างการบ่มเป็นระยะเวลานาน (Lund และ Eklund. 2000) ทำให้ความเข้มข้นของเกลือลดลง หรือจากคุณสมบัติของอะซิเตตไอออนที่จุลินทรีย์จำนวนมากสามารถนำไปใช้ในการเจริญได้ รวมทั้งแลคเตตแอนไอออนและซิเตรตแอนไอออนด้วย การใช้เกลือเหล่านี้เป็นสารต้านจุลินทรีย์อาจจะมีประสิทธิภาพต่ำเมื่อค่าพีเอชสูงขึ้น (Ray. 1996) ดังนั้นเมื่อโซเดียมอะซิเตตแตกตัว จะได้ส่วนของอะซิเตตไอออนที่แบคทีเรียสามารถนำไปใช้ได้ ซึ่งเป็นการช่วยให้แบคทีเรียเจริญได้ดี และทำให้ต้องใช้อะซิเตตความเข้มข้นสูงขึ้นจึงจะยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่นำมาทดสอบได้ Lee และคณะ (2002) ได้ศึกษากิจกรรมการต้านแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคที่พบได้บ่อย โดยศึกษาการยับยั้งแบคทีเรีย 10^4 - 10^5 โคโลนีต่อมิลลิลิตร โดยการหาค่า MIC ของเกลือโพแทสเซียมอะซิเตตในอาหาร TSB ซึ่งปรับให้มีพีเอช 7.0 พบว่าอะซิเตตสามารถต้านแบคทีเรียแกรมลบได้ดีที่สุด โดยค่า MIC ของโพแทสเซียมอะซิเตตในการยับยั้ง *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, และ *Yersinia enterocolitica* เป็นดังนี้ 125, 62.5 และ 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ในการทดลองนี้ได้ค่า MIC ของเกลือของกรดอินทรีย์ค่อนข้างสูงกว่าผลที่ได้จากงานวิจัยของนักวิจัยท่านอื่น เนื่องจากปริมาณเชื้อเริ่มต้นสูง 10^7 - 10^8 โคโลนีต่อกรัม ทำให้ต้องใช้ความเข้มข้นของเกลือของกรดอินทรีย์สูงขึ้นในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย

เมื่อทราบค่าความเข้มข้นต่ำสุดของเกลือของกรดอินทรีย์ทั้งสามชนิด ที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียต่างๆในอาหารเหลวได้แล้ว ก็สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหารได้ โดยเลือกค่า MIC ที่พีเอชที่เหมาะสมกับอาหารนั้นๆ และชนิดของแบคทีเรียที่ปนเปื้อน แต่ในการนำไปใช้จริงในอาหารอาจจะได้ผลไม่ดีเท่ากับใน

อาหารเหลว ดังนั้นจึงอาจใช้วิธีการควบคุมจุลินทรีย์วิธีอื่นร่วมด้วย เช่น การใช้อุณหภูมิต่ำ เพื่อให้ผลการยับยั้งแบคทีเรียมีประสิทธิภาพมากขึ้น

4.3 ผลของโซเดียมแลคเตต โซเดียมอะซิเตต และโพแทสเซียมซอร์เบตร่วมกับการแช่แข็งและการทำให้ละลายต่อการยับยั้งการเจริญของ *Salmonella* Rissen และ *Staphylococcus aureus* ในเนื้อสุกร

จากผลการทดลองในข้อ 4.2 ทำให้ทราบค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารละลายโซเดียมแลคเตต โซเดียมอะซิเตต และโพแทสเซียมซอร์เบต ที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียต่างๆในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีพีเอชต่างกัน ได้ ดังนั้นจึงได้ทดลองเติมเกลือของกรดอินทรีย์ดังกล่าวลงในเนื้อสุกรที่ระดับความเข้มข้น 47.8, 210 และ 64.08 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อศึกษาการยับยั้งการเจริญของ *Salmonella* Rissen และ *Staphylococcus aureus* ซึ่งความเข้มข้นที่ใช้เป็นค่า MIC ที่พีเอช 5.5 การที่เลือกค่า MIC ที่ระดับพีเอชนี้เนื่องจากเป็นระดับพีเอชตามปกติของเนื้อสุกร (พีเอช 5.5- 5.8)

จากการทดลองเปรียบเทียบการอยู่รอดของ *Salmonella* Rissen ในเนื้อสุกรที่เติมเกลือของกรดอินทรีย์ต่างชนิดกันและไม่มีการเติมเกลือ แล้วนำเนื้อสุกรทั้งหมดไปแช่แข็งที่เวลาต่างๆและทำให้ละลายอย่างช้า (รูปที่ 4.1) จากนั้นนำมาหาจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิต (รูปที่ 4.1 ก) พบว่าหลังจากการแช่แข็งเป็นเวลา 12 ชั่วโมง จำนวนเซลล์ *S. Rissen* ที่รอดชีวิตในเนื้อสุกรชุดที่ 1 ที่เติมโซเดียมแลคเตต 1.91 มิลลิกรัมต่อกรัมของเนื้อสุกร ชุดที่ 2 ที่เติมโซเดียมอะซิเตต 8.4 มิลลิกรัมต่อกรัมของเนื้อสุกร และชุดที่ 4 ชุดควบคุม ที่ไม่มีการเติมเกลือ มีจำนวนเซลล์ลดลงเล็กน้อย แต่ในเนื้อสุกรชุดที่ 3 ที่เติมโพแทสเซียมซอร์เบต 2.56 มิลลิกรัมต่อกรัมของเนื้อสุกร มีจำนวนเซลล์ลดลงมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อผ่านการแช่แข็งเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จำนวนเซลล์ *S. Rissen* ที่รอดชีวิตในเนื้อสุกรทุกชุดลดลงมากขึ้น โดยมีจำนวนเซลล์รอดชีวิตในเนื้อสุกรชุดที่ 1, 2, 3 และ 4 คิดเป็นร้อยละ 85.27, 87.69, 84.77 และ 88.28 ตามลำดับ แต่ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่เมื่อทำการแช่แข็งครบ 48 ชั่วโมง พบว่าจำนวนเซลล์ *S. Rissen* ที่รอดชีวิตในเนื้อสุกรชุดที่เติมโซเดียมแลคเตต และชุดที่เติมโซเดียมอะซิเตตเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ส่วนจำนวนเซลล์ *S. Rissen* ที่รอดชีวิตในเนื้อสุกรชุดที่เติมโพแทสเซียมซอร์เบตและชุดควบคุมลดลงมากขึ้น แต่ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ระหว่างจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตในเนื้อสุกรทั้ง 4 ชุด จากนั้นเมื่อทำการแช่แข็งต่อไปจนครบ 72 ชั่วโมง พบว่าจำนวนเซลล์ *S. Rissen* ที่รอดชีวิตในเนื้อสุกรชุดที่เติมโพแทสเซียมซอร์เบต (ร้อยละ 80.58) ลดลงมากกว่าในเนื้อสุกรชุดที่เติมโซเดียมอะซิเตต (ร้อยละ 86.83) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังนั้นการแช่แข็งเป็นเวลา 12 ชั่วโมง เป็นช่วงเวลาที่เหมาะสมต่อการยับยั้งการเจริญของ *S. Rissen* ในเนื้อสุกรที่เติม

โพแทสเซียมซอร์เบต และการแช่แข็งเป็นเวลา 24 ชั่วโมงเป็นช่วงเวลาที่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ร่วมกับการเติมโซเดียมแลคเตตหรือโซเดียมอะซิเตดลงในเนื้อสุกรเพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. Rissen* เนื่องจากเป็นช่วงเวลาที่จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตลดลงมากที่สุด

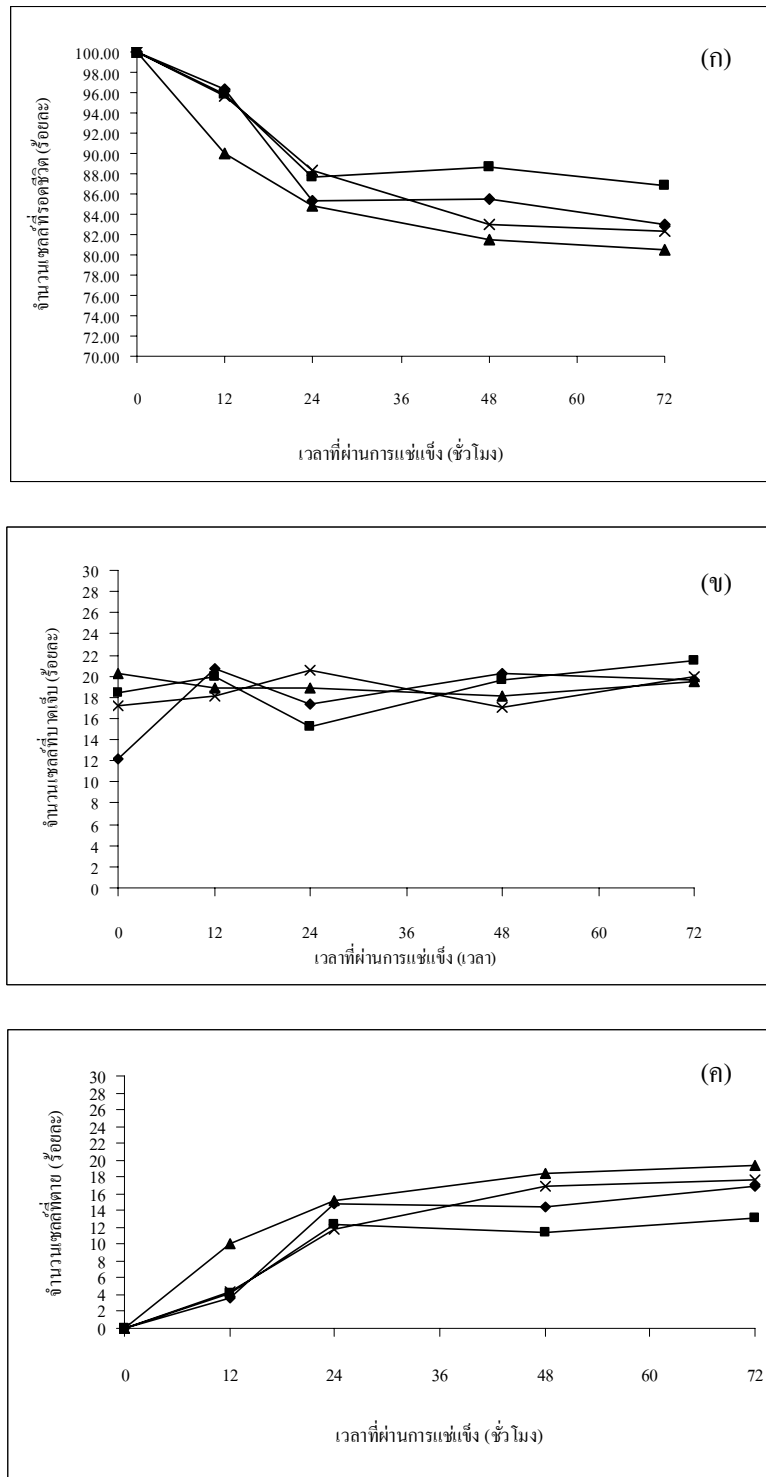
สำหรับจำนวนเซลล์ที่บาดเจ็บของ *S. Rissen* ในเนื้อสุกรที่เติมโซเดียมแลคเตต โซเดียมอะซิเตด และโพแทสเซียมซอร์เบต พบว่าจำนวนเซลล์ที่บาดเจ็บของ *S. Rissen* (รูปที่ 4.1 ข) มีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยเมื่อระยะเวลาในการแช่แข็งเพิ่มขึ้น โดยที่เวลาเริ่มต้นของการแช่แข็งพบว่าจำนวนเซลล์ *S. Rissen* ที่บาดเจ็บในเนื้อสุกรชุดที่ 1 ที่เติมโซเดียมแลคเตตมีจำนวนเซลล์ลดลงมากกว่าในเนื้อสุกรชุดที่ 3 ที่เติมโพแทสเซียมซอร์เบตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ซึ่งเซลล์ในเนื้อสุกรที่ไม่ผ่านการแช่แข็งนี้เกิดการบาดเจ็บจากเกลือของกรดอินทรีย์ที่เติมลงไปเท่านั้น แสดงว่าโพแทสเซียมซอร์เบตทำให้เซลล์บาดเจ็บได้มากที่สุด และหลังจากผ่านการแช่แข็งเป็นเวลา 12 ชั่วโมง พบว่าจำนวนเซลล์ *S. Rissen* ที่บาดเจ็บในเนื้อสุกรชุดที่เติมโซเดียมแลคเตต ชุดที่เติมโซเดียมอะซิเตด และชุดควบคุมมีจำนวนเพิ่มขึ้น ส่วนในชุดที่เติมโพแทสเซียมซอร์เบตมีจำนวนลดลง แต่ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ระหว่างจำนวนเซลล์ที่บาดเจ็บในแต่ละชุด หลังจากนั้นจำนวนเซลล์ที่บาดเจ็บในเนื้อสุกรทุกชุดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น แต่ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) และเมื่อทำการแช่แข็งครบ 72 ชั่วโมงพบว่าจำนวนเซลล์ *S. Rissen* ที่บาดเจ็บในเนื้อสุกรทุกชุดมีจำนวนมากกว่าที่เวลาเริ่มต้นของการแช่แข็ง ส่วนจำนวนเซลล์ที่ตายของ *S. Rissen* ในเนื้อสุกรทุกชุด พบว่าเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการแช่แข็งเพิ่มขึ้น (รูปที่ 4.1 ค) โดยจำนวนเซลล์ที่ตายเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วหลังจากเวลาเริ่มต้นของการแช่แข็งจนถึง 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นจำนวนเซลล์ที่ตายเปลี่ยนแปลงไม่มากนักจนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 72 และพบว่าจำนวนเซลล์ที่ตายในเนื้อสุกรทุกชุดเพิ่มขึ้นสูงสุด โดยชุดที่เติมโพแทสเซียมซอร์เบตมีจำนวนเซลล์ที่ตายมากที่สุด ซึ่งจำนวนเซลล์ที่ตายสัมพันธ์กับจำนวนเซลล์ของ *S. Rissen* ที่รอดชีวิต (รูปที่ 4.1 ก)

ส่วนการเปรียบเทียบการอยู่รอดของ *Staphylococcus aureus* ในเนื้อสุกรชุดที่ 1 ที่เติมโซเดียมแลคเตต ชุดที่ 2 ที่เติมโซเดียมอะซิเตด ชุดที่ 3 ที่เติมโพแทสเซียมซอร์เบต และชุดที่ 4 ชุดควบคุม ที่ไม่มีการเติมเกลือ หลังจากผ่านการแช่แข็งเป็นระยะเวลาต่างๆ และทำให้ละลายอย่างช้า (รูปที่ 4.2) พบว่าเมื่อผ่านการแช่แข็งเป็นเวลา 12 ชั่วโมง จำนวนเซลล์ *S. aureus* ที่รอดชีวิต (รูปที่ 4.2 ก) ในเนื้อสุกรชุดที่เติมโซเดียมแลคเตต ลดลงมากกว่าจำนวนเซลล์ *S. aureus* ที่รอดชีวิตในเนื้อสุกรชุดที่เติมโพแทสเซียมซอร์เบต อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และเมื่อทำการแช่แข็งครบ 24 ชั่วโมง พบว่าจำนวนเซลล์ *S. aureus* ที่รอดชีวิตในเนื้อสุกรชุดที่เติมโซเดียมแลคเตตลดลงมากที่สุด แต่ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ระหว่างจำนวนเซลล์ *S. aureus* ที่รอดชีวิตในเนื้อสุกรทุกชุด เมื่อทำการแช่แข็งครบ 48 ชั่วโมง พบว่าจำนวนเซลล์ *S. aureus* ที่รอดชีวิตในเนื้อสุกรชุดที่เติมโซเดียมแลคเตตลดลงมากกว่าในเนื้อสุกรชุดที่เติมโซเดียมอะซิเตด ชุดที่

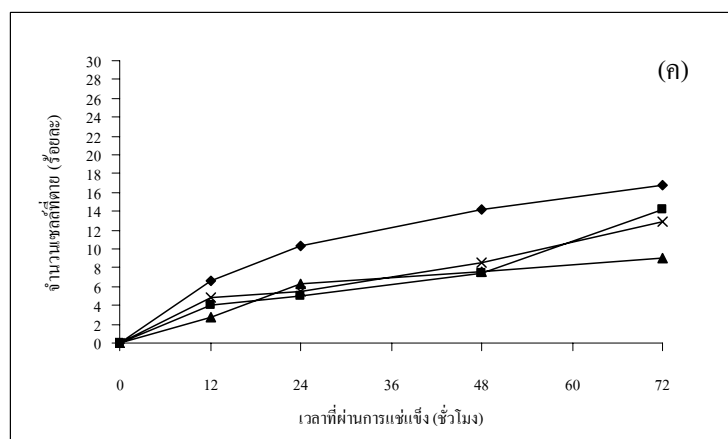
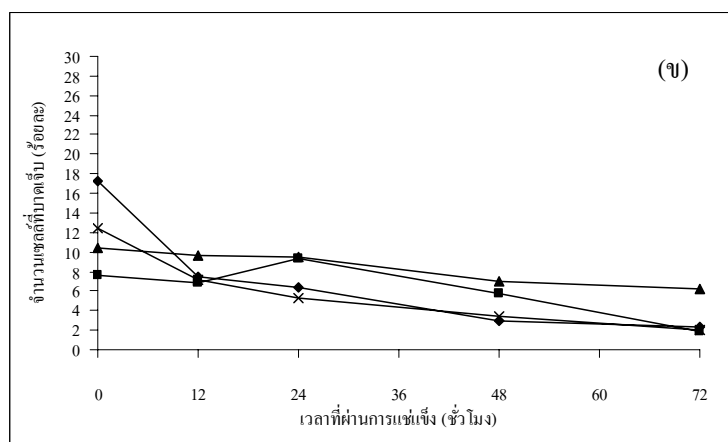
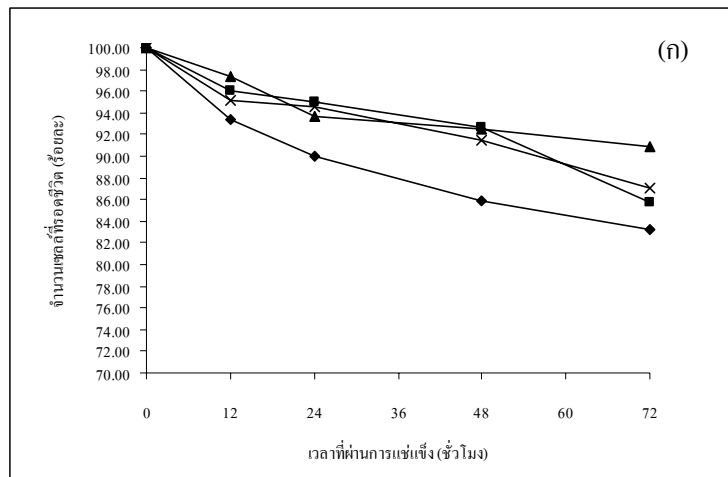
เดิมโพแทสเซียมซอร์เบต และชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) จากนั้นเมื่อทำการแช่แข็งต่อไปจนครบ 72 ชั่วโมง พบว่าจำนวนเซลล์ *S. aureus* ที่รอดชีวิตในเนื้อสุกรชุดที่เดิมโซเดียมอะซิเตต และในเนื้อสุกรชุดควบคุมมีจำนวนเซลล์ลดลงอย่างมาก ส่วนจำนวนเซลล์ *S. aureus* ที่รอดชีวิตในเนื้อสุกรชุดที่เดิมโซเดียมแลคเตต และชุดที่เดิมโพแทสเซียมซอร์เบต ลดลงเล็กน้อย ซึ่งมีจำนวนเซลล์รอดชีวิตร้อยละ 83.18, 85.79 90.90 และ 87.13 ในเนื้อสุกรชุดที่ 1, 2, 3 และ 4 ตามลำดับ และพบว่าจำนวนเซลล์ *S. aureus* ที่รอดชีวิตในเนื้อสุกรชุดที่เดิมโซเดียมแลคเตต และชุดที่เดิมโซเดียมอะซิเตตน้อยกว่าจำนวนเซลล์ *S. aureus* ที่รอดชีวิตในเนื้อสุกรชุดที่เดิมโพแทสเซียมซอร์เบตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตในเนื้อสุกรชุดควบคุม จะเห็นได้ว่าจำนวนเซลล์ *S. aureus* ที่รอดชีวิตในเนื้อสุกรชุดที่เดิมโซเดียมแลคเตตน้อยกว่าในเนื้อสุกรชุดที่ 2, 3 และ 4 ในทุกระยะเวลาที่มีการแช่แข็ง แต่มีจำนวนลดลงน้อยกว่าจำนวนเซลล์ของ *S. Rissen*

จำนวนเซลล์ที่บาดเจ็บและเซลล์ที่ตายของ *S. aureus* ในเนื้อสุกร (รูปที่ 4.2 ข และ 4.2 ค) พบว่าหลังจากผ่านการแช่แข็งเป็นเวลา 12 ชั่วโมง จำนวนเซลล์ที่บาดเจ็บในเนื้อสุกรที่เดิมโซเดียมแลคเตตและชุดควบคุมลดลงอย่างมาก ส่วนจำนวนเซลล์ *S. aureus* ที่บาดเจ็บในเนื้อสุกรที่เดิมโซเดียมอะซิเตตและโพแทสเซียมซอร์เบตลดลงเล็กน้อย จากนั้นพบว่าจำนวนเซลล์ที่บาดเจ็บมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย จนถึงชั่วโมงที่ผ่านการแช่แข็งครบ 72 ชั่วโมงพบว่าในเนื้อสุกรชุดที่เดิมโพแทสเซียมซอร์เบตมีจำนวนเซลล์ที่บาดเจ็บมากกว่าเนื้อสุกรชุดอื่นๆ ขณะที่จำนวนเซลล์ที่ตายของ *S. aureus* ในเนื้อสุกรทั้ง 4 ชุดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาในการแช่แข็งเพิ่มขึ้น และ *S. aureus* ในเนื้อสุกรที่เดิมโซเดียมแลคเตตมีจำนวนเซลล์ที่ตายมากที่สุด เมื่อทำการแช่แข็งครบ 72 ชั่วโมง พบว่าจำนวนเซลล์ที่ตายในเนื้อสุกรที่เดิมโซเดียมแลคเตตมีจำนวนมากกว่าในเนื้อสุกรที่เดิมโพแทสเซียมซอร์เบตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ระหว่างจำนวนเซลล์ที่ตายในเนื้อสุกรที่เดิมโซเดียมแลคเตต โซเดียมอะซิเตต และชุดควบคุมซึ่งสอดคล้องกับจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตที่มีน้อยที่สุดในเนื้อสุกรที่เดิมเกลือโซเดียมแลคเตต

จากการที่พบว่าจำนวนเซลล์ของ *S. Rissen* และ *S. aureus* ในเนื้อสุกรที่เดิมเกลือของกรดอินทรีย์มีจำนวนลดลงเมื่อระยะเวลาของการแช่แข็งเพิ่มขึ้น อาจเนื่องมาจากผลการต้านจุลินทรีย์ของเกลือของกรดอินทรีย์ร่วมกับการแช่แข็ง โดยเฉพาะการเดิมโพแทสเซียมซอร์เบตลงในเนื้อสุกรพบว่าทำให้ *S. Rissen* มีจำนวนลดลงมากกว่าในเนื้อสุกรที่เดิมเกลือชนิดอื่นแต่ลดลงไม่มากนัก ซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับ Tompkin และคณะ (1974) พบว่าโพแทสเซียมซอร์เบตความเข้มข้นร้อยละ 0.1 สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมด รวมทั้ง *Salmonella* และ *S. aureus* ในไส้กรอกสุกที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ Rice และ Pierson (1982) ได้



รูปที่ 4.1 ผลของเกลือของกรดอินทรีย์ร่วมกับการแช่แข็งและการทำให้ละลายต่อจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิต (ก) จำนวนเซลล์ที่พบ (ข) และจำนวนเซลล์ที่ตาย (ค) ของ *S. Rissen* ในเนื้อสุกร ชุดที่ 1 (◆) เดิมโซเดียมแลคเตต, ชุดที่ 2 (■) เดิมโซเดียมอะซิเตต, ชุดที่ 3 (▲) เดิมโพแทสเซียมซอร์เบต และชุดที่ 4 (×) ไม่มีการเติมเกลือ



รูปที่ 4.2 ผลของเกลือของกรดอินทรีย์ร่วมกับการแช่แข็งและการทำให้ละลายต่อจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิต (ก) จำนวนเซลล์ที่บดเจ็บ (ข) และจำนวนเซลล์ที่ตาย (ค) ของ *S. aureus* ในเนื้อสุกรชุดที่ 1 (◆) เดิมโซเดียมแลคเตต ชุดที่ (■) เดิมโซเดียมอะซิเตต ชุดที่ 3 (▲) เดิมโพแทสเซียมซอร์เบต และชุดที่ 4 (×) ไม่มีการเติมเกลือ

รายงานว่าการใช้โพแทสเซียมซอร์เบตอย่างเดียว หรือการใช้โพแทสเซียมซอร์เบตร่วมกับไนไตรต์ ความเข้มข้น 50 ppm มีประสิทธิภาพเท่ากันในการยับยั้ง *Salmonella* ในไส้กรอก frankfurters ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส หรือ 27 องศาเซลเซียส และประสิทธิภาพการยับยั้งนี้เท่ากับประสิทธิภาพการยับยั้งของไนไตรต์ความเข้มข้น 156 ppm ในการยับยั้งการเจริญของ *Salmonella* ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ต่อมา McMeekin และคณะ (1984) ได้พบว่าการใช้โพแทสเซียมซอร์เบตสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในชั้นเนื้อสัตว์ปีกที่บรรจุในสภาพสุญญากาศ ดังนั้นจึงช่วยเพิ่มอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ การที่เกลือซอร์เบตสามารถลดจำนวนของ *S. Rissen* ได้ดีน่าจะเป็นเพราะค่าพีเอชของเนื้อสุกร (พีเอช 5.65) ใกล้เคียงกับค่า pKa ของซอร์เบต และมีนักวิจัยบางคนรายงานว่าซอร์เบตมีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหารที่มีความเป็นกรดสูง (Nomoto และคณะ. 1955; Sofos และคณะ. 1980)

สำหรับจำนวนเชื้อ *S. aureus* ที่รอดชีวิตในเนื้อสุกรที่เติมโซเดียมแลคเตตพบว่ามีจำนวนน้อยกว่าในเนื้อสุกรที่เติมเกลือชนิดอื่น ได้มีรายงานถึงการลดลงของ *S. aureus* ในผลิตภัณฑ์เนื้อที่เติมโซเดียมแลคเตต โดย Scannell และคณะ (1997) ได้ทำการทดลองใช้โซเดียมแลคเตตร่วมกับไนซินในการยับยั้ง *S. aureus* และ *Salmonella* Kentucky ในไส้กรอกเนื้อสุกร พบว่าโซเดียมแลคเตตให้ผลเสริมฤทธิ์กับไนซินในการลดจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในไส้กรอกเนื้อสุกร แต่อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่าเซลล์ของ *S. Rissen* และ *S. aureus* จะลดจำนวนลงแต่ก็ยังคงมีปริมาณเซลล์ที่รอดชีวิตสูงที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นเพราะเกลืออะซิเตตและแลคเตตมีผลต่อการชะลอการเจริญเติบโตของแบคทีเรียมากกว่าทำให้เซลล์ตาย (Jay และคณะ. 2005) ซึ่งการที่จำนวนเซลล์ของแบคทีเรียทั้งสองชนิดในเนื้อสุกรลดลงไม่มากนัก ทั้งๆที่เชื้อเผชิญต่อสภาวะเครียดในสภาพที่มีเกลือของกรดอินทรีย์ร่วมกับสภาวะของการแช่แข็งและการทำให้ละลายอย่างช้า อาจเป็นผลมาจากการใช้ความเข้มข้นของสารละลายเกลือของกรดอินทรีย์ในระดับเดียวกับค่า MIC ที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้งสองในอาหารเหลว ซึ่งอาจเป็นระดับความเข้มข้นที่ไม่เพียงพอที่จะใช้ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียดังกล่าวในอาหารแข็ง เช่น เนื้อสุกร ซึ่งโดยทั่วไปการเติมสารต้านจุลินทรีย์ในอาหารแข็งที่ระดับความเข้มข้นเดียวกับสารต้านจุลินทรีย์ที่เติมในอาหารเหลว ประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ในอาหารแข็งจะน้อยกว่าในอาหารเหลว (Shelef. 1994) ดังเช่นการรายงานของ Drosinos และคณะ (2005) ซึ่งพบว่าการเติมสารละลายผสมระหว่างกรดแลคติก โซเดียมอะซิเตต และโพแทสเซียมซอร์เบต และสารละลายผสมระหว่างโพแทสเซียมแลคเตตและโพแทสเซียมอะซิเตต สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกใน modified MRS แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อนี้ในผลิตภัณฑ์เนื้อ นอกจากนี้การที่จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตของ *S. Rissen* และ *S. aureus* ลดลงไม่มากนักก็อาจจะเนื่องมาจากองค์ประกอบของเนื้อสุกรที่ประกอบด้วยโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน วิตามิน และแร่ธาตุต่างๆ (Lawrie. 1974) ซึ่งสารเหล่านี้จะช่วยปกป้องเซลล์ของจุลินทรีย์ให้อยู่รอดได้ดีในเนื้อสุกร และสารประกอบบางชนิดในอาหารยังมีคุณสมบัติในการเป็นสารป้องกันความเย็น

(cryoprotectant) ช่วยป้องกันเซลล์ของจุลินทรีย์ในอาหารจากการบาดเจ็บอันเนื่องมาจากความเย็น (EL-Kest และ Marth, 1992) สารป้องกันความเย็นดังกล่าว ได้แก่ กรดอะมิโน คาร์โบไฮเดรต กลูโคส และแอลกอฮอล์ จึงทำให้แบคทีเรียไม่ได้รับผลกระทบจากการแช่แข็งมากนัก

การที่จุลินทรีย์สามารถอยู่รอดได้ในขณะที่มีการแช่แข็งนั้นมีอยู่ด้วยกันหลายปัจจัย ได้แก่ ธรรมชาติของเชื้อ อายุและอัตราการเจริญของเชื้อ อัตราการลดอุณหภูมิ องค์ประกอบของอาหารที่ใช้ในระหว่างแช่แข็ง เป็นต้น (Robinson, 1985) ในการทดลองนี้ได้ศึกษากับเชื้อที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิปานกลางและเป็นเชื้อที่มักพบว่าการปรับตัวต่อสภาวะต่างๆ ได้ดี และเป็นเชื้อที่อยู่ในระยะ stationary phase ซึ่งมีการต้านทานต่อสภาวะเครียดต่างๆ ได้ดี และอัตราการลดอุณหภูมิที่เป็นไปอย่างช้าทำให้ในระหว่างที่อุณหภูมิกำลังลดลงแบคทีเรียอาจมีการเจริญเพิ่มจำนวนได้ และเนื่องจากเนื้อสุกรเป็นแหล่งอาหารที่อุดมสมบูรณ์สำหรับแบคทีเรีย ดังนั้นปัจจัยเหล่านี้ล้วนทำให้แบคทีเรียที่ใช้ในการทดลองนี้อยู่รอดได้ดีในขณะแช่แข็งจึงทำให้การแช่แข็งมีผลไม่มากนักต่อการลดลงของจำนวนเซลล์ *S. Rissen* และ *S. aureus* หรือการที่แบคทีเรียทั้งสองชนิดสามารถอยู่รอดได้ในเนื้อสุกรที่เดิมเกล็ดของกรดอินทรีย์นั้น อาจเป็นเพราะว่าแบคทีเรียทั้งสองชนิดมีการปรับตัวต่อสภาวะกรดหรืออุณหภูมิต่ำได้ ซึ่งการปรับตัวต่อกรดอาจจะทำให้แบคทีเรียสามารถต้านทานต่ออุณหภูมิต่ำได้ด้วย หรือเซลล์อาจเกิดการบาดเจ็บแล้วมีการซ่อมแซมตัวเองได้ ดังนั้นจึงเป็นการเพิ่มความสามารถในการอยู่รอดมากขึ้น

การที่จำนวนเซลล์ของ *S. Rissen* และ *S. aureus* ในเนื้อสุกรลดจำนวนลง นอกจากจะมีสาเหตุมาจากฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของเกล็ดของกรดอินทรีย์แล้ว ยังอาจเป็นผลร่วมกับการแช่แข็งและการทำให้ละลาย ซึ่งการแช่แข็งและการทำให้ละลายมีผลทำให้เซลล์ที่มีชีวิตลดจำนวนลงได้ ในการทดลองนี้ได้ทำการแช่แข็งเนื้อสุกรด้วยอัตราอย่างช้า ในการแช่แข็งอาหารด้วยอัตราช้าเมื่ออุณหภูมิลดลงถึง -2 องศาเซลเซียส โมเลกุลของน้ำในอาหารจะเริ่มแข็งตัวเป็นน้ำแข็ง และเมื่ออุณหภูมิลดลงอย่างต่อเนื่องจะเกิดผลึกน้ำแข็งมากขึ้น ตัวถูกละลายในน้ำที่เหลืออยู่ในอาหารจะเข้มข้นขึ้นซึ่งจะทำให้จุดเยือกแข็งของน้ำในสารละลายนั้นลดต่ำลง ค่า a_w ก็จะลดลงด้วย และเมื่ออุณหภูมิลดลงถึง -20 องศาเซลเซียส น้ำเกือบทั้งหมดจะแข็งตัวเป็นน้ำแข็ง ในสภาพเช่นนี้การเกิดผลึกน้ำแข็งภายนอกเซลล์ การเกิดผลึกน้ำแข็งภายในเซลล์ และความเข้มข้นของตัวถูกละลายภายนอกเซลล์ที่ยังไม่แข็งตัวมีผลต่อการมีชีวิตของจุลินทรีย์ในอาหารนั้นได้ ในสภาพที่น้ำในอาหารแข็งตัวเป็นผลึกน้ำแข็งและตัวถูกละลายในอาหารเข้มข้นขึ้นนั้นจะทำให้เกิดความแตกต่างของความดันออสโมติกระหว่างอาหารนั้น (freezing medium) และไซโตพลาสซึมในเซลล์จุลินทรีย์ที่อยู่ในสภาพเย็นอย่างยิ่งยวด (supercooled cytoplasm) ซึ่งจะมีผลทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของน้ำออกจากเซลล์ และความเข้มข้นของตัวถูกละลายและไอออนต่างๆ ภายในเซลล์เข้มข้นขึ้น (Ray, 1996 ; Mazur, 1970) ในกรณีของการแช่แข็งเนื้อสัตว์ด้วยอัตราช้า จุลินทรีย์ที่ทนเปื้อนในเนื้อสัตว์อาจได้รับอันตรายจากการเกิดผลึกน้ำแข็งหรือเผชิญต่อสภาพที่ตัวถูกละลายเข้มข้นขึ้น ตัวถูกละลาย

ส่วนใหญ่ที่มีอยู่ในนี้อาจช่วยป้องกันเซลล์จากการบาดเจ็บจากการแช่แข็ง โดยทั่วไปปริมาณสารประกอบอินทรีย์ที่ละลายได้ซึ่งมีในโตรเจนเป็นองค์ประกอบไม่ผันแปรมากนักระหว่างกล้ามเนื้อของสัตว์ที่ยังมีชีวิตอยู่และกล้ามเนื้อของสัตว์ที่ตายแล้วในช่วง post rigor ถึงแม้ว่าองค์ประกอบของนิวคลีโอไทด์และกรดอะมิโนจะมีการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีที่สำคัญเพิ่มมากขึ้น อย่างไรก็ตามความเข้มข้นของสารเกิดการเปลี่ยนแปลงมากขึ้นจากการเปลี่ยนสารไกลโคเจนผ่านวิถีกระบวนการไกลโคไลซิสโดยการเปลี่ยนแปลงของกล้ามเนื้อในระยะหลังที่สัตว์ตาย (post mortem) นำไปสู่ระยะที่กล้ามเนื้อของสัตว์มีการเกร็งตัว (rigor development) ซึ่งจะมีการเปลี่ยนแปลงของไกลโคเจนที่เก็บไว้ในกล้ามเนื้อสัตว์ทำให้ได้กรดแลคติกเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้าย ความเข้มข้นของสารที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการไกลโคไลซิสจะผันแปรในระหว่างที่กล้ามเนื้อเกร็งตัว และลดลงในระดับต่ำ ปกติจะมีปริมาณกรดแลคติกสะสมในกล้ามเนื้อของสัตว์เพียงพอที่จะทำให้พีเอชของกล้ามเนื้อสัตว์ที่มีชีวิตลดลงจากช่วงพีเอชเป็นกลางจนถึงพีเอช 5.5-5.8 ดังนั้นจึงเป็นไปได้ที่แลคเตตที่เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเปลี่ยนแปลงของไกลโคเจนในกล้ามเนื้อสัตว์ และเกลือของกรดอินทรีย์ชนิดอื่นที่เดิมลงไปจะเป็นสาเหตุของการบาดเจ็บจากการแช่แข็ง เนื่องจากรูปที่ไม่แตกตัวของกรดเหล่านี้สามารถมีผลในการยับยั้งเซลล์ของจุลินทรีย์ได้ (Lowry และ Gill, 1985) ซึ่งในการทดลองนี้อาจเป็นไปได้ที่จะมีจุลินทรีย์ 3 ประเภทในเนื้อสุกร ได้แก่ จุลินทรีย์ที่รอดชีวิต จุลินทรีย์ที่ตาย และจุลินทรีย์ที่บาดเจ็บ ซึ่งจะเห็นได้จากผลการทดลองว่าจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตลดลง เมื่อระยะเวลาในการแช่แข็งเพิ่มขึ้น ขณะที่จำนวนเซลล์ที่บาดเจ็บเพิ่มขึ้น และขณะเดียวกันจำนวนเซลล์ที่ตายก็เพิ่มขึ้นด้วยเมื่อระยะเวลาในการแช่แข็งเพิ่มขึ้น Merryman (1966) ได้แนะนำว่าในสภาพของการลดอุณหภูมิอย่างช้า (น้อยกว่า 1 องศาเซลเซียสต่อ นาที) ในสภาพนี้จุลินทรีย์ที่ทนต่อการสูญเสียจากการที่ตัวถูกละลายเข้มข้นขึ้นนั้นจะต้านทานต่อการบาดเจ็บจากการแช่แข็ง ในขณะที่จุลินทรีย์บางเซลล์อาจถูกยับยั้งจากการที่ความเข้มข้นของตัวถูกละลายสูงขึ้น ซึ่งเซลล์จุลินทรีย์เหล่านี้ อาจถูกทำลายได้ง่ายจากการแช่แข็ง

เซลล์ที่บาดเจ็บจากการแช่แข็งจะเกิดการสูญเสียการมีชีวิตโดยจะมีการรั่วขององค์ประกอบภายในเซลล์ มีความไวต่อสารยับยั้งเพิ่มขึ้น มีความต้องการสารอาหารที่มีคุณค่าสูงเพิ่มขึ้น มีระยะเวลาของ lag phase ยาวนานขึ้น และมีความไวต่อรังสีมากขึ้น นอกจากนี้ MacLeod และ Calcott (1976) ได้เสนอว่าการแช่แข็งและการทำให้ละลายมีผลทำให้ *E. coli* ไวต่อเกลือมากขึ้น ในการทดลองนี้การที่เลือกการทำให้ละลายอย่างช้ามาใช้ในการทดลองก็เนื่องจากการทำให้ละลายอย่างช้ามีผลทำให้จำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์ลดลงได้มากกว่าการทำให้ละลายอย่างรวดเร็วดังที่ได้ทดลอง (ภาคผนวก ก) พบว่าจำนวนเซลล์ของ *S. Rissen* ในอาหารเหลวหมูจำลอง (pork model broth) ที่ผ่านการแช่แข็งเป็นเวลา 72 ชั่วโมง และมีการทำให้ละลายอย่างรวดเร็วหรือการทำให้ละลายอย่างช้ามีจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตเหลืออยู่ร้อยละ 51.78 และ 48.51 ตามลำดับ เนื่องจากการทำให้ละลายอย่างช้ามีผลต่อการทำลายเซลล์จุลินทรีย์ได้ดังนี้ มีผู้อธิบายว่าในระหว่างการทำให้

ละลายอย่างช้ามีผลต่อการทำลายเซลล์มาก เนื่องจากผลึกน้ำแข็งมีการโตขึ้นในระหว่างการทำให้ละลายอย่างช้า ผลของการแช่แข็งและการทำให้ละลายต่อการลดจำนวนของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์เนื้อได้มีผู้รายงานไว้แล้ว ดังเช่นการศึกษาของ Zhao และคณะ (2003) ที่ศึกษาผลของการแช่แข็งต่อการยับยั้งการเจริญของ *Campylobacter jejuni* ในเนื้อไก่ โดยใช้อุณหภูมิในการแช่แข็งต่างกัน พบว่าเมื่อนำเนื้อไก่ที่เดิมเชื้อ *C. jejuni* ความเข้มข้น 10^7 โคโลนีต่อกรัม ไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส และ -30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จำนวนเซลล์ของ *C. jejuni* ลดลง 1.3 และ 1.8 $\log_{10}$ CFUต่อกรัม ตามลำดับ และพบว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 และ -86 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 52 สัปดาห์ *C. jejuni* ลดลงประมาณ 4 และ 0.5 $\log_{10}$ CFU ต่อกรัม ตามลำดับ นอกจากนี้ Digiralamo และคณะ (1970) ได้ศึกษาผลของการแช่แข็งต่อการรอดชีวิตของ *Salmonella* ในหอยนางรม พบว่า *Salmonella* Derby และ *S. Typhimurium* ไวต่อการแช่แข็งมากและมีจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตเหลืออยู่ไม่เกินร้อยละ 1 หลังจากการแช่แข็งเป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ดังนั้นการแช่แข็งและการทำให้ละลายอย่างช้าจึงเป็นวิธีควบคุมจุลินทรีย์ที่สามารถนำมาใช้ร่วมกับการใช้เกลือของกรดอินทรีย์ได้ ซึ่งจะทำให้จำนวนจุลินทรีย์ลดลงมากขึ้นและมีผลให้อาหารมีความปลอดภัยมากขึ้นและสามารถเก็บรักษาได้นานขึ้น สอดคล้องกับการศึกษาของ Yoon และคณะ (2004) พบว่าการเติมสารละลายผสมระหว่างโพแทสเซียมแลคเตตและโซเดียมไดอะซิเตต ที่ทุกระดับความเข้มข้นที่นำมาศึกษาสามารถลดจำนวนเซลล์ *L. monocytogenes* ที่รอดชีวิตบนเนื้อปลาแซลมอนรมควันที่มีการเก็บรักษาโดยการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ได้นานถึง 10 เดือน ขณะที่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียส เก็บรักษาได้นาน 32 วัน และ 11 วัน ตามลำดับ ดังนั้นการใช้วิธีการควบคุมจุลินทรีย์มากกว่าหนึ่งวิธีจะช่วยให้ลดจำนวนจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหารได้มากขึ้น และทำให้อาหารมีความปลอดภัยมากขึ้น