1599

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ประสิทธิภาพของสารละลายกรดแลคติกที่ผ่านการใช้แล้ว ในการลดปริมาณจุลินทรีย์บนเนื้อสุกร

The Efficiency of Reused Lactic Acid for Bacterial Decontamination on Pork

T099234

โดย

นางสาวศศิธร เลยวานิชย์เจริญ

เสนอ

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า
เจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2542

ปพ.
ศ291ป
2542

สบ.กม.
เลขทะเบียน 99234
วัน.เดือน.ปี 17 Jun 2003

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2024

ใบรับรองปัญหาพิเศษปริญญาตรี
ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์

เรื่อง

ประสิทธิภาพของสารละลายกรดแลคติกที่ผ่านการใช้แล้ว
ในการลดปริมาณจุลินทรีย์บนเนื้อสุกร
The Efficiency of Reused Lactic Acid for
Bacterial Decontamination on Pork

โดย

นางสาวศศิธร เลยวานิชย์เจริญ

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย
อาจารย์ที่ปรึกษา .....

(อาจารย์คมแข พิลาสมบัติ)

.....

(รศ.ดร. จุฑารัตน์ เศรษฐกุล)

ภาควิชารับรองแล้ว

.....

(ผศ.ดร.รณชัย สิทธิไกรพงษ์)
หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์
วันที่ 30 **เดือน** พ.ค. **พ.ศ.** 2541

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ประสิทธิภาพของสารละลายกรดแลคติกที่ผ่านการใช้แล้ว ในการลดปริมาณจุลินทรีย์บนเนื้อสุกร

The Efficiency of Reused Lactic Acid for Bacterial Decontamination on Pork

ศึกษาประสิทธิภาพของสารละลายกรดแลคติกที่ระดับความเข้มข้น 2% (v/v) ในการควบคุมปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนซากสุกรจากโรงฆ่าที่ไม่ได้มาตรฐาน ทดลองโดยการใช้เนื้อสันคอสุกร จำนวน 3 ชิ้น แต่ละชิ้นมีน้ำหนักประมาณ 1 กิโลกรัม แบ่งการทดลองเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลคติกที่ผ่านการใช้แล้ว กลุ่มที่ใช้น้ำกลั่นที่ผ่านการใช้แล้ว และกลุ่มที่ไม่ใช้ทั้งกรดแลคติกและน้ำกลั่น (กลุ่มควบคุม) วางแผนการทดลองแบบ 3 x 8 แฟคทอเรียล ในแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด ทำการวิเคราะห์หาจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้น (total plate count) ของเนื้อก่อนจุ่มชิ้นเนื้อในสารละลาย เป็นเวลา 2 นาที และภายหลังการจุ่มในสารละลายกรดแลคติก และน้ำกลั่นที่ผ่านการใช้แล้ว เป็นเวลา 15 นาที โดยเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งมีอุณหภูมิประมาณ 30 องศาเซลเซียส จากนั้นเก็บเนื้อที่สภาวะเดียวกันเป็นระยะเวลา 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 ชั่วโมง ทำการวิเคราะห์หาจำนวนจุลินทรีย์ทุกระยะเวลาในการเก็บ

ผลการทดลองพบว่า สารละลายกรดแลคติกที่ผ่านการใช้แล้วที่ระดับความเข้มข้น 2 % (v/v) สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์บนเนื้อสันคอสุกรลงได้ ทำให้เนื้อสุกรมีอายุการเก็บรักษานานขึ้น โดยในกลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลคติก พบการลดลงของจุลินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ใช้น้ำกลั่นที่ผ่านการใช้แล้ว ในขณะที่จุลินทรีย์บนเนื้อสุกรในกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ใช้น้ำกลั่นที่ผ่านการใช้แล้วไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ และเมื่อทำการเก็บรักษาเนื้อไว้ที่ระยะเวลาต่าง ๆ พบว่าในกลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลคติก พบการลดลงของจำนวนจุลินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ที่ระยะการเก็บ 15 นาที, 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อเริ่มต้น ในขณะที่กลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ใช้น้ำกลั่นที่ผ่านการใช้แล้วพบว่ามีแนวโน้มไปในทางเดียวกัน คือพบการเพิ่มขึ้นของจำนวนจุลินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในทั้งสองกลุ่มการทดลอง เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลาที่นานขึ้น โดยในกลุ่มควบคุมจำนวนจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตั้งแต่ชั่วโมงเก็บรักษาเนื้อที่ 4 ขึ้นไป เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อเริ่มต้นและในกลุ่มที่ใช้น้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ใช้แล้วจำนวนจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตั้งแต่การเก็บรักษาเนื้อตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6 ขึ้นไปเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อเริ่มต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ปัญหาพิเศษฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ อาจารย์คมแข พิลาสมบัติ และ รศ. ดร. จุฑารัตน์ เศรษฐกุล ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ และแก้ไข ปัญหาพิเศษนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น และขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ ให้คำแนะนำมาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณ รุ่นพี่ร่วมสถาบัน พี่ปริญญาโท เพื่อน ๆ และน้อง ๆ ทุกท่าน รวมทั้งเจ้าหน้าที่ของห้องภาควิชาปฏิบัติการจุลชีววิทยาทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือและให้กำลังใจในขณะศึกษามาโดยตลอด

สุดท้ายนี้ ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ น้องสาว ที่ได้เลี้ยงดู และส่งเสริมเป็นกำลังใจให้ข้าพเจ้าสำเร็จการศึกษาในขั้นนี้ได้

ศศิธร เลยวานิชย์เจริญ

28 พฤษภาคม 2542

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	28
ผลการทดลอง	33
วิจารณ์	38
สรุป	40
เอกสารอ้างอิง	41
ภาคผนวก	46

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงมาตรฐานคุณภาพเนื้อด้านการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในเนื้อไก่ส่งออกจากประเทศไทย	3
2	แสดงจำนวนแบคทีเรียที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค	7
3	แสดงค่า SPC (Standard Plate Count) ในตัวอย่างเนื้อสุกร	9
4	แสดงจำนวนแบคทีเรียที่ทำให้เห็นเป็นลักษณะเมือกเกิดขึ้นบนผิวหน้าและการเกิดกลิ่นเหม็นในชิ้นเนื้อและผลิตภัณฑ์	18
5	แสดงปริมาณของกรดแลคติกที่มีอยู่ในอาหารชนิดต่าง ๆ	23
6	ผลของการลดจำนวนจุลินทรีย์ด้วยสารละลายกรดแลคติก 0.2 % (v/v) และน้ำร้อน (65°C) หลังจากการเก็บในถุงสูญญากาศ โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม	24
7	แสดงอิทธิพลร่วมของระยะเวลาต่อจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในเนื้อกลุ่มควบคุมกลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลคติกที่ผ่านการใช้แล้ว และกลุ่มที่ใช้น้ำกลั่นที่ผ่านการใช้แล้ว	37

ตารางผนวกที่		
1	การวิเคราะห์ความแปรปรวนการลดลงของจำนวนจุลินทรีย์บนเนื้อสันคอสุกรในกลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลคติกที่ผ่านการใช้แล้ว กลุ่มที่ใช้น้ำกลั่นที่ผ่านการใช้แล้ว และกลุ่มควบคุม	48
2	แสดงอิทธิพลของกลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลคติกที่ผ่านการใช้แล้ว กลุ่มที่ใช้น้ำกลั่นที่ผ่านการใช้แล้ว และกลุ่มควบคุม ต่อจำนวนเชื้อจุลินทรีย์บนเนื้อสันคอสุกร	49
3	แสดงอิทธิพลของระยะเวลาต่อจำนวนเชื้อจุลินทรีย์บนเนื้อสันคอสุกร	50
4	แสดงอิทธิพลร่วมระหว่างระยะเวลาต่อการลดลงของจุลินทรีย์ในกลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลคติกที่ผ่านการใช้แล้ว กลุ่มที่ใช้น้ำกลั่นที่ผ่านการใช้แล้ว และกลุ่มควบคุม บนเนื้อสันคอสุกร	51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย	22
2	อิทธิพลของการใช้กรดอะซิติก กรดแลคติก และกรดโพรไพโอนิค ที่ความเข้มข้น 0-4 % ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์บนเนื้อปลาดุก	28
3	แสดงขั้นตอนดำเนินการทดลอง	32
4	แสดงปริมาณจุลินทรีย์ที่พบในเนื้อสันคอสุกรกลุ่มควบคุม กลุ่มที่จุ่มด้วยสารละลายกรดแลคติกที่ผ่านการใช้แล้วและจุ่มด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการใช้แล้ว	34
5	แสดงปริมาณจำนวนจุลินทรีย์ที่พบในระยะเวลาต่าง ๆ ของการเก็บตัวอย่าง	35

ภาพผนวกที่

1	แสดงจำนวนจุลินทรีย์ในแต่ละช่วงเวลาของกลุ่มควบคุม กลุ่มการใช้สารละลายกรดแลคติกที่ผ่านการใช้แล้ว และกลุ่มที่ใช้น้ำกลั่นที่ผ่านการใช้แล้ว	52

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประสิทธิภาพของสารละลายกรดแลคติกที่ผ่านการใช้แล้ว ในการลดปริมาณจุลินทรีย์บนเนื้อสุกร

The Efficiency of Reused Lactic Acid for Bacterial Decontamination on Pork

คำนำ

เนื้อสุกรเป็นเนื้อที่นิยมรับประทานกันอย่างแพร่หลายทั่วทุกภูมิภาคของประเทศ โดยในปี 2521 มีปริมาณการบริโภคประมาณ 5.39 ล้านตัวและเพิ่มเป็น 6.95 ล้านตัวในปี 2532 (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2534) เนื้อสุกรเป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญและรสชาดถูกปากคนไทย จากรายงานทั้งในและต่างประเทศ (โกวิทย์ และ ไพศาล, 2517; พัชรี, 2517; รสริน, 2524) พบว่าเนื้อสัตว์ดิบส่วนมากจะมีการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ได้สูงนอกจากนี้ยังเป็นแหล่งนำเข้าเงินตราต่างประเทศที่สำคัญ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเนื้อไก่มีการส่งออกถึง 30 % ของปริมาณที่ผลิตได้ (จุฑารัตน์, 2540) และในอนาคตการส่งออกคาดว่าจะมีมูลค่าเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ อย่างไรก็ตามแม้ว่าการส่งออกและสภาพการตลาดยังขยายตัวเพิ่มขึ้นแต่ก็มีข้อกำหนดต่าง ๆ ในมาตราฐานของผู้บริโภคของแต่ละประเทศ ซึ่งสิ่งที่ต้องให้ความสนใจอย่างยิ่งก็คือ ความปลอดภัยของผู้บริโภคเนื้อสัตว์จากเชื้อจุลินทรีย์ ที่จะทำให้เกิดโรคแก่ผู้บริโภค สิริพร (2538) ได้กล่าวไว้ว่าปัจจุบันเชื้อจุลินทรีย์ชนิดใหม่ ๆ ที่พบในอาหาร ได้แก่ *Campylobacter jejuni, Yersinia enterocolitica, Escherichai coli O157:H7* และ *Listeria monocytogenes* เป็นผลให้ผู้บริโภคได้รับอันตรายจากการบริโภคเนื้อสัตว์ที่มีจุลินทรีย์ดังกล่าว

การใช้สารเคมีเป็นอีกวิธีหนึ่งที่ได้ถูกนำมาใช้โดยสารดังกล่าวจะต้องไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภคและไม่มีผลตกค้างในเนื้อสัตว์ ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้นำสารละลายกรดแลคติกมาใช้ในการควบคุมหรือลดจำนวนจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมาในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ อย่างไรก็ตามในการใช้สารละลายกรดแลคติกกับเนื้อสัตว์ที่มีปริมาณเชื้อตั้งต้นสูงประสิทธิภาพของกรดแลคติกในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์จะลดลง (คมแข, 2540) และสารละลายกรดแลคติกมีผลต่อสีของเนื้อสัตว์ทำให้มีสีซีดจางลงไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค (Smulders และคณะ, 1986) จึงน่าจะมีการศึกษาประสิทธิภาพของสารละลายกรดแลคติกในการควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ให้มากยิ่งขึ้น เพื่อคุณภาพของเนื้อที่ดียิ่งขึ้นและปลอดภัยสำหรับผู้บริโภค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>วัตถุประสงค์</u>

1. ศึกษาประสิทธิภาพของสารละลายกรดแลคติกที่ผ่านการใช้แล้วในการลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อสุกรเมื่อเก็บรักษาเนื้อในสภาวะอุณหภูมิห้อง

2. ศึกษาประสิทธิภาพของสารละลายกรดแลคติกที่ผ่านการใช้แล้วในการยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อสุกรเมื่อเก็บรักษาเนื้อในสภาวะอุณหภูมิห้อง

3. เปรียบเทียบระหว่างการใช้สารละลายกรดแลคติกที่ผ่านการใช้แล้ว และน้ำกลั่นที่ผ่านการใช้แล้วในการลดจำนวนจุลินทรีย์บนเนื้อสุกร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

ความสำคัญของเชื้อจุลินทรีย์

จุลินทรีย์ที่พบอยู่ในเนื้อสัตว์ส่วนใหญ่จะเป็นพวก แบคทีเรีย รา และยีสต์ แต่พบว่าแบคทีเรียสามารถก่อให้เกิดอันตรายแก่ผู้บริโภคเนื้อสัตว์ที่มีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์มากที่สุด ซึ่งโรคอาหารเป็นพิษเชื้อแบคทีเรียมีอันตรายถึงแก่ชีวิตได้ ทำให้เกิดความเสียหายต่อระบบเศรษฐกิจ แบคทีเรียจึงนับว่าเป็นจุลินทรีย์ที่สำคัญมากที่สุดในเนื้อสัตว์ เพื่อกำหนดมาตรฐานการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์ ได้มีรายงานมาตรฐานทางด้านจุลินทรีย์สำหรับเนื้อไก่ส่งออกจากประเทศไทย ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงมาตรฐานคุณภาพเนื้อด้านการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในเนื้อไก่ส่งออกจากประเทศไทย

ค่ามาตรฐานจุลินทรีย์	จำนวนจุลินทรีย์/เนื้อไก่ 1 กรัม
1. Total Bacteria Count	$<5 \times 10^5$
2. Feacal Streptococci	$<10^3$
3. MPN Coliform	$<5 \times 10^3$
4. *Staphylococcus aureus*	<200
5. Salmonella sp.	0
6. *Campylobacter sp.*	0

ที่มา : เพ็ญศรี และอุรารัตน์ (2536)

จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในเนื้อสัตว์สามารถแบ่งได้เป็น 3 ชนิด อันได้แก่

1. จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค (Pathogenic microorganism)

โรคที่สำคัญได้ทำการตรวจพบว่าเมื่อผู้บริโภคเนื้อสัตว์ที่มีการปนเปื้อนจุลินทรีย์คือ โรคอาหารเป็นพิษ (food poisoning) โดยอาหารที่เกิดจากเชื้อ จุลินทรีย์มี 2 ลักษณะคือ ลักษณะแรกเกิดจากผู้บริโภคได้รับประทานอาหารที่มีเชื้อจุลินทรีย์เข้าไป เมื่อเชื้อได้เข้าไปในระบบทางเดินอาหาร แล้วมีการเจริญเติบโตในระบบนั้น ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดอาการท้องร่วง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คลื่นไส้ อาเจียน และปวดท้อง ซึ่งเชื้อดังกล่าวได้แก่ Salmonella spp., *Yersinia enterocolitica, Clostridium perfringen, และ Campyrobacter jejuni / coli* และเชื้อนี้จะต้องเข้าไปในปริมาณที่มากพอที่จะทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษได้ และในลักษณะสุดท้าย เกิดจากเชื้อที่เข้าไปในร่างกายแล้วเจริญเติบโตซึ่งนอกจากนี้ยังขับสารพิษออกมาทำให้ผู้บริโภคเมื่อได้รับสารพิษแล้วจะเกิดโรคอาหารเป็นพิษซึ่งจะเป็นอาการที่รุนแรงกว่าในลักษณะแรก ตัวอย่างเนื้อในลักษณะนี้ เช่น *Clostridium botulinum , Staphylococus aureus และ Bacillus cereus* (Pearson และ Dutson, 1986)

2. จุลินทรีย์ที่เป็นตัวบ่งชี้สภาวะและคุณภาพของเนื้อสัตว์ (Indicator microorganism)

ซึ่งเป็น จุลินทรีย์ที่เป็นตัวบ่งชี้สภาพเนื้อสัตว์ทางสุขศาสตร์ได้เป็นอย่างดี ได้แก่

2.1 Aerobic mesophilic plate counts ใช้เป็นตัวพิจารณาถึงสภาพทางจุลชีววิทยาของเนื้อสัตว์เช่น

- เป็นตัวบ่งชี้ให้เห็นว่าจะเกิดอันตรายกับสุขภาพ (as health hazard indicators)
- เป็นตัวบ่งชี้ให้เห็นถึงขบวนการผลิตที่ไม่ถูกสุขลักษณะและขาดการสุขาภิบาลที่ดี (as indicator of insanitation and unhygienic process)
- เป็นตัวบ่งชี้ให้เห็นถึงการเริ่มเน่าเสียของเนื้อสัตว์ ซึ่งพบว่าในเนื้อสัตว์ที่มีจำนวนแบคทีเรีย 10-100 ล้านตัวต่อตารางเซนติเมตร หรือต่อกรัม จะเป็นเนื้อที่มีกลิ่นเน่าเหม็น (as spoilage indicators)
- เป็นตัวบ่งชี้ให้เห็นถึงการขนส่งที่ไม่ถูกต้อง (as indicator of inproper distribution or transport)
- เป็นตัวบ่งชี้ให้เห็นถึงการเก็บรักษาที่ไม่ถูกต้อง (as indicator of inproper storage temperature)

2.2 *Coliform bacteria* ถ้าพบเชื้อนี้ในปริมาณที่สูง ในเนื้อสัตว์ที่ยังไม่ผ่านขบวนการทำให้สุกแสดงให้เห็นถึงสุขลักษณะที่ไม่ดี และถ้าตรวจพบในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่ผ่านการทำความร้อนที่ทำให้สุกแล้ว แสดงว่าความร้อนที่ใช้สูงไม่พอ หรืออาจเกิดจากภายหลังขบวนการให้ความร้อนแล้ว (จุฑารัตน์, 2540) เขมนัฐ และ ศุภชัย (2537) พบว่าเนื้อสุกรบดสำเร็จรูปที่วางขายในตลาดสดมีจำนวนจุลินทรีย์คือ ค่า SPC (Standard Plate Count) และจำนวน Colifrom มากกว่า เนื้อสุกรชิ้นหรือที่ยังไม่ได้ตัดแต่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 *E.coli* ถ้าตรวจพบในเนื้อสัตว์แสดงว่ามีการปนเปื้อนจากมูลสัตว์ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าโรงงานมีการสุขาภิบาลที่ไม่ดีพอ ซึ่ง *E.coli* เป็นแบคทีเรียที่ถูกทำลายได้ง่ายด้วยความร้อน ความเย็น และความแห้ง

2.4 *Faecal Steptococci* เป็นแบคทีเรียที่ทนต่อความร้อน ความเย็น และความชื้นต่ำได้ดี จึงใช้เป็นตัวบ่งชี้แบคทีเรียสำหรับเนื้อสัตว์แช่แข็ง และผลิตภัณฑ์เนื้อ

2.5 *Staphylococcus spp.* ถ้าเกิดพบเชื้อจะเป็นตัวบ่งชี้ว่าเกิดการปนเปื้อนจากภายนอกอันได้แก่ทางผิวหนัง บาดแผลของผู้ปฏิบัติงาน อุปกรณ์ เครื่องมือที่ใช้ซึ่งแสดงว่าสุขาภิบาลของโรงงานไม่ดี โดยเฉพาะอย่างยิ่งสุขวิทยาส่วนบุคคล (จุฑารัตน์, 2540) รายงานการเกิดโรคอาหารเป็นพิษในคนที่บริโภคไส้กรอกหมักชนิดกึ่งแห้ง Bologna 17 คน แต่ไม่มีผู้ได้รับอันตรายถึงแก่ชีวิต เมื่อตรวจไส้กรอกที่บริโภคพบว่าpH และ Aw ค่อนข้างสูงคือมีค่า 5.7 และ 0.99 นอกจากนี้ยังตรวจพบเชื้อ S. typhimurium, *S. aureus* และ *C. perfringens* ปริมาณ 10^8,10^4และ 10^4CFU/กรัม ตามลำดับ (Netten และคณะ. 1986)

3. จุลินทรีย์ที่เกิดการเน่าเสีย (Spoilage microorganism)

จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนอยู่ในอาหารต้องการพลังงาน เริ่มด้วยการใช้เอนไซม์ต่าง ๆ ที่มีอยู่ภายในเซลล์ทำหน้าที่ย่อยสลายสารอินทรีย์ซึ่งเป็นส่วนประกอบของอาหาร จากนั้นจึงนำสารต่าง ๆ ที่ย่อยสลายได้แล้วนั้นไปใช้เพื่อการอยู่รอด การเจริญและการขยายพันธุ์ต่อไป การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น ได้แก่ ปลาและเนื้อสัตว์จะมีกลิ่นเหม็น (ปรียา, 2539) จะพบการเน่าเสียของเนื้อสัตว์ในตู้เย็น ซึ่งสาเหตุสำคัญของการเน่าเสีย เกิดจากแบคทีเรียบางชนิดสามารถเจริญเติบโตได้ดีในช่วงอุณหภูมิต่ำ เช่น *Pseudomonas spp., Moraxellas* และ *Alteromonas spp.* แล้วเมื่อนำไปบรรจุผลิตภัณฑ์แบบสุญญากาศ ก็ยังมีแบคทีเรียบางกลุ่มที่ไม่จำเป็นต้องใช้ออกซิเจนในการดำรงชีวิตซึ่งจะขึ้นอยู่กับค่า pH ของเนื้อ แม้จะเป็นผลิตภัณฑ์ที่ดองเกลือหรือฉีดน้ำเกลือ ก็ยังสามารถเกิดการเน่าเสียได้อีก อันได้แก่แบคทีเรียที่สามารถผลิตกรดแลคติกได้ เช่น *Brocothrix thermosphacta,* ยีสต์ และ ราเป็นต้น (Pearson และ Dutson, 1986)

จุลินทรีย์สำคัญที่ทำให้อาหารเน่าเสีย

ในเนื้อสัตว์นั้นจุลินทรีย์ที่พบส่วนใหญ่ จะเป็นพวกแบคทีเรีย เชื้อรา และยีสต์แบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์ประเภทเซลล์เดียวที่มีขนาดเล็กมาก โดยทั่วไปเกี่ยวข้องกับอาหารมีขนาด 0.5-2.0X

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.0-10 ไมครอน ไม่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่า เมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์จะมองเห็นแบคทีเรียมีรูปร่างต่าง ๆ กันออกไปหลายลักษณะตั้งแต่รูปร่างกลมยาวจนไปถึงเป็นเส้นสั้น ๆ หรือเป็นรูปไข่ แบคทีเรียบางชนิดอยู่กันเป็นกลุ่มใหญ่ (cluster) บางชนิดก็เชื่อมตัวต่อกันเป็นลูกโซ่ และบางชนิดก็มี flagella และสามารถเคลื่อนที่ไปมาได้ แบคทีเรียบางชนิดก็สามารถผลิตสารสี (pigment) ได้ โดยอาจจะเป็นสีตั้งแต่สีเหลืองไปจนถึงสีน้ำตาล , ดำ นอกจากนี้ยังมีสีอื่น ๆ อีก เช่น สีชมพู น้ำเงิน เขียว ม่วง ส้ม แดง แบคทีเรียเหล่านี้เป็นสาเหตุให้เนื้อมีสีเปลี่ยนไปจากปกติ นอกจากนี้ ยังทำให้สีของผลิตภัณฑ์เพื่อการส่งออกเปลี่ยนเป็นสีเขียวได้ แบคทีเรียบางชนิดสามารถผลิตสปอร์ได้ และสปอร์เหล่านี้ก็มีคุณสมบัติทนต่อสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ได้ดี เช่น บางสปอร์สามารถทนความร้อนสูงได้ดี อยู่ได้ในสภาวะทางเคมีที่ไม่เหมาะสม เป็นต้น (เยาวลักษณ์, 2536)

ปรียา (2539) กล่าวไว้ว่า แบคทีเรียทั่วไปมีทั้งสภาพที่กำลังเจริญซึ่งสามารถย่อยสลายอาหารได้ดีและในสภาพพักตัวหรือเรียกว่าระยะสปอร์ซึ่งยากแก่การทำลายส่วนใหญ่ถูกทำลายโดยการพาสเจอไรซ์หรือที่อุณหภูมิน้ำเดือด แบคทีเรียมีทั้งชนิดที่สร้างสปอร์และไม่สร้างสปอร์ ชนิดที่ต้องการออกซิเจนและไม่ต้องการออกซิเจนในการดำรงชีวิต เพิ่มจำนวนโดยการแบ่งตัวทางขวางอย่างรวดเร็วเมื่ออยู่ในภาวะที่เหมาะสมจะเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่าทุก ๆ 30 นาที ดังนั้น ถ้าในอาหารมีแบคทีเรียปนเปื้อนเพียง 1 เซลล์ ภายในเวลา 10 ชั่วโมงเท่านั้นจะมีจำนวนแบคทีเรียมากกว่าหนึ่งล้านเซลล์อาหารที่ปนเปื้อนด้วยแบคทีเรียชนิดเป็นพิษในอาหาร แบคทีเรียดังกล่าวจะย่อยสลายสารอาหารและเพิ่มจำนวนไปเรื่อย ๆ จนกระทั่งเพียงพอที่จะก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษหรือโรคระบบทางเดินอาหารกับผู้บริโภค

Roberts และคณะ (1975) รายงานตรวจไส้กรอก ตั้งแต่ปี 1969-1974 ทั้งหมด 3309 ตัวอย่าง พบเชื้อซาลโมเนลลา 786 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 24

Ulutan และคณะ (1988) รายงานการเกิดโรคอาหารเป็นพิษโดยมีผู้ป่วยจำนวน 42 คน ที่เกิดจากการบริโภคไส้กรอก Sucuk โดยมีสาเหตุจากเชื้อ *S.typhimurium* โดยจำนวนแบคทีเรียที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภคแสดงในตารางที่ 2

ตัวอย่าง แบคทีเรียชนิดสำคัญที่ทำให้อาหารเน่าเสีย ได้แก่ *Pseudomonas* , *Acinetobacter* , *Moraxella*, *Alcaligenes* และ *Flavobacterium*

ส่วนใหญ่แบคทีเรียจะเจริญเติบโตได้ดีกว่ายีสต์ และยีสต์จะเจริญได้ดีกว่าเชื้อรา การเจริญเติบโตของเชื้อราจนทำให้เนื้อเน่าเสียนั้นจะเกิดได้ก็ต่อเมื่อเนื้อสัตว์นั้นมีการปนเปื้อนจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อราในระดับที่สูงมากตั้งแต่เริ่มต้น และมีสภาวะแวดล้อมเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อรามากกว่ายีสต์หรือแบคทีเรีย (เยาวลักษณ์, 2536)

ตารางที่ 2 แสดงจำนวนแบคทีเรียที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค

ชนิดแบคทีเรีย	จำนวนเซลล์
Salmonella	$<10^5$
Clostridium perfringens	10^6
Bacillus cereus	$<10^6$
Campylobacter	10^6
Vibrio parahaemolyticus	10^5 - 10^6
Vibrio cholerae	10^6
Shigella	10 - 100
Escherichai coli	10^6
Yersinia	10^9
Steptococcus faecalis	10^9-10^{10}

ที่มา : ปรียา (2539)

เชื้อจุลินทรีย์ที่มักพบการปนเปื้อนบนเนื้อสัตว์ที่สำคัญ ได้แก่

1. Salmonella spp.
2. *Staphylococcus spp.*
3. *Yersinia enterocolitica*
4. *Campylobacter jejuni/coli.*
5. *Listeria monocytogenes*
6. *Escherichia coli 0157:H7*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. Salmonella spp.

ลักษณะทั่วไปของเชื้อ

แบคทีเรียในกลุ่มนี้เป็น catalase บวก oxidase ลบ มีเมตาโลลิซึมทั้งแบบการหายใจโดยใช้ออกซิเจน และเฟอร์เมนเตชัน ทุกชนิดเคลื่อนที่ด้วยแฟลกเจลลาที่อยู่รอบเซลล์ไม่เฟอร์เมนต์แลคโตส เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อธรรมดาที่มีกลูโคส สารอนินทรีย์ไนโตรเจนและเกลือแร่ต่างๆ หลายสายพันธุ์ไม่สามารถสังเคราะห์ไวตามินและกรดอะมิโนได้ (พวงพร, 2534)

แหล่งที่มาของเชื้อ

พวก Salmonella นี้พบได้ทั่วไปทั้งในดิน ในน้ำ ในน้ำโสโครก ในสัตว์ ในคน และผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิด โดยทั่วไปมักจะพบการปนเปื้อนในเนื้อสัตว์ การปนเปื้อนจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับการดูแลจัดการ ตั้งแต่สัตว์อยู่ในฟาร์ม เชื้อนี้จะปนเปื้อนมาในอาหารสัตว์ และยังพบการปนเปื้อนในขบวนการผลิตในโรงฆ่าสัตว์ อุณหภูมิที่เหมาะต่อการเจริญของเชื้อคือ 37 องศาเซลเซียส และค่า pH ที่ 4.1-9.0 (Frazier และ Westhoff, 1988) ค่าความต้องการน้ำ (water activity) ประมาณ 0.995 เมื่อค่า Aw ลดลงจะทำให้ช่วง lag phase มีระยะที่ยาวนานขึ้น ส่งผลให้มีการเจริญเติบโตลดลง โดยจะสามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน เชื้อนี้พบมากในเนื้อไก่มากที่สุด (Pearson และ Dutson, 1990) และเมื่อมีการปนเปื้อนในอาหารจะทำให้เกิดอาหารเป็นพิษขึ้น (Bergdoll, 1966) ถิ่นที่อยู่ตามธรรมชาติของแบคทีเรียพวกนี้ คือในทางเดินอาหารของคนและสัตว์ บางซีโรไทพ์พบได้เฉพาะบางส่วนของโลกเท่านั้น แต่อย่างไรก็ตามจากการที่มีการเดินทางระหว่างประเทศ หรือมีการค้าขายระหว่างประเทศ ก็เป็นสาเหตุให้เชื้อชนิดนี้แพร่กระจายไปในที่ต่างๆ ได้ด้วย และเชื้อชนิดนี้เป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษที่สำคัญตัวหนึ่ง (พวงพร, 2534) Cowden และคณะ (1989) รายงานการเกิดโรคอาหารเป็นพิษจากเชื้อ S.typhimurium DT 124 ทำให้มีผู้ป่วย 101 คน ในประเทศอังกฤษเมื่อเดือนธันวาคม 1987 ถึง มกราคม 1988 โดยพบว่า German salami stick เป็นสาเหตุของการระบาด สุมาลีและคณะ (2540) รายงานการพบเชื้อซาลโมเนลลาจากห้างสรรพสินค้า และตลาดสดในกรุงเทพฯและนนทบุรี ตรวจด้วยวิธีMSRV และวิธี SCM พบว่ามีเชื้อปนเปื้อนอยู่ในแหนมไก่ และแหนมหมูมากที่สุด นภดล (2537) ได้สำรวจปริมาณจุลินทรีย์ในเนื้อสุกรจากโรงฆ่าสัตว์ ร้านขายเนื้อสุกรในตลาดสด และจากซุปเปอร์มาเก็ต ดังแสดงในตารางที่ 3 พบว่าปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อสุกรจากตลาดสดสูงกว่าจากโรงงานฆ่าสัตว์ โดยเฉพาะปริมาณเชื้อ Salmonella

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทั้งนี้เนื่องจากอุณหภูมิในระหว่างการขนส่ง และการจำหน่ายเนื้อสุกรในตลาดสดอยู่ในระหว่าง 30-37 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ รวมทั้งมีการปนเปื้อนมากขึ้นจากการขนส่งและจากตัวผู้จำหน่ายเนื้อสุกร

ตารางที่ 3 แสดงค่า SPC (Standard Plate Count) ในตัวอย่างเนื้อสุกร

สถานที่เก็บตัวอย่าง	ค่า SPC ในเนื้อสุกร (โคโลนี/กรัม)
โรงอาหารคณะครุศาสตร์	$3.6 X10^{7}$
โรงอาหารคณะเทคโนโลยีการเกษตร	$1.5 X 10^{8}$
ตลาดหัวตะเข้	$7.8 X 10^{6}$
ซุปเปอร์มาเก็ต	$3.6 X 10^{6}$
โรงงานฆ่าสัตว์	$3.1 X 10^{5}$
ห้องปฏิบัติการตัดแต่งเนื้อสัตว์	$2.8 X 10^{5}$

ที่มา : นภดล (2537)

2. ***Staphylococcus spp.***

ลักษณะโดยทั่วไป

เซลล์ทรงกลมไม่เคลื่อนที่ อาจอยู่เป็นคู่ หรือ เป็นกลุ่มเซลล์ที่มีรูปร่างไม่แน่นอนเป็น facultative anaerobic เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5-1.5 ไมโครเมตร อาจอยู่เป็นเซลล์เดี่ยวๆ เป็นคู่ หรือเป็นกลุ่มซึ่งมีการรวมกลุ่มในลักษณะไม่แน่นอน อาจคล้ายพวงองุ่นไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ ผนังเซลล์ประกอบด้วยสารที่สำคัญ 2 ชนิดคือ เปปติโดไกลแคน กับกรดไทโคอิค (teichoic acid) เป็น Chemoorganotrophs ได้พลังงานจากการหายใจและการเฟอร์เมนต์สามารถสร้างเอนไซม์แคตาเลส บางชนิดอาจสร้างรงควัตถุแคโรทีนอยด์ ใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอีเลคตรอนตัวสุดท้าย (Frazier และ Westhoff, 1988)

สามารถใช้คาร์โบไฮเดรตได้หลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ในสภาพที่มีออกซิเจน และจะเกิดกรดจากการใช้สารเหล่านี้ แต่ไม่ทำให้เกิดก๊าซขึ้นในสภาพที่ไม่มีออกซิเจน และจะเกิดกรดจากการใช้สารเหล่านี้ แต่ไม่ทำให้เกิดก๊าซที่ไม่มีออกซิเจน ผลลัพธ์ส่วนใหญ่จากขบวนการเฟอร์เมนต์กลูโคสจะได้กรดแลคติก แต่ในสภาพที่มีออกซิเจน ผลลัพธ์ส่วนใหญ่จะได้กรดอะซิติค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และได้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกมาเพียงเล็กน้อยมีเมตาโบลิซึมทั้งแบบหายใจโดยใช้ออกซิเจนและเฟอร์เมนเตชัน ทุกสายพันธุ์เจริญได้ในที่มีเกลือเข้มข้น 7.5-15% เป็นแบคทีเรียที่มีความไวต่อสารพวกคลอรีน คลอรามีน (Chloramine) ไอโอดีน และ ไอโดโดฟอร์ และถูกทำลายได้ด้วยความร้อน แต่มีความคงทนต่อรังสีได้ปานกลาง (อภิญญา, 2528)

ชนิดที่สำคัญที่สุด คือ *S. aureus* ซึ่งมักจะสร้างสารสีเหลืองจนถึงส้มในขณะเจริญ แต่บางครั้งก็เป็นสีขาว ชนิดที่สร้างเอ็นไซม์โคแอกกิวเลส (coagulase) และทำให้เม็ดเลือดแดงแตกแบบบีตา ซึ่งเป็นสาเหตุของโรค และบางชนิดยังสร้างเอนเทอโรทอกซิน (enterotoxin) ซึ่งทำให้อาหารเป็นพิษอีกด้วย (ลัดดาวัลย์, 2536)

แหล่งที่มาของเชื้อ

พบทั่วไปโดยเฉพาะคนจะเป็นแหล่งสำคัญในการแพร่กระจายเชื้อไปโดยเฉพาะขั้นตอนที่ใช้คนเข้าไปปฏิบัติงาน เช่นการชำแหล่ะ ตัดแต่งซาก มักพบในคนที่เป็นฝี หนอง บริเวณโพรงจมูก เชื้อนี้สามารถเจริญได้ดีในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน *Staphylococci* บางชนิดพบในผลิตภัณฑ์อาหารเช่น *S.aureus* ที่ผลิตสารเอนเทอโรทอกซินได้ และทำให้เกิดอาหารเป็นพิษ นอกจากนี้ยังพบแบคทีเรียพวกนี้ในสิว ฝี แผลมีหนองจากการติดเชื้อ และในจมูก ซึ่งสามารถถ่ายทอดไปสู่อาหารได้ ถ้าผู้ประกอบอาหารขาดความระมัดระวังแบคทีเรีย *S.aureus* สามารถสร้างเอนไซม์ชื่อ coagulate ซึ่งทำให้พลาสมาแข็งตัวได้ และสร้างเอนไซม์นิวคลีเอสซึ่งทนทานต่อความร้อนได้ด้วย อุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดคือ 35-37 องศาเซลเซียส ค่า pH จะอยู่ที่ระหว่าง 5-9 และยังพบว่าสามารถเจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเกลือเป็นส่วนประกอบถึง 12-15 % และค่าความต้องการน้ำ (water activity) อยู่ระหว่าง 0.86-0.99 (Pearson และ Dutson, 1990) Nkanga และ Uraih (1981) ได้ทำการสำรวจปริมาณเชื้อ *S.aureus* ในเนื้อสัตว์ที่ขายในตลาดสดในเมือง Benin ประเทศไนจีเรีย พบว่าจากการสุ่มตัวอย่างเนื้อหมู 24 ตัวอย่าง พบเชื้อ *S.aureus* ทุกตัวอย่างและมีปริมาณ *S.aureus* เฉลี่ย 6.4×10^{10} CFU/g ในเนื้อวัวพบ *S.aureus* 7.0×10^{9} CFU/g ส่วนในเนื้อไก่พบ 6.8×10^{9} CFU/g สำหรับการสุ่มตัวอย่างในซุปเปอร์มาเก็ตพบ *S.aureus* ในตัวอย่างเนื้อหมูแช่เย็นทุกตัวอย่างจากการสุ่ม 24 ตัวอย่าง โดยมีปริมาณ *S.aureus* เฉลี่ยประมาณ 3×10^{5} CFU/g ในเนื้อวัวแช่เย็นพบเพียงร้อยละ 62.5 จากตัวอย่างทั้งหมด 24 ตัวอย่าง มีปริมาณเชื้อเฉลี่ย 4.5×10^{5} CFU/g ในเนื้อไก่แช่เย็นพบเพียงร้อยละ 54.1 จากตัวอย่างทั้งหมด 24 ตัวอย่าง โดยมีปริมาณเชื้อเฉลี่ยประมาณ 2.0×10^{4} CFU/g Smith และคณะ (1983) รายงานว่าในช่วงปี ค.ศ. 1975-1979 พบการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จาก *S.aureus* ในประเทศสหรัฐอเมริกา ซึ่งพบอาหารที่เป็นพิษมากถึง 540 ตัวอย่าง จากจำนวนนี้เป็นผลจากสารพิษของ *S.aureus* ถึงร้อยละ 28 แหล่งสำคัญในการระบาดมาจากบ้านร้อยละ 27 ร้านอาหารร้อยละ 19 โรงเรียนร้อยละ 14 และจากแหล่งอื่น ๆ อีกร้อยละ 40 โดยอาหารเป็นพิษจาก *S.aureus* ร้อยละ 73 เกิดจากอาหารจำพวกเนื้อสัตว์ต่าง ๆ

3. Yersinia enterocolitica

ลักษณะทั่วไปของเชื้อ

Y. enterocolitica เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปแท่ง เคลื่อนไหวได้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 30 องศาเซลเซียส เป็นพวกจุลินทรีย์ที่เจริญได้ทั้งใน สภาวะที่มีออกซิเจน และ ไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) ไม่สร้างสปอร์ ให้ผลลบกับ oxidase ใช้น้ำตาลกลูโคส แต่ไม่ให้แก๊สที่มีเอนไซม์ psychrotrophic *Y.enterocolitica* สามารถเจริญได้ในเนื้อที่บรรจุโดยสูญญากาศและเก็บในตู้เย็น เนื่องจากเป็นจุลินทรีย์ที่เจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) และเป็น psychrotrophic ค่อนข้างทนต่ออุณหภูมิตู้เย็น ซึ่งสอดคล้องกับ สิริพร (2538) ซึ่งพบว่า การเจริญของเชื้อบนเนื้อโคที่เก็บไว้ในบรรจุภัณฑ์พลาสติกภายใต้ระบบสูญญากาศแม้ในอุณหภูมิที่ 1-5 องศาเซลเซียส แต่จะพบในการเก็บแบบสูญญากาศในปริมาณที่น้อยกว่า แต่เชื้อนี้จะถูกทำลายที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-3 นาที D values ที่อุณหภูมิ 62.8 องศาเซลเซียส ของ 21 สายพันธุ์ในนมมีค่าระหว่าง 0.7-17.8 วินาที และไม่มีสายพันธุ์ไหนทนอุณหภูมิพาสเจอร์ไรซ์ได้ บางสายพันธุ์เจริญได้ที่ 40 องศาเซลเซียส และเคยพบการเจริญของเชื้อนี้บนเนื้อหมูและเนื้อไก่ที่อุณหภูมิ 0-1 องศาเซลเซียส ในอาหารเลี้ยงเชื้อBrain Heart Infusion ที่มี 7% NaCl ไม่พบการเจริญที่ 3 องศาเซลเซียส หรือ 25 องศาเซลเซียส ที่ pH 7.2 พบการเจริญที่ 3 องศาเซลเซียส ส่วนที่pH 9.0 อุณหภูมิ 3 องศาเซลเซียส พบการเจริญเพียงเล็กน้อย ที่ pH 4.6 และ 9.6 ไม่พบการเจริญ ในกรณีที่ไม่มีเกลือ จะสังเกตการเจริญที่ 3 องศาเซลเซียส ในช่วง pH 4.6-9.0 Pearson and Dutson (1990)

แหล่งที่มาของเชื้อ

Y.enterocolitica พบกระจายทั่วไปในสิ่งแวดล้อม น้ำ สัตว์เลือดอุ่น สามารถแยกเชื้อนี้ได้จาก ผัก นม เต้าหู้ อาหารทะเล เนื้อสัตว์ ฯลฯ แสดงถึงอุบัติการณ์ของโรคนี้ในอาหารจะเห็นได้ว่ากรณีของเต้าหู้ น้ำที่ใช้ในขบวนการผลิตมีการปนเปื้อนของเชื้อ *Y.enterocolitica*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเกิดพยาธิสภาพ

Y.enterocolitica เป็นสาเหตุสำคัญของโรค yersiniosis ผู้ป่วยจะมีไข้ ท้องเสีย ปวดท้อง และอาเจียน นอกจากเกิดอาการกับระบบทางเดินอาหารแล้ว บางสายพันธุ์ยังสามารถติดเชื้อ (infect) บริเวณตาและผิวหนังได้ เชื้อนี้สามารถสร้างสารพิษที่ทนต่อความร้อน (heat-stable enterotoxin) ที่ทนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส 20 นาที ไม่ถูกย่อยโดยเอนไซม์โปรตีเอสและไลเปส มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 9,000-9,700 แต่จะสูญเสียคุณสมบัติเมื่อ treat ด้วย 2-mercaptoethanol serovars ที่สำคัญที่แยกได้จากอาหารคือ 0:8, 0:3, 0:9 และ 0:5

การควบคุมและป้องกัน

การควบคุมและป้องกันโรคอาหารเป็นพิษที่เกิดจากเชื้อ *Y.enterocolitica* ผู้ประกอบการต้องมีความระมัดระวังในการปรุงอาหาร การเก็บรักษาอาหารดิบ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเนื้อสัตว์ ต้องเก็บในสภาพที่เหมาะสม ในโรงงานน้ำที่ใช้ขบวนการผลิตก็ต้องระมัดระวังไม่ให้มีการปนเปื้อนของเชื้อ ดังนั้นจะเห็นได้ว่าสุขลักษณะที่ดีส่วนบุคคลและโรงงานจะช่วยลดการปนเปื้อนของเชื้อนี้ได้ (สิริพร, 2538)

4. *Campylobacter jejunni/coli*

ลักษณะทั่วไปของเชื้อ

C.jejuni เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างท่อนโค้งงอคล้ายรูปนกกางปีกหรือตัวอักษร S บางครั้งพบเป็นสายยาว ประกอบด้วยเซลล์โค้งงอเรียงติดต่อกัน ปลายทั้งสองข้างเรียว ขนาด 0.2-0.5 x 0.5-5.0 ไมครอน มีแฟลกเจลลาหนึ่งอันที่ปลายเซลล์ข้างใดข้างหนึ่งหรือทั้งสองข้าง การเคลื่อนไหวมีลักษณะเฉพาะตัว โดยเคลื่อนที่ไปพร้อมกับหมุนเป็นเกลียวไปด้วย เดิมจัดอยู่ในสกุล Vibrio เนื่องจากมีรูปร่างคล้ายเชื้อในสกุลนี้ *C.jejuni* เป็นพวก microaerophilic ต้องการ 5%O_2 10%CO_2 และ 85%N_2 สำหรับการเจริญเติบโตอุณหภูมิต่ำสุดที่เจริญได้คือ 25 องศาเซลเซียส สูงสุดคือ 43-45 องศาเซลเซียส ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส สามารถเจริญใน 1.5%NaCl แต่ไม่เจริญใน 2%NaCl ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นของ NaCl 1-2.5% จะเร่งการตายของเชื้อ pH ต่ำสุดที่เจริญคือ 5.3 แต่บางสายพันธุ์เจริญได้ดีที่ pH 4.9-5.1 *C.jejuni* ไม่สามารถใช้คาร์โบไฮเดรตได้ ดังนั้นพลังงานจึงได้จากอะมิโนแอซิด หรือจาก intermediates ของ tricarboxylic acid cycle เชื้อนี้ไม่สามารถใช้เจลาติน เคซีน หรือ เอสคิวลิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้ ให้ผลบวกกับ oxidase และ catalase รีดิวซ์ไนเตรทเป็นไนไตรท์ และส่วนมากใช้ฮิพพูเรตได้ *C.jejuni* ไม่ทนความร้อน ใน skim milk ค่า D values จะอยู่ระหว่าง 7.2-12.8 นาทีที่อุณหภูมิ 48 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส มีค่าเท่ากับ 0.74-1.0 นาที ในเนื้อบด D values เท่ากับ 5.9-6.3 นาทีที่ 50 องศาเซลเซียส และ 0.2-0.35 นาทีที่ 58 องศาเซลเซียส ดังนั้นจะเห็นได้ว่าอุณหภูมิพาสเจอร์ไรซ์สามารถฆ่าเชื้อนี้ได้

แหล่งที่มาของเชื้อ

สัตว์เลี้ยงและสัตว์ป่าเป็นแหล่งของเชื้อนี้ ดังนั้นอาหารที่มาจากสัตว์ เนื้อสัตว์ปรุงไม่สุก นมดิบ น้ำสกปรก จึงเป็นสาเหตุสำคัญของโรค campylobacteriosis อาหารที่ปนเปื้อนด้วยเชื้อนี้ส่วนใหญ่ปนเปื้อนในปริมาณน้อย เนื่องจากความจำกัดในปริมาณ O_2 และอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโต นอกจากนี้เชื้อจะไม่แบ่งตัวในอาหาร แสดงว่าเชื้อในปริมาณน้อยก็ทำให้เกิดโรคได้ และเนื่องจากเชื้อมีปริมาณน้อย ดังนั้นในการวิเคราะห์ต้องใช้ enrichment medium และเติม antibiotics เพื่อยับยั้งเชื้อตัวอื่น (สิริพร, 2538)

การเกิดพยาธิสภาพ

เกิดที่ระบบทางเดินอาหารสูญเสียน้ำ ท้องร่วง ปวดท้องรุนแรง อาจมีไข้ คล้ายกับการปวดแบบไส้ติ่งอักเสบ ระยะฟักตัวของเชื้อ 2-5 วัน แต่อาจมีอาการตั้งแต่ 1-11 วัน แต่ส่วนใหญ่ 1-3 วัน เชื้อนี้สามารถสร้าง toxin และเข้าทำลาย intestinal epithelium และ mucosa ทำให้ลำไส้ใหญ่อักเสบ การรักษาใช้ erythromycin และให้น้ำเกลือ เพื่อป้องกันการขาดน้ำ (Pearson and Dutson, 1990)

การควบคุมและป้องกัน

ดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้นเชื้อนี้จัดเป็นเชื้ออ่อนแอ (fragile organism) ไม่ทนอุณหภูมิตู้เย็น อุณหภูมิพาสเจอร์ไรซ์ ดังนั้นสุขลักษณะที่ดีในโรงงานในการประกอบอาหาร จะช่วยลดการปนเปื้อนของเชื้อนี้ และเชื้อจะถูกทำลายหมดเมื่อปรุงอาหารให้สุก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. Listeria monocytogenes

ลักษณะทั่วไปของเชื้อ

L. monocytogenes เป็นเชื้อแกรมบวกรูปแท่ง มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.4-0.5 ไมครอน มีความยาว 0.5-2.0 ไมครอน ไม่สร้างสปอร์ เคลื่อนไหวโดยใช้ peritrichous flagella ที่อุณหภูมิ 20-25 องศาเซลเซียส catalase ให้ผลบวก oxidase ให้ผลลบ เจริญได้ในสภาพ aerobic และ facultative anaerobe (สิริพร, 2538)

แหล่งที่มาของเชื้อ

มักพบในมูลสัตว์ และสามารถติดมากับคนที่ทำงานได้ และเป็นแบคทีเรียที่เจริญได้ทั้งที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญของเชื้อมีค่า46 องศาเซลเซียส (Palumbo, 1986; Fang และ Lin, 1994) จึงสามารถเจริญเติบโตได้แม้จะเก็บรักษาผลิตภัณฑ์นั้นไว้ในตู้เย็นและยังพบว่าสามารถเจริญร่วมกันกับ *Pseudomonas spp.* ได้ด้วย (Pretran และ Zottola, 1989) ค่า pH ที่เหมาะสมมีค่า 7.0 และมีค่าความต้องการน้ำต่ำสุดที่สามารถเจริญได้คือ 0.92(Pearson และ Dutson, 1990) สิริพร (2538) กล่าวว่า เชื้อนี้สามารถทนเกลือได้ถึง 10% และบน blood agar จะให้ β – haemolytic activity ในปฏิกิริยาCAMP test จะพบ hemolysis ของเชื้อเกิดขยายเพิ่มขึ้นใกล้รอย streak ของ *S.aureus* และการทดสอบการเคลื่อนไหวบน SIM medium จะสังเกตลักษณะการเจริญของเชื้อรอบๆ รอยstab มีลักษณะคล้ายร่ม

การเกิดพยาธิสภาพ

L. monocytogenes เป็นสาเหตุของโรค listeriosis ส่วนใหญ่เป็นชนิด serotype 1/2A และ 4B ผู้ป่วยโรคนี้จะมีอาการกับระบบอื่นของร่างกายมากกว่าระบบทางเดินอาหาร ซึ่งผิดกับเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคที่พบในอาหารทั่วๆ ไป ลักษณะของอาการจะต่างกันตามสภาวะของผู้ติดเชื้อ เช่น ในสตรีมีครรภ์จะมีอาการเป็นไข้ หนาวสั่น ปวดศรีษะ ปวดหลัง และทำให้แท้งลูกได้ หรือในเด็กที่เกิดใหม่จะมีอาการระบบหายใจติดขัด (Bruno และคณะ, 1992) หายใจไม่สะดวก หัวใจล้มเหลว อาเจียน ชักกระตุก ในกรณีที่มีเยื่อหุ้มสมองอักเสบ จะมีอาการ 2 ระยะ คือ ระยะแรก ปวดศรีษะ ปวดหลัง อาเจียน ปวดตามข้อประมาณ 10 วัน ระยะต่อมามีไข้สูงซึ่งรบกวนการทำงานของประสาทส่วนกลาง ถ้าผู้ป่วยไม่ได้รับการรักษาที่เหมาะสมจะตายภายใน 2-3 วัน การรักษาทำได้โดยใช้ยาปฏิชีวนะ เช่น ampicillin penicillin หรือerythromycin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การควบคุมและป้องกัน

การปนเปื้อนของ *L. monocytogenes* ในอาหารดิบอาจหลีกเลี่ยงได้ยาก แต่ถ้าอาหารนั้นผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์ ก็สามารถทำลาย *L. monocytogenes* ได้ แต่เป็นที่น่าสังเกตว่า มีการตรวจพบ *L. monocytogenes* ในอาหารที่ผ่านกระบวนการทำให้สุกหรือฆ่าเชื้อ และผ่านกระบวนการบรรจุแล้ว แสดงให้เห็นว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อภายหลังซึ่งอาจมาจากสิ่งแวดล้อม จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่โรงงานจะต้องควบคุมการผลิตให้ดี การนำระบบ HACCP เข้ามาใช้ จะช่วยป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อนี้ได้ (สิริพร, 2538)

Nielsen และคณะ (1990) ศึกษาผลของ pediocin จากเชื้อ *Pediococcus acidilactici* ต่อการยับยั้ง *Listeria monocytogenes* ในเนื้อสดพบว่า pediocin ที่ระดับความเข้มข้น 500 AU/mL จะสามารถลดปริมาณ *Listeria monocytogenes* ได้น้อยกว่า 1 log cycle ส่วนระดับความเข้มข้น 1000 AU/mL จะลดปริมาณเชื้อได้มากกว่า 1 log cycle และที่ระดับความเข้มข้น 5000 AU/mL จะสามารถลดปริมาณเชื้อได้มากถึง 2log cycle

Pucci และคณะ (1988) ศึกษาผลของ pediocin PA-1 จากเชื้อ *Pediococcus acidilactici* ต่อการเจริญของเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ APT broth พบว่าสภาวะของอุณหภูมิที่ 4 องศาเซลเซียส ค่า pH ในช่วง 5.5-7 pediocin PA-1 จะมีความสามารถในการทำลาย *Listeria monocytogenes* ได้หมดทุกช่วงเวลา 2-21 วัน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส pediocin PA-1 มีผลในการทำลาย *Listeria monocytogenes* ได้หมดในช่วง pH 5.5-7 เช่นกัน

6. Escherichia coli 0157 : H7

ลักษณะทั่วไปของเชื้อ

E.coli O157:H7 เป็นแกรมลบ รูปแท่ง *E.coli O157:H7* ไม่สามารถใช้น้ำตาลซอร์บิทอล ซึ่งแตกต่างจาก *E.coli* โดยทั่วๆ ไป นอกจากนี้การใช้ปฏิกิริยา MUG โดยเอ็นไซม์ glucuronidase ซึ่งสามารถวินิจฉัย *E.coli* โดยทั่วไปได้ กลับไม่สามารถวินิจฉัย *E.coli O157:H7* ได้ ดังนั้นการตรวจพบและวินิจฉัย *E.coli O157:H7* จึงค่อนข้างยากไม่เหมือน *E.coli* โดยทั่วๆ ไป ค่า D values ในเนื้อบดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เท่ากับ 45 วินาที ดังนั้นจะเห็นได้ว่าเชื้อนี้จะถูกทำลายโดยการปรุงอาหารให้สุก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แหล่งที่มาของเชื้อ

เป็นแบคทีเรียที่พบได้ทั่วไปในทางเดินอาหารคนและสัตว์ สิริพร (2538) กล่าวว่า ทั่วไปพบในสัตว์ประเภทให้นม เช่น วัว ควาย และผลิตภัณฑ์ของมัน เช่น นม เนื้อ แหล่งที่มาของเชื้อในการระบาด 6 ครั้งมาจากเนื้อบด เนื่องจากในเนื้อบด เชื้อจุลินทรีย์จะปะปนและกระจายทั่วผลิตภัณฑ์ ถ้าให้ความร้อนไม่เพียงพอส่วนภายในเนื้อบดจะยังคงมีเชื้อนี้ปนเปื้อนอยู่ Pearson และ Dutson (1990) กล่าวว่า E.coli O157: H7 เป็นจุลินทรีย์ที่เจริญได้ทั้งที่มีและไม่มีออกซิเจน ทนต่ออุณหภูมิต่ำ และช่วงอุณหภูมิที่เหมาะอยู่ในช่วง 30-42 องศาเซลเซียส ค่า pH ที่เหมาะสมคือ 6.7 และค่าความต้องการน้ำ (Aw) อยู่ประมาณ 0.96

การเกิดพยาธิสภาพ

E.coli O157:H7 จะผลิตสารพิษ ซึ่งจะทำให้เกิดอาการในเด็กที่เรียกว่า hemorrhagic colitis อาการของโรคนี้ผู้ป่วยจะท้องเดิน ถ่ายเป็นเลือด และปวดท้อง ทำให้ถึงตายได้ และยังทำให้เกิดโรค hemolytic uremic syndrome เป็นผลทำให้ไตวายฉับพลันในเด็ก และยังทำอันตรายกับสมองส่วนกลางด้วย ระยะฟักตัวของโรคนี้ ประมาณ 3-4 วัน และในปัจจุบันยังไม่มีใครทราบปริมาณที่แน่นอนของเชื้อในอาหารที่จะทำให้อาหารเป็นพิษ

การควบคุมการป้องกัน

เนื่องจาก *E.coli O157:H7* ไม่ได้ทำให้สัตว์เจ็บป่วย และยังไม่มีวิธีไหนที่จะวินิจฉัยเนื้อที่ปนเปื้อนในระหว่างการผลิต ดังนั้นการที่จะพบ *E.coli O157:H7* ในเนื้อดิบจึงเป็นสิ่งที่หลีกเลี่ยงไม่ได้ จึงแนะนำให้ใช้ HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Point) system เพื่อที่จะลดการพบและลดปริมาณเชื้อบนเนื้อสัตว์ สำหรับผู้บริโภคให้ถือหลักที่ว่า *E.coli O157:H7* จะเหมือนเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในอาหารโดยทั่วๆ ไปคือ จะถูกทำลายโดยการปรุงอาหารให้สุก (สิริพร, 2538)

ลักษณะการเน่าเสียที่เกิดจากแบคทีเรียที่พบในเนื้อสัตว์

1. ผิวหน้าเป็นเมือก (Surface slime) เนื่องจากแบคทีเรียพวก Pseudomonas และ Acromobacter พบในเนื้อสัตว์ที่แขวนไว้ในห้องเย็นที่มีความชื้นสูง แต่ถ้าเป็นห้องเย็นมีความชื้นต่ำจะพบพวก Micrococcus เนื้อที่มีการปนเปื้อนด้วยแบคทีเรียจำพวกนี้ในปริมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มาก ๆ จะปรากฏเห็นเป็นเมือกสีขาว ๆ หรือบางคราวเป็นเมือกสีเหลืองเกิดขึ้นบนผิวหน้าของชิ้นเนื้อ เมือก (microbilogical slime) เป็นสารที่จุลินทรีย์ผลิตขึ้นในเซลล์ ไม่สามารถย่อยสลายได้ เกิดสะสมขึ้นในเซลล์ แต่เมื่อปริมาณของจุลินทรีย์เพิ่มมากขึ้นจนสามารถมองเห็นเป็นโคโลนีด้วยตาเปล่าได้ มันจะปรากฏให้เห็นเป็นเมือกเกิดขึ้น ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่บรรจุแบบสูญญากาศมักจะไม่พบการเน่าเสียในลักษณะนี้เพราะการปนเปื้อนของ anaerobic bacteria ในธรรมชาติน้อยกว่าพวก aerobic bacteria และพวก anaerobic bacteria โดยปกติจะผลิตกรดอินทรีย์ขึ้นระหว่างการเจริญเติบโตปริมาณกรดที่เกิดขึ้นจากแบคทีเรียเหล่านี้ จะมีผลยับยั้งการเจริญของพวก aerobic bacteria ด้วย แต่ถ้าผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาในสภาพสูญญากาศมีการปนเปื้อนจาก anaerobic bacteria ขึ้น และเก็บรักษาไว้ชั่วระยะเวลาหนึ่งก็อาจเกิดการเน่าเสียที่สังเกตเห็นได้เป็นเมือกสีขาวคล้ายน้ำนม (Whitish liquid) ในผลิตภัณฑ์ที่บรรจุแบบธรรมดาเมือกของแบคทีเรียจะปรากฏเห็นเป็นในรูปของเม็ดลูกปัดเล็ก ๆ ละเอียด แตะดูจะเป็นยางเหนียวและมีกลิ่นเหม็น (off-adour) ดังแสดงในตารางที่ 4

2. การเปลี่ยนแปลงสี (Change in colour of meat pigments) เนื้อสัตว์จะเปลี่ยนแปลงจากสีชมพูปนเทาเป็นสีเขียว น้ำตาล หรือเทา ขึ้นอยู่กับสารประกอบที่เกิดขึ้นจากการออกซิไดซ์ โดยแบคทีเรียพวก *Lactobacillus viridescens* ทำให้เกิดสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) หรือไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ขึ้น ซึ่งเป็น strong oxidizing agent สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลเฟอร์รัส (ferrous ion) ในโครงสร้างวงแหวนโพรไพริน (porphyrin ring) ของเม็ดสีไมโอโกลบิน ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีในรูปของ Verdoheme หรือ Cholegiobin ทำให้เกิดเป็นสีเขียว (greening) และมีกลิ่นเหม็นขึ้น

3. การเปลี่ยนแปลงของไขมัน (Change in fat) โดยแบคทีเรียพวก *Pseudomonas* และ *Achromobacter* ทำให้เนื้อสัตว์มีไขมันสูงเกิดการเหม็นหืน

4. เกิดกลิ่นผิดปกติ (off odour) และรสชาดผิดปกติ (off taste) เนื่องจากมีแบคทีเรียจำนวนเพิ่มมากขึ้น ๆ บนผิวหน้าของเนื้อ ทำให้เกิดการเหม็นเปรี้ยว(souring) เนื่องจากเกิดสารประกอบพวกกรดที่ระเหยได้ เช่น formic, acetic หรือยังมีกลิ่นเก่า (state flavor) ที่เกิดขึ้นในกรณีที่เก็บเนื้อสัตว์แช่เย็นนาน ๆ ในห้องเย็น เนื่องจากแบคทีเรียพวก *Actinomyces*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
99284

ตารางที่ 4 แสดงจำนวนของแบคทีเรีย ที่ทำให้เห็นเป็นลักษณะเมือกเกิดขึ้นบนผิวหน้าและการเกิดกลิ่นเหม็นในชิ้นเนื้อและผลิตภัณฑ์

อาหาร	จำนวนเซลล์ของแบคทีเรีย ที่ทำให้เห็นเป็นเมือก*	จำนวนเซลล์ของแบคทีเรีย ที่ทำให้เนื้อเริ่มมีกลิ่นเหม็น**
เนื้อไก่	$10x16^6$-$60x10^6$	$2.5x10^6$-$100x10^6$
เนื้อวัว	$3x10^6$-$300x10^6$	$1.2x10^6$-$100x10^6$
ไส้กรอก	$130x10^6$	$100x10^6$-$130x10^6$
เนื้อสุก	$10x10^6$-$100x10^6$	-
เบคอน	$1.5x10^6$-$100x10^6$	-
ปลา	-	$1x10^6$-$130x10^6$
ไข่	-	$10x10^6$

*หน่วยเป็นจำนวนเซลล์ต่อเนื้อพื้นที่หน้าตัด 1 ตารางเซนติเมตร

**หน่วยเป็นจำนวนเซลล์ต่อกรัมของอาหาร

ที่มา : เยาวลักษณ์ (2536)

5. การเกิดสีต่าง ๆ บนผิวหน้าของชิ้นเนื้อ เช่น จุดแดง (red spot) มีสาเหตุมาจาก *Serratia marcescens* หรือแบคทีเรียอื่น ๆ ที่ให้สีแดงโดยสามารถสร้างรงควัตถุที่มีสีแดงเกิดขึ้นในระหว่างการเจริญเติบโต ส่วน *Pseudomonas syncyanca* สร้างรงควัตถุสีเหลืองได้ในเนื้อสัตว์ที่เก็บไว้นานๆและจุดสีน้ำเงินแกมเขียวกับสีดำแกมน้ำตาลจากแบคทีเรียพวก *Chromobacterium lividum*

6. การเกิดกลิ่นเหม็นเน่า เป็นการเน่าเสียขั้นสุดท้ายของเนื้อสัตว์ เกิดจากการย่อยสารประกอบพวกโปรตีน เช่น hydrogen sulphide mercaptans และอื่น ๆ โดยแบคทีเรียพวก *Clostridium perfringens* (เยาวลักษณ์, 2536)

สาเหตุที่เนื้อสัตว์เหมาะแก่การเจริญของจุลินทรีย์

เนื้อสัตว์จัดได้ว่าเป็นอาหารที่ดีที่สุดต่อการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งนี้ เนื่องจาก

1. เนื้อสัตว์มีความชื้นสูง ความชื้น (moisture) ของเนื้อโดยทั่วไปมีประมาณร้อยละ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

50-57 หรือ Aw ประมาณ 0.99 ขึ้นไป ซึ่งเป็นความชื้นที่จุลินทรีย์ทุกชนิดสามารถเจริญเติบโตได้เป็นอย่างดี ทั้งนี้เพราะแบคทีเรียสามารถเจริญได้ดีในที่ที่มีความชื้นร้อยละ 18 หรือมากกว่า หรือที่ Aw 0.86 หรือมากกว่า

2. เนื้อสัตว์เป็นแหล่งอาหารที่ให้ธาตุอาหารพวกไนโตรเจน แร่ธาตุ และไวตามินที่อุดมสมบูรณ์ จึงเหมาะแก่การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

3. เนื้อสัตว์มีสารอาหารพวกคาร์โบไฮเดรตที่จุลินทรีย์สามารถใช้ได้(fermentable carbohydrate) เช่น กลูโคสในน้ำเลือดที่เหลือค้างอยู่ตามเซลล์ต่าง ๆ ทำให้จุลินทรีย์ที่มีอยู่สามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วและเกิดการหมักได้ง่ายถ้าสภาพแวดล้อมเหมาะสม

4. เนื้อสัตว์มีค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ที่เหมาะต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (pH = 5.6) คุณสมบัติทางฟิสิกส์ (physical properties) ของเนื้อสัตว์ ลักษณะโดย ทั่วไปของเนื้อจะมีช่องว่าง และโพรงอากาศมากมาย ที่ทำให้จุลินทรีย์สามารถอาศัยอยู่ได้ และสภาพต่าง ๆ ขณะนำไปแปรรูปหรือประกอบอาหาร ทำให้เพิ่มพื้นที่ผิวของเนื้อที่จุลินทรีย์จะปนเปื้อนได้มาก เช่นการตัดชิ้นเนื้อให้มีขนาดเล็กลง หรือการบดสับให้ละเอียด เหล่านี้เป็นเหตุให้จุลินทรีย์ปนเปื้อนลงเนื้อได้มากประกอบกับการมีอาหารและปัจจัยในการเจริญเติบโตอย่างครบถ้วนเมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสม จุลินทรีย์จะเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนมากขึ้นและเป็นสาเหตุให้เนื้อเน่าเสียในเวลาอันรวดเร็ว (เยาวลักษณ์, 2536)

ขั้นตอนการปนเปื้อนของจุลินทรีย์บนเนื้อสัตว์สามารถปนเปื้อนได้ดังนี้

การปนเปื้อนก่อนฆ่า (Preslaughter contamination) ขณะอยู่ในฟาร์มเชื้อจุลินทรีย์ที่อาจปนเปื้อนอยู่ในเนื้อสัตว์ที่สำคัญได้แก่ *Salmonella* ซึ่งเชื้อนี้อาจติดมากับสภาพแวดล้อมภายในคอกโรงเรือน และที่สำคัญส่วนใหญ่จะติดมากับอาหารสัตว์ โดยเฉพาะวัตถุดิบพวกปลาป่น กระดูกป่น ที่ในกรรมวิธีการผลิตไม่ผ่านขั้นตอนการฆ่าเชื้อ (sterilization) (จุฑารัตน์, 2540) Lauray (1996) กล่าวว่าเชื้อ Mycobacterium paratuberculosis เป็นเชื้อโรคที่อาศัยอยู่ในผนังลำไส้ของสัตว์ และต่อมน้ำเหลืองที่อยู่ใกล้ ๆ ลำไส้ และยังสามารถมีชีวิตอยู่ได้ในมูลสัตว์ที่ถ่ายไว้ในแปลงหญ้าหรือตามที่ต่าง ๆ เป็นเวลานาน 3-9 เดือน การติดต่อเกิดโดยการกินหญ้า อาหาร และน้ำ ที่ปนเปื้อน มูลสัตว์ที่มีเชื้อนี้อยู่ในสัตว์เคี้ยวเอื้องการที่แม่ทำการขยอกอาหารกลับมาเคี้ยวใหม่จะเป็นสาเหตุให้ลูกอ่อนนั้นติดเชื้อได้ ในช่วงระหว่างการเดินทางมายังโรงฆ่าสัตว์ สภาพร่างกายสัตว์ที่อ่อนแอจากการเดินทางที่ยาวนาน โดยสัตว์ไม่ได้รับการพักผ่อนให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหาร จะทำให้สัตว์อ่อนแอ และเพิ่มความเครียดให้แก่สัตว์เป็นอย่างมาก มีผลทำให้ปริมาณจุลินทรีย์จากกระเพาะและลำไส้เข้าสู่เนื้อเยื่อต่าง ๆ ของร่างกายได้ เนื่องจากการที่ร่างกายอ่อนแอ เม็ดเลือดขาวที่ทำหน้าที่คอยสกัดเชื้อโรคที่ผ่านเข้ามาในระบบเลือดมีจำนวนน้อยลงไปมาก ดังนั้นจึงทำให้เนื้อสัตว์มีปริมาณจุลินทรีย์สูงขึ้น อีกทั้งการปนเปื้อนของจุลินทรีย์จากมูลสัตว์ขณะที่สัตว์มีการขับถ่ายระหว่างการขนส่งทำให้เกิดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ไปสู่ตัวอื่น ๆ ได้ และในระยะพักสัตว์ การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ติดมากับมูลสัตว์ที่ติดผิวหนังและขนของสัตว์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งจากฝูงสัตว์ที่มีการเลี้ยงแบบขังอยู่ภายในคอก ซึ่งจะสกปรกมากกว่าสัตว์ที่ถูกเลี้ยงแบบปล่อยทุ่ง ดังนั้นในขณะทำการพักสัตว์ ควรมีการฉีดน้ำชะล้างความสกปรกออก เพื่อลดความสกปรกในขั้นตอนแรกของการดำเนินการฆ่าสัตว์

การปนเปื้อนระหว่างฆ่า (Contamination during slaughter) การแทงคอเพื่อเอาเลือดออกนั้นควรที่จะเอาเลือดออกจากตัวสัตว์ให้มากที่สุดซึ่งเท่ากับเป็นการรักษาคุณภาพเนื้อ เพราะเลือดเป็นอาหารที่ดีที่สุดของเชื้อจุลินทรีย์ในขั้นตอนการลวกซากพบแบคทีเรียพวกทนความร้อนได้ดีซึ่งปะปนอยู่ตามผิวหนังชั้นนอก เช่น *Bacilli spp.* ขั้นตอนการเอาเครื่องในออกภายหลังสัตว์ตายนั้นเชื้อแบคทีเรียสามารถปนเปื้อนได้โดยการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในกระเพาะอาหารเข้าสู่เนื้อสัตว์ได้ ในกรณีที่สัตว์ เช่น โค กระบือ เกิดการสำรอกอาหารออกมาขณะถูกทำให้สลบอาหารจะติดอยู่บริเวณลำคอทำให้เกิดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ (จุฑารัตน์, 2536) เมื่อทำการอดอาหารสุกรก่อนฆ่าเป็นเวลา 0, 2, 4 และ 6 ชั่วโมง จำนวนจุลินทรีย์ภายในทางเดินอาหารของซากสุกรมีจำนวนลดลง ตามลำดับ จากขั้นตอนในระหว่างการฆ่าทั้งหมด (Custy, 1997) การควบคุมการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ทำได้โดยทำความสะอาดอุปกรณ์ที่ต้องใช้ในการฆ่า การชำแหละ และตัดแต่งซาก ทุกครั้งที่ปฏิบัติการเสร็จด้วยน้ำผสมคลอรีนหรือกรดแลคติกทุกครั้ง (เยาวลักษณ์, 2536)

การปนเปื้อนภายหลังจากสัตว์ตายแล้ว (Post-Mortem contamination) เยาวลักษณ์ (2536) กล่าวว่า ห้องเก็บเนื้อสดควรให้มีความชื้นสัมพัทธ์อยู่ระหว่าง 90-95% ในห้องตัดแต่งเนื้อสดจะต้องมีอุณหภูมิสูงกว่าห้องเก็บเล็กน้อยเพื่อให้ความชื้นภายในชิ้นเนื้อซึมผ่านออกมาที่ผิวรอบด้านเนื้อที่ชำแหละจะได้ดูสดกว่าเมื่อนำออกจากห้องเก็บ โดยควรมีอุณหภูมิภายในห้องตัดแต่งประมาณ 10 องศาเซลเซียส (50 องศาฟาเรนไฮ) Taylor และคณะ (1987) กล่าวไว้ว่าเป็นไปได้ที่การชำแหละซากจะไม่ได้รับการปนเปื้อนซึ่งขึ้นอยู่กับความชำนาญของผู้ตัดแต่ง และพบว่าที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส พบจำนวนจุลินทรีย์เป็นจำนวนมากเมื่อเก็บรักษาไว้เป็นระยะเวลา 12-15 ชั่วโมง แต่การเก็บเนื้อไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 หรือ 17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

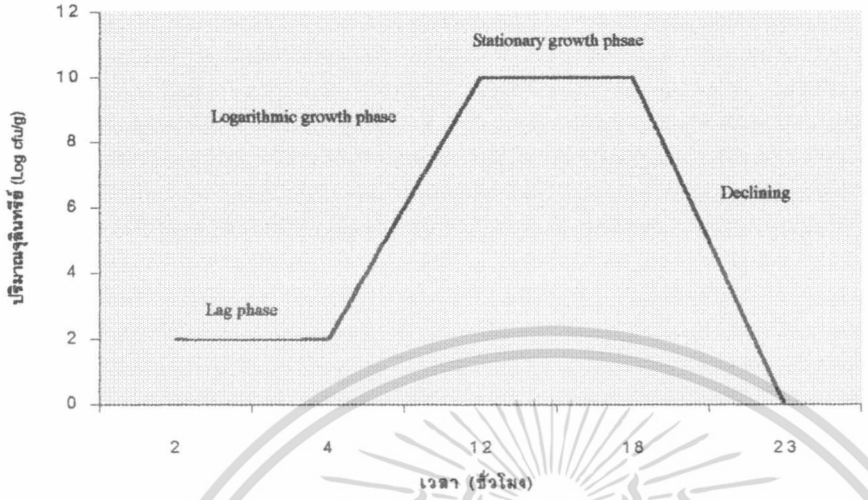
ชั่วโมง หลังฆ่า จำนวนจุลินทรีย์ไม่เพิ่มขึ้น ส่วนความชื้นสัมพัทธ์ในห้องตัดแต่งควรรักษาให้ต่ำ เพื่อป้องกันการกลั่นตัวของความชื้นจากอากาศบนชิ้นเนื้อ (sweating) ซึ่งจะเป็นผลให้แบคทีเรียเจริญได้ดี นอกจากนี้ในห้องเย็นที่เก็บรักษาเนื้อผ่าครึ่งหรือผ่าสี่ อาจมีการใช้ตะเกียงส่องอุลตราไวโอเลท (Ultraviolet ray lamb) ติดตั้ง เพื่อช่วยทำลายแบคทีเรียที่ปนเปื้อนบนผิวหน้าของซากทำให้สามารถเก็บรักษาซากได้ที่อุณหภูมิสูงกว่า 15.6 องศาเซลเซียส

ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

สามารถแบ่งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้เป็น 4 ขั้นตอน(phase) ดังภาพที่ 1 ขั้นตอนแรกเรียกว่า lag phase เป็นระยะเวลาที่เซลล์จะเพิ่มปริมาณสารภายในเซลล์ และสารย่อยบางชนิดในขั้นตอนนี้ จำนวนของแบคทีเรียจะไม่เพิ่ม หลังจากนั้นเซลล์จะเริ่มเพิ่มจำนวนโดยการแบ่งตัวแบบ binary fission และอัตราการเพิ่มจำนวนอย่างสม่ำเสมอ และจำนวนเซลล์จะเพิ่มเป็นเท่าตัว และสูงขึ้นเรื่อย ๆ เรียกขั้นตอนนี้ว่า logarithmic growth phase ขั้นตอนนี้จะค่อย ๆ ช้าลงจนเป็นเส้นตรงขนานกับแกนนอน หรือมีจำนวนแบคทีเรียคงตัวไม่เปลี่ยนแปลงไปชั่วระยะหนึ่ง เกิดการสมดุลระหว่าง การเกิด กับอัตราการตาย ขั้นตอนนี้เรียกว่า stationary growth phase และขั้นตอนสุดท้ายเรียกว่า declining หรือ death phase หรือหมายถึงช่วงที่แบคทีเรียลดจำนวนลงไปเรื่อย ๆ ซึ่งเป็นช่วงเวลาที่โภชนะจำเป็นเริ่มหมด หรือมีปริมาณกรดอันเป็นผลิตผลของขบวนการเมตาโบลิซึมของจุลินทรีย์ สะสมในปริมาณสูงขึ้นจนเกิดผลเสียต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์เอง (ชัยณรงค์, 2529)

การขยายระยะเวลาในช่วง lag phase ให้นานออกไป ส่งผลให้มีการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (Woolthuis และ Smulders, 1985) อาจทำได้โดยการใช้กรดแลคติก หรือการใช้อุณหภูมิ, ค่าความเป็นกรด-ด่างที่ไม่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง



ภาพที่1 ลักษณะการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (ชัยณรงค์, 2529)

คุณสมบัติของกรดแลคติก

ไพบูลย์ (2532) กล่าวไว้ว่ากรดแลคติกหรือกรดนม เป็นกรดที่มีพิษน้อยมาก เนื่องจากเป็นผลิตผลที่เกิดขึ้นในธรรมชาติ มีคุณสมบัติเป็นสารให้กลิ่นรส ดังนั้นจึงไม่มีกฎหมายบังคับการใช้กรดนี้ กรดแลคติกจะมีคุณลักษณะต่างกับกรดชนิดอื่นๆ คือ เป็นของเหลวซึ่งมีลักษณะข้นและไม่ระเหย ละลายได้ดีมากในน้ำ สามารถเกิด seft-esterification ได้ แม้ว่าจะอยู่ในสารละลายของเหลวเมื่อนำสารละลายมาให้ความร้อนจะเกิดมีปฏิกิริยา dehyration เกิดขึ้นระหว่างหมู่ a-hydroxy ของโมเลกุลหนึ่งกับหมู่ carboxy ของอีกโมเลกุลหนึ่ง ทำให้เกิดกรด polylactic ต่างๆ ขึ้น เช่น lactyllactic acid, the linear trimer และ higner polymers เป็นต้น กรด polylactics ต่างๆ ที่กล่าวนี้ มักจะเกิดขึ้นในสารละลายซึ่งมีกรดแลคติกมากกว่า 18% ส่วนการสลายตัวเป็น monomeric lactic acid นั้น จะเกิดขึ้นเมื่อนำสารละลายมาเจือจางด้วยน้ำ กิริยาการต่อต้านจุลินทรีย์ของกรดแลคติกนั้นค่อนข้างต่ำ ประสิทธิภาพของการเป็นพิษของกรดนี้จะเกิดขึ้นเมื่อความเข้มข้นสูงกว่า 0.5 % ปฏิกิริยาของกรดนี้จะมีโดยตรงกับเชื้อแบคทีเรียที่ไม่ต้องการอากาศ นอกจากนี้กรดแลคติกยังจะไปทำให้ค่า pH ของอาหารลดลง ดังนั้นการใช้กรดจึงมักใช้ร่วมกับสารกันบูดอื่น ๆ เช่น เกลือหรือกรดเบนโซอิกและ/หรือกรดซอร์บิก นี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียมกรดแลคติก

กรดแลคติกเตรียมได้จากการหมักน้ำตาลทรายขาวบริสุทธิ์แล้วนำมาทำให้บริสุทธิ์โดยเปลี่ยนให้เป็นผลึกของ calcium lactate จากนั้นนำมาทำปฏิกิริยากับกรดกำมะถัน เพื่อให้ได้สารละลายกรดแลคติกที่บริสุทธิ์ นอกจากวิธีที่กล่าวแล้วอาจผลิตกรดแลคติกได้โดยการหมักแป้งมันฝรั่ง กากน้ำตาล น้ำตาลข้าวโพดหรือ milk whey ในกรณีที่เตรียมโดยการหมักแป้งหรือน้ำตาล มักจะนิยมใช้เชื้อ Lactobacillus delbriickii และถ้าหมัก milk whey เชื้อที่ใช้จะเป็น Lactobacillus bulgaricus (ศิวาพร, 2529) กรดแลคติกเป็นส่วนประกอบของอาหารบางชนิดซึ่งเกิดขึ้นโดยธรรมชาติ และมีปริมาณมากน้อยต่างกันดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 แสดงปริมาณของกรดแลคติกที่มีอยู่ในอาหารชนิดต่าง ๆ

อาหาร	ปริมาณที่มีอยู่ในอาหาร (กรัม/กิโลกรัม)	ค่าเฉลี่ยอาหารที่ผู้บริโภครับประทานเข้าไป (กิโลกรัม)	ค่าเฉลี่ยที่ผู้บริโภคได้รับปริมาณของกรดแลคติก (กรัม)
เนื้อหมู	9	41.7	375.3
เนื้อวัว	9	18.6	167.4
เนยแข็ง	13	12.5	162.5
เนยเหลว	10	9.3	93.0
นมเปรี้ยว	10	6.9	69.0
เนื้อไก่	10	9.0	90.0

ที่มา : Smulder และคณะ (1986)

กรดแลคติกที่ใช้ในอุตสาหกรรมเนื้อสัตว์

การใช้กรดแลคติกในการลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์บนเนื้อปัจจุบันอุตสาหกรรมอาหาร ยังคงพบกับปัญหาการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ ถึงแม้ว่าได้มีการรักษาความสะอาดกันอย่างเข้มงวดแล้วก็ตาม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 ผลของการลดจำนวนจุลินทรีย์ ด้วยสารละลายกรดแลคติก 0.2% (v/v) และน้ำร้อน (65°C) หลังจากการเก็บในถุงสุญญากาศ โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

สายพันธุ์จุลินทรีย์	จำนวนจุลินทรีย์(%)					
	กรดแลคติก		น้ำร้อน		ควบคุม	
	ผิวหน้าตับ	ภายในตับ	ผิวหน้าตับ	ภายในตับ	ผิวหน้าตับ	ภายในตับ
Escherichaia	89	94	86	88	64	79
Citrobacter	-	-	-	4	0.7	-
Salmonella	-	-	-	-	1.4*	-
Klebsiella	-	-	-	1	-	-
Enterobacter	-	6	12	1	8.5	-
Hafnia	11	-	2	1	18.4	7
Proteus	-	-	-	3	-	-
Yersinia	-	-	-	2	7	14

*= S. panama

ที่มา : Caspar และคณะ (1983)

กรดแลคติกมีโครงสร้างคือ CH_3 CH(OH)COOH (CUSTY และคณะ, 1997) Smulder และคณะ (1986) กล่าวว่า กรดแลคติกในรูป DL ร่างกายมนุษย์สามารถสร้างขึ้นได้เอง ซึ่งสามารถสร้างได้ 117-144 g. lactate /24 ชม. /70 kg. โดยกรดแลคติกจะมีในรูปอื่นอีก คือ L(+) และ D(-) (เยาวลักษณ์, 2536) กล่าวว่าในรูป L(+) จะเป็นกรดแลคติกที่เกิดจากขบวนการหมัก ซึ่งเป็นรูปแบบที่ใช้ไม่ได้ในร่างกายมนุษย์ โดยนิยมใช้มากในผลิตภัณฑ์อาหารในปัจจุบัน

Woolthius and Smulders (1985) กล่าวว่า วิธีในการใช้สารละลายกรดแลคติก มีวิธีการใช้อยู่ 2 วิธี คือ การฉีดพ่น (spraying) วิธีนี้นิยมใช้กับซากที่มีขนาดใหญ่โดย ซึ่งเป็นวิธีที่สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ได้ดีวิธีหนึ่ง โดยCastillo และคณะ (1997) รายงานว่าในการใช้น้ำแรงดันสูง ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส หรือการตัดแต่งแล้วล้างด้วยน้ำร้อน(95 องศาเซลเซียส) และน้ำอุ่น (55 องศาเซลเซียส) แล้วสเปรย์ด้วยสารละลายกรดแลคติก 2 % จะมีผลทำให้เชื้อ Salmonella typhimurium, *E. coli* O157:H7, aerobic plate counts, Enterobacteriaceae, total coliforms, thermototerant coliforms และ generic *E. coli* บนซากเนื้อวัว การลดลงของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่า log ในการทดสอบด้วยการล้างด้วยน้ำหรือการตัดแต่ง จะทำให้ค่า log ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติได้น้อยกว่าการใช้น้ำร้อนและฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก

อีกวิธีหนึ่งคือ การจุ่ม(dipping) วิธีการนี้ส่วนมากจะใช้กับซากที่มีขนาดเล็ก เช่น เครื่องในสัตว์ ข้อเสียของวิธีนี้คือ จะทำให้มีประสิทธิภาพของกรดแลคติกนั้นลดลง เนื่องจากเกิดการปนเปื้อนของซากที่จุ่มลงไป (Woolthius และ Smulder, 1985) Caspar และคณะ (1983) รายงานว่าเมื่อนำตับสุกรจุ่มในสารละลายกรดแลคติกเข้มข้น 0.2% (v/v) นาน 5 นาที หรือจุ่มในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 65°C นาน 15 วินาที แล้วนำมาบรรจุในถุงสุญญากาศ เก็บไว้ที่ 3 $\pm$ 1 เป็นเวลา 1 หรือ 5 วัน ผลที่ได้คือ การใช้กรดแลคติกสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ต่างๆ ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังตารางที่ 6 แต่จะทำให้ตับมีสีซีดลงเล็กน้อย

สารละลายกรดแลคติกในการลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์บนเนื้อสัตว์

เนื่องจากสารละลายกรดแลคติกมีผลต่อการยั้บยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดยกรดแลคติกจะทำให้ค่า pH ในเนื้อลดต่ำลง มีผลทำให้สภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ซึ่งค่าpH ที่ลดต่ำลงนั้นเป็นการช่วยขยายระยะเวลาในช่วง lag phase ให้นานออกไปอีก (Woolthuis และ Smulders, 1985; James, 1983) รวมทั้งคุณสมบัติของกรดแลคติกที่สามารถละลายน้ำได้ดี มีความเป็นพิษต่ำ และไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค (Smulders และคณะ, 1986) การใช้กรดแลคติกในการยับยั้งจำนวนจุลินทรีย์บนเนื้อสัตว์เป็นที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย โดยประสิทธิภาพของกรดแลคติกขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ (Smulders และคณะ, 1986) คือปริมาณในการปนเปื้อนของเชื้อตั้งต้นEl-Khateib และคณะ (1993) รายงานว่าการใช้เนื้อวัวที่ตัดเป็นสี่เหลี่ยมลูกบาศก์แล้ว inoculation เชื้อ *L. monocytogenes* ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ในระหว่างการเก็บที่ 1, 24 และ 48 ชั่วโมง มีจำนวน 1.7, 1.1 และ 0.6 $\log_{10}$ CFU / 6 $cm.^2$ ตามลำดับ ที่ผิวเนื้อและ % ของเชื้อ *L. monocytogenes* ที่ติดมากับเนื้อโคจะมีความแตกต่างมากขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายกรดแลคติกซึ่งจะเห็นได้ว่าถ้ามีการปนเปื้อนของเชื้อตั้งต้นในปริมาณที่สูงประสิทธิภาพของกรดแลคติกจะลดลงตามปริมาณของเชื้อตั้งต้น และอุณหภูมิของซาก โดย Castillo และคณะ (1998) รายงานว่าเนื้อวัวที่ถูกปนเปื้อนด้วยเชื้อจุลินทรีย์จะถูกนำมาทำความสะอาดโดยใช้ ไอน้ำร้อนสูญญากาศ หรือใช้ร่วมกับน้ำร้อน (95 องศาเซลเซียส) หรือนำเนื้อวัวไปอุ่นที่ 55 องศาเซลเซียส แล้วฉีดพ่นด้วยสารละลายกรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แลคติกความเข้มข้น 2 % ซึ่งจะทำให้จำนวนจุลินทรีย์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามในการใช้ไอน้ำร้อนสูญญากาศจะมีความสำคัญน้อยกว่าการใช้ร่วมกับการใช้น้ำร้อนแล้วสเปรย์ด้วยสารละลายกรดแลคติกแต่จะไม่มีความแตกต่างทางด้านการลดลงของจำนวนจุลินทรีย์ที่บริเวณผิวของซาก และHardin และคณะ (1995) รายงานผลของการฉีดล้างผิวซากด้วยน้ำ 35 องศาเซลเซียส ฉีดล้างด้วยน้ำตามด้วยการสเปรย์ด้วยกรดแลคติก 2 % หรือสเปรย์ด้วยกรดอะซิติก 2 % ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส พบว่าทั้งหมดมีผลในการลดจำนวนจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคได้ อย่างไรก็ตาม การลดความปนเปื้อนจะมีความแตกต่างมากที่บริเวณผิวซาก และพบว่าการฉีดล้างด้วยกรดอินทรีย์ตามด้วยนั้น จะดีกว่าการฉีดล้างน้ำเพียงอย่างเดียว และกรดแลคติกสามารถลดระดับของ *E. coli* O157:H7 ได้ดีกว่ากรดอะซิติกอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งจะเห็นได้ว่าถ้าซากมีอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์จะทำให้กรดแลคติกมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์เพิ่มมากขึ้นสุดท้ายคือ ความเข้มข้นของสารละลายกรดแลคติกโดยถ้าใช้กรดแลคติกที่มีความเข้มข้นสูงจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้มากเช่นกันซึ่งสอดคล้องกับ Miller และคณะ (1997) รายงานว่าในการใช้กรดอินทรีย์ปรับปรุงคุณภาพของเนื้อปลาดุกที่ความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 4 % (v/v) โดยการสเปรย์ลงบนเนื้อปลาภายใต้ความดันที่ 15 องศาเซลเซียส แล้วนำไปแช่ในอ่างน้ำเย็น อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นวิธีการเลียนแบบให้เหมือนกับการแช่เย็น (chilling) แล้วถูกนำมา dilution ด้วย NaOH 1.0 M. ที่ pH 7.2 เพาะเลี้ยงเชื้อที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าการใช้กรดมีผลต่อการลดลงของจำนวนจุลินทรีย์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) จุลินทรีย์ที่ถูกล้างด้วยน้ำเย็นแล้วสเปรย์ด้วยกรดจะถูกลดจำนวนลงโดยการเพิ่มความเข้มข้นของกรดและเวลาที่ใช้กรดโพรไพโอนิค (propionic acid) มีผลในการลดจำนวนจุลินทรีย์มากที่สุดตามด้วยกรดอะซิติก (acetic acid) และกรดแลคติก (lactic acid) ตามลำดับ ซึ่งกรดแลคติกและกรดโพรไพโอนิคไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ในการลดจำนวนจุลินทรีย์บนเนื้อปลาดุก โดยผลของการใช้กรดอินทรีย์ต่างๆ ต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนเนื้อปลาดุก แสดงในภาพที่ 2

ผลของกรดอะซิติก (CH_3COOH) และกรดโพรไพโอนิก (CH_3CH_2COOH) ที่ความเข้มข้น 0-4% ในนาทีที่ 20 ที่ความเข้มข้น 2 และ 4 % จะไม่แตกต่างกับที่ความเข้มข้น 1% ในนาทีที่ 20 ที่ความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 4% จะมีจำนวนจุลินทรีย์ลดลง คือ 0, 0.5, 1.5 และ 2.5 log CFU/ml. ตามลำดับ จำนวนจุลินทรีย์ที่พบมีจำนวนน้อยที่สุดคือ เมื่อดูจากเส้นกราฟ จะเห็นว่าเส้นกราฟลดต่ำสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลของกรดแลคติก ($CH_3CH(OH)COOH$) ที่ความเข้มข้น 0-4 % จำนวนจุลินรีย์ที่พบมีจำนวนต่ำสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่ไม่มีความแตกต่างจากที่ความเข้มข้น 1 และ 2% โดยจำนวนจุลินทรีย์ $10^{6.3}$ CFU/ml. ลดลงเหลือ $10^{5.8}$, $10^{5.2}$ และ $10^{4.7}$ CFU/ml. ที่ความเข้มข้น 1, 2 และ 4% ตามลำดับ

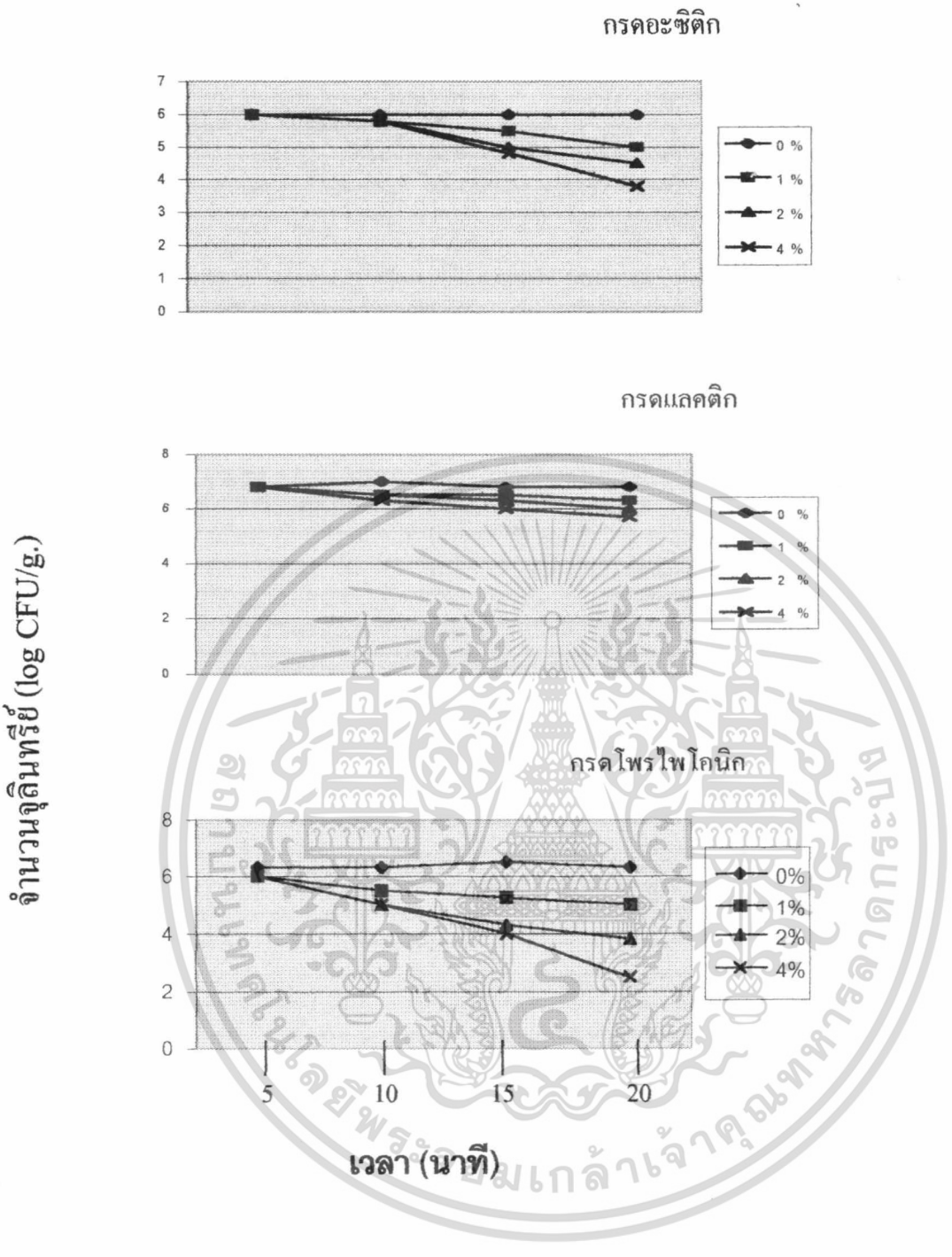
Dorsa และคณะ (1998a) นำเนื้อวัวที่ถูกให้ความเย็นจัดเป็นเวลานาน (21 วัน) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มาชะล้างด้วยกรดแลคติก 2 % , กรดอะซิติก 2 % , ไตรโซเดียมฟอสเฟต 12 % , น้ำที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส และ น้ำที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส แล้วนำมาเลี้ยงเชื้อ ผลที่ได้คือ แบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติก, แบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจน และซูโดโมแนส จะถูกควบคุมได้เมื่อถูกชะล้างด้วย กรดแลคติก, กรดอะซิติก และไตรโซเดียมฟอสเฟต ส่วนในน้ำร้อนและน้ำที่อุณหภูมิห้องจะสามารถกำจัดจุลินทรีย์ก่อโรคได้เพียงเล็กน้อย

Hwang และ Beuchat (1994) บ่งชี้ว่าการใช้สารละลายกรดแลคติกฉีดล้างผิวซากของสัตว์ปีก เป็นผลให้จำนวนของ Salmonella, *L. monocytogenes*, *C. jejuni* และ *S. aureus* ลดลงเมื่อเทียบกับการฉีดล้างด้วยน้ำ

Podolak และคณะ (1996) รายงานในการใช้กรดฟูมาริค และกรดแลคติก ต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์บนเนื้อวัว โดยทำการเก็บเนื้อวัวในสูญญากาศ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และดูผลทุก 0, 1, 3, 5, 7, 10 และ 14วัน โดยกรดฟูมาริก 5% จะลดการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ดีกว่ากรดแลคติกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

Kim และคณะ (1995) โดยทำการจุ่มเนื้อปลาดุกที่แช่เย็นในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 10 องศาเซลเซียส ในกรดแลคติกที่ทำการเพาะ2.5 % กับสารละลายกรดแลคติก 2 % นาน 5 นาที จะสามารถลดจำนวนแบคทีเรียแกรมลบได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2 ผลของการใช้กรดอะซิติก กรดแลคติก และกรดโพรไพโอนิค ที่ความเข้มข้น 0-4% ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์บนเนื้อปลาดุก(Custy, 1997)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

1. <u>อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง</u>

1.1 ตู้อบเพาะเชื้อ (Incubator)

1.2 ตู้เขี่ยเชื้อ (Larmina air flow carbinet)

1.3 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave)

1.4 ตู้อบฆ่าเชื้อ (Hot air oven)

1.5 เครื่องชั่งอิเล็กทรอนิกส์(Digital Balancing)

1.6 เครื่องปั่นเนื้อ(Mulinex , meat mixer)

1.7 เตาให้ความร้อนด้วยไฟฟ้า (Hot plate)

1.8 ตู้อบไมโครเวฟ (Microwave oven)

1.9 เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่างในเนื้อ(Knick model 651-2)

1.10 เครื่องเขย่า(vertex)

1.11 เทอร์โมมิเตอร์

1.12 คีมคีบ (forceps)

1.13 ด้ามมีดและใบมีด

1.14 ถุงฆ่าเชื้อสำหรับเก็บตัวอย่างเนื้อ

1.15 Aluminium foil

1.16 ตะเกียง

1.17 ปิเปต ขนาด 1 ml., 2ml. และ 10 ml.

1.18 Flask ขนาด 500 ml. และ 1,000 ml.

1.19 กระบอกตวงขนาด 250 ml.

1.20 จานเพาะเลี้ยงเชื้อ (petridish)

1.21 ตะแกรงใส่หลอดทดลอง

1.22 เครื่องนับจำนวนแบคทีเรีย(colony counter)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. <u>แผนการทดลอง</u>

ทำการทดลอง โดยเก็บตัวอย่างเนื้อสุกร จากโรงฆ่าสุกรที่ไม่ได้มาตรฐาน ในเขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ วางแผนการทดลองแบบ 3 X 8 แฟคทอเรียลในการทดลองแบบสุ่มตลอด (CRD) โดยแบ่งเป็น 2 ปัจจัย ดังนี้

ปัจจัยที่ 1 ศึกษาการใช้สารละลาย โดยแบ่งออกเป็น 3 ระดับ คือ

1. กลุ่มควบคุม
2. กลุ่มใช้สารละลายกรดแลคติกที่ผ่านการใช้แล้ว ความเข้มข้น 2 %
3. กลุ่มใช้น้ำกลั่นที่ใช้แล้ว

ปัจจัย ที่ 2 ศึกษาระยะเวลาในการเก็บรักษาเนื้อ โดยแบ่งออกเป็น 8 ระดับ คือ ชั่วโมงที่ 0, 2, 4, 6, 8, 10 และ 12

3. <u>วิธีการทดลอง</u>

3.1 นำเนื้อส่วนสันคอที่ได้จากโรงฆ่าที่ไม่ได้มาตรฐาน

3.2 ทำการวัดค่า pH อุณหภูมิตรวจนับจุลินทรีย์เริ่มต้นในเนื้อ และในสารละลายที่ใช้โดยวิธี total plate count

3.3 นำเนื้อจุ่มในน้ำกลั่นที่ผ่านการใช้แล้ว และสารละลายกรดแลคติกที่ผ่านการใช้แล้วความเข้มข้น 2% (v/v) เป็นเวลา 2 นาที ส่วนเนื้อที่เป็นกลุ่มควบคุมจะตั้งทิ้งไว้เฉยๆ

3.4 จากนั้นนำเนื้อทั้ง 3 ชิ้น แขวนผึ่งไว้กับอากาศนาน 15 นาที เพื่อให้เนื้อที่ผ่านการจุ่มด้วยสารละลายแห้ง

3.5 วัด pH อุณหภูมิและตรวจนับจุลินทรีย์ภายหลังที่แขวนเนื้อไว้ในอากาศนาน 15 นาที, 0 , 2 , 4 , 6 , 8 ,10 และ 12 ชั่วโมง ดังภาพที่ 3

4. <u>การบันทึกผล</u>

4.1 บันทึกอุณหภูมิ และค่าความเป็นกรดด่าง ภายในเนื้อสันคอก่อนทำการสุ่มตัวอย่างเนื้อสุกรทุกครั้ง

4.2 บันทึกจำนวนจุลินทรีย์ในสารละลายกรดแลคติกที่ผ่านการใช้แล้ว และน้ำกลั่นที่ผ่านการใช้แล้วก่อนทำการจุ่มตัวอย่างเนื้อในสารละลาย ดังกล่าว

4.3 บันทึกค่าความเป็นกรดด่างของสารละลายกรดแลคติกที่ผ่านการใช้แล้วเข้มข้น 2 % (v/v) และน้ำกลั่นที่ผ่านการใช้แล้ว ก่อนการจุ่มเนื้อในทุกๆ ซ้ำของการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 บันทึกจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้น หลังจากแขวนไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที , 2 , 4 , 6 , 8 , 10 และ 12 ชั่วโมง

5. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้จะถูกนำมาวิเคราะห์ โดยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) แล้วทำการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของทรีตเมนต์ โดยวิธี Least Square Means และวิเคราะห์ข้อมูลต่าง ๆ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป (SAS, 1985)

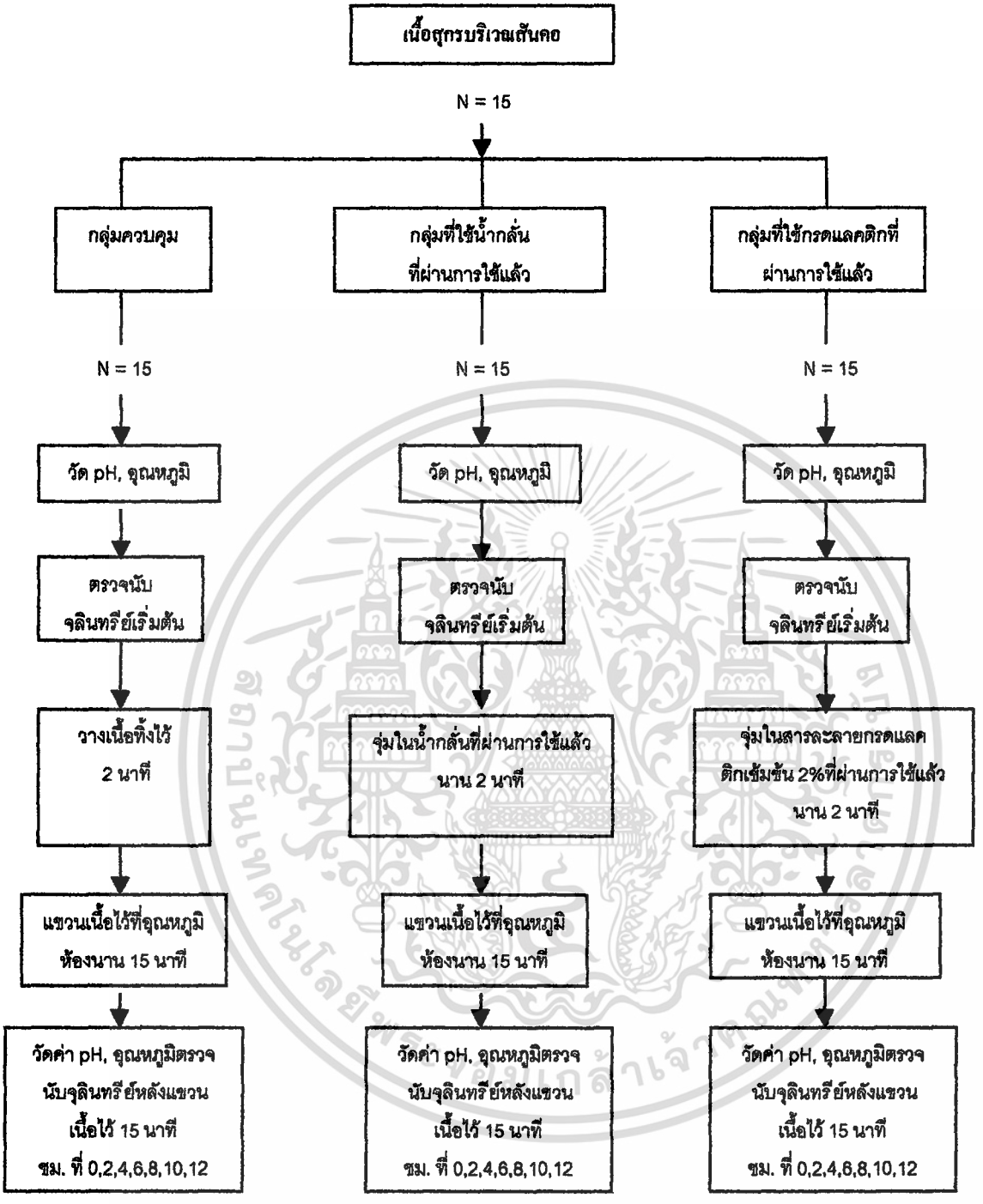
6. สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา และห้องปฏิบัติการตัดแต่งเนื้อสัตว์ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

7. ระยะเวลาในการทดลอง

เริ่มการทดลอง วันที่ 24 กุมภาพันธ์ 2542 สิ้นสุดการทดลอง วันที่ 11 มีนาคม 2542

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3 แสดงขั้นตอนดำเนินการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลอง

<u>อิทธิพลของสารละลายกรดแลคติกที่ผ่านการใช้แล้วในการลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์บนเนื้อสันคอสุกร</u>

ในการทดลองครั้งนี้เป็นการศึกษาประสิทธิภาพของสารละลายกรดแลคติกที่ผ่านการใช้แล้ว และการใช้น้ำกลั่นที่ผ่านการใช้แล้วนำมาใช้อีกว่ามีประสิทธิภาพคงเดิมหรือไม่ โดยก่อนนำชิ้นเนื้อจุ่มในสารละลายแต่ละชนิดจะทำการวัดค่า pH และอุณหภูมิในสารละลายกรดแลคติกที่ผ่านการใช้แล้วมีค่า 2.17 และ 27.94 ตามลำดับ ในน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ใช้แล้วมีค่า 7.10 และ 27.96 ตามลำดับ แล้วทำการตรวจนับจุลินทรีย์บนสารละลายกรดแลคติกที่ผ่านการใช้แล้วพบว่ามีค่าเป็นศูนย์ ส่วนน้ำกลั่นที่ผ่านการใช้แล้วพบจำนวนจุลินทรีย์ปนเปื้อน 5.33 log CFU/กรัม จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างเนื้อเพื่อวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้น และภายหลังการเก็บเนื้อที่อุณหภูมิห้องนาน 15 นาที, 2 , 4 , 6 , 8 , 10 และ 12 ชั่วโมง

<u>อิทธิพลของสารละลายกรดแลคติกที่ผ่านการใช้แล้วในการลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์บนผิวเนื้อสุกร</u>

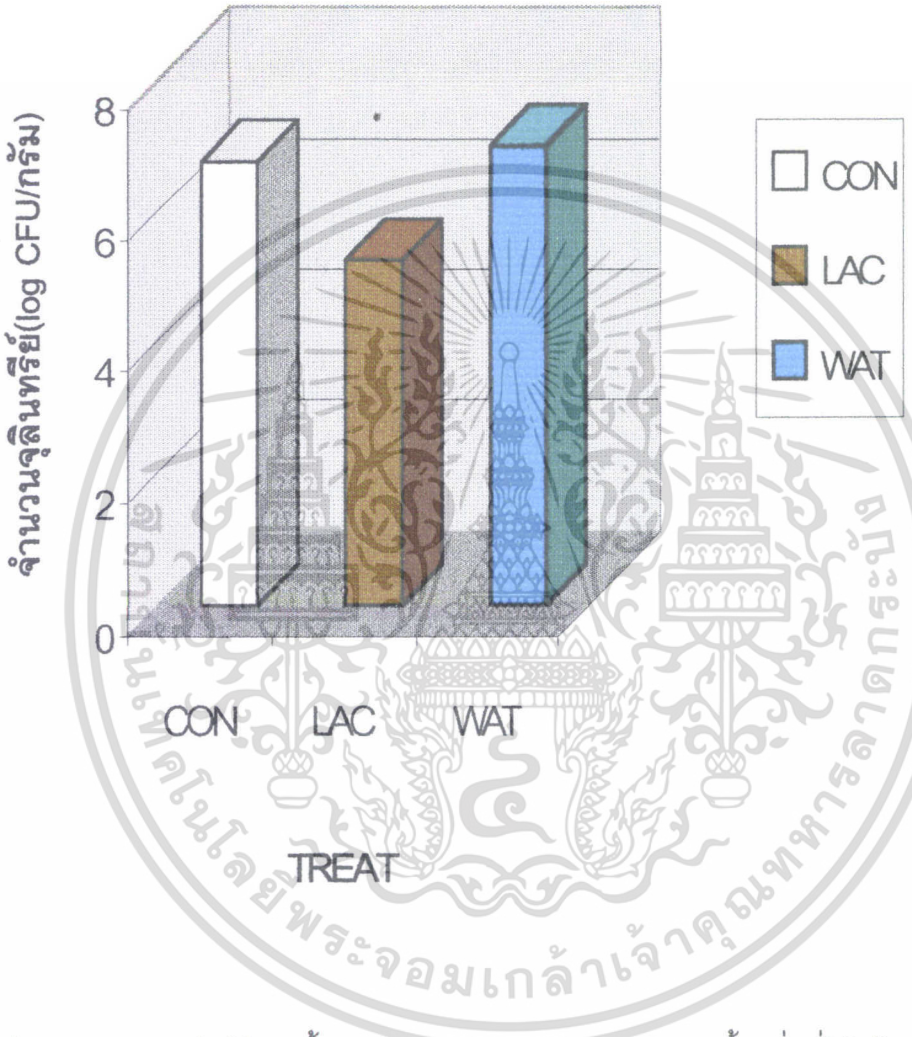
จากภาพที่ 4 พบว่า การใช้สารละลายกรดแลคติกที่ผ่านการใช้แล้วเข้มข้น 2 % (v/v) มีประสิทธิภาพในการลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์บนเนื้อสุกร โดยพบการลดลงของจำนวนจุลินทรีย์ในกลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลคติกที่ผ่านการใช้แล้ว ซึ่งมีค่า 5.25 log CFU/กรัม อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ใช้น้ำกลั่นที่ผ่านการใช้แล้วและกลุ่มควบคุม ซึ่งมีจำนวนจุลินทรีย์ 6.98 และ 6.75 log CFU/กรัม ตามลำดับ

<u>อิทธิพลของระยะเวลาต่อจำนวนเชื้อจุลินทรีย์บนผิวเนื้อสันคอสุกร</u>

จากภาพที่ 5 พบว่า ค่าเฉลี่ยของจำนวนเชื้อจุลินทรีย์บนเนื้อสันคอสุกรจากที่ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที และภายหลังจากการเก็บตัวอย่างเนื้อในชั่วโมงที่ 2 , 4 , 6 , 8 , 10 และ 12 มีค่าเท่ากับ 5.69 , 5.79 , 5.98 , 6.29 , 6.63 , 6.73 และ 7.04 log CFU/กรัม ตามลำดับ ซึ่งจำนวนจุลินทรีย์ในชั่วโมงที่ 12 เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้น ซึ่งมีค่า 6.47 log CFU/กรัม ในขณะเดียวกันพบว่าจำนวนเชื้อจุลินทรีย์บนเนื้อสันคอสุกรหลังจากทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 15 นาที , 2 , 4 และในชั่วโมงที่ 8 ,10 และ 12 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4 แสดงปริมาณจุลินทรีย์ที่พบในเนื้อสันคอสุกรกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลคติกที่ผ่านการใช้แล้ว และ กลุ่มที่ใช้น้ำกลั่นที่ผ่านการใช้แล้ว



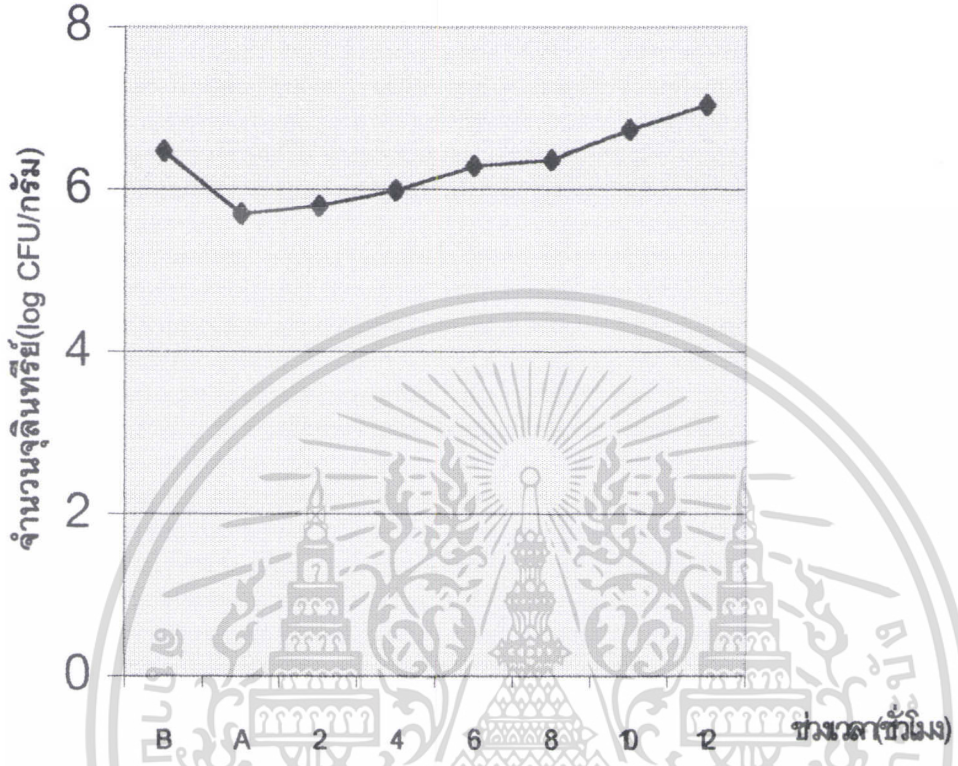
CON หมายถึง กลุ่มควบคุม (ไม่ได้จุ่มเนื้อสุกรในสารละลายกรดแลคติกและน้ำกลั่นที่ใช้แล้ว)

LAC หมายถึง กลุ่มที่จุ่มด้วยสารละลายกรดแลคติกที่ใช้แล้ว

WAT หมายถึง กลุ่มที่จุ่มด้วยน้ำที่ผ่านการใช้แล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>ภาพที่ 5</u> แสดงปริมาณจำนวนจุลินทรีย์ที่พบในระยะเวลาต่าง ๆ ของการเก็บตัวอย่าง



B หมายถึง ระยะเวลาก่อนการทดลอง

A หมายถึง ระยะเวลาหลังจากจุ่มเนื้อสันคอสุกรด้วยสารละลายกรดแลคติกที่ใช้แล้ว หรือน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ใช้แล้ว หรือกลุ่มควบคุม แล้วทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที

<u>อิทธิพลร่วมระหว่างกลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลคติกที่ใช้แล้ว กลุ่มที่ใช้น้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ใช้แล้ว กลุ่มควบคุม และระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อจำนวนเชื้อจุลินทรีย์บนเนื้อสันคอสุกร</u>

จากตารางที่ 7 พบว่าสารละลายกรดแลคติกที่ใช้แล้ว มีประสิทธิภาพในการลดจำนวนจุลินทรีย์บนเนื้อสันคอสุกร โดยพบการลดลงของจำนวนจุลินทรีย์ในกลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลคติกที่ผ่านการใช้แล้ว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเก็บรักษาเนื้อเป็นระยะเวลา 15 นาที, 2 , 4 , 6 , 8 , 10 และ 12 ชั่วโมง โดยมีค่า 6.35 ,6.41 , 7.09 , 7.12 , 7.30 , 7.40 และ 7.82 log CFU/กรัม ตามลำดับ ทั้งนี้ยังพบอีกว่าระยะเวลาการเก็บรักษาเนื้อในชั่วโมงที่ 10 และ 12 พบแนวโน้มการเพิ่มขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของจุลินทรีย์ โดยในชั่วโมงที่ 10 จำนวนจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับการเก็บรักษาเนื้อที่เวลา 15 นาที , 2 และ 4 ชั่วโมง แต่ไม่แตกต่างกันในทางสถิติกับระยะเวลาการเก็บรักษาเนื้อชั่วโมงที่ 6 และ 8 ในขณะที่จำนวนจุลินทรีย์ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาเนื้อชั่วโมงที่ 12 เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนจุลินทรีย์ที่ระยะการเก็บรักษา 15 นาที , 2 , 4 , 6 , 8 และ 10 ชั่วโมง แต่ถึงอย่างไรก็ตามพบว่า จำนวนจุลินทรีย์ในชั่วโมงที่ 12 ยังมีค่าน้อยกว่าจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ในกลุ่มที่ใช้น้ำกลั่นที่ผ่านการใช้แล้ว พบว่าจำนวนจุลินทรีย์บนเนื้อสันคอสุกรมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเก็บรักษาเนื้อเป็นระยะเวลาที่นานขึ้น จำนวนจุลินทรีย์ที่ทำการตรวจนับก่อนการทดลอง ภายหลังการเก็บรักษาเนื้อสุกรไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 15 นาที , 2 , 4 , 6 , 8 , 10 และ 12 ชม. มีค่าเท่ากับ 6.35 , 6.35 , 6.41 และ 7.09 , 7.12 , 7.30 , 7.40 , 7.82 log CFU/กรัม ตามลำดับ โดยในชั่วโมงที่ 6 , 8 , 10 และ 12 พบการเพิ่มขึ้นของเชื้อจุลินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อเริ่มต้น ทั้งนี้พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ในระยะเวลาการเก็บรักษาในชั่วโมงที่ 6 , 8 , 10 และ 12 ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ

ในกลุ่มควบคุมจำนวนจุลินทรีย์บนเนื้อสันคอสุกรมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อทำการเก็บรักษาที่นานขึ้น โดยจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นหลังการเก็บรักษาเนื้อสุกรไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 15 นาที, 2 , 4 , 6 , 8 , 10 และ 12 ชั่วโมง จำนวนจุลินทรีย์ที่พบมีค่าเท่ากับ 6.01 , 6.30 , 6.23 , 6.86 , 7.54 , 7.29 และ 7.42 log CFU/กรัม ตามลำดับ ซึ่งในระยะเวลาการเก็บรักษาเนื้อที่เวลา 15 นาที, 2 , 4 และ 6 ชั่วโมง ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ($p>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น และในขณะที่ระยะเวลาการเก็บรักษาเนื้อ 8 , 10 และ 12 ชั่วโมง พบการเพิ่มขึ้นของจำนวนจุลินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับที่ระยะเวลา 15 นาที, 2 และ 4 ชั่วโมง แต่ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติกับชั่วโมงที่ 6

เมื่อเปรียบเทียบในกลุ่มที่ใช้น้ำกลั่นที่ผ่านการใช้แล้ว และกลุ่มกลุ่มควบคุม พบว่าจำนวนจุลินทรีย์บนเนื้อสันคอสุกรหลังทิ้งเนื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 15 นาที , 2 , 4 , 6 , 8 , 10 และ 12 ชม. มีแนวโน้มในการเพิ่มขึ้นของจำนวนจุลินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลคติกที่ผ่านการใช้แล้ว พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ในกลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลคติกที่ผ่านการใช้แล้วลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มที่ใช้น้ำที่ผ่านการใช้แล้ว และ กลุ่มควบคุม

จำนวนจุลินทรีย์บนเนื้อสุกรก่อนทำการทดลองในกลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลคติกที่ใช้แล้ว กลุ่มที่ใช้น้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว และ กลุ่มควบคุม มีค่าเท่ากับ 6.72 , 6.98 และ 6.34 log CFU/กรัม ตามลำดับ ซึ่งไม่พบความแตกต่างทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 แสดงอิทธิพลร่วมของระยะเวลาต่อจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในเนื้อกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลคติกที่ผ่านการใช้แล้ว และกลุ่มที่ใช้น้ำกลั่นที่ผ่านการใช้แล้ว

ระยะเวลา	จำนวนจุลินทรีย์ (log CFU/g)		
	กลุ่มควบคุม	กลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลคติกที่ใช้แล้ว	กลุ่มที่ใช้น้ำกลั่นที่ใช้แล้ว
เชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น	6.34$^{\text{ฉชช}}$	6.72$^{\text{งจฉช}}$	6.35$^{\text{จฉชช}}$
15 นาที	6.01$^{\text{ชชฌ}}$	4.71$^{\text{ฎ}}$	6.35$^{\text{จฉชช}}$
2 ชั่วโมง	6.30$^{\text{ฉชช}}$	4.67$^{\text{ฎ}}$	6.41$^{\text{จฉฉช}}$
4 ชั่วโมง	6.23$^{\text{ฉชชฌ}}$	4.63$^{\text{ฎ}}$	7.09$^{\text{กฉงจ}}$
6 ชั่วโมง	6.86$^{\text{ฉงจฉ}}$	4.88$^{\text{ณฎ}}$	7.12$^{\text{กฉง}}$
8 ชั่วโมง	7.54$^{\text{กช}}$	5.06$^{\text{ณฎ}}$	7.30$^{\text{กฉค}}$
10 ชั่วโมง	7.29$^{\text{กฉค}}$	5.50$^{\text{ฌญ}}$	7.40$^{\text{กฉค}}$
12 ชั่วโมง	7.42$^{\text{กฉค}}$	5.87$^{\text{ชฌ}}$	7.82$^{\text{ก}}$

ก, ข, ค, ง, จ, ฉ, ช, ซ, ฌ, ญ, ฎ อักษรที่ต่างกันของอิทธิพลร่วมระหว่างกลุ่มควบคุม กลุ่มที่จุ่มน้ำกลั่นที่ผ่านการใช้แล้ว และกลุ่มที่จุ่มสารละลายกรดแลคติกที่ผ่านการใช้แล้ว กับระยะเวลาต่าง ๆ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารละลายกรดแลคติกที่ผ่านการใช้แล้วเข้มข้น 2 % (v/v) สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์บนเนื้อสันคอสุกร พบว่าการใช้สารละลายกรดแลคติกที่ผ่านการใช้แล้วเข้มข้น 2 % (v/v) สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์บนเนื้อสันคอสุกรได้เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ใช้น้ำที่ผ่านการใช้แล้ว และกลุ่มควบคุม โดยในกลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลคติกที่ผ่านการใช้แล้ว จำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นของสารละลายมีค่าเท่ากับศูนย์แต่ประสิทธิภาพของสารละลายกรดแลคติกลดลงเนื่องจากจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับชิ้นเนื้อที่จุ่มสารละลายกรดแลคติกก่อนการใช้งานทำให้จำนวนเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นในสารละลายกรดแลคติกที่ผ่านการใช้แล้วมีจำนวนมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายกรดแลคติกที่ไม่เคยผ่านการใช้งานมาเลย แต่จากผลการทดลองพบว่าจำนวนจุลินทรีย์ยังคงลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นภายหลังการใช้สารละลายกรดแลคติกที่ผ่านการใช้แล้ว แต่เมื่อเก็บรักษาเนื้อเป็นระยะเวลานานขึ้นเชื้อจุลินทรีย์จะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น อาจเนื่องมาจากมีการปนเปื้อนของเศษชิ้นเนื้อในสารละลายดังกล่าว ทำให้ประสิทธิภาพของสารละลายกรดแลคติกอาจลดลง ซึ่ง Smulders และคณะ (1986) กล่าวเกี่ยวกับประสิทธิภาพของกรดแลคติกขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ คือ ปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อเริ่มต้น โดยถ้ามีการปนเปื้อนของเชื้อเริ่มต้นในปริมาณที่สูง ประสิทธิภาพของสารละลายกรดแลคติกจะลดลงตามปริมาณเชื้อที่เพิ่มขึ้น ซึ่งมีสาเหตุมาจากค่า pH ที่สูงขึ้น และผลการทดลองยังสอดคล้องกับการทดลองของ Adam และ Hall (1988) โดยกล่าวไว้ว่ากรดแลคติกจะเข้าไปทำลายระบบในขบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์จุลินทรีย์ให้ผิดปกติไป จึงทำให้ไม่เกิดการแบ่งตัว ดังนั้นจุลินทรีย์จึงไม่มีการเพิ่มจำนวนขึ้น นอกจากนี้ Kim และคณะ (1995) ทำการจุ่มเนื้อปลาดุกที่แช่เย็นในสารละลายกรดแลคติกเข้มข้น 2 % นาน 5 นาที ซึ่งสามารถลดจำนวนแบคทีเรียแกรมลบได้

ในกลุ่มที่ใช้น้ำกลั่นที่ผ่านการใช้แล้วพบจำนวนจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น เนื่องจากในน้ำกลั่นที่ใช้แล้วมีจำนวนจุลินทีย์เริ่มต้น 5.33 log CFU/กรัม เมื่อนำชิ้นเนื้อมาจุ่มจึงเป็นการเพิ่มการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์บยเนื้อสุกร ปรียา (2529) กล่าวไว้ว่า เนื่องจากน้ำเป็นตัวทำให้เนื้อมีความชุ่มน้ำ ซึ่งน้ำเป็นปัจจัยสำคัญตัวหนึ่งที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์และในน้ำมีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบที่สำคัญ ดังนั้นในกลุ่มที่ใช้น้ำกลั่นที่ผ่านการใช้แล้วจึงมีผลต่อการเพิ่มของจำนวนจุลินทรีย์บนเนื้อสุกร โดยเมื่อเก็บรักษาเนื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 15 นาที, 2 , 4 , 6 , 8 , 10 และ 12 ชั่วโมง จำนวนจุลินทรีย์มีค่าเท่ากับ 6.35 , 6.41 , 7.09 , 7.12 , 7.30 , 7.40 และ 7.82 log CFU/g. ตามลำดับ แต่ในกลุ่มที่ใช้น้ำกลั่นที่ผ่านการใช้แล้วจำนวนจุลินทรีย์จะมีปริมาณใกล้เคียงกันมากกับกลุ่มควบคุม โดยกลุ่มที่ใช้น้ำกลั่นที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผ่านการใช้แล้วจำนวนจุลินทรีย์ในเวลาการเก็บรักษาที่ระยะเวลาต่างๆ เชื้อจุลินทรีย์มีแนวโน้มที่มากกว่ากลุ่มควบคุมเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น

ในกลุ่มควบคุมจุลินทรีย์มีจำนวนเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งเป็นไปตามทฤษฎีของปรียา (2539) โดยกล่าวว่าจุลินทรีย์เมื่ออยู่ในภาวะที่เหมาะสมจะทำการเพิ่มจำนวนโดยการแบ่งตัวอย่างรวดเร็ว ซึ่งจะเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่าทุกๆ 30 นาที ดังนั้นในเนื้อสัตว์ที่มีจุลินทรีย์ปนเปื้อนอยู่เพียง 1 เซลล์ ภายในเวลา 10 ชั่วโมง จะมีจำนวนจุลินทรีย์มากกว่า 1 ล้านเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุป

จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่าสารละลายกรดแลคติกที่ใช้แล้วที่ระดับความเข้มข้น 2 % (v/v) มีประสิทธิภาพในการควบคุมและลดจำนวนจุลินทรีย์บนเนื้อสันคอสุกร โดยพบว่า

1. สารละลายกรดแลคติกที่ใช้แล้วที่ระดับความเข้มข้น 2 % (v/v) สามารถลดการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์บนเนื้อสันคอสุกรได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อเริ่มต้น

2. สารละลายกรดแลคติกที่ใช้แล้วที่ระดับความเข้มข้น 2 % (v/v) สามารถควบคุมและลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ได้ในช่วงเวลา 6 ชั่วโมงหลังจากจุ่มเนื้อสันคอสุกรในสารละลายกรดแลคติก

3. สารละลายกรดแลคติกที่ใช้แล้วที่ระดับความเข้มข้น 2 % (v/v) สามารถควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์บนเนื้อสันคอสุกร เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ใช้น้ำกลั่นที่ผ่านการใช้แล้วและกลุ่มที่ไม่ใช้ทั้งสารละลายกรดแลคติกและน้ำกลั่น (กลุ่มควบคุม) โดยพบว่าทั้ง 2 กลุ่ม เชื้อจุลินทรีย์มีจำนวนเพิ่มมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

โกวิทย์ นุชประมูล และ ไพศาล เลาห์เรณู. 2517. กองอาบรังสีแหนมเพื่อทำลายเชื้อโรคท้องร่วงซาลโมเนลลา. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 7 : 129-143.

เขมนัฐ ทองยู. 2537. การศึกษาจำนวนจุลินทรีย์ในเนื้อสุกร. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพมหานคร.

คมแข พิลาสมบัติ. 2540. การลดปริมาณการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์บนผิวสุกรที่ผ่านขบวนการฆ่ามาตรฐานและไม่มาตรฐานโดยใช้สารละลายกรดแลคติกและคลอรีน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพมหานคร.

จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2540. การจัดการโรงฆ่าสัตว์. คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพมหานคร. 260 น.

ชัยณรงค์ คันธพนิต. 2529. วิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์. บริษัทสำนักพิมพ์ไทยวัฒนาพานิช จำกัด. กรุงเทพมหานคร. 276 น.

นภดล ลีลามัจฉากุล. 2537. การศึกษาจำนวนจุลินทรีย์ในเนื้อสุกร. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพมหานคร.

ปรียา วิบูลเศรษฐ์. 2539. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. บริษัทท็กซ์แอนด์เจอร์นัลพับลิเคชั่น จำกัด. กรุงเทพมหานคร. 504 น.

พวงพร โชติไกร. 2534. จุลชีววิทยาของอาหารและนม มหาวิทยาลัยรามคำแหง, กรุงเทพมหานคร. หน้า 344.

พัชรี สุนทรนันท. 2517. การสำรวจหาเชื้อซาลโมเนลลาในสุกรและทดสอบความไวของเชื้อต่อสารปฏิชีวนะและซัลฟา. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร.

เพ็ญศรี รอดมา และ อุรารัตน์ วุฒิกรพันธุ์ 2536. การศึกษาสภาวะ Microaerobic ในการวิเคราะห์ Campyrobactor สำหรับผลิตภัณฑ์ไก่สดแช่แข็ง. วารสารกระทรวงสาธารณสุข 12(3) : 60-68.

ไพบูลย์ ธรรมรัตน์วาสิก. 2532. กรรมวิธีการแปรรูปอาหาร. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, หาดใหญ่. 302 น.

เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์. 2536. เทคโนโลยีเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์. บรษัทโรงพิมพ์สหมิตรออฟเซต จำกัด. กรุงเทพมหานคร. 133 น.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รสริน ทับเปลี่ยน. 2524. การสำรวจหาเชื้อซาลโมเนลลาในเนื้อโคชำแหละตามตลาดสดในกรุงเทพฯทดสอบความไวของเชื้อต่อสารปฏิชีวนะและซัลฟา. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร.

ลัดดาวัลย์ รัศมิทัต. 2536. จุลชีวทางอาหาร. มหาวิทยาลัยบูรพา, ชลบุรี. 248 น.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2534. สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปีเพาะปลูก 2533/2534. กรุงเทพมหานคร. 96 น.

สิริพร สธนเสาวภาคย์. เชื้อจุลินทรีย์ชนิดใหม่ที่ทำให้เกิดโรคในอาหาร. 2538. เชื้อจุลินทรีย์ชนิดใหม่ที่ทำให้เกิดโรคในอาหาร. 25(1) : 1-7

สุมาลี บุญมา, นพรัตน์ หมานริม, ศรีรัตน์ พรเรืองวงศ์ และ อรุณบ่างระกูลนนท์. 2540. การศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อซัลโมเนลลาในผลิตภัณฑ์จากเนื้อไก่และเนื้อหมู. วารสารเกษตรศาสตร์. 31(4) : 1-7.

ศิวาพร ศิวเวชช. 2529. วัตถุเจือปนอาหาร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร. 162 น.

ศุภชัย ไผ่หยกงาม. 2537. การศึกษาจำนวน Coliform ในเนื้อสุกรบดสำเร็จรูป. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพมหานคร.

อภิญญา ผลิโกมล. 2528. แบคทีเรีย.ภาควิชาชีววิทยาคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 123-238.

Bergdoll, M.S. 1966. The Staphylococcal Enterotoxin. The M.I.T. Press, London. pp.1-22.

Bruno, M.E.C., A. Kaiser and T.J. Montville. 1992. Depletion of proton motive forc by nisin in *Listeria monocytogenes* cells. Appl. Environ. Microbiol. 58 : 2255-2259.

Caspar, H.J.W., A.A.M. David, G.V.L. Jan, M.D. Jan and J.M.S. Frans. 1983. Microbial Decontamination of procine liver with lactic acid and hot water. J. Food Prot. 47(3) : 220-226.

Castillo, A., L.M. Lucia, K.J. Goodson, J.W. Savell and G.R. Acuff. 1997. Comparison of water wash, trimming, and combined hot water and lactic acid treatments for reducing bacteria of fecal origin on beef carcasses. J. Food Prot. 61(7) : 823-828.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Castillo, A., L.M. Lucia, K.J. Goodson, J.W. Savell and G.R. Acuff. 1998. Decontamination of beef carcass surface tissue by steam vacuuming alone and combined with hot water and lactic acid sprays. J. Food Prot. 62(2) : 146-151.

Cowden, J.M., M. O'Mahony, C.L. Bartlett, B. Rana, B. Smuth, D. Lynch, H. Tillett, L. Ward, D. Roberts and R.J. Gilbert. 1989. A National outbreak of *Salmonella typhimurium* DT 124 caused by contaminated salami sticks. Epidemiol. Infect. 103(2) : 219-225.

Custy, F.F., J.F. George, C. Jennifer and B.T. Tasha. 1997. Role of organic acids during processing to improve quality of channel catfish fillets. J. Food Prot. 61 (4) : 495-498.

Dorsa, W.J., C.N. Cutter and G.R. Siragusa. 1998. Long-term bacterial effect of profile of refrigerated ground beef made from carcass tissue, experimentally contaminated with pathogens and spoilage bacteria after hot water, alkaline, organic acid washes. J. Food Prot. 61(12) : 1615-1622.

Dorsa, W.J., C.N. Cutter and G.R. Siragusa. 1998. Long-term effect of alkaline, organic acid or hot water washes on the microbial profile of refrigerated beef contaminated with bacterial pathogens after washing. J. Food Prot. 61(3) : 300-306.

El-Khateib, T., A.E. Yousef and H.W. Ockerman. 1993. Inactivation and attachment of *Listeria monocytogens* on beef muscle treated with lactic acid and selected bacteriocins. J. Fod Prot. 56 : 29-30.

Fang, T.J., and L.W. Lin. 1994. Growth of Listeria monocytogenes and Pseudomonas fragi on cooked pork in modified atmosphere packaging/nisin combination system. J. Food Prot. 57 : 479-485.

Frazier, W.C. and D.C. Westhoff. 1988. Food Microbiology 4th ed., McGraw-Hill book company, Singapore. 539 p.

Hardin, M.D., G.R. Acuff, L.M. Lucia, J.S. Oman and J.W. Savell. 1995. Comparison of methods for decontamination from beef carcass surfaces. J. Food Prot. 58(4) : 368-374.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Hwang, C.A. and L.R. Beuchat. 1994. Efficacy of selected chemicals for killing pathogenic and spoilage microorganisms on chicken skin. J. Food prot. 58(1) : 19-23.

James, S.J., A.J. Gigiel and W.R. Hadson. 1983. The ultra-rapid of pork. J. Meat Sci. 8 :63-78.

Kim, C.R., J.O. Hearnsberger and J.B. Eun. 1995. Gram-negative bacteria in refrigerated catfish fillets treated with lactic culture and lactic acid. J.Food Prot. 58(6) : 639-643.

Lauray, T.K., 1996. Appointment with your vet. The Brahman Journal. 11(1) : 35

Netten, P.V., J. Leenaerts, G.M. Heikant and D.A. Mossel. 1986. A small outbreak of salmonellosis caused by Bologna sausage. Tijdschrift voor Diergneeskunde. 111(24) : 1571-1275.

Nielsen, J.W., J.S. Dickson and J.D. Crouse. 1990. Use of a bacteriocin produced by *Pediococcus acidilactici* to inhibit *Listeria monocytogenes* associated with fresh meat. Appl Environ microbiol. 56(7) : 2142-2145.

Nkanga, E.J. and N. Uraih. 1981. Prevalence of *Staphylococcus aureus* in meat samples from traditional markets in Benin city Nigeria and possible control by use of condiments. J. Food prot. 44(1) : 4-8.

Palumbo, S.A. 1986. Is refrigeneration enough to restrain foodborne pathogens? J. Food Prot. 49 : 1003-1009.

Pearson, A.M. and T.R. Dutson. 1986. Meat and Poutry Microbiology Advance in Meat Research vol.2 . Newyork. 268 p.

Pearson, A.M. and T.R. Dutson. 1990. Meat and Health Advance in Meat Reseach vol.6. New York. 268 p.

Petran, R.L. and Zottla. 1989. A study of factors affecting growth and recovery of Listeria monocytogebs. J. Food Sci. 74 : 458 p.

Podolak, R.K., J.F. Zayas, C.L. Kastner and D.Y.C. Fung. 1996. Reduction of bacterial populations on vacuum-packaged ground beef patties with fumaric and lactic acids. J. Food prot. 59(10) : 1037-1040.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Pucci, M.J., E.R. Vedomuthu, B.S. Kunka and P.A. Vandenbergh. 1988. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by using bacteriocin PA-1 produced by *Pediococcus acidilactici* PAC 1.0. Appl Environ Microbiol. 54(10) : 2349-2353.

Robert, D., K. Boag, M.L. Hall and C.R. Shipp. 1975. The Isolation of Salmonellas from British Pork Sausages and Sausage Meat. J. of Hy. 75(2) : 173-184.

Smith, J.L., R.L. Buchanon and S.A. Palumbo.1983. Effect of food environment on *Staphylococcal enterotoxinsynthesis* : A Review. J. Food Prot. 46(6) : 545-555.

Smulders, F.J.M., P. Barendsen, J.G. Van Logtestijn, D.A.A. Mossel and G.M. Vander Marel. 1986. Lactic acid : consideration in fovour of its acceptance as a meat decontamination. J. Food Technol. 21 : 419-436.

Taylor, A.A., C. Valin and A. Romita. 1987. Microbiological implications of accelerated processing and rapid methods for the enumeration of bacteria on meat. Accelerated processing of meat. 1 : 271-284.

Ulutan, F., N. Sultan, E. Davuloglu and D. Usta. 1988. Outbreak of food poisoning caused by Salmonella typhimurium. Mikrobioloji. Bulteni. 22(2) : 95-100.

Woolthuis, C.H.J. and F.J.M. Smulders. 1985. Microbial decontamination of calf carcasses by lactic acid sprays. J. Food Prot. 51 : 208-213.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

1. วิธีการเตรียมอุปกรณ์

อุปกรณ์เครื่องแก้วทุกชนิดก่อนใช้ต้องผ่านการทำความสะอาด และอบฆ่าเชื้อในตู้อบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิไม่ต่ำกว่า 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 1 ชั่วโมง ส่วนอุปกรณ์ที่เป็นพลาสติก และไม่ทนความร้อนสูงให้นำมาฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 15 นาที

2. การเก็บตัวอย่างเนื้อสุกร

เนื้อสุกรที่ใช้ทดลองเป็นเนื้อส่วนสันคอ จำนวน 15 ชิ้น น้ำหนักประมาณชิ้นละ 1 กิโลกรัม โดยนำมาจากโรงฆ่าที่ไม่ได้มารตาฐานในเขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ ประมาณเวลา 6:30น.ในการเก็บตัวอย่างเนื้อสุกรจะใช้คีมคีบที่ผ่านการฆ่าเชื้อหยิบชิ้นเนื้อแล้วใช้มีดที่ปราศจากเชื้อตัดชิ้นส่วนของเนื้อโดยการสุ่มตัดชิ้นเนื้อให้ทั่วทุกส่วนบนก้อนเนื้อ โดยให้ลึกลงไปถึงกลางก้อนเนื้อ ตัดมาอย่างต่ำ 300 กรัม/ตัวอย่าง

3. การเตรียมสารละลายและอาหารเลี้ยงเชื้อ

สารเคมีทุกชนิดต้องเป็นชนิดที่ใช้ในการวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา น้ำที่ต้องใช้ต้องเป็นน้ำกลั่น (distilled หรือ eliminated) ที่ปราศจากสารเจือปนที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

3.1 การเตรียมสารละลายสำหรับเจือจางตัวอย่างเนื้อสุกร คือpeptone water

ส่วนประกอบ	1. Peptone from meat	1 กรัม
	2. NaCl	8.5 กรัม
	3. น้ำกลั่น	1 ลิตร

นำส่วนประกอบทั้งหมดละลายให้เข้ากันปรับค่า pH ของสารละลายให้เท่ากับ 7.0 ด้วย NaOH 0.1 N นำ peptone water ที่เตรียมไว้แบ่งใส่หลอดทดลอง หลอดละ 9 ml. และแบ่งใส่ flask ขนาด 100 ml. Flask ละ 225 ml. แล้วนำไป sterile ในหม้อ autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3.2 การเตรียมอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อ(plate count agar)

ส่วนประกอบ	1. PCA (plate count agar)	22.5 กรัม
	2. น้ำกลั่น	1 ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำ PCA ละลายในน้ำกลั่นโดยตั้งไว้บน hot plate จนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายดีแล้วนำมาวัดค่า pH ที่ 45 องศาเซลเซียส ปรับให้ได้ค่า pH 7.0 ด้วย NaOH 0.1 N แบ่งใส่ flask แล้วนำไป sterile ใน autoclave ที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ตารางผนวกที่ 1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนการลดลงของจำนวนจุลินทรีย์บนเนื้อสันคอสุกร ในกลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลคติกที่ใช้แล้ว กลุ่มที่ใช้น้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ใช้แล้ว และกลุ่มที่ไม่ใช้สารละลายกรดแลคติกและน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อ (กลุ่มควบคุม)

SOV	df	SS	MS	F-value	Pr>F
Model	23	112.60	4.90	14.09**	0.0001**
TRT	2	70.19	35.10	101.01**	0.0001**
TIME	7	23.79	3.40	9.78**	0.0001**
TRT*TIME	14	18.62	1.33	3.83**	0.0001**
Error	96	33.56	0.35		
Total	119	145.95			

C.V. = 9.32 %

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$)

หมายเหตุ TRT หมายถึง การที่ใช้สารละลายกรดแลคติก , การใช้น้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว และการที่ไม่ใช้สารละลายกรดแลคติกและน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อ (control)

TIME หมายถึง ระยะเวลาในการเก็บตัวอย่างเนื้อสันคอสุกรในช่วงก่อนการทดลอง , หลังการทดลอง 15 นาที , 2 ชั่วโมง , 4 ชั่วโมง , 6 ชั่วโมง , 8 ชั่วโมง , 10 ชั่วโมง และ 12 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่2 แสดงอิทธิพลของ กลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลคติกที่ใช้แล้ว กลุ่มที่ใช้น้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ใช้แล้ว และกลุ่มที่ไม่ใช้สารละลายกรดแลคติกและน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อ (กลุ่มควบคุม) ต่อจำนวนเชื้อจุลินทรีย์บนเนื้อสันคอสุกร

LSMEAN	NUMBER	1 (CON)	2 (LAC)	3 (WAT)
6.75	1	.	0.0001	0.0822
5.25	2	0.0001	.	0.0001
6.98	3	0.0822	0.0001	.

CON หมายถึง เนื้อสันคอสุกรในกลุ่มที่ไม่ใช้สารละลายกรดแลคติกและน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อ

LAC หมายถึง เนื้อสันคอสุกรในกลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลคติก

WAT หมายถึง เนื้อสันคอสุกรในกลุ่มที่ใช้น้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 3 แสดงอิทธิพลของระยะเวลาต่อจำนวนเชื้อจุลินทรีย์บนเนื้อสันคอสุกร

LSMEAN	NUMBER	1 (10)	2 (12)	3 (2)	4 (4)	5 (6)	6 (8)	7 (15 นาที)	8 (ก่อนการทดลอง)
6.73	1(10)	.	0.1584	0.0001	0.0008	0.0424	0.6433	0.0001	0.2300
7.04	2(12)	0.1584	.	0.0001	0.0001	0.0008	0.0623	0.0001	0.0100
5.80	3(2)	0.0001	0.0001	.	0.3863	0.0241	0.0002	0.6367	0.0022
5.98	4(4)	0.0008	0.0001	0.3863	.	0.1584	0.0033	0.1820	0.0254
6.29	5(6)	0.0424	0.0008	0.0241	0.1584	.	0.1147	0.0068	0.3982
6.63	6(8)	0.6433	0.0623	0.0002	0.0033	0.1147	.	0.0001	0.4591
5.69	7(15 นาที)	0.0001	0.0001	0.6367	0.1820	0.0068	0.0001	.	0.0005
6.47	8(ก่อนการทดลอง)	0.2300	0.0100	0.0022	0.0254	0.3982	0.4591	0.0005	.

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 4 แสดงอิทธิพลร่วมระหว่างระยะเวลาต่อการลดลงของจำนวนจุลินทรีย์ในกลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลคติกที่ใช้แล้ว กลุ่มที่ใช้น้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ใช้แล้ว และกลุ่มที่ไม่ใช้สารละลายกรดแลคติกและน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อ (กลุ่มควบคุม) บนเนื้อสันคอสุกร

i/j		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
(C10)	1	.	0.7241	0.0091	0.0054	0.2538	0.5075	0.0009	0.0121	0.0001	0.0002	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.1296	0.7727	0.1599	0.0203	0.5892	0.6571	0.9872	0.0135	0.0137
(C12)	2		.	0.0033	0.0018	0.1363	0.7564	0.0003	0.0045	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0627	0.9488	0.2908	0.0079	0.3725	0.4281	0.7381	0.0050	0.0051
(C2)	3			.	0.6515	0.1338	0.0012	0.4481	0.9190	0.0353	0.2516	0.0001	0.0001	0.0002	0.0012	0.0001	0.2605	0.0040	0.0001	0.7845	0.0367	0.0291	0.0087	0.6851	0.6809
(C4)	4				.	0.0923	0.0007	0.5673	0.7727	0.0544	0.3368	0.0001	0.0001	0.0005	0.0022	0.0001	0.1901	0.0023	0.0001	0.6265	0.0232	0.0182	0.0051	0.7402	0.7381
(C6)	5					.	0.0729	0.0252	0.1615	0.0004	0.0090	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.7041	0.1538	0.0119	0.2283	0.5458	0.4839	0.2472	0.1745	0.1762
(C8)	6						.	0.0001	0.0017	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0306	0.7081	0.4545	0.0032	0.2304	0.2698	0.5178	0.0020	0.0020
(CA)	7							.	0.3699	0.1728	0.6962	0.0005	0.0003	0.0029	0.0117	0.0007	0.0613	0.0003	0.0001	0.2908	0.0049	0.0037	0.0009	0.3669	0.3841
(CB)	8								.	0.0276	0.2124	0.0001	0.0001	0.0002	0.0009	0.0001	0.3058	0.0064	0.0001	0.8431	0.0485	0.0371	0.0115	0.9659	0.9816
(L10)	9									.	0.3287	0.0287	0.0211	0.0964	0.2345	0.0362	0.0015	0.0001	0.0001	0.0187	0.0001	0.0001	0.0001	0.0248	0.0245
(L12)	10										.	0.0018	0.0012	0.0091	0.0316	0.0025	0.0245	0.0001	0.0001	0.1493	0.0015	0.0011	0.0002	0.1973	0.1955
(L2)	11											.	0.9021	0.5892	0.3081	0.9233	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
(L4)	12												.	0.5075	0.2538	0.8264	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
(L6)	13													.	0.6303	0.6571	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
(L8)	14														.	0.3557	0.0001	0.0001	0.0001	0.0005	0.0001	0.0001	0.0001	0.0008	0.0008
(LA)	15															.	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
(LB)	16																.	0.0721	0.0040	0.4077	0.3261	0.2812	0.1256	0.3281	0.3287
(W10)	17																	.	0.2627	0.0094	0.4077	0.4642	0.7850	0.0061	0.0062
(W12)	18																		.	0.0003	0.0531	0.0557	0.1647	0.0002	0.0002
(W2)	19																			.	0.0721	0.0584	0.0195	0.6767	0.6809
(W4)	20																				.	0.9233	0.5782	0.0512	0.0519
(W6)	21																					.	0.6456	0.0411	0.0416
(W8)	22																						.	0.0130	0.0131
(WA)	23																							.	0.9957
(WB)	24																								.

A หมายถึง การเก็บรักษาเนื้อสันคอสุกรเป็นระยะเวลา 15 นาที

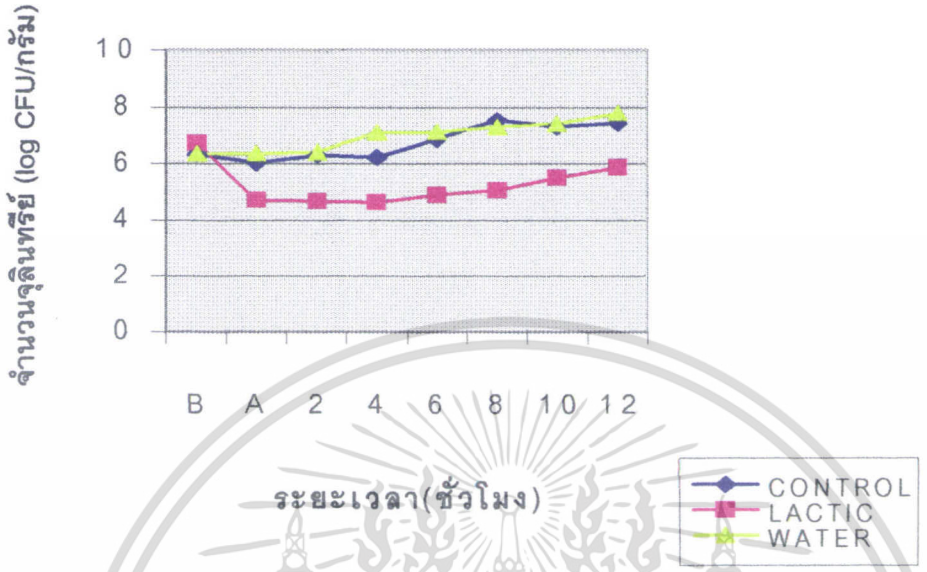
B หมายถึง ระยะเวลาก่อนทำการทดลอง

C หมายถึง เนื้อสันคอสุกรในกลุ่มที่ไม่ใช้สารละลายกรดแลคติกและน้ำกลั่นที่ผ่านการใช้แล้ว

L หมายถึง เนื้อสันคอสุกรในกลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลคติกที่ผ่านการใช้แล้ว

W หมายถึง เนื้อสันคอสุกรในกลุ่มที่ใช้น้ำที่ผ่านการใช้แล้ว

<u>ภาพผนวกที่ 1</u> แสดงจำนวนจุลินทรีย์ในแต่ละช่วงเวลาของกลุ่มควบคุม ,กลุ่มการใช้สารละลายกรดแลคติกที่ผ่านการใช้แล้ว และกลุ่มการใช้น้ำกลั่นที่ผ่านการใช้แล้ว



B หมายถึง ระยะเวลาก่อนทำการทดลอง

A หมายถึง การเก็บรักษาเนื้อสันคอสุกร เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้