วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 28:1 (60-68)

การลดเชื้อ *Campylobacter jejuni* ในซากไก่ด้วยคลอรีนและโอโซน

Reduction of *Campylobacter jejuni* in chicken carcass using chlorine and ozone

พรรณรพี เอี่ยมทวีเจริญ[1] ประเวทย์ ตุ้ยเต็มวงศ์[1] จิรวัฒน์ กันต์เกรียงวงศ์[1] และ ฆรณี ตุ้ยเต็มวงศ์[2]

บทคัดย่อ

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความไวของกระบวนผลิตต่อการพบเชื้อ *Campylobacter jejuni* ในไก่สดและศึกษาประสิทธิภาพการลดเชื้อ *Campylobacter jejuni* ด้วยคลอรีนและโอโซนในขั้นตอนการลดอุณหภูมิซากของสายการผลิตเนื้อไก่ จากการตรวจนับเชื้อ *Campylobacter jejuni* บนอาหาร mCCDA และ วิธี SimPlate จาก 80 ตัวอย่าง ใน 4 ขั้นตอน การผลิต พบว่า ขั้นตอนการลวก การถอนขน การล้างและการลดอุณหภูมิซาก มีปริมาณเชื้อเฉลี่ย 3.35 3.20 2.68 และ 0.20 log CFU/ml บนอาหาร mCCDA และบน SimPlate 2.54 2.48 2.31 และ 0.84 log CFU/g ขั้นตอนที่มีความไวต่อการพบเชื้อ *Campylobacter jejuni* ในผลิตภัณฑ์ คือ ขั้นตอนการลดอุณหภูมิซาก บนอาหาร mCCDA และวิธี SimPlate คลอรีนเข้มข้น 1.5 ppm สามารถลดเชื้อ *Campylobacter jejuni* ลงได้ร้อยละ 95.82 และ 18.58 บนอาหาร mCCDA และ SimPlate ตามลำดับ และการใช้โอโซนความเข้มข้นเริ่มต้น 1.92 ppm เป็นเวลา 30 นาที สามารถลดเชื้อ *Campylobacter jejuni* ลงได้ร้อยละ 77.33 และ 60.48 บนอาหาร mCCDA และ SimPlate และการใช้โอโซนเป็นเวลา 60 นาที สามารถลดเชื้อ *Campylobacter jejuni* ลงได้ร้อยละ 71.99 และ 87.51 ตามลำดับ การใช้โอโซนจึงเป็นทางเลือกในการลดเชื้อ *Campylobacter jejuni* ในขั้นตอนการลดอุณหภูมิซากที่น่าสนใจทางหนึ่ง

คำสำคัญ : *Campylobacter* mCCDA SimPlate MPN ความไว

Abstract

The objectives of this study were to investigate the process sensitivity to *Campylobacter* spp. and to assess the reduction efficiency of ozonation and chlorination in chilling step of the poultry process using data derived from mCCDA plating and SimPlate MPN methods. Samples of 80 were collected from 4 process steps in the processing plant (scalding, plucking, inside outside washing, and chilling). Numbers of *Campylobacter* spp. on mCCDA at the respective steps were 3.35, 3.20, 2.68 and 0.20 logCFU/ml, while the SimPlate MPN had 2.54, 2.48, 2.31 and 0.84 log CFU/ml, respectively. Chilling is the most sensitive process to reduce the number of bacteria on both media. Chlorination at 1.5 ppm reduced *Campylobacter* spp. by 97.46% and 58.62% on mCCDA and SimPlate MPN. Ozonation at 1.92 ppm with co-current flow reduced the *Campylobacter* spp. by 77.33 % and 60.48 % at 30 min exposure and 71.99 % and 87.51 % at 60 min on the respective media. Ozonation at the chilling step appeared to be an effective and alternative method of reduce the number of bacteria in poultry processing.

Keywords : *Campylobacter* / mCCDA / SimPlate / MPN / Sensitivity

[1]ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี RADAL
[2]ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

Campylobacter jejuni เป็นสาเหตุสำคัญที่ก่อให้เกิดโรค Campylobacteriosis ในมนุษย์ (Friedman *et al*., 2000) พบการระบาดในประเทศแถบยุโรป และอเมริกา จากการรายงานใน ปี ค.ศ. 2000 พบว่าอัตราการป่วยโดยมีสาเหตุจากเชื้อ *Campylobacter jejuni* คือ 15.7 ใน 100,000 คน (CDC., 2001) ตรวจพบเชื้อ *C. jejuni*ในไก่คิดเป็นร้อยละ 23.1 ถึง 59.0 (Verma *et al*., 2000) และปัจจุบันพบการรายงานการปนเปื้อนของเชื้อ *Campylobacter jejuni* ในผลิตภัณฑ์ไก่สดและไก่แช่เย็นในซุปเปอร์มาร์เก็ตต่างๆในเขตกรุงเทพมหานคร โดยพบ *C. coli* ร้อยละ 66.6 และ *C. jenuni* ร้อยละ26.6 (สุวนีและจริยา, 2539) ซึ่งการแพร่กระจายของเชื้อ *Campylobacter* spp. มักพบในเนื้อไก่สดและเนื้อไก่แช่แข็งโดยปริมาณที่อาจก่อให้เกิดอาการป่วยคือประมาณต่ำกว่า 500 เซลล์ (Black *et al*., 1988) เมื่อเชื้อเข้าสู่ร่างกายพบว่าผู้ป่วยจะมีไข้สูง ถ่ายเป็นมูกเลือด ปวดท้องและคลื่นไส้อาเจียนในบางรายถ้าปริมาณเชื้อที่ได้รับมีปริมาณมากอาจส่งผลกระทบต่อระบบภูมิคุ้มกันในร่างกายเช่นก่อให้เกิดโรค Miller Fisher Syndrome (MFS) ส่งผลต่อระบบประสาทซึ่งอาจทำให้เกิดโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรง Guillain-Barre Syndrome (Nachamkin and Blaser, 2000) โรงงานผลิตเนื้อไก่ ไม่พบว่ามีการแบ่งตัวหรือเพิ่มจำนวนของ *Campylobacter* spp. แต่ปริมาณเชื้อที่พบบนตัวไก่เป็นปริมาณเชื้อที่ติดมาจากตัวไก่และยังสามารถแพร่กระจายไปยังซากไก่ ชิ้นส่วนไก่และผลิตภัณฑ์ไก่ที่ไม่มีเชื้อได้ (ICMSF, 1996) ดังนั้น การแพร่กระจายของเชื้อ *Campylobacter* spp. นั้นอาจปนเปื้อนจากไก่มาสู่ผู้บริโภคได้หากกระบวนการควบคุมและลดปริมาณเชื้อในโรงงานผลิตและชำแหละไก่ไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอ ซึ่งผู้บริโภคอาจได้รับเชื้อ *Campylobacter* spp. ได้ในลักษณะของการปนเปื้อนข้าม (cross contamination)

แนวทางในการลดปัญหาการปนเปื้อนเชื้อ *Campylobacter* spp.มี ด้วยกันหลายหนทาง โดยการเลือกวิธีการแก้ปัญหานั้นจะต้องคำนึงถึงมาตรฐานการส่งออกของประเทศคู่ค้า และความปลอดภัยของผู้บริโภคด้วย ซึ่งปัจจุบัน วิธีการที่นิยมนำมาใช้ในการแก้ปัญหาการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปอาหาร คือ นำสารฆ่าเชื้อมาใช้ ซึ่งที่นิยมใช้ได้แก่ สารประกอบคลอรีนประเภทต่างๆ เช่น ก๊าซคลอรีน แคลเซียมไฮเปอร์คลอไรต์ และโซเดียมไฮโปคลอไรต์ แต่พบว่าสารประกอบคลอรีนยังมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อหรือลดจำนวนจุลินทรีย์ได้ไม่ดี และหากใช้ปริมาณมากจะทำให้เกิดสารไตรฮาโลมีเทนซึ่งเป็นสารก่อมะเร็ง ด้วยเหตุนี้ โอโซน ซึ่งเป็นก๊าซธรรมชาติ ที่มีคุณสมบัติเป็นตัวออกซิไดซ์ที่รุนแรงกว่าคลอรีน 1.5 เท่าจึงมีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อที่ก่อโรคในอาหารและผักและผลไม้ได้ดีกว่าคลอรีนและสารฆ่าเชื้อตัวอื่น (Xu, 1999) นอกจากนี้การใช้โอโซนในการฆ่าเชื้อจะไม่ก่อปัญหาสารเคมีตกค้างของไตรฮาโลมีเทนซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม เนื่องจากโอโซนสามารถสลายตัวเป็นออกซิเจนได้อย่างอัตโนมัติเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ในปี ค.ศ.1997 สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (USFDA) ได้ประกาศให้โอโซนเป็นสารที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารได้อย่างปลอดภัย (GRAS; Generally Recognized As Safe) (Graham, 1997) ทำให้มีการประยุกต์ใช้โอโซนในอุตสาหกรรมอาหารในประเทศไทย เช่นโรงงานผักและผลไม้ส่งออก โรงงานผลิตน้ำดื่มเป็นต้น โดยมีงานวิจัยของนักวิจัยไทยออกมาสนับสนุน เช่นการศึกษาการลดแบคทีเรียในผักสลัด และการกำจัดเชื้อราในห้องบ่มเนยและโรงเพาะเห็ด โครงการส่วนพระองค์สวนจิตรลดา และการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการล้างผักด้วยสารไตรโซเดียมฟอสเฟต คลอรีนและโอโซน(ฆรณี และคณะ, 2547) ในส่วนของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์มีการนำโอโซนมาใช้ในการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* spp. และ *Listeria* spp. บนซากสุกรด้วยสารละลายโอโซนอิ่มตัว (สืบเนื่อง, 2549) การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการกระจายตัวของการปนเปื้อนเชื้อ *Campylobacter* spp. ในขั้นตอนการผลิตและชำแหละไก่พร้อมทั้งศึกษาประสิทธิภาพของสารละลายโอโซนในการลดปริมาณเชื้อ *Campylobacter jejuni* ในกระบวนการลดอุณหภูมิซากในสายการผลิตและชำแหละไก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. ศึกษาปริมาณเชื้อ *Campylobacter jejuni* ในขั้นตอนต่าง ๆของสายการผลิตไก่

นำซากไก่ 1 ตัว (2.5 kg) จากขั้นตอนลวก ขั้นตอนถอนขน และขั้นตอนล้าง ขั้นตอนละ 20 ตัวอย่าง เก็บตัวอย่างทุกๆ 10 นาที ใส่ในถุงโพลีเอทิลลีนเติม Buffered Peptone Water และขั้นตอนการลดอุณหภูมิซาก ใช้ Butterfield's Phosphate-Buffered Dilution Water ปริมาณ 100 มิลลิลิตร ล้างซากไก่(carcass rinse) เป็นเวลา 1 นาที (New Zealand Food Safety Authority, 2007) เก็บตัวอย่างน้ำล้างซากไก่ (carcass rinse) โดยการควบคุมอุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส ระหว่างการขนส่งจนถึงห้องปฏิบัติการ ตรวจสอบจำนวนเชื้อ โดยวิธี spread plate จำนวน 0.1 มิลลิลิตรต่อตัวอย่าง บนอาหาร mCCDA agar (Oxoid, UK) และ 1 มิลลิลิตร ต่อตัวอย่างบน SimPlate (Biocontrol, UK) เพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 42±2 องศาเซลเซียส ในสภาวะ microaerobic (5% ออกซิเจน 10% คาร์บอนไดออกไซด์และ 85% ไนโตรเจน) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ลักษณะโคโลนีของ *C. jenuni* บนอาหาร mCCDA agar (Oxoid, UK) มีสีขาวลักษณะเป็นเมือก นำโคโลนีต้องสงสัยมาทดสอบชีวเคมี (Biochemical test) (oxidase , catalase , Hippurate hydrolysisและ Glucose utilization) การตรวจวิเคราะห์การเจริญของเชื้อใน SimPlate (Biocontrol, UK) ทำการตรวจนับจำนวน โดยหลุมที่มีสีแดงและเรืองแสงอัลตราไวโอเลตให้ผลเป็นบวกคือพบ *C. jenuni* แต่ถ้าหลุมมีสีแดงแต่ไม่เรืองแสงอัลตราไวโอเลตให้ผลเป็นลบ และนำผลที่ได้เทียบตาราง Probability Per Plate

2. ศึกษาประสิทธิภาพสารละลายคลอรีนและโอโซนต่อการลดเชื้อ *Campylobacter jejuni* ที่ปนเปื้อนบนซากไก่ในขั้นตอนการลดอุณหภูมิซาก

3. ศึกษาประสิทธิภาพสารละลายคลอรีนต่อการลดเชื้อ *C. jenuni*

เก็บตัวอย่างจากสายการผลิตและชำแหละไก่ในขั้นตอนการลดอุณหภูมิซาก (Chilling) ซึ่งมีความเข้มข้นของคลอรีน 1.5 ppm ทุกๆ 10 นาที จำนวน 20 ตัวอย่างนำซากไก่ (2.5 kg) ใส่ในถุงโพลีเอทิลลีนเติม Butterfield's Phosphate-Buffered Dilution Water 100 มิลลิลิตร ทำการล้างซากไก่เป็นเวลา 1 นาที เก็บตัวอย่างโดยการควบคุมอุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส ระหว่างการขนส่งจนถึงห้องปฏิบัติการ ตรวจสอบจำนวนเชื้อตามวิธีการข้างต้น

4. ศึกษาประสิทธิภาพสารละลายโอโซนต่อการลดเชื้อ *C. jenuni*

เก็บตัวอย่างซากไก่ก่อนเข้าสู่ขั้นตอนการลดอุณหภูมิซาก ทุกๆ 5 นาที จำนวน 15 ตัวอย่าง (เก็บ 3 ซากต่อ 1 ตัวอย่าง) ซากที่ 1 นำไปตรวจหาปริมาณเชื้อเริ่มต้น ตามวิธีในข้อที่ 1 ซากที่ 2 และ 3 นำไปผ่านการลดอุณหภูมิซากโดยการใช้สารละลายโอโซนเข้มข้น 1.92 ppm (Corona discharge Model OZ 3070, Thailand) อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 และ 60 นาที ตามลำดับ นำซากไก่ที่ได้วิเคราะห์หาปริมาณเชื้อ *C. jenuni* ตามวิธีการข้างต้น

ผลการทดลอง

ปริมาณเชื้อ *Campylobacter jejuni* ในสายการผลิตไก่

จากการเก็บตัวอย่างน้ำล้างซากไก่(carcass rinse) ในแต่ละขั้นตอนของการผลิตและชำแหละไก่ เพื่อนำมาตรวจหาปริมาณเชื้อ *C. jenuni* บนอาหาร SimPlate และ mCCDA พบว่าในขั้นตอนของการลวก (Scalding) มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 2.54 และ 3.35 log CFU/ml ตามลำดับ ขั้นตอนของการถอนขน (Plucking feather) มีปริมาณเชื้อเริ่มต้น เท่ากับ 2.40 และ 3.20 logCFU/ml ตามลำดับ ขั้นตอนการล้าง (Washing) มีปริมาณเชื้อเริ่มต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เท่ากับ 2.31 และ 2.68 log CFU/ml ตามลำดับ ขั้นตอนลดอุณหภูมิซาก(Chilling carcasses) มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 0.84 และ 0.20 log CFU/ml ตามลำดับ ดังแสดงใน Figure 1

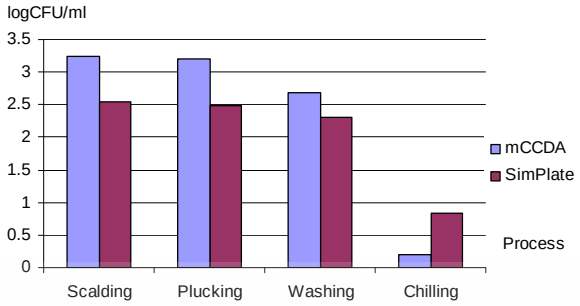

Figure 1 Means of *Campylobacter jejuni* numbers after scalding, plucking, washing, and chilling steps of broiler carcasses using mCCDA plating and SimPlate MPN for analysis.

การลดปริมาณเชื้อ *C. jenuni* ด้วยคลอรีนในขั้นตอนการลดอุณหภูมิซาก

ปริมาณเชื้อ *C. jenuni* ก่อนการลดอุณหภูมิซาก

ปริมาณเชื้อ *C. jenuni* ก่อนเข้าสู่ขั้นตอนการลดอุณหภูมิซากบนอาหาร mCCDA และ SimPlate โดยเฉลี่ยเท่ากับ 2.94 และ 1.47 log CFU/ml ตามลำดับ ค่าความเป็นกรดด่างโดยเฉลี่ยระหว่างการลดอุณหภูมิซากด้วยระบบคลอรีนมีค่า 8.13 อุณหภูมิซากไก่ก่อนลดอุณหภูมิซากเฉลี่ย 39.18 องศาเซลเซียส อุณหภูมิน้ำเริ่มต้นก่อนการลดอุณหภูมิซากเฉลี่ย 5.75 องศาเซลเซียส โดยปกติเมื่อซากไก่ออกจากขั้นตอนการลดอุณหภูมิซากต้องมีอุณหภูมิต่ำกว่าหรือเท่ากับ 4 องศาเซลเซียส วัตถุประสงค์เพื่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

ปริมาณเชื้อ *C. jenuni* หลังการลดอุณหภูมิซากด้วยระบบคลอรีนของเชื้อ *C. jenuni*

ปริมาณเชื้อ *C. jenuni* หลังออกจากขั้นตอนการลดอุณหภูมิซากบนอาหาร mCCDA และ SimPlate โดยเฉลี่ยเท่ากับ 0.79 และ 1.99 log CFU/ml ตามลำดับ ปริมาณการลดลงของเชื้อ *C. jenuni* เท่ากับ 2.15 logCFU/ml แต่ เมื่อตรวจวัดปริมาณเชื้อ *C. jenuni* ด้วย SimPlate ปริมาณเชื้อ *C. jenuni* กลับเพิ่มสูงขึ้น 0.52 logCFU/ml ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองการหาปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ SimPlate สามารถตรวจพบปริมาณเชื้อ *C. jenuni* ได้มากกว่า mCCDA ในขั้นตอนการลดอุณหภูมิซาก ซึ่งแสดงถึงปริมาณเชื้อ *C. jenuni* ที่เหลือรอดภายหลังออกจากขั้นตอนการลดอุณหภูมิซาก ค่าความเป็นกรดด่างโดยเฉลี่ยหลังการลดอุณหภูมิซากด้วยระบบคลอรีนมีค่า 7.76 อุณหภูมิซากไก่หลังลดอุณหภูมิซากเฉลี่ย 5.1องศาเซลเซียส อุณหภูมิน้ำหลังการลดอุณหภูมิซากเฉลี่ย 5.75 องศาเซลเซียส

ประสิทธิภาพการลดอุณหภูมิซากด้วยระบบคลอรีนของเชื้อ *C. jenuni*

อัตราการลดลงของเชื้อ *C. jenuni* วิเคราะห์ด้วย mCCDA มีค่าเฉลี่ยการลดลงร้อยละ 95.82 แต่อัตราการลดลงของเชื้อบนอาหาร SimPlate MPN เฉลี่ยร้อยละ 18.58 ร้อยละของการลดลงของเชื้อ *C. jenuni* เปรียบเทียบกับปริมาณความเข้มข้นของคลอรีนที่เวลาต่าง ๆ ในการเก็บตัวอย่างดังแสดง Figure 2

ช่วงแรกของการลดอุณหภูมิซากด้วยคลอรีนมีความเข้มข้นประมาณ 1.2 ppm ในช่วงตัวอย่างที่ 1-5 เมื่อถึงตัวอย่างที่ 6 พบว่าระดับความเข้มข้นของคลอรีนลดระดับลงส่งผลให้ร้อยละของประสิทธิภาพการลดเชื้อ *C. jenuni* ลดลง จากเดิม 7 เท่า เมื่อความเข้มข้นของคลอรีนถูกปรับให้สูงขึ้นในตัวอย่างที่ 14 จึงส่งผลให้ร้อยละของประสิทธิภาพการลดเชื้อ *C. jenuni* อยู่ในระดับปกติ และที่ตัวอย่างที่ 20 พบร้อยละของประสิทธิภาพการลดเชื้อ *C. jenuni* ลดลงนั้นอาจเป็นเพราะปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่สูงในช่วงก่อนเข้ากระบวนการลดอุณหภูมิซากและจะสังเกต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้ว่าในช่วงท้ายของการเก็บตัวอย่างจะมีปริมาณคลอรีนค่อนข้างสูงอันเนื่องมาจากการลดปริมาณน้ำแข็งที่ใช้ในการลดอุณหภูมิซาก เนื่องจากช่วงเวลาดังกล่าวเป็นช่วงเวลาสิ้นสุดการผลิตจึงลดปริมาณน้ำแข็งลง

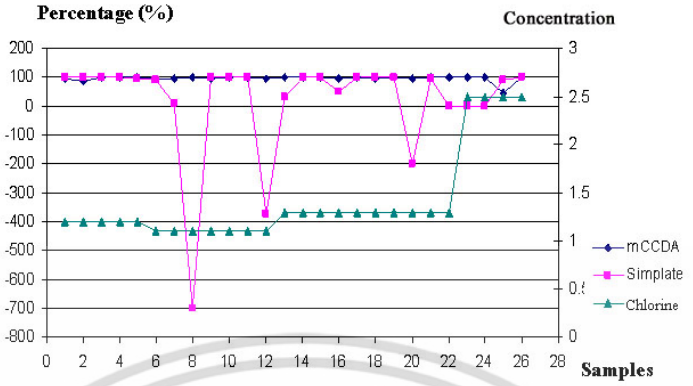

Figure 2 Reductions after factory chlorinated chilling tank from mCCDA and SimplateMPN during the first 100 min.

การลดปริมาณเชื้อ *C. jenuni* ในขั้นตอนการลดอุณหภูมิซากด้วยระบบโอโซน

ปริมาณเชื้อ *C. jenuni* ก่อนเข้าสู่กระบวนการลดอุณหภูมิซาก

พบปริมาณเชื้อ *C. jenuni* บน mCCDA และ SimPlate เฉลี่ย 3.22 และ 2.21 logCFU/ml ตามลำดับ ปริมาณเชื้อ *C. jenuni* บนอาหารทั้งสองชนิดมีแนวโน้มที่เป็นไปในทิศทางเดียวกันแต่ mCCDA สามารถตรวจปริมาณเชื้อ *C. jenuni* ก่อนเข้ากระบวนการลดอุณหภูมิซากได้มากกว่า SimPlate

ประสิทธิภาพการลดเชื้อ *C. jenuni*. ในขั้นตอนการลดอุณหภูมิซากด้วยระบบโอโซน เป็นเวลา 30 นาที

กระบวนการลดอุณหภูมิซากด้วยระบบโอโซน เป็นเวลา 30 นาที พบว่ามีปริมาณเชื้อ *C. jenuni* เหลือรอด เฉลี่ย 2.22 และ 1.51 logCFU/ml บนอาหาร mCCDA และ SimPlate ตามลำดับ โดยพบว่า สามารถลดปริมาณเชื้อ *C. jenuni* ได้ 1.00 และ 0.69 logCFU/ml คิดเป็นร้อยละ 77.33 และ 60.48 บนอาหาร mCCDA และ SimPlate ตามลำดับ ปริมาณความเข้มข้นของโอโซนในระหว่างการเก็บตัวอย่าง แสดงใน Figure 3 ความเข้มข้นของโอโซนโดยเฉลี่ยในช่วง 30 นาที เท่ากับ 1.014 ppm ซึ่งบางช่วงของการทดลองความเข้มข้นของโอโซน มีความเข้มข้นต่ำกว่า 1 ppm แต่ก็สามารถลดปริมาณเชื้อได้มากกว่าร้อยละ 50 สำหรับบริเวณที่มีความเข้มข้นของโอโซนสูง

หลังจากลดอุณหภูมิซากด้วยระบบโอโซน พบปริมาณเชื้อ *C. jenuni* เหลือรอดเฉลี่ย1.82 และ 1.11 log CFU/ml คิดเป็นร้อยละการลดลงของเชื้อ *C. jenuni* 71.99 และ 87.51 บนอาหาร mCCDA และ SimPlate ตามลำดับ โดยปริมาณเชื้อ *C. jenuni* เมื่อตรวจบนอาหารทั้งสองชนิดเป็นไปในทิศทางเดียวกัน แต่บางตัวอย่างก็ไม่สามารถตรวจพบบนอาหาร SimPlate แต่ ตรวจพบบนอาหาร mCCDA อยู่ในระดับที่ไม่เกิน 2.25 log CFU/ml โดยความเข้มข้นของโอโซนโดยเฉลี่ยระหว่างทำการทดลอง เท่ากับ 0.36 ppm. ความเข้มข้นของโอโซนที่ลดลงนั้นอาจมาจากการถูกใช้งานในการลดเชื้อไปในบางส่วนและบางส่วนอาจเกิดการเสียสภาพเนื่องจากอุณหภูมิที่สูงขึ้นระหว่างการลดอุณหภูมิซาก อุณหภูมิส่งผลต่อความเข้มข้นของโอโซนคือโอโซนสามารถคงตัวได้ดีในสภาวะที่มีอุณหภูมิต่ำและในบางช่วงของการทดลองความเข้มข้นของโอโซนเป็น 0 ppm. แต่ร้อยละการลดลงของเชื้อ *C. jenuni*. อยู่ในระดับที่มากกว่าร้อยละ 50 ซึ่งปริมาณความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เข้มข้นของโอโซนในท้ายกระบวนการมิได้บ่งบอกถึงประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อ เพียงแต่ทำให้ทราบถึงความเข้มข้นที่เหลืออยู่ในน้ำที่ใช้ลดอุณหภูมิซาก

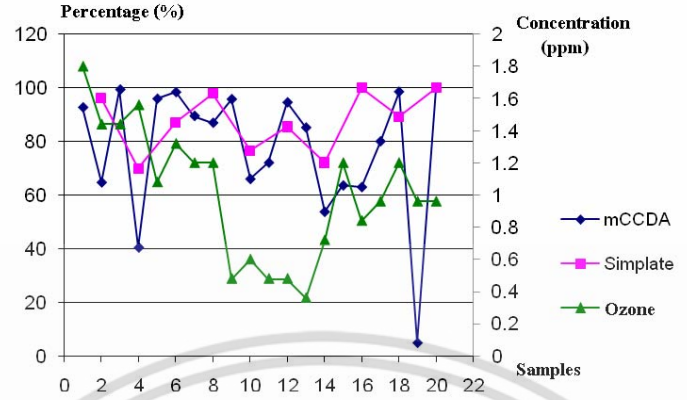

Figure 3 Ozone concentrations (for 30 min.) in chilling water and reduction of *Campylobacter jejuni* numbers during the first 100 min.

ประสิทธิภาพการลดเชื้อ *C. jenuni*. ในขั้นตอนการลดอุณหภูมิซากด้วยโอโซนเป็นเวลา 60 นาที

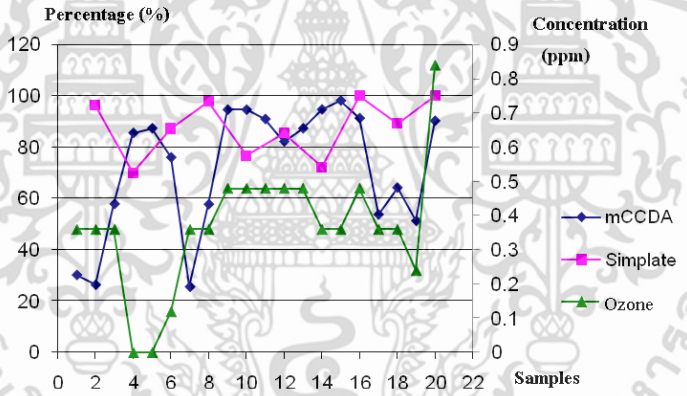

Figure 4 Ozone concentrations (for 60 min.) in chilling water and reduction of *Campylobacter jejuni* numbers during the first 100 min.

การลดเชื้อ *C. jenuni* ด้วยระบบคลอรีนกับระบบโอโซนในกระบวนการลดอุณหภูมิซากบนอาหาร mCCDA และ SimPlate

ร้อยละการลดลงของเชื้อ *C. jenuni* แสดงใน Figure 5 เมื่อใช้คลอรีนในการลดปริมาณ เชื้อ *C. jenuni* และตรวจนับบนอาหาร mCCDA พบว่า ร้อยละการลดลงเท่ากับ 97 ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับการตรวจนับบนอาหาร SimPlate ซึ่งมีปริมาณการลดลงร้อยละ 20 แสดงว่าอาหาร SimPlate ตรวจพบเชื้อซึ่งอาจได้รับการบาดเจ็บเนื่องจากถูกทำลายด้วยคลอรีนได้มากกว่า เนื่องจากอาหาร SimPlate เป็นอาหารเหลวซึ่งสามารถ recovery เชื้อ *C. jenuni* ที่ได้รับบาดเจ็บจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทำลายด้วยคลอรีนได้ดีกว่า mCCDA ซึ่งเป็นอาหารแข็ง ส่วนการลดเชื้อ *C. jenuni* ด้วยโอโซนเป็นระยะเวลา 30 นาที เชื้อ *C. jenuni* มีปริมาณลดลงหลังการได้รับโอโซนประมาณร้อยละ 79 และ 60 บน mCCDA และ SimPlate ตามลำดับ ในขณะที่การใช้โอโซน 60 นาที สามารถลดเชื้อได้ร้อยละ 75 และ 85 บน mCCDA และ SimPlate ตามลำดับ จากการทดลองพบว่า ความแตกต่างของปริมาณเชื้อ *C. jenuni* ภายหลังการลดเชื้อด้วยคลอรีนและโอโซนมีความแตกต่างกันบนอาหาร mCCDA และ SimPlate การลดเชื้อด้วยคลอรีน จะสามารถตรวจพบบนอาหารเหลว (SimPlate) ได้มากกว่าอาหารแข็ง(mCCDA) แต่การลดเชื้อด้วยโอโซนที่ระยะเวลา 30 และ 60 นาที แสดงถึงการลดลงของเชื้อ *C. jenuni* ที่มีแนวโน้มเป็นไปในทิศทางเดียวกันทั้งอาหาร mCCDA และ SimPlate

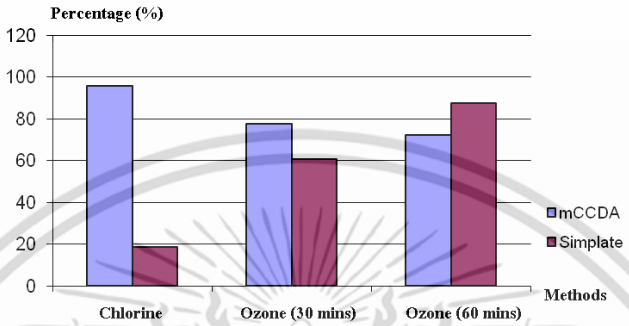

Figure 5 Comparisons of the reduction (%) of *Campylobacter jejuni* with chlorination for 60 min and ozonation for 30 and 60 min at chilling tank enumerated with mCCDA and SimPlate MPN methods.

สรุปผลการทดลอง

สายการผลิตไก่โดยทั่วไป มีระบบการลดอุณหภูมิซากไก่โดยใช้น้ำเย็นนั้น นิยมใช้คลอรีนเป็นสารฆ่าเชื้อเพื่อลดจำนวนจุลินทรีย์ ซึ่งสามารถลดปริมาณเชื้อ *C. jenuni* ได้ ร้อยละ 95.82 และ 18.58 บนอาหาร mCCDA และ SimPlate ตามลำดับ ในขณะที่การใช้โอโซนแทนคลอรีนเป็นเวลา 30 เมื่อตรวจนับบนอาหาร mCCDA และ SimPlate มีร้อยละการลดลงของเชื้อ *C. jenuni* เท่ากับ 77.33 และ 60.48 บนอาหาร mCCDA และ SimPlate ตามลำดับ เมื่อเวลาการฆ่าเชื้อ *C. jenuni* ครบ 60 นาที พบว่าร้อยละการลดลงของเชื้อ *C. jenuni* เท่ากับ 71.99 และ 87.51 บนอาหาร mCCDA และ SimPlate ตามลำดับ

วิจารณ์ผลการทดลอง

ปริมาณเชื้อ *C. jenuni* ในขั้นตอน การลวก (Scalding) การถอนขน (Plucking) การล้าง (Washing) และการลดอุณหภูมิซาก (chilling) ในสายการผลิตไก่ พบว่าปริมาณเชื้อ *C. jenuni* 2.54 2.48 2.31 และ 0.84 ตามลำดับ บนอาหาร Simplate และ 3.35 3.20 2.68 และ 0.2 log CFU/ml บนอาหาร mCCDA แต่จากการศึกษาของ Berrang and Dickens (2000) ไก่ก่อนเข้าสู่กระบวนการลวกมีปริมาณเชื้อ *C. jenuni* 4.73 log CFU/g เมื่อผ่านขั้นตอนการลวกซากพบว่าปริมาณเชื้อลดลงเหลือ 1.8 log CFU/g แต่เพิ่มขึ้นเมื่อผ่านกระบวนการถอนขนพบว่ามีปริมาณเชื้อ 3.7 log CFU/g โดยยางถอนขน เป็นแหล่งของการปนเปื้อนข้าม สำหรับขั้นตอนการล้างซากนั้นเป็นขั้นตอนที่ถูกจำกัดประสิทธิภาพด้วยหลายปัจจัย เช่น อุณหภูมิน้ำ แรงดัน ซึ่งจะส่งผลต่อการลดปริมาณเชื้อที่แตกต่างกัน (Bashor et al.,2004) และในขั้นตอนการลด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุณหภูมิซากที่จะป้องกันการปนเปื้อนข้ามของเชื้อ *C. jenuni* นั้นต้องใช้คลอรีนเข้มข้น 20-50 ppm และมี pH เท่ากับ 6.0 เนื่องจากในขั้นตอนนี้จะมีปริมาณสารอินทรีย์ที่สูง (USDA 1995)

จากการทำการทดลองลดเชื้อ *C. jenuni* ด้วยคลอรีน เป็นเวลา 60 นาที พบว่า สามารถลดปริมาณเชื้อ *C. jenuni* ได้ 2.15 log CFU/ml ที่ระดับความเข้มข้นของคลอรีนเฉลี่ย 1.5 ppm ซึ่งสามารถลดเชื้อ *C. jenuni* ได้เช่นเดียวกับการทดลองของ Hoon Park et al. (2002) ซึ่งเป็นการทดลองการใช้คลอรีนเข้มข้น 25 ppm ลดปริมาณเชื้อ *C. jenuni* ลงได้ 3-4 log CFU/ml และพบว่าเชื้อที่ลดลงไม่สามารถกลับคืนสู่สภาพปกติได้

จากการทำการทดลอง พบว่า โอโซนสามารถลดปริมาณเชื้อ *C. jenuni* ได้ประมาณ 1 log CFU/ml ที่ระดับความเข้มข้นของโอโซนเฉลี่ย 0.36 ppm ซึ่งสามารถลดเชื้อ *C. jenuni* ได้เช่นเดียวกับการทดลองของ Pascual et al. (2007) ซึ่งเป็นการทดลองใช้โอโซนที่ระดับความเข้ม 2.1 ppm ฉีดพ่นลงบนตัวอย่างแต่สามารถลดเชื้อได้ 4 log CFU/ml เนื่องจากการฉีดพ่นนั้นจะลดลงหรือป้องกันการเกิดการปนเปื้อนข้ามระหว่างตัวอย่างที่นำมาทำการทดลองได้ ในขณะที่การทดลองแบบจุ่มนั้นปริมาณเชื้อที่หลงเหลืออยู่ในน้ำสามารถปนเปื้อนข้ามเข้าสู่ตัวอย่างถัดไปได้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนวิจัย (สกว.) ภายใต้โครงการทุนวิจัยมหาบัณฑิต สกว. สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ประจำปี 2550 โดยความร่วมมือของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

เอกสารอ้างอิง

ฆรณี ตุ้ยเต็มวงศ์ ประเวทย์ ตุ้ยเต็มวงศ์ กฤติยา เลี่ยวชวลิต และเสริมสิริ วิจัยวรกิจ. 2547. การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการล้างผัก ด้วยสารไตรโซเดียมฟอตเฟต คลอรีน และโอโซน. การประชุมเชิงวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. ครั้งที่14. หน้า 230-235.

สืบเนื่อง ชัยชนะ. 2549. การลดการปนเปื้อนเชื้อ *Sallmonella* spp. และ *Listeria* sp. บนซากสุกรด้วยสารละลายโอโซนอิ่มตัว ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

สุวนี สุภเวชย์ และจริยา สินเดิมสุข. 2539. การตรวจหาเชื้อ *Campylobacter* spp. ในเนื้อไก่สดแช่เย็นจากตลาดสดและซุปเปอร์มาร์เก็ตต่างๆ ในกรุงเทพมหานคร ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒและภาควิชาจุลชีววิทยาและอิมมิวโนโลยี คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล.

Black. R.E., M.M. Levine, M.L. Clements, T.P. Hughs and M.J. Blaser. 1988. Experimental *Campylobacter jejuni* infection in humans. Infection Vol. 157 pp.472-479

Centers for Disease Control and Prevention. 2001. Preliminary food net data on the incidence of foodborne illnesses-selected sites. United States. 2000. Morbid Mortal Weekly. Vol.52(13) pp.241-246.

Centers for Disease Control and Prevention. 2003. Preliminary food net data on the incidence of foodborne illnesses-selected sites. United States. 2002. Morbid Mortal Weekly. Vol 52(15) pp.340–343.

Friedman, C.R., J. Neimann, H.C. Wegener and R.V. Tauxe. 2000. Epidemiology of *Campylobacter jejuni* infections in the United States and other industrialized nations. In: Nachamkin. I. Blaser. M.J. (Eds.). *Campylobacter*. 2nd ed. ASM Press. Washington. DC. pp.121– 138.

Graham, D.M. 1997. Use of ozone for food processing. Food Technology. Vol.51(6) pp.72-75.

ICMSF. 1996. Microorganisms in Foods 5: Microbiological Specifications of Pathogens. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Blackie Academic & Professional. an imprint of Chapman & Hall. New York.

Nachamkin, I and M.J. Blaser. 2000. Campylobacter. 2nd ed. Washington, D.C. ASM Press. pp.497–510.

New Zealand Food Safety Authority. 2007. DRAFT National Microbiological Database [Online] Available: http://www.nzfsa.govt.nz/animalproducts/publications/consultation/drafts/nmd/page-03.htm [2007, Jan].

Pascual, A., I. Llorca andA. Canut. 2007. Use of ozone in food industries for reducing the environmental impact of cleaning and disinfection activities. Trends in Food Science & Technology. Vol. 18(1) pp.29-35.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Verma, S.K., N. Jagadeesh, H.K. Mukhopadhyay and N. Dorairajan. 2000. Incidence of *Campylobacter jejuni* in poultry and Their Carcasses. Food Science Technology. Vol.37 pp.639-641.

Xu, L. 1999. Use of ozone to improve the safety of fresh fruits and vegetables. Food Technology. Vol.53(10) pp.58–63.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้