



ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ผลของการใช้ Pediocin กับกรดแลคติกในการควบคุมการเจริญ
ของจุลินทรีย์ในเนื้อ

(Potential of using Pediocin and Lactic acid as microbial pretreatment for fresh meat)

จัดทำโดย

นายธรรมรัช ศิริวังชัย

รหัสนักศึกษา 42040461

นางสาวธารินี อัมพประภา

รหัสนักศึกษา 42040462

โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร

Faculty of Agricultural Industry

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า

เจ้าคุณทหารลาดกระบัง

กรุงเทพฯ 10520

King Mongkut's Institute of Technology

Chaokuntaharn Ladkrabang

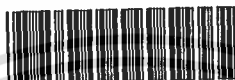
Bangkok 10520 Thailand

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ผลของการใช้ Pediocin กับกรดแลคติกในการควบคุมการเจริญ
ของจุลินทรีย์ในเนื้อ

(Potential of using Pediocin and Lactic acid as microbial pretreatment for
fresh meat)



T096508

โดย

นายธรรมรัช ศิริวงษ์ รหัสประจำตัว 42040461
นางสาวธารินี อัมพุประภา รหัสประจำตัว 42040462

๑พ.

๓๓๒๘

๒๕๔๕

เลขหมู่.....

เลขทะเบียน.....๐๐๕๐๘

วันเดือนปี.....

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาศาสตรบัณฑิต
โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2545

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ผลของการใช้ Pediocin กับกรดแลคติกในการควบคุมการเจริญ
ของจุลินทรีย์ในเนื้อ

(Potential of using Pediocin and Lactic acid as microbial pretreatment for fresh meat)

โดย

นายธรรมรัช ศิริวงษ์ รหัสนักศึกษา 42040461

นางสาวธารินี อัมพประภา รหัสนักศึกษา 42040462

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

..... (.....)

...../...../.....

อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

(ผศ. อติสร เสวตวิวัฒน์)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นาย ธรรมรัช ศิริวัจชัย , นางสาว ธาณี อัมพประภา .2546: ผลของการใช้ Pediocin กับกรดแลคติกในการควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ในเนื้อหมู (Potential of using Pediocin and lactic as microbial pretreatment for fresh meat).

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร.คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.อดิศร เสวตวิวัฒน์ , 35 หน้า

บทคัดย่อ

จากการศึกษาการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella anatum* ด้วยสารละลาย Pediocin 2% และกรดแลคติก 0 , 0.5 และ 1% ในหลอดทดลอง(TSB) พบว่าสารละลายที่มีความเข้มข้นของกรดแลคติก 0.5% ให้ผลในการยับยั้งที่ดีที่สุดคือ สามารถลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ลงได้ 5 log cycle จากปริมาณเชื้อเริ่มต้น จึงนำสารละลายผสมนี้มาทำการศึกษาศามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในธรรมชาติของเนื้อหมูสด (จุลินทรีย์ทั้งหมด) โดยทำการเปรียบเทียบกับสารละลายที่มีความเข้มข้นของ Pediocin 2% กับกรด แลคติก 0.5% พบว่าสารละลายผสมของ Pediocin 2% กับกรดแลคติก 0.5% มีแนวโน้มในการลดลงของเชื้อจุลินทรีย์ดีกว่าสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 0.5% จาก 3.5×10^6 เป็น 1.8×10^6 cfu/g และ 5.8×10^5 เป็น 2.1×10^5 cfu/g ตามลำดับ จึงได้นำมาทำการศึกษาคูณลักษณะทางประสาทสัมผัส ด้านสีและกลิ่นของเนื้อหมูสดด้วยวิธีTriangle test ให้ผลว่าผู้บริโภคสามารถแยกความแตกต่างทั้งสีและกลิ่นได้ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ธรรมรัช ศิริวัจชัย

ธำณี อัมพประภา

ลายมือนักศึกษา

(๓๗)

ลายมืออาจารย์ที่ปรึกษา

๒๖ มี.ค. ๕๖

วัน /เดือน / ปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การจัดทำปัญหาพิเศษในหัวข้อเรื่อง ผลของการใช้ Pediocin PA-1 กับกรดแลคติกในการควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ในเนื้อ สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ก็ด้วยความอนุเคราะห์ของบุคคลหลายท่าน ทางคณะผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณ ผศ. อติศร เสวตวิวัฒน์ ซึ่งได้กรุณาเป็นที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ ขอขอบพระคุณ ผศ. เยาวลักษณ์ สุรพันธ์พิษฐ์ ซึ่งกรุณาเป็นอาจารย์กรรมการและช่วยแนะนำให้คำปรึกษา และขอขอบพระคุณ อาจารย์นิตยา พิระภัทรุ่งสุริยา ที่เป็นทั้งอาจารย์กรรมการและสละเวลาอันมีค่ามาเป็นที่ปรึกษาพิเศษในกรณีนี้รวมทั้งให้คำแนะนำแก้ไขข้อผิดพลาดในการทดลองและการจัดทำรายงานให้มีความถูกต้องสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณครอบครัว ศิริวิงชัย และครอบครัว อัมพบุรุษ ที่คอยให้กำลังใจและความช่วยเหลือเมื่อยามต้องการ รวมทั้งการสนับสนุนทางด้านกำลังใจทำให้การทำปัญหาพิเศษสามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ขอขอบคุณพี่ธงชัยสำหรับคำปรึกษา รวมทั้งพี่ๆน้องๆเพื่อนๆ ที่ช่วยเหลือในการทดสอบและพี่เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทุกท่านที่อำนวยความสะดวกในการเบิกอุปกรณ์ ถ้าไม่มีบุคคลเหล่านี้การทำปัญหาพิเศษในครั้งนี้คงจะสำเร็จไปไม่ได้ ขอขอบคุณจริงๆค่ะ/ครับ

คณะผู้จัดทำ

14 มีนาคม 2546

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
กิตติกรรมประกาศ	ข
สารบัญ	ค
สารบัญตาราง	ง
สารบัญรูปภาพ	จ
บทที่ 1 บทนำและวัตถุประสงค์	1
บทที่ 2 วารสารปริทัศน์	2
แบคเทอริโอซิน	2
กรดอินทรีย์	4
เนื้อสัตว์	7
เชื้อจุลินทรีย์ที่มักพบปนเปื้อนในเนื้อสัตว์	11
มาตรฐานการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์	16
บทที่ 3 วัตถุประสงค์ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง	17
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	22
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	31
เอกสารอ้างอิง	33
ภาคผนวก ก	35
ภาคผนวก ข	36
ภาคผนวก ค	37

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 กรดอินทรีย์ต่างๆที่มีอยู่ในอาหาร	4
2.2 ปริมาณของกรดแลคติกที่มีอยู่ในอาหารชนิดต่างๆ	6
4.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณจุลินทรีย์ในอาหาร TSA	23
4.2 ผลความเข้มข้นของกรดแลคติก ที่มีต่อปริมาณจุลินทรีย์ในอาหาร TSA	23
4.3 ผลความเข้มข้นของ Pediocin ที่มีต่อปริมาณจุลินทรีย์ในอาหาร TSA	24
4.4 ผลความเข้มข้นของกรดแลคติก และ Pediocin ที่มีต่อปริมาณจุลินทรีย์ ในอาหาร TSA	24
4.5 % injured cell ของเชื้อ <i>S. anatum</i> ในอาหาร 6 สูตร ณ เวลาต่างๆ	25
4.6 การศึกษาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในเนื้อหมูที่ชุบด้วยสารละลายและ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C ณ เวลาต่างๆ	26
4.7 จำนวนผู้ชิมที่ตอบถูกต้องด้านสีเมื่อเทียบกับค่าตารางสำเร็จรูป	28
4.8 ความชอบด้านสีของเนื้อหมูสดที่ผ่านการชุบด้วยสารละลาย	28
4.9 จำนวนผู้ชิมที่ตอบถูกต้องด้านกลิ่นเมื่อเทียบกับค่าตารางสำเร็จรูป	29
4.10 ความชอบด้านกลิ่นของเนื้อหมูสดที่ผ่านการชุบด้วยสารละลาย	29

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
4.1 การเปลี่ยนแปลงของเชื้อ <i>S. anatum</i> ในอาหาร 6 สูตร ณ เวลาต่างๆ	22
4.2 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในเนื้อหมูที่ซุกด้วยสารละลายและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C ณ เวลาต่างๆ	26



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

เนื้อสัตว์เป็นอาหารที่ทั่วทุกภูมิภาคของประเทศไทยนิยมรับประทาน เพราะมีรสชาติถูกปาก หาสื่อได้ง่าย และยังเป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญ แต่ในเนื้อสัตว์ดิบส่วนมากมักจะพบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ทั้งพวก spoilage และ pathogen อยู่เสมอเนื่องจากเนื้อสัตว์มีค่าความเป็นกรดต่ำและความชื้นที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาถึงวิธีที่จะยับยั้งจุลินทรีย์ได้โดยไม่ส่งผลกระทบต่อค่านิยมของผู้บริโภค และวิธีการหนึ่งที่นิยมใช้ในการลดจำนวนจุลินทรีย์ในเนื้อหมูและยึดอายุการเก็บเนื้อหมูคือ การสเปรย์ หรือ ชุบเนื้อนั้นด้วยกรด lactic ซึ่งความเข้มข้นที่มีการใช้อยู่ในปัจจุบันยังมีอัตราความเข้มข้นของกรดที่สูงจะมีผลต่อสีของเนื้อคือทำให้ซีดไม่เป็นที่นิยมของผู้บริโภค ดังนั้นในการศึกษาค้นคว้านี้ได้ทดลองนำกรด lactic มาใช้ร่วมกับ pediocin ทั้งนี้เพื่อยับยั้งหรือลดจำนวนจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับเนื้อหมู โดยจะเน้นถึงการใช้กรด lactic ที่ความเข้มข้นต่ำแต่ยังให้ผลยับยั้งที่ดีเมื่อใช้ร่วมกับ pediocin ซึ่งผลที่ได้จากการศึกษาน่าจะเป็นทางเลือกใหม่ที่ดีสำหรับผู้ประกอบการในการเลือกใช้สารถนอมอาหารที่ไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภคและยังถนอมวัตถุดิบประเภทเนื้อสดในท้องตลาดได้เป็นเวลานานในอนาคต

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาการยับยั้ง *Salmonella anatum* โดยการใช้กรดแลคติกและ Pediocin ในหลอดทดลอง
2. ศึกษาการใช้กรดแลคติกและ Pediocin ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อหมู

บทที่ 2 วารสารปริทัศน์

2.1 แบคทีเรียไอซิน (Bacteriocin)

แบคทีเรียไอซิน คือ สารโปรตีนโมเลกุลใหญ่ ซึ่งมีความสามารถในการทำลายแบคทีเรียได้รวดเร็วเป็นสารต่อต้านจุลินทรีย์ (Antimicrobial substance) มีขนาดใหญ่กว่าสารปฏิชีวนะ และมีฤทธิ์ในการฆ่าหรือทำลายแบคทีเรียที่จำเพาะ แบคทีเรียไอซินจากแบคทีเรียต่างชนิดกันจะมีคุณสมบัติการยับยั้ง จุลินทรีย์แตกต่างกันไปในแง่ของการทำลายกลไกทางการทำงานและสมบัติที่แตกต่างกัน

แบคทีเรียไอซิน ผลิตจากแบคทีเรียหลายชนิด เช่น *Lactobacillus fermentum*, *L. helveticus*, *L. acidophilus*, *P. pentosaceus* เป็นต้น ซึ่งมีผลการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกหลายชนิดรวมทั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ เช่น *Listeria monocytogenes* ดังนั้นแบคทีเรียจึงเป็นสารที่น่าสนใจที่จะใช้เป็นสารกันเสียในอุตสาหกรรมอาหาร

แบคทีเรียไอซิน แบ่งเป็น 2 ประเภท ตามลักษณะผลการยับยั้งจุลินทรีย์ (Antimicrobial spectrum)

แบบที่ 1 มีผลการยับยั้งจุลินทรีย์ในกลุ่มที่ใกล้เคียงกัน เช่น กลุ่มแบคทีเรียแลคติก และกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวกบางชนิด เป็นต้น

แบบที่ 2 มีผลการยับยั้งจุลินทรีย์ที่กว้างกว่า โดยการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกและจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค เช่น *Listeria monocytogenes* และ *Clostridium botulinum* เป็นต้น

แบคทีเรียแลคติกที่ต่างสายพันธุ์จะสร้างแบคทีเรียไอซินที่คล้ายคลึงกัน แต่มีความแตกต่างในการยับยั้งจุลินทรีย์ การแบ่งชนิดของแบคทีเรียไอซินที่สร้างโดยแบคทีเรียแลคติกในกลุ่มต่างๆ ได้แก่

2.1.1 กลุ่ม Leuconostoc

เริ่มใช้ในการยับยั้งครั้งแรก ค.ศ. 1930 โดยใช้ในหัวเชื้อของการผลิตเนยแข็งในอุตสาหกรรมเกษตร พบว่า มีผลในการยับยั้งในกลุ่มแบคทีเรียที่ใกล้เคียงกัน แบคทีเรียไอซินที่สร้างโดยแบคทีเรีย *Lactococcus* ได้แก่ ไนซิน (Nisin) , Diplococcin และ Lactostrepcins

Mattic and Hirsch (1974) เป็นผู้ตั้งชื่อ ไนซิน ที่เดิมมาจากคำว่า N-inhibitor substance เป็นสารที่ผลิตจากแบคทีเรีย *L. lastis* ssp. *Lactic* สามารถใช้ในการผลิตในทางการค้า

ในช่วงปี ค.ศ. 1950 และใช้ชื่อทางการค้าว่า Nisaplin สารประกอบของไนซิน สามารถแยกได้ 5 ชนิดคือ Nisin A,B,C,D และE Nisin A จะมีประสิทธิภาพดีที่สุดและมักผลิตในทางการค้า

2.1.2 กลุ่ม *Pediococcus*

Pediococcus pentosaceus FBB-61 ที่แยกได้จากแตงกวาดอง จะสร้างแบคทีเรียโอซินที่เรียกว่า Pediocin A มีความสามารถในการยับยั้ง *Pediococcus* sp., *S. aureus*, *Cl. sporogenes*, *Lb. brevis*, *Lb. plantarum*, *Lb. lactis* ssp. *Lactis* ATTC 11454 ขณะที่ Pediocin PA-1 สามารถได้จาก *Pediococcus acidilactici* PAC 1.0 มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 16,500 ดาลตัน ถูกทำลายได้โดยเอนไซม์ pronase, papain, pepsin และ Alpha-chymotripsin แต่มีความคงตัวที่ความร้อนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที สามารถยับยั้งแบคทีเรียกลุ่ม *Pediococcus*, *Lactobacillus* บางชนิดและ *L. mesenteroides* spp. *Dextranicum* แต่ไม่มีผลต่อ *Lactococcus* ส่วน Pediocin ACH เป็นแบคทีเรียโอซินที่ผลิตโดย *P. acidilactici* H มีน้ำหนักโมเลกุล 27,000 ดาลตัน และถูกทำลายได้โดยเอนไซม์ trypsin, chymotrypsin, fisin และ papain สามารถนิ่งฆ่าเชื้อได้ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาทีโดยไม่สูญเสียกิจกรรม และทนต่อสารละลายอินทรีย์ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์อื่นๆ ได้ดีที่ pH 2.5-9.0 และสามารถยับยั้ง *Listeria* spp. ได้ทุกสายพันธุ์ แต่ไม่มีผลต่อแบคทีเรียแกรมลบ

ต่อมาได้มีการรายงานผลการศึกษาแบคทีเรียโอซินที่ผลิตจาก *P. acidilactici* ที่แยกจากการผลิตหมักพบว่า สามารถยับยั้งแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค และทำให้ผลิตภัณฑ์เกิดการเน่าเสียหลายชนิดได้แก่ แบคทีเรียแกรมบวก *Listeria monocytogenes*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *Enterococcus faecalis*, *Cl. Perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* และแบคทีเรียแกรมลบ *Salmonella enteritidis* และ *S. derby*

2.1.3 กลุ่ม *Leuconostoc*

สามารถยับยั้งที่แบคทีเรียกลุ่ม *Leuconostoc* สร้างขึ้นมา ได้แก่ กรดแลคติก, กรดอะซิติก และโดอะเซทิล นอกจากนี้ยังมีรายงานการสร้างสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่มีลักษณะคล้ายแบคทีเรียโอซิน (Bacteriocin - like - substance) Orberg และ Sandine (1984) ได้ทำการทดลองพบว่า *Leuconos* sp. PO 184 สามารถยับยั้ง *Streptococcus cremoris* U 134 ได้ แต่ไม่มีผลต่อ *S. lactis* ATTC 11454 นอกจากนี้ Sandine (1987) ยังพบการถ่ายถอดดีเอ็นเอโดยวิธีคอนจูเกชันของ *S. lactis* 7962 กับ *L. dextranicum* ผลการทดลองพบว่า คอนจูเกชันของเชื้อผู้รับ *L. dextranicum* จะสามารถสร้างไนซินได้ดีกว่า *Streptococcus* ถึง 1,000 เท่า

Orberg และ Sandine (1984) สารประกอบที่คล้ายแบคทีเรียโอซินที่ผลิตขึ้นโดย *Leuconostoc* sp. PO 184 สามารถยับยั้ง *Streptococcus cremoris* U 134 แต่ไม่ยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Strep.lactic ขณะที่ *Leuconostoc sp.* สายพันธุ์ UAL ซึ่งผลิตแบคทีเรียโอสตินที่ไม่ทราบชื่อ สามารถยับยั้ง *L.monocytogenes* จำนวน 8 สายพันธุ์

สารต่อต้านจุลินทรีย์ที่เราใช้ในการถนอมอาหาร อาจจะทำหน้าที่ในการควบคุมการเจริญของ จุลินทรีย์ หรือทำลายจุลินทรีย์ ลักษณะในการออกฤทธิ์ของสารต่อต้านจุลินทรีย์ อาจแบ่งได้เป็น

1.การทำปฏิกิริยากับเยื่อหุ้มเซลล์ ทำลายความสามารถในการผ่านเข้าออก (Permeability) และทำให้ลักษณะของเซลล์เสียความสมดุลไป โดยปกติสารต่อต้านจุลินทรีย์จะทำปฏิกิริยาที่บริเวณไม่จำเพาะบนผิวเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เสียความสามารถในการทำงาน เช่น ความสามารถในการต่อต้านของสารจุลินทรีย์ที่มีลักษณะเป็น hydrophobic compounds จะจำกัดการเจริญของแบคทีเรีย แกรมลบ เนื่องจากสารต่อต้านจุลินทรีย์ชนิดนี้สามารถซึมผ่านผนังเซลล์ ในชั้น lipopolysaccharide ได้ง่าย

2.ทำให้เอนไซม์บางชนิดทำงานไม่ได้

3.ทำให้สารพันธุกรรมเสียรูปร่าง หรือหน้าที่ผิดไปจากเดิม

2.2 กรดอินทรีย์

กรดอินทรีย์เป็นสารที่พบอยู่ในธรรมชาติ ในอาหารชนิดต่างๆ หรือในบางครั้งอาจมีการเติมใส่ลงในอาหาร เพื่อช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์นั้นๆ ให้ยาวนานขึ้น กรดอินทรีย์ที่มีอยู่ในอาหารดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 แสดงกรดอินทรีย์ต่างๆที่มีอยู่ในอาหาร

Common name of acid	Chemical name	Found in / Used in
Acetic	Ethanoic acid	Vinegar
Ascorbic		Fresh fruit and Vegetables
Citric	Hydroxypropane 1,2,3	Citrus fruits
Lactic	2-hydroxypropanic acid	Sour milk, Yoghurt
Malic	2-hydroxybutanedionic acid	Apples, Cherries
Oxalic	Ethanedionic acid	Spinach, Rhubarb
Tataric	2,3 dihydroxybutanedionic acid	Grapes

ที่มา : Prasai , 1996

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะเห็นได้ว่า กรดอินทรีย์อยู่ในอาหารหลายชนิด สำหรับกรดอินทรีย์ที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมกรรมกรรมาช้ำแหละและการแปรรูปเนื้อสัตว์เพื่อลดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ คือ กรดแลคติก

กรดแลคติกบริสุทธิ์ (2-hydroxy lactic acid) จะอยู่ในรูปผงสีขาวแห้ง มีจุดหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 18-26 °C โดยทั่วไปแล้ว กรดแลคติกจะอยู่ในรูปสารละลายที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันไป โครงสร้างพื้นฐานของกรดแลคติกมี 3 รูป คือ L(+), D(-) และ DL ซึ่งโครงสร้างที่มนุษย์สามารถสร้างขึ้นได้ในร่างกาย คือ L(+) โดยสังเคราะห์ได้ในปริมาณ 117-144 g lactate / 24 hr / 70 kg และโครงสร้าง D(-) ซึ่งเป็นโครงสร้างที่ร่างกายไม่สามารถสร้างขึ้นได้ส่วนโครงสร้าง DL พบในพืชชั้นสูง กรดแลคติกที่ใช้กับอาหารจะเป็นของเหลวสีขาวเหลืองมีความเข้มข้น 50% หรือ 80 % สำหรับกรดแลคติกที่ใช้ในทางการแพทย์จะเป็นของเหลวไม่มีสี มีความเข้มข้น 88% หรือ 90%

2.2.1 คุณสมบัติของกรดแลคติก

1. เป็นสารที่ได้จากธรรมชาติและมีอยู่ในอาหารทั่วไป ในเนื้อสัตว์ก็มีการผลิตกรดแลคติกด้วยโดยมีการเปลี่ยนจากไกลโคเจนให้เป็นกรดแลคติก
2. เป็นสารที่ไม่เป็นพิษและรับรองความปลอดภัยในฐานะที่ใช้เป็นสารปรุงแต่งอาหารในประเทศสหรัฐอเมริกา
3. มีรสกรดอ่อนๆ ต่างจากกรดชนิดอื่นๆ ทำให้ทำปฏิกิริยากับเนื้อสัตว์แล้วไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและเคมีของเนื้อสัตว์มากนัก เช่น สี กลิ่น ฯลฯ
4. ไม่กวนหรือลบกลิ่นรสของสารให้กลิ่นรสอื่นๆ เมื่อใส่ลงในเนื้อสัตว์
5. มีบทบาทเด่นชัดด้านการถนอมอาหาร และควบคุมปริมาณจุลินทรีย์
6. เกลือของกรดแลคติกละลายน้ำได้ดีมาก ทำให้ซึมเข้าไปในเนื้อสัตว์ได้อย่างรวดเร็ว

2.2.2 การผลิตและการใช้ประโยชน์ของกรดแลคติก

กรดแลคติกเป็นสารอินทรีย์ที่ได้จากธรรมชาติ ได้จากขบวนการหมักน้ำตาลโดยเชื้อในตระกูล Streptococcaeae และตระกูล Lactobacillaceae กรดแลคติกส่วนใหญ่เตรียมได้จากการหมักน้ำตาลทรายขาวบริสุทธิ์ (highly refined surcose) แล้วทำให้บริสุทธิ์โดยการเปลี่ยนให้เป็นผลึกของ Calcium lactate จากนั้นนำมาทำปฏิกิริยากับกรดกำมะถัน (Sulfuric acid) เพื่อให้ได้สารละลายกรดแลคติกบริสุทธิ์ สำหรับวิธีอื่นๆ นั้นอาจจะได้โดยการหมักแป้งมันฝรั่งหรือกากน้ำตาลโดยใช้เชื้อ *Lactobacillus delbruckii* หรือ *Lactobacillus bulgaricus* จากนั้นใช้วิธีทำให้บริสุทธิ์แบบเดียวกันกับที่กล่าวมาแล้ว

กรดแลคติกเป็นส่วนประกอบของอาหารบางชนิดซึ่งเกิดขึ้นโดยธรรมชาติ และมีปริมาณ
 มากน้อยต่างกันดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 แสดงปริมาณของกรดแลคติกที่มีอยู่ในอาหารชนิดต่างๆ

อาหาร	ปริมาณที่มีอยู่ใน อาหาร (กรัม/กิโลกรัม)	ค่าเฉลี่ยอาหารที่ผู้ บริโภครับประทานเข้า ไป (กิโลกรัม/เดือน)	ค่าเฉลี่ยที่ผู้บริโภคได้ รับปริมาณของกรดแล คติก (กรัม/เดือน)
เนื้อหมู	9	41.7	375.3
เนื้อวัว	9	18.6	167.4
เนยแข็ง	13	12.5	162.5
เนยเหลว	13	9.3	93.0
นมเปรี้ยว	10	6.9	69.0
เนื้อไก่	10	9.0	90.0

ที่มา : Smulder และคณะ , 1986

เนื้อสัตว์เป็นวัตถุดิบที่สำคัญต่อการบริโภคและการแปรรูป เมื่อผ่านการฆ่าและแล้วจะมี
 การปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์เกิดขึ้น โรงงานฆ่าและเนื้อสัตว์จะมีการใช้กรดแลคติกเข้ามาลดการ
 ปนเปื้อนโดยการใช้กรดแลคติกใส่ลงไปเนื้อสัตว์ก่อนเก็บรักษาในห้องเย็น วิธีการใช้กรดแลคติก
 มี 2 วิธี คือ

1.วิธีการฉีดพ่น (Spraying)

วิธีการฉีดพ่นเป็นวิธีที่ใช้กันอยู่ทั่วไปโดยมีการฉีดพ่นสารละลายกรดแลคติกลงบนซากเนื้อ
 สัตว์ในลักษณะต่างๆ เช่น การฉีดพ่นแบบใช้หัวฉีดพ่นหัวเดียว (Single Spray) การฉีดพ่นหัวคู่
 (Double Spray) และการฉีดพ่นแบบเป็นระยะๆ (Intermittent Spray) โดยมีความเข้มข้นของกรด
 แลคติกที่แตกต่างกันไป ถ้ามีการฉีดพ่นกรดแลคติกที่ความดันสูง จะพบการสะสมของเหลวบริเวณ
 ได้ผิวหนัง เมื่อนำซากไปแช่เย็นอาจจะพบลักษณะที่ไม่พึงประสงค์เกิดขึ้น เช่น มีรอยชำ ในขณะ
 เดียวกันถ้ามีการฉีดพ่นกรดแลคติกที่ความดันต่ำจะทำให้จุดเลือด (blood spots) ที่บริเวณซากที่
 อาจเกิดขึ้นอาจหายไป และยังลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ด้วย

2.วิธีการจุ่ม (immersion)

วิธีการจุ่มเป็นวิธีทำให้กรดแลคติกสามารถสัมผัสกับผิวซากได้อย่างทั่วถึง แต่เมื่อมีการจุ่ม
 เนื้อสัตว์ลงในสารละลายกรดแลคติกที่ใช้หลายครั้ง จะทำให้ประสิทธิภาพของกรดแลคติกในการ

ลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ลดลงในครั้งหลังๆ เพราะโปรตีนในเนื้อสัตว์จะไปจับตัวกับไอออนของกรดแลคติก เป็นผลทำให้ประสิทธิภาพของกรดแลคติกลดลง

2.2.3 การเปลี่ยนแปลงของเนื้อสัตว์เมื่อใช้กรดแลคติก

การใช้กรดแลคติกกับส่วนต่างๆของเนื้อสัตว์ จะมีผลต่อคุณภาพของเนื้อสัตว์ โดยพบว่า จะเกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะภายในและลักษณะภายนอกของเนื้อสัตว์ได้ดังนี้

1. การเปลี่ยนแปลงลักษณะภายใน

เป็นการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่ภายในอวัยวะต่างๆ เช่น เนื้อสันใน เนื้อไม่ติดซี่โครง เนื้อสะโพก เนื้อที่มีก้อนเลือด เนื้อที่ค่อ ฯลฯ โดยต้องใช้ความเข้มข้นของกรดแลคติกที่เหมาะสม เพราะถ้ามากเกินไปจะทำให้สีของเครื่องในซีดจางอย่างเห็นได้ชัด แต่ถ้าน้อยเกินไปจะไม่สามารถการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ได้

2 การเปลี่ยนแปลงลักษณะภายนอก

2.1 สี

ทำให้สีของเนื้อซีดจาง จนบางครั้งไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ความซีดของสีเนื้อ จะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของกรดแลคติก จากการทดลองของ Smulder และคณะ (1986) พบว่าการใช้กรดแลคติกที่ความเข้มข้น 1%(v/v) ซีดปนบนซากวัวจะเป็นผลทำให้สีของซากจางลงเล็กน้อย แต่ถ้าใช้กรดแลคติกที่มีความเข้มข้น 1.25%(v/v) ซีดปนบนซากวัวจะทำให้ซากวัวมีสีจางมากขึ้น

แสดงให้เห็นได้ว่ากรดแลคติกที่มีความเข้มข้นมากขึ้น จะทำให้เนื้อสีซีดมากขึ้น แต่เมื่อนำซากที่ซีดด้วยกรดแลคติกไปแช่เย็นที่อุณหภูมิต่ำเป็นเวลา 1-2 วัน พบว่าสีของซากที่เคยซีดจางกลับมาเป็นปกติ

2.2 กลิ่น

การใช้กรดแลคติกจะให้ผลดีต่อซากในแง่ของกลิ่นเนื้อสัตว์ โดยการใช้กรดแลคติกที่มีความเข้มข้น 5% จะไม่มีผลต่อความผิดปกติของกลิ่นเลย (Smulder และคณะ , 1986)

2.3 เนื้อสัตว์

เป็นแหล่งอาหารประเภทโปรตีนสำหรับมนุษย์ เนื่องจากมีปริมาณโปรตีนมากและสมบูรณ์ โดยประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของร่างกายมนุษย์ทุกชนิด นอกจากนี้เนื้อสัตว์ยังประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต ซึ่งพบว่ามีปริมาณน้อย โดยจะอยู่ในรูปของไกลโคเจน (glycogen) พบอยู่ในตับ ไต ปอด และลำไส้ของเนื้อสัตว์ ส่วนปริมาณของไขมันในเนื้อสัตว์นั้น จะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิด อายุ พันธุ์สัตว์ สภาพความเป็นอยู่และอาหารที่ใช้ เป็นต้น พวกเกลือแร่ และวิตามินต่างๆ เช่น เหล็ก ฟอสฟอรัส และวิตามินบีรวม ที่มีอยู่ในเนื้อสัตว์อาจมีการเปลี่ยนแปลงในช่วงการเก็บรักษาเนื้อสัตว์

เนื้อสัตว์ที่จะนำมาทำการฆ่าถ้าไม่มีการทำให้สัตว์สลบเสียก่อนจะทำให้เกิดความเครียดเพิ่มขึ้นอย่างมากและรวดเร็ว ความเครียดจะมีผลต่อการเร่งการทำงานของระบบต่างๆ ของร่างกายและมีผลต่อคุณภาพเนื้อสัตว์ในเวลาต่อมา เมื่อสัตว์เกิดความเครียดก่อนการฆ่าและจะทำให้ค่า pH ของเนื้อสัตว์ลดลงไม่มากนักเป็นผลทำให้เชื้อจุลินทรีย์สามารถเข้าไปในเนื้อสัตว์ได้ง่ายขึ้น ทำให้เกิดการเน่าเสียของเนื้อสัตว์ เป็นผลทำให้เกิดลักษณะทางกายภาพที่ไม่ดีเกิดขึ้น เช่น สีคล้ำ กลิ่นรสไม่ดี

สีของเนื้อสัตว์จะเป็นสีแดงเนื่องจากมีรงควัตถุที่มีอยู่ในเนื้อสัตว์ ซึ่งประกอบด้วยโปรตีน 2 ชนิดคือ

1. ไมโอโกลบิน (Myoglobin) ของกล้ามเนื้อ
2. ฮีโมโกลบิน (Hemoglobin) ในเลือด

ทั้งไมโอโกลบินและฮีโมโกลบิน มีโครงสร้างที่เป็นโปรตีน เรียกว่า โกลบิน และส่วนที่ไม่เป็นโปรตีนเรียกว่า ฮีม (heme) ซึ่งเป็นสารประเภท พอร์ไฟริน (Porphyrin) ที่มีเหล็กอยู่ตรงกลางของโครงสร้าง

2.3.1 การเปลี่ยนแปลงสีในเนื้อสัตว์

2.3.1.1 การเปลี่ยนแปลงสีของเนื้อสัตว์ที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของไมโอโกลบินในเนื้อสัตว์

เนื้อสัตว์ที่มีสีแตกต่างกันขึ้นอยู่กับปริมาณของไมโอโกลบินในกล้ามเนื้อแตกต่างกัน เนื้อวัวมีสีเข้มกว่าเนื้อหมู ปลาและไก่ เป็นต้น สีของเนื้อสัตว์ที่วางขายตามท้องตลาดขึ้นอยู่กับไมโอโกลบินมากกว่าฮีโมโกลบิน เพราะช่วงนี้ปริมาณของไมโอโกลบินจะมากกว่าฮีโมโกลบิน ในช่วงนี้จะเกิดการเปลี่ยนแปลงขึ้น เมื่อเนื้อสัตว์สัมผัสกับอากาศมีผลทำให้เกิดการรวมตัวระหว่างไมโอโกลบินกับออกซิเจน ได้สารสีแดงสดเรียกว่า ออกซีไมโอโกลบิน (Oxymyoglobin) ซึ่งมักเกิดที่ผิวของเนื้อสัตว์ ส่วนเนื้อสัตว์ที่อยู่ข้างในจะมีสีม่วงแดงหรือม่วงคล้ำ ถ้าเนื้อสัตว์สัมผัสกับอากาศเป็นเวลานาน เหล็กในฮีมซึ่งอยู่ในรูปของเฟอร์รัส (Fe^{2+}) จะถูกออกซิไดซ์ ไปเป็นเฟอร์ริก (Fe^{3+}) ทำให้ไมโอโกลบินเปลี่ยนเป็นสารสีน้ำตาลเรียกว่าเมทไมโอโกลบิน (Metmyoglobin) ในกรณีที่มีแบคทีเรียบางชนิดปนเปื้อนอยู่จะมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเร็วขึ้น โดยเอนไซม์หรือแบคทีเรียบางชนิดทำให้เกิดสารสีน้ำตาลเหลืองหรือซีด ซึ่งระยะนี้เนื้อสัตว์จะมีสีหรือกลิ่นเปลี่ยนไปจากเดิม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สีของเนื้อสัตว์เป็นปัจจัยที่ดึงดูดผู้ซื้ออย่างหนึ่ง ในการพิจารณาคุณภาพของเนื้อสัตว์ ดังนั้นผู้ขายมักนิยมใส่สารอนอมอาหารพวกโซเดียมไนเตรท (Sodium nitrate) โซเดียมไนไตรท์ (Sodium nitrite) ลงในผลิตภัณฑ์ของเนื้อสัตว์

การบ่มเนื้อสัตว์ (curing) เพื่อทำผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น แฮม เบคอน ไส้กรอกและแฮม จะมีการเติมเกลือ น้ำตาล โซเดียมไนเตรทและไนไตรท์ ซึ่งในระหว่างการบ่มเนื้อสัตว์ แบคทีเรียบางชนิดสามารถเปลี่ยนไนเตรทและไนไตรท์ แล้วเปลี่ยนเป็นไนตริกออกไซด์ ทำให้เกิดสีแดงเรียกว่า ไนโตรโซไฮโมโกลบิน เมื่อเนื้อสัตว์ได้รับความร้อนสีแดงจะเปลี่ยนเป็นสีชมพูซึ่งเรียกว่า ไนโตรโซฮีโมโครม (Nitrosyhemochrome) และเมื่อทิ้งเนื้อสัตว์ให้ถูกแสงแดดและอากาศต่อไปจะทำให้เกิดสารสีน้ำตาล สีเขียวเหลือง หรือซีดในที่สุด จะเห็นได้ว่าการเปลี่ยนแปลงเนื้อสัตว์จะมีออกซิเจนเข้ามาเกี่ยวข้อง วิธีที่ป้องกันการเปลี่ยนของเนื้อสัตว์นั้นคือ การป้องกันไม่ให้เนื้อสัตว์สัมผัสกับอากาศ

2.3.1.2 การเปลี่ยนแปลงสีของเนื้อสัตว์โดยเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในเนื้อสัตว์ จุลินทรีย์ต่างชนิดกันจะให้สีกับเนื้อสัตว์ที่แตกต่างกัน เช่น

<u>ชนิดของแบคทีเรีย</u>	<u>สีที่เกิดขึ้น</u>
-Pseudomonas syncyanea	สีน้ำเงิน
-Flavobacterium	สีเหลือง
-Micrococcus	สีเหลือง
-Chromobacterium	สีเขียวแกมน้ำเงินหรือสีน้ำตาลดำ
-Serratia marcescens	สีแดง

เมื่อเนื้อสัตว์เกิดความเครียดก่อนการฆ่าจะทำให้ปริมาณไกลโคเจนเปลี่ยนเป็นกรดแลคติกได้น้อยลงเป็นผลทำให้ค่า pH ของเนื้อสัตว์ลดน้อยลงไม่มากนัก เป็นผลทำให้เชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนได้ง่ายขึ้น ทำให้เนื้อสัตว์เกิดการเน่าเสียได้ เมื่อเนื้อสัตว์เน่าเสียทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงจากสีแดงกลายเป็นสีม่วงแล้วเปลี่ยนเป็นสีม่วงแดงจนกลายเป็นสีคล้ำ ซึ่งเป็นลักษณะที่บ่งบอกว่าเนื้อสัตว์นั้นเกิดการเน่าเสียแล้ว ส่งผลถึงกลิ่นรสของเนื้อสัตว์ด้วย คือ ทำให้เกิดกลิ่นเหม็นเน่าออกจากเนื้อสัตว์ที่มีสีคล้ำหรือสีซีดเป็นลักษณะที่ผู้บริโภคไม่ต้องการด้วย

2.3.2 การเสื่อมเสียของเนื้อสัตว์

การเสื่อมเสียของเนื้อสัตว์ที่เกิดขึ้นโดยจุลินทรีย์ จะเกิดขึ้นเนื่องจากจุลินทรีย์ที่ย่อยโปรตีน (Proteolytic enzyme) หลังจากที่ถูกจุลินทรีย์พวกนี้เจริญเติบโตหรือหลังจากเนื้อสัตว์เกิดการออกโทไล

ซิสแล้ว จุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ จะมาเจริญแล้วทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงหรือการเสียต่อไป ซึ่งการเปลี่ยนแปลงหรือการเสียของเนื้อสัตว์จะเกิดขึ้นเร็วหรือช้าขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง คือ

1. ชนิดและจำนวนจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน

ถ้าเกิดการปนเปื้อนน้อยกว่าจะทำให้เกิดการเสื่อมเสียช้ากว่าที่มีการปนเปื้อนมาก ส่วนชนิดของจุลินทรีย์ถ้าเป็นจุลินทรีย์พวกที่มีเอนไซม์ที่สามารถย่อยโปรตีนปนเปื้อนลงในเนื้อสัตว์ก็จะเกิดการเสื่อมเสียเร็วกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ

2. ขนาดของเนื้อสัตว์

เนื้อสัตว์ที่มีขนาดเล็กจะเกิดการเสื่อมเสียได้เร็วกว่าเนื้อสัตว์ที่มีขนาดใหญ่

3. ความชื้น

เนื้อสัตว์ที่มีความชื้นสูงจะเสื่อมเสียได้เร็วกว่าเนื้อสัตว์ที่มีความชื้นต่ำ

4. ความเป็นกรดเป็นด่าง

สัตว์ที่ตายใหม่ๆ มี pH ประมาณ 7.2 ซึ่งในช่วงนี้เอนไซม์กล้ามเนื้อยังทำหน้าที่ย่อยสลายไกลโคเจนให้เปลี่ยนเป็นกรดแลคติก แล้วส่งไปยังตับ เพื่อสังเคราะห์เป็นแหล่งพลังงาน คือ กลูโคส และไกลโคเจนต่อไป แต่เมื่อสัตว์ตายจะไม่มีกรมนอนของโลหิต ไม่มีการนำกรดแลคติกออกไปได้ จึงเกิดการสะสมกรดเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เป็นสาเหตุทำให้ pH ลดต่ำลงประมาณ 5.5 (เนื้อสัตว์ที่มีสุขภาพแข็งแรง) โดยใช้เวลาประมาณ 6-8 ชั่วโมง แต่สัตว์ที่ผ่านความกดดันมีความเครียด จะได้เนื้อสัตว์ที่มี pH ค่อนข้างสูง เนื่องจากไกลโคเจนที่สะสมในกล้ามเนื้อนั้นถูกนำไปใช้ทำให้ปริมาณไกลโคเจนมีน้อยกว่าปกติมากทำให้มีกรดแลคติกเกิดขึ้นน้อย pH ของเนื้อสัตว์จะไม่ลดลงเท่าที่ควร คือ มี pH ประมาณ 6.5-6.8 เนื้อสัตว์ที่มี pH ค่อนข้างสูงจะเป็นเนื้อสัตว์ที่มีสีคล้ำและผิวนอกแห้ง ซึ่งเรียกว่าเนื้อ dark film dry (DED) เมื่อไกลโคเจนหมดไปทำให้เนื้อ DED ขาดกลูโคสและ G-6-P ด้วย เนื่องจากกลูโคสและ G-6-P ได้มาจากการสลายตัวของไกลโคเจน ฉะนั้นเมื่อไม่มีกลูโคสจึงทำเนื้อเสื่อมเสียได้เร็วขึ้น อีกทั้งค่า pH สูงเป็นสภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรียชนิดที่ทำให้เสื่อมเสีย สรุปแล้วการลดค่า pH ของเนื้อสัตว์นั้นมีส่วนช่วยลดอัตราการเจริญของแบคทีเรียชนิดที่เป็นสาเหตุทำให้เนื้อเน่าเสีย โดยเฉพาะแบคทีเรีย *Acinetobacter* และ *Altermonas putrefaciens*

5. อุณหภูมิ

เป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุดที่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ ถึงแม้ว่าแบคทีเรียสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิช่วงกว้าง คือ -8°C จนกระทั่งถึงอุณหภูมิที่ 90°C แต่แบคทีเรียส่วนใหญ่ไม่เจริญที่อุณหภูมิสูงกว่า 35°C ส่วนใหญ่แล้วมักเก็บรักษาเนื้อสัตว์ในสภาพแข็ง ซึ่งเป็นสภาพที่สามารถ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำลายเชื้อจุลินทรีย์บางชนิดได้ แต่ก็มีบางชนิดที่สามารถอยู่รอดได้ ดังนั้นจึงควรเลือกใช้อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อผลิตภัณฑ์ คือ ทำลายหรือยับยั้งการเจริญจุลินทรีย์ได้ดีแต่ยังคงรักษาคุณภาพของเนื้อสัตว์ไว้ได้

6. ออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์

เชื้อแบคทีเรียแบ่งตามความต้องการออกซิเจนได้ 3 กลุ่ม คือ

6.1 Aerobic bacteria

6.2 Facultative bacteria

6.3 Anaerobe bacteria

แบคทีเรียพวกที่เป็น Aerobic bacteria จะเป็นชนิดสำคัญที่ทำให้อาหารเน่าเสียจึงอาจจะใช้การควบคุมบรรยากาศให้มี CO₂ 10% และ 20% ในการทำลายจุลินทรีย์ซึ่งพบว่าได้ผลดีที่สุด แต่ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิด้วย เนื่องจากก๊าซ CO₂ มีคุณสมบัติในการทำลายได้ดีขึ้นเมื่ออุณหภูมิลดลง

เมื่อเนื้อสัตว์ถูกการฆ่าและแล้วทิ้งไว้สักระยะโดยไม่มีกรใช้กรดแลคติก หรือการปฏิบัติที่ถูกสุขลักษณะ จะทำให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ จุลินทรีย์จะเข้าไปภายในเนื้อสัตว์หรืออาจอยู่ภายนอกเนื้อสัตว์ ทำให้เกิดการเน่าเสียของเนื้อสัตว์ได้

2.4 เชื้อจุลินทรีย์ที่มักพบปนเปื้อนในเนื้อสัตว์ (ศิวพร , 2529)

2.4.1 *Salmonella* spp.

เป็นแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน ไม่สร้างสปอร์ บางสายพันธุ์สามารถเคลื่อนที่ได้ บางสายพันธุ์ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ อุณหภูมิเหมาะแก่การเจริญเติบโตของเชื้อ คือ 37 องศาเซลเซียส แต่เชื้อสามารถเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิ ระหว่าง 5-47 องศาเซลเซียส และสามารถเพิ่มจำนวนได้ที่อุณหภูมิระหว่าง 7-40 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส สามารถทำลายเชื้อได้ภายใน 40 นาที แต่ในอุณหภูมิ 60-81 องศาเซลเซียส สามารถทำลายเชื้อได้ภายใน 4 นาที เท่านั้น ค่า pH ที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโต คือ 6.5-7.5 และการทนกรดจะขึ้นอยู่กับปริมาณของเชื้อแต่ละ Serotype ส่วนการปนเปื้อนของเชื้อมีดังนี้ คือ การขนส่ง อาหารสัตว์ น้ำ มนุษย์และมูลของสัตว์ ลักษณะอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อนี้แบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม คือ

-ไข้เอนเทอริก (Enteric fever) ได้แก่ โรคไทฟอยด์ (Typhoid Disease) เกิดจาก *S. typhi* , *S. paratyphi* A,B และ C

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

-โลหิตเป็นพิษ (Septicemia) เกิดจาก *S. choleraesuis* เชื้อจะเข้าสู่กระแสโลหิตและทำให้เกิดภาวะโรคแทรกซ้อนในผู้ป่วยที่มีอาการอ่อนเพลีย

-โรกระบบทางเดินอาหารอักเสบ (Gastroenteritis) เชื้อ *Salmonella* ส่วนใหญ่จะทำให้เกิดอาการแบบที่ 3 นี้ โดยเชื้อที่ทำให้เกิดโรคนี้นี้มากที่สุด คือ *S. typhimurium*

2.4.2 *Staphylococcus spp.*

เป็นแบคทีเรียที่ติดสีแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ สามารถเจริญได้ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน *S. aureus* มีการผลิตสารพิษ enterotoxin ในเนื้อสัตว์ ซึ่งถ้าหากบริโภคเข้าไปจะมีผลทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ และยังพบว่า *S. aureus* เป็นเชื้อที่ทนต่อความแห้งได้ดี การปนเปื้อนของเชื้อมีต้นตอมาจากสิ่งแวดล้อม (อากาศ ฝุ่น น้ำ อาหารและอุจจาระ) มักพบเชื้อมีบริเวณ เยื่อของจมูก คอหอยและผิวหนังของมนุษย์ William and Dennis (1988) กล่าวว่า enterotoxin จะถูกผลิตภายหลังจากเชื้อได้มีการเจริญเติบโตแล้ว ปริมาณเชื้อที่เจริญแล้วสร้างสารพิษจนเกิดความเป็นพิษกับผู้บริโภคเข้าไป มีประมาณ 10^6 Cell/g อุณหภูมิที่เหมาะสมแก่การผลิตสารพิษอยู่ในช่วง 15.6-46.1 องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดคือ 40 องศาเซลเซียส เชื้อ *Staphylococcus spp.* สามารถเจริญได้ในอุณหภูมิระหว่าง 10-45 องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมแก่การเจริญเติบโตที่สุดอยู่ระหว่าง 35-37 องศาเซลเซียส เนื่องจากเชื้อนี้เป็นพวกที่ไม่สามารถสร้างสปอร์ ดังนั้นมักถูกทำลายในขบวนการผลิตที่ใช้ความร้อนหรือถูกทำลายที่อุณหภูมิระหว่างการประกอบอาหาร ค่า pH ที่เหมาะสมที่เชื้อ *Staphylococcus spp.* สามารถเจริญได้ในค่า pH ที่กว้างส่วนใหญ่จะเจริญได้ดีในสภาพที่เป็นด่างซึ่งที่ค่า pH 9 บางสายพันธุ์ยังสามารถเจริญได้ ในสภาวะที่เป็นกรดจะสามารถยับยั้งเชื้อนี้ได้

2.4.3 *Escherichia coli (E. coli)*

เป็นแบคทีเรียแกรมลบ เคลื่อนที่ได้ รูปร่างเป็นแท่ง เจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนและในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ส่วนมากเชื้อ *E. coli* เกือบทุกชนิดจะถูกทำลายที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หรือ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15-30 นาที โดยทั่วไปจะยอมรับกันว่า *E. coli* เป็น Normal flora ในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์ แต่บางสายพันธุ์สามารถทำให้เกิดอันตรายต่อผู้ที่ได้รับเชื้อเข้าไป ซึ่ง *E. coli* มีทั้งกลุ่มที่สร้างสารพิษ และไม่สร้างสารพิษแต่สามารถเข้าทำลายลำไส้ทำให้เกิดอาการเจ็บป่วยได้ อุณหภูมิที่เหมาะสมแก่การเจริญเติบโตที่สุดของเชื้อนี้คือ 37 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดวัดโดยค่า pH ของเชื้อ *E. coli* เจริญได้ดีในช่วง pH 7-7.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่า pH ต่ำสุดที่เชื้อสามารถเจริญได้คือ 4.0 และค่าสูงที่สุดที่เชื้อเจริญได้คือ 8.5 การปนเปื้อนของ เชื้อมีดังนี้คือ จากเครื่องในของสัตว์ และคน อุจจาระ เนื้อสัตว์ที่ปรุงไม่สุก

2.4.4 *Enterobacter*

เซลล์รูปท่อนสั้นเคลื่อนที่โดยใช้แฟลกเจลลารอบเซลล์ ไม่สร้างสปอร์บางสายพันธุ์สร้าง แคปซูล สามารถใช้ซิเตรตและแอซิโตนเป็นแหล่งคาร์บอน หมักกลูโคสให้กรดและก๊าซ ที่ 37 องศา เซลเซียส พบทั่วไปในธรรมชาติโดยเฉพาะ พืช ธัญพืช น้ำ และทางเดินอาหาร ชนิดที่มีความสำคัญ ด้านอาหาร ได้แก่ *E. aerogenes* , *E. cloacae* ทำให้เน่าเกิดเมือกเหนียว *E. aerogenes* จัดเป็น พวกแบคทีเรียโคลิฟอร์ม ซึ่งเป็นกลุ่มแบคทีเรียที่ชี้ให้เห็นถึงคุณภาพของอาหารหากมีแบคทีเรีย พวกนี้อยู่ อาหารนั้นอาจมีการปนเปื้อนจากอุจจาระหรือน้ำโสโครก

2.4.5 *Pseudomonas spp.*

เป็นแบคทีเรียที่มีรูปร่างเป็นท่อน มีขนาด 0.5-1x1.5-4 ไมโครเมตร เคลื่อนที่โดยใช้แฟลก เจลลาอาจมีเส้นเดี่ยวหรือหลายเส้น ติดสีแกรมลบ กระบวนการสร้างและสลายพลังงานเป็นการ หายใจไม่พบการหมัก เป็นพวกต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต แบคทีเรียพวกนี้พบในธรรมชาติ เช่น ดิน น้ำ พืช ทางเดินอาหารคนและสัตว์ ช่วงอุณหภูมิในการเจริญเติบโต 4-43 องศา เซลเซียส อุณหภูมิที่เหมาะสมแก่การเจริญเติบโตส่วนใหญ่อยู่ใกล้ๆ 30 องศาเซลเซียส ทุกชนิด สามารถเจริญเติบโตได้ดีในช่วง pH คือ 7.0-8.5 และส่วนใหญ่ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ที่ pH 6.0 หรือต่ำกว่า ลักษณะของเชื้อ *Pseudomonas* มีความสามารถในการย่อยสลายโปรตีนในเนื้อสัตว์ ได้สูง ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในเนื้อสัตว์ คือก่อให้เกิดกลิ่นแอมโมเนีย pH ของเนื้อมีค่าสูงขึ้น และเกิดเมือกที่ผิวของเนื้อสัตว์

2.4.6 เชื้อรา

เป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโตของเชื้อ ดังนั้นจึงพบเชื้อราขึ้นอยู่ บริเวณผิวของเนื้อสัตว์ เชื้อราบางชนิดจะสร้างสารพิษแพร่กระจายเข้าสู่ภายในก้อนเนื้อ แม้เราจะ ตัดเนื้อส่วนที่มีราออกไป หรือนำเนื้อที่มีรามาล้างน้ำจนสะอาดแล้วก็ตาม ก็ไม่ควรนำเนื้อชิ้นนั้น ออกจำหน่าย

จากจุลินทรีย์ทั้งหมดเหล่านี้ล้วนแต่สามารถทำให้เนื้อสัตว์เน่าเสียได้ทั้งนั้น ซึ่งจุลินทรีย์จะ สามารถเข้าไปภายในเนื้อสัตว์ได้มาก เนื่องจากเนื้อสัตว์เป็นแหล่งอาหารที่มีความชื้นสูง มีธาตุ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารพวกไนโตรเจน แร่ธาตุ วิตามินอย่างสมบูรณ์ สาเหตุที่เนื้อสัตว์เป็นแหล่งอาหารของจุลินทรีย์ เนื่องจาก

1.เนื้อสัตว์มีความชื้นสูง

ความชื้น (Moisture) ของเนื้อโดยทั่วไปมีประมาณร้อยละ 50-57 หรือ a_w ประมาณ 0.99 ขึ้นไป ซึ่งเป็นความชื้นที่จุลินทรีย์ทุกชนิดสามารถเจริญเติบโตได้เป็นอย่างดี ทั้งนี้เพราะแบคทีเรียสามารถเจริญได้ดีในที่มีความชื้นร้อยละ 18 หรือที่ a_w 0.86 หรือมากกว่า และเชื้อราสามารถเจริญได้ดีที่ความชื้นร้อยละ 0.3 หรือที่ a_w 0.75 ขึ้นไป

2.เนื้อสัตว์เป็นแหล่งที่ให้ธาตุอาหาร

เนื้อสัตว์เป็นแหล่งพวกไนโตรเจน แร่ธาตุและวิตามินที่อุดมสมบูรณ์ เหมาะแก่การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

3.เนื้อสัตว์มีสารอาหารพวกคาร์โบไฮเดรต

เนื้อสัตว์เป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตที่จุลินทรีย์สามารถใช้ได้ เช่น กลูโคสในน้ำเลือดที่เหลืออยู่ตามเซลล์ต่างๆ ทำให้จุลินทรีย์ที่มีอยู่สามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วและเกิดการหมักได้ง่ายถ้าสภาพแวดล้อมเหมาะสม

4.เนื้อสัตว์มีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ (pH = 5.6)

5.คุณสมบัติทางฟิสิกส์ (Physical properties) ของเนื้อสัตว์

ลักษณะโดยทั่วไปของเนื้อสัตว์มีช่องว่าง และโพรงอากาศมากมาย ที่ทำให้จุลินทรีย์สามารถอาศัยอยู่ได้ และสภาพต่างๆ ขณะนำไปแปรรูปหรือประกอบอาหาร ทำให้เพิ่มพื้นที่ผิวของเนื้อที่จุลินทรีย์จะปนเปื้อนได้มาก เช่น การตัดชิ้นเนื้อให้มีขนาดเล็กลง หรือการบดสับให้ละเอียด เหล่านี้เป็นสาเหตุให้จุลินทรีย์ปนเปื้อนลงในเนื้อได้มาก ประกอบกับการมีอาหารและปัจจัยในการเจริญเติบโตอย่างครบถ้วนเมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสม จุลินทรีย์จะเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนมากขึ้นและเป็นสาเหตุให้เนื้อเน่าเสียภายในเวลาอันรวดเร็ว

จากลักษณะของเนื้อสัตว์ที่เป็นแหล่งอาหารที่ทำให้จุลินทรีย์เข้าไปภายในเนื้อสัตว์ เมื่อสัตว์ตายลงจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนอยู่จะเริ่มแทรกตัวเข้าไปภายในเนื้อสัตว์ ปัจจัยที่มีผลต่อการแทรกตัวของจุลินทรีย์คือ

1.ปริมาณจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารของสัตว์

ถ้ายังมีมากก็จะมี การแทรกตัวเข้าไปได้มากขึ้น จึงได้มีการแนะนำให้สัตว์อดอาหารก่อนนำไปฆ่า

2.การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพอย่างทันทีทันใดของสัตว์ก่อนถูกฆ่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถ้าสัตว์ตกใจก็จะมีเชื้อแบคทีเรียเข้าไปในเนื้อเยื่อได้ง่ายขึ้น การกำจัดเลือดออกไม่หมดจะทำให้แบคทีเรียกระจายไปได้ง่ายขึ้น และถ้าเกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีมากเกินไปจะทำให้แบคทีเรียเจริญได้ดีเนื่องจากเนื้อสัตว์มีพีเอชสูง มีการปล่อยน้ำออกจากเส้นใยเนื้อมากขึ้น และการย่อยสลายโปรตีนเกิดได้เร็วขึ้น การที่ไกลโคเจนถูกใช้ไปมากขณะที่สัตว์ตกใจทำให้มีพีเอชของเนื้อสูงประมาณ 7.2 และไม่ลดลงเหมือนเนื้อสัตว์ทั่วไป

3.วิธีการฆ่าและการกำจัดเลือด

ถ้าการกำจัดเลือดทำอย่างระมัดระวังและโรงงานมีการสุขาภิบาลที่ดีจะทำให้ได้เนื้อคุณภาพดี มีรายงานว่าเนื้อสุกร และเบคอนที่ได้จากสัตว์ที่ถูกฆ่าโดยวิธีใช้กระแสไฟฟ้าช็อตจะมีสีเขียวมากกว่าสัตว์ที่ถูกฆ่าโดยการใช้อากาศคาร์บอนไดออกไซด์

4.อัตราเร็วในการแช่เย็นเนื้อ

ยิ่งทำได้เร็วเท่าไรก็ยิ่งไม่สามารถลดอัตราการแทรกตัวเข้าไปในเนื้อเยื่อของแบคทีเรียได้ดีขึ้น เมื่อจุลินทรีย์สามารถเข้าไปในเนื้อสัตว์ได้นั้น จุลินทรีย์จะเจริญเติบโต สร้างความเสียหายให้กับเนื้อสัตว์นั้นๆ ลักษณะการเสื่อมเสียหรือการเน่าเสียของเนื้อสัตว์จะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับ

1.ชนิด จำนวนและการแพร่กระจายของจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์

เนื้อสัตว์ที่มีพวกไซโครฟายล์ปะปนมามากจะทำให้เกิดการเสียที่อุณหภูมิห้องเย็นได้เร็วกว่าเนื้อที่พวกไซโครฟายล์ปะปนมาน้อย

2.คุณสมบัติทางกายภาพของเนื้อ

ถ้าเนื้อมีส่วนที่ผิวมากจะทำให้เสียเร็วขึ้นเนื่องจากมีส่วนที่สัมผัสกับจุลินทรีย์มากและมีอากาศเพียงพอต่อการเจริญของพวกแอโรบิก ถ้าพื้นที่ผิวมีไขมันอยู่ด้วยอาจช่วยป้องกันการเสียที่มีจุลินทรีย์เป็นสาเหตุได้ แต่อาจเกิดการหืนได้โดยเกิดการออกซิเดชันของไขมัน การบดจะเพิ่มพื้นที่ผิวของเนื้อได้ดี หนังกัวยังติดกับเนื้อจะช่วยป้องกันเนื้อที่อยู่ภายในได้ แม้ว่าจะมีจุลินทรีย์เจริญอยู่บนหนังกัวยก็ตาม

3.คุณสมบัติทางเคมีของเนื้อ

ปริมาณความชื้นในเนื้อสัตว์มีความสำคัญต่อชนิดจุลินทรีย์ที่จะเจริญในเนื้อ ถ้าเนื้อมีส่วนที่แห้งอาจไม่มีการเจริญของจุลินทรีย์เลย แต่ถ้ามีความชื้นเพียงเล็กน้อยาก็เจริญได้ ถ้าความชื้นเพิ่มขึ้นยีสต์ก็จะเจริญ และถ้าความชื้นมากแบคทีเรียก็เจริญ ดังนั้นความชื้นสัมพันธ์ในท้องเก็บเนื้อจึงมีความสำคัญเนื่องจากเนื้อสัตว์มีสารอาหารครบถ้วน มีคาร์โบไฮเดรตต่ำ มีโปรตีนสูงจึงทำให้จุลินทรีย์ชนิดที่ไม่ทำให้เกิดการหมักเจริญได้ดี ซึ่งมักจะเป็นพวกที่สามารถย่อยโปรตีนและสารที่ได้จากการย่อยสลายของโปรตีนเป็นแหล่งไนโตรเจน คาร์บอน และพลังงานได้ เนื้อสดจะมีพีเอช

ประมาณ 5.7-7.2 ขึ้นอยู่กับปริมาณของไกลโคเจนที่มีอยู่และการเปลี่ยนแปลงของเนื้อสัตว์ ถ้าที่เอชสูงจุลินทรีย์จะเจริญได้ดีกว่าที่เอชต่ำ ซึ่งมีจุลินทรีย์ที่เจริญได้เพียงไม่กี่ชนิดเท่านั้น

4. ปริมาณออกซิเจน

ในสภาวะที่มีออกซิเจนซึ่งมักจะอยู่ที่ผิวของเนื้อสัตว์ รา ยีสต์ และแบคทีเรียแอโรบจะเจริญได้ ส่วนข้างในชิ้นเนื้อนั้นจะมีสภาวะไร้ออกซิเจน

5. อุณหภูมิ

เนื้อควรเก็บไว้ที่อุณหภูมิใกล้เคียงจุดเยือกแข็ง ซึ่งจะมีจุลินทรีย์เพียงบางชนิดเท่านั้นที่เจริญได้ รา ยีสต์ และไซโครโทรป จะเจริญได้อย่างช้าๆ และทำให้เนื้อเกิดการเปลี่ยนแปลงพิวตริแฟชัน (Putrefaction) มักไม่เกิดที่อุณหภูมิต่ำแต่จะเกิดที่อุณหภูมิห้อง อุณหภูมิเปรียบเสมือนตัวคัดเลือกชนิดของจุลินทรีย์ที่เจริญในอาหารและแบบของการเสื่อมเสียที่เกิดขึ้นที่อุณหภูมิแช่เย็นพวกไซโครฟายล์จะเจริญได้ดีและย่อยสลายโปรตีน มักจะมีการใช้เพปไทด์และกรดอะมิโนต่อไปอีกโดยจุลินทรีย์ชนิดอื่น ที่อุณหภูมิพวกมีโซฟายล์จะเจริญได้ดี เช่น Coliform, Bacillus และ Clostridium บางชนิดซึ่งจะทำให้เกิดการตกจากการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตที่มีอยู่ในปริมาณพอสมควร

2.5 มาตรฐานการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์

เนื่องจากการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียมีอันตรายต่อผู้บริโภค จึงได้มีการกำหนดมาตรฐานการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย โดยมาตรฐานการส่งออกเนื้อสัตว์ของกรมปศุสัตว์ ปี 2535 ได้กำหนดมาตรฐานไว้ดังนี้ Total Plate Count ให้มีจำนวนจุลินทรีย์น้อยกว่า 500,000 โคโลนีหรือเซล/กรัม , Faecal Streptococci ให้มีค่าเท่ากับ 1,000 โคโลนีหรือเซล/กรัม , MPN coliform ให้มีค่าเท่ากับ 5,000 โคโลนีหรือเซล/กรัม , เชื้อ *Staphylococcus aureus* ให้พบได้น้อยกว่า 100 โคโลนีหรือเซล/กรัม และห้ามมิให้มีการตรวจพบเชื้อ *Salmonella* ในเนื้อสัตว์ที่จะส่งออก

นอกจากการกำหนดมาตรฐานการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้กำหนดไว้ภายในประเทศแล้ว ในต่างประเทศก็ได้มีการกำหนดมาตรฐานไว้เช่นกัน โดยเฉพาะกลุ่มประเทศที่พัฒนาแล้วจะมีการกำหนดมาตรฐานที่ค่อนข้างเข้มงวด ดังเช่นประเทศเยอรมันนี ได้มีการกำหนดมาตรฐานการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์บนซากสุกรไว้ดังนี้ Total aerobic count ให้มีจำนวนจุลินทรีย์น้อยกว่า 10,000 โคโลนีหรือเซล/ซม.² และห้ามมิให้มีการตรวจพบเชื้อดังต่อไปนี้ *Salmonella* , *Compyrobacter* , *Yersinia* และ *Listeria* (Troeger , 1993 อ้างอิงใน นิคม, 2541)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วัตถุดิบ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ

1. เนื้อหมูสดจากตลาดหัวตะเข้

3.2 อุปกรณ์

- | | |
|-------------------------------|-----------------------------------|
| 1. Autoclave | 24. ถุงมือกันร้อน |
| 2. Incubator | 25. ไฟแช็ค |
| 3. Hot air oven | 26. แห้งแก้วรูปตัว แอล |
| 4. Larminar air flow carbinet | 27. หลอดทดลองขนาด 16*150 |
| 5. PH meter | 28. หลอดทดลองขนาด 16*150 ฝาเกลียว |
| 6. Microwave | 29. กระบอกตวง 100 , 1000 ml. |
| 7. Micropipette | 30. แห้งแก้วคน |
| 8. Trip | 31. จานเพาะเชื้อ |
| 9. Blender | 32. บีเปต 1 , 5 , 10 ml. |
| 10. Vortex | 33. ขวด Duran |
| 11. เครื่อง Stomacher | 34. Foggy |
| 12. ถุง Stomacher | 35. Flask 250 , 1000 ml. |
| 13. เครื่องชั่งน้ำหนัก | |
| 14. ตู้เย็น 4°C | |
| 15. มีด , กรรไกร | |
| 16. คีมคีบ | |
| 17. Aluminium foil | |
| 18. สำลี | |
| 19. ตะเกียงแอลกอฮอล์ | |
| 20. ตะแกรงใส่หลอดทดลอง | |
| 21. กล่องโฟม | |
| 22. ฟิล์มหุ้มอาหาร | |
| 23. บีเกอร์ 500 , 1000 ml. | |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา 96508 ถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 สารเคมี

1. อาหาร Salmonella – Shigella Agar
2. อาหาร Trypticase Soy Agar
3. อาหาร Trypticase Soy Broth
4. อาหาร Plate Count Agar
5. อาหาร MRS Broth
6. NaCl
7. Lactic acid

3.4 เชื้อจุลินทรีย์

1. *Salmonella anatum* ได้จากกองพยาธิ กรมวิทยาศาสตร์ กระทรวงสาธารณสุข
2. *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

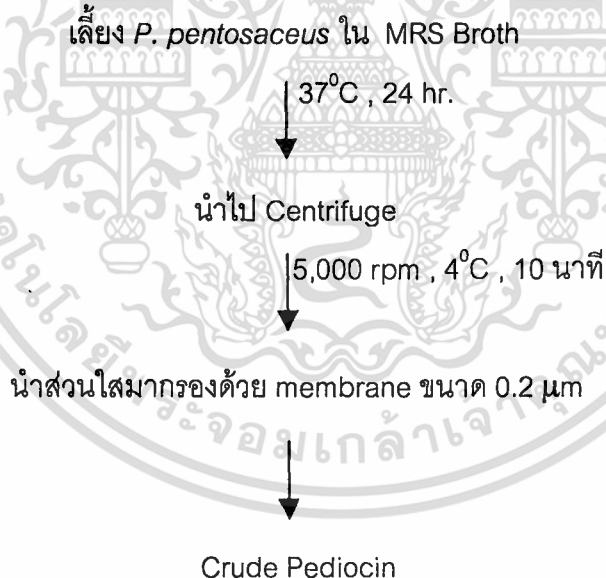
การทดลองที่ 1 ศึกษาผลการยับยั้งการเจริญของ *Salmonella anatum* ในหลอดทดลอง

โดยจะใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีส่วนผสมต่างกัน 6 ชนิด ดังนี้ คือ

1. อาหาร TSB (control)
2. อาหาร TSB ที่มี Pediocin 2% (control + P)
3. อาหาร TSB ที่มีกรดแลคติก 1%
4. อาหาร TSB ที่มีกรดแลคติก 1% กับ Pediocin 2%
5. อาหาร TSB ที่มีกรดแลคติก 0.5%
6. อาหาร TSB ที่มีกรดแลคติก 0.5% กับ Pediocin 2%

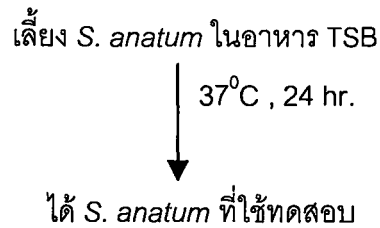
วิธีการเตรียม Pediocin และ *S. anatum*

- วิธีการเตรียม Pediocin



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- วิธีการเตรียม *Salmonella anatum*



- วิธีการศึกษาการยับยั้งการเจริญของ *Salmonella anatum*

- 1.1 ถ่ายเชื้อ *S. anatum* อายุ 24 ชั่วโมง ที่เตรียมไว้ 1% ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 6 ชนิด
- 1.2 เก็บตัวอย่างที่ 0 , 2 , 4 , 6 , 12 , 18 , 24 และ 30 ชั่วโมง เพื่อทำการตรวจนับปริมาณเชื้อด้วยวิธี Spread plate ในอาหาร TSA และ SS agar
- 1.3 บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 1.4 นับโคโลนี
- 1.5 นำจำนวนโคโลนีที่นับได้จากอาหาร TSA มาวิเคราะห์ดังนี้
 - ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเชื้อ *S. anatum* ในอาหารแต่ละชนิด
 - เลือกสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ให้ผลการยับยั้ง *S. anatum* ที่ดีที่สุดเพื่อใช้ในการทดลองถัดไป โดยให้การวิเคราะห์แบบ Factorial in CRD
- 1.6 นำจำนวนโคโลนีที่นับได้จากอาหาร TSA และ SS agar มาวิเคราะห์ปริมาณ Injured cell จากสูตร

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

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของแลคติกและ Pediocin ต่อคุณภาพของเนื้อหมู

- 2.1 ศึกษาการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมดในเนื้อหมูที่ผ่านการชุบด้วยสารละลายผสมที่คัดเลือกได้จากการทดลองที่ 1 มีวิธีทำดังนี้
 - 2.1.1 นำเนื้อหมูชุบในสารละลายเป็นเวลา 1 นาที แล้วผึ่งให้แห้งบนตะแกรงที่ฆ่าเชื้อแล้ว 15 นาที

- 2.1.2 บรรจุหมูลงในกล่องโฟมแล้วหุ้มด้วยฟิล์มห่ออาหาร พร้อมกับทำตัวอย่างควบคุม (ไม่ซุบสารละลาย) เก็บรักษาไว้ในตู้เย็นที่ควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 4°C
- 2.1.3 เก็บตัวอย่างที่ 0 , 12 , 24 , 36 , 48 , 60 และ 72 ชั่วโมง
- 2.1.4 นำตัวอย่างที่ได้มาหา Total Plate Count โดยวิธี Spread plate ในอาหาร PCA
- 2.2 ศึกษาคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านสี และ กลิ่นของเนื้อหมูภายหลังการซุบด้วยสารละลายผสมที่ได้จากการทดลองที่ 1
- 2.2.1 ทำการซุบหมูในสารละลายผสมที่คัดเลือกได้จากการทดลองที่ 1 โดยซุบเช่นเดียวกับการทดลองที่ 2.1 แล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 3 วัน
- 2.2.2 ทำการทดสอบโดยใช้ผู้ทดสอบ 20 คน สังเกตลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านสีและกลิ่น โดยประเมินความแตกต่างด้วยวิธี Triangle Test และสอบถามความชอบของเนื้อหมูด้านสีและกลิ่น โดยทำการทดสอบทุกวัน

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการโครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ระยะเวลาในการทดลอง

ใช้เวลาในการทดลองโดยเริ่มตั้งแต่วันที่ 7 ตุลาคม พ.ศ. 2545 ถึง วันที่ 14 มีนาคม พ.ศ. 2546

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง

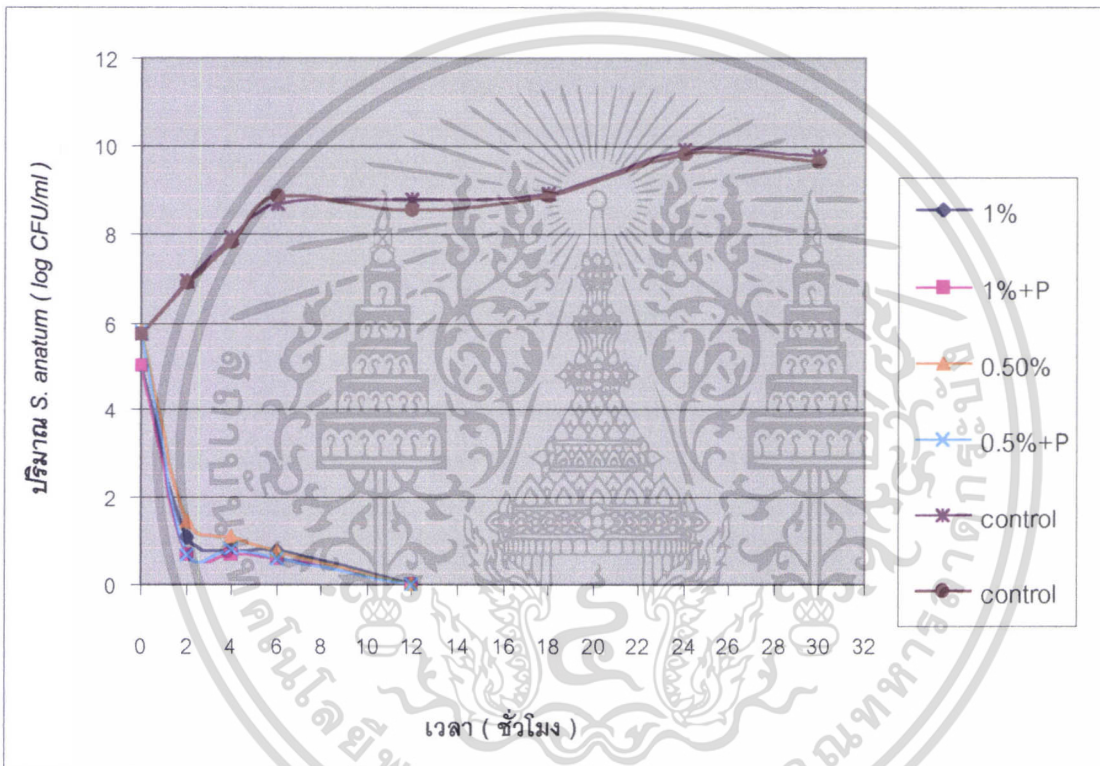
บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การศึกษาผลการยับยั้งการเจริญของ *Salmonella anatum* ในหลอดทดลอง

4.1.1 การเปลี่ยนแปลงของเชื้อ *S. anatum* ในอาหารแต่ละชนิด

จากการทดลองเพื่อหาปริมาณของเชื้อ *S. anatum* ในอาหาร 6 สูตร ณ เวลาต่างๆ ได้ผลการทดลองดังภาพที่ 4.1



ภาพที่ 4.1 แสดงการเปลี่ยนแปลงของเชื้อ *S. anatum* ในอาหาร 6 สูตร ณ เวลาต่างๆ

ผลการการเปลี่ยนแปลงปริมาณของเชื้อ *S. anatum* ในอาหารทั้ง 6 สูตร ณ เวลาต่างๆ จะได้ผลดังภาพที่ 4.1 จะเห็นได้ว่า อาหาร TSB (control) และอาหาร TSB ที่มี Pediocin 2% (control + P) จะมีปริมาณเชื้อที่เพิ่มขึ้นเมื่อเวลามากขึ้น ส่วนอาหาร TSB ที่มีกรดแลคติก 1% อาหาร TSB ที่มีกรดแลคติก 1% กับ Pediocin 2% อาหาร TSB ที่มีกรดแลคติก 0.5% และอาหาร TSB ที่มีกรดแลคติก 0.5% กับ Pediocin 2% จะมีปริมาณเชื้อที่ลดลงเมื่อเวลาเพิ่มมากขึ้น และเมื่อเวลาผ่านไป 12 ชั่วโมงจะไม่มีเชื้อเหลืออยู่ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าอาหารทั้ง 4 สูตร หลังนี้สามารถที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน จึงนำอาหารทั้ง 4 สูตร นี้มาคัดเลือกด้วยวิธีการทางสถิติเพื่อหาสูตรอาหารที่ให้ผลการยับยั้งเชื้อที่ดีที่สุดไปใช้ในการทดลองต่อไป

4.1.2 การคัดเลือกสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ให้ผลการยับยั้ง *S. anatum* ที่ดีที่สุด

นำอาหารทั้ง 4 สูตรที่มีผลการยับยั้งการเจริญเชื้อ *S. anatum* ซึ่งได้แก่ อาหาร TSB ที่มีกรดแลคติก 1% อาหาร TSB ที่มีกรดแลคติก 1% กับ Pediocin 2% อาหาร TSB ที่มีกรดแลคติก 0.5% และอาหาร TSB ที่มีกรดแลคติก 0.5% กับ Pediocin 2% มาทำการคัดเลือกสูตรอาหารที่ให้ผลการยับยั้งที่ดีที่สุด ด้วยวิธีการวางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD โดยจะนำผลในชั่วโมงที่ 6 มาทำการวิเคราะห์ ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.1 4.2 4.3 และ 4.4

ตารางที่ 4.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณจุลินทรีย์ในอาหาร TSA

SOV	Df	ปริมาณจุลินทรีย์ (cfu/ml)
สิ่งทดลอง	6	0.00
ความเข้มข้น แลคติก	2	0.00
ความเข้มข้น Pediocin	1	0.06 ^{ns}
แลคติก x Pediocin	2	0.047
Error	6	
Total	12	

หมายเหตุ ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.2 ผลความเข้มข้นของกรดแลคติก ที่มีต่อปริมาณจุลินทรีย์ในอาหาร TSA

ความเข้มข้นของแลคติก (ร้อยละ)	ปริมาณจุลินทรีย์ (cfu/ml)
0	$6 \times 10^8 \pm 7 \times 10^{8a}$
0.5	5 ± 1.41^b
1	5 ± 1.41^b

หมายเหตุ ตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งเดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ผลความเข้มข้นของ Pediocin ที่มีต่อปริมาณจุลินทรีย์ในอาหาร TSA

ความเข้มข้นของ Pediocin (ร้อยละ)	ปริมาณจุลินทรีย์ ^{ms} (cfu/ml)
0	$1.6 \times 10^8 \pm 2.53 \times 10^8$
2	$2.4 \times 10^8 \pm 3.73 \times 10^8$

หมายเหตุ ตัวอักษรกำกับต่างกันในแต่ละแถวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.4 ผลความเข้มข้นของกรดแลคติก และ Pediocin ที่มีต่อปริมาณจุลินทรีย์ในอาหารTSA

ความเข้มข้นของกรดแลคติก (ร้อยละ)	ความเข้มข้นของ Pediocin (ร้อยละ)	ปริมาณจุลินทรีย์ (cfu/ml)
0	0	$4.7 \times 10^8 \pm 1.53 \times 10^{8b}$
0	2	$7.2 \times 10^8 \pm 1.41 \times 10^{6a}$
0.5	0	6 ± 0^c
0.5	2	4 ± 1.41^c
1	0	6 ± 1.41^c
1	2	4 ± 0^c

หมายเหตุ ตัวอักษรกำกับต่างกันในแต่ละแถวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณจุลินทรีย์พบว่าการใช้กรดแลคติก และการใช้กรดแลคติก ร่วมกับ Pediocin มีผลทำให้ปริมาณจุลินทรีย์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ส่วนการใช้ Pediocin เพียงอย่างเดียวไม่มีผลทำให้ปริมาณจุลินทรีย์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ดังตาราง 4.1 ส่วนอาหารที่มีความเข้มข้นของกรดแลคติก 0.5% อาหารที่มีความเข้มข้นของกรดแลคติก 0.5% กับ Pediocin 2% อาหารที่มีความเข้มข้นของกรดแลคติก 1% และอาหารที่มีความเข้มข้นของกรดแลคติก 1% กับ Pediocin 2% จะให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อที่ไม่แตกต่างกันดังนั้นจึงทำการเลือกใช้อาหารสูตรที่มีความเข้มข้นของกรดแลคติก 0.5% มาใช้ในการทดลองขั้นต่อไป โดยจะนำอาหารสูตรที่มีความเข้มข้นของกรดแลคติก 0.5% กับ Pediocin 2% มาทำการทดลองควบคู่กัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 แสดง % Injured cell ของเชื้อ *S.anatum* ในอาหาร 6 สูตร ณ เวลาต่างๆ

เวลา (ชั่วโมง)	% injured cell ของเชื้อ <i>s. anatum</i>					
	1%L	1%L+ P	0.5%L	0.5%L+ P	C	C+P
0	40	40	15.63	15.63	7.63	7.63
2	72	80	86.7	60	27	15.58
4	100	100	100	100	40.79	0
6	100	100	100	100	36.17	50
12	100	100	100	100	21.31	5.71
18	100	100	100	100	36.9	28.99
24	100	100	100	100	21.95	22.73
30	100	100	100	100	1.79	53.49

หมายเหตุ : L หมายถึง Lactic acid

P หมายถึง Pediocin 2%

C หมายถึง Control

ที่เวลา 0 ชม. พบว่าอาหาร TSB ที่มีกรดแลคติก 1% มีผลทำให้เกิดเปอร์เซ็นต์ Injured cell 40% แต่ถ้าใช้อาหาร TSB ที่มีกรดแลคติก 0.5% มีผลทำให้เกิดเปอร์เซ็นต์ Injured cell 15% ในขณะที่อาหารสูตร TSB และอาหาร TSB ที่มี Pediocin มีผลทำให้เกิดเปอร์เซ็นต์ Injured cell 7% เมื่อเวลาผ่านไป 2 ชม. พบว่าอาหาร TSB ที่มีการใช้กรดแลคติกเต็มลงไปจะมีผลทำให้เกิดเปอร์เซ็นต์ Injured cell เพิ่มขึ้นเป็น 60-80% ในขณะที่อาหาร TSB ที่มี Pediocin จะมีอัตราการเกิดเปอร์เซ็นต์ Injured cell ที่น้อยกว่า คือประมาณ 15% ส่วนในอาหาร TSB (Control) อาจมีการปนเปื้อนหรือมีการนับจำนวนเชื้อที่ผิดพลาดทำให้ได้เปอร์เซ็นต์ Injured cell ที่สูงกว่าที่ควรจะเป็น และเมื่อเวลาผ่านไป 4 ชม. พบว่าอาหาร TSB ที่มีการใช้กรดแลคติกเต็มลงไปจะมีผลทำให้เกิด Injured cell เป็น 100% (ไม่มีเชื้อเจริญใน SS agar) ในขณะที่เมื่อเวลาเพิ่มมากขึ้นอาหาร TSB (Control) จะมีอัตราการเกิด Injured cell ที่ลดลง ดังนั้นการใช้กรดแลคติก 0.5 และ 1% ในอาหาร TSB มีผลทำให้เกิดเปอร์เซ็นต์ Injured cell ของเชื้อ *S.anatum* ได้ 100% ที่ระยะเวลา 4 ชม.เป็นที่น่าสังเกตว่าอาหาร TSB ที่มี Pediocin จะมีอัตราการเกิด Injured cell ที่เพิ่มขึ้นภายหลังจาก 4 จนถึง 30 ชม.ดังนั้นอาจเป็นไปได้ว่าเมื่อเวลาเพิ่มมากขึ้น Pediocin จะมีผลทำให้เกิด Injured cell เพิ่มขึ้น ดังแสดงในตารางที่ 4.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. 2 การศึกษาผลของกรดแลคติกและ Pediocin ต่อคุณภาพของเนื้อหมู

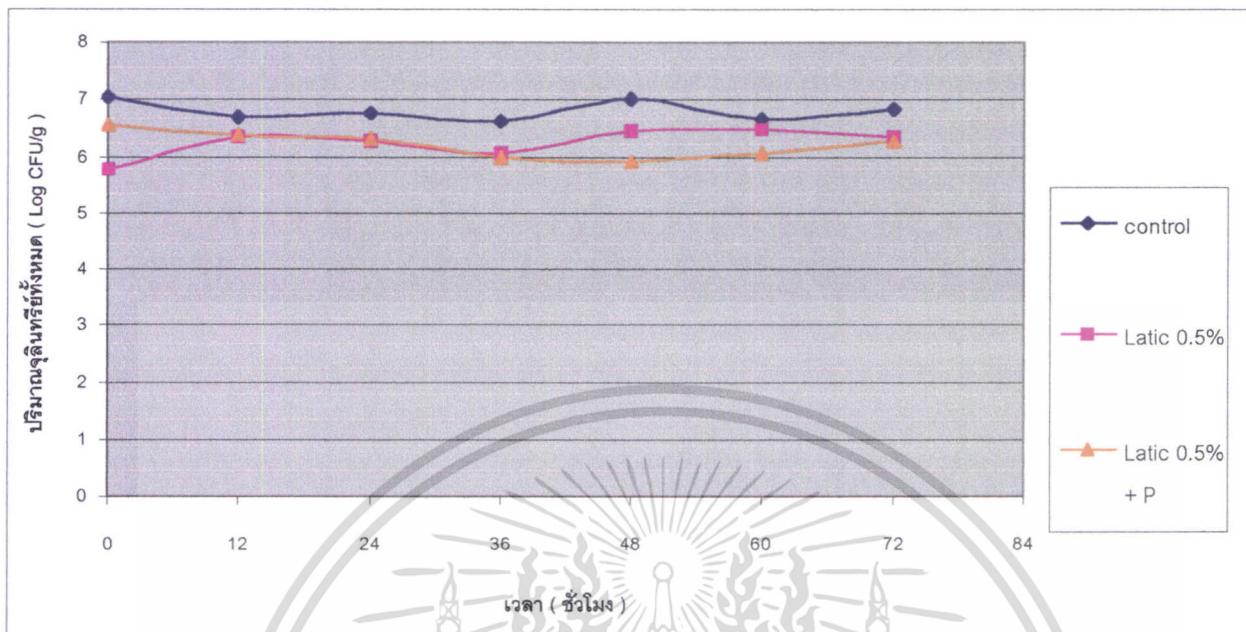
4.2.1 การเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมดในเนื้อหมูที่ผ่านการชุบด้วยสารละลายผสมที่คัดเลือกได้จากการทดลองที่ 1

จากการทดลองเพื่อหาปริมาณจุลินทรีย์ในเนื้อหมูที่ชุบด้วยสารละลายกรดแลคติก 0.5% กับเนื้อหมูที่ชุบด้วยสารละลายกรดแลคติก 0.5% ร่วมกับ Pediocin 2% ณ.เวลาต่างๆ ให้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.6 และภาพที่ 4.2

ตารางที่ 4.6 แสดงปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในเนื้อหมูที่ชุบด้วยสารละลายและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C ณ เวลาต่างๆ

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (cfu / g)		
	Control	แลคติก 0.5%	แลคติก 0.5%+P
0	1.1×10^7	5.8×10^5	3.5×10^6
12	4.8×10^6	2.1×10^6	2.4×10^6
24	5.8×10^6	1.8×10^6	2×10^6
36	4.2×10^6	1.1×10^6	1.1×10^6
48	1×10^7	2.9×10^6	8×10^5
60	4.4×10^6	3.1×10^6	1.1×10^6
72	6.6×10^6	2.1×10^6	1.8×10^6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.2 แสดงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในเนื้อหมูที่ชุบด้วยสารละลายและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C ณ เวลาต่างๆ

ในการศึกษาการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมดในเนื้อหมูที่ผ่านการชุบด้วยกรดแลคติกและ Pediocin ได้ผลตามตารางที่ 4.6 และภาพที่ 4.2 แสดงให้เห็นว่าเมื่อเริ่มต้น เนื้อหมูที่ไม่ผ่านการจุ่มสารละลาย (control) มีปริมาณจุลินทรีย์ประมาณ 7 Log cfu/g และเนื้อหมูที่จุ่มด้วยสารละลายกรดแลคติก 0.5 % และสารละลายกรดแลคติก 0.5% ร่วมกับ Pediocin 2% มีปริมาณจุลินทรีย์ประมาณ 5.8 และ 6.5 Log cfu/g ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าเนื้อหมูที่จุ่มด้วยสารละลายกรดแลคติก 0.5% และสารละลายกรดแลคติก 0.5% ร่วมกับ Pediocin 2% มีปริมาณจุลินทรีย์น้อยกว่า control ประมาณ 1 และ 0.5 Log cycle ตามลำดับ สำหรับระยะเวลาในการเก็บรักษาเนื้อหมูที่ไม่จุ่มและจุ่มด้วยสารละลายกรดแลคติก 0.5 % และสารละลายกรดแลคติก 0.5% กับ Pediocin 2% มีผลต่ออัตราการลดจำนวนของจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่แตกต่างกันตลอดช่วงการเก็บ ถ้าพิจารณาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ต่ำที่สุดในระยะเวลาการเก็บรักษา 72 ชั่วโมงของการทดลองจะเห็นได้ว่าการใช้สารละลายกรดแลคติก 0.5% ร่วมกับ Pediocin 2% จะเหลือปริมาณเชื้อน้อยที่สุดคือ 6.2 Log cfu/g เมื่อเปรียบเทียบกับไม่จุ่มและจุ่มด้วยสารละลายกรดแลคติก 0.5% ที่เหลือปริมาณเชื้อ 6.8 และ 6.3 Log cfu/g จึงเลือกการจุ่มด้วยสารละลายกรดแลคติก 0.5% ร่วมกับ Pediocin 2% มาทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านสี และ กลิ่นต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 การศึกษาคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านสี และกลิ่นของเนื้อหมูภายหลังการชุบด้วยกรดแลคติก และ Pediocin

จากการทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านสี และกลิ่นเพื่อต้องการทราบว่าผู้บริโภคจะสามารถแยกความแตกต่างด้านสี และกลิ่นระหว่างเนื้อหมูที่ชุบด้วยสารละลายกรดแลคติกกับ Pediocin เทียบกับเนื้อหมูที่ไม่ได้ชุบด้วยสารละลายได้หรือไม่ รวมถึงความชอบโดยรวมของผู้บริโภคด้านสี และกลิ่นของเนื้อหมูที่ชุบด้วยสารละลายกับเนื้อหมูที่ไม่ได้ชุบด้วยสารละลาย ได้ผลด้านสีดังตารางที่ 4.7 และ 4.8 ได้ผลด้านกลิ่นดังตารางที่ 4.9 และ 4.10

ผลการศึกษาด้านสี

ตารางที่ 4.7 จำนวนผู้ชิมที่ตอบถูกต้องด้านสีเมื่อเทียบกับค่าตารางสำเร็จรูป

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	ผู้ชิมที่ตอบถูก (คน)	ค่าตารางสำเร็จรูป ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05	ผล
1	15	11	แตกต่าง
2	15	11	แตกต่าง
3	15	11	แตกต่าง

ตารางที่ 4.8 ความชอบด้านสีของเนื้อหมูสดที่ผ่านการชุบด้วยสารละลาย

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	Control	แลคติก 0.5 % + Pediocin 2%
1	100%	0%
2	65%	35%
3	80%	20%

ผู้บริโภคสามารถแยกความแตกต่างทางด้านสีระหว่างเนื้อหมูที่ชุบด้วยสารละลายกับเนื้อหมูที่ไม่ได้ชุบด้วยสารละลายได้ทั้ง 3 วันของการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มัน 95% ดังตารางที่ 4.7 ส่วนด้านความชอบ ผู้บริโภคมีความชอบสีของเนื้อหมูที่ไม่ได้ชุบด้วยสารละลายมากกว่าเนื้อหมูที่ชุบด้วยสารละลายตลอดทั้ง 3 วันของการทดลอง โดยที่เปอร์เซ็นต์ความชอบด้านสีของเนื้อหมูที่ไม่ได้ชุบด้วยสารละลายเท่ากับ 100,65 และ 80 และที่ชุบด้วยสารละลายเท่ากับ 0,35 และ 20 ที่ระยะเวลาเก็บรักษา 1,2 และ 3 วันตามลำดับ

ผลการศึกษาด้านกลิ่น

ตารางที่ 4.9 จำนวนผู้ชิมที่ตอบถูกต้องด้านกลิ่นเมื่อเทียบกับค่าตารางสำเร็จรูป

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	ผู้ชิมที่ตอบถูก (คน)	ค่าตารางสำเร็จรูป ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05	ผล
1	15	11	แตกต่าง
2	12	11	แตกต่าง
3	9	11	ไม่แตกต่าง

ตารางที่ 4.10 ความชอบด้านกลิ่นของเนื้อหมูสดที่ผ่านการชุบด้วยสารละลาย

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	Control	Lactic 0.5 % + Pediocin 2 %
1	35%	65%
2	25%	75%
3	30%	70%

ผู้บริโภคสามารถแยกความแตกต่างทางด้านกลิ่นระหว่างเนื้อหมูที่ชุบด้วยสารละลายกับเนื้อหมูที่ไม่ได้ชุบด้วยสารละลายได้ใน 2 วันแรกของการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% แต่ไม่สามารถแยกได้ในวันที่ 3 ของการทดลอง ดังตารางที่ 4.9 ส่วนด้านความชอบ ผู้บริโภคมีความชอบกลิ่นของเนื้อหมูที่ชุบด้วยสารละลายมากกว่าเนื้อหมูที่ไม่ได้ชุบด้วยสารละลายตลอดทั้ง 3 วันของการทดลอง โดยที่เปอร์เซ็นต์ความชอบด้านกลิ่นของเนื้อหมูที่ไม่ได้ชุบด้วย

สารละลายเท่ากับ 35,25 และ 30 และที่ชုပ်ด้วยสารละลายเท่ากับ 65,75 และ 70 ที่ระยะเวลาเก็บ
รักษา 1,2 และ 3 วันตามลำดับ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดสอบในหลอดทดลองสามารถสรุปได้ว่า

1. ผลการทำลายเชื้อ *S.anatum* ที่ระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อ 6 ชม. ในอาหาร TSB ที่มีการเติม กรดแลคติก 0.5% , 0.5%+ Pediocin 2% , 1% และ 1%+ Pediocin 2% ให้ผลการทำลายที่ดีกว่าในอาหาร TSB ที่มีการเติม Pediocin เพียงอย่างเดียว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
2. การเลี้ยงเชื้อ *S.anatum* ในอาหาร TSB ที่มีการเติม กรดแลคติก 0.5% , 0.5%+ Pediocin 2% , 1% และ 1%+ Pediocin 2% ที่ระยะเวลา 12 ชม. เชื้อ *S.anatum* จะถูกทำลายหมด (จากเชื้อเริ่มต้นประมาณ 5.8 Log cfu/ml)
3. การเลี้ยงเชื้อ *S.anatum* ในอาหาร TSB ที่มีการเติม กรดแลคติก 0.5 และ 1% มีผลทำให้เกิดเปอร์เซ็นต์ Injured cell ของเชื้อ *S.anatum* ได้ 100% ที่ระยะเวลา 4 ชม.

จากผลการทดสอบในเนื้อหมูโดยดูการเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดสามารถสรุปได้ว่า

1. การจุ่มหมูด้วย 0.5% และ 0.5% ร่วมกับ Pediocin 2% สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดได้มากกว่า control ถึง 0.5 และ 1 Log cycle ตามลำดับ
2. ในระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 72 ชั่วโมง จำนวนจุลินทรีย์มีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย (< 0.5 Log cycle) ในทุกๆ สัปดาห์

การจุ่มด้วยสารละลายดังกล่าวจะช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นในเนื้อหมูให้ต่ำลงถึงแม้ในช่วงการเก็บรักษาจะไม่มีผลต่ออัตราการลดจำนวนจุลินทรีย์ก็ตามแต่ก็ จะไม่มีการเพิ่มจำนวนขึ้น จะคงปริมาณจุลินทรีย์ให้ต่ำไว้พอๆกับตอนเริ่มต้น ดังนั้นการจุ่มด้วยสารละลายจึงเป็นวิธีที่สามารถลดและควบคุมปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นในเนื้อหมูได้วิธีหนึ่ง

จากผลการทดสอบในเนื้อหมูโดยทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภคสามารถสรุปได้ว่า

1. ผู้บริโภคสามารถแยกความแตกต่างของเนื้อหมูที่ชุบและไม่ได้ชุบด้วยสารละลายกรดแลคติก 0.5% ร่วมกับ Pediocin 2% ทางด้านสีของทั้ง 3 วันที่ทำการทดลองได้อย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีนัยสำคัญ แต่ทางด้านกลิ่นผู้บริโภคนั้นแยกความแตกต่างได้ใน 2 วันแรกแต่ไม่สามารถแยกได้ในวันที่ 3

2. ผู้บริโภคนั้นมีความชอบด้านกลิ่นของเนื้อหมูที่ชุบด้วยสารละลายกรดแลคติก 0.5% ร่วมกับ Pediocin 2% มากกว่าเนื้อหมูที่ไม่ได้ชุบของทั้ง 3 วัน

ข้อเสนอแนะ

1. การที่กรดแลคติกสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้เนื่องจากกรดแลคติกจะเข้าไปทำลายระบบในกระบวนการ เมทาบอลิซึม ของเซลล์จุลินทรีย์ให้ผิดปกติไปทำให้ไม่เกิดการแบ่งตัว แต่การใช้วิธีจุ่มขึ้นเนื้อในสารละลายกรดแลคติกนั้นถ้าหากจุ่มขึ้นเนื้อในสารละลายกรดแลคติกที่ผ่านการจุ่มมาแล้วหลายครั้งอาจจะทำให้เกิดการ cross contaminate และกรดแลคติกไม่มีประสิทธิภาพในการลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในครั้งหลังๆ เพราะโปรตีนในเนื้อสัตว์จะไปจับกับไอออนของกรดแลคติกเป็นผลให้ประสิทธิภาพของกรดแลคติกลดลง ดังนั้นหากเลือกทำการจุ่มเนื้อในการยับยั้งจุลินทรีย์ก็ควรจะเปลี่ยนสารละลายบ่อยๆ หรือ เปลี่ยนสารละลายทุกครั้งหลังจุ่ม

2. ในการทดลองที่ใช้ Pediocin ความเข้มข้น 2% พบว่าไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ อาจเนื่องมาจากความเข้มข้นของ Pediocin น้อยไป ดังนั้นหากจะทำการศึกษาเพิ่มเติมควรจะทำการเพิ่มความเข้มข้น Pediocin ให้มากขึ้น

3. การใช้กรดแลคติกฉีดพ่น หรือ จุ่ม เนื้อสัตว์ก่อนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเย็น ถึงแม้ว่าจะทำให้เกิดลักษณะที่ไม่ดีของเนื้อสัตว์ก็ตามแต่ก็มีวิธีการแก้ไขโดยการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเย็นทันที ซึ่งถือได้ว่าเป็นการป้องกันเชื้อจุลินทรีย์ได้วิธีหนึ่งที่โรงงานการชำแหละเนื้อสัตว์นิยมใช้กัน

4. จากการทดลองเนื่องจากปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่นับได้ของสารละลายกรดแลคติก 0.5% และ 0.5% กับ Pediocin 2% มีความแตกต่างกันไม่ถึง 0.5 Log cycle ซึ่งถือว่าน้อยมาก ดังนั้นหากนำไปใช้จริง น่าจะเลือกใช้ 0.5% Lactic จะเป็นการประหยัดกว่า

เอกสารอ้างอิง

- จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2540. การจัดการโรงฆ่าสัตว์. คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพมหานคร. 260 น.
- ทวีสิงห์ อัครชัยเจริญ และ อรัญ ชมภูพันธ์. 2543. วิทยานิพนธ์ เรื่อง การใช้เชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียและกรดแลคติกในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อสุกร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ. 28 น.
- ประโลมจิต ต้นตื้อ และ สุดารัตน์ จันทร์โยธา. 2545. วิทยานิพนธ์ เรื่อง ศึกษาการใช้กล้ำเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่ผลิตสารแบคเทอริโอซินในการยับยั้งเชื้อ *Salmonella anatum* ระหว่างการหมักแหนม. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ. 37 น.
- นิคม ไบหาญ .2541. สัมมนา เรื่อง การใช้กรดแลคติกบนเนื้อสัตว์ในสภาพสุญญากาศ. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ. 25 น.
- เยาวลักษณ์ สุรพันธ์พิศิษฐ์. 2536. เทคโนโลยีเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ. 135 น.
- ศิวาพร ศิวเวชช .2529. จุลชีววิทยาทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 1 ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่
- Calicioglu, C.R. Kaspar, D.R. Buege, and J.B. Luchansky. 2001. Effectiveness of Spraying with Tween 20 and Lactic Acid in Decontaminating Inoculated *Escherichia coli* O157:H7 and Indigenous *Escherichia coli* Biotype I on Beef. *Journal of Food Protection* 65 : 26-32
- Huffman, R.D. 2002. Current and future technologies for the decontamination of Carcasses and fresh meat. *Meat Science* 62 : 285 – 294
- Mattict, A.T.S. ,and Hirsch., A. 1974. Further observation on an inhibitor (nisin) form lactic streptococci. *Lancet*. 2:5
- Orberg, P.K., and Sandine, W.E. 1984. Common occurrence of Plasmid DNA and Vancomycin resistance in *Leucunostoc spp.* *App .Env. Microbial*. 48:1129.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Prasai , R.K.,G.R.Acuff , L.M.Lucia.D.S.Hale ,J.W.Savell.and
J.B.Morgan.1991.Microbiological effects of acid decontamination of beef carcass
at various location in processing J.Food Prot 54:868-872
- Smulder , P.L.,J.W.Savell , G.R.Acuff.C.Vanderzant , and H.R.Cross.1986.Spray-chilling
and carcass decontamination systems using lactic and acetic.Meat sci.21 : 1-14



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

แบบ Triangle

ผลิตภัณฑ์ : เนื้อหมูสด

ชื่อ.....เพศ.....อายุ.....วันที่.....

คำชี้แจง : 1. กรุณาสั่งเกิดตัวอย่างแต่ละชุดตามลำดับจากซ้ายไปขวา ในแต่ละชุดมี 3 ตัวอย่างซึ่ง เป็นตัวอย่างที่เหมือนกัน 2 ตัวอย่าง ให้วงกลมล้อมรอบรหัสตัวอย่างที่ท่านพิจารณาว่าแตกต่าง

ลักษณะของผลิตภัณฑ์

ผลิตภัณฑ์ตัวอย่าง

สม

กลิ่น

2. กรุณาเลือกลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่ชอบมากที่สุดเรียงลำดับจากมากไปน้อย

สม

กลิ่น

ข้อเสนอแนะ.....

.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

ตารางมาตรฐานวิธี Triangle Test

TABLE T8
Critical Number of Correct Responses in a Triangle Test
 (Entries are $x_{\alpha,n}$)

Entries are the minimum number of correct responses required for significance at the stated α -level (i.e., column) for the corresponding number of respondents, n (i.e., row). Reject the assumption of "no difference" if the number of correct responses is greater than or equal to the tabled value.

n	α							n	α						
	0.40	0.30	0.20	0.10	0.05	0.01	0.001		0.40	0.30	0.20	0.10	0.05	0.01	0.001
3	2	2	3	3	3	—	—	31	12	13	14	15	16	18	20
4	3	3	3	4	4	—	—	32	12	13	14	15	16	18	20
5	3	3	4	4	4	5	—	33	13	13	14	15	17	18	21
6	3	4	4	5	5	6	—	34	13	14	15	16	17	19	21
7	4	4	4	5	5	6	7	35	13	14	15	16	17	19	22
8	4	4	5	5	6	7	8	36	14	14	15	17	18	20	22
9	4	5	5	6	6	7	8	42	16	17	18	19	20	22	25
10	5	5	6	6	7	8	9	48	18	19	20	21	22	25	27
11	5	5	6	7	7	8	10	54	20	21	22	23	25	27	30
12	5	6	6	7	8	9	10	60	22	23	24	26	27	30	33
13	6	6	7	8	8	9	11	66	24	25	26	28	29	32	35
14	6	7	7	8	9	10	11	72	26	27	28	30	32	34	38
15	6	7	8	8	9	10	12	78	28	29	30	32	34	37	40
16	7	7	8	9	9	11	12	84	30	31	33	35	36	39	43
17	7	8	8	9	10	11	13	90	32	33	35	37	38	42	45
18	7	8	9	10	10	12	13	96	34	35	37	39	41	44	48
19	8	8	9	10	11	12	14	102	36	37	39	41	43	46	50
20	8	9	9	10	11	13	14	108	38	40	41	43	45	49	53
21	8	9	10	11	12	13	15	114	40	42	43	45	47	51	55
22	9	9	10	11	12	14	15	120	42	44	45	48	50	53	57
23	9	10	11	12	13	14	16	126	44	46	47	50	52	56	60
24	10	10	11	12	13	15	16	132	46	48	50	52	54	58	62
25	10	11	11	12	13	15	17	138	48	50	52	54	56	60	64
26	10	11	12	13	14	15	17	144	50	52	54	56	58	62	67
27	11	11	12	13	14	16	18	150	52	54	56	58	61	65	69
28	11	12	12	14	15	16	18	156	54	56	58	61	63	67	72
29	11	12	13	14	15	17	19	162	56	58	60	63	65	69	74
30	12	12	13	14	15	17	19	168	58	60	62	65	67	71	76
								174	61	62	64	67	69	74	79
								180	63	64	66	69	71	76	81

Note: For values of n not in the table, compute $z = (k - 1(1/3)nk) / \sqrt{(2/9)n}$, where k is the number of correct responses. Compare the value of z to the α -critical value of a standard normal variable, i.e., the values in the last row of Table T5 ($z_\alpha = t_{\alpha,n}$).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

การคำนวณทางสถิติ

ศึกษาปริมาณเชื้อ *S.anatum* ในอาหารแต่ละชนิด เมื่อเวลาผ่านไป 6 ชั่วโมง

ใช้การวางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD ได้ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนดังนี้

Source	SS	df	MS	F	Sig.
Model	1.5E+18	6	2.5E+17	63.16	.000
Pediocin	2.1E+16	1	2.1E+16	5.33	.060
Lactic	9.5E+17	2	4.7E+17	120.99	.000
Pediocin xLactic	4.2E+16	2	2.1E+16	5.33	.047
Error	2.4E+16	6	3.9E+15		
Total	1.5E+18	12			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

นาย ธรรมรัช ศิริวงษ์ เกิดเมื่อวันที่ 17 สิงหาคม พ.ศ. 2524 ณ จังหวัดกรุงเทพฯ สำเร็จ
การศึกษาระดับ มัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียน ภ.ป.ร. ราชวิทยาลัย ในพระบรมราชูปถัมภ์
ในปี พ.ศ. 2541

นางสาว ธาวิณี อัมพูประภา เกิดเมื่อวันที่ 25 สิงหาคม พ.ศ. 2524 ณ จังหวัดกรุงเทพฯ
สำเร็จการศึกษาระดับ มัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนสตรีวิทยา 2 ในปีพ.ศ. 2541



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้