การใช้เฮอร์เดิ้ลเทคโนโลยีในการยืดอายุในการเก็บรักษาเนื้อสุกรแช่เย็น (การศึกษาเบื้องต้น)

นางสาวจันทร์จิรา ไทยผดุงพานิช
นายณริสร์ ทองแก้วแกม
นายณัฐวัฒน์ สุวรรณโชยรบ
นายสุวัฒน์ เต็มจิตต์ภักดี

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 33515
วัน, เดือน, ปี 13 ส.ค. 2542

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2541

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Application of Hurdle Technology for Shelf life prolongation of fresh chilled pork (Preliminary)

Ms. Janjira Thaipadungpanit

Mr. Naris Thongkaewkaem

Mr. Nutthawat Suwanchairob

Mr. Suwat Temchitphakdee

Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement

For the Degree of Bachelor of Science

Department of Applied Biology Faculty of Science

King Mongkut's University of Technology Ladkrabung

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การใช้เฮอร์เดิลเทคโนโลยี ในการยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อหมูสดแช่เย็น (การศึกษาเบื้องต้น)

โดย นางสาวจันทร์จิรา ไทยผดุงพานิช
นายณริสร์ ทองแก้วแกม
นายณัฐวัฒน์ สุวรรณไชยรบ
นายสุวัฒน์ เต็มจิตต์ภักดี

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.เรียม เตชะโสภณมณี

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติโครงงานพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต

.....
(ผศ.ดร.พรรณี ฐิตาภิชิต) หัวหน้าภาค

คณะกรรมการโครงงานพิเศษ

.....
(ผศ.ดร.เรียม เตชะโสภณมณี) ประธานกรรมการ

.....
(ผศ.มาลินี ตันติยาภรณ์) กรรมการ

.....
(อาจารย์ชวงศ์ เอื้อสุขอารี) กรรมการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์

หัวข้อโครงงานพิเศษ การใช้เฮอร์เดิลเทคโนโลยี ในการยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อหมูสดแช่เย็น (การศึกษาเบื้องต้น)

โดย นางสาวจันทร์จิรา ไทยผดุงพานิช
นายณริสร์ ทองแก้วแกม
นายณัฐวัฒน์ สุวรรณไชยรบ
นายสุวัฒน์ เต็มจิตต์ภักดี

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.เรียม เตชะโสภณมณี

ปีการศึกษา 2541

บทคัดย่อ

เฮอร์เดิ้ลเทคโนโลยี(Hurdle technology) เป็นวิธีการเก็บถนอมอาหารสด เช่น ผลไม้ เนื้อสัตว์ และอาหารแปรรูปด้วยการลดปริมาณจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ดังกล่าวให้มีปริมาณต่ำสุดเกือบเป็นศูนย์ และให้จุลินทรีย์อยู่ในสภาพเฉื่อยหรือสิ้นสภาพเมตาบอไลท์ (Metabolic exhaustion) โดยอาศัยวิธีการที่ไม่ใช่การทำลายจุลินทรีย์ด้วยความร้อน (Heat sterilization)

ในการทดสอบนี้เป็นการศึกษาเบื้องต้น โดยศึกษาถึงการเน่าเสียของเนื้อหมูสดแช่เย็นโดยแบคทีเรียพวกเฮทเทอร์โรแลคติก(Heterolactic bacteria) ในขั้นต้นทำการคัดแยกแบคทีเรียพวกเฮทเทอร์โรแลคติกออกจากจุลินทรีย์ชนิดอื่น โดยสุ่มแหล่งจุลินทรีย์ในบริเวณต่างๆของโรงงานผลิตเนื้อหมูสดแช่เย็น โดยแบคทีเรียชนิดนี้มีรูปร่างเป็นแท่งติดสีแกรมบวก และสามารถหมักน้ำตาลกลูโคส ซูโครส มอลโตส แลคโตสและอะราบิโนสได้ ส่วนการทดสอบการสร้างกรดของแบคทีเรียทำโดยทำรอยขีด(Simple streak) ของแบคทีเรียลงบนอาหารจีวายพี(GYP) ที่เพิ่มแคลเซียมคาร์บอเนต แล้วถ้ามีพื้นที่ใสเกิดขึ้นบริเวณรอยขีดแสดงว่าแบคทีเรียนั้นสร้างกรดได้ และแบคทีเรียพวกเฮทเทอร์โรแลคติกให้ผลลบกับการทดสอบคะตะเลส พบว่าแบคทีเรียเหล่านี้พบบริเวณซากหมูมากที่สุด ดังนั้นการควบคุมการฆ่า และชำแหละสุกรให้ได้มาตรฐาน และถูกสุขลักษณะอาจจะช่วยยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อหมูสดแช่เย็นให้ยาวนานขึ้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title	**Application of Hurdle Technology for Shelf life Prolongation of fresh chilled pork (Preliminary)**
Name	**1. Ms. Janjira Thaipadungpanit**
	2. Mr. Naris
	3. Mr. Nutthawat Suwanchairob
	4. Mr. Suwat Themjitphakdee
Special Project Advisor	**Assist. Prof. Dr. Ream Techasophomani**
Academic Year	**1998**

Abstract

Hurdle technology base on combination preservation technology, not including Heat sterilization, which requires less energy input, minimum quality damaging and stable at ambient temperature. This technology prolongs food storage.

In preliminary experiment by collecting specimens from all over the slaughtering plant to differentiate the heterolactic acid bacteria, which is the primary cause of pork spoiling, based on bacteria gram positive that can ferment glucose sucrose, maltose, lactose and arabinose the properties of acid producing to form a clear zone in calcium carbonated GYP agar and negative for catalase test . Results showed that the most growing of herterolactic acid bacteria is found at carcass, it is suggesting that standardization of sanitation in slaugting plant may be extend food storage.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษนี้ได้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ขอขอบพระคุณ ผศ. ดร. เรียม เตชะโสภณมณี ผศ. มาลินี ตัณติยาภรณ์ และอาจารย์ชูวงศ์ เอื้อสุขอารี ผู้ซึ่งให้ความช่วยเหลือในทุกๆด้าน ตลอดจนให้คำปรึกษา และกำลังใจ ขอขอบพระคุณ บริษัท Fresh meat product ที่กรุณาให้ตัวอย่างเนื้อสุกร ขอบคุณ คุณวิทยา เขียวเขิน ตลอดจนเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ในภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ทุกทางที่ให้ความสะดวกต่างๆ

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ขอบคุณรุ่นพี่ และเพื่อนๆทุกคน ที่ให้ความช่วยเหลือ สนับสนุน และเป็นกำลังใจตลอดมา ซึ่งมีส่วนช่วยให้โครงงานพิเศษชิ้นนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญตาราง	ง
สารบัญรูปภาพ	จ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 บทตรวจเอกสาร	
- เฮอร์เดิ้ลเทคโนโลยี	3
- ความสัมพันธ์ระหว่างเนื้อและแบคทีเรียที่ทำให้เนื้อเสีย	4
- การแช่เย็น	14
- การบรรจุแบบสุญญากาศ	22
- ระเบียบการส่งออกเนื้อสุกรแช่เย็นหรือแช่แข็ง	24
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	26
บทที่ 4 ผลการทดลอง	30
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	34
ภาคผนวก	
เอกสารอ้างอิง	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1	แสดงปริมาณสารน้ำหนักโมเลกุลต่ำที่เป็นส่วนประกอบของเนื้อสัตว์ก่อน และหลังการแข็งตัวของกล้ามเนื้อ	7
ตารางที่ 2	แสดงลำดับการใช้สับสเตรทของแบคทีเรียทั้งในสภาพที่มีและไม่มีอากาศ	11
ตารางที่ 3	แสดงผลกระทบของอุณหภูมิต่ออัตราการเจริญของแบคทีเรียบนเนื้อสัตว์ที่เก็บในสภาวะไม่มีอากาศ	19
ตารางที่ 4	แสดงเวลาในการทวีคูณจำนวนของแบคทีเรียที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส	23
ตารางที่ 5	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิที่ลดลง และเวลาที่ใช้เพิ่มจำนวนของแบคทีเรียในแต่ละสายพันธุ์	24
ตารางที่ 6	แสดงข้อกำหนดทางด้านจุลินทรีย์ของกรมปศุสัตว์	25
ตารางที่ 7	แสดงปริมาณจุลินทรีย์ในแต่ละบริเวณ	30
ตารางที่ 8	แสดงผลการตรวจดูลักษณะทางสัณฐานวิทยา	31
ตารางที่ 9	แสดงผลของการทดสอบการใช้น้ำตาล , การเกิด Clear zone และการทดสอบ Catalase	33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 1 แสดงหลักของเฮอร์เดิ้ลเทคโนโลยี	3
รูปที่ 2 แสดงการเกิด Clear zone	32
รูปที่ 3 แสดงการเกิด Clear zone	32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

ในปัจจุบันประเทศไทยประสบปัญหาทางด้านเศรษฐกิจที่ตกต่ำลงอย่างมาก และสาเหตุที่สำคัญประการหนึ่งคือ การส่งออกสินค้าไปยังต่างประเทศไม่สามารถได้เปรียบประเทศอื่นทั้งในด้านราคา และคุณภาพ ตัวอย่างเช่น การส่งเนื้อสุกรแช่เย็นจากประเทศไทยไปยังต่างประเทศ มีอายุการเก็บรักษาเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียสได้เพียง 30 วัน ในขณะที่เนื้อสุกรสดแช่จากประเทศสหรัฐอเมริกา ที่ส่งออกและเป็นคู่แข่งของประเทศไทยมีอายุการเก็บรักษาถึง 90 วัน ดังนั้นจึงจำเป็นต้องหาทางยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อสุกรสดแช่เย็นให้เทียบเท่าหรือใกล้เคียงกับต่างประเทศ คือประมาณ 90 วัน โดยวิธีการแก้ปัญหาเราควรเริ่มต้นหาสาเหตุจากตัวอย่างเนื้อสุกรที่เน่าเสีย แต่เนื่องจากช่วงการทดลองทางบริษัท Fresh meat product ซึ่งใช้เป็นแหล่งตัวอย่างของโครงงานพิเศษนี้ไม่มีการส่งออกเนื้อสุกร ดังนั้นจึงทำการศึกษาในทางอ้อมโดยทำการเก็บตัวอย่างเชื้อจุลินทรีย์จากโรงงานเพื่อหาแหล่งที่อาจเป็นสาเหตุของการเสื่อมคุณภาพของเนื้อสุกรสดแช่เย็นและหาแนวทางการลดปัญหาการเน่าเสียของเนื้อสุกรสดแช่เย็น

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาหาแหล่งจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเสื่อมคุณภาพของเนื้อสุกรสดจากขั้นตอนการชำแหละ
2. เพื่อศึกษาหาแนวทางการลดปัญหาการเน่าเสียของเนื้อสุกรสดแช่เย็น

ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

หาแหล่งจุลินทรีย์ที่อาจเป็นสาเหตุของการเสื่อมคุณภาพของเนื้อสุกรสดจากขั้นตอนการชำแหละในโรงงาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ลดปัญหาการเน่าเสียของเนื้อสุกรสดแช่เย็น
2. เพื่อช่วยยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อสุกรสดแช่เย็น
3. นำความรู้จากการทดลองมาใช้เป็นพื้นฐานในการพัฒนางานทางอุตสาหกรรมการส่งออกเนื้อสุกรสดแช่เย็น

ขั้นตอนการดำเนินงาน

1. หาข้อมูลรายละเอียดด้านสภาพและวิธีการที่ใช้อยู่ในปัจจุบันในการตัดแต่งเนื้อสุกรเพื่อส่งออกจากโรงงานที่มีมาตรฐานที่ได้รับการยอมรับจากสากลให้ส่งเนื้อสุกรสด ซึ่งในประเทศไทยมีเพียง 3 โรงเท่านั้น สำหรับโครงงานพิเศษนี้จะใช้โรงงานของ บริษัท Fresh meat product เป็นแหล่งข้อมูล
2. หาข้อมูลและศึกษาคุณสมบัติโดยธรรมชาติของเนื้อสุกรสดแช่เย็นทั้งในด้านกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยา
3. นำข้อมูลที่ได้จากขั้นตอนที่ 1 และ 2 มาออกแบบการทดลอง
4. ทำการทดลอง และเก็บผลการทดลองมาวิเคราะห์และสรุปผลงาน
5. จัดทำรายงาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

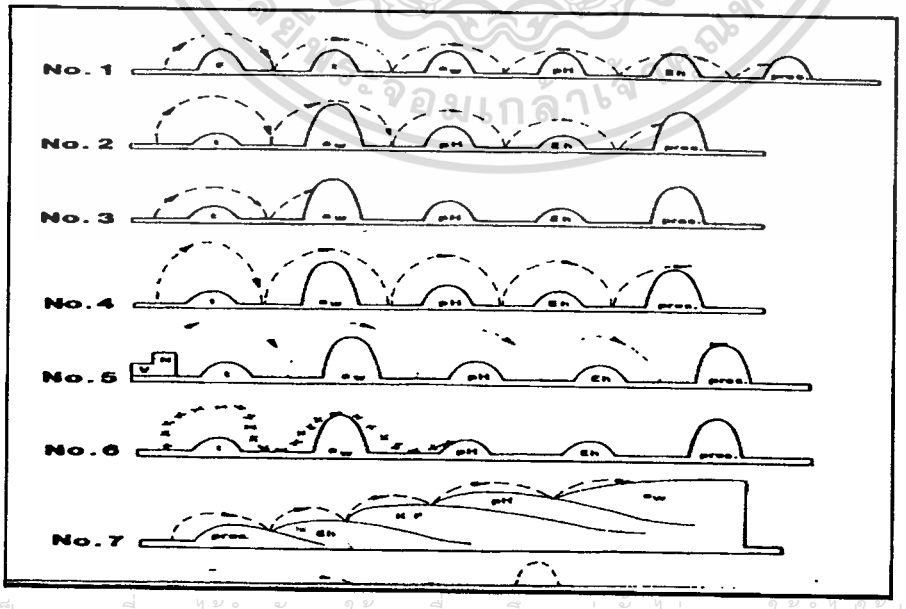
บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

1. เฮอร์เดิ้ลเทคโนโลยี

เฮอร์เดิ้ลเทคโนโลยี (Hurdle technology) เป็นเทคโนโลยีที่ได้รับการพัฒนามาจากผลกระทบของเฮอร์เดิ้ล (Hurdle Effect) โดยมันเป็นการผสมผสานปัจจัยที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ ซึ่งตัวอย่างปัจจัยดังกล่าว เช่นอุณหภูมิ ค่าความเป็นกรดด่าง ความชื้นกัมมันต์ (Water activity) รีดอกซ์โพเทนเชียล (Redox potential) เป็นต้น (Leistner, 1995) จากความรู้ดังกล่าวทำให้เฮอร์เดิ้ลเทคโนโลยีเกิดขึ้นซึ่งเป็นการปรับปรุงความปลอดภัยและคุณภาพของอาหารโดยใช้ปัจจัยต่างที่เหมาะสม การใช้เฮอร์เดิ้ลเทคโนโลยีเป็นการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์มากกว่าการทำลายจุลินทรีย์โดยควบคุมการเจริญจุลินทรีย์ให้อยู่ในระดับต่ำจนไม่สามารถทำให้อาหารเน่าเสียได้

พบว่ามีความสำเร็จเป็นอย่างดีเมื่อมีการใช้ปัจจัยที่เหมาะสม และปลอดภัยทั้งต่อรสชาด สารอาหาร และคุณสมบัติในแง่การค้า สำหรับความคงตัว ความปลอดภัยของอาหารจะมีปัจจัยที่แน่นอนในแต่ละชนิดอาหาร ซึ่งแตกต่างกันตามคุณภาพส่วนประกอบของแหล่งอาหารเป็นสำคัญ อย่างไรก็ตามในทุกกรณีของเฮอร์เดิ้ลเทคโนโลยีจะต้องทำให้เชื้อจุลินทรีย์มีปริมาณต่ำกว่าระดับควบคุม และไม่สามารถเจริญได้เมื่อใช้เฮอร์เดิ้ลเทคโนโลยีมิฉะนั้นอาหารจะเน่าเสีย



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 1 แสดงหลักของเฮอร์เดิ้ลเทคโนโลยี (Leistner, 1995)

ปัจจัย 6 ปัจจัยคืออุณหภูมิเมื่อเริ่มการผลิต อุณหภูมิต่ำในการเก็บรักษา ความชื้น กัมมันต์ ระดับค่าความเป็นกรดด่าง รีดอกซ์โพเทนเชียล สารป้องกันการเน่าเสีย ทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถกระโดดข้ามไปได้และทำให้อาหารปลอดภัย โดยรูปที่หมายเลข 1. เป็นตัวอย่างตามทฤษฎีเพราะทุกปัจจัยมีผลต่อจุลินทรีย์เท่ากันซึ่งเกิดขึ้นได้ยาก หมายเลข 2. เป็นเหตุการณ์ที่เกิดขึ้นได้โดยปัจจัยแต่ละปัจจัยมีผลต่อจุลินทรีย์ไม่เท่ากันโดยให้ความชื้นกัมมันต์และสารกันการเน่าเสียเป็นปัจจัยหลักที่มีผลกระทบ พบว่าเพียง 5 ปัจจัยก็มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร หมายเลข 3. อาหารมีการปนเปื้อนน้อย การใช้ปัจจัยเพียงเล็กน้อยก็สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ หมายเลข 4. ตรงข้ามกับหมายเลข 3. การใช้เฮอร์เดิ้ลเทคโนโลยีก็ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ถ้าปริมาณเชื้อเริ่มต้นมีปริมาณมากหมายเลข 5. ถ้าในอาหารมีปริมาณสารอาหารและวิตามินที่ช่วยในการเจริญเติบโตของพวกจุลินทรีย์ (Trampoline effect) ก็ทำให้การป้องกันไม่ประสบผลสำเร็จ หมายเลข 6. ถ้าพวกจุลินทรีย์ได้รับความเสียหายเพียงเล็กน้อยเช่นสปอร์ของแบคทีเรียที่อยู่ในอาหารที่ถูกทำลายเพียงเล็กน้อยโดยความร้อนต่ำเมื่อเจริญเป็นเซลล์ตจะไม่สามารถเจริญเติบโต ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้นจึงสามารถยับยั้งโดยใช้ปัจจัยเพียง 2-3 ปัจจัย หมายเลข 7. ในอาหารหมัก (Fermented food) ซึ่งต้องการจุลินทรีย์บางชนิดในช่วงต้นของกระบวน การผลิตจึงมีการใช้วัตถุกันเสียยับยั้งจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการและควบคุมปริมาณจุลินทรีย์ในขั้นตอนสุดท้ายโดยใช้ความชื้นกัมมันต์ จากประโยชน์ดังกล่าวเฮอร์เดิ้ลเทคโนโลยี จึงถูกนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารประเภทต่างๆ เช่นผลิตภัณฑ์เนื้อ ผลิตภัณฑ์นม ผลิตภัณฑ์เกี่ยวกับผลไม้

2. ความสัมพันธ์ระหว่างเนื้อและแบคทีเรียที่ทำให้เนื้อเสีย

จากการสังเกตลักษณะทางกายภาพและเคมีของเนื้อสดแช่เย็นที่นายเจย์ (Jay, 1972) สรุปได้ว่า การเสียของเนื้อสดแช่เย็นเพิ่มขึ้นเมื่อความสามารถไฮเดรชั่นของโปรตีนในกล้ามเนื้อเพิ่มขึ้น และจำนวนแบคทีเรียเริ่มต้นในผิวหน้าเนื้อประมาณ 10 มิลลิกรัมต่อตารางเซนติเมตรเพิ่มเป็น 100 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตรเท่านั้นเมื่อเสีย เนื่องจากมวลแบคทีเรียน้อยจึงมีปฏิกิริยาเคมีที่เกี่ยวข้องกับเนื้อต่ำ ส่วนการเสียที่เกี่ยวข้องกับลักษณะทางกายภาพและเมตาบอลิสม (Matabolism) ของแบคทีเรียนั้นคือองค์ประกอบของเนื้อสัตว์ที่เป็นสับสเตรท (Substrate) ที่ใช้ในการเจริญของแบคทีเรีย และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ผลกระทบจากการกระทำของแบคทีเรียซึ่งที่ชี้ได้ว่าการเสียที่เกิดขึ้นเป็นแบบใดและเกิดขึ้นช่วงใด

2.1 ลักษณะของเนื้อ

ลักษณะของเนื้อที่แบคทีเรียสามารถเจริญได้มีลักษณะแตกต่างกันไปตามกล้ามเนื้อส่วนต่างๆ ในสัตว์ที่มีชีวิต หลังจากสัตว์ตายกล้ามเนื้อมีการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ คือเกิดการแข็งตัว (Rigor) จากกล้ามเนื้อที่ยืดหยุ่นและแข็งแรงระหว่างมีชีวิตก็เปลี่ยนเป็นไม่ยืดหยุ่นและแข็ง ส่วนประกอบหลักของกล้ามเนื้อประกอบด้วยน้ำประมาณ 75% โปรตีนประมาณ 18% และไขมันประมาณ 3% ซึ่งส่วนประกอบหลักนี้ไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อเกิดการแข็งตัว แต่องค์ประกอบที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ และละลายน้ำไม่ได้ต่างหากที่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมากระหว่างการแข็งตัวของกล้ามเนื้อ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงที่เห็นได้ชัดคือการใช้ อะดีโนซีนไตรฟอสเฟต , เอทีพี (Adenosine triphosphate , ATP) และครีเอตีนฟอสเฟต, ซีพี (Creatine phosphate, CP) และการย่อยสลายไกลโคเจนเป็นกรดแลคติกซึ่งทำให้ค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ในกล้ามเนื้อลดลง

การแข็งตัวของกล้ามเนื้อเป็นลักษณะพิเศษเมื่อมีการใช้เอทีพี กล้ามเนื้อที่มีชีวิตมีโครงสร้างของครอสบริดจิง (Cross-brindging) ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างโมเลกุลทำให้กล้ามเนื้อมีการเคลื่อนไหวที่เป็นผลมาจากการทำงานของเอทีพีเอส (ATPase) ของแอกติโนไมโอซินคอมเพลค (Actinomyosin complex) ดังนั้นเอทีพีจึงเป็นส่วนประกอบในการเปลี่ยนแปลงครอสลิงเกจ (Cross-linking) ในกล้ามเนื้อที่ไม่มีเอทีพีแล้วกล้ามเนื้อจะแข็งตัวเพราะครอสบริดจิงไม่สามารถเปลี่ยนแปลงรูปร่างโมเลกุลได้ (Huxley, 1972)

เมื่อกล้ามเนื้อยังมีชีวิตก็สามารถรักษาระดับความเข้มข้นเอทีพีให้สูงในขณะที่พักผ่อนโดยการออกซิเดชั่นในสภาวะที่มีออกซิเจนจากกระบวนการไกลโคไลซิส (Glycolysis) วงจรกรดไตรคาร์บอกซิลิก (TCA) และกระบวนการขนส่งอิเลคตรอน (ETS) เมื่อระบบเลือดหยุดไหลเวียนหลังจากการฆ่าสัตว์แล้วกล้ามเนื้อเริ่มไม่มีออกซิเจนและการออกซิเชั่นเมตาบอลิสม (Oxidative metabolism) ก็หยุด แต่การรักษาระดับความเข้มข้นเอทีพีเพื่อให้เอทีพีเอสทำงานอย่างต่อเนื่องจึงต้องมีการย่อยสลายซีพีและไกลโคเจนที่มีในกล้ามเนื้อ กลไกของเอนไซม์ครีเอตีนไคเนส (Creatine kinase) ทำการย้ายหมู่ฟอสเฟตจากซีพีไปยังอะดีโนซีนไดฟอสเฟต, เอดีพี (Adenosinediphosphate, ADP) ทำให้ได้เอทีพี ส่วนกลไกการย่อยสลายไกลโคเจนเป็นกรดแลคติก (Lactic acid)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ด้วยวิถีไกลโคไลซิสนั้นทำให้เกิดสับสเตรทเลฟเวลฟอสฟอลิเลชั่น (Substrate level phosphorylation) ต่อเอดีพีทำให้เกิดเอทีพีเช่นกัน กลไกเหล่านี้ทำให้เอทีพีเพิ่มขึ้นในขณะที่ซีพีและไกลโคเจนลดลง ถ้าซีพีลดลงถึงจุดวิกฤต (4 ไมโครโมลต่อกรัม) ความเข้มข้นของเอทีพี ก็เริ่มลดลงในกระบวนการที่สังเคราะห์เอทีพีใหม่ ส่วนเอดีพีที่สะสมเพิ่มขึ้นก็จะแตกตัวเป็นอะดีโนซีนโมโนฟอสเฟต, เอเอ็มพี (Adenosinemonophosphate, AMP) แล้วก็ถูกเปลี่ยนเป็นแอมโมเนีย (Amonia) และอิโนซีนโมโนฟอสเฟต, ไอเอ็มพี (Inosinemonophosphate) เอเอ็มพีเป็นโคแฟคเตอร์ของเอนไซม์ฟอสโฟลิเลส (Phosphorylase) และฟอสโฟฟรุคโตไคเนส (Phosphofrutokinase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ชี้อัตราของไกลโคไลซิส การสูญเสียเอเอ็มพีจึงเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้กระบวนการไกลโคไลซิสหยุดก่อนที่ไกลโคเจนในกล้ามเนื้อหมด กรดแลคติกที่สะสมเกิดจากวิถีไกลโคเจนทำให้ค่าความเป็นกรดด่างในกล้ามเนื้อลดลง ซึ่งเมื่อมีไกลโคเจนจำนวนมากจึงทำให้ค่าความเป็นกรดด่างสุดท้ายลดลงถึง 5.5

ค่าความเป็นกรดด่างที่ลดลงทำให้โปรตีนบางชนิดเสียสภาพ (Denature) และโปรตีนบางชนิดแตกตัวเพราะเอนไซม์โปรติเอส (protease) จากไลโซไซม์ (lysosome) โปรตีนนั้นคือแคปธีซิส (cathepsis) ระยะเวลาของกระบวนการการแข็งตัวขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและกระบวนการการแข็งตัว

ลำดับปริมาณของสิ่งที่เปลี่ยนแปลงระหว่างกระบวนการแข็งตัว (Onset of rigor) (Chrystall&Devine, 1978) ได้แสดงในตารางที่ 1 มีความหลากหลายของส่วนประกอบสุดท้ายในในความแตกต่างของกล้ามเนื้อของสัตว์ และชนิดของสัตว์ โดยเฉพาะการแตกตัวของไกลโคเจนตัวอย่างเช่นความเข้มข้นกลูโคสจะแตกต่างในแต่ละชนิดของสัตว์ดังนี้ เนื้อวัว 100 ไมโครกรัมต่อกรัม เนื้อแกะ 400 ไมโครกรัมต่อกรัม เนื้อหมู 800 ไมโครกรัมต่อกรัม ค่าความเป็นกรดด่างในขาไก่สูงกว่าอกไก่ ค่าความเป็นกรดด่างและความเข้มข้นของกรดแลคติกสำหรับกล้ามเนื้อไก่ต่างกันดังนี้ ที่ขามีค่าความเป็นกรดด่าง 6.5 และปริมาณกรดแลคติก 5.0 มิลลิกรัมต่อกรัม ที่อกมีค่าความเป็นกรดด่าง 5.7 และปริมาณกรดแลคติก 10.8 มิลลิกรัมต่อกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 แสดงปริมาณสารน้ำหนักโมเลกุลต่ำที่เป็นส่วนประกอบของเนื้อสัตว์ก่อนและหลังการแข็งตัวของกล้ามเนื้อ

Substance	Concentation (mg/g)	
	Pre-rigor	Post-rigor
Creatine phosphate	3.0	-
Creatine	4.5	6.5
Adenosine triphosphate	3.0	-
Inosine monophosphate	0.2	3.0
Glycogen	10.0	1.0
Glucose	0.5	0.1
Glucose 6 phosphate	1.0	0.2
Lactic acid	1.0	9.0
Amino acids	2.0	3.5
Dipeptides (Carnosine,Anserine)	3.0	3.3
PH	7.2	5.5

นอกจากชนิดของความแตกต่างนี้ยังมีอีกสภาวะที่สามารถเกิดขึ้นในเนื้อสัตว์จากลักษณะเฉพาะของเนื้อสัตว์คือ

- ดีเอฟดี (ดีเอฟดี)
- พีเอสอี (พีเอสอี)

ดีเอฟดี คือเนื้อที่มีลักษณะสีเข้ม (Dark) เนื้อแข็ง (Firm) และแห้ง (Dry) สามารถเกิดกับสัตว์ทุกชนิดและเสียได้เร็วกว่าเนื้อปกติ พบในสัตว์ที่เครียดเกินไปหรือออกแรงมากเกินไป เนื้อของสัตว์ที่ได้นี้มีการใช้ไกลโคเจนในกล้ามเนื้อมากไปก่อนตาย ทำให้เกิดกรดแลคติกไม่เพียงพอระหว่างกระบวนการแข็งตัวของกล้ามเนื้อที่จะลดค่าความเป็นกรดด่างลงให้เท่ากับเนื้อปกติคือ 5.5 (Scheper, 1976) นอกจากขาดกรดแลคติกแล้วยังขาดกลูโคสด้วย ความเข้มข้นกลูโคสลดลงเมื่อค่าความเป็นกรดด่างเพิ่มขึ้น แต่ก็ยังมีความแตกต่างของความเข้มข้นกลูโคสในกล้ามเนื้อแต่ละชนิด ที่ค่าความเป็นกรดด่างเดียวกัน (Newton&Gill, 1978) ตัวอย่างเช่นเนื้อวัวจะไม่มีกลูโคสเมื่อค่าความเป็นกรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ด่างสูงกว่า 6.4 แต่ที่กล้ามเนื้ออื่นๆ ของวัวไม่มีกลูโคสที่ค่าความเป็นกรดด่าง 6.0 สภาวะดีเอฟดีเป็นสภาวะที่ปกติของเนื้อที่ขาไก่

เนื้อดีเอฟดีมีความสามารถในการอุ้มน้ำสูงขึ้น (WHC) ซึ่งเป็นข้อดีสำหรับบางโรงงาน และ ค่าความเป็นกรดด่าง 6.4 หรือสูงกว่าก็เป็นที่ต้องการบางกระบวนการ การเก็บเนื้อสดแช่เย็น การไม่มีกลูโคสหรือ ค่าความเป็นกรดด่าง สูง เป็นปัจจัยสำคัญที่สุดที่ชี้ว่ามันเริ่มเสีย, และไม่มี glucose ที่ ค่าความเป็นกรดด่าง 6.0 การเจริญของจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุ เช่นอัลเทอร์โมแนสพิวตริฟาเซียน (*Alteromonas putrefaciens*) เอนเทอร์โรแบคเตอร์ลิควิฟาเซียน (*Enterobacter liquefaciens*) ซึ่งมีบทบาทอย่างมีนัยสำคัญในการทำให้เนื้อดีเอฟดี ที่เก็บไว้ในถุงสุญญากาศเสียนั้น ถูกยับยั้งที่ค่าความเป็นกรดด่างต่ำกว่า 6.0 ถ้าเช่นนั้นไม่ว่าการเก็บรักษาเนื้อแบบใดก็ตามถ้าเนื้อมีค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับหรือมากกว่า 6.0 จะเสียได้รวดเร็วกว่าเนื้อที่มีค่าความเป็นกรดด่างต่ำกว่า

พีเอสอี คือเนื้อสีซีด (Pale) ลักษณะนิ่ม (Soft) และมีน้ำซึม (Exudative) จะพบในเนื้อหมูและในเนื้อวัวแต่ในจำนวนที่น้อยกว่า สาเหตุเกิดจากพันธุกรรม เช่นสายพันธุ์หมูที่ให้เนื้อในลักษณะนี้ซึ่งเกิดจากการเร่งไกลโคไลซิส ขณะที่อุณหภูมิกล้ามเนื้อยังสูงทำให้โปรตีนในกล้ามเนื้อเสียสภาพ แม้ว่าค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.1 หรือต่ำกว่าแต่ก็ยังมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเล็กน้อยของค่าความเป็นกรดด่างหรือลักษณะเคมีในเนื้อพีเอสอีกับเนื้อปกติ การเสียของเนื้อพีเอสอีก็มีลักษณะเหมือนกับเนื้อปกติ

2.2 แหล่งปนเปื้อนของแบคทีเรีย

แบคทีเรียมักเจริญบนผิวหน้าเนื้อ แต่ก็เป็นไปได้ที่มันจะเจริญอยู่ข้างในเนื้อ มีหลายกลไกบ่งถึงการเจริญของแบคทีเรียลึกลงไปในซากเนื้อ

- ในเนื้อเยื่อที่แข็งแรงของสัตว์อาจมีแบคทีเรียอยู่บาง ถ้ามันยังคงเติบโตและแทรกลงไปในเนื้อเยื่อ มันจะถูกกำจัดโดยระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์เอง
- แบคทีเรียจากลำไส้อาจแพร่กระจายในเนื้อเยื่อของซากสัตว์ระหว่างการฆ่า (agonal ivasion)หรือหลังจากตายแล้ว (post-mortem invasion)
- แบคทีเรียอาจเข้าสู่เนื้อเยื่อตามบาดแผลก่อนหรือระหว่างการฆ่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- แบคทีเรียที่ปนเปื้อนมากับผิวหน้าของซาก ซึ่งสามารถแทรกเข้าสู่เนื้อเยื่อกล้ามเนื้อที่ลึกลงไปได้

การแพร่กระจายของแบคทีเรียจากลำไส้ระหว่างการฆ่าจะไม่เกิดขึ้นในสัตว์และคน ส่วนการแพร่กระจายของแบคทีเรียจากลำไส้หลังการฆ่าเกิดขึ้นหลังจากตายไปแล้วหลายชั่วโมง กลไกที่ชัดเจนที่สุดคือแบคทีเรียเข้าสู่เนื้อเยื่อทางบาดแผล อย่างไรก็ดีการปนเปื้อนแบคทีเรียระหว่างการฆ่านั้นมีจริง หลังช่วงทำให้สลบนั้นแบคทีเรียถูกนำเข้าสู่กระแสเลือดจากเครื่องมือที่ใช้ฆ่า ซึ่งแบคทีเรียแพร่กระจายไปทั่วเนื้อเยื่อของซากโดยอาศัยการไหลเวียนของเลือด แต่แบคทีเรียจำนวนเล็กน้อยนี้ถูกกำจัดโดยภูมิคุ้มกันที่เหลืออยู่หลังจากการตาย แบคทีเรียที่ปนเปื้อนได้ต้องมีเซลล์เริ่มต้นอย่างน้อยหลายร้อยเซลล์ต่อกรัม ถ้ากำจัดไม่หมดหลังจากที่สัตว์ตายไปแล้ว 1 ชั่วโมง แบคทีเรียที่รอดนั้นจะเจริญต่อไป แต่แบคทีเรียพวกซาโมเนลลา (*Salmonella* sp.) และครอสตริเดียมเพอร์ฟริงเจน (*Clostridium perfringen*) นั้นจะรอดและเจริญเติบโตต่อได้แม้ว่าจะมีเซลล์เริ่มต้นเพียง 20 เซลล์/กรัม (Gill&Penney, 1979)

มีข้อขัดแย้งเกี่ยวกับความสามารถเจาะลงในเนื้อเยื่อของแบคทีเรีย ฝ่ายหนึ่งกล่าวว่าแบคทีเรียเจาะได้จำกัดเพียง 2 มิลลิเมตรต่ำจากผิวหน้าเนื้อสัตว์ และพร้อมที่จะแทรกซึมเข้าเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อในอัตราที่มีหน่วยเป็นเซนติเมตรต่อชั่วโมง แต่จริงๆ แล้วแบคทีเรียถูกจำกัดไว้ที่ผิวหน้าของเนื้อสัตว์เท่านั้น เนื้อเยื่อภายในนั้นปลอดเชื้อ ดังนั้นการเสียจึงเกิดเฉพาะผิวหน้าและเนื้อสดมีลักษณะการเสียคล้ายกันไม่ว่าจะที่อุณหภูมิใด

2.3 การยึดเกาะผิวเนื้อของแบคทีเรีย

การดูดซึมของแบคทีเรียมี 2 ช่วง ช่วงแรกเป็นการดูดซึมของแบคทีเรียที่ยึดติด (Reversible adsorption) และเกาะอ่อนๆ ใกล้กับผิวหน้าเนื้อมีการเคลื่อนที่แบบบราว์นเนียน (Brownian) และสามารถล้างแบคทีเรียออกได้ ช่วงที่ 2 เกิดขึ้นในเวลาต่อมาแบคทีเรียเกาะกับผิวหน้าเนื้อแน่นขึ้น (Irreversible absorption) ไม่มีการเคลื่อนที่แบบบราว์นเนียนและไม่สามารถล้างออกได้ จำนวนแบคทีเรียที่เกาะบนผิวเนื้อนั้นแตกต่างกันตามลักษณะของผิวหน้าเชื้อ ชนิดของแบคทีเรียและความหนาแน่นของแบคทีเรีย

2.4 การเจริญของแบคทีเรียบนเนื้อ

การเก็บเนื้อในอุณหภูมิแช่เย็น (-1 ถึง 5 องศาเซลเซียส) ในสภาวะที่มีอากาศนั้นเมื่อจำนวนแบคทีเรียเพิ่มขึ้นจนถึง 10^8 เซลล์ต่อตารางเซนติเมตร เนื้อเริ่มมีกลิ่นเสียและ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตรวจพบแอมโมเนีย ซึ่งแบคทีเรียเริ่มสร้างเมือกที่สังเกตเห็นได้ ต่อมาแบคทีเรียเพิ่มจำนวนเป็น 10^9 เซลล์ต่อตารางเซนติเมตร แล้วอัตราการเจริญของแบคทีเรียก็จะลดลง เมื่อความหนาแน่นแบคทีเรียเป็น 10^{10} เซลล์ต่อตารางเซนติเมตรซึ่งแบคทีเรียสร้างเมือกได้หนา 1-2 มิลลิเมตร ส่วนในสภาวะที่ไม่มีอากาศนั้นอัตราการเจริญลดลงครึ่งหนึ่งของการเจริญในสภาวะที่มีอากาศ ขณะอัตราการเจริญลดลงแบคทีเรียมีประมาณ 10^8 เซลล์ต่อตารางเซนติเมตร ในระหว่างที่แบคทีเรียเจริญนั้นไม่พบลักษณะของการเสียเกิดขึ้น สายพันธุ์ที่เป็นปัญหาต่อการเสียในอุณหภูมิแช่เย็นคือพวกสูโดโมแนส (*Pseudomonas* sp.) พวกโมราเซลลา (*Moraxella* sp.) พวกอะซินิโตแบคเตอร์ (*Acinetobacter* sp.) พวกแลคโตบาซิลลัส (*Lactobacillus* sp.) โบรโคทริคซ์เทอร์โมแฟคตา (*Brochothrix theromophacta*) และพวกตระกูลเอนเทอร์โรแบคทีเรียซิอี (ตระกูลเอนเทอร์โรแบคทีเรียซิอี) ซึ่งแบคทีเรียดังกล่าวเหล่านี้พบเป็นประจำที่สุด การตรวจสอบลำดับการใช้สับสเตรทในเนื้อสัตว์ที่แบคทีเรียใช้ในการเจริญนั้นทำโดยทดสอบการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ต่างๆ ในอาหารเหลวที่มีเนื้อสดบดผสมกับฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (phosphate buffer) ซึ่งต้องนำสารอาหารที่ไม่ละลายน้ำและโปรตีนที่ตกตะกอนออกไปก่อน โดยการให้ความร้อนแก่อาหารเป็นเวลาสั้นๆ แล้ววิเคราะห์ลำดับการใช้สารละลายน้ำชนิดใดในเนื้อสัตว์ที่แบคทีเรียใช้ในการเจริญบนเนื้อสัตว์ ได้ผลดังตารางที่ 2

แบคทีเรียส่วนใหญ่ที่ทดสอบใช้กลูโคสเป็นสับสเตรทลำดับแรกทั้งในสภาวะที่อากาศและไม่มีอากาศ ยกเว้นพวกอะซินิโตแบคเตอร์ซึ่งเป็นพวกต้องใช้อากาศในการเจริญอย่างมาก (Strictly aerobic) เพราะมันไม่สามารถย่อยน้ำตาล 6 โมเลกุลได้ ในสภาวะที่มีอากาศแบคทีเรียส่วนใหญ่ใช้กรดอะมิโนเป็นอันดับต่อมา แต่พวกเอนเทอร์โรแบคเตอร์ใช้กลูโคส-6-ฟอสเฟต (glucose-6-phosphate) ก่อนแล้วจึงใช้กรดอะมิโนเป็นลำดับต่อมา ในเกือบทุกสายพันธุ์แบคทีเรียใช้กรดแลคติกเป็นสับสเตรทลำดับสุดท้าย อย่างไรก็ตามอัตราการเจริญของแบคทีเรียไม่ว่าจะใช้สับสเตรทลำดับที่หนึ่งหรือสองจะลดลงเมื่อสับสเตรทต่อๆ มาถูกใช้ ลำดับการใช้สับสเตรทในสภาวะไม่มีอากาศเป็นแบบเจาะจงมากคือหลังจากใช้กลูโคสแล้วสับสเตรทอื่นจะถูกใช้ก่อนที่การเจริญจะหยุดเนื่องจากขาดสับสเตรทที่ใช้ในการหมักได้ (Gill&Newton, 1978)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 แสดงลำดับการใช้สับสเตรทของแบคทีเรียทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีอากาศ (Gill, 1976)

Substrate	*Aerobic*					*Anaerobic*		
	Non-fluorescent Pseudomonas	*Fluorescent Pseudomonas*	*Entero-bacter*	*Acineto-bacter*	*Micro-bacterium thermo-sphactum*	*Lacto-bacillus*	*Entero-bacter*	*Micro-bacterium thermo-sphactum*
Glucose	1	1	1	—	1	1	1	1
Glucose-6-phosphate	—	—	2	—	—	—	2	—
Amino acids	2	2	3	1	glutamate only	arginine only	—	—
Lactate	3	3	4	2	—	—	—	—

แบคทีเรียหลักของการเน่าเสียคือแบคทีเรียสายพันธุ์ทั่วไปที่พบและเจริญอย่างรวดเร็วภายใต้สภาวะที่เนื้อสัตว์ขณะนั้น ตัวอย่างเช่น ที่อุณหภูมิแช่เย็นพวกสูโดโมแนสเจริญได้ดีกว่าคู่แข่งในสภาวะที่มีอากาศ ส่วนสภาวะที่ไม่มีอากาศนั้นพวกแลคโตบาซิลลัสเจริญได้ดีกว่า แต่อย่างไรก็ตามแบคทีเรียเริ่มแรกบนเนื้อสัตว์ได้จากหนังสัตว์ ซึ่งเป็นพวกมีโซฟลายส์ (Mesophiles) ภายใต้สภาวะมีอากาศพวกสูโดโมแนสชอบอุณหภูมิต่ำซึ่งเป็นสายพันธุ์หลักของการเน่าเสีย ในการเก็บที่อุณหภูมิน้อยกว่าหรือเท่ากับ 20 องศาเซลเซียส แต่ที่อุณหภูมิสูงกว่าสายพันธุ์พวกมีโซฟลายส์ เช่น พวกอะซินิโตแบคเตอร์และตระกูลเอนเทอร์โรแบคทีเรียซีอีจะเจริญเติบโตแทน ส่วนในสภาวะไม่มีอากาศแลคโตบาซิลไล (Lactobacilli) ที่ชอบอุณหภูมิต่ำจะถูกแทนที่ด้วยตระกูลเอนเทอร์โรแบคทีเรียซีอี (ที่ชอบอุณหภูมิต่ำ) ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส แต่ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พวกแบคทีเรียหลักเป็นพวกครอสตริเดีย (clostridia) ที่เป็นพวกมีโซฟายล์ การเจริญเติบโตของพวกแบคทีเรียหลักเป็นแบบกะ คือเมื่อถึงช่วงที่คงที่ (Stationary phase) แล้วจำนวนของแบคทีเรียลดลงเนื่องจากมีการตายและการแตกของเซลล์ แต่การเจริญของแบคทีเรียบนเนื้อนั้นแตกต่างออกไป เพราะเนื้อสัตว์นั้นเป็นอาหารที่สารอาหารข้างในซึมออกมาสู่ผิวหน้าอย่างต่อเนื่อง และการเจริญในสภาวะมีอากาศและไม่มีอากาศก็มีลักษณะต่างๆ กันดังหัวข้อต่อไปนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.1. การเสียในสภาวะมีอากาศ

การเสียลักษณะนี้เริ่มเมื่อแบคทีเรียเจริญอยู่ในช่วงเพิ่มจำนวน (log phase) ก่อนมีการย่อยโมเลกุลที่ซับซ้อนในเนื้อ ดังนั้นปัจจัยวิกฤตคือจำนวนกลูโคสต่อแบคทีเรียเนื่องจากสายพันธุ์ที่ทำให้เนื้อเสียส่วนใหญ่ (พวกสูโดโมแนส) ต้องใช้กลูโคสในการเจริญเป็นสิ่งแรก แต่กลูโคสในเนื้อมีความเข้มข้นต่ำ เมื่อแบคทีเรียเจริญบนผิวหน้าเนื้อ กลูโคสก็แพร่กระจายออกมาจากก้อนเนื้อ เพราะความเข้มข้นกลูโคสที่ผิวหน้าลดลงเพราะถูกแบคทีเรียนำไปใช้ การเสียของเนื้อในสภาวะมีอากาศนั้นเราวัดได้จากความเข้มข้นกลูโคสในเนื้อและการเสียเกิดขึ้นเมื่อมีกลูโคสไม่เพียงพอต่อความต้องการของแบคทีเรีย จึงมีการย่อยสลายกรดอะมิโนทำให้เกิดแอมโมเนียและการเสียเกิดขึ้น

ส่วนการเสียเนื่องจากแบคทีเรียสายพันธุ์อื่นก็เหมือนกับพวกสูโดโมแนสแต่จะแตกกันในเรื่องการใช้สับสเตรทดังกล่าวไปในตอนต้น ตัวอย่างเช่น เอนเทอร์โรแบคทีเรียใช้กลูโคส-6-ฟอสเฟตเป็นลำดับต่อจากกลูโคสแล้วจึงใช้กรดอะมิโน ส่วนอะซินิโตแบคเตอร์ใช้กรดอะมิโนเลยเพราะใช้น้ำตาล 6 โมเลกุลไม่ได้ แต่ว่ามันไม่ผลิตกลิ่นเสียที่แรงนักและถูกยับยั้งด้วยค่าความเป็นกรดด่างต่ำกว่า 6.0 ดังนั้นจึงพบการเสียลักษณะนี้เล็กน้อยเท่านั้น ในเนื้อดีเอฟดีเสียง่ายกว่าเนื้อปกติเพราะเนื้อดีเอฟดีมีกลูโคสน้อยหรือแทบไม่มี แบคทีเรียจึงต้องย่อยสลายกรดอะมิโนทันทีจึงทำให้เกิดการเสียเร็วกว่าเนื้อปกตินั่นเอง อย่างไรก็ตามการเติมกลูโคสช่วยยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อดีเอฟดีได้ และการเสียจะไม่เกิดขึ้นจนกว่ามีเซลแบคทีเรียถึง 10^8 เซลล์ต่อตารางเซนติเมตร

2.4.2. การเสียแบบไม่มีอากาศ

เนื้อแช่เย็นสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้โดยบรรจุในถุงสุญญากาศ ซึ่งเป็นแผ่น พลาสติกที่มีสามารถให้ออกซิเจนผ่านได้ต่ำภายใต้สภาวะนี้ ออกซิเจนที่ดูดซึมในก้อนเนื้อจะปล่อยออกมาในรูปคาร์บอนไดออกไซด์ แต่สภาวะนี้เป็นสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนอย่างสมบูรณ์เพราะออกซิเจนผ่านทะลุแผ่นพลาสติกได้และทำให้พวกชอบออกซิเจน เช่นพวกสูโดโมแนสเจริญได้แต่ใจอัตราเร็วที่ต่ำลง อย่างไรก็ตามออกซิเจนที่ผ่านแผ่นพลาสติกนี้ต่ำมาก และในอัตราที่ช้าเกินกว่าที่ทำให้พวกที่เป็นสาเหตุการเสียแบบที่ใช้อากาศเจริญเติบโตได้อย่างมีนัยสำคัญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แม้ว่าคาร์บอนไดออกไซด์จะยับยั้งการเจริญของ พวกสูโดโมแนสก็ตามแต่มีบทบาทเพียงเล็กน้อยเท่านั้นภายในถุงสุญญากาศ

แบคทีเรียหลักภายในถุงสุญญากาศเป็นพวกแลคโตบาซิลลัส ภายใต้สภาวะไม่มีอากาศพวกแบคทีเรียเหล่านี้มีอัตราการเจริญดีกว่าพวกสายพันธุ์แฟคคัลเททีฟแอนแอโรบ (facultative anaerobes) เช่นเอนเทอร์โรแบคเตอร์และโบรโคทริคซ์เทอร์โมแฟคตา นอกจากนี้แลคโตบาซิลลัสยังสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียอื่นเนื่องจากสับสเตรทที่มีอยู่อย่างจำกัด และลำดับการยับยั้งสายพันธุ์อื่นระหว่างการเจริญแบบไม่มีอากาศในเนื้อได้ แม้ว่าแลคโตบาซิลลัสสามารถสร้างกรดแลคติกและสารต่อต้านจุลินทรีย์ แต่กรดแลคติกที่สร้างขึ้นมีน้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณ กรดแลคติกที่มีอยู่ในเนื้อสัตว์แล้ว ส่วนสารต่อต้านจุลินทรีย์ไม่สร้างขึ้นในสภาวะที่ไม่มีอากาศ อย่างไรก็ตามเชื่อว่าการยับยั้งสายพันธุ์อื่นได้ของแลคโตบาซิลลัสเกี่ยวข้องกับ สารต่อต้านจุลินทรีย์ แต่ยากในการกระตุ้นการสังเคราะห์สารนี้ในอาหารเหลว และธรรมชาติของสารนี้ยังคงไม่ทราบแน่ชัด

การเสียของเนื้อที่เก็บในสภาวะไม่มีอากาศเกิดขึ้นอย่างช้าๆ หลังจากความหนาแน่นสูงสุดของแบคทีเรียเกิดขึ้น การเก็บรักษาเนื้อในถุงสุญญากาศที่อุณหภูมิ –1 องศาเซลเซียส มีอายุการเก็บ 12-14 สัปดาห์ แต่ในระหว่างช่วงเวลานี้ก็เกิดกลิ่นนมเนยนั้นทำให้เนื้อไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค กลิ่นรสนี้เกิดจากการสร้างตัวของกรดไขมันเป็นสายสั้นๆ รวมถึงกรดอะซิติก โพรพิโอนิก และไอโซบิวทิริก นอกจากนี้ยังพบการสะสมสารเอมีน ในเนื้อที่อยู่ในถุงสุญญากาศเนื่องจากปฏิกิริยาของแบคทีเรียด้วย ซึ่งสารทั้งสองกลุ่มนี้ได้จากการแตกตัวของกรดอะมิโน

มีการใช้ถุงสุญญากาศเก็บเนื้อมากขึ้นเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อวัวตัดที่ไม่ได้แช่แข็ง แต่โชคร้ายที่เนื้อดีเอฟดีที่เก็บในลักษณะนี้เสียอย่างรวดเร็วด้วยสีเขียวที่เกิดขึ้นนี้เนื่องจากไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) รวมกับเม็ดสีในกล้ามเนื้อ จึงได้สีเขียวของซัลไมโอโกลบิน (sulphmyoglobin) ไฮโดรเจนซัลไฟด์และแอมโมเนียเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของซีสเทอิน (cysteine) ไปเป็นไพรูเวท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(pyruvate) โดยเอนไซม์ซิสเทอินดีซัลไฮเดรต (cysteine desulphydrase) ของแบคทีเรีย

$$HSCH_2CHNH_2COCH + H_2O \rightarrow H_2S + NH_3 + CH_3COCOOH$$

3. การแช่เย็น

ปัจจุบันการทำให้เย็นใช้กับเนื้อเยื่อให้มนุษย์บริโภค ซึ่งทำให้ได้ลักษณะเหมือนของสด ซึ่งแตกต่างจากวิธีดังเดิม เช่นการแช่น้ำเกลือ การรมควัน การตากแห้ง การบรรจุกระป๋อง และการปรุงให้สุก ผู้บริโภคไม่ชอบเนื้อสัตว์ที่ฆ่าสดๆ เพราะเนื้อเหนียวและไม่มีกลิ่นรส แต่เมื่อบ่มไว้ 2-3 วันจะมีกลิ่นและรสที่ต้องการ ดังนั้นจำเป็นต้องเว้นเวลาระหว่างการฆ่าและการบริโภค การเก็บรักษาไว้ได้นานจำเป็นเมื่อมีปัญหาทางเศรษฐกิจ เช่นการเปลี่ยนแปลงของตลาดและการขนส่งในระยะทางไกลๆ เทคนิคการทำให้เย็นจึงเหมาะสมในการเก็บรักษาเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่น่าพอใจ ด้วยคุณภาพสินค้าที่ดีและค่าใช้จ่ายไม่สูง

3.1 ประสิทธิภาพของการแช่เย็น

การปนเปื้อนของซากหลังการฆ่าเป็นการหลีกเลี่ยงไม่ได้ การปนเปื้อนจากภายในนั้นโดยปกติพบต่ำในสัตว์ที่สุขภาพดี ที่ถูกฆ่าใต้สภาวะที่เหมาะสม จำนวนแบคทีเรียอยู่ระหว่าง 0.1-0.01 เซลล์ต่อกรัม สาเหตุใหญ่ของการปนเปื้อนลักษณะนี้มาจากจุลินทรีย์ในไส้ที่แพร่กระจายไปทั่วกล้ามเนื้อโดยกระแสเลือด การปนเปื้อนที่ผิวหน้ามีความสำคัญกว่าจำนวนแบคทีเรียเฉลี่ย 10^3-10^4 เซลล์ต่อตารางเซนติเมตร แหล่งของการปนเปื้อนคือบริเวณโรงฆ่า ซึ่งเป็นที่ๆ สัมผัสกับโดย หนังระหว่างการห่อซาก โดยพื้นผิวที่ทำงานหรือเครื่องมือที่ใช้จับเนื้อระหว่างการตัดและการเลาะกระดูก เนื่องจากมีแหล่งกำเนิดของแบคทีเรียหลักอยู่ภายนอก การเข้มงวดต่อสุขอนามัยการจับต้องเป็นสิ่งที่สำคัญที่สุดขณะจัดการกับซาก

อย่างที่รู้กันดีว่าบางครั้งพบสูโดโมแนสในมูลสัตว์ แต่บ่อยครั้งพบในผิวน้ำ แหล่งกำเนิดของมันปนเปื้อนอยู่ในดินและผิวน้ำ และจึงจำเป็นต้องควบคุมการเจริญของมันอย่างไม่ต้องพิสูจน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความจริงแล้วการปนเปื้อนในระยะแรกระหว่างกระบวนการนั้นถูกจำกัดและไม่เกิดปัญหาในทันที ในทางกลับกันการเจริญของพวกปนเปื้อนนี้มีจำนวนมากสามารถทำให้เนื้อเสียหรือเป็นต่ออาหาร เหตุการณ์นี้เกิดขึ้นเมื่อการทำให้เย็นไม่เพียงพอหรือไม่ได้นำมาใช้

การเสียของซากเนื้อที่อุณหภูมิสูงกว่า 10 องศาเซลเซียสมี 2 แบบคือ

- การเสียของเนื้อที่อุณหภูมิสูง (25-40 องศาเซลเซียส) ซากวัวจะเสียภายใน ถ้าหลังการฆ่าไม่นำเนื้อสัตว์ไปแช่เย็นทันที พวกครอสตริเดีย ซึ่งทำให้เกิดการเสียภายในจะสามารถเจริญระยะแรกของการเน่าเสียจะสร้างก๊าซแต่ไม่มีกลิ่นเหม็น พวกครอสตริเดียเป็นแบคทีเรียพวกแรกที่เจริญเพราะพวกมันไม่ต้องการสภาวะที่ไม่มีอากาศอย่างสมบูรณ์ แต่มันสามารถทนต่อความเข้มข้นออกซิเจนต่ำได้ พวกนี้จะย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตในเนื้อ (กลูโคส ไรโบส ไกลโคเจน) และกรดอินทรีย์ (กรดแลคติก) (Ingram&Dainty, 1971) แล้วให้คาร์บอนไดออกไซด์ออกมาซึ่งทำให้กล้ามเนื้อมีรอยฉีก เนื้อนุ่มมีรูพรุน ขณะเดียวกันสีของเนื้อก็เปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีเทา เพราะเม็ดสีถูกออกซิไดซ์ เมื่อไม่มีการสร้างสปอร์ เนื้อจึงยังคงกินได้ถ้ามีการปรุงให้สุกอย่างเหมาะสม
- การเสียของเนื้อที่อุณหภูมิปานกลาง (10-25 องศาเซลเซียส) โดยปกติ ซากและส่วนอื่นๆ จะถูกเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องแทนที่จะแช่เย็น ยังคงดำเนินกันเช่นนี้ในโรงฆ่าสัตว์ 2-3 โรง การทำให้ซากเย็นลงอย่างช้าๆ ทำให้เกิดการเสียทั้งภายในและผิวหน้า ภายในเนื้อโบนเท็นต์ (bone-taint) เป็นปรากฏการณ์ซึ่งพบในกล้ามเนื้อส่วนด้านหลังของสัตว์ที่มีมันเช่นวัว หมู และแกะ ซากวัวมีขนาดใหญ่จึงไม่สามารถแช่เย็นได้ทันทีจึงมักเกิดโบนเท็นต์ กล้ามเนื้อภายนอกมีลักษณะปกติขณะเมื่อตัดก็มีกลิ่นเปรี้ยวออกมาจากข้อต่อสะโพก เนื้อเยื่อถัดจากหัวเข่ามีสีน้ำตาล ส่วนกรณีอื่นคือไขกระดูกเน่า การเน่าเหล่านี้เกิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของลิขสิทธิ์ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทำลายของแบคทีเรียและเนื้อเยื่อย่อยตัวเอง พบพวกครอสตริเดีย และบาซิลไลหลายชนิดในเนื้อเยื่อแต่มีจำนวนน้อยประมาณ 10^2-10^3 เซลล์ต่อกรัม (Ingram&Dainty, 1971) ถึงแม้ว่าซากหมูจะสามารถแช่เย็นได้เร็วเพราะตัวเล็กกว่า แต่มันก็ยังเสียซึ่งมีลักษณะคล้ายกับโบนเท็นต์ แบคทีเรียหลัก ที่ผิวหน้าที่อุณหภูมิระหว่าง 10-25 องศาเซลเซียส ส่วนใหญ่เป็นพวก เอนเทอร์โรแบคทีเรีย

3.2 การแช่เย็น

การแช่เย็นซากคือการทำให้อุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส อย่างรวดเร็ว และเก็บรักษาซากให้อุณหภูมิใกล้ 0 องศาเซลเซียส วิธีนี้ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่เจริญในอากาศน้อยและที่อุณหภูมิปานกลาง ซึ่งทำให้เกิดการเสียภายในและโบนเท็นต์และเชื้อโรคที่เป็นสาเหตุของโรคเกี่ยวกับอาหาร

การเจริญของพวกที่ต้องใช้อากาศและเชื้อโรคซึ่งรวมถึงพวกที่ชอบอากาศต่ำ แต่ไม่หยุดการเจริญ ซึ่งอธิบายว่าทำไมเนื้อสัตว์ไม่สามารถเก็บแช่เย็นได้นานถ้ามันไม่บรรจุในถุงสุญญากาศ

3.2.1 การยับยั้งการเสียภายใน

ในทางปฏิบัติ ซากควรแช่เย็นอุณหภูมิต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส ทันทีที่เป็นไปได้หลังการฆ่าเพื่อจำกัดการเจริญของแบคทีเรียแลบะากรเก็บโดยหยุดจำนวนของจุลินทรีย์ต่ำกว่า 10^7 เซลล์ต่อกรัมในระหว่างอายุการเก็บรักษาและหลีกเลี่ยงการเน่า (Ingram, 1972)

ระยะเวลาที่ทำให้อุณหภูมิลดลงครึ่งหนึ่ง (Half-cooling time) คือเวลาที่ใช้ในการลดอุณหภูมิซากเป็นครึ่งหนึ่ง ตัวอย่างเช่น อัตราการเจริญของครอสตริเดียมเพอร์ฟริงเจนลดลงเมื่ออุณหภูมิลด อุณหภูมิซากเริ่มต้น 40 องศาเซลเซียสซึ่งเก็บในห้องเย็น 0 องศาเซลเซียส การทำให้ซากมีอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียสต้องใช้เวลา 24 ชั่วโมง นั่นคือระยะเวลาที่ทำให้อุณหภูมิลดลงครึ่งหนึ่งเท่ากับ 24 ชั่วโมง แต่ค่านี้ไม่สามารถป้องกันการเน่าภายในได้ แต่เราสามารถแก้ไขโดยให้สัตว์ได้พักผ่อนและลดความเครียดก่อนฆ่า เพราะว่าการเปลี่ยนแปลงค่ารีดอกซ์โพเทนเชียล ภาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในซึ่งป้องกันการเจริญของครอสตริเดียมเพอร์ฟริงเจน หรืออีกนัยหนึ่งทำให้ช่วงเตรียมตัวเจริญ (lag phase) ไม่สิ้นสุดเมื่อค่ารีดอกซ์โพเทนเชียลสูงกว่า –50 มิลลิโวลท์ สัตว์แต่ละสายพันธุ์จะใช้เวลาในการลดค่ารีดอกซ์โพเทนเชียลให้ถึง –50 มิลลิโวลท์ต่างกัน เช่นในม้าใช้เวลา 4 ชั่วโมงหลังถูกฆ่า ปลาวาฬใช้เวลา 24 ชั่วโมง สำหรับสัตว์ทั่วไปใช้เวลาอยู่ในช่วง 8-10 ชั่วโมง หลังจากถูกฆ่า

การลดค่าความเป็นกรดด่างลงจาก 7 ไป 6 ในกล้ามเนื้อโดยกรดแลคติกนี้ได้จากการแตกตัวของไกลโคเจนนั้นสามารถหยุดอัตราการเจริญครอสตริเดียมเพอร์ฟริงได้ สำหรับสัตว์ที่เหนื่อย และเครียดมากต้องทำให้เย็นโดยเร็วที่สุดซึ่งสภาวะไม่มีออกซิเจนจะเกิดขึ้นในช่วงเวลาสั้นๆ หลังจากการฆ่า (4-6 ชั่วโมง) ทำให้ ค่าความเป็นกรดด่าง สุดท้ายสูงขึ้นกว่า ปกติ (6.2-6.3) ระยะเวลาที่ทำให้อุณหภูมิลดลงครึ่งหนึ่งน้อยกว่า 10 ชั่วโมง จึงจะปลอดภัยจากการเจริญของครอสติเดียมแม้จะในกรณีที่สัตว์เหนื่อย ปรากฏการณ์โบนเท็นท์สามารถไม่เกิดขึ้นโดยการแช่ซากโดยเร็วและทำให้เย็นเร็ว เพื่อป้องกันโบนเท็นท์จำเป็นต้องลดอุณหภูมิข้างในเป็น 15 องศาเซลเซียส ภายใน 18 ชั่วโมง และลดลงเป็น 5 องศาเซลเซียส ต่อมาอย่างน้อย ภายใน 48 ชั่วโมง การเจริญของครอสตริเดียมเพอร์ฟริง ถูกยับยั้งที่อุณหภูมิต่ำกว่า 4 องศาเซลเซียส นี้จึงอธิบายว่าทำไมใช้การแช่เย็นที่อุณหภูมิใกล้ 0 องศาเซลเซียส ซึ่งปลอดภัยจากการเน่าเสีย

3.2.3 การยับยั้งพวกเชื้อโรค

คุณภาพการเก็บเนื้อที่ดี คือการแช่เย็นอย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิใกล้ 0 องศาเซลเซียส ด้วยอุณหภูมิเช่นนี้ทำให้การเจริญของพวกเชื้อโรค และการผลิตสารพิษนั้นถูกยับยั้ง สายพันธุ์ของแบคทีเรียที่แตกต่างกัน ก็ถูกยับยั้งในอุณหภูมิต่างกันดังนี้ ยับยั้งการเจริญของพวกซาโมเนลลาที่ 5.2 องศาเซลเซียส ยับยั้งการผลิตสารพิษของสเตรปไฟโลคอคคัสเออร์เรียสที่ 10 องศาเซลเซียส ยับยั้งการเจริญของสเตรปไฟโลคอคคัสเออร์เรียสที่ 6.7 องศาเซลเซียส ยับยั้งการเจริญของครอสตริเดียมเพอร์ฟริงเจนที่ 6.5 องศาเซลเซียส ยับยั้งการผลิตสารพิษของครอสตริเดียมโบทูลินัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(*C.botulinum*) ชนิดเอและบีที่ 10 องศาเซลเซียส ยับยั้งการผลิตสารพิษของครอสตริเดียมโบทูลินัมชนิดอีที่ 3.3 องศาเซลเซียส เห็นอย่างชัดเจนว่าไม่พบเชื้อโรคสายพันธุ์ใดสามารถพบในเนื้อที่เจริญได้ในอุณหภูมิต่ำกว่า 3.3 องศาเซลเซียส

3.2.3 การเจริญของพวกแบคทีเรียที่ชอบอุณหภูมิต่ำซึ่งเจริญผิวหน้าเนื้อ (ทำให้เกิดการเสียที่ภายนอกและการเจริญของรา)

สายพันธุ์หลักบนซากสัตว์หลังจากฆ่าแล้ว คือพวกสูโดโมแนส พวกโมราเซลลา พวกอะซินิโตแบคเตอร์ แลคโตบาซิลลัส. โบรโคทริคซ์เทอร์โมแฟคตา และพวกตระกูลเอนเทอร์โรแบคทีเรียซิอี 2-3 ชนิด นอกจากนี้ยังมีอัลคาลิจิเนส (Alcaligenes) วิบริโอ (Vebrio) แอโรโมแนส (Aeromonas) อาร์โธแบคเตอร์ (Arthrobacter) ยีสต์และรา อัตราการเจริญของพวกที่ชอบอุณหภูมิต่ำลดลงเมื่อมีการลดอุณหภูมิลง ดังการทดลองของนาย Gill และ Newton (1977) ได้วัดเวลาการเพิ่มจำนวน (generation time) ของแบคทีเรียที่ชอบอุณหภูมิต่ำ เมื่อทำการอุณหภูมิต่ำลงดังตารางที่ 3 การเสียโดยจุลินทรีย์เหล่านี้บนเนื้อจะมีสีน้ำตาลเทา และกลิ่นเน่ากับเมือกบนผิวหน้าไฟโครโทรฟิกแบคทีเรีย (Psychrotrophic bacteria) ส่วนใหญ่ที่เจริญขึ้นใกล้ 0 องศาเซลเซียส เป็นพวกที่ต้องใช้อากาศซึ่งมันเจริญบนผิวหน้าเนื้ออย่างรวดเร็วมากในบรรยากาศที่ชื้นในห้องเย็น ส่วนพวกที่เจิญในที่มีอากาศน้อยได้ (facultative anaerobe) เช่น แลคโตบาซิลลัส โบรโคทริคซ์เทอร์โมแฟค และพวกตระกูลเอนเทอร์โรแบคทีเรียซิอีบางชนิด เกิดขึ้นช้ากว่าและการเสียภายนอกนี้ทำให้มีสีเขียว และเปรี้ยว ในบรรยากาศที่แห้งการเจริญของแบคทีเรียบนผิวหน้านั้นช้าเนื่องจากความแห้งของอากาศ ราเริ่มเกิดขึ้นบนผิวหน้า และยังพบพวกแอสเปอร์จิลัส (Aspergillus) คลาโดสปอเรียม (Cladosporium) และแธมนิเดียม (Thamnidium) ที่ผลิตโปรติเอส ยังรวมถึงเพนนิซิลเลียม (Penicillium) และ มูเดอร์ (Mucor) ราอาจทำให้เกิดการไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) และออกซิเดทีฟ (Oxidative) ของไขมัน นอกจากนี้ยังพบยีตส์ที่ทนต่อความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เย็นบนผิวหน้าเนื้อแช่เย็น เช่นพวกแคนดิดา (Candida) โมนิเลีย (Monilia) และ โตรูลา (Torula)

ตารางที่ 3 แสดงผลกระทบของอุณหภูมิต่ออัตราการเจริญของแบคทีเรียบนเนื้อสัตว์ที่เก็บในสภาวะที่ไม่มีอากาศ (Newton&Gill, 1978)

Temperature (C)	Generation time (h)				
	Non-fluorescent Pseudo-monas sp.	*fluorescent Pseudo-monas sp.*	*Entero-bacter* sp.	*Acineto-bacter* sp.	*B. thermos-phacta*
15	2.0	2.0	2.4	3.1	2.8
10	2.8	3.0	3.5	5.2	3.4
5	5.1	5.4	7.8	8.9	7.3
2	7.6	8.2	11.1	15.6	12.0

3.3 อิทธิพลของสภาวะแช่เย็น

3.3.1 กฎการทำให้เย็น 3 ข้อของนายโมโวยซิน (Monvoisin) เป็นกฎที่เกี่ยวกับคุณภาพทางจุลินทรีย์ของวัตถุดิบที่แช่เย็น

- กฎข้อที่ 1 ลักษณะของวัตถุดิบ : ต้องมีการปนเปื้อนเริ่มต้นน้อยเท่าที่เป็นไปได้เพราะจุลินทรีย์ไม่ได้ถูกฆ่าโดยการแช่เย็น แต่สามารถเจริญช้าลงหรือยับยั้งการเจริญเท่านั้น
- กฎข้อที่ 2 ทำให้เย็นโดยเร็ว : การให้ความเย็นกับผลผลิตโดยเร็วเท่าที่เป็นไปได้เพื่อป้องกันการเจริญของแบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิห้อง (Mesophilic bacteria) ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ทำให้เสียและพวกเชื้อโรค
- กฎข้อที่ 3 ลูกโซ่ความเย็น : ระหว่างกระบวนการของวัตถุดิบและการบริโภค ลูกโซ่ความเย็นต้องไม่ถูกขัดขวางควรจำว่าลูกโซ่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเย็นไม่ยับยั้งการเจริญของพวกที่ชอบอุณหภูมิต่ำอย่างสมบูรณ์

ผลิตภัณฑ์จะปลอดจากจุลินทรีย์ถ้าเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำ โดยเฉพาะจะปลอดภัยจากพวกเชื้อโรคจากกฎทั้ง 3 ข้ออาจจะไม่กระจ่างจึงมีการอธิบายความหมายดังนี้

ลักษณะเนื้อ : แม้ว่าการปนเปื้อนจุลินทรีย์เริ่มต้นนั้นหลีกเลี่ยงไม่ได้ แต่สามารถจำกัดและควบคุมได้โดยใช้วิธีปลอดเชื้อที่เหมาะสม แรกเริ่มควรเลือกสัตว์ที่สุขภาพดี อดอาหารและไม่เครียด และฆ่าด้วยเทคนิคที่ดี ขั้นตอนสุดท้ายซากต้องมีการจัดการใต้สภาวะที่ถูกสุขอนามัยอย่างเข้มงวดโดยใช้เครื่องมือที่สะอาด และสุขอนามัยที่ดีของผู้ปฏิบัติงาน เนื่องจากการแช่เย็นที่รวดเร็ว และเก็บที่อุณหภูมิแช่เย็นจะยับยั้งการเก็บข้างในและการเจริญของเชื้อโรค อายุการเก็บรักษาของเนื้อนั้นผกผันกับค่าลอกกาลิทึมฐานสิบ (log 10) ของจำนวนปนเปื้อนที่ผิวเมื่อเริ่มต้น

การแช่เย็นเร็ว : การแช่เย็นโดยเร็วมีอิทธิพลสูงต่ออัตราการเจริญของแบคทีเรียหลักที่ทำให้เสียพอๆ กับการเกิดการเน่าภายนอก และโบนเท็นท์ อย่างไรก็ตามการแช่เย็นโดยเร็วไม่มีผลต่อการพัฒนาของพวกจุลินทรีย์ผิวหน้า เมื่ออุณหภูมิที่ผิวหน้าลดลงอย่างรวดเร็วโดยการแช่เย็นทุกวิธี เช่นถ้าซากสัตว์อุ่น (38-40 องศาเซลเซียส) ถูกนำมาแช่ในห้องที่ –1 ถึง +5 องศาเซลเซียส ผิวหน้าจะเย็นอย่างรวดเร็วมีอุณหภูมิเป็น 0-5 องศาเซลเซียส หลังจาก 2.5-3 ชั่วโมง สาเหตุจากอัตราการแพร่ความร้อนมีจำกัด การทำให้กล้ามเนื้อข้างในเย็นจึงช้ากว่า โดยเฉพาะอย่างยิ่งในก้อนกล้ามเนื้อขนาดใหญ่ ดังนั้นก่อนใช้เทคนิคการแช่เย็นอย่างเร็วจะต้องแน่ใจว่ามีการยับยั้งพวกครอสติเดีย วิธีการแช่เย็นอย่างเร็วคือซากต้องนำเข้าตู้เย็นหลังจากฆ่าแล้วอย่างมาก 2 ชั่วโมง กลไกการแช่เย็นมี 2 ขั้นตอนคือ

- ช่วงเวลาในการแช่เย็นระยะแรกเป็นระยะเวลาที่ทำให้อุณหภูมิลดลงครึ่งหนึ่ง ซึ่งซากวัวจะใช้เวลา 8 ชั่วโมง ส่วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมูและแกะใช้เพียง 4 ชั่วโมง อุณหภูมิของอากาศ –2 ถึง 4 องศาเซลเซียส ความเร็วของอากาศ 1.5-2 เมตรต่อวินาที (200 อากาศเปลี่ยนต่อชั่วโมง) และความชื้นสัมพัทธ์ 90 เปอร์เซ็น

- ช่วงที่ 2 ความเร็วของอากาศต่ำลงและอุณหภูมิของอากาศสูงขึ้นเป็น 0 องศาเซลเซียส เพื่อขยายระยะเวลาที่ทำให้อุณหภูมิลดลงครึ่งหนึ่งเป็น 2 หรือ 3 เท่าของช่วงแรก

การทำให้เนื้อเย็นมีหลักมากมายที่เป็นการผสมผสานเวลาและอุณหภูมิให้เหมาะสม ดังกราฟพื้นที่สีน้ำเงิน (อุณหภูมิสูงกว่าหรือเท่ากับ 20 องศาเซลเซียส) ควรผ่านอย่างรวดเร็วเพื่อหลีกเลี่ยงการเกิดเน่าเสียจากภายในส่วนนั้นที่สีแดงไม่ควรไปถึงเพื่อป้องการเกิดการเย็นจัด (cold-shortening) ซึ่งจะเกิดขึ้นหลังจากฆ่าแล้ว 12 ชั่วโมง (อุณหภูมิ มากกว่า 112 องศาเซลเซียส)

ลูกโซ่ความเย็น (Cold chain) : คือการคงอุณหภูมิเนื้อแช่เย็นให้อุณหภูมิใกล้ศูนย์ที่สุดเท่าที่เป็นไปได้ซึ่งจำเป็นสำหรับการยับยั้งการเจริญของเชื้อโรคและทำให้การเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เน่าเสียช้าลง ดังนั้นจึงควรจำว่าในทุกขั้นตอนไม่ว่าจะเป็นการตัด กระบวนการผลิต การขนส่ง และการตัดเป็นชิ้นเล็กสำหรับขาย ควรเก็บรักษาในอุณหภูมิใกล้ 0 องศาเซลเซียสที่สุดเท่าที่เป็นไปได้ แต่โชคร้ายที่กฎนี้ไม่ได้รับการปฏิบัติตามมากนัก

3.3.2 ความชื้นกัมมันต์

การเสียที่ผิวหน้าที่เกิดจากแบคทีเรียนั้นมีความไวต่อการลดลงของความชื้นกัมมันต์ผิวหน้าของเนื้อสัตว์มีความชื้นกัมมันต์ประมาณ 0.99 แต่ค่านี้ก็จะลดลงเนื่องจากการระเหยของน้ำระหว่างการแช่เย็นและการเก็บ ค่ากัมมันต์ลดลงต่ำกว่า 0.95 ก็สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบส่วนใหญ่และแบคทีเรียที่สร้างสปอร์ได้ เช่นบาซิลไลและครอสติเดีย นอกจากนี้ยังอาจยับยั้งการงอกของสปอร์ด้วย ส่วนพวกแบคทีเรียแกรมบวกที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการหมักเนื้อ เช่น แลคโต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บาซิลลัส เพดดิโอคอคไค (Pediococci) ไมโครคอคคัส (Micrococci) และยีสต์รา สามารถทนต่อค่ากัมมันต์ที่ต่ำกว่า 0.95

ค่ากัมมันต์ของเนื้อเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษาเพราะมีปัจจัยต่างๆ เข้ามาเกี่ยวข้อง เช่นสภาวะการแช่เย็น อุณหภูมิและอัตราการไหลเวียนของอากาศ

- สภาวะการเก็บ – อุณหภูมิของห้องแช่เย็น ความเร็วอากาศและความชื้นสัมพัทธ์
- มีการห่อที่กันความชื้นหรือไม่
- มีการเติมเกลือหรือสารกันความชื้นอื่นๆ

ขณะที่ซากถูกแช่เย็นนั้นมีการระเหยของน้ำเกิดขึ้นเพราะความแตกต่างของอุณหภูมิและความดันไอของเนื้อและอากาศรอบๆ แม้ว่าการแช่เย็นอย่างรวดเร็วจะเพิ่มการระเหยของน้ำก็ตาม แต่ระยะเวลาที่แช่เย็นนั้นสั้น และความจริงแล้วการสูญเสียน้ำหนักเนื้อก็จำกัด

ระหว่างการแช่เย็นการเจริญ และการพัฒนาของพวกแบคทีเรียหลักบนผิวหน้านั้นขึ้นอยู่กับทั้งการแช่เย็น และอัตราการระเหยของน้ำ ซึ่งอัตราการระเหยของน้ำนั้นมีบทบาทสำคัญมาก นั้นคือถ้าอัตราการแช่เย็นเท่ากัน แต่ความเร็วอากาศมากขึ้น การควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ก็มีประสิทธิภาพมากกว่าเพราะกัมมันต์ที่ผิวหน้าลดลง

ระหว่างการเก็บรักษาอัตราการระเหยของน้ำถูกควบคุมโดยอากาศแห้งซึ่งการระเหยจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิและความเร็วของอากาศสูง และความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศต่ำ

สรุปได้ว่าการเลือกที่จะเก็บเนื้อในบรรยากาศแบบใดต้องมีการปรับเปลี่ยนความเหมาะสมระหว่าง การควบคุมจุลินทรีย์ การลดการสูญเสียน้ำหนักและการรักษาคุณภาพผิวสัตว์ให้ดีสำหรับผลิตภัณฑ์สุดท้าย

4. การบรรจุแบบสุญญากาศ (Vaccum Packaging)

เนื่องจากความสามารถของจุลินทรีย์ที่ผิวหน้าซึ่งเป็นสาเหตุของการเสียอย่างรวดเร็วนั้นจำเป็นต้องใช้ออกซิเจน จึงแน่ใจว่าการลดปริมาณออกซิเจนบริเวณผิวหน้าเนื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

สามารถช่วยจำกัดการเจริญระหว่างการเก็บในที่เย็น ด้วยเหตุนี้จึงมีการพัฒนาไปสู่การบรรจุแบบไม่มีอากาศ ด้วยวิธีบรรจุแบบนี้ช่วยลดจำนวนแบคทีเรียหลักพวก ที่ชอบอุณหภูมิต่ำเพราะการเจริญของสายพันธุ์ส่วนใหญ่ (สูโดโมแนส) นั้นลดลงเมื่อปริมาณออกซิเจนน้อยลงกว่า 1% และปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) เพิ่มขึ้น แต่อัตราการเจริญของพวกเจริญในอากาศน้อยได้ไม่เปลี่ยนแปลง ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงเวลาในการทวีคูณจำนวนของแบคทีเรียที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส (Shaw&Nicol, 1969)

Micro-organisms	Concentration of oxygen (%)					
	0.0	0.2	0.8	5.0	20.8	100.0
Pseudomonas 1482	a	16.0	4.8	4.4	4.4	4.0
Microbacterium 22	b	8.8	9.0	8.5	8.5	8.8
Lactic acid bacterium 58	9.0	9.0	9.0	9.2	9.0	9.1

ระหว่างการเก็บความเข้มข้นของออกซิเจนในถุงบรรจุลดลงและความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ก็เพิ่มขึ้นเนื่องจากการหายใจของเนื้อและจุลินทรีย์ คาร์บอนไดออกไซด์มีอิทธิพลในการยับยั้งจุลินทรีย์พวกสูโดโมแนส พวกอะซินิโตแบคเตอร์อย่างมาก ซึ่งอิทธิพลนี้สำคัญกว่าผลของปริมาณออกซิเจนที่ลดลงเสียอีก เนื่องจากสูโดโมแนสที่ใช้ออกซิเจนเจริญบนผิวเนื้อถูกแทนที่ด้วยแบคทีเรียพวกไม่ใช้อากาศและพวกใช้อากาศน้อยได้ (แลคโตบาซิลลัส โบรโคทริคซ์เทอร์โมแฟคตา ตระกูลเอนเทอร์โรแบคทีเรียซิอี) เมื่อบรรจุในถุงสุญญากาศ เมื่ออุณหภูมิลดลงแลคโตบาซิลลัสก็เจริญอย่างรวดเร็วกว่าพวกอื่นๆ ดังตารางที่ 5 และกลายเป็นสายพันธุ์หลัก ยิ่งไปกว่านั้นเมื่อพวกมันมีมากจนยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียชนิดอื่นๆ ดังนั้นในช่วงแรกๆ ในการเก็บจำนวนจุลินทรีย์จะคงดี แต่สุดท้ายพวกแลคโตบาซิลลัสก็จะเพิ่มขึ้งถึง 10^8-10^9 ต่อกรัม ทำให้เนื้อเป็นเมือกและอาจเกิดสีต่างๆ และมีกลิ่นแปลกๆ ขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิที่ลดลงและเวลาที่ใช้เพิ่มจำนวนแบคทีเรียในแต่ละสายพันธุ์ (Newton&Gill, 1978)

Temperature (c)	Generation time (h)		
	Microbacterium Thermosphactum	Enterobacter	Lactobacillus
15	6.8	5.4	3.8
10	9.7	8.5	4.6
5	20.1	23.2	5.6
2	32.8	55.7	8.4

ดังนั้นการบรรจุแบบสุญญากาศสามารถยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อสดแช่เย็นได้ เนื่องจากยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ต้องใช้ออกซิเจนที่เป็นสาเหตุทำให้โปรตีนแตกตัวที่ผิวหน้าของเนื้อ เมื่อเนื้อที่มีจำนวนจุลินทรีย์ต่ำถูกบรรจุ อายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำกว่า –1.5 และ 0 องศาเซลเซียส ขยายเป็น 12 สัปดาห์สำหรับเนื้อวัว และ 10 สัปดาห์สำหรับเนื้อแกะ

5. ระเบียบการส่งออกเนื้อสุกรแช่เย็นหรือแช่แข็ง

5.1 เนื้อสุกรแช่เย็นหรือแช่แข็งจะผลิตจากโรงฆ่าสัตว์ที่ได้รับการตรวจรับรองจากกรมปศุสัตว์

5.2 เนื้อสุกรแช่เย็นหรือแช่แข็งที่จะส่งออกจะต้องได้รับการตรวจสัตว์ก่อนฆ่า การตรวจซากหลัง การตัดแต่ง การบรรจุหีบห่อ การเก็บรักษาในห้องเย็น และการขนส่งจากเจ้าหน้าที่สัตว์แพทย์กรมปศุสัตว์

5.3 ผู้ส่งออกต้องมีใบอนุญาตทำการค้าซากสัตว์ส่งต่างประเทศ

5.4 ผู้ส่งออกจะต้องขอใบรับรองการตรวจเนื้อจากสัตว์แพทย์ของกรมปศุสัตว์

5.5 ผู้ส่งออกต้องยื่นคำขอ (แบบ ร.4) พร้อมทั้งเอกสารตามข้อ 4 ต่อสัตว์แพทย์ด่านท่าออกหรือสัตว์แพทย์ท้องที่ก่อนการส่งออก

5.6 กรมปศุสัตว์จะเป็นผู้อนุญาตการส่งออกและออกใบรับรองคุณภาพ

5.7 ผู้ส่งออกจะต้องปฏิบัติตามเงื่อนไขของประเทศผู้นำเข้า

เอกสารนี้ถือเป็นลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้ ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

5.8 ผู้ส่งออกจะต้องไปทำการส่งออกที่ด่านศุลกากรต่อไป

นอกจากระเบียบการส่งออกเนื้อสุกรสดแช่เย็นแล้ว กรมปศุสัตว์ยังมีข้อกำหนดทางด้านจุลินทรีย์โดยเกี่ยวข้องทั้งชนิดและจำนวนของจุลินทรีย์ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 แสดงข้อกำหนดทางด้านจุลินทรีย์ (กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ภายในประเทศ)

ชนิดของจุลินทรีย์	หน่วย	ปริมาณจุลินทรีย์ที่มีได้		
		I	II	III
Total Plate Count	colony/gm	<100,000	<100,000, 30 C	<500,000, 30 C
Coliforms	MPN, col/gm	<500	<5,000	
E. coli	MPN, col/gm	Negative		<3
Clostridium perfringen	colony/gm	Negative in 10 gm		Negative in 0.1 gm
Staphylococcus aureus	colony/gm	Negative in 10 gm	<100	Negative in 0.1 gm
Faecal Streptococci	colony/gm	<1,000	<1,000	
Salmonella	colony/gm	Negative in 25 gm	Negative in 25 gm	Negative in 25 gm
Yeast & Mold	colony/gm	<100		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. เครื่องมือ และอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1. เครื่องแก้ว
   - 1.1 หลอดทดลอง (Test tube)
   - 1.2 หลอดทดลองฝาเกลียว (Screwcap tube)
   - 1.3 บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 50, 100, 500, 1000 และ 2000 มิลลิลิตร
   - 1.4 จานอาหารเลี้ยงเชื้อ (Petri dish or Plate)
   - 1.5 ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 250 และ 250 มิลลิลิตร
   - 1.6 ปิเปต (Pipette) ขนาด 1, 5, 10 และลูกยาง
   - 1.7 กรวยแก้ว (funnel)
   - 1.8 กระบอกตวง (Graduate cylinder) ขนาด 100 มิลลิลิตร
   - 1.9 ขวดใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ
   - 1.10 แท่งแก้ว (Stirring rod)
   - 1.11 หลอดหยดสาร (Dropper)
2. บ่วงเขี่ยเชื้อ (loop)
3. ที่ใส่หลอดทดลอง (Test tube rack)
4. ปากคีบ (Forcept)
5. ช้อนตักสาร (Spatular)
6. พาราฟิล์ม (Parafilm)
7. สำลี
8. ตะเกียงแอลกอฮอล์
9. เครื่องชั่งละเอียด (ทศนิยม 3 ตำแหน่ง)
10. กล้องจุลทรรศน์
11. ตู้อบ (Hot air oven)
12. ตู้เขี่ยเชื้อ (Larminar air flow)

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

13. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)
14. ตู้เย็น (Refrigerator)
15. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave)
16. กระบอกใส่ปิเปต (Pipette container)
17. กล่องใส่จานอาหารเลี้ยงเชื้อ
18. ขวดน้ำกลั่น
19. แปรงล้างขวด และน้ำยาล้างจาน
20. เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)

2. สารเคมี และน้ำยาทดสอบ

1. 0.85 % โซเดียมไฮดรอกไซด์
2. สารเคมีที่ใช้สำหรับปรับความเป็นกรด-ด่าง
   - โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 N
   - ไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 1 N
3. ชุดทดสอบ Gram's stain ประกอบด้วย
   - Crystal violet
   - Iodine
   - 95% Alcohol
   - Safarnin
4. Immersion oil
5. ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ความเข้มข้น 3 %

3. อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. MRS agar
2. Tryptic soy agar (TSA)
3. GYP
4. Mc conkey agar (Mc)
5. YM

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการทดลอง

1. การเก็บตัวอย่างเชื้อจุลินทรีย์จากแหล่งต่าง ๆ ภายบริเวณโรงงาน

1. นำไม้พันสำลีจุ่มในน้ำเกลือ 0.85% แล้วนำไปเช็ดตามบริเวณต่าง ๆ ของโรงงาน เช่น สายพาน , ซากหมู , ลัง , มือ ฯลฯ
2. ถ่ายเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 3 ชนิดคือ

   - TSA broth
   - Mc broth
   - YM agar (ที่ปรับความเป็นกรด-ด่างให้เหลือ 4.5)

   แล้วนำไปเลี้ยงในอาหารแข็งโดยวิธีการ streak plate และ pour plate
3. จากการเลี้ยงเชื้อพบว่าไม่มีเชื้อขึ้นที่อาหาร YM agar ทำให้เราทราบว่าจากการเก็บตัวอย่างเชื้อจากโรงงานตามบริเวณต่าง ๆ แล้วไม่พบเชื้อจุลินทรีย์พวก ยีสต์
4. ทำการเจือจาง TSA broth และ Mc broth ที่มีเชื้อจุลินทรีย์อยู่เพื่อลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ 10^{-7} , 10^{-8} และ 10^{-9} แล้วจึงนำไปทำการ pour plate
5. วิธีการ pour plate

   เพื่อทำการตรวจนับปริมาณเชื้อจุลินทรีย์อย่างคร่าว ๆ โดยดูดอาหารที่เจือจางแล้ว 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานเลี้ยงเชื้อ แล้วเทอาหาร TSA agar และ Mc agar ที่หลอมเหลวลงไปผสม โดยพยายามให้เชื้อกระจายทั่วในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-3 วัน เพื่อนำผลที่ได้มาเปรียบเทียบกันว่าในแต่ละแหล่งจากโรงงานบริเวณใดน่าจะมีปริมาณจุลินทรีย์มากที่สุด
6. วิธีการ streak plate

   โดยนำ loop ไปจุ่มในน้ำตัวอย่างแล้วมา streak ลงบน plate ที่มีอาหาร TSA agar และ Mc agar ที่แข็งตัวแล้ว เพื่อทำการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-3 วัน
7. ทำการ restreak โดยทำตามวิธีการในข้อ 6 เพื่อแยกชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ให้มีความบริสุทธิ์ที่สุด
8. หลังจากแยกชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความบริสุทธิ์แล้วนำเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดไปตรวจดูลักษณะทางสัณฐานวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์ (ภาคผนวก)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ทำการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ชนิดที่เป็น Heterolactic acid bacteria

1. นำเชื้อที่แยกได้แต่ละชนิดมาทดสอบความสามารถในการใช้คาร์โบไฮเดรตโดยใช้น้ำตาลดังต่อไปนี้

   - กลูโคส (Glucose)
   - ซูโครส (Sucrose)
   - มอลโตส (Maltose)
   - แลคโตส (Lactose)
   - อะราบิโนส (Arabinose)

   โดยการเติมสารละลายน้ำตาลแต่ละชนิดลงไป 0.5 % แล้วนำเชื้อที่จะทดสอบถ่ายลงไปในสารละลายน้ำตาลแต่ละชนิดที่เตรียมไว้ บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-7 วัน

2. ทดสอบการเกิด clear zone

   โดยนำเชื้อที่แยกได้มาเลี้ยงในอาหาร GYP agar ที่ผสมกับ แคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) ในปริมาณ 1% ต่ออาหาร 1 ลิตร นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เวลา 1-3 วัน

3. ทดสอบ Catalase

   นำเชื้อที่ได้คัดเลือกจากข้อ 2 มาเลี้ยงในอาหาร MRS agar โดยบ่มไว้ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จากนั้นนำ loop เขี่ยโคโลนีที่เจริญบนอาหาร MRS agar ลงบนสไลด์ที่สะอาด หยดสารละลาย 3% ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ลงบนโคโลนีของเชื้อทดสอบ

   ถ้ามีฟองก๊าซเกิดขึ้น ให้ผลเป็นบวก แสดงว่าเชื้อสามารถสร้าง เอนไซม์ catalase ได้

   ถ้าไม่มีฟองก๊าซเกิดขึ้น ให้ผลเป็นลบ แสดงว่าเชื้อไม่สามารถสร้าง เอนไซม์ catalase ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลอง

1. ผลของการนับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์

โดยการเก็บตัวอย่างเชื้อจุลินทรีย์จากบริเวณต่าง ๆ ภายในโรงงานซึ่งแล้วนำมาแสดงผลไว้ในตารางดังต่อไปนี้

ตารางที่ 7 แสดงปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์จากแต่ละบริเวณ

ที่มาจุลินทรีย์ปริมาณจุลินทรีย์	ปริมาณจุลินทรีย์	ปริมาณจุลินทรีย์พวกที่ผลิตเอนเทอโรเลกติก
สายพาน	2	1
ถุงสุญญากาศ	2	1
มือผู้ชำแหละ	2	1
ซากหมู	4	3
ลังที่ใส่หมู	2	1

หมายเหตุ : 1 คือ มีจำนวนน้อย
2 คือ จำนวนปานกลาง
3 คือ จำนวนมาก และ
4 คือ จำนวนมากที่สุด

(สาเหตุที่ต้องแสดงผลในลักษณะนี้เนื่องจากว่าไม่สามารถนับได้เพราะมีปริมาณมาก)

จากตารางที่ 7 ทำให้ทราบว่าบริเวณภายในโรงงานที่มีปริมาณจุลินทรีย์มากที่สุดคือที่ซากหมู

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ผลของการตรวจดูลักษณะทางสัณฐานวิทยา

โดยการนำจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ที่เก็บได้จากโรงงานมาทำการตรวจดูลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์

ตารางที่ 8 แสดงผลการตรวจดูลักษณะทางสัณฐานวิทยา

เชื้อที่	ลักษณะโคโลนี	ลักษณะเซลล์ (แกรม)
1	สีขาวมันวาว	Cocci (-)
2	สีขาวขุ่น	Bacilli (+)
3	สีขาวมันวาว	Cocci (-)
4	สีขาวด้าน	Cocci (-)
5	สีขาวมันวาว	Cocci (-)
6	สีครีม	Cocci (+)
7	สีเหลืองมันวาว	Cocci (+)
10	สีชมพูผิวมัน	Cocci ขนาดเล็ก (-)
11	สีแดงมันวาว	Bacilli (+)
13	สีแดงด้าน	Bacilli (-)
14	สีขาวอมชมพู	Cocci ขนาดเล็ก (-)
16	สีแดงผิวมัน	Cocci ขนาดเล็ก (-)
17	สีเหลืองมันวาว	Cocci ขนาดเล็กเป็นกลุ่ม(-)
18	สีขาวผิวขรุขระ	กลมรี (-)
19	สีขาวผิวขรุขระ	Bacilli (-)
20	สีขาวมันเยิ้ม	Cocci (-)
21	สีเหลืองมันวาว	รีรี (-)
24	สีขาวขุ่นผิวมัน	Bacilli (+)
25	สีขาวผิวขรุขระ	Bacilli (-)
26	สีแดงอ่อนผิวขรุขระ	Bacilli (-)
27	สีครีมมันวาว	Cocci ขนาดเล็ก (-)
28	สีขาวมันวาว	Cocci ขนาดเล็ก (-)
30	สีขาวมันวาว	Cocci ขนาดเล็ก (-)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ผลของการทดสอบการเกิด Clear zone

โดยนำจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ มาทดสอบการเกิด Clear zone ในอาหาร GYP ผสมกับ $CaCO_3$ ผลปรากฏว่าเชื้อเบอร์ที่ 11 และ 30 สามารถเกิด clear zone ได้ ดังรูป

รูปที่ 2 (เชื้อเบอร์ 11)

รูปที่ 3(เชื้อเบอร์ 30)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ผลของการทดสอบความสามารถในการใช้คาร์โบไฮเดรต

นำจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ มาทดสอบการใช้ คาร์โบไฮเดรต และการทดสอบ catalase ดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 แสดงผลของการทดสอบการใช้น้ำตาล , ผลของการทดสอบการเกิด Clear zone, ผลของการทดสอบ catalase

ตัวอย่าง	sucrose	Lactose	Maltose	Glucose	Arabinose	GYP	MRS	Catalase
1	-	-	+	-	+	-	-	
2	-	-	-	-	+	-	-	
3	+	-	-	-	-	-	-	
4	+	-	-	-	+	-	-	
5	+	-	+	-	-	-	-	
6	+	-	+	-	+	-	-	
7	+	-	+	-	+	-	-	
10	+	-	+	+	-	-	-	
11	+	+	+	+	+	+	+	-
13	+	-	+	+	-	-	-	
14	-	-	+	-	+	-	-	
16	-	-	+	-	+	-	-	
17	-	-	+	-	+	-	-	
18	+	-	+	-	+	-	-	
19	+	-	+	-	-	-	-	
20	+	-	+	-	-	-	-	
21	+	-	+	-	+	-	-	
24	-	-	+	-	+	-	-	
25	-	-	+	-	+	-	-	
26	-	-	+	-	+	-	-	
27	+	-	+	-	+	-	-	
28	+	-	+	-	-	-	-	
30	+	+	+	+	+	+	+	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

1. จากการทดลองพบว่าเชื้อหมายเลข 11 และ 30 สามารถสร้างกรด ได้เนื่องจากเมื่อทดสอบการสร้าง clear zone แล้วปรากฏว่ามี clear zone เกิดขึ้น
2. การดูสัณฐานวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่า
   - เชื้อหมายเลข 11 ติดสีม่วง (+) และมีลักษณะรูปร่างเป็นแท่ง (bacilli)
   - เชื้อหมายเลข 30 ติดสีแดง (-) และมีลักษณะรูปร่างกลม (cocci)
3. จากการทดสอบ catalase พบว่า
   - เชื้อหมายเลข 11 ไม่มีฟองก๊าซเกิดขึ้น ให้ผลเป็นลบ
   - เชื้อหมายเลข 30 ไม่มีฟองก๊าซเกิดขึ้น ให้ผลเป็นลบ
4. จากการทดสอบความสามารถในการใช้คาร์โบไฮเดรตพบว่า
   - เชื้อหมายเลข 11 สามารถหมักน้ำตาลได้ทุกชนิดที่ใช้ในการทดสอบ
   - เชื้อหมายเลข 30 สามารถหมักน้ำตาลได้ทุกชนิดที่ใช้ในการทดสอบ
5. จึงสรุปได้ว่าเชื้อหมายเลข 11 และ 30 จัดเป็นจุลินทรีย์พวกHeterolactic ที่ทำให้เนื้อหมูสดเน่าเสียหลังจากการ Vacuum และพบที่บริเวณซากหมูมากที่สุด

เนื่องจากปกติแล้วในเนื้อหมู จะมีจุลินทรีย์ที่ทำให้เน่าเสีย ค่อนข้างน้อยเพราะฉะนั้นจึงพิจารณาในส่วนของขั้นตอนการชำแหละเนื้อหมู เพื่อตรวจหาว่าเชื้อที่ทำให้เกิดการเน่าเสียมาจากบริเวณใด

จากผลการทดลองทำให้เราทราบว่าจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียหลังการ Vacuum คือพวก Heterolactic และพบมากที่บริเวณซากหมู

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อเสนอแนะ

แนวทางในการศึกษาต่อไป อาจมีการใช้ Preservative agent ชนิดต่างๆ เพื่อช่วยยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อหมู โดยต้องคำนึงถึงรสชาด ลักษณะเนื้อ ความเป็นพิษ และการยอมรับของผู้บริโภคหรืออาจเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ลงไป และมีการนำเนื้อจากโรงงานที่มีการเน่าเสียในช่วงเวลาต่างๆ มาทำการตรวจหาจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุในการเน่าเสียที่แท้จริงต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละสูตรนี้ต้องใช้น้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร และต้องฆ่าเชื้ออาหารที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ที่ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว

1. MRS agar

Proteosepeptone	10	กรัม
Beef extract	10	กรัม
Yeast extract	5	กรัม
Glucose	20	กรัม
Tween 80	1	กรัม
Dipotassium Hydrogen Phosphate	2	กรัม
Sodium Acetate	5	กรัม
Triammonium Citrate	2	กรัม
Magnesium Sulphate Hydrate	200	มิลลิกรัม
Manganese Sulphate Tetrahydrate	50	มิลลิกรัม
Calcium Carbonate	1	กรัม
Agar	15	กรัม

pH 6.2 - 6.6

2. GYP agar

Glucose	10	กรัม
Yeast extract	10	กรัม
Peptone	10	กรัม
Agar	15	กรัม
$CaCO_3$	1	%
โซเดียมเอไซด์	0.02	%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร
pH 6.8		

3. YM agar

Yeast extract	3	กรัม
Malt extract	3	กรัม
Peptone	5	กรัม
Glucose	10	กรัม
Agar	30	กรัม
pH 4.5		

4. TSA agar

Pancreatic digest of casein	15	กรัม
Agar	15	กรัม
Yeast extract	6	กรัม
Pancreatic digest of soybean meal	5	กรัม
NaCl	5	กรัม
pH 7.0-7.5		

5. **Mc conkey agar**

Peptone	20	กรัม
Agar	12	กรัม
Lactose	10	กรัม
Bile salts	5	กรัม
NaCl	5	กรัม
Neutral Red	0.075	กรัม
pH 7.4 (+,-) 2		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. Fermentable Carbohydrate broth

Carbohydrate	0.5	กรัม
Yeast extract	0.4	กรัม
Peptone	0.5	กรัม
Salt solution	0.5	กรัม

ปรับ pH ให้ได้ 6.8

ต้องฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที carbohydrate ที่ใช้คือ น้ำตาล glucose , sucrose , maltose , lactose และ arabinose

การเตรียมสารเคมี

1. สารละลายเกลือ 0.85 %

- ชั่งสารโซเดียมคลอไรด์ 0.85 กรัม ลงในบีกเกอร์ ขนาด 500 มิลลิลิตร
- เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร
- นำสารละลาย 0.85 % NaCl ไปทำการฆ่าเชื้อ

2. สารเคมีสำหรับปรับความเป็นกรด-ด่าง

2.1 โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 N

- ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 40 กรัม ใส่ลงใน Volumetric flask
- ปรับปริมาตรให้ได้ 1000 มิลลิลิตรโดยใช้น้ำกลั่น

2.2 ไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 1 N

- นำสาระลายไฮโดรคลอริก 43.64 มิลลิลิตร ใส่ลงใน Volumetric flask
- ปรับปริมาตรให้ได้ 500 มิลลิลิตร โดยใช้น้ำกลั่น

3. การย้อมสีแกรม (Hucker modification)

3.1 Crystal violet

เตรียมสารละลาย A	- Crystal Violet	2.0	กรัม
	- Ethanol 95%	20	กรัม
เตรียมสารละลาย B	- Ammonium oxalate	0.8	กรัม
	- น้ำกลั่น	80	กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำสารละลาย A ผสมกับสารละลาย B แล้วทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง แล้วกรองตะกอนออก

3.2 Iodine

- Iodine crystal	1.0	กรัม
- KI	2.0	กรัม
- น้ำกลั่น	300	มิลลิลิตร

3.3 Safarnin

- Safarnin	0.25	กรัม
- Ethanol 95%	10	มิลลิลิตร
- น้ำกลั่น	90	มิลลิลิตร

3.4 วิธีการย้อมแกรม (Gram staining)

- ทำการเกลี่ย (smear) เชื้อที่ต้องการย้อมบนสไลด์ที่ล้างสะอาดทิ้งไว้ให้แห้ง แล้ว heat fix โดยผ่านเปลวไฟ 2-3 ครั้ง การ fix เพื่อทำให้เซลล์แห้งยึดติดแน่นกับสไลด์
- หยดสี crystal violet บนเชื้อที่เกลี่ยนาน 1-2 นาที แล้วเทสีทิ้ง
- หยดสารละลายไอโอดีนบนเชื้อที่เกลี่ย นาน 2 นาที แล้วเททิ้ง สารละลายไอโอดีนจะช่วยให้เซลล์ติดสีย้อมได้ดีขึ้น
- นำแบคทีเรียมาล้างสี (decolorized) ด้วย Ethanol นาน 30 วินาที แล้วจึงล้างด้วยน้ำ
- หยดสี safanin บนเชื้อที่เกลี่ยนาน 15-30 วินาที ล้างน้ำซับให้แห้งแล้วตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

Chrystall , B.B & Devine , C.E. Meat Seience , vol 2 , p. 49 – 58 , 1978

Frank Gerrard and F. J. Mallion. The complete book of meat , Blackie academic & professional , London , 1995

G. Campbell – platt and PE. Cook . Fermented meats., Blackie academic & professional , London , 1995

G . W. Gould . New methods of food preservation , Blackie academic & professional , London , 1995

Gill , C. O. Journal Appl . Bact . , vol 41 , p. 401- 410 , 1976

Gill , C .O. & Penney , N. Journal Appl . Environ . Microbiol . , vol 37 , p. 667– 669 , 1979

Huxley , H. E. Molecular basis of contraction in cross – striated Muscle .In Structure and function or Muscle , vol 1 , Academic Press , New York & London , 1972

Ingram. M & Dainty , R . H. Changes caused by microbes in spoilage of meat . Journal of Appl. Bact. , vol 34 , p. 21 – 39 , 1971

James G. Cappuccino , Natalie Sherman. Microbilogy a labolatory manual , The Benjamin / cummings publishing company , 1992

Leistner, Principle and application of hurdle technology , New methods of food Preservation , Blackie academic & professional , 1995

Newton , K. E. & Gill , C. O. Journal Appl. Bact. , vol 44 , p. 91- 95 , 1978

Sara Mortimore and Carol Wallace. HACCP a practical appoach , Chapman & Hall , London , 1995

Shaw , M. K. & Nicol , D. J. Effect of gaseous environment on the growth of meat of Some food poisoning and food spoilage organisms , proceedings of 15th European Meeting of Meat Research worker , Helsinki , vol 15 , p. 226 - 232 , 1969

T.R.Gormley. Chilled foods : the state of art . Elsevier applied science , London , 1996

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชัยณรงค์ คันธพานิต , ผศ. ดร. , วิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์ , ไทยวัฒนาพานิช , 2529

พิชิต รัตนพัลลภ , น.ส.พ. , การศึกษาวิจัยด้านกฎหมาย และข้อกำหนดด้านโรคระบาดสัตว์ของประเทศญี่ปุ่น เกาหลีใต้ สิงค์โปร์ และประเทศไทย , กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตร และสหกรณ์ , สิงหาคม 2540

สุวิมล กีรติพิบูล , ผศ. ดร. , การศึกษากฎระเบียบ ข้อบังคับเกี่ยวกับการควบคุมกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อสุกร ชนิดบรรจุกระป๋อง ถุงผนึก และแช่แข็ง ในอเมริกา แคนาดา ญี่ปุ่น เกาหลีใต้ และสิงค์โปร์ , กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตร และสหกรณ์ , สิงหาคม 2540

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้