

การประเมินจุดวิกฤตที่ต้องควบคุมในกระบวนการผลิตและการยืดอายุ
การเก็บรักษาเลือดเป็ดต้ม

EVALUATION OF CRITICAL CONTROL POINTS ON PROCESSING AND
SHELF LIFE EXTENSION OF BOILED DUCK BLOOD CURD



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาค้นคว้าหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิศวกรรม

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2559

KMITL-2016-AG-M-031-221

การประเมินจุดวิกฤตที่ต้องควบคุมในกระบวนการผลิตและการยืดอายุ
การเก็บรักษาเลือดเป็ดต้ม

EVALUATION OF CRITICAL CONTROL POINTS ON PROCESSING AND
SHELF LIFE EXTENSION OF BOILED DUCK BLOOD CURD



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาสัตวศาสตร์

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2559

KMITL-2016-AG-M-031-221

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**EVALUATION OF CRITICAL CONTROL POINTS ON PROCESSING AND
SHELF LIFE EXTENSION OF BOILED DUCK BLOOD CURD**



WORRALAK TEEMESUK

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT OF
THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN ANIMAL SCIENCE
FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG**

2016

KMITL-2016-AG-M-031-221

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2016

FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การประเมินจุดวิกฤตที่ต้องควบคุมในกระบวนการผลิตและการยืดอายุการเก็บรักษา
เลือดเป็ดต้ม
Evaluation of critical control points on processing and shelf life extension of boiled duck
blood curd

นักศึกษา นางสาววลักษณ์ ทิมิสุข
รหัสประจำตัว 57604043
ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา สัตวศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผศ.ดร.สุสติ ตั้งวัชรินทร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม รศ.ดร.รณชัย สิริทิไกรพงษ์
ดร.ศุภลักษณ์ สรภักดี

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.คมแห	พิลาสมบัติ
ผศ.ดร.ศศิธร	นาคทอง
ผศ.ดร.สุสติ	ตั้งวัชรินทร์
ดร.ศุภลักษณ์	สรภักดี
รศ.ดร.รณชัย	สิริทิไกรพงษ์

วัน / เดือน / ปี ที่สอบ 15 มิถุนายน 2559

สถานที่สอบ ห้องประชุมคณะเทคโนโลยีการเกษตร 2 (ชั้น 1 ตึกบุญนาค L)

คณบดีรับรองแล้ว

มณฑา เกษมณี

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มณฑา เกษมณี)

คณบดีคณะเทคโนโลยีการเกษตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ทำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
วันที่ 21 เดือน กรกฎาคม พ.ศ. 2559
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การประเมินจุดวิกฤตที่ต้องควบคุมในกระบวนการผลิตและการยืดอายุการเก็บรักษาเลือดเปิดต้ม
นักศึกษา	นางสาวรลักษ์มภ์ ที่มีสุข
รหัสประจำตัว	57604043
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	สัตวศาสตร์
พ.ศ.	2559
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผศ.ดร. ผุสดี ตั้งวัชรินทร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	รศ.ดร. รณชัย สิทธิไกรพงษ์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ดร. ศุภลักษณ์ สรภักดิ์

บทคัดย่อ

งานวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อกำหนดจุดวิกฤตที่ต้องควบคุมในกระบวนการผลิตเลือดเปิดต้มและการยืดอายุการเก็บรักษาเลือดเปิดต้มที่ผลิตจากโรงฆ่าเป็ดในจังหวัดฉะเชิงเทรา โดยการทดลองแบ่งออกเป็น 3 ส่วน ได้แก่ (1) ปัจจัยที่มีผลต่อการปนเปื้อนและการประเมินจุดวิกฤตที่ต้องควบคุมจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในกระบวนการผลิตเลือดเปิดต้ม (2) ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และ โซเดียมคลอไรด์ต่ออายุการเก็บรักษาเลือดเปิดต้ม และ (3) ผลของการประยุกต์ใช้เกลือของกรดอินทรีย์และ โซเดียมคลอไรด์ในการควบคุมจุดวิกฤตด้านจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิตเลือดเปิดต้ม ซึ่งในการทดลองที่ 1 ได้ศึกษาแหล่งการปนเปื้อนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ขอบอนุภูมิภาคกลาง ต่ำ และสูงในกระบวนการผลิตเลือดเปิดต้ม และตรวจสอบคุณภาพทางจุลินทรีย์ของเลือดเปิดต้ม พบว่า น้ำในถังลดอุณหภูมิถังที่ 1 เป็นแหล่งการปนเปื้อนที่สำคัญในการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ขอบอนุภูมิภาคกลางในเลือดเปิดต้ม ซึ่งมีค่าสหสัมพันธ์ระหว่างน้ำในถังลดอุณหภูมิถังที่ 1 และเลือดเปิดต้มในระดับสูง ($r=0.90$) และกำหนดจุดวิกฤตที่ต้องควบคุมในกระบวนการผลิตเลือดเปิดต่อคุณภาพทางจุลินทรีย์ของเลือดเปิดต้มได้จำนวน 2 จุดคือ น้ำในถังลดอุณหภูมิถังที่ 1 และอุณหภูมิในการเก็บรักษาเลือดเปิดต้ม

การทดลองที่ 2 ทำการศึกษากิจกรรมการเสริมฤทธิ์ร่วมกันของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์ในการต้านเชื้อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* และ *E. coli* โดยทำการวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งและทำลายแบคทีเรีย (Minimum inhibitory concentration, MIC และ Minimum bactericidal concentration, MBC ตามลำดับ) ค่าดัชนีการออกฤทธิ์ร่วมกันเพื่อยับยั้งและทำลายแบคทีเรีย (Fractional inhibitory concentration index, FICI และ

Fractional bactericidal concentration index, FBICI) และการประยุกต์ใช้ในเลือดเปิดต้มพบว่า ค่าเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

MIC และ MBC ของโซเดียมไดอะซิเตท (SD) โซเดียมซิเตรท (SC) และโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. sakei* มีค่าเท่ากับ 0.64, 1.25 และ 10% (w/v) และ 1.28, 2.50 และ 10% (w/v) ตามลำดับ ค่า MIC ของโซเดียมไดอะซิเตท โซเดียมซิเตรท และโซเดียมคลอไรด์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. fluorescens* มีค่าเท่ากับ 0.16, 1.25 และ 2.5% (w/v) และค่า MBC ของโซเดียมไดอะซิเตท และโซเดียมคลอไรด์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. fluorescens* มีค่าเท่ากับ 0.16 และ 5% (w/v) ตามลำดับ ค่า MIC และ MBC ของโซเดียมไดอะซิเตท โซเดียมซิเตรท และโซเดียมคลอไรด์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* มีค่าเท่ากับ 0.16, 0.16 และ 10% (w/v) และ 0.16, 0.32 และ 10% (w/v) ตามลำดับ ค่า MIC และ MBC ของสารละลายโซเดียมไดอะซิเตท และโซเดียมคลอไรด์ในการยับยั้งการเจริญเชื้อ *S. Typhimurium* มีค่าเท่ากับ 0.16 และ 10% (w/v) และ 0.16 และ 10% (w/v) ตามลำดับ และเชื้อ *E. coli* มีค่าเท่ากับ 0.08 และ 5% (w/v) และ 0.16 และ 10% (w/v) ตามลำดับ การใช้สารละลายโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์มีฤทธิ์เสริมกันบางส่วนในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. Typhimurium* และ *S. aureus* ซึ่งมีค่า FICI เท่ากับ 0.53 และ 0.75 ตามลำดับ ในทำนองเดียวกันการใช้สารดังกล่าวสามารถทำลายการเจริญของเชื้อ *S. Typhimurium* และ *P. fluorescens* ซึ่งมีค่า FBCI เท่ากับ 1.00 การใช้สารละลายโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมซิเตรทมีฤทธิ์เสริมกันบางส่วนในการทำลายการเจริญของเชื้อ *L. sakei* ซึ่งมีค่า FBCI เท่ากับ 0.51 สำหรับการประยุกต์ใช้ในเลือดเปิดดื่มที่ไม่มีและมีการเติมเชื้อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* และ *E. coli* ให้มีเชื้อเริ่มต้น 10^3 cfu/g ทำการแบ่งเลือดเปิดดื่มออกเป็น 9 กลุ่มดังนี้ ไม่สัมผัสสาร (กลุ่มควบคุม 1), น้ำกลั่น (กลุ่มควบคุม 2), SD 0.16%, SC 2.5%, NaCl 5%, SD 0.08%+ SC 0.16%, SD 0.01%+ SC 1.25%, SD 0.08%+NaCl 5% และ SD 0.16%+NaCl 0.32% พบว่า สารละลายกลุ่ม SD 0.16%, SC 2.5%, NaCl 5%, SD 0.01%+SC 1.25% และ SD 0.16%+NaCl 0.32% สามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและเชื้อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* และ *E. coli* ในเลือดเปิดดื่มได้ดี ภายหลังจากเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และยังเหนี่ยวนำให้แบคทีเรียเข้าสู่สภาวะเครียดมากขึ้น และจากการวิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์ทางด้านจุลินทรีย์ร่วมกับคุณภาพทางประสาทสัมผัสของเลือดเปิดดื่ม ภายหลังสัมผัสสารละลายทั้ง 4 กลุ่ม ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ในระยะเวลา 9 วัน พบว่า การใช้ SD 0.16%+NaCl 0.32% สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ชอบอุณหภูมิปานกลางและต่ำได้ สามารถควบคุมปริมาณเชื้อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* และ *E. coli* ได้ดี และสามารถควบคุมการเปลี่ยนแปลงค่าสีโดยรวมของเลือดเปิดดื่มได้มากกว่าการใช้สารละลายชนิดอื่น รวมทั้งยังช่วยเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำให้กับเลือดเปิดดื่มอีกด้วย นอกจากนี้ผู้ที่ทดสอบให้คะแนนความชอบทางด้านลักษณะเนื้อสัมผัสและคุณภาพโดยรวมของเลือดเปิดดื่มสูง ($P<0.05$) จึงสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในเลือดเปิดดื่มได้

จากนั้นทำการศึกษาประสิทธิภาพการลดและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ชอบอุณหภูมิเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต่ออ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปานกลาง และต่ำของสารละลายโซเดียมไดอะซิเตตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ในเลือดเปิดต้มที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 5, 10, 15 และ 25 องศาเซลเซียส พบว่า การใช้ SD 0.16% + NaCl 0.32% สามารถยืดอายุการเก็บรักษาของเลือดเปิดต้มได้นานขึ้น 4, 2, 2 และ 0 วัน ตามลำดับและยังสามารถควบคุมปริมาณของเชื้อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* และ *E. coli* ในเลือดเปิดต้มต่ำกว่ากลุ่มควบคุมตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 12 วัน ที่ทุกอุณหภูมิการเก็บรักษา ($P < 0.05$)

การทดลองที่ 3 การศึกษาผลของการควบคุมจุลชีพในกระบวนการผลิตเลือดเปิดต้มพบว่าการใช้สารละลาย SD 0.16% + NaCl 0.32% ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส สามารถยืดอายุการเก็บรักษาเลือดเปิดต้มได้นานขึ้น 7 วันเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสเพียงอย่างเดียว (กลุ่มควบคุม) และยังสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas* spp. ได้นาน 3 วัน ในขณะที่กลุ่มควบคุมสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas* spp. ได้เพียง 1 วัน



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	Evaluation of critical control points on processing and shelf life extension of boiled duck blood curd
Student	Miss Worralak Teemeesuk
Student ID	57604043
Degree	Master of science
Program	Animal Science
Year	2016
Thesis Advisor	Asst. Prof. Dr. Pussadee Tangwatcharin
Thesis Co-Advisor	Assoc. Prof. Dr. Ronachai Sitthigripong
Thesis Co-Advisor	Dr. Supaluk Sorapukdee

ABSTRACT

The aims of this research were to determine critical control points in duck blood curd processing and shelf life extension of duck blood curd, produced from a duck slaughterhouse in Chachoengsao Province. The experiment was divided into 3 parts; (1) contamination factors and evaluation of critical control points of spoilage bacteria in boiled duck blood curd processing, (2) The effect of organic acid salts and sodium chloride on duck blood curd shelf life and (3) The result of the application of organic acid salts and sodium chloride to control critical points on microbiological quality in boiled duck blood curd processing. The first experiment; mesophile (MC), psychrophile (PC) and thermophile contamination (TC) sources and microbial quality of duck blood curd were investigated. The results show that cooling water 1 and final duck blood curd were the important sources of MC in final duck blood curd. They were supported by high correlations between cooling water 1 and final duck blood curd ($r=0.90$) and critical control points in duck blood curd processing on microbiological quality of final duck blood curd are 2 points; cooling water 1 and storage temperature.

The second experiment, synergistic activities of organic acid salts and sodium chloride against *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* and *E. coli* were determined by Minimum inhibition concentration (MIC), Minimum bactericidal concentration (MBC), Fractional inhibitory concentration index (FICI) and Fractional bactericidal concentration index (FBCI). Then, their applications in duck blood curd were investigated. The results show that MIC and MBC of sodium diacetate (SD), sodium citrate (SC) and sodium chloride (NaCl) were 0.64, 1.25 and 10 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และด้วย IV อังอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(w/v) and 1.28, 2.50 and 10% (w/v), respectively, for *L. sakei*. MIC of SD, SC and NaCl were 0.16, 1.25 and 2.5% (w/v) and MBC of SD and NaCl were 0.16 and 5% (w/v), respectively, for *P. fluorescens*. MIC and MBC of SD, SC and NaCl were 0.16, 0.16 and 10% (w/v) and 0.16, 0.32 and 10% (w/v), respectively, for *S. aureus*. MIC and MBC of SD and NaCl were 0.16 and 10% (w/v) and 0.16 and 10% (w/v), respectively, for *S. Typhimurium*. MIC and MBC of SD and NaCl were 0.08 and 5% (w/v) and 0.16 and 10% (w/v), respectively, for *E. coli*. FICIs of the combined action of SD + NaCl were 0.53 and 0.75 suggesting partial synergy for *S. Typhimurium* and *S. aureus*, respectively. Similarly, FBCIs of this combined action was 1.00 for *S. Typhimurium* and *P. fluorescens*. FBCIs of the combined action of SD + SC was 0.51 suggesting partial synergy for *L. sakei*. For their applications in boiled duck blood curds, no inoculation and inoculation of *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* and *E. coli* which the initial count of each bacteria on each curd was approximately 10^3 cfu/g. The boiled duck blood curds were divided into 9 groups; non-dipped (control 1), dipped in sterile distilled water (control 2), SD 0.16%, SC 2.5%, NaCl 5%, SD 0.08%+ SC 0.16%, SD 0.01% + SC 1.25%, SD 0.08% +NaCl 5% and SD 0.16% + NaCl 0.32%. The results showed that SD 0.16%, SC 2.5%, NaCl 5%, SD 0.01% + SC 1.25% and SD 0.16% + NaCl 0.32% solutions can decreased loading of TPC, *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* and *E. coli* in the boiled duck blood curds, which there were better than other groups. Moreover, these solutions induced bacterial to stressed-cells after inoculated at 15°C for 24 hours. The microbiology quality and sensory of 4 groups stored at 10°C for 9 days were investigated. The SD 0.16% + NaCl 0.32% using inhibited growth of mesophile in boiled duck blood curds for 7 days. This combined solution inhibited growth of *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* and *E. coli* it controlled the total color change (ΔE) of boiled duck blood than other groups. It also improved the ability to water holding capacity (WHC) of the boiled duck blood curds. In addition, the obtained scores from hedonic scale of texture and overall acceptance were high ($P < 0.05$). So it can be applied in a boiled duck blood curds. After that, efficacy of SD in combination with NaCl on growth of mesophile and psychrophile in the boiled duck blood curds stored at 5, 10, 15 and 25°C were investigated. The results showed that SD 0.16% + NaCl 0.32% using extended the shelf life of boiled duck blood curd for 4, 2, 2 and 0 days, respectively. In addition, *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* and *E. coli* loading of this group was lower than those of control group throughout storage time for 12 days at all storage temperatures. ($P < 0.05$)

The third experiment, critical control points (CCP) on microbial quality of the products in duck blood processing was found that synergistic using of SD 0.16% + NaCl 0.32% solution and

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

storage temperature at 5°C extended the shelf life of duck blood curd for 7 days when compared with stored at 5°C group (control group). Furthermore, it inhibited growth of *Pseudomonas* spp. for 3 days while the control group inhibited the growth of *Pseudomonas* spp. for 1 day.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การจัดทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยดีนี้ ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ ผศ.ดร. ผุสดี ตั้งวัชรินทร์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ดร. สุกตฤกษ์ สรภักดี และรศ.ดร. รณชัย ลีทธิไกรพงษ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง ที่ได้กรุณาให้ความรู้ ในการทำวิจัย แนะนำแนวทาง ชี้แนะให้คำปรึกษา และแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นระหว่างการทำ วิทยานิพนธ์ ทำให้ข้าพเจ้าสามารถดำเนินงานได้อย่างถูกต้อง และแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นได้สำเร็จ ลุล่วงตามเป้าหมายที่วางไว้ ข้าพเจ้ารู้สึกซาบซึ้งในความอนุเคราะห์จากท่าน และขอขอบพระคุณ ท่านเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร. คมแห พิลาสสมบัติ และ ผศ.ดร. ศศิธร นาคทอง กรรมการการสอบ วิทยานิพนธ์ที่กรุณาให้คำแนะนำในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอขอบคุณ พี่ เพื่อนนักศึกษาปริญญาโท สาขาวิชาสัตวศาสตร์ทุกคน คุณอังคณา ทุมดี และบุคคลต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องทุกท่านที่ช่วยเหลือในการปฏิบัติงาน คอยอำนวยความสะดวกในทุก ๆ เรื่อง และให้กำลังใจเสมอ ซึ่งทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์

สำหรับคุณงามความดีอันใดที่เกิดจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ข้าพเจ้าขอมอบให้กับบิดามารดา ซึ่งเป็นที่รักและเคารพยิ่ง ตลอดจนครูอาจารย์ที่เคารพทุกท่านที่ได้ถ่ายทอดความรู้ และ ประสบการณ์ที่ดีให้แก่ข้าพเจ้า

คุณค่า และประโยชน์ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ผู้วิจัยขอมอบแก่ทุกท่านที่สามารถนำไปใช้ให้ เกิดประโยชน์ต่อไปได้

นางสาววรรลักษณ์ ทิมิสุข

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	IV
กิตติกรรมประกาศ.....	VII
สารบัญ	VIII
สารบัญตาราง	XII
สารบัญภาพ	XIII
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มา.....	1
1.2 ความมุ่งหมาย และวัตถุประสงค์ของการศึกษา.....	3
1.3 สถานที่ดำเนินงาน	3
1.4 ขั้นตอนการวิจัย.....	3
1.5 ระยะเวลาการศึกษา.....	3
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
2.1 เลือดเปิด	5
2.2 การประยุกต์ใช้เลือดสัตว์	7
2.3 การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิตเลือด	9
2.3.1 จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค (Pathogenic microorganisms)	9
2.3.2 จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย (Spoilage microorganisms)	9
2.3.3 จุลินทรีย์บ่งชี้ (Indicator microorganisms).....	10
2.3.4 จุลินทรีย์ก่อโรคที่อาจพบการปนเปื้อนในเลือดเปิดต้ม	10
2.3.5 จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียที่อาจพบการปนเปื้อนได้ในเลือดสัตว์.....	12
2.4 กระบวนการเน่าเสียโดยจุลินทรีย์.....	13
2.5 มาตรฐานทางด้านจุลินทรีย์ในเลือดเปิดต้ม	14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
2.6 หลักการของระบบวิเคราะห์อันตรายและจุดวิกฤตที่ต้องควบคุม.....	14
2.7 เกล็ดของกรดอินทรีย์และเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่ใช้เป็นวัตถุกันเสียในอุตสาหกรรมอาหาร	23
2.7.1 เกล็ด (salt).....	23
2.7.2 โซเดียมไดอะซิเตท (sodium diacetate).....	24
2.7.3 ไตรโซเดียมซิเตรทหรือเกลือซิเตรท (trisodium citrate)	24
2.7.4 โพแทสเซียมซิเตรท (potassium citrate)	25
2.7.5 กรดแลคติกและเกลือแลคเตท (lactic acid and sodium lactate).....	25
2.8 กลไกการยับยั้งจุลินทรีย์ของกรดอินทรีย์และเกลือของกรดอินทรีย์.....	26
2.9 ประสิทธิภาพของเกล็ดของกรดอินทรีย์ต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค..	27
2.10 การตอบสนองต่อแบคทีเรียเพื่อการยู่รอดในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม.....	33
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	34
3.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ.....	34
3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี.....	35
3.3 วิธีการทดลอง.....	40
3.3.1 การทดลองที่ 1 ปัจจัยที่มีผลต่อการปนเปื้อนและการประเมินจุดวิกฤตที่ต้องควบคุมจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในกระบวนการผลิตเลือดเป็ดต้ม.....	40
3.3.2 การทดลองที่ 2 ผลของเกล็ดของกรดอินทรีย์และ โซเดียมคลอไรด์ต่ออายุการเก็บรักษาเลือดเป็ดต้ม.....	45
3.3.3 การทดลองที่ 3 ผลของการประยุกต์ใช้เกล็ดของกรดอินทรีย์และ โซเดียมคลอไรด์ในการควบคุมจุดวิกฤตด้านจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิตเลือดเป็ดต้ม	56
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง.....	59
4.1 การทดลองที่ 1 ปัจจัยที่มีผลต่อการปนเปื้อนและการประเมินจุดวิกฤตที่ต้องควบคุมจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในกระบวนการผลิตเลือดเป็ดต้ม.....	59
4.1.1 ข้อมูลเบื้องต้นของโรงงานฆ่าเป็ดที่ใช้เป็นกรณีศึกษา.....	59
4.1.2 การปนเปื้อนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ขอบอุณหภูมิปานกลาง ต่ำ และสูงในกระบวนการฆ่าเป็ด.....	59

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
4.1.3 การปนเปื้อนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง ต่ำ และสูงในกระบวนการผลิตเลือดเป็ดต้ม	59
4.2 การทดลองที่ 2 ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และ โซเดียมคลอไรด์ต่ออายุการเก็บรักษาเลือดเป็ดต้ม	65
4.2.1 การทดลองที่ 2.1 ความเข้มข้นของสารละลายเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>L. sakei</i> , <i>P. fluorescens</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. Typhimurium</i> และ <i>E. coli</i> ด้วยสารละลายเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ	65
4.2.2 การทดลองที่ 2.2 ความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญและทำลายจุลินทรีย์ของเกลือของกรดอินทรีย์และ โซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อเชื้อ <i>L. sakei</i> , <i>P. fluorescens</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. Typhimurium</i> และ <i>E. coli</i>	71
4.2.3 การทดลองที่ 2.3 ประสิทธิภาพของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์ในการลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด เชื้อ <i>L. sakei</i> , <i>P. fluorescens</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. Typhimurium</i> และ <i>E. coli</i> ในเลือดเป็ดต้ม	75
4.2.4 การทดลองที่ 2.4 ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกัน ต่อปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ในเลือดเป็ดต้ม	83
4.2.5 การทดลองที่ 2.5 ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อปริมาณของเชื้อ <i>L. sakei</i> , <i>P. fluorescens</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. Typhimurium</i> และ <i>E. coli</i> ในเลือดเป็ดต้ม	95
4.2.6 การทดลองที่ 2.6 ประสิทธิภาพการลดและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมดของโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ในเลือดเป็ดต้มที่อุณหภูมิการเก็บรักษาต่างกัน	103
4.3 การทดลองที่ 3 ผลของการประยุกต์ใช้เกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์ในการควบคุมจุลวิฤตด้านจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิตเลือดเป็ดต้ม	115
4.3.1. การทดลองที่ 3.1 การปนเปื้อนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ชอบอุณหภูมิปานกลางต่ำ และสูงในกระบวนการผลิตเลือดเป็ดต้ม	115

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
4.3.2. การทดลองที่ 3.2 ผลของการประยุกต์ใช้เกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์ในการควบคุมจุลชีพก่อโรคด้านจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิตเลือดเป็ดต้ม.....	116
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	121
5.1 สรุปผลการทดลอง.....	121
5.2 ข้อเสนอแนะ	122
บรรณานุกรม	123
ภาคผนวก	136
ภาคผนวก ก	137
ภาคผนวก ข	139
ภาคผนวก ค	151
ภาคผนวก ง	155
ภาคผนวก จ.....	159
ประวัติผู้วิจัย	161

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ปริมาณของเลือดสัตว์แต่ละชนิดต่อน้ำหนักตัว (มิลลิลิตร/กิโลกรัม)	5
2.2 องค์ประกอบของเลือดสุกรและส่วนของพลาสมาและเซลล์เม็ดเลือดแดง (RBC) โดยแสดงน้ำหนักเป็น %.....	6
2.3 องค์ประกอบของกรดอะมิโนที่จำเป็น (กรัม/100 กรัม โปรตีน) ของเลือดและพลาสมา อ้างอิงตาม FAO.....	7
2.4 การใช้ประโยชน์จากเลือดสัตว์ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ	8
2.5 ความเข้มข้นต่ำสุด (%) ของเกลือของกรดอินทรีย์แต่ละชนิดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>S. Typhimurium</i> LT2 และ ATCC nr 14028 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่แตกต่างกัน 2 ชนิด	28
2.6 ผลของสารต้านจุลินทรีย์ต่อปริมาณเชื้อ <i>Salmonella</i> (log cfu/g) บนเนื้อกึ่งที่ทำการบรรจุภัณฑ์แบบสุญญากาศและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส.....	30
2.7 ผลของสารต้านจุลินทรีย์ต่อค่าความเป็นกรด-ด่างของเนื้อกึ่งสดทำการบรรจุภัณฑ์แบบสุญญากาศและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส.....	31
4.1 แหล่งการปนเปื้อนในกระบวนการผลิตเลือดเป็ดต้ม	62
4.2 ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างแหล่งการปนเปื้อนและเลือดเป็ดต้มในแต่ละขั้นตอนของกระบวนการผลิต	63
4.3 การปนเปื้อนของเชื้อ <i>S. aureus</i> , <i>Salmonella</i> spp., <i>E. coli</i> และ <i>V. cholerae</i> ในเลือดเป็ดต้ม.....	63
4.4 ความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งแบคทีเรีย (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลายแบคทีเรีย (MBC) ^a ของสารละลายโซเดียมไดอะซิติท โซเดียมซิเตรทและโซเดียมคลอไรด์ต่อเชื้อ <i>L. sakei</i> , <i>P. fluorescens</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. Typhimurium</i> และ <i>E. coli</i>	72
4.5 ค่า FICI และ FBCI ของสารละลายโซเดียมไดอะซิติทร่วมกับโซเดียมซิเตรท และโซเดียมไดอะซิติทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ที่ยับยั้งการเจริญและทำลายเชื้อ <i>L. sakei</i> , <i>P. fluorescens</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. Typhimurium</i> และ <i>E. coli</i>	74
4.6 แหล่งการปนเปื้อนในกระบวนการผลิตเลือดเป็ดต้ม.....	116

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และตั้งชื่ออ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า	
2.1	ขั้นตอนกระบวนการผลิตเลือดเปิดต้มของโรงงานฆ่าเป็ดในจังหวัดฉะเชิงเทรา.....	8
2.2	การกำหนดจุดวิกฤตที่ต้องควบคุมโดยใช้ผังการตัดสินใจ.....	22
2.3	กลไกการทำงานของกรดอินทรีย์ต่อเซลล์จุลินทรีย์.....	26
3.1	การกำหนดจุดการเก็บตัวอย่างในกระบวนการผลิตเลือดเปิดต้มของโรงงานฆ่าเป็ดในจังหวัดฉะเชิงเทรา.....	40
4.1	การกำหนดจุด SSOPs และ CCPs ในกระบวนการผลิตเลือดเปิดต้มในโรงงานฆ่าเป็ด จังหวัดฉะเชิงเทรา.....	65
4.2	ผลของสารละลาย (ก) โซเดียมไดอะซิติเตท (ข) โซเดียมซิเตรท และ (ค) โพแทสเซียมซิเตรท ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>L. sakei</i> โดยวิธี Agar well diffusion method.....	67
4.3	ผลของสารละลาย (ก) โซเดียมไดอะซิติเตท (ข) โซเดียมซิเตรท (ค) โพแทสเซียมซิเตรท (ง) โซเดียมแลคเตท และ (จ) โพแทสเซียมแลคเตท ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>P. fluorescens</i> โดยวิธี Agar well diffusion method.....	68
4.4	ผลของสารละลาย (ก) โซเดียมไดอะซิติเตท (ข) โซเดียมซิเตรท และ (ค) โพแทสเซียมซิเตรท ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>S. aureus</i> โดยวิธี Agar well diffusion method.....	69
4.5	ผลของสารละลายโซเดียมไดอะซิติเตทในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>S. Typhimurium</i> โดยวิธี Agar well diffusion method.....	70
4.6	ผลของสารละลายโซเดียมไดอะซิติเตทในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>E. coli</i> โดยวิธี Agar well diffusion method.....	70
4.7	ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อการลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในเลือดเปิดต้ม ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 15 องศาเซลเซียส.....	76
4.8	ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อการลดปริมาณเชื้อ (ก) <i>L. sakei</i> และ (ข) <i>P. fluorescens</i> ในเลือดเปิดต้ม ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 15 องศาเซลเซียส.....	81
4.9	ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อการลดปริมาณเชื้อ (ก) <i>S. aureus</i> และ (ข) <i>S. Typhimurium</i> ในเลือดเปิดต้ม ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 15 องศาเซลเซียส.....	82
4.10	ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อการลดปริมาณเชื้อ <i>E. coli</i> ในเลือดเปิดต้ม ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 15 องศาเซลเซียส.....	83

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.11 ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อการลดปริมาณ (ก) จุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง และ (ข) จุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำ ในเลือดเป็ดต้ม ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1, 3, 5, 7 และ 9 วัน	85
4.12 ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อค่าความเป็นกรด-ด่างของเลือดเป็ดต้มที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1, 3, 5, 7 และ 9 วัน	86
4.13 ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อค่าสีของเลือดเป็ดต้มที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1, 3, 5, 7 และ 9 วัน	87
4.14 ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อคุณลักษณะด้านเนื้อสัมผัสต่าง ๆ ของเลือดเป็ดต้มที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1, 3, 5, 7 และ 9 วัน	89
4.15 ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อความสามารถในการอุ้มน้ำของเลือดเป็ดต้มที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1, 3, 5, 7 และ 9 วัน	91
4.16 ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อการวิเคราะห์ทางด้านประสาทสัมผัสของเลือดเป็ดต้มอุณหภูมิการเก็บรักษา 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1, 3, 5, 7 และ 9 วัน	93
4.17 ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อการลดปริมาณเชื้อ <i>L. sakei</i> ในเลือดเป็ดต้ม ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 10 องศาเซลเซียส ในระยะเวลาการเก็บรักษา 0, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 วัน	99
4.18 ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อการลดปริมาณเชื้อ <i>P. fluorescens</i> ในเลือดเป็ดต้ม ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 10 องศาเซลเซียส ในระยะเวลาการเก็บรักษา 0, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 วัน	100
4.19 ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อการลดปริมาณเชื้อ <i>S. aureus</i> ในเลือดเป็ดต้ม ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 10 องศาเซลเซียส ในระยะเวลาการเก็บรักษา 0, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 วัน	101

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.20 ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อการลดปริมาณเชื้อ <i>S. Typhimurium</i> ในเลือดเป็ดต้ม ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 10 องศาเซลเซียสในระยะเวลาการเก็บรักษา 0, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 วัน	102
4.21 ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อการลดปริมาณเชื้อ <i>E. coli</i> ในเลือดเป็ดต้ม ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 10 องศาเซลเซียสในระยะเวลาการเก็บรักษา 0, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 วัน	103
4.22 ผลของโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ต่อการลดและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลางในเลือดเป็ดต้มที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิแตกต่างกัน	105
4.23 ผลของโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ต่อการลดและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำในเลือดเป็ดต้มที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิแตกต่างกัน	107
4.24 ผลการใช้ของโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ต่อการลดและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลางในเลือดเป็ดต้มที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิแตกต่างกัน ..	110
4.25 ผลของโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ต่อการลดและยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>P. fluorescens</i> ในเลือดเป็ดต้มที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิแตกต่างกัน	111
4.26 ผลของโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ต่อการลดและยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>S. aureus</i> ในเลือดเป็ดต้ม โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิแตกต่างกัน.....	112
4.27 ผลของโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ต่อการลดและยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>S. Typhimurium</i> ในเลือดเป็ดต้ม โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิแตกต่างกัน	113
4.28 ผลของโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ต่อการลดและยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>E. coli</i> ในเลือดเป็ดต้ม โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิแตกต่างกัน.....	114
4.29 ผลของโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ต่อการลดปริมาณ (ก) จุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง และ (ข) จุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำในเลือดเป็ดต้ม ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 5 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 19 วัน.....	119
4.30 ผลของโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ต่อการลดปริมาณเชื้อ <i>Pseudomonas</i> spp. ในเลือดเป็ดต้ม ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 5 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 19 วัน.....	120

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มา

ปัจจุบันอุตสาหกรรมเนื้อสัตว์ในประเทศไทย มีการขยายตัวเพิ่มขึ้นอย่างมาก โดยเฉพาะอุตสาหกรรมเนื้อเป็ดทั้งนี้จากสถิติการฆ่าเป็ดเนื้อของประเทศไทยในปี พ.ศ. 2558 มีจำนวน 9,234,511 ตัว ซึ่งเพิ่มขึ้นจากปี พ.ศ. 2557 ถึง 701,441 ตัว คิดเป็น 8.22 % (กรมปศุสัตว์, 2558) และมีการผลิตเนื้อเป็ดมากขึ้น จึงทำให้มีผลพลอยได้ในโรงฆ่าเป็ด โดยเฉพาะเลือดเป็ด ซึ่งส่วนที่เป็นเลือดนี้จะถูกนำไปต้มเป็นก้อนประมาณ 11% ของเลือดทั้งหมด (ลลิตา พรลากเลิศสุข และคณะ, 2552) หากนำมาผลิตเลือดเป็ดต้มจะได้เลือดเป็ดต้มสูงสุดประมาณ 1,053,418 ก้อนต่อปี ราคาก้อนละ 5 บาท ดังนั้นมูลค่าเพิ่มที่ได้จากกระบวนการผลิตเลือดเป็ดต้มสูงถึง 5,267,090 บาทต่อปี แต่หากกระบวนการผลิตเลือดเป็ดไม่ถูกสุขลักษณะอาจมีการปนเปื้อนจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียและจุลินทรีย์ก่อโรคในเลือดเป็ดต้ม โดยจุลินทรีย์เหล่านี้สามารถเจริญได้อย่างรวดเร็วในเลือดเป็ด ทั้งนี้จากประกาศกรมวิทยาศาสตร์ทางการแพทย์ เรื่อง เกณฑ์คุณภาพด้านจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร ฉบับที่ 2 (2553) ได้กำหนดปริมาณจุลินทรีย์ในอาหารปรุงสุกดังนี้ จุลินทรีย์ทั้งหมดต้องมีปริมาณไม่เกิน 1×10^6 cfu/g เชื้อ *Escherichia coli* ต้องน้อยกว่า 3 MPN/g และจุลินทรีย์ก่อโรคอาหารเป็นพิษ ได้แก่ เชื้อ *Staphylococcus aureus* ต้องน้อยกว่า 100 cfu/g และ *Salmonella* spp. และ *Vibrio cholerae* ต้องไม่พบใน 25 กรัม โดยกองควบคุมโรคกระทรวงสาธารณสุข ได้รายงานไว้ว่า เชื้อ *Salmonella* spp. และ *E. coli* เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคท้องเสียในคนไทยมากที่สุด (Food Control Division, 2004)

สาเหตุที่มักพบการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp., *E. coli*, *S. aureus* และ *V. cholerae* ในเลือดเป็ดต้มเนื่องจาก *Salmonella* และ *E. coli* เป็นแบคทีเรียที่มักพบในเนื้อเยื่อและลำไส้ของเป็ดมีชีวิต ส่วนเชื้อ *V. cholerae* มักพบในโพรงจุกและอุจจาระในลำไส้ของเป็ด โดยไม่ก่อให้เกิดโรคแก่สัตว์เหล่านั้น ในขณะที่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* ในขั้นตอนกระบวนการผลิต โดยมีแหล่งการปนเปื้อนมาจากผู้ปฏิบัติงาน ถ้ามีการปนเปื้อนของแบคทีเรียก่อโรคเหล่านั้นในเนื้อสัตว์หรือผลิตภัณฑ์ในปริมาณที่มากพอจะก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษตามชนิดของเชื้อที่ได้รับ เช่น Salmonellosis และ โรคอาหารเป็นพิษ เนื่องจาก Shiga toxin ของเชื้อ *E. coli* บางชนิด cholera toxin ของเชื้อ *V. cholerae* และ endotoxin ของเชื้อ *S. aureus* แก่ผู้บริโภค นอกจากนี้ในปี 2003 ยังพบการเกิดโรคท้องเสียอย่างรุนแรงเนื่องจากการบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนเชื้อก่อโรคเหล่านี้ในคนไทยถึง 956,313 คน (Food Control Division, 2004)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การผลิตเลือดเปิดต้มมีส่วนประกอบที่สำคัญ 3 ส่วนคือ เลือดเปิดสด เกลือ และน้ำ ซึ่งการเกิดเจลของเลือดจะเกิดขึ้นได้ดีหรือไม่ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของส่วนประกอบทั้งสามข้างต้น และอุณหภูมิในการทำให้เลือดเปิดสุกก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่สำคัญในการผลิต โดยในแต่ละโรงฆ่าเปิดจะมีวิธีการผลิตที่แตกต่างกัน ปัจจัยเหล่านี้จะส่งผลต่อลักษณะเนื้อสัมผัส สีของเลือดเปิดต้ม และส่งผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค (Immun. 2015) และเลือดเปิดยังเป็นแหล่งอาหารที่ประกอบด้วยโปรตีนเป็นส่วนใหญ่ จึงทำให้เป็นแหล่งอาหารของจุลินทรีย์ ด้วยเหตุนี้จึงทำให้การเก็บรักษาเลือดเปิดต้มมีอายุการเก็บรักษาสั้น ดังนั้นจึงมีการหาวิธีการในการยืดอายุการเก็บรักษาเลือดเปิด ปัจจุบันในโรงงานอุตสาหกรรมได้มีการใช้วัตถุกันเสียที่ได้จากธรรมชาติในการช่วยถนอมการเก็บรักษาเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ เช่น เกลือของกรดอินทรีย์ เป็นต้น แต่การนำเกลือของกรดอินทรีย์มาใช้ในการถนอมการเก็บรักษาเลือดเปิดยังไม่มีการศึกษาอย่างแพร่หลายนัก ซึ่งการใช้กรดอินทรีย์และเกลือของกรดมีประโยชน์ในการช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ที่เก็บแช่เย็น ผลิตภัณฑ์สัตว์ปีกและผลิตภัณฑ์ปลา โดยการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเป็นพิษและก่อให้เกิดโรค (อุมพร สิริพันธ์. 2546) โดยมีรายงานว่า การใช้กรดแลคติกและกรดอะซิติกสามารถลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์บนซากไก่ได้ (Sallam. 2007) นอกจากนี้ McWilliam and Stewart. (2002) พบว่า การใช้โซเดียมแลคเตทสามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* O157:H7 และแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเป็นพิษในแพตตี้เนื้อวัวบดได้ อย่างไรก็ตาม Sallam. (2007) พบว่า ถ้ามีการใช้กรดอินทรีย์ร่วมกับการใช้เกลือกรดอินทรีย์จะมีประสิทธิภาพในการยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์และยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคได้ดีกว่าการใช้เพียงสารเดี่ยว

เนื่องจากการผลิตเลือดเปิดต้มของโรงฆ่าเปิด จังหวัดฉะเชิงเทรา ประสบปัญหาด้านอายุการเก็บรักษา โดยเลือดเปิดต้มมีอายุการเก็บรักษาเพียง 1 วันเท่านั้นภายใต้สภาวะการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 7-10 องศาเซลเซียส ดังนั้นเพื่อให้ได้เลือดเปิดต้มที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภคและมีอายุการเก็บรักษาที่นานขึ้น จึงทำการศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่อการปนเปื้อนและการประเมินจุดวิกฤตที่ต้องควบคุมจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในกระบวนการผลิตเลือดเปิดต้ม ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์ต่ออายุการเก็บรักษาเลือดเปิดต้ม และผลของการประยุกต์ใช้เกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์ในการควบคุมจุดวิกฤตด้านจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิตเลือดเปิดต้มเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานทางด้านจุลินทรีย์ในระหว่างการผลิตเลือดเปิดต้มให้แก่หน่วยงานที่เกี่ยวข้อง เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการปรับปรุงและพัฒนาด้านอุตสาหกรรมเนื้อสัตว์ปีกของประเทศไทยต่อไป

1.2 ความมุ่งหมาย และวัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการปนเปื้อนและการประเมินจุดวิกฤตที่ต้องควบคุม จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในกระบวนการผลิตเลือดเปิดต้ม

1.2.2 เพื่อศึกษาผลของเกลือของกรดอินทรีย์และ โซเดียมคลอไรด์ต่ออายุการเก็บรักษาเลือด เปิดต้ม

1.2.3 เพื่อศึกษาผลของการประยุกต์ใช้เกลือของกรดอินทรีย์และ โซเดียมคลอไรด์ในการ ควบคุมจุดวิกฤตด้านจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิตเลือดเปิดต้ม

1.3 สถานที่ดำเนินงาน

1.3.1 ห้องปฏิบัติการจุลินทรีย์เนื้อสัตว์ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะ เทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

1.3.2 ห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

1.3.3 โรงฆ่าเป็ด จังหวัดฉะเชิงเทรา

1.4 ขั้นตอนการศึกษา

1.4.1 ปัจจัยที่มีผลต่อการปนเปื้อนและการประเมินจุดวิกฤตที่ต้องควบคุมจุลินทรีย์ที่ทำให้ เกิดการเน่าเสียในกระบวนการผลิตเลือดเปิดต้ม

1.4.2 ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และ โซเดียมคลอไรด์ต่ออายุการเก็บรักษาเลือดเปิดต้ม

1.4.3 ผลของการประยุกต์ใช้เกลือของกรดอินทรีย์และ โซเดียมคลอไรด์ในการควบคุม จุดวิกฤตด้านจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิตเลือดเปิดต้ม

1.5 ระยะเวลาการศึกษา

ใช้เวลาในการศึกษาทั้งสิ้น 24 เดือน เริ่มทำการศึกษาตั้งแต่เดือนมิถุนายน พ.ศ. 2556 เสร็จสิ้นการศึกษาเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2558

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.6.1 ทราบปริมาณการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ขอบอุณหภูมิปานกลาง ต่ำ และ สูงในกระบวนการผลิตเลือดเปิดต้ม และเชื้อ *S. Typhimurium*, *E. coli*, *S. aureus* และ *V. cholerae* ในเลือดเปิดต้มของโรงฆ่าเป็ด จังหวัดฉะเชิงเทรา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.6.2 ทราบถึงปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ขอบอนุภูมิภาคปานกลาง ต่ำ และสูงในกระบวนการผลิตเลือดเปิดต้ม

1.6.3 สามารถบ่งชี้จุดวิกฤตที่ต้องควบคุมจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียภายในกระบวนการผลิตเลือดเปิดต้มของโรงฆ่าสัตว์ที่ใช้เป็นกรณีศึกษาตลอดจนหาแนวทางในการพัฒนาและแก้ไขปัญหาด้านจุลินทรีย์เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค

1.6.4 เป็นการรวบรวมจุลินทรีย์ก่อโรคนชนิดต่างๆ ในเลือดเปิดต้ม เพื่อนำไปจำแนกสายพันธุ์ต่อไปในอนาคต โดยคาดว่าจะได้สายพันธุ์ที่มีความหลากหลาย ทำให้สามารถทราบถึงวงจรการถ่ายทอดจุลินทรีย์จากโรงฆ่าสัตว์ผลิตภัณฑ์เลือดเปิดต้มได้ และยังสามารถนำจุลินทรีย์เหล่านั้นไปทำการศึกษาคือยาปฏิชีวนะเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานทางการแพทย์ในการบำบัดรักษาผู้ป่วยเนื่องจากโรคอาหารเป็นพิษ และ โรคอื่น ๆ ที่อาจมีสาเหตุเนื่องจากจุลินทรีย์ก่อโรคทั้ง 4 ชนิด

1.6.5 ทราบถึงประสิทธิภาพของเกลือของกรดอินทรีย์และ โซเดียมคลอไรด์ต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ขอบอนุภูมิภาคปานกลาง ต่ำ และสูง ชื่อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium*, *E. coli* และ *V. cholerae* ในเลือดเปิดต้ม

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เลือดเปิด

การชำแหละและแปรรูปเปิดเป็นอุตสาหกรรมที่แพร่หลาย โดยเลือดที่เป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมการชำแหละและแปรรูปจะถูกแบ่งออกเป็น 2 ส่วน ได้แก่ ส่วนที่เป็นเลือดดี ซึ่งจะถูกนำไปต้มเป็นก้อนในปริมาณที่จำกัด ส่วนเลือดที่เหลือจากการต้มเลือดดีจะถูกนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ ซึ่งเรียกว่า เลือดเสีย โดยเลือดดีจะมีประมาณ 11% ของเลือดทั้งหมด ส่วนเลือดเสียที่นำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์มีประมาณ 45% ของเลือดทั้งหมด และเลือดส่วนที่สูญเสียจะปะปนไปกับน้ำทิ้ง มีอีกประมาณ 44% เลือดที่สูญเสียไปนั้นเนื่องจากการต้มเลือดเสียแล้วเลือดไม่รวมตัวกันเป็นก้อน (ลลิตา พรลาภเลิศสุข และคณะ. 2552) สำหรับปริมาณเลือดในสัตว์แต่ละชนิดจะแตกต่างกันตามน้ำหนักตัว ดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ปริมาณของเลือดสัตว์แต่ละชนิดต่อน้ำหนักตัว (มิลลิลิตร/กิโลกรัม)

ชนิดของสัตว์	น้ำหนักเฉลี่ยก่อนเข้ามา (กิโลกรัม) ¹	ปริมาณเลือดต่อตัว (มิลลิลิตร/กิโลกรัม/ น้ำหนักตัว) ²	ปริมาตรเลือด (%ของ น้ำหนักตัว)
ไก่	1.8-2	117	7
เป็ด	2.8-3.2	-	10.2
แพะ	20	-	7.3
โค	400-450	22,800	5-10

¹ อ้างอิงจากกรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ (2553) และ ปรรารถนา พฤษศิริ (2554)

² ดัดแปลงจากเพทาย พงษ์เพ็ญจันทร์ (2548)

องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพของเลือดสัตว์

เลือดประกอบด้วย 2 ส่วน ได้แก่ ส่วนของเซลล์เม็ดเลือดแดงและพลาสมา โดยเซลล์เม็ดเลือดแดงจะเป็นส่วนของของแข็งซึ่งมีประมาณ 30-40% ของน้ำหนักเลือด และส่วนที่เป็นของเหลวคือ ส่วนที่เป็นพลาสมามีประมาณ 60% องค์ประกอบในเซลล์ที่มีความสำคัญมากที่สุดคืออนุภาคของเม็ดเลือดแดง (อิริโทไซท์) อนุภาคของเม็ดเลือดขาว (ลิวโคไซท์) และเกล็ดเลือด ซึ่งในส่วนนี้จะมีโปรตีนเฉลี่ยทั้งหมดอยู่ในช่วง 28-38% และมีฮีโมโกลบินเป็นองค์ประกอบหลักของ

โปรตีน พลาสมาโปรตีนในเลือดมีประมาณ 6-8% ประกอบด้วย อัลบูมิน โกลบูลินและไฟบริโนเจน (Ribot, 2006) โดยองค์ประกอบของเลือดแสดงในตารางที่ 2.2

ทั้งนี้เลือดยังเป็นแหล่งอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการที่สำคัญ เนื่องจากเลือดมีองค์ประกอบของโปรตีนสูงถึง 17% ทำให้เลือดพบธาตุเหล็กสูง เลือดจึงเป็นแหล่งเสริมแร่ธาตุสำหรับผู้ร่างกายขาดธาตุเหล็ก นอกจากนี้เลือดยังเป็นอาหารที่อุดมด้วยกรดอะมิโนต่าง ๆ ที่จำเป็นต่อร่างกายหลายชนิดอีกด้วย ตารางที่ 2.3 แสดงกรดอะมิโนที่จำเป็นในเลือดและพลาสมา และการนำเลือดมาเป็นส่วนประกอบในการทำอาหารช่วยปรับปรุงให้รสชาติของอาหารดีขึ้น

ตารางที่ 2.2 องค์ประกอบของเลือดสุกรและส่วนของพลาสมาและเซลล์เม็ดเลือดแดง (RBC) โดยแสดงน้ำหนักเป็น %

องค์ประกอบ	เลือด	พลาสมา (60%)	RBC (40%)
น้ำ	80	90.8	60.8
เกลือ	0.9	0.8	1.1
ไขมัน	0.2	0.1	0.4
โปรตีน	17	7.9	35.1
อัลบูมิน	2.8	4.2	-
โกลบูลิน	2.2	3.3	-
ไฟบริโนเจน	0.3	0.4	-
ฮีโมโกลบิน	10	-	30
อื่นๆ	1.1	0.4	2.6

ที่มา : Ribot (2006)

ตารางที่ 2.3 องค์ประกอบของกรดอะมิโนที่จำเป็น (กรัม/100 กรัมโปรตีน) ของเลือดและพลาสมา
อ้างอิงตาม FAO

กรดอะมิโน	เลือด ^a	พลาสมา ^a	FAO proposal ^b
Ile	0.4-0.9	1.0-3.4	1.8
Leu	12.4-13.6	9.2-10.1	2.5
Lys	9.2-9.7	6.5-9.2	2.2
Met (+Cys)	1.3-1.8	0.6-1.3	2.4
Phe (+Tyr)	7.0-8.0	5.1-5.7	2.5
Thr	4.7-5.2	2.6-7.1	1.3
Trp	1.4	0.6-1.0	0.7
Val	8.0-9.1	6.8-7.4	1.8

^a อ้างอิงจาก Ockerman and Hansen (1988)

^b อ้างอิงจาก FAO/WHO (1973)

ที่มา : Ribot (2006)

2.2 การประยุกต์ใช้เลือดสัตว์

ในอุตสาหกรรมอาหารสามารถใช้เลือดสัตว์โดยตรง หรือใช้องค์ประกอบภายในเลือดเป็นส่วนประกอบการผลิตอาหาร ทั้งในอาหารมนุษย์และสัตว์ ซึ่งจะได้คุณค่าทางโภชนาการและสมบัติเชิงหน้าที่ที่ดี รวมทั้งมีบทบาทในเรื่องสีของผลิตภัณฑ์ ผู้ประกอบการจึงมีความสนใจในการเติมเลือดลงในผลิตภัณฑ์อาหารบางประเภท เช่น ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ เป็นต้น โดยการใช้เลือดเป็นส่วนประกอบของอาหารจะไม่ทำให้อาหารผิดแปลกไป เพราะเลือดที่ใช้สามารถพบได้ทั่วไปในเนื้อสัตว์ตามปกติ จึงสามารถนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารได้ นอกจากนี้ในปัจจุบันยังพบว่า ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ มีการประยุกต์ใช้เลือดได้อย่างหลากหลาย แสดงดังตารางที่ 2.4

นอกจากนี้เลือดเป็ดต้มยังเป็นผลิตภัณฑ์อาหารท้องถิ่นในประเทศไทย ซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นส่วนประกอบสำหรับอาหารหลากหลายเมนู โดยเฉพาะซूप ในการขึ้นรูปเลือดก้อนนิยมใช้เลือดจากสุกร ไก่ และเป็ดในการผลิต แม้ว่าคนไทยบางกลุ่มจะไม่นิยมรับประทานเลือดก้อนหรือผลิตภัณฑ์ที่ทำมาจากเลือดสัตว์ อาจเนื่องจากไม่ยอมรับในกลิ่นรสหรือบางกรณีอาจเป็นความเชื่อทางศาสนาของแต่ละบุคคล (Innun, 2015)

ในกระบวนการผลิตเลือดเป็ดต้มพร้อมบริโภคของแต่ละโรงฆ่าเป็ดนั้นจะมีขั้นตอนกระบวนการผลิตที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับกระบวนการผลิตและกำลังการผลิตของโรงงานฆ่าเป็ด ซึ่งสามารถสรุปได้พอสังเขป ดังภาพที่ 2.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.4 การใช้ประโยชน์จากเลือดสัตว์ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ

อุตสาหกรรมต่าง ๆ	การใช้ประโยชน์
อุตสาหกรรมอาหาร	สารอิมัลซิไฟเออร์ สารคงตัว สารทำให้เกิดเจล สารเพิ่มความข้น สารทำให้เกิดโฟม สารให้สี
อาหารสัตว์	อาหารเสริม เสริมวิตามิน เสริมแร่ธาตุ
การเกษตร	เคลือบเมล็ดพันธุ์ สารทำให้ค่าพีเอชคงตัว
ห้องปฏิบัติการ	อาหารเลี้ยงเชื้อ คีตาเลส เปปโติน โกลบูลิน อัลบูมิน
ทางการแพทย์	ทดสอบด้านภูมิคุ้มกัน การแข็งตัว ไฟบริโนเจน ไฟบริน ซีโร-โทนิน พลาสมิโนเจน
เภสัชกรรม	เครื่องสำอาง
อุตสาหกรรม	สารเกาะตัว อุตสาหกรรมยาฆ่าแมลง เรซิน เครื่องหนัง สารใช้ในกระบวนการผลิตเซรามิกและพลาสติก

ที่มา : ดัดแปลงจาก Ribot (2006)



ภาพที่ 2.1 ขั้นตอนกระบวนการผลิตเลือดเป็ดต้มของโรงงานฆ่าเป็ดในจังหวัดฉะเชิงเทรา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ใดเห็นใจใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิต

จุลินทรีย์เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่มองไม่เห็นด้วยตาเปล่าต้องอาศัยกล้องจุลทรรศน์ช่วยขยายให้เห็นรูปร่าง ลักษณะ จุลินทรีย์จำแนกออกเป็น 6 ชนิด คือ จุลินทรีย์ยีสต์ รา โปรโตซัว สาหร่าย และไวรัส จุลินทรีย์สามารถแพร่กระจายโดยทั่วไปในธรรมชาติอย่างกว้างขวางในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญ การเสื่อมเสียของอาหารส่วนใหญ่ไม่ว่าจะเป็นเนื้อสัตว์ หรือผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ส่วนใหญ่มักมีสาเหตุมาจากจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในระหว่างการฆ่า การตัดแต่ง การขนส่ง ระบบทางเดินอาหารของสัตว์และยังมีการปนเปื้อนจากอากาศ ภาชนะบรรจุ พนักงาน หรือหลังกระบวนการแปรรูป เนื่องจากมีจุลินทรีย์จากแหล่งต่างๆ จึงทำให้พบจุลินทรีย์หลายชนิดที่ปนเปื้อนก่อให้เกิดความเสียหายที่แตกต่างกันไป ซึ่งการเสื่อมเสียมักส่งผลโดยตรงในทางที่ไม่ดีต่อการเปลี่ยนแปลงของเนื้อสัมผัส สี กลิ่น รสชาติและคุณค่าทางอาหารในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ ทำให้การยอมรับของผู้บริโภคในตัวสินค้าลดลง อีกทั้งในอาหารที่เรบริโภคนอกจากนี้จะหลีกเลี่ยงจากจุลินทรีย์ แม้กระทั่งในร่างกายมนุษย์และสัตว์ก็ยังมีจุลินทรีย์อาศัยอยู่ในระบบทางเดินอาหาร (บุญศรี จงเสรีจิตต์. 2552; บุญกร อุดรภิชาติ. 2552) เชื้อโรคที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษที่มักพบปนเปื้อนในประเทศไทยได้แก่ เชื้อ *Salmonella* spp., *S. aureus*, *Bacillus cereus*, *E. coli* และ *Clostridium perfringens* เป็นต้น จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในเนื้อสัตว์แบ่งได้เป็นประเภทต่าง ๆ ตามความสำคัญ ดังนี้ (สุมาลี เหลืองสกุล. 2541)

2.3.1 จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค (Pathogenic microorganisms)

โรคที่เกิดจากการติดเชื้อจุลินทรีย์ (Foodborne disease) ที่พบโดยทั่วไป คือ โรคกระเพาะและลำไส้อักเสบ มักเกิดจากการติดเชื้อ *Salmonella* spp., *S. aureus*, *Cl. Perofringens*, *Cl. Botulinum*, *L. monocytogenes*, *Y. enterocolitica* และ *Campylobacter* spp.

โรคที่เกิดจากสารพิษที่เชื้อจุลินทรีย์สร้างขึ้น (Food poisoning) ที่สามารถพบทั่วไป คือ โรคที่เกิดจากสารพิษของเชื้อ *S. aureus* โรค Salmonellosis โรค Botulism ซึ่งเป็นโรคที่เกิดจากสารพิษของเชื้อ *Cl. Botulinum* ในลำไส้ โดยเชื้อนี้สามารถปนเปื้อนมาได้กับน้ำและดิน

2.3.2 จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย (Spoilage microorganisms)

ในสภาวะที่มีอากาศ จุลินทรีย์บางชนิดที่มักพบในเนื้อสัตว์และเนื้อผลไม้และผลิตภัณฑ์เปลี่ยนสี เกิดการเรืองแสง มีจุดสีบนผิวเกิดจากจุลินทรีย์ชนิดที่มีสารสีต่าง ๆ เกิดเมื่อกบนผิวหน้า มีกลิ่นและรสที่ไม่ดี ส่วนใหญ่เป็นจุลินทรีย์ในกลุ่ม Enterobacteriaceae จุลินทรีย์แกรมบวก สำหรับในสภาวะที่ไม่อากาศ จุลินทรีย์ทำให้เกิดการเน่าเสียมีกลิ่นเหม็นเกิดจากการสลายตัวของโปรตีน เช่น แอมโมเนีย เอมีน และไฮโดรเจนซัลไฟด์ (จิรวรรณ บุญพูลมณี. 2551)

2.3.3 จุลินทรีย์บ่งชี้ (Indicator microorganisms)

ปริมาณของจุลินทรีย์ที่เป็นตัวบ่งชี้ สามารถใช้เป็นข้อมูลในการทวนสอบ (verification) และการตรวจสอบความถูกต้อง (validation) ของสุขลักษณะในการผลิต หรือระบบ HACCP (Hazard analysis critical control point) เช่น

- Total bacterial counts หรือปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด เป็นตัวบ่งชี้ถึงสภาพทั่วไปทางจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์และเครื่องมือ

- Coliforms เป็นตัวบ่งชี้ถึงการปนเปื้อนจากสภาพแวดล้อม เชื้อนี้สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิห้องเย็น

- Generic *E. coli* เป็นตัวบ่งชี้ถึงการปนเปื้อนจากสิ่งขับถ่าย ในขณะที่ Generic *Aeromonas* และ Generic *Listeria* เป็นตัวบ่งชี้ว่าการปนเปื้อนจากสภาพแวดล้อมในโรงงานมากกว่ามาจากตัวสัตว์ (ประภาพร ขอไพบุลย์. 2547)

เลือด เป็นผลพลอยได้ที่มีปริมาณมากในระบบอุตสาหกรรมโรงฆ่าสัตว์ที่สามารถนำกลับมาใช้ประโยชน์ได้ แต่ขั้นตอนการเก็บเลือดและการแปรรูปผลิตภัณฑ์เลือดเป็ดต้มไม่ถูกสุขลักษณะทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีคุณภาพทางจุลินทรีย์อยู่ในระดับต่ำ (Ribot. 2006) โดยปกติเลือดที่ได้จากสัตว์มักปราศจากการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ แต่บางครั้งอาจเกิดการปนเปื้อนในระหว่างกระบวนการเชือด จะทำให้จุลินทรีย์มีการเจริญในระหว่างการเก็บรักษา (Ockerman and Hansen. 1988) ดังนั้นระบบการเก็บเลือดจึงเป็นตัวกำหนดคุณภาพทางจุลชีววิทยาของเลือดสัตว์ โดยระบบการระบายแบบปิด คือการใช้มีดที่มีรูกลวงอยู่ภายในจะช่วยลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ได้ การใช้ระบบระบายน้ำแบบเปิดนั้นจะทำให้การปนเปื้อนของเลือดมาจากหลายๆ แหล่ง เช่น อาจทำให้เลือดที่ได้สัมผัสกับซาก หรือปนเปื้อนจากเศษอาหารภายในกระเพาะอาหาร ฯลฯ

เลือดเป็นพาหะของจุลินทรีย์ก่อโรคได้ดีซึ่งแหล่งปนเปื้อน ส่วนใหญ่มาจากเศษอาหารและอุจจาระภายในลำไส้ โดยสามารถพบเชื้อ *Salmonella* spp., *E. coli*, *Shigella* spp. และ *Yersinia enterocolitica* เป็นต้น ส่วนจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเป็นพิษ เช่น เชื้อ *S. aureus* ก็มีความสำคัญเพราะมีความเสี่ยงต่อเลือดที่ไม่ได้เก็บรักษาโดยการแช่เย็น แต่การเก็บรักษาโดยวิธีการดังกล่าวอาจทำให้มีการปนเปื้อนของเชื้อ *Pseudomonas* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ท้องถิ่นในกลุ่มที่ทนต่ออุณหภูมิต่ำในอาหารที่เก็บแช่เย็นได้ (Erikson and Bockelmann. 1975)

2.3.4 จุลินทรีย์ก่อโรคที่อาจพบการปนเปื้อนในเลือดเป็ดต้ม

- *Salmonella*

ลักษณะทั่วไปเป็นจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษที่มีความรุนแรง นอกจากเป็นสาเหตุให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษที่มีประวัติการระบาดสูงเป็นอันดับหนึ่งในสหรัฐอเมริกา และในอีกหลายๆ ประเทศแล้ว ยังทำให้ประชากรเสียชีวิตสูงสุด จุลินทรีย์อยู่ใน Family เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Enterobacteriaceae เช่นเดียวกับจุลินทรีย์จำพวก Coliforms และ *E. coli* ดังนั้น จึงคาดเดาได้ว่า *Salmonella* จะมีรูปร่างเป็นท่อนสั้น แกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ เจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีอากาศ ชอบอุณหภูมิปานกลาง แม้ว่าที่ 37 องศาเซลเซียส จะเป็นอุณหภูมิเหมาะสม แต่ที่ 42 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่นิยมใช้บ่มเพาะเชื้อในชั้นซีเลคทีฟเอนริชเมนต์ (Selective Enrichment) เพราะที่อุณหภูมินี้เชื้อซัลโมเนลลาเจริญแข่งกับจุลินทรีย์อื่นๆ ได้ดีกว่า (สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2549) คนและสัตว์เป็นแหล่งที่อยู่อาศัยปฐมภูมิตามธรรมชาติ (primary habitat) ของเชื้อซัลโมเนลลา การเกิดโรคอาหารเป็นพิษสืบเนื่องมาจากการบริโภคอาหารหรือน้ำดื่มที่มีเชื้อนี้ปนเปื้อนผ่านทางเดินอาหาร สภาพแวดล้อมมีผลต่อการอยู่รอด การตาย รวมถึงการเจริญของ *Salmonella* การควบคุมอุณหภูมิ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่า a_w หรือปัจจัยหลายอย่างรวมกัน เชื้อ *Salmonella* สามารถสร้างกรดและก๊าซ H_2S จากการหมักย่อยน้ำตาลกลูโคส และให้ผลบวกต่อการทดสอบ catalase, citrate แต่ให้ผลลบต่อการทดสอบ oxidase และ urease (Quinn *et al.* 2004)

- *Escherichia coli*

ลักษณะทั่วไปของเชื้อ *E. coli* เป็นจุลินทรีย์แกรมลบ (Gram negative bacteria) เจริญได้ทั้งที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน รูปร่างเป็นแท่งตรง (rod shape) ไม่สร้างสปอร์ ช่วงอุณหภูมิในการเจริญ 7-50 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเท่ากับ 37 องศาเซลเซียส (FAO/WHO. 2008) อยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae เป็นเชื้อประจำถิ่นที่อาศัยอยู่ในลำไส้คนและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Byappanahalli and Fujioka. 2004) และเป็นจุลินทรีย์ที่จัดอยู่ในกลุ่มโคลิฟอร์ม (coliform) ประเภท fecal coliform ซึ่งเป็นโคลิฟอร์มที่พบในอุจจาระของมนุษย์และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม จึงใช้เป็นดัชนีบ่งชี้สุขลักษณะของอาหารและน้ำ (USEPA. 1986) *E. coli* ส่วนใหญ่ไม่ใช่จุลินทรีย์ก่อโรค (pathogen) แต่บางชนิดที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (food poisoning) *E. coli* แบ่งออกเป็น 4 ประเภทคือ Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC), Enteropathogenic *E. coli* (EPEC), Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) หรือ *E. coli* 0157:H7 และ Enteroinvasive *E. coli* (EIEC) (Nataro and Kaper. 1998)

- *Staphylococcus aureus*

ลักษณะทั่วไปของเชื้อ *S. aureus* เป็นจุลินทรีย์ก่อโรค (pathogen) ที่สำคัญในอาหาร จุลินทรีย์ชนิดนี้ย้อมติดสีแกรมบวก (Gram positive bacteria) รูปร่างกลม เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5-1.5 ไมโครมิเตอร์ เรียงตัวอยู่เป็นกลุ่มคล้ายรวงงุ่น ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ ให้ผลบวกในการทดสอบ catalase สามารถสร้าง coagulase และในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนจะสลายน้ำตาลกลูโคสให้กรดอินทรีย์ (ภัทรชัย กิรติสิน. 2549) จัดอยู่ในกลุ่ม facultative anaerobe คือเจริญได้ในที่มีอากาศและไม่มีอากาศ แต่เจริญได้ดีกว่าในสภาวะที่มีอากาศ ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญคือ 7-47.8 องศาเซลเซียสและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญคือ 37 องศาเซลเซียส ช่วงความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมในการเติบโตอยู่ที่ 7-7.5 ส่วนค่า a_w ต่ำสุดสำหรับการเจริญในสภาวะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่มีอากาศประมาณ 0.86 สภาวะไม่มีอากาศ 0.90 (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ, 2544) จุลินทรีย์ชนิดนี้ถูกทำลายได้ด้วยความร้อน และเป็นจุลินทรีย์ก่อโรคร้ายพันธุ์ที่ทนเกลือมากที่สุด โดยสามารถเจริญในสภาวะที่มีเกลือเข้มข้นสูงกว่า 15% นอกจากนี้ยังมีชีวิตได้ในสภาวะแวดล้อมที่แห้ง สามารถพบได้บริเวณผิวหนัง และเชือกของสัตว์ (Nørrung *et al.* 2009)

- *Vibrio cholerae*

V. cholerae จัดอยู่ใน Family Vibrionaceae มีคุณสมบัติย้อมติดสีแกรมลบ รูปร่างท่อนโค้ง สามารถเคลื่อนที่ด้วยโพลาร์แฟลกเจลลา 1 เส้น ปนเปื้อนอยู่ในอาหารและน้ำ (Nair *et al.* 2002) เป็นจุลินทรีย์แกรมลบ รูปร่างท่อน สามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobic) ไม่สร้างสปอร์ มีเอนไซม์ oxidase มีแหล่งอาศัยอยู่ในน้ำ (aquatic water) เป็นสาเหตุของอหิวาตกโรค (cholerae) ซึ่งส่วนใหญ่เป็น water-borne disease ติดต่อจากการสัมผัส น้ำที่ปนเปื้อนเชื้อไปยังมือ เชื้อ *V. cholerae* แบ่งออกเป็น 2 serogroups คือ *V. cholerae* O1 และ O139 (Chomvarin *et al.* 2007) ช่วงอุณหภูมิที่สามารถเจริญได้อยู่ระหว่าง 25-40 องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญคือ 37 องศาเซลเซียส (Raque, 2010) ทนความเป็นด่างได้สูงถึง 9.5 ทนกรดได้น้อย ถ้าค่าความเป็นกรดต่าง 6.0 เชื้อจะตาย *V. cholerae* ทำให้เกิดท้องร่วงเฉียบพลันได้ เพราะสร้างสารพิษ (cholera toxin; CT) เชื้อก่อโรคที่สำคัญที่สุดในคน ได้แก่ *V. cholerae* O1 และ *V. cholerae* O139 ก่อให้เกิดโรคท้องร่วงเฉียบพลัน (อหิวาตกโรค) (Schirmeister *et al.* 2013)

CT ประกอบด้วย subunit A 1 หน่วย และ subunit B ปริมาณ 5 หน่วย subunit B ทำหน้าที่เกาะกับผิวของ epithelial cell ของผนังลำไส้เล็ก จากนั้น subunit A จะผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เข้าไปพร้อมทั้งถูกย่อยเป็น subunit A1 ซึ่งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนที่ทำหน้าที่ควบคุมการทำงาน (regulatory protein) ของเอนไซม์ adenylate cyclase ในเซลล์ ทำให้ adenylate cyclase มีการทำงานตลอดเวลา เปลี่ยน ATP ได้เป็น cyclic AMP (cAMP) ในระดับสูง (Van Broeck *et al.* 2007) ระดับ cAMP ที่สูงขึ้นนี้จะทำให้เกิดการสูญเสียน้ำและอิเล็กโทรไลต์จากเซลล์ เยื่อลำไส้ ออกสู่ lumen ทำให้เกิดการท้องเสียอย่างรุนแรงขึ้น (Chinnapen *et al.* 2007)

2.3.5 จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียที่อาจพบการปนเปื้อนได้ในเลือดสัตว์

- *Pseudomonas* spp.

จุลินทรีย์สกุล *Pseudomonas* มีรูปร่างเป็นท่อนตรงหรือท่อนโค้ง ติดสีย้อมแกรมลบ มีความยาวประมาณ 1-5 ไมโครเมตร กว้าง 0.5-1 ไมโครเมตร เคลื่อนที่โดยอาศัยโครงสร้างที่เรียกว่า แฟลกเจลลา จัดอยู่ในตระกูล Pseudomonadaceae (Bowman, 2007) เป็นจุลินทรีย์ที่ย่อยโปรตีนได้ (proteolytic bacteria) ช่วงอุณหภูมิในการเจริญ 25-30 องศาเซลเซียส สามารถพบได้ทั่วไปทั้งในดิน และในน้ำ และอาจพบได้ที่บริเวณพื้นผิวของพืช และผิวหนังของสัตว์บางชนิด เชื้อ

Pseudomonas spp. (Chythanya *et al.* 2002) นอกจากนี้ยังพบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ชนิดนี้ในเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เลือดที่อยู่ในสถานะแช่เย็น โดยสามารถเจริญได้แม้จะอยู่ในอุณหภูมิการเก็บรักษาต่ำ ซึ่งจุลินทรีย์ชนิดนี้เป็นจุลินทรีย์ประจำถิ่นที่สามารถทนต่ออุณหภูมิต่ำในอาหารที่เก็บแช่เย็นได้ การเจริญของจุลินทรีย์เป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ (Erikson and Bockelmann. 1975)

- Lactic acid bacteria (LAB)

เป็นจุลินทรีย์แกรมบวกที่สามารถพบได้ทั่วไปในธรรมชาติและปรับตัวในการเจริญภายใต้สภาวะแวดล้อมที่แตกต่างกัน อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญคือ 37 องศาเซลเซียส (Castellano *et al.* 2004; McLeod *et al.* 2008) นอกจากนี้งานวิจัยของ Erikson and Bockelmann (1975) สามารถจำแนกสายพันธุ์ของแบคทีเรียกรดแลคติกจากการปนเปื้อนของเชื้อ *L. reuteri*, *L. murins* และ *L. mucosa* ในถังเก็บเลือดของโรงฆ่าเป็ดแห่งหนึ่งได้

2.4 กระบวนการเน่าเสียโดยจุลินทรีย์

ปัจจัยที่มีผลต่อการเน่าเสียของเลือดเป็ดต้ม ได้แก่

2.4.1 จุลินทรีย์ การเน่าเสียและอายุการเก็บรักษาของเลือดเป็ดต้มขึ้นอยู่กับปริมาณการปนเปื้อนของจุลินทรีย์เริ่มต้นตั้งแต่กระบวนการผลิตและการแปรรูป ตลอดจนการขนส่งและการจัดจำหน่าย ดังนั้นระหว่างกระบวนการฆ่าเป็ดและกระบวนการผลิตเลือดเป็ดจึงต้องคำนึงถึงความถูกต้องในขั้นตอนกระบวนการผลิตให้เป็นไปตามกระบวนการของโรงฆ่าเป็ด สุขลักษณะของพนักงาน การทำความสะอาด เครื่องมือและอุปกรณ์ต่าง ๆ ตลอดจนน้ำที่ใช้ในกระบวนการผลิตเพื่อช่วยลดจุลินทรีย์เริ่มต้นที่สามารถปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์

2.4.2 สารอาหาร การเจริญของจุลินทรีย์แต่ละชนิด มีความต้องการสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญแตกต่างกัน เช่น อาหารประเภท โปรตีน มักเกิดการเน่าเสียจากจุลินทรีย์ หรืออาหารจำพวกแป้งมักจะเน่าเสียจากเชื้อราที่ข่อยแบ่งได้ เช่น *Aspergillus* หรือ *Rhizopus* นอกจากนี้วิตามินก็เป็นตัวช่วยให้จุลินทรีย์เจริญได้ดีด้วย ทั้งนี้สารอาหารนั้นต้องมีคุณสมบัติที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ในการเจริญได้ ได้แก่ มีสารอาหารที่จุลินทรีย์สามารถย่อยสลายได้ มีค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่า a_w ที่เหมาะสมและต้องไม่มีสารพิษ (ที่สามารถฆ่าจุลินทรีย์ได้) อยู่ในอาหาร ซึ่งในเลือดเป็ดต้มเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีค่า a_w ในช่วง ≥ 0.9 ซึ่งเป็นช่วงที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ จึงทำให้เลือดเป็ดต้มเกิดการเสื่อมเสียจากจุลินทรีย์เป็นส่วนใหญ่

2.4.3 สภาพแวดล้อม สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์แต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน เช่น อุณหภูมิในระหว่างการเก็บรักษาหรืออุณหภูมิของผลิตภัณฑ์ องค์ประกอบของก๊าซในบรรยากาศที่เหมาะสม โดยชนิดของจุลินทรีย์จะสัมพันธ์กับอุณหภูมิของสิ่งแวดล้อมใน

สถานที่นั้นๆ ซึ่งกระบวนการผลิตเลือดเปิดต้มมีการใช้ทั้งอุณหภูมิสูงและต่ำ ในการผลิตเลือด จึงเป็นปัจจัยให้จุลินทรีย์แต่ละชนิดสามารถเจริญได้ในอุณหภูมิแตกต่างกัน (บุษกร อุตริชาติ, 2552)

2.4.4 ระยะเวลา มีระยะเวลาที่เพียงพอให้จุลินทรีย์สามารถเจริญได้ในอาหาร จุลินทรีย์ที่จะทำให้อาหารซึ่งผ่านการปรุงสุกด้วยความร้อนเกิดการเน่าเสีย จะต้องเป็นจุลินทรีย์ที่สามารถทนความร้อนได้ดี หรืออาจเป็นจุลินทรีย์ที่ทนเป็นอาหารภายหลังการปรุงอาหารด้วยความร้อนแล้ว การเน่าเสียของอาหารที่ทำให้สุกด้วยความร้อนแล้วอาจมาจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ที่ทนความร้อน ซึ่งผลิตโดยจุลินทรีย์ นอกจากนี้ระยะเวลาในการเก็บรักษาจะต้องนานเพียงพอที่จะทำให้เกิดปฏิกิริยาเคมีในการย่อยสลายอาหาร ซึ่งมีผลให้อาหารนั้นมีการเน่าเสียเกิดขึ้น

การลดหรือป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหารอาจทำได้หลายวิธี รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของสิ่งแวดล้อม เช่น การลดอุณหภูมิ เพื่อลดกระบวนการเจริญของจุลินทรีย์ หรือการเพิ่มอุณหภูมิทำลายจุลินทรีย์ การกำจัดน้ำเพื่อให้จุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญได้ หรือการควบคุมก๊าซของสิ่งแวดล้อม เช่น ลดความชื้นของออกซิเจน หรือเพิ่มความชื้นของคาร์บอนไดออกไซด์ การลดหรือหยุดการเจริญของจุลินทรีย์โดยการเติมกรดเพื่อลดความเป็นกรด-ด่าง เป็นต้น (กชรัตน์ วงศ์รัตน์, 2554)

2.5 มาตรฐานทางด้านจุลินทรีย์ในเลือดเปิดต้ม

เลือดเปิดต้มในประเทศไทยยังไม่มีข้อกำหนดมาตรฐานทางด้านจุลินทรีย์ ในการวิจัยนี้จึงใช้มาตรฐานทางจุลชีววิทยาของอาหารปรุงสุกในการบ่งชี้คุณภาพของเลือดเปิดต้ม โดยประกาศกรมวิทยาศาสตร์ทางการแพทย์ เรื่อง เกณฑ์คุณภาพด้านจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร ฉบับที่ 2 (2553) (DMSC, 2010) ได้กำหนดปริมาณจุลินทรีย์ในอาหารปรุงสุกดังนี้

2.5.1 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ต้องไม่เกิน 1×10^6 โคโลนี (CFU) ต่อตัวอย่าง 1 g

2.5.2 Coliform organisms กำหนดค่า Most Probable Number (MPN) ต่อตัวอย่าง 1 g ต้องไม่เกิน 3 MPN

2.5.3 *Salmonella* spp. ต้องไม่พบในตัวอย่าง 25 g

2.5.4 *S. aureus* กำหนดค่า Most Probable Number (MPN) ต่อตัวอย่าง 1 g ต้องไม่เกิน 1×10^2

2.5.5 *V. cholerae* ต้องไม่พบในตัวอย่าง 25 g

2.6 หลักการของระบบวิเคราะห์อันตรายและจุดวิกฤตที่ต้องควบคุม

2.6.1 GMP (Good manufacturing practice) หรือหลักเกณฑ์วิธีการที่ดีสำหรับการผลิต เป็นการจัดสถานะแวดล้อมขั้นพื้นฐานของกระบวนการผลิต เช่น การควบคุมสุขลักษณะ

ส่วนบุคคล การควบคุมแมลงและสัตว์นำโรค การออกแบบโครงสร้างอาคารผลิต รวมถึงเครื่องจักร เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และอุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิต เป็นต้น ซึ่งเน้นแนวทางการป้องกันมากกว่าการแก้ไขปัญหา เป็นระบบจัดการความปลอดภัยของอาหารขั้นพื้นฐาน (Food safety management system) คือจัดการไม่ให้อาหารก่อผลกระทบต่อผู้บริโภค เมื่อจัดทำระบบ HACCP ซึ่งเป็นการจัดการด้านกระบวนการผลิต ซึ่งการนำระบบ HACCP มาใช้ได้บรรลุเป้าหมายได้จะต้องสร้างระบบพื้นฐานที่มั่นคง มีการจัดการโปรแกรมพื้นฐาน (prerequisite program) หรือการจัดการด้านสุขลักษณะของอาหารพื้นฐานที่ดีก่อน สภาพแวดล้อมการผลิตที่ดี ย่อมทำให้ควบคุมกระบวนการ ผลิต จุดวิกฤติที่มีประสิทธิภาพมากขึ้น และทำให้แผน HACCP มีความชัดเจนขึ้นด้วย ดังนั้น หลักเกณฑ์วิธีการที่ดีสำหรับการผลิต (GMP) จึงเป็นการจัดการด้านสุขลักษณะ ที่เป็นพื้นฐานสำคัญในการจัดทำระบบ HACCP

2.6.2 ระบบ HACCP และโปรแกรมพื้นฐานมีความสัมพันธ์กันอย่างมาก กล่าวคือ ระบบ HACCP นี้จะมุ่งเน้นการควบคุมกระบวนการผลิตโดยเฉพาะจุดหรือขั้นตอนที่ได้รับการวิเคราะห์แล้วว่า เป็นจุด CCP ในขณะที่การจัดการด้านโปรแกรมพื้นฐานจะเน้นในเรื่องของการจัดการด้านสุขลักษณะของอาคาร สถานที่การผลิต เครื่องจักรอุปกรณ์ และสภาพแวดล้อมของกระบวนการผลิต ซึ่งได้แก่การจัดการในเรื่องต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

- 2.6.2.1 สุขลักษณะส่วนบุคคล (personal hygiene)
- 2.6.2.2 การควบคุมแมลงและสัตว์นำโรค (pest control)
- 2.6.2.3 การควบคุมระบบน้ำ น้ำแข็ง และไอน้ำในโรงงาน (water/ice/steam control)
- 2.6.2.4 การทำความสะอาดอุปกรณ์และอาคารสถานที่การผลิต (cleaning)
- 2.6.2.5 การควบคุมแก้ว กระจก และพลาสติกแข็ง (glass and hard plastic control)
- 2.6.2.6 การควบคุมสารเคมี (control of chemicals)
- 2.6.2.7 การระบุและการสอบผลิตภัณฑ์กลับ (indentification and traceability)
- 2.6.2.8 การกักและปล่อยผลิตภัณฑ์ (hold/release program)
- 2.6.2.9 การเรียกผลิตภัณฑ์คืน (product recall)
- 2.6.2.10 การกำจัดขยะ (waste disposal) เป็นต้น

2.6.3 การจัดทำระบบ HACCP ในโรงงานอุตสาหกรรม ควรดำเนินการดังนี้

2.6.3.1 จัดทำโปรแกรมพื้นฐาน ซึ่งต้องทำเป็นเอกสารแสดงขั้นตอนการดำเนินการจัดการโปรแกรมพื้นฐานในเรื่องต่าง ๆ ตามที่กล่าวมาข้างต้น ในประเทศสหรัฐอเมริกาจะเรียกขั้นตอนการปฏิบัติงานของโปรแกรมพื้นฐานหรือโปรแกรมการสุขาภิบาลเหล่านี้ว่า Sanitation standard operating procedures หรือเรียกย่อ ๆ ว่า SSOPs ซึ่งจาก 9 CFR. Part 308, 402 (a)(3) และ (a)(4) กำหนดให้ผู้ผลิตอาหารทะเล หรือเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์แต่ละรายต้องจัดทำคู่มือ SSOPs ไว้

ประจำโรงงาน แม้ว่าในโปรแกรม GMPs และโปรแกรมสุขลักษณะอาหารของ Codex จะมีหัวข้อนี้ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แล้วก็ตาม เนื่องจากโปรแกรมพื้นฐานของ Codex สามารถประยุกต์ใช้ได้กับผลิตภัณฑ์อาหารหลายประเภทจึงขอนำ Codex general principles of food hygiene ปี ค.ศ. 1997 มากล่าวเป็นแนวทางในการจัดทำโปรแกรมพื้นฐาน (สุมนทนา วัฒนสินธุ์. 2545)

1) การผลิตขั้นต้น

- สุขอนามัยสิ่งแวดล้อม
- การจัดหาวัตถุดิบที่ถูกสุขอนามัย
- การเคลื่อนย้าย การเก็บรักษา และการขนส่ง
- การทำความสะอาด การบำรุงรักษา และสุขวิทยาส่วนบุคคล ณ สถานที่ผลิต

ขั้นต้น

2) การจัดระบบ: การออกแบบและสิ่งอำนวยความสะดวก

- สถานที่ตั้ง (location) ได้แก่ โรงงานและอุปกรณ์เครื่องใช้
- โรงงานและห้องต่าง ๆ (premises and rooms) ได้แก่ การออกแบบและการวางผัง โครงสร้างภายในและการติดตั้งอุปกรณ์ และสถานที่ผลิตอาหารชั่วคราวหรือเคลื่อนย้ายได้
- อุปกรณ์เครื่องใช้ ได้แก่ การควบคุมอาหาร อุปกรณ์ตรวจติดตาม และภาชนะรองรับขยะและสารที่บริโภคไม่ได้
- สิ่งอำนวยความสะดวก ได้แก่ การจัดการน้ำ การกำจัดน้ำเสียและขยะ การทำความสะอาด สิ่งอำนวยความสะดวกเกี่ยวกับสุขอนามัยของพนักงานและห้องน้ำ การควบคุมอุณหภูมิ คุณภาพของอากาศและการระบายอากาศ ระบบแสงสว่าง และห้องเก็บของ
- การควบคุมการทำงาน ได้แก่ การควบคุมอันตรายในอาหาร และประเด็นสำคัญของระบบการควบคุมสุขลักษณะ เช่น การควบคุมเวลาและอุณหภูมิ ขั้นตอนของกระบวนการที่มีลักษณะจำเพาะ ข้อกำหนดทางจุลชีววิทยาอื่น ๆ การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ และการปนเปื้อนทางกายภาพและเคมี เป็นต้น
- ข้อกำหนดเกี่ยวกับการรับเข้าวัตถุดิบ (incoming material requirements)
- บรรจุภัณฑ์ (packaging)
- น้ำ (water) ได้แก่ น้ำใช้ที่มีการสัมผัสกับอาหาร น้ำที่ใช้เป็นส่วนประกอบอาหาร และน้ำที่ใช้ผลิตน้ำแข็งและไอน้ำ
- การจดบันทึกและการให้คำปรึกษา (management and supervision)
- การจัดทำเอกสารและบันทึก (documentation and records)
- วิธีการเรียกคืนค้ากลับ (recall procedures)

3) การจัดทำระบบ: การบำรุงรักษาและการสุขาภิบาล

- การบำรุงรักษาและทำความสะอาด
- โปรแกรมทำความสะอาด (cleaning programs)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ระบบการควบคุมสัตว์นำโรคและแมลง (pest control systems) ได้แก่ การป้องกันการสะสมและฟักตัวของแมลง การตรวจติดตามการตรวจสอบและการตรวจประเมิน

4) สุขวิทยาส่วนบุคคล ได้แก่ สถานภาพทางสุขภาพ การเจ็บป่วยและการขาดเจ็บ การรักษาทำความสะอาดส่วนบุคคล พฤติกรรมส่วนบุคคล และผู้เยี่ยมชม

5) การขนส่ง ได้แก่ มีข้อกำหนดในการใช้ยานพาหนะ และหมั่นบำรุงรักษา

6) ข้อมูลผลิตภัณฑ์และความตระหนักของผู้บริโภค

- ระบุรุ่น

- ข้อมูลผลิตภัณฑ์

- การแสดงฉลาก

- การให้การศึกษาหรือข้อมูลแก่ผู้บริโภค

7) การฝึกอบรม

- ความตระหนักและความรับผิดชอบ

- โปรแกรมการฝึกอบรม

- คำแนะนำและคำปรึกษา

- การฝึกอบรมเพิ่มเติม

2.6.3.2 จัดทำเอกสารของแผน HACCP (HACCP plan)

2.6.3.3 นำ SSOPs รวมทั้งแผน HACCP ไปใช้ในการควบคุมการผลิตจริง

2.6.3.4 วัดผลและประเมินประสิทธิภาพของระบบ HACCP ที่นำไปประยุกต์ใช้

2.6.3.5 ทบทวนและปรับปรุงให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้นอย่างต่อเนื่อง

จะเห็นว่าระบบ HACCP เป็นระบบที่ผลักดันให้โรงงานผลิตอาหารได้มีการทบทวนและตรวจสอบกระบวนการผลิตของตนเอง (self-inspection) อย่างต่อเนื่อง จึงจำเป็นต้องมีคณะทำงานที่มีความรู้หลาย ๆ ด้าน (multidisciplinary team) และมีการฝึกอบรมพนักงานทุกระดับอย่างมีประสิทธิภาพ การจัดทำโปรแกรมพื้นฐาน และระบบ HACCP ที่ดีสามารถนำไปประยุกต์ใช้ให้สอดคล้องกับระบบจัดการคุณภาพอื่น ๆ เช่น ระบบการจัดการคุณภาพอนุกรม ISO 9000 ได้อีกด้วย (สุวิมล กิริติพิบูล, 2548)

2.6.4 หลักการของระบบ HACCP ครอบคลุมถึงการป้องกันปัญหาจากอันตราย 3 สาเหตุ ได้แก่

2.6.4.1 อันตรายทางชีวภาพ ซึ่งเป็นอันตรายจากจุลินทรีย์

2.6.4.2 อันตรายจากสารเคมี ได้แก่ สารเคมีที่ใช้ในการเลี้ยง เพาะปลูก ในกระบวนการผลิตวัตถุดิบ เช่น สารปฏิชีวนะ สารเร่งการเจริญเติบโต สารเคมีกำจัดศัตรูพืช สารเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ใช้เป็นวัตถุเจือปนในอาหาร เช่น วัตถุกันเสีย และสารเคมีที่ใช้ในโรงงาน เช่น น้ำมันหล่อลื่น จาระบี สารเคมีทำความสะอาดเครื่องจักรอุปกรณ์ในโรงงาน เป็นต้น

2.6.2.3 อันตรายทางกายภาพ สิ่งแปลกปลอมต่างๆ อาทิ เศษแก้ว เศษกระจก โลหะ

อันตรายทางชีวภาพเป็นสิ่งที่ต้องให้ความสำคัญมากที่สุดในระบบ HACCP เนื่องจากอันตรายประเภทอื่นมีขอบเขตการก่อให้เกิดปัญหาต่อผู้บริโภคในวงจำกัด และบางครั้งผู้บริโภคสามารถตรวจพบได้ด้วยตัวเอง แต่การบริโภคอาหารที่ปนเปื้อนด้วยจุลินทรีย์นั้น อาจส่งผลกระทบต่อผู้บริโภคอย่างแพร่หลายและพิษที่เกิดขึ้นอาจรุนแรงจนถึงชีวิตได้ ปัจจุบัน HACCP ถือเป็นมาตรการสากลที่ใช้สร้างความมั่นใจในอุตสาหกรรมการผลิตอาหารทั้งโดยผู้ผลิตและผู้บริโภค ซึ่งขอบข่ายของระบบ HACCP ในด้านการผลิตอาหารจะพิจารณาควบคุมจุลินทรีย์และสารพิษตั้งแต่การปนเปื้อนกับวัตถุดิบ กรรมวิธีการแปรรูป การบรรจุ และการจัดจำหน่าย ส่วนในด้านการบริการจะพิจารณาควบคุมการปนเปื้อนจุลินทรีย์และสารพิษนับตั้งแต่การปนเปื้อนวัตถุดิบ กรรมวิธีการเตรียมและปรุงประกอบ ตลอดจนการจัดการเก็บก่อนบริการ ขณะบริการและหลังบริการ

หลักการจัดทำระบบวิเคราะห์อันตรายและจุดวิกฤตที่ต้องควบคุม

ขั้นตอนที่ 1 การจัดตั้งทีมงาน HACCP (Assemble HACCP team)

- กลุ่มผู้ที่มีความเชี่ยวชาญเฉพาะด้านและกลุ่มผู้มีประสบการณ์ด้านอุตสาหกรรมอาหาร

- กำหนดหัวหน้าทีม HACCP และกลุ่มผู้ปฏิบัติการ เช่น ฝ่ายผลิต ฝ่ายวิศวกรรม ฝ่ายควบคุมคุณภาพ ฝ่ายค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์ นักจุลชีววิทยา ฝ่ายจัดส่งหรือจัดจำหน่ายสินค้า ฝ่ายบุคคล เป็นต้น

- ทีม HACCP ต้องได้รับการแต่งตั้งและอนุมัติจากผู้บริหาร

- ขนาดของทีม HACCP ขึ้นกับความซับซ้อนของกระบวนการผลิต ความหลากหลายของผลิตภัณฑ์ เป็นต้น แต่ไม่ควรมีขนาดทีมที่ใหญ่เกินไป

ขั้นตอนที่ 2 และ 3 การอธิบายรายละเอียดผลิตภัณฑ์ และวัตถุประสงค์ในการใช้ (Describe Product and Identity Intended Use) การอธิบายรายละเอียดผลิตภัณฑ์มีหัวข้อดังนี้

- ชื่อของผลิตภัณฑ์ (product Name)

- คุณลักษณะสำคัญของผลิตภัณฑ์ หมายถึง คุณลักษณะที่จะช่วยประกันความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ชนิดนั้น เช่น การทำสุกด้วยการนึ่งจนได้ผลิตภัณฑ์ที่มีอุณหภูมิใจกลางมากกว่า 70 องศาเซลเซียสหรือปราศจากการใช้สารกันบูด เป็นต้น

- วิธีการใช้ผลิตภัณฑ์ หมายถึง การบริโภคผลิตภัณฑ์ ต้องนำไปแปรรูปหรือปรุงสุก หรือต้องผ่านการให้ความร้อนก่อนการบริโภค

- ภาชนะบรรจุ หมายถึง ชนิดของภาชนะบรรจุ รวมถึงสภาวะของการบรรจุ เช่น การปรับสภาพสุญญากาศในภาชนะบรรจุ เป็นต้น

- อายุผลิตภัณฑ์ หมายถึง ระยะเวลาของการใช้ได้ของผลิตภัณฑ์ รวมถึง อุณหภูมิการเก็บและ/หรือความชื้นในการเก็บรักษา

- แหล่งจำหน่าย หมายถึง จุดที่ทำการจำหน่าย อาจเป็นร้านค้าปลีก หรือนำไปผลิตต่อ

- การระบุข้อมูลฉลาก หมายถึง ข้อมูลจำเป็นที่ระบุบนฉลาก รวมถึงวิธีการจัดเก็บ และข้อแนะนำการใช้อย่างถูกวิธี

- การควบคุมการกระจายสินค้า หมายถึง วิธีการเฉพาะที่จำเป็นต้องใช้เพื่อควบคุมสภาวะการขนส่ง

- วัตถุประสงค์ในการใช้ ระบุ บุคคลที่สามารถใช้หรือไม่เหมาะสมที่จะใช้ผลิตภัณฑ์

ขั้นตอนที่ 4 และ 5 การสร้างแผนภูมิการผลิตและการตรวจสอบความถูกต้องของแผนภูมิการผลิต (Construct flow diagram and on-site confirmation of flow diagram)

- การสร้างแผนภูมิการผลิต ตั้งแต่การรับวัตถุดิบหลัก วัตถุดิบรอง บรรจุภัณฑ์ น้ำใช้ในการผลิต การผ่านกระบวนการผลิตต่างๆ การรอผลิตหรือผ่านการผลิตใหม่จนได้ผลิตภัณฑ์สุดท้าย รวมถึงการจัดเก็บ และการกระจายสินค้า

- แผนภูมิการผลิตต้องสัมพันธ์กับการแบ่งส่วนการผลิต โดยแยกส่วนสะอาดกับส่วนไม่สะอาดอย่างชัดเจน และแยกขาดจากกัน

- แผนภูมิการผลิตต้องสัมพันธ์กับการแบ่งห้องต่างๆ ที่ใช้งานในกระบวนการผลิตที่เหมาะสมและเกิดการใช้งานได้มีประสิทธิภาพ

- การจัดวางอุปกรณ์ เครื่องจักรที่เหมาะสมกับกระบวนการผลิต โดยกำหนดทิศทางการไหลของวัตถุดิบเป็นทิศทางเดียวกันจากส่วนไม่สะอาดไปยังส่วนสะอาด และป้องกันเส้นทางที่อาจเกิดการปนเปื้อนข้าม (cross contamination)

- ทีม HACCP ทำการตรวจสอบความถูกต้องของแผนภูมิการผลิตที่จัดทำกับการปฏิบัติจริง

- ทีม HACCP ทำการปรับเปลี่ยนแผนภูมิการผลิตให้สอดคล้องกับกระบวนการผลิตจริง

ขั้นตอนที่ 6 ระบุอันตรายทุกชนิดที่อาจเกิดขึ้นในแต่ละขั้นตอนของกระบวนการผลิต ทำการวิเคราะห์อันตราย และพิจารณาหามาตรการในการควบคุมอันตรายที่ตรวจพบ (List all potential hazards associated with each step, conduct a hazard analysis and consider any measures

to control identified hazards : principle 1)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- วิเคราะห์อันตรายในทุกขั้นตอนในอันตรายทางชีวภาพ ทางเคมี ทางกายภาพ และแยกย่อยเป็นอันตรายชนิดที่มีอยู่หรือที่มีมา อันตรายที่เพิ่มปริมาณในระหว่างการผลิต อันตรายที่ปนเปื้อนในระหว่างการผลิต อันตรายจากการเล็ดรอดของอันตราย

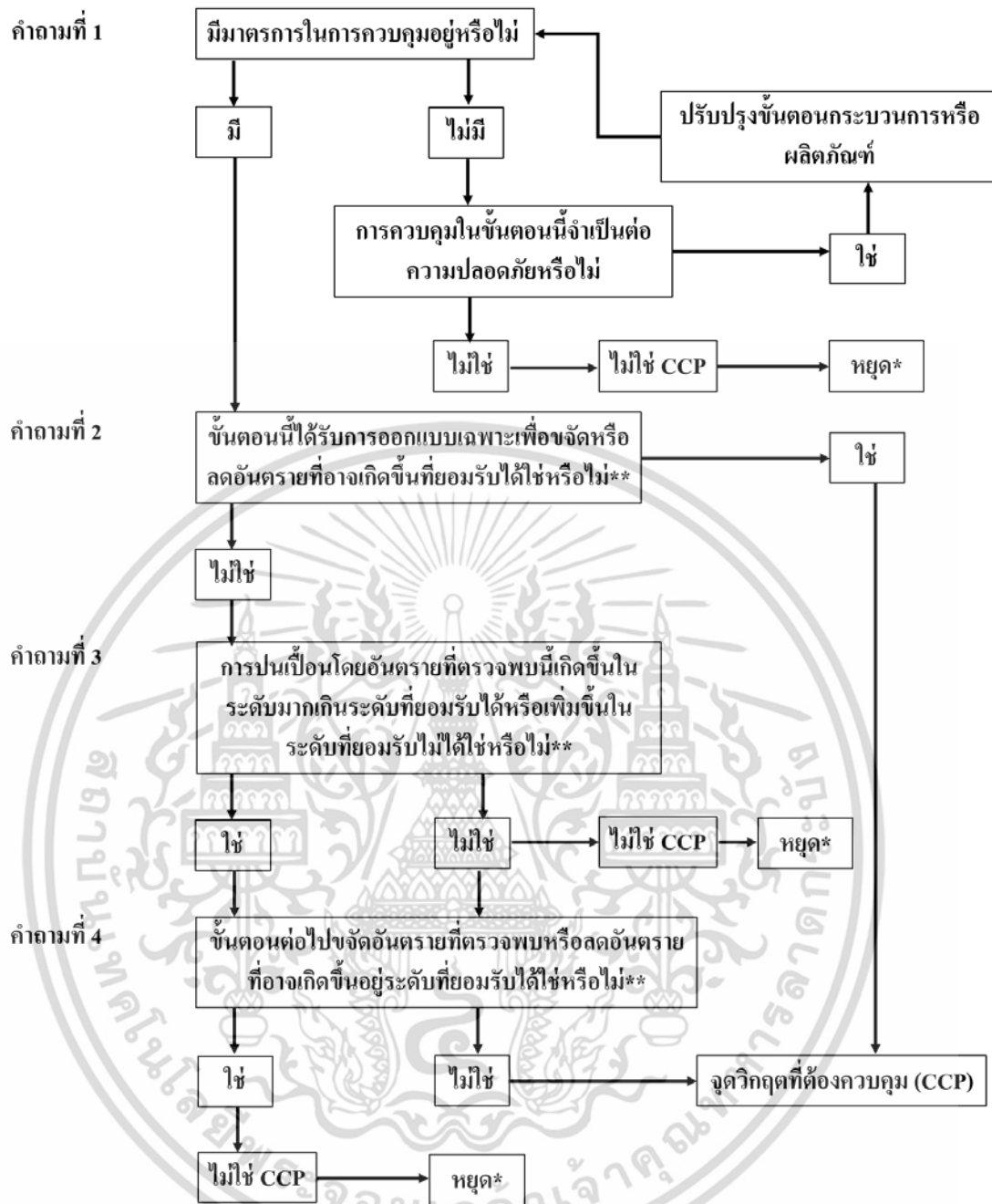
- การกำหนดมาตรการควบคุมอันตรายในทุกขั้นตอน โดยดำเนินการทีละขั้นตอน

ขั้นตอนที่ 7 การหาจุดวิกฤตที่ต้องควบคุม (Determine critical control points : principle 2) การตัดสินใจว่าขั้นตอนใดในกระบวนการผลิตเป็นจุดวิกฤตที่ต้องควบคุม สามารถจะดำเนินการได้โดยการตัดสินใจของผู้เชี่ยวชาญ (professional judgment) หรือ การใช้หลักการของผังการตัดสินใจ (decision tree) ดังภาพที่ 2.2 ซึ่งต้องมีความยืดหยุ่นและสามารถใช้ได้กับทุกขั้นตอนในการผลิต และทุกประเภทอุตสาหกรรมอาหาร และสามารถใช้ได้กับอันตรายทั้ง 3 ประการ (ประวิทย์ ศรีสะอาด และบุณิกา จุลละโพธิ์, 2556)

จุดวิกฤตที่ต้องควบคุม (Critical control point; CCPs) ในนิยามของ Codex หมายถึงขั้นตอนในกระบวนการผลิตหนึ่ง ๆ ที่จำเป็นต้องมีการควบคุม เพื่อป้องกันหรือขจัดอันตรายที่มีต่อความปลอดภัยของอาหาร หรือลดอันตรายดังกล่าวจนถึงระดับที่ยอมรับได้ Codex ได้มีการแนะนำให้ใช้ผังการตัดสินใจดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น ช่วยในการกำหนดจุดวิกฤตที่ต้องควบคุม (CCPs) ผังการตัดสินใจเป็นกลุ่มของคำถาม 4 คำถามที่เป็นเหตุเป็นผลตามหลักตรรกวิทยา ผังการตัดสินใจนี้สามารถประยุกต์ใช้ได้ในการบวนการสำหรับผลิตวัตถุดิบ กระบวนการแปรรูป การเก็บรักษาและอื่น ๆ อย่างมีประสิทธิภาพ อย่างไรก็ตามคณะทำงานควรได้มีการฝึกฝนการตอบคำถามทั้ง 4 คำถามในผังการตัดสินใจ และเมื่อคณะทำงานเข้าใจการตอบคำถามในผังการตัดสินใจแล้ว จึงนำแบบฟอร์มซึ่งได้ระบุอันตรายที่มีโอกาสเกิดขึ้นในทุกขั้นตอนการผลิตพร้อมมาตรการควบคุมมาตอบคำถามในผังการตัดสินใจ และบันทึกผลการตอบคำถามในแบบฟอร์มนั้น และสรุปว่าเป็น CCP หรือไม่ (สุวิมล กิริติพิบูล, 2548) แต่อย่างไรก็ตามในการพิจารณากำหนดจุดหรือขั้นตอนวิกฤตที่ต้องควบคุม แนะนำให้เขียนแผนผังการไหลของกระบวนการผลิต (flow chart) ก่อน จากนั้นจึงกำหนดจุดวิกฤตที่ต้องควบคุมบน flow chart สำหรับอันตรายที่ติดมากับวัตถุดิบ หรือเครื่องปรุงที่ผ่านการผลิตขั้นต้นมาแล้วและยังมิได้รับการกำจัดออกไป จุดวิกฤตที่ต้องควบคุมประเภทนี้เรียกว่า จุดวิกฤตที่ต้องควบคุมสำหรับผลิตภัณฑ์ (product CCPs) ส่วนอันตรายที่เกิดจากข้อบกพร่องของกระบวนการผลิตในขั้นตอนการผลิตเรียกว่า จุดวิกฤตที่ต้องควบคุมสำหรับกระบวนการ (process CCPs) การจำแนกเช่นนี้มีประโยชน์ในแง่ของการบริหารจัดการ เพราะอันตรายที่มากับวัตถุดิบสามารถให้ลดลงได้จากการคัดเลือกว่าวัตถุดิบ โดยผ่าน โปรแกรมการจัดซื้อที่มีการกำหนดแหล่งวัตถุดิบที่ปลอดภัย กำหนดวิธีการเพาะเลี้ยงหรือวิธีการปลูกที่มีการควบคุมความปลอดภัย กำหนดวิธีการขนส่ง และการปฏิบัติต่อวัตถุดิบอย่างถูกสุขลักษณะ (Good agricultural practices; GAP) ก็จะสามารถควบคุม CCPs นี้ได้โดยไม่ต้องผ่าน โปรแกรม HACCP ที่ต้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดำเนินการถึง 7 ขั้นตอนในการจัดการความเสี่ยง และการจำแนกจุดวิกฤตที่ต้องควบคุมออกเป็น 2 ประเภทดังข้างต้นยังช่วยป้องกันความสับสนของพนักงานและเพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจติดตาม (monitoring) จุดวิกฤตที่ต้องควบคุม นอกจากนี้ยังแนะนำให้จำแนกกิจกรรมออกเป็น 2 ประเภท เช่นเดียวกันคือ กิจกรรมโปรแกรมพื้นฐาน ซึ่งหมายถึงงานประจำวันที่โรงงานมีภารกิจและความรับผิดชอบที่จะต้องกระทำอยู่แล้ว เพื่อให้ผลิตสินค้าออกมาได้คุณภาพและสอดคล้องกับมาตรฐานของโรงงานกับอีกประเภทหนึ่งซึ่งเป็นกิจกรรมใหม่ที่เพิ่มเติมเข้ามาคือ กิจกรรมผลิตอาหารที่มีความปลอดภัย โดยใช้โปรแกรม HACCP เป็นเครื่องมือกำจัดหรือลดความเสี่ยงจากอันตราย ณ จุดวิกฤตที่ต้องควบคุมในการบริหารจัดการถือหลักว่าจุดวิกฤตที่ต้องควบคุมใดที่สามารถใช้โปรแกรมพื้นฐานในการควบคุมคุณภาพจัดการได้ ก็ไม่จำเป็นต้องใช้โปรแกรม HACCP มาจัดการ ส่วนจุดวิกฤตที่ต้องควบคุมใดที่ไม่สามารถใช้โปรแกรมพื้นฐานจัดการลดความเสี่ยงได้จึงใช้โปรแกรม HACCP จัดการ (สุเมธชา วัฒนสินธุ์, 2545)



* ดำเนินการต่อไปสำหรับอันตรายที่ระบุถัดไปในกระบวนการที่แสดงไว้

** ระดับที่ยอมรับได้และระดับที่ยอมรับไม่ได้ จำเป็นต้องพิจารณากำหนดภายใต้วัตถุประสงค์โดยรวมในการหา CCP ของแผน HACCP

ภาพที่ 2.2 การกำหนดจุดวิกฤตที่ต้องควบคุมโดยใช้ผังการตัดสินใจ (มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2551)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7 เกลือของกรดอินทรีย์และเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่ใช้เป็นวัตถุกันเสียในอุตสาหกรรมอาหาร

อุตสาหกรรมการผลิตเนื้อสัตว์จะใช้สารกันเสียพร้อมกับหลักการปฏิบัติงานที่ดี (GMP) และการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ให้เหมาะสมกับผลิตภัณฑ์นั้น ๆ เพื่อยืดอายุการเก็บรักษา (Drostinos *et al.* 2006) ในปัจจุบันผู้บริโภคที่มีความห่วงใยสุขภาพมีมากขึ้นจึงไม่ยอมรับการใช้สารกันเสียสังเคราะห์ทางเคมี แต่ให้ความสนใจผลิตภัณฑ์ที่มีการใช้สารที่ผลิตจากธรรมชาติ (Sallam, 2007) ซึ่งเป็นสารที่มีความปลอดภัย (GRAS) และให้ใช้เป็นวัตถุเจือปนอาหารได้ โดย Center for Food Safety and Applied Nutrition Office of Food Additive Safety (2002) และ FSIS (2000) โดยการเติมสารกันเสียในผลิตภัณฑ์ต้องคำนึงถึงการยอมรับของผู้บริโภคด้วย สำหรับเกลือจะเป็นส่วนประกอบสำคัญโดยทั่วไปของการแปรรูปอาหาร ในผลิตภัณฑ์เนื้อเกลือมีบทบาทสำคัญทางด้านลักษณะทางกายภาพของเนื้อ และยังมีส่วนช่วยในการยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้ยังมีการใช้เกลือของกรดอินทรีย์ในการยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ สัตว์ปีก และเนื้อปลาแช่เย็น โดยสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสียและก่อโรคในอาหารได้ (Sallam, 2007) โดยวัตถุกันเสียที่นิยมนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์พร้อมบริโภค มีดังนี้

2.7.1 เกลือ (salt) เกลือที่ใช้ปรุงอาหารมีชื่อทางเคมีว่า โซเดียมคลอไรด์ (sodium chloride) มีสูตรโครงสร้างคือ NaCl ในเกลือที่ไม่มีความชื้นอยู่เลยจะมีปริมาณโซเดียมคลอไรด์ 95.5-98.5% และมีสารอื่น เจือปนในปริมาณน้อย เช่น แมกนีเซียม (Mg) แคลเซียม (Ca) และซัลเฟต (SO₄) เกลือโซเดียมคลอไรด์มีบทบาทอย่างมากในอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากราคาถูก และใช้ได้หลากหลายทั้งในการปรุงอาหาร และถนอมอาหาร (กระทรวงสาธารณสุข, 2554) ซึ่งแต่เดิมมนุษย์ใช้เกลือเพื่อเป็นตัวป้องกันการเน่าเสียเนื่องจากจุลินทรีย์ของเนื้อสัตว์เมื่อหมักในสภาพห้องธรรมดา ดังนั้นการใช้เกลือในการหมักเนื้อจึงใช้ที่ความเข้มข้นสูง โดยปกติต้องใช้เกลือในผลิตภัณฑ์อย่างน้อย 6% ทำให้เนื้อมีรสชาติเค็มจัด และลักษณะของผลิตภัณฑ์แห้ง มีผิวหน้าเหี่ยวยุบ มองดูไม่น่ารับประทาน แต่ในปัจจุบันความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีต่าง ๆ เข้ามามีบทบาทต่อการถนอมรักษาเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ ทำให้สามารถเก็บรักษาไว้ได้ที่อุณหภูมิต่ำ ดังนั้นปริมาณการใช้เกลือจึงลดลงเพื่อให้รสชาติดีขึ้น ปริมาณเกลือที่เป็นที่ยอมรับกันในกลุ่มผู้บริโภค สำหรับแฮมควรมีเกลืออยู่ประมาณ 3% และเบคอนควรมีเกลืออยู่ประมาณ 2% เป็นต้น

2.7.1.1 บทบาทของเกลือที่มีผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ คือ

1) เกลือมีผลต่อการลดน้ำในผลิตภัณฑ์และทำให้แรงดันออสโมติก (osmotic pressure) ของผลิตภัณฑ์เปลี่ยนไป ค่า a_w ลดลง จึงมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และป้องกันการเน่าเสีย

2) เกลือทำให้ผลิตภัณฑ์มีรสเค็มจัด รสไม่นุ่มนวล และสีของเนื้อแดง (lean meat) มีสีดำ ผิวหน้าของผลิตภัณฑ์เหี่ยวแห้ง ไม่เป็นที่พึงปรารถนาต่อผู้บริโภค (อุมภาพร ศิริพันธ์. 2546)

3) ข้อกำหนดการใช้เกลือ

ปริมาณโซเดียมที่ควรได้รับในแต่ละวันไม่ควรเกิน 2,400 มิลลิกรัม ซึ่งเทียบเท่ากับเกลือแกง (โซเดียมคลอไรด์) 6 กรัม หรือเทียบเท่ากับเกลือแกงแบบร่วนละเอียด ประมาณ 1 ช้อนชา (สำนักงานอาหารและยา. 2557)

Ratanatriwong *et al.* (2009) พบว่า ผลของการใช้กรดอินทรีย์ร่วมกับสารละลายเกลือจะช่วยยืดอายุการเก็บรักษา ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* O157:H7 ได้ในผลิตภัณฑ์หมูขยและยังเป็นที่ยอมรับได้ของผู้บริโภค และ Liu *et al.* (2013) กล่าวว่า ปริมาณเกลือที่เหมาะสมมีผลต่อรสชาติ ปกติระดับเกลือที่เหมาะสมที่สุดอยู่ที่ประมาณ 6 % ของเนื้อที่ผ่านการทำแห้งแล้ว อย่างไรก็ตามการใช้เกลือก็มีข้อเสียคือ ถ้าใช้ในระดับสูงอาจมีความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจ

2.7.2 โซเดียมไดอะซิเตต (sodium diacetate) อนุญาตให้ใช้เป็นวัตถุกันเสียซึ่งมีสมบัติในการเป็นสารต้านจุลินทรีย์ ให้รสชาติและช่วยควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยโซเดียมไดอะซิเตต (ค่าคงที่การแตกตัวของกรด, pKa 4.74) จะมีประสิทธิภาพสูงเนื่องจากมีกรดอะซิติกอิสระอยู่ในโครงสร้าง สามารถใช้แบบเดี่ยวหรือร่วมกับวัตถุเจือปนชนิดอื่นได้ โดยกรดอะซิติกมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญจุลินทรีย์ ยีสต์ รา ซึ่งจะใช้ในปริมาณมากขึ้นตามลำดับ (Nanasombat and Chooprang. 2009) เมื่อมีค่าความเป็นกรด-ด่างสูง และ Carol *et al.* (1995) ได้ทำการศึกษาผลของโซเดียมไดอะซิเตตต่อการยับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes* และจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI broth และเนื้อวัวบด โดยโซเดียมไดอะซิเตตที่ผสมอยู่ใน broth สามารถช่วยยับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes* Scott A ได้มีประสิทธิภาพมากกว่าการใช้กรดอะซิติกซึ่งค่าความเป็นกรด-ด่างที่ให้อยู่ในช่วง 5-6 และโซเดียมไดอะซิเตตยังจัดอยู่ใน GRAS (Generally Recognized as Safe) ซึ่งนิยมใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์พร้อมบริโภคและผลิตภัณฑ์สัตว์ปีก (FDA. 2003) ปริมาณสูงสุดที่อนุญาตให้ใช้ในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์อยู่ที่ระดับไม่เกิน 0.25% (FSIS. 2000) หรือใช้ในปริมาณที่เหมาะสมตามหลัก GMP

2.7.3 ไตรโซเดียมซิเตรทหรือเกลือซิเตรท (trisodium citrate) ในอุตสาหกรรมแปรรูปอาหารมักจะนำไปใช้เป็นบัฟเฟอร์ในการจับโลหะ เป็นอิมัลซิไฟเออร์ สตบิลไลเซอร์ และสารทำให้ข้น ใช้เพื่อช่วยป้องกันรักษาคุณสมบัติทางฟิสิกส์ของผลิตภัณฑ์อาหาร ได้แก่ ความหนืด ลักษณะเนื้อสัมผัสและลักษณะปรากฏให้มีคุณภาพคงที่ เช่น ช่วยให้อิมัลชันในน้ำสลัดคงตัว เป็นต้น

(สิวภาพร ศิวเวช. 2546) และยังช่วยควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างและอุณหภูมิของผลิตภัณฑ์ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื้อสัตว์เพื่อช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียของเนื้อสัตว์ (Blaszyk and Holley, 1998) นอกจากนี้ Miller *et al.* (1993) กล่าวว่า โซเดียมซิเตรทสามารถยับยั้งเชื้อ *Cl. botulinum* ได้ดีกว่าโซเดียมแลคเตท โดยการใช้โซเดียมซิเตรทจะจับไอออนของโลหะภายในเนื้อที่จุลินทรีย์ใช้ในการเจริญ ทำให้จุลินทรีย์มีอาหารไม่เพียงพอต่อการเจริญและตายในที่สุด ปริมาณสูงสุดที่อนุญาตให้ใช้ในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ตามหลัก GMP ระบุให้ใช้ปริมาณน้อยที่สุดเท่าที่สารสามารถออกฤทธิ์ได้ (Codex alimentarius commission, 2015)

2.7.4 โพแทสเซียมซิเตรท (potassium citrate) ในอุตสาหกรรมแปรรูปอาหารมักจะนำไปใช้เป็นบัฟเฟอร์ในการจับโลหะ สเดบิลไลเซอร์ อิมัลซิไฟเออร์ และสารทำให้ข้น ใช้เพื่อช่วยป้องกันรักษาคุณสมบัติทางฟิสิกส์ของผลิตภัณฑ์อาหาร ได้แก่ ความหนืด ลักษณะเนื้อสัมผัสและลักษณะปรากฏให้มีคุณภาพคงที่ เช่น ช่วยให้อิมัลชันในน้ำสลัดคงตัว เป็นต้น (สิวาพร สิวเวช, 2546) ปริมาณสูงสุดที่อนุญาตให้ใช้ในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ตามหลัก GMP ระบุให้ใช้ปริมาณน้อยที่สุดเท่าที่สารสามารถออกฤทธิ์ได้ (Codex alimentarius commission, 2015)

2.7.5 กรดแลคติกและเกลือแลคเตท (lactic acid and sodium lactate) วัตถุประสงค์ของการใช้กรดแลคติก (pKa 3.66) ในอาหารนั้น ส่วนใหญ่จะใช้เป็นวัตถุเจือปนอาหารเพื่อช่วยควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหาร หรือเพื่อช่วยเพิ่มกลิ่นรสให้อาหารมากกว่า แต่จากการศึกษาพบว่า กรดแลคติกเป็นวัตถุเจือปนอาหารที่ให้คุณสมบัติในการเป็นวัตถุกันเสียที่สำคัญมากชนิดหนึ่ง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผลิตภัณฑ์อาหารหมักดองต่าง ๆ โดยกรดแลคติกที่สร้างขึ้นโดย LAB ที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์อาหารหมัก นอกจากจะช่วยให้ผลิตภัณฑ์อาหารมีค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงและให้กลิ่นรสเฉพาะแก่ผลิตภัณฑ์แล้วยังช่วยยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ด้วย ตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารหมักต่าง ๆ เช่น แหนม ผักดองและผลไม้ดอง และผลิตภัณฑ์นมหมัก เช่น โยเกิร์ต นมเปรี้ยว และเนยแข็ง นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ซึ่งมีการนิยมใช้กันมากในรูปเกลือแลคเตทด้วย เช่น แคลเซียมแลคเตท โซเดียมแลคเตท โพแทสเซียมแลคเตท เป็นต้น ตัวอย่างของอาหารที่มีการใช้ได้แก่ เครื่องดื่ม ชนิดต่าง ๆ น้ำผลไม้ต่างๆ เนื้อปลาสด เนื้อวัวสด เนื้อไก่สด และผลิตภัณฑ์จากเนื้อหมู และปลา เป็นต้น

กรดแลคติกและเกลือแลคเตทนั้นได้รับการรับรองจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกา (Food and Drug Administration) ว่าปลอดภัยที่จะใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารได้ และค่าที่ยอมรับได้ในการรับประทาน (Acceptable Daily Intake, ADI) ที่กำหนดโดย Joint FAO/WHO Expert Committees on Food Additives (1996) เป็น not limited สำหรับปริมาณสูงสุดของกรดแลคติกและเกลือแลคเตทที่อนุญาตให้ใช้ได้ ในอาหารตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 84 นั้นคือใช้ในปริมาณที่เหมาะสมกับอาหารแต่ละชนิด แต่สำหรับโพแทสเซียมแลคเตทและโซเดียมแลคเตทที่ใช้ยับยั้งหรือชะลอการทำงานของจุลินทรีย์นั้นอนุญาตให้ใช้ในเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลิตภัณฑ์ได้ไม่เกิน 4.8% (0.48 mg/kg ของอาหาร) (USDA-FSIS, 2000) (กัญญารัตน์ จูปรางค์, 2550) นอกจากนี้โพแทสเซียมแลคเตทยังมีหน้าที่ในการต้านจุลินทรีย์โดยการเพิ่มระยะเวลาของ lag phase ของจุลินทรีย์ก่อโรค ช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์อาหาร (Stekelenburg *et al.* 2001) โดยกลไกเฉพาะตัวของแลคเตทคือ สามารถช่วยลดค่า a_w ของผลิตภัณฑ์ (FDA, 2003) และทำให้ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์เกิดสภาวะเป็นกรด (Hunter *et al.* 1973)

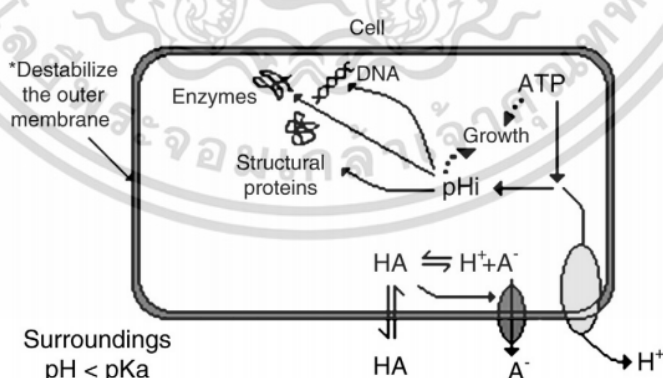
2.8 กลไกการยับยั้งจุลินทรีย์ของกรดอินทรีย์และเกลือของกรดอินทรีย์

2.8.1 กรดอาจจะทำให้ความเป็นกรด-ด่างภายนอกเซลล์จุลินทรีย์ลดลง ทำให้ความเป็นกรด-ด่างไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์

2.8.2 ทำให้โครงสร้างผนังเซลล์ของจุลินทรีย์เกิดการเปลี่ยนแปลงและเกิดการแทรกซึมของสารผ่านผนังเซลล์จึงเกิดการขัดข้องของการลำเลียงสารเข้าออกเซลล์ เซลล์จึงถูกยับยั้งการเจริญ

2.8.3 การทำให้ความเป็นกรด-ด่างในเซลล์จุลินทรีย์ลดลง โดยโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์มีลักษณะเป็นส่วนประกอบที่สร้างจากสารประกอบไขมัน ดังนั้น สารประกอบที่อยู่ในรูปที่เป็นประจุจะไม่สามารถผ่านเข้าออกเซลล์ได้อย่างอิสระ ดังนั้นกรดอ่อนที่อยู่ในรูปไม่แตกตัวนี้จึงมีคุณสมบัติที่ไม่มีประจุจึงสามารถผ่านเข้า-ออกเซลล์ได้ดีกว่ากรดอ่อนในรูปที่แตกตัว จึงสามารถผ่านเข้าสู่ไซโทพลาสซึมของเซลล์ และแตกตัวภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ทำให้ความเป็นกรด-ด่างในเซลล์ลดลง และเซลล์จะขับกรดที่อยู่ในรูปแตกตัวแล้วออก ซึ่งกิจกรรมเหล่านี้จะต้องใช้พลังงาน หากกรดมีปริมาณมาก พลังงานที่จะใช้กำจัดกรดออกจากเซลล์จะมากขึ้นตาม ทำให้เซลล์ขาดแคลนพลังงานในการเจริญ โดยการแตกตัวของกรดอ่อนขึ้นอยู่กับค่า pK_a ดังแสดงในภาพที่

2.3



ภาพที่ 2.3 กลไกการทำงานของกรดอินทรีย์ต่อเซลล์จุลินทรีย์

ที่มา : Mani-López *et al.* (2012)

2.8.4 เกิดการแย่งจับสารอาหารภายในเซลล์และผนังเซลล์จุลินทรีย์ ด้วยไอออนของโลหะหนักที่เป็นองค์ประกอบภายในกรด ทำให้สามารถจำกัดการเจริญของจุลินทรีย์ โดยประสิทธิภาพขึ้นอยู่กับสารจุลินทรีย์ที่ต้องการ ปริมาณความเข้มข้นของไอออนโลหะ และประสิทธิภาพของโลหะแต่ละชนิด โดย Fe^{3+} มีประสิทธิภาพในการแย่งจับสารมากที่สุด (สิวาพร ศิวเวช, 2546)

2.9 ประสิทธิภาพของเกลือของกรดอินทรีย์ต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค

ในปัจจุบันได้มีการใช้วัตถุกันเสียจากธรรมชาติ (preservative) ในอาหาร โดยเฉพาะอย่างยิ่งเกลือของกรดอินทรีย์ เช่น โปแทสเซียมซอร์เบต โซเดียมเบนโซเอต และโซเดียมไดอะซิเตต เป็นต้น (กัญญรัตน์ จูปรางค์, 2550) ซึ่งมีประสิทธิภาพในการต้านจุลินทรีย์ในอาหารสามารถช่วยเพิ่มอายุการเก็บรักษาและลดจุลินทรีย์ก่อโรคในผลิตภัณฑ์นมและอาหารพร้อมรับประทาน ซึ่งสามารถนำมาใช้ได้ในการค้า ราคาไม่แพง และยังสามารถนำมาใช้เป็นวัตถุเจือปนอาหารกันอย่างแพร่หลาย จากการศึกษาพบว่า การใช้เกลือของกรดอินทรีย์ทำให้มีความต้องการผลิตภัณฑ์จากกลุ่มผู้บริโภคอาหารสดมากขึ้นและช่วยถนอมอาหารอีกด้วย เช่น งานวิจัยที่ใช้เกลือของกรดอินทรีย์ในการยืดอายุการเก็บรักษาหรือยับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes* หรือเชื้อ *Salmonella* ในไก่สด เนื้อวัว และเนื้อกระป๋อง การใช้เกลือของกรดอินทรีย์จะช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค โดยประสิทธิภาพจะขึ้นอยู่กับปริมาณเชื้อเริ่มต้น ชนิด ปริมาณ และช่วงอายุของจุลินทรีย์ เนื่องจากจุลินทรีย์ชนิดต่างกันจะตอบสนองต่อสารแต่ละชนิดแตกต่างกัน (Norhana *et al.* 2012)

จากการศึกษาของ Milillo and Ricke (2010) ได้ทำการศึกษาค้นคว้าผลของการเสริมฤทธิ์กันด้วยการใช้ความร้อนและเกลือของกรดอินทรีย์ต่อการลดปริมาณของเชื้อ *Salmonella* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีส่วนผสมของสารละลายเนื้อไก่ โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลองดังนี้ 1) ศึกษาการเจริญของเชื้อ *Salmonella* บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีส่วนผสมของสารละลายเนื้อไก่เปรียบเทียบกับการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว BHI ซึ่งจุลินทรีย์ทดสอบที่ใช้ในการศึกษานี้มีเชื้อ *S. Typhimurium* ทั้งหมดสองซีโรวารคือ LT2 และ ATCC nr 14028 คัดแยกจากห้องปฏิบัติการและจากเนื้อไก่โดยตรง ตามลำดับ จากนั้นนำจุลินทรีย์ทดสอบเลี้ยงบนอาหารทั้งสองชนิดข้างต้น บ่มที่อุณหภูมิ 37 และ 42 องศาเซลเซียสพบว่า ทั้งสองอุณหภูมิการเจริญของเชื้อ *S. Typhimurium* LT2 และ ATCC nr 14028 บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีส่วนผสมของสารละลายเนื้อไก่ ใช้ระยะเวลาในการเข้าสู่ระยะ stationary มากกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว BHI 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการศึกษาค้นคว้าการทดลองส่วนที่ 2) ศึกษาผลของการเสริมฤทธิ์กันด้วยการใช้ความร้อนและเกลือของกรดอินทรีย์ต่อการลดปริมาณของเชื้อ *Salmonella* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีส่วนผสมของสารละลายเนื้อไก่ โดยทำการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (Minimum inhibitory concentration; MIC) ของสารละลายเกลือของกรดอินทรีย์ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. Typhimurium* LT2 และ ATCC nr 14028 ซึ่งระดับความเข้มข้นของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์หรือเป็นการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตเห็นไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โซเดียมโพรฟิไอเนท และโซเดียมบิวทิเรท) คือ 10% พบว่า ค่า MIC ของสารละลายโซเดียมอะซิเตท โซเดียมซิเตรท โซเดียมแลคเตท โซเดียมโพรฟิไอเนท และโซเดียมบิวทิเรทต่อเชื้อ *Salmonella* มีค่าเท่ากับ 0.63, 2.5, 1.25, 0.31 และ 0.31% (ตารางที่ 2.5) ซึ่งจะเห็นได้ว่า เชื้อ *Salmonella* มีความไวต่อโซเดียมซิเตรทน้อยที่สุด และจากนั้นทำการศึกษาผลของการใช้ความร้อนร่วมกับการใช้เกลือของกรดอินทรีย์ โดยการศึกษาส่วนนี้จะใช้สารละลายเกลือของกรดอินทรีย์ที่ระดับความเข้มข้น 2.5% และใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เทียบกับกลุ่มควบคุม (น้ำกลั่น) พบว่าการใช้สารละลายเกลือของกรดอินทรีย์มีผลต่อการลดปริมาณเชื้อ *S. Typhimurium* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้โซเดียมอะซิเตทสามารถลดปริมาณเชื้อ *S. Typhimurium* ได้ถึง 1.1 log เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

จากงานวิจัยนี้กรดอินทรีย์หรือเกลือของกรดอินทรีย์จะช่วยลดปริมาณของเชื้อ *S. Typhimurium* เนื่องจากความสามารถในการแพร่กระจายเข้าไปในเซลล์จุลินทรีย์ของกรดอินทรีย์หรือเกลือของกรดอินทรีย์ นอกจากฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์ของเกลือของกรดอินทรีย์แล้วนั้น ค่าความเป็นกรด-ด่างและการใช้ความร้อนร่วมกันจะช่วยเสริมฤทธิ์ของเกลือของกรดอินทรีย์มากยิ่งขึ้น โดย Blackburn *et al.* (1997) พบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมในการเจริญของเชื้อ *Salmonella* ควรอยู่ในช่วงค่าความเป็นกรด-ด่างมากกว่า 5

ตารางที่ 2.5 ความเข้มข้นต่ำสุด (%) ของเกลือของกรดอินทรีย์แต่ละชนิดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. Typhimurium* LT2 และ ATCC nr 14028 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่แตกต่างกัน 2 ชนิด

เกลือของกรดอินทรีย์	อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว BHI				อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีส่วนผสมของสารละลายเนื้อไก่			
	LT2		ATCC nr 14028		LT2		ATCC nr 14028	
	37°C	42°C	37°C	42°C	37°C	42°C	37°C	42°C
โซเดียมอะซิเตท	0.63	1.25	0.63	0.63	0.63	0.63	0.63	0.63
โซเดียมซิเตรท	2.50	2.50	2.50	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25
โซเดียมแลคเตท	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25
โซเดียมโพรฟิไอเนท	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31
โซเดียมบิวทิเรท	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31

ที่มา : ดัดแปลงจาก Milillo and Ricke (2010)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Norhana *et al.* (2012) ที่ได้ทำการศึกษาผลของ nisin EDTA และเกลือของกรดอินทรีย์ต่อการปนเปื้อนของเชื้อ *L. monocytogenes* และ *Salmonella* บนเนื้อกุ้งสดทำการบรรจุภัณฑ์แบบสุญญากาศและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยจะทำการแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 11 กลุ่ม จะมี 1 กลุ่ม เป็นกลุ่มควบคุม และ 10 กลุ่ม จุ่มด้วยสารละลายที่เตรียมไว้ได้แก่ HCl (0.02N), nisin (500 IU/ml), EDTA (0.02 M), โปแทสเซียมซอร์เบต 3%, โซเดียมซอร์เบต 3%, โซเดียมไดอะซิเตต 3%, nisin-EDTA 500 IU/ml-0.02 M, nisin-EDTA-โปแทสเซียมซอร์เบต (500 IU/ml-0.02 M-3%), nisin-EDTA-โซเดียมซอร์เบต (500 IU/ml-0.02 M-3%), nisin-EDTA-โซเดียมไดอะซิเตต (500 IU/ml-0.02 M-3%) พบว่า ผลการเติมเชื้อ *Salmonella* ในเนื้อกุ้ง ภายหลังสัมผัสสารละลาย มีเชื้อ *Salmonella* ที่เหลืออยู่บนเนื้อกุ้งประมาณ 4.65 log cfu/g และทุกกลุ่มสารละลายไม่มีผลต่อการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* บนเนื้อกุ้งที่ทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 7 วัน ดังแสดงในตารางที่ 2.6

ค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นในเนื้อกุ้งของกลุ่มควบคุมที่ทำการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 7 วันอยู่ในช่วง 6.80-6.91 ในวันที่ 0 ค่าความเป็นกรด-ด่างของเนื้อกุ้งภายหลังสัมผัสสารละลาย HCl, nisin, โปแทสเซียมซอร์เบต, โซเดียมซอร์เบต, โซเดียมไดอะซิเตต, nisin-EDTA, nisin-EDTA-โปแทสเซียมซอร์เบต, nisin-EDTA-โซเดียมซอร์เบต และ nisin-EDTA-โซเดียมไดอะซิเตต เป็นดังนี้ 0.33, 0.36, 0.61, 0.37, 0.95, 0.33, 0.65, 0.44 และ 0.94 ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) และเมื่อเก็บรักษานาน 7 วันพบว่า ทุกกลุ่มสารละลายมีค่าความเป็นกรด-ด่างสูงขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P > 0.05$) ยกเว้น กลุ่มที่จุ่มสารละลาย nisin-EDTA-โปแทสเซียมซอร์เบต และ nisin-EDTA-โซเดียมไดอะซิเตต ดังแสดงในตารางที่ 2.7 ค่าความเป็นกรด-ด่างของเกลือของกรดอินทรีย์หรือเกลือแกงเพียงอย่างเดียวจะไม่มีผลในการต้านจุลินทรีย์ ซึ่งกลไกการต้านจุลินทรีย์จะมาจากผลการเสริมฤทธิ์กันของสารต้านจุลินทรีย์ที่เติมลงในผลิตภัณฑ์ โดยเฉพาะการต้านจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเน่าเสีย ซึ่งกลไกการต้านจุลินทรีย์ของเกลือของกรดอินทรีย์นี้ เนื่องจากผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ถูกทำลายโดยแรงดันออสโมติก และเกลือจะส่งผลให้ nisin เข้าสู่เยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ (Norhana *et al.* 2012)

ตารางที่ 2.6 ผลของสารต้านจุลินทรีย์ต่อปริมาณเชื้อ *Salmonella* (log cfu/g) ในเนื้อกุ้งที่ทำการบรรจุภัณฑ์แบบสุญญากาศและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

สารต้านจุลินทรีย์ ^a	ปริมาณเชื้อ <i>Salmonella</i> (log cfu/g) ^b บนเนื้อกุ้งที่ระยะเวลาการเก็บรักษาต่าง ๆ		
	0 วัน	3 วัน	7 วัน
กลุ่มควบคุม	4.65 ± 0.32 Aab ^c	4.64 ± 0.30 Aa	5.41 ± 0.49 Ab
HCl (0.02 N)	4.34 ± 0.28 Aa (0.31) ^d	4.45 ± 0.29 Aa (0.13)	5.17 ± 0.38 Ab (0.24)
nisin (500 IU/ml)	4.22 ± 0.29 Aa (0.43)	4.39 ± 0.33 Aa (0.19)	5.20 ± 0.57 Ab (0.21)
EDTA (0.02 M)	4.45 ± 0.22 Aa (0.20)	4.54 ± 0.44 Aa (0.10)	5.30 ± 0.57 Ab (0.11)
PS 3%	4.20 ± 0.03 Aa (0.45)	4.12 ± 0.12 Aa (0.52)	5.04 ± 0.24 Ab (0.37)
SB 3%	4.10 ± 0.50 Aa (0.55)	4.17 ± 0.29 Aa (0.47)	5.03 ± 0.41 Ab (0.38)
SD 3%	4.01 ± 0.09 Aa (0.64)	4.17 ± 0.27 Aa (0.47)	4.96 ± 0.63 Ab (0.45)
nisin-EDTA 500 IU/ml-0.02 M)	4.15 ± 0.32 Aa (0.50)	4.37 ± 0.29 Aa (0.27)	5.13 ± 0.74 Ab (0.28)
nisin-EDTA-PS (500 IU/ml-0.02 M-3%)	3.91 ± 0.19 Aa (0.74)	4.03 ± 0.20 Aa (0.61)	5.02 ± 0.74 Ab (0.39)
nisin-EDTA-SB (500 IU/ml-0.02 M-3%)	4.07 ± 0.44 Aa (0.58)	4.12 ± 0.27 Aa (0.52)	5.07 ± 0.66 Ab (0.34)
nisin-EDTA-SD (500 IU/ml-0.02 M-3%)	3.84 ± 0.22 Aa (0.81)	4.00 ± 0.28 Aa (0.64)	4.88 ± 0.61 Ab (0.53)

^a HCl (ไฮโดรคลอริก) PS (โพแทสเซียมซอร์เบต) SB (โซเดียมบิวทิเรต) และ SD (โซเดียมไดอะซิเตต)

^b ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองปริมาณ 3 ซ้ำ

^c ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่แตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกันแสดง ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และตัวอักษรพิมพ์เล็กแตกต่างกันแสดง ภายในแถวเดียวกัน ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

^d ปริมาณเชื้อ *Salmonella* ในเนื้อกุ้งที่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่จุ่มสารต้านจุลินทรีย์ (log cfu/g)

ที่มา : คัดแปลงจาก Norhana *et al.* (2012)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.7 ผลของสารต้านจุลินทรีย์ต่อค่าความเป็นกรด-ด่างของเนื้อกึ่งสดทำการบรรจุภัณฑ์แบบสุญญากาศและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

สารต้านจุลินทรีย์ ^a	ค่าความเป็นกรด-ด่างของเนื้อกึ่งสดบรรจุภัณฑ์แบบสุญญากาศที่ระยะเวลาการเก็บรักษาต่าง ๆ ^b		
	0 วัน	3 วัน	7 วัน
กลุ่มควบคุม	6.85 ± 0.06 Aa ^c	6.92 ± 0.08 Aa	7.06 ± 0.10 Ab
HCl (0.02 N)	6.52 ± 0.13 Ba	6.61 ± 0.20 Aa	6.85 ± 0.20 Aa
nisin (500 IU/ml)	6.49 ± 0.04 Ba	6.58 ± 0.18 Aa	6.91 ± 0.17 Aa
EDTA (0.02 M)	6.52 ± 0.14 Ba	6.62 ± 0.19 Aa	6.83 ± 0.13 Aa
PS 3%	6.89 ± 0.13 Aa	6.97 ± 0.08 Aa	7.03 ± 0.24 Aa
SB 3%	6.24 ± 0.20 Ca	6.52 ± 0.15 Ba	6.49 ± 0.20 Ba
SD 3%	6.48 ± 0.16 Ba	6.58 ± 0.07 Ba	6.57 ± 0.17 Ba
nisin-EDTA 500 IU/ml-0.02 M)	5.90 ± 0.22 Da	6.10 ± 0.12 Ca	6.11 ± 0.16 Ca
nisin-EDTA-PS (500 IU/ml-0.02M-3%)	6.20 ± 0.16 Ca	6.39 ± 0.15 Bb	6.74 ± 0.15 Ab
nisin-EDTA-SB (500 IU/ml-0.02 M-3%)	6.41 ± 0.05 Ca	6.55 ± 0.16 Aa	6.59 ± 0.18 Ba
nisin-EDTA-SD (500 IU ml-0.02 M-3%)	5.91 ± 0.07 Da	6.09 ± 0.10 Ca	6.07 ± 0.10 Ca

^a HCl (ไฮโดรคลอริก) PS (โพแทสเซียมซอร์เบท) SB (โซเดียมบิวทิเรท) และ SD (โซเดียมไดอะซิเตท)

^b ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองปริมาณ 3 ซ้ำ

^c ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่แตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกันแสดง ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และตัวอักษรพิมพ์เล็กแตกต่างกันภายในแถวเดียวกันแสดง ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ที่มา : คัดแปลงจาก Norhana *et al.* (2012)

อีกทั้งยังมีการศึกษาผลของสารต้านจุลินทรีย์ในอาหารประเภทเนื้อสัตว์อื่นๆ เช่น การทดลองของ Jung *et al.* (2009) ได้ทำการศึกษาผลของการใช้สารต้านจุลินทรีย์ ϵ -polylysine ความเข้มข้น 2% และสารร่วมระหว่างโพแทสเซียมแลคเตทและโซเดียมไดอะซิเตทความเข้มข้นรวม 4.5% ต่อการยับยั้งการเจริญเชื้อ *S. Typhimurium* (ATCC13311) ที่ถูกทำให้อยู่ในสภาวะเครียดด้วยกรดแลคติก 0.5% ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Brain heart infusion (BHI) และแพดตี้ไก่ พบว่า การเติมโพแทสเซียมแลคเตทหรือโซเดียมไดอะซิเตทที่ความเข้มข้นรวม 4.5% บ่มที่อุณหภูมิ 10, 24 และ 35 องศาเซลเซียส ในอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI สามารถควบคุมการเจริญของเชื้อ *S. Typhimurium* ที่ถูกทำให้อยู่ในสภาวะเครียดด้วยกรดได้นานกว่า 50 ชั่วโมง โดยการเพิ่มระยะเวลาของ lag phase ลดอัตราการเจริญ และส่งผลให้ช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำได้ดีขึ้น ซึ่งในการศึกษานี้สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Shelef and Addala (1994) พบว่า การใช้โพแทสเซียมแลคเตทร่วมกับโซเดียมไดอะซิเตทที่ความเข้มข้นรวม 3% สามารถยับยั้งการเจริญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของเชื้อ *S. Typhimurium* ที่ถูกทำให้อยู่ในสภาวะเครียดด้วยกรดแลคติกในอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI ที่อุณหภูมิการบ่ม 10 และ 24 องศาเซลเซียสได้

Bradley *et al.* (2011) ทำการศึกษาผลของโซเดียมแลคเตทและกรดอะซิติกต่อคุณภาพและลักษณะทางประสาทสัมผัสของแพคตี้ไอส์กรอกหมู โดยใช้หมูปด 9 กิโลกรัมต่อแบทช์ แบ่งออกเป็น 5 กลุ่มการทดลอง ดังนี้ (1) โซเดียมแลคเตทความเข้มข้น 2.5% ค่าความเป็นกรด-ด่าง 6.5-8.0 (2) น้ำส้มสายชูความเข้มข้น 2.5% ค่าความเป็นกรด-ด่าง 6.5-8.0 (3) โซเดียมแลคเตทร่วมกับน้ำส้มสายชูความเข้มข้นรวม 2.5% (4) กลุ่มควบคุมโดยใช้ BHA/BHT ความเข้มข้น 0.02% และ (5) กลุ่มควบคุมที่ไม่มีการเติมสารกันหืนหรือสารต้านจุลินทรีย์ (negative control) พบว่า การใช้โซเดียมแลคเตทร่วมกับน้ำส้มสายชูความเข้มข้น 2.5% จะช่วยยืดอายุการเก็บรักษาได้นานขึ้น 4 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมทั้ง 2 กลุ่ม และยังเพิ่มการยอมรับของผู้บริโภค ลดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ในผลิตภัณฑ์ได้อีกด้วย

Stekelenburg (2003) ที่ได้ทำการศึกษาระบบยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. monocytogenes* ในไส้กรอกแฟรงค์เฟอ์เตอร์ด้วยการใช้โพแทสเซียมแลคเตทร่วมกับโซเดียมไดอะซิเตท พบว่าการเติมสารละลายร่วมของเกลือของกรดอินทรีย์ความเข้มข้น 2-3% ในไส้กรอกแฟรงค์เฟอ์เตอร์จะช่วยยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. sakei* และ *L. monocytogenes* ที่เติมลงในผลิตภัณฑ์ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยสามารถยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เติมเชื้อ *L. sakei* จาก 8 วัน เป็น 17 วัน และผลิตภัณฑ์ที่เติมเชื้อ *L. monocytogenes* ได้นานกว่า 29 วัน การเติมสารละลายโพแทสเซียมแลคเตทเพียงสารเดียวทำให้ค่า a_w ในผลิตภัณฑ์ลดลง ส่งผลให้ช่วยยับยั้ง *L. sakei* และยืดอายุการเก็บรักษาได้นานขึ้น ส่วนการเติมสารละลายไดอะซิเตท 0.1% เพียงสารชนิดเดียวจะไม่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อ *L. sakei* แต่จะช่วยชะลอการเจริญของเชื้อ *L. monocytogenes*

นอกจากเกลือของกรดอินทรีย์จะมีผลต่อการลดปริมาณของจุลินทรีย์ก่อโรคแล้วยังสามารถช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสียได้อีกด้วย เช่น งานวิจัยของ Diez *et al.* (2008) ศึกษาการประยุกต์ใช้เกลือของกรดอินทรีย์ในการปรับปรุงการเก็บรักษาของไส้กรอกเลือด โดยจะใช้เกลือของกรดอินทรีย์ที่ใช้เชิงการค้าที่แตกต่างกัน 3 ชนิด ได้แก่ โพแทสเซียมแลคเตทความเข้มข้น 3% แบบสารเดี่ยวและร่วมกับ โซเดียมแลคเตทความเข้มข้น 3% โพแทสเซียมแลคเตทร่วมกับโซเดียมไดอะซิเตทความเข้มข้น 2.5% และกลุ่มควบคุม ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 35 วัน พบว่า การใช้สารละลายโพแทสเซียมแลคเตทร่วมกับโซเดียมแลคเตทมีผลในการชะลอการเจริญของจุลินทรีย์กรดแลคติกได้ดีที่สุด ซึ่งสามารถควบคุมให้อยู่ในระดับต่ำกว่า 7 log cfu/g เมื่อเก็บรักษาไส้กรอกเลือดได้นาน 21 วัน ในขณะที่กลุ่มสารละลายอื่นมีปริมาณจุลินทรีย์กรดแลคติกใกล้เคียง 8 log cfu/g ($P < 0.05$) ส่วนการใช้สารละลายโพแทสเซียมแลคเตทร่วมกับโซเดียมไดอะซิเตทไม่มีผลต่อการชะลอการเจริญสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์กรดแลคติกและจุลินทรีย์ทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แม้ว่าสารละลายกลุ่มนี้มีผลต่อการยับยั้งการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เจริญของเชื้อ *Pseudomonas* ได้ดีที่สุด และการใช้โพแทสเซียมแลคเตทแบบสารเดี่ยวมีผลต่อการยับยั้งแบคทีเรียกรดแลคติกได้เช่นเดียวกับการใช้โพแทสเซียมแลคเตทร่วมกับโซเดียมแลคเตท แต่เมื่อใช้แบบร่วมกันจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียกรดแลคติกได้ดีกว่า นอกจากนี้ผลการยับยั้งของเกลือแลคเตทหรืออะซิเตทยังช่วยยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค เช่น เชื้อ *L. monocytogenes* และ *Salmonella* ที่ศึกษากันอย่างแพร่หลาย ซึ่ง Wang (2000) และ Lin and Lin (2002) ได้มีรายงานเพิ่มเติมว่า ผลของโซเดียมแลคเตทความเข้มข้น 3% สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์กรดแลคติกบนไส้กรอกสไตลิ่งที่ทำกรบรรจุภัณฑ์แบบสุญญากาศ และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียสได้ โดยการใช้สารละลายโซเดียมแลคเตทความเข้มข้น 3% แบบสารเดี่ยวหรือใช้ร่วมกับอะซิเตทและซอร์เบทสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกในผลิตภัณฑ์ได้ และ Drosinos *et al.* (2006) รายงานว่า การใช้สารละลายโซเดียมแลคเตทในผลิตภัณฑ์ Pariza สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้นาน 40 วัน ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 4 องศาเซลเซียส แต่การใช้สารละลายโซเดียมแลคเตทจะทำให้รสชาติของผลิตภัณฑ์มีรสเค็มจัดและไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค และจากการศึกษาของ Barmpalia *et al.* (2005) โดยใช้โซเดียมแลคเตทความเข้มข้น 1.8% ร่วมกับโซเดียมไดอะซิเตทความเข้มข้น 0.25% จะมีประสิทธิภาพมากในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกบนโบลอญ่าหมูมากกว่าการใช้โซเดียมคลอไรด์

2.10 การตอบสนองของจุลินทรีย์เพื่อการอยู่รอดในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม

โดยปกติจุลินทรีย์จะมีอยู่ในสภาวะ non-stressed cells แต่เมื่ออยู่ในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม จุลินทรีย์จะมีการปรับตัวเพื่อให้สามารถอยู่รอดได้ โดยจุลินทรีย์จะมีการเปลี่ยนแปลงทางกายวิภาค สรีระวิทยา และระบบเมตาบอลิซึมทำให้จุลินทรีย์อยู่ในสภาวะ stressed cells เพื่ออยู่รอดในสภาวะนั้นๆ ได้ ซึ่งการปรับเปลี่ยนสภาวะนี้อาจส่งผลให้จุลินทรีย์มีความสามารถทนต่อสารเคมี และสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมอื่นๆ มากขึ้น stressed cells ทำให้จุลินทรีย์ขาดเจ็บ และหากยังอยู่ในสภาวะที่ไม่เหมาะสมนั้นต่อจะทำให้จุลินทรีย์ตายในที่สุด (มุสดี ตั้งวัชรินทร์. 2553)

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ

- 1) ตู้บ่มเพาะเชื้อจุลินทรีย์ (WTB Binder model BD, BINDER GmbH, Germany)
- 2) ตู้อบเครื่องแก้ว (Mettmert, model CM 500, Mettmert GmbH, Germany)
- 3) หม้อนึ่งความดันสำหรับฆ่าเชื้อ (Hirayama, model HVE 50, Hirayama manufacturing cooperation, Japan)
- 4) ตู้เป่าเชื้อ laminar air flow (Dwyer model merk II, Corporate HQ Michigan city, USA)
- 5) อ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ (Mettmert, Mettmert GmbH, Germany)
- 6) เครื่องชั่งชนิดหยาบ (Tanita model 1144, Tanita Corporation, Japan)
- 7) เครื่องชั่งชนิดละเอียด (Sartorius, Basic, Sartorius Stedim Biotech GmbH, Germany)
- 8) เครื่องผสมสารละลาย (Vortex Mixer KMC-1300V, Vision Sciencyific co. ltd., Korea)
- 9) เครื่องตีปั่นไฟฟ้า (Stomacher Bag Mixer 400 model VW, Vision Scientific, France)
- 10) ไมโครปิเปตขนาด 100 และ 1000 ไมโครลิตร (Finnpipette F3, Thermo Scientific, USA)
- 11) ไมโครเวฟ (Toshiba model ER-G8C, Toshiba Thailand, Thailand)
- 12) Multipipette (CAPP aotoclavable, DB 7050, Denmark)
- 13) Autopipette (Capp Aid pipette controller PA-100, Capp, Capp Brand, Denmark)
- 14) เครื่องวัดค่าสี (Hunterlab Mini Scan EZ, Hunter Associates Laboratory Inc., USA)
- 15) เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (Mettler Toledo model SG-2, Mettler Toledo International Inc., Switzerland)
- 16) เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (PC 510, Eutech instruments, Singapore)
- 17) เครื่องวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (Warner-Bratzler, Instron Model 1011, Instron company, Thailand)
- 19) กระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatman, SIGMA-ALDRICH, England)
- 20) เครื่อง Gel documentation (Model gene genius, Syngene a division of synoptic ltd., UK)
- 21) เครื่อง homogenizer (Ultra tarrax, model IKA T25 digital, Germany)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

- 1) Agar (Merck, Germany)
- 2) Arginine glucose agar slant (AGS)(Scharlau Chemie S.A., Spain)
- 3) Baird-parker agar(BP agar) (Merck, Germany)
- 4) Rabbit plasma with EDTA (Merck, Germany)
- 5) Tryptophan broth(TB) (Merck, Germany)
- 6) Eosin methylene blue agar (EMB agar) (Merck, Germany)
- 7) rappaport-vassiliadis broth (RV broth) (Merck, Germany)
- 8) Muller kauffman tetrathionate novobiosin broth (MkTTn broth) (Merck, Germany)
- 9) Hekoten-entero-agar (HE agar) (Merck, Germany)
- 10) Lysine iron agar (LIA) (Merck, Germany)
- 11) Triple sugar iron agar (TSI) (Merck, Germany)
- 12) Buffered peptone water (BPW) (Merck, Germany)
- 13) Alkaline peptone water (APW) (Merck, Germany)
- 14) Thiosulfate citrate bile salt sucrose agar (TCBS agar) (Merck, Germany)
- 15) Modified cellobiose-polymyxin B-colistin agar (mCPC agar) (Merck, Germany)
- 16) MR-VP broth (Merck, Germany)
- 17) Plate count agar (PCA) (Merck, Germany)
- 18) Simmons citrate agar (Merck, Germany)
- 19) Tryptic soy broth (TSB) (Merck, Germany)
- 20) VRB Agar (Merck, Germany)
- 21) XLD agar (Merck, Germany)
- 22) LMX broth (Merck, Germany)
- 23) Mueller hinton agar (MHA) (Merck, Germany)
- 24) Mueller hinton broth (MHB) (Merck, Germany)
- 25) *Pseudomonas* CFC selective supplement (Merck, Germany)
- 26) Novomyocin (Merck, Germany)
- 27) NaCl 0.85% (Merck, Germany)
- 28) Sodium diacetate (Maxway Co., Ltd., Thailand)
- 29) Tripotassium citrate (Maxway Co., Ltd., Thailand)
- 30) Trisodium citrate (Maxway Co., Ltd., Thailand)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

31) Sodium lactate	(Food ingredient technology CO., LTD, Thailand)
32) Potassium lactate	(Food ingredient technology CO., LTD, Thailand)
33) Sodium chloride (เกลือแกง)	(ปรุงทิพย์, ประเทศไทย)
34) Ethanol 99%	(Merck, Germany)

ในการทดลองครั้งนี้แบ่งออกเป็น 3 การทดลอง ดังนี้

วัตถุประสงค์	กิจกรรม
<p><u>การทดลองที่ 1</u></p> <p>ปัจจัยที่มีผลต่อการปนเปื้อนและการประเมินจุดวิกฤตที่ต้องควบคุม จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในกระบวนการผลิตเลือดเป็ดต้ม</p>	<p>1.1 การเก็บข้อมูล การกำหนดพื้นที่ ระบุวิธีการเก็บข้อมูล และการเลือกพื้นที่</p> <p>1) ศึกษาข้อมูลเบื้องต้นของ โรงงานฆ่าเป็ดที่ใช้เป็นกรณีศึกษา</p> <ul style="list-style-type: none"> - ที่ตั้งของ โรงงาน - กำลังการผลิต <p>2) ศึกษาการจัดการในแต่ละขั้นตอนของกระบวนการผลิตเลือดเป็ดต้ม</p> <p>3) ศึกษาการปนเปื้อนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ขอบอุณหภูมิปานกลาง ต่ำ และสูงในกระบวนการฆ่าเป็ด โดยทำการเก็บตัวอย่างจำนวน 5 จุด</p> <p>4) ศึกษาการปนเปื้อนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ขอบอุณหภูมิปานกลาง ต่ำ และสูงในกระบวนการผลิตเลือดเป็ดต้ม โดยทำการเก็บตัวอย่าง จำนวน 14 จุด</p> <p>1.2 การวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์ ได้แก่</p> <p>1) วิเคราะห์หาจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ขอบอุณหภูมิปานกลาง ต่ำ และสูง</p> <p>2) วิเคราะห์หาการปนเปื้อนของเชื้อ <i>S. aureus</i>, <i>Salmonella spp.</i>, <i>E. coli</i> และ <i>V. cholera</i> ตามมาตรฐานคุณภาพทางจุลชีววิทยาในอาหารปรุงสุก โดยประกาศกรมวิทยาศาสตร์ทางการแพทย์</p> <p>1.3 ประเมินจุดวิกฤตที่ต้องควบคุมในกระบวนการฆ่าและกระบวนการผลิตเลือดเป็ดต้มโดยใช้ผังการตัดสินใจ (decision tree)</p>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<p><u>การทดลองที่ 2</u></p> <p>ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์ต่ออายุการเก็บรักษาเลือดเป็ดต้ม</p>	<p>2.1 การทดลองที่ 2.1 ความเข้มข้นของสารละลายเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>L. sakei</i>, <i>P. fluorescens</i>, <i>S. aureus</i>, <i>S. Typhimurium</i> และ <i>E. coli</i> ด้วยสารละลายเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ</p> <p>ศึกษาความสามารถของสารละลายเกลือของกรดอินทรีย์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อต่างๆ ที่ศึกษาที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยวิธี Diffusion agar</p> <p>2.2 การทดลองที่ 2.1 ความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญและทำลายแบคทีเรียของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อเชื้อ <i>L. sakei</i>, <i>P. fluorescens</i>, <i>S. aureus</i>, <i>S. Typhimurium</i> และ <i>E. coli</i></p> <p>1) การวิเคราะห์หาระดับความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (Minimum inhibition concentration, MIC) ของสารละลายเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อเชื้อ <i>L. sakei</i>, <i>P. fluorescens</i>, <i>S. aureus</i>, <i>S. Typhimurium</i> และ <i>E. coli</i> ด้วยวิธี Broth microdilution method ตามวิธีของ CLSI M7-A4 (2002)</p> <p>2) การศึกษาความสามารถในการยับยั้งการเจริญและทำลายเชื้อ <i>L. sakei</i>, <i>P. fluorescens</i>, <i>S. aureus</i>, <i>S. Typhimurium</i> และ <i>E. coli</i> ของสารละลายเกลือของกรดอินทรีย์ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ ด้วยวิธี Antibacterial combination โดยวิเคราะห์แบบ Checker board broth dilution</p> <p>2.3 การทดลองที่ 2.3 ประสิทธิภาพของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์ในการลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด เชื้อ <i>L. sakei</i>, <i>P. fluorescens</i>, <i>S. aureus</i>, <i>S. Typhimurium</i> และ <i>E. coli</i> ในเลือดเป็ดต้ม</p>
---	--

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	<p>1) การศึกษาประสิทธิภาพการลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของสารละลายเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันในเลือดเป็ดต้ม</p> <p>2) การศึกษาประสิทธิภาพการลดปริมาณแบคทีเรียทดสอบของสารละลายเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันในเลือดเป็ดต้ม โดยการเติมเชื้อบริสุทธิ์ <i>L. sakei</i>, <i>P. fluorescens</i>, <i>S. aureus</i>, <i>S. Typhimurium</i> และ <i>E. coli</i> ที่มีความเข้มข้นสุดท้าย 10^3 cfu/g</p> <p>2.4 การทดลองที่ 2.4 ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ในเลือดเป็ดต้ม</p> <p>1) การวิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์ทางด้านจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์เลือดเป็ดต้ม</p> <p>2) การวิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์ทางเคมีกายภาพของผลิตภัณฑ์เลือดเป็ดต้ม</p> <p>2.1) ค่าความเป็นกรด-ด่าง</p> <p>2.2) ค่าสี (CIE $L^*a^*b^*$ และ ΔE)</p> <p>2.3) ลักษณะเนื้อสัมผัสโดยรวม</p> <p>2.4) ความสามารถในการอุ้มน้ำ</p> <p>3) การวิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์ทางด้านประสาทสัมผัส</p> <p>วิเคราะห์คุณภาพด้านประสาทสัมผัส โดยศึกษาความชอบโดยรวมของผู้บริโภคด้วยการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส ด้านสี (ความเข้ม-อ่อน) กลิ่น (คาวและเปรี้ยว) รสชาติ (เค็ม และเปรี้ยว) ลักษณะเนื้อสัมผัส (แข็ง-นิ่ม) และคุณภาพโดยรวม ด้วยวิธีการให้คะแนนความชอบแบบ 9-Point hedonic scale โดยใช้ผู้ทดสอบที่ได้รับการฝึกฝน (Trained panel) จำนวน 6 คน เป็นอาจารย์ และนักศึกษาคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการผลิตสัตว์</p>
--	--

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	<p>และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง</p> <p>2.5 การทดลองที่ 2.5 ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อปริมาณของเชื้อ <i>L. sakei</i>, <i>P. fluorescens</i>, <i>S. aureus</i>, <i>S. Typhimurium</i> และ <i>E. coli</i> ในเลือดเป็ดต้ม โดยเติมเชื้อบริสุทธิ์ที่มีความเข้มข้นสุดท้าย 10^3 cfu/g</p> <p>2.6 ประสิทธิภาพการลดและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมดของโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ในเลือดเป็ดต้มที่อุณหภูมิการเก็บรักษาต่างกัน</p> <p>1) วิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ขอบอุณหภูมิปานกลาง ต่ำ และสูง</p> <p>2) วิเคราะห์หาปริมาณเชื้อ <i>L. sakei</i>, <i>P. fluorescens</i>, <i>S. aureus</i>, <i>S. Typhimurium</i> และ <i>E. coli</i> โดยเติมเชื้อบริสุทธิ์ที่มีความเข้มข้นสุดท้ายบนเลือดเป็ดต้ม 10^3 cfu/g</p>
<p><u>การทดลองที่ 3</u></p> <p>ผลของการประยุกต์ใช้เกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์ในการควบคุมจุลชีพก่อโรคด้านจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิตเลือดเป็ดต้ม</p>	<p>3.1 การทดลองที่ 3.1 การปนเปื้อนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ขอบอุณหภูมิปานกลาง ต่ำ และสูงในกระบวนการผลิตเลือดเป็ด โดยทำการเก็บตัวอย่างที่อาจเป็นแหล่งการปนเปื้อนจุลินทรีย์เหล่านี้ จำนวน 7 จุด และวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ขอบอุณหภูมิปานกลาง ต่ำ และสูง</p> <p>3.2 การทดลองที่ 3.2 ผลของการประยุกต์ใช้เกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์ในการควบคุมจุลชีพก่อโรคด้านจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิตเลือดเป็ดต้ม</p> <p>1) วิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ขอบอุณหภูมิปานกลาง ต่ำ และสูง</p> <p>2) วิเคราะห์หาปริมาณเชื้อ <i>Lactobacillus</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp., <i>S. aureus</i>, <i>Salmonella</i> spp., <i>E. coli</i> และ <i>V. cholerae</i></p>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 วิธีการทดลอง

3.3.1 การทดลองที่ 1 ปัจจัยที่มีผลต่อการปนเปื้อนและการประเมินจุดวิกฤตที่ต้องควบคุม จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในกระบวนการผลิตเลือดเปิดคัม

3.3.1.1 กลุ่มตัวอย่าง ระเบียบวิธีการคัดเลือกตัวอย่างและขนาดตัวอย่าง

ทำการเก็บตัวอย่างในโรงงานฆ่าเป็ด 1 ครั้งต่อสัปดาห์ รวม 3 ครั้งต่อกระบวนการฆ่า โดยในแต่ละกระบวนการฆ่าจะทำการสุ่มเก็บตัวอย่างที่อาจเป็นแหล่งการปนเปื้อนและ/หรือมีผลกระทบต่อจุลินทรีย์เหล่านี้จำนวน 19 จุด ๆ ละ 2 ซ้ำต่อครั้ง รวมจำนวนตัวอย่าง 114 ตัวอย่างต่อชนิดของจุลินทรีย์ (ภาพที่ 3.1)



ภาพที่ 3.1 การกำหนดจุดการเก็บตัวอย่างในกระบวนการผลิตเลือดเปิดคัมของโรงฆ่าเป็ดในจังหวัดฉะเชิงเทรา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.1.2 การเก็บข้อมูล การกำหนดพื้นที่ ระเบียบวิธีการเก็บข้อมูลและการเลือกพื้นที่

1) ศึกษาข้อมูลเบื้องต้นของโรงงานฆ่าเป็ดที่ใช้เป็นกรณีศึกษา โดยการศึกษาข้อมูลโรงงาน ดังนี้

ทำการเลือกโรงงานฆ่าเป็ดที่จะใช้เป็นกรณีศึกษาจำนวน 1 โรง

- ที่ตั้งของโรงงาน
- กำลังการผลิต

2) ศึกษาการจัดการในแต่ละขั้นตอนของกระบวนการผลิตเลือดเป็ดต้ม โดยการศึกษาถึงวิธีการปฏิบัติขั้นตอนของการผลิตเลือดเป็ดต้ม ตั้งแต่การขนส่งสัตว์มีชีวิตจากฟาร์ม การรับสัตว์ การพักสัตว์ในคอกพัก การฆ่า การผลิตเลือดเป็ดต้ม และจากการสอบถามจากเจ้าหน้าที่ที่รับผิดชอบในโรงงาน

3) ศึกษาการปนเปื้อนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ขอบอุณหภูมิปานกลาง ต่ำ และสูงในกระบวนการฆ่าเป็ด โดยทำการเก็บตัวอย่างที่อาจเป็นแหล่งการปนเปื้อนจุลินทรีย์เหล่านี้ (ภาพที่ 3.1) จำนวน 5 จุด ดังนี้

3.1) จำนวน 5 จุด ดังนี้

3.1) คอเปิดก่อนเชือด: โดยการ swab บริเวณคอเปิดที่ยังมีขนอยู่รวมพื้นที่ 10 ตารางเซนติเมตร

3.2) มีด: โดยการ swab บริเวณหน้ามีดทั้งสองด้าน

3.3) คอเปิดหลังเชือด: โดยการ swab บริเวณคอเปิดหลังจากเชือดเรียบร้อยแล้วรวมพื้นที่ 10 ตารางเซนติเมตร

3.4) มือพนักงานเชือด: โดยการ swab บริเวณมือคนงานรอบนิ้วชี้ กลาง นาง และก้อย ตั้งแต่ข้อที่ 2 ถึงปลายนิ้วโป้ง และ swab รอบนิ้วตั้งแต่ข้อที่ 3 ถึงปลายนิ้ว

3.5) เลือดสด: โดยสูมเก็บน้ำเลือด เป็นปริมาตร 50 มิลลิลิตร ด้วยถุงพลาสติกร้อนทำจากโพลิโพรพิลีนผ่านการฆ่าเชื้อ

4) ศึกษาการปนเปื้อนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ขอบอุณหภูมิปานกลาง ต่ำ และสูงในกระบวนการผลิตเลือดเป็ดต้ม โดยทำการเก็บตัวอย่างที่อาจเป็นแหล่งการปนเปื้อนจุลินทรีย์เหล่านี้จำนวน 14 จุด (ภาพที่ 3.1) ดังนี้

4.1) น้ำเกลือ: โดยสูมเก็บน้ำเกลือ เป็นปริมาตร 100 มิลลิลิตร

4.2) มือพนักงานจับถ้วย: โดยการ swab บริเวณมือคนงานรอบนิ้วชี้ กลาง นาง และก้อย ตั้งแต่ข้อที่ 2 ถึงปลายนิ้วโป้ง และ swab รอบนิ้วตั้งแต่ข้อที่ 3 ถึงปลายนิ้ว

4.3) ถ้วยสำหรับใส่เลือด: โดยการ swab ด้านในของถ้วยก่อนการใส่เลือด

4.4) เลือดผสมน้ำเกลือ: โดยเก็บเลือดที่ผสมน้ำเกลือ เป็นปริมาตร 100 มิลลิลิตร

4.5) น้ำต้มอ่างที่ 1: โดยสูมเก็บน้ำต้มเลือดอ่างที่ 1 เป็นปริมาตร 100 มิลลิลิตร

4.6) ไม้กวน: โดยการ swab ไม้พายทั้งสองด้าน รวม 10 ตารางเซนติเมตร

4.7) เลือดเปิดคัมอ่างที่ 1: โดยสุ่มเก็บเลือดเปิดคัมจำนวน 2 ก่อน จากอ่างคัมเลือดอ่างที่ 1

4.8) น้ำคัมอ่างที่ 2: โดยสุ่มเก็บน้ำคัมเลือดอ่างที่ 2 เป็นปริมาตร 100 มิลลิลิตร

4.9) เลือดเปิดคัมอ่างที่ 2: โดยสุ่มเก็บเลือดเปิดคัมจำนวน 2 ก่อน จากอ่างคัมเลือดอ่างที่ 2

4.10) น้ำในถังลดอุณหภูมิถังที่ 1 (น้ำภายในถุงเลือดเปิดคัม): โดยสุ่มเก็บน้ำแช่เลือดในถังที่ 1 เป็นปริมาตร 100 มิลลิลิตร

4.11) เลือดเปิดคัมก่อนบรรจุถุง: โดยสุ่มเก็บเลือดเปิดคัมจำนวน 2 ก่อน จากถังน้ำแช่เลือดถังที่ 1

4.12) น้ำในถังลดอุณหภูมิถังที่ 2: โดยสุ่มเก็บน้ำในน้ำแช่ถังที่ 2 เป็นปริมาตร 100 มิลลิลิตร

4.13) เลือดเปิดคัมบรรจุถุง: โดยสุ่มเลือด 2 ก่อน จากถุงเลือด 1 ถุง

4.14) เลือดเปิดคัม ณ จุดจำหน่าย: โดยสุ่มเลือด 2 ก่อน จากถุงเลือด 1 ถุง

จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์เลือดเปิดคัม ณ จุดจำหน่ายเพื่อศึกษาการปนเปื้อนของโคลิฟอร์ม และจุลินทรีย์ก่อโรค ได้แก่ เชื้อ *S. aureus*, *Salmonella* spp., *E. coli* และ *V. cholerae* ในเลือดเปิดคัม โดยทำการเก็บรักษาตัวอย่างในกล่องโฟมน้ำแข็งอุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส ตลอดระยะเวลาการสุ่มเก็บตัวอย่างในโรงฆ่าเป็ดจนถึงการวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ต่างๆ ณ ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางเนื้อสัตว์สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง โดยมีระยะเวลาดำเนินการภายใน 6 ชั่วโมง

3.3.1.3 การวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์

1) การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง ต่ำ และสูงโดยนำตัวอย่างที่ทำการเก็บจากกระบวนการผลิตเลือดเปิดคัม และเลือดเปิดคัม ณ จุดจำหน่ายจากข้อ 3) และ 4) ในข้อ 3.3.1.2 มาวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดตามวิธีของ Bacteriological analytical manual online (2001a) โดยตัวอย่างที่เก็บเป็นเลือดเปิดคัมจะนำมาสุ่มชั่ง 25 กรัมใส่ในสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ปริมาตร 225 มิลลิลิตร นำตัวอย่างไปตีด้วยเครื่องตีปั่นไฟฟ้าเป็นเวลา 1 นาที หลังจากนั้นนำมาเจือจาง 3 ระดับ (10^{-2} , 10^{-3} และ 10^{-4}) หลังจากนั้นนำตัวอย่างที่เตรียมไว้แต่ละระดับความเจือจางจำนวน 0.1 มิลลิลิตร เพื่อการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยวิธี pour plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA หลังจากนั้นนำจานอาหารเลี้ยงเชื้อไปบ่ม โดยจะแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มที่ 1 บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง กลุ่มที่ 2 บ่มที่อุณหภูมิ 7 องศา

เซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน และกลุ่มที่ 3 บ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อทำการตรวจหาจุลินทรีย์ในกลุ่มที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง ต่ำ และสูง ตามลำดับ

2) การวิเคราะห์หาปริมาณ coliform และเชื้อ *E. coli* ในตัวอย่างเลือดเปิดดื่มจากข้อ 4.14) ของข้อ 3.3.1.2 มาวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อ *E. coli* ตามวิธีของ Bacteriological analytical manual online (2013) โดยเปิดความเจือจางทั้ง 3 ระดับ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แต่ละระดับความเจือจางใส่ในอาหาร LMX broth อย่างละ 3 หลอด บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อบ่มตามจำนวนเวลาแล้วสังเกตหลอดอาหาร LMX broth จากอาหารสีเหลืองจะเปลี่ยนเป็นสีฟ้า นำไปส่องแสงยูวีสังเกตร่องแสง โดยเครื่อง gel documentation จากนั้นถ่ายเชื้อจากหลอดที่เรืองแสงลงบนอาหาร EMB agar นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และหยด kovac ลงในหลอดเรืองแสงเพื่อสังเกตร่องแสงวงแหวนสีแดง (ผลเป็นบวก) เลือกโคโลนีที่มีสีเขียวคล้ำปีกแมลงทับ (metallic sheen) บนผิวหน้าอาหาร EMB agar มา streak บนอาหาร PCA บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงและทำการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี (IMViC test) ดังนี้

2.1) การทดสอบ indole โดยถ่ายเชื้อจากอาหาร PCA ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ tryptophan broth แล้วบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นหยดสารละลาย kovac จำนวน 0.2-0.3 มิลลิลิตร ถ้าให้ผลบวกจะปรากฏสีแดงที่ส่วนบนของ tryptophan broth

2.2) การทดสอบ methyl red และ acetion (MR-VP) โดยการถ่ายเชื้อจากอาหาร PCA ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MR-VP บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

- ทดสอบ methyl red reaction (MR) โดยเติมสารละลาย Methyl red 5 หยด ลงในสารละลายเชื้อ โดยผลบวกจะให้สีแดง ผลลบจะให้สีเหลือง

- ทดสอบ VP โดยถ่ายเชื้อจาก 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองแล้วเติม alcoholic-naphthol solution 5% (w/v) ปริมาตร 0.6 มิลลิลิตร และ KOH 40% ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร ผสมทิ้งไว้ 5-10 นาที ผลบวกจะให้สีชมพูแดง

2.3) การทดสอบ citrate ทำการถ่ายเชื้อใส่อาหาร simmon's citrate agar บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ผลบวกจะให้สีน้ำเงิน

จากนั้นทำการแปลผลการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีและอ่านค่า MPN (ตารางภาคผนวกที่ ค 1 และ ค 2 ตามลำดับ)

3) การวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อ *S. aureus* นำตัวอย่างเลือดเปิดดื่มจากข้อ 4.14) ของข้อ 3.3.1.2 มาวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อ *S. aureus* ตามวิธีของ Bacteriological analytical manual online (2001b) เปิดตัวอย่างและระดับการเจือจางของตัวอย่างทั้ง 3 ระดับจำนวน 0.1 มิลลิลิตร

หยดใส่ในจานอาหาร BP agar ที่แบ่งเป็น 4 ส่วน 2 ซ้ำ ซ้ำละ 2 จาน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และทำการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี (IMViC test) ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำมานับจำนวนโคโลนีที่มีสีดำขอบใส 30-300 โคโลนี จากนั้นลุ่มเลือกโคโลนีที่สงสัยมาวิเคราะห์การสร้างเอนไซม์ coagulase test โดยจุด rabbit plasma ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงบนสไลด์ที่ทำความสะอาดแล้ว ถ่ายเชื้อลงบนสไลด์ที่มีการหยด rabbit plasma แล้วทำการ smear สังเกตการเกิดเส้นใยบนสไลด์

4) การวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อ *V. cholerae* นำตัวอย่างเลือดเปิดด้อมจากข้อ 4.14 ของข้อ 3.3.1.2 มาวิเคราะห์หาเชื้อ *V. cholerae* ตามวิธีของ Bacteriological analytical manual online (2004) ลุ่มซั่งตัวอย่างเลือดเปิดด้อม 25 กรัม โดยแบ่งออกเป็นซ้าละ 1 ก้อน ใส่ในสารละลาย APW ปริมาตร 225 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง นำตัวอย่างไปตีด้วยเครื่องตีปั่นไฟฟ้า เป็นเวลา 60 วินาที ถ่ายเชื้อลงบน TCBS agar บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ลุ่มเลือกโคโลนีสีเหลือง แบน ขุนตรงกลาง เส้นรอบวงใส ถ่ายโคโลนีลงบนอาหาร T₁N₁ agar บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นลุ่มเลือกโคโลนีเขี่ยลงในอาหาร T₁N₁ slant บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตการณ์การเคลื่อนที่ของจุลินทรีย์ ถ่ายเชื้อลงในอาหารแต่ละชนิด ได้แก่ T₁N₀ broth, T₁N₃ broth และ AGS ด้วยวิธี stab และ streak ตามลำดับและอาหารเลี้ยงเชื้อ mCPC agar ด้วยวิธี streak บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตปฏิกิริยาชีวเคมีในอาหารแต่ละชนิดโดยสังเกตความขุ่นและการเกิดเมือกในอาหาร T₁N₀ broth และ T₁N₃ broth บนอาหารเลี้ยงเชื้อ mCPC จะเกิดโคโลนีสีชมพู ส่วนปฏิกิริยาชีวเคมีในอาหาร AGS ให้ผลเป็นบวก ดังตารางภาคผนวกที่ ค 3

5) การวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อ *Salmonella* spp. นำตัวอย่างเลือดเปิดด้อมจากข้อ 4.14 ของข้อ 3.3.1.2 มาวิเคราะห์หาปริมาณ *Salmonella* spp. คัดแปลงจากวิธีของ ISO 6579 (2002) และ Bacteriological analytical manual online (2014) ลุ่มซั่งตัวอย่างเลือดเปิดด้อม 25 กรัม โดยแบ่งออกเป็นซ้าละ 1 ก้อน ใส่ในสารละลาย BPW ปริมาตร 200 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างไปตีด้วยเครื่องตีปั่นไฟฟ้าเป็นเวลา 1 นาที ปิเปิดตัวอย่าง ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตรลงใน RV broth และในอาหาร MkTTn broth 1 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 41.5 และ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตามลำดับ จากนั้นถ่ายเชื้อลงในอาหาร HE agar ที่มีการเติมยาปฏิชีวนะ novomyocin บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตโคโลนีสีน้ำตาลเงินเขียว และตรงกลางมีสีดำ กลม นูน ผิวเรียบเป็นมัน อาจพบหรือไม่พบจุดตรงกลาง นำโคโลนีไปทำการทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมีโดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อ โคโลนีที่สงสัยไปเพาะลงในอาหาร LIA และ TSI agar slant บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ดูผลปฏิกิริยาทางชีวเคมีในหลอด TSI agar slant และ LIA เชื้อ *Salmonella* spp. จะให้คุณสมบัติทางชีวเคมี ดังตารางภาคผนวกที่ ค 4

3.3.1.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

1) ทำการบันทึกปริมาณการปนเปื้อนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง ต่ำ และสูงที่พบในแต่ละจุดของกระบวนการฆ่าเปิด และกระบวนการผลิตเลือดเปิดนำมาข้อมูลที่ได้ไปประมวลผล และนำเสนอเป็นค่า $\log \text{cfu/cm}^2$ หรือ cfu/g หรือ $\log \text{cfu/ml}$ ในขณะที่เชื้อ *S. aureus*, *V. cholerae*, *Salmonella* spp. และ *E. coli* ประมวลผลและนำเสนอเป็นร้อยละที่มีการปนเปื้อนเกินมาตรฐานด้านจุลชีววิทยาของอาหาร และภาชนะสัมผัสอาหาร ฉบับที่ 2 (2553) โดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ยกเว้นน้ำใช้ในโรงฆ่าเปิดพิจารณาตามมาตรฐานทางจุลินทรีย์ของน้ำอุปโภคที่กำหนดโดย สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม 2549 (Thai industry standard no. TIS-2549. 2006)

2) หาค่าสหสัมพันธ์ของปริมาณการปนเปื้อนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง ต่ำ และสูงระหว่างขั้นตอนในแต่ละจุดเก็บตัวอย่าง โดยใช้ Corr procedure ด้วยโปรแกรม SAS (Statistical analysis system institute. 1998)

3) วิเคราะห์และกำหนดจุดวิกฤตที่ต้องควบคุม ด้านชีวภาพคำนึงถึงจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียในกระบวนการผลิตเลือดเปิดเพื่อหาวิธีการควบคุมจุดวิกฤตดังกล่าวให้มีความปลอดภัยต่อผลิตภัณฑ์และผู้บริโภค โดยพิจารณาจากการใช้ผังการตัดสินใจ (decision tree) ดังแสดงในภาพที่ 2.2

3.3.2 การทดลองที่ 2 ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์ต่ออายุการเก็บรักษาเลือดเปิด

3.3.2.1 การทดลองที่ 2.1 ความเข้มข้นของสารละลายเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* และ *E. coli* ด้วยสารละลายเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ทำการศึกษาความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* และ *E. coli* จากข้อ 2) ด้วยสารละลายโพแทสเซียมแลคเตท โซเดียมแลคเตท โซเดียมซิเตรท โซเดียมไดอะซิเตท และ โซเดียมซิเตรท ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วยวิธี Agar well diffusion method ตามวิธีของ Bauer *et al.* (1966) ทั้งนี้ทำการวางแผนการทดลองแต่ละสารจากข้อ 1) แบบ Completely randomized design (CRD) โดยมีระดับความเข้มข้นของสารละลายจำนวน 10 ระดับโดยดูจากความสามารถในการละลายสูงสุดของ สารแต่ละชนิดที่ใช้ ดังนั้น สารละลายโพแทสเซียมแลคเตทและโซเดียมแลคเตทในช่วงความเข้มข้น 0-6% (w/v) โซเดียมไดอะซิเตทในช่วงความเข้มข้น 0-2.5% (w/v) โพแทสเซียมซิเตรทและโซเดียมซิเตรทในช่วงความ

เข้มข้น 0-10% (w/v) และโซเดียมคลอไรด์ในช่วงความเข้มข้น 0-20% (w/v) ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ

1) ชนิดของสารต้านแบคทีเรีย

สารที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ โซเดียมแลคเตท (Purasal® S) และ โปแทสเซียมแลคเตท (Purasal® HiPure P) ชนิดสารละลาย โซเดียมไดอะซิเตท โซเดียมซิเตรท โปแทสเซียมซิเตรทและ โปแทสเซียมแลคเตทชนิดผง (food grade) ทำการจัดซื้อจาก Food ingredient technology CO.,LTD (Thailand) และ Maxway Co., Ltd. (Thailand) ตามลำดับ และ โซเดียมคลอไรด์ (food grade) トラปรุงที่พื๋ ซื่อจากร้านสะดวกซื้อทั่วไป

2) ชนิดของแบคทีเรีย แบคทีเรียที่ใช้ในการศึกษานี้ คือ เชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* ที่แยกได้จากผลิตภัณฑ์เลือดเปิดดื่มจากการศึกษามาก่อนหน้านี้ ตามวิธีของ Bacteriological analytical manual online (2001b และ 2013 ตามลำดับ) และ *L. sakei* TISTR 890, *P. fluorescens* TISTR 903 และ *S. Typhimurium* TISTR 292 สั่งซื้อจากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี แห่งประเทศไทย กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี โดยทำการจัดเก็บ stock culture ไว้ที่ อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เมื่อต้องการทำการทดลอง นำ stock culture มาละลายน้ำแข็ง และทำการเลี้ยงบนอาหาร PCA ปุ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 22-24 ชั่วโมง เพื่อให้เชื้ออยู่ใน สภาวะ late log phase (non-stressed cells) ตามวิธีของ Tangwatcharin *et al.* (2006) จากนั้นเตรียม สารละลายแบคทีเรียให้มีความเข้มข้นแบคทีเรีย 10^8 cfu/ml (McFarland standard of 0.5) และทำการ เจือจางให้มีแบคทีเรียสุดท้ายประมาณ 5×10^5 cfu/ml เพื่อใช้แต่ละการศึกษา

3) ศึกษาระดับความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมแลคเตท โซเดียมซิเตรท โซเดียมไดอะซิเตท โปแทสเซียมแลคเตท และโปแทสเซียมซิเตรทที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของ เชื้อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* และ *E. coli* ในสารละลายเชื้อบริสุทธิ์

3.1) วิธี Agar well diffusion

3.1.1) เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA และ MRS agar ในขวดคูเรน ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

3.1.2) เตรียมเชื้อทดสอบในข้อ 2) จากข้อ 3.3.2.1 จากนั้นเตรียม สารละลายเกลือของกรดอินทรีย์ให้มีความเข้มข้นแบบ 2 fold โดยมีความเข้มข้นของสารละลาย โปแทสเซียมแลคเตทและโซเดียมแลคเตทในช่วงความเข้มข้น 0-60% (w/v) โซเดียมไดอะซิเตท ในช่วงความเข้มข้น 0-25% (w/v) โปแทสเซียมซิเตรทและโซเดียมซิเตรทในช่วงความเข้มข้น 0-100% (w/v) ดังนั้น สารแต่ละชนิดจะมีความเข้มข้นสุดท้ายใน well อยู่ในช่วงความเข้มข้น 0-6 (w/v), 0-2.5 (w/v) และ 0-10% (w/v) ตามลำดับ

3.1.3) เติมสารละลายเชื้อบริสุทธิ์ 0.5 มิลลิลิตร ให้มีความเข้มข้นสุดท้าย 5×10^5 cfu/ml ในขวดอาหาร 500 มิลลิลิตรดังที่กล่าวมาแล้ว เหย้าให้เข้ากัน จากนั้นเปิดลงในจาน เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารเลี้ยงเชื้อ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร พักไว้ให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว เจาะหลุมด้วย cork-borer (ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร) ปิเปตสารละลายลงในหลุม ปริมาตร 100 ไมโครลิตร บ่มที่ อุณหภูมิเหมาะสมของเชื้อทดสอบ บันทึกความสามารถของสารแต่ละชนิดในการยับยั้งการเจริญ ของแบคทีเรีย (clear zone) เป็นมิลลิเมตร และนำข้อมูลที่ได้ไปประมวลผล โดยพิจารณา ความสามารถในการยับยั้งของสารที่สามารถยับยั้งเชื้อในข้อ 2) จากข้อ 3.3.2.1 ได้ทั้งหมด และเลือกระดับความเข้มข้นต่ำสุดของแต่ละสารเพื่อวิเคราะห์หาค่า MIC, MIC₉₀ และ MBC ต่อไป

3.3.2.2 การทดลองที่ 2.2 ความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญและทำลายแบคทีเรีย ของเกลือของกรดอินทรีย์และ โซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อเชื้อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* และ *E. coli*

1) การวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของ แบคทีเรีย (Minimum inhibition concentration, MIC) ของสารละลายเกลือของกรดอินทรีย์และ โซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อเชื้อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* และ *E. coli* ด้วยวิธี Broth microdilution method ตามวิธีของ CLSI M7-A4 (2002) ทั้งนี้ทำการ เจือจางสารแต่ละชนิดแบบ two fold dilution ใน micro plate โดยมีระดับความเข้มข้นของสาร 10 ระดับต่อชนิดสาร และทำการวางแผนการทดลองแบบ CRD โดยมีทรีทเมนต์เช่นเดียวกับข้อ 3) จาก ข้อ 3.3.2.1

โดยทำการเตรียมสารปิเปตลงในหลุมของ micro plate ลำดับการใส่ ดังนี้

1.1) ใส่สารจากข้อ 1) สารละลายความเข้มข้นแต่ละระดับลงในหลุม ปริมาตร 20 ไมโครลิตร

1.2) ใส่อาหาร 2x MHB ปริมาตร 20 ไมโครลิตร สำหรับเชื้อ *L. sakei* จะ ใช้อาหาร 2x MRS

1.3) ใส่อาหาร 1x MHB ปริมาตร 120 ไมโครลิตร สำหรับเชื้อ *L. sakei* จะ ใช้อาหาร 1x MRS

1.4) ใส่เชื้อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* และ *E. coli* ในข้อ 2) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ให้มีระดับความเข้มข้นสุดท้ายใน microplate 5 x 10⁵ cfu/ml โดยเตรียมกลุ่มควบคุมตัวอย่างละ 3 แบบ ดังนี้

- growth control คือ อาหารเลี้ยงเชื้อ MHB + แบคทีเรีย
- negative control คือ ตัวทำลาย + อาหารเลี้ยงเชื้อ MHB + แบคทีเรีย

- sterile control คือ ใส่เฉพาะอาหารเลี้ยงเชื้อ

ปิดฝา microplate เขย่าเบาๆ ให้อาหารและเชื้อผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ

37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง แล้วทำการวัดความขุ่น จากนั้นทำการหาวิเคราะห์หาค่า MIC, เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

MIC₉₀ และ MBC โดยนำสารละลายในหลุมของ microplate ที่ใส่มาปริมาตร 10 ไมโครลิตร เพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA ยกเว้นเชื้อ *L. sakei* เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS Agar และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง และอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง สำหรับบ่มเชื้อ *L. sakei* และ *P. fluorescens* แล้วทำการบันทึกที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุดของสารแต่ละระดับที่พบการเจริญมากกว่า 500 โคโลนี เป็นค่า MIC หากอยู่ในช่วง 5-500 โคโลนี เป็นค่า MIC₉₀ และถ้าพบการเจริญไม่เกิน 5 โคโลนี เป็นค่า MBC ที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายแบคทีเรียได้ไม่น้อยกว่า 99.9% ของจำนวนแบคทีเรียเริ่มต้น

2) การศึกษาความสามารถในการยับยั้งการเจริญและทำลายเชื้อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* และ *E. coli* ของสารละลายเกลือของกรดอินทรีย์ร่วมกับ โซเดียมคลอไรด์ ด้วยวิธี Antibacterial combination โดยวิเคราะห์แบบ Checker board broth dilution แบบ two fold dilution ของ MIC ของสารแต่ละชนิด ในสัดส่วน 1:1 จำนวน 7 ระดับ ได้แก่ สารละลายโซเดียมไดอะซิเตทในช่วงความเข้มข้น 0.01-0.64% (w/v) โซเดียมซิเตรทในช่วงความเข้มข้น 0.04-2.5% (w/v) และ โซเดียมคลอไรด์ในช่วงความเข้มข้น 0.32-20% (w/v) ต่อปฏิกริยาร่วมของสาร 2 ชนิด ตามวิธีของ Bharadwaj *et al.* (2003) ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ

โดยทำการเตรียมสารปีเปตลงในหลุมของ micro plate ลำดับการใส่ ดังนี้

- 2.1) ใส่สารจากข้อ 1) สารที่ 1 ในหลุมปริมาตร 20 ไมโครลิตร
- 2.2) ใส่สารจากข้อ 1) สารที่ 2 ในหลุมปริมาตร 20 ไมโครลิตร
- 2.3) ใส่อาหาร 2x MHB ปริมาตร 60 ไมโครลิตร สำหรับเชื้อ *L. sakei* จะใช้อาหาร 2x MRS
- 2.4) ใส่อาหาร 1x MHB ปริมาตร 80 ไมโครลิตร สำหรับเชื้อ *L. sakei* จะใช้อาหาร 1x MRS
- 2.5) ใส่เชื้อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. Typhimurium*, *S. aureus* และ *E. coli* ในข้อ 2) จากข้อ 3.3.2.1 ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ให้มีระดับความเข้มข้นสุดท้ายใน microplate 5×10^5 cfu/ml โดยเตรียมกลุ่มควบคุมตัวอย่างละ 3 แบบ ดังนี้
 - growth control คือ อาหารเลี้ยงเชื้อ MHB + แบคทีเรีย
 - negative control คือ ตัวทำลาย + อาหารเลี้ยงเชื้อ MHB + แบคทีเรีย
 - sterile control คือ ใส่เฉพาะอาหารเลี้ยงเชื้อ

3) การวิเคราะห์ข้อมูล

3.1) บันทึกความสามารถของสารแต่ละชนิดที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียในข้อ 2) จากข้อ 3.3.2.1 จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ออกไปประมวลผล โดยพิจารณาความสามารถในการยับยั้งของสารที่สามารถยับยั้งเชื้อดังกล่าวข้างต้น และเลือกระดับเอกสารนี้เป็นเอกสารที่ส่งวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้นต่ำสุด (ค่า MIC) ให้เป็นความเข้มข้นเริ่มต้นที่สามารถยับยั้งเชื้อได้เพื่อวิเคราะห์หาค่า MIC₉₀ และ MBC ของสารในการยับยั้งแบคทีเรียแต่ละชนิด

3.2) บันทึกรายความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียในการใช้สารละลายเกลือของกรดอินทรีย์และ โซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันที่อัตราส่วนต่าง ๆ ในข้อ 2) จากข้อ 3.3.2.2 จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปประมวลผลค่า MIC, MIC₉₀ และ MBC ของการใช้สารละลายร่วมกันและวิเคราะห์ค่า Fractional inhibitory concentration index (FICI) และ Fractional bactericidal concentration index (FBCI) ตามลำดับ โดยมีสูตรในการคำนวณหาค่าดัชนีเพื่อใช้พิจารณาการออกฤทธิ์เสริมกัน (Lorian. 2005) ดังนี้

$$\begin{aligned} \text{ค่า FICI} &= \text{FIC(A)} + \text{FIC(B)} \\ &= [A]/\text{MIC(A)} + [B]/\text{MIC(B)} \end{aligned}$$

[A] คือ ค่า MIC ของสาร A ในสารผสมระหว่างสาร A และสาร B

[B] คือ ค่า MIC ของสาร B ในสารผสมระหว่างสาร A และสาร B

MIC(A) คือ ค่า MIC ของสาร A

MIC(B) คือ ค่า MIC ของสาร B

$$\text{ค่า FBCI} = \text{FBC(A)} + \text{FBC(B)}$$

$$= [A]/\text{MBC(A)} + [B]/\text{MBC(B)}$$

[A] คือ ค่า MBC ของสาร A ในสารผสมระหว่างสาร A และสาร B

[B] คือ ค่า MBC ของสาร B ในสารผสมระหว่างสาร A และสาร B

MBC(A) คือ ค่า MBC ของสาร A

MBC(B) คือ ค่า MBC ของสาร B

เมื่อคำนวณตามสูตรข้างต้นจะนำค่าดัชนีมาแปลผลเพื่อพิจารณาการออกฤทธิ์เสริมกัน ดังนี้

- FICI หรือ FBCI < 0.5 คือ ออกฤทธิ์เสริมกัน

- FICI หรือ FBCI > 0.5 to 1.0 คือ ออกฤทธิ์เสริมกันบางส่วน

- FICI หรือ FBCI > 1.0 คือ ไม่ออกฤทธิ์เสริมกันหรือขัดขวางกัน

- FICI หรือ FBCI > 2.0 คือ ออกฤทธิ์ขัดขวางกัน

3.3) ทำการคัดเลือกความเข้มข้นต่ำสุดของสารเกลือของกรดอินทรีย์และ โซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันที่มีผลในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้มากที่สุด เพื่อทำการศึกษาประสิทธิภาพการลดปริมาณเชื้อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. Typhimurium*, *S. aureus* และ *E. coli* ต่อไปข้อ 3.3.2.3

3.3.2.3 การทดลองที่ 2.3 ประสิทธิภาพของเกลือของกรดอินทรีย์และ โซเดียมคลอไรด์ในการลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด เชื้อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* และ *E. coli* ในเลือดเปิดดื่ม

นำเลือดเปิดดื่มที่ได้จากโรงฆ่าเป็ด จังหวัดฉะเชิงเทรา นำมาแบ่งออกเป็น 18 ถูง ถูงละ 2 ก้อน โดยก่อนเลือดเปิดจะมีน้ำหนักประมาณ 600 กรัมต่อก้อน เติมน้ำกลั่นให้ท่วมเลือดเปิดดื่มเป็นปริมาตร 500 มิลลิลิตร ปิดปากถูงให้สนิท แบ่งเลือดเปิดดื่มออกเป็น 2 ส่วน ส่วนที่หนึ่ง ใช้ในการศึกษาประสิทธิภาพของเกลือของกรดอินทรีย์และ โซเดียมคลอไรด์ในการลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด และส่วนที่สอง ใช้ในการศึกษาประสิทธิภาพของเกลือของกรดอินทรีย์และ โซเดียมคลอไรด์ในการลดปริมาณเชื้อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* และ *E. coli* โดยทำให้เลือดเปิดดื่มปลอดเชื้อด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ รอให้เย็นก่อนนำไปศึกษา จากนั้นนำสารละลายที่คัดเลือกได้จากการทดลองที่ 2.2 ทำการแบ่งการทดลองออกเป็น 9 กลุ่มดังนี้ 1) ไม่สัมผัสสารใด (กลุ่มควบคุม, T1), 2) น้ำกลั่น (กลุ่มควบคุม, T2), 3) โซเดียมไดอะซิเตต 0.16% (T3), 4) โซเดียมซิเตรต 2.5% (T4), 5) โซเดียมคลอไรด์ 5% (T5), 6) โซเดียมไดอะซิเตต 0.08% ร่วมกับโซเดียมซิเตรต 0.16% (T6), 7) โซเดียมไดอะซิเตต 0.01% ร่วมกับโซเดียมซิเตรต 1.25% (T7), 8) โซเดียมไดอะซิเตต 0.08% ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ 5% (T8) และ 9) โซเดียมไดอะซิเตต 0.16% ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ 0.32% (T9)

1) การศึกษาประสิทธิภาพการลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของสารละลายเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกัน โดยนำเลือดเปิดดื่มส่วนที่หนึ่ง เติมน้ำกลั่นล้างคั้นให้ท่วมเลือดเปิดดื่มเป็นปริมาตร 500 มิลลิลิตร ปิดปากถูงให้สนิท เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการตรวจหาจุลินทรีย์ในกลุ่มที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง ต่ำ และสูงตามวิธีการของ Bacteriological analytical manual online (2001a) ดังข้อ 1) จากข้อ 3.3.1.3 ทำการศึกษาจำนวน 3 ซ้ำ

2) การศึกษาประสิทธิภาพการลดปริมาณเชื้อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* และ *E. coli* ของสารละลายของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกัน โดยจะทำการเติมน้ำกลั่นเชื้อบริสุทธิ์จากข้อ 2) ในข้อ 3.3.2.1 ที่ระดับความเข้มข้นเชื้อเริ่มต้น 10^5 log cfu/ml เป็นปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงในถูงเลือดเปิดดื่มส่วนที่สอง เขย่าและจับเวลาเพื่อให้สารละลายเชื้อบริสุทธิ์สัมผัสกับเลือดเปิดดื่ม เป็นเวลา 10 นาที จะได้เลือดเปิดดื่มที่ผ่านการเติมเชื้อบริสุทธิ์ที่มีความเข้มข้นเชื้อสุดท้ายของ 10^3 cfu/ml จากนั้นเทสารละลายเชื้อบริสุทธิ์ออก แล้วเติมน้ำกลั่นเช่นเดียวกับข้อ 2) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการวิเคราะห์หา Population density estimate ทำการศึกษาจำนวน 3 ซ้ำ

3) การตรวจนับจุลินทรีย์

จากการศึกษาในข้อ 1) ภายหลังจากที่สารละลายเชื้อบริสุทธิ์สัมผัสกับสารละลายในทุกกลุ่ม เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดที่ขอบอุณหภูมิปานกลางต่ำ และสูงที่เหลืออยู่ภายหลังจากสัมผัสสารในเลือดเปิดต้ม ทำการวิเคราะห์ตามวิธีการของ Bacteriological analytical manual online (2001a) ในข้อ 1) จากข้อ 3.3.1.3

4) การวิเคราะห์หา Population density estimate

จากการศึกษา 2) ภายหลังจากที่สารละลายเชื้อบริสุทธิ์สัมผัสกับสารละลายในทุกกลุ่มการทดลอง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียที่เหลืออยู่ภายหลังจากสัมผัสสารในเลือดเปิดต้มบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA เพื่อหาปริมาณ total culturable ของแบคทีเรียทุกชนิดและจุลินทรีย์ทั้งหมด ยกเว้นเชื้อ *L. sakei* ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA และอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar, TSA เต็ม *Pseudomonas* CFC selective supplement, BP agar, HE agar ที่มีการเติมยาปฏิชีวนะ novomycin และ VRB agar เพื่อหาปริมาณ culturable cells ของเชื้อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* และ *E. coli* ตามลำดับ ซึ่งองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อและยาปฏิชีวนะที่เติมสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่บาดเจ็บ (เช่น ผนังเซลล์รั่ว และควบคุมการเข้าออกของสารบกพร่อง เป็นต้น ทำให้เชื้อดังกล่าวมีความไวต่อยาปฏิชีวนะมากกว่าเชื้อปกติ) โดยทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง เพื่อวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงสถานะของเซลล์ในการศึกษาผลการตอบสนองทางสัณฐานวิทยาและกายภาพของเซลล์แบคทีเรียเหล่านี้ เนื่องจากสภาวะเครียด (morphological and physiological responses of pathogenic bacteria to stress) คัดแปลงจากวิธีของ Tangwatcharin *et al.* (2006) และ Bujalance *et al.* (2006)

5) การวิเคราะห์ข้อมูล

5.1) บันทึกปริมาณแบคทีเรียที่เหลืออยู่ภายหลังจากสัมผัสสาร ในข้อ 2) และ 3) นำข้อมูลที่ได้ไปประมวลผล และนำเสนอเป็นค่า log cfu/g

5.2) นำข้อมูลจากข้อ 6.1) ไปประมวลผล Population density estimate หาค่า non-stressed และ stressed cells ของแบคทีเรียแต่ละชนิด ดังสมการ

$$\text{stressed cells} = \text{total culturable} - \text{culturable}$$

$$\text{non-stressed cells} = \text{culturable}$$

5.3) เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยปริมาณ total culturable, non-stressed cells, stressed cells และ stressed cells:non-stressed cells ของเชื้อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* และ *E. coli* ที่เหลืออยู่ภายหลังจากสัมผัสสารและระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป (SPSS for windows version 11.5: SPSS Inc.)

3.3.2.4 การทดลองที่ 2.4 ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยว และร่วมกันต่อปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ในเลือดเปิด ต้ม

นำเลือดเปิดต้มที่ได้จากโรงฆ่าเปิด นำมาแบ่งบรรจุในถุง ออกเป็น 10 ถุง ถุงละ 5 ก้อน จากนั้นเติมสารละลายทั้ง 5 กลุ่มที่คัดเลือกได้จากข้อ 3.3.2.3 ได้แก่ (T1) กลุ่มควบคุมไม่เติม สารละลาย (T2) SD 0.16%, (T3) SC 2.5%, (T4) SD 0.01% + SC 1.25% และ (T5) SD 0.16% + NaCl 0.32% ปริมาตร 800 มิลลิลิตร ปิดปากถุงให้สนิท เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็น เวลา 1, 3, 5, 7 และ 9 วัน จากนั้นทำการตรวจหาแบคทีเรียในกลุ่มที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง ต่ำ และสูง และทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสและวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี-กายภาพของเลือด เปิดต้ม

1) การวิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์ทางด้านจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์เลือดเปิดต้ม ตามวิธีการของ Bacteriological analytical manual online (2001a) ในข้อ 1) จากข้อ 3.3.1.3

2) การวิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์ทางด้านเคมี - กายภาพของผลิตภัณฑ์เลือด เปิดต้ม

2.1) ค่าความเป็นกรด-ด่าง

การวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของเลือดเปิดต้ม โดยนำตัวอย่าง 2 กรัม ใส่ น้ำ กลั่น 20 มิลลิลิตร ไปปั่นด้วยเครื่อง homogenizer จากนั้นนำไปวัดค่าความเป็นกรด-ด่างด้วย Mettler Toledo 320 (Mettler Toledo, Greifensee, Switzerland) บันทึกผล กลุ่มการทดลองละ 3 ซ้ำ วัดค่า ความเป็นกรด-ด่างของน้ำกลั่นไว้เพื่อเปรียบเทียบ

2.2) ค่าสี (CIE L*a*b* และ ΔE)

ศึกษาค่าสีของผลิตภัณฑ์เลือดเปิดต้ม โดยตัดก้อนเลือดเปิดเป็นสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด 2×2×2 เซนติเมตร เนื่องจากเป็นขนาดที่พอดีกับรูรับแสง (aperture size) ของเครื่องวัดสี ซึ่งแต่ละตัวอย่างทดลองจะทำการวัดค่า 3 ครั้งและแสดงผลเป็นค่า L* (lightness), a* (redness) และ b* (yellowness) ในรูปแบบ CIE ด้วยเครื่องวัดสี Colorimeter MiniScan EZ 4000L (Hunter Lab Inc., Reston, VA, USA) ปรับเทียบค่าเครื่อง (calibrate) ด้วยแผ่นสีมาตรฐานก่อนการวัดทุกครั้ง

การวิเคราะห์หาค่าความแตกต่างของสี (ΔE) ตามวิธีการอ้างอิงจาก Saricoban and Yilmaz (2010) โดยนำค่า L* (lightness), a* (redness) และ b* (yellowness) ที่ได้จากการวัดค่าสี นำมาใช้สำหรับคำนวณหาค่าความแตกต่างของสี (ΔE) จากสูตรดังนี้

$$\Delta E = \sqrt{(L_0 - L^*)^2 + (a_0 - a^*)^2 + (b_0 - b^*)^2}$$

0 หมายถึง ค่าสีของตัวอย่างกลุ่มควบคุมที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของค่าสี

2.3) ลักษณะเนื้อสัมผัสโดยรวม (texture profile analysis, TPA)

การประเมินลักษณะเนื้อสัมผัสโดยรวมของผลิตภัณฑ์เลือดเปิดคัมตามวิธีการ texture profile analysis (TPA) ด้วยเครื่อง Instron model 1011 (Calibration Laboratory, USA) โดยทำการตัดตัวอย่างเป็นก้อนสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด 2×2×2 เซนติเมตร ทำการวัดค่าตัวอย่างด้วยหัววัดแบบกด (compression) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15.5 เซนติเมตร โหลดเซลล์ที่ใช้ในการวัดค่า 500 นิวตัน กำหนดการวัดค่าของตัวอย่างจะถูกกดลงไปเป็นระยะทางร้อยละ 40 ของความสูงตัวอย่าง ตัวอย่างละ 10 ซ้ำ (Colmenero *et al.* 2004) บันทึกค่าความแข็ง (hardness, N) ค่าความเหนียวคล้ายยาง (gumminess, N) ค่าความยากในการเคี้ยว (chewiness, N) ค่าความยืดหยุ่น (springiness, ratio) และค่าการเกาะตัวกัน (cohesiveness, ratio)

2.4) ความสามารถในการอุ้มน้ำ (water holding capacity, WHC)

วิเคราะห์ความสามารถในการอุ้มน้ำของเลือดเปิดคัมด้วยวิธีที่ดัดแปลงจากของ Schafer *et al.* (2002) ที่แสดงผลด้วยปริมาณน้ำที่ไหลซึมออกมาจากก้อนเลือด (free exudates %) โดยตัดก้อนเลือดคัมให้เป็นสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด 2×2×1 เซนติเมตร บันทึกน้ำหนักเริ่มต้น (A) นำมาวางบนกระดาษกรอง (Whatman เบอร์ 1) โดยนำก้อนเลือดมาวางบนกระดาษกรอง 2 แผ่น แล้วปิดทับด้านบนอีก 1 แผ่น ตั้งทิ้งไว้ 20 นาที ชั่งน้ำหนักก้อนเลือดอีกครั้ง (B) หลังจากนั้นนำมาคำนวณหาความสามารถในการอุ้มน้ำโดยคิดเป็นน้ำหนักของน้ำที่ไหลซึมออกมาจากก้อนเลือด

$$\% \text{ Free exudate} = (A-B/A) \times 100$$

3) การวิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์ทางด้านประสาทสัมผัสโดยศึกษาความชอบโดยรวมของผู้บริโภค

ทำการทดสอบความชอบโดยรวมโดยให้คะแนนแบบ 9-Points Hedonic Scale ซึ่งใช้ผู้ทดสอบที่ได้รับการฝึกฝน (trained panel) จำนวน 6 คน เป็นอาจารย์ และนักศึกษาภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (การฝึกฝนผู้ทดสอบ ดังแสดงในภาคผนวก ง) โดยประเมินความชอบของผลิตภัณฑ์ด้านกลิ่นเปรี้ยว กลิ่นคาว สี รสเปรี้ยว รสเค็ม ลักษณะเนื้อสัมผัสและคุณภาพโดยรวม ดังแสดงดังภาคผนวก จ

4) การวิเคราะห์ข้อมูล

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ Randomized Complete Block Design (RCBD) นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์หาความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มการทดลองด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป (SPSS for windows version 11.5: SPSS Inc.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพื่อคัดเลือกชนิดและระดับความเข้มข้นของสารทั้งแบบสารเดี่ยวและร่วมกันที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งจุลินทรีย์ทั้งหมด ชื่อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* และ *E. coli* จำนวน 1 กลุ่มเพื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และทำการศึกษาต่อในข้อ 3.3.2.5

3.3.2.5 การทดลองที่ 2.5 ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อปริมาณของเชื้อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* และ *E. coli* ในเลือดเป็ดคัม

ทำการศึกษาประสิทธิภาพการลดปริมาณเชื้อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* และ *E. coli* ของสารละลายของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกัน ทำการจัดกลุ่มการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1) จากข้อ 3.3.2.4 ทั้งนี้ทำการเตรียมเลือดเป็ดคัมตามข้อ 1) จากข้อ 3.3.2.3 เติมน้ำเกลือเชื้อบริสุทธิ์ตามข้อ 3) จากข้อ 3.3.2.3 เขย่าและจับเวลาเพื่อให้สารละลายเชื้อบริสุทธิ์สัมผัสกับเลือดเป็ดคัม เป็นเวลา 10 นาที เติมน้ำเกลือเชื้อบริสุทธิ์ออกและเติมน้ำที่คัดเลือกได้จากข้อ 3.3.2.3 ปริมาตร 500 มิลลิลิตร จากนั้นเก็บรักษาที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 10 องศาเซลเซียสและเป็นเวลา 1, 3, 5, 7 และ 9 วัน ทำการวิเคราะห์หา Population density estimate

1) การวิเคราะห์หา Population density estimate ทำการวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 6) จากข้อ 3.3.2.3

2) การวิเคราะห์ข้อมูล

2.1) นำที่กปริมาณแบคทีเรียที่เหลืออยู่ภายหลังสัมผัสสาร ในข้อ 3.3.2.5 นำข้อมูลที่ได้ไปประมวลผล และนำเสนอเป็นค่า $\log_{10} \text{cfu/g}$

2.2) นำข้อมูลไปประมวลผล Population density estimate เช่นเดียวกับข้อ 4.1) จากข้อ 3.3.2.3 หากค่า non-stressed cells และ stressed cells ของแบคทีเรียแต่ละชนิด

2.3) เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยปริมาณ total culturable, non-stressed cells, stressed cells และ stressed cells:non-stressed cells ของเชื้อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* และ *E. coli* ที่เหลืออยู่ภายหลังสัมผัสสารและระดับความเข้มข้นต่าง ด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป (SPSS for windows version 11.5: SPSS Inc.)

2.4) ทำการคัดเลือกชนิดและระดับความเข้มข้นของสารทั้งแบบสารเดี่ยวและร่วมกันที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งจุลินทรีย์ทั้งหมด ชื่อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* และ *E. coli* จำนวน 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มควบคุม (น้ำโรงงาน) และโซเดียมไคโอซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์เพื่อนำไปศึกษาต่อในข้อ 3.3.2.6

3.3.2.6 การทดลองที่ 2.6 ประสิทธิภาพการลดและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมดของ โขเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ในเลือดเป็ดต้มที่อุณหภูมิการเก็บรักษาต่างกัน

1) ทำการศึกษาการลดและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมดของสารละลาย โขเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ในเลือดเป็ดต้มที่อุณหภูมิการเก็บรักษาต่างกัน ทำการ จัดกลุ่มการทดลอง แบบ 2x4 factorial in RCBD โดยมีปัจจัย A คือ ชนิดและระดับความเข้มข้นของ สาร 2 ระดับ ได้แก่ กลุ่มควบคุม (น้ำโรงงาน) และโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์จาก ข้อ 3.3.2.5 และปัจจัย B คือ ระดับอุณหภูมิในการเก็บรักษา 4 ระดับ ได้แก่ 5, 10, 15 และ 25 องศา เซลเซียส เป็นเวลา 0, 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 วัน

โดยทำการเตรียมเลือดเป็ดต้มแบ่งออกเป็น 3 ถัง ๆ ละ 4 ถ้วย โดยแบ่งกลุ่มการ ทดลองดังกล่าวข้างต้นดังนี้ กลุ่มควบคุม 3 ถัง และกลุ่มที่เติมสารละลายโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับ โซเดียมคลอไรด์ 3 ถัง แต่ละถังมีปริมาตร 600 มิลลิลิตร ปิดปากถังให้สนิท จากนั้นเก็บรักษาที่ อุณหภูมิการเก็บรักษาและระยะเวลาการเก็บรักษาดังกล่าวข้างต้น ทำการตรวจหาจุลินทรีย์ในกลุ่มที่ ชอบอุณหภูมิปานกลาง ต่ำ และสูง ตามวิธีการของ Bacteriological analytical manual online (2001a) ในข้อ 1) จากข้อ 3.3.1.3

2) ทำการศึกษาการลดและยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* และ *E. coli* ของสารละลายโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียม คลอไรด์ในเลือดเป็ดต้มที่อุณหภูมิการเก็บรักษาต่างกัน ทำการจัดกลุ่มการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1) เติมสารละลายเชื้อบริสุทธิ์จากข้อ 2) ในข้อ 3.3.2.1 ที่ระดับความเข้มข้นเชื้อเริ่มต้น 10^7 log cfu/ml ปริมาตร 0.6 มิลลิลิตร เขย่าและจับเวลาเพื่อให้สารละลายเชื้อบริสุทธิ์สัมผัสกับเลือดเป็ดต้ม เป็น เวลา 10 นาที เทสารละลายเชื้อบริสุทธิ์ออก และเติมน้ำโรงงานและสารละลายโซเดียมไดอะซิเตท ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ ในแต่ละถังที่ทำการจัดกลุ่มการทดลองก่อนหน้านี้นี้ดังข้อ 1) จากนั้นเก็บ รักษาที่อุณหภูมิการเก็บรักษาและระยะเวลาการเก็บรักษาดังกล่าวข้างต้นทำการวิเคราะห์หา คุณภาพทางจุลินทรีย์

3) การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

จากการศึกษาในข้อ 1) และ 2) ภายหลังที่เลือดเป็ดต้มสัมผัสกับสารละลายแบบ สารชนิดเดียวและร่วมกันที่ระยะเวลาการเก็บรักษาต่าง ๆ ทำการตรวจหาจุลินทรีย์ทั้งหมด เชื้อ *S. aureus*, *S. Typhimurium*, *E. coli*, *P. fluorescens* และ *L. sakei* ที่มีชีวิตรอดบนเลือดเป็ดต้ม โดยทำการ เพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA, BP agar, HE agar ที่มีการเติมยาปฏิชีวนะ novomyocin, EMB agar, TSA เติม *Pseudomonas* CFC selective supplement และอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar ตามลำดับ ตามวิธีของ Matley *et al.* (1970), Bacteriological analytical manual (BAM) Online (2001b),

Bacteriological analytical manual (BAM) Online (2014), Bacteriological analytical manual (BAM) Online (2013), Mead and Adam (1997) และ Bujalance *et al.* (2006) ตามลำดับ

4) วิเคราะห์ข้อมูล

เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างประสิทธิภาพการลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเชื้อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* และ *E. coli* ของกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เติมสารละลายโซเดียมไดอะซิเตตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ในเลือดเปิดต้มที่อุณหภูมิการเก็บรักษาต่างกัน โดยวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธี GLM procedure และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแบบ PDIFF ด้วยโปรแกรม SAS (Statistical analysis system institute. 1998) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.3.3 การทดลองที่ 3 ผลของการประยุกต์ใช้เกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์ในการควบคุมจุลชีพด้านจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิตเลือดเปิดต้ม

3.3.3.1 การทดลองที่ 3.1 การปนเปื้อนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ขอบอุณหภูมิปานกลาง ต่ำ และสูงในกระบวนการผลิตเลือดเปิดต้ม

ทำการเก็บตัวอย่างที่อาจเป็นแหล่งการปนเปื้อนจุลินทรีย์เหล่านี้ จำนวน 7 จุด (ภาพที่ 3.1) ดังนี้

- 1) น้ำต้มอ่างที่ 1: โดยสุ่มเก็บน้ำต้มเลือดอ่างที่ 1 เป็นปริมาตร 100 มิลลิลิตร
- 2) เลือดเปิดต้มอ่างที่ 1: โดยสุ่มเก็บเลือดเปิดต้มจำนวน 2 ก้อน จากอ่างต้มเลือดอ่างที่ 1
- 3) น้ำต้มอ่างที่ 2: โดยสุ่มเก็บน้ำต้มเลือดอ่างที่ 2 เป็นปริมาตร 100 มิลลิลิตร
- 4) เลือดเปิดต้มอ่างที่ 2: โดยสุ่มเก็บเลือดเปิดต้มจำนวน 2 ก้อน จากอ่างต้มเลือดอ่างที่ 2
- 5) น้ำในถังลดอุณหภูมิถังที่ 1 (น้ำภายในถังเลือดเปิดต้ม): โดยสุ่มเก็บน้ำแช่เลือดในถังที่ 1 เป็นปริมาตร 100 มิลลิลิตร
- 6) น้ำในถังลดอุณหภูมิถังที่ 2: โดยสุ่มเก็บน้ำในน้ำแช่ถังที่ 2 เป็นปริมาตร 100 มิลลิลิตร

7) เลือดเปิดต้ม ณ จุดจำหน่าย: โดยสุ่มเลือด 2 ก้อน จากถุงเลือด 1 ถุง จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์เลือดเปิดต้ม ณ จุดจำหน่ายเพื่อศึกษาการปนเปื้อนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ขอบอุณหภูมิปานกลาง ต่ำ และสูง ของตัวอย่างทั้ง 7 จุด ตามวิธีการของ Bacteriological analytical manual online (2001a) ในข้อ 1) จากข้อ 3.3.1.3 โดยทำการเก็บรักษาตัวอย่างในกล่องโฟมน้ำแข็งอุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส ตลอดระยะเวลาการสุ่มเก็บตัวอย่างในโรง

ฆ่าเป็ดจนถึงการวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ต่างๆ ณ ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางเนื้อสัตว์ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง โดยมีระยะเวลาดำเนินการภายใน 6 ชั่วโมง

3.3.3.2 การทดลองที่ 3.2 ผลของการประยุกต์ใช้เกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์ในการควบคุมจุลชีพก่อโรคด้านจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิตเลือดเป็ดต้ม

ทำการศึกษาผลของการเติมสารละลายที่คัดเลือกได้จากข้อ 3.3.2.6 ที่ได้จากการทดลองที่ 2.6 ในการควบคุมจุลชีพก่อโรคในกระบวนการผลิตเลือดเป็ดต่อคุณภาพทางจุลินทรีย์ของเลือดเป็ดต้ม โดยทำการวางแผนการทดลองแบบ Independent T-test แบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มควบคุม (น้ำโรงงาน) และกลุ่มที่เติมสารละลายโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ ปริมาตร 800 มิลลิลิตร ทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 19 วัน ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 5 องศาเซลเซียส จากนั้นทำการวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง ต่ำ และสูง และเชื้อ *Lactobacillus* spp., *Pseudomonas* spp., *S. aureus*, *Salmonella* spp., *E. coli* และ *V. cholerae* ทำการเก็บตัวอย่าง 3 ซ้ำ ๆ ละ 2 ตัวอย่างต่อจุดในทุก ๆ 1 วัน

3.3.3.3 การวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์

1) การวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ชอบอุณหภูมิปานกลางต่ำ และสูง มาวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดตามวิธีของ Bacteriological analytical manual online (2001a) ดังข้อ 1) จากข้อ 3.3.1.3

2) การวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อ *Lactobacillus* spp. คัดแปลงจากวิธีของ Bujalance *et al.* (2006) ดังข้อ 3) จากข้อ 3.3.2.6

3) การวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อ *Pseudomonas* spp. คัดแปลงจากวิธีของ Mead and Adam (1977) ดังข้อ 3) จากข้อ 3.3.2.6

4) การวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อ *S. aureus* ตามวิธีของ Bacteriological analytical manual online (2001b) ดังข้อ 3) จากข้อ 3.3.1.3

5) การวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อ *Salmonella* spp. คัดแปลงจากวิธีของ ISO 6579 (2002) และ Bacteriological analytical manual online (2004) ดังข้อ 5) ในข้อ 3.3.1.3

6) การวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อ *E. coli* ตามวิธีของ Bacteriological analytical manual online (2013) ดังข้อ 2) จากข้อ 3.3.1.3

7) การวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อ *V. cholerae* ตามวิธีของ Bacteriological analytical manual online (2004) ดังข้อ 4) จากข้อ 3.3.1.3

3.3.3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

1) ทำการบันทึกปริมาณการปนเปื้อนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ขอบอุณหภูมิสูงปานกลาง และตำแหน่งในแต่ละจุดของกระบวนการฆ่าเปิด และกระบวนการผลิตเลือดเปิดดื่มทั้งก่อนและหลังจุด CCP นำข้อมูลที่ได้ไปประมวลผล และนำเสนอเป็นค่า $\log \text{cfu/cm}^2$ หรือ cfu/g หรือ $\log \text{cfu/ml}$

2) เชื้อ *S. aureus*, *Salmonella* spp., *E. coli* และ *V. cholerae* ประมวลผลและนำเสนอเป็นร้อยละที่มีการปนเปื้อนเกินมาตรฐานด้านจุลชีววิทยาของอาหาร และภาชนะสัมผัสอาหาร ฉบับที่ 2 (2553) โดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

3) หาค่าสหสัมพันธ์ของปริมาณการปนเปื้อนจุลินทรีย์ทั้งหมดขอบอุณหภูมิปานกลาง ต่ำ และสูงระหว่างขั้นตอนในแต่ละจุดเก็บตัวอย่าง โดยใช้ Corr procedure ด้วยโปรแกรม SAS (Statistical analysis system institute. 1998)

4) เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยปริมาณการปนเปื้อนจุลินทรีย์ *Lactobacillus* spp., *Pseudomonas* spp., *S. aureus*, *V. cholerae*, *Salmonella* spp. และ *E. coli* ของทั้งก่อนและหลังกำหนดจุด CCP โดยการใช้สถิติ Independent T-test ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป (SPSS for windows version 11.5: SPSS Inc.)

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การทดลองที่ 1 ปัจจัยที่มีผลต่อการปนเปื้อนและการประเมินจุลชีววัตถุที่ต้องควบคุม จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในกระบวนการผลิตเลือดเปิดต้ม

4.1.1 ข้อมูลเบื้องต้นของโรงงานฆ่าเปิดที่ใช้เป็นกรณีศึกษา

4.1.1.1 ที่ตั้งของโรงงาน

โรงงานฆ่าเปิดที่ทำการศึกษา ตั้งอยู่ในจังหวัดฉะเชิงเทรา

4.1.1.2 กำลังการผลิต

ทำการผลิตเพื่อการบริโภคภายในประเทศ ซึ่งมีกำลังการผลิตสูงสุด 15,000 ตัว มีผู้ปฏิบัติงานประมาณ 400 คน เปิดที่เข้าเชือดได้จากฟาร์มที่ได้รับการรับรองมาตรฐานสากล เปิดพันธุ์หนักจาก Grimaud freres ประเทศฝรั่งเศส และ Cherry Valley จากประเทศอังกฤษ โดยทุกกระบวนการจะเป็นการเลี้ยงใน “ระบบปิด” (Closing System) ทุกขั้นตอนของการผลิตอยู่ภายใต้การควบคุมตามหลักมาตรฐานฟาร์มปลอดโรคของกรมปศุสัตว์

4.1.2 การปนเปื้อนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ขอบอุณหภูมิปานกลาง ต่ำ และสูงในกระบวนการฆ่าเปิด

จากการตรวจสอบการปนเปื้อนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ขอบอุณหภูมิปานกลาง ต่ำ และสูง ในแต่ละขั้นตอนของกระบวนการฆ่าเปิด พบว่ามีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ขอบอุณหภูมิปานกลางอยู่ในระดับสูง โดยเฉพาะบริเวณคอเปิดก่อนเชือด ($5.34 \log \text{cfu/cm}^2$) บริเวณคอเปิดหลังเชือด ($4.87 \log \text{cfu/cm}^2$) และมิดก่อนเชือด ($4.21 \log \text{cfu/cm}^2$) ในขณะที่มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ขอบอุณหภูมิต่ำและสูงมากที่สุดในขั้นตอน คอเปิดก่อนเชือด ($2.13 \log \text{cfu/cm}^2$) และบริเวณคอเปิดก่อนเชือด ($3.38 \log \text{cfu/cm}^2$) ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4.1

4.1.3 การปนเปื้อนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ขอบอุณหภูมิปานกลาง ต่ำ และสูงในกระบวนการผลิตเลือดเปิดต้ม

4.1.3.1 การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ขอบอุณหภูมิปานกลาง ต่ำ และสูงในกระบวนการผลิตเลือดเปิดต้ม

จากการศึกษาการปนเปื้อนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ขอบอุณหภูมิปานกลาง ต่ำ และสูงในกระบวนการผลิตเลือดเปิดต้ม พบว่า น้ำเกลือ น้ำต้มอ่างที่ 2 น้ำในถังลดอุณหภูมิถึงที่ 1 และน้ำในถังลดอุณหภูมิถึงที่ 2 มีปริมาณจุลินทรีย์ที่ขอบอุณหภูมิปานกลาง 2.59, 2.17, 3.13 และเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.52 log cfu/ml ตามลำดับ ซึ่งคุณภาพน้ำเหล่านี้ไม่ผ่านมาตรฐานทางจุลินทรีย์ของน้ำอุปโภคที่กำหนดโดย สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม 2549 (Thai Industry Standard no. TIS 257-2549. 2006) ซึ่งกำหนดให้มีการปนเปื้อนจุลินทรีย์ทั้งหมดได้ไม่เกิน 2 log cfu/ml แต่อย่างไรก็ตามเมื่อเปิดฝัก ถั่ว จุดจำหน่ายมีการปนเปื้อนจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลางเป็น 2.54 log cfu/ml ซึ่งผ่านมาตรฐานทางจุลชีววิทยาของอาหารปรุงสุกได้กำหนดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดต้องมีปริมาณไม่เกิน 6 log cfu/g (ตารางที่ 4.1)

และเมื่อทำการศึกษาแหล่งการปนเปื้อนจุลินทรีย์ทั้งหมดโดยพิจารณาจากค่าสหสัมพันธ์ ในตารางที่ 4.2 พบว่า แหล่งปนเปื้อนของจุลินทรีย์ทั้งหมดในเลือดสดที่สำคัญที่สุดได้แก่ คอเปิดก่อนและหลังเชือด และมีคอก่อนเชือด โดยค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเลือดสดและคอเปิดก่อนเชือด คอเปิดหลังเชือด หรือมีคมีแนวโน้มสูง ($r=0.78, 0.77$ หรือ 0.77 ตามลำดับ) น้ำในถังลดอุณหภูมิถึงที่ 1 เป็นแหล่งการปนเปื้อนที่สำคัญในการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง ซึ่งมีค่าสหสัมพันธ์ระหว่างน้ำในถังลดอุณหภูมิถึงที่ 1 และเลือดเปิดฝักก่อนบรรจุลงในระดับสูง ($r=0.83$) น้ำในถังลดอุณหภูมิถึงที่ 1 เป็นแหล่งการปนเปื้อนที่สำคัญในการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลางในเลือดเปิดฝัก ซึ่งค่าสหสัมพันธ์มีแนวโน้มสูงระหว่างน้ำในถังลดอุณหภูมิถึงที่ 1 และเลือดเปิดฝัก ($r=0.90$) ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างน้ำในถังลดอุณหภูมิถึงที่ 2 และเลือดเปิดฝัก ถั่ว จุดจำหน่ายมีแนวโน้มสูง ($r=0.77$) นอกจากนี้ น้ำเกลือ น้ำในถังลดอุณหภูมิถึงที่ 1 และน้ำในถังลดอุณหภูมิถึงที่ 2 ที่ใช้สำหรับผสมกับเลือดสด และเลือดเปิดฝักมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลางในตัวอย่างบางซ้าที่มีระดับสูงมากกว่ามาตรฐานน้ำดื่มที่สามารถนำมาบริโภคได้ (Thai Industry Standard no. TIS 257-2549. 2006) แต่อย่างไรก็ตาม การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลางในเลือดเปิดฝักต่ำกว่ามาตรฐานทางจุลชีววิทยาของอาหารปรุงสุก (DMSC. 2010) น้ำเกลือเป็นแหล่งการปนเปื้อนที่สำคัญในการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำในเลือดผสมน้ำเกลือ ($r=0.83$) มือพนักงานจับด้วย น้ำดื่มอ่างที่ 1 และน้ำดื่มอ่างที่ 2 เป็นแหล่งการปนเปื้อนที่สำคัญในการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิสูงในกระบวนการผลิตเลือดเปิดฝัก ซึ่งจะมีค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเลือดผสมน้ำเกลือและมือพนักงานจับด้วยมีแนวโน้มสูง ($r=0.76$) ระหว่างเลือดเปิดฝักอ่างที่ 1 และน้ำดื่มอ่างที่ 1 ($r=0.90$) และเลือดเปิดฝักอ่างที่ 2 และน้ำดื่มอ่างที่ 2 อยู่ในระดับสูง ($r=0.86$) ดังนั้น จากค่าสหสัมพันธ์ แสดงให้เห็นถึงการปนเปื้อนจุลินทรีย์ทั้งหมดในกระบวนการฆ่าเปิดจนถึงกระบวนการผลิตเลือดเปิดฝัก ซึ่งแต่ละขั้นตอนสามารถทำให้เกิดการปนเปื้อนในเลือดเปิดฝักได้ โดยเฉพาะควรคำนึงถึงสุขลักษณะของพนักงาน การทำความสะอาด เครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆ ตลอดจนคุณภาพน้ำที่ใช้ในกระบวนการผลิตอย่างเคร่งครัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.3.2 การปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus*, *Salmonella* spp., *E. coli* และ *V. cholerae* ในเลือดเปิดดื่ม

จากการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus*, *Salmonella* spp., *E. coli* และ *V. cholerae* ในเลือดเปิดดื่ม ณ จุดจำหน่ายตามมาตรฐานทางจุลชีววิทยาของอาหารปรุงสุกได้กำหนดปริมาณจุลินทรีย์ในอาหารปรุงสุกโดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 2553 (DMSC. 2010) ระบุให้เชื้อ *E. coli* พบ ≤ 3 MPN/g, *S. aureus* พบ ≤ 2 log cfu/g, *Salmonella* spp. และ *V. cholerae* ไม่พบใน 25 g พบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* อยู่ในช่วง 2 log cfu/g ในเลือดเปิดดื่มซึ่งคิดเป็นเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนเกินมาตรฐานทางจุลชีววิทยา 33% (ตารางที่ 4.3) และจากผลการตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp., *E. coli* และ *V. cholerae* พบว่า ไม่เกินมาตรฐานทางจุลชีววิทยาของอาหารปรุงสุก ทั้งนี้การปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* อาจมีแหล่งการปนเปื้อนมาจากพนักงานในระหว่างการปฏิบัติงาน โดยเฉพาะที่มือเมื่อมาสัมผัสกับเลือดเปิดดื่มก็อาจทำให้เกิดการแพร่กระจายการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* ได้ เนื่องจากมักพบเชื้อนี้ได้ตามบาดแผลบนผิวหนัง และสารพิษสามารถทนความร้อนได้ดี (จรียา และคณะ. 2536) นอกจากนี้ Lsigidi *et al.* (1992) ได้รายงานว่าพบการปนเปื้อนเชื้อ *S. aureus* บนมือของพนักงาน อุปกรณ์ และเครื่องมือในโรงฆ่าสัตว์ปีก แต่ในการศึกษานี้ยังมิได้วิเคราะห์หาแหล่งการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* ในกระบวนการผลิตจึงควรมีการศึกษาแหล่งการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* ต่อไปเพื่อเป็นแนวทางในการป้องกันการปนเปื้อนบนผลิตภัณฑ์และทำให้ผู้บริโภคมีความปลอดภัยมากขึ้น และจากการศึกษานี้ถึงแม้จะไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp., *E. coli* และ *V. cholerae* ในเลือดเปิดดื่ม แต่ควรทำการศึกษากการปนเปื้อนของแบคทีเรียดังกล่าวเนื่องจากมีการระบุตามมาตรฐานทางจุลชีววิทยาของอาหารปรุงสุกโดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 2553

ตารางที่ 4.1 แหล่งการปนเปื้อนในกระบวนการผลิตเลือดเปิดต้ม

ขั้นตอนของกระบวนการผลิต	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (log cfu)			Unit
	Mesophile ^{1,2/}	Psychrophile	Thermophile	
การปนเปื้อนแบคทีเรียทั้งหมดก่อนกระบวนการฆ่า				
คอเปิดก่อนเชือด	5.34 ± 0.98	2.13 ± 0.48	3.38 ± 0.68	cm ⁻²
มีด	4.21 ± 0.92	1.41 ± 0.52	0.66 ± 0.78	cm ⁻²
คอเปิดหลังเชือด	4.87 ± 0.95	1.55 ± 0.46	2.24 ± 0.60	cm ⁻²
มือพนักงานเชือด	4.55 ± 0.89	1.31 ± 0.24	0.30 ± 0.47	cm ⁻²
เลือดสด	3.11 ± 0.75	1.23 ± 0.27	ND	ml ⁻¹
การปนเปื้อนในกระบวนการผลิตเลือดเปิดต้ม				
น้ำเกลือ	2.59 ± 0.44	1.42 ± 0.57	0.10 ± 0.16	ml ⁻¹
มือพนักงานจับถ้วย	3.37 ± 0.53	1.56 ± 0.57	0.55 ± 0.86	cm ⁻²
ถ้วยสำหรับใส่เลือด	3.73 ± 0.48	1.24 ± 0.36	0.14 ± 0.33	cm ⁻²
เลือดผสมน้ำเกลือ	3.55 ± 0.67	2.09 ± 0.57	0.12 ± 0.30	ml ⁻¹
น้ำต้มอ่างที่ 1	1.39 ± 0.27	0.20 ± 0.22	0.58 ± 0.68	ml ⁻¹
ไม้กวน	2.88 ± 0.80	ND ^{3/}	2.02 ± 0.57	cm ⁻²
เลือดเปิดต้มอ่างที่ 1	2.36 ± 0.71	0.28 ± 0.45	0.28 ± 0.45	ml ⁻¹
น้ำต้มอ่างที่ 2	2.17 ± 0.56	0.21 ± 0.35	0.99 ± 0.82	ml ⁻¹
เลือดเปิดต้มอ่างที่ 2	2.78 ± 0.68	0.37 ± 0.64	0.48 ± 0.55	g ⁻¹
น้ำในถังลดอุณหภูมิถึงที่ 1	3.13 ± 0.50	1.73 ± 0.23	0.17 ± 0.41	ml ⁻¹
เลือดเปิดต้มก่อนบรรจุถุง	3.07 ± 0.46	3.07 ± 0.49	0.49 ± 0.77	g ⁻¹
น้ำในถังลดอุณหภูมิถึงที่ 2	2.52 ± 0.64	2.60 ± 0.36	0.05 ± 0.12	ml ⁻¹
เลือดเปิดต้มบรรจุถุง	2.98 ± 0.44	2.24 ± 0.33	0.63 ± 0.69	g ⁻¹
เลือดเปิดต้ม ณ จุดจำหน่าย	2.54 ± 0.28	1.61 ± 0.33	1.05 ± 0.83	g ⁻¹

^{1/} มาตรฐานทางจุลชีววิทยาของอาหารปรุงสุกได้กำหนดปริมาณจุลินทรีย์ในอาหารปรุงสุกโดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 2553 (DMSC. 2010) ระบุให้ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (mesophile, ≤6 log cfu/g)

^{2/} มาตรฐานทางจุลินทรีย์ของน้ำบริโภคที่กำหนดโดยสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม 2549 (Thai Industry Standard no. TIS 257-2549. 2006) ระบุให้ปริมาณจุลินทรีย์ (mesophile, ≤2.70 log cfu/ml)

^{3/} ND; จุลินทรีย์ต่ำกว่า 1 log cfu/cm² ในการทดลองทุกซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างแหล่งการปนเปื้อนและเลือดเปิดดื่มในแต่ละขั้นตอนของกระบวนการผลิต

ตัวแปรที่ 1	ตัวแปรที่ 2	ค่าสหสัมพันธ์ ^{1/}			P-value ^{1/, 2/}		
		M	P	T	M	P	T
เลือดสด	คอเปิดก่อนเชือด	0.78	-	-	0.07	NS	NS
เลือดสด	มีด	0.77	-	-	0.07	NS	NS
เลือดสด	คอเปิดหลังเชือด	0.77	-	-	0.07	NS	NS
เลือดผสมน้ำเกลือ	น้ำเกลือ	-	0.83	-	NS	0.04	NS
เลือดผสมน้ำเกลือ	มือพนักงานจับถ้วย	-	-	0.76	NS	NS	0.08
เลือดเปิดดื่มอ่างที่ 1	น้ำดื่มอ่างที่ 1	-	-	0.90	NS	NS	0.01
เลือดเปิดดื่มอ่างที่ 2	น้ำดื่มอ่างที่ 2	-	-	0.96	NS	NS	0.03
เลือดเปิดดื่มก่อนบรรจุถุง	น้ำในถังลดอุณหภูมิถึงที่ 1	0.83	-	-	0.04	NS	NS
เลือดเปิดดื่ม	น้ำในถังลดอุณหภูมิถึงที่ 1	0.90	-	-	0.01	NS	NS
เลือดเปิดดื่ม	น้ำในถังลดอุณหภูมิถึงที่ 2	0.77	-	-	0.07	NS	NS

^{1/} M (จุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง) P (จุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำ) และ T (จุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิสูง)

^{2/} ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรที่ 1 และ 2 มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P \leq 0.10$)

และ NS คือ ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรที่ 1 และ 2 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.10$)

ตารางที่ 4.3 การปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus*, *Salmonella* spp., *E. coli* และ *V. cholerae* ในเลือดเปิดดื่ม

ชนิดของจุลินทรีย์	การปนเปื้อนของจุลินทรีย์มีการปนเปื้อนเกินมาตรฐาน (%) ^{1/, 2/}
<i>S. aureus</i>	33.33 (4/12)
<i>Salmonella</i> spp.	0.00 (0/12)
<i>E. coli</i>	0.00 (0/12)
<i>V. cholerae</i>	0.00 (0/12)

^{1/} มาตรฐานทางจุลชีววิทยาของอาหารปรุงสุกได้กำหนดปริมาณจุลินทรีย์ในอาหารปรุงสุกโดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 2553 (DMSC. 2010) ระบุให้เชื้อ *E. coli* (≤ 3 MPN/g), *S. aureus* (≤ 2 log cfu/g), *Salmonella* spp. และ *V. cholerae* (ไม่พบใน 25 g)

^{2/} $x\% = (y/z)$; x (ร้อยละการปนเปื้อนของจุลินทรีย์มีการปนเปื้อนเกินมาตรฐาน) y (ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดมีการปนเปื้อนเกินมาตรฐาน) และ z (ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด)

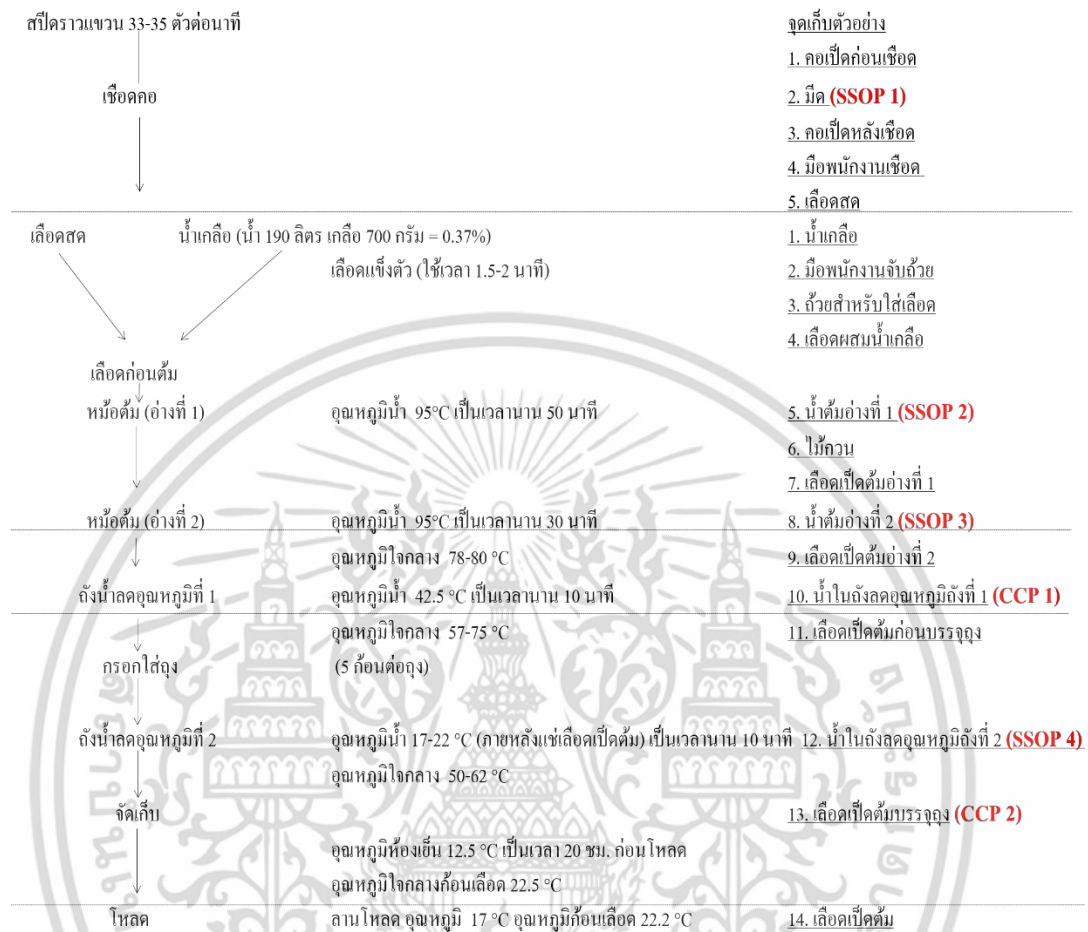
ก่อนการพิจารณาและประเมินจุดวิกฤตที่ควบคุมควรมีการเขียนผังกระบวนการผลิตเสียก่อน และทำการทวนสอบผังกระบวนการผลิต จากนั้นจึงกำหนดจุดวิกฤตบนผังนั้น (ภาพที่ 4.1)

ตอบคำถาม 4 คำถามในผังการตัดสินใจ ดังภาพที่ 2.2 ถ้าจุดวิกฤตที่ต้องควบคุมจุดใดมีขั้นตอนเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สวจนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่อไปในกระบวนการผลิตที่สามารถลดหรือขจัดอันตราย หรือสามารถใช้โปรแกรมพื้นฐาน (SSOPs) ในการควบคุมคุณภาพจัดการได้ก็ไม่จำเป็นต้องใช้โปรแกรม HACCP ส่วนจุดวิกฤตที่ต้องควบคุมใดที่ไม่สามารถใช้โปรแกรมพื้นฐานจัดการลดความเสี่ยงได้จึงใช้โปรแกรม HACCP จัดการ (สุเมธชา วัฒนสินธุ์, 2545) ยกตัวอย่างเช่น กำหนดให้มีคเป็นจุดวิกฤตที่ต้องควบคุม ซึ่งจากการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการปนเปื้อนจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในกระบวนการผลิตเลือดเปิด ต้มพบว่า มีคเป็นแหล่งการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ชอบอุณหภูมิปานกลางที่สำคัญในเลือดสด และเมื่อทำการตอบคำถามในผังการตัดสินใจสามารถสรุปได้ว่า มีคไม่ใช่จุดวิกฤตที่ต้องควบคุม เนื่องจากมีขั้นตอนต่อไปที่ช่วยลดหรือขจัดอันตรายที่อาจปนเปื้อนจากมีคได้ เช่น มีการใช้อุณหภูมิสูงและต่ำในกระบวนการผลิต เป็นต้น โดยจุด SSOPs ในผังกระบวนการผลิตเลือดเปิดต้มได้แก่ จุดที่ 1 คือ มีค (SSOP 1) ควรทำความสะอาดมีคและนั่ง ฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง sterilizer ในระหว่างปฏิบัติงานและควรเปลี่ยนมีคใหม่เป็นระยะ จุดที่ 2 และ 3 คือ อ่างต้มเลือดที่ 1 (SSOP 2) และ 2 (SSOP 3) ตามลำดับ ควรควบคุมระยะเวลาการต้มอุณหภูมิ น้ำ และอุณหภูมิใจกลางก่อนเลือดในระหว่างการต้มให้เป็นไปตามกระบวนการผลิตที่เหมาะสมสำหรับอาหารปรุงสุก จุดที่ 4 คือ น้ำในถังลดอุณหภูมิถึงที่ 2 (SSOP 4) ควรใช้น้ำเย็นจัด (4-10 องศาเซลเซียส) และแช่น้ำเย็นจนกว่าเลือดภายในถุงมีอุณหภูมิต่ำกว่า 15 องศาเซลเซียสก่อนทำการเก็บรักษา ดังแสดงในภาพที่ 4.4.1 นอกจากนี้สัญลักษณ์ของนามัยของพนักงาน เช่น การสวมใส่หน้ากากอนามัย ถุงมือ หมวกคลุมผม รองเท้าบูทและชุดเครื่องแบบพนักงานในขณะที่ปฏิบัติงานก็เป็นอีกหนึ่งสิ่งสำคัญในการช่วยลดการปนเปื้อนในกระบวนการผลิต และเมื่อทำการกำหนดจุดวิกฤตร่วมกับการพิจารณาจากการใช้ผังการตัดสินใจ (decision tree) ในกระบวนการผลิตเลือดเปิด จึงสามารถประเมินจุดวิกฤตที่ต้องควบคุมในกระบวนการผลิตเลือดเปิดต่อคุณภาพทางจุลินทรีย์ของเลือดเปิดต้มได้ 2 จุดคือ น้ำในถังลดอุณหภูมิถึงที่ 1 (CCP 1) และอุณหภูมิในการเก็บรักษาเลือดเปิดต้ม (CCP 2) ดังแสดงในภาพที่ 4.1. โดยพบว่า น้ำในถังลดอุณหภูมิมีค่าสหสัมพันธ์ระหว่างน้ำในถังลดอุณหภูมิถึงที่ 1 และอุณหภูมิในการเก็บรักษาเลือดเปิดต้มอยู่ในระดับสูง และไม่มีขั้นตอนต่อไปในกระบวนการผลิตที่ช่วยลดหรือขจัดอันตรายของผลิตภัณฑ์ เนื่องจากอุณหภูมิห้องเย็นสำหรับการเก็บรักษาเลือดเปิดต้มไม่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาจึงไม่สามารถเก็บรักษาให้เลือดเปิดต้มมีอายุการเก็บรักษาเป็นระยะเวลานาน สำหรับมาตรการในการควบคุมจุดวิกฤต คือ การเติมเกลือของกรดอินทรีย์และ โซเดียมคลอไรด์ลงในน้ำในถังลดอุณหภูมิถึงที่ 1 ร่วมกับการควบคุมอุณหภูมิในการเก็บรักษาเลือดเปิดต้ม เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาเลือดเปิดต้ม ซึ่งจะทำการศึกษาต่อไปในการทดลองที่ 4.2 เพื่อคัดเลือกชนิดและความเข้มข้นของเกลือของกรดอินทรีย์และ โซเดียมคลอไรด์เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในเลือดเปิดต้ม และสามารถควบคุมจุดวิกฤตที่ต้องควบคุมในกระบวนการผลิตเลือดเปิดต้มได้ ทั้งนี้หากผู้ประกอบการให้ความสำคัญกับ SSOPs ของแต่ละขั้นตอนในกระบวนการผลิตเลือดเปิดต้มจะทำให้เลือดเปิดต้ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีการปนเปื้อนจุลินทรีย์เริ่มต้นลดลงและส่งเสริมให้การควบคุมจุดวิกฤตมีประสิทธิภาพ และเลือดเปิดต้มมีอายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น



ภาพที่ 4.1 การกำหนดจุด SSOPs และ CCPs ในกระบวนการผลิตเลือดเปิดต้มในโรงฆ่าเปิด จังหวัด ฉะเชิงเทรา

4.2 การทดลองที่ 2 ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์ต่ออายุการเก็บรักษาเลือดเปิดต้ม

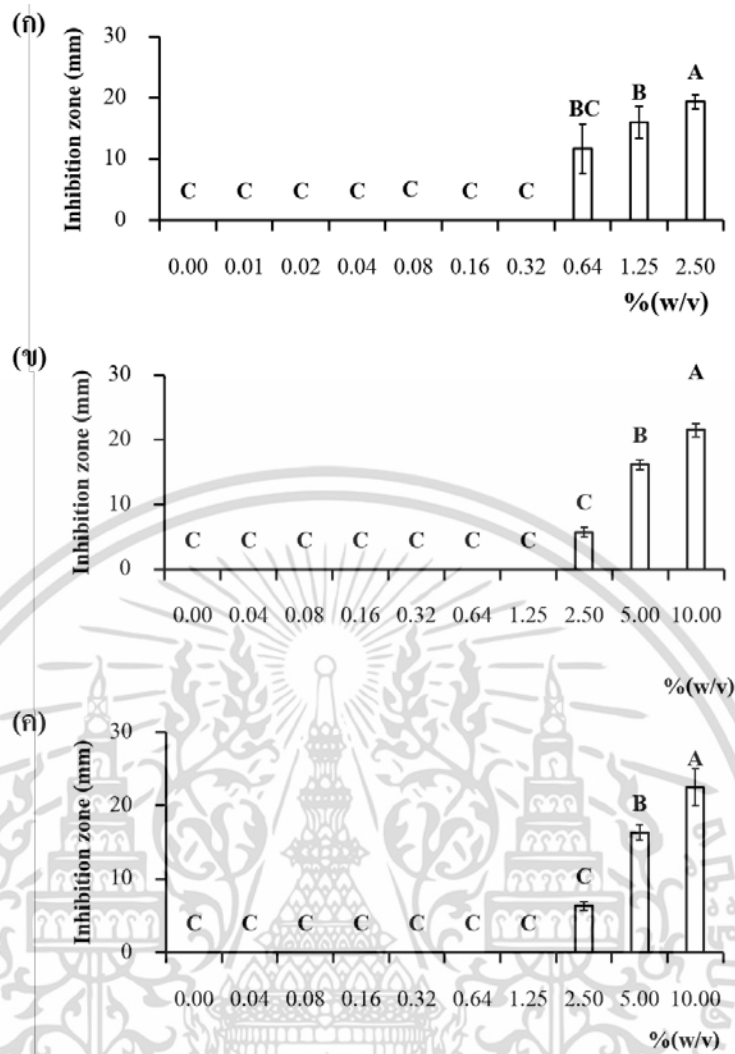
4.2.1 การทดลองที่ 2.1 ความเข้มข้นของสารละลายเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* และ *E. coli* ด้วยสารละลายเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

จากการศึกษาผลของสารละลายโซเดียมไดอะซิเตต โซเดียมซิเตรท โพแทสเซียมซิเตรท โซเดียมแลคเตต และโพแทสเซียมแลคเตตในช่วงความเข้มข้น 0-2.5, 0-10 และ 0-6% (w/v) ตามลำดับต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium*, และ *E. coli* พบว่า สารละลายโซเดียมไดอะซิเตตความเข้มข้น $\geq 0.16\%$ (w/v) สามารถยับยั้งการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

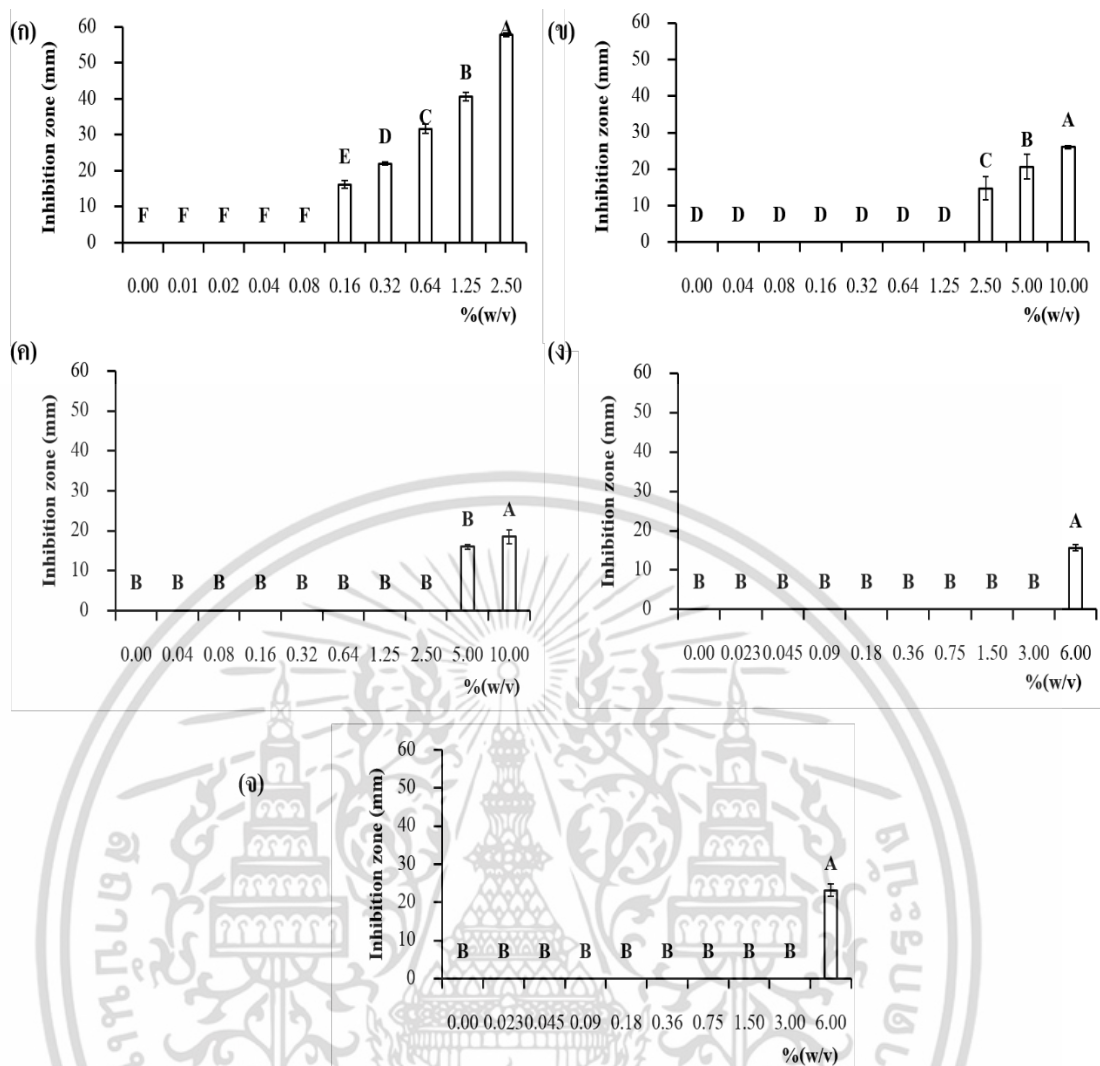
เจริญของแบคทีเรียที่ใช้ในการศึกษาได้ทุกสายพันธุ์ ยกเว้น เชื้อ *L. sakei* ต้องใช้ที่ระดับความเข้มข้น $\geq 0.64\%$ (w/v) จึงสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียชนิดนี้ได้ สารละลายโซเดียมซิติเรทความเข้มข้น $\geq 1.25\%$ (w/v) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ ส่วนเชื้อ *L. sakei* และ *P. fluorescens* ต้องใช้ความเข้มข้น $\geq 2.5\%$ (w/v) จึงสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้งสองชนิดนี้ได้ สำหรับสารละลายโพแทสเซียมซิติเรทความเข้มข้น $\geq 1.25, 2.5$ และ $\geq 5\%$ (w/v) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus*, *L. sakei* และ *P. fluorescens* ได้ตามลำดับ และสารละลายโซเดียมแลคเตท และ โพแทสเซียมแลคเตทความเข้มข้น ≥ 3 และ $\geq 6\%$ (w/v) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. fluorescens* ได้เพียงสายพันธุ์เดียวเท่านั้น (ภาพที่ 4.2- 4.6) ซึ่งความเข้มข้นของสารละลายเกลือของกรดอินทรีย์และ โซเดียมคลอไรด์มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์แตกต่างกัน ถ้ามีการเพิ่มปริมาณของสารเคมีที่ใช้มากขึ้น และขนาดของบริเวณใสที่เกิดขึ้น (inhibition zone) จะกว้างขึ้นด้วย และประสิทธิภาพในการชะลอการเจริญหรือทำลายจุลินทรีย์จะยิ่งมากขึ้นด้วย (สิวาพร สิวเวช. 2546)

ผลการศึกษาสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้าที่พบว่า การใช้เกลือของกรดอินทรีย์สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารได้ โดยเฉพาะเชื้อ *Salmonella* spp., *E. coli* และ *L. monocytogenes* (Mbandi and Shelef. 2001; Hwang *et al.* 2011) เกลือของกรดอินทรีย์มีสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้นั้นเนื่องจาก เมื่อสภาวะภายในเซลล์เกิดความเครียดสูงขึ้นส่งผลให้เกิดการให้โปรตอนบริเวณภายนอกเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ และเกิดความเป็นกรดภายในไซโตพลาสมิก ทำให้เกิดการเสียความสามารถในการสังเคราะห์โปรตีน เซลล์หยุดชะงักการทำงานและตายในที่สุด (Silva *et al.* 2012) และงานวิจัยของ Schlyter *et al.* (1993) ยังพบว่า การใช้โซเดียมไดอะซิติเตทสามารถชะลอการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหารได้ โดยการใช้โซเดียมไดอะซิติเตทความเข้มข้นมากกว่า 0.2% สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. monocytogenes* ได้ และจากการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายเกลือของกรดอินทรีย์และ โซเดียมคลอไรด์ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* และ *E. coli* ด้วยสารละลายเกลือของกรดอินทรีย์และ โซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ สามารถสรุปได้ว่า การใช้สารละลายโซเดียมไดอะซิติเตทและ โซเดียมซิติเรทที่มีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบทั้ง 5 สายพันธุ์ได้ครอบคลุมมากที่สุด จึงนำเกลือของกรดอินทรีย์ทั้งสองชนิดนี้ศึกษาต่อไปในการทดลองที่ 2.2

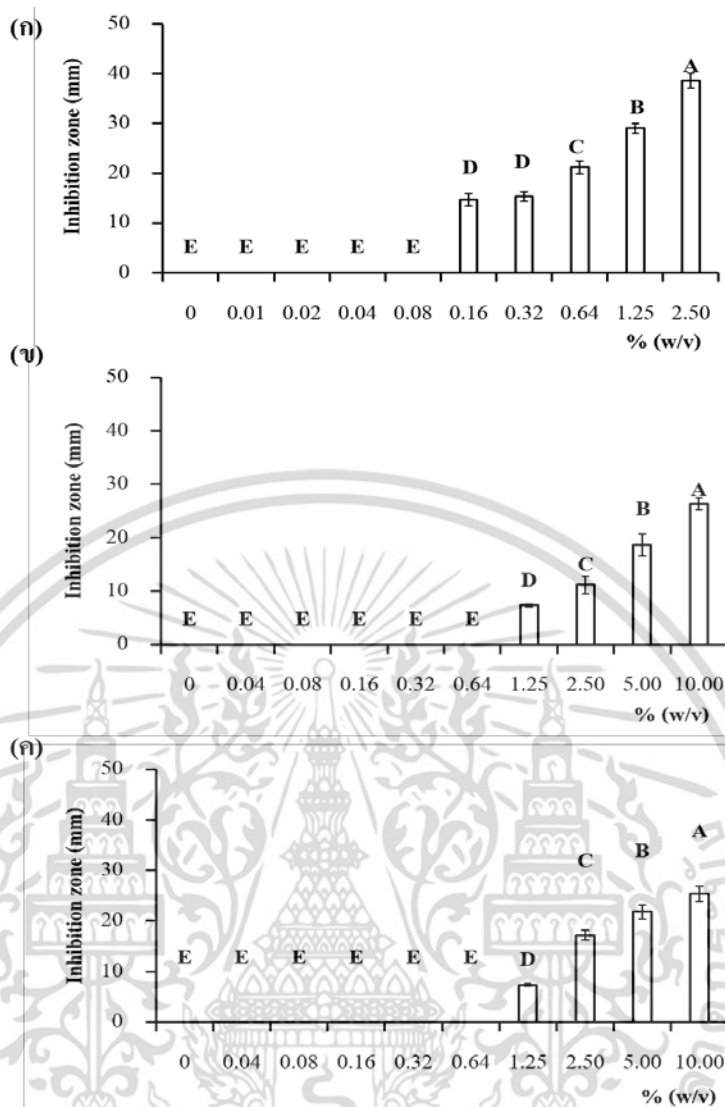


ภาพที่ 4.2 ผลของสารละลาย (ก) โซเดียมไดอะซิเตท (ข) โซเดียมซิเตรท และ (ค) โพแทสเซียมซิเตรทในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. sakei* โดยวิธี Agar well diffusion method; ^{A-C} ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ (P<0.05)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

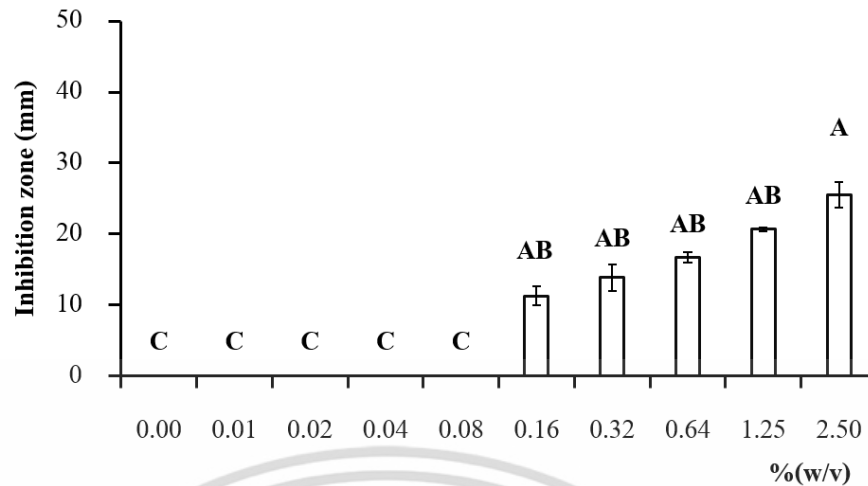


ภาพที่ 4.3 ผลของสารละลาย (ก) โซเดียมไคโอะซิเตท (ข) โซเดียมซิเตรท (ค) โพแทสเซียมซิเตรท (ง) โซเดียมแลคเตท และ (จ) โพแทสเซียมแลคเตท ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. fluorescens* โดยวิธี Agar well diffusion method; ^{A-F} ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

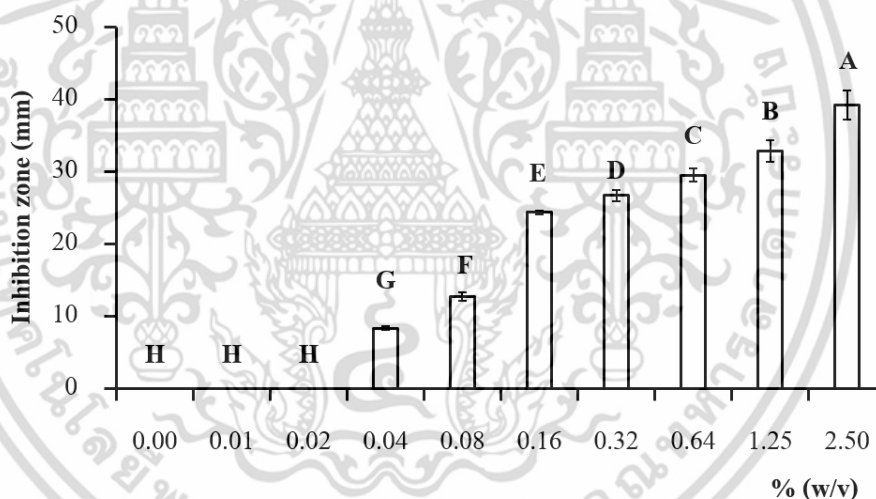


ภาพที่ 4.4 ผลของสารละลาย (ก) โซเดียมไดอะซิติท (ข) โซเดียมซิเตรท และ (ค) โพแทสเซียมซิเตรทในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* โดยวิธี Agar well diffusion method; ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.5 ผลของสารละลายโซเดียมไดอะซิเตทในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. Typhimurium* โดยวิธี Agar well diffusion method; ^{A-C} ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$)



ภาพที่ 4.6 ผลของสารละลายโซเดียมไดอะซิเตทในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* โดยวิธี Agar well diffusion method; ^{A-H} ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 การทดลองที่ 2.2 ความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญและทำลายจุลินทรีย์ของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อเชื้อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* และ *E. coli*

4.2.2.1 ความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อเชื้อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* และ *E. coli*

จากการวิเคราะห์หาความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อเชื้อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* และ *E. coli* ด้วยวิธี Broth microdilution method ตามวิธีของ CLSI M7-A4 (2002) พบว่า ค่า MIC ของสารละลายโซเดียมไดอะซิเตท โซเดียมซิเตรทและโซเดียมคลอไรด์ต่อเชื้อ *L. sakei* มีค่าเท่ากับ 0.64, 1.25 และ 10% (w/v) เชื้อ *P. fluorescens* มีค่าเท่ากับ 0.16, 1.25 และ 2.5% (w/v) เชื้อ *S. aureus* มีค่าเท่ากับ 0.16, 0.16 และ 10% (w/v) ค่า MIC ของสารละลายโซเดียมไดอะซิเตท และโซเดียมคลอไรด์ในการยับยั้งการเจริญเชื้อ *S. Typhimurium* มีค่าเท่ากับ 0.16 และ 10% (w/v) และเชื้อ *E. coli* มีค่าเท่ากับ 0.08 และ 5% (w/v) ตามลำดับ สำหรับค่า MBC ของสารละลายโซเดียมไดอะซิเตท โซเดียมซิเตรทและโซเดียมคลอไรด์ต่อเชื้อ *L. sakei* มีค่าเท่ากับ 1.28, 2.5 และ 10% (w/v) ค่า MBC ของสารละลายโซเดียมไดอะซิเตทและโซเดียมคลอไรด์ต่อเชื้อ *P. fluorescens* มีค่าเท่ากับ 0.16 และ 10% (w/v) ค่า MBC ของสารละลายโซเดียมไดอะซิเตท โซเดียมซิเตรทและโซเดียมคลอไรด์ต่อเชื้อ *S. aureus* มีค่าเท่ากับ 0.16, 0.32 และ 10% (w/v) ค่า MBC ของสารละลายโซเดียมไดอะซิเตทและโซเดียมคลอไรด์ต่อเชื้อ *S. Typhimurium* มีค่าเท่ากับ 0.16 และ 10% (w/v) และเชื้อ *E. coli* มีค่าเท่ากับ 0.16 และ 10% (w/v) ตามลำดับ (ตารางที่ 4.4)

จากผลการทดลองดังกล่าวพบว่า การใช้สารละลายเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์ มีคุณสมบัติในการทำลายจุลินทรีย์ เนื่องจากสารทั้งสองชนิดจะไปทำลายที่ผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ ซึ่งอาจมีผลต่อการทำงานของเมมเบรนและทำให้สูญเสียความสามารถในการควบคุมการแลกเปลี่ยนสารระหว่างภายในเซลล์และนอกเซลล์ (Tokarsky and Marshall, 2008) นอกจากนี้การเสริมฤทธิ์กันของสารยังขึ้นอยู่กับโครงสร้างของผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ซึ่งแบคทีเรียแกรมบวกมีความไวต่อสิ่งรบกวนได้ไวกว่าแบคทีเรียแกรมลบอาจเนื่องมาจากความแตกต่างกันของโครงสร้างผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมลบจะมีผนังเซลล์ที่ซับซ้อนและมีโครงสร้างหลายชั้นประกอบด้วย ชั้นที่เป็นฟอสโฟลิปิด (phospholipids) และลิโปลิแซคคาไรด์ (lipopolysaccharide) ซึ่งเป็นอุปสรรคต่อการผ่านเข้าออกเซลล์ของสารรวมถึงยาปฏิชีวนะกลุ่มสังเคราะห์ และจากธรรมชาติ ส่วนแบคทีเรียแกรมบวกมีผนังเพียงชั้นเดียวที่เป็นเปปทิโดไกลแคน (peptidoglycan) ซึ่งไม่เป็นอุปสรรคต่อการซึมผ่านของสาร (Gupta *et al.* 2012) และจากการศึกษาค่า MIC ของโซเดียม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไคอะซิเตท โซเดียมซิเตรท และโซเดียมคลอไรด์สามารถสรุปได้ว่า ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของโซเดียมไคอะซิเตท โซเดียมซิเตรท และโซเดียมคลอไรด์ในการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบทั้ง 5 สายพันธุ์มีค่าเท่ากับ 0.64, 0.32 และ 20% (w/v) ตามลำดับ จึงนำความเข้มข้นดังกล่าวไปใช้ศึกษาความสามารถในการยับยั้งการเจริญและทำลายเชื้อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* และ *E. coli* ของสารละลายเกลือของกรดอินทรีย์ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ต่อไป

ตารางที่ 4.4 ความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งแบคทีเรีย (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลายแบคทีเรีย (MBC)^a ของสารละลายโซเดียมไคอะซิเตท โซเดียมซิเตรทและโซเดียมคลอไรด์ต่อเชื้อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* และ *E. coli*

ชนิดของแบคทีเรีย	SD ^{b,c}		SC ^{b,c}		NaCl ^{b,c}	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
<i>L. sakei</i>	0.64	1.28	1.25	2.50	10	10
<i>P. fluorescens</i>	0.16	0.16	1.25	>2.5	2.5	5
<i>S. aureus</i>	0.16	0.16	0.16	0.32	20	20
<i>S. Typhimurium</i>	0.16	0.16	>2.5	>2.5	10	10
<i>E. coli</i>	0.08	0.16	>2.5	>2.5	5	10

^a MIC (ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งแบคทีเรีย) และ MBC (ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลายแบคทีเรีย)

^b ความเข้มข้นร้อยละของสารละลายโซเดียมไคอะซิเตท โซเดียมซิเตรท และโซเดียมคลอไรด์ (w/v)

^c SD (โซเดียมไคอะซิเตท) SC (โซเดียมซิเตรท) และ NaCl (โซเดียมคลอไรด์)

4.2.2.2 การศึกษาความสามารถในการยับยั้งการเจริญและทำลายเชื้อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* และ *E. coli* ของสารละลายเกลือของกรดอินทรีย์ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์

ค่าดัชนีการออกฤทธิ์ร่วมกันเพื่อยับยั้งแบคทีเรีย (Fractional inhibitory concentration index, FICI) และค่าดัชนีการออกฤทธิ์ร่วมกันเพื่อทำลายแบคทีเรีย (Fractional bactericidal concentration index, FBICI) ของสารละลายเกลือของกรดอินทรีย์ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ พบว่า การใช้สารละลายโซเดียมไคอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์มีฤทธิ์เสริมกันบางส่วนในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. fluorescens* ซึ่งมีค่า FBICI เท่ากับ 1.00 ที่ความเข้มข้น 0.08% (w/v) + 5% (w/v) การใช้สารละลายโซเดียมไคอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์มีฤทธิ์เสริมกันบางส่วนในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ซึ่งมีค่า FICI เท่ากับ 0.75 ที่ความเข้มข้น 0.08

% (w/v) + 5% (w/v) และการใช้สารละลายโซเดียมไดอะซิเตตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์มีฤทธิ์เสริมกันบางส่วนในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. Typhimurium* ซึ่งมีค่า FICI และ FBCI เท่ากับ 0.53 ที่ความเข้มข้น 0.08% (w/v) + 0.32% (w/v) และ 1.00 ที่ความเข้มข้น 0.08% (w/v) + 5% (w/v) ตามลำดับ และการใช้สารละลายโซเดียมไดอะซิเตตร่วมกับโซเดียมซิเตรทมีฤทธิ์เสริมกันบางส่วนในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. sakei* ซึ่งมีค่า FBCI เท่ากับ 0.51 ที่ความเข้มข้น 0.01% (w/v) + 1.25% (w/v) (ตารางที่ 4.5) สำหรับการใส่เกลือของกรดอินทรีย์ (โซเดียมไดอะซิเตต และ โซเดียมซิเตรท) จะช่วยเสริมฤทธิ์ในการยับยั้งของแบคทีเรีย โดยเป็นผลมาจากค่า pKa ซึ่งค่ากรดอะซิติกเท่ากับ 4.67 กรดแลคติกเท่ากับ 3.86 และกรดซิตริกเท่ากับ 3.02, 4.74 และ 5.40 (Manso. 2011; Pezo. 2012) และจากการทดลองการใช้โซเดียมไดอะซิเตตมีผลในการยับยั้งแบคทีเรียมากที่สุดเมื่อเทียบกับสารละลายชนิดอื่น เนื่องจากมี ค่า pKa สูงจะทำให้กรดอินทรีย์หยุดการแตกตัว และเกลือของกรดอินทรีย์ที่ไม่แตกตัวในสิ่งแวดล้อมจะเข้าไปแตกตัวในเซลล์ของแบคทีเรีย มีผลต่อระบบการทำงานต่าง ๆ ของแบคทีเรียดังกล่าวข้างต้น (Shelef. 1994)

ตารางที่ 4.5 ค่า FICI และ FBCI ของสารละลายโซเดียมไคโอะซิเตทร่วมกับโซเดียมซิเตรท และโซเดียมไคโอะซิเตทร่วมกับโซเดียมกลูไคโอะไรต์ที่ยับยั้งการเจริญและทำลายเชื้อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* และ *E. coli*

ชนิดของแบคทีเรีย	ชนิดของสาร	ชนิดของดัชนี ^a	ความเข้มข้นของสาร ^b	ค่าของดัชนี	แปลผล
<i>L. sakei</i>	SD + SC	FICI	0.01 + 1.25	1.02	ไม่ออกฤทธิ์
		FBCI	0.01 + 1.25	0.51	ออกฤทธิ์เสริมกันบางส่วน
	SD + NaCl	FICI	0.01+10	1.02	ไม่ออกฤทธิ์
		FBCI	0.02 + 10	1.02	ไม่ออกฤทธิ์
<i>P. fluorescens</i>	SD + SC	FICI	0.08 + 1.25	1.05	ไม่ออกฤทธิ์
		FBCI	0.16 + 0.32	1.13	ไม่ออกฤทธิ์
	SD + NaCl	FICI	0.01 +2.5	1.06	ไม่ออกฤทธิ์
		FBCI	0.08 +5	1.00	ออกฤทธิ์เสริมกันบางส่วน
<i>S. aureus</i>	SD + SC	FICI	0.01 + 0.16	1.06	ไม่ออกฤทธิ์
		FBCI	0.08 + 0.16	1.00	ไม่ออกฤทธิ์
	SD + NaCl	FICI	0.08 + 5	0.75	ออกฤทธิ์เสริมกันบางส่วน
		FBCI	0.16 +5	1.25	ไม่ออกฤทธิ์
<i>S. Typhimurium</i>	SD + SC	FICI	0.16 + 0.16	1.06	ไม่ออกฤทธิ์
		FBCI	0.16 + 0.04	1.13	ไม่ออกฤทธิ์
	SD + NaCl	FICI	0.08 + 0.32	0.53	ออกฤทธิ์เสริมกันบางส่วน
		FBCI	0.08 +5	1.00	ออกฤทธิ์เสริมกันบางส่วน
<i>E. coli</i>	SD + SC	FICI	0.08 + 0.04	1.02	ไม่ออกฤทธิ์
		FBCI	0.16 + 0.04	1.02	ไม่ออกฤทธิ์
	SD + NaCl	FICI	0.08 +5	1.50	ไม่ออกฤทธิ์
		FBCI	0.16 + 0.32	1.03	ไม่ออกฤทธิ์

^a FICI = fractional inhibitory concentration index (ค่าดัชนีการออกฤทธิ์ร่วมกันเพื่อยับยั้งแบคทีเรีย) และ FBCI = fractional bactericidal concentration index (ค่าดัชนีการออกฤทธิ์ร่วมกันเพื่อทำลายแบคทีเรีย)

^b ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไคโอะซิเตท โซเดียมซิเตรท และ โซเดียมกลูไคโอะไรต์ %(w/v)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

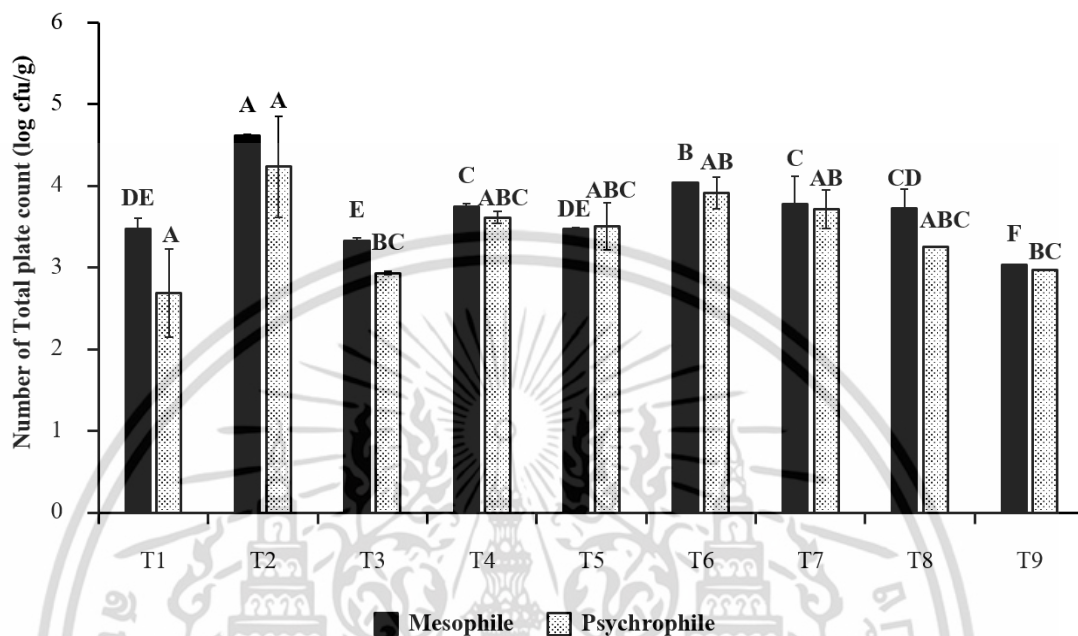
จากผลการทดลองพบว่า ระดับความเข้มข้นของสารละลายเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันที่สามารถยับยั้งและทำลายการเจริญของเชื้อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* และ *E. coli* มีดังนี้ 1) SD 0.16% และ 0.64% 2) SC 0.16%, 0.32%, 1.25% และ 2.5% 3) NaCl 5% และ 10% 4) SD 0.08% + SC 0.16% และ SD 0.01% + SC 1.25% 5) SD 0.01% + NaCl 10%, SD 0.08% + NaCl 15% และ SD 0.16 + NaCl 0.32% (ค่าความเป็นกรด-ด่างเป็นดังนี้ 1) 4.76 และ 4.71 2) 7.19, 8.54, 8.29 และ 8.53 3) 7.57 และ 6.77 4) 5.76 และ 7.51 5) 4.51, 4.56, และ 4.68 ตามลำดับ) จากนั้นทำการคัดเลือกกลุ่มการทดลองที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียทดสอบทั้ง 5 สายพันธุ์ได้ครอบคลุมมากที่สุดเพื่อเติมในน้ำในถังลดอุณหภูมิถึงที่ 1 จึงได้ผลสรุปกลุ่มการทดลองเป็นดังนี้ (T1) ไม่สัมผัสสาร (กลุ่มควบคุม 1), (T2) น้ำกลั่น (กลุ่มควบคุม 2), (T3) SD 0.16%, (T4) SC 2.5%, (T5) NaCl 5%, (T6) SD 0.08% + SC 0.16%, (T7) SD 0.01% + SC 1.25%, (T8) SD 0.08% + NaCl 5% และ (T9) SD 0.16% + NaCl 0.32%

4.2.3 การทดลองที่ 2.3 ประสิทธิภาพของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์ในการลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด เชื้อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* และ *E. coli* ในเลือดเปิดต้ม

4.2.4.1 ประสิทธิภาพการลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของสารละลายเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันในเลือดเปิดต้ม

จากการศึกษาผลของสารละลายโซเดียมไดอะซิเตต โซเดียมซิเตรทและโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อการลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในเลือดเปิดต้ม ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 15 องศาเซลเซียส โดยทำการแบ่งการทดลองออกเป็น 9 กลุ่มดังนี้ 1) ไม่สัมผัสสารใด (กลุ่มควบคุม, T1), 2) น้ำกลั่น (กลุ่มควบคุม, T2), 3) โซเดียมไดอะซิเตต 0.16% (T3), 4) โซเดียมซิเตรท 2.5% (T4), 5) โซเดียมคลอไรด์ 5% (T5), 6) โซเดียมไดอะซิเตต 0.08% ร่วมกับโซเดียมซิเตรท 0.16% (T6), 7) โซเดียมไดอะซิเตต 0.01% ร่วมกับโซเดียมซิเตรท 1.25% (T7), 8) โซเดียมไดอะซิเตต 0.08% ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ 5% (T8) และ 9) โซเดียมไดอะซิเตต 0.16% ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ 0.32% (T9) พบว่า ภายหลังจากเลือดเปิดต้มสัมผัสสารละลายกลุ่ม (T9) SD 0.16%+NaCl 0.32% มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ขอบอุณหภูมิปานกลางได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยอยู่ในช่วง $3.03 \log \text{cfu/g}$ ($P < 0.05$) รองลงมาคือ (T3) SD 0.16% อยู่ในช่วง $3.33 \pm 0.03 \log \text{cfu/g}$ และทั้งสองกลุ่มยังสามารถช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์กลุ่มที่ชอบอุณหภูมิต่ำได้ดีที่สุด โดยอยู่ในช่วง 2.97 ± 0.01 และ $2.93 \pm 0.02 \log \text{cfu/g}$ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($4.24 \pm 0.62 \log \text{cfu/g}$) ดังแสดงในภาพที่ 4.7 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Yavas and Bilgin (2010) พบว่า การใช้สารละลายโซเดียมไดอะซิเตตร่วมกับโซเดียม

คลอไรด์ความเข้มข้นรวม 0.5% สามารถช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์กลุ่มที่ชอบอุณหภูมิต่ำบนนักเก็ตไก่แช่เย็นได้ โดยช่วยยืกระยะ lag phase ได้นาน 9 วันเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม



ภาพที่ 4.7 ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อการลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในเลือดเป็ดต้ม ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 15 องศาเซลเซียส โดย SD คือ โซเดียมไดอะซิเตท, SC คือ โซเดียมซิเตรท และ NaCl คือ โซเดียมคลอไรด์:

(T1) ไม่สัมผัสสารใด (กลุ่มควบคุม 1), (T2) น้ำกลั่น (กลุ่มควบคุม 2), (T3) SD 0.16%, (T4) SC 2.5%, (T5) NaCl 5%, (T6) SD 0.08% + SC 0.16%, (T7) SD 0.01% + SC 1.25%, (T8) SD 0.08% + NaCl 5% และ (T9) SD 0.16% + NaCl 0.32%

^{A-F} ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างของจุลินทรีย์กลุ่มเดียวกันทางสถิติ ($P < 0.05$)

4.2.4.2 ประสิทธิภาพการลดปริมาณเชื้อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium*, และ *E. coli* ของสารละลายเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันในเลือดเป็ดต้ม

จากการศึกษาผลของประสิทธิภาพการลดปริมาณเชื้อ *L. sakei* ของกลุ่มการทดลองทั้ง 9 กลุ่มคือ 1) ไม่สัมผัสสารใด (กลุ่มควบคุม, T1), 2) น้ำกลั่น (กลุ่มควบคุม, T2), 3) โซเดียมไดอะซิเตท 0.16% (T3), 4) โซเดียมซิเตรท 2.5% (T4), 5) โซเดียมคลอไรด์ 5% (T5), 6) โซเดียมไดอะซิเตท 0.08% ร่วมกับโซเดียมซิเตรท 0.16% (T6), 7) โซเดียมไดอะซิเตท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

0.01% ร่วมกับโซเดียมซิเตรท 1.25% (T7), 8) โซเดียมไดอะซิเตท 0.08% ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ 5% (T8) และ 9) โซเดียมไดอะซิเตท 0.16% ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ 0.32% (T9) โดยทำการเติมเชื้อ *L. sakei* ในเลือดเปิดต้มให้มีเชื้อเริ่มต้น 10^3 log cfu/g พบว่า ภายหลังจากสัมผัสทุกกลุ่มสารละลายสามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (total culturable cells) ได้เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมทั้งสองกลุ่ม ยกเว้น กลุ่ม (T6) SD 0.08% + SC 0.16% ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับ (T1) ไม่สัมผัสสารใด (กลุ่มควบคุม 1) ($P < 0.05$) และแบคทีเรียที่อยู่ในสภาวะไม่เครียดหรือเซลล์อยู่ในสภาวะปกติ (non-stressed cells) มีปริมาณลดลงทุกกลุ่มการทดลองเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมทั้งสองกลุ่ม และการใช้สารละลายเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันเหนี่ยวนำให้แบคทีเรียเกิดสภาวะเครียด (stressed cells) ลดลงภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง และจากการพิจารณา ร่วมกับปริมาณแบคทีเรียที่อยู่ในสภาวะเครียดต่อสภาวะไม่เครียดหรือเซลล์อยู่ในสภาวะปกติ (stressed cells:non-stressed cells) พบว่า ภายหลังจากสัมผัสสารละลาย (T3) SD 0.16% เหนี่ยวนำให้แบคทีเรียเกิดสภาวะเครียดมากที่สุด แสดงให้เห็นว่า การใช้สารละลาย (T3) SD 0.16% ทำให้แบคทีเรียเกิดสภาวะเครียดเนื่องจากกรดมากที่สุด ดังแสดงในภาพที่ 4.8

จากการศึกษาผลของประสิทธิภาพการลดปริมาณเชื้อ *P. fluorescens sakei* ของสารละลายเกลือของกรดอินทรีย์ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกัน โดยทำการเติมเชื้อ *P. fluorescens* ในเลือดเปิดต้มให้มีเชื้อเริ่มต้น 10^3 log cfu/g พบว่า ภายหลังจากสัมผัสทุกกลุ่มสารละลายสามารถลดปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (total culturable cells) ได้เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) และแบคทีเรียที่อยู่ในสภาวะไม่เครียดหรือเซลล์อยู่ในสภาวะปกติ (non-stressed cells) ในกลุ่ม (T3) SD 0.16%, (T8) SD 0.08% + NaCl 5% และ (T9) SD 0.16% + NaCl 0.32% มีปริมาณลดลงมากเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมทั้งสองกลุ่ม และการใช้สารละลายเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันเหนี่ยวนำให้แบคทีเรียเกิดสภาวะเครียด (stressed cells) ลดลงภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง และจากการพิจารณา ร่วมกับปริมาณแบคทีเรียที่อยู่ในสภาวะเครียดต่อสภาวะไม่เครียดหรือเซลล์อยู่ในสภาวะปกติ (stressed cells:non-stressed cells) พบว่า แบคทีเรียที่เหลืออยู่บนเลือดเปิดต้ม โดยไม่มีการสัมผัสสารใดเกิดสภาวะเครียดมากที่สุด ในขณะที่ภายหลังจากสัมผัสสารละลาย (T9) SD 0.16% + NaCl 0.32% เหนี่ยวนำให้แบคทีเรียเกิดสภาวะเครียดน้อยที่สุด ดังแสดงในภาพที่ 4.9

จากการศึกษาผลของประสิทธิภาพการลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* ของสารละลายเกลือของกรดอินทรีย์ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกัน โดยทำการเติมเชื้อ *S. aureus* ในเลือดเปิดต้มให้มีเชื้อเริ่มต้น 10^3 log cfu/g พบว่า ภายหลังจากสัมผัสสารละลายในกลุ่ม (T3) SD 0.16%, (T5) NaC 15%, (T7) SD 0.01% + SC 1.25% และ (T9) SD 0.16% + NaCl 0.32% สามารถลดปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (total culturable cells) ได้ดีเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมทั้งสองกลุ่ม ($P < 0.05$) และแบคทีเรียที่อยู่ในสภาวะไม่เครียดหรือเซลล์อยู่ในสภาวะปกติ (non-stressed cells) เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่ในสื่อออนไลน์ใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

cells) ในกลุ่ม (T7) SD 0.01% + SC 1.25%, (T8) SD 0.08% + NaCl 5% และ (T9) SD 0.16% + NaCl 0.32% มีปริมาณลดลงมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมทั้งสองกลุ่ม และการใช้สารละลายเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันเหนี่ยวนำให้แบคทีเรียเกิดสภาวะเครียด (stressed cells) ในกลุ่ม (T3) SD 0.16%, (T7) SD 0.01% + SC 1.25% และ (T9) SD 0.16% + NaCl 0.32% มีปริมาณลดลงมากที่สุดภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง และจากการพิจารณาร่วมกับปริมาณแบคทีเรียที่อยู่ในสภาวะเครียดต่อสภาวะไม่เครียดหรือเซลล์อยู่ในสภาวะปกติ (stressed cells:non-stressed cells) พบว่า ภายหลังจากสัมผัสสารละลาย (T3) SD 0.16% เหนี่ยวนำให้แบคทีเรียเกิดสภาวะเครียดมากที่สุด ดังแสดงในภาพที่ 4.10

จากการศึกษาผลของประสิทธิภาพการลดปริมาณเชื้อ *S. Typhimurium* ของสารละลายเกลือของกรดอินทรีย์ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกัน โดยทำการเติมเชื้อ *S. Typhimurium* ในเลือดเป็ดต้มให้มีเชื้อเริ่มต้น 10^3 log cfu/g พบว่า ภายหลังจากสัมผัสสารละลายในกลุ่ม (T3) SD 0.16% และ (T5) NaCl 5% สามารถลดปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (Total culturable cells) ได้ดีที่สุดในเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) และแบคทีเรียที่อยู่ในสภาวะไม่เครียดหรือเซลล์อยู่ในสภาวะปกติ (non-stressed cells) ในกลุ่ม (T3) SD 0.16% และ (T5) NaCl 5% มีปริมาณลดลงมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมทั้งสองกลุ่ม แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกลุ่ม (T8) SD 0.08% + NaCl 5% และการใช้สารละลายเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันเหนี่ยวนำให้แบคทีเรียเกิดสภาวะเครียด (stressed cells) ลดลงภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง และจากการพิจารณาร่วมกับปริมาณแบคทีเรียที่อยู่ในสภาวะเครียดต่อสภาวะไม่เครียดหรือเซลล์อยู่ในสภาวะปกติ (stressed cells:non-stressed cells) พบว่า ภายหลังจากสัมผัสสารละลาย (T3) SD 0.16% เหนี่ยวนำให้แบคทีเรียเกิดสภาวะเครียดมากที่สุด ดังแสดงในภาพที่ 4.11

จากการศึกษาผลของประสิทธิภาพการลดปริมาณเชื้อ *E. coli* ของสารละลายเกลือของกรดอินทรีย์ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกัน โดยทำการเติมเชื้อ *E. coli* ในเลือดเป็ดต้มให้มีเชื้อเริ่มต้น 10^3 log cfu/g พบว่า ภายหลังจากสัมผัสสารละลายในกลุ่ม (T3) SD 0.16% รองลงมาคือ (T5) NaCl 5% และ (T9) SD 0.16% + NaCl 0.32% สามารถลดปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (total culturable cells) ได้ดีที่สุดในเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมทั้งสองกลุ่ม ($P < 0.05$) และแบคทีเรียที่อยู่ในสภาวะไม่เครียดหรือเซลล์อยู่ในสภาวะปกติ (non-stressed cells) ลดลงทุกกลุ่มการทดลองเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และการใช้สารละลายเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันเหนี่ยวนำให้แบคทีเรียเกิดสภาวะเครียด (stressed cells) ในกลุ่ม (T2) น้ำกลั่น (กลุ่มควบคุม 2) มากที่สุด และกลุ่ม (T3) SD 0.16%, (T5) NaCl 5% และ (T9) SD 0.16% + NaCl 0.32% เกิดสภาวะเครียดน้อยที่สุดภายในระยะเวลา 24

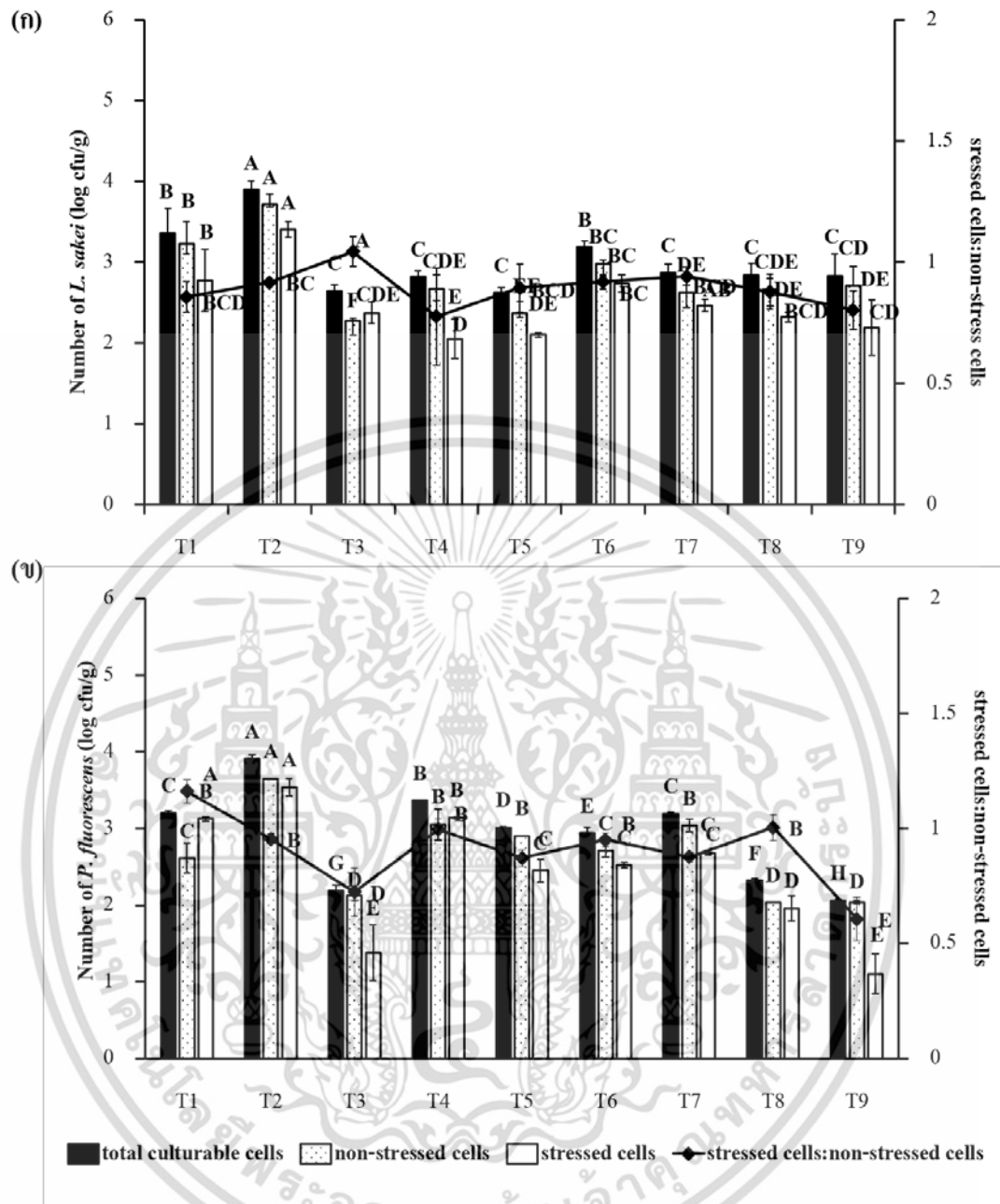
ชั่วโมง และจากการพิจารณาร่วมกับปริมาณแบคทีเรียที่อยู่ในสภาวะเครียดต่อสภาวะไม่เครียดหรือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลล์อยู่ในสภาวะปกติ (stressed cells:non-stressed cells) พบว่า ภายหลังจากสัมผัสสารละลาย (T3) SD 0.16%, (T5) NaCl 5%, (T6) SD 0.08% + SC 0.16% และ (T9) SD 0.16% + NaCl 0.32% เหนี่ยวนำให้แบคทีเรียเกิดสภาวะเครียดมากที่สุด ดังแสดงในภาพที่ 4.12 จากผลการศึกษาข้างต้น พบว่า การเติมเกลือของกรดอินทรีย์อาจทำให้ความเป็นกรด-ด่างภายนอกเซลล์ของแบคทีเรียลดลง ทำให้ค่าความกรด-ด่างไม่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรีย (กษรัตน์ วงศ์รัตน์. 2554) แต่ผลในการเสริมฤทธิ์กันของกรดอินทรีย์นั้นยังไม่เป็นที่ทราบกันดีนัก (Chaveerach *et al.* 2002; Malicki *et al.* 2004; Birket *et al.* 2010) และจากงานวิจัยต่าง ๆ ในการศึกษาผลของกรดอินทรีย์ต่อการยับยั้งแบคทีเรียสามารถตั้งข้อสันนิษฐานได้ดังนี้ ผลในการเสริมฤทธิ์กันของกรดอินทรีย์อาจมีผลเนื่องมาจากการใช้กรดอินทรีย์ร่วมกันทำให้โครงสร้างโมเลกุลของสารทั้งสองชนิดเกิดการเข้าคู่กัน ช่วยให้โครงสร้างโมเลกุลแข็งแรงขึ้น และสามารถปล่อยประจุโปรตอนออกมาในสภาวะปกติมากกว่าการใช้กรดอินทรีย์เพียงสารเดียวจึงทำให้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ดีกว่า (Birk *et al.* 2010; Skerivana *et al.* 2010) และ เมื่อใช้กรดอินทรีย์ร่วมกันจะทำให้กรดที่อยู่ในรูปไม่แตกตัวมีมากขึ้น จึงส่งผลให้กรดที่อยู่ในรูปไม่แตกตัวเข้าไปแตกตัวในเซลล์ของแบคทีเรียมากขึ้นตามไปด้วย ทำให้สภาวะความเป็นกรด-ด่างของเซลล์เปลี่ยนแปลงไป เกิดการรั่วไหลของเมตาบอลิซึม เซลล์หยุดชะงัก ไม่สามารถเจริญได้และตายในที่สุด ประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียของกรดเป็นผลมาจากกรดที่อยู่ในรูปไม่แตกตัว (Dibner and Buttin. 2002; Ricke. 2003; Carpenter and Broadbent. 2009) จึงทำให้แบคทีเรียเกิดสภาวะเครียดอันเนื่องมาจากกรด ซึ่งกรดอินทรีย์สามารถซึมผ่านเข้าสู่เซลล์ของแบคทีเรียส่งผลให้ค่าความเป็นกรดภายในเซลล์สูงขึ้น และทำให้เซลล์ตายลง และยังมีส่วนในการยับยั้งการสังเคราะห์สารต่าง ๆ ภายในเซลล์ เช่น ดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ โปรตีน รวมทั้งขัดขวางการขนส่งสารชนิดต่าง ๆ ภายในเซลล์ รวมทั้งเข้าไปทำลายแบคทีเรียจากภายในเซลล์ และเหตุให้เกิดการสูญเสียผนังเซลล์ (Chaveerach *et al.* 2002) และผลของระดับค่าความเป็นกรด-ด่างยังเป็นอีกปัจจัยหนึ่งในการยับยั้งแบคทีเรีย เนื่องจากประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียของกรดนอกจากจะขึ้นอยู่กับความเฉพาะของกรดในการทำลายแบคทีเรียแล้ว ยังขึ้นอยู่กับความสามารถในการแตกตัว (pKa) โดยรูปแบบการแตกตัวขึ้นอยู่กับค่า pKa ซึ่งการบาดเจ็บหรือเซลล์ที่บาดเจ็บของแบคทีเรียนั้น สามารถเกิดขึ้นได้โดยทั่วไปทางกายภาพ เคมีหรือในสภาวะที่มีสารอาหารที่ไม่เพียงพอ ส่งผลให้เกิดการบาดเจ็บของแบคทีเรีย อีกทั้งยังสามารถเกิดขึ้นได้ในระหว่างการเก็บรักษาหรือเมื่อสภาพแวดล้อมต่างๆ ไม่เหมาะสม เช่น ได้รับความร้อน แสงแจ้งหรือทำละลาย การสัมผัสสารบางชนิด เป็นต้น โดยปกติแบคทีเรียจะมีอยู่ในสภาวะ non-stressed cells แต่เมื่ออยู่ในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม แบคทีเรียจะมีการปรับตัวเพื่อให้สามารถอยู่รอดได้ โดยแบคทีเรียจะมีการเปลี่ยนแปลงทางกายวิภาค สรีระวิทยา และระบบเมตาบอลิซึมทำให้แบคทีเรียอยู่ในสภาวะ stressed cells เพื่ออยู่รอดในสภาวะนั้นๆ ได้ ซึ่งการปรับเปลี่ยนสภาวะนี้อาจส่งผลให้แบคทีเรียมีความสามารถทนต่อสารเคมี และสภาพแวดล้อมที่

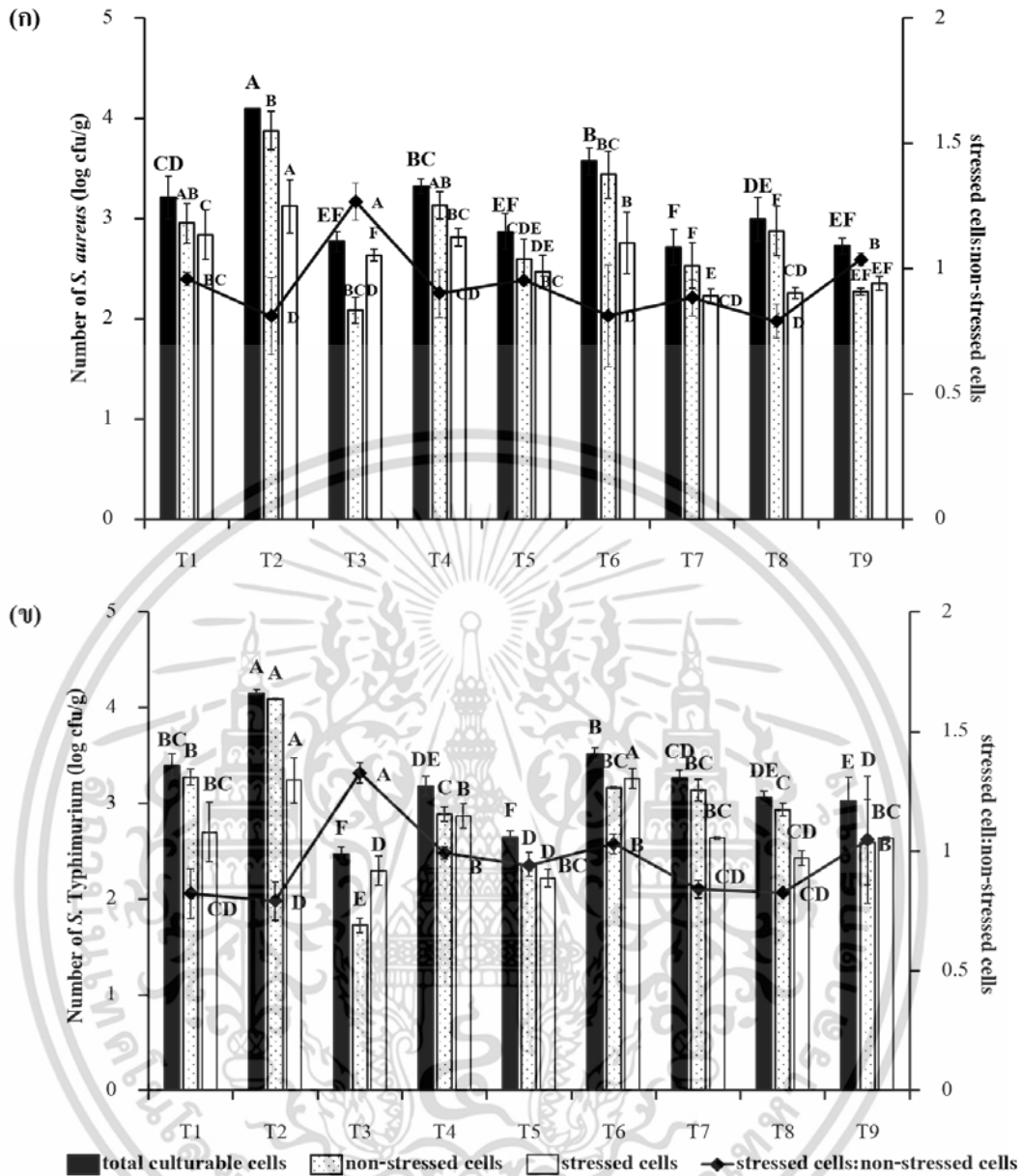
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไม่เหมาะสมอื่นๆ มากขึ้น stressed cells ทำให้แบคทีเรียบาดเจ็บ และหากยังอยู่ในสถานะที่ไม่เหมาะสมนั้นต่อจะทำให้แบคทีเรียตายในที่สุด (มุสดี ตังวัชรินทร์. 2553) นอกจากนี้แบคทีเรียมีการเข้าสู่สภาวะเครียดได้หลายระดับคือ แบคทีเรียจะเข้าสู่สภาวะเครียดต่ำ ปานกลาง สูง และตายในที่สุด ซึ่งแบคทีเรียที่เข้าสู่สภาวะเครียดต่ำจะสามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนไปได้โดยสมบูรณ์และไม่ส่งผลกระทบต่ออัตราการเจริญ เมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมนั้นนานขึ้นก็จะสามารถปรับตัวให้อยู่รอดและทนต่อสภาพแวดล้อมนี้ได้ เมื่อแบคทีเรียเข้าสู่สภาวะเครียดปานกลางส่งผลให้เซลล์เกิดการบาดเจ็บ เนื่องจากมีการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมได้น้อย และเมื่อไม่สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมได้จะทำให้แบคทีเรียอยู่ในสภาวะเครียดสูงส่งผลให้เซลล์เกิดการบาดเจ็บมากขึ้น เซลล์บางส่วนตาย และบางส่วนมีการปรับตัวเพื่อให้สามารถอยู่รอดได้ สำหรับในอุตสาหกรรมอาหารแบคทีเรียก่อโรคที่อยู่ในสภาวะเครียดมีความสำคัญในการตรวจสอบความปลอดภัยของอาหารได้ เนื่องจากเมื่อแบคทีเรียอยู่ในสภาวะนี้จะทำให้เซลล์เกิดการบาดเจ็บมาก จึงช่วยลดหรือยับยั้งความรุนแรงของการก่อโรคอาหารเป็นพิษได้ (Storz *et al.* 2000; Wesche *et al.* 2009) และจากการทดลองทั้งหมด 9 กลุ่มการทดลอง สามารถคัดเลือกชนิดและระดับความเข้มข้นของเกลือของอินทรีย์ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันจำนวน 4 กลุ่ม ได้ดังนี้ กลุ่มสารละลาย (T3) SD 0.16%, (T4) SC 2.5%, (T7) SD 0.01% + SC 1.25% และ (T9) SD 0.16% + NaCl 0.32% ซึ่งสารละลายทั้ง 4 กลุ่มเหนี่ยวนำให้แบคทีเรียเกิดสภาวะเครียดมากที่สุด เพื่อใช้ศึกษาต่อในการทดลองที่ 2.4 และ 2.5 ต่อไป



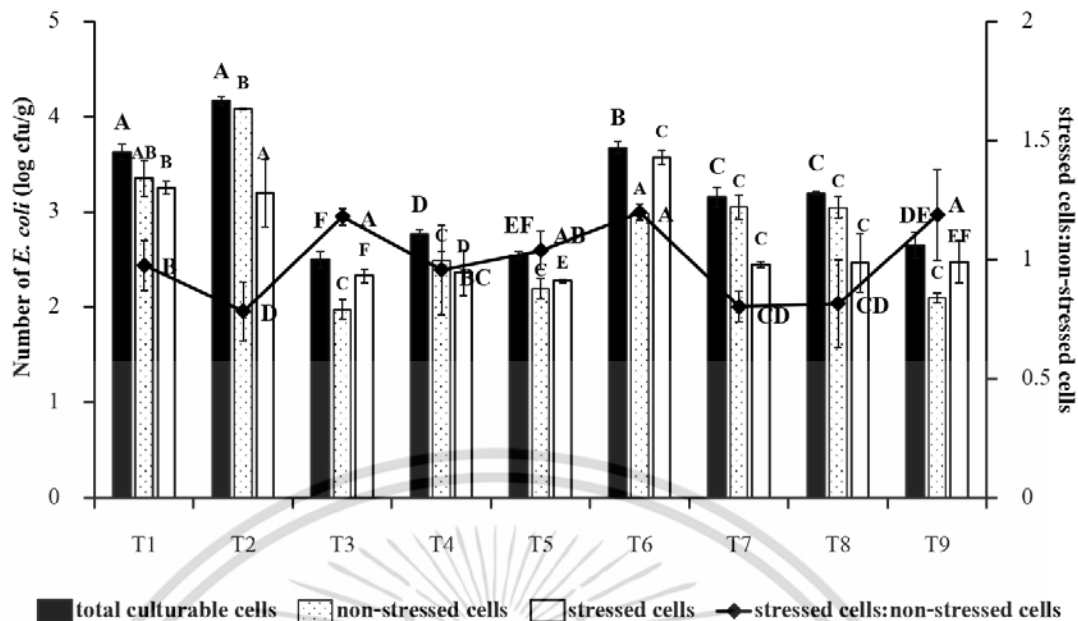
ภาพที่ 4.8 ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อการลดปริมาณเชื้อ (ก) *L. sakei* และ (ข) *P. fluorescens* ในเลือดเปิดดื่ม ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 15 องศาเซลเซียส โดย SD (โซเดียมไดอะซิติท) SC (โซเดียมซิเตรท) และ NaCl (โซเดียมคลอไรด์): (T1) ไม่สัมผัสสารใด (กลุ่มควบคุม 1), (T2) น้ำกลั่น (กลุ่มควบคุม 2), (T3) SD 0.16%, (T4) SC 2.5%, (T5) NaCl 5%, (T6) SD 0.08% + SC 0.16%, (T7) SD 0.01% + SC 1.25%, (T8) SD 0.08% + NaCl 5% และ (T9) SD 0.16% + NaCl 0.32%
^{A-F} ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างของแบคทีเรียที่อยู่ในสถานะเซลล์เดียวกันทางสถิติ ($P < 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.9 ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และ โซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อการลดปริมาณเชื้อ (ก) *S. aureus* และ (ข) *S. Typhimurium* ในเลือดเปิดต้ม ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 15 องศาเซลเซียส โดย SD (โซเดียมไดอะซีเตท) SC (โซเดียมซิเตรท) และ NaCl (โซเดียมคลอไรด์): (T1) ไม่สัมผัสสารใด (กลุ่มควบคุม 1), (T2) น้ำกลั่น (กลุ่มควบคุม 2), (T3) SD 0.16%, (T4) SC 2.5%, (T5) NaCl 5%, (T6) SD 0.08% + SC 0.16%, (T7) SD 0.01% + SC 1.25%, (T8) SD 0.08% + NaCl 5% และ (T9) SD 0.16% + NaCl 0.32%

^{A-F} ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างของแบคทีเรียที่อยู่ในสถานะเซลล์เดียวกันทางสถิติ ($P < 0.05$)



ภาพที่ 4.10 ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อการลดปริมาณเชื้อ *E. coli* ในเลือดเป็ดต้ม ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 15 องศาเซลเซียส โดย SD (โซเดียมไดอะซิเตท) SC (โซเดียมซิเตรท) และ NaCl (โซเดียมคลอไรด์): (T1) ไม่สัมผัสสารใด (กลุ่มควบคุม 1), (T2) น้ำกลั่น (กลุ่มควบคุม 2), (T3) SD 0.16%, (T4) SC 2.5%, (T5) NaCl 5%, (T6) SD 0.08% + SC 0.16%, (T7) SD 0.01% + SC 1.25%, (T8) SD 0.08% + NaCl 5% และ (T9) SD 0.16% + NaCl 0.32%
A-F ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างของแบคทีเรียที่อยู่ในสภาวะเซลล์เดียวกันทางสถิติ ($P < 0.05$)

4.2.4 การทดลองที่ 2.4 ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ในเลือดเป็ดต้ม

4.2.4.1 การวิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์ทางด้านจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์เลือดเป็ดต้ม

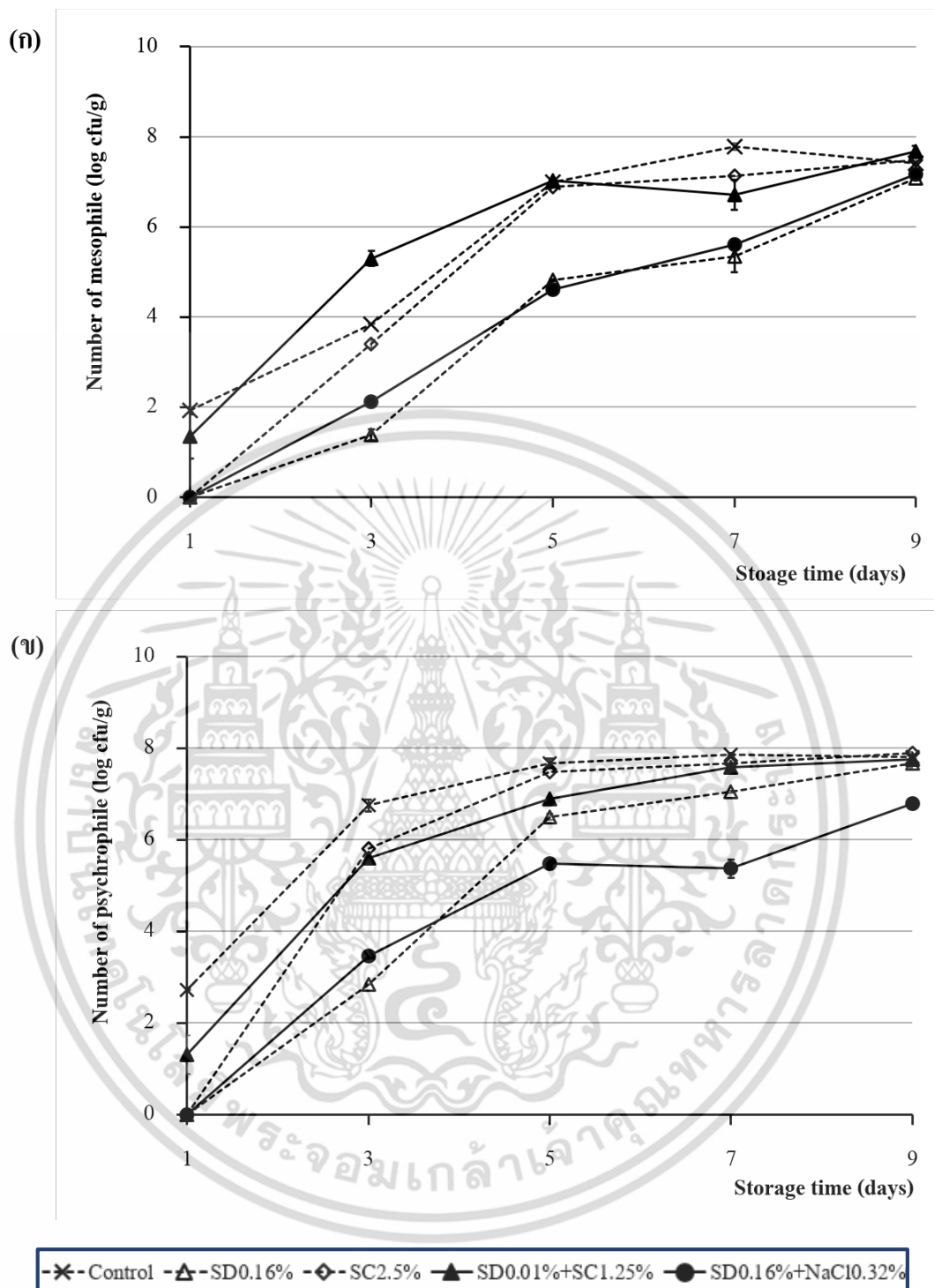
จากการศึกษาการลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ชอบอุณหภูมิปานกลางต่ำ และสูง พบว่าการใช้เกลือของกรดอินทรีย์ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกัน โดยมีกลุ่มการทดลองดังนี้ กลุ่มควบคุม กลุ่มสารละลายโซเดียมไดอะซิเตท โซเดียมซิเตรท โซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมซิเตรท และโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ในเลือดเป็ดต้มเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส นาน 9 วัน พบว่า ในช่วงวันแรกภายหลังสัมผัสสารละลายโซเดียมไดอะซิเตท โซเดียมซิเตรท และโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์สามารถลดเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลางได้มากที่สุดเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) โดยไม่สามารถตรวจพบจุลินทรีย์ดังกล่าวได้ในวันแรก และเมื่อเก็บรักษานานขึ้นเป็นเวลา 9 วัน พบว่ากลุ่มที่เติมสารละลายโซเดียมไดอะซิเตท และ โซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ในเลือดเปิดต้มสามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลางได้มากที่สุดเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) โดยสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้นานขึ้น 4 วัน และความสามารถในการลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำเป็นไปในทิศทางเดียวกับความสามารถในการลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลางโดยในช่วงวันแรกของการเก็บรักษา พบว่า ภายหลังจากผสมสารละลายโซเดียมไดอะซิเตท โซเดียมซิเตรท และ โซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์สามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำได้มากที่สุดเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) โดยไม่สามารถตรวจพบจุลินทรีย์ได้ในวันแรก และเมื่อเก็บรักษานานขึ้นเป็นเวลา 9 วัน พบว่า กลุ่มที่เติมสารละลายโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ในเลือดเปิดต้มสามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำได้มากที่สุดเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 4.11

4.2.4.2 การวิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์ทางเคมี - กายภาพของเลือดเปิดต้ม

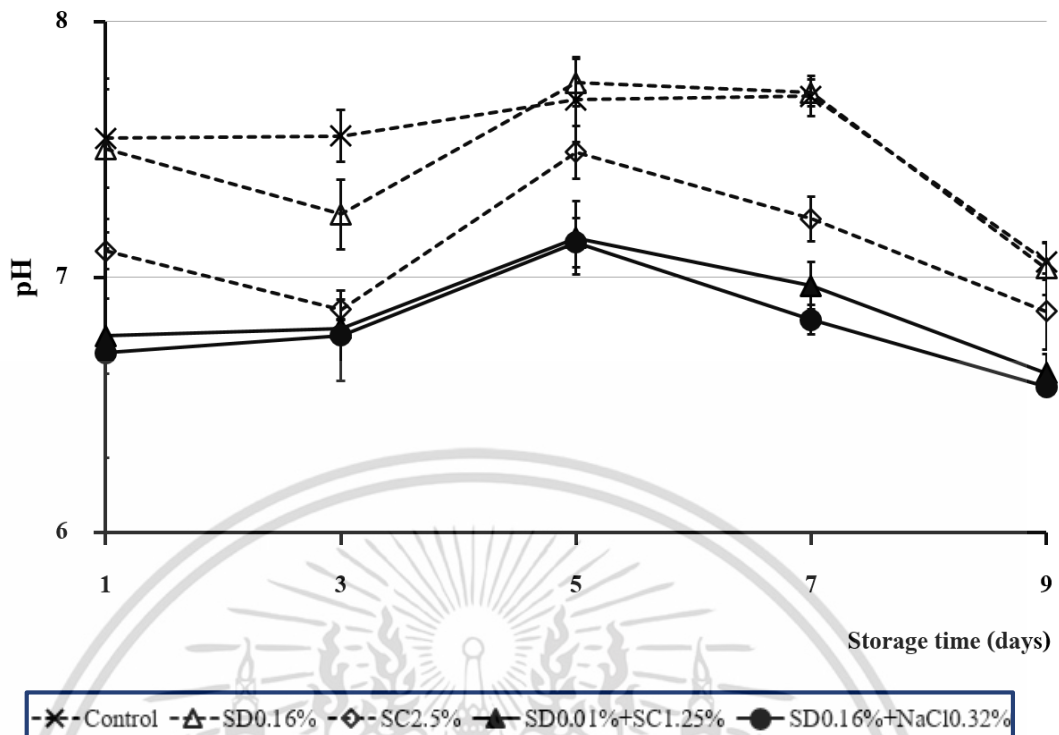
1) ค่าความเป็นกรด-ด่าง

จากการศึกษาการใช้เกลือของกรดอินทรีย์ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกัน โดยจัดกลุ่มการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 4.2.4.1 ซึ่งคุณสมบัติของสารแต่ละชนิดเป็นดังนี้ โซเดียมไดอะซิเตทช่วยควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างในผลิตภัณฑ์ โซเดียมซิเตรทเป็นบัฟเฟอร์ช่วยจับโลหะ และโซเดียมคลอไรด์ช่วยลดค่า a_w ในผลิตภัณฑ์ ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 9 วันพบว่า การใช้สารละลายโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างในเลือดเปิดต้มไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$) ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ส่วนกลุ่มควบคุม โซเดียมซิเตรท และ โซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมซิเตรทมีค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงตั้งแต่วันที่ 5 ของการเก็บรักษา และการใช้สารละลายโซเดียมไดอะซิเตทมีค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงตั้งแต่วันที่ 3 ของการเก็บรักษา จากการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มการทดลองพบว่า การใช้สารละลายโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ส่งผลให้เลือดเปิดต้มมีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่ากลุ่มการทดลองอื่น ๆ แสดงว่า การใช้สารละลายดังกล่าวมีผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่างของเลือดเปิดต้มมากที่สุด (ภาพที่ 4.12)



ภาพที่ 4.11 ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และ โซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อการลดปริมาณ (ก) จุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง และ (ข) จุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำ ในเลือดเป็ดต้ม ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1, 3, 5, 7 และ 9 วัน เมื่อ (T1) Control, (T2) SD 0.16%, (T3) SC 2.5%, (T4) SD 0.01% + SC 1.25% และ (T5) SD 0.16% + NaCl 0.32%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



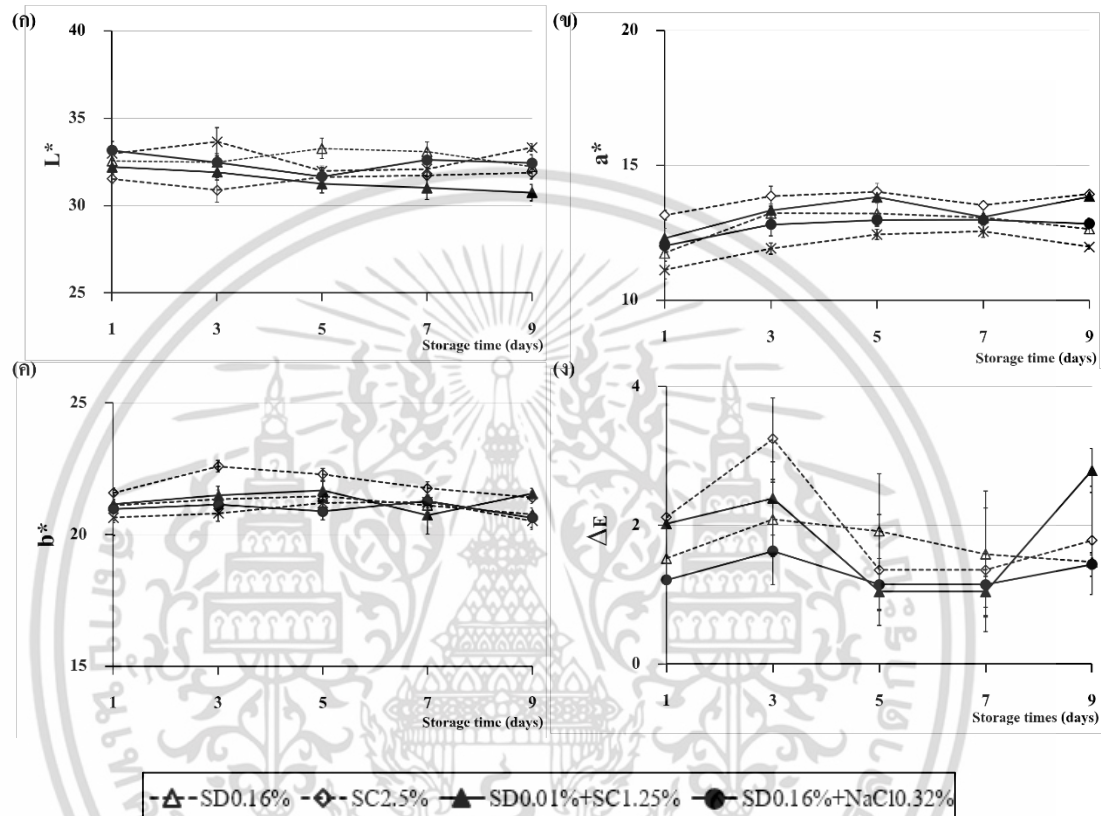
ภาพที่ 4.12 ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อค่าความเป็นกรด-ด่างของเลือดเปิดตัมที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1, 3, 5, 7 และ 9 วัน เมื่อ (T1) Control, (T2) SD 0.16%, (T3) SC 2.5%, (T4) SD 0.01% + SC 1.25% และ (T5) SD 0.16% + NaCl 0.32%

2) ค่าสี (CIE L*a*b* และ ΔE)

คุณภาพทางด้านสีของเลือดเปิดตัมในแต่ละกลุ่มการทดลองพบว่า การใช้สารละลายเกลือของกรดอินทรีย์ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันส่งผลให้ค่าความสว่างของเลือดเปิดตัมต่ำลง ค่าสีแดงสูงขึ้น และค่าสีเหลืองไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกลุ่มควบคุม ($P>0.05$) ยกเว้น การใช้สารละลายโซเดียมซิเตรท แต่เมื่อเปรียบเทียบในระหว่างการเก็บรักษาพบว่า คุณภาพด้านสีของแต่ละกลุ่มการทดลองมีค่าความแปรปรวนตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา จึงมีการพิจารณาการเปลี่ยนแปลงสีโดยรวม (ΔE) ของแต่ละกลุ่มการทดลองในแต่ละวัน พบว่า กลุ่มที่เติมสารละลายโซเดียมไดอะซิเตรทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์มีค่าการเปลี่ยนแปลงสีโดยรวมแตกต่างกับกลุ่มควบคุมน้อยที่สุด (ภาพที่ 4.13) นั้นแสดงให้เห็นว่า การใช้สารละลายโซเดียมไดอะซิเตรทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ในเลือดเปิดตัมมีผลต่อค่าสีของเลือดเปิดตัมน้อยกว่าการใช้สารละลายชนิดอื่น ซึ่งงานวิจัยของ Innun (2015) ทำการศึกษาผลของการใช้เกลือ ความเข้มข้นของเลือด และอุณหภูมิในการปรุงสุกต่อคุณภาพของเลือดเปิดตัม พบว่า ค่าความสว่าง ค่าสีแดง และค่าสีเหลืองลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ซึ่งการเติมเกลือไม่มีผลต่อสีของเจล แต่การ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปลี่ยนแปลงสีของเจลเนื่องมาจากสีที่เป็นองค์ประกอบภายในเลือด (Silva *et al.* 2013) และค่าสีเหลืองของผลิตภัณฑ์ที่มีองค์ประกอบของเลือดจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของเลือดที่ใช้ ซึ่งถ้าใช้ความเข้มข้นเลือดสูงจะมีผลให้ค่าความสว่างลดลง และทำให้ผลิตภัณฑ์มีสีเข้มขึ้น (Toldra *et al.* 2004)



ภาพที่ 4.13 ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อค่าสีของเลือดเปิดต้มที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1, 3, 5, 7 และ 9 วัน; (ก) ค่าความสว่าง (ข) ค่าสีแดง (ค) ค่าสีเหลือง และ (ง) ค่าความแตกต่างของสีโดยรวม

3) ลักษณะเนื้อสัมผัสโดยรวม (texture profile analysis, TPA)

ค่าความแข็ง (hardness, N) พบว่า ในวันแรกของการเก็บรักษากลุ่มควบคุมมีค่าความแข็งมากที่สุด ($P < 0.05$) และทุกกลุ่มสารละลายมีค่าความแข็งไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบในระหว่างการเก็บรักษาเลือดเปิดต้มเป็นเวลา 9 วัน พบว่า กลุ่มควบคุมและสารละลายโซเดียมไดอะซิเตตมีค่าความแข็งต่ำลงในวันที่ 3 ของการเก็บรักษา โซเดียมไดอะซิเตตร่วมกับโซเดียมซิเตรตและโซเดียมไดอะซิเตตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ส่งผลให้เลือดเปิดต้มมีค่าความแข็งลดลงในวันที่ 5 ของการเก็บรักษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

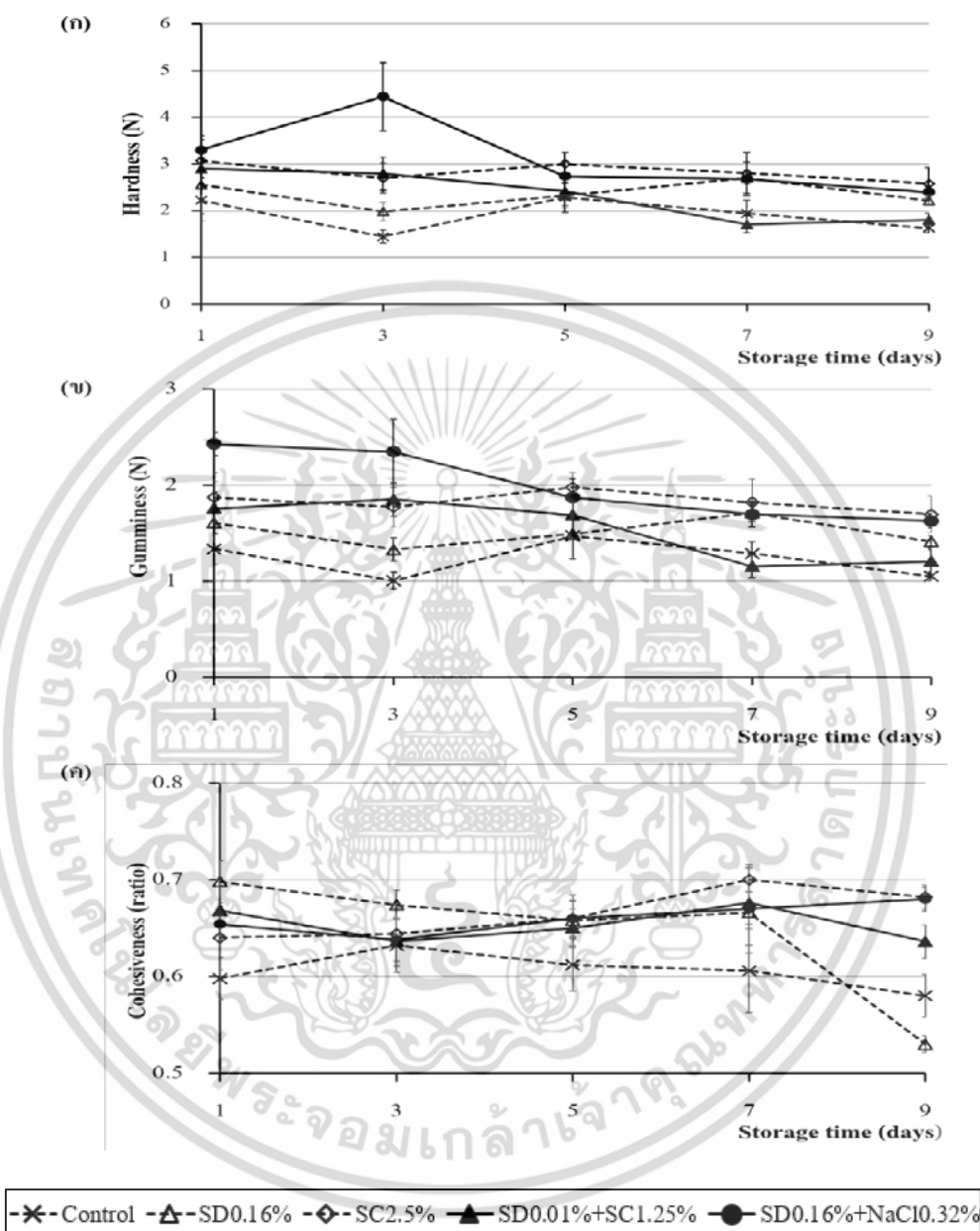
ค่าความเหนียวคล้ายยาง (gumminess, N) พบว่า ในวันแรกของการเก็บรักษาการใช้สารละลายเกลือของกรดอินทรีย์ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกัน ส่งผลให้ค่าความเหนียวคล้ายยางของเลือดเปิดคัมสูงกว่ากลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับในระหว่างการเก็บรักษาเลือดเปิดคัมเป็นเวลา 9 วัน พบว่า กลุ่มควบคุม สารละลายโซเดียมไดอะซิเตท โซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมซิเตรทและโซเดียมซิเตรทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์มีค่าความเหนียวคล้ายยางต่ำลงในวันที่ 9, 3, 7 และ 5 ตามลำดับ ในขณะที่การใช้สารละลายโซเดียมซิเตรทในเลือดเปิดคัมส่งผลให้ค่าความเหนียวคล้ายยางไม่แตกต่างกันตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ($P > 0.05$)

ค่าการเกาะตัวกัน (cohesiveness, ratio) พบว่า ในวันแรกของการเก็บรักษาทุกกลุ่มการทดลองมีค่าการเกาะตัวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับระหว่างการเก็บรักษาเลือดเปิดคัมนาน 9 วัน พบว่า กลุ่มควบคุมมีค่าการเกาะตัวกันสูงขึ้นในวันที่ 3 ของการเก็บรักษา การใช้สารละลายโซเดียมไดอะซิเตทมีค่าการเกาะตัวกันไม่แตกต่างกันตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ($P > 0.05$) และการใช้สารละลายโซเดียมซิเตรท โซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมซิเตรท และโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์มีค่าการเกาะตัวกันสูงขึ้นในวันที่ 3, 3 และ 5 ของการเก็บรักษา

ค่าความยืดหยุ่น (springiness, ratio) พบว่า ในวันแรกของการเก็บรักษาทุกกลุ่มสารละลายมีค่าความยืดหยุ่นไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ยกเว้นสารละลายโซเดียมไดอะซิเตทมีค่าความยืดหยุ่นไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม ($P > 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับระหว่างการเก็บรักษาเลือดเปิดคัมนาน 9 วัน พบว่า กลุ่มควบคุม สารละลายโซเดียมไดอะซิเตทและโซเดียมซิเตรทมีค่าความยืดหยุ่นไม่แตกต่างกันตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ($P > 0.05$) แต่ในขณะที่การใช้สารละลายโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมซิเตรท และโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์มีค่าความยืดหยุ่นสูงขึ้นในวันที่ 2 และ 5 ของการเก็บรักษา

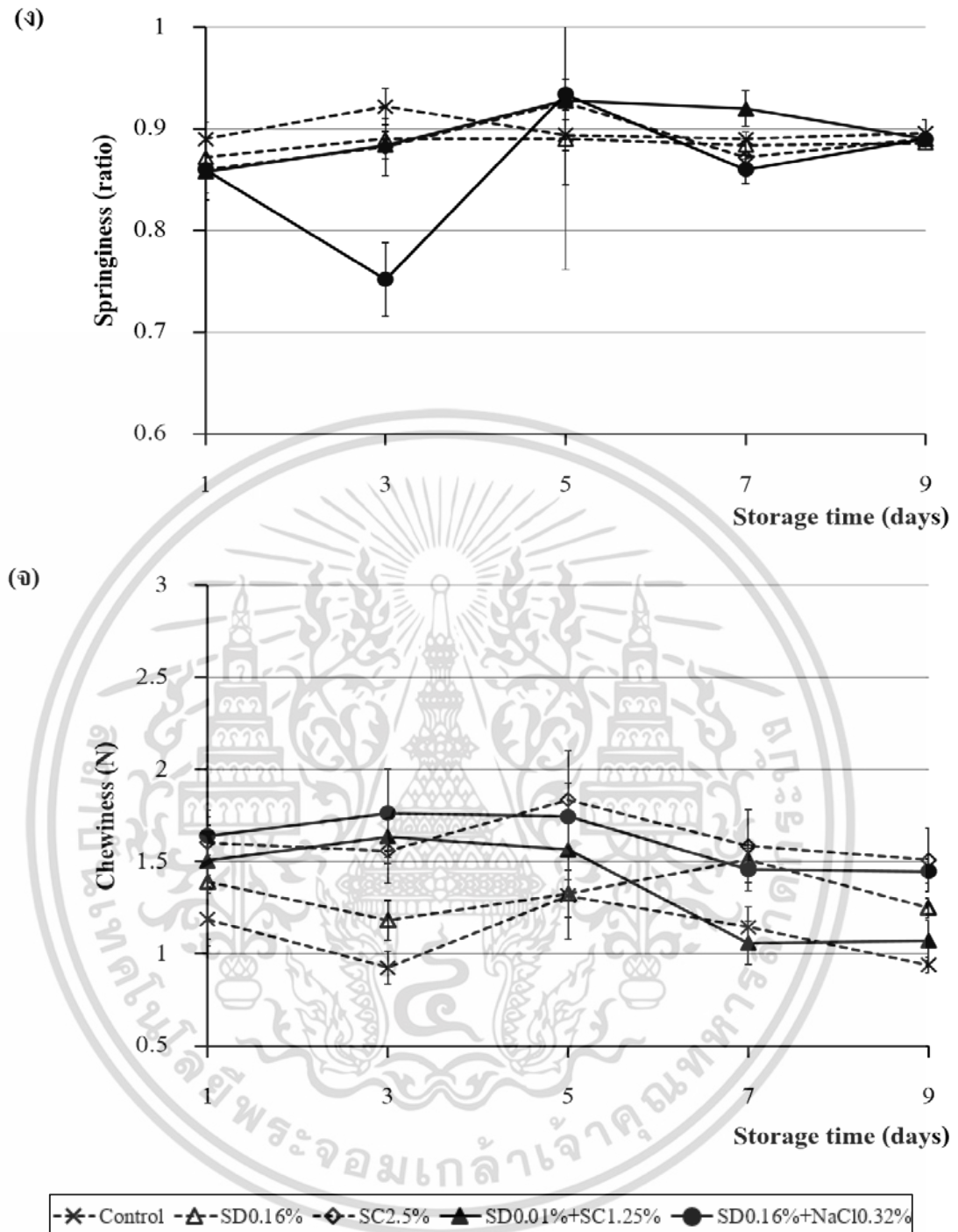
ค่าความยากในการเคี้ยว (chewiness, N) พบว่า ในวันแรกของการเก็บรักษาทุกกลุ่มสารละลายมีค่าความยากในการเคี้ยวไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ยกเว้นสารละลายโซเดียมไดอะซิเตทมีค่าความยากในการเคี้ยวไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม ($P > 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับระหว่างการเก็บรักษาเลือดเปิดคัมนาน 9 วัน พบว่า กลุ่มควบคุม การใช้สารละลายโซเดียมไดอะซิเตท โซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมซิเตรท และโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์มีค่าความยากในการเคี้ยวต่ำลงในวันที่ 9, 9, 7 และ 7 วัน ตามลำดับ ในขณะที่การใช้สารละลายโซเดียมซิเตรทค่าความยากในการเคี้ยวไม่แตกต่างกันทางสถิติตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ($P < 0.05$) (ภาพที่ 4.14) และจากการศึกษาลักษณะเนื้อสัมผัสโดยรวมสามารถสรุปได้ว่าการใช้สารละลายโซเดียมไดอะซิเตท และโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์คลอไรด์

ส่งผลให้ค่าความแข็ง ค่าความเหนียวคล้ายยาง ค่าความยากในการเคี้ยวของเลือดเปิดต้มสูงกว่ากลุ่มการทดลองอื่น



ภาพที่ 4.14 ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และ โซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อคุณลักษณะด้านเนื้อสัมผัสต่าง ๆ ของเลือดเปิดต้มที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1, 3, 5, 7 และ 9 วัน; (ก) ค่าความแข็ง (ข) ค่าความเหนียวคล้ายยาง (ค) ค่าการเกาะตัวกัน (ง) ค่าความยืดหยุ่น และ (จ) ค่าความยากในการเคี้ยว เมื่อ (T1) Control, (T2) SD 0.16%, (T3) SC 2.5%, (T4) SD 0.01% + SC 1.25% และ (T5) SD 0.16% + NaCl 0.32%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

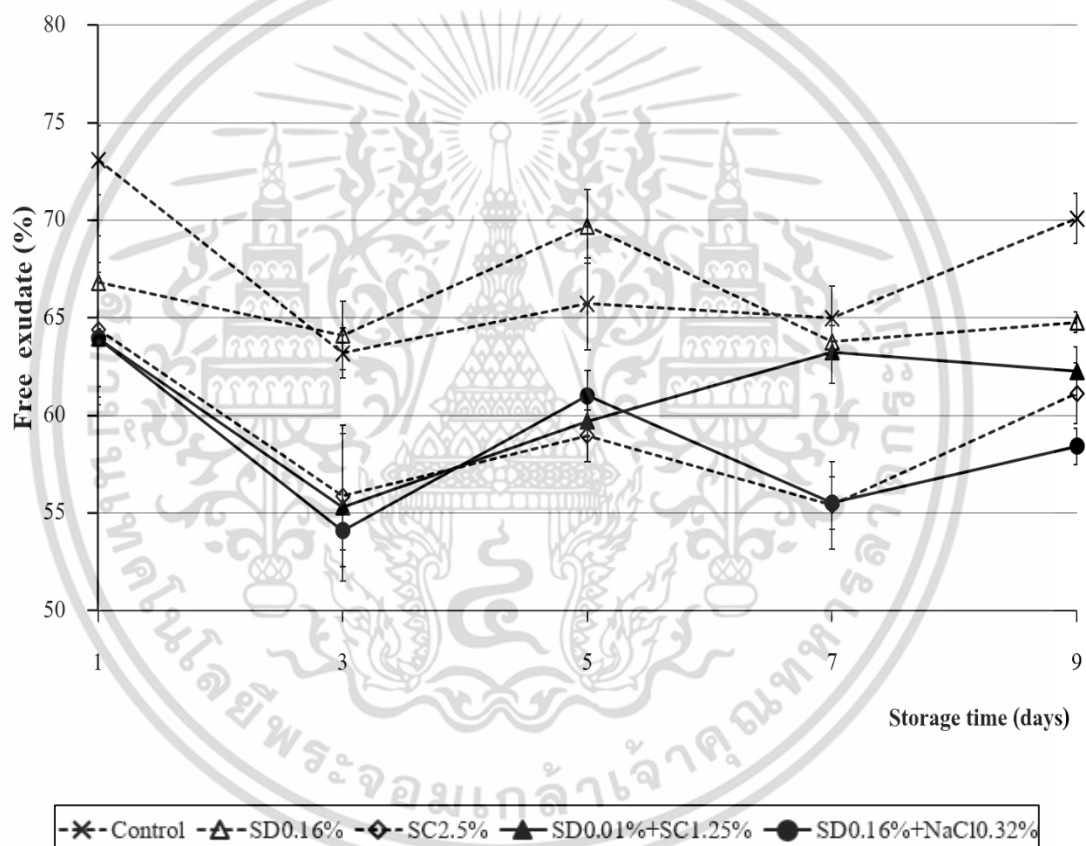


ภาพที่ 4.14 (ต่อ) ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และ โซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อ คุณลักษณะด้านเนื้อสัมผัสต่าง ๆ ของเลือดเป็ดต้มที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1, 3, 5, 7 และ 9 วัน; (ก) ค่าความแข็ง (ข) ค่าความเหนียว คล้ายยาง (ค) ค่าการเกาะตัวกัน (ง) ค่าความยืดหยุ่น และ (จ) ค่าความยากในการ เคี้ยว เมื่อ (T1) Control, (T2) SD 0.16%, (T3) SC 2.5%, (T4) SD 0.01% + SC 1.25% และ (T5) SD 0.16% + NaCl 0.32%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4) ความสามารถในการอุ้มน้ำ (water holding capacity, WHC)

จากการเปรียบเทียบความสามารถในการอุ้มน้ำต่ออายุการเก็บรักษาของเลือดเป็ดต้มในแต่ละกลุ่มการทดลองพบว่า เลือดเป็ดต้มที่มีการเติมสารละลายเกลือของกรดอินทรีย์ส่งผลให้มีปริมาณน้ำไหลซึมออกจากเลือดเป็ดต้มต่ำกว่ากลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) (ภาพที่ 4.15) ซึ่งอาจเนื่องมาจากไอออนที่เป็นโลหะหนักภายในกรด โดย Claus *et al.* (1994) กล่าวว่า หากเกลือมีไอออนเป็นองค์ประกอบสูงจะช่วยเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำให้แก่ผลิตภัณฑ์ได้ และจากการศึกษาจะเห็นได้ว่าการใช้โซเดียมซิเตรท และ โซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์มีค่าความสามารถในการอุ้มน้ำสูงกว่ากลุ่มการทดลองอื่น



ภาพที่ 4.15 ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และ โซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อค่าความสามารถในการอุ้มน้ำของเลือดเป็ดต้มที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 10 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1, 3, 5, 7 และ 9 วัน เมื่อ (T1) Control, (T2) SD 0.16%, (T3) SC 2.5%, (T4) SD 0.01% + SC 1.25% และ (T5) SD 0.16% + NaCl 0.32%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.4.3 การวิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์ทางด้านประสาทสัมผัส

การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสทางด้านกลิ่นเปรี้ยวพบว่า ผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบทางด้านกลิ่นเปรี้ยวของเลือดเปิดต้มทุกกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกันตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ($P < 0.05$)

การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสทางด้านกลิ่นคาวพบว่า ในช่วงวันแรก (วันที่ 0-3) ผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบทางด้านกลิ่นคาวของเลือดเปิดต้มทุกกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกัน ($P < 0.05$) แต่เมื่อเก็บรักษานานขึ้นเป็นเวลา 9 วันพบว่า ผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบทางด้านกลิ่นคาวของเลือดเปิดต้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยกลุ่มควบคุม โซเดียมไคโอซิเตท โซเดียมซิเตรท โซเดียมไคโอซิเตทร่วมกับ โซเดียมซิเตรท และ โซเดียมไคโอซิเตทร่วมกับ โซเดียมคลอไรด์มีคะแนนลดลงในวันที่ 5, 9, 3, 5 และ 9 ตามลำดับ

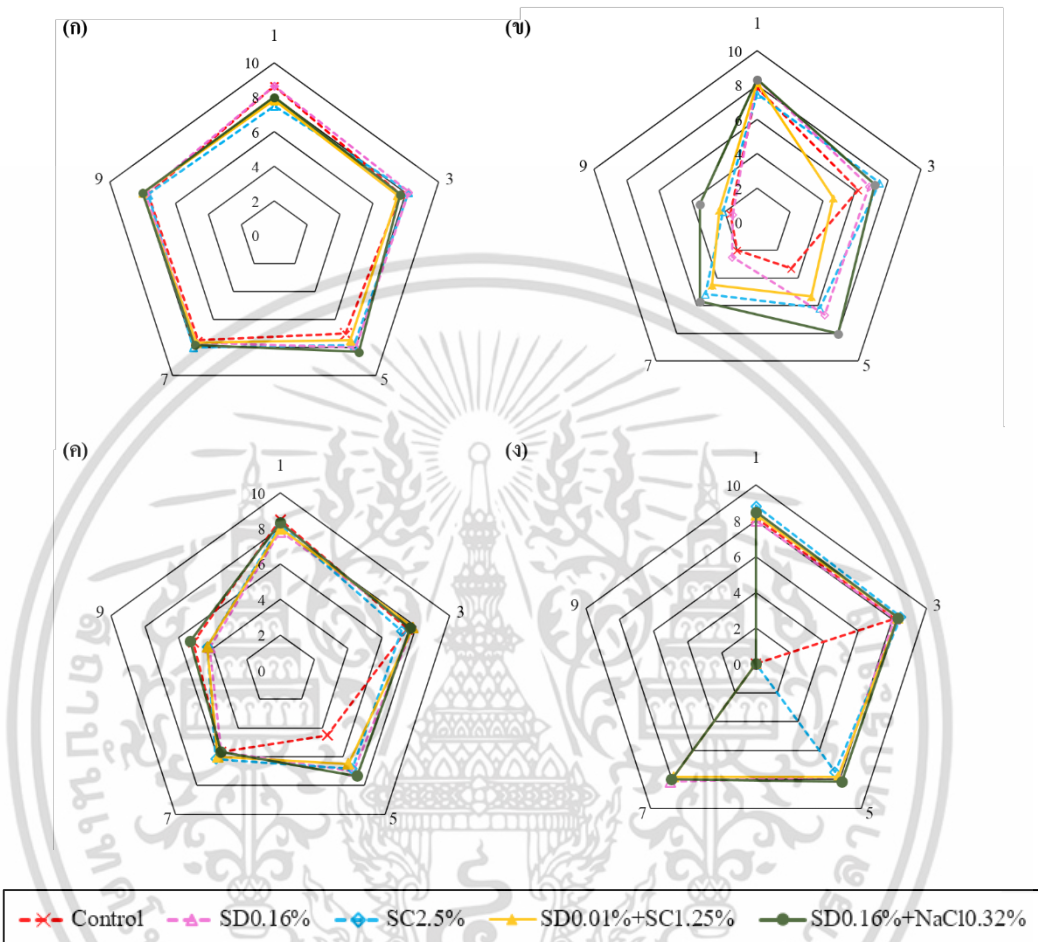
การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสทางด้านสีพบว่า ในช่วงวันแรก (วันที่ 0-3) ผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบทางด้านสีของเลือดเปิดต้มทุกกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกัน ($P < 0.05$) แต่เมื่อเก็บรักษานานขึ้นเป็นเวลา 9 วันพบว่า ผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบทางด้านสีของเลือดเปิดต้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยกลุ่มควบคุมมีคะแนนลดลงตั้งแต่วันที่ 5 ของการเก็บรักษา ขณะที่กลุ่มที่เติมสารละลายมีคะแนนลดลงในวันที่ 7-9 ของการเก็บรักษา

การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสทางด้านรสเปรี้ยวและรสเค็มพบว่า ผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบทางด้านรสเปรี้ยวและรสเค็มของเลือดเปิดต้มทุกกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกันตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ($P < 0.05$)

การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสทางด้านลักษณะเนื้อสัมผัสพบว่า ในช่วงวันแรก (วันที่ 0-3) ผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบทางด้านลักษณะเนื้อสัมผัสของเลือดเปิดต้มทุกกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกัน ($P < 0.05$) แต่เมื่อเก็บรักษานานขึ้นเป็นเวลา 9 วันพบว่า ผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบทางด้านลักษณะเนื้อสัมผัสของเลือดเปิดต้มกลุ่มควบคุม โซเดียมไคโอซิเตท โซเดียมซิเตรท โซเดียมไคโอซิเตทร่วมกับ โซเดียมซิเตรท และ โซเดียมไคโอซิเตทร่วมกับ โซเดียมคลอไรด์ลดลงในวันที่ 7, 9, 5, 9 และ 9 ตามลำดับ

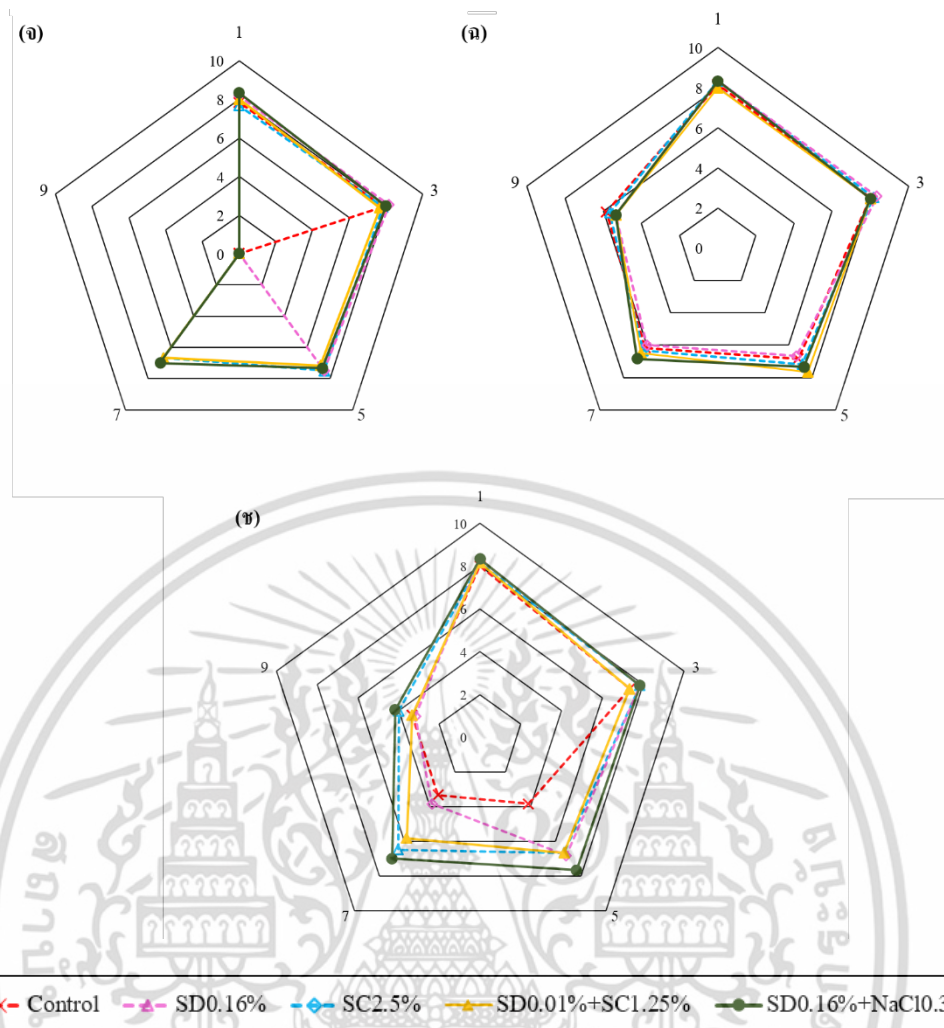
การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสทางด้านคุณภาพโดยรวมพบว่า ในช่วงวันแรก (วันที่ 0-3) ผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบทางด้านคุณภาพโดยรวมของเลือดเปิดต้มทุกกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกัน ($P < 0.05$) แต่เมื่อเก็บรักษานานขึ้นเป็นเวลา 9 วันพบว่า ผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบทางด้านคุณภาพโดยรวมของเลือดเปิดต้มกลุ่มควบคุม โซเดียมไคโอซิเตท โซเดียมซิเตรท โซเดียมไคโอซิเตทร่วมกับ โซเดียมซิเตรท และ โซเดียมไคโอซิเตทร่วมกับ โซเดียมคลอไรด์ลดลงในวันที่ 5, 7, 5, 7 และ 7 ตามลำดับ (ภาพที่ 4.16) ซึ่งจากการวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยผู้ทดสอบที่ได้รับการฝึกฝนนั้น พบว่า ผู้ประเมินให้คะแนนความชอบคุณภาพ

โดยรวมของเลือดเปิดต้มของกลุ่มที่เติมสารละลายโซเดียมไดอะซิเตท โซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมซิเตรท และโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์สูงสุด



ภาพที่ 4.16 ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และ โซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อการวิเคราะห์ทางด้านประสาทสัมผัสของเลือดเปิดต้มอุณหภูมิการเก็บรักษา 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1, 3, 5, 7 และ 9 วัน; (ก) ด้านกลิ่นเปรี้ยว (ข) ด้านกลิ่นคาว (ค) ด้านสี (ง) ด้านรสเปรี้ยว (จ) ด้านรสเค็ม (ฉ) ด้านลักษณะเนื้อสัมผัส และ (ช) ด้านคุณภาพโดยรวม เมื่อ (T1) Control, (T2) SD 0.16%, (T3) SC 2.5%, (T4) SD 0.01% + SC 1.25% และ (T5) SD 0.16% + NaCl 0.32%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.16 (ต่อ) ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อการวิเคราะห์ทางด้านประสาทสัมผัสของเลือดเปิดต้มอุณหภูมิการเก็บรักษา 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1, 3, 5, 7 และ 9 วัน; (ก) ด้านกลิ่นเปรี้ยว (ข) ด้านกลิ่นคาว (ค) ด้านสี (ง) ด้านรสเปรี้ยว (จ) ด้านรสเค็ม (ฉ) ด้านลักษณะเนื้อสัมผัส และ (ช) ด้านคุณภาพโดยรวม เมื่อ (T1) Control, (T2) SD 0.16%, (T3) SC 2.5%, (T4) SD 0.01% + SC 1.25% และ (T5) SD 0.16% + NaCl 0.32%

จากผลการศึกษาประสิทธิภาพการลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกัน และการวิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์ในเลือดเปิดต้มที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 10 องศาเซลเซียส ในระยะเวลา 9 วัน เมื่อพิจารณาการวิเคราะห์คุณภาพทางด้านต่าง ๆ ร่วมกันดังข้างต้นของผลิตภัณฑ์ในเลือดเปิดต้มสามารถคัดเลือกสารละลายกลุ่มที่ดีที่สุด 1 กลุ่มคือ โซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์และนำไปใช้เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ชื่อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. Typhimurium*, *S. aureus* และ *E. coli* ของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันในเลือดเปิดคัมต่อไป

4.2.5 การทดลองที่ 2.5 ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อปริมาณของเชื้อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* และ *E. coli* ในเลือดเปิดคัม

จากการศึกษาผลของสารละลายทั้ง 5 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มควบคุม กลุ่มสารละลายโซเดียมไดอะซิเตท โซเดียมซิเตรท โซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมซิเตรท และโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ ต่อปริมาณเชื้อ *L. sakei* ในเลือดเปิดคัมที่มีการเติมเชื้อ *L. sakei* ให้มีเชื้อเริ่มต้น $10^3 \log \text{cfu/g}$ ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 วัน พบว่า ภายหลังจากเลือดเปิดคัมสัมผัสสารละลายโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์สามารถลดปริมาณเชื้อ *L. sakei* ได้นานกว่ากลุ่มควบคุม 1 วัน ($P < 0.05$) โดยในวันที่ 5 ของการเก็บรักษามีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (total culturable cells) อยู่ในช่วง $4.14 \pm 0.04 \log \text{cfu/g}$ ในขณะที่กลุ่มควบคุมมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (total culturable cells) อยู่ในช่วง $6.46 \pm 0.02 \log \text{cfu/g}$ และปริมาณแบคทีเรียที่อยู่ในสภาวะไม่เครียด (non-stressed cells) มีค่าค่อนข้างคงที่จนวันที่ 5 ของการเก็บรักษาแบคทีเรียมีปริมาณเพิ่มขึ้น และเหนี่ยวนำให้แบคทีเรียเข้าสู่สภาวะเครียด (stressed cells) โดยในวันที่ 0-3 ของการเก็บรักษาเซลล์ที่เข้าสู่สภาวะเครียดมีปริมาณสูงกว่ากลุ่มควบคุม แต่เมื่อเก็บรักษาได้ 4 วัน พบว่า มีแบคทีเรียทั้งหมดน้อยกว่ากลุ่มควบคุม และจากการพิจารณาร่วมกับปริมาณแบคทีเรียที่อยู่ในสภาวะเครียดต่อสภาวะไม่เครียดหรือเซลล์อยู่ในสภาวะปกติ (stressed cells:non-stressed cells) พบว่า ภายหลังจากสัมผัสสารละลายโซเดียมไดอะซิเตท โซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมซิเตรท และโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์เหนี่ยวนำให้แบคทีเรียเกิดสภาวะเครียดมากที่สุดตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 6 วันเมื่อเทียบกับกลุ่มการทดลองอื่น ($P < 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบผลการเติมเชื้อ *L. sakei* บนเลือดเป็นก้อนในระหว่างการเก็บรักษานาน 6 วัน พบว่า ภายหลังจากสัมผัสสารละลายทุกกลุ่มสารละลายสามารถเหนี่ยวนำให้แบคทีเรียเข้าสู่สภาวะเครียดสูงขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ($P < 0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 4.17

ผลของสารละลายทั้ง 5 กลุ่มต่อปริมาณเชื้อ *P. fluorescens* ในเลือดเปิดคัมที่มีการเติมเชื้อ *P. fluorescens* ให้มีเชื้อเริ่มต้น $10^3 \log \text{cfu/g}$ พบว่า ภายหลังจากเลือดเปิดคัมสัมผัสสารละลายกลุ่มโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์สามารถลดปริมาณเชื้อ *P. fluorescens* ได้นานกว่ากลุ่มควบคุม 1 วัน ($P < 0.05$) โดยในวันที่ 6 ของการเก็บรักษามีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (total culturable cells) อยู่ในช่วง $4.80 \pm 0.05 \log \text{cfu/g}$ ในขณะที่กลุ่มควบคุมมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด

(total culturable cells) อยู่ในช่วง $6.12 \pm 0.01 \log \text{ cfu/g}$ และปริมาณแบคทีเรียที่อยู่ในสภาวะไม่เครียด (non-stressed cells) มีค่าต่ำที่สุดเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และเหนี่ยวนำให้แบคทีเรียเข้าสู่สภาวะเครียด (stressed cells) โดยในวันที่ 0-2 ของการเก็บรักษาเซลล์ที่เข้าสู่สภาวะเครียดมีปริมาณไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม แต่เมื่อเก็บรักษาได้ 3 วัน พบว่า มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดน้อยกว่ากลุ่มควบคุม และจากการพิจารณาร่วมกับปริมาณแบคทีเรียที่อยู่ในสภาวะเครียดต่อสภาวะไม่เครียด หรือเซลล์อยู่ในสภาวะปกติ (stressed cells:non-stressed cells) พบว่า ภายหลังสัมผัสสารละลายโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์เหนี่ยวนำให้แบคทีเรียเข้าสู่สภาวะเครียดมากที่สุดตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 6 วันเมื่อเทียบกับกลุ่มการทดลองอื่น ($P < 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบผลการเติมเชื้อ *P. fluorescens* บนเลือดเป็นก้อนในระหว่างการเก็บรักษานาน 6 วัน พบว่า ภายหลังสัมผัสสารละลายทุกกลุ่มเหนี่ยวนำให้แบคทีเรียเข้าสู่สภาวะเครียดลดลง ยกเว้น สารละลายโซเดียมไดอะซิเตทแบคทีเรียมีปริมาณคงที่ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ($P < 0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 4.18

ผลของสารละลายทั้ง 5 กลุ่มต่อปริมาณเชื้อ *S. aureus* ในเลือดเปิดต้มที่มีการเติมเชื้อ *S. aureus* ให้มีเชื้อเริ่มต้น $10^3 \log \text{ cfu/g}$ พบว่า ภายหลังเลือดเปิดต้มสัมผัสสารละลายโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์สามารถลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* ได้นานกว่ากลุ่มควบคุม 2 วัน ($P < 0.05$) โดยในวันที่ 4 ของการเก็บรักษามีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (total culturable cells) อยู่ในช่วง $4.17 \pm 0.01 \log \text{ cfu/g}$ ในขณะที่กลุ่มควบคุมมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (total culturable cells) อยู่ในช่วง $6.11 \pm 0.00 \log \text{ cfu/g}$ และปริมาณแบคทีเรียที่อยู่ในสภาวะไม่เครียด (non-stressed cells) มีค่าต่ำที่สุดรองลงมาคือ สารละลายโซเดียมไดอะซิเตทเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และเหนี่ยวนำให้แบคทีเรียเข้าสู่สภาวะเครียด (stressed cells) โดยมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม และจากการพิจารณาร่วมกับปริมาณแบคทีเรียที่อยู่ในสภาวะเครียดต่อสภาวะไม่เครียดหรือเซลล์อยู่ในสภาวะปกติ (stressed cells:non-stressed cells) พบว่า สารละลายโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์เหนี่ยวนำให้แบคทีเรียเข้าสู่สภาวะเครียดมากที่สุดตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 6 วันเมื่อเทียบกับกลุ่มการทดลองอื่น ($P < 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบผลการเติมเชื้อ *S. aureus* บนเลือดเป็นก้อนในระหว่างการเก็บรักษานาน 6 วัน พบว่า ภายหลังสัมผัสสารละลายทุกกลุ่มเหนี่ยวนำให้แบคทีเรียเข้าสู่สภาวะเครียดสูงขึ้น ($P < 0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 4.19

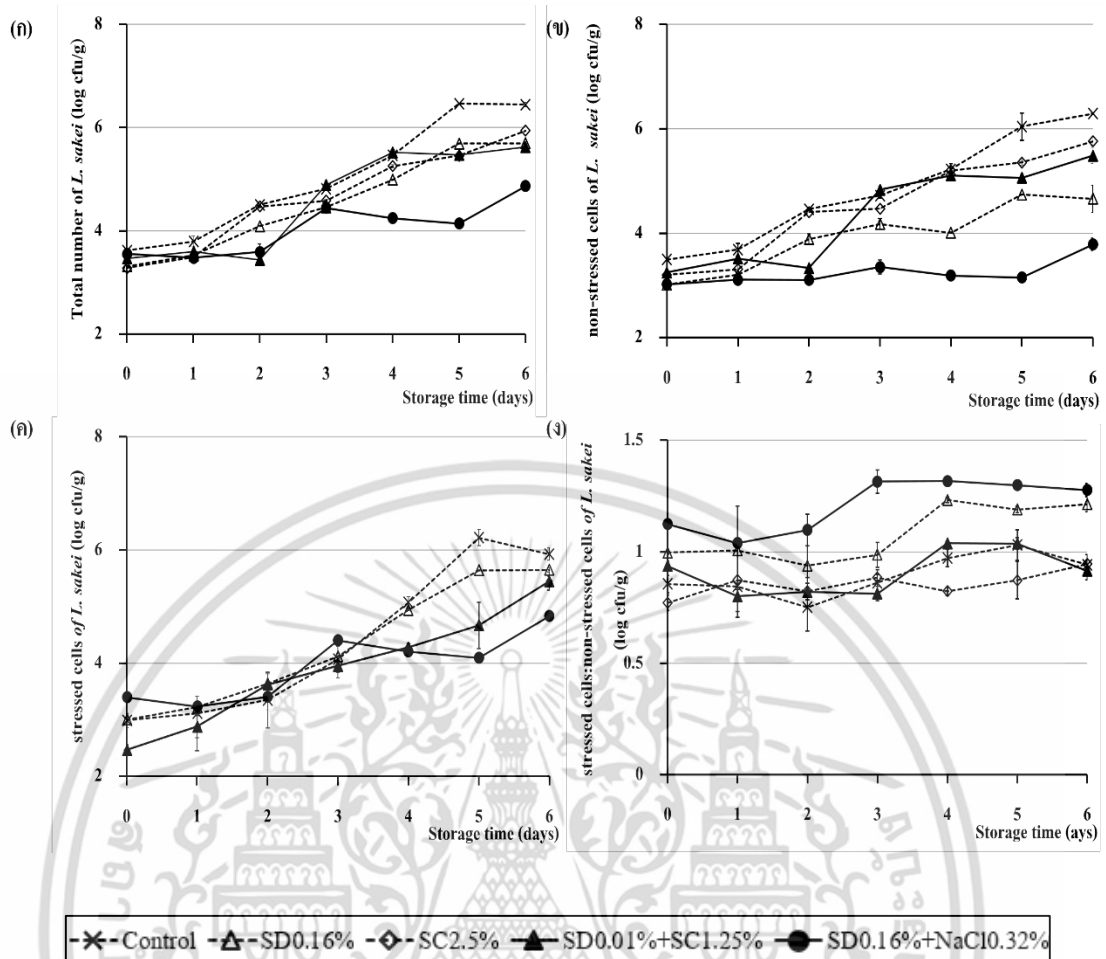
ผลของสารละลายทั้ง 5 กลุ่มต่อปริมาณเชื้อ *S. Typhimurium* ในเลือดเปิดต้มที่มีการเติมเชื้อ *S. Typhimurium* ให้มีเชื้อเริ่มต้น $10^3 \log \text{ cfu/g}$ พบว่า ภายหลังเลือดเปิดต้มสัมผัสสารละลายโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์สามารถลดปริมาณเชื้อ *S. Typhimurium* ได้นานกว่ากลุ่มควบคุม 1 วัน ($P < 0.05$) โดยในวันที่ 6 ของการเก็บรักษามีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (total culturable cells) อยู่ในช่วง $5.10 \pm 0.11 \log \text{ cfu/g}$ ในขณะที่กลุ่มควบคุมมีปริมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (total culturable cells) อยู่ในช่วง $6.39 \pm 0.15 \log \text{ cfu/g}$ และปริมาณแบคทีเรียที่อยู่ในสภาวะไม่เครียด (non-stressed cells) มีค่าต่ำที่สุดเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และเหนี่ยวนำให้แบคทีเรียเข้าสู่สภาวะเครียด (stressed cells) โดยในวันที่ 0-2 ของการเก็บรักษาเซลล์ที่เข้าสู่สภาวะเครียดมีปริมาณไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม แต่เมื่อเก็บรักษาได้ 3 วัน พบว่า มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดน้อยกว่ากลุ่มควบคุม และจากการพิจารณาร่วมกับปริมาณแบคทีเรียที่อยู่ในสภาวะเครียดต่อสภาวะไม่เครียดหรือเซลล์อยู่ในสภาวะปกติ (stressed cells:non-stressed cells) พบว่า สารละลายโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์เหนี่ยวนำให้แบคทีเรียเข้าสู่สภาวะเครียดมากที่สุดตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 6 วันเมื่อเทียบกับกลุ่มการทดลองอื่น ($P < 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบผลการเติมเชื้อ *S. Typhimurium* บนเลือดเป็ดต้มในระหว่างการเก็บรักษานาน 6 วัน พบว่า ภายหลังสัมผัสสารละลายทุกกลุ่มเหนี่ยวนำให้แบคทีเรียเข้าสู่สภาวะเครียดสูงขึ้น ยกเว้น สารละลายโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมซิเตรท และโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์แบคทีเรียมีปริมาณคงที่ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ($P < 0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 4.20 และผลของสารละลายทั้ง 5 กลุ่มต่อปริมาณเชื้อ *E. coli* ในเลือดเป็ดต้มที่มีการเติมเชื้อ *E. coli* ให้มีเชื้อเริ่มต้น $10^3 \log \text{ cfu/g}$ พบว่า ภายหลังเลือดเป็ดต้มสัมผัสสารละลายโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์สามารถลดปริมาณเชื้อ *E. coli* ได้มากกว่ากลุ่มควบคุม 1 วัน ($P < 0.05$) โดยในวันที่ 5 ของการเก็บรักษามีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (total culturable cells) อยู่ในช่วง $4.75 \pm 0.16 \log \text{ cfu/g}$ ในขณะที่กลุ่มควบคุมมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (total culturable cells) อยู่ในช่วง $6.13 \pm 0.02 \log \text{ cfu/g}$ และปริมาณแบคทีเรียที่อยู่ในสภาวะไม่เครียด (non-stressed cells) มีค่าต่ำที่สุดเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และเหนี่ยวนำให้แบคทีเรียเข้าสู่สภาวะเครียด (stressed cells) โดยมีปริมาณต่ำที่สุดตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา และจากการพิจารณาร่วมกับปริมาณแบคทีเรียที่อยู่ในสภาวะเครียดต่อสภาวะไม่เครียดหรือเซลล์อยู่ในสภาวะปกติ (stressed cells:non-stressed cells) พบว่า โซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์เหนี่ยวนำให้แบคทีเรียเข้าสู่สภาวะเครียดมากที่สุดตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 6 วันเมื่อเทียบกับกลุ่มการทดลองอื่น ($P < 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบผลการเติมเชื้อ *E. coli* บนเลือดเป็ดต้มในระหว่างการเก็บรักษานาน 6 วัน พบว่า ภายหลังสัมผัสสารละลายทุกกลุ่มเหนี่ยวนำให้แบคทีเรียเข้าสู่สภาวะเครียดลดลง ($P < 0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 4.21

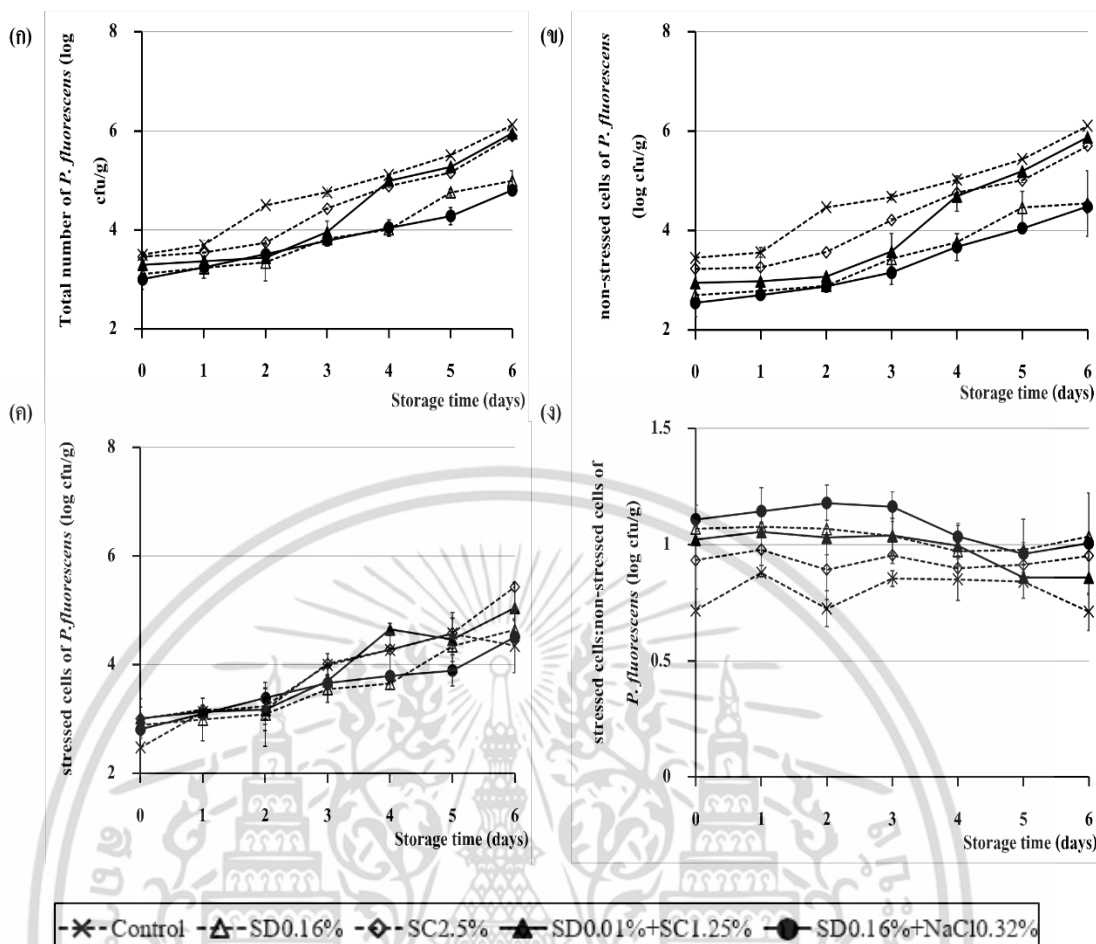
จากผลการศึกษาประสิทธิภาพการลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด เชื้อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* และ *E. coli* ของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกัน และการวิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์ในเลือดเป็ดต้มที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บรักษาต่างกันข้างต้นสามารถสรุปได้ว่า การเติมสารละลายโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์มีผลในการช่วยชะลอการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมด และเชื้อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. Typhimurium*, *S. aureus* และ *E. coli* ได้ดีกว่ากลุ่มการทดลองอื่น เนื่องจากมีการเติมเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โซเดียมคลอไรด์เพื่อช่วยยับยั้งแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์ด้วย นอกจากคุณสมบัติของเกลือกรดที่กล่าวมาแล้ว โซเดียมไดอะซิเตตซึ่งเป็นเกลือของกรดอ่อนที่มีการแตกตัวให้ Na^+ ซึ่งไอออนของโลหะ Na^+ นี้ อาจทำให้เกิดการแย่งจับสารอาหารภายในเซลล์และผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ด้วยไอออนของโลหะหนักที่เป็นองค์ประกอบภายในกรดสามารถทำให้การเจริญของแบคทีเรียลดลง โดยประสิทธิภาพขึ้นอยู่กับสารที่แบคทีเรียต้องการ ปริมาณความเข้มข้นของไอออนโลหะ และประสิทธิภาพของโลหะหนักแต่ละชนิด (Stratford, 1999) และการเติมโซเดียมคลอไรด์ยังสามารถช่วยขนส่งไอออนของโลหะหนักผ่านเข้า-ออกเยื่อหุ้มเซลล์ได้ง่ายขึ้น โดยใช้กลไกโซเดียม-โพแทสเซียมปั๊ม ทำให้โปรตอนมีการดึงเบสพิวรีนในดีเอ็นเอออกมาทำให้การสังเคราะห์เอนไซม์ชะงัก การเมตาบอลิซึมเปลี่ยนแปลงไป ไม่มีการสังเคราะห์โปรตีน เกิดสภาวะเครียดภายในเซลล์ เซลล์จึงต้องมีการรักษาสมดุลภายในเซลล์ ด้วยกลไกการทำงานของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์นี้จึงทำให้เซลล์ของแบคทีเรียมีการปรับตัวเพื่อให้สามารถอยู่รอดได้ในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม (Griffiths, 2005) สอดคล้องกับผลการศึกษาที่พบว่า ภายหลังจากสัมผัสสารละลายโซเดียมไดอะซิเตต และโซเดียมไดอะซิเตตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์มีผลทำให้แบคทีเรียในเลือดเปิดตั้มอยู่ในสภาวะเครียดมากกว่าแบคทีเรียอยู่ในสภาวะปกติ ภายหลังจากสัมผัสสารละลายโซเดียมไดอะซิเตตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ทำให้ปริมาณแบคทีเรียในเลือดเปิดตั้มก่อนข้างคงที่ เมื่อทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 2 วัน หลังจากแบคทีเรียมีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 6 วัน ในขณะที่กลุ่มควบคุม โซเดียมซิเตรทและโซเดียมไดอะซิเตตร่วมกับโซเดียมซิเตรทแบคทีเรียมีปริมาณในเลือดเปิดตั้มเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา แต่อย่างไรก็ตามการใช้โซเดียมไดอะซิเตตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์สามารถควบคุมการเจริญของเชื้อ *L. sakei* ได้มากกว่าการใช้โซเดียมไดอะซิเตตเพียงอย่างเดียว ดังนั้นจึงเลือกโซเดียมไดอะซิเตตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ไปใช้ในการทดลองที่ 2.6 ต่อไป



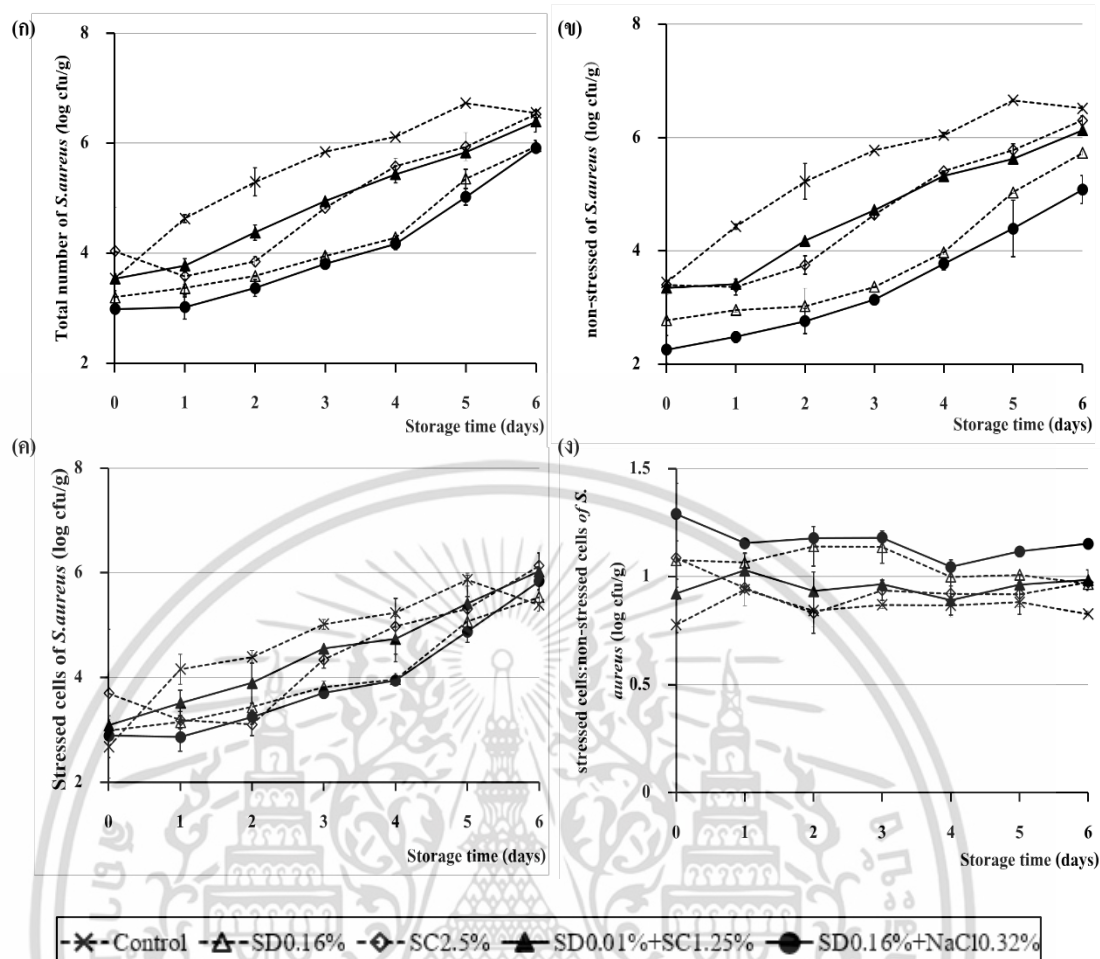
ภาพที่ 4.17 ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อการลดปริมาณเชื้อ *L. sakei* ในเลือดเปิดดื่ม ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 10 องศาเซลเซียสในระยะเวลาการเก็บรักษา 0, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 วัน เมื่อแบคทีเรียอยู่ในสภาวะ (ก) total culturable cells (ข) non-stressed cells (ค) stressed cells และ (ง) stressed cells:non-stressed cells; (T1) Control, (T2) SD 0.16%, (T3) SC 2.5%, (T4) SD 0.01% + SC 1.25% และ (T5) SD 0.16% + NaCl 0.32%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



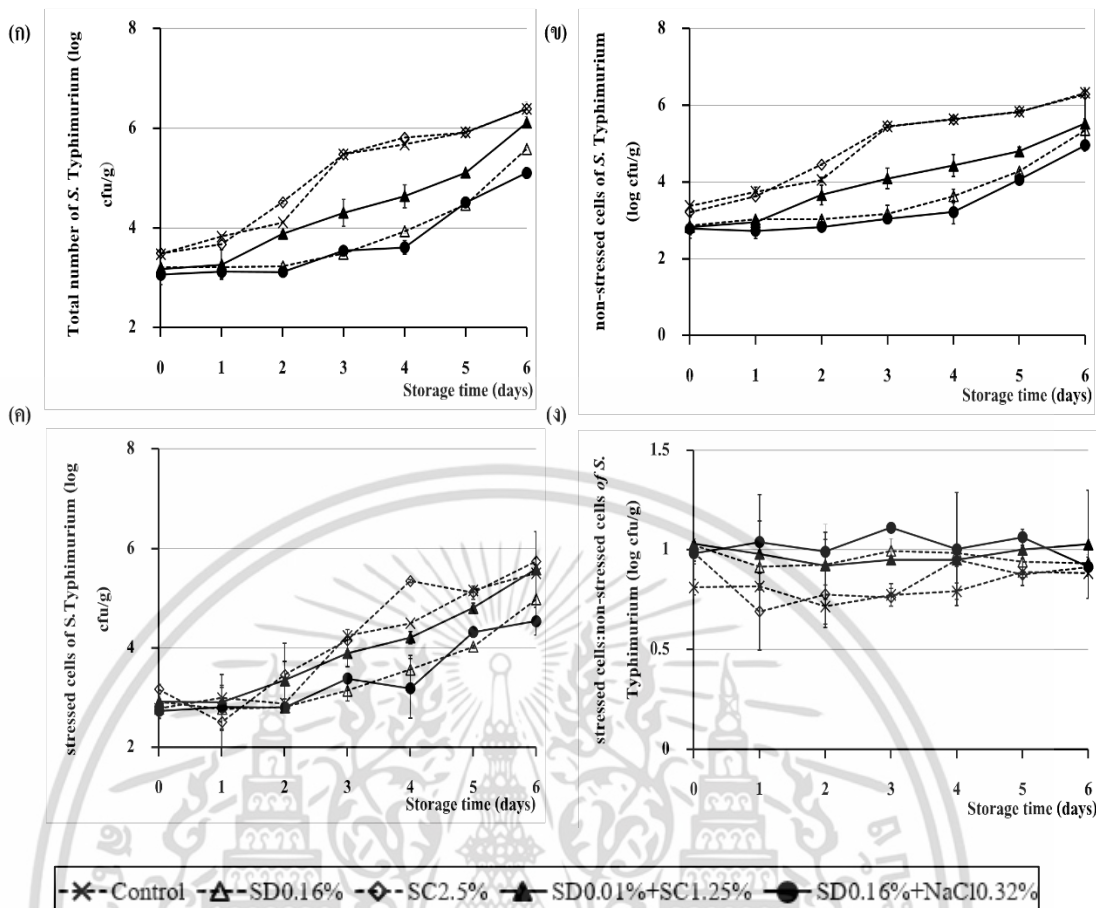
ภาพที่ 4.18 ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อการลดปริมาณเชื้อ *P. fluorescens* ในเลือดเป็ดต้ม ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 10 องศาเซลเซียส ในระยะเวลาการเก็บรักษา 0, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 วัน เมื่อแบคทีเรียอยู่ในสภาวะ (ก) total culturable cells (ข) non-stressed cells (ค) stressed cells และ (ง) stressed cells:non-stressed cells; (T1) Control, (T2) SD 0.16%, (T3) SC 2.5%, (T4) SD 0.01% + SC 1.25% และ (T5) SD 0.16% + NaCl 0.32%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



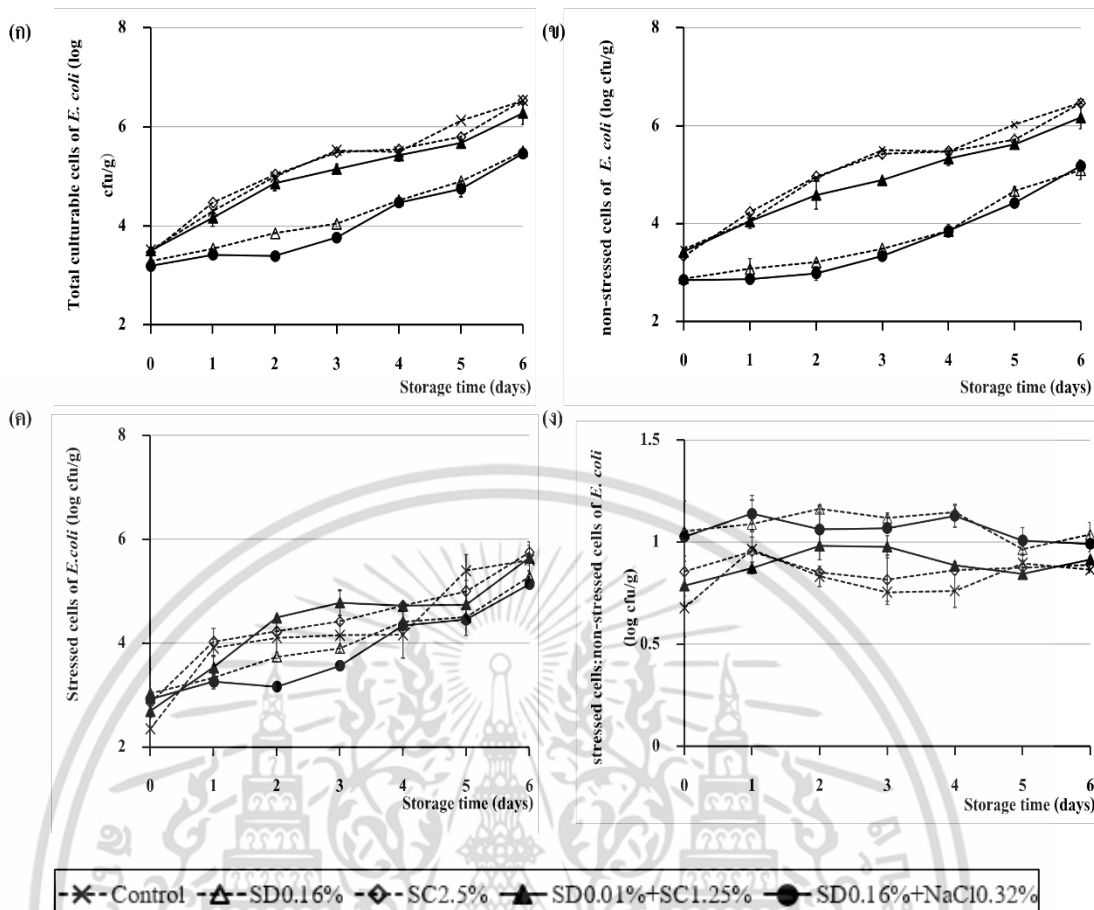
ภาพที่ 4.19 ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และ โซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อการลด ปริมาณเชื้อ *S. aureus* ในเนื้อเป็ดต้ม ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 10 องศาเซลเซียสใน ระยะเวลาการเก็บรักษา 0, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 วัน เมื่อแบคทีเรียอยู่ในสภาวะ (ก) total culturable cells (ข) non-stressed cells (ค) stressed cells และ (ง) stressed cells:non-stressed cells; (T1) Control, (T2) SD 0.16%, (T3) SC 2.5%, (T4) SD 0.01% + SC 1.25% และ (T5) SD 0.16% + NaCl 0.32%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.20 ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อการลดปริมาณเชื้อ *S. Typhimurium* ในเลือดเป็ดต้ม ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 10 องศาเซลเซียสในระยะเวลาการเก็บรักษา 0, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 วัน เมื่อแบคทีเรียอยู่ในสภาวะ (ก) total culturable cells, (ข) non-stressed cells, (ค) stressed cells และ (ง) stressed cells:non-stressed cells; (T1) Control, (T2) SD 0.16%, (T3) SC 2.5%, (T4) SD 0.01% + SC 1.25% และ (T5) SD 0.16% + NaCl 0.32%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.21 ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์แบบสารเดี่ยวและร่วมกันต่อการลดปริมาณเชื้อ *E. coli* ในเลือดเป็ดต้ม ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 10 องศาเซลเซียสในระยะเวลาการเก็บรักษา 0, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 วัน เมื่อแบคทีเรียอยู่ในสถานะ (ก) total culturable cells (ข) non-stressed cells (ค) stressed cells และ (ง) stressed cells:non-stressed cells; (T1) Control, (T2) SD 0.16%, (T3) SC 2.5%, (T4) SD 0.01% + SC 1.25% และ (T5) SD 0.16% + NaCl 0.32%

4.2.6 การทดลองที่ 2.6 ประสิทธิภาพการลดและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมดของโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ในเลือดเป็ดต้มที่อุณหภูมิการเก็บรักษาต่างกัน

4.2.6.1 ประสิทธิภาพการลดและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมดของโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ในเลือดเป็ดต้มที่อุณหภูมิการเก็บรักษาต่างกัน

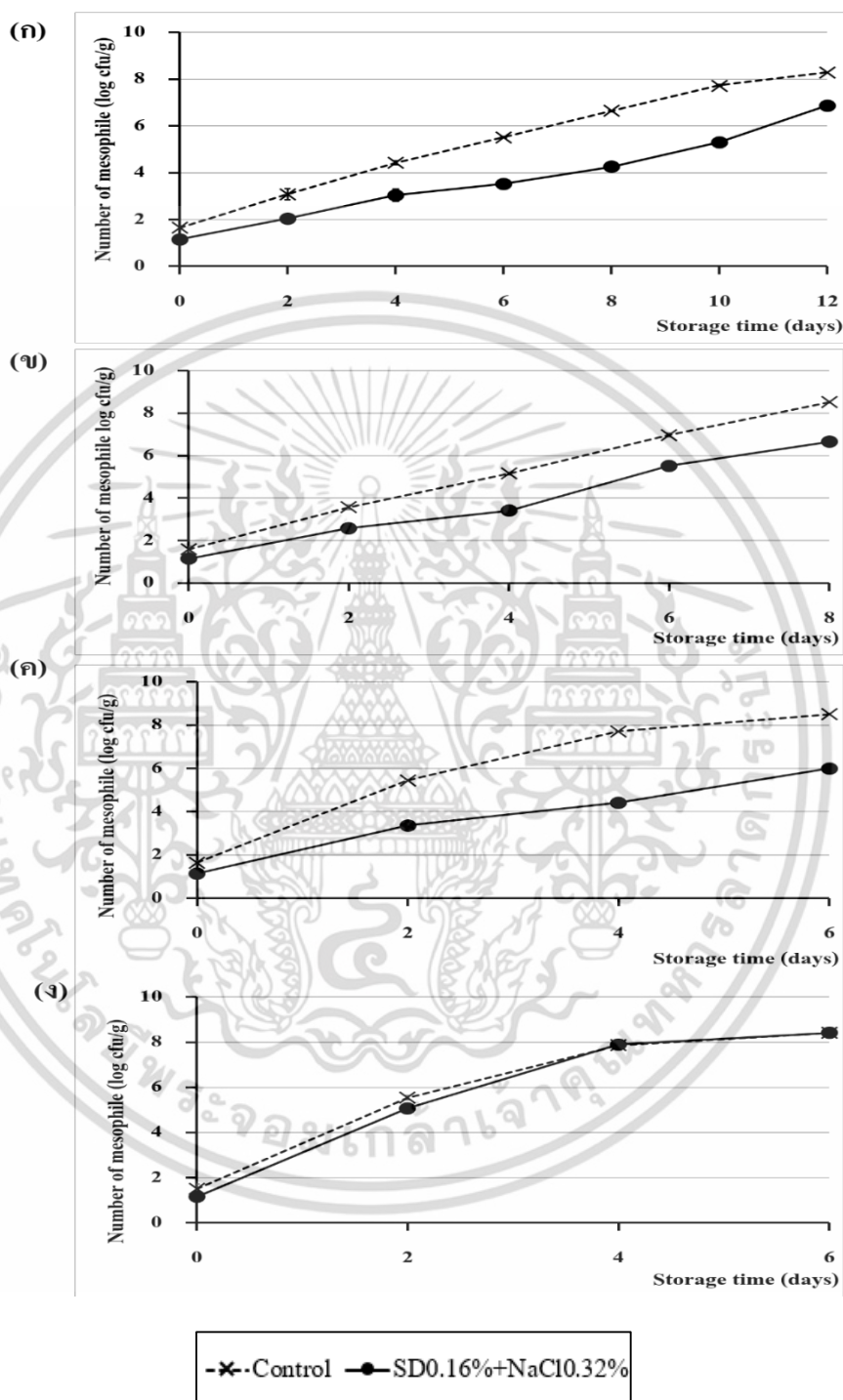
จากการศึกษาประสิทธิภาพการลดและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมดของโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ในเลือดเป็ดต้ม ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ระดับ ได้แก่ 5, 10, 15 และ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 วัน ซึ่ง

ระยะเวลาในการเก็บรักษาเลือดเป็ดต้มจะแตกต่างกันในแต่ละอุณหภูมิของการเก็บรักษาและขึ้นอยู่กับเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กับปริมาณการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมดตามมาตรฐานทางจุลชีววิทยาในอาหารปรุงสุก กำหนดให้มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่เกิน $6 \log \text{cfu/g}$ โดยผลการใช้สารละลายโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ร่วมกับอนุภูมิในการเก็บรักษาพบว่า มีอิทธิพลร่วมระหว่างสารละลายโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์และอนุภูมิในทางสถิติ ที่อนุภูมิการเก็บรักษา 5 องศาเซลเซียส พบว่า ในวันที่ 8 ของการเก็บรักษาเลือดเปิดดื่ม กลุ่มควบคุมเริ่มมีปริมาณของจุลินทรีย์ที่ชอบอนุภูมิปานกลางอยู่ในระดับ $6.64 \pm 0.03 \log \text{cfu/g}$ ในขณะที่ภายหลังสัมผัสสารละลายโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์มีปริมาณจุลินทรีย์ที่ชอบอนุภูมิปานกลางอยู่ในระดับ $4.25 \pm 0.07 \log \text{cfu/g}$ แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการเก็บรักษานาน 12 วัน พบว่า ทั้งสองกลุ่มการทดลองมีปริมาณจุลินทรีย์สูงขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา และสามารถยืดอายุการเก็บรักษาเลือดเปิดดื่มได้นาน 4 วัน ที่อนุภูมิการเก็บรักษา 10 องศาเซลเซียส พบว่า ในวันที่ 6 วันของการเก็บรักษาเลือดเปิดดื่ม กลุ่มควบคุมเริ่มมีปริมาณของจุลินทรีย์ที่ชอบอนุภูมิปานกลางอยู่ในระดับ $6.97 \pm 0.09 \log \text{cfu/g}$ ในขณะที่ภายหลังสัมผัสสารละลายโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์มีปริมาณจุลินทรีย์ที่ชอบอนุภูมิปานกลางอยู่ในระดับ $5.52 \pm 0.06 \log \text{cfu/g}$ แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการเก็บรักษานาน 8 วัน พบว่า ทั้งสองกลุ่มการทดลองมีปริมาณจุลินทรีย์สูงขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา และสามารถยืดอายุการเก็บรักษาเลือดเปิดดื่มได้นาน 2 วัน ที่อนุภูมิการเก็บรักษา 15 องศาเซลเซียส พบว่า ในวันที่ 4 วันของการเก็บรักษาเลือดเปิดดื่ม กลุ่มควบคุมเริ่มมีปริมาณของจุลินทรีย์ที่ชอบอนุภูมิปานกลางอยู่ในระดับ $7.72 \pm 0.02 \log \text{cfu/g}$ ในขณะที่ภายหลังสัมผัสสารละลายโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์มีปริมาณจุลินทรีย์ที่ชอบอนุภูมิปานกลางอยู่ในระดับ $4.41 \pm 0.05 \log \text{cfu/g}$ แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการเก็บรักษานาน 6 วัน พบว่า ทั้งสองกลุ่มการทดลองมีปริมาณจุลินทรีย์สูงขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา และสามารถยืดอายุการเก็บรักษาเลือดเปิดดื่มได้นาน 2 วัน และที่อนุภูมิการเก็บรักษา 25 องศาเซลเซียส การควบคุมปริมาณจุลินทรีย์ที่ชอบอนุภูมิปานกลางไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับกลุ่มควบคุม ($P > 0.05$) ยกเว้น วันที่ 2 ของการเก็บรักษา เลือดเปิดดื่มกลุ่มที่สัมผัสสารละลายโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์แตกต่างกับกลุ่มควบคุมทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยมีปริมาณจุลินทรีย์ที่ชอบอนุภูมิปานกลางอยู่ที่ระดับ 5.07 ± 0.10 และ 5.54 ± 0.10 ตามลำดับ และเริ่มมีปริมาณจุลินทรีย์ที่ชอบอนุภูมิปานกลางสูงเกินมาตรฐานทางจุลชีววิทยาของอาหารปรุงสุก ในวันที่ 4 ของการเก็บรักษาทั้งสองกลุ่มการทดลอง แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการเก็บรักษานาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

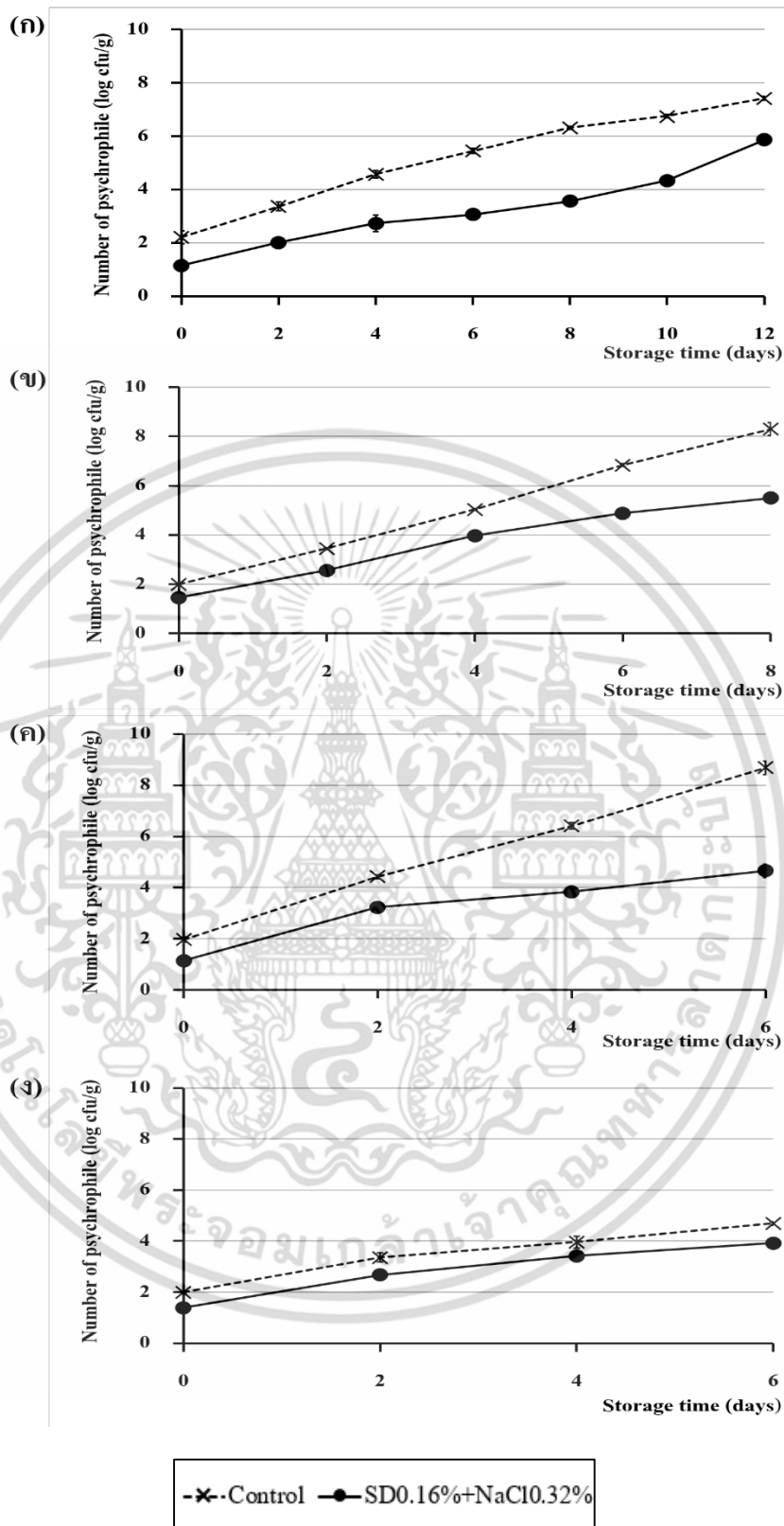
6 วัน พบว่า ทั้งสองกลุ่มการทดลองมีปริมาณจุลินทรีย์สูงขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ดังแสดงในภาพที่ 4.22



ภาพที่ 4.22 ผลของโซเดียมไดอะซิติตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ต่อการลดและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลางในเลือดเป็ดต้มที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิแตกต่างกัน (ก) 5 (ข) 10 (ค) 15 และ (ง) 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 2, 4 และ 6 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับประสิทธิภาพการลดและการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ชอบ อุณหภูมิต่ำ ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 5 องศาเซลเซียส พบว่า ในวันที่ 8 ของการเก็บรักษาเลือดเปิด ต้ม กลุ่มควบคุมเริ่มมีปริมาณของจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำอยู่ในระดับ $6.32 \pm 0.06 \log \text{ cfu/g}$ ในขณะที่ภายหลังสัมผัสสารละลายโซเดียมไดอะซิเตตพร้อมกับ โซเดียมคลอไรด์มีปริมาณ จุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำอยู่ในระดับ $3.56 \pm 0.08 \log \text{ cfu/g}$ แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการเก็บ รักษา นาน 12 วัน พบว่า ทั้งสองกลุ่มการทดลองมีปริมาณจุลินทรีย์สูงขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บ รักษา และสามารถยืดอายุการเก็บรักษาเลือดเปิดต้มได้นาน 6 วัน ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 10 องศา เซลเซียส พบว่า ในวันที่ 6 วันของการเก็บรักษาเลือดเปิดต้ม กลุ่มควบคุมเริ่มมีปริมาณของจุลินทรีย์ ที่ชอบอุณหภูมิต่ำอยู่ในระดับ $6.84 \pm 0.04 \log \text{ cfu/g}$ ในขณะที่ภายหลังสัมผัสสารละลายโซเดียม ไดอะซิเตตพร้อมกับ โซเดียมคลอไรด์มีปริมาณจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำอยู่ในระดับ $4.88 \pm 0.06 \log \text{ cfu/g}$ แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการเก็บรักษา นาน 8 วัน พบว่า ทั้งสองกลุ่มการทดลองมี ปริมาณจุลินทรีย์สูงขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา และสามารถยืดอายุการเก็บรักษาเลือดเปิดต้ม ได้นาน 4 วัน ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 15 องศาเซลเซียส พบว่า ในวันที่ 4 วันของการเก็บรักษาเลือด เปิดต้ม กลุ่มควบคุมเริ่มมีปริมาณของจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำอยู่ในระดับ $6.64 \pm 0.13 \log \text{ cfu/g}$ ในขณะที่ภายหลังสัมผัสสารละลายโซเดียมไดอะซิเตตพร้อมกับ โซเดียมคลอไรด์มีปริมาณ จุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำอยู่ในระดับ $3.83 \pm 0.04 \log \text{ cfu/g}$ แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการเก็บ รักษา นาน 6 วัน พบว่า ทั้งสองกลุ่มการทดลองมีปริมาณจุลินทรีย์สูงขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บ รักษา และสามารถยืดอายุการเก็บรักษาเลือดเปิดต้มได้นาน 4 วัน และที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 25 องศาเซลเซียส การควบคุมปริมาณจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำมีความแตกต่างกันทางสถิติกับกลุ่ม ควบคุม ($P > 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการเก็บรักษา นาน 6 วัน พบว่า ทั้งสองกลุ่มการทดลอง มีปริมาณจุลินทรีย์สูงขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ดังแสดงในภาพที่ 4.23

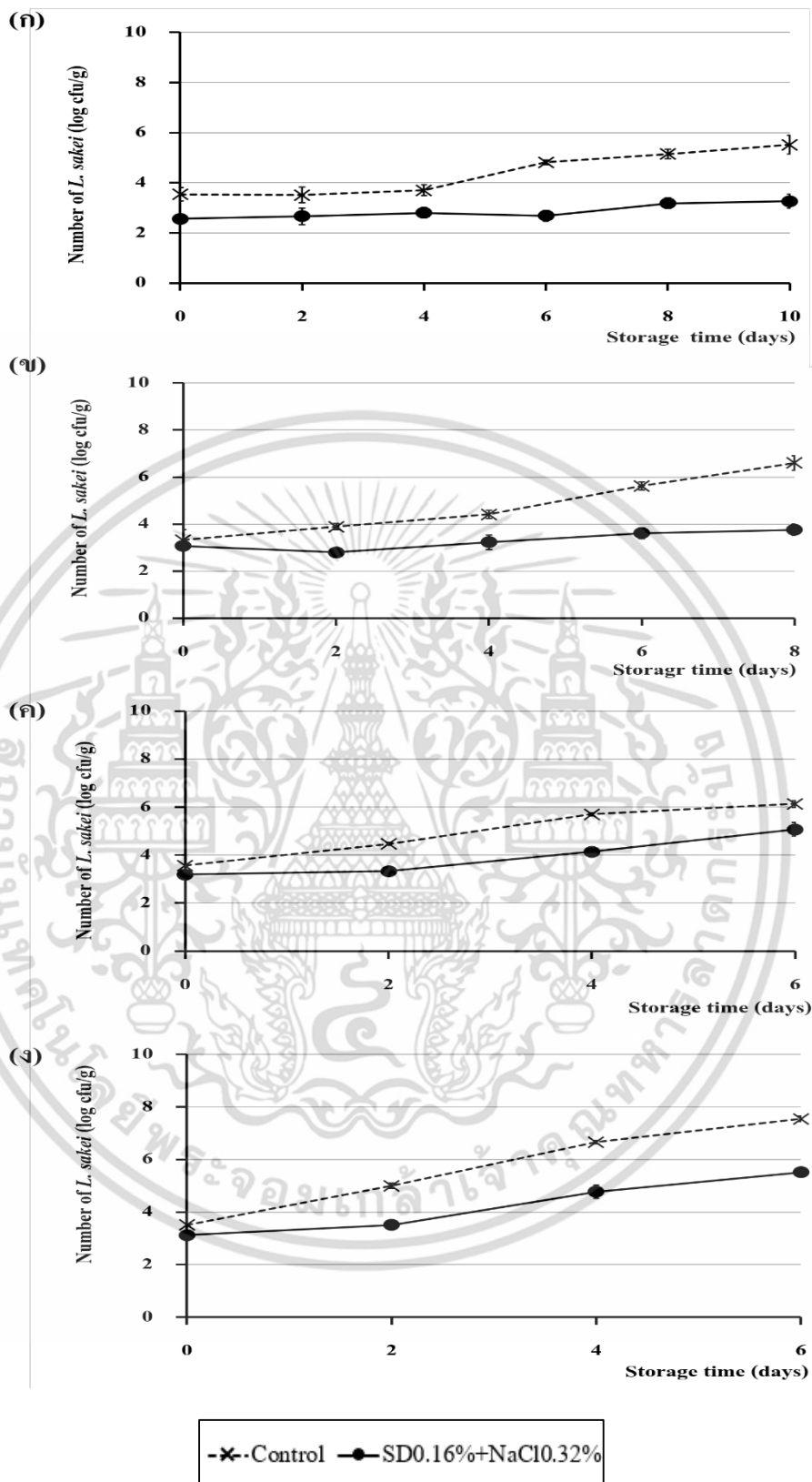


ภาพที่ 4.23 ผลของ โซเดียมไดอะซิติเตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ต่อการลดและยับยั้งการเจริญของ จุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำในเลือดเปิดดื่มที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิแตกต่างกัน ที่ระดับ อุณหภูมิ (ก) 5 (ข) 10 (ค) 15 และ (ง) 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 2, 4 และ 6 วัน เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.6.2 ประสิทธิภาพการลดและยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* และ *E. coli* ของสารละลายโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ในเลือดเปิดดื่มที่อุณหภูมิการเก็บรักษาต่างกัน

การใช้สารละลายโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ร่วมกับอุณหภูมิพบว่า มีอิทธิพลร่วมระหว่างสารละลายโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์และอุณหภูมิในทางสถิติ ซึ่งผลของการเติมเชื้อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* และ *E. coli* พบว่า เลือดเปิดดื่มที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ภายหลังจากสัมผัสสารละลายโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์มีปริมาณแบคทีเรียต่ำกว่ากลุ่มควบคุมตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ($P < 0.05$) ยกเว้น เชื้อ *L. sakei* ในวันแรกของการเก็บรักษา ปริมาณเชื้อเริ่มต้นของทั้งสองกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบในระหว่างการเก็บรักษาเลือดเปิดดื่มเป็นเวลา 12 วัน พบว่า ทั้งสองกลุ่มการทดลองมีปริมาณแบคทีเรียสูงขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษา ($P < 0.05$) ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 10 องศาเซลเซียสพบว่า ภายหลังจากสัมผัสสารละลายโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์มีปริมาณแบคทีเรียต่ำกว่ากลุ่มควบคุมตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ($P < 0.05$) ยกเว้น เชื้อ *L. sakei* ในวันแรกของการเก็บรักษา ปริมาณเชื้อเริ่มต้นของทั้งสองกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบในระหว่างการเก็บรักษาเลือดเปิดดื่มเป็นเวลา 8 วัน พบว่า ทั้งสองกลุ่มการทดลองมีปริมาณแบคทีเรียสูงขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษา ($P < 0.05$) ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 15 องศาเซลเซียสพบว่า ภายหลังจากสัมผัสสารละลายโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์มีปริมาณแบคทีเรียต่ำกว่ากลุ่มควบคุมตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ($P < 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบในระหว่างการเก็บรักษาเลือดเปิดดื่มเป็นเวลา 6 วัน พบว่า ทั้งสองกลุ่มการทดลองมีปริมาณแบคทีเรียสูงขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษา ($P < 0.05$) และที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 25 องศาเซลเซียสพบว่า ภายหลังจากสัมผัสสารละลายโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์มีปริมาณแบคทีเรียต่ำกว่ากลุ่มควบคุมตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ($P < 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบในระหว่างการเก็บรักษาเลือดเปิดดื่มเป็นเวลา 6 วัน พบว่า ทั้งสองกลุ่มการทดลองมีปริมาณแบคทีเรียสูงขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษา ($P < 0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 4.24-4.28 ทั้งนี้เนื่องมาจากสารละลายโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์จะออกฤทธิ์เสริมกันในการยับยั้งแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ โดยกิจกรรมของสารละลายโซเดียมไดอะซิเตท สามารถยับยั้งเมตาบอลิซึม ทำให้มีการรบกวนการทำงานของเมมเบรนทั้งชั้นในและชั้นนอก รวมถึงการแลกเปลี่ยนสารภายใน-ภายนอกเซลล์ และเกิดสภาวะเป็นกรดซึ่งมีผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่างอีกด้วย และจากการศึกษาของ Gimeno *et al.* (2001) พบว่าโซเดียมคลอไรด์มีผลในการยับยั้งเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* และ Boziaris *et al.* (2007) ยังพบว่า โซเดียมคลอไรด์สามารถยับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes* โดยช่วยยืดระยะเวลา lag phase ให้นานขึ้น ซึ่งกลไกในการยับยั้งแบคทีเรียของโซเดียมคลอไรด์มีผลมาจากคลอไรด์ไอออน (Bidlas and Lambert. 2008) และเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

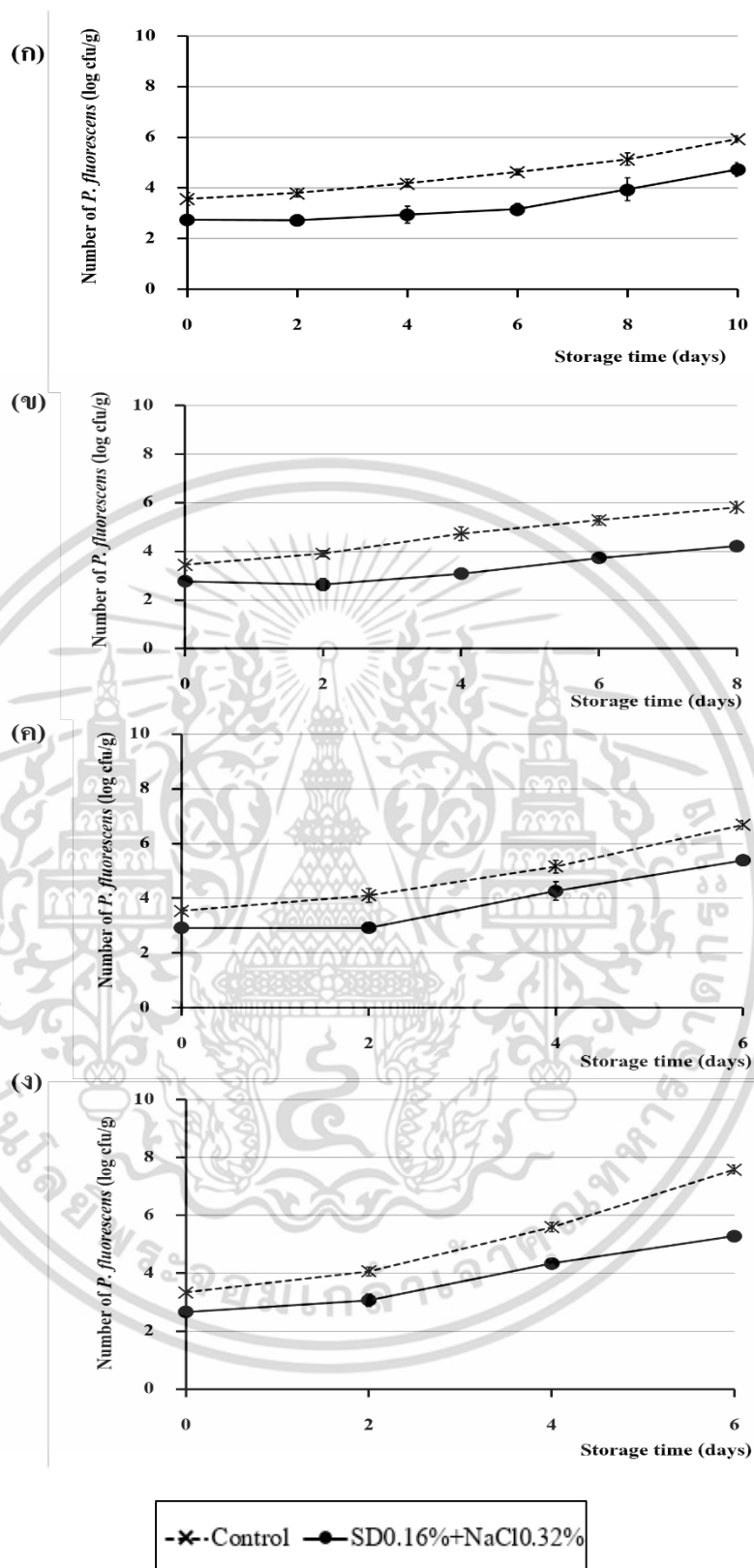
จากการศึกษาของปราโมทย์ ชุนทรณ์ (2548) ได้ทำการศึกษาผลร่วมกันของโซเดียมแลคเตท โซเดียมคลอไรด์ และสภาวะกรด-เบสที่มีผลต่อการเจริญของ *Salmonella enteritica weltevreden* ณ อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส พบว่า การเติมโซเดียมคลอไรด์อาจมีผลกระทบต่อโซเดียมแลคเตท เพราะเมื่อพิจารณาคุณสมบัติของทั้งสองแล้ว โซเดียมคลอไรด์เป็นเกลือที่มีคุณสมบัติในการลดค่า a_w ในอาหาร แต่โซเดียมแลคเตทจะทำงานได้ดีในสภาวะของอาหารที่มี a_w สูงกว่าสภาวะที่มี a_w ต่ำ ๆ เพราะโซเดียมแลคเตทจะมีกลไกในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย โดยเมื่อแตกตัวในน้ำแล้วสามารถซึมผ่านเข้าไปในเซลล์ของแบคทีเรีย ทำให้ภาวะความเป็นกรด-ด่างภายในและภายนอกเซลล์ไม่สมดุลกัน เซลล์จึงสูญเสียความสามารถในการดำเนินกระบวนการต่าง ๆ และเจริญได้ช้าลง (Alakomi *et al.* 2000; Bogaert and Naidu. 2000) ดังนั้นในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมโซเดียมคลอไรด์ และโซเดียมแลคเตทร่วมกัน แล้วเป็นการเติมโซเดียมคลอไรด์ในปริมาณมากคือ 2 และ 4% ไม่ได้เติมเป็นเพียงแค่สารปรุงรสเหมือนในผลิตภัณฑ์อาหาร อาจเป็นไปได้ที่คุณสมบัติในความเป็นเกลือของโซเดียมคลอไรด์จะมีสูงกว่า และส่งผลต่อค่า a_w ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำให้โซเดียมแลคเตทความเข้มข้น 2.4% แตกตัวได้น้อยกว่าจึงส่งผลให้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียน้อยกว่าการใช้โซเดียมแลคเตทความเข้มข้น 1.2% ซึ่งจากการศึกษาดังกล่าวทำให้ข้อสันนิษฐานของผลการทดลองนี้ได้ว่า การใช้โซเดียมคลอไรด์ในปริมาณที่ต่ำจะช่วยส่งเสริมการแตกตัวของโซเดียมไดอะซิเตทในเซลล์แบคทีเรียได้ดียิ่งขึ้น ทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้งแกรมลบและแกรมบวกดีกว่าเมื่อใช้โซเดียมไดอะซิเตทเพียงสารเดี่ยว แต่เมื่อพิจารณาผลของอุณหภูมิร่วมกับการใช้สารละลายโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์พบว่า อุณหภูมิมีส่วนช่วยในการเจริญของแบคทีเรียได้ไม่เท่ากัน โดยแบคทีเรียแต่ละชนิดจะมีช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *L. sakei*, *P. fluorescens*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* และ *E. coli* แตกต่างกันคือ 37, 25-30, 37, 37-42 และ 37 องศาเซลเซียส ตามลำดับ (Castellano *et al.* 2004, Chythanya *et al.* 2002, นงลักษณ์ สุวรรณพิณีจ. 2544, สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2549 และ FAO/WHO. 2008 ตามลำดับ) ซึ่งจะเห็นได้ว่า แบคทีเรียข้างต้นสามารถเจริญได้ดีในช่วงอุณหภูมิที่ใกล้เคียงกับอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จึงทำให้มีการเจริญได้ดีที่สุด และการเจริญของแบคทีเรียจะชะลอมากขึ้นเมื่อทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห่างจากอุณหภูมิที่เหมาะสมมากขึ้น ดังนั้น จึงต้องมีการควบคุมอุณหภูมิในการเก็บรักษาเลือดเปิดดื่มให้อยู่ในระดับต่ำ (0-4 องศาเซลเซียส) เพื่อควบคุมการเจริญของแบคทีเรียดังกล่าวข้างต้น และจากการทดลองนี้สามารถนำสารละลายโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ไปใช้ในการควบคุมจุลชีพของกระบวนการผลิตเลือดเปิดดื่มร่วมกับการควบคุมอุณหภูมิระหว่างการเก็บรักษาในการทดลองที่ 3 ต่อไป



ภาพที่ 4.24 ผลของโซเดียมไดอะซิติเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ต่อการลดและยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. sakei* ในเลือดเป็ดต้มที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิแตกต่างกัน ที่ระดับอุณหภูมิ (ก) 5

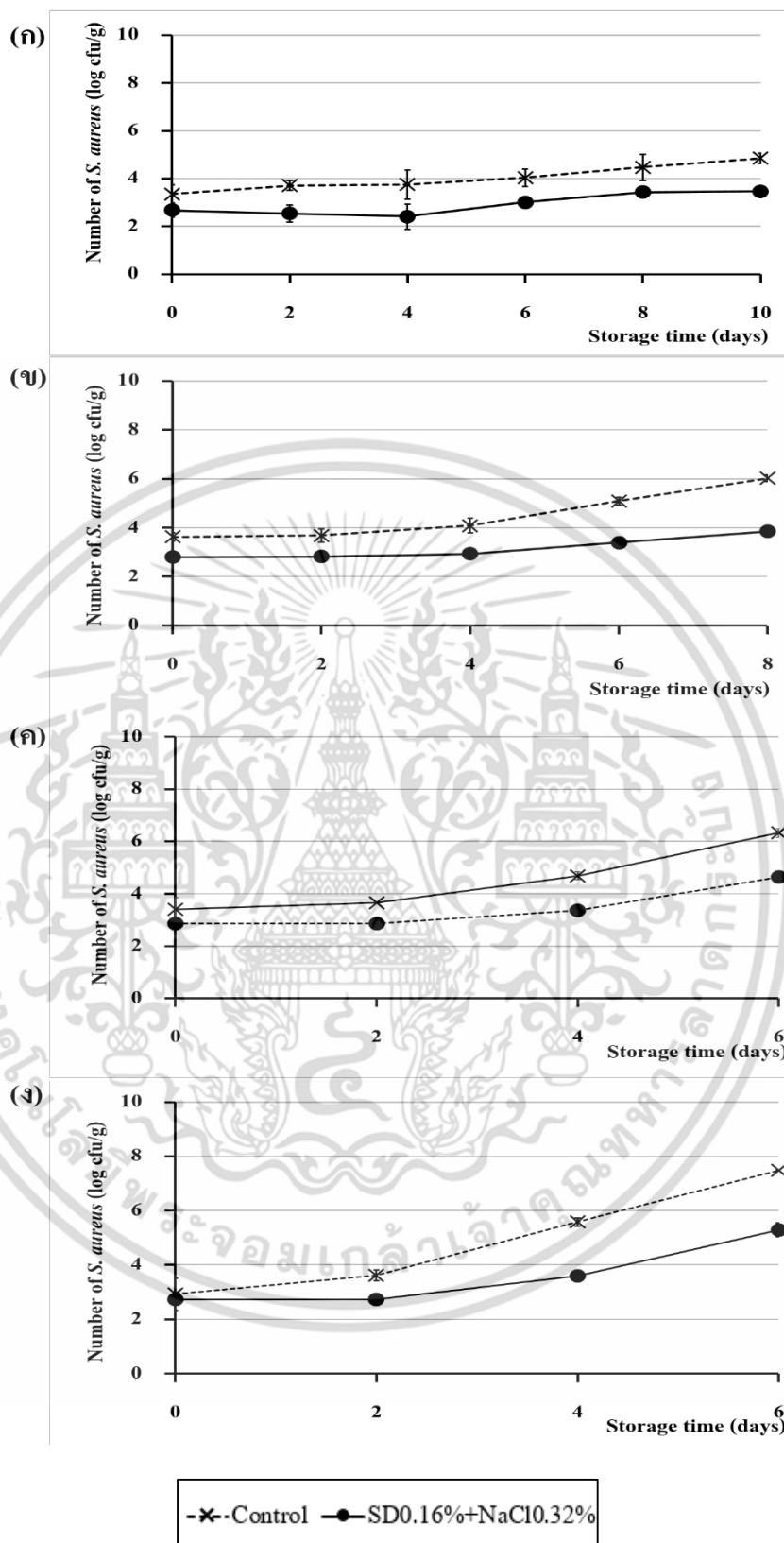
(ข) 10 (ค) 15 และ (ง) 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 2, 4 และ 6 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.25 ผลของโซเดียมไดอะซิติเต้ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ต่อการลดและยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. fluorescens* ในเลือดเปิดดื่มที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิแตกต่างกัน ที่ระดับอุณหภูมิ (ก) 5 (ข) 10 (ค) 15 และ (ง) 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 วัน

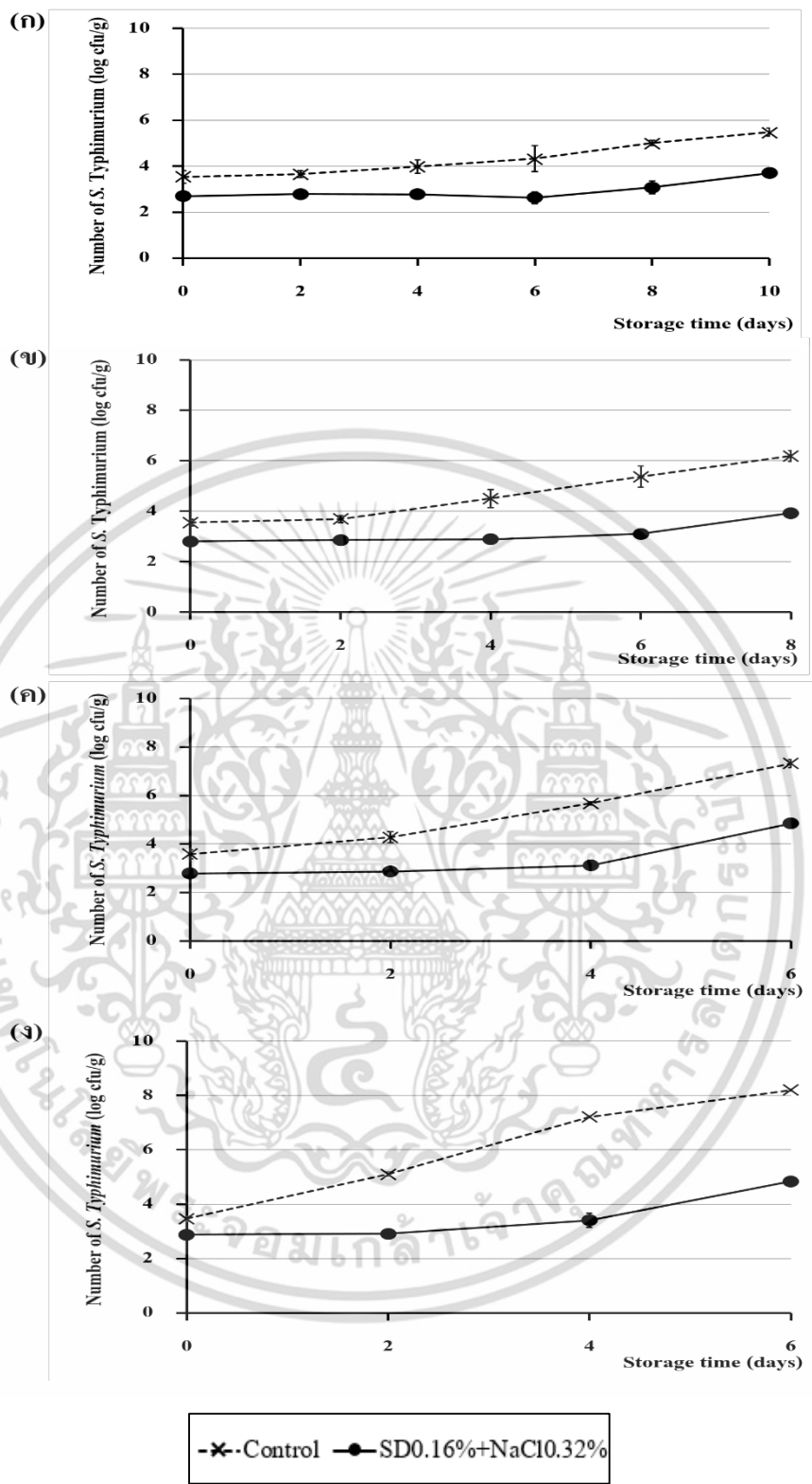
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.26 ผลของโซเดียมไดอะซิติตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ต่อการลดและยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ในเลือดเป็ดต้ม โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิแตกต่างกัน ที่ระดับอุณหภูมิ

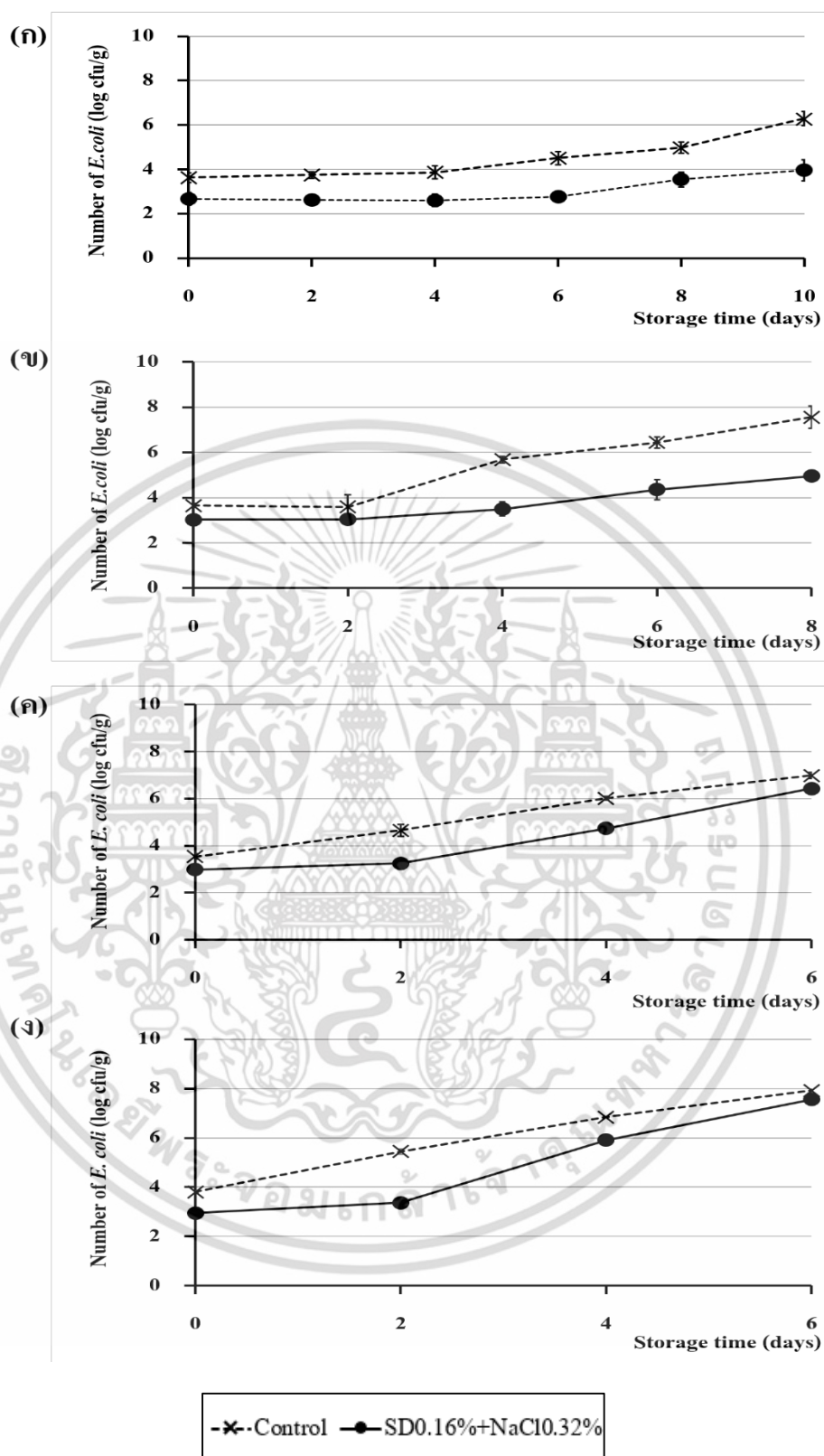
(ก) 5 (ข) 10 (ค) 15 และ (ง) 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.27 ผลของโซเดียมไดอะซิติตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ต่อการลดและยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. Typhimurium* ในเลือดเป็ดต้ม โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิแตกต่างกัน ที่ระดับอุณหภูมิ (ก) 5 (ข) 10 (ค) 15 และ (ง) 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.28 ผลของโซเดียมไดอะซิเตตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ต่อการลดและยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ในเลือดเป็ดต้ม โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิแตกต่างกัน ที่ระดับอุณหภูมิ (ก) 5 (ข) 10 (ค) 15 และ (ง) 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การทดลองที่ 3 ผลของการประยุกต์ใช้เกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์ ในการควบคุมจุลชีพก่อโรคด้านจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิตเลือดเปิดดื่ม

4.3.1. การทดลองที่ 3.1 การปนเปื้อนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ขอบอุณหภูมิมานกลาง ต่ำ และสูงใน กระบวนการผลิตเลือดเปิด

จากการศึกษาปนเปื้อนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ขอบอุณหภูมิมานกลาง ต่ำ และสูงใน กระบวนการผลิตเลือดเปิดดื่ม พบว่า น้ำต้มอ่างที่ 1 น้ำต้มอ่างที่ 2 น้ำในถังลดอุณหภูมิอ่างที่ 1 น้ำ ในถังลดอุณหภูมิอ่างที่ 2 และน้ำแข็ง มีปริมาณจุลินทรีย์ที่ขอบอุณหภูมิมานกลาง 2.65, 2.39, 3.15, 3.16 และ 3.14 log cfu/ml ตามลำดับ ซึ่งคุณภาพน้ำเหล่านี้ไม่ผ่านมาตรฐานทางจุลินทรีย์ของ น้ำอุปโภคที่กำหนดโดย สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม 2549 (Thai Industry Standard no. TIS 257-2549. 2006) ซึ่งกำหนดให้มีการปนเปื้อนจุลินทรีย์ทั้งหมดได้ไม่เกิน 2 log cfu/ml แต่ อย่างไรก็ตามเลือดเปิดดื่มอ่างที่ 1 เลือดเปิดดื่มอ่างที่ 1 และเลือดเปิดดื่มมีการปนเปื้อนจุลินทรีย์ ที่ขอบอุณหภูมิมานกลางเป็น 3.19, 2.69 และ 3.07 log cfu/g ซึ่งผ่านมาตรฐานทางจุลชีววิทยาของ อาหารปรุงสุกได้กำหนดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดต้องมีปริมาณไม่เกิน 6 log cfu/g (ตารางที่ 4.6)

เมื่อทำการศึกษาแหล่งการปนเปื้อนจุลินทรีย์ทั้งหมดโดยพิจารณาจากค่าสหสัมพันธ์ พบว่า แหล่งปนเปื้อนของจุลินทรีย์ทั้งหมดในเลือดเปิดดื่ม ณ จุดจำหน่ายที่สำคัญที่สุด ได้แก่ น้ำใน ถังลดอุณหภูมิอ่างที่ 1 และน้ำแข็ง โดยมีค่าสหสัมพันธ์อยู่ในระดับสูงระหว่างเลือดเปิดดื่ม และน้ำใน ถังลดอุณหภูมิอ่างที่ 1 ($r=0.84$, $P=0.04$) น้ำในถังลดอุณหภูมิอ่างที่ 2 ($r=0.88$, $P=0.02$) และน้ำแข็ง ($r=0.87$, $P=0.03$) ตามลำดับ และทั้งสองขั้นตอนของกระบวนการผลิตยังเป็นแหล่งปนเปื้อนของ จุลินทรีย์ที่ขอบอุณหภูมิต่ำ โดยมีค่าสหสัมพันธ์อยู่ในระดับสูงระหว่างเลือดเปิดดื่มและน้ำในถังลด อุณหภูมิอ่างที่ 1 ($r=0.86$, $P=0.03$) น้ำในถังลดอุณหภูมิอ่างที่ 2 ($r=0.86$, $P=0.03$) และน้ำแข็ง ($r=0.82$, $P=0.05$) ตามลำดับ นอกจากนี้ น้ำต้มอ่างที่ 1 น้ำต้มอ่างที่ 2 น้ำในถังลดอุณหภูมิอ่างที่ 1 น้ำในถังลด อุณหภูมิอ่างที่ 2 และน้ำแข็ง ที่ใช้สำหรับเลือดสดและเลือดเปิดดื่มมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ ที่ขอบอุณหภูมิมานกลางในตัวอย่างบางซ้่าที่มีระดับสูงกว่ามาตรฐานน้ำดื่มที่สามารถบริโภค ได้ (Thai Industry Standard no. TIS 257-2549. 2006) แต่อย่างไรก็ตาม การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ ที่ขอบอุณหภูมิมานกลางในเลือดเปิดดื่มต่ำกว่ามาตรฐานด้านจุลชีววิทยาของอาหาร และภาชนะ สัมผัสอาหาร ฉบับที่ 2 (2553) โดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข (DMSC. 2010) ดังนั้นจากค่าสหสัมพันธ์ แสดงให้เห็นถึงการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ทั้งหมดในกระบวนการ ผลิตเลือดเปิด ซึ่งแต่ละขั้นตอนสามารถทำให้เกิดการปนเปื้อนได้ โดยจากการทดลองทำให้สรุปได้ ว่า โรงฆ่าเป็ดแห่งนี้ควรมีการตรวจสอบคุณภาพน้ำใช้และน้ำแข็งในกระบวนการผลิตให้อยู่ใน มาตรฐานน้ำดื่มที่สามารถบริโภคได้ เพื่อความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์และผู้บริโภคต่อไป

ตารางที่ 4.6 แหล่งการปนเปื้อนในกระบวนการผลิตเลือดเปิดต้ม

ขั้นตอนของกระบวนการผลิต	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (log cfu)			Unit
	Mesophile ^{1/2/}	Psychrophile	Thermophile	
การปนเปื้อนในกระบวนการผลิตเลือดเปิดต้ม				
น้ำต้มอ่างที่ 1	2.65 ± 0.17	2.20 ± 0.56	ND ^{3/}	ml ⁻¹
เลือดเปิดต้มอ่างที่ 1	3.19 ± 0.87	1.55 ± 0.50	ND ^{3/}	ml ⁻¹
น้ำต้มอ่างที่ 2	2.39 ± 0.05	1.90 ± 0.28	ND ^{3/}	ml ⁻¹
เลือดเปิดต้มอ่างที่ 2	2.69 ± 0.26	1.44 ± 0.41	ND ^{3/}	g ⁻¹
น้ำในถังลดอุณหภูมิถังที่ 1	3.15 ± 0.10	1.63 ± 0.33	ND ^{3/}	ml ⁻¹
น้ำในถังลดอุณหภูมิถังที่ 2	3.16 ± 0.20	1.83 ± 0.61	ND ^{3/}	ml ⁻¹
น้ำแข็ง	3.14 ± 0.18	2.78 ± 0.19	ND ^{3/}	g ⁻¹
เลือดเปิดต้ม	3.07 ± 0.11	3.37 ± 0.24	ND ^{3/}	g ⁻¹

^{1/} มาตรฐานทางจุลชีววิทยาของอาหารปรุงสุกได้กำหนดปริมาณจุลินทรีย์ในอาหารปรุงสุกโดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 2553 (DMSC. 2010) ระบุให้ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (mesophile, ≤6 log cfu/g)

^{2/} มาตรฐานทางจุลินทรีย์ของน้ำอุปโภคที่กำหนดโดย สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม 2549 (Thai Industry Standard no. TIS 257-2549. 2006) ระบุให้ปริมาณจุลินทรีย์ (mesophile, ≤ 2.70 log cfu/ml)

^{3/} ND; จุลินทรีย์กว่า 1 log cfu/cm² ในการทดลองทุกซ้ำ

4.3.2. การทดลองที่ 3.2 ผลของการประยุกต์ใช้เกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์ในการควบคุมจุลชีพก่อตัวด้านจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิตเลือดเปิดต้ม

4.3.2.1 ผลของการควบคุมจุลชีพก่อตัวในกระบวนการผลิตเลือดเปิดต่อปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของเลือดเปิดต้ม

จากการศึกษาผลของการกำหนดจุดวิกฤตที่ต้องควบคุมในกระบวนการผลิตเลือดเปิดต่อคุณภาพของจุลินทรีย์ทั้งหมดของเลือดเปิดต้ม พบว่า การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ชอบอุณหภูมิปานกลางก่อนและหลังกำหนดจุดวิกฤตมีความแตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05) โดยภายหลังกำหนดจุดวิกฤตซึ่งมีการใช้สารละลายโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ลงในน้ำในถังลดอุณหภูมิถังที่ 1 พบว่า สามารถลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง และต่ำได้ ส่วนจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิสูงไม่พบการปนเปื้อนในเลือดเปิดต้มทั้งก่อนและหลังกำหนดจุดวิกฤต ซึ่งการใช้สารละลายโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์มีผลต่อการเจริญของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

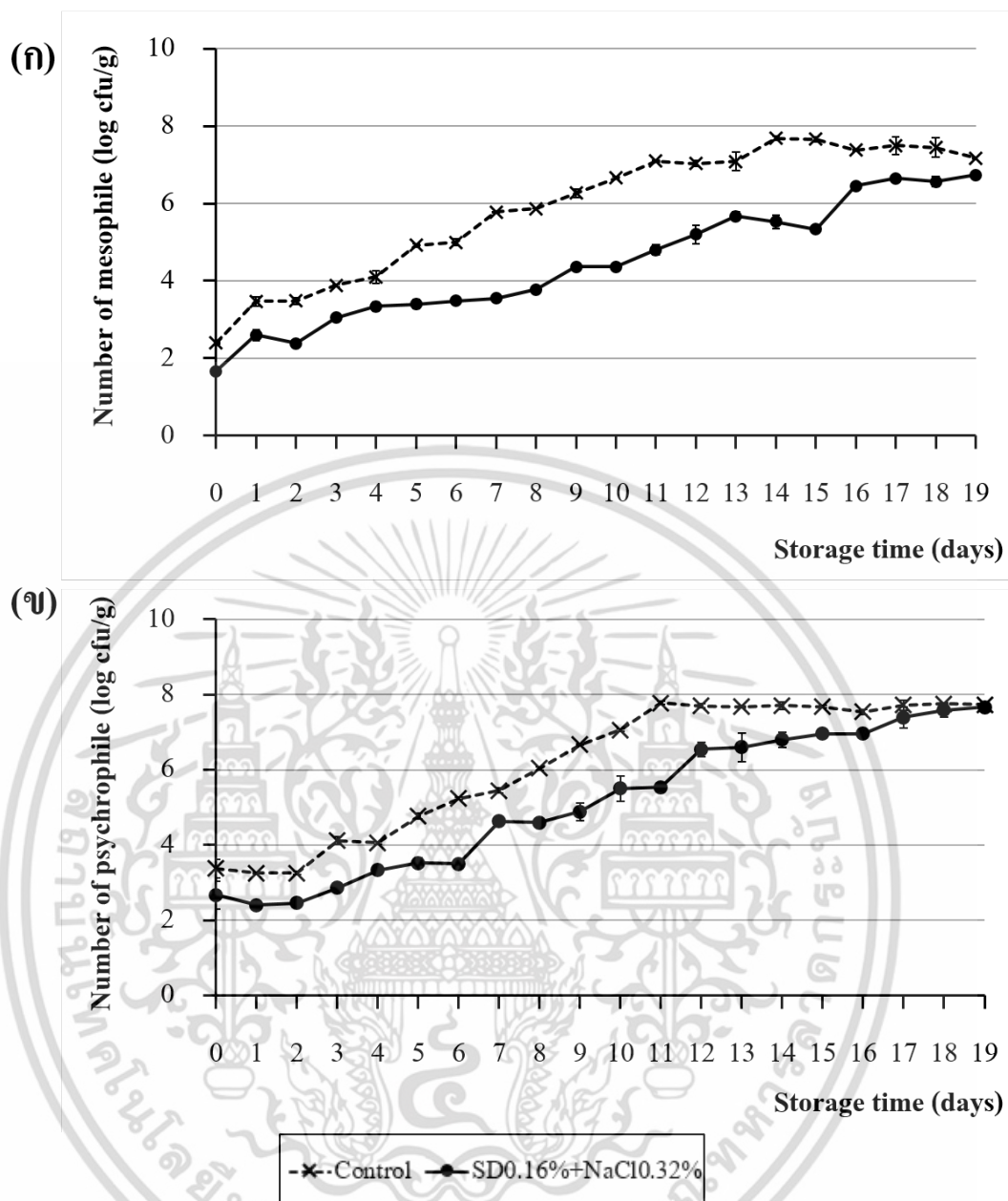
จุลินทรีย์ที่ขอบอุณหภูมิปานกลาง และต่ำภายหลังสัมผัสสารละลายเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) และสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้นานขึ้น 7 วัน โดยในวันที่ 9 ของการเก็บรักษากลุ่มควบคุมมีปริมาณจุลินทรีย์อยู่ในระดับ $6.26 \pm 0.10 \log \text{ cfu/g}$ ซึ่งมีค่าเกินมาตรฐานด้านจุลชีววิทยาของอาหาร และภาชนะสัมผัสอาหาร ฉบับที่ 2 (2553) โดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข กำหนดให้มีการปนเปื้อนจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่เกิน $1 \times 10^6 \log \text{ cfu/g}$ ในขณะที่กลุ่มที่เติมสารละลายมีปริมาณจุลินทรีย์อยู่ในระดับ $4.37 \pm 0.03 \log \text{ cfu/g}$ (ภาพที่ 4.29)

4.3.2.2 ผลของการควบคุมจุลชีพในกระบวนการผลิตเลือดเปิดดื่มต่อปริมาณเชื้อ *Pseudomonas* spp., *Lactobacillus* spp., *S. aureus*, *Salmonella* spp., *E. coli* และ *V. cholerae* ของเลือดเปิดดื่ม

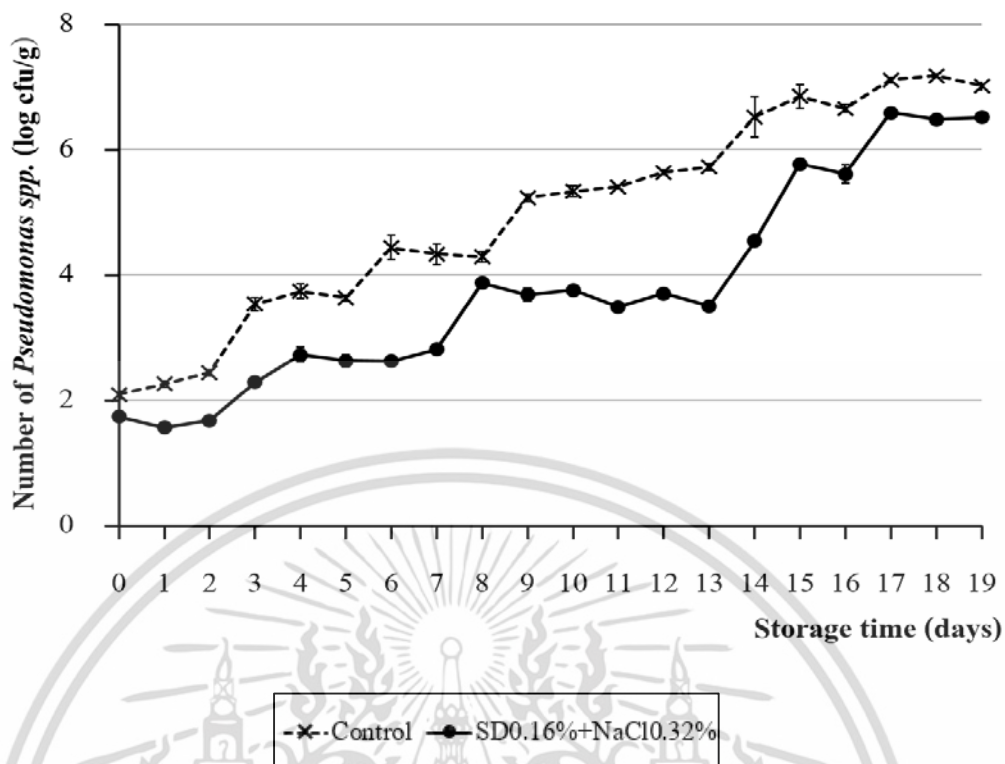
จากการศึกษาผลของการควบคุมจุลชีพในกระบวนการผลิตเลือดเปิดดื่มต่อคุณภาพทางจุลินทรีย์ของเลือดเปิดดื่ม พบว่า สามารถตรวจพบการปนเปื้อนของเชื้อ *Pseudomonas* spp. ทั้งก่อนและหลังกำหนดจุดวิกฤต โดยภายหลังกำหนดจุดวิกฤตซึ่งมีการใช้สารละลายโซเดียมไดอะซิเตตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ลงในน้ำในถังลดอุณหภูมิถึงที่ 1 พบว่า ประสิทธิภาพลดการปนเปื้อนของเชื้อ *Pseudomonas* spp. ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกลุ่มควบคุม ($P > 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบในระหว่างการเก็บรักษา 19 วันพบว่า ปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อ *Pseudomonas* spp. เพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ($P < 0.05$) แต่การใช้สารละลายโซเดียมไดอะซิเตตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ส่งผลให้อัตรการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas* spp. ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา โดยกลุ่มควบคุมสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas* spp. ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ได้เพียง 1 วัน ในขณะที่การใช้สารละลายโซเดียมไดอะซิเตตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ และการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas* spp. ได้นาน 3 วัน แต่ไม่พบการปนเปื้อนการปนเปื้อนเชื้อ *Lactobacillus* spp., *S. aureus*, *Salmonella* spp., *E. coli* และ *V. cholerae* ทั้งก่อนและหลังกำหนดจุดวิกฤตที่ต้องควบคุม ดังแสดงในภาพที่ 4.30 ซึ่งผลการใช้สารละลายโซเดียมไดอะซิเตตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ และอุณหภูมิการเก็บรักษา 5 องศาเซลเซียส ทำให้แบคทีเรียเกิดสภาวะเครียดอันเนื่องมาจากกรดจึงทำให้ปริมาณแบคทีเรียในช่วงแรกของการเก็บรักษาเลือดเปิดดื่มอยู่ในระดับต่ำ แต่เมื่อเก็บรักษานานขึ้นจะเห็นว่า ปริมาณแบคทีเรียมีปริมาณสูงขึ้นเนื่องจากแบคทีเรียสามารถปรับตัวให้ทนกับสภาวะความเป็นกรดได้ และสภาวะอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญของแบคทีเรียยังสามารถฟื้นฟูให้แบคทีเรียสามารถเจริญได้ตามปกติอีกด้วย เนื่องจากเชื้อ *Pseudomonas* spp. เป็นแบคทีเรียกลุ่มที่ชอบอุณหภูมิต่ำ และเป็นแบคทีเรียท้องถิ่นที่มักพบในเนื้อสัตว์ที่เก็บแช่เย็นจึงสามารถเจริญได้ดีในเลือดเปิดดื่มแช่เย็น ในขณะที่เลือดเปิดดื่มกลุ่มควบคุมที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสเชื้อ *Pseudomonas* spp. สามารถเจริญสูงขึ้นเป็นปกติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการศึกษาข้างต้นพบว่า การเน่าเสียของเลือดเปิดต้มส่วนใหญ่มีผลมาจาก การปนเปื้อนของเชื้อ *Pseudomonas* spp. ซึ่งแบคทีเรียกลุ่มนี้เป็นกลุ่มที่ชอบอุณหภูมิต่ำ สามารถทนเกลือและเจริญในสภาวะที่มีอากาศได้ดี ทั้งนี้เนื่องจากในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาในอุณหภูมิต่ำจะมีการเจริญของแบคทีเรียที่ทนต่ออุณหภูมิต่ำ (psychrotrophic bacteria) ซึ่งเป็นผลมาจากอุณหภูมิในการเก็บรักษา แบคทีเรียที่สามารถเจริญบนเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ที่เก็บที่อุณหภูมิต่ำ มักจะพบแบคทีเรียกลุ่มนี้ โดยสามารถเจริญควบคู่ไปกับแบคทีเรียแกรมบวก เช่น LAB และแบคทีเรียแกรมลบ เช่น *Pseudomonas* spp. และ Enteriaceae (Holzapfwe. 1998) ซึ่งบางสายพันธุ์ของ *Pseudomonas* สามารถทำให้ผลิตภัณฑ์เน่าเสียได้ โดยสามารถเจริญได้อย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิต่ำ และไม่สร้างสารไซเคโตรโอฟอร์ (เม็คซีเขียวเรืองแสง) ซึ่งการสังเคราะห์สารไซเคโตรโอฟอร์จะผลิตได้จากเชื้อ *Pseudomonas* ที่สามารถสร้างสารเรืองแสงได้ ซึ่งเป็นตัวจับโลหะหรือสร้างสารดังกล่าว โดยสารนี้มีความจำเป็นต่อแบคทีเรียที่เจริญได้ในสภาวะที่มีอากาศ (Ercolini *et al.* 2007) เนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เป็นแหล่งธาตุเหล็กที่สำคัญ ดังนั้น แบคทีเรียจึงพบแหล่งธาตุเหล็กได้ และมีเพียงพอต่อการเจริญ และนอกจากนี้ยังพบว่า อุณหภูมิมีส่วนช่วยให้แบคทีเรียสามารถเจริญได้อย่างรวดเร็วขึ้นในผลิตภัณฑ์โดยไม่ต้องใช้พลังงานในการทำกิจกรรมภายในเซลล์มากเมื่ออยู่ในอุณหภูมิต่ำ (Champomier *et al.* 1996) นอกจากนี้ Kadurugamuwa and Beveridge (1995) พบว่า *Pseudomonas* spp. มี 2 กลไกในการเจริญที่สำคัญ ได้แก่ 1) จำกัดการขนส่งสารออกภายนอกเซลล์ 2) ขึ้นอยู่กับแหล่งพลังงานที่ใช้ในการเจริญ ดังนั้นการใช้สารละลายโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์สามารถช่วยลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ทั้งหมดในเลือดเปิดต้มที่กำหนดโดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ไม่ให้เกินมาตรฐานทางจุลชีววิทยาของอาหารปรุงสุก (DMSC. 2010) และสามารถยืดอายุการเก็บรักษาของเลือดเปิดต้มได้นานขึ้น 7 วัน และสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas* spp. ได้นาน 3 วัน



ภาพที่ 4.29 ผลของโซเดียมไดอะซิติตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ต่อการลดปริมาณ (ก) จุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง และ (ข) จุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำในเลือดเปิดคัม ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 5 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 19 วัน



ภาพที่ 4.30 ผลของโซเดียมไดอะซิเตทร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ต่อการลดปริมาณเชื้อ *Pseudomonas* spp. ในเลือดเป็ดต้ม ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 5 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 19 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

5.1.1 การทดลองที่ 1 ปัจจัยที่มีผลต่อการปนเปื้อนและการประเมินจุลชีพที่ก่อการเน่าเสียในกระบวนการผลิตเลือดเป็ดต้ม

น้ำในถังลดอุณหภูมิถึงที่ 1 เป็นแหล่งการปนเปื้อนที่สำคัญในการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลางในเลือดเป็ดต้ม ซึ่งมีค่าสหสัมพันธ์ระหว่างน้ำในถังลดอุณหภูมิถึงที่ 1 และเลือดเป็ดต้มในระดับสูง ($r=0.90$) จึงสามารถประเมินจุลชีพที่ก่อการเน่าเสียในกระบวนการผลิตเลือดเป็ดต้มมี 2 จุด คือ น้ำในถังลดอุณหภูมิถึงที่ 1 และอุณหภูมิในการเก็บรักษาเลือดเป็ดต้ม

5.1.2 การทดลองที่ 2 ผลของเกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์ต่ออายุการเก็บรักษาเลือดเป็ดต้ม

การใช้สารละลายโซเดียมไดอะซิเตตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ในเลือดเป็ดต้มสามารถควบคุมและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง และต่ำ และจุลินทรีย์ก่อโรค ได้แก่ เชื้อ *S. aureus*, *S. Typhimurium*, *E. coli* และ *V. cholerae* ตามมาตรฐานทางจุลชีววิทยาในอาหารปรุงสุกได้ ในขณะที่เดียวกันยังสามารถควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียเช่น *Lactobacillus* spp. และ *Pseudomonas* spp. ในเลือดเป็ดต้มได้ และสามารถควบคุมการเปลี่ยนแปลงค่าสีโดยรวมของเลือดเป็ดต้มได้มากกว่าการใช้สารละลายชนิดอื่น รวมทั้งยังช่วยเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำให้กับเลือดเป็ดต้มอีกด้วย นอกจากนี้ผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบทางด้านเนื้อสัมผัส และคุณภาพโดยรวมของเลือดเป็ดต้มสูง ($P<0.05$) จึงสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในเลือดเป็ดต้มได้

5.1.3 การทดลองที่ 3 ผลของการประยุกต์ใช้เกลือของกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์ในการควบคุมจุลชีพด้านจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิตเลือดเป็ดต้ม

ภายหลังการใช้สารละลายโซเดียมไดอะซิเตตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ณ จุดวิกฤตที่ต้องควบคุมในกระบวนการผลิตเลือดเป็ดต้ม สามารถยืดอายุการเก็บรักษาเลือดเป็ดต้มได้นานขึ้น 7 วันเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P<0.05$)

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรมีการตรวจสอบกระบวนการผลิตเลือดเปิดตั้งแต่กระบวนการฆ่าเปิด และในระหว่างกระบวนการผลิตเลือดเปิดให้ถูกสุขลักษณะอย่างเคร่งครัด และมีการทวนสอบกระบวนการผลิตให้เป็นไปตามแผนกระบวนการผลิตของโรงงานเพื่อช่วยลดการปนเปื้อนลงสู่เลือดเปิดดื่ม นอกจากนี้ควรมีการตรวจสอบอุณหภูมิห้องเย็นและรถขนส่งให้อยู่ในช่วงอุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียสเพื่อรักษาคุณภาพของเลือดเปิดดื่มให้มีการเก็บรักษาได้นานขึ้น

5.2.2 ควรทำการศึกษาปัจจัยการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* ในกระบวนการผลิตเลือดเปิดดื่มต่อไป

5.2.3 ควรศึกษาผลการยับยั้งของโซเดียมไดอะซิเตตร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ต่อแบคทีเรียแกรมลบ และแกรมบวกทุกสายพันธุ์อื่น ๆ ในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์เพื่อนำผลการศึกษไปประยุกต์ใช้ในชีวิตประจำวัน และอุตสาหกรรมการแปรรูปเนื้อสัตว์ต่อไปในอนาคต



บรรณานุกรม

- กระทรวงสาธารณสุข. 2554. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง เกือบโรค. [ออนไลน์] สืบค้นจาก : iodinethailand.fda.moph.go.th/food_54/data/announ_moph/P-021.pdf. สืบค้นวันที่ 22 กันยายน 2556.
- กันยา หว่านณรงค์. 2555. “แบคทีเรียก่อโรค.” วารสารเพื่อการวิจัยและพัฒนา องค์การเภสัชกรรม. 19(12): 12-13.
- กัญญารัตน์ จูปรางค์. 2550. ผลของเกลือของกรดอินทรีย์ร่วมกับการแช่แข็งและการทำให้ละลายต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในเนื้อสุกร. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- เกรียงศักดิ์ สายธนู และ อรุณ ป่างตระกูลนนท์. 2541. “การประมาณอุบัติการ (จริง ?) ของโรคติดเชื้อซัลโมเนลลาชนิดที่ไม่ใช่ไทฟอยด์ในประเทศไทย.” หน้า 1-15. ใน การสัมมนาระดับชาติเพื่อกำหนดแนวทางการแก้ไขปัญหา Non-Typhiodal Salmonellosis ครั้งที่ 2 คณะสัตวแพทยศาสตร์. กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- กชรัตน์ วงศ์รัตน์. 2554. การยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ไข่ม่วงญี่ปุ่นด้วยโซเดียมแลคเตตและโซเดียมไคโอซิเตต. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร, มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2553. การปรับเปลี่ยนการเลี้ยงแพะสู่มาตรฐานปศุสัตว์อินทรีย์. กรุงเทพมหานคร : ศูนย์ปศุสัตว์อินทรีย์ กองบำรุงพันธุ์สัตว์ กรมปศุสัตว์.
- กรมปศุสัตว์. 2558. สรุปจำนวนเป็ดและผู้เลี้ยงเป็ดประจำปี 2558. [ออนไลน์]. สืบค้นจาก : [http://ict.dld.go.th/thindex.php/th/report/447-report-thailand-livestock/report servey2558-1/870-report-survey58-1](http://ict.dld.go.th/thindex.php/th/report/447-report-thailand-livestock/report%20servey2558-1/870-report-survey58-1). สืบค้นวันที่ 26 กันยายน 2558.
- จิริยา ชมวารินทร์ ดรุณ ภูมินัสวินิชย์ และอรุณรัฐ ร่มพุกภัย. 2536. การตรวจหาความสัมพันธ์ของเชื้อสแตฟฟีโลคอคคัสออเรียส ที่สร้างสารพิษในอาหารกับที่พบในผู้ประกอบอาหาร. [ออนไลน์]. สืบค้นจาก : http://www.smj.ejnal.com/eJournal/showdetail/?show...t..._id=287. สืบค้นวันที่ 22 กันยายน 2556.
- จิรวรรณ บุญพุดมี. 2551. การปนเปื้อนของแบคทีเรียทั้งหมดในกระบวนการฆ่าและตัดแต่งในโรงฆ่าสุกรมมาตรฐานสากล. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาสัตวศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

- ชลธิชา จินาพร. 2552. การวิเคราะห์คุณภาพน้ำดื่มและน้ำแข็งที่ผลิตในจังหวัดเลยโดยการตรวจหาเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรีย และ *Escherichia coli*. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์มหาวิทยาลัยราชภัฏเลย. สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยราชภัฏเลย.
- นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ. 2544. แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับโรค. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: โนเบลพรีน.
- บุญศรี จงเสรีจิตต์. 2552. จุลชีววิทยาทางอาหาร. นครปฐม : คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- บุษกร อุตริชาติ. 2552. จุลชีววิทยาทางอาหาร. สงขลา : มหาวิทยาลัยทักษิณ.
- ประภาพร ขอไพบุลย์. 2547. ระบบ HACCP ในอุตสาหกรรมการผลิตเนื้อสัตว์. เอกสารการสอนโครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร. กรุงเทพฯ : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- ประวิทย์ ศรีสะอาด และบุณิกา จุลละโพธิ. 2556. หลักเกณฑ์และเงื่อนไขในการรับรองระบบวิเคราะห์อันตรายและจุดวิกฤตที่ต้องควบคุม (HACCP) คอมพิวเตอร์สำหรับฟาร์มสัตว์ปีกเนื้อ ฟาร์มสัตว์ปีกพันธุ์ และสถานที่ฟักไข่สัตว์ปีกเนื้อ. กรุงเทพมหานคร: ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด.
- ปราโมทย์ ชุนทรกรณ์. 2548. ผลร่วมกันของโซเดียมแลคเตท โซเดียมคลอไรด์ และสถานะกรด-เบสที่มีผลต่อการเจริญของ *Salmonella enteritica weltevreden* ณ อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- ปรารธนา พฤษศรี. 2554. เอกสารเผยแพร่การเลี้ยงโคขุนเป็นอาชีพเสริม. ภาควิชาสัตวบาล. คณะเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม.
- ผุสดี ตั้งวัชรินทร์ และไชยวรรณ วัฒนจันทร์. 2552. การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคในกระบวนการฆ่าและตัดแต่งซากสุกรที่ถูกสุขลักษณะและไม่ถูกสุขลักษณะในเขตเทศบาลหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ คณะเทคโนโลยีและการพัฒนาชุมชน, มหาวิทยาลัยทักษิณ.
- ผุสดี ตั้งวัชรินทร์. 2553. อิทธิพลของกรดแอสคอร์บิกและอุณหภูมิต่อการรอดชีวิตของเชื้อ *Salmonella* spp. ที่อยู่ในสถานะเครียดด้วยความร้อนในสารละลายเชื้อบริสุทธิ์และเนื้อสุกร. ทุนอุดหนุนการวิจัย งบประมาณประจำปี 2551. คณะเทคโนโลยีและการพัฒนาชุมชน, มหาวิทยาลัยทักษิณ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- เพทาย พงษ์เพ็ญจันทร์. 2548. “เลือดและระบบหมุนเวียนเลือด 4-2.” [ออนไลน์]. สืบค้นจาก : http://mis.agri.cmu.ac.th/course/course_detail.asp?CourseNo=356411&Offset=lecture. สืบค้นวันที่ 10 ตุลาคม 2556.
- ภัครชัย กิรติสิน. 2549. ตำราวิทยาแบคทีเรียการแพทย์. กรุงเทพฯ: วิ. เจ. พรินต์ติ้ง.
- ภาคภูมิ คุประเสริฐยิ่ง ประเวทย์ ตูย์เต็มวงศ์ จิรวัดน์ กนต์เกรียงวงศ์ และฉรณี ตูย์เต็มวงศ์. 2552. “การลดเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในสายการผลิตเนื้อไก่ด้วยระบบโอโซน.” หน้า 647-654. ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47 สาขาอุตสาหกรรมเกษตร. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2551. ระบบการวิเคราะห์อันตรายและจุดวิกฤตที่ต้องควบคุมและแนวทางในการนำไปใช้. สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.
- ยุทธนา ชัยศักดิ์านุกุล นิดารัตน์ ไพโรคนะฮอก และอุบลวรรณ จตุรพาหุ. 2555. “การเฝ้าระวังโรค Salmonellosis ในสินค้าปศุสัตว์.” [ออนไลน์]. สืบค้นจาก : www.dld.go.th/dcontrol/th/. สืบค้นวันที่ 10 ตุลาคม 2557.
- ยุพา เทียงลาย. 2545. การศึกษาผลของสารสกัดจากใบพลูใบฝรั่งและหัวขมิ้นชันต่อการยับยั้ง *Escherichia coli*. รายงานวิจัยทุนอุดหนุนงานวิจัยจากสำนักวิจัยและบริการวิชาการ สถาบันราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระราชูปถัมภ์. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, สถาบันราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระราชูปถัมภ์.
- ลลิตา พรลาภเลิศสุข หทัยกนก พิมพ์คำยา ฉรณี ตูย์เต็มวงศ์ และประเวทย์ ตูย์เต็มวงศ์. 2552. “การลดการระบาดและเพิ่มผลผลิตของเลือดเป็ดในโรงงานแปรรูป.” ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47 สาขาอุตสาหกรรมเกษตร. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ศิวพร ศิวเวช. 2546. วัตถุเจือปนในอาหาร. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สถาบันอาหาร กระทรวงอุตสาหกรรม. 2557. “จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค : *Listeria monocytogenes*.” [ออนไลน์]. สืบค้นจาก : <http://fic.nfi.or.th/foodsafety>. สืบค้นวันที่ 10 ตุลาคม 2557.
- สำนักงานอาหารและยา. 2557. ข่าวกลุ่มประชาสัมพันธ์. [ออนไลน์]. สืบค้นจาก : http://www.fda.moph.go.th/www_fda/data_center/ifm_mod/nw/ข่าวสำหรัยชนมทอดกรอบ.pdf. สืบค้นวันที่ 10 ตุลาคม 2557.
- สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2545. ความปลอดภัยของอาหาร (การใช้ระบบ HACCP). พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : บริษัทประชาชน จำกัด.
- สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2549. จุลชีววิทยาทางอาหาร. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

- สุมาลี เหลืองสกุล. 2541. **จุลชีวะวิทยาทางอาหาร**. พิมพ์ครั้งที่ 4. ภาควิชาชีวะวิทยา. คณะวิทยาศาสตร์. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัย ศรีนครินทรวิโรจน์ประสานมิตร.
- สุวิมล กิรติพิบูล. 2548. **ระบบประกันคุณภาพด้านความปลอดภัยของอาหาร HACCP**. พิมพ์ครั้งที่ 4. ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร. คณะวิทยาศาสตร์. กรุงเทพฯ: ที. เอส. บี. โปรดักส์.
- อรอนงค์ รัชตราเซนชัย. 2549. **โรคติดเชื้ออุบัติใหม่และอุบัติซ้ำ: คู่มือการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์**.
- อุมาพร ศิริพันธ์. 2546. **เอกสารประกอบการสอนวิชา ทอ 470 เทคโนโลยีผลิตภัณฑ์เนื้อ**. เชียงใหม่ : ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- Alakomi, H.I., Skytta, E., Saarela, Mattila-Sandholm, T., Latva-Kala, K. and Helander, I.M. 2000. "Lactic acid permeabilized gram-negative bacteria by disrupting the outer membrane." **Appl. Environ. Microbiol.** 66(5): 2001-2005.
- Bacteriological Analytic Manual (BAM) Online 2001a. Total plate count. U.S. Food and Drug Administration. [Online]. Available: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/Laboratory Methods/ucm063346.html>. สืบค้นวันที่ 9 ธันวาคม 2556.
- Bacteriological Analytic Manual (BAM) Online 2001b. *Staphylococcus aureus*. U.S. Food and Drug Administration. [Online]. Available: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/Laboratory Methods/ucm 071429.html>. สืบค้นวันที่ 9 ธันวาคม 2556.
- Bacteriological Analytic Manual (BAM) Online 2004. *Vibrio cholerae*. U.S. Food and Drug Administration. [Online]. Available: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/Laboratory Methods/ucm070830.html>. สืบค้นวันที่ 9 ธันวาคม 2556.
- Bacteriological Analytic Manual (BAM) Online 2013. *Escherichia coli*. U.S. Food and Drug Administration. [Online]. Available: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/Laboratory Methods/ucm06494 8.html>. สืบค้นวันที่ 9 ธันวาคม 2556.
- Bacteriological Analytic Manual (BAM) Online 2014. *Salmonella*. U.S. Food and Drug Administration. [Online]. Available: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/Laboratory Methods/ucm070149.htm>. สืบค้นวันที่ 29 พฤษภาคม 2557.
- Barmpalia, I.M., Koutsoumanis, K.P., Geornaras, I., Belk, K.E., Scanga, J.A., Kendall, P.A., Smith, G.C. and Sofos, J.N. 2005. "Effect of antimicrobials as ingredients of pork bologna for *Listeria monocytogenes* control during storage at 4 or 10°C." **Food Microbiol.** 22(2-3): 205-211.
- Bauer, A.W., Kirby, W.M.M., Sherris, J.C. and Turck, M. 1996. "Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method." **J. Clin. Pathol.** 45: 493-496.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้เพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้ท่านได้ใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Byappanahalli, M. and Fujioka, R. 2004. "Indigenous soil bacteria and low moisture may limit but allow faecal bacteria to multiply and become a minor population in tropical soils" **Water Sci. Technol.** 50(1): 27-32.
- Bharadwaj, R., Vidya, A., Dewan, B. and Pal. A. 2003. "An *in vitro* study to evaluate the synergistic activity of norfloxacin and metronidazole." **J. Pharmacol.** 35: 220-226
- Bidlas, E. and Lambert, R.J. 2008. "Comparing the antimicrobial effectiveness of NaCl and KCl with a view to salt/sodium replacement." **Int. J. Food Microbiol.** 124(1): 98-102.
- Birk, T., Gronlund, A.C., Christensen, B.B., Knochel, S., Lohse, K. and Rosenquist, H. 2010. "Effect of organic acids and marination ingredients on the survival of *Campylobacter jejuni* on meat." **J. Food Prot.** 73(2): 258-265.
- Blackburn, C.W., Curtis, L.M., Humpheson, L., Billon, C. and McClure, P.J. 1997. "Development of thermal inactivation models for *Salmonella* Enteritidis and *Escherichia coli* O157:H7 with temperature, pH and NaCl as controlling factors." **J. Food Microbiol.** 38(1): 31-44.
- Blaszkyk, M. and Holley, R.A. 1998. "Interaction of monolaurin, eugenol and sodium citrate on growth of common meat spoilage and pathogenic organisms." **J. Food Microbiol.** 39(3): 175-183.
- Bogaert, J.C. and Naidu, A.S. 2000. Lactic acid. In **Natural food antimicrobial system**. Florida: CRC Press LCC.
- Bowman, J.P. 2007. "Bioactive compound synthetic capacity and ecological significance of marine bacteria genus *Pseudoalteromonas*." **Mar. Drugs.** 5(4): 220-241.
- Boziaris, I.S., Skaudamis, P.N., Anastasiadi, M. and Nychas, G-J.E. 2007. "Effect of NaCl and KCl on fate and growth/no growth interfaces of *Listeria monocytogenes* Scott A at different pH and nisin concentrations." **J. Appl. Microbiol.** 102(3): 796-805.
- Bradley, E.M., Williams, J.B., Schilling, M.W., Coggin, P.C., Crist, C., Yoder, S. and Campano, S.G. 2011. "Effects of sodium lactate and acetic acid derivatives on the quality and sensory characteristics of hot-boned pork sausage patties." **Meat Sci.** 88(1): 145-150.
- Bujalance, C., Jimé-Valere, M., Moreno, E. and Ruiz-Bravo, A. 2006. "A selective differential medium for *Lactobacillus plantarum*." **J. Microbiol. Methods.** 66(3): 572-575.
- Carol, E., Steinhart, E., Doyle, M.E. and Cochrane, B.A. 1995. **Food safety 1995**. Newyork: CRC Press.

- Carpenter, C.E., Broadbent, J.R. 2009. "External concentration of organic acid anions and pH: key independent variables for studying how organic acids inhibit growth of bacteria in mildly acidic foods." **J. Food Sci.** 74(1): R12-15.
- Castellano, P.H., Holzapfel, W.H. and Vignolo, G.M. 2004. "The control of *Listeria innocua* and *Lactobacillus sakei* in broth and meat slurry with the bacteriocinogenic strain *Lactobacillus casei* CRL705." **Food Microbiol.** 21(3): 291–298.
- Claus, J. R., Colby, J. W. and Flick, G.J. 1994. "Processed meats/poultry/seafood." p. 106–162 In D.M. Kingsman. **Muscle food**. New York: Chapman and hall publishers.
- CLSI. 2002. Reference method for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard M7-A4. Clinical Laboratory standards Institute, Wayne, Pa.
- Codex alimentarius commission. 2015. **Distribution of the report of the forty-seventh session of the Codex committee on food additives (REP15/FA)** Geneva, Switzerland.
- Colmenero, F.J., Ayo, M.J., and Carballo, J. 2004. "Physicochemical properties of low sodium frankfurter with added walnut effect of transglutaminase combined with caseinate, KCl and dietary fibre as salt replacers." **Meat Sci.** 69(4): 781-788.
- Champomier Vergès, M. C., Stintzi, A. and Meyer, J. M. 1996. "Acquisition of iron by the nonsiderophore-producing *Pseudomonas frag*". **Microbiol.** 142(5): 1191-1199.
- Chaveerach, P., Keuzenkamp, D.A., Urlings, H.A., Lipman, L.J. and Knapen, V.F. 2002. "In vitro study on the effect of organic acids on *Campylobacter jejuni/coli* populations in mixtures of water and feed." **Poult. Sci.** 81(5): 621-628.
- Chinnapen, D.J., Chinnapen, H., Saslowsky, D. and Leucer, W.I. 2007. "Rafting wiith cholera toxin: endocytosis and trafficking from plasma membrane to ER." **FEMS Microbiol. Lett.** 266(2): 129-137.
- Chomvarin, C., Namwat, W., Wongwajana, S., Alam, M., Thaew-Nonngiew, K., Sinchaturus, A. and Engchanil, C. 2007. "Application of duplex-PCR in rapid and reliable detection of toxigenic *Vibrio cholerae* in water samples in Thailand." **J. Gen. Appl. Microbiol.** 53(4): 229-237.
- Chythanya, R., Karunasagar, I. and Karunasagar, I. 2002. "Inhibition of shrimp pathogenic vibrios by a marine *Pseudomonas* I-2 strain." **Aquaculture.** 208(1-3): 1-10.

- Dibner, J.J. and Buttin, P. 2002. "Use of organic acids as a model to study the impact of gut microflora on nutrition and metabolism." **J. Appl. Poult. Res.** 11(4): 453-463.
- Diez, A.M., Santos, E.M., Jaime, I. and Rovira, J. 2008. "Application of organic acid salts and high-pressure treatments to improve the preservation of blood sausage." **Food Microbiol.** 25(1): 154-161.
- DMSC. 2010. **Microbiological quality of food and food containers.** Department of Medical Science, Nonthaburi, Ministry of Public Health.
- Downes, F.P. and Ito, K. 2001. **Compendium of methods for the microbiological examination of food.** Washington, DC., American Public Health Association.
- Drosinos, E.H., Mataragas, M., Kampani, A., Kritikos, D. and Metaxopoulos, I. 2006. "Inhibitory effect of organic acid salts on spoilage flora in culture medium and cured cooked meat products under commercial manufacturing conditions." **Meat Sci.** 73(1): 75-81.
- Ercolini, D., Russo, F., Blaiotta, G., Pepe, O., Mauriello, G. and Villani, F. 2007. "Simultaneous detection of *pseudomonas fragi*, *P. lundensis*, and *P. putida* from meat by use of a multiplex PCR assay targeting the car A gene." **Appl. Environ. Microbiol.** 73(7): 2354-2359.
- Erikson, G. and Bockelmann, I.V. 1975. "Ultrafiltration of animal blood serum: technology and microbiology." **Process Biochem.** 10(7): 11-14.
- FAO/WHO. 1973. **Energy and protein requirements.** Report of a joint FAO/WHO ad hoc expert committee. Technical report series 522. WHO, Geneve, Italy.
- FAO/WHO. 2008. **Microbiological hazards in fresh leafy vegetables and herbs:** meeting report. Microbiological Risk Assessment Series No. 14, Rome, Italy.
- FISI. 2000. Food additives for use in meat and poultry products: sodium diacetate, sodium acetate, sodium lactate and potassium lactate. [Online]. Available: <http://www.fsis.usda.gov/OPPDE/rdad/FRPubs/99-028DF.htm>. สืบค้นวันที่ 19 ธันวาคม 2556.
- FDA. 2003. Quantitative assessment of relative risk to public health from foodborne *Listeria monocytogenes* among selected categories of ready-to-eat foods. In: Appendix 12: Cluster analysis for grouping of food categories 2003. [Online]. Available: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/RiskSafetyAssessment/ucm183966.htm>. สืบค้นวันที่ 19 ธันวาคม 2556.

- Food Control Division, Food and Drug Administration, Thailand. 2004. Country report foodborne diseases: situation of diarrheal diseases in Thailand. FAO/WHO Regional Conference on Food Safety for Asia and the Pacific. Sereban, Malaysia, 24-27 May 2004.
- Gimeno, O., Astiasaran, I. and Bello, J. 2001. "Influence of partial replacement of NaCl with KCl and CaCl₂ on microbiological evolution of dry fermented sausages." **Food Microbiol.** 18(3): 329-334.
- Griffiths, M. 2005. **Understanding pathogen behavior.** USA, Woodhead publishing ltd. And CRC press LLC.
- Gupta, P., Sharma, A. and Verma, A.K. 2012. "GC/MS profiling and antimicrobial effect of six Indian tropical fruit residues against clinically pathogenic bacterial strain." **Int. J. Adv. Pharm. Res.** 3(10): 1229-1235.
- Holzapfel, W.H. 1998. **The gram-positive bacteria associated with meat and meat products.** London: Blackie academic and professional.
- Hunter, D.R and Segal I.H. 1973. "Effect of weak acids on amino acid transport by *Penicillium shrysogenum*: evidence for proton or charge gradient as the driving force." **J. Bacteriol.** 113(3): 1184-92.
- Hwang, C-A., Sheen, S. and Juneja, V. 2011. "Effects of sodium lactate on the survival of *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157: H7, and *Salmonella* spp. in cooked ham at refrigerated and abuse temperatures". **Food Nutr. Sci.** 2(5): 464-470.
- Innun, A. 2015. "Effects of salt, blood concentration and cooking temperature on the quality of edible blood gel." **Int. J. Food.** 1(1): 8-12.
- ISO 6579. 2002. Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. [Online]. Available: http://www.iso.org/iso/isocatalogue/catalogueetc/catalogue_tc_browse.htm?commid=47920. สืบค้นวันที่ 12 ธันวาคม 2556.
- Joint FAO/WHO Expert Committees on Food Additives. 1996. **WHO food additive series 37.** Rome, Italy.
- Jung, Y.J., Min, K.J. and Yoon, K.S. 2009. "Responses of acid-stressed *Salmonella* Typhimurium in broth and chicken patties to subsequent antimicrobial stress with ε-polylysine and combined potassium lactate and sodium diacetate." **Food Microbiol.** 26(5): 467-474.
- Lee, Y. L., Thrupp, L., Owens, J., Cesario, T. and Shanbrom, E. 2001. "Bactericidal activity of citrate against Gram-positive cocci." **Lett. Appl. Microbiol.** 33(5): 349-351.

- Lin, K.W. and Lin, S.N. 2002. "Effects of sodium lactate and trisodium phosphate on the physicochemical properties and shelf-life of low-fat Chinese-style sausage." **Meat Sci.** 60(2): 147–154.
- Liu, D. Qu, J., Sun, D.W., Pu, H. and Zeng, X.A. 2013. "Non-destructive prediction of salt contents and water activity of porcine meat slices by hyperspectral imaging in a salting process." **Innov. Food Sci. Emerg. Technol.** 20: 316-323.
- Lorian, V. 2005. **Antibiotics in laboratory medicine.** 5th ed. Philadelphia: Lippincott williams & wilkins.
- Lsigidi, B.K., Mathieu, A.M. and Devriess, L.A. 1992. "Enterotoxin production in different *Staphylococcus aureus* biotypes isolated from food and meat plants." **J. Appl. Bacteriol.** 72(1): 16-20.
- Kadarugamuwa, J.L. and Beveridge, T.J. 1996. "Bacteriolytic effect of membrane vesicles from *Pseudomonas aeruginosa* on other bacteria including pathogens: conceptually new antibiotics." **J. Bacteriol.** 178(10): 2767–2774.
- Malicki, A., Zawadzki, W., Bruzewicz, S., Graczyk, S. and Czerski, A. 2004. "Effect of formic and propionic acid mixture on *Escherichia coli* in fish meal stored at 12°C." **Pakist. J. Nutr.** 3: 353-356.
- Mani-López, E., García, H.S. and López-Malo, A. 2012. "Organic acid as antimicrobials to control *Salmonella* in meat and poultry products." **Food Res. Int.** 45(2): 713-721.
- Manso, S., Nerín, C. and Gómez-Lus, R. 2011. "Antifungal activity of the essential oil of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*), oregano (*Origanum vulgare*) and lauramide argine ethyl ester (Lae) against the mold *Aspergillus flavus* Cect 2949." **Ital. J. Sci. Technol.** 26: 151-156.
- Martley, F.G., Jayashankav, S.R. and Lawrence, R.C. 1970. "An improved agar medium for detection of proteolytic organisms in total bacterial counts." **J. Appl. Bacteriol.** 33(2): 360-370.
- Mbandi, E., Shelef, LA. 2001. "Enhanced inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enteritidis* in meat by combinations of sodium lactate and diacetate." **J. Food Prot.** 64(5): 640–4.
- McLeod, A., Nyquist, O.L., Snipen, L., Naterstad, K. and Axelsson, L. 2008 "Diversity of *Lactobacillus sakei* strains investigated by phenotypic and genotypic methods." **Syst. Appl. Microbiol.** 31(5): 393–403.

- McWilliam, E.C.L. and Stewart, C.S. 2002. "Susceptibility of *Escherichia coli* O157 and non-O157 isolates to lactate." **Lett. Appl. Microbiol.** 35(3): 176-180.
- Mead, G.C. and Adam, B.W. 1977. "A selective medium for the rapid isolation of *pseudomonads* associated with poultry meat spoilage." **Br. Poult. Sci.** 18(6): 661-70.
- Milillo, S.R. and Ricke, S.C. 2010. "Synergistic reduction of *Salmonella* in a model raw chicken media using a combined thermal and acidified organic acid salt intervention treatment." **J. Food Sci.** 75(2): 121-125.
- Miller, A.J., Call, J.E. and Whiting, R.C. 1993. "Comparison of organic acid salts for *Clostridium botulinum* control in an uncured turkey product." **J. Food Prot.** 56(11): 958-962.
- Nagaraja, T.G. 1995. **Ionophores and antibiotics in ruminants**. Germany: Wiley-VCH.
- Nair, G.B., Faraque, S.M., Bhuiyan, N.A., Kamiuzzaman, M., Siddique, A.K. and Sack, D.A. 2002. "New variants of *Vibrio cholerae* O1 biotype EI Tor with attributes of the classical biotype from hospitalized patient with acute diarrhea in Bangladesh. **J. Clin. Microbiol.** 40(9): 3296-3299.
- Nanasombat, S. and Chooprang, K. 2009. "Control of pathogenic bacteria in raw pork using organic acid salts in combination with freezing and thawing." **Kasetsart J. (Nat. Sci.) (Thailand)**. 43(3): 576-583.
- Nataro and Kaper. 1998. "Diarrheagenic *Escherichia coli*." **Clin. Microbiol. Rev.** 11(1): 142-201
- Norhana, M.N.W., Poole, S.E., Deeth, H.C. and Dykes, G.A. 2012. "Effects of nisin, EDTA and salts of organic acids on *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* and native microflora on fresh vacuum packaged shrimps stored at 4°C." **J. Food Microbiol.** 31(1): 43-50.
- Nørrung, B., Anderson, J.K. and Buncic, S. 2009. "Main concerns of pathogenic microorganisms in meat." p.3-30. *In* Toldrá, **F. Safety of meat and processed meat**. New York: Springer.
- Ockerman, H.W. and Hansen, C.L. 1988. **Animal by-product processing**. England: Ellis Horwood Ltd.
- Pezo, D., Navascués, B., Salafranca, J. and Nerin, C. 2012. "Analytical procedure for the determination of Ethyl Lauroyl Arginate (LAE) to assess the kinetics and specific migration from a new antimicrobial active food packaging." **Anal. Chim. Acta.** 745: 92-98.

- Piot, J.M., Guillochon, D. and Thomas, D. 1986. "Preparation of decolorized peptides from slaughter-house blood." **MIRCEN J. Appl. Micro. Biotech.** 2(3):359–364.
- Quinn, P.J., Cater, M.E., Markey, B.K. and Cater, G.R. 2004. **Clinical veterinary microbiology.** United States: Wolf publishing.
- Raque, M.M., Christina, J.M. and Ronald, K.T. 2010. "Growth and laboratory maintenance of *Vibrio cholera*." **Curr. Protoc. Microbiol.** 6: Unit 6-1.
- Ratanatriwong, P., Prachaiyo, P. and Wongsangasri, P. 2009. "Effect of organic acid salt mixture on shelf-life extension and growth inhibition of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* O157:H7 in *moo yor*." **Asian J. Food and Agro-industry.** 2(3): 351-361.
- Rajmohan, S., Dodd, C.E.R. and Waites, W.M. 2002. "Enzymes from isolates of *Pseudomonas fluorescens* involved in food spoilage." **J. Appl. Microbiol.** 93(2): 205-13.
- Ribot, E. D. 2006. **Advance in animal blood processing: development of a biopreservation system and insights on the functional properties of plasma.** Ph.D. Thesis, Universitat de Girona. Girona, Spain..
- Ricke, S.C. 2003. "Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials." **Poult. Sci.** 82(4): 632-639.
- Sallam, K.I. 2007. "Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate and sodium citrate in refrigerated sliced salmon." **Food Control.** 18(5): 566-575
- SAS software. 1998. Statistical Analysis System Institute IMC, USA.
- Schafer, A., Rosenvold, K. and Purslow, P. P. 2002. "Physiological and structural events postmortem of importance for drip loss in pork." **Meat sci.** 61(4): 355-366.
- Saricoban, C. and Yilmaz, M.T. 2010. "Modelling the effects of processing factors on the changes in colour parameters of cooked meatballs using response surface methology." **World Appl. Sci. J.** 9(1): 14-22.
- Schirmesister, F., Dieckmann, R., Bechlars, S., Bier, N., Faruque, S.M. and Strauch, E. 2002. "Genetic and phenotypic analysis of *Vibrio cholera* non-O1, non-O139 isolated from German and Austrian patients." **Eur. J. Clin. Microbiol. Infect.** 33(5): 767-778.
- Schlyter, J. H., Glass, K. A. Loefelholz, J. Degnan, A. J. and Luchansky, J. B. 1993. "The effect of diacetate with nitrite, lactate, or pediocin on viability of *Listeria monocytogenes* in turkey slurries." **Int. J. Food Microbiol.** 19(4): 271-281.

- Shafit, H.M. and Williams, S.K. 2010. "Sodium diacetate and sodium lactate affect microbiology and sensory and objective characteristics of a restructured turkey breast product formulated with a fibrin cold-set binding system." **Poult. Sci.** 89(3): 594-602.
- Shelef, L.A. and Addala, L. 1994. "Inhibition of *Listeria monocytogenes* and other bacteria by sodium diacetate." **J. Food Saf.** 14(2): 103-115.
- Silva, E.N.G., Almeida, R.C.C., Figueiredo, A.C.L. and Miranda, F.A. 2012. "Effects of salts of organic acids on the survival of *Listeria monocytogenes* in soft cheeses." **Int. J. Food Sci. Technol.** 47(9): 1819-1825.
- Skrivanova, E., Marounek, M., Benda, V. and Brezina, P. 2006. "Susceptibility of *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. And *Clostridium perfringens* to organic acids and monolaurin." **Vet. Med.** 51(3): 81-88.
- Skrivanova, E., Molatova, Z., Matenova, M., Houf, K. and Marounek, M. 2010. "Inhibitory effect of organic acids on arcobacters in culture and their use for control of *Arcobacter butzleri* on chicken skin." **Int. J. Food Microbiol.** 144(3): 367-371.
- Stratford, M. 1999. **Traditional preservatives-organic acids**. London: Academic.
- Stekelenburg, FK, MLT, K.M. 2001. "Effects of sodium lactate and other additives in a cooked ham product on sensory quality and development of a strain of *Lactobacillus curvatus* and *Listeria monocytogenes*." **Int. J. Food Microbiol.** 66(3): 197-203.
- Stekelenburg, F.K. 2003. "Enhanced inhibition of *Listeria monocytogenes* in frankfurter sausage by the addition of potassium lactate and sodium diacetate mixtures." **Food Microbiol.** 20(1): 133-137.
- Storz, G. and Hengge-Aronis, R. 2000. **Bacterial stress responses**. Washington DC.: ASM Press.
- Suksathit, S. and Tangwatcharin, P. 2013. "Activity of salts of organic acid in combination with lauric arginate against *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* Rissen." **Scienceasia.** 39(4): 346-355.
- Tangwatcharin, P., Chanthachun, S., Khopaibool, P. and Griffiths, M.W. 2006. "Morphological and physiological responses of *Campylobacter jejuni* to stress." **J. Food Prot.** 69(11): 2747-2753.
- Teuber, M. and Ges, A. 2006. **The genus lactococcus**. The prokaryotes. 3rd. U.S.: Springer.
- Thai Industry Standard no. TIS 257-2549. 2006. Drinking water. Thai Industrial Standards Intitute, Ministry of Industry, Thailand.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Toldra, F., Rubio, M. A., Navarro, J. L. and Cabrerizo, L. 2004. **Quality aspects of pork meat and its nutritional impact.** Kluwer Academic/Plenum Publishers: USA.
- Tokarsky, O. and Marshall, D.L. 2008. "Mechanism of synergistic inhibition of *Listeria monocytogenes* growth by lactic acid, monolaurin and Nisin." **Appl. Environ. Microbiol.** 74(23): 7126-7129.
- USEPA. 1986. **Ambient Water Quality Criteria for Bacteria – 1986.** EPA 440/5-84-002, Office of Water, Washington, DC.
- Vanden Broeck, D.V., Horvath, C., De Wolf, M.J. 2007. "*Vibrio cholerae*: Cholera toxin. **Int. J. Biochem. Cell Biol.** 39(10): 1771-1775.
- Wang, F.S. 2000. "Effects of three preservative agents on the shelf-life of vacuum packaged Chinese-style sausage stored at 20 °C." **Meat Sci.** 56(1): 67–71.
- Watanabe, R., Hojo, K., Nagaoka, S., Kimura, K., Ohshima, T. and Maeda, N. 2011. "Antibacterial activity of sodium citrate against oral bacteria isolated from human tongue dorsum." **J. Oral. Biol. Sci.** 53(1): 87-92.
- Wesche, A.M., Gurtler, J.B., Marks, B.P. and Ryser, E.I. 2009. "Stress, sublethal injury, resuscitation, and virulence of bacterial foodborne pathogens." **J. Food. Prot.** 72(5): 1121-1138.
- Yavas, E. and Bilgin, B. 2010. "Effect of calcium lactate, sodium diacetate and sodium chloride mixture on the microbiological, chemical and sensory properties of chicken nuggets stored in refrigeration and under modified atmospheres." **Int. J. Poult. Sci.** 9(1): 66- 71.



ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การเตรียมสารเคมี

1. การเตรียมสารละลายเกลือกรดอินทรีย์และโซเดียมคลอไรด์

1.1 สารละลายโซเดียมแลคเตท ความเข้มข้นร้อยละ 6 (6% Sodium lactate) (100 มิลลิลิตร)

สารละลายโซเดียมแลคเตท	100.00	มิลลิลิตร
-----------------------	--------	-----------

1.2 สารละลายโพแทสเซียมแลคเตท ความเข้มข้นร้อยละ 6 (6% Potassium lactate) 100 มิลลิลิตร)

สารละลายโพแทสเซียมแลคเตท	100.00	มิลลิลิตร
--------------------------	--------	-----------

1.3 สารละลายโซเดียมไดอะซิเตท ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 (2.5% Sodium diacetate) (100 มิลลิลิตร)

สารละลายโซเดียมไดอะซิเตท	2.5	กรัม
--------------------------	-----	------

น้ำกลั่น	100.00	มิลลิลิตร
----------	--------	-----------

1.4 สารละลายโซเดียมซิเตรท ความเข้มข้นร้อยละ 10 (10% Sodium citrate) (100 มิลลิลิตร)

สารละลายโซเดียมซิเตรท	10.00	กรัม
-----------------------	-------	------

น้ำกลั่น	100.00	มิลลิลิตร
----------	--------	-----------

1.5 สารละลายโพแทสเซียมซิเตรท ความเข้มข้นร้อยละ 10 (10% Potassium citrate) (100 มิลลิลิตร)

สารละลายโพแทสเซียมซิเตรท	10.00	กรัม
--------------------------	-------	------

น้ำกลั่น	100.00	มิลลิลิตร
----------	--------	-----------

1.6 สารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 20 (20% NaCl) (100 มิลลิลิตร)

สารละลายโซเดียมคลอไรด์	2.00	กรัม
------------------------	------	------

น้ำกลั่น	100.00	มิลลิลิตร
----------	--------	-----------

ละลายสารแต่ละชนิดให้เข้ากันแล้วนำไปทำให้ปลอดจุลินทรีย์ด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

2. สารละลายเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 70

สารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95	737.00	มิลลิลิตร
-------------------------------------	--------	-----------

น้ำกลั่น	233.00	มิลลิลิตร
----------	--------	-----------

ละลายสารทั้งหมดให้เข้ากัน จากนั้นบรรจุในขวดปิดฝาสนิท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. สารละลายโปตัสเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 40 (40% Potassium hydroxide, 40% KOH)

โปตัสเซียมไฮดรอกไซด์	40.00	กรัม
น้ำกลั่น	100.00	มิลลิลิตร

ละลายสารทั้งหมดให้เข้ากัน สารละลายจะมีความเข้มข้น 40% จากนั้นบรรจุในขวดสีชา

4. สารละลายเมทิลเรด (Methyl red solution)

เมทิลเรด	0.50	กรัม
สารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95	300.00	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	200.00	มิลลิลิตร

นำสารเมทิลเรดลงละลายในสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ละลายจนเข้ากันดี จากนั้นเติมน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร

5. สารละลายเนฟทอล ความเข้มข้นร้อยละ 5 (5% α -naphthol solution)

เนฟทอล	5.00	กรัม
สารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95	100.00	มิลลิลิตร

ละลายสารทั้งหมดให้เข้ากัน สารละลายจะมีความเข้มข้นร้อยละ 5 จากนั้นบรรจุในขวดสีชา

6. สารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 (0.85% NaCl)

โซเดียมคลอไรด์	8.50	กรัม
น้ำกลั่น	1.00	ลิตร

ละลายสารทั้งหมดให้เข้ากัน สารละลายจะมีความเข้มข้นร้อยละ 0.85 แล้วนำไปทำให้ปลอด-จุลินทรีย์ด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้ออุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

7. สารละลาย Kovac's reagent

Para-dimethyl-aminobenzaldehyde	5.00	กรัม
Amyl or buthyl alcohol	75.00	มิลลิลิตร
Hydrochloric acid (37%) C.P.	25.00	มิลลิลิตร

ละลาย Para-dimethyl-aminobenzaldehyde ใน Amyl or buthyl alcohol อุณหภูมิผสมโดยใช้ water bath จนกระทั่งส่วนผสมละลายเข้ากันดีแล้ว เติมเกลือด้วยความระมัดระวัง และคนให้เข้ากัน

เก็บไว้ในขวดฝาปิดสีชา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. alkaline peptone water (APW)

ประกอบด้วย	Peptone	10.00	กรัม
	Sodium chloride	10.00	กรัม

วิธีการเตรียม ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ละลายสารทั้งหมดเข้าให้กัน จากนั้นนำไปทำให้ปลอดจุลินทรีย์ด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

2. arginine glucose agar (AGS)

ประกอบด้วย	Peptone	5.00	กรัม
	Yeast Extract	3.00	กรัม
	Tryptone	10.00	กรัม
	Sodium chloride	20.00	กรัม
	Glucose	1.00	กรัม
	L-Arginine hydrochloride	5.00	กรัม
	Ferric ammonium citrate	0.50	กรัม
	Sodium thiosulphate	0.30	กรัม
	Bromocresol purple	0.02	กรัม
	Agar	13.50	กรัม

3. baird-parker's medium (BP)

ประกอบด้วย	Tryptone	5.00	กรัม
	Meat extract	2.50	กรัม
	Yeast extract	0.50	กรัม
	Lithium chloride	2.50	กรัม
	Agar	10.00	กรัม

วิธีการเตรียม ละลายส่วนผสมทั้งหมดใส่น้ำกลั่น 450 มิลลิลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ให้เป็น 6.8 ± 0.2 จากนั้นนำไปทำให้ปลอดจุลินทรีย์ด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

องศาเซลเซียส ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที แล้วทิ้งให้เย็นลงประมาณ 50 องศาเซลเซียส เพื่อเติมสารละลายดังต่อไปนี้

การเตรียม egg yolk solution

(i) นำไข่ไก่สดมาล้างเปลือกให้สะอาด จากนั้นนำไปแช่ใน 70% ethyl alcohol เป็นเวลา 15 นาที

(ii) นำไข่ไก่มาวางในบีกเกอร์ที่มีกระดาษกรองรองตลอดเชื้อ ทิ้งไว้ให้แอลกอฮอล์ระเหย

(iii) ตอกไข่ไก่ในตู้ปลอดเชื้อ ทำการแยกไข่ขาวออกให้หมดโดยเทคนิคปลอดเชื้อ แยกส่วนที่เป็นไข่แดงลงในบีกเกอร์ปลอดเชื้อ เติมไข่แดงลงในคูเรนขนาดปริมาตร 200 มิลลิลิตร ที่มีน้ำเกลือร้อยละ 0.85 ที่ผ่านการฆ่าเชื้ออยู่ 140 มิลลิลิตร ใส่ไข่แดงจนมีปริมาตร 200 มิลลิลิตร เขย่าให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (เตรียมใหม่ทุกครั้ง)

การเตรียมร้อยละ 1 potassium tellurite (PT)

(i) ชั่ง Potassium tellurite 1 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์แก้ว ใส่น้ำกลั่นทำการคนจนสารละลายหมด แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ด้วยขวดปรับปริมาตร

(ii) นำ Potassium tellurite ที่ปรับปริมาตรแล้ว ทำให้สารละลายปลอดเชื้อโดยการกรองด้วยกระดาษกรองปลอดเชื้อใส่ลงในขวดคูเรนปลอดเชื้อ เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

การผสม egg yolk-tellurite emulsion

(i) นำร้อยละ 1 Potassium tellurite ที่เตรียมไว้ปริมาตร 40 มิลลิลิตร (ใช้กระบอกตวงปลอดเชื้อ) ผสมกับ egg yolk solution ที่เตรียมไว้

(ii) ทำการเขย่าให้เข้ากันจะได้ egg yolk tellurite 240 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปใช้ (เตรียมใหม่ทุกครั้ง)

การเตรียม Baird-Parker medium

(i) เตรียมอาหาร Baird-Parker agar 285 มิลลิลิตร นำไปทำให้ปลอดจุลินทรีย์ด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ (auto clamp) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

(ii) นำขวดอาหารไปแช่ในอ่างปรับอุณหภูมิที่ 55 องศาเซลเซียส เมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อเย็นลง เติม egg yolk tellurite ลงในขวดอาหาร 15 มิลลิลิตร

4. buffered peptone water (BPW)

ประกอบด้วย	Peptone	10.00	กรัม
	Sodium chloride	5.00	กรัม
	di-Sodium phosphate	3.50	กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

monopotassiumphosphate	1.50	กรัม
------------------------	------	------

วิธีการเตรียม ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ให้เป็น 7.2 จากนั้นนำไปทำให้ปลอดจุลินทรีย์ด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้ออุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

5. eosin methylene blue agar (EMB agar)

ประกอบด้วย	Peptone	10.00	กรัม
	di-Potassium hydrogen phosphate	2.00	กรัม
	Lactose	5.00	กรัม
	Sucrose	5.00	กรัม
	Eosin Y, yellowish	0.40	กรัม
	Methylene blue	0.07	กรัม
	Agar	13.50	กรัม

วิธีการเตรียม ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร นำไปทำการละลายด้วยการต้ม หรือใช้ไมโครเวฟ ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ให้เป็น 7.1 จากนั้นนำไปทำให้ปลอดจุลินทรีย์ด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้ออุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

6. fluorocult LMX broth

ประกอบด้วย	Tryptone	5.00	กรัม
	Sodium chloride	5.00	กรัม
	Sorbitol	1.00	กรัม
	Tryptophan	1.00	กรัม
	di-Potassium hydrogen phosphate	2.70	กรัม
	Potassium di-hydrogen phosphate	2.00	กรัม
	Lauryl sulfate sodium salt	0.10	กรัม
	5-Bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-galactopyranoside, X-GAL	0.08	กรัม
	4-methylumbelliferyl- β -D-glucuronide, MUG	0.05	กรัม
	1-isopropyl- β -D-1-thio-galactopyranoside	0.10	กรัม

วิธีการเตรียม ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร นำไปทำการละลายด้วยการต้ม หรือใช้ไมโครเวฟ ละลายสารทั้งหมดเข้าให้กัน ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ให้เป็น 6.8 แล้วแบ่งเอกสารนี้เป็นเอกสาร หรือส่งวนเวียนสลับกันเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ดูแลเห็นใบเช็คประเมินด้านการศึกษา ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรจุใส่หลอดทดลองตามปริมาณที่ต้องการ จากนั้นนำไปทำให้ปลอดจุลินทรีย์ด้วยเครื่องนิ่งฆ่าเชื้อ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

7. hektoen-entero-agar

ประกอบด้วย	Peptic digest of animal tissue	12.00	กรัม
	Lactose	12.00	กรัม
	Sucrose	12.00	กรัม
	Bile salt	9.00	กรัม
	Sodium chloride	5.00	กรัม
	Sodium thiosulphate	5.00	กรัม
	Yeast Extract	3.00	กรัม
	Salicin	2.00	กรัม
	Ferric ammonium citrate	1.50	กรัม
	Acid fuchsin	0.10	กรัม
	Bromothymol Blue	0.064	กรัม
	Agar	1.00	กรัม

วิธีการเตรียม ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร นำไปทำการละลายด้วยการต้มหรือใช้ไมโครเวฟ จากนั้นนำไปทำให้ปลอดจุลินทรีย์ด้วยเครื่องนิ่งฆ่าเชื้ออุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาทีหรือให้เย็น เติมนยาปฏิชีวนะ novomyocin 0.1 ไมโครลิตร ต่ออาหาร HE agar 100 มิลลิลิตร

8. lysine iron agar (LIA)

ประกอบด้วย	Peptone	5.00	กรัม
	Yeast extract	3.00	กรัม
	Glucose	1.00	กรัม
	L-lysine	10.00	กรัม
	ion (III) ammonium citrate	0.50	กรัม
	Sodium thiosulphate	0.04	กรัม
	Bromcresol purple	0.02	กรัม
	Agar	0.02	กรัม

วิธีการเตรียม ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร นำไปทำการละลายด้วยการต้มหรือใช้ไมโครเวฟ จากนั้นนำไปบรรจุใส่หลอดทดลอง หลอดละ 3 มิลลิลิตร และนำไปทำให้เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปลอดจุลินทรีย์ด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้ออุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที แล้ววางหลอดเอียงทำมุม 30 องศาเซลเซียสกับแนวนอน (slant) ให้มีทั้ง butt และ slant

9. mCPC

ประกอบด้วย	Peptone	10.00	กรัม
	Beef extract	15.00	กรัม
	Sodium chloride	20.00	กรัม
	Bromthymol blue	4.00	กรัม
	Cresol red	4.00	กรัม
	95% ethanol	100.00	มิลลิลิตร
	Agar	1.00	กรัม

วิธีการเตรียม ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 900 มิลลิลิตร นำไปทำการละลายด้วยการต้ม หรือใช้ไมโครเวฟ จากนั้นนำไปทำให้ปลอดจุลินทรีย์ด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้ออุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

10. mueller hinton agar (MHA)

ประกอบด้วย	Beef infusion solid	2.00	กรัม
	Casine hydrolyses	15.00	กรัม
	Starch powder	1.50	กรัม
	Agar	3.00	กรัม

วิธีการเตรียม ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร นำไปทำการละลายด้วยการต้ม หรือใช้ไมโครเวฟ จนสารทั้งหมดละลายเข้ากัน จากนั้นนำไปทำให้ปลอดจุลินทรีย์ด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้ออุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

11. mueller hinton broth (MHB)

ประกอบด้วย	Beef infusion solid	2.00	กรัม
	Casine hydrolyses	15.00	กรัม
	Starch powder	1.50	กรัม

วิธีการเตรียม สารละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร นำไปทำการละลายด้วยการต้มหรือใช้ไมโครเวฟ จนสารทั้งหมดละลายเข้ากัน จากนั้นนำไปทำให้ปลอดจุลินทรีย์ด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้ออุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

12. MktTn broth

ประกอบด้วย	Enzymatic digest of casein	8.60	กรัม
	Meat extract)	4.30	กรัม
	Sodium chloride	2.60	กรัม
	Calcium Carbonate	38.70	กรัม
	Sodium Thiosulphate anhydrous	30.50	กรัม
	Bile Salts	4.78	กรัม
	Brilliant Green	9.60	มิลลิกรัม
	Iodine	4.00	กรัม
	Potassium iodine	5.00	กรัม
	Novobiocin	0.04	กรัม

วิธีการเตรียม สารละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร นำไปทำการละลายด้วยการต้มหรือใช้ไมโครเวฟ จนสารทั้งหมดละลายเข้ากัน ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ให้เป็น 8.2 จากนั้นนำไปบรรจุใส่หลอดทดลอง จากนั้นนำไปทำให้ปลอดจุลินทรีย์ด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้ออุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

13. MRS broth

ประกอบด้วย	Peptone from casein	10.00	กรัม
	Meat extract	8.00	กรัม
	Yeast extract	4.00	กรัม
	D(+)-glucose	20.00	กรัม
	Tween 80	1.00	มิลลิลิตร
	di-Potassium hydrogen phosphate	2.00	กรัม
	Sodium acetate	5.00	กรัม
	Magnesium sulfate	0.20	กรัม
	Manganese sulfate	0.04	กรัม

วิธีการเตรียม สารละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร นำไปทำการละลายด้วยการต้มหรือใช้ไมโครเวฟ จนสารทั้งหมดละลายเข้ากัน ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ให้เป็น 5.7 จากนั้นนำไปทำให้ปลอดจุลินทรีย์ด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้ออุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

14. MR-VP

ประกอบด้วย	Peptone from meat	7.00	กรัม
	D(+)-glucose	5.00	กรัม
	Phosphate buffer	5.00	กรัม

วิธีการเตรียม สารละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร นั้นนำไปบรรจุใส่หลอดทดลอง หลอดละ 3 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปทำให้ปลอดจุลินทรีย์ด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้ออุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

15. plate count agar (PCA)

ประกอบด้วย	Tryptone	5.00	กรัม
	Yeast extract	2.50	กรัม
	Glucose	1.00	กรัม
	Agar	15.00	กรัม

วิธีการเตรียม สารละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร นำไปทำการละลายด้วยการต้มหรือใช้ไมโครเวฟ จนสารทั้งหมดละลายเข้ากัน ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ให้เป็น 7 จากนั้นนำไปทำให้ปลอดจุลินทรีย์ด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้ออุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

16. RV broth

ประกอบด้วย	Soya peptone	5.00	กรัม
	Sodium chloride	8.00	กรัม
	Potassium dihydrogen phosphate	1.60	กรัม
	Magnesium chloride	40.00	กรัม
	Malachite green	0.04	กรัม

วิธีการเตรียม สารละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปบรรจุใส่หลอดทดลอง หลอดละ 10 มิลลิลิตร และนำไปทำให้ปลอดจุลินทรีย์ด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้ออุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

17. simmon citrate (SC)

ประกอบด้วย	Ammonium di-hydrogen phosphate	1.00	กรัม
	di-potassium hydrogen phosphate	1.00	กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Sodium chloride	5.00	กรัม
Sodium citrate	2.00	กรัม
Magnesium sulfate	0.20	กรัม
Bromothymol blue	0.08	กรัม
Agar	13.00	กรัม

วิธีการเตรียม สารละลายส่วนผสมทั้งหมดคือน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร นำไปทำการละลายด้วยการต้มหรือใช้ไมโครเวฟ จนสารทั้งหมดละลายเข้ากัน จากนั้นนำไปบรรจุใส่หลอดทดลอง หลอดละ 3 มิลลิลิตร และนำไปทำให้ปลอดจุลินทรีย์ด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้ออุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

18. triple sugar iron agar (TSI)

ประกอบด้วย	Beef extract	3.00	กรัม
	Yeast extract	3.00	กรัม
	Peptone	1.00	กรัม
	Proteose peptone	5.00	กรัม
	Lactose	10.00	กรัม
	Saccharose	10.00	กรัม
	Dextrose	1.00	กรัม
	Iron (II) sulfate	0.20	กรัม
	Sodium chloride	5.00	กรัม
	Sodium thiosulfate	0.30	กรัม
	Phenol red	0.024	กรัม
	Agar	17.00	กรัม

วิธีการเตรียม สารละลายส่วนผสมทั้งหมดคือน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร นำไปทำการละลายด้วยการต้มหรือใช้ไมโครเวฟ จนสารทั้งหมดละลายเข้ากัน จากนั้นนำไปบรรจุใส่หลอดทดลอง หลอดละ 3 มิลลิลิตร และนำไปทำให้ปลอดจุลินทรีย์ด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้ออุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที แล้ววางหลอดเอียง ทำมุม 30 องศาเซลเซียสกับแนวนอน (slant)

19. tryptone broth (TB)

ประกอบด้วย	Tryptone	10.00	กรัม
	Sodium chloride	5.00	กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการเตรียม สารละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปบรรจุใส่หลอดทดลอง หลอดละ 3 มิลลิลิตร และนำไปทำให้ปลอดจุลินทรีย์ด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้ออุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

20. thiosulfate citrate bile sucrose medium (TCBS)

ประกอบด้วย	Yeast extract	5.00	กรัม
	Peptone	10.00	กรัม
	Sodium citrate	10.00	กรัม
	Sodium thiosulfate	10.00	กรัม
	Ox bile	8.00	กรัม
	Sucrose	20.00	กรัม
	Sodium chloride	10.00	กรัม
	Iron (II) citrate	1.00	กรัม
	Bromothymol blue	0.04	กรัม
	Thymol blue	0.04	กรัม
	Agar	14.00	กรัม

วิธีการเตรียม สารละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร นำไปทำการละลายด้วยการต้มหรือใช้ไมโครเวฟ จนสารทั้งหมดละลายเข้ากัน จากนั้นนำไปบรรจุใส่หลอดทดลอง หลอดละ 3 มิลลิลิตร และนำไปทำให้ปลอดจุลินทรีย์ด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้ออุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาทีควรมีค่าความเป็นกรด-ด่าง เป็น 8.6

20. T₁N₁ agar

ประกอบด้วย	Tryptone	1.00	กรัม
	Sodium chloride	1.00	กรัม
	Agar	1.50	กรัม

วิธีการเตรียม สารละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร นำไปบรรจุใส่หลอดทดลอง หลอดละ 3 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปทำให้ปลอดจุลินทรีย์ด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้ออุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

21. T₁N₁ slant

ประกอบด้วย	Tryptone	1.00	กรัม
	Sodium chloride	1.00	กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Agar	1.00	กรัม
------	------	------

วิธีการเตรียม สารละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร นำไปบรรจุใส่หลอดทดลอง หลอดละ 3 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปทำให้ปลอดจุลินทรีย์ด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้ออุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที แล้ววางหลอดเอียงท่ามุม 30 องศาเซลเซียสกับแนวนอน (slant)

22. T₁N₀ broth

ประกอบด้วย	Tryptone	1.00	กรัม
	Agar	1.00	กรัม

วิธีการเตรียม สารละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร นำไปบรรจุใส่หลอดทดลอง หลอดละ 3 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปทำให้ปลอดจุลินทรีย์ด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้ออุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

23. T₁N₃ broth

ประกอบด้วย	Tryptone	1.00	กรัม
	Sodium chloride	3.00	กรัม
	Agar	1.00	กรัม

วิธีการเตรียม สารละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร นำไปบรรจุใส่หลอดทดลอง หลอดละ 3 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปทำให้ปลอดจุลินทรีย์ด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้ออุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

24. TSA agar

ประกอบด้วย	Pancreatic digest of casein	8.50	กรัม
	Enzymatic digest of soya bean	1.50	กรัม
	Sodium chloride	2.50	กรัม
	di-Potassium hydrogen phosphate	1.25	กรัม
	Glucose	1.25	กรัม
	Agar	7.50	กรัม

วิธีการเตรียม สารละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร ต้มให้เดือนจนสารทั้งหมด ละลายเข้ากัน จากนั้นนำไปทำให้ปลอดจุลินทรีย์ด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้ออุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

Pseudomonas CFC selective supplement

ใส่น้ำกลั่นปลอดจุลินทรีย์ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร และเอทานอล 99.99% ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตรลงในขวด CFC selective supplement ด้วยวิธีปลอดจุลินทรีย์ ทำการผสมให้เข้ากัน จากนั้น ผสมสารละลาย CFC selective supplement 1.00 มิลลิลิตรในขวดอาหาร 500 มิลลิลิตร

25. violet red bile agar (VRB)

ประกอบด้วย	Peptone from meat	7.00	กรัม
	Yeast extract	3.00	กรัม
	Sodium chloride	5.00	กรัม
	Lactose	10.00	กรัม
	Neutral red	0.03	กรัม
	Bile salt mixture	1.50	กรัม
	Crystal violet	0.002	กรัม
	Agar	13.00	กรัม

วิธีการเตรียม สารละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มให้เดือดจนสารทั้งหมดละลายเข้ากัน จากนั้นนำไปทำให้ปลอดจุลินทรีย์ด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้ออุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที ควรมีความเป็นกรด-ด่าง เป็น 7.4

26. xylose lysine deoxycholate (XLD)

ประกอบด้วย	Yeast extract	3.00	กรัม
	Sodium chloride	5.00	กรัม
	D(+)-xylose	3.75	กรัม
	Lactose	7.50	กรัม
	Sucrose	7.50	กรัม
	L(+)-lysine	5.00	กรัม
	Sodium deoxycholate	1.00	กรัม
	Sodium thiosulfate	6.80	กรัม
	Ammoniumion (III) citrate	0.80	กรัม
	Phenol red	0.08	กรัม
	Agar	14.50	กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการเตรียม สารละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มให้เดือนจนสารทั้งหมดละลายเข้ากัน จากนั้นนำไปทำให้ปลอดจุลินทรีย์ด้วยเครื่องนิ่งฆ่าเชื้ออุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที ควรมีค่าความเป็นกรด-ด่าง เป็น 7.4



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

ตารางวิเคราะห์จุลินทรีย์และค่าองศาของสี

ตารางภาคผนวกที่ ค 1 การจำแนกเชื้อ *E. coli* โดยวิธีทางชีวเคมี (IMViC test)

Type	Indole	MR	VP	Citrate
Typical <i>E. coli</i>	+	+	-	-
Atypical <i>E. coli</i>	-	+	-	-
Typical Intermediate	+	+	-	+
Atypical Intermediate	-	+	-	+
Typical <i>Enterobacter aerogenes</i>	-	-	+	+
Atypical <i>Enterobacter aerogenes</i>	+	-	+	+

ที่มา : ดัดแปลงจากอรอนงค์ รัชตราชนชัย (2549)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ค 2 ค่า Most probable numbers (MPN) ต่อตัวอย่าง 1 กรัม โดยใช้ตัวอย่าง 3
ระดับ คือ 0.1, 0.01, 0.001 กรัม

Combination of Positive	MPN	Combination of Positive	MPN	Combination of Positive	MPN
0-0-0	<3	1-1-2	15	2-3-0	29
0-0-1	3	1-1-3	19	2-3-1	36
0-0-2	6	1-2-0	11	2-3-2	44
0-0-3	9	1-2-1	15	2-3-3	53
0-1-0	3	1-2-2	20	3-0-0	23
0-1-1	6.1	1-2-3	24	3-0-1	39
0-1-2	9.2	1-3-0	16	3-0-2	64
0-1-3	12	1-3-1	20	3-0-3	95
0-2-0	6.2	1-3-2	24	3-1-0	43
0-2-1	9.2	1-3-3	29	3-1-1	75
0-2-2	12	2-0-0	9	3-1-2	120
0-2-3	16	2-0-1	14	3-1-3	160
0-3-0	9.4	2-0-2	20	3-2-0	93
0-3-1	13	2-0-3	26	3-2-1	150
0-3-2	16	2-1-0	15	3-2-2	210
0-3-3	19	2-1-1	20	3-2-3	290
1-0-0	3.6	2-1-2	27	3-3-0	240
1-0-1	7.2	2-1-3	34	3-3-1	460
1-0-2	11	2-2-0	21	3-3-2	1,100
1-0-3	15	2-2-1	28	3-3-3	>2,400
1-1-0	7.3	2-2-2	35		
1-1-1	11	2-2-3	42		

ที่มา : คัดแปลงจาก AOAC (2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 3 การตรวจผลของเชื้อ *V. cholerae* โดยวิธีทางชีวเคมี

AGS			
Slant	Butt	H ₂ S	Gas
Ka	A	-	-

Ka = alkaline ปลายหลอด (slant) ของ AGS จะมีสีม่วง

A = acid ก้นหลอด (butt) ของ AGS จะมีสีเหลืองอ่อนๆ

H₂S (+) = ภายในหลอดอาหาร AGS เกิดตะกอนสีดำของไฮโดรเจนซัลไฟด์ ซึ่งเชื้อ *V. cholerae* ส่วนใหญ่จะให้ผลลบ

H₂S (-) = ภายในหลอดอาหาร AGS ไม่เกิดตะกอนสีดำของไฮโดรเจนซัลไฟด์

Gas (+) = มีฟองอากาศคั่งวุ้นของอาหาร AGS

Gas (-) = ภายในหลอดอาหารไม่มีฟองอากาศคั่งวุ้นของ AGS เนื่องจากเชื้อ *V. cholerae* ส่วนใหญ่สามารถหมักย่อยน้ำตาลกลูโคสแล้วได้กรดและแก๊สเพียงเล็กน้อย

ที่มา : ดัดแปลงจากอรอนงค์ รัชตราชนชัย (2549)

ตารางภาคผนวกที่ 4 การตรวจผลของเชื้อ *Salmonella* spp. โดยวิธีทางชีวเคมี

Slant	Butt	TSI		LIA	
		H ₂ S	Gas	Lysine	Indole
K	A	+/-	+/-	+	-

K = การเกิด alkaline โดยบริเวณปลายหลอด (slant) ของอาหาร TSI จะมีสีชมพูบานเย็น-แดง

A = การเกิด Acid บริเวณก้นหลอด (butt) ของ TSI จะมีสีเหลือง

H₂S (+) = ภายในหลอดอาหาร TSI เกิดตะกอนสีดำของไฮโดรเจนซัลไฟด์ ซึ่ง *Salmonella* spp. ส่วนใหญ่จะให้ผล +

H₂S (-) = ภายในหลอดอาหาร TSI ไม่เกิดตะกอนสีดำของไฮโดรเจนซัลไฟด์

Gas (+) = มีฟองอากาศคั่งวุ้นของอาหาร TSI เนื่องจาก *Salmonella* spp. ส่วนใหญ่สามารถหมักย่อยน้ำตาลกลูโคสแล้วได้กรดและแก๊สเพียงเล็กน้อย

Gas (-) = ภายในหลอดอาหารไม่มีฟองอากาศคั่งวุ้นของ TSI

Lysine (+) = หลอดอาหารจะมีสีม่วงทั้งหลอดเนื่องจากเชื้อ *Salmonella* spp. มีเอนไซม์ Lysine decarboxylase ไปย่อย Lysine ทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าวมีความเป็นด่างมากขึ้น มีผลทำให้ Brom cresol purple ซึ่งใช้เป็น Indicator ในอาหารดังกล่าวและมีค่าความเป็นกรดต่างต่ำเป็นกลาง มีสีม่วงเข้มขึ้นซึ่ง *Salmonella* spp. จะมีเอนไซม์นี้

Lysine (-) = หลอดอาหารจะมีสีเหลืองเนื่องจากเชื้อ *Salmonella* spp. มีเอนไซม์ Lysine decarboxylase ไปย่อย Lysine ทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าวมีความเป็นด่างต่ำมากขึ้น มีผลทำให้ Brom cresol purple เปลี่ยนเป็นสีเหลือง

Indole (+) = อาหารเลี้ยงเชื้อจะมีสีแดงบนหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อหลังหยดน้ำยา Kovac ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ

Indole (-) = อาหารเลี้ยงเชื้อไม่เกิดสีแดงบนหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อหลังหยดน้ำยา Kovac ซึ่ง *Salmonella* spp. ไม่มีเอนไซม์ tryptophanase จึงไม่เกิดปฏิกิริยากับ Kovac
ที่มา : ดัดแปลงจากอรอนงค์ รัชตราชนชัย (2549)

การอ่านค่าของสี มีรายละเอียด ดังนี้

L^* = The lightness factor (value)

ค่า L^* แสดงค่าความสว่าง

- วัตถุสีขาวเมื่อมีค่าเท่ากับ 100
- วัตถุสีดำเมื่อมีค่าเท่ากับ 0

a^* , b^* = The Chromaticity coordinates (Hue, Chroma)

ค่า a^* - มีค่าบวก หมายถึง วัตถุมีสีแดง

- มีค่าลบ หมายถึง วัตถุมีสีเขียว

ค่า b^* - มีค่าบวก หมายถึง วัตถุมีสีเหลือง

- มีค่าลบ หมายถึง วัตถุมีสีน้ำเงิน

ทั้ง a^* และ b^* หากมีค่าเป็นศูนย์ หมายถึง วัตถุมีสีเทา

ภาคผนวก ง

การฝึกฝนผู้ทดสอบโดยวิธีการจัดเรียงลำดับ

การฝึกฝนผู้ทดสอบโดยวิธีการจัดเรียงลำดับ ทำการฝึกฝนคุณลักษณะ (attributes) ของเลือดเปิดตัม 6 ด้าน ได้แก่ กลิ่นเปรี้ยว กลิ่นคาว สี รสเปรี้ยว รสเค็ม และลักษณะเนื้อสัมผัส โดยตัดตัวอย่างเป็นสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด $2 \times 2 \times 2$ เซนติเมตร จำนวน 1 ชิ้นต่อ 1 ตัวอย่าง ระบุด้วยตัวเลขเรียงตามลำดับ ดังวิธีการเตรียมชุดตัวอย่างดังต่อไปนี้

1. วิธีการเตรียมชุดตัวอย่างเพื่อประเมินกลิ่นเปรี้ยว ทำได้โดยทดสอบกลิ่นเปรี้ยว 2 แบบ ดังนี้

1.1 กลิ่นเปรี้ยวของสารละลาย แบ่งเป็น 4 ระดับ คือ หมายเลข 1 ไม่มีกลิ่น (ชุดควบคุม) หมายเลข 2 กลิ่นเปรี้ยวอ่อน หมายเลข 3 กลิ่นเปรี้ยวปานกลาง และหมายเลข 4 กลิ่นเปรี้ยวมาก โดยสารละลายที่ใช้ในการฝึกฝน คือ สารละลายโซเดียมไคอะซิเตทแบ่งความเข้มข้นเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 1) โซเดียมไคอะซิเตทความเข้มข้น 0.19% (กลิ่นเปรี้ยวอ่อน) 2) โซเดียมไคอะซิเตทความเข้มข้น 0.29% (กลิ่นเปรี้ยวปานกลาง) และ 3) โซเดียมไคอะซิเตทความเข้มข้น 0.77% (กลิ่นเปรี้ยวมาก)

1.2 กลิ่นเปรี้ยวของเลือดเปิดตัมที่แช่ในสารละลาย แบ่งเป็น 4 ระดับ คือ หมายเลข 1 ไม่มีกลิ่น (ชุดควบคุม) หมายเลข 2 กลิ่นเปรี้ยวอ่อน หมายเลข 3 กลิ่นเปรี้ยวปานกลาง และหมายเลข 4 กลิ่นเปรี้ยวมาก โดยสารละลายที่ใช้ในการฝึกฝน คือ สารละลายโซเดียมไคอะซิเตทแบ่งความเข้มข้นเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 1) โซเดียมไคอะซิเตทความเข้มข้น 0.96% (กลิ่นเปรี้ยวอ่อน) 2) โซเดียมไคอะซิเตทความเข้มข้น 1.28% (กลิ่นเปรี้ยวปานกลาง) และ 3) สารละลายโซเดียมไคอะซิเตทความเข้มข้น 3.2% (กลิ่นเปรี้ยวมาก) สำหรับแช่เลือดเปิดตัมเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมงก่อนทำการทดสอบ

2. วิธีการเตรียมชุดตัวอย่างเพื่อประเมินกลิ่นคาว ทำได้โดยแบ่งการประเมินออกเป็น 2 ระดับ คือ หมายเลข 1 ไม่มีกลิ่นคาว (ชุดควบคุม) และหมายเลข 2 กลิ่นคาว (เลือดเปิดตัมเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง)

3. วิธีการเตรียมชุดตัวอย่างเพื่อประเมินด้านสี แบ่งออกเป็น 3 ระดับ คือ หมายเลข 1 เลือดเปิดตัมสีซีด หมายเลข 2 เลือดเปิดตัมสีปกติ (ชุดควบคุม) และหมายเลข 3 เลือดเปิดตัมสีเข้มหรือคล้ำ โดยสารละลายที่ใช้แช่ตัวอย่าง คือ สารละลายโซเดียมไคอะซิเตทความเข้มข้น 0.32% (สีซีด) และกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 0.05% (สีเข้มหรือคล้ำ) สำหรับแช่เลือดเปิดตัมเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมงก่อนทำการทดสอบ

4. วิธีการเตรียมชุดตัวอย่างเพื่อประเมินรสเปรี้ยว ทำได้โดยทดสอบรสเปรี้ยว 2 แบบ ดังนี้

4.1 รสเปรี้ยวของสารละลาย แบ่งเป็น 4 ระดับ คือ หมายเลข 1 ไม่มีรสเปรี้ยว (ชุดควบคุม) หมายเลข 2 รสเปรี้ยวน้อย หมายเลข 3 รสเปรี้ยวปานกลาง และ หมายเลข 4 รสเปรี้ยวมาก โดยสารละลายที่ใช้ในการฝึกฝนคือ สารละลายกรดซิตริกแบ่งความเข้มข้นเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 1) กรดซิตริกความเข้มข้น 0.05% (รสเปรี้ยวน้อย) 2) กรดซิตริกความเข้มข้น 0.08% (รสเปรี้ยวปานกลาง) และ 3) กรดซิตริกความเข้มข้น 0.15% (รสเปรี้ยวมาก)

4.2 รสเปรี้ยวของเลือดเปิดดื่มที่แช่ในสารละลาย แบ่งเป็น 4 ระดับ คือ หมายเลข 1 ไม่มีรสเปรี้ยว (ชุดควบคุม) หมายเลข 2 รสเปรี้ยวน้อย หมายเลข 3 รสเปรี้ยวปานกลาง และ หมายเลข 4 รสเปรี้ยวมาก โดยสารละลายที่ใช้ในการฝึกฝนคือ สารละลายกรดซิตริก แบ่งความเข้มข้นเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 1) กรดซิตริกความเข้มข้น 0.125% (รสเปรี้ยวน้อย) 2) กรดซิตริกความเข้มข้น 0.25% (รสเปรี้ยวปานกลาง) และ 3) กรดซิตริกความเข้มข้น 0.5% (รสเปรี้ยวมาก) สำหรับแช่เลือดเปิดดื่มเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมงก่อนทำการทดสอบ

5. วิธีการเตรียมชุดตัวอย่างเพื่อประเมินรสเค็ม ทำได้โดยทดสอบรสเค็ม 2 แบบ ดังนี้

5.1 รสเค็มของสารละลาย แบ่งเป็น 4 ระดับ คือ หมายเลข 1 ไม่มีรสเค็ม (ชุดควบคุม) หมายเลข 2 รสเค็มน้อย หมายเลข 3 รสเค็มปานกลาง และ หมายเลข 4 รสเค็มมาก โดยสารละลายที่ใช้ในการฝึกฝนคือ สารละลายโซเดียมคลอไรด์ (เกลือแกง) แบ่งความเข้มข้นเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 1) โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1% (รสเค็มน้อย) 2) โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 2% (รสเค็มปานกลาง) และ 3) โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 4% (รสเค็มมาก)

5.2 รสเค็มของเลือดเปิดดื่มที่แช่ในสารละลาย แบ่งเป็น 4 ระดับ คือ หมายเลข 1 ไม่มีรสเค็ม (ชุดควบคุม) หมายเลข 2 รสเค็มน้อย หมายเลข 3 รสเค็มปานกลาง และ หมายเลข 4 รสเค็มมาก โดยสารละลายที่ใช้ในการฝึกฝนคือ สารละลายโซเดียมคลอไรด์ (เกลือแกง) แบ่งความเข้มข้นเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 1) โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1% (รสเค็มน้อย) 2) โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 2% (รสเค็มปานกลาง) และ 3) โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 4% (รสเค็มมาก) สำหรับแช่เลือดเปิดดื่มเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมงก่อนทำการทดสอบ

6. วิธีการเตรียมชุดตัวอย่างเพื่อประเมินลักษณะเนื้อสัมผัส แบ่งเป็น 2 ระดับ คือ หมายเลข 1 ชุดควบคุม (เลือดเปิดดื่มจากโรงงาน) หมายเลข 2 เนื้อสัมผัสนุ่ม (เลือดเปิดดื่มแบบหลอดโดยใช้สุตรจากโรงงาน)

หลังจากทำการฝึกฝนเสร็จสิ้น เพื่อให้ผู้ทดสอบจดจำการเรียงลำดับได้แม่นยำมากยิ่งขึ้นจะทำการทวนสอบคุณลักษณะข้างต้น โดยให้ผู้ทดสอบจัดเรียงลำดับตัวอย่างที่ระบุด้วยชุดตัวเลขสุ่ม (random number) ด้วยแบบทดสอบการเรียงลำดับ (ranking test) จากนั้นให้ผู้ทดสอบทำการจัดเรียงลำดับของแต่ละคุณลักษณะด้วยชุดการทดลองที่ทำการศึกษา (กลุ่มควบคุมไม่เติมสารละลาย

กลุ่มเต็มสารละลาย ได้แก่ โซเดียมไดอะซิเตตความเข้มข้น 0.16% โซเดียมซิเตรตความเข้มข้น 2.5% โซเดียมไดอะซิเตตความเข้มข้น 0.01% ร่วมกับโซเดียมซิเตรตความเข้มข้น 1.25% และ โซเดียมไดอะซิเตตความเข้มข้น 0.16% ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.32%) โดยใช้แบบทดสอบการเรียงลำดับ (ranking test) (หน้า 158)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบบทดสอบการเรียงลำดับ (Ranking test)

รหัสการทดสอบ.....

วันที่.....

ชื่อตัวอย่าง.....

รหัสหรือผู้ทดสอบ.....

ลักษณะที่ทดสอบ.....

กรุณาจัดลำดับตัวอย่างจากซ้ายไปขวา พร้อมกับเรียงลำดับความเข้มของแต่ละลักษณะที่ทำการทดสอบ โดยเขียนตัวเลข “1” ในช่องให้ตรงกับรหัสตัวอย่างที่มีความเข้มของลักษณะนั้นๆ น้อยที่สุด “2”, “3” และ “4” ตามลำดับ เมื่อมีความเข้มของลักษณะที่ทดสอบนั้นๆ เพิ่มมากขึ้นตามลำดับ และกรุณาบ้วนปากก่อนชิมตัวอย่างทุกครั้ง

	รหัสตัวอย่าง	ระดับความเข้มของตัวอย่าง
สี

กลิ่นเปรี้ยว

รสเปรี้ยว

รสเค็ม

กลิ่นคาว

ลักษณะเนื้อสัมผัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วันที่.....

ลำดับที่.....

๕ กรุณากลั้วปากด้วยน้ำดื่มก่อนชิมตัวอย่างแรก

๕ ก่อนชิมตัวอย่างถัดไป กรุณาทานแครกเกอร์เล็กน้อย ตามด้วยการกลั้วปากด้วยน้ำดื่มอีกเล็กน้อย (ท่านสามารถบ้วนทิ้งลงในถ้วยสูงที่เตรียมไว้ให้)

ตอนที่ 2 กรุณาให้คะแนนระดับความชอบของท่าน (จาก 1 ถึง 9 คะแนน) ที่มีต่อลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่ท่านกำลังทดสอบชิมทีละตัวอย่าง โดยกรอกคะแนนลงให้ตรงกับรหัสตัวอย่างในตารางด้านล่าง

คะแนน	ระดับความชอบ
9	= ชอบมากที่สุด
8	= ชอบมาก
7	= ชอบปานกลาง
6	= ชอบเล็กน้อย
5	= เฉย ๆ
4	= ไม่ชอบเล็กน้อย
3	= ไม่ชอบปานกลาง
2	= ไม่ชอบมาก
1	= ไม่ชอบมากที่สุด

ลักษณะของผลิตภัณฑ์	คะแนนความชอบ				
กลิ่นเปรี้ยว					
กลิ่นคาว					
สี					
รสเปรี้ยว					
รสเค็ม					
ลักษณะเนื้อสัมผัส					
คุณภาพโดยรวม					

ความคิดเห็นเพิ่มเติม

.....

.....ขอบคุณที่กรุณาสละเวลาอันมีค่า 😊

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาววรรลักษณ์ ที่มีสุข
วัน เดือน ปีเกิด	11 พฤศจิกายน พ.ศ. 2534
ที่อยู่	38 ม. 4 ต. บ้านลำ อ. วิหารแดง จ. สระบุรี 18150
ประวัติการศึกษา	2552 มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนปิยะชาติพัฒนา ฯ 2556 หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยี พระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง 2559 หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ และประมง สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบัน- เทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ผลงานทางวิชาการ	ผลงานตีพิมพ์ “แหล่งการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิตเลือด เป็ดต้มจากโรงฆ่าเป็ดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย” หน้า 51-60. ใน การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีเนื้อสัตว์ ครั้งที่ 5. คณะ เทคโนโลยีการเกษตร : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้