รายงานวิจัย

ผลของกรดแลคติกและสาร Pediocin PA-1 จาก *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ต่อการลดจำนวนเชื้อซัลโมเนลลาในเนื้อโคชำแหละจำหน่ายปลีก

โดย

รศ.ดร. อดิศร เสวตวิวัฒน์

RCH
QR
901
.S95
0198ผ
เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 83896
วัน,เดือน,ปี 19 ก.ย. 2551

โครงการวิจัยเงินรายได้ประจำปีงบประมาณ 2549

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

b 11984429

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ โครงการวิจัยเงินรายได้ประจำปีงบประมาณ 2549 คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่สนับสนุนให้ทุนวิจัยในหัวข้อดังกล่าว รวมทั้งอนุเคราะห์สถานที่วิจัยจนงานวิจัยสามารถสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี และผู้วิจัยขอขอบคุณ คุณ อรุณ บ่างตระกูลนนท์ และเจ้าหน้าที่จาก WHO Salmonella-Shigella Center สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการตรวจแยกวินิจฉัยชนิดสายพันธุ์เชื้อซัลโมเนลลาที่ตรวจพบในงานวิจัยนี้ ขอขอบคุณ นางสาว สมัญญา สุขพหล นักศึกษาปริญญาโทสาขาอุตสาหกรรมเกษตร ของคณะอุตสาหกรรมเกษตร ที่ช่วยให้งานวิจัยในหัวข้อดังกล่าวเสร็จสมบูรณ์ ขอขอบคุณ รศ.เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์ รศ.ดร. ประภาพร ขอไพบูลย์ ที่ร่วมให้ข้อแนะนำในการทำวิจัยนี้ และขอขอบคุณ ดร.วริพัสย์ อารีกุล และ นาง อัสนี วิจิตระกะที่คอยอำนวยความสะดวกในด้านสารเคมี อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ อุปกรณ์ เครื่องมือปฏิบัติการ และดูแลด้านปฏิบัติการให้กับนักศึกษาปริญญาโทในขณะที่ข้าพเจ้าปฏิบัติงานวิจัยที่ต่างประเทศ

ข้อมูลบางส่วนของงานวิจัยนี้ได้นำไปเผยแพร่ในรูปแบบ poster presentation ในงานประชุมวิชาการอุตสาหกรรมเกษตรครั้งที่ 8 ในหัวข้อ การเปรียบเทียบอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อในขั้นตอน selective enrichment และ selective plating ในการตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาในเนื้อโคชำแหละจำหน่ายปลีก ที่ ศูนย์ประชุมไบเทค บางนา ระหว่างวันที่ 15-16 มิถุนายน 2549 จัดโดย ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ร่วมกับ สมาคมวิชาการอุตสาหกรรมเกษตร สมาคมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีทางอาหารแห่งประเทศไทย (FoSTAT) ซึ่งผู้วิจัย ได้แนบเนื้อหาการนำเสนอที่ได้รับตีพิมพ์ลงใน Proceedings ในซีดี ของการประชุมนี้ แนบท้ายรายงานวิจัยนี้ไว้ด้วยแล้ว

รศ.ดร. อดิศร เสวตวิวัฒน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

บทที่		หน้า
1	**บทนำ**	**1**
	1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำวิจัย	1
	1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา	2
	1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
2	**วารสารปริทัศน์**	**3**
	2.1 การปนเปื้อนของเชื้อซัลโมเนลลาในเนื้อสัตว์	3
	2.2 สารยับยั้งจุลินทรีย์แบคเทอริโอซิน (Bavteriocin)	4
	2.3 Pediocin PA-1/AcH	5
	2.4 กรดอินทรีย์	7
	2.5 การใช้ประโยชน์ของกรดแลคติก	8
3	**วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง**	9
	3.1 เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง	9
	3.2 วิธีการวิเคราะห์	9
	3.3 สถานที่ทำการทดลอง	13
	3.7 ระยะเวลาที่ทำการทดลอง	13
4	**ผลการทดลองและวิจารณ์**	14
	4.1 ศึกษาปริมาณและซีโรวาร์ของเชื้อซัลโมเนลลาที่ปนเปื้อนในเนื้อโคสดจากตลาดในเขตพระโขนง เขตประเวศ เขตลาดกระบัง เขตบางกะปิ และ เขตมีนบุรี	14
	4.2 ศึกษาการบาดเจ็บของเชื้อ *S.* Senftenberg, *S.* Anatum และ *S.* Weltevreden จากกรดแลคติก และ Pediocin PA-1 จาก *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ในหลอดทดลอง	17
	4.3 ศึกษาผลของการใช้กรดแลคติก และ Pediocin PA-1 จาก *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 และสารผสมของสารละลายดังกล่าวในการยับยั้งเชื้อซัลโมเนลลาในเนื้อโคชำแหละจำหน่ายปลีก	25

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่		หน้า
	4.4 ผลของการใช้กรดแลคติก และ Pediocin PA-1 จาก *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ต่อค่า pH ของเนื้อโค	32
	4.5 ผลของการใช้กรดแลคติก และ Pediocin PA-1 จาก *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ต่อค่าความสว่างของสี (L*) ของเนื้อโค	34
	4.6 ผลของการใช้กรดแลคติก และ Pediocin PA-1 จาก *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 และสารผสมของสารละลายดังกล่าวต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของเนื้อโคชำแหละจำหน่ายปลีก	37
	4.7 ผลของการใช้กรดแลคติก และ Pediocin PA-1 จาก *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสทางด้านสีและกลิ่นของเนื้อโค	39
5	**สรุปผลการทดลอง**	41
	เอกสารอ้างอิง	42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
3.1	ขั้นตอนการวิเคราห์หาเชื้อซัลโมเนลลาโดยวิธี standard conventional method	10
4.1	ผลของการใช้กรดแลคติกและสาร Pediocin PA-1 ต่อการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* Weltevreden ในหลอดทดลอง (*In vitro* test)	18
4.2	ผลของการใช้กรดแลคติกและสาร Pediocin PA-1 ต่อการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* Anatum ในหลอดทดลอง (*In vitro* test)	20
4.3	ผลของการใช้กรดแลคติกและสาร Pediocin PA-1 ต่อการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* Senftenberg ในหลอดทดลอง (*In vitro* test)	21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	ตัวอย่างของแบคทีเรียแลคติกที่สร้างสารแบคเทอริโอซิน	5
2.2	การจำแนกชนิดของแบคเทอริโอซินที่ผลิตจากแบคทีเรียแกรมบวก	6
4.1	เปรียบเทียบจำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลาในเนื้อวัวชำแหละจำหน่ายปลีกโดยวิธีมาตรฐานจากขั้นตอน selective enrichment	14
4.2	จำนวนเซโรวาร์ต่าง ๆ ของเชื้อซัลโมเนลลาที่ตรวจพบจากเนื้อโคชำแหละจำหน่ายปลีก	15
4.3	ผลของการใช้กรดแลคติกและสาร Pediocin PA-1 ต่อการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* Weltevreden ในหลอดทดลอง (*In vitro* test)	19
4.4	ผลของการใช้กรดแลคติกและสาร Pediocin PA-1 ต่อการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* Anatum ในหลอดทดลอง (*In vitro* test)	20
4.5	ผลของการใช้กรดแลคติกและสาร Pediocin PA-1 ต่อการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* Senftenberg ในหลอดทดลอง (*In vitro* test)	22
4.6	ผลของการใช้กรดแลคติกและสาร Pediocin PA-1 ต่อการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* Anatum ในเนื้อโคชำแหละจำหน่ายปลีกเก็บที่ 4±1 องศาเซลเซียส	26
4.7	ผลของการใช้กรดแลคติกและสาร Pediocin PA-1 ต่อการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* Senftenberg ในเนื้อโคชำแหละจำหน่ายปลีกเก็บที่ 4±1 องศาเซลเซียส	28
4.8	ผลของการใช้กรดแลคติกและสาร Pediocin PA-1 ต่อการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* Weltevreden ในเนื้อโคชำแหละจำหน่ายปลีกเก็บที่ 4±1 องศาเซลเซียส	30
4.9	ผลของกรดแลคติกและสาร Pediocin PA-1 ต่อค่า pH ในเนื้อโคชำแหละจำหน่ายปลีกเก็บที่ 4±1 องศาเซลเซียส	33
4.10	ผลของกรดแลคติกและสาร Pediocin PA-1 ต่อค่าสี (L*) ในเนื้อโคชำแหละจำหน่ายปลีกเก็บที่ 4±1 องศาเซลเซียส	36
4.11	ค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของตัวอย่างเนื้อโคที่ผ่านการจุ่มสารละลายในกลุ่มต่าง ๆ ภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียส	38
4.12	ผลของกรดแลคติกและสาร Pediocin PA-1 ต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสทางด้านสีและกลิ่นในเนื้อโคชำแหละจำหน่ายปลีก	40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำวิจัย

เนื้อโคเป็นแหล่งอาหารโปรตีนที่สำคัญ และ ได้รับความนิยมในการบริโภคมากขึ้นทุกปี เนื่องจากมีรสชาติถูกปากและยังเป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญ แต่ในเนื้อโคดิบมักมีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งกลุ่มก่อให้เกิดการเสื่อมเสียของอาหาร และกลุ่มที่ก่อให้เกิดโรคต่อผู้บริโภคอยู่เสมอ โดยเฉพาะเชื้อซัลโมเนลลา ซึ่งจัดว่าเป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษมากที่สุดเชื้อหนึ่ง (Collin, 1995; Rose et al.,2002) เนื่องจากการจัดการภายในโรงฆ่าสัตว์ โรงงานตัดแต่งและกระบวนการในการขนย้ายเนื้อโคในประเทศไทยยังไม่ได้มาตรฐาน ทำให้มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในเนื้อโคมีปริมาณสูง จากประกาศของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์เรื่องข้อกำหนดสุขลักษณะของอาหารทั่วไปในปีพ.ศ. 2536ได้กำหนดว่า ในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เนื้อดิบควรพบจำนวนจุลินทรีย์รวมต่อกรัมต้องมีปริมาณไม่เกิน 1 X 10^6 โคโลนี/กรัม *Escherichia coli* น้อยกว่า 50 MPN/g และเชื้อโรคปนพิษได้แก่ *Staphylococcus aureus* *Bacillus cereus* และ *Vibrio parahaemolyticus* ต้องพบน้อยกว่า 200 cfu/g *Salmonella* *Clostidium perfringens* และ *V. cholerae* ต่อ 25 กรัมต้องตรวจไม่พบ ในประเทศไทย มีรายงานการตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลาในผลิตภัณฑ์เนื้อโคสดจากตลาดสดและซุปเปอร์มาเก็ต (สุมาลี และคณะ, 2539) ดังนั้นจึงได้มีผู้สนใจทำการการศึกษาหาวิธีการลดจำนวนจุลินทรีย์ให้มีปริมาณน้อยลง โดยที่เนื้อโคยังมีคุณภาพดี ปลอดภัย เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค อีกทั้งเพิ่มอายุการเก็บรักษาให้ยาวนานขึ้น

วิธีการลดจำนวนจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์มีหลายวิธีด้วยกัน และวิธีการหนึ่งซึ่งเป็นที่นิยมใช้กันทั่วไปคือการใช้สารเคมีที่มีสมบัติในการทำลาย และยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดยไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค สารเคมีที่นิยมใช้ คือ กรดแลคติกซึ่งได้รับการอนุญาตจากองค์การอาหารและยาของสหรัฐ (FDA) ให้ใช้ในการผลิตอาหาร แต่การใช้กรดแลคติกความเข้มข้นสูงในการชุบเนื้อโคจะมีผลต่อสีของเนื้อคือทำให้เนื้อสีซีดไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค โดยจากการรายงานของ Snijders *et al.* (1985) พบว่าการใช้กรดแลคติกที่มีความเข้มข้นมากกว่า 1% จะทำให้เนื้อโคมีสีซีดจางลง นอกจากกรดแลคติกจะมีผลต่อสีของเนื้อสัตว์แล้วยังพบว่ามีผลต่อกลิ่นรสของเนื้ออีกด้วย โดยพบว่าการใช้กรดแลคติกความเข้มข้น 1% จะส่งผลให้เนื้อโคมีกลิ่นรสดีขึ้น (Hamby *et al.*, 1987; Prasai *et al.*, 1991) ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงมีการนำ Pediocin PA-1 ซึ่งเป็นสารแบคเทอริโอซินที่ผลิตจาก *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 (Swetwiwathana, 2005) มาใช้ร่วมกรดแลคติกเพื่อลดการใช้ความเข้มข้นของกรดแลคติก เพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

เอกสารนี้สงวนลิขสิทธิ์ ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และให้ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ซึ่งผลที่ได้จากการศึกษาคาดว่าจะเป็นทางเลือกใหม่ของผู้ประกอบการในการเลือกสารถนอมอาหารที่มาจากธรรมชาติและไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. ศึกษาสายพันธุ์ของเชื้อ *Salmonella* ที่พบในเนื้อโคชำแหละจำหน่ายปลีกจากตลาดในเขตพระโขนง เขตประเวศ เขตลาดกระบัง เขตบางกะปิ และ เขตมีนบุรี
2. ศึกษาการยับยั้งเชื้อซัลโมเนลลาที่พบมากที่สุด 3 สายพันธุ์ด้วยการใช้กรดแลคติก Pediocin PA-1และสารผสมของสารดังกล่าวในเนื้อโคชำแหละจำหน่ายปลีกที่ปราศจากเชื้อด้วยการฉายรังสี
3. ศึกษาผลของกรดแลคติก Pediocin PA-1 และสารผสมของสารดังกล่าวต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสของเนื้อโคชำแหละจำหน่ายปลีก

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ผลจากการวิจัยจะทำให้ทราบถึง

1. ปริมาณและซีโรวาร์ของเชื้อซัลโมเนลลาที่ปนเปื้อนในเนื้อโคที่จำหน่ายในตลาดสด

2. ได้วิธีลดปนเปื้อนของเชื้อซัลโมเนลลาในเนื้อโคสด โดยที่สามารถลดการใช้สารยับยั้งจุลินทรีย์ที่

สังเคราะห์จากสารเคมีซึ่งมีผลต่อคุณภาพเนื้อโคสดและอาจส่งผลที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภค

3. ดูแนวโน้มของการใช้ประโยชน์จากแบคเทอริโอซินชนิด pediocin PA-1 ที่ผลิตจากแบคทีเรียแลคติกที่แยกได้จากแหนมของไทย ต่อการยับยั้งเชื้อซัลโมเนลลาที่เป็นปัญหาในเนื้อโคชำแหละ ซึ่งเมื่อสาร pediocin PA-1 มีประสิทธิภาพในการลดเชื้อซัลโมเนลลาได้ดีแล้ว ก็อาจจะเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการผลิตแบคเทอริโอซินดังกล่าว สำหรับใช้ในอุตสาหกรรมอาหารของไทยในอนาคต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
วารสารปริทัศน์

2.1 การปนเปื้อนของเชื้อซัลโมเนลลาในเนื้อสัตว์

คนและสัตว์เป็นแหล่งที่อยู่อาศัยตามธรรมชาติแห่งแรก (primary habitat) ของเชื้อซัลโมเนลลาการเกิดโรคอาหารเป็นพิษที่เรียกว่า salmonellosis เกิดได้ทั้งในคนและสัตว์จะพบได้ในเนื้อสัตว์สืบเนื่องมาจากการบริโภคอาหารหรือน้ำดื่มที่มีเชื้อนี้ปนเปื้อนผ่านทางเดินอาหาร

เนื้อสัตว์ดิบมักปนเปื้อนด้วยเชื้อซัลโมเนลลาซึ่งมักก่อให้เกิดการระบาดด้วยโรค salmonellosis การปนเปื้อนอาจเกิดขึ้นได้ทั้งบริเวณในชั้นกล้ามเนื้อและบริเวณผิวหน้าของเนื้อสัตว์ โดยการปนเปื้อนเกิดเนื่องจากการปนเปื้อนจากอุจจาระมาสู่เนื้อสัตว์ในระหว่างการฆ่า ในสัตว์ใหญ่ เช่น แกะและโคกระบือ การปนเปื้อนมักเกิดในขั้นตอนการฆ่า ผ่าซาก ชำแหละ ตัดแต่งและการขนย้ายเนื้อสัตว์ ข้อกำหนดมาตรฐานอาหารตามประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2536) ระบุว่าอาหารประเภทเนื้อดิบ และผลิตภัณฑ์เนื้อต้องตรวจไม่พบเชื้อ *Salmonella* ในตัวอย่าง 25 กรัม แต่จากการศึกษาของ Bangtrakulnonth *et al.* (1994) พบเชื้อ *Salmonella* ในเนื้อสุกรที่ขายตามตลาดสดจังหวัดชลบุรี 45 เปอร์เซ็นต์ โดยประกอบด้วย 13 สายพันธุ์ ได้แก่ *S.* Derby *S.* Krefeld *S.* Agona *S.* Rissen *S.* Cerro *S.* Lexington *S.* Stanley *S.* Anatum *S.* London *S.* Enteritidis *S.* Panama *S.* Albany และ *S.* Bovismorbificans สุมาลี และคณะ (2540) ได้ทำการตรวจสอบหาเชื้อซัลโมเนลลาในผลิตภัณฑ์เนื้อวัว ได้แก่ ลูกชิ้นเนื้อวัวและเนื้อแดดเดียว จำนวน 40 ตัวอย่างพบว่ามีการปนเปื้อนเชื้อซัลโมเนลลา 67.5% และยังได้ศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ และเนื้อสุกร อันได้แก่ ไส้กรอก ลูกชิ้น แหนม กุนเชียง ไก่ยอ และหมูยอ รวมทั้งสิ้น 200 ตัวอย่าง ที่จำหน่ายตามห้างสรรพสินค้า และตลาดสดในเขตกรุงเทพมหานครและจังหวัดนนทบุรีพบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อซัลโมเนลลา 32 ตัวอย่าง (16%) โดยเป็นผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ 8 ตัวอย่าง และเป็นผลิตภัณฑ์เนื้อสุกร 24 ตัวอย่าง โดยสายพันธุ์ที่พบได้แก่ *S.* Heidelberg, *S.* Anatum, *S.* Rissen, *S.* Hadar, *S.* Panama,*S.* Enteritidis, *S.* Amsterdam, *S.* Newport, *S.* London, *S.* Tennessee และ *S* .Livington นอกจากนี้ยังพบการรายงานถึงการปนเปื้อนของเชื้อซัลโมเนลลาในประเทศต่างๆอีก คือ Mrema *et al.* (2004) ได้ทำการตรวจสอบหาเชื้อซัลโมเนลลาในผลิตภัณฑ์เนื้อวัวสด 122 ตัวอย่าง ไส้กรอก 120 ตัวอย่าง และเบอร์เกอร์ 58 ตัวอย่าง โดยสุ่มตัวอย่างจากร้านค้าใน Gaborone ประเทศ Botswana จากการตรวจสอบพบการปนเปื้อนของเชื้อซัลโมเนลลา 20% โดยพบเชื้อซัลโมเนลลา Group B มากที่สุด ตามมาด้วย group C , group E และ group G ตามลำดับ และ ในปี 1988 Forsythe and Hayes ได้รายงานว่าผลิตภัณฑ์อาหารจากเนื้อสัตว์ คือ พายเนื้อ ไส้กรอก เบคอน แฮม และ แซนวิช ที่วางไว้ที่อุณหภูมิห้องจะช่วยในการเพิ่มจำนวนของเชื้อซัลโมเนลลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากข้อมูลข้างต้นทำให้เราได้ทราบว่าเชื้อซัลโมเนลลา สามารถปนเปื้อนในเนื้อสัตว์ได้ในปริมาณสูง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการปนเปื้อนของเชื้อในระหว่างกระบวนการผลิตและการแปรรูปเนื้อสัตว์ที่ไม่ถูกสุขลักษณะ ซึ่งในขั้นตอนการฆ่าและการตกแต่งเนื้อสัตว์ แม้ว่าการลวกและการล้างซากจะช่วยลดการปนเปื้อนของเชื้อซัลโมเนลลาบนซากเนื้อสัตว์ได้ แต่เชื้อก็สามารถเจริญและปนเปื้อนบนซากได้จากอุปกรณ์ในการกำจัดขนและจากลำไส้ระหว่างการชำแหละ (Gill and Brayant, 1993)

2.2 สารยับยั้งจุลินทรีย์แบคเทอริโอซิน (Bacteriocin)

2.2.1 แบคเทอริโอซิน (Bacteriocin) คือสารประกอบโปรตีนที่แบคทีเรียสร้างขึ้นเองตามธรรมชาติมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียชนิดอื่นที่มีความไวต่อแบคเทอริโอซิน ทั้งในรูปการยับยั้งการเจริญหรือการทำลาย และสามารถสลายได้ด้วยเอนไซม์โปรตีเอส เนื่องจากในปัจจุบันผู้บริโภคได้หันมาให้ความสำคัญเกี่ยวกับสุขภาพมากขึ้น ต้องการผลิตภัณฑ์อาหารที่มีประโยชน์อีกทั้งต้องการผลิตภัณฑ์ที่เป็นปราศจากสารปรุงแต่ง (additive-free) เพื่อตอบสนองความต้องการของผู้บริโภค ผู้ผลิตจึงต้องพยายามหาทางเลือกใหม่ในการผลิตผลิตภัณฑ์ที่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค การใช้แบคเทอริโอซินในการถนอมอาหารถือเป็นมิติใหม่ของการถนอมอาหาร ให้ข้อดีทั้งในแง่ของการควบคุมคุณภาพอาหารและป้องกันการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษ แบคเทอริโอซินมีกิจกรรมยับยั้งทั้งแบคทีเรียที่ก่อโรคและแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดการเน่าเสีย ทำให้สามารถใช้ได้อย่างเหมาะสมในอาหารที่เสื่อมเสียง่าย เช่น เนื้อสัตว์ และ ผลิตภัณฑ์นม การใช้แบคเทอริโอซินในการถนอมอาหารนั้นต้องคำนึงถึงปัจจัยต่าง ๆ เนื่องจากกลไกการทำงานของแบคเทอริโอซินสามารถถูกลดทอนลงได้ตามสภาพแวดล้อมที่เป็นจริง ซึ่งมีแบคทีเรียหลายสายพันธุ์ที่สามารถผลิต Bacteriocin ได้โดยเฉพาะแบคทีเรียในกลุ่ม Lactic Acid Bacteria (ตารางที่ 2.1)

2.2.2 แบคทีเรียแลคติก (Lactic Acid Bacteria) คือ แบคทีเรียกลุ่มที่สามารถสร้างกรดแลคติกได้ เป็นแบคทีเรียกลุ่มที่มีความสำคัญในการผลิตอาหารหมักหลายประเภท มีรายงานพบว่าแบคทีเรียแลคติกหลายสายพันธุ์ที่พบในอาหารหมักสามารถสร้างสารแบคเทอริโอซินที่สามารถยับยั้งกิจกรรมของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคและแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสียได้ สารแบคเทอริโอซิน ที่ผลิตได้จากแบคทีเรียแลคติกต่างชนิดกันจะมีคุณสมบัติทางเคมีต่างกัน Bacteriocin มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิดรวมไปถึงเชื้อก่อโรคในอาหาร เช่น *Listeria monocytogenes* ซึ่งแบคเทอริโอซิน แบ่งออกเป็น 4 ประเภท (Klaenhammer, 1993; Nes *et al.*, 1996) ดังแสดงในตารางที่ 2.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 ตัวอย่างของแบคทีเรียแลคติกที่สร้างสารแบคเทอริโอซิน

Lactic Acid Bacteria	Bacteriocins
Lactobacillus	เคซิซีน (caseicin) เคอวาซิน (curvacin) บรีวิซิน (brevisin) แพลนทาริซิน (plantaricin) เฟอเมนติซิน (fermenticin) แลคตาซิน (lactacin) เฮลวิติซิน (helveticin)
Lactonostoc	ไดโปคอคซิน (dipococcin) ไนซิน (nisin) แลคโตคอคซิน (lactococcin) แลคโตซิน (lactocin) แลคโตสเตปซิน (lactostrepsin)
Leuconostoc	คาโนซิน (carnocin) มีแซนเทอโรซิน (mesenterocin) ลิวโคซิน (leucocin) ลิวโคโนซิน (leuconocin)
Pediococcus	พีดิโอซิน (pediocin)

ที่มา: วิเชียร (2541)

2.3 Pediocin PA-1/ AcH

ในปัจจุบันนอกเหนือจากไนซินแล้ว Pediocin PA-1/ AcH เป็นแบคเทอริโอซินที่ได้จาก Lactic Acid Bacteria ที่มีการศึกษามากที่สุด Bhunia *et al.* (1987a) เป็นกลุ่มแรกที่รายงานเกี่ยวกับการสกัดสารแบคเทอริโอซินจาก *Pediococcus acidilactici* ซึ่งสารนี้สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียของอาหารและแบคทีเรียที่ก่อโรค ต่อมาจากการศึกษาในภายหลังของ Bhunia *et al.* (1987b) พบว่า Pediocin AcH ประกอบด้วยโปรตีนขนาดเล็กประมาณ 2700 Da สามารถทนต่อสารเคมีได้หลายชนิดแต่จะถูกทำลายด้วย Proteolytic enzyme บางชนิด เช่น trypsin, chymotrypsin, ficin และ papain แต่สามารถทนต่อ lipase, ribonuclease, lysozyme และ organic solvents ได้ ซึ่งจากข้อมูลข้างต้นชี้ให้เห็นว่า Pediocin AcH เป็นโปรตีนบริสุทธิ์มากกว่า conjugated protein (Bhunia *et al.*, 1988) ความสามารถในการทนต่อ formaldehyde และความร้อนสูงชี้ให้เห็นว่ามีขนาดโมเลกุล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 การจำแนกชนิดของแบคเทอริโอซินที่ผลิตจากแบคทีเรียแกรมบวก

Class	Characteristics and subclasses
I. Lantibiotics :	Ribosomally produced peptides that undergo extentive post-translational modification Small (<5kDa) peptides containing lanthionine and β-methyl lanthionine Ia. Flexible molecules compared to Ib Ib. Globular peptides with no net charge or net negative charge
II. Nonlantibiotics:[a]	Low-molecular-weight (<10 kDa) , heat stable peptides Formed exclutively by unmodified amino acids Ribosomally synthesized as inactive prepeptides that are activated by post-translational cleavage of the N-terminal leader peptide IIa. Anti-listerial single peptides that contain YGNGVXC amino acid motif near their N-terminal IIb. Two-peptide bacteriocins IIc. Bacteriocins produced by the cell's general *sec*-pathway (Nes et al., 1996)
III. Nonlantibiotics :	High-molecular-weight (>30kDa), heat-labile proteins
IV[b]	Complex bacteriocins carrying lipid or carbohydrate moieties

[a]Nonlantibiotics have recently been re-subdivided by van Belkum and Stiles (2000) according to the bacteriocins that they resemble rather than to their method of excretion from cell.

[b]This category has been excludes from Nes' Classfication (Nes *et. al.*, 1996).

ที่มา : Garneau *et al.* (2002)

เล็ก และ Pediocin AcH จะสูญเสียประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียเมื่อสัมผัสกับด่างที่มี pH 10 หรือมากกว่า แสดงให้เห็นว่ามีโครงสร้างแบบ 2nd structure ซึ่งเป็นโครงสร้างที่สำคัญต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ โดยได้มีงานวิจัยสนับสนุนเกี่ยวกับการใช้ Pediocin AcH ในผลิตภัณฑ์อาหารมากมาย ดังนี้

Nielsen *et al.* (1990) ได้ทำการศึกษาผลของการใช้ Pediocin ในการยับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes* ในเนื้อโคสด โดยนำตัวอย่างเนื้อโคมาใส่เชื้อ *L. monocytogenes* ลงไปจากนั้นนำตัวอย่างมา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น รวมทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใส่สาร Pediocin ทิ้งไว้ 2 นาที พบว่าสามารถลดปริมาณเชื้อ *L. monocytogenes* ได้ 0.5-2.2 log cycle โดยขึ้นความเข้มข้นของ Pediocin ที่ใช้ และจากผลการทดลองพบว่าชิ้นเนื้อที่ใส่ Pediocin จะตรวจพบเชื้อ *L. monocytogenes* น้อยกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่ได้สัมผัส Pediocin 1-2.5 log cycle

Kalchayanand (1990) ได้ทำการศึกษาถึงประสิทธิภาพของ Pediocin AcH ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดการเสื่อมเสียในเนื้อวัวสดโดยนำตัวอย่างเนื้อโคไปสัมผัส *Leuconostoc mesenteroides* ($5x10^3$ cfu/ml) แล้วนำมาสัมผัสสาร Pediocin AcH ความเข้มข้น 1240 AU/g แล้วบรรจุในภาชนะสุญญากาศ เก็บที่ 3 °C ผลที่ได้พบว่าตัวอย่างเนื้อโคที่สัมผัส Pediocin AcH จะพบเชื้อน้อยกว่ากลุ่มควบคุม 2 log cycle เมื่อครบ 8 สัปดาห์ และเมื่อครบ 12 สัปดาห์พบว่ากลุ่มตัวอย่างพบเชื้อ *Leu. mesenteroides* น้อยกว่า 1 log cycle

Nieto-Lozano *et al.* (2001) ได้ทำการศึกษาแบคทีเรีย 39 ชนิดที่ใช้เป็นกล้าเชื้อในกระบวนการผลิตของอุตสาหกรรมเนื้อสัตว์ในสเปน เพื่อดูความสามารถในการผลิตสารแบคเทอริโอซิน จากการทดลองพบว่ามี 14 ชนิด (35%) แสดงผลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียอย่างน้อย 1 ชนิด โดยในการทดลองใช้วิธี agar spot test และชนิดที่แสดงผลยับยั้งเชื้อก่อโรค คือ *P. acidilactici, Lb. curvatus, Lb. pentosus, Lb. plantarum* โดยเชื้อเหล่านี้จะแสดงผลในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก และมีเพียง *P. acidilactici* เท่านั้นที่ให้ผลในการยับยั้งได้ดีที่สุด โดยให้ผลการยับยั้งสูงสุดตั้งแต่เริ่มต้นช่วง stationary phase

2.4 กรดอินทรีย์

กรดอินทรีย์เป็นสารที่พบอยู่ในธรรมชาติ ในอาหารชนิดต่างๆ หรือในบางครั้งอาจมีการเติมใส่ลงในอาหาร เพื่อช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์นั้นๆให้ยาวนานขึ้น กรดอินทรีย์ที่มีความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ ได้แก่ acetic acid, lactic acid, propionic acid, sorbic และ benzoic acid ส่วน citric, caprylic, fumalic และ กรดอินทรย์ชนิดอื่นๆมีความสามารถในกสรยับยั้งในขอบเขตที่จำกัด แต่ถูกนำมาใช้ในแง่ของรสชาติมากกว่า

ความสามารถของการยับยั้งจุลินทรีย์ของกรดอินทรีย์ ขึ้นอยู่กับ pH โดยกรดที่มีความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ในรูป undissociated ดังนั้นการเลือกใช้กรดอินทรีย์ในการถนอมอาหารต้องพิจารณาถึงค่า pH และ pKa ของกรดชนิดนั้นๆซึ่งโดยปกติกรดอินทรีย์ส่วนใหญ่ที่นำมาใช้ในอาหารจะมีค่า pH ต่ำกว่า 5.5 และมีค่าpKa ส่วนใหญ่อยู่ในช่วง 3.0-5.0 เนื่องจากที่ค่า pH 5.5 แบคทีเรียที่ก่อให้เกิดการเน่าเสียของอาหารจะถูกยับยั้ง สำหรับกลไกการยับยั้งจุลินทรีย์นั้น กรดอินทรีย์ที่อยู่ในรูป undissociated จะสามารถผ่านเข้าสู่เยื่อหุ้มเซลล์ และ lipid bilayer ได้ง่ายขึ้น โดยปกติสภาพภายในเซลล์กรดจะอยู่ในรูป associated เนื่องจากภายในเซลล์มีค่า pH สูงกว่าภายนอกเซลล์ แบคทีเรียจึงพยายามรักษา pH ภายในเซลล์ให้มีค่าใกล้เคียงความเป็นกลาง เพื่อป้องกันการปลี่ยนรูปของโปรตีน เอนไซม์ กรดนิวคลิอิก และ phospholipid โปรตอนจากกรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อินทรีย์จะทำให้ความเป็นกรดภายในไซโตพลาสซึมเพิ่มสูงขึ้น จึงต้องมีการกำจัดกรดที่มากเกินไปออกสู่ภายนอกเซลล์ โปรตอนถูกขับออกภายนอกเซลล์ผ่านทางเยื่อหุ้มเซลล์ โดยอาศัยความต่างศักย์ไฟฟ้าเรียกว่า proton motive force (PMF)

การขับโปรตอนภายในเซลล์ซึ่งเกิดจากกรดอินทรีย์ ออกสู่ภายนอกเซลล์จำเป็นต้องใช้พลังงานในรูป ATP ดังนั้นการไหลเข้าสู่เซลล์อย่างต่อเนื่องของโปรตอน ทำให้พลังงานภายในเซลล์ถูกนำมาใช้ในการกำจัดโปรตอนจนหมด ขณะเดียวกันก็เกิดการรบกวนการผ่านเข้าออกของสารในเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้แบคทีเรียขาดพลังงานและตายในที่สุด (Doyle *et al.*,1997)

กรดอินทรีย์มีอยู่มากมายหลายชนิด สำหรับกรดอินทรีย์ที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมการชำแหละและการแปรรูปเนื้อสัตว์เพื่อลดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ คือ กรดแลคติก

2.5 การใช้ประโยชน์ของกรดแลคติก

กรดแลคติกบริสุทธิ์ (2-hydroxy lactic acid) จะอยู่ในรูปผงสีขาวแห้ง มีจุดหลอมเหลวที่ 18-26 °C โดยทั่วไปแล้ว กรดแลคติกจะอยู่ในรูปสารละลายที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันไป โครงสร้างพื้นฐานของกรดแลคติกมี 3 รูป คือ L(+), (D-) และ DL ซึ่งโครงสร้างที่มนุษย์สามารถสร้างขึ้นในร่างกายได้ คือ L(+) โดยสังเคราะห์ได้ในปริมาณ 117-144 g lactate/ 24 hr/70 kg และโครงสร้าง D(-) ซึ่งเป็นโครงสร้างที่ร่างกายไม่สามารถสร้างขึ้นได้ ส่วนโครงสร้าง DL พบในพืชชั้นสูง กรดแลคติกที่ใช้ในอาหารจะเป็นของเหลวสีขาวเหลืองมีความเข้มข้น 50%-80% สำหรับกรดแลคติกที่ใช้ในทางการแพทย์จะเป็นของเหลวใสไม่มีสี มีความเข้มข้น 88%-90%

Anderson and Marshell (1990) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของกรดแลคติก โดยใช้ กรดแลคติก 1%, กรดอะซิตริก 2%, กรดซิตริก 0.25% และกรดแอสคอบิก 0.1% สัมผัสกับเนื้อวัวที่มีการสัมผัสเชื้อในกลุ่ม *Enterobacteriaeae* โดยมีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของกรด (0-3%) และใช้อุณหภูมิต่างกัน (20-700°C) ผลที่ได้พบว่าสามารถลดเชื้อในกลุ่ม aerobic bacteria, *E.coli* และ *Salmonella typhimurium* และพบว่าค่า pH ที่ผิวหน้าเนื้อวัวลดจาก 5.2 เหลือ 4.3 เมื่อใส่กรด 3% เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง

Gill and Badoni (2004)ได้ทำการวิจัยโดยใช้กรดแลคติก 2 และ 4%, peroxyacetic acid 0.02%, acidified 0.16% sodium chlorite เพื่อดูถึงความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ประเภท aerobes, coliforms และ *E.coli* ในชิ้นเนื้อวัว และทำการทดลองที่ 7 °C ผลที่ได้พบว่าการใช้ peroxyacetic acid และ acidifiedsodium chlorite จะให้ผลในการยับยั้งเชื้อทั้ง 3 กลุ่มเพียงเล็กน้อย และให้ผลน้อยกว่าการใช้กรดแลคติก 4% นอกจากนั้นในการทดลองยังพบอีกว่ากลุ่มที่ใช้กรดแลคติก 4% เมื่อชิ้นเนื้อสัมผัสกรด 5-60 นาทีที่ 7± 1 °C จะสามารถลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 3 กลุ่มได้มากกว่า 1.5 log unit ในขณะที่กลุ่มที่ใช้กรดแลคติก 2% จะให้ผลในการลดปริมาณเชื้อคล้ายกับกลุ่มที่ใช้กรดแลคติก 4% ที่เวลา 5 นาทีแต่เมื่อมาดูที่ 60 นาทีจะพบว่าลดปริมาณเชื้อได้ 1 log unit

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง

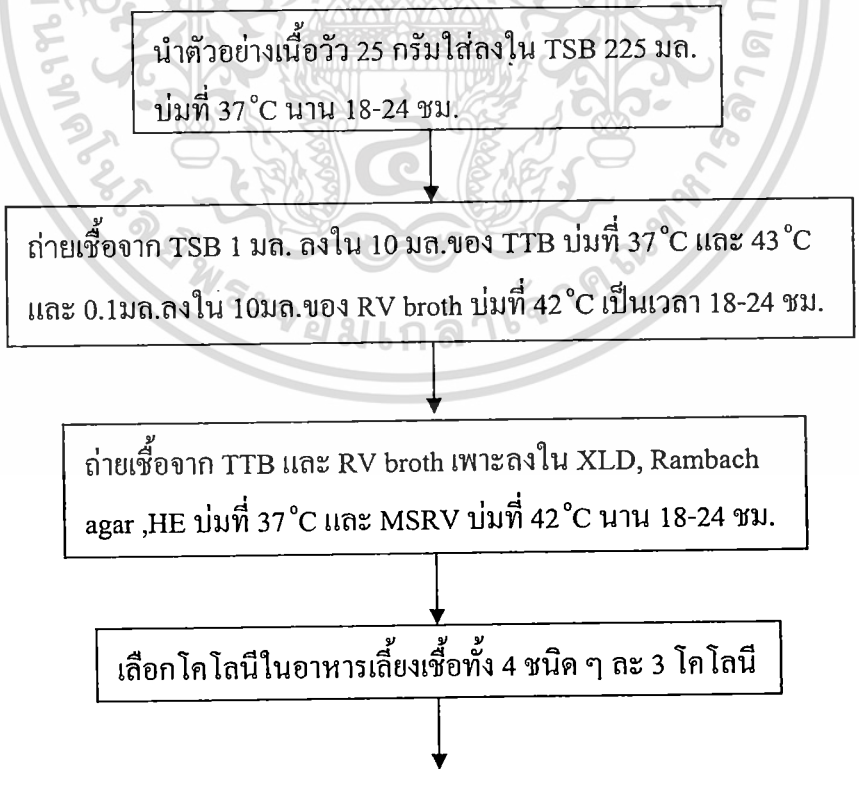
3.1.1 *Pediococcus pentosaceus* TISTR536 (Swetwiwathana, 2005)

3.1.2 สายพันธุ์ซัลโมเนลลาที่ตรวจพบมากในเนื้อโคชำแหละตัดแต่งที่จำหน่ายในตลาด 3 สายพันธุ์

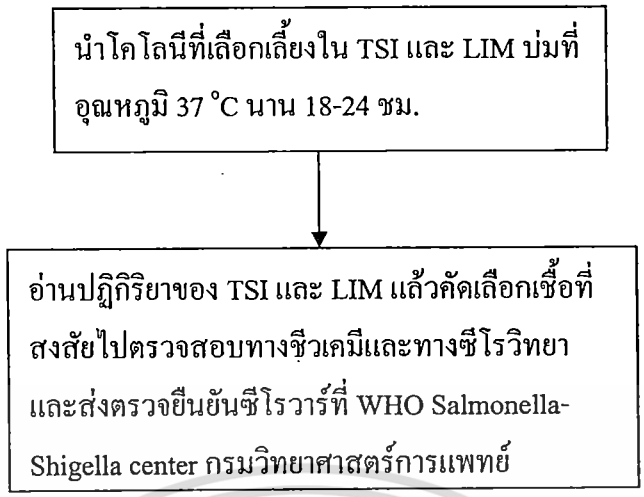
3.1.3 เชื้อ *Listeria innocua* LTH 3096 จาก Hohenheim University สำหรับตรวจสอบการผลิตแบคเทอริโอซินของแบคทีเรียแลคติก

3.2 วิธีการวิเคราะห์

3.2.1 ศึกษาปริมาณและซีโรวาร์ของเชื้อซัลโมเนลลาที่ปนเปื้อนในเนื้อโคสด โดยซื้อเนื้อโคจากตลาดในเขตพระโขนง เขตประเวศ เขตลาดกระบัง เขตบางกะปิ และเขตมีนบุรี สุ่มตรวจตัวอย่างเนื้อโคที่จำหน่ายในตลาดสดจำนวน 32 ตัวอย่างนำมาตรวจวิเคราะห์โดยวิธี standard conventional method ดังวิธีการในภาพที่ 3.1 นำสายพันธุ์ซัลโมเนลลาที่พบมาก 3 สายพันธุ์มาศึกษาต่อในหัวข้อ 3.2.2



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่1 ขั้นตอนการวิเคราะห์หาเชื้อซัลโมเนลลาโดยวิธี standard conventional method
ที่มา : (AOAC,1984)

3.2.2 ศึกษาการบาดเจ็บของเชื้อซัลโมเนลลาจากการใช้กรดแลคติกและ Pediocin PA-1 จาก *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 และสารผสมของสารละลายดังกล่าวในหลอดทดลอง (*In vitro* test)

3.2.2.1 การเตรียม Crude Pediocin PA-1จากเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 (Swetwiwathana, 2002)

1) เลี้ยงเชื้อ *P.pentosaceus* TISTR 536 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth บ่มที่ 37 องศาเซลเซียสนาน 18-24 ชม.

2) นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 x g นาน 10 นาที เก็บส่วนที่เป็น Supernatant fluid

3) กรองผ่าน sterile filter ขนาด 0.2-μm-pore-size เก็บที่ 5 องศาเซลเซียส

4) ตรวจสอบความเข้มข้นของแบคเทอริโอซินที่เชื้อผลิตโดยวิธี agar spot test

3.2.2.2 ขั้นตอนการทดสอบประสิทธิภาพของแบคเทอริโอซิน

1) ทำการเลี้ยงเชื้อ *Listeria innocua* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSBYE 5 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

2) ถ่ายเชื้อ *Listeria innocua* 10 ไมโครลิตรลงในหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ TSAYE (0.75% agar w/v) 5 มิลลิลิตรที่หลอมแล้ว

3) เทอาหาร TSAYE ที่ถ่ายเชื้อแล้วทับลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar ทิ้งไว้ในตู้เขี่ยเชื้อนานประมาณ 10 นาทีให้ไม่มีหยดน้ำบนผิวหน้าอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4) นำแบคเทอริโอซิน Pediocin ที่สกัดเตรียมไว้ในข้อ 3.2.2.1 มาทำการทดสอบความเข้มข้นของสารแบคเทอริโอซินที่ *P.pentosaceus* TISTR 536 ผลิตได้โดยทำการเจือจางแบบ 2 fold dilution ในอัตราส่วน 1:0 1:1 1:2 1:4 1:8 1:16 1:32 1:64 1:128 และ 1:256 จากนั้นหยดสารละลายแต่ละความเข้มข้นลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อในข้อ 3) บ่มเพาะเชื้อที่ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ดูผลการเกิด clear zone นำค่าความเข้มข้นสุดท้ายที่เกิด clear zone มาคำนวณหาค่าความเข้มข้นของแบคเทอริโอซินที่เชื้อผลิต โดยใช้หน่วย Activity Unit ต่อมิลลิลิตร (AU/ml)

3.2.2.3 ศึกษาผลของการใช้กรดแลคติก และ Pediocin PA-1 จาก *P. pentosaceus* TISTR 536 และสารผสมของสารละลายดังกล่าว ต่อการยับยั้งการเจริญและการบาดเจ็บของเซลล์เชื้อ *S.* Senftenberg *S.* Weltevreden และ *S.* Anatum ในหลอดทดลอง (in vitro test) (Swetwiwathana, 2005)

แบ่งการทดลองเป็น 6 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB เป็นกลุ่มเปรียบเทียบ (ไม่สัมผัสสารเคมี)

กลุ่มที่ 2 อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์

กลุ่มที่ 3 อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ และ Pediocin ความเข้มข้น 1,600 AU/ml

กลุ่มที่ 4 อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์

กลุ่มที่ 5 อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ และ Pediocin ความเข้มข้น 1,600 AU/ml

กลุ่มที่ 6 อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีPediocinความเข้มข้น 1,600 AU/ml

<u>วิธีการทดลอง</u>

1) เตรียมสารละลายเชื้อ *S.* Senftenberg *S.* Weltevreden และ *S.* Anatum ให้มีความเข้มข้น10^4 CFU/ml

2) ถ่ายเชื้อ *S.* Senftenberg *S.* Weltevreden และ *S.* Anatum ที่มีความเข้มข้น 10^4 CFU/ml ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 6 กลุ่มข้างต้น

3) เก็บตัวอย่างที่ 0, 2, 4 และ 6 ชั่วโมงเพื่อทำการตรวจนับปริมาณเชื้อด้วยวิธี spread plateบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA และ XLD

4) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

5) นับจำนวนเชื้อ

6) นำโคโลนีที่นับได้จากอาหาร TSA และ XLD มาวิเคราะห์ปริมาณ injured cell จากสูตร

$$\% \text{ injured cell} = 1 - \frac{\text{(จำนวนโคโลนีที่พบบนอาหาร XLD)}}{\text{(จำนวนโคโลนีที่พบบนอาหาร TSA)}} \times 100$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.3 ศึกษาผลของการใช้กรดแลคติกและ Pediocin PA-1 จาก *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 และสารผสมของสารละลายดังกล่าว ในการยับยั้งเชื้อซัลโมเนลลาในเนื้อโคชำแหละจำหน่ายปลีก (ดัดแปลงมาจาก จุฑารัตน์, 2545)

3.2.3.1 การเตรียมตัวอย่างชิ้นเนื้อโค

นำเนื้อโคส่วนที่เป็นสะโพกมาตัดแต่งให้มีขนาด 5 x 5 x 1 เซนติเมตร นำไปฆ่าเชื้อโดยวิธีฉายรังสีระดับ 10 Kgray (ได้รับความอนุเคราะห์การฉายรังสีเนื้อโคจากสำนักงานปรมาณูเพื่อสันติ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี)

3.2.3.2 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ 6 x 5 แฟคทอเรียลในการทดลองแบบสุ่มตลอด (6 x 5 Factorial in RCBD) โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยทำการศึกษา 2 ปัจจัย คือ

ปัจจัย A คือกลุ่มของสารเคมีที่สัมผัสเนื้อโค 6 กลุ่ม

ปัจจัย B คือ ระยะเวลาที่ทำการศึกษา ได้แก่วันที่ 0 2 4 6 และ 8

สารเคมีที่ใช้ในการสัมผัสสาร แบ่งเป็น 6 กลุ่มการทดลอง ได้แก่

กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มเปรียบเทียบ (ไม่สัมผัสสารเคมี)

กลุ่มที่ 2 สัมผัสสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์

กลุ่มที่ 3 สัมผัสสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ และ Pediocin ความเข้มข้น 1,600 AU/ml

กลุ่มที่ 4 สัมผัสสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์

กลุ่มที่ 5 สัมผัสสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ และ Pediocin ความเข้มข้น 1,600 AU/ml

กลุ่มที่ 6 สัมผัส Pediocinความเข้มข้น 1,600 AU/ml

<u>วิธีการทดลอง</u>

1) นำตัวอย่างชิ้นเนื้อที่เตรียมไว้ทั้ง 6 กลุ่มข้างต้นมาจุ่มในสารละลาย *S.* Senftenberg *S* Weltevreden และ *S.* Anatum ที่มีความเข้มข้น 10^6 CFU/ml เป็นเวลา 3 นาทีผึ่งให้แห้งในตู้ปลอดเชื้อเป็นเวลา 15 นาที

2) แบ่งตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ผ่านการเติมเชื้อแล้วเป็น 6 กลุ่มการทดลอง โดยกลุ่มที่ 2-6 นำมาสัมผัสกับสารเคมีที่ระบุไว้เป็นเวลา 5 นาที ผึ่งให้แห้งในตู้ปลอดเชื้อเป็นเวลา 15 นาที นำตัวอย่างทั้ง 6 กลุ่มมาบรรจุแบบสุญญากาศในถุงพลาสติก PE เก็บรักษาเนื้อที่อุณหภูมิ 4 ± 1^{o}C

3) เก็บตัวอย่างในวันที่0 2 4 6 และ 8 นำตัวอย่างชิ้นเนื้อโคมาตรวจวิเคราะห์โดยวิธีตรวจนับจุลินทรีย์ทั้งหมด (total plate count) โดยวิธี spread plate บนอาหาร TSA และ XLD

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4) นำตัวอย่างทั้ง 6 กลุ่มข้างต้น วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ของชิ้นเนื้อในวันที่ 0 2 4 6 และ 8 ของการเก็บรักษาด้วยเครื่อง pH meter และนำมาวัดค่าสีด้วยเครื่องเครื่องวัดสี (Minolta Chromameter CR-300)

5) นำข้อมูลที่ได้มาเปรียบเทียบค่าทางสถิติโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป (SPSS analysis of variance)

3.2.4 ศึกษาผลของ กรดแลคติก และ Pediocin PA-1 จาก *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 และสารผสมของสารละลายดังกล่าวต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของเนื้อโค (ดัดแปลงจาก จุฑารัตน์, 2545)

เตรียมตัวอย่างชิ้นเนื้อโค ขนาด 5 x 5 x 1 ตารางเซนติเมตร แบ่งชิ้นเนื้อออกเป็น 6 กลุ่ม การทดลองดังที่แสดงในหัวข้อ 3.2.3.2 นำชิ้นเนื้อสัมผัสสารละลายเป็นเวลานาน 5 นาที และผึ่งให้แห้งเป็นเวลา 15 นาที นำชิ้นเนื้อบรรจุแบบสุญญากาศในถุงพลาสติก PE เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 $\pm$ 1 องศาเซลเซียส สุ่มตัวอย่างชิ้นเนื้อตรวจหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในวันที่ 0 2 4 6 และ 8 ของการเก็บรักษา

3.2.5 ศึกษาด้านคุณสมบัติทางประสาทสัมผัสของเนื้อโคที่ผ่านการสัมผัสกรดแลคติก และ Pediocin PA-1 จาก *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 และสารผสมของสารละลายดังกล่าว (ดัดแปลงจาก จุฑารัตน์, 2545)

เตรียมตัวอย่างชิ้นเนื้อ ขนาด 5 x 5 x 1 ตารางเซนติเมตร แบ่งชิ้นเนื้อออกเป็น 6 กลุ่มการทดลอง โดยนำตัวอย่างชิ้นเนื้อสัมผัสสารละลายดังกล่าวเป็นเวลา 5 นาที และวางชิ้นเนื้อไว้นานประมาณ 30 นาที นำมาทดสอบประสาทสัมผัสทางด้าน สีและกลิ่นของเนื้อโคสด โดยใช้การทดสอบแบบ Different from control โดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 30 คนในการทดสอบใช้แผนการทดลองแบบ Randomized Completely Block Design (RCBD)

3.2.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองจะนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้โปรแกรมตอมพิวเตอร์สำเร็จรูป (SPSS ansalysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยแต่ละวิธีด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

3.3 สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการ โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.4 ระยะเวลาที่ทำการทดลอง ตุลาคม 2548 – กันยายน 2549

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 ศึกษาปริมาณและซีโรวาร์ของเชื้อซัลโมเนลลาที่ปนเปื้อนในเนื้อโคสดจากตลาดในเขตพระโขนง เขตประเวศ เขตลาดกระบัง เขตบางกะปิ และ เขตมีนบุรี

จากการสุ่มตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาในเนื้อโคชำแหละจำหน่ายปลีกที่จำหน่ายในตลาดสดในเขตบางกะปิ มีนบุรี พระโขนง อ่อนนุช ประเวศ และ ลาดกระบัง 35 ตัวอย่างโดยทำการตรวจโดยวิธีมาตรฐานของการตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาในอาหาร (standard conventional method) เพื่อทำการศึกษาเปรียบเทียบอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อในขั้นตอน selective enrichment โดยใช้ Tetrathionate (TT) broth และ Rapport-Vassiliadis (RV) medium กับขั้นตอน isolation โดยใช้ Xylose Lysine Desoxycholate (XLD) agar, Hektoen Enteric (HE) agar, Rambach agar และ Modified Semisolid Rappaport Vassiliadis (MSRV) medium พบว่าตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลา 26 ตัวอย่าง (74.3%) เป็นการตรวจพบจากการใช้ TT เป็น selective enrichment บ่มที่ 43 ^{0}C จำนวน 19 ตัวอย่าง (73.1%) TT บ่มที่อุณหภูมิ 37 ^{0}C จำนวน 16 ตัวอย่าง (61.5%) และจากRV บ่มที่อุณหภูมิ 42 ^{0}C จำนวน 9 ตัวอย่าง (34.6%) (ตารางที่ 4.1) และเมื่อนำซัลโมเนลลาทั้งหมด 26 ตัวอย่าง 109 หลอดทดลองมาตรวจยืนยันซีโรวาร์จาก WHO *Salmonella-Shigella* center สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์พบเชื้อซัลโมเนลลาทั้งหมด 20 เซโรวาร์ โดยพบ *S.* Senftenberg มากที่สุด 21 หลอดตัวอย่าง (19.3%) รองลงมาคือ *S.* Anatum 17 หลอดตัวอย่าง (15.6%) และ *S.* Weltevreden 12 หลอดตัวอย่าง (11.0%) ตามลำดับ (ตารางที่ 4.2) ซึ่งผลในการตรวจหาเชื้อซัล-โมเนลลาในเนื้อโคนั้น ใกล้เคียงกับในเนื้อหมู โดย อดิศร และคณะ (2548) ได้รายงานการตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาในเนื้อหมูสดที่จำหน่ายในตลาด พบเชื้อซัลโมเนลลา 88.0% และพบเชื้อรวม 19 เซโรวาร์โดยพบ *S.* Anatum เป็นซีโรวาร์ที่ตรวจพบมากที่สุด รองลงมาคือ *S.* Rissen *S.* Panama และ *S.* Stanley ตามลำดับ นอกจากนั้นได้มีรางานการตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลาในเนื้อไก่สดและเนื้อหมูสดถึงร้อยละ 66 และ 90 ตามลำดับ (Jernklinchan *et al.,* 1994; Bangtrakulnonth *et al.,* 1994)

ตารางที่ 4.1 เปรียบเทียบจำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลาในเนื้อวัวชำแหละจำหน่ายปลีกโดยวิธีมาตรฐานจากขั้นตอน selective enrichment

จำนวนตัวอย่าง(%)	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบซัลโมเนลลาจาก			จำนวนทั้งหมดที่ตรวจพบซัลโมเนลลา (%)
	RV	TTB(37°C)	TTB(43°C)	
35 (100.0)	9 (34.6%)	16 (61.5%)	19 (73.1%)	26 (74.3%)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 จำนวนเซโรวาร์ต่างๆ ของเชื้อซัลโมเนลลาที่ตรวจพบจากเนื้อโคชำแหละจำหน่ายปลีก

Serovar	จำนวนที่แยกได้	คิดเป็นเปอร์เซ็นต์
S. Senftenberg	21	19.3
S. Anatum	17	15.6
S. Weltevreden	12	11.0
S. Agona	11	10.0
S. Lexington	10	9.1
S. Typhimurium var. copen-hagen	6	5.5
*S.*Give	5	4.6
S. Amsterdam	4	3.7
S. Hvittingfoss	4	3.7
S. Corvallis	3	2.8
S. Augustenborg	3	2.8
S. Rissen	3	2.8
S. Weltevreden var. 15[15]	3	2.8
S. Cubana	1	0.9
S. Enterica	1	0.9
S. Farmsen	1	0.9
S. Kedougou	1	0.9
S. Monterideo	1	0.9
S. Worthington	1	0.9
S. Kentucky	1	0.9
รวม	109	100

จากผลการทดลองที่แสดงในตารางที่ 4.1 จะเห็นได้ว่าในเนื้อโคสดที่จำหน่ายในท้องตลาดทั่วไปนั้นมีการปนเปื้อนของเชื้อซัลโมเนลลาอยู่ในปริมาณที่ค่อนข้างสูงทั้งนี้การปนเปื้อนอาจเกิดตั้งแต่ขั้นตอนในการฆ่า ผ่าซาก ชำแหละ ตัดแต่งของเนื้อสัตว์ (Florjanc *et al.*, 1992; Berends *et al.*, 1993; Berends *et al.*, 1995) โดยในขั้นตอนตั้งแต่สัตว์เข้าไปในโรงฆ่านั้นมีโอกาสที่เชื้อซัลโมเนลลาจะปนเปื้อนได้หลายทางด้วยกัน เริ่มจากการใช้น้ำร้อนลวกซากซึ่งในกระบวนการนี้จะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ได้ในระดับหนึ่ง (Chau *et al.*, 1977; Gill and Bryant, 1992) อย่างไรก็ตาม ถ้าอุณหภูมิของน้ำที่ใช้ลวกซากต่ำกว่า 62 องศาเซลเซียส จะเป็นปัจจัยเสี่ยงในการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ โดยจะมีเชื้อจุลินทรีย์ส่วนหนึ่งยังคงมีชีวิตรอดและปนเปื้อนในกระบวนการต่อไป (Sorqvist and Danielsson-Tham, 1990) ในกระบวนการถอนขนนั้นเป็นจุดที่จะเกิดการปนเปื้อนที่ต่อเนื่องจากกระบวนการลวกซาก (Simonsen *et al.*, 1987; Borch *et al.*, 1996) โดยอุปกรณ์ที่ใช้ในการถอนขนนั้นจะรีดเอาอุจจาระของสัตว์ออกมาจากบริเวณก้น ซึ่งจะก่อให้เกิดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในอุปกรณ์ที่ใช้โดยเฉพาะเชื้อซัลโมเนลลา (Borch *et al.*, 1996) การใช้ความร้อนเพื่อลนให้ขนออกจากตัวสัตว์นั้น Gracey (1986) ได้รายงานว่าการใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 1300-1500 องศาเซลเซียสจะลดการปนเปื้อนที่บริเวณผิวหน้าของซากสัตว์ได้ อย่างไรก็ตามจุลินทรีย์ในบริเวณอื่นๆ อาจยังมีชีวิตรอดอยู่ (Berends *et al.*, 1997; Gill, 1998) และอยู่รอดไปจนถึงขั้นตอนการขัด (Simonsen *et al.*, 1987; Yu *et al.*, 1999) ในกระบวนการตัดแต่งซาก มี 2 ขั้นตอนที่เป็นจุดที่มักก่อให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ คือ การชำแหละ และการเอาเครื่องในออก (Gill and Jones, 1997) อย่างไรก็ตามขั้นตอนในการผ่าซากก็มักเป็นขั้นตอนที่ก่อให้เกิดการปนเปื้อน โดยเฉพาะเชื้อซัลโมเนลลาในซากสัตว์ (Sorensen *et al.*, 1999; Hald *et al.*, 2001) นอกจากนั้นอุปกรณ์เครื่องมือต่างๆที่ใช้ในโรงฆ่าสัตว์ รวมทั้งสุขอนามัยของผู้ฆ่าก็เป็นสิ่งสำคัญที่ก่อให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในซากสัตว์ด้วย (Hald *et al.*, 2001; Yu *et al.*, 1999)

นอกจากนี้การปนเปื้อนของเชื้อซัลโมเนลลาในเนื้อโค ยังอาจเกิดจากผู้ขายซึ่งขาดความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับสุขอนามัยที่ถูกต้อง (Moy *et al.*, 1997) โดย Bangtrakulnonth *et al.* (2004) ได้รายงานถึงซีโรวาร์ของเชื้อซัลโมเนลลาในประเทศไทย ในช่วงปี 1993-2002 พบว่าทั้ง *S.* Weltevreden *S.* Anatum และ *S.* Senftenberg ซึ่งสายพันธุ์เหล่านี้เป็น 3 สายพันธุ์ที่พบมากที่สุดที่แยกได้จากเนื้อโคในงานวิจัยครั้งนี้ โดย *S.* Weltevreden เป็นสายพันธุ์ที่พบมากที่สุดที่แยกได้จากมนุษย์ ซึ่งอาจเป็นได้ว่าการปนเปื้อนของเชื้อซัลโมเนลลาทั้ง 3 สายพันธุ์ในเนื้อโคอาจเป็นการปนเปื้อนข้ามมาจากผู้ขายสู่ผลิตภัณฑ์เนื้อ Sorensen *et al.*, 2002 ได้รายงานการปนเปื้อนของเชื้อซัลโมเนลลาในเนื้อโคสด 1.3 %จากร้านค้าจำหน่ายปลีกทั่วไปในเมือง Alberta ซึ่งการปนเปื้อนที่เกิดขึ้นเกิดเนื่องมาจากคุณภาพที่ต่ำกว่ามาตรฐานของซากสัตว์จากโรงฆ่า เช่น กระบวนการผลิตที่ไม่ได้มาตรฐาน ไม่มีการควบคุมอุณหภูมิ การทำความสะอาดเครื่องมือ และบริเวณที่ทำการฆ่าสัตว์ไม่มีความสะอาดเพียงพอ อีกทั้งสุขอนามัยที่ไม่เพียงพอของคนงาน Panisello *et al.* (2000) พบการปนเปื้อนของเชื้อซัลโมเนลลาในเนื้อโคสูงถึง 18.7 % เนื่องมาจากการควบคุมอุณหภูมิที่ไม่ได้มาตรฐาน อีกทั้งอุปกรณ์เครื่องมือ รวมถึงสภาพแวดล้อมในโรงงานที่ไม่สะอาดเพียงพอ Berends *et al.* (1998) ได้รายงานว่าการปนเปื้อนข้ามของเชื้อซัลโมเนลลาจากเขียงเนื้อมาสู่ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์นั้น เนื่องมาจากการที่ผู้ขายไม่มีการทำความสะอาดอุปกรณ์ที่ใช้ เช่น มีด เขียง ให้มีความสะอาดเพียงพอ อีกทั้งตัวผู้ขายเองก็ขาดสุขอนามัยที่เพียงพอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

4.2 ศึกษาการบาดเจ็บของเชื้อ *S.* Senftenberg, *S.* Anatum และ *S.* Weltevredenจากการใช้กรดแลคติกและPediocin PA-1 จาก *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ในหลอดทดลอง (*In vitro* test)

จากผลการทดลองข้างต้น (ข้อ 4.1) พบว่าเชื้อซัลโมเนลลา 3 ซีโรวาร์ที่พบมากที่สุดในเนื้อโคชำแหละจำหน่ายปลีกได้แก่ *S.* Senftenberg *S.* Anatum และ *S.* Weltevreden จึงได้นำเชื้อทั้ง 3 ซีโรวาร์นี้ไปทำการเพาะเลี้ยงในอาหาร TSB โดยให้มีปริมาณเชื้อเริ่มต้น 4 log cfu /ml แบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 6 กลุ่ม คือTSB ที่ไม่เติมกรดแลคติก (กลุ่มควบคุม) TSB ที่เติมกรด 0.5% TSBที่เติมกรด 0.5%และมีสาร Pediocin TSB ที่เติมกรด 1% TSB ที่เติมกรด 1%และมีสาร Pediocin TSB ที่เติมสาร Pediocin เพียงอย่างเดียว ทำการสุ่มตรวจทุก 2 ชั่วโมงจนครบ 6 ชั่วโมง โดยใช้วิธี spread plate technique เพื่อศึกษาผลของการใช้กรดแลคติกและสาร Pediocin ต่อการยับยั้งการเจริญและการบาดเจ็บของเชื้อ ดังนี้

4.2.1 ผลของการใช้กรดแลคติกและสาร Pediocin PA-1 จาก *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ต่อการยับยั้งและการบาดเจ็บของเชื้อ *Salmonella* Weltevreden ในหลอดทดลอง (*In vitro* test)

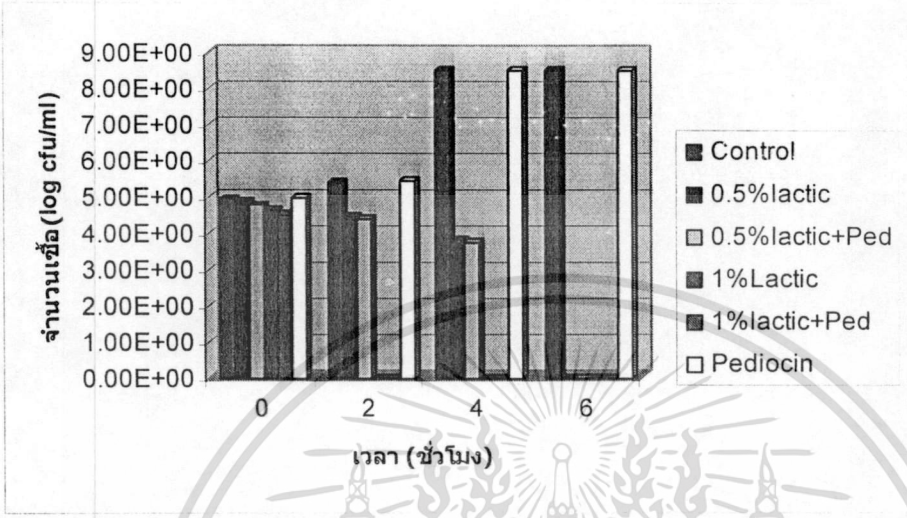
จากผลการทดลองในภาพที่ 4.1 แสดงให้เห็นว่ากลุ่มควบคุมซึ่งไม่มีการเติมสารละลายกรดและสาร Pediocin PA-1 จะมีปริมาณเชื้อ *S.* Weltevreden เพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนถึง 8 log cfu /ml ในชั่วโมงที่ 4 ของการศึกษา และเมื่อมาพิจารณา TSB ที่เติมสารละลายกรดแลคติก 0.5% และสารละลายกรดแลคติก 1% ที่มีการเติมและไม่เติมสาร Pediocin PA-1 จะพบว่า TSB ที่เติมสารละลายกรดแลคติกร่วมกับสาร Pediocin PA-1 จะให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อซัลโมเนลลาได้ดีกว่า โดยพบว่าใน TSB ที่เติมสารละลายกรดแลคติก 0.5% นั้นจะสามารถยับยั้งเชื้อได้อย่างสมบูรณ์ในชั่วโมงที่ 6 ของการศึกษา ในขณะที่ TSB ที่เติมสารละลายกรดแลคติก 1% นั้นพบว่าจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้ดีกว่าการใช้สารละลายกรด 0.5% โดยสามารถยับยั้งเชื้อซัลโมเนลลาได้อย่างสมบูรณ์ตั้งแต่ 2 ชั่วโมงแรกของการศึกษาส่วน TSB ที่เติมสารละลาย Pediocin PA-1 เพียงอย่างเดียวนั้นพบว่าไม่สามารถยับยั้งเชื้อซัลโมเนลลาได้ซึ่งจากภาพที่ 4.1 จะพบว่าปริมาณเชื้อจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนถึงประมาณ 8 log cfu/ml ในชั่วโมงที่ 4 ของการศึกษาเช่นเดียวกับกลุ่มควบคุม

การใช้สารละลายกรดแลคติกร่วมกับสาร Pediocin PA-1 จะให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้ดีกว่าการใช้สารละลายกรด หรือสารละลาย Pediocin PA-1 เพียงอย่างเดียว โดยดูจากผลการศึกษาในกลุ่มที่มีการเติมสารละลายกรดแลคติก 0.5% จะเห็นว่า TSB ที่เติมสารละลายกรด 0.5%ร่วมกับสาร Pediocin PA-1 จะให้ผลการยับยั้งเชื้อที่มีประสิทธิภาพมากกว่า TSB ที่เติม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

83896

สารละลายกรดเพียงอย่างเดียวตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ของการศึกษาและการใช้สารละลายกรดแลคติก 1% ร่วมกับสาร Pediocin PA-1 จะสามารถยับยั้งเชื้อ *S.* Weltevreden ได้มากที่สุดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ของการศึกษาและสามารถยับยั้งเชื้อได้สมบูรณ์ในชั่วโมงที่ 2 ของการศึกษา



ภาพที่ 4.1 ผลของการใช้กรดแลคติกและสารPediocin PA-1 ต่อการยับยั้งเชื้อ *Salmonell*a Weltevredenใน หลอดทดลอง (*In vitro* test)

ผลการทดลองจากตารางที่ 4.3 จะแสดงให้เห็นถึงการใช้สารละลายกรดแลคติกและสาร Pediocin PA-1 ต่อเปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของเชื้อ *S.* Weltevreden ซึ่งผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าใน TSB ที่เติมสารละลายกรดทั้ง 0.5 และ 1% นั้นจะให้เปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของเชื้อที่มากกว่าการใช้สารละลายกรดเพียงอย่างเดียวทั้งสองกลุ่ม ในขณะที่ในกลุ่มควบคุมและ TSB ที่เติมสาร Pediocin PA-1 เพียงอย่างเดียวนั้นจะมีเปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของเซลล์ลดลงเรื่อยๆ ซึ่งผลที่ได้จะเป็นไปในแนวทางเดียวกับผลการยับยั้งเชื้อในภาพที่ 4.1

4.2.2 ผลของการใช้กรดแลคติกและสาร Pediocin PA-1 จาก *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ต่อการยับ ยั้งและการบาดเจ็บของเชื้อ *Salmonella* Anatum ในหลอดทดลอง (*In vitro* test)

ผลการทดลองในภาพที่ 4.2 แสดงให้เห็นว่าการใช้สารละลายกรดแลคติกร่วมกับสาร Pediocin PA-1 จะให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* Anatum ได้ดีกว่าการใช้สารละลายกรดแลคติกหรือสาร Pediocin PA-1 เพียงอย่างเดียว โดยพิจารณาใน TSB ที่เติมสารละลายกรดแลคติก 0.5% และ 1% ที่เติมและไม่เติมสาร Pediocin PA-1 พบว่าในทั้งสองกลุ่มการใช้สารละลายกรดร่วมกับสาร Pediocin PA-1 จะให้ผลในการยับยั้งดีกว่าตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ของการศึกษา และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

TSB ที่เติมสารละลายกรดแลคติก 1% ร่วมกับสาร Pediocin PA-1 ให้ผลในการยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ของการศึกษา ส่วนกลุ่มควบคุมและ TSB ที่เติมสาร Pediocin PA-1 เพียงอย่างเดียวจะไม่ให้ผลในการยับยั้งเชื้อโดยจะมีปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนถึง 8 log cfu/ml ในชั่วโมงที่ 4 ของการศึกษา

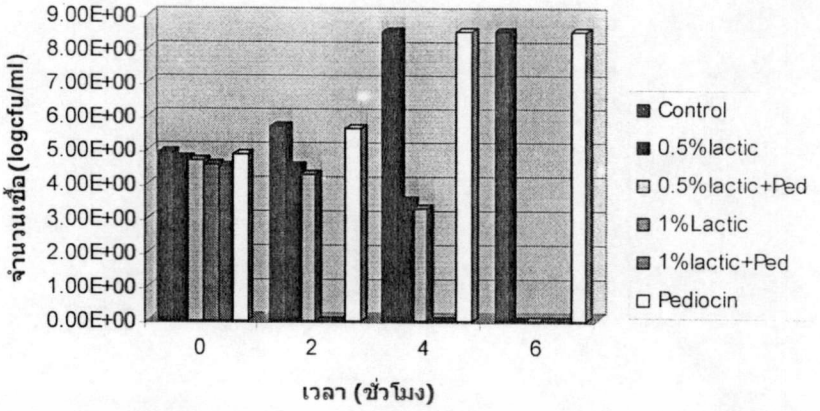
ตารางที่ 4.3 ผลของการใช้กรดแลคติกและสารPediocin PA-1 ต่อการบาดเจ็บของเชื้อ *Salmonella* Weltevredenในหลอดทดลอง (*In vitro* test)

ระยะเวลาการเก็บ (ชม.)	ค่าเปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของเซลล์					
	C	0.5% lactic	0.5%lac+Ped	1% lactic	1%lac+Ped	P
0	11.0	27.0	32.3	45.5	47.8	20
2	10.0	31.9	35.4	100.0	100.0	15.8
4	0	51.2	71.0	100.0	100.0	0
6	0	100.0	100.0	100.0	100.0	0

C คือ TSB ที่ไม่สัมผัสสารละลาย (กลุ่มควบคุม)
0.5% lactic คือ TSB ที่ผสมสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 0.5%
0.5% lac+Ped คือ TSB ที่ผสมสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 0.5%ร่วมกับ Pediocin PA-1
1% lactic คือ TSB ที่ผสมสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 1%
1% lac+Ped คือ TSB ที่ผสมสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 1%ร่วมกับ Pediocin PA-1
P คือ TSB ที่ผสมสารละลาย Pediocin PA-1

ส่วนผลการทดลองในตารางที่ 4.4 นั้นให้ผลสอดคล้องกับผลการทดลองในภาพที่ 4.2 คือ การใช้สารละลายกรดแลคติกร่วมกับสาร Pediocin PA-1 จะให้เปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของเซลล์มากกว่าการใช้สารละลายกรดหรือการใช้สาร Pediocin PA-1 เพียงอย่างเดียว โดยพิจารณาจาก TSB ที่เติมสารละลายกรดแลคติกทั้งสองกลุ่ม คือ TSB ที่เติมสารละลายกรดแลคติก 0.5 และ 1% จะพบว่า เปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของเซลล์จะเพิ่มมากขึ้น เมื่อมีการใช้สารละลายกรดร่วมกับสาร Pediocin PA-1 ใน TSB ที่เติมสารละลายกรด 0.5% นั้นเปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของเซลล์จะเพิ่มจาก 57.0 63.8 และ 100 % ในชั่วโมงที่ 0 2 และ 4 ตามลำดับ ส่วนใน TSB ที่เติมสารละลายกรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.2 ผลของการใช้กรดแลคติกและสารPediocin PA-1 ต่อการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* Anatum ในหลอดทดลอง (*In vitro* test)

ตารางที่ 4.4 ผลของการใช้กรดแลคติกและสารPediocin PA-1 ต่อการบาดเจ็บของเชื้อ *Salmonella* Anatum ในหลอดทดลอง (*In vitro* test)

ระยะเวลาการเก็บ (ชม.)	ค่าเปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของเซลล์					
	C	0.5% lactic	0.5%lac+Ped	1% lactic	1%lac+Ped	P
0	10.0	57.0	58.2	73.1	75.3	13.3
2	3.8	63.8	67.2	100.0	100.0	13.8
4	0	100.0	100.0	100.0	100.0	0
6	0	100.0	100.0	100.0	100.0	0

C คือ TSB ที่ไม่สัมผัสสารละลาย (กลุ่มควบคุม)

0.5% lactic คือ TSB ที่ผสมสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 0.5%

0.5% lac+Ped คือ TSB ที่ผสมสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 0.5%ร่วมกับ Pediocin PA-1

1% lactic คือ TSB ที่ผสมสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 1%

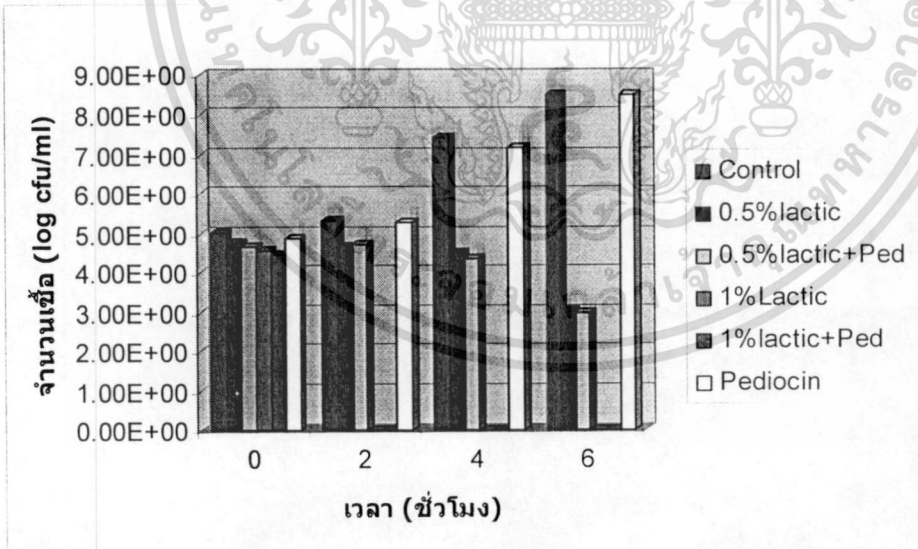
1% lac+Ped คือ TSB ที่สารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 1%ร่วมกับ Pediocin PA-1

P คือ TSB ที่ผสมสารละลาย Pediocin PA-1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แลคติก 0.5% และสาร Pediocin PA-1นั้น เปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของเซลล์จะเพิ่มจาก 58.2 67.2 และ 100% ในชั่วโมงที่ 0 2 และ 4 ตามลำดับ ใน TSB ที่เติมสารละลายกรด 1% นั้นเปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของเซลล์จาก 73.1 เป็น 100% ในชั่วโมงที่ 2ของการศึกษา ส่วนในTSB ที่มีการเติมสาร Pediocin PA-1 ร่วมด้วยนั้น การบาดเจ็บของเซลล์จะเพิ่มจาก 75.3 เป็น 100% ในชั่วโมงที่ 2 ของการศึกษาเช่นกัน สำหรับในกลุ่มควบคุมและ TSB ที่เติมสารละลาย Pediocin PA-1 เพียงอย่างเดียว จะมีเปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของเซลล์ลดลงเรื่อยๆตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ของการศึกษา

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.5 แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของการใช้สารละลายกรดแลคติกและสาร Pediocin PA-1 ต่อเปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของเซลล์เชื้อ *S.* Senftenberg ผลที่ได้สอดคล้องกับผลการยับยั้งเชื้อในภาพที่ 4.3 คือการใช้สารละลายกรดแลคติกร่วมกับสาร Pediocin PA-1 จะให้ผลเปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของเซลล์เพิ่มมากขึ้น โดยพิจารณาเปรียบเทียบใน TSB ที่เติมสารละลายกรดแลคติก 0.5% เพียงอย่างเดียว พบว่าเปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของเซลล์เพิ่มจาก 45.5 83.8 94.2 และ 100% ในชั่วโมงที่ 0 ถึง ชั่วโมงที่ 6 ตามลำดับ แต่เมื่อมีการเติมสาร Pediocin PA-1 ร่วมด้วย พบว่าเปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของเซลล์เพิ่มจาก 49.2 89.2 และ 100% ในชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 4 ตามลำดับ และเช่นเดียวกับผลการยับยั้งเชื้อในภาพที่ 4.3 การใช้สารละลายกรดแลคติก 1% ร่วมกับสาร Pediocin PA-1 จะให้เปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของเซลล์ดีที่สุดคือ เปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของเซลล์จะเพิ่มจาก 55.3 ในชั่วโมงที่ 0 เป็น 100% ในชั่วโมงที่ 2 ของการศึกษา



ภาพที่4.3 ผลของการใช้กรดแลคติกและสารPediocin PA-1ต่อการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* Senftenbergใน หลอดทดลอง (*In vitro* test)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ผลของการใช้กรดแลคติกและสารPediocin PA-1 ต่อการบาดเจ็บของเชื้อ *Salmonella* Senftenberg ในหลอดทดลอง (*In vitro* test)

ระยะเวลาการเก็บ (ชม.)	ค่าเปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของเซลล์					
	C	0.5% lactic	0.5%lac+Ped	1% lactic	1%lac+Ped	P
0	30.3	45.5	49.2	50.2	55.3	4.8
2	26.8	83.8	89.2	100.0	100.0	50.3
4	0	94.2	100.0	100.0	100.0	49.3
6	0	100.0	100.0	100.0	100.0	0

C คือ TSB ที่ไม่สัมผัสสารละลาย (กลุ่มควบคุม)
0.5% lactic คือ TSB ที่ผสมสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 0.5%
0.5% lac+Ped คือ TSB ที่ผสมสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 0.5%ร่วมกับ Pediocin PA-1
1% lactic คือ TSB ที่ผสมสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 1%
1% lac+Ped คือ TSB ที่ผสมสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 1%ร่วมกับ Pediocin PA-1
P คือ TSB ที่ผสมสารละลาย Pediocin PA-1

4.2.3 ผลของการใช้กรดแลคติกและสาร Pediocin PA-1 จาก *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ต่อการยับยั้งและการบาดเจ็บของเชื้อ *Salmonella* Senftenberg ในหลอดทดลอง (*In vitro* test)

จากผลการทดลองในภาพที่ 4.3 แสดงให้เห็นว่ากลุ่มควบคุมซึ่งคือ TSB ไม่มีการเติมสารละลายกรดและสาร PediocinPA-1 จะมีปริมาณเชื้อ*S.* Senftenberg เพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนถึง 8 log cfu/ml ในชั่วโมงที่ 4 ของการศึกษา และเมื่อมาพิจารณา TSB ที่มีการใช้สารละลายกรดแลคติก 0.5% และสารละลายกรดแลคติก 1% ที่มีการเติมและไม่เติมสาร Pediocin PA-1 จะพบว่าTSB ที่มีการใช้สารละลายกรดร่วมกับสาร Pediocin PA-1 จะให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อซัลโมเนลลาได้ดีกว่า โดยพบว่าใน TSB ที่เติมสารละลายกรดแลคติก 0.5%นั้นจะมีการลดลงของปริมาณเชื้อตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 โดยลดลงจาก 4.8 log cfu/ml เหลือ 3.0 logcfu/mlในชั่วโมงที่ 6 แต่ใน TSB ที่เติมสาร Pediocin PA-1 ร่วมด้วยจะให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งที่ดีกว่า คือ ปริมาณของเชื้อจะลดลงจาก 4.6 log cfu/mlในชั่วโมงที่ 0 เหลือเพียง 2.9 log cfu/ml ในชั่วโมงที่ 6 อย่างไรก็ตามกลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลคติก 1% นั้นพบว่าจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้ดีกว่าการใช้สารละลายกรด 0.5% โดยสามารถยับยั้งเชื้อ *S.* Senftenberg ได้อย่างสมบูรณ์ตั้งแต่ 2 ชั่วโมงแรกของการศึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนกลุ่มที่เติมสารละลายPediocin PA-1 เพียงอย่างเดียวนั้นพบว่าไม่สามารถยับยั้งเชื้อซัลโมเนลลาได้ ซึ่งจากภาพที่ 4.3 จะพบว่าปริมาณเชื้อจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนถึงประมาณ 8 log cfu/ml ในชั่วโมงที่ 4 ของการศึกษาเช่นเดียวกับกลุ่มควบคุม

จากการทดลองในหัวข้อที่ 4.2.1, 4.2.2 และ 4.2.3 นั้นสรุปได้ว่า TSB ที่เติมสารละลายกรดแลคติก 1% และ สาร Pediocin PA-1 จะให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ และเปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของเซลล์เชื้อ *S.* Weltevreden, *S.* Anatum และ *S.* Senftenberg ได้ดีที่สุดเนื่องจากกลุ่มตัวอย่างนี้สามารถยับยั้งเชื้อและก่อให้เกิดการบาดเจ็บของเซลล์เชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพที่สุด แต่อย่างไรก็ตามแม้ว่าผลการทดลองในทั้งสามหัวข้อจะเป็นไปในทิศทางเดียวกัน แต่ผลของการใช้สารละลายกรดแลคติกและสาร Pediocin PA-1 ให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อซัลโมเนลลาในแต่ละสายพันธุ์แตกต่างกัน ซึ่งจากการทดลองสรุปได้ว่าการใช้สารละลายกรดแลคติก สาร Pediocin PA-1 และสารผสมของสารละลายดังกล่าวให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S.* Anatum ได้อย่างมีประสิทธิภาพที่สุด รองลงมา คือ *S.* Senftenberg และ *S.* Weltevreden ตามลำดับ โดยเมื่อพิจารณาในการศึกษาของเชื้อ *S.* Anatum (ในหัวข้อ 4.2.2) พบว่า ในชั่วโมงที่ 4 ของการศึกษาสามารถลดปริมาณเชื้อ *S.* Anatum เหลือเพียง 3.5 และ 3.2 log cfu/ml ใน TSB ที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 0.5 % และ TSB ที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 0.5 % ร่วมกับสาร Pediocin PA-1 ตามลำดับ และก่อให้เกิดการบาดเจ็บของเซลล์อย่างสมบูรณ์ใน TSB ที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติกและ TSB ที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติกร่วมกับสาร Pediocin PA-1 ในเชื้อ *S.* Senftenberg (ในหัวข้อที่ 4.2.3) พบว่าปริมาณเชื้อที่ตรวจพบในชั่วโมงที่ 4 ของการศึกษาในทั้งสองกลุ่มการทดลอง คือ TSB ที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 0.5 % และ TSB ที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 0.5 % ร่วมกับสาร Pediocin PA-1 นั้น คือ 4.5 และ 4.3 log cfu/ml แต่การบาดเจ็บของเซลล์จะเกิดอย่างสมบูรณ์ในทุกกลุ่มตัวอย่างที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก และ TSB ที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติกร่วมกับสาร Pediocin PA-1 ยกเว้น TSB ที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 0.5% จะมีค่าเปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของเซลล์ 94.2 ส่วน *S.* Weltevreden (ในหัวข้อที่ 4.2.1) นั้นในชั่วโมงที่ 4 ของการศึกษานั้นยังคงมีปริมาณเชื้อเหลืออยู่ 3.8 และ 3.7 log cfu/ml ใน TSB ที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 0.5 % และ TSB ที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 0.5 % ร่วมกับสาร Pediocin PA-1 ตามลำดับของเชื้อ *S.* Weltevreden แต่ในเชื้อ *S.* Weltevreden นี้พบว่าในทั้ง 2 กลุ่มตัวอย่างจะพบค่าเปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของเซลล์เพียง 51.2 และ 71.0 ตามลำดับ จึงสรุปได้ว่า *S.* Weltevreden เป็นเชื้อซัลโมเนลลาสายพันธุ์ที่มีความทนต่อความเป็นกรดมากที่สุดในทั้ง 3 สายพันธุ์ในการศึกษาครั้งนี้

จากผลการทดลองในหัวข้อที่ 4.2.1 4.2.2 และ 4.2.3 จะเห็นได้ว่าเมื่อเปรียบเทียบกันแล้วการใช้สารผสมของสารละลายกรดแลคติกร่วมกับสาร Pediocin PA-1 ในทั้ง TSB ที่ใช้ความเข้มข้นกรดแลคติก 0.5 % และ 1% จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อซัลโมเนลลาและก่อให้เกิดการบาดเจ็บของเซลล์ได้ดีกว่าการใช้สารละลายกรดแลคติกหรือสาร Pediocin PA-1 เพียงตัวเดียว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยสอดคล้องกับ Stevens *et al.* (1991) ซึ่งได้กล่าวอ้างว่า ประสิทธิภาพของสาร nisin เพียงอย่างเดียว โดยไม่ใช้ร่วมกับสารเคมีอื่นๆ จะมีประสิทธิภาพต่ำต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มแกรมลบ เช่น *E. coli* 0157:H7 และ *Salmonella* นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับผลการทดลองของ Yasmina *et al.* (2002) ซึ่งได้รายงานว่าการใช้สาร nisin ร่วมกับกรดแลคติกจะสามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์จำพวกต้องการอากาศ total coliforms และ *E. coli* ในเนื้อโคสดได้ดีกว่าการใช้สาร nisin หรือกรดแลคติกเพียงอย่างเดียว และ Mustapha *et al.* (2002) ซึ่งได้รายงานว่าการใช้สาร nisin ร่วมกับสารละลายกรดชนิดต่างๆจะสามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* ในเนื้อโคได้ดีกว่าการใช้สาร nisin หรือสารละลายกรดเพียงอย่างเดียว โดยการใช้สารผสมระหว่างสาร nisin ร่วมกับสารละลายกรดนั้นสามารถลดเชื้อ *E. coli* ที่ปนเปื้อนในเนื้อโคเหลือประมาณ 2-3 log cfu/cm^{2}โดยใช้เชื้อเริ่มต้น 7 log cfu/cm^2 ทำการทดลอง 28 วัน เก็บรักษาเนื้อโคที่ 4 องศาเซลเซียส โดยทั่วไปสารแบคเทอริโอซินที่ผลิตจากเชื้อในกลุ่ม Pediococcus จะจัดอยู่ใน class IIa ซึ่งจะให้ผลในการยับยั้งแบคทีเรียในกลุ่มแกรมบวก และมักไม่ให้ผลในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ ทั้งนี้เนื่องจากผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบจะมีส่วนของ outer membrane ซึ่งมีส่วนประกอบที่เรียกว่า porine ซึ่งเป็นส่วนที่สารที่มีน้ำหนักต่ำกว่า 600 Da ผ่านเข้าไปได้ แต่แบคเทอริโอซินที่ผลิตจาก lactic acid bacteria โดยทั่วไปจะมีน้ำหนักประมาณ 3 Kda ซึ่งใหญ่เกินกว่าที่จะผ่านเข้าไปในส่วนของporine (Klaenhammer, 1993) จึงทำให้สาร Pediocin PA-1 ซึ่งเป็นแบคเทอริโอซินที่ผลิตจาก *P. pentosaceus* TISTR 536 ซึ่งจัดเป็น lactic acid bacteria ไม่มีประสิทธิภาพในการทำลายเซลล์เชื้อซัลโมเนลลาซึ่งเป็นแบคทีเรียในกลุ่มแกรมลบ ดังผลการทดลองข้างต้นจะพบว่าในทั้ง 3 สายพันธุ์ของเชื้อซัลโมเนลลากลุ่มตัวอย่างที่สัมผัสสาร Pediocin PA-1เพียงอย่างเดียวนั้นไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อโดยการลดลงของเชื้อใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้จึงได้นำสารละลายกรดแลคติกมาใช้ร่วมกับสาร Pediocin PA-1 เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อซัลโมเนลลา เนื่องจากสารละลายกรดที่ใช้จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในส่วน outer membrane ของเซลล์เชื้อซัลโมเนลลา ทำให้ส่วน outer membrane ถูกทำลายเกิดรูรั่วทำให้สาร Pediocin PA-1 สามารถผ่านเข้าไปในเซลล์เชื้อซัลโมเนลลาได้และทำให้เกิดการทำลายและการบาดเจ็บของเซลล์เพิ่มขึ้น

นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้สารละลายกรดแลคติกที่มีความเข้มข้นสูงกว่า จะสามารถยับยั้งเชื้อซัลโมเนลลาในทั้ง 3 สายพันธุ์ได้ดีกว่า โดยจากการทดลอง TSB ที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 1% จะให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อและเปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของเซลล์ที่ดีกว่า TSB ที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 0.5% ทั้งนี้เนื่องจากผลของระดับ pH ซึ่งเป็นปัจจัยหนึ่งในการลดจำนวนจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ศึกษาผลของการใช้กรดแลคติกและ Pediocin PA-1 จาก *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 และสารผสมของสารละลายดังกล่าว ในการยับยั้งเชื้อซัลโมเนลลาในเนื้อโคชำแหละจำหน่ายปลีก

จากการทดลองตรวจนับเชื้อ *S.* Weltevreden, *S.* Anatum และ *S.* Senftenberg ในตัวอย่างเนื้อโคส่วนสะโพกที่ผ่านการฉายรังสีระดับ 10 Kgy โดยจุ่มตัวอย่างในสารละลายเชื้อความเข้มข้น 6 log cfu/ml จากนั้นแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 6 กลุ่ม คือ เนื้อโคที่ไม่สัมผัสสารละลาย (กลุ่มควบคุม) เนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 0.5% เนื้อโคที่เติมสารผสมระหว่างสารละลายกรดแลคติก 0.5% และสาร Pediocin PA-1 เนื้อโคที่เติมสารผสมระหว่างสารละลายกรดแลคติก 1% , เนื้อโคที่เติมสารละลายกรดแลคติก 1% และสาร Pediocin PA-1 และ เนื้อโคที่เติมสาร Pediocin PA-1 เก็บที่อุณหภูมิ 4 $\pm$ 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 2 4 6 และ 8 วัน

4.3.1 ผลของของการใช้กรดแลคติกและ Pediocin PA-1 จาก *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 และสารผสมของสารละลายดังกล่าว ในการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* Anatum ในเนื้อโคชำแหละจำหน่ายปลีก

ผลการศึกษาจำนวนเชื้อ *S.* Anatum ในกลุ่มตัวอย่างเนื้อโค ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 $\pm$ 1 องศาเซลเซียส ดังแสดงในตารางที่ 4.6 พบว่าการใช้สารละลายกรดแลคติกและสารละลายกรดแลคติกร่วมกับสาร Pediocin PA-1 จะสามารถยับยั้งเชื้อ *S.* Anatum ลงได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยสามารถยับยั้งเชื้อได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในวันที่ 8 ของการศึกษา จากผลการทดลองในตารางที่ 4.6 แสดงให้เห็นว่า เนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 1% และสาร Pediocin PA-1 จะให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S.* Anatum ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ เนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 1 % เนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 0.5% และสาร Pediocin PA-1 และ เนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 0.5% ตามลำดับ ส่วนเนื้อโคที่สัมผัสสาร Pediocin PA-1 นั้นพบว่ามีการลดลงของเชื้อใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม

จำนวนเชื้อ *S.* Anatum ใน เนื้อโคที่มีการสัมผัสสารละลายกรดแลคติก 0.5%, เนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 0.5%ร่วมกับ Pediocin PA-1 , สารละลายกรดแลคติก1% และเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 1% ร่วมกับ Pediocin PA-1 มีจำนวนเชื้อลดลงเรื่อยๆตั้งแต่เริ่มการศึกษา (ชั่วโมงที่ 0) และพบว่าสามารถลดจำนวนเชื้อได้ 1.2 2.0 3.6 และ 3.6 log cfu/g ตามลำดับในวันที่ 8 ของการเก็บรักษาเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 ผลของกรดแลคติกและ Pediocin PA-1 ต่อการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* Anatum ในเนื้อโคชำแหละจำหน่ายปลีกเก็บที่ 4 ± 1 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	จำนวนเชื้อ *S.* Anatum (log cfu/g)					
	C	0.5% lactic	0.5%lac+Ped	1%lactic	1%lac+Ped	P
0	$5.3^{ขa}$	$5.1^{กขa}$	$5.0^{กขa}$	$5.0^{กa}$	$5.0^{กa}$	$5.2^{ขa}$
2	$5.2^{ขa}$	$4.9^{กขa}$	$4.8^{กขa}$	$4.5^{กa}$	$4.5^{กa}$	$5.5^{ขa}$
4	$5.1^{ขa}$	$4.9^{กขa}$	$4.7^{กขa}$	$4.5^{กa}$	$4.5^{กa}$	$5.5^{ขa}$
6	$5.2^{ขa}$	$4.7^{กขa}$	$4.6^{กขa}$	$4.3^{กa}$	$3.1^{กa}$	$5.2^{ขa}$
8	$5.2^{ขb}$	$3.2^{กขb}$	$3.1^{กขb}$	$1.6^{กb}$	$1.6^{กb}$	$5.2^{ขb}$

ตัวอักษร ก-คแสดงความแตกต่างทางสถิติทางด้านกลุ่มสารเคมีที่สัมผัสเนื้อโค และ a,b แสดงความแตกต่างทางสถิติทางด้านระยะเวลาในการเก็บรักษา

C คือ กลุ่มเนื้อโคที่ไม่สัมผัสสารละลาย (กลุ่มควบคุม)

0.5% lactic คือ กลุ่มเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 0.5%

0.5% lac+Ped คือ กลุ่มเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 0.5% ร่วมกับ Pediocin PA-1

1% lactic คือ กลุ่มเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 1%

1% lac+Ped คือ กลุ่มเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 1% ร่วมกับ Pediocin PA-1

P คือ กลุ่มเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายPediocinPA-1

4.3.2 ผลของการใช้กรดแลคติกและสาร Pediocin PA-1 จาก *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 และสารผสมของสารละลายดังกล่าวในการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* Senftenberg ในเนื้อโค

จำนวนเชื้อ *S.* Senftenberg ในตัวอย่างเนื้อโคที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 1 องศาเซลเซียส ดังแสดงในตารางที่ 4.7 พบว่าสารละลายกรดแลคติกและสารละลายกรดแลคติกร่วมกับสาร Pediocin PA-1 จะสามารถลดจำนวนจำนวนเชื้อ *S.* Senftenberg ลงได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยสามารถยับยั้งเชื้อได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในวันที่ 8 ของการศึกษา

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.7 แสดงให้เห็นว่าเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 1%และสาร Pediocin PA-1 จะให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S.* Senftenberg ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ เนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 1 % เนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 0.5% และสาร Pediocin PA-1 และเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 0.5% ตามลำดับ ส่วนเนื้อโคที่สัมผัสสาร Pediocin PA-1 นั้นพบว่ามีการลดลงของเชื้อใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม จำนวนเชื้อ *S.* Senftenberg ในเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 0.5%, เนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 0.5% ร่วมกับ Pediocin PA-1 , เนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 1% และเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 1% ร่วมกับ Pediocin PA-1 มีจำนวนเชื้อลดลงเรื่อยๆตั้งแต่เริ่มการศึกษา (ชั่วโมงที่ 0) และพบว่าสามารถลดจำนวนเชื้อได้ 0.5 1.8 3.2 และ 3.3 log cfu/g ตามลำดับในวันที่ 8 ของการเก็บรักษาเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 ผลของกรดแลคติกและ Pediocin PA-1 ต่อการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* Senftenberg ในเนื้อโคชำแหละจำหน่ายปลีกเก็บที่ 4 ± 1 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	จำนวนเชื้อ *S.* Senftenberg (log cfu/g)					
	C	0.5% lactic	0.5%lac+Ped	1%lactic	1%lac+Ped	P
0	$5.3^{ขa}$	$5.3^{กขa}$	$4.9^{กขa}$	$4.8^{กa}$	$4.7^{กa}$	$5.2^{ขa}$
2	$5.3^{ขa}$	$4.9^{กขa}$	$4.8^{กขa}$	$4.8^{กa}$	$4.7^{กa}$	$5.2^{ขa}$
4	$5.3^{ขa}$	$4.8^{กขa}$	$4.7^{กขa}$	$4.6^{กa}$	$4.5^{กa}$	$5.2^{ขa}$
6	$5.3^{ขa}$	$4.7^{กขa}$	$4.7^{กขa}$	$4.4^{กa}$	$3.7^{กa}$	$5.1^{ขa}$
8	$5.3^{ขb}$	$4.8^{กขb}$	$3.1^{กขb}$	$1.6^{กb}$	$1.5^{กb}$	$5.2^{ขb}$

ตัวอักษร ก-ค และแสดงความแตกต่างทางสถิติทางด้านกลุ่มสารเคมีที่สัมผัสเนื้อโค และ a,b แสดงความแตกต่างทางสถิติทางด้านระยะเวลาในการเก็บรักษา

C คือ กลุ่มเนื้อโคที่ไม่สัมผัสสารละลาย (กลุ่มควบคุม)

0.5% lactic คือ กลุ่มเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 0.5%

0.5% lac+Ped คือ กลุ่มเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 0.5% ร่วมกับ Pediocin PA-1

1% lactic คือ กลุ่มเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 1%

1% lac+Ped คือ กลุ่มเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 1% ร่วมกับ Pediocin PA-1

P คือกลุ่มเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายPediocinPA-1

4.3.3 ผลของการใช้กรดแลคติกและ Pediocin PA-1 จาก *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 และสาร ผสมของสารละลายดังกล่าว ในการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* Weltevreden ในเนื้อโค

จำนวนเชื้อ *S.* Weltevreden ในตัวอย่างเนื้อโคที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 1 องศาเซลเซียส ดังแสดงในตารางที่ 4.8 พบว่าสารละลายกรดแลคติกและสารละลายกรดแลคติกร่วมกับสาร Pediocin PA-1 จะสามารถลดจำนวนจำนวนเชื้อ *S.* Weltevreden ลงได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยสามารถยับยั้งเชื้อได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในวันที่ 8 ของการศึกษา

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.8 แสดงให้เห็นว่าเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 1%และสาร Pediocin PA-1 จะให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S.* Weltevreden ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ เนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 1 %, เนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 0.5%และสาร Pediocin PA-1 และเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 0.5% ตามลำดับ ส่วนเนื้อโคที่สัมผัสสาร Pediocin PA-1 นั้นไม่พบว่ามีการลดลงของเช่นเดียวกับกลุ่มควบคุม

จำนวนเชื้อ *S.* Weltevreden ในเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 0.5%, เนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 0.5%ร่วมกับ Pediocin PA-1 เนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก1% และเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 1% ร่วมกับ Pediocin PA-1 มีจำนวนเชื้อลดลงเรื่อยๆ ตั้งแต่เริ่มการศึกษา (ชั่วโมงที่ 0) และพบว่าสามารถลดจำนวนเชื้อเหลือ 4.6 4.5 4.5 และ 4.4 log cfu/ml ตามลำดับในวันที่ 8 ของการเก็บรักษา ส่วนกลุ่มตัวอย่างที่สัมผัสสาร Pediocin นั้นตรวจพบเชื้อ 5.3 log cfu/ml ซึ่งใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม คือ 5.3 log cfu/ml โดยใช้เชื้อเริ่มต้น 6 log cfu/ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 ผลของกรดแลคติกและ Pediocin PA-1 ต่อการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* Weltevreden ในเนื้อโคชำแหละจำหน่ายปลีกเก็บที่ 4 ± 1 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	จำนวนเชื้อ *S.* Weltevreden (log cfu/g)					
	C	0.5% lactic	0.5%lac+Ped	1%lactic	1%lac+Ped	P
0	$5.1^{ข a}$	$5.0^{ก a}$	$5.0^{ก a}$	$4.8^{ก a}$	$4.8^{ก a}$	$5.3^{ข a}$
2	$5.3^{ข b}$	$4.6^{ก b}$	$4.7^{ก b}$	$4.6^{ก b}$	$4.6^{ก b}$	$5.3^{ข b}$
4	$5.3^{ข ab}$	$4.8^{ก ab}$	$4.8^{ก ab}$	$4.6^{ก ab}$	$4.6^{ก ab}$	$5.4^{ข ab}$
6	$5.3^{ข b}$	$4.7^{ก b}$	$4.6^{ก b}$	$4.6^{ก b}$	$4.6^{ก b}$	$5.3^{ข b}$
8	$5.3^{ข c}$	$4.6^{ก c}$	$4.5^{ก c}$	$4.5^{ก c}$	$4.4^{ก c}$	$5.3^{ข c}$

ตัวอักษร ก-ค แสดงความแตกต่างทางสถิติทางด้านกลุ่มสารเคมีที่สัมผัสเนื้อโค และ a - c แสดงความแตกต่างทางสถิติทางด้านระยะเวลาในการเก็บรักษา

C คือ กลุ่มเนื้อโคที่ไม่สัมผัสสารละลาย (กลุ่มควบคุม)

0.5% lactic คือ กลุ่มเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 0.5%

0.5% lac+Ped คือ กลุ่มเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 0.5% ร่วมกับ Pediocin PA-1

1% lactic คือ กลุ่มเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 1%

1% lac+Ped คือ กลุ่มเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 1% ร่วมกับ Pediocin PA-1

P คือกลุ่มเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายPediocinPA-1

จากผลการทดลองในหัวข้อ 4.3.1 4.3.2 และ 4.3.3 ผลที่ได้พบว่าไปในแนวทางเดียวกับผลการทดลองในหัวข้อ 4.2 คือ เนื้อโคที่สัมผัสกับสารละลายกรดแลคติกร่วมกับสาร Pediocin PA-1 ในเชื้อซัลโมเนลลาทั้งสามสายพันธุ์ คือ *S.* Weltevreden *S.* Anatum และ *S.* senftenberg ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากที่สุด และสามารถลดปริมาณเชื้อ *S.* Anatum ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากที่สุด รองลงมา คือ *S.* senftenberg และ *S.* Weltevreden ตามลำดับ โดยในวันที่ 8 ของการศึกษานั้นเนื้อโคที่สัมผัสกับสารละลายกรดแลคติกร่วมกับสาร Pediocin PA-1 ของเชื้อ *S.* Anatum จะสามารถลดปริมาณเชื้อได้ถึง 3.4 log reduction ส่วน *S.* senftenberg และ *S.* Weltevreden นั้นในตัวอย่างเนื้อโคเดียวกันนี้จะสามารถลดปริมาณเชื้อลงได้ 3.2 และ 0.4 log reduction ตามลำดับ ซึ่งผลที่ได้นี้ก็สอดคล้องกับผลการศึกษาในหัวข้อ 4.2 เช่นกัน คือเชื้อ *S.* Weltevreden เป็นสายพันธุ์ที่ทนต่อความเป็นกรดมากที่สุด และเชื้อ *S.* Anatum ก็เป็นสายพันธุ์ที่มีความทนต่อกรดน้อยที่สุด นอกจากนั้นจากการศึกษายังพบอีกว่าเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายผสมระหว่างกรดแลคติกและ Pediocin PA-1 นั้นจะให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อซัลโมเนลลาได้ดีกว่าการใช้สารละลายกรดแลคติก หรือการใช้สาร Pediocin PA-1 เพียงสารเดียวในทุกกลุ่มตัวอย่างที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติกทั้ง 0.5 และ 1% และการใช้สาร Pediocin PA-1 เพียงสารเดียวนั้นพบว่าไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ (ตารางที่ 4.1 4.2 และ 4.3) ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับผลการทดลองของ Zhang and Mustapha (1999) ซึ่งได้รายงานว่าการใช้สาร nisin ร่วมกับสารจำพวก metal chelators เช่น EDTA จะให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบได้อย่างมีประสิทธิภาพมาก เนื่องจาก EDTA จะก่อให้เกิดความเสียหายกับส่วน outer membrane ซึ่งความเสียหายที่เกิดขึ้นนั้นจะทำให้สาร nisin ซึ่งปกติมีขนาดใหญ่เกินกว่าที่จะ ผ่านเข้าไปในส่วนของ outer membrane ของเซลล์แบคทีเรียแกรมลบสามารถเข้าสู่เซลล์และก่อให้เกิดการทำลายเซลล์เชื้อได้ (Abee *et al.*, 1995) นอกจากนั้นขึ้น และประภาพร และคณะ (2548) ได้รายงานว่าการใช้ กรดแอสคอร์บิก 1%ร่วมกับ กรดกลูโคนิค 1.5% จะสามารถลดจำนวนเชื้อ *S.* Derby ได้ 0.67 log cycle และควบคุมการเจริญของเชื้อได้ 5 วัน และได้มีรายงานเกี่ยวกับการใช้ Pediocin เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาในผลิตภัณฑ์เนื้อสด ซึ่งพบว่าการใช้ Pediocin ในผลิตภัณฑ์เนื้อสดจะให้ผลดีกว่าการใช้สาร nisin ทั้งๆที่ สาร nisin น่าจะให้ประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในผลิตภัณฑ์เนื้อสดโดยทั่วไปได้ดีกว่า ทั้งนี้เนื่องมาจาก nisin จะถูก inactivated ด้วยสาร glutathione ในปฏิกิริยา glutathione S-transferase ซึ่งโดยทั่วไป glutathione มักจะพบในเนื้อสด และปฏิกิริยาดังกล่าวนี้จะลดประสิทธิภาพของ nisin นอกจากนั้นยังมีรายงานว่า nisin จะมีประสิทธิภาพต่ำในผลิตภัณฑ์เนื้อสดเนื่องจากค่า pH ที่สูง และสารประกอบบางชนิดที่อยู่ในเนื้อ เช่น phospholipids, fat content เป็นต้น (Rayman *et al.*, 1983; De Vuyst and Vandamme, 1994; Davies *et al.*, 1999) Swetwiwathana และ คณะ (2002) ได้รายงานว่าการใช้ Pediocin PA-1 ซึ่งผลิตมาจากเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 เป็นกล้าเชื้อในการผลิตแหนมเพื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยับยั้งเชื้อ *S.* Anatum ในตัวอย่างแหนม ผลที่ได้พบว่าตัวอย่างแหนมที่มีค่า pH 4.5 และใช้ Pediocin PA-1 เป็นกล้าเชื้อจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S.* Anatum ได้ดีที่สุด

4.4 ผลของการใช้กรดแลคติกและPediocin PA-1จาก *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ต่อค่า pH ของเนื้อโค

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.9 ค่า pH ของตัวอย่างเนื้อโคที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 1 องศาเซลเซียส พบว่าเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก และเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติกและสาร Pediocin PA-1 จะมีค่า pH ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมและเนื้อโคที่สัมผัสสาร Pediocin PA-1 อย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) โดยค่า pH จะเริ่มลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ตั้งแต่วันที่ 2 ของการศึกษา

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก และเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติกและสาร Pediocin PA-1 จะมีการลดลงของค่า pH ตั้งแต่เริ่มการทดลอง (วันที่ 0) และลดลงเรื่อยๆ และพบว่าเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 1 % ร่วมกับสาร Pediocin PA-1จะมีการลดลงของค่า pH มากที่สุด โดยมีค่า pH ต่ำสุด คือ 4.9 ในวันที่ 8 ของการทดลอง รองลงมา คือ เนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 1 % เนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก0.5 % ร่วมกับสาร Pediocin PA-1 และเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก0.5 % โดยมีการลดลงของค่า pH 0.23 0.17 0.15 และ 0.09 ตั้งแต่วันที่ 0 ถึงวันที่ 8 ตามลำดับ ส่วนกลุ่มตัวอย่างที่สัมผัสสาร Pediocin PA-1 และกลุ่มควบคุมนั้นพบว่าค่า pH จะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆตั้งแต่เริ่มการศึกษา (วันที่ 0)

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.9 จะเห็นได้ว่าค่า pH ในเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติกและเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติกร่วมกับสาร Pediocin PA-1นั้นจะลดลงในแนวทางที่สอดคล้องกับการลดลงของเชื้อซัลโมเนลลาในหัวข้อที่ 4.2 และ 4.3 เนื่องจากค่า pH ที่ลดต่ำลงจะมีผลต่อการลดลงของจำนวนเชื้อ โดยความเป็นกรดที่มากขึ้นจะสามารถยับยั้งเชื้อและก่อให้เกิดการบาดเจ็บของเซลล์เชื้อซัลโมเนลลาได้มากขึ้น อย่างไรก็ตามความสามารถในการยับยั้งเชื้อของกรดก็ขึ้นกับระดับ pH ความสามารถในการแตกตัว (pK_a) และความจำเพาะเจาะจงของกรดในการทำลายจุลินทรีย์ (Gill and Newton. 1982) ส่วนกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่สัมผัสสารละลาย Pediocin PA-1 เพียงอย่างเดียวพบว่าไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งและก่อให้เกิดการบาดเจ็บของเซลล์เชื้อซัลโมเนลลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 ผลของกรดแลคติกและ Pediocin PA-1 ต่อค่า pH ในเนื้อโคชำแหละจำหน่ายปลีกเก็บที่ 4 ± 1 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	ค่า pH ของเนื้อโค					
	C	0.5% lactic	0.5%lac+Ped	1%lactic	1%lac+Ped	P
0	$5.54^{กa}$	$5.39^{ขa}$	$5.38^{ขa}$	$5.23^{กa}$	$5.18^{กa}$	$5.47^{งa}$
2	$5.51^{กb}$	$5.36^{ขb}$	$5.35^{ขb}$	$5.20^{กb}$	$5.15^{กb}$	$5.54^{งb}$
4	$5.53^{กb}$	$5.35^{ขb}$	$5.33^{ขb}$	$5.18^{คb}$	$5.10^{คb}$	$5.60^{งb}$
6	$5.54^{กb}$	$5.32^{ขb}$	$5.28^{ขb}$	$5.10^{คb}$	$5.06^{คb}$	$5.56^{งb}$
8	$5.55^{กb}$	$5.30^{ขb}$	$5.23^{ขb}$	$5.06^{คb}$	$4.95^{คb}$	$5.63^{งb}$

ตัวอักษร ก-ง แสดงความแตกต่างทางสถิติทางด้านกลุ่มสารเคมีที่สัมผัสเนื้อโค และ a,b แสดงความแตกต่างทางสถิติทางด้านระยะเวลาในการเก็บรักษา

C คือ กลุ่มเนื้อโคที่ไม่สัมผัสสารละลาย (กลุ่มควบคุม)

0.5% lactic คือ กลุ่มเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 0.5%

0.5% lac+Ped คือ กลุ่มเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 0.5%ร่วมกับ Pediocin PA-1

1% lactic คือ กลุ่มเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 1%

1% lac+Ped คือ กลุ่มเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 1%ร่วมกับ Pediocin PA-1

P คือกลุ่มเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายPediocinPA-1

จากผลการศึกษาค่า pH ในกลุ่มตัวอย่างที่สัมผัสสารละลายต่างๆทั้ง 6 กลุ่ม ผลที่ได้พบว่าเนื้อโคที่สัมผัสกับสารละลายผสมของกรดแลคติก 1 % และสาร Pediocin PA-1 จะมีค่า pH ต่ำที่สุดในทั้ง 6 กลุ่มการทดลอง โดยมีค่า pH อยู่ระหว่าง 4.9-5.2 ตั้งแต่เริ่มจนสิ้นสุดการศึกษา (วันที่ 0 – วันที่ 8) รองลงมาคือเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 1% เนื้อโคที่สัมผัสกับสารละลายผสมของกรดแลคติก 0.5 % และสาร Pediocin PA-1 เนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 0.5 % เนื้อโคที่สัมผัสสาร Pediocin PA-1 และกลุ่มควบคุม โดยผลของค่า pH ที่ได้จากการศึกษาจะสัมพันธ์กับประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ และค่าเปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของเซลล์เชื้อซัลโมเนลลาทั้งสามสายพันธุ์ในหลอดทดลอง (หัวข้อ 4.2) และประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อซัลโมเนลลาทั้งสามสายพันธุ์ในตัวอย่างเนื้อโคสด (หัวข้อ 4.3) โดยในตัวอย่างที่มีค่า pH ต่ำที่สุดซึ่งก็คือเนื้อโคที่สัมผัสกับสารละลายผสมของกรดแลคติก 1 % และสาร Pediocin PA-1 จะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อซัลโมเนลลาได้ดีที่สุด และเนื้อโคที่มีค่า pH สูง คือ กลุ่มที่สัมผัสสาร Pediocin PA-1 และกลุ่มควบคุมจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อที่ต่ำ

เมื่อพิจารณาค่า pH ในเนื้อโคที่ทำการศึกษาจะพบว่าเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายผสมระหว่างกรดแลคติกและสาร Pediocin PA-1 จะมีค่า pH ต่ำกว่าเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก หรือเนื้อโคที่สัมผัสสาร Pedioci n PA-1 เพียงสารเดียว ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการที่ทั้งกรดแลคติกและสาร Pediocin PA-1 ต่างก็มีความเป็นกรด จึงมีผลให้ค่า pH ของตัวอย่างเนื้อโคลดต่ำลงมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Samelis *et al.* (2001) ที่ทำการทดลองโดยใช้กรดอะซิติกร่วมกับสารแบคเทอริโอซินจากเชื้อ *Lb. sake* ในการลดปริมาณเชื้อ *L. monocytogenes* ในเนื้อสด พบว่าการใช้กรดอะซิติกร่วมกับแบคเทอริโอซินในระดับสูงขึ้น ส่งผลให้การลดลงของค่า pH ในตัวอย่างสูงขึ้น

4.5 ผลของการใช้กรดแลคติกและPediocin PA-1จาก *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ต่อค่าความสว่างของสี (L^*)ของเนื้อโค

ผลการศึกษาค่าความสว่างของสี (L^*) โดยใช้เครื่องวัดสี (Minolta Chromameter CR-300) ในตัวอย่าง เนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติกและสารPediocin PA-1 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 $\pm$ 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 2 4 6 และ 8 วัน ดังแสดงในตารางที่ 4.4 แสดงให้เห็นว่าในเนื้อโคแต่ละกลุ่มมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) โดยเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก เนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติกร่วมกับสาร Pediocin PA-1 และเนื้อโคที่สัมผัสสาร Pediocin นั้นจะมีค่าความสว่างของสี(L^*) แตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

จากผลการศึกษาที่แสดงในตารางที่ 4.10 นั้น ผลที่ได้พบว่าเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติกร่วมกับสาร Pediocin PA-1 นั้นจะให้ความสว่างของสี (L^*) มากที่สุด คือ 50.46 รองลงมาคือ เนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 1% เนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 0.5% ร่วมกับสาร Pediocin PA-1 เนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 0.5 % และเนื้อโคที่สัมผัสสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Pediocin PA-1 โดยมีค่าความสว่างของสี (L^*) เท่ากับ 49.78 48.55 46.66 และ 45.98 ตามลำดับ ส่วนกลุ่มควบคุมนั้นจะมีค่าความสว่างของสีน้อยที่สุด คือ 45.41

ผลการศึกษาอิทธิพลของสารละลายกรดแลคติกและสาร Pediocin PA-1 และสารผสมของสารละลายดังกล่าวต่อค่าความสว่าง(L^*) ของสีเนื้อโคนั้น พบว่าค่าความสว่างของสีเนื้อโคจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารละลายกรดเพิ่มมากขึ้นหรือเมื่อค่า pH ของตัวอย่างเนื้อโคนั้นต่ำลง ซึ่งจากผลการทดลองที่แสดงในตารางที่ 4.5 จะแสดงให้เห็นว่าในเนื้อโคที่สัมผัสสารผสมของสารละลายกรกแลคติก 1 % และสาร Pediocin PA-1 นั้นจะมีค่าความสว่างของสี (L^*) สูงที่สุด ซึ่งจะสัมพันธ์กับผลในหัวข้อ 4.4 คือในเนื้อโคนี้จะมีค่า pH ต่ำที่สุดเนื่องมาจากการที่ใช้สารละลายผสมของสารทั้งสองจะส่งผลให้ค่าความเป็นกรดด่างในตัวอย่างเนื้อโคต่ำลง และจากผลการศึกษาจะพบอีกว่าค่าความสว่างของสีเนื้อโค (L^*) จะเพิ่มสูงขึ้นตลอดการศึกษาในทุกกลุ่มตัวอย่าง ซึ่งผลที่ได้จะสอดคล้องกับ Kotula and Thelappurath (1994) ซึ่งได้รายงานว่าในตัวอย่างเนื้อโคสดที่มีค่า pH ต่ำจะพบว่าจะมีค่าความสว่างของสีเนื้อ (L^*) สูง และสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Jimenez-Villarreal *et al.* (2003) ที่พบว่าการใช้สารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 2 % ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อโคสดพบว่าสารละลายกรดแลคติกจะทำให้ตัวอย่างเนื้อโคมีสีซีดลง (ค่า L^* สูงขึ้น) นอกจากนี้ ยังพบอีกว่าค่า pH จะสัมพันธ์กับค่าความสว่างของสี (L^*) oxymyoglobin content และค่า (a^*) Desmond and Troy (2001) ได้ทำการศึกษาคุณภาพทางประสาทสัมผัสของตัวอย่างไส้กรอกแฟรงเฟอร์เตอร์ที่สัมผัสกับสารละลายกรดแลคติก 0.05 mol/L ผลที่ได้พบว่าตัวอย่างไส้กรอกจะมีสีซีดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่ง Bayles *et al.* (1996) ได้ให้เหตุผลว่าเมื่อค่า pH ของเนื้อลดต่ำลงจะมีผลทำให้โปรตีนที่อยู่ในกล้ามเนื้อเกิดการเสื่อมสภาพ ทำให้เนื้อไม่สามารถเก็บกักน้ำเอาไว้ได้ ทำให้เนื้อมีน้ำซึมออกมาที่ผิวหน้าเนื้อมาก ทำให้ค่าความสว่างของสีเนื้อ นอกจากนี้ Arganosa and Marriott (1989) ได้ให้เหตุผลที่เมื่อตัวอย่างเนื้อสัตว์ที่สัมผัสสารละลายกรดแล้วจะมีสีซีดลงเนื่องจาก สารละลายกรดจะเร่งให้เกิดการเปลี่ยนจากไมโอโกลบินเป็นเมทไมโอโกลบินซึ่งจะทำให้เนื้อมีสีซีดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.10 ผลของกรดแลคติกและ Pediocin PA-1 ต่อค่าสี (L^*) ในเนื้อโคชำแหละจำหน่ายปลีกเก็บที่ 4 ± 1 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	ค่าความสว่างของสี (L^*) ของเนื้อโค					
	C	0.5% lactic	0.5%lac+Ped	1%lactic	1%lac+Ped	P
0	$44.43^{กa}$	$45.03^{ขกa}$	$45.46^{ขa}$	$46.33^{ขกa}$	$47.43^{กa}$	$45.63^{ขกa}$
2	$44.69^{กb}$	$45.63^{ขกb}$	$45.14^{ขb}$	$47.48^{ขกb}$	$47.32^{กb}$	$45.09^{ขกb}$
4	$44.10^{กa}$	$45.71^{ขกa}$	$47.32^{ขa}$	$48.48^{ขกa}$	$48.65^{กa}$	$45.77^{ขกa}$
6	$45.06^{กb}$	$45.37^{ขกb}$	$47.38^{ขb}$	$48.62^{ขกb}$	$50.06^{กb}$	$45.37^{ขกb}$
8	$45.41^{กa}$	$46.66^{ขกa}$	$48.55^{ขa}$	$49.78^{ขกa}$	$50.46^{กa}$	$45.98^{ขกa}$

ตัวอักษร ก-คแสดงความแตกต่างทางสถิติทางด้านกลุ่มสารเคมีที่สัมผัสเนื้อโค และ a,b แสดงความแตกต่างทางสถิติทางด้านระยะเวลาในการเก็บรักษา

C คือ กลุ่มเนื้อโคที่ไม่สัมผัสสารละลาย (กลุ่มควบคุม)

0.5% lactic คือ กลุ่มเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 0.5%

0.5% lac+Ped คือ กลุ่มเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 0.5% ร่วมกับ Pediocin PA-1

1% lactic คือ กลุ่มเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 1%

1% lac+Ped คือ กลุ่มเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 1% ร่วมกับ Pediocin PA-1

P คือกลุ่มเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายPediocinPA-1

4.6 ผลของกรดแลคติกและสาร Pediocin PA-1 จาก *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 และสารผสมของสารละลายดังกล่าวต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของเนื้อโคชำแหละจำหน่ายปลีก

ภายหลังการจุ่มชิ้นเนื้อโคในสารละลายกรดแลคติก 0.5%, สารละลายกรดแลคติก 0.5% ร่วมกับสาร Pediocin PA-1, สารละลายกรดแลคติก 1%, สารละลายกรดแลคติก 1%ร่วมกับสาร Pediocin PA-1 และสาร Pediocin PA-1 นำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 $\pm$1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 2 4 6 และ 8 วัน พบว่าสารละลายกลุ่มต่างๆมีผลต่อการสูญเสียน้ำหนักของเนื้อโคแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

จากผลการทดลองที่แสดงในตาราง 4.12 พบว่าเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติกร่วมกับสารPediocin PA-1 จะมีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของเนื้อโคมากที่สุด คือ 0.6 ตั้งแต่เริ่มการศึกษา (วันที่0) รองลงมาคือ เนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 1 % เนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 0.5% ร่วมกับสาร Pediocin PA-1 และ เนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 0.5 % โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของเนื้อโค 0.6 0.3 และ 0.3 ตามลำดับ และค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ตามวันในการเก็บรักษา โดยพบว่าในวันที่ 8 ของการเก็บรักษานั้นเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติกร่วมกับสาร Pediocin PA-1 จะมีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของเนื้อโคเพิ่มขึ้นเป็น 2.1 ส่วนในกลุ่มเนื้อโคอื่นๆ ก็มีการเพิ่มการสูญเสียน้ำหนักเช่นเดียวกัน คือ 1.8 1.4 และ 0.9 ในเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 1 % เนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 0.5% ร่วมกับสาร Pediocin PA-1 และ เนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 0.5 % ตามลำดับ ส่วนในเนื้อโคที่สัมผัสสาร Pediocin PA-1 นั้นค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของเนื้อโคนั้นใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม

ผลของการใช้สารละลายกรดแลคติกและสาร Pediocin PA-1 และสารผสมของสารละลายดังกล่าวต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของเนื้อโค ผลที่ได้พบว่าเนื้อโคที่สัมผัสสารผสมของสารละลายกรดแลคติก 1% และสาร Pediocin PA-1 จะมีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักกรดแลคติกมากกว่ากลุ่มตัวอย่างอื่นๆ คือ 2.1 ในวันที่ 8 ของการศึกษา เนื่องจากกลุ่มตัวอย่างนี้มีค่า pH ต่ำกว่าทุกกลุ่มเนื้อโค ซึ่งการสูญเสียน้ำหนักของเนื้อโคขึ้นกับค่า pH ของสารละลาย โดยสารละลายที่มีค่า pH ต่ำจะทำให้ค่า pH ภายในเซลล์กล้ามเนื้อลดต่ำลงใกล้กับค่าไอโซอิเลคตริก (isoelectric point) ทำให้โปรตีนในกล้ามเนื้อเสียสภาพ และเป็นผลให้เส้นใยกล้ามเนื้อในส่วนไมโอไฟบริลเกิดการหดตัว เป็นเหตุให้เนื้อสัตว์อุ้มน้ำได้น้อยลงเกิดการสูญเสียน้ำมากขึ้น (Arganosa และ Marriootte , 1989) และเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบระหว่างเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายผสมระหว่างกรดแลคติกและสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.11 ค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของตัวอย่างเนื้อโคที่ผ่านการจุ่มสารละลายในกลุ่มต่างๆ ภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิ 4 $\pm$ 1 องศาเซลเซียส

ระยะเวลา	เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของตัวอย่างเนื้อโค					
การเก็บ (วัน)	C	0.5% lactic	0.5%lac+Ped	1%lactic	1%lac+Ped	P
0	$0.1^{กa}$	$0.3^{ขb}$	$0.3^{ขb}$	$0.6^{คb}$	$0.6^{คb}$	$0.1^{กa}$
2	$0.1^{กa}$	$0.4^{ขb}$	$0.5^{ขb}$	$0.6^{คb}$	$0.7^{คb}$	$0.2^{กa}$
4	$0.1^{กb}$	$0.5^{ขb}$	$0.9^{ขb}$	$0.7^{คb}$	$0.9^{คb}$	$0.2^{กb}$
6	$0.2^{กb}$	$0.6^{ขb}$	$1.0^{ขb}$	$1.6^{คb}$	$1.7^{คb}$	$0.2^{กb}$
8	$0.2^{กc}$	$0.9^{ขc}$	$1.4^{ขc}$	$1.8^{คc}$	$2.1^{คc}$	$0.2^{กc}$

ตัวอักษร ก-ค แสดงความแตกต่างทางสถิติทางด้านกลุ่มสารเคมีที่สัมผัสเนื้อโค และ a - c แสดงความแตกต่างทางสถิติทางด้านระยะเวลาในการเก็บรักษา

C คือ กลุ่มเนื้อโคที่ไม่สัมผัสสารละลาย (กลุ่มควบคุม)

0.5% lactic คือ กลุ่มเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 0.5%

0.5% lac+Ped คือ กลุ่มเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 0.5%ร่วมกับ Pediocin PA-1

1% lactic คือ กลุ่มเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 1%

1% lac+Ped คือ กลุ่มเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 1%ร่วมกับ Pediocin PA-1

P คือกลุ่มเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายPediocinPA-1

Pediocin PA-1 กับเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดเพียงอย่างเดียวจะพบว่าเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายผสมจะมีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักมากกว่า ทั้งนี้เนื่องมาจากค่า pH ที่ต่ำกว่า และความเข้มข้นของกรดที่สูงกว่า ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับ Mendonca *et al.* (1989) ที่พบว่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายผสมระหว่างกรดอะซิติก 3 % และโซเดียมคลอไรด์ 1.5 % สารละลายผสมระหว่างกรดแลคติก 3 % และเกลือโซเดียมแอสคอร์เบท 3 % จะมีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักสูงกว่าเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 3 % เพียงสารเดียว แต่เมื่อเปรียบเทียบกับรายงานของ ประภาพร และคณะ (2548) พบว่าการใช้สารผสมของสารโปแตสเซียมซอร์เบท 5% และ ไตรโซเดียมฟอสเฟต 8 % มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S.* Derby โดยที่มีการสูญเสียน้ำหนักของเนื้อน้อยที่สุดและไม่ทำให้เนื้อเกิดสีซีด ดังนั้นการใช้สารอื่นๆร่วมกับกรดแลคติกหรือสาร Pediocin PA-1 ในการยับยั้งเชื้อซัลโมเนลลาโดยที่ไม่ทำให้เนื้อเกิดการสูญเสียน้ำหนักและสีซีดจึงเป็นอีกแนวทางที่ควรทำการศึกษาต่อไป

4.7 ผลของการใช้กรดแลคติกและPediocin PA-1จาก *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสทางด้านสีและกลิ่นของเนื้อโค

ผลทางคุณภาพทางประสาทสัมผัสทางด้านสีและกลิ่นของเนื้อโคทั้ง 5 กลุ่ม คือ เนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 0.5%, เนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 0.5% ร่วมกับสาร Pediocin PA-1, เนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 1 %, เนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 1% ร่วมกับสาร Pediocin PA-1 และเนื้อโคที่สัมผัสสาร Pediocin เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยใช้ผู้ทดสอบ 30 คนและใช้วิธี different from control ในการทดสอบ ผลที่ได้ดังแสดงในตารางที่ 4.11 พบว่าในแต่ละกลุ่มตัวอย่างไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยผลจากตารางที่ 4.11 พบว่าเนื้อโคทุกกลุ่มจะมีความแตกต่างในด้านสีของเนื้อ และกลิ่นกรดแตกต่างจากกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้สัมผัสสารเคมีใดๆเพียงเล็กน้อย

ผลการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสทางด้านสีและกลิ่นของเนื้อโค โดยใช้ผู้ชิมทั้งหมด 30 คน ใช้วิธี Different from control ในการทดสอบพบว่าผู้ชิมไม่สามารถแยกความแตกต่างทางด้านสีและกลิ่นได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P <0.05$) อาจเนื่องมาจากเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกที่ใช้ในการศึกษา คือ 0.5 และ 1 % นั้นเป็นความเข้มข้นกรดที่ไม่สูงมากนัก ดังนั้นในเนื้อโคแต่ละกลุ่มจึงพบความแตกต่างเพียงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และในเนื้อโคที่สัมผัสสารผสมระหว่างกรดแลคติก 1 % และสาร Pediocin PA-1นั้นจะพบความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมมากที่สุด คือตัวอย่างเนื้อมีสีซีดและมีกลิ่นกรดมากที่สุด เนื่องจากสารละลายที่มีค่าความเป็นกรดสูงไปทำลายโปรตีนในกล้ามเนื้อ ทำให้สีของเนื้อซีดลง ผลที่ได้พบว่าสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Jimenez-Villarreal *et al.* (2003) ซึ่งพบว่าในการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสทางด้านสีและกลิ่นของเนื้อโคสด โดยนำตัวอย่างเนื้อโคสัมผัสสารละลายกรดแลคติก 2 % พบว่าผู้ชิมไม่สามารถแยกความแตกต่างโดยรวมทางด้านสีและกลิ่นของเนื้อโค เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.12 ผลของกรดแลคติกและ Pediocin PA-1 ต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสทางด้านสีและกลิ่นในเนื้อโคชำแหละจำหน่ายปลีก

กลุ่มตัวอย่าง	เนื้อโค	
	สีของเนื้อ	กลิ่นกรด
C	0.00	0.00
0.5% lactic	-1.43^{กข}	0.27^{ก}
0.5%lac + Ped	-1.50^{กข}	0.29^{กข}
1% lactic	-1.50^{กข}	0.38^{กข}
1%lac + Ped	-2.03^{ก}	0.45^{กข}
P	-1.50^{ข}	0.13^{ข}

ตัวอักษร ก-ขแสดงความแตกต่างทางสถิติทางด้ารกลุ่มสารเคมีที่สัมผัสเนื้อโค

C คือ เนื้อโคที่ไม่สัมผัสสารละลาย (กลุ่มควบคุม)

0.5% lactic คือ เนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 0.5%

0.5% lac+Ped คือ เนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 0.5% ร่วมกับ Pediocin PA-1

1% lactic คือ เนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 1%

1% lac+Ped คือ เนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 1% ร่วมกับ Pediocin PA-1

P คือ เนื้อโคที่สัมผัสสารละลายPediocinPA-1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

1. จากการสุ่มตรวจตัวอย่างเนื้อโคทั้งหมด 35 ตัวอย่างที่จำหน่ายในตลาดสดในเขตพระโขนง ประเวศ ลาดกระบัง มีนบุรีและบางกะปิพบการปนเปื้อน 26 ตัวอย่าง (74.3%) และเมื่อนำไปตรวจยืนยันซีโรวาร์จาก WHO *Salmonella – Shigella* Center สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ พบเชื้อซัลโมเนลลาทั้งหมด 20 ซีโรวาร์โดย *S.* Senftenberg เป็นสายพันธุ์ที่พบมากที่สุด (19.3%) รองลงมาเป็น *S.* Anatum (15.6%) และ *S.* Weltevreden (11.0%)ตามลำดับ โดยในขั้นตอน selective enrichment การใช้ TTB บ่มที่ 43 องศาเซลเซียสจะให้ผลการตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลามากกว่าการใช้ TTB บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส และ RV broth บ่มที่ 42 องศาเซลเซียส

2. การศึกษาผลของกรดแลคติก สาร Pediocin PA-1 และสารผสมของสารละลายดังกล่าวต่อการยับยั้งและการบาดเจ็บของเชื้อซัลโมเนลลาในหลอดทดลองในเชื้อซัลโมเนลลาทั้ง 3 สายพันธุ์พบว่ากลุ่มอาหาร TSB ที่เติมสารละลายกรดแลคติก 1% ร่วมกับสาร Pediocin PA-1 จะสามารถยับยั้งและทำให้เกิดการบาดเจ็บของเซลล์เชื้อซัลโมเนลลาทั้ง 3 สายพันธุ์ได้ดีที่สุดโดยให้ผลในการยับยั้งและการบาดเจ็บของเซลล์เชื้อ *S.* Anatum ได้อย่างมีประสิทธิภาพที่สุด รองลงมาคือ *S.* Senftenberg และ *S.* Weltevreden ตามลำดับ

3. การศึกษาผลของกรดแลคติก สาร Pediocin PA-1 และสารผสมของสารละลายดังกล่าวต่อการยับยั้งเชื้อซัลโมเนลลาเมื่อนำมาประยุกต์ใช้ในเนื้อโคผลที่ได้พบว่าเป็นไปในแนวทางเดียวกัน คือ เนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 1 % และสาร Pediocin PA-1ความเข้มข้น 1,600 AU/ml จะให้ผลในการยับยั้งเชื้อซัลโมเนลลาทั้ง 3 สายพันธุ์ได้ดีที่สุด และพบอีกว่าสามารถยับยั้งเชื้อ *S.* Anatum ได้อย่างมีประสิทธิภาพที่สุด รองลงมาคือ *S.* Senftenberg และ *S.* Weltevreden ตามลำดับ

4. จากการศึกษาพบว่าเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 1 % ร่วมกับสาร Pediocin PA-1ความเข้มข้น 1,600 AU/ml นี้มีค่า pH ต่ำที่สุดจึงทำให้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด และมีค่าความสว่างของสี (L^*) มากที่สุด เนื้อในกลุ่มนี้จึงดูมีสีซีดมากที่สุดเนื่องมาจากการที่ค่าpH ลดต่ำลงมากเท่าไรก็จะส่งผลให้เนื้อมีสีซีดเนื่องจากความเป็นกรดที่เกิดจากค่า pH ที่ต่ำจะส่งผลให้กล้ามเนื้อของเนื้อโคเกิดการเสื่อมสภาพ ไม่สามารถกักเก็บน้ำไว้ได้ จึงทำให้มีน้ำซึมออกมาบริเวณผิวหน้าเนื้อมากเนื้อโคจึงดูมีสีซีด

5. การศึกษาผลของกรดแลคติก สาร Pediocin PA-1 และสารผสมของสารละลายดังกล่าวต่อการยับยั้งเชื้อซัลโมเนลลาต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในเนื้อโคพบว่าเนื้อโคที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 1 % ร่วมกับสาร Pediocin PA-1 จะมีค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของเนื้อโคสูงที่สุด เนื่องจากการสูญเสียน้ำหนักของเนื้อโคนั้นเกี่ยวข้องกับค่า pH โดยค่า pH ที่ต่ำจะทำให้ค่า pH ในเนื้อโคต่ำลงจนใกล้จุดไอโซอิเลคตริก (Isoelectric point) ทำให้กล้ามเนื้อทำให้โปรตีนในกล้ามเนื้อเสียสภาพ และเป็นผลให้เส้นใยกล้ามเนื้อในส่วนไมโอไฟบริลเกิดการหดตัว เป็นเหตุให้เนื้อสัตว์อุ้มน้ำได้น้อยลงเกิดการสูญเสียน้ำมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. ผลจากการทดสอบทางประสาทสัมผัสของเนื้อโคโดยวิธี Different from control โดยใช้ผู้ทดสอบ 30 คน ทดสอบทางด้านสีและกลิ่นของเนื้อโค พบว่า ผู้ชิมไม่สามารถแยกกลุ่มตัวอย่างเนื้อโคที่สัมผัสกรดแลคติก สาร Pediocin PA-1 และสารผสมของสารละลายดังกล่าวได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

การศึกษาครั้งนี้พบว่าการใช้สาร Pediocin PA-1 จาก *P. pentosaceus* TISTR 536 ร่วมกับสารละลายกรดแลคติกมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อซัลโมเนลลาในเนื้อโคที่ดีกว่าการใช้กรดแลค ติก เพียงอย่างเดียว ดังนั้นการนำสาร Pediocin PA-1 มาประยุกต์ใช้ในเนื้อสัตว์จึงเป็นอีกแนวทางที่น่าจะทำการศึกษาต่อไป ทั้งนี้เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่มีความปลอดภัยและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคมากขึ้น

เอกสารอ้างอิง

จุฑารัตน์ เลี่ยนกัตวา. 2545. " ผลของกรดกลูโคนิค กรดแอสคอร์บิก และสารไนซินต่อการลดจำนวนเชื้อ *Salmonella* Derby และ เชื้อ *E.*coli ในเนื้อสุกร." วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

ประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2536. เรื่องเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาทางอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร วันที่ 24 สิงหาคม 2536.

ประภาพร ขอไพบูลย์, ทิพรดี คงสุวรรณ, และเยวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์. 2548. " ผลของไตรโซเดียมฟอสเฟต เซททิลไพริดิเนียมคลอไรด์ โปแตสเซียมซอร์เบทต่อการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* Derby บนผิวเนื้อสุกร." หน้า 86. เอกสารประกอบการประชุมวิชาการสาขาสัตวบาล/ สัตวศาสตร์/ สัตวแพทย์ ครั้งที่ 5. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

วิเชียร ลีลาวัชรมาศ. 2541. "การคัดเลือกจุลินทรีย์เพื่อโปรไบโอติก." **วารสารจาร์พา.** 45.

สุมาลี บุญมา, อรุณ บ่างตระกูลนนท์, นพรัตน์ หมานริน และ ชุทพจน์ อมาตยกุล. 2539. "การตรวจเชื้อซาลโมเนลลาในเนื้อสัตว์ โดยวิธี SCM และ MSRV." **อาหาร.** 26 : 88-97.

สุมาลี บุญมา, นพรัตน์ หมานริม, ศรีรัตน์ พรเรืองวงศ์, และ อรุณ บ่างตระกูลนนท์. 2540. "การศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อซัลโมเนลลาในผลิตภัณฑ์จากเนื้อไก่และเนื้อหมู." **ว.เกษตรศาสตร์.**31 :413-418.

อดิศร เสวตวิวัฒน์, วราวุฒิ ครูส่ง, ศรีรัตน์ พรเรืองวงศ์, และ อรุณ บ่างตระกูลนนท์. 2548. "เปรียบเทียบอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อในขั้นตอน selective enrichment และ isolation ในการตรวจหาเชื้อซาลโมเนลลาในเนื้อหมูสดจำหน่ายปลีก." **วารสารเกษตรพระจอมเกล้า.** 23(1) : 1-13.

Abee, T., Krockel, L., and Hill, C., 1995. " Bacteriocins : modes of action and potentials in food preservation and control of food poisoning." **Int. J. Food. Microbiol.** 28: 169-185.

Anderson, M.E., and Marshall, R.T. 1990. "Reducing microbial populations on beef tissue: concentration and temperature of an acid mixture." **J. Food Sci.** 55: 903.

AOAC International. 1984. Official method of analysis. **14th.ed. Association of Analytical chemist.** Arlington, Vcrginia.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Arganosa, G. C., and Marriott, N. G. 1989. " Organic acids as tenderizers of collagen in restructured beef." **J. Food. Sci.** 54: 1173-1176.

Bangtrakulnonth, A., Boonmar, S., Luengyosluechakul, S., Musum, M., and Sutanthavibul, J. 1994. "Study of pig salmonellosis in Thailand ." **Proc. 13 th IPVS congress.**

Bangtrakulnonth, A., Pornreongwong, S., Pulsrikarn, C., Sawanpanyalert, P., Hendriksen, R.S., Wong, D., and Aarestrup, F.M. 2004. " *Salmonella* serovars from humans and other sources in Thailand, 1993-2002." **Emerging Infectious Diseases.** 10(1): 131-136.

Bayles, D. O., Annous, B. A., and Wilkinson, B. J. 1996. " Cold stress proteins induced in *Listeria monocytogenes* in responses to temperature down shock and growth at low temperatures." **Appl. Environ. Microbiol.** 62(3): 1116-1119.

Berends, B.R., Snijders, J.M.A. and Van Logtestijn, J.G., 1993. "Efficacy of current EC meat inspection procedures and some proposed revisions with respect to microbiological safety: A critical review." **Vet. Rec.**. 133: 411–415.

Berends, B.R., Burt, S.A., Snijders, J.M.A., 1995. "Critical control points in relation to breaking *Salmonella* and *Listeria* cycles in pork production." In: Burt, S.A., Bauer, F. (Eds.). New challenges in Meat Hygiene: Specific Problems in Cleaning and Disinfection. European Consortium for the Continuing Education in Advanced Meat Science and Technology (ECCEAMST), Utrecht, The Netherlands. Pp. 11–17.

Berends, B.R., Knapen, F.V., Mossel, D.A.A., Snijders, J.M.A and Burt, S.A. 1997. " Idenification and quantification of rik factors regarding *Salmonella* spp. On pork carcasses." **Int. J. Food. Microbiol.** 36: 199-206.

Berends, B.R., Knapen, F.V., Mossel, D.A.A., Burt, S.A., and Snijders, J.M.A. 1998. "*Salmonella* spp. On pork at cutting plants and at the retail level and the influence of particular risk factors." **Int. J. Food. Micro.** 44:207-217.

Bhunia, A. K., Kim, W.J., Johnson, M.C., and Ray, B. 1987a. "Partial purification and characterization of antimicrobial substances from *Pediococcus acidilactici* and *Lactobacillusplantarum.*" **IFT 87 Program and Abstracts. Annual Meeting, Institute of food technologists, Las Vegas,June 16-19.** Abstract no.143.

Bhunia, A. K., Kim, W.J., Johnson, M.C., and Ray, B. 1987b. "Direct detection of and antimicrobial peptide of *Pediococcus acidilactici* in sodium dodecyl sulfate- polyacrylamidegel electrophoresis." **J.Ind.Microbiol.** 2: 319-322.

Bhunia, A. K., Kim, W.J., Johnson, M.C., and Ray, B. 1988. "Purification, characterization and Anti-

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

microbial spectrum of bacteriocin produced by *Pediococcus acidilactici*." **J.Appl.Bacteriol.** 65: 261-268.

Borch, E., Nesbakken, T., and Christensen, H. 1996. " Hazard identification in swine slaughter to with respect foodborne bacteria." **Int. J. Food. Microbiol.** 30:9-25.

Chau, P.Y., Shortridge, K.F., and Huang, C.T. 1977. "*Salmonella* in pig carcasses for human consumption in Hong Kong: a study on the mode of contamination." **J. Hyg. (Camb.)** 78: 253-260.

Collin, C.H. 1995. "Collins and Lyne's microbiological methods." Oxford, UK: Butterworth-Heinemann.

Davies, E.A., Milne, C.F., Bevis, H.E., Potter, R.W., Harris, J.W., Williams, G.C., Thomas, L.V., and Delves-Broughton, J. 1999. " Effective use of nisin to control lactic acid bacterial spoilage in vacuum-packed bologna-type sausage." **J. Food. Prot.** 62: 1004-1010.

De Vuyst, L., Vandamme, E., 1994. " Nisin, a lantibiotic produced by *Lactococcus lactis* subsp. lactis: properties, biosynthesis and application. In: de Vuyst, L., Vandamme, E. (Eds.), Bacteriocns of lactic acid bacteria. Microbiology, genetics and applications, Blackie Academic and Profesional, London, pp. 151-221.

Desmond, E.M., and Troy, D.J. 2001. "Effect of lactic acid and citric acid on low-value beef used for emulsion-type meat products." **Lebensm.-Wiss. U.-Technol.** 34: 374-379.

Doyle, M.P., Beuchat L.R., and Montville T.J. 1997. "Food microbiology:Fundamentals and frontiers." Am. Soc. Microbiol. Washington D.C.

Florjanc, P., Eggenkamp, A.E., Burt, S.A., Berends, B.R., and Snijders J.M.A., 1992. "The effects of disinfection on the prevalence of *Salmonella* spp. And *Listeria* spp. In the cutting room of a pig slaughterhouse." VVDO-report H9214. Department of the Science of Food of Animal Origin (VVDO), Faculty of Veterinary Medicine, Utrecht University, The Netherlands.

Forsythe, S.J., and Hayes, P.R. 1998. "Food hygiene, microbiology and HACCP." 3rd ed. Gaithersburg: Aspen Publishers, Inc.

Garneau, S., Martin, N. I., and Vederas, J. C. 2002. "Two-peptide bacteriocins produced by lactic acid bacteria." **Biochemie.** 84: 577-592.

Gill, C.O. 1998. " Microbiological contamination of meat during slaughter and butchering of cattle, sheep and pigs. In : Davies, A.R., Board, R.G. (Eds.), The microbiology of meat and poultry. Blackie Academic, London, pp. 118-157.

Gill, C. O., and Badoni, M. 2004. "Effects of peroxyacetic acid, acidified sodium chlorite or lactic acid solutions on the microflora of chilled beef carcasses." **Int. J. Food Micro.** 91:43-50.

Gill, C.O., and Brayant, J. 1992. " The contamination of pork with spoliage bacteria during, chilling and

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

cutting of pig carcasses. **Int. J. Food Microbiol.** 16: 51-62.

Gill, C.O., and Brayant, J. 1993. "The presence of *Escherichia* Coli, *Salmonella* and *Campylobacter* in pig carcass deharing equipment." **Food Microbiol.** 10: 337-344.

Gill, C. O., and Jones, T., 1997. " Assessment of the hygienic characteristics of process for dressing pasteurized pig carcasses." **Food. Microbiol.** 14: 81-91.

Gracey, J.F. 1986. " Preservation of meat." In: Gracey, J.F. (Ed.) , Meat Hygiene. Balliere Tindall, London, pp. 248-278.

Hald, T., Wingstrand, A., Swanenburg, M., Von Altrock, A., Limpitakis, N., and Thorberg, B.2001. " The occurrence and epidemiology of *Salmonella* in European pig slaughterhouses. In: *Salmonella* in pork. Epidemiology, control and the public health impact. Royal Veterinary and Agicultural University, Denmark, pp. 115-152.

Hamby, P.L., Savell, J.W., Acuff, G.R., Vanderzant, C., and Cross, H.R. 1987. "Spary-chilling and carcass decontamination systems using lactic acid and acetic acid." **Meat Sci.** 21:1-14

Jernklinchan, J., Koowatannanukul, K., and Saittanu, K. 1994. " Occurrence of *Salmonella* in raw broilers and their products in Thailand." **J. Food Prot.** 57: 808-810.

Jimenez-Villarreal, J. R, Pohlman, F. W., Johnson, Z. B., and Brown, A. H. 2003. " Effects of chlorine dioxide, cetylpyridinium,lactic acid and trisodium phosphate on physical, chemical and sensory properties of ground beef." **Meat Science** 65: 1055-1062.

Kalchayanand, N. 1990. "Extension of shelf-life of vacumm-packaged refrigerated fresh beef by bacteriocins of lactic acid bacteria. Philosophy thesis, University of Wyoming, Laramie.

Klaenhammer, T.R. 1993. "Genetics of Bacteriocins produced by lactic acid bacteria." **FEMS Microbiol. Rev.** 12: 39-85.

Kotula, K. L., and Thelappurath, R. 1994. " Microbial and sensory attributes of retail cuts of beef treated with acetic and lactic acid solution." **J. Food. Prot.** 57(8): 665-670.

Mendonca, A. F., Molins, R. A., Kraft, A. A., and Walker, H. W. 1989. " Microbiological chemical and physical changes in fresh vacuum packed pork treated with organic acids and salts." **J. Food. Sci.** 54: 18-21.

Moy, G., Hazzard, A., and Kaferstein, F. 1997. " Improving the safety of street-vended food." **World Health Statistiss Quarterly.** 50: 124-131.

Mrema, N., Mpuchane, S., and Gashe, B. A. 2004. "Prevalence of *Salmonella* in raw minced meat, raw fresh sausages and raw burger patties from retail outlets in Gaborone, Botswana." **Food Control.** 17(3): 207-212.

เอกสารนี้ได้รับการคุ้มครองลิขสิทธิ์ ห้ามนำไปใช้เพื่อการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น ทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Mustapha, A., Ariyapitipun, T., and Clarke, A.D. 2002. " Survival of *Escherichia coli* 0157:H7 on vacuum-Packaged raw beef treated with polylactic acid, lactic acid and nisin." **J. Food. Sci.** 67(1): 262-267.

Nes, I.F., Diep, D.B., Havarstein, L.S., Brurberg, M.B., EiJsink, V., and Holo, H. 1996. "Biosynthesis of bacteriocins in lactic acid bacteria." **Antonie van Leeuwenhoek.** 70: 113-128.

Nieto-Lozano, J. C., Reguera-Useros, J. I., Pela'ez-Mart'inez, M. C., and Harrison de la torre, A. 2001. "Bacteriocinogenic activity from starter cultures used in Spanish meat industry." **Meat Science.** 62: 237-243.

Nielsen, W. J., Dickson, J. S., and Crouse, J. D. 1990. "Use of bacteriocin produced by *Pediococcus acidilactici* to inhibit *Listeria monocytogenes* associated with fresh meat."**Appl. Environ. Microbiol.** 56: 2142-2145.

Panisello, P.J., Roison, R., Quantick, P.C., and Rosalind, S. 2000. " Application of foodborne diseases outbreak data in the development and maintenance of HACCP systems." **Int. J. Food. Micro.** 59: 221-234.

Prasai, R.K., Acuff, G.R., Lucia, L.M., Hale, D.S., Savell, J.W., and Morgan, J.B. 1991. "Microbiological effects of acid decontamination of beef carcesses at various location in processing." **J.Food. Prot.** 54: 868-872.

Rayman, ., Malik, N., and Hurst, A., 1983. " Failure of nisin to inhibit outgrowth of *Clostridium botulinum* in model cured meat system." **Appl. Environ. Microbiol.** 46:1450-1452.

Rose, B.E., Hill, W.E., Umholtz, R., Ransom, G.M., and James, W.O. 2002. "Testingfor *Salmonella* in raw meat and poultry products collected at federally inspected establishments in the United States of America,1998 through 2000." **J. Food. Prot.** 65:937-947.

Rozbeh, M., Kalchayanand , N., Field, R. A., Johnson, M.C., and Ray, B.. 1993. "The influence of Biopreservatives on bacterial level of refrigerated vacuum packaged beef ." **J. Food.Safety.** 13: 99-111.

Samelis, J. J., Sofos, J. N., Kendal, P. A., and Smith, G. C. 2001. " Influence of the natural microbial flora on the acid tolerance response of *Listeria monocytogenes* in a model system of fresh meat decontamination Fluids." **Appl. Environ. Microbiol.** 67(6): 2410-2420.

Simonsen, B., Christensen, J., Baggesen, J.H.B., Robert, T.A., Tompkin, R.B., and Silliker, J.H. 1987. "Prevention and control of food-borne salmonellosis through application of Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP). **Int. J. Food. Microbiol.** 4: 227-247.

Snijders, J.M.A., Van Logtestijn, J.G., Mossel, D.A.A., and Smulders, F.J.M. 1985. "Lactic acid as a decontaminant in slaughter and processing procedure." **The Quarterly Veterinary.** 277- 282.

ไม่ว่ากรณีใดๆ ห้ามมิให้ทำซ้ำ ดัดแปลง หรือนำไปใช้ด้านการค้า

Sorqvist, S., and Danielsson-Tham, M., 1990. " Survival of *Campylobacter, Salmonella* and *Yersinia* spp. In scalding water used in pig slaughter. **Fleischwirtsch.** 70: 1451-1454.

Sorensen, L.L., Sorensen, R., Klint, K., and Nielsen, B. 1999. " Presistent environment strains of *Salmonella infantis* at two Denish slaughterhouses, two case stories. **In: Proceedings of the 3rd International Symposium on the Epidemiology and control of *Salmonella* in pork. 285-286. 4-7 August,.** Washington, DC

Sorensen, O., Van Donkersgoed, J., Mcfall, M., Manninen, K., Gensler, G., and Ollis, G. 2002. "*Salmonella* spp. Shedding by Alberta beef cattle and detection of *Salmonella* spp. In ground beef. **J. Food. Prot.** 65: 484-491.

Stevens, K. A., Sheldon, B.W., Kelps, N. A., and Klaenhammer, T.R. 1991. "Nisin treatment for inactivation of Salmonella species and other gram-negative bacteria ." **Appl. Environ. Microbiol.** 57: 3613-3615.

Swetwiwathana, A. 2005. " Microbiological quality enhancement of Thai fermented meat product (Nham) using Nham-associated pediocin-producing lactic acid bacteria (*Pediococcus pentosaceus* TISTR 536)." Philosophy Degree thesis, Kyushu University, Japan.

Swetwiwathana, A., Lotong, N., and Fischer, A. 2002. " Use of pediocin PA-1 producer (*Pediococcus pentosaceus* TISTR 536) to control *Salmonella* Anatum in nham (Thai fermented meat)" **The 48th International Congress of Meat Science and Tecnology (ICoMST) Proceeding. Volume II:966-967. August25-30, 2002.** Rome, Italy.

Van Belkum, M.J., and Stiles, M.E. 2000. " Nonlantibiotic antibacterial peptides from lactic acid bacteria." **Nat. Prod. Rep.** 17: 323-335.

Yang Z., LI Y., and Slavik, M. 1998. "Use of antibacterial spray applied with an inside-outlet birdwasher to reduce bacterial contamination on prechilled chicken carcasses." **J. Food. Prot.** 61: 829-832.

Yasmina, B., Kenna, F., and Enrique, M. S. 2002. "Combined effects of lactic acid and nisin solution in reducing levels of microbiological contamination in red meat carcasses." **J.Food. Prot.** 65(11): 1780-1783.

Yu, S.L., Bolton, D., Laubach, C., Kline, P., Oser, A., and Palumbo, S.A. 1999. " Effect of dehairing operations on microbiological quality of swine carcasses. **J. Food. Prot.** 62: 1478-1481.

Zhang, S., and Mustapha, A. 1999. " Reduction of *Listeria monocytogenes* and *Escherichi coli* 0157:H7 numbers on vacuum packaged fresh beef treated with nisin or nisin combined with EDTA." **J. Food. Prot.** 62: 1123-1127.

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

THE 8TH AGRO-INDUSTRIAL CONFERENCE : FOOD INNOVATION

15 - 16 JUNE 2006

BITEC BANGNA, BANGKOK, THAILAND

ารประชุมสัมมนาวิชาการอุตสาหกรรมเกษตร นวัตกรรมทางอาหาร ครั้งที่ 8

5 - 16 มิถุนายน 2549

นย์ประชุมนานาชาติไบเทค บางนา

จัดโดย

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

าควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

ร่วมกับ

สมาคมสภาวิชาการอุตสาหกรรมเกษตร

สมาคมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีทางอาหารแห่งประเทศไทย (FoSTAT)

P4_04

การเปรียบเทียบอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อในขั้นตอน selective enrichment และ selective plating ในการตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาในเนื้อโคชำแหละจำหน่ายปลีก

Comparison of Culture Medium Used in Selective Enrichment and Selective Plating Procedure for Salmonellae Detection in Retailed Cut Beef

สมัญญา สุขพหล[1] อรุณ บ่างตระกูลนนท์ [2] เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์ [1] ประภาพร ขอไพบูลย์ [1] และ อดิศร เสวตวิวัฒน์ [1]

[1]โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

[2]สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุขแห่งชาติ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

บทคัดย่อ

จากการตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาในเนื้อโคชำแหละจำหน่ายปลีก ที่จำหน่ายในตลาดเขตมีนบุรี บางกะปิ ประเวศ ลาดกระบังและพระโขนง จำนวน 32 ตัวอย่างด้วยวิธีมาตรฐาน AOAC โดยใช้ Tetrathionate (TT) broth บ่มที่ 37 ^{0}C และ 43 ^{0}C Rapport-Vassiliadis (RV) broth บ่มที่ 42 ^{0}C ในขั้นตอน selective enrichment และใช้ Xylose Lysine Desoxycholate (XLD) agar, Hektoen Enteric (HE) agar , Rambach agar บ่มที่ 37 ^{0}C และ Modified semisolid rappaport Vassiliadis (MSRV) medium บ่มที่ 42 ^{0}C ในขั้นตอน selective plating ตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลา 23 ตัวอย่าง (71.9 %) มีเชื้อรวม 18 เซโรวาร์ โดย *Salmonella Senftenberg* (17.2 %) เป็นเซโรวาร์ที่พบมากที่สุดรองลงมา คือ *S. Anatum* (15.1 %) *S. Agona* (10.8 %) ตามลำดับ จากผลการศึกษาพบว่า การใช้ TT บ่มที่ 43 ^{0}C ในขั้นตอน selective enrichment ให้ผลจำนวนการตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลาสูงที่สุด ตามมาด้วย TT บ่มที่ 37 ^{0}C และ RV บ่มที่ 42 ^{0}C แต่การใช้ TT บ่มที่ 37 ^{0}C จะสามารถแยกชนิดเซโรวาร์ได้มากที่สุด (15 เซโรวาร์) ตามมาด้วย TT บ่มที่ 43 ^{0}C และ RV (12 และ 8 เซโรวาร์) สำหรับขั้นตอน selective plating การใช้ MSRV จะให้ผลบวกในการแยกเชื้อซัลโมเนลลาและจำแนกชนิดเซโรวาร์ได้มากกว่า HE, Rambach และ XLD ตามลำดับ อย่างไรก็ตามการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อมากกว่าหนึ่งชนิดในทั้งสองขั้นตอนจะให้ผลในการตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลาและการจำแนกเซโรวาร์ได้มากขึ้น

คำสำคัญ : ซัลโมเนลลา เนื้อโคชำแหละจำหน่ายปลีก อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อซัลโมเนลลาในขั้นตอน selective enrichment อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อซัลโมเนลลาในขั้นตอน selective plating

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

P4_04

Abstract

Thirty-two samples of beef marketed in retail outlets from Minburi, Bangkapi, Pravet, Ladkrabang and Prakanong markets were analysed for the prevalence of salmonellae by using standard conventional method as described by AOAC. Tetrathionate (TT) broth incubated at 37 °C and 43 °C and Rappaport-Vassiliadis (RV) broth incubated at 42 °C were used as selective enrichment medium. Xylose Lysine Desoxycholate (XLD) agar, Hektoen Enteric (HE) agar, Rambach agar incubated at 37 °C and Modifiled Semisolid Rappaport Vassiliadis (MSRV) medium incubated at 42 °C were compared as isolating medium. The results showed that salmonellae was positive 23 samples (71.9 %) and 18 serovars were isolated. The predominant serovars were *S. Senftenberg* (17.2 %), *S. Anatum* (15.1 %) and *S. Agona* (10.8 %) respectively. Using TT broth incubated at 43 °C as a selective enrichment medium gave higher salmonellae positive samples than TT broth incubated at 37 °C and RV broth respectively. However, using TT broth incubated at 37 °C exhibited more variety of salmonellae than TT broth incubated at 43 °C and RV broth (15, 12 and 8 serovars respectively). Using MSRV as isolating medium gave higher salmonellae detection in both of positive sample numbers and serovars than HE, Rambach and XLD agar respectively. Nevertheless, better used more than one medium in selective enrichment and isolation steps exhibited better salmonellae positive results and more serovars of salmonellae in retailed cut beefs samples.

Keywords : Salmonella, retailed cut beef, selective enrichment, selective plating media

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเปรียบเทียบอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อในขั้นตอน selective enrichment และ selective plating ในการตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาในเนื้อโคชำแหละจำหน่ายปลีก

Comparison of culture medium used in selective enrichment and selective plating procedure for Salmonellae detection in retailed cut beef

สมัญญา สุขพหล[1], อรุณ บ่างตระกูลนนท์[2], เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์[1], ประภาพร ขอไพบูลย์[1] และ อดิศร เสวตวิวัฒน์[1]

[1] โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

[2] สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุขแห่งชาติ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

บทคัดย่อ

จากการตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาในเนื้อโคชำแหละจำหน่ายปลีก ที่จำหน่ายในตลาดเขตมีนบุรี บางกะปิ ประเวศ ลาดกระบังและพระโขนง จำนวน 32 ตัวอย่างด้วยวิธีมาตรฐาน AOAC โดยใช้ Tetrathionate (TT) broth บ่มที่ 37 ^{0}ซ และ 43 ^{0}ซ Rapport-Vassiliadis (RV) broth บ่มที่ 42 ^{0}ซ ในขั้นตอน selective enrichment และใช้ Xylose Lysine Desoxycholate (XLD) agar, Hektoen Enteric (HE) agar , Rambach agar บ่มที่ 37 ^{0}ซ และ Modified semisolid rappaport Vassiliadis (MSRV) medium บ่มที่ 42 ^{0}ซ ในขั้นตอน selective plating ตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลา 23 ตัวอย่าง (71.9 %) มีเชื้อรวม 18 เซโรวาร์ โดย *Salmonella* Senftenberg (17.2 %) เป็นเซโรวาร์ที่พบมากที่สุดรองลงมา คือ *S.* Anatum (15.1 %) *S.* Agona (10.8 %) ตามลำดับ จากผลการศึกษาพบว่า การใช้ TT บ่มที่ 43 ^{0}ซ ในขั้นตอน selective enrichment ให้ผลจำนวนการตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลาสูงที่สุด ตามมาด้วย TT บ่มที่ 37 ^{0}ซ และ RV บ่มที่ 42 ^{0}ซ แต่การใช้ TT บ่มที่ 37 ^{0}ซ จะสามารถแยกชนิดเซโรวาร์ได้มากที่สุด (15 เซโรวาร์) ตามมาด้วย TT บ่มที่ 43 ^{0}ซ และ RV (12 และ 8 เซโรวาร์) สำหรับขั้นตอน selective plating การใช้ MSRV จะให้ผลบวกในการแยกเชื้อซัลโมเนลลาและจำแนกชนิดเซโรวาร์ได้มากกว่า HE, Rambach และ XLD ตามลำดับ อย่างไรก็ตามการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อมากกว่าหนึ่งชนิดในทั้งสองขั้นตอนจะให้ผลในการตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลาและการจำแนกเซโรวาร์ได้มากขึ้น

คำสำคัญ : ซัลโมเนลลา เนื้อโคชำแหละจำหน่ายปลีก อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อซัลโมเนลลาในขั้นตอน selective enrichment อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อซัลโมเนลลาในขั้นตอน selective plating

Abstract

Thirty-two samples of beef marketed in retail outlets from Minburi, Bangkapi, Pravet, Ladkrabang and Prakanong markets were analysed for the prevalence of salmonellae by using standard conventional method as described by AOAC. Tetrathionate (TT) broth incubated at 37 °C and 43 °C and Rappaport-Vassiliadis (RV) broth incubated at 42 °C were used as selective enrichment medium. Xylose Lysine Desoxycholate (XLD) agar, Hektoen Enteric (HE) agar, Rambach agar incubated at 37 °C and

created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

Modifiled Semisolid Rappaport Vassiliadis (MSRV) medium incubated at 42 °C were compared as isolating medium. The results showed that salmonellae was positive 23 samples (71.9 %) and 18 serovars were isolated. The predominant serovars were *S.* Senftenberg (17.2 %), *S.* Anatum (15.1 %) and *S.* Agona (10.8 %) respectively. Using TT broth incubated at 43 °C as a selective enrichment medium gave higher salmonellae positive samples than TT broth incubated at 37 °C and RV broth respectively. However, using TT broth incubated at 37 °C exhibited more variety of salmonellae than TT broth incubated at 43 °C and RV broth (15, 12 and 8 serovars respectively). Using MSRV as isolating medium gave higher salmonellae detection in both of positive sample numbers and serovars than HE, Rambach and XLD agar respectively. Nevertheless, better used more than one medium in selective enrichment and isolation steps exhibited better salmonellae positive results and more serovars of salmonellae in retailed cut beefs samples.

Key words : Salmonella, retailed cut beef, selective enrichment, selective plating media

บทนำ

โรคอุจจาระร่วงเป็นโรคหนึ่งที่เป็นปัญหาทางสาธารณสุขของวงการแพทย์และวงการสัตวแพทย์ ซึ่งมักมีสาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรีย และแบคทีเรียที่สำคัญที่ก่อให้เกิดโรคดังกล่าว ได้แก่ เชื้อซัลโมเนลลา โดยเชื้อนี้ก่อให้เกิดโรค Salmonellosis ได้ทั้งในคนและสัตว์ การได้รับเชื้อนี้เกิดได้โดยบริโภคอาหารที่ปนเปื้อนเข้าไปในร่างกายทำให้เกิดอาการท้องร่วง ดังได้มีรายงานการศึกษาวิจัยการปนเปื้อนของเชื้อนี้ในวัตถุดิบจากสัตว์ที่นำมาผลิตอาหารหลายชนิด เช่น การปนเปื้อนของเชื้อซัลโมเนลลาในไก่สดและเครื่องในไก่ (Jerngklinchan และคณะ, 1994) ในไข่ไก่ (Saitanu และคณะ, 1994) ในเนื้อหมูที่จำหน่ายในท้องตลาด (อดิศร และคณะ, 2548) รวมถึงเนื้อโค (Collin, 1995; Rose และคณะ, 2002; สุมาลี และคณะ,2539)

การตรวจหาซัลโมเนลลาในอาหารโดยวิธีมาตรฐานของ Bacteriological Analytical Manual (BAM) (USFDA, 1995) และ The AOAC Official Methods of Analysis (AOAC International, 1995) ได้ระบุถึงความสำคัญของขั้นตอน Preenrichment, Selective enrichment และ Selective plating ขั้นตอน Selective enrichment มีวัตถุประสงค์เพื่อลดปริมาณเชื้อคู่แข่งที่ปนเปื้อนในอาหารและเจริญขึ้นพร้อมกับซัลโมเนลลา ในช่วงของการพรีเอนริช เชื้อซัลโมเนลลาที่แข็งแรงจะสามารถทนต่อสารยับยั้งต่าง ๆ ที่มีในอาหารและเจริญเพิ่มจำนวนได้ดี เมื่อนำอาหารในขั้นตอนดังกล่าวไปทำการเพาะเชื้อในอาหารของขั้นตอน Selective plating จะทำให้โอกาสการตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลาเพิ่มมากขึ้น

อาหารเลี้ยงเชื้อในขั้นตอน Preenrichment ที่แนะนำให้ใช้ โดยมากได้แก่ Buffered Peptone Water (BPW), Trypticase Soy Broth (TSB) หรือ Nutrient broth (NB) เป็นต้น ส่วนอาหารในขั้นตอน Selective

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

reated with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

enrichment แต่เดิมนั้น ได้มีการแนะนำให้ใช้ selenite cystine (SC) broth และ tetrathionate (TT) broth โดยใช้อุณหภูมิ 35° ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมงในการบ่มเพาะเชื้อ แต่จากการศึกษาของ June และคณะ (1995 และ 1996) พบว่า การใช้ Rappaport-Vassiliadis (RV) medium บ่มที่อุณหภูมิ 42° ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ให้ผลในการเจริญของเชื้อซัลโมเนลลาและการตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลาสูงกว่า SC broth มาก BAM และ AOAC ได้แนะนำให้ใช้ RV medium บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 42° ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แทน SC broth สำหรับ TT broth นั้น ยังแนะนำให้ใช้ควบคู่กับ RV medium โดยที่อาหารที่มีปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อต่ำนั้น ได้มีการแนะนำให้ใช้ TT broth บ่มที่อุณหภูมิ 35° ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ควบคู่กับ RV medium บ่มที่อุณหภูมิ 42° ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และอาหารที่มีการปนเปื้อนของเชื้อสูงได้มีการแนะนำให้ใช้ TT broth บ่มที่อุณหภูมิ 43° ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ควบคู่กับ RV medium บ่มที่อุณหภูมิ 42° ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (Hammack และคณะ, 1999) อดิศร และคณะ (2548) ได้รายงานการตรวจหาซัลโมเนลลาในเนื้อหมูจำหน่ายปลีกตามท้องตลาดโดยในขั้นตอน selective enrichment ใช้ RV medium บ่มที่อุณหภูมิ 42° ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เทียบกับ TT broth บ่มที่อุณหภูมิ 37° ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนนำไปคัดแยกหาเชื้อในขั้นตอน selective plating พบว่า การใช้ RV ให้ผลจำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบซัลโมเนลลามากกว่าการใช้ TT (82.0 และ 80.0 % ตามลำดับ) แต่ชนิดเซโรวาร์ที่ตรวจพบจาก TT จะได้มากกว่า RV (16 และ 14 เซโรวาร์ ตามลำดับ)

สำหรับอาหารในขั้นตอน Selective plating นั้น ทั้ง BAM และ AOAC ได้แนะนำให้มีการใช้อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อในขั้นตอนดังกล่าว 3 ชนิด ได้แก่ Xylose Lysine Desoxycholate (XLD) agar, Hektoen Enteric (HE) agar และ Bismuth sulfite (BS) agar ทั้งนี้เพื่อให้การตรวจพบเชื้อในกลุ่มซัลโมเนลลาที่มีสมาชิกอยู่รวมมากกว่า 2,500 เซโรวาร์ (Popoff และคณะ, 2001) จากการพัฒนาวิธีการตรวจสอบ พบว่า Modified Semisolid Rappaport Vassiliadis (MSRV) medium เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความไว (semsitivity) และมีความจำเพาะสูง (high specificity) ประสิทธิภาพของอาหารเพาะเชื้อดังกล่าวได้รับการตีพิมพ์รับรองในเอกสารการตรวจวิเคราะห์ของ AOAC ในหัวข้อ 995.07 (De Smedt, 1998) และจากการตรวจหาซัลโมเนลลาในเนื้อหมูจำหน่ายปลีกตามท้องตลาดในขั้นตอนดังกล่าว โดยใช้ MSRV เทียบกับ XLD และ HE (อดิศร และคณะ, 2548) พบว่า MSRV ให้ผลบวกของจำนวนตัวอย่างในการตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลาและจำแนกเซโรวาร์ได้มากกว่าอาหาร XLD และ HE ตามลำดับ และผู้วิจัยได้แนะนำว่า การตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาทั้งในขั้นตอน selective enrichment และ isolation ควรใช้อาหารเลี้ยงเชื้อมากกว่าหนึ่งชนิด จึงจะให้ผลบวกในการตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลาในด้านจำนวนตัวอย่างและชนิดเซโรวาร์ที่มากขึ้นกว่าการใช้อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อเพียงชนิดเดียวในแต่ละขั้นตอน

เนื่องจากในปัจจุบัน เนื้อวัวเริ่มมีการบริโภคในประเทศเพิ่มมากขึ้น แต่การศึกษาหาอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการตรวจหาซัลโมเนลลาในวัตถุดิบดังกล่าวในประเทศยังมีรายงานไม่มากนัก ดังนั้นการศึกษานี้จึงได้ทำการสำรวจการปนเปื้อนของเชื้อซัลโมเนลลาที่จำหน่ายปลีกในพื้นที่บางเขตของกรุงเทพมหานคร โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อดูการปนเปื้อนและหาเซโรวาร์ของเชื้อในกลุ่มซัลโมเนลลาที่พบ

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

eated with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

การปนเปื้อนมากที่สุดในเนื้อวัวสดชำแหละจำหน่ายปลีก รวมทั้งทำการเปรียบเทียบชนิดของอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อในขั้นตอน selective enrichment 2 ชนิด ที่แนะนำให้ใช้ในวิธีการมาตรฐานการตรวจหาซัลโมเนลลาในอาหาร (USFDA, 1995) ได้แก่ TT broth (บ่มที่อุณหภูมิ 37° ซ และ 43° ซ) และ RV medium (บ่มที่อุณหภูมิ 42° ซ) รวมถึงการเปรียบเทียบอาหารในขั้นตอนการแยกเชื้อซัลโมเนลลาบนอาหารแข็ง (Selective plating) 4 ชนิด ได้แก่ XLD agar, HE agar, Rambach agar และ MSRV medium ที่เป็นที่นิยมใช้สำหรับตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาในปัจจุบัน ทั้งนี้เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการควบคุมและพัฒนาเนื้อวัวอนามัยเพื่อการจำหน่ายตามแหล่งต่าง ๆ รวมถึงการใช้อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการตรวจสอบหาเชื้อซัลโมเนลลาจากเนื้อวัวสดในโอกาสต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

วัสดุอุปกรณ์

1. ตัวอย่าง เนื้อโคชำแหละตัดแต่งจำหน่ายปลีกจำนวน 32 ตัวอย่าง จากตลาดในเขตมีนบุรี, เขตบางกะปิ, เขตพระโขนง, เขตบางรัก, เขตประเวศ และเขตลาดกระบัง

2. อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อสำหรับตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาตามวิธีมาตรฐาน (AOAC, 1995) มีดังนี้
   2.1 ขั้นตอน Pre-enrichment ใช้ Trypticase soy broth (TSB)
   2.2 ขั้นตอน Selective enrichment ใช้ Tetrathionate (TT) broth และ Rappaport-Vassiliadis (RV) medium
   2.3 ขั้นตอน Selective plating ใช้ Xylose Lysine Desoxycholate (XLD) agar, Hektoen Enteric (HE) agar, Rambach agar และ Modified Semisolid Rappaport Vassiliadis (MSRV) medium
   2.4 ขั้นตอน Biochemical screening test ใช้ Triple Sugar Iron (TSI) agar และ Lysine Indole Motility (LIM) medium
   2.5 ขั้นตอน Serological confirmation ใช้ Polyvalent A-67 antiserum, Polyvalent A-I และ Antiserum group A, B C D และ E ของเชื้อซัลโมเนลลา
   2.6 Trypticase Soy Agar (TSA) สำหรับเก็บเชื้อซัลโมเนลลาเพื่อส่งตรวจสอบยืนยันเซโรวาร์ของซัลโมเนลลา

วิธีดำเนินการทดลอง

1. การตรวจหาซัลโมเนลลาโดยวิธี Standard conventional method
   1.1 สุ่มตัวอย่างหมูเนื้อสัน ตัวอย่างละ 25 กรัม เพาะเลี้ยงเชื้อใน TSB 225 มิลลิลิตร นำไปบ่มเพาะเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 37 ° ซ เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ หวงห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
ผลงานนี้เป็นลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

1.2 ถ่ายของเหลวจากข้อ 1.1 ลงในอาหารเพาะเชื้อในขั้นตอน Selective enrichment 2 ชนิด ได้แก่ TT broth และ RV medium โดยถ่ายของเหลวปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงใน TT broth 10 มิลลิลิตร 2 หลอด หลอดหนึ่งบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 ° ซ และอีกหนึ่งหลอดบ่มเพาะเชื้อที่ 43 ° ซ เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง และถ่ายของเหลวปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงใน RV medium ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 42 ° ซ เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง

1.3 ถ่ายเชื้อ จำนวน 1 loop จาก TT broth ทั้งสองอุณหภูมิและ RV medium ในข้อ 1.2 ลงในอาหารแข็งเพาะเลี้ยงเชื้อ XLD และ HE agar บ่มเพาะเลี้ยงเชื้ออาหารแข็งทั้งสองที่อุณหภูมิ 37 ° ซ เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง และถ่ายของเหลวจาก TT broth และ RV medium จากข้อ 1.2 ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงในอาหารกึ่งเหลว MSRV medium โดยแบ่งหยดให้ได้ 5 จุด บนจานเพาะเชื้อ MSRV medium นำไปบ่มเพาะเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 42 ° ซ เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง

1.4 สุ่มเลือกโคโลนีที่สงสัยบน XLD และ HE agar อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อละ 3 โคโลนี ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อแต่ละโคโลนีในอาหาร TSI agar และ LIM medium บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 ° ซ เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง เพื่อตรวจสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อซัลโมเนลลา สำหรับ MSRV ใช้เข็มเขี่ยเชื้อที่สงสัยจากหยดที่พบว่ามีการแผ่เคลื่อนที่ของเชื้อจากจุดที่หยด โดยเขี่ยเชื้อบริเวณที่แผ่ไกลสุดจากจุดที่หยด จานเพาะเชื้อละไม่เกิน 3 จุด นำเชื้อแต่ละจุดที่เขี่ยไปทำการเพาะเลี้ยงเชื้อแต่ละโคโลนีในอาหาร TSI agar และ LIM medium บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 ° ซ เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง

1.5 คัดเลือกหลอดที่ให้คุณสมบัติทางชีวเคมีที่สงสัยว่าเป็นซัลโมเนลลามาทำการตรวจสอบยืนยันคุณสมบัติทาง serology โดยเขี่ยเชื้อบนผิว slant ของหลอด TSI agar มาทดสอบกับ Polyvalent A-67 antiserum, Polyvalent A-I และ Antiserum group A, B C D และ E ของเชื้อซัลโมเนลลา โดยวิธี slide agglutination นำหลอดที่ให้ผลบวกเพาะเลี้ยงเชื้อลงใน TSA บ่มเพาะเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 37 ° ซ เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง นำหลอดเชื้อใน TSA ส่งตรวจยืนยันผลและแยกชนิดเซโรวาร์ของซัลโมเนลลาที่ WHO *Salmonella-Shigella* Center สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

ผลและวิจารณ์การทดลอง

จากการสุ่มตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาในเนื้อโคชำแหละจำหน่ายปลีกที่จำหน่ายในตลาดสดในเขตบางกะปิ มีนบุรี พระโขนง อ่อนนุช ประเวศและลาดกระบัง 32 ตัวอย่าง เพื่อทำการศึกษาเปรียบเทียบอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อในขั้นตอน selective enrichment โดยใช้ Tetrathionate (TT) broth และ Rappaport-Vassiliadis (RV) medium กับขั้นตอน isolation โดยใช้ Xylose Lysine Desoxycholate (XLD) agar, Hektoen Enteric (HE) agar และ Modified Semisolid Rappaport Vassiliadis (MSRV) medium ดำเนินการตรวจโดยวิธีมาตรฐานของการตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาในอาหาร (standard conventional method) พบว่า ตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลา 23 ตัวอย่าง (71.9 %) เป็นการตรวจพบจากการใช้ TT เป็น selective enrichment บ่มที่ 43 °ซ

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

eated with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

จำนวน 16 ตัวอย่าง (50.0%) TT บ่มที่อุณหภูมิ 37 ^{0}ซ จำนวน 14 ตัวอย่าง (43.8 %) และจาก RV บ่มที่อุณหภูมิ 42 ^{0}ซ จำนวน 8 ตัวอย่าง (25.0 %) แต่อย่างไรก็ตามการใช้ทั้ง TT ที่บ่ม 37 ^{0}ซ, 43 ^{0}ซ และ RV ที่บ่ม 42 ^{0}ซ ในขั้นตอน selective enrichment จะให้ผลในการตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลามากกว่าคือ 23 ตัวอย่าง (71.9 %) ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบจำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลาในเนื้อวัวชำแหละจำหน่ายปลีกโดยวิธีมาตรฐานจากขั้นตอน selective enrichment

จำนวนตัวอย่าง (%)	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบซัลโมเนลลาจาก			จำนวนทั้งหมดที่ตรวจพบซัลโมเนลลา (%)
	RV	TTB(37°ซ)	TTB(43°ซ)	
32 (100.0)	8 (25.0 %)	14 (43.8 %)	16(50.0 %)	23 (71.9 %)

เมื่อนำซัลโมเนลลาทั้งหมด 23 ตัวอย่าง 93 สายพันธุ์ มาตรวจยืนยันเซโรวาร์จาก WHO *Salmonella-Shigella* center สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์พบเชื้อซัลโมเนลลาทั้งหมด 18 เซโรวาร์ โดยพบ *S.* Senftenberg มากที่สุด 16 สายพันธุ์ (17.2 %) รองลงมาคือ *S.* Anatum 14 สายพันธุ์ (15.1 %) และ *S.* Agona 10 สายพันธุ์ (10.8 %) ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

จากการเปรียบเทียบอาหารเลี้ยงเชื้อในขั้นตอน selective enrichment จากจำนวนตัวอย่างที่ให้ผลบวกจากการบ่มเพาะเชื้อด้วย TT และ RV พบเชื้อซัลโมเนลลา 42 ตัวอย่าง 18 เซโรวาร์ (ตารางที่ 3) จะพบว่าการใช้ RV เป็น selective enrichment เพียงอย่างเดียวจะพบเชื้อที่ได้รับการตรวจยืนยันว่าเป็นเชื้อซัลโมเนลลาเพียง 8 เซโรวาร์ (44.4 %) จาก 12 ตัวอย่าง (28.6 %) แต่การใช้ TT บ่มที่อุณหภูมิ 37^{0}ซ แยกได้ 15 เซโรวาร์ (83.3 %)จาก 21 ตัวอย่าง (50.0 %) และ TT บ่มที่อุณหภูมิ 43 ^{0}ซ แยกได้ 12 เซโรวาร์ (66.7 %) จาก 23 ตัวอย่าง (54.8 %) ทั้งนี้เนื่องมาจากอาหารเลี้ยงเชื้อ TT เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารอาหารที่เหมาะกับการเจริญของเชื้อซัลโมเนลลามากกว่า RV ประกอบกับอุณหภูมิที่ใช้ในการบ่ม คือ 43 ^{0}ซ ซึ่งเป็นอุณหภูมิสูงที่สุดที่เชื้อซัลโมเนลลาจะสามารถเจริญได้และที่อุณหภูมินี้ก็ยังสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียในลำไส้อื่นๆที่ปนเปื้อนในเนื้อโคได้ จึงทำให้การบ่มเพาะเชื้อด้วยอาหาร TT บ่มที่ 43 ^{0}ซ สามารถตรวจพบจำนวนตัวอย่างที่ปนเปื้อนเชื้อซัลโมเนลลาได้มากที่สุด แต่เมื่อมาพิจารณาการจำแนกเซโรวาร์ การใช้ TT บ่มที่อุณหภูมิ 37 ^{0}ซ จะแยกได้ถึง 15 เซโรวาร์ ในขณะที่ TT บ่มที่อุณหภูมิ 43 ^{0}ซ และ RV บ่มที่อุณหภูมิ 42 ^{0}ซ แยกได้น้อยกว่าคือ 12 และ 8 เซโรวาร์ตามลำดับ ซึ่งสามารถอธิบายได้ว่าการที่ TT บ่มที่ 37 ^{0}ซ ให้ผลในการจำแนกเซโรวาร์ได้หลากหลายที่สุดเป็นเพราะอุณหภูมิที่ใช้ในการบ่ม คือ 37 ^{0}ซ ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เชื้อขึ้นได้หลากหลายรวมทั้งเชื้อซัลโมเนลลาทั้งเซลล์ที่บาดเจ็บและแข็งแรง จึงทำให้สามารถจำแนกเซโรวาร์ได้หลากหลาย และจากตารางที่ 3 จะเห็นได้ว่าการใช้ RV ในการตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาในขั้นตอน selective enrichment นั้นให้ผลการตรวจพบที่น้อยกว่าการใช้ TT เนื่องมาจาก RV บ่มที่อุณหภูมิ 42 ^{0}ซ เชื้อซัลโมเนลลาบางเซโรวาร์อาจเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

เซลล์ที่บาดเจ็บจึงไม่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมินี้รวมทั้งตัวอาหาร RV เองมีสาร selective agent ค่อนข้างสูง ทำให้จำนวนการตรวจพบเชื้อ และความหลากหลายของเซโรวาร์น้อยกว่าแต่อย่างไรก็ตาม RV ก็มีข้อดีตรงที่การบ่มที่อุณหภูมิ 42 ^{0}ซ นั้นเป็นอุณหภูมิที่เชื้อซัลโมเนลลาที่แข็งแรงสามารถเจริญอยู่ได้และที่อุณหภูมินี้สามารถลดการเจริญของแบคทีเรียในลำไส้อื่นๆในเนื้อโคสดได้ ทำให้การแข่งขันลดลง จึงพบว่ามีเชื้อที่แสดงลักษณะโคโลนีที่น่าจะเป็นซัลโมเนลลาบนอาหาร HE และ Rambach มากกว่า TT บ่มที่อุณหภูมิ 37^{0}ซ และ 43 ^{0}ซ อย่างไรก็ตาม การตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาในตัวอย่างเนื้อวัวสดตามวิธีมาตรฐานของ BAM และ AOAC โดยใช้อุณหภูมิการบ่มของ TT ที่ 37^{0} ซ หรือ 43 ^{0}ซ ควบคู่กับ RV ที่ 42 ^{0}ซ ในขั้นตอน selective enrichment นอกจากจะให้จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อมากกว่าการใช้อาหาร TT หรือ RV เพียงชนิดเดียวแล้ว ยังพบว่าให้ผลรวมการตรวจพบเซโรวาร์ของซัลโมเนลลามากขึ้นกว่าการใช้อาหารในขั้นตอนดังกล่าวเพียงชนิดเดียวด้วย

ตารางที่ 2 จำนวนเซโรวาร์ต่าง ๆ ของเชื้อซัลโมเนลลาที่ตรวจพบจากเนื้อโคชำแหละจำหน่ายปลีก

เซโรวาร์	จำนวนที่แยกได้	คิดเป็นเปอร์เซ็นต์
S. Senftenberg	16	17.2
S. Anatum	14	15.1
S. Agona	10	10.8
*S.*Weltevreden	9	9.7
S. Lexington	8	8.6
S. Typhimurium var. copen-hagen	6	6.4
*S.*Give	5	5.3
S. Amsterdam	4	4.3
S. Hvittingfoss	4	4.3
S. Augustenborg	3	3.2
S. Corvallis	3	3.2
S. Rissen	3	3.2
S. Weltevreden var. 15^{15}	3	3.2
S. Cubana	1	1.1
S. Enterica	1	1.1
S. Farmsen	1	1.1
S. Kedougou	1	1.1
S. Monterideo	1	1.1
รวม	93	100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

ตารางที่ 3 การเปรียบเทียบชนิดของเซโรวาร์ ของเชื้อซัลโมเนลลาที่พบโดยใช้ RV และ TT เป็น selective enrichment medium

เซโรวาร์	RV 42°ซ จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อ/จำนวนตัวอย่างที่ตรวจทั้งหมด (%)	TTB 37°ซ จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อ/จำนวนตัวอย่างที่ตรวจทั้งหมด (%)	TTB 43°ซ จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อ/จำนวนตัวอย่างที่ตรวจทั้งหมด (%)	RV และ TTB จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อ/จำนวนตัวอย่างที่ตรวจทั้งหมด (%)
Senftenberg	3 (7.1)	2 (4.8)	5 (11.9)	6 (14.3)***
Anatum	0 (0)	4 (9.5)*	3 (7.1)	6 (14.3)***
Weltevreden	2 (4.8)	1 (2.4)	3 (7.1)	5 (11.9)***
Lexington	1 (2.4)	1 (2.4)	3 (7.1)	5 (11.9)***
. Agona	0 (0)	3 (7.1)	2 (4.8)	3 (7.1)**
. Typhimurium var.)pen-hagen	1 (2.4)	1 (2.4)	0 (0)	1 (2.4)**
. Give	0 (0)	1 (2.4)	1 (2.4)	1 (2.4)**
. Augustenberg	0 (0)	1 (2.4)	1 (2.4)	1 (2.4)**
. Amsterdam	0 (0)	1 (2.4)	1 (2.4)	1 (2.4)**
. Hvittingfoss	1 (2.4)	1 (2.4)	1 (2.4)	1 (2.4)**
. Corvallis	1 (2.4)	0 (0)	1 (2.4)	2 (4.7)*
. Rissen	0 (0)	1 (2.4)	1 (2.4)	2 (4.7)*
S. Weltevreden var 15+	2 (4.8)	1 (2.4)	0 (0)	3 (7.1)*
S. Cubana	0 (0)	1 (2.4)	0 (0)	1 (2.4)*
S. Enterica	0 (0)	0 (0)	1 (2.4)	1 (2.4)*
S. Farmsen	1 (2.4)	0 (0)	0 (0)	1 (2.4)*
S. Kedougou	0 (0)	1 (2.4)	0 (0)	1 (2.4)*
S. Monterideo	0 (0)	1 (2.4)	0 (0)	1 (2.4)*
รวมเซโรวาร์ทั้งหมดที่ตรวจพบ	8/18 (44.4%)	15/18 (83.3%)	12/18 (66.7%)	18/18 (100.0)
รวมเชื้อที่แยกได้	12/42 (28.6 %)	21/42 (50.0 %)	23/42 (54.8 %)	42/42 (100.0)

ใน 1 ตัวอย่างพบมากกว่า 1 เซโรวาร์

1 เซโรวาร์พบมากกว่า 1 หลอดใน 1 ตัวอย่าง

การเปรียบเทียบอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อในขั้นตอน selective plating โดยใช้อาหารแข็ง XLD agar, HE, Rambach

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

บ่มที่อุณหภูมิ 37 ^{0}ซ และอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลว MSRV บ่มที่อุณหภูมิ 42 ^{0}ซ ดังตารางที่ 4 พบว่าการแยกเชื้อโดยใช้อาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลว MSRV จะให้ผลในการตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลาได้ดีที่สุดโดยให้ผลสูงกว่าการแยกเชื้อในอาหารแข็ง XLD agar, HE, Rambach โดย MSRV ตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลา 21 ตัวอย่าง (91.3 %) HE และ Rambach ตรวจพบ 5 ตัวอย่าง (21.7 %) ส่วน XLD agar ตรวจพบเพียง 2 ตัวอย่าง(8.7 %) และเมื่อพิจารณาผลการตรวจพบปริมาณเซโรวาร์พบว่า MSRV ตรวจพบ 13 เซโรวาร์ (30.2 %) HE และ Rambach ตรวจพบ 4 เซโรวาร์ (9.3 %) และ XLD agar ตรวจพบ 3 เซโรวาร์ (7.0 %)

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบจำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลาและชนิดเซโรวาร์ที่พบจาก อาหารเลี้ยงเพาะเชื้อในขั้นตอน isolation หลังจากบ่มเพาะเชื้อด้วย RV และ TTB

อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ		จำนวนตัวอย่างที่พบ (%)	จำนวนตัวอย่างที่พบจาก TTB และ RV (%)	จำนวน เซโรวาร์ ที่พบ (%)	จำนวนเซโรวาร์ ที่พบจาก RV และ TTB (%)
TTB 37°C	MSRV	14 (60.7)	21	11 (61.1)	13
TTB 43°C	MSRV	16 (69.6)	(91.3)	12 (66.7)	(30.2)
RV 42°C	MSRV	6 (6.1)		4 (22.2)	
TTB 37°C	XLD	2 (8.7)	2	3 (16.7)	3
TTB 43°C	XLD	0 (0)	(8.7)	0 (0)	(7.0)
RV 42°C	XLD	0 (0)		0 (0)	
TTB 37°C	HE	1 (4.4)	5	1 (5.6)	4
TTB 43°C	HE	0 (0)	(21.7)	0 (0)	(9.3)
RV 42°C	HE	4 (17.4)		3 (16.7)	
TTB 37°C	Rambach	0 (0)	5	0 (0)	4
TTB 43°C	Rambach	1 (4.4)	(21.7)	1 (5.6)	(9.3)
RV 42°C	Rambach	4 (17.4)		3 (16.7)	

สาเหตุที่ MSRV มีโอกาสตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลาได้มากกว่าอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อชนิดอื่น อาจเนื่องมาจาก MSRV มีหลักการในการแยกเชื้อซัลโมเนลลาโดยให้เชื้อซัลโมเนลลาที่สร้างแฟลกเจลลาเจริญเคลื่อนที่ไปรอบ ๆ จุดที่หยดอาหารเลี้ยงเชื้อในขั้นตอน selective enrichment โดยใน MSRV จะมีสารที่ทำให้ซัลโมเนลลาสามารถเคลื่อนผ่านอาหารที่เป็นลักษณะกึ่งแข็งกึ่งเหลวได้และค่า pH ที่ต่ำจะลดการเคลื่อนที่ของแบคทีเรียในกลุ่ม Enterobacteriaceae ที่สามารถเคลื่อนที่ได้ ยกเว้น *Salmonella, Enterobacter cloacae* และ *Citrobacter freundii* แต่อย่างไรก็ตามใน MSRV ก็มีสารที่ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้ง สองชนิดได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

reated with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

คือ novobiocin และอุณหภูมิในการบ่มที่ 42^0ซ ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่ซัลโมเนลลาสามารถเจริญได้ ในขณะที่แบคทีเรียลำไส้กลุ่มอื่นไม่สามารถเจริญได้ ทำให้การแข่งขันลดลงจึงสามารถตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลาได้เพิ่มขึ้น ส่วน selective agents ใน MSRV คือ malachite green และ $MgCl_2$ ในปริมาณมาก (De Smedt และคณะ, 1994) ทำให้ MSRV สามารถแยกเชื้อซัลโมเนลลาได้ในปริมาณสูง อย่างไรก็ตาม MSRV มีข้อจำกัด คือ ไม่สามารถใช้ตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาสายพันธุ์ที่ไม่สร้าง flagella ได้ ส่วนอาหารแข็ง XLD agar, HE, Rambach นั้นบ่มที่อุณหภูมิ 37^0ซ ซึ่งอุณหภูมินี้ไม่ได้ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียลำไส้ในกลุ่มอื่นๆที่ปนเปื้อนในเนื้อโคสดโดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อในกลุ่มที่ย่อยน้ำตาลแลคโตส เช่น *E.coli*, Coliforms เป็นต้น รวมถึงเชื้อในกลุ่มที่ไม่ย่อยน้ำตาลแลคโตสที่ไม่ใช่เชื้อซัลโมเนลลาอื่นๆ เช่น *Citrobacter* spp., *Proteus* spp. เป็นต้น ทำให้เชื้อในกลุ่มดังกล่าวเจริญขึ้นมาบดบังเชื้อในกลุ่มซัลโมเนลลาโดยโคโลนีของเชื้อที่สามารถย่อยน้ำตาลแลคโตสได้จะมีสีต่างจากเชื้อในกลุ่มที่ไม่สามารถย่อยน้ำตาลแลคโตส เราสามารถแยกเชื้อซัลโมเนลลาออกจากเชื้อในกลุ่มเหล่านี้ได้โดยอาศัยคุณสมบัติที่ว่าแบคทีเรียที่สามารถย่อยน้ำตาลแลคโตสได้นั้นเมื่อย่อยน้ำตาลแลคโตสแล้วจะเกิดกรดอินทรีย์ต่างๆขึ้น เมื่อปริมาณกรดมากขึ้นไปทำปฏิกิริยากับสารที่เป็นตัวบ่งชี้ความเป็นกรดด่าง phenol red เกิดเป็นสีเหลืองบน XLD agar และทำปฏิกิริยากับ bromothymol blue เกิดเป็นสีชมพูบน HE ในขณะที่เชื้อในกลุ่มซัลโมเนลลาและเชื้อในกลุ่มที่ไม่สามารถย่อยน้ำตาลแลคโตสอื่นๆ จะมีลักษณะโคโลนีใสและมีหรือไม่มีจุดสีดำของไฮโดรเจนซัลไฟด์กลางโคโลนี ทั้ง XLD และ HE อาศัยการแยกเชื้อซัลโมเนลลาออกจากแบคทีเรียในกลุ่มอื่นๆโดยอาศัยการแยกเชื้อระหว่างกลุ่มที่สามารถและไม่สามารถย่อยแลคโตสเท่านั้น แต่ Rambach จะอาศัยหลักการที่ต่างออกไปโดยใน Rambach จะมีสาร propylene glycol ซึ่งเป็นสารที่เชื้อซัลโมเนลลาส่วนใหญ่สามารถย่อยได้ เมื่อซัลโมเนลลาย่อย จะเกิดกรดชนิดต่างๆ ปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้นจะไปทำปฏิกิริยากับ neutral red ซึ่งเป็นสารบ่งชี้ความเป็นกรดด่างทำให้โคโลนีของเชื้อซัลโมเนลลามีสีแดงสด ในขณะที่เชื้อแบคทีเรียลำไส้กลุ่มอื่นๆที่ปนเปื้อนในเนื้อโคสด เช่น *E.coli* ซึ่งไม่มีเอนไซม์ย่อย propylene glycol แต่มีเอนไซม์ β-galactosidase ในการย่อยน้ำตาลแลคโตสจะให้โคโลนีสีน้ำเงิน ส่วนเชื้อที่มีเอนไซม์ย่อยน้ำตาลทั้งสองชนิด เช่น เชื้อในกลุ่ม*Citrobacter* spp. จะให้โคโลนีสีม่วง ส่วนเชื้อที่ไม่มีเอนไซม์ย่อยน้ำตาลทั้งสองชนิด เช่น เชื้อในกลุ่ม*Proteus* spp., *S.*Typhi, *S.* Paratyphi, *Pseudomonas* spp., *Shigella* spp. จะให้โคโลนีที่ไม่มีสีบน Rambach นอกจากนี้ใน Rambach จะมีสาร Sodium desoxycholate ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกอีกด้วย (Rambach, 1990)

จากที่กล่าวข้างต้นจะเห็นได้ว่าอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดจะมีหลักการและข้อดีข้อเสียที่ต่างกันออกไป ดังนั้นในการแยกเชื้อในขั้นตอน selective plating จึงควรใช้อาหารเลี้ยงเชื้อมากกว่า 1 ชนิด ซึ่งจะทำให้ผลความไวในการตรวจพบ และการจำแนกเซโรวาร์ได้สูงกว่า ดังตารางที่ 5 โดยจากผลการศึกษาพบว่าการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อร่วมกันมากกว่า 1 ชนิดจะให้ผลความไวในการตรวจพบและสามารถจำแนกเซโรวาร์ได้สูงกว่าการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อเพียงชนิดเดียว MSRV จะให้ผลความไวในการตรวจพบเชื้อหลังการบ่มเพาะใน TT บ่มที่อุณหภูมิ 43^0C 69.6 %สูงที่สุด ตามมาด้วย TTบ่มที่อุณหภูมิ 37^0C 60.9 % และใน RV บ่มที่อุณหภูมิ 42^0C 26.1 % แต่การใช้MSRV เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อในการตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาก็มีข้อจำกัด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

eated with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

เนื่องจาก MSRV ไม่เหมาะกับเชื้อซัลโมเนลลาสายพันธุ์ที่ไม่สร้างแฟลกเจลลา ดังนั้นในการตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาในขั้นตอน selective plating มากกว่า 1 ชนิด จะให้ผลการตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลาที่สูงกว่าการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อเพียงชนิดเดียวรวมทั้งให้ความไวและจำนวนการตรวจพบเซโรวาร์ที่เพิ่มมากขึ้นด้วย โดยพบว่าการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ ร่วมกันทั้ง 4 ชนิด หรือการใช้ MSRV ร่วมกับ XLD, MSRV ร่วมกับ HE และ MSRV ร่วมกับ Rambach โดยมาจาก TT บ่มที่อุณหภูมิ 43^0ซ จะให้ความไวในการตรวจพบเชื้อมากที่สุด (69.6 %) รวมทั้งสามารถจำแนกเซโรวาร์ได้หลากหลายมากที่สุด คือ 12 เซโรวาร์

สรุปผลการทดลอง

จากการตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาในเนื้อโคชำแหละจำหน่ายปลีก ตามวิธีมาตรฐานของการตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาในอาหารของ BAM หรือ AOAC ตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลา 23 ตัวอย่าง จากเนื้อโคชำแหละจำหน่ายปลีก 32 ตัวอย่าง (71.9 %) และสามารถจำแนกเชื้อได้ 18 เซโรวาร์ โดยที่ *S.* Senftenberg เป็นเซโรวาร์ที่พบมากที่สุด (17.2 %) รองลงมา คือ *S.* Anatum (15.1 %) และ*S.* Agona (10.8 %) ตามลำดับ การใช้อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อในขั้นตอน selective enrichment ด้วยอาหาร TT บ่มที่อุณหภูมิ 43^0ซ ให้ผลในการตรวจพบเชื้อที่สูงกว่า TTบ่มที่อุณหภูมิ 37^0ซ และ RV บ่มที่อุณหภูมิ 42^0ซ ตามลำดับ แต่เมื่อพิจารณาถึงจำนวนเซโรวาร์ที่ตรวจพบจะเห็นว่าการใช้ TT บ่มที่อุณหภูมิ 37^0ซ จะตรวจพบจำนวนเซโรวาร์มากที่สุด ตามมาด้วย TTบ่มที่อุณหภูมิ 43^0ซ และ RV บ่มที่อุณหภูมิ 42^0ซ ส่วนในขั้นตอน selective plating นั้นจากผลการศึกษาพบว่าMSRV เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมที่สุดต่อการตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาในขั้นตอนนี้ เนื่องจากให้ความไวในการตรวจพบมากที่สุด (69.6 %) และให้จำนวนการตรวจพบเซโรวาร์มากที่สุด คือ 13 เซโรวาร์ จากการถ่ายเชื้อมาจาก TT บ่มที่อุณหภูมิ 43^0ซ รองลงมาคือ HE และ Rambach 17.4 % พบ 4 เซโรวาร์ จากการถ่ายเชื้อมาจาก RV บ่มที่ 42^0ซ แต่เมื่อพิจารณาจะพบว่าการใช้อาหารในขั้นตอน selective plating ร่วมกันทั้ง 4 ชนิด หรือการใช้ MSRV ร่วมกับ XLD, MSRV ร่วมกับ HE และ MSRV ร่วมกับ Rambach โดยมาจาก TT บ่มที่อุณหภูมิ 43^0ซ จะให้ความไวในการตรวจพบเชื้อมากที่สุด (69.6 %) อีกทั้งสามารถจำแนกเซโรวาร์ได้หลากหลายที่สุด คือ 12 เซโรวาร์

เอกสารอ้างอิง

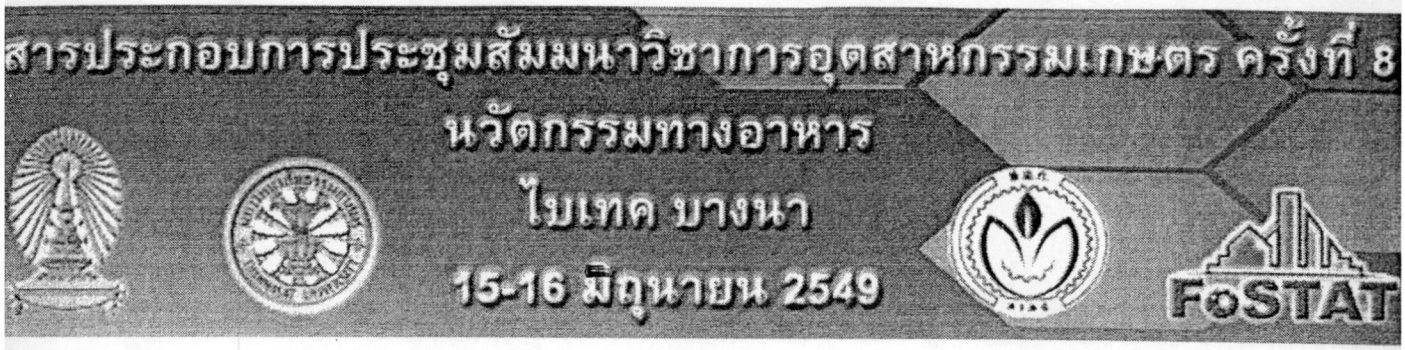
สุมาลี บุญมา, อรุณ บ่างตระกูลนนท์, นพรัตน์ หมานริน และ ชุทพจน์ อมาตยกุล. 2539. "การตรวจเชื้อซาโมเนลลาในเนื้อสัตว์ โดยวิธี SCM และ MSRV." อาหาร. 26 : 88-97.

อดิศร เสวตวิวัฒน์, วราวุฒิ ครูส่ง, ศรีรัตน์ พรเรืองวงศ์ และ อรุณ บ่างตระกูลนนท์. 2548. เปรียบเทียบอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อในขั้นตอน selective enrichment และ isolation ในการตรวจหาเชื้อซาลโมเนลลาในเนื้อหมูสดจำหน่ายปลีก. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 23 (1) : 1 - 13.

AOAC International. 1995. Offcial Method of Analysis. 16# ed., 967.25, 967.26, 967.28, and 995.20.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com



การและเหตุผล
ประสงค์
Papers
ited paper
al presentations
ster
ntations
- Processing and Engineering
- Products
- Packaging
- Analytical Techniques
- Others

เอกสารประกอบการประชุมภาคโปสเตอร์

P4-Analytical Techniques

รหัส	ชื่อผู้แต่ง	ชื่อเรื่อง
P4_01	Kongwut Niruntasuk and Bhundit Innawong	Shelf Life Determination of Vacuum Fried Mange Chip Using Electronic Nose
P4_02	นายปิยนัจ มาศิริ	การประเมินศักยภาพของดัชนีต่างๆที่อาจบ่งชี้ปริมาณการปลอมปนของข้าวหอมปทุมธานีในข้าวหอมมะลิ (105) (Evaluation potential of indices to quantify adulteratio of Jasmine Rice (105) mixed with Pathumthanee rice)
P4_03	อัษฎาวุธ อารีสิริสุข ลักขณา เหล่าไพบูลย์ สุวิญชา เหลืองวีรชัย นวลจันทร์ ข้องสาย และ พัฒนา เหล่าไพบูลย์	การแยกพีคกรดอินทรีย์ และตัวทำละลายอินทรีย์จากการหมั อะซิโดน- บิวทานอล-เอทานอล โดยแก๊สโครมาโตกราฟี (G chromatographic peak identification for organic acids and organic solvents of acetone-butanol-ethanol fermentation)
P4_04	สมัญญา สุขพหล อรุณ บ่างตระกูลนนท์ เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์ ประภาพร ขอไพบูลย์ และ อดิศร เสวตวิวัฒน์	การเปรียบเทียบอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อในขั้นตอน selective enrichment และ selective plating ในการตรวจหาเชื้อซัล เนลลาในเนื้อโคชำแหละจำหน่ายปลีก (Comparison of culture medium used in selective enrichment and selective plating procedure for Salmonellae detection retailed cut beef)
P4_05	Supathra Lilitchan, holticha Tangprawat and Kanit Krisnangkura	การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณไขมันและแกมมาโอไรซานอล ร่าข้าว ด้วยการสกัดเพียงบางส่วน (Determination of Tota Lipid and γ -Oryzanol in Rice Bran by Partial Extractio
P4_06	ณฐมน รุ่งสร้างธรรม ศุภชัย ลีจีรจำเนียร สุเชษฐ์ สมุหเสนีโต บัณฑิต อินณวงศ์ และ อรุณศรี ลีจีรจำเนียร	การวิเคราะห์สารประกอบระเหยในกาแฟคั่วอาราบิก้าโดยวิธีก สกัดแบบโซลิดเฟสไมโครเอ็กแทรกชั่น (Analysis of volati compounds in roasted Arabica coffee beans by solid phase microoextraction)
P4_07	วิจิตรา แดงปรก วิษณุลักษณ์ คำยอง และ ศศิอาภา บุญคง	การแยกบักเตรีที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยไฟบรินได้จากถั่ว เน่า (Isolation and Characterization of Fibrinolytic Enzyme producing Bacteria from Thau Nao)
P4_08	Worawikunya, Kiatponglarp, and Sunanta Tongta	ผลของการดัดกิ่งสายโมเลกุลสตาร์ชต่อการเกิดแป้งทนต่อก ย่อยด้วยเอนไซม์ในสตาร์ชมันสำปะหลัง (Effect of debranching on enzyme resistant starch formation in tapioca starch)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

AOAC International, Gaithersburg, Md.

llin, C.H. 1995. "Collins and Lyne's microbiological methods." Oxford, UK: Butterworth-Heinemann.

Smedt, J.M., Bolderdijk, R., and Milas, J. 1994. "*Salmonella* detection in cocoa and chocolate by motility enrichment on modified semi-solid Rappaport-Vassiliadis medium: collaborative study. J. AOAC Int. 77: 365-373.

ımmack, T.S., Amaguana, R.M., June, G.A., Shrrod, P.S., and Andrews, W.H. 1999. "Relative effectiveness of Selenite Cystine Broth, Tetrathionate broth, and Rappaport-Vassiliadis medium for the recovery of *Salmonella* from foods with a low microbial load. J. Food. Prot. 62 (1): 16-21.

rngklinchan, J., Koowatananukul, K., and Saitanu, K. 1994. "Occurance of Salmonella in raw broilers and their products in Thailand. J. Food.Prot. 57: 808-810.

ne, G.A., Sherrod, P.S., Hammack, T. S., Amaguana, R.M., and Andrews, W.H. 1995. "Relative effectiveness of Selenite Cystine Broth, Tetrathionate broth, and Rappaport-Vassiliadis medium for the recovery of *Salmonella* from raw flesh and highly Contaminated foods: Precollaborative Study." J. AOAC Int. 78: 375-380.

ne, G.A., Sherrod, P.S., Hammack, T. S., Amaguana, R.M., and Andrews, W.H. 1996. "Relative effectiveness of Selenite Cystine Broth, Tetrathionate broth, and Rappaport-Vassiliadis medium for the recovery of *Salmonella* from raw flesh and highly Contaminated foods: Precollaborative Study." J. AOAC Int. 79: 1307-1323.

opoff, M.Y., Bockemuehl, J., Brenner, F.W., and Gheesling, L.L. 2001. //supplement 2000 (no.44) to the Rathmann white scheme. Res Microbial. 152: 907-909.

ambach, A. 1990. "New plate medium for facilitated differentiation of *Salmonella* spp. from *Proteus* spp. and other enteric bacteria." Appl. ENViron. Microbiol. 56(1): 301-303.

ose, B.E., Hill, W.E., Umholtz, R., Ransom, G.M., and James, W.O. 2002. "Testing for *Salmonella* in raw meat and poultry products collected at federally inspected establishments in the United States of America,1998 through 2000." J. Food. Prot. 65 : 937-947.

aitanu, K., Koowatananukul, C., Jerngklinchan, J., and Sasipreeyajan, J. 1994. "Salmonellae in hen eggs in Thailand." Southeast Asia J. Trop. Med. Public Health. 25: 324-327.

ISFDA (U.S. Food and Drug Administration). 1995. Bacteriological Analytical Manual. 8th ed. AOAC International, Gaithersburg, Md.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ated with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบความไวในการตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลาและจำนวนเซโรวาร์ที่พบจากอาหารเลี้ยงเชื้อในขั้นตอน isolation หลังจากบ่มเพาะเชื้อด้วย RV และ TTB

อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ	พบเชื้อซัลโมเนลลา	ไม่พบเชื้อซัลโมเนลลา	ความไวในการตรวจสอบ (%)	จำนวน เซโรวาร์ที่พบ (%)
TTB 37°C ⟶				
MSRV	14	9	60.9	11 (61.1)
XLD	2	21	8.7	3 (16.7)
HE	1	22	4.4	1 (5.6)
Rambach	0	23	0.0	0 (0.0)
MSRV+XLD	15	8	65.2	13 (72.2)
MSRV+HE	14	9	60.9	12 (66.7)
MSRV+ Rambach	14	9	60.9	11 (61.1)
XLD+HE	3	20	13.0	4 (22.2)
XLD+Rambach	2	21	8.7	3 (16.7)
HE+RM	1	22	4.4	1 (5.6)
MSRV+XLD+HE+Rambach	15	8	65.2	14 (77.8)
TTB 43°C ⟶				
MSRV	16	7	69.6	12 (66.7)
XLD	0	23	0.0	0 (0)
HE	0	23	0.0	0 (0)
Rambach	1	22	4.4	1(5.6)
MSRV+XLD	16	7	69.6	12 (66.7)
MSRV+HE	16	7	69.6	12 (66.7)
MSRV+ Rambach	16	7	69.6	12 (66.7)
XLD+HE	0	25	0.0	0 (0)
XLD+Rambach	1	22	4.4	1(5.6)
HE+RM	1	22	4.4	1 (5.6)
MSRV+XLD+HE+Rambach	16	7	69.6	12 (66.7)
RV 42°C ⟶				
MSRV	6	17	26.1	4 (22.2)
XLD	0	23	0.0	0(0)
HE	4	19	17.4	3(16.7)
Rambach	4	19	17.4	3(16.7)
MSRV+XLD	5	18	21.7	4 (22.2)
MSRV+HE	8	15	34.8	6 (33.3)
MSRV+ Rambach	8	15	34.8	6 (33.3)
XLD+HE	4	19	17.4	3 (16.7)
XLD+Rambach	4	19	17.4	3 (16.7)
HE+RM	4	19	17.4	4 (22.2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

MSRV+XLD+HE+Rambach	8	15	34.8	7 (38.9)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com