สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

รายงานผลการวิจัย

เรื่อง

ผลของแบคเทอริโอซินร่วมกับกรดแลคติคต่อการลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อสุกร

Effect of Bacteriocin and Lactic Acid on Reduction of Microorganisms in Pork

โดย

รศ.ดร.จุฑารัตน์ เศรษฐกุล

นางสาวชนัญญา กงทะสร

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ผศ.อดิศร เสวตวิวัฒน์

ภาควิชาวิศวกรรมการหมัก

โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

RCH
TX
556
.P8
ว6317
เลขหมู่.....
58916
เลขทะเบียน.....
17 ก.พ. 2549
วัน,เดือน,ปี.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

b.....
i.....

บทคัดย่อ

เรื่อง

ผลของแบคเทอริโอซินร่วมกับกรดแลคติคต่อการลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อสุกร

Effect of Bacteriocin and Lactic Acid on Reduction of Microorganisms in Pork

การศึกษาผลของแบคเทอริโอซินร่วมกับกรดแลคติคต่อการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อสุกร โดยแบคเทอริโอซินที่ใช้ในการศึกษานี้เป็นชนิด pediocin PA – 1 ผลิตจากเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ที่แยกได้จากแหนม แบ่งการทดลองออกเป็น 3 การทดลอง โดยในการทดลองที่ 1 เป็นการศึกษาผลของแบคเทอริโอซินร่วมกับกรดแลคติคต่อการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* Derby, *Salmonella* Anatum และ *Staphylococcus aureus* ในหลอดทดลอง (*in vitro* test) โดยมีปริมาณเชื้อเริ่มต้นประมาณ 4 log CFU/ml จัดกลุ่มทดลองแบบ 2x4x6 แฟคทอเรียลในแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด ทำการศึกษา 3 ปัจจัย โดยปัจจัย A คือ ระดับของกรดแลคติค 2 ระดับ (0% และ 1%) ปัจจัย B คือ ระดับของแบคเทอริโอซิน 4 ระดับ (0, 320 640 และ 1280 AU/ml) และปัจจัย C คือ เวลาที่ทำการศึกษา 6 ระยะ (0, 6, 12, 18, 24 และ 30 ชั่วโมง) พบว่า การใช้ pediocin PA – 1 ร่วมกับกรดแลคติค 1% นั้น สามารถลดปริมาณเชื้อ *S.* Derby ในทันทีที่สัมผัสสารละลายได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่าการใช้ pediocin PA – 1 หรือกรดแลคติค 1% แต่เพียงอย่างเดียว โดยเมื่อใช้ร่วมกับ pediocin PA – 1 ที่ระดับ 640 และ 1280 AU/ml ลดลงได้มากกว่าการใช้กรดแลคติค 1% เพียงอย่างเดียวถึง 0.13 และ 0.16 log CFU/ml ตามลำดับ ($P<0.01$) และมากกว่าการใช้ pediocin PA – 1 ที่ระดับ 640 และ 1280 AU/ml เพียงอย่างเดียวถึง 0.13 และ 0.11 log CFU/ml ตามลำดับ ($P<0.01$) แต่การใช้ pediocin PA – 1 ร่วมกับกรดแลคติค 1% ให้ผลในการลดปริมาณเชื้อ *S.* Anatum ไม่แตกต่างจากการใช้ pediocin PA – 1 หรือกรดแลคติค 1% เพียงอย่างเดียว ซึ่งการใช้ pediocin PA – 1 ในระดับสูง (1280 AU/ml) เพียงอย่างเดียวสามารถลดเชื้อลงได้ประมาณ 0.06 log CFU/ml ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6 แต่การใช้ที่ระดับเดียวกันนี้ร่วมกับกรดแลคติค 1% ให้ประสิทธิภาพไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) การใช้กรดแลคติค 1% เพียงอย่างเดียวให้ประสิทธิภาพไม่แตกต่างจากการใช้ pediocin PA – 1 320 AU/ml ในขณะที่การใช้กรดแลคติค 1% เพียงอย่างเดียวให้ประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* ดีกว่าการใช้ pediocin PA – 1 เพียงอย่างเดียวหรือใช้ร่วมกับกรดแลคติค ซึ่งกรดแลคติค 1 % สามารถลดปริมาณเชื้อได้ถึง 0.11 log CFU/ml ที่ชั่วโมงที่ 24 ของการศึกษา ($P<0.01$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองที่ 2 เป็นการศึกษาผลของแบคทอริโอซินร่วมกับกรดแลคติคต่อการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐานที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างกัน จัดกลุ่มทดลองแบบ 3x3x5 แฟคทอเรียลในแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด ทำการศึกษา 3 ปัจจัย โดยปัจจัย A คือ ระดับของกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซิน 3 ระดับ (0%, 1% + 640 AU/ml และ 1% + 1280 AU/ml) ปัจจัย B คือ อุณหภูมิการเก็บเนื้อ 3 ระดับ (0-4°ซ, 10-15°ซ และ 30-35°ซ) และปัจจัย C คือ ระยะเวลาที่ศึกษา 5 ระยะ (ก่อนจุ่มสารละลาย, ชั่วโมงที่ 0, 3, 6 และ 12) พบว่า การเก็บเนื้อที่อุณหภูมิ 0 - 4°ซ ทำให้ปริมาณจุลินทรีย์บนผิวเนื้อลดต่ำลงอย่างต่อเนื่องในทุกกลุ่มการทดลองจากชั่วโมงที่ 0 จนถึง 12 ของการศึกษา ภายในชั่วโมงที่ 0 เนื้อที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 1280 AU/ml เก็บที่อุณหภูมิ 10-15°ซ พบว่ามีปริมาณเชื้อเท่ากับ 6.53 log CFU/ตร.ซม. ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งมีค่าเท่ากับ 6.66 log CFU/ml ($P<0.01$) แต่หลังจากชั่วโมงที่ 3 ปริมาณเชื้อจะคงที่จนถึงชั่วโมงที่ 12 ของการศึกษา ภายหลังจากการให้เนื้อสัมผัสกับสารละลายน้ำกลั่น และสารละลายกรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ทั้ง 2 ระดับ ปริมาณเชื้อจะถูกควบคุมให้คงที่ได้จนถึงชั่วโมงที่ 12 ของการศึกษา แม้ว่าจะเก็บที่อุณหภูมิ 30-35°ซ แต่การเก็บเนื้อที่อุณหภูมิระดับนี้ร่วมกับการใช้กรดแลคติคและ pediocin PA – 1 มีผลให้ค่า pH ของเนื้อลดลงถึง ultimate pH ได้ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6 (5.50 และ 5.47) และมีผลให้ค่าสี (L*) ของเนื้อสูงที่สุด (54.03) ในชั่วโมงที่ 12 ของการศึกษา ($P<0.05$)

การทดลองที่ 3 ศึกษาประสิทธิภาพของสารละลายกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินต่อการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวเนื้อสุกรชิ้นส่วนใหญ่ต่างกันที่มาจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน จัดกลุ่มทดลองแบบ 3x3 แฟคทอเรียลในแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด ทำการศึกษา 2 ปัจจัย โดยที่ปัจจัย A คือ ระดับของกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซิน 3 ระดับ (0%, 1% + 640 AU/ml และ 1% + 1280 AU/ml) และปัจจัย B คือ เนื้อสุกรชิ้นส่วนใหญ่ 3 ชนิด (สันคอ, สันนอก และสามชั้น) พบว่าเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของ pediocin PA – 1 ร่วมกับกรดแลคติค 1% มีผลให้ปริมาณจุลินทรีย์ลดลงมากขึ้นในเนื้อทุกชิ้นส่วน ($P<0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และมีผลให้ค่า pH ของเนื้อทุกชิ้นส่วนลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) และค่าสี (L*) ที่วัดจากเนื้อสันนอกกลุ่มที่สัมผัสกรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA - 1 1280 AU/ml มีค่าสีเนื้อสูงที่สุด เท่ากับ 56.07 แตกต่างจากกลุ่มที่ใช้ในระดับ 640 AU/ml (54.11) และกลุ่มควบคุม (52.07) ($P<0.05$)

ABSTRACT

This research was to study the effect of bacteriocin and lactic acid on reduction of microorganisms in pork. The bacteriocin type used in this study was pediocin PA – 1 from *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 isolated from Nham. (Thai fermented meat)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

The study consisted of 3 experiments. The first experiment the effect of bacteriocin and lactic acid on reduction of *Salmonella* Derby, *Salmonella* Anatum and *Staphylococcus aureus*. (*in vitro* test) , inoculated the starter culture approximately 4 log CFU/ml were studied. The experiment was conducted in 2x4x6 factorial arrangement in completely randomized design. Three factors were as followed : Factor A was 2 of lactic acid levels (0 and 1%), Factor B was 4 of bacteriocin levels (0, 320, 640 and 1280 AU/ml) and Factor C was 6 durations of study (0, 6, 12, 18, 24 and 30 hours). The results showed that the use of 1% lactic acid + pediocin PA – 1 could instantly and effectively reduce the counts of *S.* Derby better than the use of pediocin PA – 1 or lactic acid only. When lactic acid was used together with pediocin PA – 1 at 640 and 1280 AU/ml, the bacterial counts could be reduced to 0.13 and 0.16 log CFU/ml, respectively ($P<0.01$).The bacterial counts were reduced to 0.13 and 0.11 log CFU/ml when using only pediocin PA – 1 at 640 and 1280 AU/ml, respectively.There were no different among treatments in efficacy of reduction of S. Anatum ($P>0.05$) at 0^{th} hour. When using only pediocin PA – 1 at the high concentration (1280 AU/ml), the bacterial counts could be reduced to 0.06 log CFU/ml after 6 hours but there was no significant difference compare to using pediocin PA – 1 1280 AU/ml with 1% lactic acid ($P>0.05$). There were no difference in efficacy between using 1% lactic acid and pediocin PA – 1 320 AU/ml. However, using only 1% lactic acid showed more efficacy on reduction of *S. aureus* than using either only pediocin PA – 1 or together with lactic acid which 1% lactic acid could reduce the counts to 0.11 log CFU/ml at h 24 ($P<0.01$).

The second experiment was to study the effect of bacteriocin and lactic acid on reduction of microorganisms on the surface of pork from unhygienic slaughterhouses at different storage temperatures and storage times in 3x3x5 factorial arrangement in completely randomized design. Three factors were as followed : Factor A was 3 combinations of 1% lactic acid + pediocin PA – 1 (0%, 1% + 640 AU/ml and 1% + 1280 AU/ml). Factor B was 3 levels of the storage temperatures (0-4^{o}C, 10-15^{o}C and 30-35^{o}C) and Factor C was 5 durations of storage(pre - dip,0, 3, 6 and 12 hours) .The results showed that the bacterial counts on meat surface in all treatments were continuously reduced from h 0 to h 12 of the study when stored at 0-4^{o}C. At h 0, meat dipped in 1% lactic acid + pediocin PA – 1 1280 AU/ml and stored at 10-15^{o}C had

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

bacterial counts of 6.53 log CFU/cm^2 which lower than the controll group (6.66 log CFU/cm^2) ($P<0.01$), but after h 3, the bacterial counts was constant until h 12 of the study. After dipping meat in sterized water and using lactic acid and pediocin PA – 1 (640 and 1280 AU/ml), the amount of bacterial counts were limited and constant until h 12 of the study even though they were stored at 30-35^{o}C. However, the meat stored at high temperatures together with using lactic acid and pediocin PA – 1, lowered the pH value to ultimate pH at h 6 (5.56 and 5.47 respectively) and had the highest lightness of meat (L*) (54.03) at h 12 of the study ($P<0.05$).

The third experiment was to study the effect of bacteriocin and lactic acid on the reduction of microorganisms on different wholesale cuts of pork from unhygienic slaughterhouses. The experiment was conducted in 3x3 factorial arrangement in completely randomized design. Two factors as followed : Factor A was 3 cmbinations of lactic acid + pediocin PA – 1 (0%, 1% + 640 AU/ml and 1% + 1280 AU/ml) and Factor B was 3 different wholesale cuts (Boston Shoulder, Loin and Belly). The results showed that the bacterial counts were reduced significantly ($P<0.01$) and pH value decreased significantly as the concentrations of pediocin PA – 1 increased in all cuts. The loin dipped in lactic acid and pediocin PA – 1 at 1280 AU/ml had higher lightness (L*) value (56.07) than the group using pediocin PA – 1 640 AU/ml (54.11) and the controlled group (52.07) ($P<0.05$).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี ต้องขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย และโครงการย่อยบัณฑิตศึกษาและวิจัยคณะเทคโนโลยีการเกษตร ที่ให้ทุนสนับสนุนในการทำวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทางจุลินทรีย์ สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ที่ให้ความรู้ คำแนะนำ การอบรมในด้านการวิเคราะห์หาเชื้อจุลินทรีย์ในครั้งนี้

คณะผู้วิจัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....II

กิตติกรรมประกาศ.....V

สารบัญ.....VI

บทนำ.....1

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....4

วิธีดำเนินการวิจัย.....28

ผลการทดลอง.....36

วิจารณ์ผลการทดลอง.....60

สรุปและข้อเสนอแนะ.....68

บรรณานุกรม.....71

ภาคผนวก.....78

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มา

โดยทั่วไปแล้ว ผู้บริโภคจะเป็นผู้กำหนดคุณภาพและความเหมาะสมในการนำเนื้อสัตว์ไปใช้ประโยชน์ ซึ่งข้อกำหนดของผู้บริโภคแต่ละคนก็แตกต่างกันออกไป แต่สิ่งหนึ่งที่ผู้บริโภคส่วนใหญ่ให้ความสนใจก็คือ ความปลอดภัยทางด้านอาหาร ทั้งปลอดจากสารตกค้าง ยาปฏิชีวนะและสารเคมีในเนื้อสัตว์ แต่ปัจจัยอีกอันหนึ่งที่มีความสำคัญไม่น้อยไปกว่ากันคือ ความปลอดภัยจากการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งปีนี้เป็นปีแห่งความปลอดภัยทางด้านอาหาร (Food safety)

ปัญหาด้านการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์ เป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคหลายชนิด เช่นเชื้อ *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. และ *E. coli* โดยเฉพาะเชื้อ *Salmonella* นั้นจัดเป็นเชื้อโรคสำคัญ ที่เป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อในทางเดินอาหาร (Gast *et al.* 1988) อีกทั้งการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ยังเป็นอีกเหตุผลหนึ่งที่ทำให้การส่งออกเนื้อสัตว์บางชนิดของไทยไปยังต่างประเทศถูกกีดกัน ซึ่งการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์นั้น มีสาเหตุมาจากปัจจัยหลายประการ แต่สาเหตุหลักที่สำคัญอันหนึ่งก็คือ การปนเปื้อนในระหว่างกระบวนการฆ่า หรือการปนเปื้อนที่มาจากโรงฆ่าสัตว์ที่ไม่ได้มาตรฐาน มีกระบวนการฆ่า การตัดแต่งซากและการขนส่งซากและเนื้อสัตว์ที่ไม่ถูกสุขลักษณะ ซึ่งเนื้อสัตว์ที่ได้จากโรงฆ่าประเภทนี้จะพบว่ามีปริมาณการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์อยู่สูงมาก เป็นเหตุให้เนื้อสัตว์เหล่านี้เน่าเสียเร็ว ซึ่งเนื้อสัตว์ที่บริโภคกันเป็นส่วนใหญ่จะได้มาจากโรงฆ่าสัตว์ประเภทนี้ อีกทั้งแหล่งที่ซื้อเนื้อสัตว์ส่วนใหญ่ก็จะมาจากตลาดสดที่ไม่มีการเก็บรักษาเนื้อสัตว์อย่างถูกสุขลักษณะ ไม่มีห้องเย็นในการเก็บรักษาเนื้อ อีกทั้งประเทศไทยยังมีสภาพอากาศร้อนชื้น จึงทำให้มีสภาวะที่เหมาะสมอย่างยิ่งในการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ จากเหตุผลที่กล่าวมานี้จึงควรจะได้มีการปรับปรุงในเรื่องของการควบคุมมาตรฐานในการขนส่งและเก็บรักษาเนื้อสัตว์ โดยควรจะเพิ่มปริมาณของโรงฆ่าสัตว์ที่ได้มาตรฐานให้มีมากขึ้น รถที่ใช้ในการขนส่งซากและเนื้อสัตว์ก็ควรเป็นรถห้องเย็นที่มีระบบการควบคุมอุณหภูมิอย่างมีประสิทธิภาพ มีห้องเย็น ห้องแช่แข็งสำหรับเก็บรักษาเนื้อสัตว์ที่รอการจำหน่าย อีกทั้งสถานที่จำหน่ายเนื้อสัตว์ก็ควรจะมีลักษณะเป็นตู้ปิดมิดชิด ป้องกันแมลงและฝุ่นละออง มีการควบคุมอุณหภูมิอย่างเหมาะสม ซึ่งการที่จะปรับปรุงระบบการฆ่าและการจำหน่ายเนื้อสัตว์ให้ได้มาตรฐานตามที่กล่าวมานั้นเป็นเรื่องที่ต้องใช้เวลา เงินลงทุนและความร่วมมือจากหลายฝ่ายทั้งจากภาครัฐและเอกชน ดังนั้น จึงได้มีการพยายามนำเอาวิธีการต่างๆมาใช้ในการช่วยลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในเนื้อสัตว์ เช่น การใช้สารที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งและทำลายเชื้อจุลินทรีย์ทั้งที่ได้จากธรรมชาติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และที่ได้จากการสังเคราะห์ โดยสารดังกล่าวนั้นต้องไม่เป็นอันตรายกับผู้บริโภคและไม่มีผลตกค้างในเนื้อสัตว์ เช่น การใช้สารละลายกรดแลคติคหรือสารละลายคลอรีน ในการลดปริมาณการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับเนื้อสัตว์ โดยกรดแลคติคเป็นกรดอินทรีย์ที่เป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตและทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้ดี และมีกลิ่นรสที่นุ่มนวลกว่ากรดอินทรีย์ชนิดอื่น ทำให้ไม่บดบังกลิ่นและรสตามธรรมชาติของเนื้อสัตว์ คณะกรรมการอาหารและยา (FDA) ของสหรัฐอเมริกาได้จัดให้กรดแลคติคเป็นสารปรุงแต่งอาหารที่ยอมรับกันทั่วไปว่ามีความปลอดภัยในการใช้ ส่วนคลอรีนที่จัดเป็นสารเคมีนั้นสามารถนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารได้ เพราะมีการจัดให้คลอรีนเป็นสารประกอบที่เรียกว่า GRAS (Generally Recognized As Safe) จึงมีความปลอดภัยที่จะใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เมื่อใช้ในระดับความเข้มข้นที่กำหนด แต่นอกเหนือจากการใช้สารละลายเคมี และสารละลายอินทรีย์ในการลดปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์แล้ว ยังมีอีกวิธีการหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ในการลดปริมาณการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ อีกทั้งยังไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค ซึ่งก็คือการใช้สารสกัดจากจุลินทรีย์บางชนิด เช่นการนำสารสกัดจากแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติคบางชนิดที่เรียกว่า แบคเทอริโอซิน (Bacteriocin) มาใช้ เนื่องจากว่าสารสกัดตัวนี้เป็นโปรตีนที่ได้มาจากการสกัดเชื้อแบคทีเรีย จึงมีคุณสมบัติที่สามารถย่อยสลายตามธรรมชาติ ไม่ก่อให้เกิดผลตกค้างในเนื้อสัตว์ และคุณสมบัติที่ดีของแบคเทอริโอซินอีกอันหนึ่งก็คือ สามารถช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์ในเนื้อที่เป็นสาเหตุของโรคหลายชนิด อย่างเช่นโรคอาหารเป็นพิษ (Food poisoning) โดยแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคเหล่านี้ได้แก่ *Salmonella*, *Campylobacter*, *E. coli* O157:H7 และชนิด EHE, *C. shigella*, *Listeria*, *Yersinia*, *Aeromonas*, *Vibrio*, *Clostridium*, ปรสิตของ *Cryptosporidium* และ *Toxoplasma* และยังมีไวรัสบางชนิด เช่น Hepatitis, Norwalk และ Norwalk – like. (Anonymous. 2001)

ดังนั้น การศึกษาวิจัยในครั้งนี้จึงเป็นการนำเอาสารละลายกรดแลคติค และสารสกัดแบคเทอริโอซินมาใช้ร่วมกัน ในการลดปริมาณการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์ชิ้นส่วนต่างกันและที่อุณหภูมิ และระยะเวลาต่าง ๆ กัน เพื่อให้การศึกษาตั้งอยู่บนพื้นฐานความเป็นจริงของสภาพการณ์ที่เป็นอยู่ มีความเหมาะสม และมีความเป็นไปได้ในสภาพเศรษฐกิจ และสังคมในปัจจุบัน เพื่อให้สามารถนำไปใช้ได้จริงในทางปฏิบัติ

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

1) เพื่อทราบถึงประสิทธิภาพ และระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดแลคติค แบคเทอริโอซิน และการใช้สารร่วมกันในการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* Derby, *Salmonella* Anatum และ *Staphylococcus aureus* ในหลอดทดลอง (*in vitro* test)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2) เพื่อทราบถึงผลของการใช้สารสกัดแบคเทอริโอซินร่วมกับกรดแลคติคในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์รวมบนผิวเนื้อสุกรที่ได้จากโรงฆ่าสัตว์ที่ไม่ได้มาตรฐานที่อุณหภูมิการเก็บต่างกัน

3) เพื่อทราบถึงผลของการใช้สารสกัดแบคเทอริโอซินร่วมกับกรดแลคติคในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์รวมบนเนื้อสุกรที่มาจากชิ้นส่วนใหญ่ (Wholesale cuts) ที่ต่างกัน

1.3 สถานที่ดำเนินการ

ห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยา ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

1.4 ขั้นตอนการศึกษา

1) การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของการใช้แบคเทอริโอซินร่วมกับกรดแลคติคในการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* Derby *Salmonella* Anatum และ *Staphylococcus aureus* ในหลอดทดลอง *(in vitro* test)

2) การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของการใช้แบคเทอริโอซินร่วมกับกรดแลคติคในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐานที่อุณหภูมิการเก็บต่างกัน

3) การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของการใช้แบคเทอริโอซินร่วมกับกรดแลคติคในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐานที่มาจากชิ้นส่วนใหญ่ต่างกัน

1.5 ระยะเวลาการศึกษา

ระยะเวลาในการศึกษาทั้งสิ้น 7 เดือน เริ่มทำการศึกษาตั้งแต่ เดือนตุลาคม 2546 เสร็จสิ้นการศึกษา เดือนเมษายน 2547

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 แหล่งการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์

การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์ สามารถเกิดขึ้นได้ในทุกขั้นตอนในกระบวนการผลิต ซึ่งการปนเปื้อนจะมากหรือน้อยนั้นขึ้นอยู่กับการควบคุมสุขลักษณะ และการจัดการที่ดี การควบคุมการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์สามารถทำได้โดยการกำหนดจุด หรือขั้นตอนที่อาจจะทำให้เกิดการปนเปื้อน จากนั้นก็ทำการควบคุม หาวิธีป้องกันขั้นตอนนั้นๆ โดยแหล่งของการปนเปื้อนที่สำคัญและขั้นตอนที่อาจพบการปนเปื้อนแสดงไว้ในภาพที่ 2.1 2.2 และ 2.3

2.1.1 การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในกระบวนการฆ่าสัตว์

จุฑารัตน์ เศรษฐกุล (2540) ได้สรุปถึงการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในกระบวนการฆ่าไว้ดังนี้

1) การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์สามารถพบได้ตั้งแต่อยู่ในฟาร์มจากสภาพแวดล้อม เช่น แหล่งน้ำ อาหารสัตว์ ตัวสัตว์ที่ติดเชื้อดังกล่าว ซึ่งเชื้อ Salmonella ส่วนใหญ่จะปนเปื้อนมาในอาหารสัตว์ ถ้าสามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อดังกล่าวในอาหารสัตว์ลงได้ จะสามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อในเนื้อสัตว์ได้เป็นอย่างมาก แหล่งอาหารสัตว์ที่พบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์มากที่สุด คือ ปลาป่น เนื้อและกระดูกป่น เลือดป่น เป็นต้น

2) การเคลื่อนย้ายสัตว์จากฟาร์มไปยังโรงฆ่าสัตว์ เป็นการนำสัตว์จากหลาย ๆ แหล่งมาอยู่รวมกัน จะทำให้เกิดการแพร่กระจายของเชื้อโรคจากสัตว์ตัวหนึ่งไปยังอีกตัวหนึ่งได้ เช่น จากมูลสัตว์ที่ขับถ่ายออกมา นอกจากนี้ปริมาณ CO_2 และ NH_3 ที่เกิดขึ้นในคอกพักสัตว์ จะมีผลต่อการเพิ่มการเคลื่อนตัวของสารในลำไส้ ทำให้มีการขับถ่ายเพิ่มมากขึ้น ซึ่งในมูลสัตว์พบว่ามีเชื้อ Salmonella อยู่มาก

3) ขั้นตอนการทำให้สลบโดยการใช้ปืน (Captive blot) พบการปนเปื้อนที่บริเวณแท่งเหล็กที่ถูกขับออกมาจากการยิง ซึ่งเป็นทางหนึ่งที่ทำให้เชื้อเข้าสู่ร่างกาย

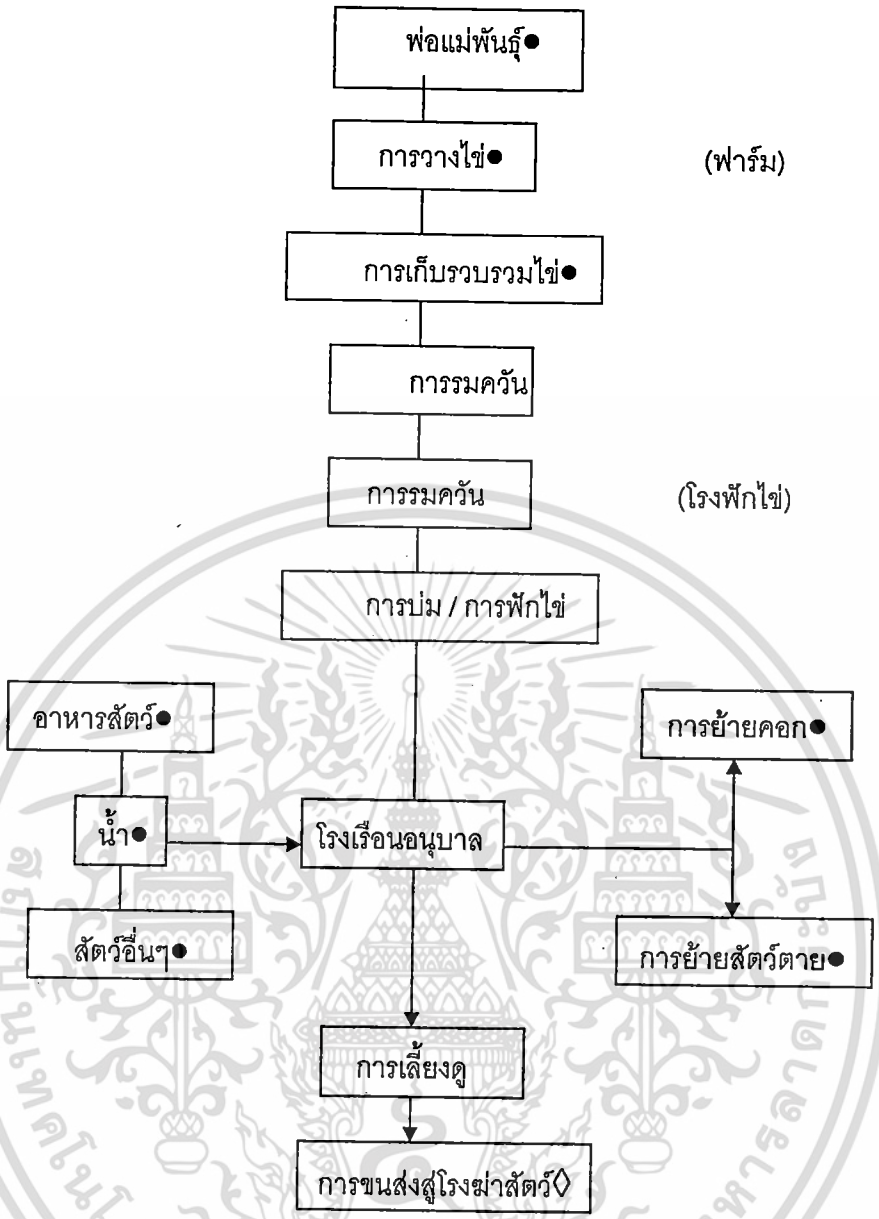
4) ขั้นตอนการแทงคอเอาเลือดออก จะเป็นโอกาสทำให้เชื้อเข้าสู่ร่างกายบริเวณบาดแผล ซึ่งเชื้ออาจติดอยู่ที่บริเวณผิวหนังสัตว์ หรืออุปกรณ์ที่ใช้ไม่สะอาด และโดยเฉพาะอย่างยิ่งเข้าสู่ทางบาดแผลที่อาจเปิดกว้างมาก ทำให้เชื้อเข้าสู่ร่างกายได้มาก

5) ขั้นตอนการถลกหนังในโค พบว่ามีส่วนทำให้ซากเกิดการปนเปื้อนขึ้นได้ เนื่องจากบริเวณหนังสัตว์มีการปนเปื้อนเชื้อสูง และนอกจากนี้วิธีการถลกหนังจากคอ ไหล่ ไปสู่ขาหลัง จะพบการปนเปื้อนของเชื้อสูงกว่าการลอกในทิศทางกลับกัน เนื่องจากขณะหนังถูกถลกขึ้นจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 2.1 แสดงแหล่งการปนเปื้อน และจุดอันตรายต่อการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในกระบวนการผลิตเนื้อสัตว์จากโรงฆ่าสุกร แกะ และโค (WHO. 1988)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



● แหล่งการปนเปื้อนที่สำคัญ

◊ แหล่งการปนเปื้อนที่อาจพบ

ภาพที่ 2.2 แสดงแหล่งการปนเปื้อนและจุดอันตรายต่อการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียในการเลี้ยงสัตว์ปีก (WHO. 1988)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 2.3 แสดงกระบวนการผลิตไก่สด (Pearson and Dutson. 1986)

บริเวณคอซึ่งมีบาดแผลและเลือดที่เกิดจากการแทงคอปนเปื้อนที่จะมีเชื้อจุลินทรีย์อยู่สูงกว่า จะเท่ากับเป็นการกระจายเชื้อไปสู่ซากบริเวณอื่นได้

6) การปนเปื้อนในกระบวนการลวกซาก (Scalding) โดยทั่วไปขั้นตอนการลวกซาก จะสามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียได้ เนื่องจากอุณหภูมิน้ำร้อนที่ใช้ลวกซากนั้นประมาณ 58 – 62 องศาเซลเซียส ซึ่งจุลินทรีย์ส่วนใหญ่จะถูกทำลาย แต่จะพบแบคทีเรียที่ทนความร้อนได้ เช่น *Clostridium* spp. และสปอร์ของพวก *Bacilli* spp. ที่สามารถมีชีวิตรอดได้ และเข้าสู่ซากทางบาดแผลที่ถูกแทงคอ (Cross contamination) หรือทางบาดแผลที่ถูกทำลายเนื่องจากความร้อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของน้ำที่ลวกซาก น้ำลวกซากที่อุณหภูมิสูงจะทำลายผิวหนังชั้นนอก ดังนั้น ภายหลังขั้นตอนการลวกซากจะพบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์สูงกว่าเดิม

7) การปนเปื้อนในกระบวนการขูดขน (Dehairing) และขัดขน (Polishing) ในขั้นตอนนี้เชื้อที่อาจจะติดอยู่กับอุปกรณ์และเครื่องมือที่ไม่สะอาดจะสามารถเข้าสู่ผิวหนังหรือบริเวณบาดแผลที่แทงคอในขณะที่เครื่องขูดขนและปัดขนกำลังทำงานอยู่กับซาก

8) การปนเปื้อนในกระบวนการเปิดซาก (Evisceration) ในขั้นตอนของการผ่าท้องเพื่อล้วงเอาเครื่องในออก ถ้าไม่กระทำด้วยความระมัดระวังอาจจะทำให้เครื่องในแตกหรือฉีกขาด มีผลทำให้จุลินทรีย์ที่อยู่ภายในทางเดินอาหารและลำไส้ที่ปนเปื้อนบนเนื้อสัตว์ได้

9) การปนเปื้อนในขั้นตอนการตัดแต่งและเลาะกระดูก (Cutting and Deboning) ขั้นตอนนี้จะพบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้น เนื่องมาจากอุปกรณ์ไม่สะอาด ติดเชื้อโรคจากมือของผู้ปฏิบัติงาน หรืออุณหภูมิภายในห้องตัดแต่งสูง ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้

Kotula and Pandya (1995) รายงานว่าในโรงฆ่าสัตว์ที่มีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในปริมาณที่สูง เมื่อทำการวิเคราะห์หาเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดมากับขนและผิวหนังภายหลังการเชือดคอเพื่อเอาเลือดออก แต่ยังไม่ผ่านกระบวนการลวกซาก โดยการสุ่มตรวจหาเชื้อบริเวณหน้าอก (Breast) สะโพก (Thigh) น่อง (Drumstick) และเท้า (Foot) พบว่าค่าเฉลี่ยปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่พบบริเวณหน้าอกและขามีปริมาณสูงกว่าเชื้อที่พบบนขน ส่วนบริเวณที่พบปริมาณเชื้อปนเปื้อนต่ำที่สุด คือ ขา เนื่องจากผิวหนังบริเวณอกและขนมีโอกาสได้รับการปนเปื้อนจากอุจจาระที่ติดมากับกรงได้ง่าย

Sammacro *et al.* (1997) ได้ศึกษาการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp., *Listeria* spp. และ *Yersinia* spp. ในสภาพแวดล้อม บริเวณพื้นผิวในการปฏิบัติงาน เครื่องมือและอุปกรณ์ และผู้ปฏิบัติงานของโรงฆ่าสุกรจำนวน 11 โรง โดยการสุ่มตัวอย่างทั้งหมด 219 ตัวอย่าง (พื้นและผนังของโรงฆ่า ตะขอ โต๊ะปฏิบัติงาน เขียง มีด เครื่องผ่าซาก อุปกรณ์ถอนขน มือของผู้ปฏิบัติงาน เสื้อคลุม อ่างล้างมือรวมทั้งพื้น ผนัง และตะขอภายในห้องแช่เย็น) พบว่ามีโรงฆ่า 6 โรง (54.5%) ที่พบการปนเปื้อน 1 ถึง 4 ตัวอย่างโดยรายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 2.4

Pearson and Dutson (1986) รายงานว่าในขั้นตอนการลวกซากเป็นขั้นตอนที่สามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียลงได้ เนื่องจากจุลินทรีย์ส่วนใหญ่จะถูกทำลายในน้ำลวกซาก แต่เมื่อเวลาผ่านไป ภายในถังลวกซากจะมีการสะสมของดิน อุจจาระ และเลือดมากขึ้น อาจจะพบแบคทีเรียที่สามารถทนความร้อนได้ดีสามารถมีชีวิตรอดได้ จำนวนแบคทีเรียในถังลวกซากจะอยู่ในช่วงระหว่าง 10^2 ถึง 10^4 โคโลนีต่อมิลลิลิตร และจำนวนจุลินทรีย์จะลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยเมื่ออุณหภูมิเพิ่มจาก 54 องศาเซลเซียส เป็น 60 องศาเซลเซียส จำนวนเชื้อจุลินทรีย์พวกที่เติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 25 – 40 องศาเซลเซียส บริเวณผิวซากจะลดลงจาก 10^6 โคโลนีต่อตารางเซนติเมตร เหลือ $2x10^3$ โคโลนีต่อตารางเซนติเมตร และ Enterobacteriaceae ลดลงจาก $4x10^3$ โคโลนีต่อตรางเซนติเมตรเหลือน้อยกว่า 70 โคโลนีต่อตารางเซนติเมตร ซึ่ง Thomas and Mcmeekin (2001) ศึกษาพบว่าอุณหภูมิที่ใช้ลวกซากจะทำให้ผิวหนังของซากถูกทำลาย หรือหลุดออกไปทำให้เชื้อแบคทีเรียสามารถแทรกตัวเข้าไปเกาะกับซากได้ง่าย ในขณะที่ Kim *et al.* (1993) ได้ทำการศึกษาถึงอุณหภูมิต่างๆในการลวกซากโดยใช้อุณหภูมิ 52 56 และ 60 องศาเซลเซียส พบว่า ที่อุณหภูมิสูงสามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่า แต่เมื่อตรวจดูสภาพผิวหนังจะพบว่าน้ำที่อุณหภูมิสูงจะทำลายหนังกำพร้ามากกว่าอุณหภูมิต่ำ ทำให้ภายหลังจากขั้นตอนนี้จะพบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์สูงกว่าเดิม

ตารางที่ 2.1 แสดงจำนวนตัวอย่างที่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp., *Listeria* spp. และ *Yersinia* spp.

ตัวอย่าง	จำนวน (ตัวอย่าง)	พบการปนเปื้อนของเชื้อ		
		Salmonella spp.	*Yersinia* spp.	*Listeria* spp.
บริเวณสภาพแวดล้อม				
พื้นโรงฆ่า	18[a]	1[b]	4[c]	1[d]
ผนังโรงฆ่า	19	0	0	2[e]
อ่างล้างมือ	14	0	0	1[f]
รางภายในห้องเย็น	9	0	0	0
พื้นภายในห้องเย็น	15	0	0	2[f]
ผนังภายในห้องเย็น	14	0	0	0
อุปกรณ์				
ตะขอ	16	0	0	0
โต๊ะปฏิบัติงาน	16[a]	1[b]	2[g]	0
เขียง	8	0	0	1[d]
มีด	16	0	0	0
เครื่องผ่าซาก	9	1[b]	0	0
อุปกรณ์ขูดขน	7	0	0	0
ตะขอในห้องเย็น	14	0	0	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

ตัวอย่าง	จำนวน (ตัวอย่าง)	พบการปนเปื้อนของเชื้อ		
		Salmonella spp.	*Yersinia* spp.	*Listeria* spp.
ผู้ปฏิบัติงาน				
มือ	22	0	0	0
เสื้อคลุม	22	0	0	0
รวมทั้งหมด	219	3	6	7

[a] 1 ตัวอย่างพบการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. และ *Yersinia* spp.

[b] พบการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* Derby

[c] พบการปนเปื้อนของเชื้อ *Y. enterocolitica* และ *Y. kristensennii*

[d] พบการปนเปื้อนของเชื้อ *L. innocua*

[e] พบการปนเปื้อนของเชื้อ *L. welsnimeri* และ *L. innocua*

[f] พบการปนเปื้อนของเชื้อ *L. monocytogenes*

[g] พบการปนเปื้อนของเชื้อ *Y. enterocolitica*

ที่มา : Sammarco *et al.* (1997)

Thoeger (1993) รายงานว่า การใช้น้ำร้อนอุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียสฉีดพ่นลงบนซากสุกร นาน 10 นาที แทนการจุ่มซากลงในถังลวกซาก จะสามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ลงได้

Huis in't veld *et al.* (1994) กล่าวว่า มักพบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์อีกครั้งหนึ่งในขั้นตอนการถอนขน ขูดขน และขัดขน หากอุปกรณ์เหล่านั้นได้รับการทำความสะอาดอย่างไม่มีประสิทธิภาพ จะพบการสะสมของขนและสิ่งสกปรกต่างๆ ซึ่งเชื้อแบคทีเรียจะสามารถเจริญได้อย่างรวดเร็วในเวลาข้ามคืน เป็นสาเหตุอีกอันหนึ่งของการแพร่กระจายเชื้อไปยังส่วนต่างๆ ของโรงฆ่า

Sadide – Albornoz (1995) ได้ทำการตรวจหาเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogens*, *Yersinia enterocolitica* และ *Clostridium perfringens* บนเนื้อสุกรโดยสุ่มตัวอย่างจากบริเวณเนื้อสันนอก สะโพกที่ติดกับซากสุกร สันนอกที่ตัดแต่งเอากระดูกออก ทำการสุ่มตัวอย่างจากขั้นตอนต่างๆ คือ ภายหลังขั้นตอนการเผาขนและขัดขน ภายหลังเสร็จสิ้นกระบวนการ เก็บไว้ในห้องเย็น 24 ชั่วโมง ก่อนบรรจุ และทำการบรรจุด้วยระบบสุญญากาศ แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 36 วัน ผลการทดลองที่ได้จะแสดงไว้ในตารางที่ 2.2 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเชื้อที่พบมากที่สุดในการศึกษาครั้งนี้คือ *Staphylococcus aureus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สิ้นกระบวนการ เก็บไว้ในห้องเย็น 24 ชั่วโมง ก่อนบรรจุ และทำการบรรจุด้วยระบบสุญญากาศ แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 36 วัน ผลการทดลองที่ได้จะแสดงไว้ในตารางที่ 2.2 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเชื้อที่พบมากที่สุดในการศึกษาครั้งนี้คือ *Staphylococcus aureus* ซึ่งพบมากที่สุดบริเวณเนื้อสันนอกและสะโพก ภายหลังจากการเก็บในห้องเย็น 24 ชั่วโมง เชื้อ *Salmonella* spp. พบมากเป็นอันดับที่สอง โดยพบมากที่สุดบริเวณเนื้อสันนอกและสะโพก ภายหลังกระบวนการเผาขน แต่ไม่พบเชื้อ *Salmonella* spp. ในเนื้อสุกรที่บรรจุด้วยระบบสุญญากาศแล้วเก็บที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 36 วัน ส่วนเชื้อ *Listeria monocytogenes* นั้นตรวจไม่พบก่อนการบรรจุ แต่หลังจากผ่านกระบวนการบรรจุแล้ว เชื้อดังกล่าวกลับเพิ่มขึ้นถึง 4.4% และเชื้อ *Yersinia enterocolitica* จะพบภายหลังจากเสร็จสิ้นกระบวนการฆ่าทุกขั้นตอน และภายหลังจากการบรรจุ ในขณะที่เชื้อ *Clostridium perfringens* นั้นจะพบในช่วงก่อนบรรจุเท่านั้น

ในขั้นตอนการตัดแต่งก็เป็นอีกขั้นตอนหนึ่งที่มักพบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์จากอุปกรณ์ที่ใช้และจากผู้ปฏิบัติงาน Longdell (1994) ได้รายงานว่าการพัฒนาเครื่องมือที่ใช้ถอดกระดูกสันหลังออกจากกล้ามเนื้อสันนอก โดยที่ประสิทธิภาพของเครื่องสามารถถอดกระดูกได้ 9 ชิ้นต่อนาที อุปกรณ์ดังกล่าวนั้นมีข้อดีในด้านของการลดการปนเปื้อนจากมือและมีดที่ใช้ในการปฏิบัติงาน แต่ก็มีข้อเสียคือ เปอร์เซ็นต์สูญเสียจากการตัดแต่งจะเพิ่มมากขึ้นโดยจะเพิ่มขึ้นประมาณ 30 กรัมต่อเนื้อ 1 ชิ้น

ตารางที่ 2.2 แสดงค่าเปอร์เซ็นต์ที่พบเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคจากผิวซากสุกรในระหว่างกระบวนการฆ่า

ชนิดของเชื้อ	บริเวณที่สุ่มตัวอย่างเนื้อสุกรในโรงฆ่า				
	ส่วนผิวสะโพกและสันนอกที่ติดกับซาก			สันนอกที่ตัดแต่งเอากระดูกออก	
	A[a]	B[a]	C[a]	D[b]	E[c]
Staphylococcus aureus[d]	4.4%	7.4%	2.6%	2.6%	4.4%
Salmonella spp.	4.4%	1.1%	0.4%	0.7%	NF
Listeria monocytogenes	1.5%	1.9%	1.9%	NF	4.4%
Yersinia enterocolitica	NF	0.4%	NF	NF	4.4%
Clostridium perfringens	NF	NF	NF	0.7%	NF

A = ตัวอย่างซากสุกรภายหลังการเผาขนและขัดขน

B = ตัวอย่างซากสุกรภายหลังเสร็จสิ้นกระบวนการฆ่าทุกขั้นตอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

C = ตัวอย่างซากสุกรภายหลังเก็บที่ห้องเย็น 24 ชั่วโมง

D = สันนอกที่ผ่านการตัดแต่งเอากระดูกออก

E = สันนอกที่ผ่านการตัดแต่งเอากระดูกออก บรรจุโดยระบบสุญญากาศเก็บไว้ 36 วันที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส

[a] = ค่าเปอร์เซ็นต์ที่สามารถแยกเชื้อได้จากสันนอกและสะโพก 270 ตัวอย่าง

[b] = ค่าเปอร์เซ็นต์ที่สามารถแยกเชื้อได้จากสันนอก 135 ตัวอย่าง

[c] = ค่าเปอร์เซ็นต์ที่สามารถแยกเชื้อได้จากสันนอก 45 ตัวอย่าง

[d] = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P = 0.0399) จากตัวอย่างตำแหน่ง A และ C

NF = ตรวจไม่พบ

ที่มา : Saide – Albornóz (1995)

Buchanan *et al.* (1992) ได้ทำการศึกษาปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์รวม และเชื้อ *Staphylococcus aureus* บนเนื้อสะโพกโค เนื้อสะโพกสุกร และเนื้อสะโพกไก่ โดยทำการเก็บรักษาในตู้เย็นที่มีอุณหภูมิต่างกันคือ 5 12 และ 19°ซ แล้วทำการสุ่มวิเคราะห์ตัวอย่างในวันที่ 0 2 4 7 และ 10 พบว่าที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส สามารถชะลอการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์รวม และเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้

Mathieu (1992) ได้กล่าวถึงในกรณีที่โรงฆ่ามีห้องเย็นไม่เพียงพอ การฉีดพ่นสารละลายกรดอินทรีย์ เช่น กรดแลคติค กรดอะซิติค กรดโพรพิโอนิค กรดบิวทาริค กรดซอร์บิคและสารละลายโซเดียมคลอไรด์ลงบนซากอุ่นจะช่วยยับยั้งและทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่บนผิวซากลงได้ โดยเฉพาะเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella* spp. ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของโรคอาหารเป็นพิษ

Ellerbrock (1997) รายงานว่าในอากาศในขั้นตอนการปฏิบัติงานของโรงฆ่าสัตว์ปีกที่ตำแหน่งต่างๆ พบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์รวม และเชื้อแบคทีเรียในลำไส้ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2.6 โดยพบว่าอากาศในบริเวณรับสัตว์ การเอาเครื่องในออก และห้องแช่เย็นมีปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกมากที่สุด เช่น เชื้อ *Micrococcus* spp., *Staphylococcus* spp. และ Yeast และมักพบเชื้อแบคทีเรียแกรมลบในบริเวณที่เอาเครื่องในออก เช่น *Acinetobacter* spp.

Larkin *et al.* (2003) ได้ทำการทดสอบความทนทานต่อสารต้านจุลชีพของเชื้อ Salmonella ที่แยกได้จากซากสุกร ซากไก่ และซากโค จากโรฆ่าสัตว์เทศบาลในเมืองออนตาริโอ โดยทำการทดสอบกับสารต้านจุลชีพ 9 ชนิด คือ amikacin, ampicillin, cephalothin, chloramphenicol, ciprofloxacin, gentamicin, streptomycin, sulfamethoxazole และ tetracycline พบว่าเชื้อที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พบจากทุกตัวอย่างนั้นมีความทนทานต่อ ciprofloxacin ที่ระดับ 0.125 μg / ml เชื้อที่แยกได้จากซากไก่และซากสุกรนั้นตอบสนอง (sensitive) ต่อ amikacin ในขณะที่เชื้อที่แยกได้จากซากโคนั้นพบว่าตอบสนองต่อทั้ง amikacin และ gentamicin

ตารางที่ 2.3 แสดงปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์รวมในบรรยากาศ และเชื้อแบคทีเรียในลำไส้ระหว่างขั้นตอนการรับสัตว์ การเอาเครื่องในออก การตัดแต่งและการถอดกระดูกออก การลดอุณหภูมิแบบใช้ลมเย็น และแบบใช้น้ำเย็นของโรงฆ่าสัตว์ปีก

ตำแหน่ง	เชื้อจุลินทรีย์รวม	เชื้อแบคทีเรียในลำไส้
	(log cfu/m^3)	(log cfu/m^3)
การรับสัตว์	4.06	3.24
การเอาเครื่องในออก	3.99	2.63
การตัดแต่งและถอดกระดูกออก	3.40	1.04
การลดอุณหภูมิแบบใช้ลมเย็น	3.28	2.02
การลดอุณหภูมิแบบใช้น้ำเย็น	4.16	2.06

ที่มา : Ellerbroek (1997)

2.2 จุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์

กล้ามเนื้อของสัตว์โดยทั่วไปแล้วจะปราศจากจุลินทรีย์ แต่เมื่อสัตว์ถูกฆ่าเพื่อนำเนื้อมาใช้เป็นอาหารโดยผ่านขั้นตอนการฆ่าและชำแหละ เช่น การใช้มีดเชือดคอ การถลกหนัง การใช้ใบเลื่อยแบ่งครึ่งซาก การใช้น้ำล้างเลือด การเคลื่อนย้ายซาก และการตัดแต่งชิ้นเนื้อ ทำให้เนื้อมีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์เกิดขึ้น ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย (เยาวลักษณ์ สุรพันธ์พิศิษฐ์. 2536)

2.2.1 ปัจจัยที่เป็นผลให้จุลินทรีย์เจริญได้ดีในเนื้อสัตว์

เนื้อสัตว์จัดได้ว่าเป็นอาหารที่ดีที่สุดต่อการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งนี้เนื่องมาจากสาเหตุดังต่อไปนี้

1) เนื้อสัตว์มีความชื้นสูง

ความชื้น (Moisture) ของเนื้อโดยทั่วไปมีประมาณร้อยละ 50 – 57 หรือ Aw ประมาณ 0.99 ขึ้นไป ซึ่งเป็นความชื้นที่จุลินทรีย์ทุกชนิดสามารถเจริญเติบโตได้เป็นอย่างดี ทั้งนี้เพราะแบคทีเรียสามารถเจริญได้ดีในที่ที่มีความชื้นประมาณร้อยละ 18 หรือมากกว่า หรือที่ Aw ประมาณ 0.75 ขึ้นไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2) เนื้อสัตว์เป็นแหล่งอาหารที่ให้ธาตุอาหารพวกไนโตรเจน แร่ธาตุ และวิตามินที่อุดมสมบูรณ์ จึงเหมาะแก่การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

3) เนื้อสัตว์มีสารอาหารพวกคาร์โบไฮเดรตที่จุลินทรีย์สามารถใช้ได้ (Fermentable carbohydrate) เช่น กลูโคสในน้ำเลือดที่เหลือค้างอยู่ตามเซลล์ต่างๆ ทำให้จุลินทรีย์ที่มีอยู่สามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว และเกิดการหมักได้ง่ายถ้าสภาพแวดล้อมเหมาะสม

4) เนื้อสัตว์มีค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH) ที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (pH = 5.6)

5) คุณสมบัติทางฟิสิกส์ (Physical properties) ของเนื้อสัตว์

ลักษณะโดยทั่วไปของเนื้อมีช่องว่าง หรือโพรงอากาศมากมายที่ทำให้จุลินทรีย์สามารถอาศัยอยู่ได้ และการแปรสภาพต่างๆ ขณะนำไปแปรรูปหรือประกอบอาหาร ทำให้เป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวของเนื้อที่จุลินทรีย์จะปนเปื้อนได้มากขึ้น เช่น การตัดเนื้อให้มีขนาดเล็กลง หรือการบดสับให้ละเอียด สิ่งเหล่านี้เป็นสาเหตุให้จุลินทรีย์สามารถปนเปื้อนในเนื้อได้มากขึ้น ประกอบกับการมีอาหารและปัจจัยในการเจริญเติบโตอย่างครบถ้วน เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสม จุลินทรีย์จะเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนมากขึ้นและเป็นสาเหตุให้เนื้อเน่าเสียภายในเวลาอันรวดเร็ว

2.2.2 จุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์

เยาวลักษณ์ สุรพันธ์พิศิษฐ์. (2536) รายงานว่าในเนื้อสัตว์มีจุลินทรีย์ปนเปื้อนอยู่หลายชนิด ส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรีย ซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ประเภท คือ

2.2.2.1 แบคทีเรียที่สามารถผลิตกรดแลคติคได้ (Lactic acid bacteria)

แบคทีเรียพวกนี้อยู่ตามผิวหน้าของเนื้อต้องการอากาศในการเจริญเติบโต (Facultative anaerobic bacteria) สามารถใช้น้ำตาลได้โดยการออกซิไดซ์ ทำให้ได้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และน้ำ แต่ถ้ามีปริมาณออกซิเจนจำกัด หรือถ้าการออกซิไดซ์ของน้ำตาลไม่สมบูรณ์ จะทำให้เกิดกรดอินทรีย์ขึ้น แบคทีเรียเหล่านี้มีบทบาทสำคัญต่อผลิตภัณฑ์เนื้อจำพวกที่ผ่านการหมัก (Fermentation products) ซึ่งแบ่งออกได้เป็น 4 ชนิด คือ

1) Homofermentative lactic acid bacteria ได้แก่ แบคทีเรียพวก Streptococci และ Lactobacilli บางชนิด แบคทีเรียพวกนี้ในการหมักจะให้กรดแลคติคเพียงอย่างเดียว

2) Heterofermentative lactic acid bacteria ได้แก่ แบคทีเรียพวก Leuconostoc และ Lactobacilli บางชนิด แบคทีเรียพวกนี้ในการหมักจะให้กรดแลคติค เอททิลแอลกอฮอลล์ และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3) Bacillus species แบคทีเรียพวกนี้จะพบเฉพาะในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่เติมสารไนเตรท (Nitrate) เท่านั้น ซึ่งแบคทีเรียพวกนี้จะทำให้เกิดกรดแลคติค กรดอะซิติค และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

4) Clostridium species แบคทีเรียพวกนี้ในการหมักจะทำให้เกิดกรดแลคติค กรดบิวทีริค อะซิโตน บิวทิวแอลกอฮอลล์ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และก๊าซไฮโดรเจน

2.2.2.2 **แบคทีเรียที่สร้างสารพิษขึ้นในอาหารพวกเนื้อสัตว์** (Food borne intoxication)

แบคทีเรียพวกนี้จะปนเปื้อนอยู่ในเนื้อ หรืออาจปะปนอยู่ในฝุ่นดิน หรือมาจากผู้ประกอบการผลิตอาหาร สามารถทนความร้อนได้สูง และจะเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนเซลล์มากขึ้นพร้อมกับผลิตสารพิษ แบคทีเรียประเภทนี้มีอยู่ 3 ชนิด

1) *Clostridium botulinum* เป็นแบคทีเรียที่ผลิตสารพิษที่มีชื่อว่า Botulism สารพิษนี้จะถูกสร้างขึ้นและขับออกจากภายในเซลล์มาสู่อาหาร เป็นพวก exotoxin ที่จะถูกทำลายได้เมื่อนำไปต้มในน้ำเดือด (อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส) นาน 15 – 20 นาที ความเป็นพิษของ botulism นั้นจะพบว่าภายหลังจากการบริโภคอาหารที่มีสารพิษนี้อยู่ประมาณ 24 – 48 ชั่วโมง ผู้ป่วยจะมีอาการกล้ามเนื้ออ่อนเพลีย ไม่มีแรง สูญเสียความสามารถในการสั่งการของสมองส่วนกลาง และถ้าได้รับสารพิษมากเกินขนาดอาจถึงแก่ชีวิตได้

Clostridium botulinum มี 3 ชนิด คือ A B และ E เซลล์มีลักษณะเป็นแท่ง (Rod) เจริญเติบโตได้ดีในที่มีอากาศ ทนความร้อนสูง พบอยู่ทั่วไปในดิน มักพบในอาหารประเภทโปรตีน อาหารกระป๋องที่มีความเป็นกรดต่ำ (Low acid canned food) เช่น ผลิตภัณฑ์เนื้อและผักบรรจุกระป๋อง แต่ไม่พบบ่อยนักในผลิตภัณฑ์เนื้อที่มีการเติมสารไนเตรท เนื่องจากสารนี้มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *C. botulinum* ได้

2) *Staphylococcus aureus* แบคทีเรียชนิดนี้สามารถผลิตสารพิษพวก enterotoxin ซึ่งสร้างขึ้นภายในเซลล์ และเมื่อผู้บริโภครับประทานอาหารที่มีเซลล์ของแบคทีเรียเป็นจำนวนมากพอ จะพบว่าภายใน 2 – 6 ชั่วโมงภายหลังจากได้รับสารพิษ ผู้ป่วยจะเกิดอาการบวมพองของผนังลำไส้และกระเพาะ (Gastrointestinal upset) สารพิษชนิดนี้สามารถทนความร้อนที่อุณหภูมิน้ำเดือด (100 องศาเซลเซียส) ได้นานถึง 60 นาที แต่ถ้าใช้อุณหภูมิสูงถึง 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที จะสามารถทำลายเชื้อนี้ลงได้

Staphylococcus aureus มักพบในอาหารประเภทเนื้อสัตว์ที่ปิ้ง ย่าง รมควัน และเนื้อสดที่ผ่านการให้ความร้อนในช่วงแรกไม่เพียงพอที่จะทำลายเซลล์ของแบคทีเรียลงได้ แต่ความร้อนที่ใช้ จะเป็นตัวกระตุ้นให้แบคทีเรียที่เหลือรอดอยู่เจริญเติบโต และแบ่งจำนวนเซลล์อย่างรวดเร็วในช่วงที่ทำให้เย็นลงอย่างช้าๆ และตั้งทิ้งไว้นานถึง 8 – 12 ชั่วโมงก่อนนำมารับประทาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3) *Clostridium perfringens* พบในเนื้อสัตว์หลายชนิด ได้แก่ เนื้อโค สุกร แกะ และไก่ ทั้งในเนื้อสดและผลิตภัณฑ์ แต่ส่วนใหญ่จะพบในเนื้อที่ผ่านการทำให้สุก และทิ้งไว้ให้เย็นลงอย่างช้า ๆ ผู้ที่บริโภคเชื้อนี้เข้าไปจะมีอาการปวดท้อง และท้องเสียภายหลังจากรับประทานอาหารที่มีเชื้อ *C. perfringens* ปนเปื้อนอยู่ในปริมาณมากเป็นเวลา 18 – 22 ชั่วโมง การหุงต้มโดยปกติจะสามารถทำลายเซลล์ของแบคทีเรียพวกนี้ได้ แต่หากต้องการทำลายสปอร์ของเชื้อนี้แล้วจะต้องใช้อุณหภูมิที่สูงขึ้นอีก

2.2.3 จุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุให้เกิดการเน่าเสียในเนื้อสดและการควบคุม

ในเนื้อสดนั้นโดยปกติแล้วจะมีแบคทีเรียพวก Pseudomonas เป็นสาเหตุให้เกิดการเน่าเสียขึ้นในรูปของกลิ่นผิดปกติ (Off – odor) และรสชาติผิดปกติ (Off – flavor) ส่วนในช่วงการขนส่งการตัดแต่งและการบรรจุผลิตภัณฑ์เนื้อสดจะมีการปนเปื้อนของแบคทีเรียพวก *Lactobacillus* spp. ที่ปนเปื้อนอยู่บนวัสดุ อุปกรณ์ที่ใช้ในการตัดแต่งและบรรจุและจากมือที่สัมผัสชิ้นเนื้อของผู้ประกอบการ

ในสภาพของเนื้อที่ตัดแบ่งครึ่ง หรือแบ่งสี่ที่เก็บรักษาไว้ในห้องเย็นที่อุณหภูมิประมาณ 32 องศาฟาเรนไฮต์ เพื่อทำการบ่มเนื้อให้นุ่ม (Aging) ที่บริเวณผิวหน้าของเนื้ออาจจะมีเชื้อราขึ้นอยู่โดยรอบ โดยทั่วไปแล้วจะเป็นเชื้อราพวก Cladosporium, Thamnidium หรือ Mucor ซึ่งวัตถุประสงค์ของการบ่มเนื้อก็เพื่อให้เนื้อมีความนุ่มตามที่ต้องการ และมีกลิ่นรสที่เฉพาะที่เรียกว่า aged flavor ขึ้นซึ่งจนถึงปัจจุบันนี้ยังไม่ได้มีข้อพิสูจน์ที่สามารถยืนยันได้ว่าจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในเนื้อนั้นมีความสัมพันธ์กับความนุ่มและกลิ่นรสของเนื้อหรือไม่

การควบคุมการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อสดทำได้โดยการทำความสะอาดวัสดุ อุปกรณ์ที่ใช้ในกระบวนการฆ่า การชำแหละและการตัดแต่งซากทุกครั้งที่ปฏิบัติการเสร็จด้วยน้ำผสมคลอรีนหรือกรดแลคติค ล้างมือทุกครั้งหลังจากปฏิบัติงาน เสื้อผ้า ที่คลุมผม รองเท้าต้องทำความสะอาดทุกครั้ง ในห้องที่เก็บเนื้อสดควรจะมีการควบคุมให้มีความชื้นสัมพัทธ์อยู่ระหว่าง 90 – 95 เปอร์เซ็นต์ โดยจะต้องพยายามควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ในห้องเก็บเนื้อสดไว้ให้มีค่าสูงที่สุด เพื่อป้องกันการสูญเสียน้ำในระหว่างการเก็บรักษา จึงต้องมีการควบคุมความเร็วของลมหมุนเวียนในห้องเก็บเนื้อให้เหมาะสมด้วย

2.2.4 เชื้อจุลินทรีย์สำคัญที่พบปนเปื้อนในเนื้อสัตว์

1) *Salmonella* spp.

โดยทั่วไปมักจะพบการปนปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. ในเนื้อสัตว์ ซึ่งปริมาณที่พบจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับการดูแลจัดการสัตว์ตั้งแต่อยู่ในฟาร์ม เชื้อนี้อาจปนเปื้อนมาในอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สัตว์ นอกจากนี้ การจัดการในขบวนการผลิตในโรงงานฆ่าสัตว์ที่สะอาดถูกสุขลักษณะ จะป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดนี้ที่มีอยู่ในส่วนของทางเดินอาหาร ลำไส้และผิวหนังของสัตว์

สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อชนิดนี้

- อุณหภูมิอยู่ในช่วง 5 – 47 องศาเซลเซียส
- ค่า pH ในเนื้อประมาณ 6.5 – 7.5 แต่ที่ pH ระหว่าง 4 -5 ก็ยังพบการเจริญของเชื้อชนิดนี้ได้
- ค่า water activity (Aw) ประมาณ 0.995
- สามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

Salmonella Typhimurium เป็นเชื้อจุลินทรีย์ชนิดที่มีความสำคัญมากที่สุด เพราะพบว่าเป็นสาเหตุสำคัญของโรคอาหารเป็นพิษ ซึ่งพบการปนปื้อนของเชื้อนี้ในเนื้อไก่มากที่สุด

2) *Staphylococcus* spp.

เชื้อนี้พบอยู่ทั่วไปในสภาพแวดล้อม เช่น อากาศ ฝุ่น น้ำ อาหารและอุจจาระ มนุษย์นั้นเป็นแหล่งสำคัญที่ทำให้เชื้อโรคแพร่กระจายตัวไป โดยเฉพาะในขั้นตอนที่คนเข้าไปปฏิบัติงาน เช่น การชำแหละตัดแต่งซาก สามารถเจริญได้ดีในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน แต่จะเจริญได้ดีในสภาพที่ไม่มีอากาศ

สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ

- อุณหภูมิต่ำสุด 10 องศาเซลเซียส และสูงสุดที่ 45 องศาเซลเซียส ส่วนอุณหภูมิช่วงที่เหมาะสมคือ 35 – 37 องศาเซลเซียส
- ค่า pH ที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 5 – 9
- ค่า Aw อยู่ระหว่าง 0.86 – 0.99

เชื้อจุลินทรีย์ชนิดนี้สามารถสร้างสารพิษ enterotoxin ที่เมื่อคนบริโภคเข้าไปจะทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ เป็นเชื้อที่มีความสำคัญรองลงมาจาก *Salmonella* spp. และพบว่าเป็นเชื้อที่เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในเนื้อ

3) *Campylobactor jejuni / coli*

เชื้อนี้จะพบในระบบสืบพันธุ์ ระบบทางเดินอาหาร และช่องปากของคน มีรายงานว่าพบการปนเปื้อนของเชื้อนี้บนซากไก่สดในระหว่างกระบวนการผลิต และยังพบในไก่แช่แข็ง ปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อที่ติดมากับอาหารเพียง 500 เซลล์ สามารถทำให้เกิดการเจ็บป่วยจากอาหารเป็นพิษได้

สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
58916

- อุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดคือ 32 – 45 องศาเซลเซียส มีรายงานว่าเชื้อนี้สามารถมีชีวิตอยู่ในเนื้อบดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 1 สัปดาห์ แต่พบว่าเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส นาน 10 สัปดาห์ ปริมาณเชื้อจะลดลงเป็นอย่างมาก
- ค่า pH ที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 6 – 8 โดยเฉพาะในเนื้อที่เป็น DFD แต่พบว่าที่ pH ระหว่าง 5.0 – 5.5 เชื้อจะไม่สามารถเจริญได้

4) *Listeria monocytogenes*

มักพบเชื้อนี้ทั่วไปในสภาพแวดล้อม และมูลสัตว์ เชื้อนี้สามารถติดมากับคนที่ทำงานได้ สามารถเจริญได้ในที่ที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ

- อุณหภูมิต่ำสุด 4 องศาเซลเซียส และสูงสุดที่ 45องศาเซลเซียส แต่ช่วงที่เหมาะสมคือ 37 องศาเซลเซียส
- ค่า pH ต่ำสุด 4.7 สูงที่สุด 9.2 แต่ช่วงที่เหมาะสมคือ 7
- ค่า Aw ต่ำสุดที่เชื้อสามารถเจริญได้คือ 0.92

5) *Escherichia coli* O157:H7

เป็นเชื้อที่พบได้ในทางเดินอาหารของคนและสัตว์ เชื้อ *E. coli* จำนวนมากไม่มีอันตรายต่อคนและสัตว์ แต่กลุ่ม *E. coli* O157:H7 นั้นเป็นพวก enteropathogenic ซึ่งทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ เนื่องจากสารพิษที่สร้างขึ้น (Verotoxin) เป็นจุลินทรีย์ที่เจริญได้ในที่ที่มีและไม่มีออกซิเจน เป็นเชื้อที่มีความทนต่อการเก็บรักษาในอุณหภูมิต่ำ

สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ

- อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 30 – 42 องศาเซลเซียสมีรายงานพบว่าในเนื้อบดที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เชื้อยังสามารถมีชีวิตรอดได้แต่จะไม่มีการเพิ่มจำนวน
- ค่า pH ต่ำสุด 4.3 สูงสุด 9.5 แต่ที่เหมาะสมคือ 6 – 7
- ค่า Aw ประมาณ 0.96

เชื้อแบคทีเรียที่นับว่ามีความสำคัญในระยะหลังนี้ และในบางประเทศได้กำหนดให้มีการตรวจในเนื้อสัตว์ โดยเฉพาะในเนื้อสุกรและเนื้อไก่ คือ *Yersinia* spp. ซึ่งเป็นแบคทีเรียชนิดแกรมลบ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโต คือ 33 องศาเซลเซียสแต่ก็สามารถเจริญได้ในที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า 4 องศาเซลเซียส

2.3 การใช้สารละลายกรดแลคติคในการลดปริมาณการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์

กรดแลคติคเป็นกรดอินทรีย์ที่ได้จากธรรมชาติจากกระบวนการหมักน้ำตาล โดยเชื้อในตระกูล Streotococcaeceae และตระกูล Lactobacilliaceae กรดแลคติคสามารถเตรียมได้จาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหมักน้ำตาทรายขาวบริสุทธิ์ (Highly refined sucrose) แล้วนำมาทำให้บริสุทธิ์โดยการเปลี่ยนให้เป็นผลึกของ calcium lactate จากนั้นนำมาทำปฏิกิริยากับกรดกำมะถัน (Sulfuric acid) เพื่อให้ได้สารละลายกรดแลคติคบริสุทธิ์ สำหรับวิธีอื่นๆ นั้น อาจทำได้โดยการหมักแป้งมันฝรั่งหรือกากน้ำตาลโดยใช้เชื้อ *Lactobacillus delbruckii* หรือ *Lactobacillus bulgaricus* จากนั้นใช้วิธีการทำให้บริสุทธิ์แบบเดียวกับที่กล่าวมา กรดแลคติคเป็นส่วนประกอบของอาหารบางชนิดซึ่งเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ และมีปริมาณมากน้อยแตกต่างกันออกไป

2.3.1 คุณสมบัติของกรดแลคติค

โครงสร้างของกรดแลคติค แบ่งตามคุณสมบัติการบิดระนาบแสงโพลาร์ไรซ์ได้ 2 แบบ คือ D (-) และ L (+) กรดแลคติคในรูป L (+) จะพบได้ในสัตว์และมนุษย์ ในมนุษย์เกิดจากเมตาบอลิซึ่มของกลูโคสหรือไกลโคเจน รวมทั้งยังพบในจุลินทรีย์พวกที่สร้างกรดแลคติค ดังนั้น L (+) จึงเรียกได้ว่าเป็น natural หรือ physiological lactic ซึ่งร่างกายมนุษย์สามารถสังเคราะห์ได้ ส่วนกรดแลคติคในรูป D (-) จะได้มาจากการสังเคราะห์

จากทฤษฎีที่กล่าวไว้ว่า เมื่อค่า pH ของกรดลดลง 1.0 จะมีผลทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียเพิ่มขึ้น 10 เท่าตัว (ชัยณรงค์ คันธพนิต. 2529) มีผลในการยืดเวลาการเน่าเสียของเนื้อออกไป การใช้กรดแลคติคในอุตสาหกรรมอาหารนั้นเป็นที่ยอมรับกันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากเป็นสารที่ได้จากธรรมชาติ ได้รับการรับรองความปลอดภัยในการใช้เป็นสารปรุงแต่งรสอาหารในประเทศสหรัฐอเมริกา (FAO / WHO. 1974) อีกทั้งยังมีคุณสมบัติที่สามารถละลายน้ำได้ มีรสชาติแต่จะไม่กลบหรือลบกลิ่นรสอื่นๆ เมื่อใส่ลงในผลิตภัณฑ์อาหารจะมีความเป็นพิษต่ำ ไม่เกิดสารตกค้าง (Snijders *et al.* 1985)

2.3.2 กลไกในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียโดยใช้กรดอินทรีย์

ผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ด้วยกรดนั้น เกิดจากส่วนที่ชอบไขมัน (Lopophilic) ของกรดที่ใช้ ซึ่งจะอยู่ในโมเลกุลที่ไม่แตกตัวและซึมผ่านเข้าไปในพลาสมาเมมเบรน (Plasma membrane) ของแบคทีเรียที่มี pH ค่อนข้างเป็นกลาง ซึ่งสูงกว่าค่า pH ของไซโตพลาสซึม (Cytoplasm) ดังนั้นเมื่อกรดอยู่ในรูปที่ไม่แตกตัวเข้าไปก็จะเกิดภาวะแตกตัวออกในรูปของโปรตอน (Protons) และคอนจูเกตเบส (Conjugated base) และจะมีผลในการทำลายออกซิเดทีฟ ฟอสฟอริเรชัน ฟอร์ม (Oxidative phosphorylation form) ของระบบการขนส่งอิเล็กตรอน (Electron transport system) รวมไปถึงการยับยั้งระบบการขนส่งสารโมเลกุล (Substrate molecule) เข้าสู่เซลล์ และผลในการทำลายหรือยับยั้งการเจริญเติบโตโดยกรดอินทรีย์นี้จะขึ้นอยู่กับค่าคงที่การแตกตัวของกรด นอกจากนี้ การที่ค่า pH ลดต่ำลงนั้นเป็นผลทำให้สภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (ชลัท ศานติวรางคณา. 2542)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.3 การใช้สารละลายกรดแลคติคในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

การใช้กรดแลคติคมีผลในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ทันทีและจะชะลอการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทนกรด การทำงานของกรดแลคติคเริ่มจาก กรดแลคติคที่พ่นหรือจุ่มลงในเนื้อจะรวมตัวกับน้ำบริเวณผิวเนื้อสัตว์ และซึมเข้าไปในเซลล์ จากนั้นจะรวมตัวกับเซลล์เป็นเวลา 10 – 60 วินาทีแล้วแยกตัวออกมา การเข้าไปรวมตัวกับเซลล์จะทำให้เซลล์มีความเป็นกรดเพิ่มขึ้นเกิดกระบวนการทางเคมียับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยที่การใช้กรดแลคติคจะมีผลในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ จากการทดลองของ Oliveria and Brito (1996) ที่ได้ทำการฉีดพ่นสารละลายกรดแลคติคที่ความเข้มข้น 2 ระดับ คือ 2% (v/v) และ 4% (v/v) พบว่าสารละลายกรดแลคติคสามารถลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์รวมได้ทั้ง 2 ระดับ แต่จะพบว่า เมื่อทำการฉีดพ่นสารละลายกรดแลคติคที่ระดับ 4% (v/v) จะมีน้ำซึมเยิ้มออกมาที่ผิวหน้าของเนื้อ

Alves *et al.* (1995) ทำการศึกษาการใช้สารละลายกรดแลคติคที่ความเข้มข้น 2 ระดับ คือ 2% (v/v) และ 5% (v/v) ลงบนเนื้อส้นนอกของสุกร พบว่าปริมาณเชื้อจุลินทรีย์รวมนั้นลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ทั้ง 2 ระดับ แต่ที่ระดับความเข้มข้น 5% (v/v) นั้น พบว่าเนื้อมีสีซีดลงและมีน้ำเยิ้มซึมออกมาอย่างเห็นได้ชัด

Woolthuis and Smulders (1985) ได้ทำการทดลองใช้สารละลายกรดแลคติคความเข้มข้น 1 2 3 และ 5% (v/v) ฉีดพ่นลงบนซากสุกร พบว่าปริมาณเชื้อจุลินทรีย์รวมนั้นจะลดลงไปตามระดับความเข้มข้นของสารละลายกรดแลคติคที่เพิ่มขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ระดับความเข้มข้น 5% (v/v) นั้นมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์รวมลดลงมากที่สุด แต่ก็จะทำให้เนื้อมีสีซีดมากและมีน้ำซึมเยิ้มออกมามากที่สุด

คมแข พิลาสมบัติ (2540) ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารละลายกรดแลคติคในการลดจำนวนเชื้อ *Salmonella* Derby และ *Staphylococcus aureus* ในหลอดทดลอง (*in vitro* test) พบว่า การลดลงของเชื้อ *Salmonella* Derby จะลดลงอย่างสมบูรณ์เมื่อระยะเวลาที่สารละลายกรดแลคติคสัมผัสกับเชื้อนาน 48 24 และภายในชั่วโมงแรกที่ระดับความเข้มข้นของกรดแลคติคเท่ากับ 1 2 และ 3% (v/v) ตามลำดับ ส่วนการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* โดยการใช้สารละลายกรดแลคติคทั้ง 3 ระดับดังกล่าว ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่พบว่าเมื่อระยะเวลาที่สารละลายกรดแลคติคสัมผัสกับเชื้อนานขึ้น จะพบแนวโน้มการลดลงมากที่สุดเมื่อกรดแลคติคสัมผัสกับเชื้อนาน 48 ชั่วโมง

ผุสดี ดังวัชรินทร์ (2543ก) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของสารละลายกรดแลคติคในการลดจำนวนเชื้อ *Salmonella* Derby และ *Staphylococcus aureus* ในหลอดทดลอง (*in vitro* test) พบว่า สารละลายกรดแลคติคความเข้มข้น 2% (v/v) ระยะเวลาสัมผัสกับเชื้อนาน 1 นาที สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella* Derby ที่ระดับเชื้อเริ่มต้น 4 5 และ 6 log CFU / ml ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อย่างสมบูรณ์ ในขณะที่เชื้อ *Staphylococcus aureus* จะลดลงที่ระยะเวลาสัมผัสกับเชื้อนาน 1 นาที ที่ระดับเชื้อเริ่มต้น 4 และ 5 log CFU /ml และ 2 นาที ที่ระดับเชื้อเริ่มต้น 6 log CFU / ml

ผุสดี ตังวัชรินทร์ (2543ข) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของสารละลายกรดแลคติคในการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* Derby และ *Staphylococcus aureus* บนเนื้อสันนอกสุกร โดยทำการเก็บรักษาเนื้อที่อุณหภูมิ 4 และ 15°ซ เป็นเวลา 0 1 3 5 และ 7 วัน พบว่า เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°ซ สารละลายกรดแลคติคความเข้มข้น 2% (v/v) สามารถลดจำนวนเชื้อ *Salmonella* Derby และจะควบคุมจำนวนเชื้อดังกล่าวได้นานถึง 7 วัน ส่วนเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15°ซ ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อนี้ได้ ในขณะที่เมื่อทำการทดสอบกับเชื้อ *Staphylococcus aureus* ก็พบว่าให้ผลเช่นเดียวกัน

2.4 การใช้แบคเทอริโอซินในการลดปริมาณการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์

แบคเทอริโอซินเป็นโปรตีนที่สร้างจากแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติค (Lactic acid bacteria) ซึ่งแบคเทอริโอซินถูกจัดให้เป็น extracellularly ที่จะปลดปล่อยผลผลิตที่สังเคราะห์ได้จากไรโบโซม (Ribosome) ของแบคทีเรีย มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลชีพชนิดอื่น

2.4.1 การจัดแบ่งประเภทของแบคเทอริโอซิน

ชลัท ศานติวรางคณา. (2542) รายงานว่าแบคเทอริโอซินสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่ม (Class) โดยการที่จะจัดแบคเทอริโอซินว่าเป็นกลุ่มใดนั้น จะขึ้นอยู่กับขนาด ความคงตัว ตำแหน่งทางพันธุกรรม การดัดแปลงหลังผ่านกระบวนการแปรรหัสทางพันธุกรรม (Post – translational modification) และกลไกการทำงาน (Hill, 1995 ; Nes *et al.*, 1996)

Class I : Lantibiotics

เป็นแบคเทอริโอซินที่มีกรดอะมิโน lantionine เป็นส่วนประกอบ แบคเทอริโอซินในกลุ่มนี้ได้แก่

1) Nisin

Nisin A ถูกควบคุมการสร้างโดยยีน nis A ขนาด 174 base pair โมเลกุลของ pre – nisin เป็นเปปไทด์ที่มีกรดอะมิโน 57 ตัว เกิดขึ้นมาหลังกระบวนการแปรรหัสพันธุกรรม และเปลี่ยนมาอยู่ในรูป pro – nisin เมื่อตัดกรดอะมิโนตรงตำแหน่ง leader peptide ของ pre – nisin ออกไป 3 ตัว โมเลกุลจะสมบูรณ์พร้อมและสามารถทำงานได้นั้นต้องผ่านกระบวนการ dehydration ก่อน จะได้ลักษณะโมเลกุลที่มีประจุบวกและไม่ชอบน้ำ โมเลกุลที่ได้มีขนาดเล็ก และมักจะพบอยู่เป็น 2 ไดเมอร์ (Dimer) ที่มีความเสถียร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Nisin A มีฤทธิ์ในการทำลายเซลล์ที่ไวต่อสารชนิดนี้ได้ภายใน 1 นาที โดย nisin จะมีผลต่อเยื่อหุ้มไซโตพลาสซึม ซึ่งมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการขนส่งพลังงานของเซลล์ การดูดซึม nisin จะเป็นปฏิกิริยาโดยตรงระหว่างโมเลกุลของ nisin และเยื่อหุ้มเซลล์ บางครั้งเกิดจากประจุบวกของ nisin ทำปฏิกิริยากับประจุลบที่ผนังเซลล์ เมื่อ nisin จะแทรกเข้าไปในเซลล์ จะทำให้เกิดรูขึ้นที่ผนังเซลล์ เป็นผลให้สารประกอบน้ำหนักโมเลกุลต่ำภายในเซลล์ไหลออกมาอย่างรวดเร็ว นอกจากนี้ nisin ยังไปลดประจุที่เยื่อหุ้มเซลล์ด้วย nisin สามารถไปทำปฏิกิริยาโดยตรงกับสารในห่วงโซ่อิเล็คตรอนได้ เป็นผลให้การรับออกซิเจนถูกยับยั้ง เซลล์ที่ไวต่อ nisin จึงไม่สามารถได้รับพลังงานไปใช้ในการสังเคราะห์สารโมเลกุลใหญ่ เช่น โปรตีน หรือกรดนิวคลีอิค นอกจากนี้ยังพบว่าการเติม cheleating agents เช่น EDTA, EGTA, citrate, phosphate จะช่วยให้เซลล์แบคทีเรียแกรมลบมีความไวต่อ nisin โดยสารนี้จะไปรบกวนสภาพที่สมบูรณ์ของผนังเซลล์ ยอมให้แบคเทอริโอซินเข้าไปในเยื่อหุ้มไซโตพลาสซึม (Cutter *et al.*, 1995)

Nisin Z เป็นแบคเทอริโอซินที่มีคุณสมบัติในการแพร่ผ่านวุ้นได้ดีขึ้น และแสดงกิจกรรมทางชีววิทยาเช่นเดียวกันกับ nisin A แต่จะมีความแตกต่างกันตรงตำแน่งของกรดอะมิโนตำแหน่งที่ 27 ของสายเปปไทด์ โดยที่ nisin Z จะมีกรดอะมิโน histidine แทนที่ตำแหน่ง aspatate ของ nisin A และจากการศึกษาของชลัท ศานติวรางคณา (2542) พบว่า *Lactobacillus lactis* ssp. *lactis* สายพันธุ์ NSC1 สามารถผลิต nisin ที่มีลำดับกรดอะมิโนตัวที่ 27 เป็นกรดอะมิโน aspatate ซึ่งสามารถใช้เป็นข้อพิสูจน์ได้ว่าเป็น nisin Z

2) Lactocin S

เป็น lantibiotics ที่ผลิตได้จากเชื้อ *Lactobacillus sake* โมเลกุลที่สามารถทำงานได้จะเป็นเปปไทด์ที่ประกอบด้วยกรดอะมิโน 37 ตัว และมี lantionine เป็นองค์ประกอบอยู่ด้วย 2 กลุ่ม

3) Lacticin 481

เป็น lantibiotics ที่ผลิตได้จากเชื้อ *Lactobacillus lactis* โครงสร้างปฐมภูมิของ lacticin 481 ไม่มีความสัมพันธ์กับกับ nisin เนื่องจากเมื่อพัฒนาจนเป็นโมเลกุลที่พร้อมจะทำงานแล้ว จะมีองค์ประกอบของกรดอะมิโนเพียง 27 ตัว และแสดงลักษณะของ lantionine อีกด้วย

Class II : Small heat – stable bacteriocin

เป็นแบคเทอริโอซินที่มีขนาดโมเลกุลเล็ก สายเปปไทด์สั้น ประกอบด้วยกรดอะมิโนจำนวน 36 – 57 ตัว ทนความร้อน ออกฤทธิ์ที่เยื่อหุ้มไซโตพลาสซึม และไม่ใช่พวก lantibiotics

1) Lactococcin A

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นแบคเทอริโอซินที่มีตำแหน่งของยีนที่สร้างอยู่บน conjugative plasmid p9B4 โมเลกุลที่พัฒนาจนสามารถทำงานได้เป็นเปปไทด์ที่ประกอบด้วยกรดอะมิโนชนิดที่ไม่มีขั้ว 5 ตัว สำหรับกลไกการทำงานของแบคเทอริโอซินชนิดนี้จะเหมือนกับ nisin

Lactococcin A จะออกฤทธิ์ที่เยื่อหุ้มไซโตพลาสซึมของเซลล์ที่มีความไวต่อสารนี้ โดยจะไปรบกวนความต่างศักย์ไฟฟ้าที่เยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เกิดการรั่วไหล (Leak) ของสารประกอบที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำขนาดเล็ก lactococcin A จะทำปฏิกิริยากับตัวรับ (Receptor) ที่จำเพาะบนผิวของเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เกิดรู แต่การเกิดรูโดย lactococcin A จะไม่ขึ้นกับความต่างศักย์ไฟฟ้าบนผิวของเยื่อหุ้มเซลล์

2) Lactococcin B

เป็นเปปไทด์ที่ประกอบด้วยกรดอะมิโน 47 ตัว กลไกการทำงานของ lactococcin B จะคล้ายกันกับ lactococcin A ยีนที่เกี่ยวกับการสร้าง lactococcin B จะอยู่ที่ตำแหน่งเดียวกับ lactococcin A

3) Lactococcin M

ยีนที่เกี่ยวกับการสร้างสารจะอยู่บน conjugative plasmid p9B4 เช่นเดียวกันกับ lactococcin A และ lactococcin B แต่จะมีคุณสมบัติอื่ต่างกันเล็กน้อย

4) Small heat – stable กลุ่มอื่นๆ

แบคเทอริโอซินในกลุ่มนี้ ได้แก่ pediocin PA – 1 และ pediocin AcH, leucocin A – UAL, mesentercin Y105, sakacin A และ curvacin A แบคเทอริโอซินเหล่านี้จะเป็นเปปไทด์สายตรงที่ประกอบด้วยกรดอะมิโน 36 – 44 ตัว

กลไกการทำงานของแบคเทอริโอซินในกลุ่มนี้ยังไม่มีรายงานที่แน่ชัดนักทราบเพียงแต่ว่ากลไกการทำงานของ pediocin PA – 1 นั้นจะทำให้เกิดรูขึ้นที่เยื่อหุ้มไซโตพลาสซึมของแบคทีเรียที่ไวต่อสารชนิดนี้

5) Lactacin F

Lactacin F เป็นแบคเทอริโอซินที่ผลิตมาจากเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* 11088 (NCK88) มีคุณสมบัติเป็นโปรตีนที่เสถียรและทนทานต่อความร้อน สามารถทนต่อการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°ซ เป็นเวลา 15 นาที มีขนาดโมเลกุล 180 kDa มีโครงสร้างเป็นโปรตีนก้อนกลม มีฤทธิ์ในการยับยั้งกว้าง สามารถยับยั้ง *Lactobacillus acidophilus, L. fermentum, Enterococcus faecalis. L. helveticus, L. delbrueckii* subsp. *lactis* และ *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*

6) Lactococcin G

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นแบคเทอริโอซินที่มีกิจกรรมการทำงานโดยอาศัยเปปไทด์ที่อยู่ในรูป ∝ และ β ซึ่งมีความยาวของกรดอะมิโนประมาณ 39 และ 35 ตัวตามลำดับ เปปไทด์ทั้งสองนี้มีประจุอยู่สูง จึงสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ โดยการทำให้เกิดรูที่เยื่อหุ้มเซลล์

Class III : Large heat – labile bacteriocin

เป็นแบคเทอริโอซินที่มีเปปไทด์สายยาว ซึ่งโปรตีนจะสลายตัวได้เมื่อถูกความร้อน ชนิดที่มีการค้นพบ คือ helveticin J ซึ่งผลิตมาจากเชื้อ *Lactobacillus helveticus* 481 เป็นโปรตีนที่มีขนาดโมเลกุล 37 kDa มีฤทธิ์ในการยับยั้งแคบ ควบคุมการสร้างโดยยีน hlyJ

กลไกการทำงานของแบคเทอริโอซินชนิดนี้จะแตกต่างจากแบคเทอริโอซินชนิด class I และ class II ตัวอย่างของแบคเทอริโอซินที่อยู่ในกลุ่มนี้ ได้แก่ casecin 80, lacticin A และ B และ acidophilin A

2.4.2 การใช้แบคเทอริโอซินในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

มีการศึกษาพบว่า Lactobacilli และ Streptococci สามารถสร้างสารต่อต้านจุลชีพที่มีโมเลกุลใหญ่พวก acodolin และ nisin ได้ (Juven *et al.*, 1991)

Villani *et al.* (1993) ได้ศึกษาพบว่า *Enterococcus faecalis* 226 ที่แยกได้จาก natural whey culture (NWC) ซึ่งใช้เป็นหัวเชื้อในการผลิต Mozzarella cheese จากนมของกระบือ สามารถสร้างสารแบคเทอริโอซินที่เรียกว่า enterocin 226NWC มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Listeria monocytogenes* ได้ enterocin 226NWC มีความเสถียรต่อความร้อน

Jimenez – Diaz *et a.l* (1993) พบว่าเชื้อ *Lactobacillus plantarum* LPCD สามารถสร้างสารที่มีการทำงานคล้ายแบคเทอริโอซิน (bacteriocin – like substance) ซึ่งเรียกว่า Plantaricin D และ T

Olasupo *et al.* (1994) ศึกษาพบเชื้อ *Enterococcus faecium* NA01 ซึ่งแยกได้จาก wara (Nigerian fermented skimmed cow milk) สามารถผลิตแบคเทอริโอซินที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียสายพันธุ์ Lactobacillus, Enterococcus และ Listeria ให้ชื่อแบคเทอริโอซินที่ค้นพบนี้ว่า enterocin01 มีคุณสมบัติเด่น คือ ทนความร้อนที่อุณหภูมิน้ำเดือด (100°ซ) และจะมีฤทธิ์มากที่สภาพ pH ประมาณ 2.0 – 6.0

Simonella *et al.* (1997) ศึกษาพบว่า *Enterococcus feacalis* และ *Enterococcus faecium* สายพันธุ์ต่างๆ ที่แยกได้จากนมและผลิตภัณฑ์นมในอาร์เจนตินา สามารถสร้างสารต่อต้านเชื้อ *Vibrio cholerae* O1E1T และ *V. cholerae* non – O1 ได้ คุณสมบัติของสารประกอบที่ได้ คือ สามารถทนต่อความร้อนที่อุณหภูมิ 100°ซ เป็นเวลา 10 – 30 นาที และจากการศึกษาของ Cintas *et al.* (1997) พบว่า *Enterococcus faecium* P13 สายพันธุ์ที่แยกได้จากไส้กรอก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปรี้ยวแบบสเปน สามารถสร้างสารแบคเทอริโอซินที่มีคุณสมบัติต้านทานความร้อน (อุณหภูมิ 100°ซ นาน 60 นาที และ 121°ซ นาน 15 นาที) เรียกสารนี้ว่า enterocin P มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* และ *C. botulinum* ได้

Cosby *et al.* (1997) พบว่า เชื้อ Lactobacillus ที่แยกได้จาก กระเพาะ กึ๋น และไส้ติ่งของไก่ สามารถสร้างสารต่อต้านจุลชีพขึ้นในระหว่างการเพาะเลี้ยงเซลล์ โดยมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* Typhimurium ได้ นอกจากนี้ Franz *et al.* (1998) ศึกษาพบว่าเชื้อ *Lactobacillus plantarum* BFE905 สามารถผลิตแบคเทอริโอซินที่เรียกว่า Plantaricin D ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Listeria monocytogenes* และ Laukova *et al.* (1998) ค้นพบสารต้านจุลชีพที่มีขนาดใหญ่และมีความเสถียรต่อความร้อนจากเชื้อ *Enterococcus faecalis* V24 มาใช้ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบได้

Callewaert *et al.* (2000) พบว่าในระหว่างการทำไส้กรอกแห้งแบบสเปนทั้งในระดับห้องปฏิบัติการและในระดับโรงงานขนาดเล็กนั้น เชื้อ *Enterococcus faecium* CCM4231 และ *E. faecium* RZSC13 ซึ่งเป็นหัวเชื้อที่ใช้ในการหมักไส้กรอกสามารถผลิตแบคเทอริโอซินที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Listeria spp.* โดยสามารถยับยั้งได้อย่างรุนแรง

ผลิตภัณฑ์อาหารบางชนิดผลิตภัณฑ์อาหารพื้นบ้านของไทยบางชนิดก็อาศัยคุณสมบัติของแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติคในอาหารในการหมักสารประเภทแป้งหรือน้ำตาลในอาหารเพื่อให้เกิดกรด ทำให้ผลิตภัณฑ์นั้นมีรสเปรี้ยว เช่น แหนมหรือหมูส้ม ซึ่งเป็นอาหารพื้นบ้านของไทย (Sundhakul *et al.*, 1975)

ส่วนประกอบโดยทั่วไปของแหนมจะประกอบไปด้วย เนื้อหมูสับละเอียด ข้าวเหนียวหรือข้าวเจ้าสุก เกลือป่น พริกขี้หนู ซึ่งส่วนประกอบเหล่านี้ก็จะแตกต่างกันออกไปแล้วแต่ท้องถิ่น ทำการหมักทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 1 สัปดาห์ก็สามารถนำมารับประทานได้ ซึ่งจุลินทรีย์ที่พบในชั่วโมงแรกๆ ของการหมักแหนมนั้นมักเป็นจุลินทรีย์ที่ติดมากับเนื้อหมู ซึ่งได้แก่ จุลินทรีย์ที่มีรูปร่างเป็นแท่งและที่มีรูปร่างกลม ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ ซึ่งแบคทีเรียแลคติคที่มีบทบาทในการหมักแหนมได้แก่ แบคทีเรียสกุล Pediococcus และ Lactobacillus ซึ่งพบว่าในระยะ 4 วันแรกของการหมัก แหนมจะมีเปอร์เซ็นต์กรดสูงขึ้น และมีความสัมพันธ์กับการลดลงของค่า pH หลังจากระยะดังกล่าวค่า pH จะคงที่โดยที่จะยังคงมีการสร้างกรดเพิ่มขึ้น ซึ่งการเพิ่มปริมาณกรดนี้ยังมีความสัมพันธ์กับจำนวนและชนิดของจุลินทรีย์ต่างๆในระหว่างการหมักด้วย กล่าวคือ หลังจากหมักได้ประมาณ 24 ชั่วโมง จุลินทรีย์ที่พบในระยะแรกบางนิดจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ซึ่งเมื่อจำแนกออกมาแล้วจะพบว่าได้แก่ *P. cerevisiae* และ *Pediococcus* spp. อื่นๆ ซึ่งจากการทดลองของ อรนุช อุตรภิชาติ (2530) ซึ่งได้ทดลองแยกแบคทีเรียรูปกลมจากแหนมและ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จำแนกชนิด พบว่า ประกอบด้วยแบคทีเรียชนิด *Pediococcus pentosaceus* และ *Pediococcus acidilactici*

Pediococcus pentosaceus TISTR 536 เป็นแบคทีเรียแลคติคที่แยกได้จากแหนม ซึ่งมีคุณสมบัติในการผลิตสารแบคเทอริโอซินในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียในกลุ่มแกรมบวกหลายชนิด รวมถึงเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค เช่น *Listeria monocytogenes* และ *Enterococcus faecalis* และเชื้อสามารถผลิตสารแบคเทอริโอซินสูงสุด 6,400 activity unit (AU) / มิลลิลิตร ใน MRS broth 100 มิลลิลิตร หลังจากบ่มที่อุณหภูมิ 30°ซ 20 –24 ชั่วโมง (Swetwiwathana and Lotong. 1999 ; Swetwiwathana *et al.* 2000) ซึ่งต่อมาเชื้อดังกล่าวได้รับการตรวจสอบยืนยันว่าเป็นสายพันธุ์ *Pediococcus pentosaceus* และสารแบคเทอริโอซินที่ผลิตขึ้นเป็น class II bacteriocin ในกลุ่ม pediocin PA-1 (Swetwiwathana *et al.* 2004)

แบคเทอริโอซินที่ผลิตได้จากแบคทีเรียแลคติค จะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งและทำลายเชื้อในกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวกด้วยกัน ซึ่ง pediocin PA-1 ที่ผลิตได้จาก *P. pentosaceus* TISTR 536 จะมีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อในกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวกเช่นเดียวกัน แต่ไม่ยับยั้ง *Staphylococcus aureus* (Swetwiwathana and Lotong. 1999 ; Swetwiwathana *et al.* 2000) จากรายงานการศึกษาการใช้แบคเทอริโอซินในการยับยั้งและทำลายกลุ่มแบคทีเรียแกรมลบ และกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวกที่ทนต่อการยับยั้งของสารแบคเทอริโอซิน พบว่าแบคเทอริโอซินจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งและทำลายแบคทีเรียในกลุ่มดังกล่าวได้ ถ้ามีปัจจัยอื่นร่วมด้วยที่เรียกว่า synergistic effect เช่น มีสภาพความเป็นกรดสูง มีไฮโดรไลติกเอนไซม์ มีสารยับยั้งพวกไนไตรท์ EDTA หรือมีสารพวก chelating agents เป็นส่วนประกอบ เป็นต้น (Hanlin *et al.* 1993; Stevens *et al.* 1991; Helander *et al.* 1997; Swetwiwathana *et al.* 2001)

Callewaert *et al.* (2000) ได้ทำการใช้แบคทีเรีย *Enterococcus* เป็นตัว starter culture ในการทำไส้กรอกเปรี้ยวแบบสเปน ซึ่งแบคทีเรียทั้ง 2 strain นี้ จะผลิตแบคเทอริโอซินที่ไม่ทำลายแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติคตัวอื่น แต่จะมีผลในการทำลายพวก *Listeria spp.* โดยพบว่าปริมาณมีลดลงโดยที่ไม่ทำให้กลิ่นรสของไส้กรอกเปลี่ยนแปลง

Sue *et al.* (1989) ทำการทดลองใช้แบคเทอริโอซินที่ผลิตจากแบคทีเรียแลคติค 3 ชนิด คือ *Lactobacillus lactis* subsp. *lactis* 11454, *Pediococcus pentosaceus* FBB61 และ *Pediococcus pentosaceus* FBB–63–OG2 ในการยับยั้งแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ โดยใช้วิธี agar spot โดยแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคนั้นมีทั้งแกรมบวกและแกรมลบ ผลการทดลองพบว่าแบคเทอริโอซินทั้ง 3 ชนิดสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ (*Bacillus cereus, Clostridium perfringens, Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes, L. ivanovil, L. innocua, L. seeligeri* และ *L. welshimeri*) อีกทั้งสายพันธุ์ 11454 ยังสามารถยับยั้งแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แกรมลบบางชนิดได้ เช่น *Aeromonas hydrophila* AH_2, *Escherichia coli* O157:H7, *Vibrio cholerae* 851 และ *Vibrio parahaemolytics* A865957

Schöbitz *et al.* (1999) ทำการทดลองใช้แบคทีเรีย *Carnobacterium piscicola* L103 ที่มีคุณสมบัติเป็น bacteriocin – like substance ในการยับยั้งเชื้อ *Listeria monocytogenes* บนเนื้อโคที่บรรจุถุงสุญญากาศ โดยจะใช้แบคเทอริโอซินที่สกัดได้จาก *Carnobacterium piscicola* L103 ความเข้มข้น 100 AU / ml พบว่าบนผิวเนื้อมีปริมาณ *Listeria monocytogenes* ลดลงจาก 3.3 CFU cm^{-2} เหลือเพียง 0.6 CFU cm^{-2} และยังพบอีกว่าสีและกลิ่นของเนื้อไม่เปลี่ยนแปลงด้วย

Helander and Mattila-Sandholm (2000) ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของไนซิน (Nisin) ที่มีต่อความสามารถในการให้สารผ่านเข้าออกของเซลล์แบคทีเรียแกรมลบ (gram – negative) บางชนิดคือ *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, P. marginalis* และ *Salmonella* Enterica โดยใช้ไนซินจาก Nisaplin® (Aplin & Barret, Beaminster, UK) โดยสกัดด้วย 0.02 M HCl เพื่อให้ได้ stock solution ที่มีไนซิน 10,000 AU / ml พบว่าจะทำให้ผนังเซลล์อ่อนแอลง ช่องว่างที่ผนังเซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้น

El - Knateib *et al.* (1993) ทำการทดลองใช้กรดแลคติค (2% v/v), nisin ($4x10^4$ IU / ml) และ pediocin PO2 (ผลิตได้จากเชื้อ *Pediococcus acidilactici* PO2) ในการลดปริมาณเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในเนื้อโค โดยทำการจุ่มชิ้นเนื้อขนาด 1 ลบ.ซม. ลงในสารละลายเชื้อผสม *Listeria monocytogenes* 2 strains นาน 1 นาที แล้วนำไปเก็บไว้เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วทำการนับปริมาณเชื้อ *Listeria monocytogenes* โดยพบว่ากลุ่มที่ได้รับสารละลายกรดแลคติคมีปริมาณเชื้อ 1.7 log cfu / 6 cm^2 กลุ่มที่ได้รับ nisin มีปริมาณเชื้อ 1.1 log CFU / 6 cm^2 และกลุ่มที่ได้รับ pediocin PO2 มีปริมาณเชื้อ 0.6 log CFU / 6 cm^2

Grower *et al.* (2003) ได้ศึกษาถึงการใช้ nisin ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน เพื่อลดปริมาณการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ โดยเคลือบลงบนแผ่นฟิล์มที่ใช้ปิดภาชนะบรรจุ โดยความระดับความเข้มข้นของ nisin ที่ใช้มีตั้งแต่ 9 IU / ml จนถึง 10,000 IU / ml ทำการวัด inhibition zone พบว่าเมื่อระดับความเข้มข้นของ nisin เพิ่มขึ้น ขนาดของ inhibition zone ก็จะมีขนาดใหญ่ขึ้นตามไปด้วย อีกทั้งยังได้ทำการศึกษาถึงการใช้กรดอินทรีย์ต่างๆ อีก 4 ชนิด (กรดแอสคอบิค, กรดอะซิติค, กรดแคติค และกรดไฮโดรคลอริค) ร่วมกับ nisin ที่ระดับ 10,000 IU / ml แล้ววัด inhibition zone พบว่า กรดอะซิติคเมื่อใช้ร่วมกับ nisin สามารถยับยั้งปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ได้สูงที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์

3.1.1 เนื้อสุกรทดลอง

เนื้อสุกรที่ใช้ทดลอง ได้แก่ เนื้อสันคอ (Boston shoulder) เนื้อสันนอก (Loin) และเนื้อสามชั้น (Belly) ซึ่งซื้อมาจากเขียงขายเนื้อสุกรชำแหละในตลาดสดหัวตะเข้ ช่วงเวลาเช้าประมาณ 5.00 – 6.00 น. ทั้งนี้ชิ้นส่วนเนื้อสุกรดังกล่าวมาจากซากสุกรที่ผ่านกระบวนการฆ่าจากโรงฆ่าสุกรที่ไม่ได้มาตรฐาน ประมาณ 8 – 9 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย

3.1.2 เชื้อที่ใช้ในการทดลอง

3.1.2.1 เชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ที่แยกได้จากแหนม

3.1.2.2 เชื้อ *Salmonella* Derby สายพันธุ์ที่ได้จาก WHO Salmonella-Shigella Center, สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข

3.1.2.3 เชื้อ *Salmonella* Anatum สายพันธุ์ที่ได้จาก WHO Salmonella-Shigella Center, สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข

3.1.2.4 เชื้อ *Staphylococcus aureus* (ATCC 12600^T)

3.1.2.5 เชื้อ *Listeria innocua* (LTH 3096)

3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

3.1.3.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Broth (TSB) (บริษัท Difco จำกัด)

3.1.3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS (บริษัท Merck จำกัด)

3.1.3.3 ยีสต์สกัด (Yeast Extract) (บริษัท Merck จำกัด)

3.1.3.4 สารละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) (บริษัท Merck จำกัด)

3.1.3.5 แอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70 และ 95 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.3.6 กรดแลคติค (Lactic Acid) (บริษัท Purac จำกัด)

3.1.4 เครื่องมือ

3.1.4.1 ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator, WTB binder, BD)

3.1.4.2 ตู้เขี่ยเชื้อ (Laminar flow, Dwyer, MARK II)

3.1.4.3 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave)

3.1.4.4 ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven, Memmert)

3.1.4.5 ตู้เย็นควบคุมอุณหภูมิ

3.1.4.6 ไมโครปิเปต (Pipetman, US 40536)

3.1.4.7 ไม้ที่มีสำลีพันปลาย (cotton swab) ปลอดเชื้อ

3.1.4.8 จานแก้วเพาะเชื้อ

3.1.4.9 เครื่องมือวัดค่าความเป็นกรด – ด่าง ในเนื้อ (pH meter, WTW – wiss, techn- Werkstatten D812 weilheim) (electrode – WTW pH - sentix^{SP})

3.1.4.10 เครื่องมือวัดสีเนื้อ (Minolta Chromameter CR – 300)

3.1.4.11 เครื่องแก้วพร้อมอุปกรณ์ต่างๆที่จำเป็น

3.2 วิธีการดำเนินงาน

3.2.1 **ขั้นตอนการเตรียมแบคเทอริโอซิน (pediocin PA – 1) ที่ได้จากเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536**

3.2.1.1 ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 ใน MRS broth 5 มิลลิลิตร ที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง เพื่อกระตุ้นให้เชื้อแข็งแรงและพร้อมที่จะเจริญสร้างแบคเทอริโอซินได้อย่างเต็มที่

3.2.1.2 ถ่ายเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตรจากข้อ 1 ลงสู่ MRS broth 100 มิลลิลิตร บ่มเพาะเลี้ยงเชื้อที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20-24 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.1.3 นำ MRS broth ที่ได้จากข้อ 2 ไปทำการเหวี่ยงปั่นแยกเซลล์โดยเครื่อง centrifuge ที่ 5,000 รอบเป็นเวลา 15 นาที ภายใต้อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.2.1.4 นำส่วนใสของ MRS broth ที่ได้จากการเหวี่ยงปั่นแยกเซลล์มาทำการปรับค่า pH ให้ได้ 6.5 ด้วย 5N NaOH

3.2.1.5 นำส่วนใสที่ทำการปรับค่าpHแล้วจากข้อ 4 ไปทำให้ปราศจากเชื้อโดยผ่านการกรองด้วย sterilized membrane filter ที่มี pore-size ขนาด 0.2 ไมโครเมตร เก็บส่วนใสที่กรองได้ในขวดปราศจากเชื้อที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะมีการใช้ในขั้นตอนต่อไป

3.2.2 ขั้นตอนการทดสอบประสิทธิภาพของแบคเทอริโอซิน

3.2.2.1 ทำการเลี้ยงเชื้อ *Listeria innocua* สายพันธุ์ LTH 3096 (ได้รับการอนุเคราะห์เชื้อจาก LTH, Lebensmitteltechnologie Hohenheim University, Stuttgart, Germany) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB – YE 5 มิลลิลิตร บ่มเพาะเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 – 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 18 – 24 ชั่วโมง

3.2.2.2 ถ่ายเชื้อ *Listeria innocua* ที่เลี้ยงไว้ปริมาตร 10 ไมโครลิตรลงในหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA – YE (ager 1% w/v) 5 มิลลิลิตรที่หลอมจนเหลวแล้ว

3.2.2.4 เททับลงบนจานแก้วที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA – YE ทิ้งไว้ในตู้เขี่ยเชื้อนานประมาณ 10 นาที จนไม่มีน้ำหยดบนผิวหน้าอาหาร

3.2.2.5 นำแบคเทอริโอซิน pediocin PA – 1 ที่เตรียมไว้ในข้อ 1) มาทำการทดสอบหาความเข้มข้นของแบคเทอริโอซินที่ *P. pentosaceus* TISTR 536 ผลิตได้ โดยทำการเจือจางแบคเทอริโอซินเริ่มต้นแบบ 2 fold titer dilution ในอัตราส่วน 1:0, 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128 และ 1:256 จากนั้นหยดสารละลายแต่ละความเข้มข้นลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อในข้อ 3.2.2.4 บ่มเพาะเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ดูผลการเกิด clear zone ว่าถึงระดับความเข้มข้นที่เท่าใด นำค่าความเข้มข้นสุดท้ายที่เกิด clear zone มาคำนวณหาค่าความเข้มข้นของแบคเทอริโอซินที่เชื้อผลิต โดยใช้หน่วย Activity Unit ต่อมิลลิลิตร (AU / ml)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 วิธีการทดลอง

แบ่งออกเป็น 3 การทดลอง

3.3.1 การทดลองที่ 1 : ศึกษาผลของการใช้แบคเทอริโอซินร่วมกับกรดแลคติคในการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* Derby, *Salmonella* Anatum และ *Staphylococcus aureus* ในหลอดทดลอง (*in vitro* test)

3.3.1.1 การวางแผนการทดลอง

จัดการทดลองแบบ 2 x 4 x 6 แฟคทอเรียลในแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (2 x 4 x 6 Factorial in CRD) ทำการศึกษา 3 ปัจจัย คือ

- ปัจจัย A คือ ระดับของกรดแลคติค 2 ระดับ ได้แก่ 0 % และ 1%

- ปัจจัย B คือ ระดับของแบคเทอริโอซิน pediocin PA – 1 4 ระดับ ได้แก่ 0 AU / ml., 320 AU / ml., 640 AU / ml. และ 1280 AU / ml.

- ปัจจัย C คือ ระยะเวลาที่ทำการศึกษา ได้แก่ ชั่วโมงที่ 0, 6, 12, 18, 24 และ 30

ทำการทดลอง 5 ซ้ำ

3.3.1.2 ขั้นตอนการทดลอง

3.3.1.2.1) เตรียมอาหารเหลว trypticase soy broth (TSB) ปราศจากเชื้อที่มีความเข้มข้นของกรดแลคติค 1%

3.3.1.2.2) เติม pediocin PA-1 ปราศจากเชื้อที่เตรียมได้จาก *P. pentosaceus* TISTR 536 ในข้างต้นในหลอด TSA + กรดแลคติค 1% ให้มีความเข้มข้นของ pediocin PA-1 ในระดับ 320, 640 และ 1,280 AU/ml ตามลำดับ

3.3.1.2.3) ทำการเติมเชื้อที่ต้องการศึกษา ได้แก่ *Staphylococcus aureus* (สายพันธุ์ ATCC 12600^T) *Salmonella* Derby และ *Salmonella* Anatum (สายพันธุ์ที่ได้จาก WHO Salmonella-Shigella Center, สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์) ที่ได้ทำการเพาะเลี้ยงใน TSB เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง เพื่อกระตุ้นให้เชื้อชนิดต่างๆ ที่ใช้ในการทดสอบมีความแข็งแรงและสมบูรณ์ก่อนการทดสอบ โดยเติมเชื้อให้แต่ละเชื้อมีปริมาณเชื้อเริ่มต้น ในระดับ 10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในแต่ละหลอดทดลองที่ต้องการทำการทดสอบ ซึ่งรวมถึงหลอดควบคุมที่ไม่มีการเติมสารใดๆ (TSB) หลอดควบคุมที่มีเฉพาะกรดแลคติค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1 % (TSB + 1% lactic acid) และหลอดควบคุมที่มีเฉพาะ pediocin PA-1 ที่มีระดับความเข้มข้นต่างๆ (TSB + 320 AU/ml pediocin PA-1, TSB + 640 AU/ml pediocin PA-1 และ TSB + 1,280 AU/ml pediocin PA-1)

3.3.1.2.4) ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อทั้งหมดในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 ชั่วโมง ทำการสุ่มทดสอบการเจริญของเชื้อในแต่ละเชื้อของแต่ละการทดลองทุกๆ 6 ชั่วโมง จนครบ 30 ชั่วโมงของการศึกษา โดย 10 fold dilution และตรวจนับการเจริญของเชื้อโดยวิธี spread plate technique บนอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ trypticase soy agar (TSA) บ่มเพาะเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37°ซ เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

3.3.1.2.5) รายงานการตรวจพบเชื้อของแต่ละเชื้อที่ใช้ศึกษาและในแต่ละปัจจัยที่ทดลองเทียบกับหลอดควบคุมทั้งหมด

3.3.1.3 การบันทึกข้อมูล

3.3.1.3.1) บันทึกจำนวนเชื้อ *Salmonella* Derby, *Salmonella* Anatum และ *Staphylococcus aureus*

3.3.2 การทดลองที่ 2 : ศึกษาผลของการใช้แบคเทอริโอซินร่วมกับกรดแลคติคในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐานที่อุณหภูมิการเก็บต่างกัน

3.3.2.1 การวางแผนการทดลอง

จัดการทดลองแบบ 3 x 3 x 5 แฟคทอเรียลในการทดลองแบบสุ่มตลอด (3 x 3 x 5 Factorial in CRD) ทำการศึกษา 3 ปัจจัย คือ

- ปัจจัย A คือ ระดับของกรดแลคติคและแบคเทอริโอซิน 3 ระดับ คือ 0 % , 1 % + 640 AU / ml. และ 1 % + 1,280 AU / ml.
- ปัจจัย B คือ อุณหภูมิการเก็บรักษาเนื้อ 3 แบบ คือ 0-4 องศาเซลเซียส 10 – 15 องศาเซลเซียสและ 30-35 องศาเซลเซียส
- ปัจจัย C คือ ระยะเวลาที่ทำการศึกษา ได้แก่ ก่อนการจุ่มสารละลาย, ชั่วโมงที่ 0, 3, 6 และ 12

ทำการทดลอง 5 ซ้ำ

3.3.2.2 วิธีการทดลอง

3.3.2.2.1) แบ่งตัวอย่างเนื้อออกเป็น 3 ส่วนขนาดชิ้นละประมาณ 10x5x5 เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.3.2.2) วัดค่า pH และสีของเนื้อก่อนจุ่มสารละลาย

3.3.3.2.3) นำตัวอย่างเนื้อมาจุ่มสารละลายกรดแลคติคและแบคเทอริโอซินทั้ง 3 ระดับ นานประมาณ 5 นาที

3.3.3.2.4) วัดค่า pH และสีของเนื้อครั้งที่ 2 ภายหลังจากการจุ่มสารละลายกรดแลคติคและแบคเทอริโอซิน

3.3.3.2.5) เก็บรักษาเนื้อที่อุณหภูมิ 3 ระดับ ส่วนที่ 1 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส ในห้องเย็น ส่วนที่ 2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10-15 องศาเซลเซียสในตู้เย็น และส่วนที่ 3 เก็บที่อุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียสที่อุณหภูมิห้อง

3.3.3.2.6) ที่ชั่วโมงที่ 0, 3, 6 และ 12 สุ่มตัวอย่างเนื้อจากทั้ง 3 ส่วนมาวิเคราะห์หาจำนวนจุลินทรีย์โดยวิธี Total plate count พร้อมทั้งทำการวัดค่า pH ในเนื้อ และสีของเนื้อ

3.3.2.3 การบันทึกข้อมูล

3.3.2.3.1) บันทึกค่า pH และสีของเนื้อก่อนทำการจุ่มสารละลาย

3.3.2.3.2) บันทึกค่า pH ในเนื้อหลังทำการจุ่มสารละลายที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส, 10-15 องศาเซลเซียส และ 30-35 องศา

3.3.2.3.3) บันทึกค่าความเข้มของสีเนื้อหลังการจุ่มสารละลายที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส, 10-15 องศาเซลเซียส และ 30-35 องศาเซลเซียส

3.3.2.3.4) บันทึกจำนวนจุลินทรีย์ก่อนการจุ่มสารละลายและหลังการจุ่มสารละลายที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส, 10-15 องศาเซลเซียส และ 30-35 องศาเซลเซียส

3.3.3 การทดลองที่ 3 : ศึกษาผลของการใช้แบคเทอริโอซินร่วมกับกรดแลคติคในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐานที่มาจากชิ้นส่วนใหญ่ต่างกัน

3.3.3.1 การวางแผนการทดลอง

จัดการทดลองแบบ 3 x 3 แฟคทอเรียลในการทดลองแบบสุ่มตลอด (3 x 3 Factorial in CRD) ทำการศึกษา 2 ปัจจัย คือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ปัจจัย A คือ ระดับของกรดแลคติคและแบคเทอริโอซิน 3 ระดับ คือ 0 % , 1 % + 640 AU / ml. และ 1 % + 1,280 AU / ml.

- ปัจจัย B คือ เนื้อสุกรชิ้นส่วนใหญ่ 3 ชนิด คือ สันคอ (Boston Shoulder), สันนอก (Loin) และสามชั้น (Belly) ขนาดประมาณชิ้นละ 10 x 5 x 5 เซนติเมตร

ทำการทดลอง 5 ซ้ำ

3.3.3.2 วิธีการทดลอง

3.3.3.2.1) วัดค่า pH ครั้งที่ 1 ในเนื้อแต่ละชนิดและวัดสีเนื้อสันนอกก่อนจุ่มสารละลาย

3.3.3.2.2) สุ่มตัวอย่างเนื้อแต่ละชนิดก่อนจุ่มสารละลายเพื่อนำไปวิเคราะห์หาจำนวนจุลินทรีย์ก่อนการจุ่มสารละลายโดยวิธี Total plate count

3.3.3.2.3) นำตัวอย่างเนื้อแต่ละชนิดมาจุ่มสารละลายกรดแลคติคและแบคเทอริโอซินทั้ง 3 ระดับ

3.3.3.2.4) วัดค่า pH ครั้งที่ 2 ภายหลังจากการจุ่มสารละลายกรดแลคติคและแบคเทอริโอซิน

3.3.3.2.5) เก็บตัวอย่างเฉพาะเนื้อสันนอกเพื่อทำการวัดสีต่อไป

3.3.3.2.6) สุ่มตัวอย่างอีกครั้งภายหลังการจุ่มสารละลายกรดแลคติคและแบคเทอริโอซินเพื่อตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์โดยวิธี Total plate count วัดค่า pH พร้อมทั้งวัดสีเนื้อสันนอก

3.3.3.3 การบันทึกข้อมูล

3.3.3.3.1) บันทึกค่า pH ในเนื้อแต่ละชนิดก่อนทำการจุ่มสารละลาย

3.3.3.3.2) บันทึกค่า pH ในเนื้อแต่ละชนิดหลังทำการจุ่มสารละลาย

3.3.3.3.3) บันทึกค่าความเข้มของสีเนื้อหลังการจุ่มสารละลาย

3.3.3.3.4) บันทึกจำนวนจุลินทรีย์ก่อนและหลังการจุ่มสารละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาจะนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วย General Linear Models (GLM) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Least Square Means ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ SAS (SAS. 1985) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ($P \leq 0.05$) สำหรับการทดลองที่ 3 เรื่องการเปรียบเทียบค่าสีของเนื้อในกลุ่มที่ใช้และไม่ใช้สารละลายกรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 2 ระดับ (3 treatment) ใช้การวิเคราะห์ด้วยวิธี DMRT วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (CRD)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลอง

4.1 การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของการใช้กรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินในการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* Derby *Salmonella* Anatum และ *Staphylococcus aureus* ในหลอดทดลอง (*in vitro* test)

จากการทดลองถ่ายเชื้อ *Salmonella* Derby *Salmonella* Anatum และ *Staphylococcus aureus* ลงในหลอดทดลองให้ได้ปริมาณเชื้อเริ่มต้นประมาณ 4 log CFU/ml. แบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีความเข้มข้นของสารละลายกรดแลคติค 2 ระดับ คือ 0 และ 1 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มที่มีความเข้มข้นของแบคเทอริโอซิน 4 ระดับ คือ 0, 320, 640 และ 1280 AU/ml โดยสุ่มทดสอบการเจริญของเชื้อทุก 6 ชั่วโมงจนครบ 30 ชั่วโมง โดยใช้วิธี Sprade plate technique เพื่อทดสอบผลของกรดแลคติคและแบคเทอริโอซินในการลดปริมาณเชื้อที่ศึกษา

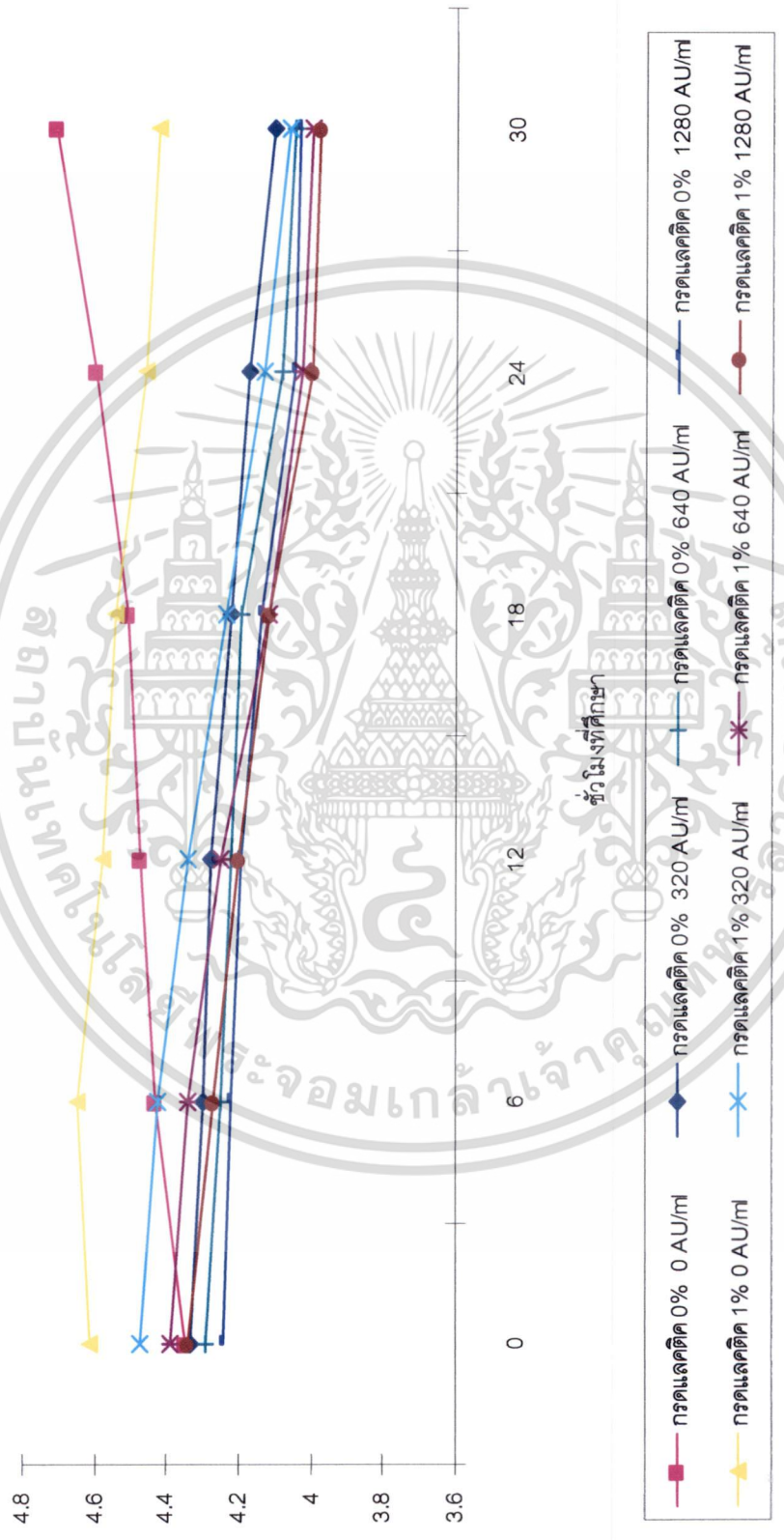
4.1.1 ผลของการใช้กรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินในการลดปริมาณเชื้อ Salmonella Derby ในหลอดทดลอง (*in vitro* test)

ตารางที่ 4.1 ผลของกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินต่อการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* Derby ในหลอดทดลอง (*in vitro* test)

ชั่วโมงที่ศึกษา	ปริมาณชื้อ *Salmonella* Derby (log CFU/ml)							
	กรดแลคติค 0%				กรดแลคติค 1%			
	แบคเทอริโอซิน (AU/ml)				แบคเทอริโอซิน (AU/ml)			
	0	320	640	1280	0	320	640	1280
0	$4.35^{จ}$	$4.33^{จ}$	$4.29^{งจ}$	$4.24^{ง}$	$4.29^{งจ}$	$4.21^{ง}$	$4.16^{ค}$	$4.13^{ค}$
6	$4.43^{ฉ}$	$4.30^{จ}$	$4.25^{งจ}$	$4.22^{ง}$	$4.31^{จ}$	$4.18^{คง}$	$4.13^{ค}$	$4.09^{ขค}$
12	$4.47^{ฉช}$	$4.28^{งจ}$	$4.22^{ง}$	$4.19^{คง}$	$4.27^{งจ}$	$4.13^{ค}$	$4.08^{ขค}$	$4.05^{ขค}$
18	$4.51^{ช}$	$4.22^{ง}$	$4.19^{คง}$	$4.14^{ค}$	$4.25^{งจ}$	$4.07^{ขค}$	$4.00^{ข}$	$4.00^{ข}$
24	$4.60^{ช}$	$4.17^{ค}$	$4.08^{ขค}$	$4.05^{ขค}$	$4.20^{ง}$	$4.01^{ข}$	$3.95^{กข}$	$3.93^{ก}$
30	$4.71^{ฉ}$	$4.10^{ขค}$	$4.05^{ขค}$	$4.03^{ข}$	$4.18^{คง}$	$3.97^{กข}$	$3.93^{ก}$	$3.92^{ก}$

$^{ก-ฉ}$ อักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.1 แสดงผลของกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินต่อการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* Derby ในหลอดทดลอง (*in vitro* test)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองในตารางที่ 4.1 และภาพที่ 4.1 แสดงให้เห็นว่า กลุ่มที่ไม่ใช้สารละลายกรดแลคติค 1% และไม่ใช้ pediocin PA – 1 มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นทุกๆ ระยะ 6 ชั่วโมงจนถึง 30 ชั่วโมงที่ศึกษา ($P<0.01$)

กลุ่มที่ใช้กรดแลคติค 1% เพียงอย่างเดียว พบว่า ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในทุกระยะเวลาที่ศึกษาไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) แสดงให้เห็นว่า กรดแลคติค 1% สามารถควบคุมปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ไม่ให้เพิ่มขึ้นได้ แต่ไม่สามารถควบคุมให้เชื้อ *Salmonella* Derby มีปริมาณลดลงได้

กลุ่มที่ใช้ pediocin PA – 1 แต่เพียงอย่างเดียว โดยไม่ใช้กรดแลคติค 1% ร่วมด้วย พบว่า เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของ pediocin PA – 1 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์จะลดลงอย่างต่อเนื่องจนถึงชั่วโมงที่ 30 ของการศึกษา ทั้งนี้กลุ่มที่ใช้ pediocin PA – 1 320 AU/ml จะมีประสิทธิภาพน้อยที่สุด และจะพบว่า ที่ความเข้มข้นของ pediocin PA – 1 640 และ 1280 AU/ml มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ดีกว่า แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง 2 กลุ่มหลังจะเห็นว่าประสิทธิภาพจะไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) แม้ว่ากลุ่มที่ความเข้มข้น 1280 AU/ml จะมีแนวโน้มที่ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์จะลดลงได้มากกว่า

การใช้ pediocin PA – 1 ร่วมกับกรดแลคติค 1% พบว่า สามารถลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่าการใช้ pediocin PA – 1 แต่เพียงอย่างเดียว ทั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ใช้กรดแลคติค 1% และกลุ่มที่ใช้กรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 จะเห็นได้ว่ากลุ่มที่ใช้กรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ในแต่ละระดับความเข้มข้น จะมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์น้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) และประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์จะยิ่งมีมากขึ้นเมื่อปล่อยให้เชื้อได้สัมผัสกับสารละลายนานขึ้น โดยเมื่อเปรียบเทียบการใช้กรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 320 และ 640 AU/ml จะเห็นได้ว่าการใช้ที่ระดับ 640 AU/ml สามารถลดปริมาณเชื้อลงได้มากกว่าอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ของการศึกษา แต่เมื่อถึงชั่วโมงที่ 6, 12, 18, 24 และ 30 พบว่าปริมาณเชื้อไม่แตกต่างกันมาก ($P>0.05$) แต่ก็มีแนวโน้มว่าการใช้ในระดับสูงกว่าจะลดปริมาณเชื้อลงได้มากกว่า ส่วนเมื่อเปรียบเทียบการใช้ pediocin PA – 1 ที่ระดับ 640 และ 1280 AU/ml พบว่าปริมาณเชื้อตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 จนถึง 30 ของการศึกษาไม่แตกต่างกันมากนัก ($P>0.05$) แม้จะมีแนวโน้มว่าการใช้ pediocin PA – 1 ที่ระดับ 1280 AU/ml ร่วมกับกรดแลคติค 1% สามารถลดปริมาณเชื้อลงได้มากที่สุดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 จนถึงชั่วโมงที่ 30 ของการศึกษา (4.13, 4.09, 4.05, 4.00, 3.93 และ 3.92 log CFU/ml ตามลำดับ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.2 ผลของการใช้กรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินในการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* Anatum ในหลอดทดลอง (*in vitro* test)

ตารางที่ 4.2 ผลของกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินต่อการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* Anatum ในหลอดทดลอง (*in vitro* test)

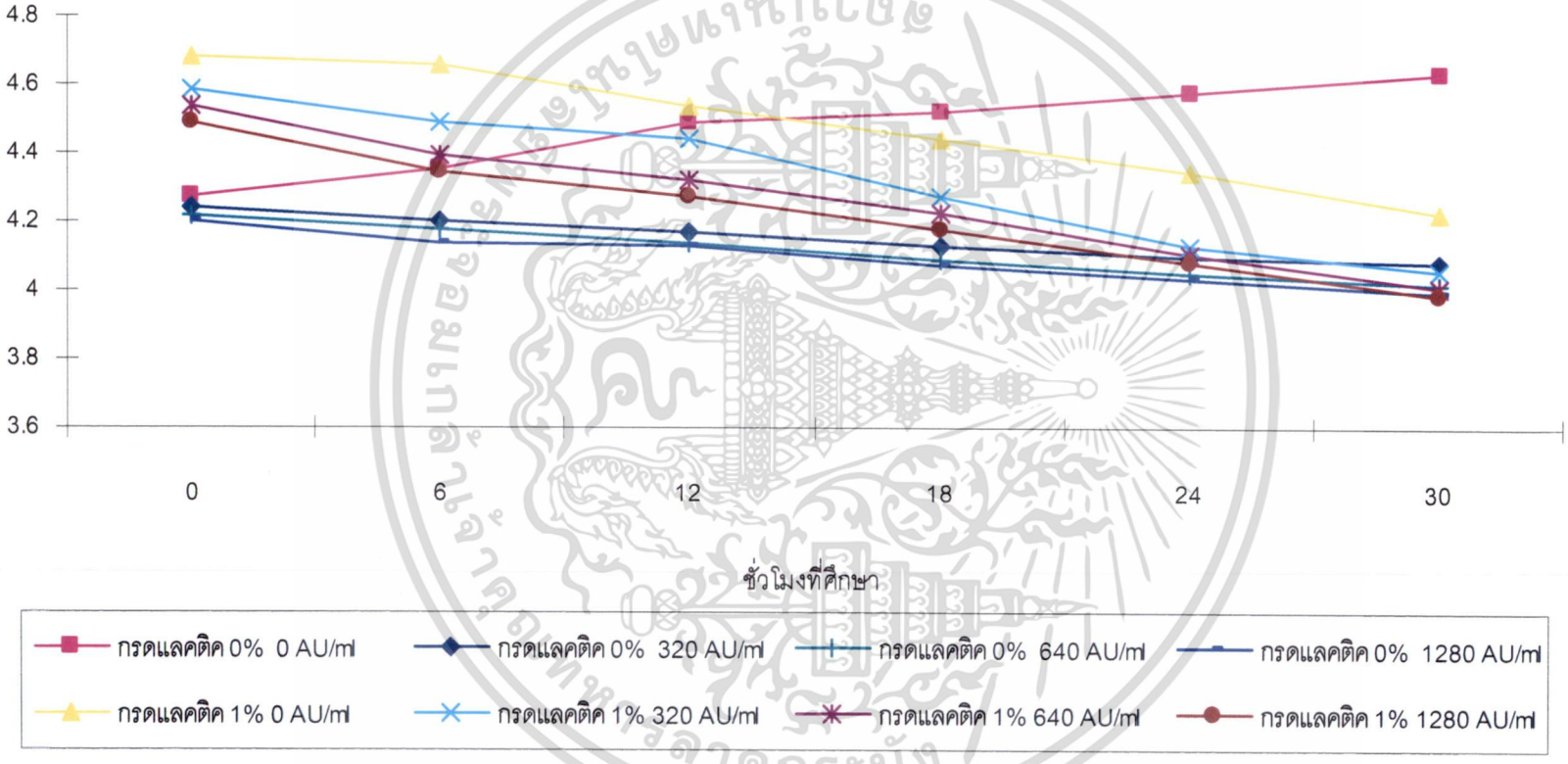
ชั่วโมงที่ศึกษา	ปริมาณเชื้อ *Salmonella* Anatum (log CFU/ml)							
	กรดแลคติค 0%				กรดแลคติค 1%			
	แบคเทอริโอซิน (AU/ml)				แบคเทอริโอซิน (AU/ml)			
	0	320	640	1280	0	320	640	1280
0	$4.27^{ง}$	$4.24^{ง}$	$4.22^{งค}$	$4.20^{งค}$	$4.25^{ง}$	$4.21^{งค}$	$4.19^{ค}$	$4.17^{ค}$
6	$4.35^{จ}$	$4.20^{ค}$	$4.18^{ค}$	$4.14^{ขค}$	$4.24^{ง}$	$4.17^{ค}$	$4.13^{ขค}$	$4.11^{ขค}$
12	$4.49^{ฉ}$	$4.17^{ค}$	$4.14^{ขค}$	$4.13^{ขค}$	$4.19^{ค}$	$4.15^{ขค}$	$4.10^{ขค}$	$4.08^{ข}$
18	$4.52^{ฉช}$	$4.13^{ขค}$	$4.09^{ข}$	$4.07^{กข}$	$4.15^{ขค}$	$4.08^{ข}$	$4.06^{กข}$	$4.04^{กข}$
24	$4.58^{ช}$	$4.10^{ข}$	$4.05^{กข}$	$4.03^{ก}$	$4.11^{ขค}$	$4.02^{ก}$	$4.01^{ก}$	$4.00^{ก}$
30	$4.63^{ช}$	$4.08^{ข}$	$4.02^{ก}$	$3.99^{ก}$	$4.06^{ข}$	$3.99^{ก}$	$3.97^{ก}$	$3.96^{ก}$

$^{ก-ช}$ อักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$)

ผลการศึกษาดังแสดงในตารางที่ 4.2 และภาพที่ 4.2 ซึ่งจะพบว่า กลุ่มที่ไม่ใช้สารละลายกรดแลคติค 1% และ pediocin PA – 1 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในหลอดทดลองจะเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องในทุกๆ 6 ชั่วโมงที่ทำการศึกษาจนถึงชั่วโมงที่ 30

การใช้สารละลายกรดแลคติค 1% หรือ pediocin PA – 1 เพียงอย่างเดียวนั้น สามารถลดปริมาณเชื้อ *S.* Anatum ลงได้อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) โดยที่การใช้กรดแลคติค 1% เพียงอย่างเดียวนั้นสามารถลดปริมาณเชื้อ *S.* Anatum ลงได้อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) ที่ชั่วโมงที่ 12 ของการศึกษาและเมื่อปล่อยเวลาให้เชื้อสัมผัสสารละลาย พบว่าปริมาณเชื้อลดลงได้เรื่อยๆ ไปจนถึงชั่วโมงที่ 30 ส่วนการใช้ pediocin PA – 1 เพียงอย่างเดียวนั้นพบว่าในชั่วโมงที่ 0 กลุ่มที่ใช้ pediocin PA – 1 อย่างเดียวสามารถลดปริมาณเชื้อลงได้ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ($P>0.05$) แต่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6 เป็นต้นไปจะลดปริมาณเชื้อลงได้มากขึ้นและต่อเนื่องถึงชั่วโมงที่ 30 ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการทดลองกับเชื้อ *S.* Derby คือเมื่อทำการเพิ่มระดับความเข้มข้นของ pediocin PA – 1 ให้มากขึ้นและปล่อยให้ระยะเวลาในการสัมผัสสารละลายของเชื้อนานขึ้น สามารถลดปริมาณเชื้อลงได้มากขึ้นเช่นกัน โดยจะเห็นได้ว่าการใช้ pediocin PA – 1 ในระดับสูงแต่เพียงอย่างเดียว (1280 AU/ml) สามารถลดปริมาณเชื้อลงได้อย่างมีประสิทธิภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.2 แสดงผลของกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินต่อการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* Anatum ในหลอดทดลอง (*in vitro* test)

จนถึงชั่วโมงที่ 24 แต่หากเปรียบเทียบกับการใช้ในระดับกลาง (640 AU/ml) แล้วจะพบว่าให้ประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อสูงกว่าอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

ในขณะที่การใช้กรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ใช้ pediocin PA - 1 เพียงอย่างเดียว จะเห็นว่าปริมาณเชื้อ *S.* Anatum ที่ทุกระดับความเข้มข้นของ pediocin PA – 1 ที่ใช้ในชั่วโมงที่ 0, 6, 12 และ 18 ของการปล่อยให้เชื้อสัมผัสกับสารละลาย พบว่า ปริมาณเชื้อมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) แต่จะพบว่า ประสิทธิภาพของการใช้ pediocin PA – 1 ร่วมกับสารละลายกรดแลคติค 1% จะเพิ่มขึ้นและมีปริมาณลดลงในชั่วโมงที่ 24 โดยพบว่าปริมาณเชื้อ *S.* Anatum ของกลุ่มที่ใช้ pediocin PA – 1 320 AU/ml ร่วมกับกรดแลคติค 1% มีปริมาณเชื้อเท่ากับ 4.02 log CFU/ml ในขณะที่กลุ่มที่ใช้ pediocin PA – 1 เพียงอย่างเดียวมีปริมาณเชื้อเท่ากับ 4.10 log CFU/ml (P<0.01) นอกจากนี้ยังพบว่า การใช้ pediocin PA – 1 ที่ระดับความเข้มข้น 640 และ 1280 AU/ml ร่วมกับกรดแลคติค 1% ให้ผลในการลดปริมาณเชื้อ *S.* Anatum ทุกระยะชั่วโมงที่ทำการศึกษาไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ใช้ pediocin PA – 1 แต่เพียงอย่างเดียว

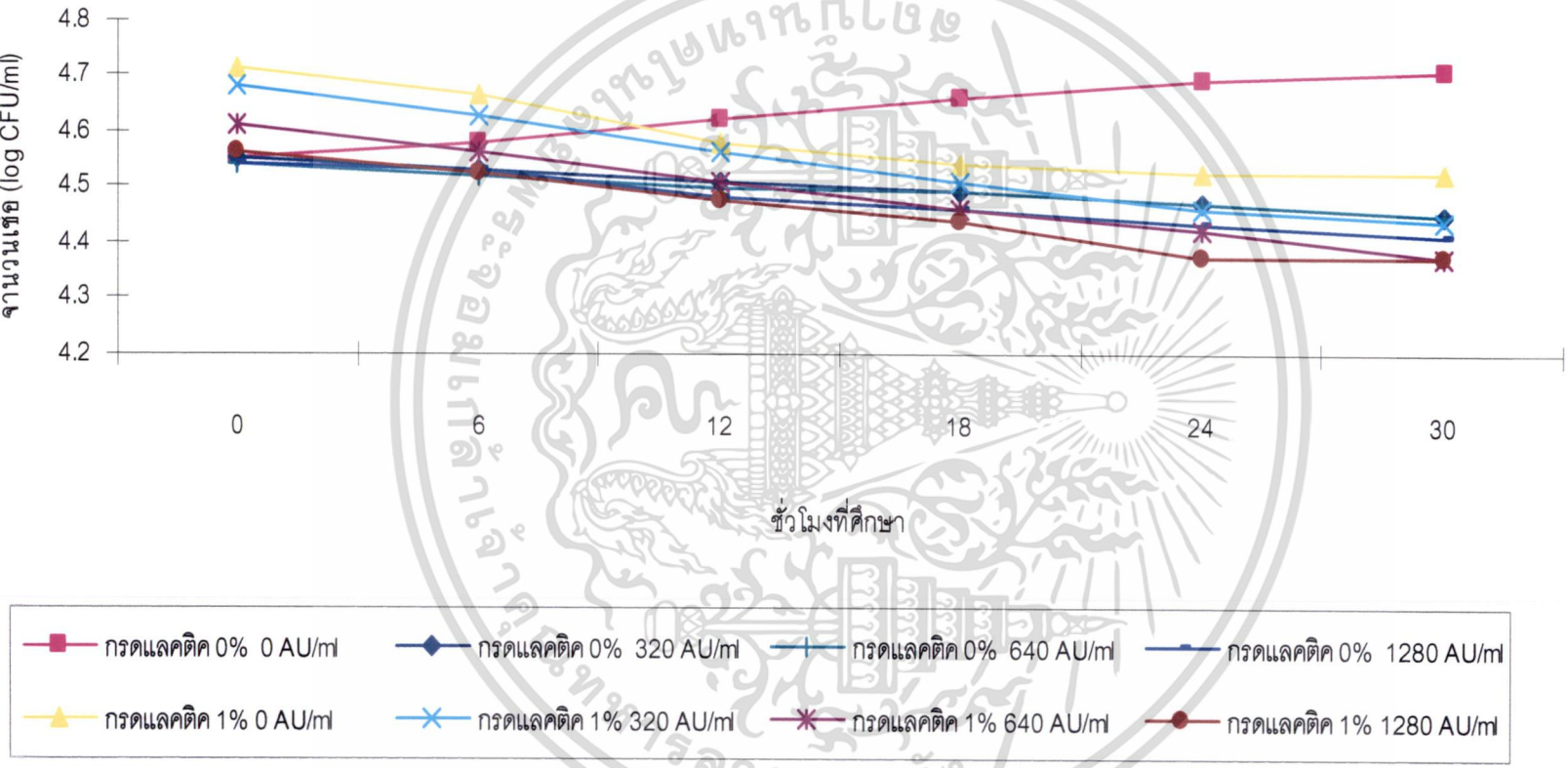
4.1.3 ผลของการใช้กรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินในการลดปริมาณเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในหลอดทดลอง (*in vitro* test)

ตารางที่ 4.3 ผลของกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินต่อการลดปริมาณเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในหลอดทดลอง (*in vitro* test)

ชั่วโมงที่ศึกษา	ปริมาณเชื้อ *Staphylococcus aureus* (log CFU/ml)							
	กรดแลคติค 0%				กรดแลคติค 1%			
	แบคเทอริโอซิน (AU/ml)				แบคเทอริโอซิน (AU/ml)			
	0	320	640	1280	0	320	640	1280
0	4.55^{ง}	4.55^{ง}	4.54^{คง}	4.54^{คง}	4.50^{คง}	4.48^{ค}	4.44^{ขค}	4.41^{ข}
6	4.58^{ง}	4.53^{คง}	4.52^{คง}	4.53^{คง}	4.47^{ค}	4.45^{ขค}	4.41^{ข}	4.39^{ข}
12	4.62^{งจ}	4.51^{คง}	4.50^{คง}	4.48^{ค}	4.42^{ข}	4.41^{ข}	4.38^{ข}	4.36^{กข}
18	4.66^{จ}	4.49^{คง}	4.49^{คง}	4.46^{ค}	4.40^{ข}	4.38^{ข}	4.35^{กข}	4.34^{กข}
24	4.69^{จฉ}	4.47^{ค}	4.47^{ค}	4.43^{ขค}	4.39^{ข}	4.35^{กข}	4.33^{กข}	4.30^{ก}
30	4.71^{ฉ}	4.45^{ขค}	4.45^{ขค}	4.41^{ข}	4.39^{ข}	4.34^{กข}	4.30^{ก}	4.30^{ก}

$^{ก-ฉ}$ อักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.3 แสดงผลของกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินต่อการลดปริมาณเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในหลอดทดลอง (*in vitro* test)

ผลการศึกษาดังแสดงในตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.3 ซึ่งจะพบว่าการใช้สารละลายกรดแลคติค 1% เพียงอย่างเดียวนั้นสามารถลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* ลงได้มากกว่ากลุ่มควบคุมซึ่งไม่ใช้สารละลายกรดแลคติค 1% และไม่ใช้ pediocin PA - 1ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6, 12, 18, 24 และ 30 ของการศึกษา โดยจะเห็นว่าทันทีที่เชื้อสัมผัสกับสารละลาย (ชั่วโมงที่ 0) ปริมาณเชื้อจะลดลงเล็กน้อย ($P>0.05$) แต่เมื่อปล่อยให้เชื้อได้มีเวลาสัมผัสกับสารละลายนานขึ้น คือถึงชั่วโมงที่ 12 สามารถลดปริมาณเชื้อลงได้มากขึ้น ($P<0.05$) ส่วนการใช้ pediocin PA – 1 ที่ระดับ 320 AU/ml เพียงอย่างเดียวนั้นจะพบว่าประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อจะเริ่มต้นขึ้นที่ชั่วโมงที่ 24 ไปจนถึงชั่วโมงที่ 30 ของการศึกษา และเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของ pediocin PA – 1 มากขึ้นที่ระดับ 640 และ 1280 AU/ml พบว่าปริมาณเชื้อลดลงอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โดยเมื่อเปรียบเทียบการใช้ pediocin PA – 1 ที่ระดับ 320 640 และ 1280 AU/ml จะพบว่ามีค่าไม่แตกต่างกันมากนัก ($P>0.05$) แม้ว่าการใช้ที่ระดับ 1280 AU/ml ก็จะมีแนวโน้มในการลดปริมาณเชื้อได้ดีที่สุด

การใช้สารละลายกรดแลคติค 1% แต่เพียงอย่างเดียวก็พบว่าสามารถลดปริมาณเชื้อลงได้มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และเมื่อใช้ร่วมกับ pediocin PA – 1 ที่ระดับ 320 AU/ml พบว่าปริมาณเชื้อไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลคติค 1% แต่เพียงอย่างเดียว แต่การเพิ่มความเข้มข้นของ pediocin PA – 1 ที่ระดับความเข้มข้นสูงขึ้น พบว่าจะทำให้ประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อสูงขึ้น โดยจะเห็นได้ว่าการใช้กรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ที่ระดับ 640 AU/ml สามารถลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ลงได้อย่างมีประสิทธิภาพตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6 (4.38 log CFU/ml) และให้ประสิทธิภาพสูงที่สุดที่ชั่วโมงที่ 30 ของการศึกษา ส่วนการใช้ที่ระดับ 1280 AU/ml นั้นประสิทธิภาพในการควบคุมปริมาณเชื้อไม่แตกต่างไปจากการใช้ที่ระดับ 640 AU/ml

4.2 การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของการใช้กรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐานที่อุณหภูมิการเก็บต่างกัน

จากการทดลองใช้กรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซิน 3 ระดับ คือ 0% 1% กรดแลคติคร่วมกับ pediocin PA – 1 640 AU/ml และ 1% กรดแลคติคร่วมกับ pediocin PA – 1 1280 AU/ml ร่วมกับอุณหภูมิการเก็บ 3 ระดับ คือ 0-4°ซ 10-15°ซ และ 30-35°ซ เพื่อทดสอบผลที่มีต่อการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ ค่า pH และสีเนื้อ (L*) ผลการทดลองเป็นดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.1 อิทธิพลร่วมของสารละลายกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซิน อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บรักษาต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน

ผลการศึกษาดังแสดงในตารางที่ 4.4 และภาพที่ 4.4 จะพบว่าปริมาณจุลินทรีย์ก่อนการสัมผัสสารละลายในกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ใช้กรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ทุกช่วงอุณหภูมิการเก็บรักษาไม่แตกต่างกัน (P>0.05) และเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของ pediocin PA – 1 แล้วจะเห็นได้ว่าที่อุณหภูมิ 0-4°ซ ในชั่วโมงที่ 0 ของการศึกษาพบว่าในกลุ่มที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 640 และ 1280 AU/ml มีปริมาณจุลินทรีย์เท่ากับ 6.33 และ 6.30 log CFU/ตร.ซม.ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณน้อยกว่ากลุ่มควบคุม (6.42 log CFU/ตร.ซม.) อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01) และปริมาณจุลินทรีย์ยังลดลงไปอีกจนถึงชั่วโมงที่ 12 ทั้งนี้กลุ่มควบคุมจะมีปริมาณจุลินทรีย์ที่ลดลงน้อยกว่ากลุ่มทดลอง

ที่อุณหภูมิการเก็บที่ 10-15°ซ จะพบว่าที่ชั่วโมงที่ 0 ของการศึกษาการใช้กรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ที่ระดับ 640 และที่ระดับ 1280 AU/ml สามารถลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ลงได้มากกว่ากลุ่มควบคุม ทั้งนี้จะมีแนวโน้มว่าการใช้สารละลายกรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ที่ระดับความเข้มข้นสูง (1280 AU/ml) สามารถลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ลงได้มากกว่า และเมื่อถึงชั่วโมงที่ 3, 6 และ 12 พบว่าปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ทั้ง 2 ระดับนั้นไม่แตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

ที่อุณหภูมิการเก็บที่ 30-35°ซ พบว่า นับตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0, 3, 6 และ 12 ของการศึกษาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ของกลุ่มควบคุมและกลุ่มสัมผัสสารละลายกรดแลคติค1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ทั้ง 2 ระดับไม่แตกต่างกัน (P>0.05)

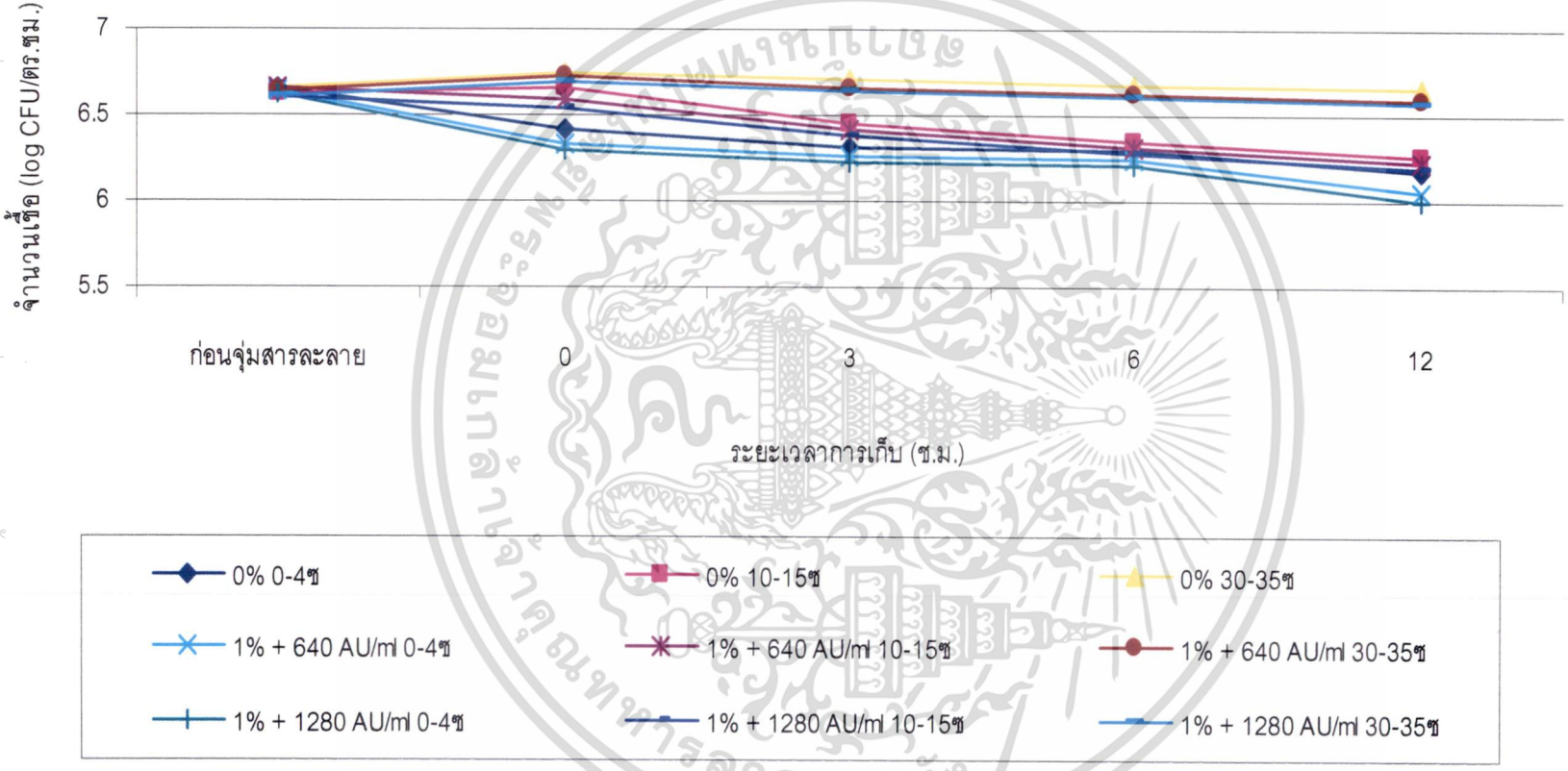
ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 0 - 4°ซ จะมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์อย่างต่อเนื่อง นับจากชั่วโมงที่ 0, 3, 6 และ 12 ของการเก็บรักษา และการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์จะมีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้นเมื่อใช้สารละลายกรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ที่ระดับ 640 AU/ml ทั้งนี้ การเพิ่มระดับความเข้มข้นของ pediocin PA – 1 ที่ระดับ 1280 AU/ml ไม่ช่วยทำให้ประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ดีขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 แสดงผลของกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซิน อุณหภูมิ และระยะเวลาการเก็บรักษาต่อการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์รวมบนผิวเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน

ชั่วโมงที่ทำการศึกษา	ปริมาณจุลินทรีย์บนผิวเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน (log CFU/ตร.ซม.)								
	สารละลายกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซิน								
	0%			1% + pediocin PA – 1 640 AU/ml			1% + pediocin PA – 1 1280 AU/ml		
	อุณหภูมิการเก็บรักษา (°ซ)								
	0-4	10-15	30-35	0-4	10-15	30-35	0-4	10-15	30-35
ก่อนจุ่มสารละลาย	6.65^{ฉ}	6.62^{ฉ}	6.65^{ฉ}	6.63^{ฉ}	6.66^{ฉ}	6.63^{ฉ}	6.62^{ฉ}	6.60^{ฉ}	6.61^{ฉ}
0	6.42^{ง}	6.66^{ฉ}	6.74^{ช}	6.33^{ก}	6.58^{จฉ}	6.72^{ช}	6.30^{ค}	6.53^{จ}	6.69^{ฉช}
3	6.31^{ก}	6.45^{ง}	6.70^{ฉช}	6.26^{ขค}	6.42^{ง}	6.66^{ฉ}	6.23^{ข}	6.38^{ฌง}	6.63^{ฉ}
6	6.29^{ก}	6.35^{ฌง}	6.68^{ฉช}	6.25^{ขค}	6.31^{ค}	6.62^{ฉ}	6.20^{ข}	6.27^{ขค}	6.60^{จฉ}
12	6.17^{ข}	6.26^{ขค}	6.65^{ฉ}	6.05^{ก}	6.22^{ข}	6.59^{จฉ}	6.00^{ก}	6.19^{ข}	6.57^{จฉ}

$^{ก-ช}$ อักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$)



ภาพที่ 4.4 แสดงผลของกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซิน อุณหภูมิ และระยะเวลาการเก็บรักษาต่อการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์รวมบนผิวเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน

4.2.2 อิทธิพลของกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินต่อค่า pH ของเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐานที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างกัน

จากตารางที่ 4.5 และภาพที่ 4.5 แสดงให้เห็นว่าค่า pH ในเนื้อสุกรทดลองทุกกลุ่มก่อนเริ่มทำการสัมผัสสารละลายที่ทำการศึกษามีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ยกเว้นกลุ่มที่จัดไว้สำหรับสัมผัสสารละลายกรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 1280 AU/ml ที่พบว่าค่า pH ต่ำกว่ากลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ภายหลังจากการที่เนื้อสัมผัสกับสารละลายที่ทำการศึกษาและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 0-4°ซ ภายในเวลาไม่เกิน 1 ชั่วโมง (0 ชั่วโมง) จะพบว่ากลุ่มควบคุมที่เนื้อสัมผัสน้ำกลั่น (0%) และกลุ่มที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ในระดับต่ำ (640 AU/ml) ค่า pH จะยังคงไม่ลดลง แต่พบว่ากลุ่มที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ในระดับสูง (1280 AU/ml) ลดลงอย่างมาก และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) โดยมีค่า pH เท่ากับ 5.77 ในขณะที่กลุ่มควบคุมและกลุ่มที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ในระดับต่ำไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 5.91 และ 5.89 ตามลำดับ ทั้งนี้เมื่อเวลาผ่านไปถึงชั่วโมงที่ 12 ของการเก็บรักษา จะพบว่าค่า pH ในเนื้อลดลงอย่างต่อเนื่องในทุกๆ กลุ่มทดลองที่สัมผัสสารละลาย โดยจะพบว่าที่ชั่วโมงที่ 6 ของการเก็บรักษา เนื้อกลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ทั้งระดับต่ำและระดับสูงจะมีค่า pH ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 5.58 และ 5.53 ตามลำดับ และที่กลุ่มใช้ pediocin PA – 1 ในระดับสูงสุดจะมีค่า pH ต่ำกว่าเนื้อกลุ่มควบคุม ($P<0.05$) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 5.62

ผลจากการศึกษาแสดงให้เห็นว่า การใช้สารละลายกรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ในระดับต่ำ (640 AU/ml) การลดลงของค่า pH ในเนื้อไม่ต่างจากกลุ่มควบคุม (0%) ถ้าเก็บเนื้อที่อุณหภูมิต่ำ (0 – 4 °ซ และ 10 - 15°ซ) แต่ถ้าเก็บเนื้อที่อุณหภูมิสูง (30 - 35°ซ) จะพบว่าค่า pH ลดลงต่ำกว่าการเก็บที่อุณหภูมิต่ำกว่าทั้ง 2 ระดับ ทั้งนี้เฉพาะความแตกต่างของค่า pH ระหว่างกลุ่มที่เก็บที่อุณหภูมิสูงสุด (30 - 35°ซ) และอุณหภูมิต่ำสุด (0 - 4°ซ) เท่านั้นที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 5.63 และ 5.80 ที่ชั่วโมงที่ 3 ของการเก็บ แต่การใช้สารละลายกรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ในระดับสูง (1280 AU/ml) พบว่า ค่า pH ในเนื้อที่ทุกระดับอุณหภูมิของการเก็บจะมีค่า pH ไม่แตกต่างกับเมื่อระยะเวลาการเก็บผ่านไปถึงชั่วโมงที่ 3 แสดงให้เห็นว่า อิทธิพลของสารละลายกรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ในระดับสูงจะมีผลต่อการลดลงของค่า pH ในเนื้อมาก ซึ่งมีผลทำให้อุณหภูมิการเก็บเนื้อที่ต่ำกว่าไม่สามารถชะลอการลดลงของค่า pH ได้ แต่ถ้าใช้สารละลายกรดแลคติค 1% และ pediocin PA – 1 ในระดับที่ต่ำกว่า อุณหภูมิการเก็บจะเป็นตัวช่วยชะลอการลดลงของค่า pH ในเนื้อได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 แสดงผลของกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซิน อุณหภูมิ และระยะเวลาการเก็บรักษาต่อค่า pH ของเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน

ชั่วโมงที่ทำการศึกษา	ค่า pH ของเนื้อสุกร								
	สารละลายกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซิน								
	0%			1% + pediocin PA – 1 640 AU/ml			1% + pediocin PA – 1 1280 AU/ml		
	อุณหภูมิการเก็บรักษา (°ซ)								
	0-4	10-15	30-35	0-4	10-15	30-35	0-4	10-15	30-35
ก่อนทำการจุ่มสารละลาย	5.95^{จ}	5.95^{จ}	5.93^{งจ}	5.94^{งจ}	5.90^{งจ}	5.91^{งจ}	5.97^{จ}	5.81^{ก}	5.96^{จ}
0	5.91^{งจ}	5.79^{ค}	5.68^{ขค}	5.89^{ง}	5.76^{ค}	5.65^{ข}	5.77^{ค}	5.73^{ขค}	5.62^{ข}
3	5.83^{ค}	5.75^{ค}	5.68^{ขค}	5.80^{ค}	5.71^{ขค}	5.63^{ข}	5.65^{ข}	5.62^{ข}	5.58^{กข}
6	5.62^{ข}	5.56^{กข}	5.50^{ก}	5.58^{กข}	5.52^{ก}	5.50^{ก}	5.53^{ก}	5.50^{ก}	5.47^{ก}
12	5.57^{กข}	5.49^{ก}	5.47^{ก}	5.55^{กข}	5.50^{ก}	5.50^{ก}	5.51^{ก}	5.50^{ก}	5.46^{ก}

$^{ก-จ}$ อักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

4.2.3 อิทธิพลของกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินต่อค่าสีของเนื้อสุกร (L*) จากโรงฆ่าไม่มาตรฐานที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างกัน

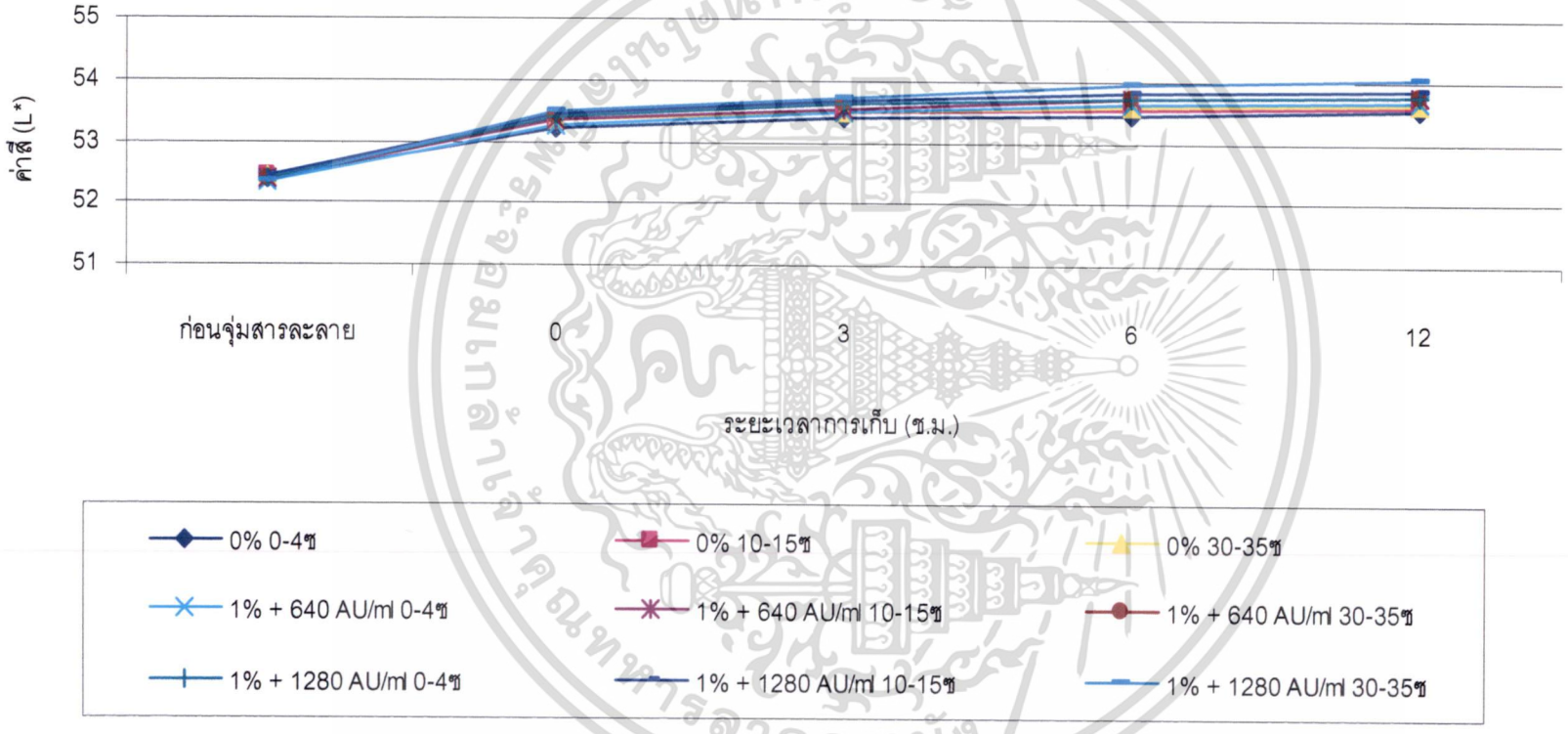
จากตารางที่ 4.6 และภาพที่ 4.6 แสดงให้เห็นถึงสีของเนื้อที่ทำการศึกษาก่อนสัมผัสสารละลาย เนื้อจะมีสีเข้มหรือมีค่าสี (L*) ต่ำ ภายหลังจากการที่เนื้อสัมผัสกับสารละลายที่ทำการศึกษาจะพบว่า เนื้อจะมีสีซีดลง หรือมีค่าสีสูงกว่ากลุ่มตัวอย่างก่อนสัมผัสสารละลายที่ทำการศึกษาแม้จะเป็นตัวอย่างจากกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ใช้สารละลายกรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 (กลุ่ม 0%) และค่าสีของเนื้อทุกกลุ่มที่ทำการศึกษาจะเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องเมื่ออายุของการเก็บรักษาเนื้อนานขึ้น ทั้งนี้ค่าสีของเนื้อที่เพิ่มขึ้นในกลุ่มที่มีการสัมผัสสารละลายกรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ที่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิสูง (30 - 35°ซ) ค่าสีของเนื้อจะสูงกว่า หรือเนื้อมีสีซีดกว่ากลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในทันทีที่เนื้อสัมผัสกับสารละลายที่ทำการทดสอบที่ชั่วโมงที่ 0 ของการศึกษา โดยจะมีค่าเท่ากับ 53.40 และ 53.50 ในกลุ่มที่มีการใช้สารละลายกรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ที่ระดับ 640 และ 1280 AU/ml ตามลำดับ ทั้งนี้ความแตกต่างระหว่างกลุ่มทั้ง 2 นี้มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ซึ่งแสดงให้เห็นว่า การใช้ pediocin PA – 1 ในระดับที่สูงขึ้น จะมีผลต่อค่าสีของเนื้อที่เพิ่มมากขึ้นที่อุณหภูมิของการเก็บรักษาเนื้อที่สูง (30 - 35°ซ) แต่การเก็บเนื้อที่อุณหภูมิต่ำ (0 - 4°ซ) จะไม่พบการเปลี่ยนแปลงของค่าสีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) กลุ่มควบคุมหรือกลุ่มที่ใช้สารละลายน้ำกลั่นเพียงอย่างเดียว พบว่า การเก็บเนื้อที่อุณหภูมิสูงขึ้นจะเริ่มมีผลทำให้เนื้อมีสีซีดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บถึงชั่วโมงที่ 3 โดยจะพบว่า การเก็บเนื้อที่อุณหภูมิสูง (30 - 35°ซ) ค่าสีของเนื้อจะสูงที่สุด (53.50) และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่เก็บที่อุณหภูมิต่ำกว่าทั้ง 2 กลุ่ม ซึ่งกลุ่มที่เก็บที่อุณหภูมิ 10 - 15°ซ และกลุ่มที่เก็บที่อุณหภูมิ 0 - 4°ซ พบว่า ค่าสีของเนื้อไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แสดงว่าอุณหภูมิของการเก็บเนื้อที่สูงขึ้นมีส่วนทำให้ค่าสีของเนื้อเพิ่มสูงขึ้น และการใช้สารละลายกรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 จะมีส่วนช่วยทำให้ค่าสีของเนื้อเพิ่มมากขึ้น ทั้งนี้ การใช้กรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ที่จะทำให้สีของเนื้อไม่เปลี่ยนแปลงอยู่ที่ระดับความเข้มข้น 640 AU/ml และอุณหภูมิในการเก็บสูงได้ถึง 10 - 15°ซ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 แสดงผลของกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซิน อุณหภูมิ และระยะเวลาการเก็บรักษาต่อค่าสีของเนื้อ (L*) ของเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน

ชั่วโมงที่ทำการศึกษา	ค่าความสว่างของสีเนื้อ (L*)								
	สารละลายกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซิน								
	0%			1% + pediocin PA – 1 640 AU/ml			1% + pediocin PA – 1 1280 AU/ml		
	อุณหภูมิการเก็บรักษา (°ซ)								
	0-4	10-15	30-35	0-4	10-15	30-35	0-4	10-15	30-35
ก่อนจุ่มสารละลาย	52.37^{ก}	52.41^{ก}	52.42^{ก}	52.35^{ก}	52.40^{ก}	52.38^{ก}	52.36^{ก}	52.41^{ก}	52.35^{ก}
0	53.22^{ข}	53.34^{ข}	53.35^{ข}	53.24^{ข}	53.36^{ขค}	53.40^{ค}	53.40^{ขค}	53.43^{ขค}	53.50^{ง}
3	53.40^{ค}	53.46^{คง}	53.50^{ง}	53.47^{คง}	53.51^{ง}	53.58^{งจ}	53.61^{งจ}	53.66^{จ}	53.71^{จฉ}
6	53.45^{คง}	53.52^{ง}	53.57^{งจ}	53.62^{งจ}	53.71^{จฉ}	53.79^{ฉ}	53.72^{จฉ}	53.79^{ฉ}	53.92^{ชช}
12	53.52^{ง}	53.56^{งจ}	53.64^{งจ}	53.65^{จ}	53.74^{จฉ}	53.81^{จฉช}	53.77^{ฉ}	53.85^{ช}	54.03^{ช}

$^{ก-ช}$ อักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)



ภาพที่ 4.6 แสดงผลของกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซิน อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บรักษาต่อค่าสี (L*) ของเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน

4.3 การทดลองที่ 3 การศึกษาผลของการใช้กรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐานที่มาจากชิ้นส่วนใหญ่ต่างกัน

จากการทดลองใช้กรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซิน 3 ระดับ คือ 0%, 1% กรดแลคติคร่วมกับ pediocin PA – 1 640 AU/ml และ 1% กรดแลคติคร่วมกับ pediocin PA – 1 1280 AU/ml เพื่อลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนเนื้อสุกร 3 ชนิด คือ สันคอ (Boston shoulder) สันนอก (Loin) และสามชั้น (Belly) เพื่อศึกษาถึงอิทธิพลของกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินต่อการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ ค่า pH และสีเนื้อ (L*) ผลการทดลองเป็นดังนี้

4.3.1 อิทธิพลของกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินต่อปริมาณจุลินทรีย์บนชิ้นส่วนเนื้อต่างกัน

จากการตรวจสอบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวเนื้อก่อนการสัมผัสสารละลายพบว่า บนผิวเนื้อสุกรส่วนสันคอมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์มากที่สุด คือ 7.05 log CFU/ตร.ซม. ส่วนเนื้อที่มีปริมาณจุลินทรีย์รองลงมาคือ สันนอกและสามชั้น โดยมีค่าเท่ากับ 6.69 log CFU/ตร.ซม. และ 5.87log CFU/ตร.ซม. ตามลำดับ ($P<0.01$) ดังแสดงในตารางที่ 4.7 และภาพที่ 4.7

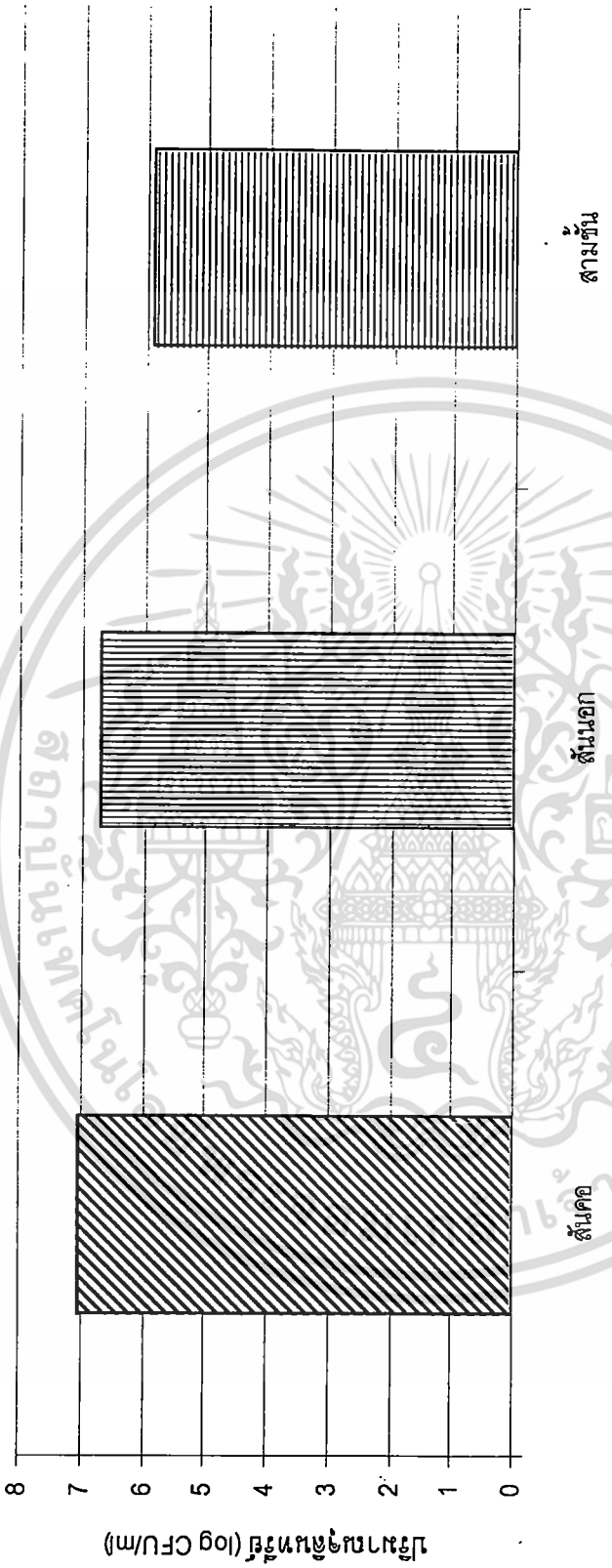
ตารางที่ 4.7 แสดงปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนเนื้อชิ้นส่วนต่างๆ ก่อนการสัมผัสสารละลาย

ชิ้นส่วนเนื้อ	ปริมาณจุลินทรีย์ (log CFU/ตร.ซม.)
สันคอ (Boston shoulder)	7.05[ก]
สันนอก (Loin)	6.69[ข]
สามชั้น (Belly)	5.87[ค]

[ก-ค] อักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$)

ผลจากการทดสอบตัวอย่างเนื้อที่มาจากส่วนสันคอ สันนอก และสามชั้น ภายหลังการสัมผัสสารละลายกรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 2 ระดับ และกลุ่มที่ไม่ใช้สารละลายกรด แลคติค 1% และ pediocin PA – 1 (0%) ซึ่งชิ้นเนื้อจะได้รับการสัมผัสน้ำกลั่น ผลการทดลองในตารางที่ 4.8 และภาพที่ 4.8 แสดงให้เห็นว่า การใช้สารละลายกรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 จะช่วยลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวเนื้อในทุกชิ้นส่วนเนื้อเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (0%) ที่ไม่ใช้สารละลายกรดแลคติค 1% และ pediocin PA – 1 ($P<0.01$) ทั้งนี้ การใช้สารละลายกรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ที่ระดับความเข้มข้น 640 AU/ml มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.7 แสดงปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในดินก่อนปลูกพืช | งเดนเหมือนกันตามแนวตั้งแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธีของดันแคน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ไม่ต่างจากกลุ่มที่ใช้ที่ระดับความเข้มข้น 1280 AU/ml นอกจากนี้ ผลการทดลองยังแสดงให้เห็นว่าทุกกลุ่มที่ทดลองใช้และไม่ใช้สารละลายกรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ปริมาณการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์บนผิวเนื้อของชิ้นส่วนสันคอสูงที่สุด รองลงมา คือ สันนอก และชิ้นส่วนที่มีการปนเปื้อนน้อยที่สุด คือ สามชั้น

ตารางที่ 4.8 แสดงอิทธิพลร่วมของกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินและเนื้อชิ้นส่วนต่างๆ ต่อปริมาณจุลินทรีย์บนเนื้อสุกร

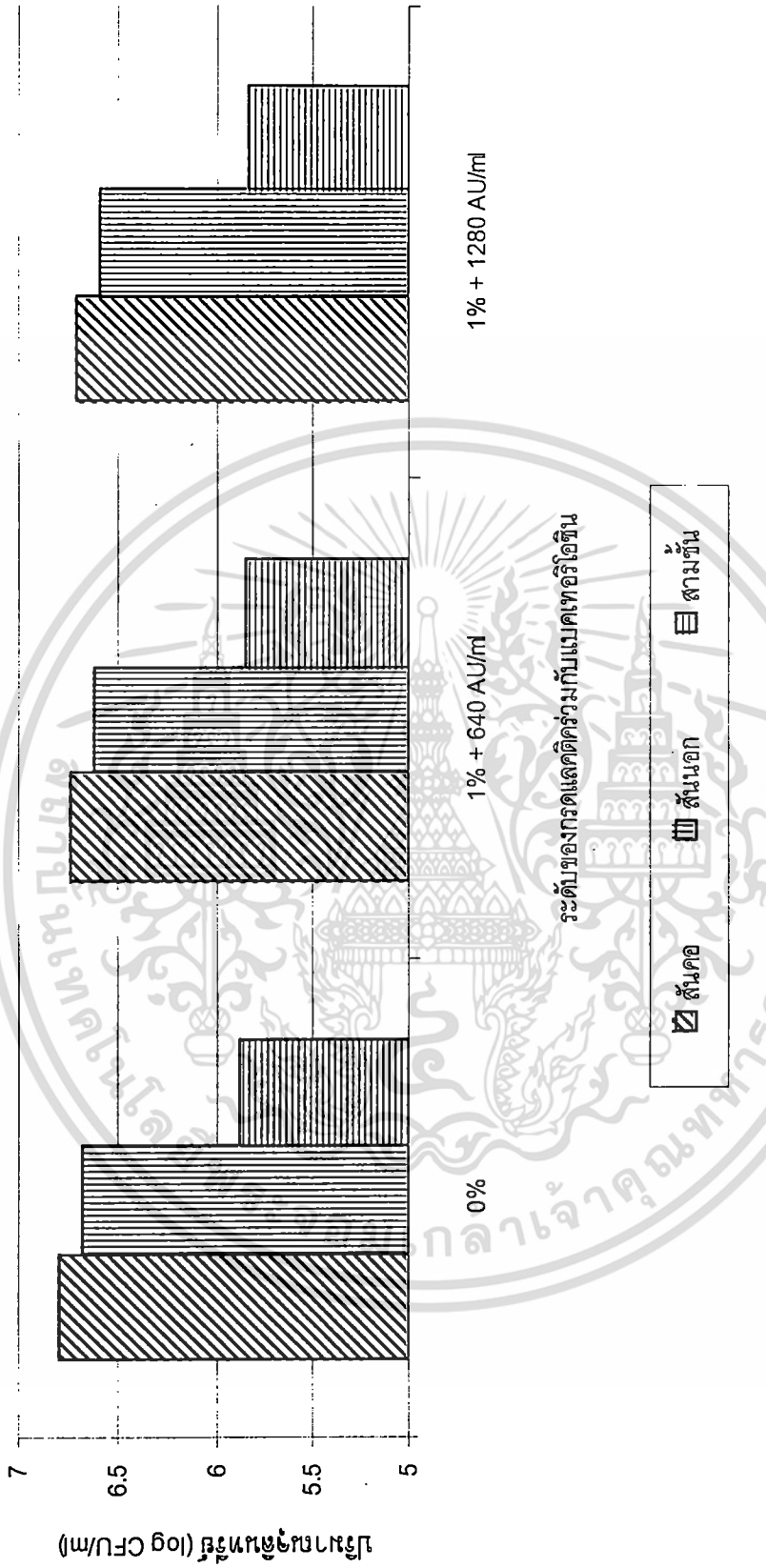
ชิ้นส่วนเนื้อ	ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ (log CFU/ตร.ซม.)		
	0 %	1% + pediocin PA – 1 640 AU/ml	1% + pediocin PA – 1 1280 AU/ml
สันคอ	6.80[ฉ]	6.74[จ]	6.71[งจ]
สันนอก	6.67[ง]	6.61[ค]	6.58[ค]
สามชั้น	5.87[ข]	5.85[ก]	5.83[ก]

[ก-ฉ] อักษรที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$)

4.3.2 อิทธิพลของกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินต่อค่า pH ของเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐานที่มาจากชิ้นส่วนใหญ่ต่างกัน

ผลการศึกษาดังแสดงไว้ในตารางที่ 4.9 และภาพที่ 4.9 ซึ่งพบว่าค่า pH ของเนื้อสุกรส่วนสันคอ (Boston shoulder) ในกลุ่มควบคุม กลุ่มสัมผัสกรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 640 AU/ml และกลุ่มสัมผัสสารละลายกรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 1280 AU/ml นั้นมีค่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P>0.05$) คือมีค่าเท่ากับ 5.81 5.78 และ 5.75 ตามลำดับ ส่วนค่า pH ของเนื้อสุกรส่วนสันนอก (Loin) ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มสัมผัสสารละลายกรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 640 AU/ml นั้นมีค่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ซึ่งมีค่า pH เท่ากับ 5.87 และ 5.84 ตามลำดับ แต่ทั้ง 2 กลุ่มมีค่า pH สูงกว่ากลุ่มสัมผัสกรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 1280 AU/ml อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ซึ่งมีค่า pH เท่ากับ 5.80 ในขณะที่ค่า pH ของเนื้อสุกรส่วนสามชั้น (Belly) พบว่า ในทั้ง 3 กลุ่มนั้นไม่มีความแตกต่างกัน ($P>0.05$) และยังพบว่าชิ้นส่วนสันคอของทุกกลุ่มที่ทดลองใช้และไม่ใช้กรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 มีค่า pH ต่ำกว่าชิ้นส่วนสามชั้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ยกเว้นกลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 1280 AU/ml ที่พบว่าค่า pH ไม่ต่างกัน ทั้งนี้ ค่า pH ของเนื้อสันนอกของทุกกลุ่มที่ทดลองใช้และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.8 แสดงอิทธิพลร่วมของกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินและเนื้อสับต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนเนื้อสุกร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไม่ใช้สารละลายกรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 จะไม่ต่างจากกลุ่มเนื้อสันคอและเนื้อสามชั้น

ตารางที่ 4.9 แสดงอิทธิพลร่วมระหว่างกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินและชิ้นเนื้อที่มาจากชิ้นส่วนต่างกันต่อค่า pH ของเนื้อ

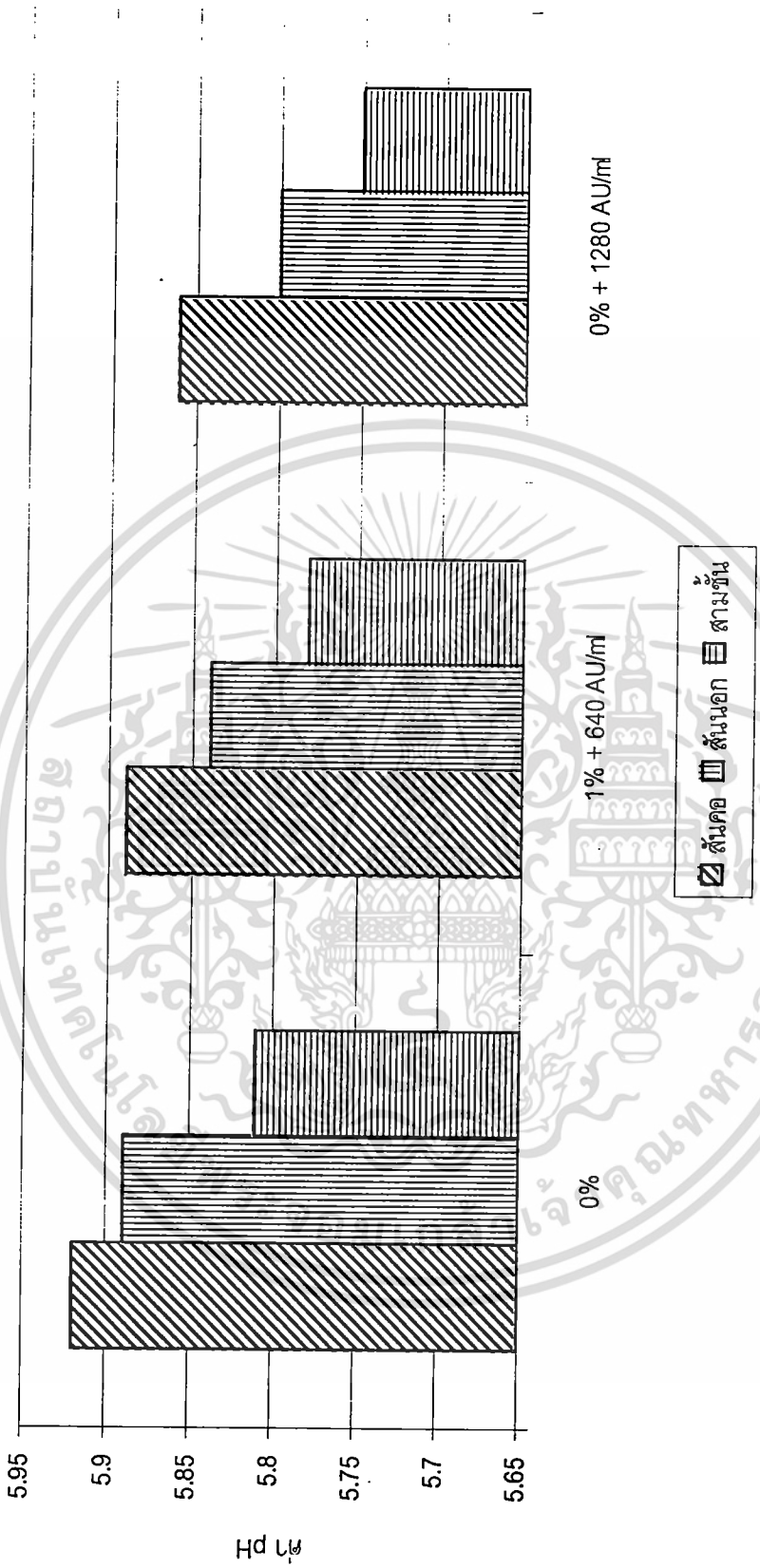
ชิ้นส่วนเนื้อ	ค่า pH ของเนื้อส่วนต่างๆ		
	กรดแลคติค + pediocin PA – 1		
	0%	1% + 640 AU/ml	1% + 1280 AU/ml
สันคอ	$5.92^{ข}$	$5.89^{ข}$	$5.86^{กข}$
สันนอก	$5.89^{กข}$	$5.84^{กข}$	$5.80^{ก}$
สามชั้น	$5.81^{ก}$	$5.78^{ก}$	$5.75^{ก}$

$^{ก \text{ และ } ข}$ อักษรที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

4.3.3 อิทธิพลของกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินต่อสีเนื้อ (L*) ของเนื้อสันนอกสุกรที่มาจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน

จากการศึกษาพบว่า เนื้อสันนอกก่อนสัมผัสสารละลายกรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 2 ระดับ และสัมผัสน้ำกลั่น มีค่าสี (L*) ไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) เมื่อสัมผัสสารละลายกรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 1280 AU/ml มีแนวโน้มที่จะมีสีเนื้อ (L*) สูงขึ้นไปตามระดับความเข้มข้นของ pediocin PA – 1 ที่เพิ่มขึ้น คือ ในกลุ่มควบคุม (0%) กลุ่มสัมผัสสารละลายกรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 640 AU/ml และกลุ่มสัมผัสสารละลายกรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 1280 AU/ml มีค่าสีเนื้อเท่ากับ 52.07, 54.11 และ 56.07 ตามลำดับ ซึ่งจะพบว่า กลุ่มสัมผัสกรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 1280 AU/ml มีสีเนื้อมากกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มสัมผัสสารละลายกรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 640 AU/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.10 และภาพที่ 4.10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.9 แสดงอิทธิพลร่วมของกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินและเนื้อชิ้นส่วนต่างๆ ต่อค่า pH ของเนื้อสุกร

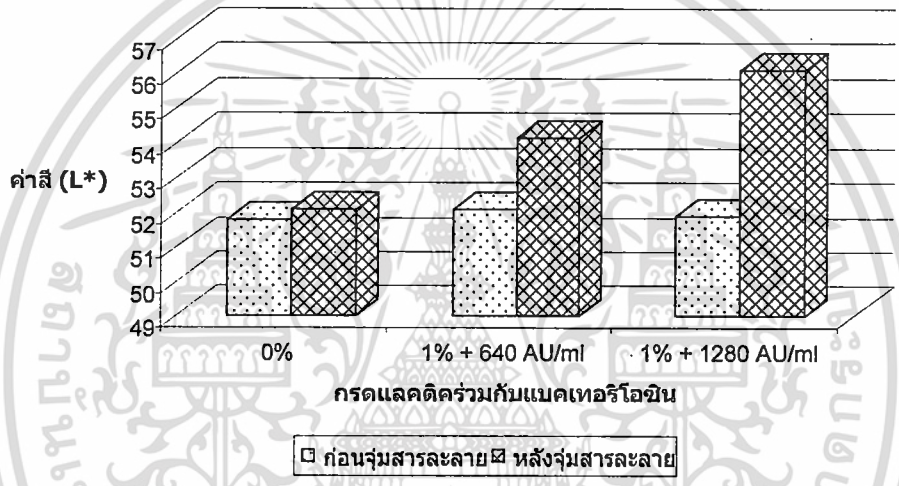
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.10 แสดงอิทธิพลของกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินต่อสีของเนื้อสันนอกสุกร (L*) ที่มาจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน

เนื้อสันนอก	ค่าความสว่างของเนื้อ (L*; Lightness)		
	กรดแลคติค + pediocin PA – 1		
	0%	1% + 640 AU/ml	1% + 1280 AU/ml
ก่อนสัมผัสสารละลาย[1/]	51.76	52.09	51.88
หลังสัมผัสสารละลาย	52.07[ข]	54.11[ข]	56.07[ก]

[ก และ ข] อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

[1/] มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)



ภาพที่ 4.10 อิทธิพลของกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินต่อสีของเนื้อสันนอกสุกร (L*) จากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 ผลของการใช้กรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินในการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* Derby *Salmonella* Anatum และ *Staphylococcus aureus* ในหลอดทดลอง *(in vitro* test)

ผลการศึกษาประสิทธิภาพของสารละลายกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินในการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* Derby *Salmonella* Anatum และ *Staphylococcus aureus* โดยมีปริมาณเชื้อเริ่มต้นประมาณ 4 log CFU/ml สาเหตุที่ต้องถ่ายเชื้อเริ่มต้นในระดับนี้เนื่องจากจากรายงานการสำรวจการปนเปื้อนของเชื้อ Salmonella ในเนื้อไก่และเนื้อหมู ในปี 2540 ของสุมาลี บุญมาและนพรัตน์ หนานริม พบว่าโดยทั่วไปแล้วในเนื้อสัตว์จะมีเชื้อ Salmonella เฉลี่ยแล้วประมาณ 4 - 5 log CFU/กรัม ซึ่งจากการศึกษาพบว่า

5.1.1. ผลของกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินต่อการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* Derby ในหลอดทดลอง (*in vitro* test)

จากการทดลองใช้กรดแลคติค 1% แบคเทอริโอซิน pediocin PA – 1 และ กรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ระดับต่างๆ นั้น พบว่า การใช้ pediocin PA – 1 ร่วมกับกรดแลคติค 1% นั้น สามารถลดปริมาณเชื้อ *S.* Derby ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่าการใช้ pediocin PA – 1 หรือกรดแลคติค 1% แต่เพียงอย่างเดียว ซึ่งจะเห็นได้ว่าในทันทีที่เชื้อสัมผัสกับสารละลายนั้น การใช้กรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ในระดับความเข้มข้นที่สูง คือ 640 และ 1280 AU/ml นั้น จะสามารถลดปริมาณเชื้อลงได้มากกว่าการใช้กรดแลคติค 1% เพียงอย่างเดียวถึง 0.13 และ 0.16 log CFU/ml ตามลำดับ และลดลงได้มากกว่าการใช้ peidiocin PA – 1 ที่ระดับเดียวกันนี้เพียงอย่างเดียวถึง 0.13 และ 0.11 log CFU/ml ตามลำดับ แต่การใช้ pediocin PA – 1 ที่ระดับ 320 AU/ml พบว่า เชื้อ *S.* Derby จะมีปริมาณลดลงเมื่อเชื้อได้มีเวลาสัมผัสกับสารละลายนาน 6 ชั่วโมง ซึ่งผลการทดลองที่ได้นี้สอดคล้องกับการทดลองของ Cutter *et al.* (1995) ที่ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของแบคเทอริโอซินไนซิน (Nisin) ในการลดปริมาณเชื้อ *S.* Typhimurium โดยพบว่าที่ชั่วโมงแรกของการศึกษา เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของไนซินจาก 5000 IU/ml เป็น 10000 IU/ml จะสามารถลดปริมาณเชื้อ *S.* Typhimurium ลงได้ 0.08 log CFU/ml อีกทั้งยังมีแนวโน้มไปในทางเดียวกับการทดลองของ Vignalo *et al.* (2000) ที่ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของแบคเทอริโอซินที่ผลิตจากเชื้อแบคทีเรียแลคติค 3 ชนิดในการลดปริมาณเชื้อ *Listeria monocytogenes* และ *Listeria innocua* ซึ่งพบว่า การลดลงของเชื้อทั้ง 2 ชนิดจะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นไปได้มากขึ้นเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของแบคเทอริโอซินทั้ง 3 ชนิดนี้ครั้งละ 1 เท่าตัว และยังจะเห็นได้อีกว่า การใช้กรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 เพียงอย่างเดียวนั้น ให้ประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อสูงกว่าการใช้ pediocin PA – 1 เพียงอย่างเดียวซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Garriga *et al.* (1998) ที่ทำการทดลองใช้สารแบคเทอริโอซินที่ผลิตจากแบคทีเรียแลคติคจากลำไส้ของไก่มาใช้ในการลดปริมาณเชื้อ *S.* Typhimurium และ *S.* Enteritridis ในหลอดทดลองโดยใช้ร่วมกับกรดแลคติค 2% พบว่า ปริมาณเชื้อจะสามารถลดลงได้มากกว่า 5 log CFU/ml ตั้งแต่ชั่วโมงแรกของการศึกษา ซึ่งจากการทดลองในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า pediocin PA – 1 และกรดแลคติค 1% มีอิทธิพลในการส่งเสริมประสิทธิภาพต่อกัน (synergistic effects) โดยอาจจะไปช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการทำลายเซลล์ของจุลินทรีย์ เนื่องจากแบคเทอริโอซินจะไปมีผลทำให้เกิดรูที่เยื่อหุ้มของไซโตพลาสซึม และจากรายงานของ McAuliffe *et al.* (1998) พบว่าการใช้ lacticin 3147 มีผลทำให้เกิดรูที่เยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ K^+ ions และอนินทรีย์ฟอสเฟต และกรดแลคติคจะซึมเข้าไปทำให้เกิดสภาพความเป็นกรดภายในเซลล์ สภาพแวดล้อมจึงไม่เหมาะสมกับการดำรงชีวิตของเซลล์ (ผุสดี ตังวัชรินทร์. 2542ข) ในขณะที่การใช้สารอนินทรีย์บางชนิดก็สามารถทำให้เกิด synergistic effects กับแบคเทอริโอซินได้เช่นกัน ดังการทดลองของ Ogunbanwo *et al.* (2003) ที่ใช้สารแบคเทอริโอซินจากเชื้อ *Lactobacillus brevis* OG1 ร่วมกับโซเดียมฟอสเฟต และไตรโซเดียมฟอสเฟต พบว่าสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อ *Listeria monocytogenes* ได้ดีขึ้น แต่การใช้กรดแลคติค 1% เพียงอย่างเดียวนั้นไม่มีผลในการลดเชื้อ *S.* Derby ถึงแม้ว่าจะปล่อยให้เชื้อสัมผัสกับสารละลายนานถึง 30 ชั่วโมงก็ตาม ซึ่งสอดคล้องกันกับการทดลองของคมแข พิลาสมบัติ (2540) ที่พบว่าการใช้กรดแลคติค 1% จะให้ประสิทธิภาพในการลดเชื้อ S. Derby น้อยกว่าการใช้ที่ระดับ 2 และ 3% โดยพบว่าการใช้ที่ระดับ 1% จะตรวจไม่พบเชื้อเมื่อผ่านไปถึง 48 ชั่วโมง ในขณะที่การใช้ที่ระดับ 3% จะตรวจไม่พบเชื้อตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0

5.1.2 **ผลของกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินต่อการลดปริมาณเชื้อ** *Salmonella* Anatum **ในหลอดทดลอง (*in vitro* test)**

จากการทดลองใช้กรดแลคติค 1% แบคเทอริโอซิน pediocin PA – 1 และ กรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ระดับต่างๆ นั้น พบว่า การใช้ pediocin PA – 1 ร่วมกับกรดแลคติค 1% ให้ผลในการลดปริมาณเชื้อ *S.* Anatum ไม่แตกต่างจากการใช้ pediocin PA – 1 หรือกรดแลคติค 1% เพียงอย่างเดียว และพบว่า การใช้ pediocin PA – 1 ในระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้น คือ 640 และ 1280 AU/ml นั้นจะสามารถลดปริมาณเชื้อ S. Anatum ได้มากขึ้นซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Cutter et al. (1995) เช่นเดียวกัน แต่จากการทดลองนี้พบว่าเมื่อทำการเปรียบเทียบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณเชื้อที่ระดับความเข้มข้นของ pediocin PA – 1 สูงแล้วพบว่าไม่แตกต่างกัน และยังพบอีกว่า การใช้กรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ที่ระดับความเข้มข้นสูงก็ไม่มีผลทำให้ประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อดีขึ้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่า กรดแลคติค 1% และ pediocin PA – 1 ไม่มี synergistic effects ต่อกันในการยับยั้งเชื้อ *S.* Anatum สาเหตุที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากเชื้อ *S.* Anatum มีความไว (Sensitivity) กับ pediocin PA – 1 ได้น้อยกว่าเชื้อ S. Anatum ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Shah *et al.* (2001) ที่ทดลองใช้สารแบคเทอริโอซินในการลดปริมาณเชื้อ *S.* Enterica และ *S.* Gallinary จากลำไส้เล็กของไก่ พบว่า เชื้อ *S.* Gallinary มีความไวกว่าต่อแบคเทอริโอซินมากกว่า *S.* Enterica อย่างเห็นได้ชัด และจากการทดลองของ Bromberg *et al.* (2004) ที่ใช้สารแบคเทอริโอซินที่ได้จากแบคทีเรียแลคติคจากเนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อในการลดปริมาณเชื้อ Listeria 2 ชนิดก็พบว่า เชื้อทั้ง 2 มีความไวต่อแบคเทอริโอซินต่างกัน อย่างไรก็ตาม พบว่ากรดแลคติค 1% สามารถลดปริมาณเชื้อ *S.* Anatum ได้ใกล้เคียงกับการใช้ pediocin PA – 1 ที่ระดับ 320 AU/ml เพียงอย่างเดียว แสดงให้เห็นว่าการใช้ pediocin PA – 1 ที่ระดับนี้สามารถลดปริมาณเชื้อ *S.* Anatum ได้ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อ *S.* Derby

5.1.3 ผลของกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินต่อการลดปริมาณเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในหลอดทดลอง (*in vitro* test)

จากการทดลองใช้กรดแลคติค 1% แบคเทอริโอซิน pediocin PA – 1 และ กรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ระดับต่างๆ นั้น พบว่า การใช้กรดแลคติค 1% เพียงอย่างเดียว สามารถลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่าการใช้ pediocin PA – 1 แต่เพียงอย่างเดียว สาเหตุที่เป็นเช่นนี้เนื่องจาก Swetwiwathana and Lotong (1999) รายงานไว้ว่า pediocin PA – 1 ที่ผลิตได้จาก *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 นี้ จะมีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มแกรมบวกแต่จะไม่ยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Schillinger and Lucke (1989) ที่ทดลองใช้แบคเทอริโอซินที่ผลิตจากเชื้อ *Lactobacillus sake* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ซึ่งก็พบว่าแบคเทอริโอซินไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ได้เช่นกัน แต่เมื่อได้ทำการทดลองต่อโดยใช้กรดอินทรีย์บางชนิดร่วมกับแบคเทอริโอซิน พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อได้ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Helander *et al.* (1997) และ Swetwiwathana *et al.* (2001) และยังสอดคล้องกับการทดลองของ Dimitriva – moats *et al.* (2004) ที่ได้ทดลองใช้ไนซินที่ผลิตจากเชื้อ *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 1154 ในการลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* และ *Listeria monocytogenes* พบว่า ที่ชั่วโมงแรกของการทดลองปริมาณเชื้อ *S. aureus* ในหลอดทดลองไม่พบการลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อ *Listeria monocytogenes* เช่นเดียวกัน และการใช้กรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 320 AU/ml พบว่า ไม่ทำให้ประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* สูงขึ้น แต่จะพบว่า การใช้ pediocin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

PA – 1 ที่ระดับสูงขึ้นคือ 640 และ 1280 AU/ml ร่วมกับกรดแลคติค 1% มีผลให้ประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* ดีขึ้น แสดงให้เห็นว่า กรดแลคติค 1% และ pediocin PA – 1 จะแสดงอิทธิพลในการส่งเสริมประสิทธิภาพต่อกัน (synergistic effects) ในการลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* ที่ระดับความเข้มข้นของ pediocin PA – 1 สูง นอกจากนี้ กรดแลคติค 1% สามารถลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* ได้ 0.11 log CFU/ml ในชั่วโมงที่ 24 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของคมแข พิลาสมบัติ (2542) ที่พบว่า การใช้กรดแลคติค 1% สามารถลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* ที่ชั่วโมงที่ 24 ของการศึกษาถึง 0.49 log CFU/ml โดยมีปริมาณเชื้อเริ่มต้นอยู่ที่ 8 log CFU/ml ในขณะที่การทดลองนี้มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นอยู่ที่ 4 log CFU/ml ซึ่งประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์นั้นก็ขึ้นอยู่กับปริมาณเชื้อเริ่มต้น หากมีปริมาณเชื้อเริ่มต้นมากก็จะเห็นประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อได้มากกว่า

เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดปัญหาทางด้านการสาธารณสุขของโรงฆ่าสัตว์และโรงงานผลิตอาหาร รวมถึงซากสัตว์ ที่ใช้เป็นวัตถุดิบอาหาร ก่อให้เกิดโรคที่เกี่ยวกับทางเดินอาหาร จากการทดลองของ Sue *et al.* (1989) ที่ทำการสกัดสารแบคเทอริโอซินจากเชื้อ *Lactococcus lactis* และ *Pediococcus pentosaceus* เพื่อยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษบางชนิดเช่น *Clostridium Perfringens*, *S. aureus*, *E. coli* 0157:H7 และ *Salmonella* spp. พบว่า สามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ แต่จะไม่สามารถยับยั้งแกรมลบบางชนิดได้

5.2 ผลของการใช้กรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน ค่า pH และค่าความสว่างของสีเนื้อ (L*) ที่อุณหภูมิการเก็บต่างกัน

5.2.1 ผลของการใช้กรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐานที่อุณหภูมิการเก็บต่างกัน

ผลการศึกษาอิทธิพลของสารละลายกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินและอุณหภูมิการเก็บต่อปริมาณจุลินทรีย์บนผิวเนื้อ พบว่า การเก็บเนื้อที่อุณหภูมิ 0 - 4°ซ นั้นพบว่าจะทำให้ปริมาณจุลินทรีย์บนผิวเนื้อต่ำที่สุดแม้ในกลุ่มควบคุมที่ไม่ใช้กรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินในทุกชั่วโมงของการศึกษา เนื่องจากความเย็นจะเป็นตัวชะลอการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด มีผลทำให้สภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมกับการเจริญของจุลินทรีย์ โดยจะช่วยขยายเวลาระยะ lag phase ให้นานขึ้นไปอีก สอดคล้องกับรายงานของ Marshall (1996) ที่พบว่าเมื่อทำการลดอุณหภูมิลงทุก 10 °ซ จะมีผลในการยืดระยะ lag phase ของจุลินทรีย์ และเมื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุณหภูมิลดต่ำลงจนต่ำกว่าจุดเยือกแข็ง กิจกรรมภายในเซลล์ของจุลินทรีย์จะไม่สามารถทำงานได้ ผลการทดลองใช้กรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 จากการศึกษานี้จะเห็นได้ว่า การเก็บเนื้อที่อุณหภูมิ 10-15°ซ จะสามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ลงได้มากกว่ากลุ่มควบคุมเมื่อใช้ pediocin PA – 1 ในระดับความเข้มข้นสูง (1280 AU/ml) โดยในกลุ่มควบคุมภายในชั่วโมงแรก (0 ชั่วโมง) ของการศึกษานี้จะพบว่า เนื้อกลุ่มควบคุมที่อุณหภูมิ (10-15°ซ) จะมีปริมาณจุลินทรีย์ 6.66 log CFU/ตร.ซม. แต่เมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อที่อุณหภูมิเดียวกันที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ในระดับ 640 และ 1280 AU/ml จะพบว่ามีปริมาณจุลินทรีย์น้อยกว่าโดยมีค่าเท่ากับ 6.58 และ 6.53 log CFU/ตร.ซม. ตามลำดับ แต่เมื่อผ่านชั่วโมงแรกของการเก็บรักษา จะพบว่ากรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 จะลดปริมาณเชื้อต่อไปไม่ได้ ในขณะที่กลุ่มควบคุม (สัมผัสน้ำกลั่น) จะสามารถควบคุมปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ให้คงที่ได้จนถึงชั่วโมงที่ 12 ที่อุณหภูมิ 30-35°ซ ซึ่งการทดลองของผุสดี ดังวัชรินทร์ (2542) พบว่าเนื้อในกลุ่มควบคุมที่สัมผัสน้ำกลั่นสามารถควบคุมปริมาณเชื้อ *S.* Derby ไว้ได้นาน 5 วัน ที่อุณหภูมิ 4°ซ ทั้งนี้งานวิจัยของ Rozum and Murer (1997) ที่ได้ทำการทดลองพ่นสารละลายแบคเทอริโอซินลงบนเนื้ออกไก่แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่างๆ กัน พบว่า เมื่อความเข้มข้นของสารละลายแบคเทอริโอซินมากขึ้น จะช่วยยืดระยะเวลาการเก็บรักษาเนื้อออกไปได้นานขึ้นเมื่อเก็บเนื้อที่อุณหภูมิสูง (27-30°ซ) ประสิทธิภาพของกรดแลคติคร่วมกับ pediocin PA – 1 ช่วยลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคได้จริงในการทดลองแบบ *in vitro* test แต่เมื่อนำมาประยุกต์ใช้บนเนื้อสุกร พบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งไม่ดีเท่ากับการทดลองในหลอดทดลอง ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าในขณะที่จุ่มตัวอย่างเนื้อลงในสารละลายนั้น โปรตีนและไขมันที่มีอยู่ในเนื้ออาจจะเป็นตัวดักจับสารละลายเอาไว้ ทำให้สารละลายไม่สามารถแสดงประสิทธิภาพในการลดเชื้อได้อย่างเต็มที่ ซึ่งต่างจากการทดลองในหลอดทดลอง (ชลัท ศานติวรางคนา . 2542)

5.2.2 ผลของการใช้กรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินต่อค่า pH ของเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐานที่อุณหภูมิการเก็บต่างกัน

ผลการศึกษาอิทธิพลของสารละลายกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซิน และอุณหภูมิการเก็บต่อค่า pH ของเนื้อ พบว่า เมื่ออุณหภูมิการเก็บเนื้อสูงขึ้นมีผลทำให้ค่า pH ของเนื้อในกลุ่มควบคุมนั้นมีค่าต่ำลงไปตามช่วงเวลาที่ทำการศึกษา โดยจะพบว่าเนื้อที่เก็บที่อุณหภูมิ 30-35°ซ นั้นค่า pH จะลดลงจนถึงค่า pH สุดท้ายของเนื้อ (Ultimate pH) ที่ชั่วโมงที่ 6 ของการศึกษา เนื่องจากอุณหภูมิที่สูงจะไปมีผลในการเร่งกระบวนการไกลโคไลซิสในเนื้อ ทำให้เกิดกรดขึ้น ค่า pH ของเนื้อจึงลดต่ำลงถึง pH สุดท้ายได้เร็ว ในขณะที่เนื้อในกลุ่มควบคุมที่เก็บที่อุณหภูมิ 0-4°ซ นั้นจะมีค่า pH ของเนื้อสูงกว่ากลุ่มที่เก็บที่อุณหภูมิสูงกว่า (10-15 และ 30-35°ซ ตามลำดับ) และเมื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พิจารณาที่เนื้อในกลุ่มที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติคและแบคเทอริโอซินทั้งที่ระดับ 640 AU/ml และ 1280 AU/ml จะพบว่า ค่า pH ของเนื้อในทุกอุณหภูมิที่เก็บรักษาจะมีการลดลงของค่า pH ค่อนข้างรวดเร็ว ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการที่กรดแลคติคและแบคเทอริโอซินมีความเป็นกรด จึงมีผลช่วยทำให้การลดลงของค่า pH ของเนื้อเร็วขึ้น สอดคล้องกันกับงานวิจัยของ Samelis *et al.* (2001) ที่ทำการทดลองใช้กรดอะซิติกร่วมกับแบคเทอริโอซินจากเชื้อ *Lactobacillus sake* ในการลดปริมาณเชื้อ *Listeria monocytogenes* บนเนื้อสดพบว่า การใช้กรดอะซิติคร่วมกับแบคเทอริโอซินในระดับสูงขึ้น ส่งผลให้การลดลงของค่า pH ในเนื้อสูงกว่ากลุ่มควบคุม ส่วนอีกเหตุผลหนึ่งก็อาจเนื่องมาจากตัวอย่างเนื้อที่ใช้ในการศึกษาเป็นเนื้อที่นำมาจากตลาดสด เนื้อที่ไม่ผ่านกระบวนการลดอุณหภูมิภายหลังกระบวนการฆ่าจนถึงการจำหน่าย จึงทำให้ค่า pH ในเนื้อถึงจุด ultimate pH ได้เร็ว

5.2.3 ผลของการใช้กรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินต่อค่าสีเนื้อสุกร (L*) จากโรงฆ่าไม่มาตรฐานที่อุณหภูมิการเก็บต่างกัน

ผลการศึกษาอิทธิพลของสารละลายกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินและอุณหภูมิต่อค่าความสว่างของสีเนื้อ (L*) พบว่า หลังจากการจุ่มสารละลายทั้ง 3 ระดับแล้ว พบว่าตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ของการศึกษาจะเห็นได้ว่า ค่าความสว่างของสีเนื้อจะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารละลายกรดแลคติคและแบคเทอริโอซินเพิ่มขึ้น และค่าความสว่างของสีเนื้อจะเพิ่มสูงขึ้นเมื่ออุณหภูมิการเก็บเนื้อเพิ่มสูงขึ้นด้วย ซึ่งจะเห็นได้ว่า เนื้อที่เก็บที่อุณหภูมิสูง (30-35^{o}ซ) จะมีค่าความสว่างของสีเนื้อสูงกว่าเนื้อที่เก็บที่อุณหภูมิต่ำ (0-4^{o}ซ และ 10-15^{o}ซ) ในทุกระดับความเข้มข้นของสารละลายกรดแลคติคและแบคเทอริโอซิน โดยเฉพาะตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 จนถึงชั่วโมงที่ 12 ของการศึกษาจะพบว่าเนื้อที่เก็บที่อุณหภูมิ 30-35^{o}ซ ในกลุ่มที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 1280 AU/ml นั้นมีค่าความสว่างของสีเนื้อสูงที่สุด (54.03) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Bayles *et al.* (1996) ที่ทดลองใช้กรดอะซิติคร่วมกับไนซินในการลดปริมาณเชื้อ *Listeria monocytogenes* บนเนื้อสัตว์ 2ชนิด (เนื้อวัวและเนื้อหมู) ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิต่างๆ ซึ่งให้ผลการทดลองคล้ายคลึงกับการทดลองนี้โดยที่ Bayles *et al.* ให้เหตุผลว่า เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจะมีผลในการเร่งกระบวนการสลายพลังงานในกล้ามเนื้อ (Glycolysis) ซึ่งจะส่งผลให้เกิดกรดแลคติคขึ้นในเนื้อ ทำให้ค่า pH ของเนื้อลดต่ำลง และมีผลทำให้โปรตีนที่อยู่ในกล้ามเนื้อเกิดการเสื่อมสภาพ ทำให้เนื้อไม่สามารถกักเก็บน้ำเอาไว้ได้ เนื้อจึงมีน้ำซึมออกมาที่ผิวมาก ทำให้ค่าความสว่างของสีเนื้อสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.3 ผลของการใช้กรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน ค่า pH และค่าความสว่างของสีเนื้อ (L*) ที่มาจากชิ้นส่วนใหญ่ต่างกัน

ผลการศึกษาอิทธิพลของสารละลายกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซิน ต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวเนื้อสุกร ที่มาจากชิ้นส่วนต่างกัน พบว่า เนื้อสุกรที่มาจากชิ้นส่วนส่วนสันคอ (Boston Shoulder) มีปริมาณจุลินทรีย์ตั้งต้นสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อที่มาจากส่วนสันนอก (Loin) และสามชั้น (Belly) ซึ่งมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เท่ากับ 7.05, 6.69 และ 5.87 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Michael (1995) ที่กล่าวไว้ว่า ชิ้นส่วนเนื้อสุกรแต่ละชิ้นจะมีปริมาณการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ไม่เท่ากัน โดยส่วนของสันคอจะมีปริมาณการปนเปื้อนสูงที่สุด เนื่องจากบริเวณนี้เป็นตำแหน่งที่แทงคอเพื่อเอาเลือดออก และเลือดยังเป็นแหล่งอาหารที่ดีของจุลินทรีย์อีกด้วย เมื่อทำการทดสอบกับสารละลายที่ใช้ในการศึกษาทั้ง 3 ระดับ พบว่า ปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มที่สัมผัสกับสารละลายกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินนั้น ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมแต่ก็จะพบว่าการใช้ระดับของแบคเทอริโอซินสูงขึ้นจะมีผลทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ลดลงเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย (5.53 และ 5.52 log CFU/ตร.ซม.) และเมื่อทำการทดลองกับเนื้อส่วนสันนอก (Loin) และสามชั้น (Belly) ก็พบว่าการใช้กรดแลคติดร่วมกับแบคเทอริโอซินที่ระดับสูงขึ้นก็จะลดปริมาณจุลินทรีย์ลงได้อีกเพียงเล็กน้อยเช่นกัน

ผลการศึกษาอิทธิพลของสารละลายกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินที่มีต่อค่า pH ของเนื้อสุกรที่มาจากชิ้นส่วนต่างกัน พบว่ากล้ามเนื้อสุกรส่วนสันคอที่สัมผัสกับสารละลายน้ำกลั่น จะมีค่าความเป็นกรดสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อที่มาจากส่วนสันนอกและสามชั้น ส่วนเมื่อสัมผัสกับสารละลายกรดแลคติคและแบคเทอริโอซินจะแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (5.81 5.78 และ 5.75 ตามลำดับ) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ คาร เจตยะคามิน (2541) ที่ได้รายงานไว้ว่า กล้ามเนื้อส่วนสันคอของสุกรจะประกอบไปด้วยชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อชนิด red muscle fiber กล้ามเนื้อบริเวณที่ทำงานมากจะมีเส้นเลือดฝอยมาหล่อเลี้ยงมาก ทำให้เกิดปฏิกิริยาสลายพลังงานแบบใช้ออกซิเจนได้มาก โดยกล้ามเนื้อประเภทนี้จะมีค่า pH ค่อนข้างสูง เมื่อเปรียบเทียบกับกล้ามเนื้อที่เป็นพวก white muscle fiber อย่างเช่น กล้ามเนื้อสันนอกที่จะมีค่า pH ค่อนข้างต่ำกว่า ส่วนเนื้อสามชั้นนั้นที่พบว่าค่า pH ของเนื้อมีการเปลี่ยนแปลงไม่มากนักอาจเป็นเพราะว่าเนื้อส่วนนี้มีชั้นไขมันค่อนข้างมาก ซึ่งไขมันมีคุณสมบัติในการนำไฟฟ้าได้ต่ำ จึงมีค่าค่อนข้างเป็นกลาง การเปลี่ยนแปลงค่า pH จึงไม่มากนัก ภายหลังจากชิ้นเนื้อดังกล่าวสัมผัสกับสารละลายกรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 พบว่ามีผลทำให้ค่า pH ในเนื้อสุกรทุกชิ้นส่วนลดลงเนื่องจากอิทธิพลของกรดแลคติคและ pediocin PA – 1 ซึ่งมีฤทธิ์เป็นกรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการศึกษาอิทธิพลของสารละลายกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินและเนื้อสุกรชิ้นส่วนต่างกันต่อค่าความสว่างของสีเนื้อ (L*) ซึ่งเนื้อในการศึกษานี้วัดค่าสีจากกล้ามเนื้อสันนอกชนิดเดียว พบว่าภายหลังการจุ่มตัวอย่างเนื้อลงในสารละลายทั้ง 3 ระดับแล้วนำชิ้นเนื้อสันนอกไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4°ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง กรดแลคติคและแบคเทอริโอซินในระดับสูง (1280 AU/ml) จะทำให้ค่าความสว่างของสีเนื้อสูงที่สุด (56.07) ในกลุ่มที่ใช้กรดแลคติคและแบคเทอริโอซินในระดับสูง กลุ่มที่สัมผัสกรดแลคติคและแบคเทอริโอซินที่ระดับ 640 AU/ml และกลุ่มที่สัมผัสสารละลายน้ำกลั่นมีค่าเท่ากับ 54.11 และ 52.07 ตามลำดับ ($P<0.01$) ที่เป็นเช่นนี้เนื่องมาจากว่าการใช้กรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซิน จะมีผลทำให้เนื้อมีความเป็นกรดมากขึ้น เพราะกรดแลคติคและแบคเทอริโอซินมีฤทธิ์เป็นกรด ค่า pH ของเนื้อที่ต่ำกว่ามีผลทำให้ความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อด้อยลง ที่ผิวเนื้อมีน้ำซึมออกมามาก ทำให้ค่าความสว่างของสีเนื้อสูงขึ้น (Bayles *et al.* 1996)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปและข้อเสนอแนะ

6.1 สรุป

ในการศึกษาผลของการใช้สารละลายกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินในการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* Derby, *Salmonella* Anatum และ *Staphylococcus aureus* ในหลอดทดลอง (*in vitro* test) ที่ผ่านการถ่ายเชื้อให้มีปริมาณเชื้อเริ่มต้น 4 log CFU/ml เพื่อทดสอบประสิทธิภาพและหาระดับการใช้งานที่เหมาะสมที่สุดในการลดปริมาณเชื้อที่ทำการศึกษาทั้ง 3 ชนิด โดยที่เชื้อทั้ง 3 ชนิดนั้นมีความสำคัญเกี่ยวข้องกับความปลอดภัยทางด้านอาหาร ซึ่งผลการศึกษาจะใช้เป็นแนวทางในการนำไปประยุกต์ลดการปนเปื้อนในเนื้อสัตว์ต่อไป

ผลการศึกษานั้นสรุปได้ว่า การใช้กรดแลคติค 1% เพียงอย่างเดียวนั้นไม่ทำให้ปริมาณเชื้อ *S.* Derby ลดลงได้มากขึ้น ส่วนการใช้ pediocin PA – 1 เพียงอย่างเดียวนั้นจะต้องใช้ที่ระดับความเข้มข้น 640 AU/ml ขึ้นไปจึงจะให้ประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์สูงขึ้น หรือหากใช้ที่ระดับต่ำกว่านั้น (320 AU/ml) จะต้องปล่อยให้เชื้อสัมผัสสารละลายนานถึง 12 ชั่วโมงก่อน แต่ถ้าใช้กรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 แล้ว จะพบว่าประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อ *S.* Derby เพิ่มสูงขึ้นมากเนื่องมาจาก synergistic effects ระหว่างกรดแลคติคและ pediocin PA – 1 แต่เมื่อพิจารณาถึงประสิทธิภาพของกรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ในการลดปริมาณเชื้อ S. Anatum พบว่ามีประสิทธิภาพไม่แตกต่างจากการใช้กรดแลคติค 1% หรือ pediocin PA – 1 เพียงอย่างเดียว ซึ่งแสดงให้เห็นว่า กรดแลคติคและ pediocin PA – 1 ไม่เกิด synergistic effects ต่อกันในการลดเชื้อ *S.* Anatum โดยที่การใช้กรดแลคติค 1% เพียงอย่างเดียวจะให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อนี้ที่ชั่วโมงที่ 12 ส่วนการใช้ pediocin PA – 1 ที่ระดับ 320 AU/ml จะลดปริมาณเชื้อได้ที่ชั่วโมงที่ 6 และจะลดปริมาณได้มากขึ้นหากเพิ่มความเข้มข้นของ pediocin PA – 1 เป็น 640 และ 1280 AU/ml ซึ่งแสดงให้เห็นว่า pediocin PA – 1 มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *S.* Anatum ได้ดีกว่ากรดแลคติค 1% ในขณะที่ synergistic effects ระหว่างกรดแลคติคและ pediocin PA – 1 ในการลดเชื้อ *S. aureus* นั้น พบว่าจะเกิดขึ้นได้เมื่อใช้กรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ที่ความเข้มข้นสูง แต่เมื่อเปรียบเทียบการใช้ร่วมกันระหว่างที่ระดับ 640 และ 1280 AU/ml ก็พบว่าไม่แตกต่างกัน

การใช้กรดแลคติค 1% เพียงอย่างเดียวพบว่ามีประสิทธิภาพดีกว่าการใช้ pediocin PA – 1 320 AU/ml ในทันทีที่สัมผัสกับสารละลาย ส่วนการศึกษาผลของการใช้กรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐานที่อุณหภูมิการเก็บต่างกัน พบว่าการเก็บเนื้อที่อุณหภูมิ 0 - 4°ซ นั้นจะทำให้ปริมาณจุลินทรีย์บนผิวเนื้อต่ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่สุดแม้ในกลุ่มควบคุมที่ไม่ใช้กรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินในทุกชั่วโมงของการศึกษา เนื่องจากความเย็นจะเป็นตัวชะลอการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด ส่วนใช้กรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 จะเห็นได้ว่า การเก็บเนื้อที่อุณหภูมิ 10-15°ซ จะสามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ลงได้มากกว่ากลุ่มควบคุมเมื่อใช้ pediocin PA – 1 ในระดับความเข้มข้นสูง (1280 AU/ml) ในชั่วโมงแรกของการศึกษาแต่เมื่อผ่านชั่วโมงแรกของการเก็บรักษา จะพบว่ากรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 จะลดปริมาณเชื้อต่อไปไม่ได้ ในขณะที่กลุ่มควบคุม (สัมผัสน้ำกลั่น) จะสามารถควบคุมปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ให้คงที่ได้จนถึงชั่วโมงที่ 12 ที่อุณหภูมิ 30-35°ซ และพบว่า เมื่ออุณหภูมิการเก็บเนื้อสูงขึ้นมีผลทำให้ค่าpH ของเนื้อในกลุ่มควบคุมนั้นมีค่าต่ำลงไปตามช่วงเวลาที่ทำการศึกษา ทั้งนี้เนื้อที่เก็บที่อุณหภูมิ 30-35°ซ นั้นค่า pH จะลดลงจนถึงค่า pH สุดท้ายของเนื้อ (Ultimate pH) ที่ชั่วโมงที่ 6 ของการศึกษา ส่วนเนื้อในกลุ่มที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติคและpediocin PA - 1 ทั้งที่ระดับ 640 AU/ml และ 1280 AU/ml จะพบว่า ค่า pH ของเนื้อในทุกอุณหภูมิที่เก็บรักษาจะมีการลดลงของค่า pH ค่อนข้างรวดเร็ว และค่าความสว่างของสีเนื้อจะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารละลายกรดแลคติคร่วมกับ pediocin PA – 1 และอุณหภูมิการเก็บเนื้อเพิ่มสูงขึ้นด้วย การใช้กรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ช่วยลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคได้ดีพบสมควรเมื่อเชื้อสัมผัสกับสารละลายในหลอดทดลอง (*in vitro* test) แต่เมื่อนำมาประยุกต์ใช้บนเนื้อสุกรพบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อน้อยลง โดยที่ปริมาณเชื้อจะลดลงน้อยลงมากเมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้น และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ pediocin PA – 1 ในระดับสูงมากขึ้นประสิทธิภาพการลดลงจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อย

ผลการศึกษาผลของการใช้กรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวเนื้อสุกรที่มาจากชิ้นส่วนต่างกันจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน พบว่า ปริมาณการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์บนเนื้อสุกรที่ได้มาจากโรงฆ่าไม่ได้มาตรฐาน ซึ่งเนื้อไม่ผ่านการลดอุณหภูมิจะสูง และมีความแตกต่างกัน ทั้งนี้เนื้อสันคอ (Boston Shoulder) จะมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์สูงที่สุด ตามด้วยเนื้อสันนอก (Loin) และเนื้อสามชั้น (Belly) เนื้อทุกชิ้นส่วนที่ศึกษา มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ลดลงเมื่อสัมผัสสารละลายกรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ที่ระดับ 640 AU/ml แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นสูงขึ้นก็ไม่ทำให้ประสิทธิภาพในการลดเชื้อดีขึ้น และเมื่อเนื้อทุกชิ้นส่วนสัมผัสกับสารละลายกรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 แล้วพบว่าทำให้ค่า pH ของเนื้อลดต่ำลง ส่วนค่าสี (L*) ที่วัดได้จากเนื้อสันนอกนั้นพบว่า เมื่อระดับความเข้มข้นของกรดแลคติค 1% และ pediocin PA – 1 สูงที่สุด (1280 AU/ml) มีผลทำให้เนื้อซีดลงอย่างเห็นได้ชัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.2 ข้อเสนอแนะ

ในการนำผลที่ได้จากการทดลองนี้ไปใช้ในการปฏิบัติจริง การใช้กรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 640 AU/ml จะเหมาะสมที่สุด แม้ว่าประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์รวมบนเนื้อสุกรลดลงได้ไม่มากนัก แต่เมื่อคำนึงถึง synergistic effects ของกรดแลคติคและแบคเทอริโอซิน ซึ่งมีผลลดเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคที่สำคัญ ได้แก่ *Salmonella* Derby และ *Staphylococcus aureus* อีกทั้งประสิทธิภาพของกรดแลคติค หรือ pediocin PA – 1 แต่เพียงอย่างเดียว ก็ยังมีผลลดเชื้อ *Salmonella* Anatum การใช้ที่ระดับ 1280 AU/ml ร่วมกับกรดแลคติคจะให้ประสิทธิภาพในการลดเชื้อจุลินทรีย์ดีขึ้น แต่ก็จะมีผลกับคุณภาพเนื้อในด้านของสี และจากรายงานวิจัยที่พบว่า การใช้กรดแลคติค 2% นั้น แม้ว่าจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้มีประสิทธิภาพสูง แต่จะให้ผลในด้านสีของเนื้อเช่นกัน ทั้งนี้แนะนำให้ใช้กรดแลคติค 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 640 AU/ml ร่วมกับการเก็บเนื้อที่อุณหภูมิ 0 - 4^{o}ซ จะทำให้ประสิทธิภาพในการควบคุมปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ดีขึ้นมาก ซึ่งเชื้อทั้ง 3 นี้จะพบอยู่เป็นประจำในเนื้อสุกรที่มาจากโรงฆ่าที่ไม่ได้มาตรฐาน นอกจากนี้ การใช้ที่ระดับความเข้มข้นดังกล่าวก็ไม่ทำให้สีของเนื้อซีดลงไปจากเดิมมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

คมแข พิลาสมบัติ. 2540. "การลดปริมาณการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์บนผิวซากสุกรที่ผ่านขบวนการฆ่ามาตรฐานและไม่มาตรฐานโดยการใช้สารละลายกรดแลคติคและคลอรีน" วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาสัตวศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

คาร เจตยะคามิน. 2541. "การศึกษาเปรียบเทียบการใช้ผลผลิตจากจุลินทรีย์ สมุนไพรผสม ไบโอโทนิค® โคลีนคลอไรด์ และเบต้าอะโกนิสต์ ต่อคุณภาพของเนื้อสุกร". วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2450. "การจัดการโรงฆ่าสัตว์." ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ชลัท ศานติวรางคณา. 2542. "การคัดแยกและการศึกษาคุณสมบัติของแบคทีเรียกรดแลคติคที่ผลิตสารยับยั้งจากน้ำนมโคดิบในประเทศไทย."วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ผุสดี ตังวัชรินทร์. 2543ก. "ประสิทธิภาพของสารละลายกรดแลคติคในการลดปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* Derby และ *Staphylococcus aureus* ในหลอดอาหาร." ปัญหาพิเศษ สาขาสัตวศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ผุสดี ตังวัชรินทร์. 2543ข. "ประสิทธิภาพของสารละลายกรดแลคติคในการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* Derby และ *Staphylococcus aureus* บนเนื้อสุกร. " วิทยานิพนธ์ปริญญาโท บัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

เยาวลักษณ์ สุรพันธ์พิศิษฐ์. 2536. "เทคโนโลยีเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์. " ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

สุมาลี บุญมาและนพรัตน์ หนานริม. 2540. "การศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อ Salmonella ในผลิตภัณฑ์จากเนื้อไก่และเนื้อหมู. " **วารสารวิทยาสารเกษตรศาสตร์**. 31 (4) : 413 – 418.

สุวณีย์ สุภเวชน์. 2536. "แบคทีเรียพื้นฐาน." ตำราของคณะกรรมการข่ายงานเพื่อพัฒนาและประสานงานในด้านการสอนและการวิจัยในสาขาจุลชีววิทยา ปรสิตวิทยา และอิมมิวโนวิทยา. มหาวิทยาลัยมหิดล. 248 น.

อรนุช อุตรภิชาติ. 2530. "การคัดเลือกแบคทีเรียแลคติคซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อซัลโมเนลลาและการผลิตกล้าเชื้อผงเพื่อใช้หมักแหนม."วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Anonymous. 2001. "Food safety(animal&plantproducts)"[Online Available]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

http://www.reportprogram.com.

Alves, L., Mueller, R. A., Rowland, I.R. and Casey, N. H. 1995. "Meat Decontamination with Organic Acids II – Vacuum packed meat. " Vet Tecnica. 5 (1) : 22 – 26.

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.

Bromberg, R., Moreno, I., Zaganni, C.L., R.R. Delboni and Josiane, O. 2004. "Isolation of Bacteriocin – Producing Lactic Acid Bacteria from Meat and Meat Products and Its Spectrum of Inhibitory Activity." Braz. J. Micro. 35 : 137 – 144.

Buchanan, R. L., Lindsay, D. and Brozel, V. S. 1992. "Feasibility of Using Microbial indicator Assays to Detect Temperature Abuse in Refrigerated Meat, Poultry and Seafood Products." Food Microbiol. 9 : 279 – 301.

Callewaert, R., Hugas, M. and De Vuyst, L. 2000. "Competitiveness and Bacteriocin Production of Enterococci in The Production of Spainish – Style Dry Fermented Sausages." Int. J. Food. Microbiol. 57 : 33 – 42.

Cintas, L. M., Casaus, P., Havarstein, L.S. and Frison, L. N. 1997. "Biochemical and Genetic Characterization of Enterocin P, a Novel Sec.– Dependent Bacteriocin From *Enterococcus faecium* P13 with Abroad Antimicrobial Sprectrum." Appl. Environ. Microbiol. 63 : 4321 – 4330.

Cosby, D. E., Carven, S.E., Harrison, M. A. and Cox, M. A. 1997. "Bacterial Isolates From A Chicken Gizzard and Caeca with In Vitro Inhibitory Activity Against *Salmonella* Typhimurium. " J. Food Prot. 60 (20) : 120 – 124.

Cutter, C. N. and Siragusa, G. R. 1995. "Population Reductions of Gram – Negative Pathogens Following Treatments with Nisin and Chelators Under Various Conditions." J. Food Prot. 58 (9) : 977 – 983.

Dimitrieva – Moats, Ionita, G. C., Alotaibi, M. N. and Yuksel, G.U. 2004. "Comparative Studies on Bacteriocin Producing Lactic Acid Bacteria (LAB) That Are Active Against *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*." IFT Annual Meeting, July, 12 – 16. Las Vegas. N.Y.

El – Khateib, T., Yousf, A. E. and Ockerman, H. W. 1993. "Inactivation and Attachment of *Listeria monocytogenes* On Beef Muscle Treated with Lactic Acid and Selected

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Bacteriocins." J. Food Prot. 56 (1) : 29 – 33.

Ellerbrock, L. 1997. "Airborne Microflora in Poultry Salughtering Establishments." Food Microbiol. 14 : 527 – 531.

FAO / WHO. 1974. "Toxicology Evaluation of Some Food Additives." 461 – 465. in The 17th Report of The Joint FAO / WHO Expert Committee on Food Additives. FAO Nutrition Meeting Report Series No.53. Rome. Geneva : World Health Organization.

Franz, C. Janky, D. M., Arafa, A. S. and Harms, R. H. 1978. "Interrelationship of Lactobacillus and Zinc Bacitracin In the Diets of Turkey Poults." Poultry Sci. 57 : 1678 – 1689.

Garriga, M. Pascual, M., Monfort, J. M. and Hugas M. 1998. "Selection of Lactobacilli for Chicken Probiotic Adjuncts." J. Appl. Microbiol. 84 : 125 – 132.

Grower, J. L.. Cooksey, K. and Getty, K. J. K. 2004. "Development and Characterization Of An Antimicrobial Packaging Film Coating Containing Nisin For Inhibition of *Listeria monocytogenes*." J. Food Prot. 67 (3) : 475 – 479.

Hanlin, M. B., Kalcayanand, N., Ray, D. and Ray, B. 1993. "Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria In Combination Have Greater Antibacterial Activity." J. Food Prot. 56 : 252 – 255.

Helander, J. M., Von Wright, A. and Mattila – Sandholm, M. 1997. "Potential of Lactic Acid Bacteria and Novel Antimicrobiols Against Gram – Negative Bacteria." Trends in Food Science & Technology. (8) : 146 – 150.

Helander, M. and Mattila – Sandholm, M. 2000. "Permeability Barrier of The Gram – Negative Bacteria Outer Membrane With Special Reference To Nisin." Inter. J. Food Micro. 60 : 153 – 161.

Hill, C. 1995. "Bacteriocin : Natural Antimicrobials From Microorganisms." 23 – 29. in G.W. Goulol (ed.) New Methods of Food Preservation. Blackie Academic & Professional, London.

Huis in't veld, J, H., Knowles, J. R. and Unal, R. 1994. "Impact of Animal Husbandry and Slaughter Technologies on Mocrobial Contamination of Meat : Monitoring and Control." Meat Sci. 36 (1 and 2) : 123 – 153.

Jimenez – Diaz, R., Kios – Sanchez, R. M. Desmaz, M., Ruiz – Barba, J. L. and Piard, J.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

C. 1993. "Plantaricin S and T, Two New Bacteriocin Produced By *Lactobacillus plantarum* LPCD10 Isolated From A Green Olive Fermentation." Appl. Environ. Microbiol. 59 : 1416 – 1424.

Kim, J. W., Loyd, B. and Christopher, J. 1993. "Penetration of Salmonella Typhimurium to Skin of Turkey That Had Been Defeathering Through Three Difference System : Scanding Electron Microscopic Examination." J. Food Prot. 56 (5) : 395 – 400.

Kotula, K. L. and Pandya, Y. 1995. "Bacterial Contamination of Broiler Chicken Before Scalding." J. Food Prot. 5 (12) : 1326 – 1329.

Larkin, C. Poppe, C. McNab, B., McEwan, B., Mahdi, A. and Odumeru, J. 2004. "Antibiotic Resistance of Salmonella Isolated From Hog, Beef and Chicken Carcass Samples from Provincially Inspected Abattoirs in Ontario." J. Food Prot. 67 (3) : 448 – 455.

Laukova, A., Czikkova, S., Vasilkowa, Z., Juris, D. and Marekkova, M. 1998. "Occurrence of Bacteriocin Production Among Environmental Enterococci." Letts. Appl. Microbiol. 27 : 178 – 182.

Longdell, G. R. 1994. "Advance Technologies In The Meat Industry." Meat Sci. 36 (1 and 2) : 277 – 291.

Marshall, B. 1996. "Use of Double – Gradient Plates to Study Combined Effect of Salt, pH, Monolaurin and Temperature on *Listeria monocytogenes*." J. Food Prot. 59 : 601 – 607.

Mathieu, A. M. 1992. "Hot – Boning and Acid Decontamination : A Technology For Developing Country." Fleischwirtsch. 72 (9) : 1273 – 1275.

McAuliffe, O., P.Y. Marie, R.P. Ross, C. Hill and Abbee, T. 1998. " Lactacin 3147, a Board Spectrum Bacteriocin Which Selective Dissipates the Membrane Potential. " Appl. And Envi. Microbiol. 64(2) : 439 – 445.

Michael, D. 1995. "Housing, Husbandry and Welfare of Swine." Quick Bibliography Series. (19) : 157 – 165.

Nes, I. F., Jay, J. M., Hazel, J. R. and Christensen, J. N. 1996. "Biosynthesis of Bacteriocins From Lactic Acid Bacteria." Antinie van Leeuwenhock. 70 : 113 – 122.

Olasupo, N. A., Schillinger, U., Franz, C. M. A. P. and Holaapfel, W. H. 1994. "Bacteriocin Production By Enterococcus faecium NA01 From 'Wara' – a fermented

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Skimmed Cow Milk Product From West Africa." Lett. Appl. Microbiol. 19 : 438 – 441.

Oliveira, M. and Brito, D. 1996. "Lactic Acid Effect on The Decontamination of Sheep Meat (Lamb) Packed in Vacuum." Vet Tecnica. 6 : 30 – 33.

Pearson, A. M. and Dutson, T. R. 1986. "Meat and Poultry Microbiology." Connecticut : Avi, 1986.

Rozum, J. J. and Arthur, J. M. 1997. "Microbiological Quality of Cooked Chicken Breasts Containing Communication Available Shelf – Life Extended." Processing and Products. Wisconsin.

Shah, D.H., Roy, A. and Purohit, J.H. 2001. " Efficacy of Drugs and Probiotics on Infection Diseases Pathogen." Indian. J. of Comp. Micro. And Infect. Disea. (1) : 131 – 133.

Saide – Albornoz, J. J. 1995. "Contamination of Pork Carcass During Slaughter, Fabrication and Chilled Storage." J. Food Prot. 58 (9) : 993 – 997.

Samelis, 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.

Sammacro, M. L., Glaser, P. and Gram, L. 1997. "Prevalence of Salmonella, Listeria and Yersiniae In The Slaughterhouse Environment and On Work Surface, Equipments and Workers." J. Food Prot. 60 (4) : 367 – 371.

SAS. 1985. SAS / STAT Guide for Personal Computers, Version 6 Edition. North Carolina, USA : SAS Institute Inc.

Schillinger, U. and Lucke, F. 1989. "Antibacterial Activity of *Lactobacillus sake* Isolated From Meat." Appl. Environ. Microbiol. 55 (8) : 1901 – 1906.

SchÖbitz, R., Hen, H. C. and Fadda, S. 1999. "A Bacteriocin From *Carnobacterium piscicola* For The Control of *Listeria monocytogenes* in Vacuum – Packaged Meat." J. Food Micro. 16 : 249 – 255.

Simonella, C. A., De Velasco, M. L. G. and Frison, L. N. 1997. "Antibacterial Activity of Enterococcus Strains Against Vibrio cholerae." Letts. Appl. Microbiol. 24 : 139 – 143.

Snijders, J. M. A., Walsh, J. and Scott. J. 1985. "Lactic Acid As A Decontamination in

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Salughter and Processing Producted." **Vet Quart.** 7 (4) : 277 – 282.

Spelhaug, S. R. and Harlander, S. K. 1989. "Inhibition of Foodborne Bacterial Pathogens By Bacteriocin From *Lactobacillus lactis* and *Pediococcus pentosaceus*." J. Food Prot. 52 (12) : 856 – 862.

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.

Sundhakul, M., Dangsubha, W. and Suyanandana, P. 1975. "Thailand's Traditional Fermented Food Products : A Breif Descreption." **Thai. J. Agri. Sci.** 8 (4) : 205 – 219.

Swetwiwathana, A. and Lotong, N. 1999. "Selection of Bacteriocin Producing Lactic Acid Bacteria From Nham (Thai Fermented Meat)." **Proceeding of International Conferences on ASIAN Network on Microbial Researches. November 29 December 1, 1999. Chiangmai, Thailand. PIII / 16 : 543 – 548.**

Swetwiwathana, A., Lotong, N. and Sonomoto, K. 2000. "Isolation and Selection of Thermotolerant Bacteriocin – Producing Lactic Acid Bacteria from Nham (Thai Fermented Meat)." **Proceeding of the 2nd Seminar of Thai and Japanese Coordinator Meeting.** Yamaguchi University, Japan.

Swetwiwathana, A., Lotong, N., Fischer, A. and Sonomoto, K. 2001. "Potential For Use of Isolated Bacteriocin – Producing *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 From Nham (Thai Fermented Meat) To Control The Growth of *Salmonella* Anatum (An *In – Vitro* Study)." **The 45th International Congress of Meat Science and Technology (ICoMST) Proceeding. Volume II : 18 – 19. August 26 – 31, 2001.** Krakow, Poland.

Swetwiwathana, A., Zendo, T., Lotong, N., Nakayama, J. and Sonomoto, K. 2004. "Identification of Pediocin PA – 1 Producing Pediococcus pentosaceus TISTR 536 Isolated from Nham (Thai Fermented Meat)." **The 50th International Congress of Meat Science and Technology. August 8th – 13th 2004.**Helsinki, Finland.

Thoeger, K. 1993. "Scalding and Dehairing Technology Influence on The Bacterial Counts of Pig Carcass." **Fleischwirtsch.** 75 (10) : 1157 – 1760.

Thomas, C. J. and Mc Meekin, T. A. 2001. "Attachment of *Salmonella spp.* To Chicken

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Muscle Surface." J.Appl. Environ. Microbiol. 42 (1) : 130 – 134.

Vignalo, G. J. Palacios, M. and Farias E. 2000. "Combinated Effect of Bacteriocins on The Survival Of Various Listeria Species in Broth and Meat System." Current Micro. 41 (6) : 410 – 416.

Villani, F. G., Salzano, E., Sorrentino, O., Pepe, P. and Coppola, S. 2003. "Enterocin 226NWC, A Bacteriocin Produced By *Enterococcus faecallis* 226, Active Against *Listeria monocytogenes*." J. Appl. Bacterial. 74 : 380 – 387.

WHO. 1988. "Salmonella Control." The Role of Animal and Product Hygiene Technica Report. Geneva : World Health Organization.

Woolthuis, C. H. I. and Smulders, F. J. M. 1985. "Microbial Decontamination of Calf Carcass by Lactic Acid Sprays." J. Food Prot. 48 (10) : 832 – 837.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 7.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนการใช้กรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินในการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* Derby ในหลอดทดลอง (*in vitro* test) ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 – 30 ของการศึกษา

Source	df	SS	MS	F	Pr > F
Treatment	47	0.0126	0.1267	34.02	0.0035
A	1	0.1674	0.0588	15.46	0.0009
B	3	0.0361	0.0073	20.54	0.0534
C	5	0.1531	0.0510	13.92	0.0001
A*B	3	0.0116	0.0023	16.46	0.0045
A*C	5	0.0233	0.0061	18.33	0.0065
B*C	15	0.0314	0.0015	19.11	0.0039
A*B*C	15	0.0446	0.0446	28.32	0.0003
Error					
Corrected Total					

C.V. = 4.5624 R- square = 0.0770 Root MSE = 0.1984

หมายเหตุ A หมายถึง ระดับของสารละลายกรดแลคติค 2 ระดับ คือ 0% และ 1%

B หมายถึง ระดับของสารละลายแบคเทอริโอซิน 4 ระดับ คือ pediocin PA – 1 0 AU/ml pediocin PA – 1 320 AU/ml pediocin PA – 1 640 AU/ml และ pediocin PA – 1 1280 AU/ml

C หมายถึงระยะเวลาที่ทำการศึกษา คือ 0 6 12 18 24 และ 30 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 7.2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนการใช้กรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินใน การลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* Anatum ในหลอดทดลอง (*in vitro* test) ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 – 30 ของการศึกษา

Source	df	SS	MS	F	Pr > F
Treatment	47	0.0371	0.0355	13.16	0.0005
A	1	0.2394	0.0481	14.10	0.0012
B	3	0.0390	0.0069	19.45	0.0511
C	5	0.1492	0.0559	14.18	0.0001
A*B	3	0.0273	0.0381	27.02	0.0039
A*C	5	0.0643	0.2024	16.84	0.0006
B*C	15	0.0348	0.1178	17.00	0.0003
A*B*C	15	0.0502	0.0032	28.45	0.0004
Error					
Corrected					
Total					

C.V. = 4.8244 R- square = 0.0750 Root MSE = 0.2318

หมายเหตุ A หมายถึง ระดับของสารละลายกรดแลคติค 2 ระดับ คือ 0% และ 1%

B หมายถึง ระดับของสารละลายแบคเทอริโอซิน 4 ระดับ คือ pediocin PA – 1 0 AU/ml pediocin PA – 1 320 AU/ml pediocin PA – 1 640 AU/ml และ pediocin PA – 1 1280 AU/ml

C หมายถึงระยะเวลาที่ทำการศึกษา คือ 0 6 12 18 24 และ 30 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 7.3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนการใช้กรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินในการลดปริมาณเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในหลอดทดลอง (*in vitro* test) ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 – 30 ของการศึกษา

Source	df	SS	MS	F	Pr > F
Treatment	47	0.0367	0.0326	16.41	0.0005
A	1	0.0741	0.1205	13.45	0.0478
B	3	0.0452	0.0956	19.21	0.0311
C	5	0.0364	0.5923	14.15	0.0486
A*B	3	0.0435	0.1093	15.20	0.0266
A*C	5	0.0310	0.2305	18.19	0.0301
B*C	15	0.0482	0.2046	16.11	0.0415
A*B*C	15	0.0236	0.3103	27.65	0.0174
Error					
Corrected					
Total					

C.V. = 6.4217 R- square = 0.0652 Root MSE = 0.3451

หมายเหตุ A หมายถึง ระดับของสารละลายกรดแลคติค 2 ระดับ คือ 0% และ 1%

B หมายถึง ระดับของสารละลายแบคเทอริโอซิน 4 ระดับ คือ pediocin PA – 1 0 AU/ml pediocin PA – 1 320 AU/ml pediocin PA – 1 640 AU/ml และ pediocin PA – 1 1280 AU/ml

C หมายถึงระยะเวลาที่ทำการศึกษา คือ 0 6 12 18 24 และ 30 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 7.4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนการใช้กรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซิน อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่อการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวเนื้อสุกรที่มาจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน

Source	df	SS	MS	F	Pr > F
Treatment	44	0.4895	0.0095	12.6	0.0004
A	2	0.1267	0.0126	13.4	0.0039
B	3	0.1674	0.0558	15.2	0.0014
C	4	0.3617	0.0072	20.4	0.0412
A*B	5	0.1162	0.0510	13.9	0.0081
A*C	7	0.0233	0.0023	16.4	0.0035
B*C	14	0.0446	0.0031	14.6	0.0042
A*B*C	23	0.0544	0.0029	28.0	0.0006
Error	162				
Corrected Total	209				

C.V. = 4.5624 R- square = 7.0900 Root MSE = 2.0015

หมายเหตุ A หมายถึง ระดับของสารละลายกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซิน 3 ระดับ คือ 0% + 0 AU/ml 1% + pediocin PA – 1 640 AU/ml และ 1% + pediocin PA - 1 1280 AU/ml

B หมายถึง อุณหภูมิการเก็บรักษาเนื้อ 3 แบบ คือ 0-4°ซ 10-15°ซ และ 30-35°ซ

C หมายถึง ระยะเวลาในการเก็บรักษา คือ ก่อนจุ่มสารละลาย, ชั่วโมงที่ 0, 3, 6 และ 12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 7.5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนการใช้กรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซิน อุณหภูมิ และระยะเวลาการเก็บต่อค่า pH เนื้อสุกรที่มาจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน

Source	df	SS	MS	F	Pr > F
Treatment	44	0.7958	0.1771	24.5	0.0088
A	2	0.2153	0.1076	12.7	0.0081
B	3	0.2256	0.1128	12.8	0.0006
C	4	0.0122	0.0030	18.4	0.0098
A*B	5	0.0786	0.0196	15.0	0.0073
A*C	7	0.0600	0.0075	19.4	0.0021
B*C	14	0.0561	0.0070	18.1	0.0037
A*B*C	23	0.1314	0.0082	21.0	0.0016
Error	180				
Corrected Total	224				

C.V. = 3.4891 R- square = 0.9885 Root MSE = 0.1985

หมายเหตุ A หมายถึง ระดับของสารละลายกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซิน 3 ระดับ คือ 0% + 0 AU/ml 1% + pediocin PA – 1 640 AU/ml และ 1% + pediocin PA - 1 1280 AU/ml

B หมายถึง อุณหภูมิการเก็บรักษาเนื้อ 3 แบบ คือ 0-4°ซ 10-15°ซ และ 30-35°ซ

C หมายถึง ระยะเวลาในการเก็บรักษา คือ ก่อนจุ่มสารละลาย, ชั่วโมงที่ 0, 3, 6 และ 12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 7.6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนการใช้กรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซิน อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่อค่าสี (L*) เนื้อสุกรที่มาจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน

Source	df	SS	MS	F	Pr > F
Treatment	44	0.5494	1.240	13.4	0.0451
A	2	0.1250	0.6201	16.4	0.0481
B	3	0.1886	0.9443	12.6	0.0512
C	4	0.0237	0.0059	12.4	0.0096
A*B	5	0.3056	0.7640	12.0	0.0452
A*C	7	0.2289	0.0286	18.1	0.0070
B*C	14	0.3179	0.0397	11.0	0.0092
A*B*C	23	0.4387	0.0274	27.6	0.0061
Error	175				
Corrected Total	229				

C.V. = 11.3562 R- square = 0.7834 Root MSE = 0.6058

หมายเหตุ A หมายถึง ระดับของสารละลายกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซิน 3 ระดับ คือ 0% + 0 AU/ml 1% + pediocin PA – 1 640 AU/ml และ 1% + pediocin PA - 1 1280 AU/ml

B หมายถึง อุณหภูมิการเก็บรักษาเนื้อ 3 แบบ คือ 0-4°ซ 10-15°ซ และ 30-35°ซ

C หมายถึง ระยะเวลาในการเก็บรักษา คือ ก่อนจุ่มสารละลาย, ชั่วโมงที่ 0, 3, 6 และ 12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 7.7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนการใช้กรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินและชิ้นส่วนเนื้อที่ต่างกันต่อค่าการลดปริมาณจุลินทรีย์บนผิวเนื้อสุกรที่มาจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน

Source	df	SS	MS	F	Pr > F
Treatment	8	11.2056	5.4235	2.65	0.0001
A	3	9.8004	3.8480	1.43	0.0510
B	3	3.0058	1.0655	3.21	0.0001
A*B	4	8.2239	4.0003	1.02	0.5220
Error	36	3.4212	2.1021		
Corrected Total	44	14.0091			

C.V. = 3.1300 R- square = 2.6641 Root MSE = 1.0312

หมายเหตุ A หมายถึง ระดับของสารละลายกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซิน 3 ระดับ คือ 0% + 0 AU/ml 1% + pediocin PA – 1 640 AU/ml และ 1% + pediocin PA - 1 1280 AU/ml

B หมายถึง ชิ้นส่วนเนื้อ 3 ชนิด คือ สันคอ (Boston shoulder) สันนอก (Loin) และสามชั้น (Belly)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 7.8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนการใช้กรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินและชิ้นส่วนเนื้อที่ต่างกันต่อค่า pH ของเนื้อสุกรที่มาจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน

Source	df	SS	MS	F	Pr > F
Treatment	8	28.7524	5.2166	2.84	0.0001
A	3	12.2951	3.0442	1.66	0.0510
B	3	13.2444	1.1221	3.08	0.0601
A*B	4	13.2455	4.0542	1.65	0.1420
Error	36	36.2001	2.1526		
Corrected Total	44	44.2100			

C.V. = 7.6549 R- square = 3.4655 Root MSE = 1.3700

หมายเหตุ A หมายถึง ระดับของสารละลายกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซิน 3 ระดับ คือ 0% + 0 AU/ml 1% + pediocin PA – 1 640 AU/ml และ 1% + pediocin PA - 1 1280 AU/ml

B หมายถึง ชิ้นส่วนเนื้อ 3 ชนิด คือ สันคอ (Boston shoulder) สันนอก (Loin) และสามชั้น (Belly)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 7.9 แสดงค่า Analysis of varience และการเปรียบเทียบอิทธิพลของระดับความเข้มข้นของสารละลายกรดแลคติคร่วมกับแบคเทอริโอซินและซิ้นส่วนเนื้อที่ต่างกันต่อค่าสีของเนื้อสุกร (L*) จากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน

Source	DF	SS	MS	F value	Pr > F
Model	9	12.45	12.47	0.46	0.5800
Error	11	29.59	26.90		
Corrected Total	20	30.84			

Analysis of Variance Procedure

Duncan's Multiple Range Test for variable: COLOR

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 11 MSE= 2.690353

WARNING: Cell sizes are not equal.

Harmonic Mean of cell sizes= 6.461538

Number of Means 2

Critical Range 2.005

Analysis of Variance Procedure

Duncan Grouping	Mean	N	TRT
A	52.070	7	1
B	54.110	7	2
C	56.070	7	3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้