

การลดปริมาณเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคบางชนิดในกระบวนการผลิต  
ผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นไก่

REDUCTION OF SOME FOOD RISK PATHOGEN IN CHICKEN BALL  
PROCESSING



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของงานที่ศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2544

ISBN 974-648-190-8

การลดปริมาณเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคบางชนิดในกระบวนการผลิต  
ผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นไก่

REDUCTION OF SOME FOOD RISK PATHOGEN IN CHICKEN BALL  
PROCESSING



T095822

รัตนภัทร เทียงมิตร

RATTANAPATH TEINGMITH



ตขหญ.....  
เลขทะเบียน..... 95822  
วันเดือนปี..... 28 MAY 2009

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร  
บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2544

ISBN 974-648-190-8

REDUCTION OF SOME FOOD RISK PATHOGEN IN CHICKEN BALL  
PROCESSING



A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF  
MASTER OF SCIENCE IN FOOD SCIENCE  
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES  
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2001

ISBN 974-648-190-8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2001

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บัณฑิตวิทยาลัย  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคบางชนิดในกระบวนการผลิต  
ผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นไก่  
REDUCTION OF SOME FOOD RISK PATHOGENS IN CHICKEN  
BALL PROCESSING

ชื่อนักศึกษา นางสาวรัตนภัทร เทียงมิตร

รหัสประจำตัว 39066002

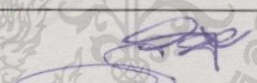
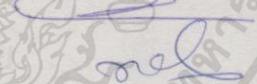
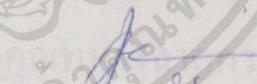
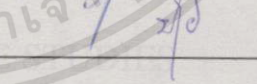
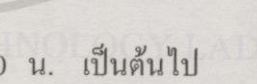
ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา วิทยาศาสตรการอาหาร

อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ รศ.ดร.วราวุฒิ ครูส่ง

อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ร่วม ผศ.ดร.ประภาพร ขอไพบุลย์

ผศ.เขवालักษณ์ สุรพันธ์พิศิษฐ์

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ลายมือชื่อ
รศ.ดร.วราวุฒิ ครูส่ง	
ผศ.ดร.ระติพร หาเรือนกิจ	
ดร.พอใจ ถามกร	
ผศ.เขवालักษณ์ สุรพันธ์พิศิษฐ์	
ผศ.ดร.ประภาพร ขอไพบุลย์	

วัน/เดือน/ปี ที่สอบ 11 เมษายน 2544 เวลา 10.00 น. เป็นต้นไป

สถานที่สอบ ณ ห้อง A-209 อาคารเจ้าคุณทหาร ชั้น 2 โซน A



วันที่...17...เดือน...พฤษภาคม...พ.ศ. 2544...

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การลดปริมาณเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคบางชนิดในกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นไก่
นักศึกษา	นางสาวรัตนภัทร เทียงมิตร
รหัสประจำตัว	39066002
ปริญญา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์การอาหาร
พ.ศ.	2544
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	รศ. ดร. วราวุฒิ ครุสง

### บทคัดย่อ

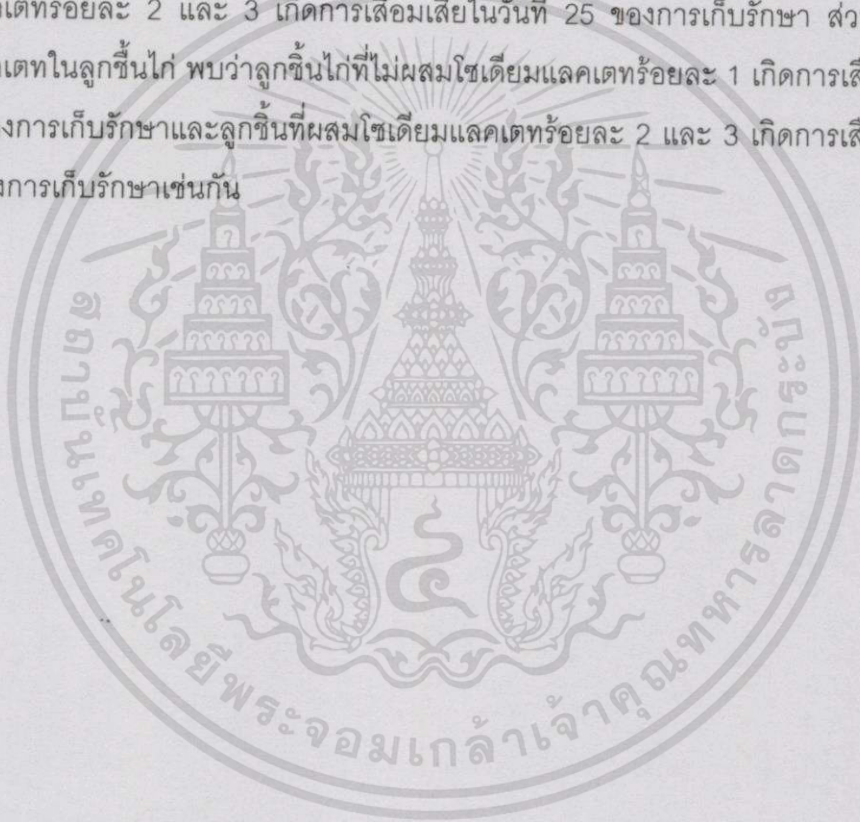
อุณหภูมิที่เหมาะสมในการขึ้นรูปลูกชิ้นไก่ในกระบวนการผลิตและได้ผลิตภัณฑ์ซึ่งเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค เท่ากับ 50 – 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที และเวลาที่เหมาะสมในการบ่มเชื้อเพื่อรักษาเซลล์ของ *Salmonella Enteritidis*, *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ที่บาดเจ็บ จากการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เวลา 0.5 1 2 และ 3 นาที คือ 2 4 4 และ 8 ชั่วโมง ตามลำดับ และที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เวลา 0.5 1 และ 2 นาที ของเชื้อ *S. Enteritidis* และ *E. coli* คือ 6 8 และ 10 ชั่วโมง ตามลำดับ ส่วน *Staph. aureus* คือ 4 6 และ 6 ชั่วโมง ตามลำดับ ในขณะที่ 3 นาที ตรวจไม่พบทุกเชื้อทุกชั่วโมงที่ pre – enrichment ส่วนที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส เวลา 0.5 และ 1 นาที เชื้อทั้งสามชนิดมีเวลา pre – enrichment ที่เหมาะสม คือ 10 และ 12 ชั่วโมง ตามลำดับ และที่ 2 นาที สำหรับเชื้อ *S. Enteritidis* และ *Staph. aureus* เท่ากับ 14 และ 12 ชั่วโมง ตามลำดับ ยกเว้น *E. coli* ตรวจไม่พบเชื้อทุกชั่วโมงที่ pre – enrichment ในขณะที่ 3 นาที ตรวจไม่พบทุกเชื้อทุกชั่วโมงที่ pre – enrichment

เชื้อ *S. Enteritidis* มีค่า D-value ที่อุณหภูมิ 65 70 และ 75 องศาเซลเซียส ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB เท่ากับ 33 27 และ 24 วินาที ตามลำดับ และมีอัตราการถูกทำลายที่อุณหภูมิดังกล่าว เท่ากับ 1.83 2.16 และ 2.50 log – unit/min ตามลำดับ ส่วนเชื้อ *E. coli* มีค่า D- value ในสภาวะเดียวกันเท่ากับ 31 24 และ 20 วินาที ตามลำดับ มีอัตราการถูกทำลายเท่ากับ 1.96 2.49 และ 2.94 log – unit/min ตามลำดับ ในขณะที่เชื้อ *Staph. aureus* มีค่า D- value ที่สภาวะเดียวกันเท่ากับ 37 31 และ 28 วินาที ตามลำดับ และมีอัตราการถูกทำลายเท่ากับ 1.63 1.94 และ 2.15 log- unit/min ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

D-value ของเชื้อ *S. Enteritidis* *E. coli* และ *Staph. aureus* ในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นไก่ พบว่า ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส มีค่าเท่ากับ 1.11 1.05 และ 1.15 นาที ตามลำดับ ในขณะที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ค่า D-value ของ *Staph. aureus* มีค่าเท่ากับ 1.02 นาที

การศึกษาการแช่และผสมโซเดียมแลคเตทในลูกชิ้นไก่บรรจุถุงพลาสติกปิดผนึกด้วยเครื่องปิดผนึกแบบสูญญากาศ และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน พบว่า ตรวจไม่พบเชื้อ *S. Enteritidis* *E. coli* และ *Staph. aureus* ทั้งในตัวอย่างที่ใช้และไม่ใช้โซเดียมแลคเตท แต่การตรวจปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดของการแช่ลูกชิ้นไก่ในสารละลายโซเดียมแลคเตท พบว่าลูกชิ้นไก่ที่ไม่แช่สารละลายโซเดียมแลคเตทและแช่โซเดียมแลคเตทร้อยละ 1 เกิดการเสื่อมเสีย (ปริมาณจุลินทรีย์เท่ากับ  $10^8$  CFU/25 g) ในวันที่ 15 ของการเก็บรักษาและลูกชิ้นที่แช่สารละลายโซเดียมแลคเตทร้อยละ 2 และ 3 เกิดการเสื่อมเสียในวันที่ 25 ของการเก็บรักษา ส่วนการผสมโซเดียมแลคเตทในลูกชิ้นไก่ พบว่าลูกชิ้นไก่ที่ไม่ผสมโซเดียมแลคเตทร้อยละ 1 เกิดการเสื่อมเสียในวันที่ 15 ของการเก็บรักษาและลูกชิ้นที่ผสมโซเดียมแลคเตทร้อยละ 2 และ 3 เกิดการเสื่อมเสียในวันที่ 30 ของการเก็บรักษาเช่นกัน



Thesis Title	Reduction of Some Food Risk Pathogens in Chicken Ball Processing
Student	Miss Rattanapath Teingmith
Student ID.	39066002
Degree	Master of Science
Programme	Food Science
Year	2001
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Dr. Warawut Krusong

### ABSTRACT

The optimum setting temperature of chicken ball processed which provided highest acceptable from panelist was 50 – 55 °C for 10 min. The pre-enrichment period to treat injured cell of *Salmonella Enteritidis*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* from thermal processing at 65 °C for 0.5, 1, 2 and 3 min were 2, 4, 4 and 8 hours, respectively. At 70 °C of processing temperature for 0.5, 1 and 2 min, the pre-enrichment period of *S. Enteritidis* and *E. coli* were 6, 8 and 10 hours while 4, 6 and 6 hours for *Staph. aureus*. In addition, all injured cells couldn't be detected at anytime of pre-enrichment at 70 °C processing temperature for 3 min. In case of 75 °C processing temperature for 5 and 1 min, the pre-enrichment period was for 10 and 12 hours while for 2 min *S. Enteritidis* and *Staph. aureus* had pre-enrichment period for 14 and 12 hours respectively, except *E.coli* couldn't be detected for all pre-enrichment period. In addition, three organisms could not be detected in every pre-enrichment for 3 min of 75 °C of processing temperature.

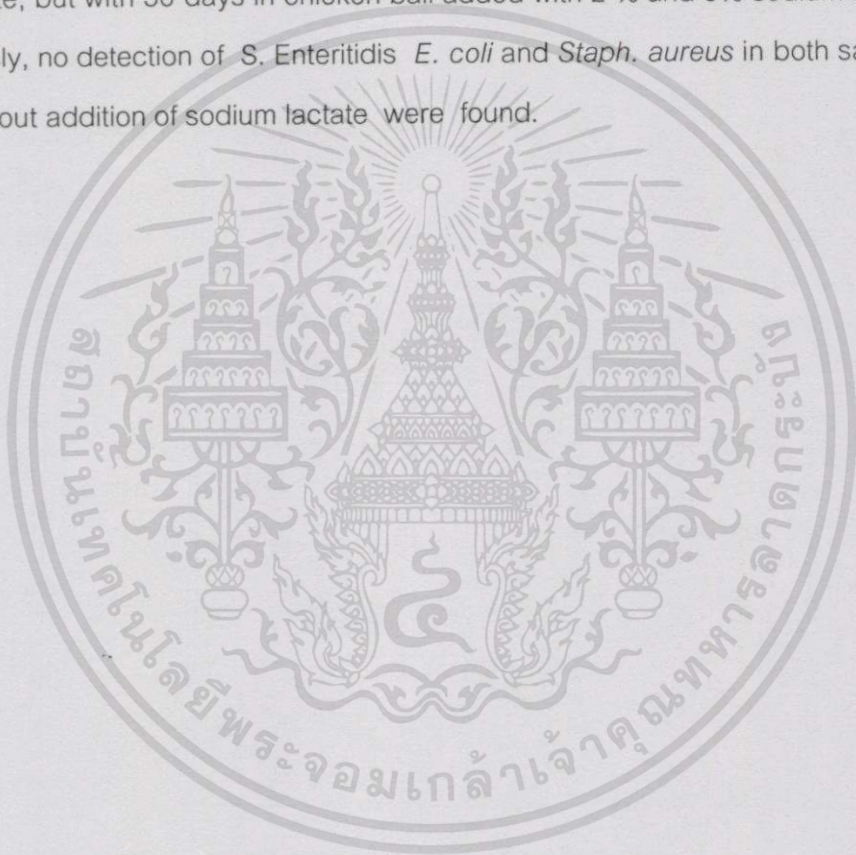
In determination of D-value of three organisms at 65, 70 and 75 °C in TSB media, it found that D-value of *S. Enteritidis* was 33, 27 and 24 sec., respectively. The lethal rate equaled to 1.83, 2.16 and 2.50 log-unit/min, respectively. While D-value of *E. coli* was 31, 24 and 20 sec. and its lethal rate equaled to 1.96, 2.49 and 2.94 log-unit/min, respectively. In addition, D-value of *Staph. aureus* was 37, 31 and 28 sec. while its lethal rate equaled to 1.63, 1.94 and 2.15 log-unit/min, respectively.

To determine D-value of three organisms in chicken ball, the D-value of *S. Enteritidis*, *E. coli* and *Staph. aureus* at 65 °C were 1.11, 1.05 and 1.15 mins

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

respectively. While D- value of *Staph. aureus* at 70 °C was 1.02 min.

Soaking of chicken ball in sodium lactate solution, vaccum packing and storing at 4 °C for 30 days, the *S. Enteritidis*, *E. coli* and *Staph. aureus* could not be detected in both soaked and unsoaked samples. Simultaneously, TPC of soaked chicken ball at 0 % and 1 % sodium lactate solution reached  $10^8$  CFU/25g after 15 days while soaked chicken ball at 2 % and 3 % of sodium lactate solution reached  $10^8$  CFU /25g at 25 days. In case of adding and mixing of sodium lactate in processed chicken ball, it found that TPC reached  $10^8$  CFU/25g within 15 days in chicken ball added with 0 % and 1% sodium lactate, but with 30 days in chicken ball added with 2 % and 3% sodium lactate. Simultaneously, no detection of *S. Enteritidis*, *E. coli* and *Staph. aureus* in both samples with and without addition of sodium lactate were found.



# กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ดี เนื่องจากได้รับความกรุณาจาก รศ. ดร. วราวุฒิ ครูสง ที่ได้ให้เกียรติเป็นอาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ ผศ.ดร. ประภาพร ขอไพบุลย์ และ ผศ. เยาวลักษณ์ สุรพันธ์พิศิษฐ์ ที่ได้ให้เกียรติเป็นอาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ร่วม กรุณาให้ความรู้และคำแนะนำอันมีค่าและเป็นประโยชน์ ตลอดจนช่วยตรวจทานและแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ ข้าพเจ้ารู้สึกซาบซึ้งและขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร. ระติพร หาเรือนกิจ และ ดร. พอใจ ถาமாகร ที่ได้ให้เกียรติเป็นคณะกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์อีกทั้งช่วยตรวจสอบและแก้ไขรวมทั้งให้คำแนะนำจนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร. สมชาย กล้าหาญ ภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร ที่ให้ความกรุณาในการใช้เครื่องบรรจุสุญญากาศสำหรับการบรรจุผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นไก่

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์อดิศร เสวตวิวัฒน์ ที่ได้กรุณาให้ความรู้และคำแนะนำต่างๆแก่ข้าพเจ้าเป็นอย่างดี

ขอขอบพระคุณ คุณอัสนี จิรวินุลย์เวช และเจ้าหน้าที่ของภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตรทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือในแง่วิชาการครั้งนี้

ขอขอบคุณ คุณอรวรรณ ปานศิริ พร้อมด้วย พี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ นักศึกษาปริญญาโททุกคนที่ให้การช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้จนเสร็จลุล่วงไปด้วยดี

สุดท้ายขอขอบพระคุณ คุณยาย คุณพ่อ คุณแม่ และพี่น้องที่เป็นกำลังใจและให้การสนับสนุนทุนในการศึกษาด้วยดีตลอดระยะเวลาที่ผ่านมา

คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ข้าพเจ้าขอมอบแต่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

รัตนภัทร เทียงมิตร

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	III
กิตติกรรมประกาศ.....	V
สารบัญ.....	VI
สารบัญตาราง.....	IX
สารบัญภาพ.....	XIII
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 ขอบเขตของการวิจัย.....	2
1.3 วัตถุประสงค์.....	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 ลูกชิ้น.....	3
2.2 เชื้อจุลินทรีย์บางชนิดที่ก่อให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพผู้บริโภค.....	4
2.3 จุลินทรีย์ที่ใช้เป็นตัวกำหนดคุณภาพด้านจุลชีววิทยาของอาหาร.....	7
2.4 อาหารเป็นพิษและการเกิดโรคจากอาหาร.....	8
2.5 วิธีการถนอมอาหารโดยใช้ความร้อน.....	9
2.6 การทำลายจุลินทรีย์ด้วยความร้อน.....	11
2.7 ปัจจัยที่มีผลต่อความต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์.....	13
2.8 การให้โซเดียมแลคเตทในการลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในเนื้อและ ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์.....	17
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ.....	21
3.1 วัตถุประสงค์.....	21
3.2 อุปกรณ์ในการผลิต.....	21
3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง.....	22
3.4 สถานที่ทำการทดลอง.....	22
3.5 วิธีการทดลอง.....	22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และ VI อังอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

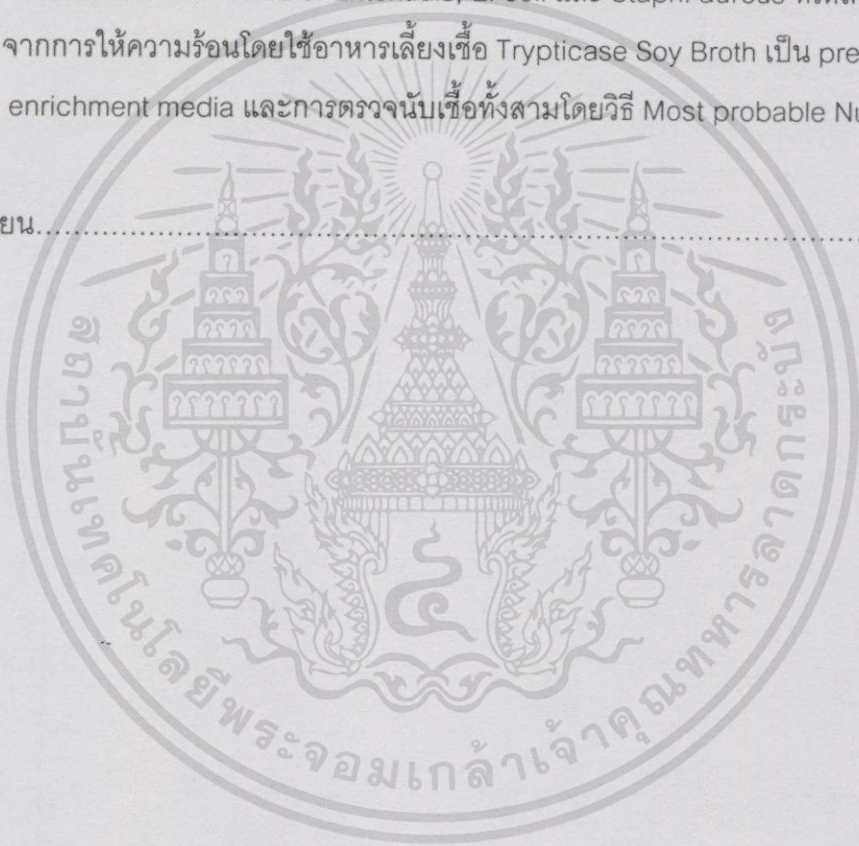
# สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์.....	28
4.1 อุณหภูมิในการขึ้นรูปของลูกชิ้นไก่และการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิภายใน ลูกชิ้นขณะให้ความร้อนในหม้อน้ำร้อนชุดแรกและชุดที่สองต่อลักษณะปรากฏ ของลูกชิ้น.....	28
4.2 ผลของอุณหภูมิที่มีต่อการอยู่รอดของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคบางชนิด ในอาหารเลี้ยงเชื้อ.....	30
4.2.1 เวลาสำหรับการ pre – enrichment ที่เหมาะสมในการตรวจหาเชื้อ <i>Salmonella Enteritidis</i> , <i>E. coli</i> และ <i>Staph. aureus</i> เมื่อผ่านการให้ ความร้อนที่อุณหภูมิ 65 70 และ 75 องศาเซลเซียส ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB.....	30
4.2.2 การอยู่รอดของเชื้อ <i>S. Enteritidis</i> , <i>E.coli</i> และ <i>Staph. aureus</i> ที่ อุณหภูมิ 65 70 และ 75 องศาเซลเซียส ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB.....	36
4.3 ผลของอุณหภูมิที่มีต่อเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคบางชนิดในลูกชิ้นไก่.....	41
4.4 ผลของการใช้สารละลายโซเดียมแลคเตทต่ออายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ ลูกชิ้นไก่.....	48
4.4.1 การแช่ลูกชิ้นในสารละลายโซเดียมแลคเตท.....	48
4.4.2 การผสมสารละลายโซเดียมแลคเตทลงไปในส่วนผสมของลูกชิ้นไก่.....	51
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง.....	55
บรรณานุกรม.....	58
ภาคผนวก.....	62
ก. การเตรียมสารละลายบริสุทธิ์.....	62
ข. ตารางการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านความชอบโดยรวมของผู้ชิมที่มีต่อ ลูกชิ้นไก่และส่วนผสมลูกชิ้นไก่.....	64
ค. การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของลูกชิ้นและน้ำร้อนในระหว่างกระบวนการผลิต ลูกชิ้นไก่.....	67

# สารบัญ (ต่อ)

หน้า

ง. การคำนวณค่า D – value และอัตราการถูกทำลายของเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Broth ในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นไก่.....	74
จ. ตารางแสดงปริมาณเชื้อ S. Enteritidis E. coli และ Staph. aureus ที่เหลือรอดในลูกชิ้นไก่ที่ผ่านการแช่สารละลายโซเดียมแลคเตทความเข้มข้นร้อยละ 0 1 2 และ 3 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส.....	80
ฉ. การตรวจนับปริมาณเชื้อ S. Enteritidis, E. coli และ Staph. aureus ที่เหลือรอดจากการให้ความร้อนโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Broth เป็น pre – enrichment media และการตรวจนับเชื้อทั้งสามโดยวิธี Most probable Number..	84
ประวัติผู้เขียน.....	89



# สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ผลของการทดลองความต้านทานความร้อนของสปอร์จุลินทรีย์.....	11
2.2 แสดงเวลาที่ใช้ในการฆ่าเชื้อสปอร์ของแบคทีเรียโดยใช้ความร้อนขึ้นและความร้อนแห้ง.....	15
2.3 ปริมาณกรดแลคติกในอาหารทั่วไป.....	19
2.4 ความสามารถของไซโตเคอแลคเตทในการลดค่าวอเตอร์แอกทีวิตี้เมื่อเติมเกลือ ไซโตเคอแลคโตไรต์ร้อยละ 1.5 ในได้กรอก.....	20
3.1 ระยะเวลาในการบ่มเชื้อในอาหาร TSB ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ภายหลังจาก ให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่างๆเป็นเวลา 0.5 1 2 และ 3 นาที ตามลำดับ.....	24
4.1 ลักษณะปรากฏของลูกชิ้นที่อุณหภูมิการขึ้นรูปต่างๆ.....	29
4.2 ปริมาณเชื้อ <i>S. Enteritidis</i> <i>E. coli</i> และ <i>Staph. aureus</i> ที่รอดชีวิต เมื่อผ่านการให้ ความร้อนที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เวลา 0.5 1 2 และ 3 นาที ที่ช่วงเอนริชเมนต์ pre – enrichment ต่างๆ.....	32
4.3 ปริมาณเชื้อ <i>S. Enteritidis</i> <i>E. coli</i> และ <i>Staph. aureus</i> ที่รอดชีวิต เมื่อผ่านการให้ ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เวลา 0.5 1 2 และ 3 นาที ที่ช่วงเอนริชเมนต์ pre – enrichment ต่างๆ.....	33
4.4 ปริมาณเชื้อ <i>S. Enteritidis</i> <i>E. coli</i> และ <i>Staph. aureus</i> ที่รอดชีวิต เมื่อผ่านการให้ ความร้อนที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส เวลา 0.5 1 2 และ 3 นาที ที่ช่วงเอนริชเมนต์ pre – enrichment ต่างๆ.....	34
4.5 สรุปเวลาที่เหมาะสมในการ pre – enrichment เชื้อ <i>S. Enteritidis</i> <i>E. coli</i> และ <i>Staph. aureus</i> ที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 65 70 และ 75 องศาเซลเซียส ณ เวลา ต่างๆ.....	35
4.6 ปริมาณเชื้อ <i>S. Enteritidis</i> ที่รอดชีวิตเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 65 70 และ 75 องศาเซลเซียส ณ เวลา ต่างๆ ( ปริมาณเชื้อเริ่มต้น $3.7 \times 10^5$ CFU/ml ).....	37
4.7 ปริมาณเชื้อ <i>E. coli</i> ที่รอดชีวิตเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 65 70 และ 75 องศาเซลเซียส ณ เวลา ต่างๆ ( ปริมาณเชื้อเริ่มต้น $3.7 \times 10^5$ CFU/ml ).....	37
4.8 ปริมาณเชื้อ <i>Staph. aureus</i> ที่รอดชีวิตเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 65 70 และ 75 องศาเซลเซียส ณ เวลา ต่างๆ ( ปริมาณเชื้อเริ่มต้น $4.2 \times 10^5$ CFU/ml ).....	38
4.9 แสดงค่า D – value ของเชื้อ <i>S. Enteritidis</i> <i>E. coli</i> และ <i>Staph. aureus</i> ในอาหาร TSB ที่อุณหภูมิ 65 70 และ 75 องศาเซลเซียส ตามลำดับ.....	40

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.10 แสดงอัตราการถูกทำลาย (lethal rate) ของเชื้อ <i>S. Enteritidis</i> , <i>E. coli</i> และ <i>Staph. aureus</i> ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่อุณหภูมิ 65 70 และ 75 องศาเซลเซียส ตามลำดับ.....	41
4.11 ปริมาณเชื้อ <i>S. Enteritidis</i> ที่รอดชีวิต (MPN/25g) ในลูกชิ้นเมื่อผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิภายในเท่ากับ 65 70 และ 75 องศาเซลเซียส (เชื้อเริ่มต้น $1.70 \times 10^5$ MPN/25g).....	43
4.12 ปริมาณเชื้อ <i>E. coli</i> ที่รอดชีวิต (MPN/25g) ในลูกชิ้นเมื่อผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิภายในเท่ากับ 65 70 และ 75 องศาเซลเซียส (เชื้อเริ่มต้น $2.5 \times 10^5$ MPN/25g).....	43
4.13 ปริมาณเชื้อ <i>Staph. aureus</i> ที่รอดชีวิต (MPN/25g) ในลูกชิ้นเมื่อผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิภายในเท่ากับ 65 70 และ 75 องศาเซลเซียส (เชื้อเริ่มต้น $2.5 \times 10^5$ MPN/25g).....	43
4.14 แสดงค่า D- value ของเชื้อ <i>S. Enteritidis</i> , <i>E. coli</i> และ <i>Staph. aureus</i> ในลูกชิ้นไก่ ที่อุณหภูมิ 65 70 และ 75 องศาเซลเซียส ตามลำดับ.....	45
4.15 แสดงอัตราการถูกทำลาย (lethal rate) ของเชื้อ <i>S. Enteritidis</i> , <i>E. coli</i> และ <i>Staph. aureus</i> ในลูกชิ้นไก่ ที่อุณหภูมิ 65 70 และ 75 องศาเซลเซียส ตามลำดับ.....	45
4.16 ปริมาณเชื้อ <i>S. Enteritidis</i> (MPN/25g) ในลูกชิ้นไก่ เมื่อผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 – 55 องศาเซลเซียส ในหม้อต้มน้ำร้อนแรก (เพื่อขึ้นรูปลูกชิ้นไก่) ที่เวลา 5 และ 10 นาที (เชื้อเริ่มต้น $1.70 \times 10^5$ MPN/25g).....	47
4.17 ปริมาณเชื้อ <i>E. coli</i> (MPN/25g) ในลูกชิ้นไก่ เมื่อผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 – 55 องศาเซลเซียส ในหม้อต้มน้ำร้อนแรก (เพื่อขึ้นรูปลูกชิ้นไก่) ที่เวลา 5 และ 10 นาที (เชื้อเริ่มต้น $2.25 \times 10^5$ MPN/25g).....	47
4.18 ปริมาณเชื้อ <i>Staph. aureus</i> (MPN/25g) ในลูกชิ้นไก่ เมื่อผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 – 55 องศาเซลเซียส ในหม้อต้มน้ำร้อนแรก (เพื่อขึ้นรูปลูกชิ้นไก่) ที่เวลา 5 และ 10 นาที (เชื้อเริ่มต้น $2.50 \times 10^5$ MPN/25g).....	47
4.19 ปริมาณเชื้อ <i>S. Enteritidis</i> (MPN/25g) ในลูกชิ้นไก่ เมื่อผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 – 55 องศาเซลเซียส ในหม้อต้มน้ำร้อนแรก ที่เวลา 5 และ 10 นาที.....	48

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.20 ปริมาณเชื้อ <i>E. coli</i> (MPN/25g) ในลูกชิ้นไก่ เมื่อผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 – 55 องศาเซลเซียส ในหม้อต้มน้ำร้อนแรก ที่เวลา 5 และ 10 นาที.....	49
4.21 ปริมาณเชื้อ <i>Staph. aureus</i> (MPN/25g) ในลูกชิ้นไก่ เมื่อผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 – 55 องศาเซลเซียส ในหม้อต้มน้ำร้อนแรก ที่เวลา 5 และ 10 นาที.....	49
4.22 ผลของการแช่ลูกชิ้นไก่ในสารละลายโซเดียมแลคเตทที่ความเข้มข้นร้อยละ 0 1 2 และ 3 ต่อปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (total plate count) (CFU/25 g) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาต่างๆ.....	50
4.23 ผลการผสมสารละลายโซเดียมแลคเตทร้อยละ 0 1 2 และ 3 ต่อปริมาณเชื้อ <i>S. Enteritidis</i> (MPN/ 25g) ในลูกชิ้นไก่ เมื่อผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 – 55 องศาเซลเซียส ในหม้อต้มน้ำแรก (สำหรับขึ้นรูปลูกชิ้น) ที่เวลา 5 และ 10 นาที.....	52
4.24 ผลการผสมสารละลายโซเดียมแลคเตทร้อยละ 0 1 2 และ 3 ต่อปริมาณเชื้อ <i>E. coli</i> (MPN/ 25g) ในลูกชิ้นไก่ เมื่อผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 – 55 องศาเซลเซียส ในหม้อต้มน้ำแรก (สำหรับขึ้นรูปลูกชิ้น) ที่เวลา 5 และ 10 นาที.....	52
4.25 ผลการผสมสารละลายโซเดียมแลคเตทร้อยละ 0 1 2 และ 3 ต่อปริมาณเชื้อ <i>Staph. aureus.</i> (MPN/ 25g) ในลูกชิ้นไก่ เมื่อผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 – 55 องศาเซลเซียส ในหม้อต้มน้ำแรก (สำหรับขึ้นรูปลูกชิ้น) ที่เวลา 5 และ 10 นาที.....	53
4.26 ผลของการผสมสารละลายโซเดียมแลคเตทในลูกชิ้นไก่ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0 1 2 และ 3 ต่อปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (total plate count) (CFU/ 25 g) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาต่างๆ.....	53
 ตารางภาคผนวกที่	
1 คະແນນການທດສອບທາງປະສາທສົມມັດດ້ານຄວາມຂອບດ້ວຍຮວມຂອງຜູ້ຊົມທີ່ມີຕອລູກຊີ້ນໄກ່.....	66
2. แสดงปริมาณเชื้อ <i>S. Enteritidis</i> ที่เหลือรอดในลูกชิ้นไก่ที่ผ่านการแช่สารละลายโซเดียมแลคเตทความเข้มข้นร้อยละ 0 1 2 และ 3 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ระยะเวลาต่างๆ.....	81
3. แสดงปริมาณเชื้อ <i>E. coli</i> ที่เหลือรอดในลูกชิ้นไก่ที่ผ่านการแช่สารละลายโซเดียมแลคเตทความเข้มข้นร้อยละ 0 1 2 และ 3 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ระยะเวลาต่างๆ.....	81

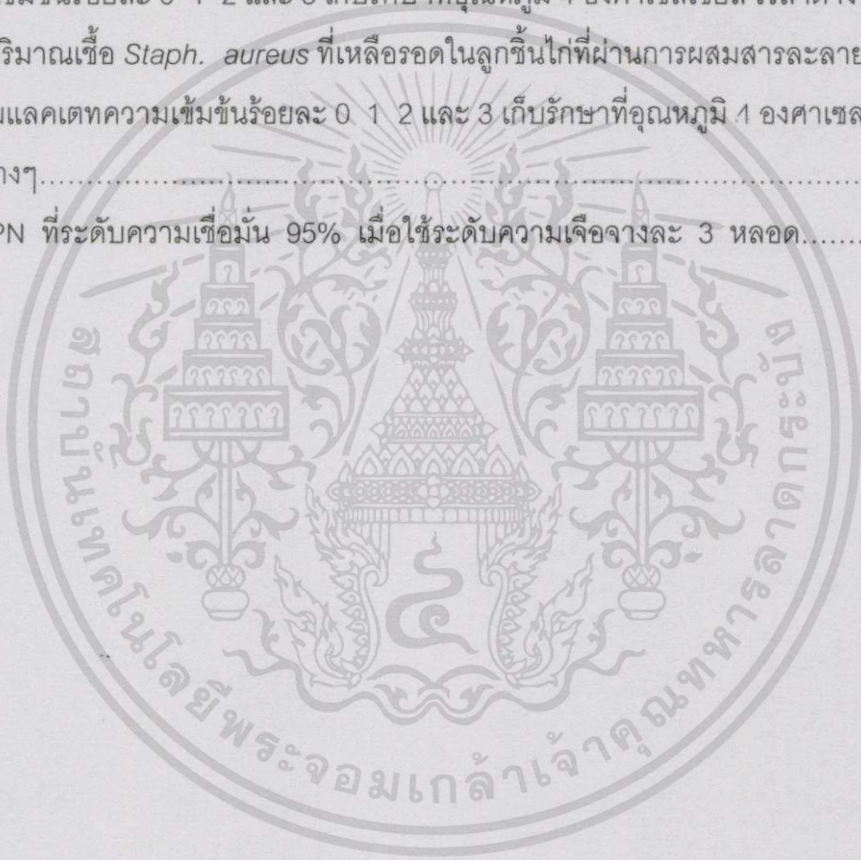
4. แสดงปริมาณเชื้อ *Staph. aureus* ที่เหลือรอดในลูกชิ้นไก่ที่ผ่านการแช่สารละลายโซเดียมแลคเตทความเข้มข้นร้อยละ 0 1 2 และ 3 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เวลาต่างๆ.....82

5. แสดงปริมาณเชื้อ *S. Enteritidis* ที่เหลือรอดในลูกชิ้นไก่ที่ผ่านการผสมสารละลายโซเดียมแลคเตทความเข้มข้นร้อยละ 0 1 2 และ 3 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เวลาต่างๆ.....82

6. แสดงปริมาณเชื้อ *E. coli* ที่เหลือรอดในลูกชิ้นไก่ที่ผ่านการผสมสารละลายโซเดียมแลคเตทความเข้มข้นร้อยละ 0 1 2 และ 3 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เวลาต่างๆ.....83

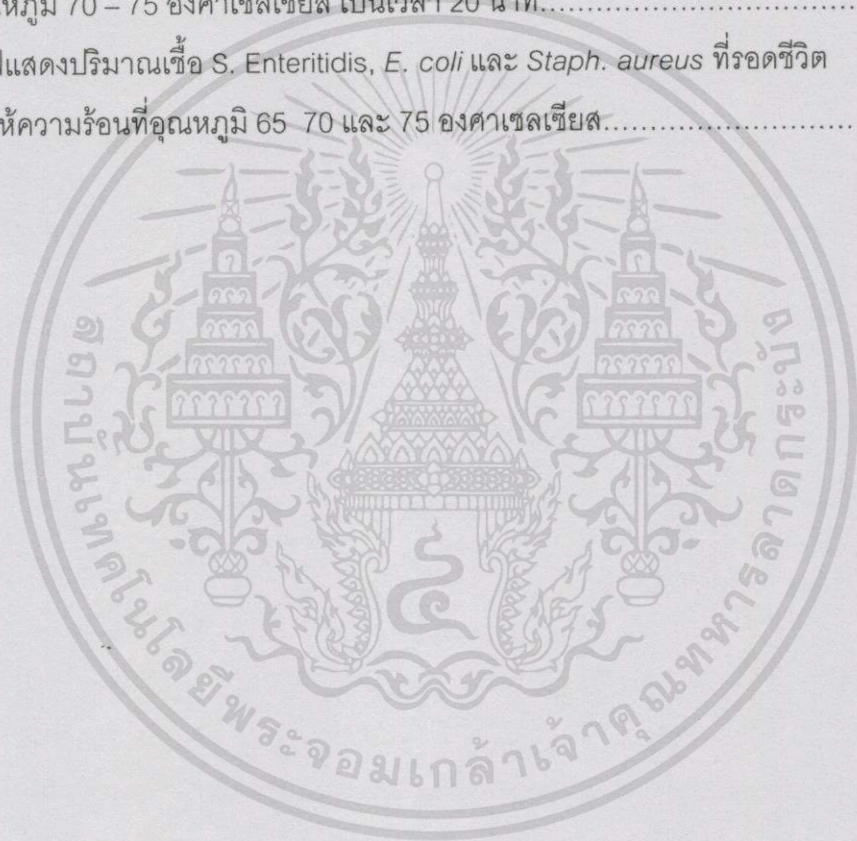
7. แสดงปริมาณเชื้อ *Staph. aureus* ที่เหลือรอดในลูกชิ้นไก่ที่ผ่านการผสมสารละลายโซเดียมแลคเตทความเข้มข้นร้อยละ 0 1 2 และ 3 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เวลาต่างๆ.....83

8. ค่า MPN ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อใช้ระดับความเค็จจางละ 3 หลอด.....88



# สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1.1 Survivor curve ที่อุณหภูมิคงที่.....	12
1.2 การหาค่า D จากค่า survivor curve.....	12
4.1 การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิภายในลูกชิ้นและน้ำต้มลูกชิ้นในระหว่างการให้ความร้อนในหม้อ ต้มลูกชิ้น 2 ช่วง : ช่วงแรกในการขึ้นรูปลูกชิ้นในหม้อต้มที่ 1 ที่อุณหภูมิ 50 – 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที และช่วงที่สองในหม้อต้มที่ 2 ที่อุณหภูมิ 70 – 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที.....	29
4.2 กราฟแสดงปริมาณเชื้อ <i>S. Enteritidis</i> , <i>E. coli</i> และ <i>Staph. aureus</i> ที่รอดชีวิตเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 65 70 และ 75 องศาเซลเซียส.....	39



# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ลูกชิ้นเป็นผลิตภัณฑ์ที่ทำได้จากเนื้อสัตว์หลายชนิด เช่น เนื้อหมู เนื้อวัว เนื้อไก่ และเนื้อปลา และยังมีส่วนประกอบอื่นๆ อีก ได้แก่ เครื่องเทศ เครื่องปรุงรส และวัตถุเจือปนในอาหาร โดยการนำมาบดอย่างละเอียดและผสมจนรวมเป็นเนื้อเดียวกัน ทำให้เป็นรูปร่างตามต้องการ แล้วลวกให้สุก (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2533) ปัจจุบันนิยมบริโภคลูกชิ้นกันมากเนื่องจากรับประทานได้ง่าย สะดวกและสามารถนำไปประกอบอาหารได้หลายชนิด กระบวนการผลิตไม่ยุ่งยากซับซ้อน จึงทำให้มีการผลิตและบริโภคกระจายกันอยู่ทั่วไปในทุกๆภาคของประเทศไทย ในการผลิตลูกชิ้นอาจมีปัญหาลหลายประการที่มีผลต่อคุณภาพและความปลอดภัยในการบริโภคผลิตภัณฑ์ลูกชิ้น เริ่มตั้งแต่วัตถุดิบ กระบวนการผลิตจนกระทั่งได้ผลิตภัณฑ์สุดท้าย เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศเขตร้อนชื้น ทำให้จุลินทรีย์และเชื้อโรคต่างๆเจริญเติบโตดีและระบาดรวดเร็วได้ง่ายเนื้อสัตว์จึงเน่าเสียง่าย

เนื้อสัตว์ที่ใช้ในส่วนผสมถ้าเป็นเนื้อไก่ประกอบด้วย(ร้อยละ)น้ำ 74 โปรตีน 19 ไขมัน 5 เถ้า 0.8 รวมถึงแร่ธาตุและวิตามิน ซึ่งประกอบด้วย (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม) แคลเซียม 12 ฟอสฟอรัส 200 ไนอาซิน 5.6 และวิตามินเอ 730 หน่วยสากล (ลัดดาวัลย์ รัชมิตต์. 2536) ซึ่งสารอาหารเหล่านี้เหมาะต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่อาจทำให้เนื้อไก่หรืออาหารที่มีเนื้อไก่เป็นส่วนประกอบ เช่น ลูกชิ้นไก่ เกิดการเน่าเสียได้ โดยทั่วไปการผลิตอาหารให้มีคุณภาพดีเพื่อจำหน่ายในท้องตลาดสิ่งที่สำคัญคือต้องทำให้มีจำนวนจุลินทรีย์หลงเหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์ในระดับต่ำที่สุด ทั้งนี้เพื่อประโยชน์ในด้านการยืดอายุการเก็บของอาหารที่ผลิตให้อยู่ได้นาน รวมถึงความปลอดภัยของผู้บริโภค จำนวนและชนิดของจุลินทรีย์ที่พบในผลิตภัณฑ์ที่ผ่านกระบวนการผลิตแล้วมักมีสาเหตุมาจากสภาพแวดล้อมเริ่มต้นของแหล่งวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิต คุณภาพทางจุลชีววิทยาของวัตถุดิบ สุขลักษณะที่ดีในการผลิต นอกจากนั้นการใช้บรรจุภัณฑ์ การขนส่ง และสภาพการเก็บผลิตภัณฑ์ต้องดีพอที่จะทำให้จุลินทรีย์คงอยู่ในปริมาณที่ต่ำ(อดิศร เสวตวิวัฒน์และคณะ. 2537)

ขั้นตอนต่างๆของกระบวนการผลิตลูกชิ้นมีกระบวนการผลิตที่ค่อนข้างจะแน่นอน แต่มีปัจจัยและองค์ประกอบมากมายที่อาจก่อให้เกิดการปนเปื้อนและเกิดอันตราย งานวิจัยนี้จึงศึกษาหาแนวทางการลดปริมาณเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคบางชนิดในกระบวนการผลิตลูกชิ้นไก่ เป็นการเสนอแนวทางการนำไปใช้ประโยชน์จากการให้ความร้อนแก่ผลิตภัณฑ์ได้อย่างถูกต้อง อีกทั้งยังก่อให้เกิดความ

มั่นใจยิ่งขึ้นในความปลอดภัยของอาหารสำเร็จรูปที่ผ่านความร้อนภายใต้ระยะเวลาที่เหมาะสม ทำให้ผู้บริโภคได้รับประทานผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นที่มีคุณภาพและปลอดภัย

## 1.2 ขอบเขตของการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาอุณหภูมิในการขึ้นรูปของลูกชิ้นที่เหมาะสมและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค และศึกษาการหาค่า D-value ของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคบางชนิดที่อุณหภูมิต่างๆทั้งที่อยู่ในรูปสารละลายเชื้อและเชื้อในลูกชิ้นไก่ และศึกษาถึงผลของการใช้โซเดียมแลคเตทต่อการยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นไก่เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพดีและมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

## 1.3 วัตถุประสงค์

1. ศึกษาอุณหภูมิในการทำให้ลูกชิ้นไก่เกิดการขึ้นรูปและการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิภายในลูกชิ้นขณะให้ความร้อนในระหว่างการขึ้นรูปในหม้อต้มน้ำร้อนชุดแรก และการทำให้สุกในหม้อน้ำร้อนชุดที่สอง
2. ศึกษาอุณหภูมิที่มีผลต่อการอยู่รอดของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคบางชนิดในอาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Broth โดยหาค่า D - value และเวลาที่เหมาะสมในการบ่มเชื้อที่บาดเจ็บจากการให้ความร้อน
3. ศึกษาการหาค่า D- value ของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคบางชนิดที่ผสมอยู่ในลูกชิ้นไก่
4. ศึกษาผลของการแช่และผสมสารละลายโซเดียมแลคเตทต่อการยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นไก่

## ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

### 2.1 ลูกชิ้น

ลูกชิ้นเป็นผลิตภัณฑ์เนื้อชนิดบดละเอียดอิมัลชัน ซึ่งมีขั้นตอนการบดและสับละเอียดเหมือนกับการทำไส้กรอกบดละเอียดอิมัลชันและหมุยอ เพื่อให้เกิดส่วนผสมที่มีลักษณะเหนียวและขณะที่สับละเอียดจะต้องควบคุมอุณหภูมิไม่ให้เกิน 15 องศาเซลเซียส เพื่อรักษาความคงทนของอิมัลชัน นอกจากนี้การทำลูกชิ้นให้มีคุณภาพดี คือมีความเหนียวยืดหยุ่นดีนั้นต้องขึ้นอยู่กับเทคนิคในการปั้นลูกชิ้นด้วย คือ ต้องบีบให้แน่นก่อนที่จะตัดลูกชิ้นใส่ลงหม้อน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 65 – 80 องศาเซลเซียส (สุจิตรา เลิศพุกข. 2531)

ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก. 1009 -2533) กำหนดคุณลักษณะของลูกชิ้นที่ต้องการคือ มีสีที่สม่ำเสมอตามลักษณะเนื้อสัตว์ที่ใช้ทำ มีกลิ่นหอมน่ารับประทาน รสดี ปราศจากกลิ่นแปลกปลอมอื่นๆ ลักษณะเนื้อละเอียดเป็นเนื้อเดียวกัน ไม่ยุ่ย ไม่ควรมีฟองอากาศ และจำนวนจุลินทรีย์ที่อาจมีในลูกชิ้นต้องไม่เกินเกณฑ์ที่กำหนดดังนี้

- จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตัวอย่างจากแหล่งผลิต ต้องไม่เกิน  $1 \times 10^4$  โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม
- ตัวอย่างจากที่จำหน่าย ต้องไม่เกิน  $1 \times 10^6$  โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม
- เอสเชอริเชีย โคไล (*Escherichia coli*) โดยวิธีเอ็มพีเอ็น (MPN) น้อยกว่า 3 ในตัวอย่าง 1 กรัม
- ซาลโมเนลลา (*Salmonella*) ต้องไม่พบในตัวอย่าง 25 กรัม
- สตาฟีโลคอคคัส ออเรียส (*Staphylococcus aureus*) ต้องไม่พบในตัวอย่างอาหาร 0.1 กรัม

ลูกชิ้นไก่เป็นผลิตภัณฑ์เนื้อชนิดหนึ่งที่มีผู้นิยมบริโภคเพิ่มขึ้น ผลิตโดยใช้เนื้อไก่จากโรงงานฆ่าและชำแหละไก่ ซึ่งมีวิธีทำดังนี้ ( นฤตม บุญหลง. 2533 )

ก. ขั้นตอนเตรียมวัตถุดิบ ไก่ ใช้เนื้อส่วนนอก และสันใน ไม่มีหนังปน หากใช้ส่วนอื่นของไก่จะทำให้เนื้อสัมผัสไม่ดี

ข. ขั้นตอนล้างทำความสะอาด คัดเอาเศษกระดูกออก ตัดเนื้อที่เสียและมีกลิ่นออกและมีการแยกหนังออกด้วย

ค. ขั้นตอนบดหยาบ การบดหยาบใช้เครื่องบดด้วยสกรู

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ง. ชั้นชั่งน้ำหนัก ชั่งน้ำหนักเพื่อให้ได้มาตรฐาน

จ. ชั้นสับละเอียด การสับในช่วงนี้มีการใส่เครื่องเทศกับส่วนผสม เช่น แป้ง เกลือ พริกไทย น้ำแข็ง (เพื่อควบคุมอุณหภูมิในระหว่างการสับ) สัดส่วนของส่วนผสมจะขึ้นกับโรงงานที่ผลิต เนื้อที่ได้จากช่วงนี้เรียกว่า เนื้อสับละเอียด

ฉ. ชั้นทำเป็นลูกชิ้น นำเนื้อสับละเอียดเข้าเครื่องปั้นลูกเพื่อทำเป็นลูกชิ้น

ช. ขั้นตอนการขึ้นรูปและการต้มให้สุก อุณหภูมิที่ให้ความร้อนแตกต่างกันไป ดังแรกๆ จะอุณหภูมิต่ำกว่าดังหลังๆ

ซ. ชั้นทำให้เย็น ตามปกติต้องใช้ถังแช่เย็นซึ่งมีราคาแพงมากจึงใช้ระบบฝังลมเป่าธรรมดาอุณหภูมิประมาณ 0 องศาเซลเซียส

ณ. ชั้นบรรจุ มี 2 ระบบ คือ แบบถุงขนาดใหญ่ และแบบซอง

## 2.2 เชื้อจุลินทรีย์บางชนิดที่ก่อให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพผู้บริโภค

1. เชื้อ Salmonella จัดเป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อน ไม่สร้างสปอร์ มีขนาด 0.7 – 1.5 ไมโครเมตร เจริญได้ดีทั้งในสภาพที่มีและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) ไม่สร้างแคปซูล เคลื่อนที่ได้ด้วยแฟลกเจลลาที่ยาวและมีอยู่รอบเซลล์ บางสายพันธุ์ที่ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้และไม่สร้างไฮโดรเจนซัลไฟด์ อุณหภูมิที่เจริญได้ 37 – 45 องศาเซลเซียส สำหรับอุณหภูมิที่เจริญได้ดีที่สุดคือ 42 องศาเซลเซียส เจริญได้ในช่วง pH 4.5 – 9.0 ความชื้นที่เหมาะสมต่อการเจริญประมาณ 0.93 – 0.99 ภายใต้มันได้ อุณหภูมิและอาหารที่เหมาะสม ช่วงความเป็นกรดค้างที่เหมาะสมในการเจริญจะอยู่ในช่วงประมาณ 6.5 – 7.5 จะแตกต่างกันไปในแต่ละสายพันธุ์และอุณหภูมิที่ใช้ในการบ่มเชื้อ ความทนทานของเชื้อ Salmonella ไม่ทนความร้อนถูกทำลายได้ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง การใช้ความเย็นหรืออุณหภูมิต่ำไม่สามารถทำลาย Salmonella เพียงแต่ไปยับยั้งการเจริญของเชื้อเท่านั้น เช่น ภาวะอุณหภูมิแช่แข็ง แต่เชื้อไม่สามารถทวีจำนวนขึ้นได้ และพบว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิหรือนำอาหารมาเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง หลังจากเก็บอุณหภูมิต่ำนานๆ จะทำให้เชื้อเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว (อรุณ บ่างตระกูลนนท์, 2540)

เชื้อ Salmonella เป็นเชื้อซึ่งเป็นสาเหตุของโรคไทฟอยด์ เชื้อนี้พบได้ทั้งในเนื้อหมู เนื้อวัว และเนื้อไก่ มีการปนเปื้อนมาจากน้ำทิ้งและสิ่งปฏิกูลในโรงฆ่าสัตว์ หรือปนเปื้อนจากผู้ชำแหละซากหรือผู้ตัดแต่งที่มีเชื้อชนิดนี้อยู่ในร่างกายซึ่งแม้จะไม่แสดงอาการป่วยให้เห็นแต่ก็ยังสามารถปล่อยเชื้อออกมาที่อุจจาระได้ เชื้อนี้ไม่สามารถเจริญเติบโตที่อุณหภูมิต่ำกว่า 6 องศาเซลเซียส และถูกทำลายที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที นอกจากนี้อาหารที่มีความเป็นกรดก็สามารถลดหรือป้องกันการขยายตัวของเชื้อได้ เชื้อ  $10^6$  เซลล์ก่อให้เกิดโรค Salmonellosis โดยคนและสัตว์ที่ได้รับเชื้อนี้จากการบริโภคอาหารที่ปนเปื้อนเข้าไปทำให้เกิดอาการท้องร่วง ถ้ารับประทาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้เผยแพร่ไปยังบุคคลอื่น การค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประทานอาหารที่ปนเปื้อนด้วยเชื้อนี้เข้าไป  $10^5$  เซลล์ จะทำให้เกิดโรคได้ แต่ถ้ามีการระบาดของเชื้อนี้ พบว่าการรับประทานเชื้อนี้เข้าไปเพียง  $10 - 10^2$  เซลล์ก็ทำให้เกิดโรคได้ (สิริพร สอนเสาวภาคย์. 2539) จากการศึกษาวิจัยหาการปนเปื้อนของเชื้อ Salmonella ในอาหารหลายชนิด โดยเฉพาะในเนื้อสดพบ S. Blockley, S. Virchow, S. Enteritidis, S. Hadar และ S. Paratyphi ซึ่งพบเป็นจำนวนร้อยละ 14 12 12 9 และ 9 ตามลำดับ และการปนเปื้อนของ S. Derby ในผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ปรุงสุก( cooked chicken product ) ได้แก่ ลูกชิ้นและไส้กรอกมีสูงถึง ร้อยละ 33 ( Jerngklinchan et al. 1994 )

จากการตรวจวิเคราะห์เชื้อ Salmonella ในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นและไส้กรอกของอดีต เสวต วิวัฒน์และคณะ (2537) พบว่า ทุกผลิตภัณฑ์ที่นำมาศึกษาตรวจพบ Salmonella โดยที่ผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นกึ่ง พบการปนเปื้อนของ Salmonella สูงถึงร้อยละ 25 รองลงมาได้แก่ ผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นไก่ และลูกชิ้นหมูคือร้อยละ 11.1 และ 10.0 ตามลำดับ และเมื่อจำแนก ซีโรไทป์ของ Salmonella ที่ตรวจพบในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นและไส้กรอกพบว่า S. Derby และ S. Panama เป็นซีโรไทป์ที่ตรวจพบในผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมากที่สุด การปนเปื้อนของผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมักเกิดจากสุขลักษณะของโรงงานที่ไม่ดี โดยมากจะเป็นการปนเปื้อนระหว่างอาหารสุก (cross-contamination) นอกจากนี้ผู้ผลิตหรือผู้ที่เกี่ยวข้องกับการผลิตที่เป็นโรคหรือพาหะของโรคที่เกิดจากเชื้อ Salmonella อาจทำให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อลงสู่ผลิตภัณฑ์ในขณะที่จับต้องผลิตภัณฑ์ได้

2. เชื้อ Enteropathogenic *Escherichia coli* (ECC) เป็นแบคทีเรียแกรมลบจัดอยู่ในแฟมิลีเอ็นเทอโรแบคทีเรียซีอี ( Enterobacteriaceae ) พบได้ทั่วไปในธรรมชาติโดยเฉพาะในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่น อาจพบได้ตามอุจจาระและสิ่งสกปรกใดโรครกต่างๆ ดังนั้นเชื้อตัวนี้จึงเป็นตัวชี้ให้เห็นถึงการสุขาภิบาลของสถานที่ต่างๆ เชื้อสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษมีคุณสมบัติบางประการแตกต่างจากเชื้อ *E. coli* โดยทั่วไปเนื่องจากมีความสามารถในการทำปฏิกิริยากับ antiserum บางชนิด เชื้อชนิดที่สร้างสารพิษที่เป็น enterotoxin มี 2 ชนิด คือ ชนิด heat stable ( ST) และ heat - labile (LI) เชื้อชนิดนี้เข้าไปในลำไส้เล็ก และสร้าง enterotoxin อุณหภูมิที่เชื้อเจริญอยู่ที่  $10 - 40$  องศาเซลเซียส โดยมีอุณหภูมิที่เหมาะสมเท่ากับ  $37$  องศาเซลเซียสและช่วง pH ที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตอยู่ในช่วง  $7.0 - 7.5$  มีค่า pH ต่ำสุดที่  $4.4$  และค่า pH สูงสุดที่  $9.0$  ค่า Aw ต่ำสุดอยู่ที่  $0.93$  เชื้อนี้จะทำให้เกิดท้องเสียอย่างรุนแรง สารพิษสามารถถูกทำลายที่อุณหภูมิ  $60$  องศาเซลเซียสขึ้นไป ปริมาณของเชื้อซึ่งจะทำให้เกิดโรคได้อยู่ในช่วง  $10^5 - 10^7$  เซลล์/g (Eley.1992)

*Escherichia coli* 0157:H7 เป็นเชื้อที่ไม่เหมือน *E. coli* สายพันธุ์อื่นๆ รวมทั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในอาหาร ( pathogenic bacteria ) โดยทั่วไป คือเชื้อนี้จะถูกทำลายโดยการปรุงอาหารให้สุก โดยทั่วไปพบในสัตว์ประเภทไถ่ม เช่น วัว ควาย และในผลิตภัณฑ์ เช่น นม เนื้อ

แหล่งที่มาของเชื้อพบว่าจากการระบาด 6 ครั้ง สาเหตุมาจากเนื้ออบ โดยที่เชื้อ *E. coli* O157:H7 จะปะปนและกระจายตัวทั่วผลิตภัณฑ์ ถ้าให้ความร้อนไม่เพียงพอทำให้ส่วนภายในเนื้ออบจะยังคงมีเชือนี้ปนอยู่ ส่วนนมอาจมีการปนเปื้อนด้วยเชือนี้ระหว่างการรีดนม แต่อุณหภูมิพาสเจอร์ไรซ์ ก็สามารถทำลายเชือนี้ได้ ส่วนใหญ่อาหารที่เป็นสาเหตุของโรคนี้ คือ แสมเบอร์เกอร์ที่ปรุงไม่สุก ดังนั้น FDA และ American Meat Institute (AMI) จึงกำหนดให้การปรุงแสมเบอร์เกอร์ต้องให้อุณหภูมิภายใน ( internal temperature ) ถึง 155 องศาฟาเรนไฮน์ การตรวจพบเชือนี้ในผลิตภัณฑ์บ่งชี้ให้เห็นว่าขั้นตอนในการผลิตไม่ถูกสุขลักษณะ มีการปนเปื้อนของเชื้อลงสู่ผลิตภัณฑ์ภายหลังกระบวนการให้ความร้อน ซึ่งการปนเปื้อนอาจเนื่องมาจากสุขลักษณะส่วนบุคคลหรือสุขลักษณะของโรงงานที่ไม่ดี ( อติศร เสวตวิวัฒน์ และคณะ. 2537 )

3. เชื้อ *Staphylococcus aureus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม มักเกาะกันเป็นกลุ่มคล้ายรวงอุรัง ผลิตสารพิษที่ทนความร้อน ( heat stable enterotoxin ) ถึง 5 ชนิด คือ ชนิด A B C D และ E เชื้อนี้พบได้ทั่วไปในสัตว์และตามส่วนต่างๆของร่างกายมนุษย์ โดยเฉพาะตามจมูก มือ แผลและผิวหนัง ทำให้มีโอกาสแพร่กระจายไปสู่อาหารได้มาก(พวงพร โชติกไกร. 2534) เชื้อนี้เป็นดัชนีที่ดีสำหรับตรวจสุขลักษณะการผลิตของโรงงานผลิตอาหาร เชื้อนี้สามารถผลิตสารพิษและทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษต่อผู้บริโภคโดยทำให้เกิดอาการคลื่นไส้อาเจียนอย่างรุนแรง อุจจาระเหลว เชื้อนี้มักพบในแผล ฝีที่มีหนองและในลำคอของผู้ที่เป็นหวัด ดังนั้นแหล่งปนเปื้อนที่สำคัญของเชือนี้ในเนื้อสัตว์มาจากผู้ชำแหละและตัดแต่งซาก เชื้อนี้ถูกทำลายได้ง่ายด้วยความร้อนโดยใช้อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส 30 นาที หรือ 72 องศาเซลเซียส 20 นาที และน้ำยาฆ่าเชื้อโรคต่างๆไป แต่สารพิษของเชื้อทนต่อความร้อนมาก การต้มน้ำเดือด (100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที) ไม่สามารถทำลายสารพิษนี้ได้ เชื้อชนิดนี้จะก่อให้เกิดการเป็นพิษเมื่อมีปริมาณ  $10^6$  โคโลนีต่อกรัมขึ้นไปและเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เชื้อนี้ทนเกลือที่มีความเข้มข้นถึงร้อยละ 15 แต่ไม่ทนต่อกรดและปริมาณของเชื้อซึ่งก่อให้เกิดโรคได้จะอยู่ในช่วง  $10^5$ - $10^8$  เซลล์/g (Doyle et al.1997)

การดำเนินการเพื่อป้องกันและควบคุมไม่ให้เชื้อ *Staph. aureus* ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์เป็นสิ่ง ที่ผู้ผลิตและควบคุมคุณภาพของโรงงานต้องกระทำอย่างจริงจังและต่อเนื่อง

การกำจัดสารพิษของเชื้อ *Staph. aureus* ออกจากอาหารกระทำไม่ได้ยาก จึงจำเป็นต้องป้องกันไม่ให้เชื้อปนเปื้อนในอาหาร โดยภายใต้ข้อกำหนดทางสุขลักษณะที่ดีใช้วิธีที่ถูกต้องในทางปฏิบัติและควบคุมปัจจัยต่างๆเพื่อลดการปนเปื้อนซึ่งอาจเกิดขึ้นได้ดังนี้

ก. ผู้สัมผัสอาหาร ในการผลิต คนเป็นแหล่งสำคัญในการแพร่เชื้อ *Staph. aureus* การระบาดของเชื้อโรคอาหารเป็นพิษซึ่งเกิดจากเชือนี้ สาเหตุส่วนใหญ่คือการปนเปื้อนจากส่วนต่างๆของร่างกายของผู้สัมผัสอาหาร เช่น จากแผลที่มีการอักเสบโดยผ่านทางมือ ฉะนั้นสุขอนามัยส่วน

บุคคลของร่างกายของผู้สัมผัสอาหารและการฝึกอบรมพนักงานเกี่ยวกับสุขลักษณะที่ดีในการปฏิบัติงาน เป็นสิ่งสำคัญมากและควรจัดให้มีอย่างสม่ำเสมอ

ข. วัตถุดิบ ใช้วัตถุดิบที่มีคุณภาพสูงและเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิที่สูงหรือต่ำกว่าช่วงที่เชื้อสามารถเจริญแพร่พันธุ์ได้ อาหารที่ใส่สารเคมีเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการเน่าเสียและควบคุมการเจริญของเชื้อได้ ตลอดจนน้ำและน้ำแข็งที่ใช้ในลักษณะสัมผัสกับอาหารต้องมีคุณภาพเทียบเท่าน้ำดื่มตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข

ค. ระบบการผลิตอาหาร การควบคุมจุดวิกฤติในขั้นตอนการผลิตอาหาร ( The Hazard Analysis and Critical Control Point ) ระบบในการวิเคราะห์และควบคุมปัจจัยที่ป้องกันการปนเปื้อนและแพร่กระจายของเชื้อ *Staph. aureus* ( เพ็ญศรี รอดมา และคณะ. 2534 )

## 2.3 จุลินทรีย์ที่ใช้เป็นตัวกำหนดคุณภาพด้านจุลชีววิทยาของอาหาร

ประกอบด้วย

1. Aerobic mesophilic plate count แสดงปริมาณของพวก spoilage organism ซึ่งมีผลต่อคุณภาพอาหารและอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ด้วย
2. Anaerobic plate count แสดงถึงคุณภาพอาหารและอายุการเก็บของอาหารที่บรรจุในสภาพ obligate anaerobe และ facultative anaerobe
3. Enterobacteriaceae และ coliform ถ้าพบในปริมาณที่สูง แสดงว่าการให้ความร้อนในกระบวนการผลิตไม่เพียงพอหรือมีการปนเปื้อนจากวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตสูง อุปกรณ์และภาชนะที่ใช้ในการผลิตสกปรก สุขลักษณะส่วนบุคคลของผู้ผลิตไม่ดีพอทำให้เกิดการปนเปื้อนภายหลังการผลิตเป็นต้น นอกจากนี้ยังแสดงถึงอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคจากจุลินทรีย์ในแบบ food infection และ food intoxication กับผู้บริโภคด้วย
4. *Escherichia coli* เป็นตัวบ่งชี้ว่ามีการปนเปื้อนของอุจจาระ ซึ่งมีโอกาสที่เชื้อโรคทางเดินอาหารจะปนเปื้อนลงสู่อาหารได้
5. Coagulase positive Staphylococci แสดงว่าเกิดการปนเปื้อนระหว่างการผลิต เช่น เครื่องใช้ต่างๆ และผู้ผลิต ซึ่งถ้าตรวจพบเชื่อนี้ในอาหารมาก อาจทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษต่อผู้บริโภคในแบบ food intoxication เนื่องจากเชื้อเหล่านี้จะผลิต enterotoxin ขณะเจริญในอาหาร
6. Enterococci แสดงถึงสุขลักษณะของโรงงานผลิตที่ไม่ดีมีการผลิตที่ไม่ถูกลักษณะ เนื่องจากเชื้อดังกล่าวสามารถทนต่อการขาดน้ำและการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิได้ดีและยังทนต่อน้ำยาซักล้างและน้ำยาฆ่าเชื้อได้ดี นอกจากนี้ยังสามารถทนอุณหภูมิต่ำและทนต่อความร้อนในกรรม

วิธี การพาสเจอร์ไรซ์และการทำแห้งได้ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. Yest and mold count ถ้าพบปนเปื้อนในอาหารเป็นจำนวนมาก แสดงถึงคุณภาพในการเก็บรักษาอาหารไม่ดีอาหารเน่าเสียง่าย และเสี่ยงต่อการบริโภคสารพิษจากเชื้อราด้วย

8. Salmonella แสดงว่ามีการปนเปื้อนจากคนหรือสัตว์ที่เป็นโรคหรือเป็นพาหะของโรค อีกทั้งสัญลักษณ์ส่วนบุคคลของผู้ผลิตและสัญลักษณ์ของโรงงานไม่ดี

## 2.3 อาหารเป็นพิษและการเกิดโรคจากอาหาร

สาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษ ( วิไล สนธิเพิ่มพูน. 2540 ) แบ่งได้ 3 ชนิด คือ

1. อาหารเป็นพิษเกิดจากพืชและสัตว์ เช่น เห็ดบางชนิดมีสารพิษพวกแอลคาลอยด์และพาลอยดิน เมื่อบริโภคจะทำให้เกิดอาการเมาหรือตายได้ ส่วนใหญ่สัตว์มักมีสาเหตุมาจากสัตว์กินพืชที่มีสารพิษเข้าไป หรือสัตว์มีสารพิษเอง

2. อาหารเป็นพิษเกิดจากสารเคมี ซึ่งเกิดจากอาหารที่มีการปนเปื้อนของสารเคมี เช่น สารเคมีที่ใส่ลงไปในการอาหาร อาทิเช่น กรดเบนโซอิกและเกลือของกรด กรดซอร์บิกหรือเกลือของกรดซอร์บิก ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ เกลือซัลไฟท์ ที่ใส่ลงไปเพื่อถนอมอาหาร ซึ่งแต่ละชนิดมีข้อจำกัดถึงปริมาณการใส่ลงไปในการอาหารแตกต่างกัน นอกจากนี้ยังมีสารพวกกรดอินทรีย์ บอแรกซ์ หรือกรดบอริก สารให้ความหวานแทนน้ำตาล รวมทั้งสารกำจัดแมลงและจุลินทรีย์บางชนิด และโลหะหนักมาจากสภาพแวดล้อมและภาชนะบรรจุอาหารซึ่งสารเหล่านี้มีข้อจำกัดถึงปริมาณในการปนเปื้อนในอาหารและถ้าอาหารมีสารเหล่านี้เกินปริมาณที่กำหนดจะทำให้ผู้บริโภคเกิดอาการทันที ซึ่งบางครั้งอาจถึงแก่ชีวิตได้

3. อาหารเป็นพิษเกิดจากจุลินทรีย์ เชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหารมากมายหลายชนิดแต่สามารถแบ่งได้ 3 ชนิดใหญ่ๆ เช่น เชื้อรา เชื้อยีสต์ และเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งทั้ง 3 ชนิดนี้อาจทำให้ผู้บริโภคเกิดโรคอาหารเป็นพิษได้ โดยอาจเกิดจากจุลินทรีย์สร้างสารพิษลงในอาหารหรืออาหารปนเปื้อนจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุได้

### 3.1 อาหารเป็นพิษที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย แบ่งได้ 2 ชนิดใหญ่ๆด้วยกัน

ก. Food Intoxication หมายถึง อาหารเป็นพิษที่เกิดจากอาหารปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียบางชนิดที่สามารถเจริญและสร้างสารพิษลงในอาหาร ซึ่งถ้าผู้บริโภคอาหารที่มีสารพิษปริมาณมากจะทำให้เกิดอาการโรคอาหารเป็นพิษได้ เชื้อแบคทีเรียที่จัดอยู่ในกลุ่มนี้ ได้แก่ *Staphy. aureus*, *Clostridium botulinum* เป็นต้น

ข. Food Infection หมายถึง อาหารเป็นพิษที่เกิดจากแบคทีเรียที่ปนเปื้อนลงในอาหารแล้วเจริญเติบโตเพิ่มปริมาณมากขึ้น เมื่อผู้บริโภคกินอาหารที่มีเชื้อเหล่านี้ปนเปื้อนอยู่ เชื้อแบคทีเรียจะเข้าไปทำลายระบบทางเดินอาหาร โดยทำให้เกิดอาการปวดท้อง ท้องเดิน ชนิดของอาหารเป็นพิษเป็นพิษที่รุนแรงและอันตรายมากที่สุดคืออาหารเป็นพิษที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Staphy. aureus* และ *Clostridium botulinum* ไม่ควรรับประทานอีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อที่ทำให้เกิดโรคแบบนี้มีหลายชนิดเช่น *Salmonella* spp. , *Vibrio parahaemolyticus*, *Enteropathogenic E. coli* , *Bacillus cereus* , *Listeria monocytogenes* เป็นต้น

3.2 อาหารเป็นพิษที่เกิดจากเชื้อรา ส่วนใหญ่แล้วเกิดจากเชื้อราสร้างสารพิษ เรียกว่า mycotoxin เมื่อผู้บริโภคกินสารพิษเข้าไป ถ้าสารพิษที่ได้รับมีปริมาณเกินระดับที่ร่างกายยอมรับได้ ก็จะเกิดอาการผิดปกติขึ้นได้ เช่น เกิดมะเร็งที่ตับ อาหารที่พบว่ามีเชื้อราที่สร้างสารพิษชนิดนี้ปนเปื้อนอยู่มีหลายชนิด เช่น พริก หัวหอม และกระเทียม เป็นต้น

3.3 อาหารเป็นพิษจากเชื้อไวรัส สามารถปนเปื้อนลงในอาหารโดยอาจติดมาในอาหารหรือผู้ประกอบอาหาร ตัวอย่างโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสที่สามารถติดมาทางอาหาร เช่น โรคโปลิโอ โรคตับอักเสบ โรคปากและเท้าเปื่อย เป็นต้น ปกติแล้วเชื้อไวรัสจะถูกทำลายด้วยความร้อน แต่อาหารที่มีเชื้อไวรัสติดมาอาจเกิดจากอาหารได้รับความร้อนไม่เพียงพอ เชื้อไวรัสปนเปื้อนหลังปรุงอาหาร

3.4 อาหารเป็นพิษจากโปรโตซัว ซึ่งสามารถปนเปื้อนมากับน้ำได้ ตัวอย่างโรคที่เกิดจากเชื้อโปรโตซัวที่อาจติดมาสู่คน เช่น เชื้อบิดที่เกิดจาก *Entamoeba histolytica* มักติดมากับน้ำโสโครก และ เชื้อ *Toxoplasma gondii* อาจติดมากับเนื้อสุก

3.5 โรคที่ติดมาจากพยาธิที่ติดมากับอาหาร เช่น เม็ดสาकुในเนื้อสุก และพยาธิเส้นด้ายที่มีในสัตว์หลายชนิด เช่น สุนัข เนื้อวัว ควาย และปลา เป็นต้น

## 2.4 วิธีการถนอมอาหารโดยใช้ความร้อน

การใช้ความร้อนในการถนอมอาหาร ( Thermal processing ) หมายถึงการใช้อุณหภูมิสูงๆ เพื่อช่วยถนอมอาหาร โดยความร้อนจะทำลายจุลินทรีย์ที่ให้โทษและทำให้อาหารเสื่อมเสีย เอนไซม์ สารพิษและแมลงต่างๆที่ไม่สามารถทนต่อความร้อนได้

การถนอมอาหารโดยใช้ความร้อนสามารถกระทำได้ 2 วิธี คือ การพาสเจอร์ไรซ์ ( pasteurization ) และ การสเตอริไลซ์ ( sterilization )

การพาสเจอร์ไรซ์ คือ วิธีการถนอมอาหารโดยใช้ความร้อนที่อุณหภูมิไม่สูงนักโดยมุ่งทำลายแบคทีเรียพวกที่ไม่สร้างสปอร์และก่อให้เกิดโรคกับมนุษย์ ( pathogenic bacteria ) ส่วนจุลินทรีย์อื่นๆที่ทนความร้อนของการพาสเจอร์ไรซ์ได้นี้จะทำให้อาหารเสียได้ ดังนั้นอาหารที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ต้องอาศัยความเย็นช่วยในการเก็บรักษา

กระบวนการพาสเจอร์ไรซ์อาจทำได้ 2 ระบบ คือ

1. ระบบช้าอุณหภูมิต่ำหรือ LTLT ( Low Temperature Long Time ) เป็นระบบที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่ำ 60 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที แล้วทำให้เย็นทันที เป็นวิธีที่ง่ายสามารถทำได้ในระดับครัวเรือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ระบบเร็วอุณหภูมิสูงหรือ HTST ( High Temperature Short Time ) เป็นระบบที่ให้ความร้อนในระดับสูงแต่ใช้เวลาสั้น เช่น ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 15 วินาทีแล้วทำให้เย็นลงโดยเร็ว มักเป็นระบบต่อเนื่องโดยให้อาหารเหลว เช่น นม น้ำผลไม้ ไหลผ่านแผ่นแลกเปลี่ยนความร้อนในช่วงระยะเวลาที่กำหนดตามชนิดของผลิตภัณฑ์

วิธีการพาสเจอร์ไร้มักนำมาใช้กับอาหารในกรณีดังต่อไปนี้ (พวงพร โชติกไกร, 2534)

1. ถ้าอาหารได้รับความร้อนในระดับอุณหภูมิสูงแล้ว คุณภาพของอาหารจะเสียไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งคุณภาพเกี่ยวกับกลิ่นรส เช่น น้ำผลไม้ นม และผลิตภัณฑ์จากนม
2. มีจุดประสงค์ฆ่าเฉพาะจุลินทรีย์ที่เป็นตัวก่อให้เกิดโรคต่างๆ
3. จุลินทรีย์ซึ่งเป็นตัวการสำคัญที่จะทำให้อาหารเสียนั้นมีการต้านทานความร้อนได้ไม่สูง เช่น น้ำผลไม้
4. มีจุดประสงค์ฆ่าเฉพาะจุลินทรีย์ที่มีการต้านทานความร้อนต่ำเพื่อลดจำนวนจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในอาหาร แล้วทำให้จุลินทรีย์ที่ใส่ลงไปเป็นสตาร์ทเตอร์ (starter) ในกระบวนการต่างๆเจริญเติบโต และทำให้เกิดกระบวนการเฟอร์เมนต์ได้เร็ว
5. สามารถควบคุมไม่ให้จุลินทรีย์ที่ยังคงเหลืออยู่หลังจากการพาสเจอร์ไร้เจริญเติบโตหรือทำให้อาหารเกิดการเปลี่ยนแปลงด้วยกรรมวิธีการถนอมอาหารอื่น เช่น การใช้อุณหภูมิต่ำ การใช้สารเคมี การบรรจุภายในภาชนะที่ปิดสนิทและภายในมีสภาพไม่มีอากาศ

การสเตอริไลซ์ คือ วิธีถนอมอาหารโดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงกว่าการพาสเจอร์ไร้ เพื่อทำลายสิ่งมีชีวิตทั้งหลายรวมทั้งสปอร์ของจุลินทรีย์ให้หมดไป แต่ในทางอุตสาหกรรมอาหารสามารถทำได้เพียงให้ความร้อนที่จะทำลายจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเสียและทำให้ผู้บริโภคปลอดภัยเมื่อบริโภคอาหารนั้นภายใต้สภาวะการเก็บรักษาและขนถ่ายโดยปกติปริมาณความร้อนที่ใช้ในระดับนี้เรียกว่า การฆ่าเชื้อที่ใช้ทางการค้า (commercial sterilization) ซึ่งเพียงพอที่จะทำลายจุลินทรีย์และสปอร์ที่ทนความร้อนมากที่สุด อาหารที่ได้จากการสเตอริไลซ์ถือได้ว่าเป็นอาหารที่ปลอดภัย (commercial sterilized food) สามารถเก็บรักษาได้นานโดยไม่ต้องอาศัยห้องเย็น เช่น การทำอาหารกระป๋อง การสเตอริไลซ์นมวัวโดยกระบวนการยูเอชที (UHT- Ultra High Temperature) นิยมใช้อุณหภูมิ 135 - 150 องศาเซลเซียส นาน 1 ถึง 4 วินาที ซึ่งมีวิธีให้ความร้อนกับอาหารได้ 2 แบบ คือ

1. ทางอ้อม (indirect type) เป็นการให้ความร้อนผ่านแผ่นแลกเปลี่ยนความร้อนเหมือนกับการพาสเจอร์ไร้ แต่อุณหภูมิสูงกว่า

2. ทางตรง (direct type) เป็นการใช้น้ำร้อนเป็นตัวกลางให้ความร้อน โดยฉีด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลงไปผสมกับอาหารโดยตรง แล้วจึงผ่านไปยังเครื่องระเหยน้ำส่วนที่เกินออกไปโดยทำภายใต้สุญญากาศ

## 2.6 การทำลายจุลินทรีย์ด้วยความร้อน

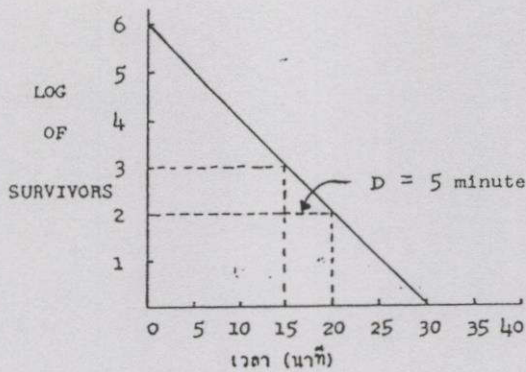
การให้ความร้อนในกระบวนการแปรรูปลูกชิ้นไก่เป็นการให้ความร้อนในระดับการพาสเจอร์ไรซ์ คือ อุณหภูมิ 75 – 80 องศาเซลเซียส เวลา 20 นาที (เยาว์ลักษณะ สุรพันธุ์พิศิษฐ์, 2537) ซึ่งจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในอาหารที่มีความต้านทานต่อความร้อนต่ำ จะถูกทำลายได้

ความสัมพันธ์ของการตายที่อุณหภูมิหนึ่งๆต่อระยะเวลาที่เพิ่มขึ้นอาจเขียนเป็นกราฟโดยให้ปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตเหลืออยู่เป็นค่า  $\log$  อยู่ในแกน X และเวลาอยู่ในแกน Y จะได้กราฟที่เรียกว่า "survival curve" บางทีเรียกว่า กราฟอัตราการตาย (death rate curve) หรือ กราฟอัตราการตายด้วยความร้อน (thermal death rate curve) ปกติเป็นกราฟเส้นตรง ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเขียนกราฟของการมีชีวิต (survival curve) แสดงไว้ในตารางที่ 1.1 และข้อมูลเหล่านี้จะนำไปเขียนในกระดาษลอการิทึม (semilog scale) (ดังแสดงในภาพที่ 2.1)

ตารางที่ 2.1 ผลของการทดลองความต้านทานความร้อนของสปอร์จุลินทรีย์

เวลาฆ่าเชื้อ ( นาที )	จำนวนจุลินทรีย์ เหลือ / มล.	เปอร์เซ็นต์ลดลง ของเซลล์มีชีวิต	เปอร์เซ็นต์เชื้อ มีชีวิตเหลือ	$\log$ ของจำนวนเชื้อ ที่เหลือ
0	1,000,000	0	100	6
5	100,000	90	10	5
10	10,000	99	1	4
15	1,000	99.9	0.1	3
20	100	99.99	0.01	2
25	10	99.999	0.001	1
30	1	99.9999	0.0001	0

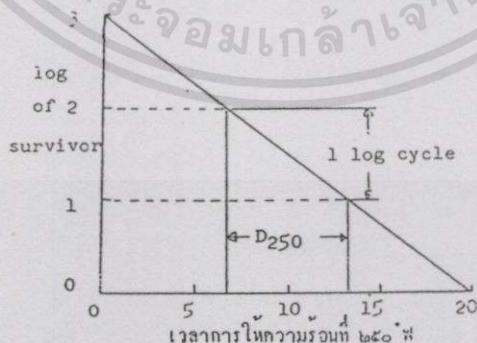
ที่มา : Curren and Evans (1945)



ภาพที่ 1.1 Survival curve ที่อุณหภูมิคงที่  
ที่มา : ทนง ภัครษ์พันธุ์ (2524)

ทนง ภัครษ์พันธุ์ (2524) ได้กล่าวว่า การฆ่าเชื้อในอาหารมักจะเรียกกราฟนี้ว่า survival curve, logarithmic survival curve, death rate curve หรือ thermal death rate curve แต่อย่างไรก็ดี survival curve จะใช้กันมากที่สุด

การวัดความต้านทานต่อความร้อนของจุลินทรีย์คิดเป็นค่า D ซึ่งคำนวณจากกราฟของปริมาณจุลินทรีย์ที่เหลือ ค่า D หมายถึง decimal reduction time หรือ เวลาเป็นนาทีของอุณหภูมิที่ใช้ฆ่าเชื้อไปร้อยละ 90 ของปริมาณจุลินทรีย์ที่มีอยู่ การเขียนกราฟลอคด้านเดียว ( semilog ) ให้ปริมาณจุลินทรีย์อยู่บนแกน log อย่างในภาพที่ 1.2 ดังนั้น ค่า D คือ เวลาคิดเป็นนาทีที่กราฟผ่านหนึ่งวงจรของลอค



ภาพที่ 1.2 การหาค่า D จากค่า survival curve  
ที่มา : ทนง ภัครษ์พันธุ์ (2524)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และค่า D อาจหาคำนวณได้จากสมการต่อไปนี้

$$D = \frac{U}{\log a - \log b}$$

เมื่อ D = เวลาเป็นนาทีของอุณหภูมิที่ใช้ฆ่าเชื้อไปร้อยละ 90 ของปริมาณจุลินทรีย์ที่มีอยู่

U = เวลาของการให้ความร้อนเป็นนาที

a = ปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น

b = จำนวนจุลินทรีย์ที่เหลือเมื่อเวลา U นาที

## 2.7 ปัจจัยที่มีผลต่อความต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์

เซลล์ของแบคทีเรียจะเปลี่ยนแปลงไปเมื่อได้รับความร้อน จากการศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนปรากฏว่า โปรโตพลาสของเซลล์จะกลายเป็นก้อนเมื่อได้รับความร้อน แต่การเปลี่ยนแปลงนี้ไม่ค่อยมีประโยชน์เพราะตรวจสอบยาก ปัจจุบันนี้ยังไม่ทราบสาเหตุของการตายของจุลินทรีย์ที่แน่นอน แต่เป็นที่ทราบกันแล้วว่าเซลล์ของแบคทีเรียมีขบวนการของเอ็นไซม์ที่สลับซับซ้อน โปรตีนเหล่านี้จะเปลี่ยนรูป (denature) ไปเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น อีกทั้งปริมาณระดับความร้อนที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงนั้น เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนรูปของเอ็นไซม์เสมอ อีกข้อหนึ่ง คือ ความร้อนอาจทำลายสารที่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรม ซึ่งปัจจุบันทราบว่า เป็น ribosomal RNA เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจะทำลาย cytoplasmic membrane ของเซลล์แบคทีเรีย และเปลี่ยนความสามารถในการปล่อยให้สารซึมผ่าน (permeability) ของผนังเซลล์ เนื่องจากมีหลายคนเคยพบว่า มีการรั่วไหลที่ผนังเซลล์ของสารโปรตีน กรดอะมิโน DNA RNA และ โปดัสเทียมออกมา Russel and Harries (1968) แสดงให้เห็นว่าขณะที่เพิ่มความร้อนให้กับ *E. coli* ที่ 50 องศาเซลเซียส เชื้อนี้จะตายเนื่องจาก RNA รั่วไหลออกมา (ตรวจโดยวัด absorbance ที่ 260 nm.) แสดงว่าการเปลี่ยนแปลงของผนังเซลล์สามารถทำให้เซลล์ตายได้และจากการศึกษาต่อมา พบว่า RNA ลายเดียวจะถูกทำลายด้วยความร้อนได้เร็วกว่า DNA ลายเดี่ยว

สปอร์ของแบคทีเรียจะทนต่อสภาพสิ่งแวดล้อมทั้งที่เกิดจากสารเคมีและสภาวะทางกายภาพที่ไม่เหมาะสม เช่น ความร้อน ฉะนั้นในการใช้ความร้อนทำลายเชื้อของผลิตภัณฑ์อาหารกระป๋องจำเป็นต้องพิจารณาถึงความต้านทานต่อความร้อนของเชื้อ ปริมาณความร้อนที่ใช้ทำลายจุลินทรีย์

ต้องมีปริมาณที่สูงกว่าความต้านทานของสปอร์ ดังนั้นในอุตสาหกรรมอาหารกระป๋อง การใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความร้อนปริมาณมากน้อยแค่ไหนขึ้นอยู่กับความต้านทานของสปอร์ของ *Cl. botulinum* สำหรับ vegetative cell นั้นความต้านทานต่อความร้อนจะแตกต่างกันไปตามอายุ

Adams and Moss (1995) ได้กล่าวถึงการทนความร้อนของจุลินทรีย์ว่าจุลินทรีย์แกรมบวก จะทนความร้อนได้ดีกว่ากลุ่มที่เป็นแกรมลบ และ vegetative cell ส่วนใหญ่จะถูกทำลายลงทันทีที่ อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส

ปัจจัยที่มีผลต่อความต้านทานความร้อนของแบคทีเรียและสปอร์ (ทง กักรัชพันธุ์. 2524, พวงพร ไซติกไกร. 2534 และ Adams and Moss. 1995) ประกอบด้วย

### ก. ความเป็นมาของเซลล์และสปอร์

สภาวะที่เซลล์เจริญเติบโตมาก่อนและเป็นสาเหตุให้มีการสร้างสปอร์เกิดขึ้น และกรรมวิธีใดๆที่ใช้มาก่อนจะมีผลต่อความต้านทานของความร้อน ผลของสารอาหารในอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งชนิดและปริมาณแตกต่างกันไปตามชนิดของจุลินทรีย์ แต่โดยทั่วไปถ้าเชื้ออยู่ในอาหารที่เหมาะสมแก่การเจริญเติบโตจะทำให้เซลล์และสปอร์มีความต้านทานมากขึ้น การเลี้ยงเชื้อในฟอสเฟตบัฟเฟอร์จะทำให้มีการผลิตสปอร์ที่ทนความร้อนได้สูงสุด อุณหภูมิที่ใช้ในการเจริญเติบโต และสำหรับการสร้างสปอร์จะมีผลต่อความร้อนโดยทั่วไป ความต้านทานเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิในระยะการเจริญเติบโตสูงขึ้นไปจนถึงระดับที่เหมาะสมของแต่ละเชื้อ ความต้านทานต่อความร้อนของเซลล์จะแตกต่างกันไปตามระยะของการเจริญเติบโต เซลล์ที่อ่อนนุ่มจะทนความร้อนได้น้อยกว่าเซลล์ที่แก่ นั่นคือเซลล์ของแบคทีเรียจะทนความร้อนได้สูงสุดที่ระยะปลายๆของ lag phase แต่ส่วนมากจะมีความต้านทานมากที่สุดในระยะ stationary phase แล้วจากนั้นจะลดลง เซลล์มีความทนทานได้น้อยในระยะของการเพิ่มจำนวนคือระยะ log phase ส่วนสปอร์ที่อ่อนนุ่มจะทนความร้อนได้น้อยกว่าสปอร์ที่แก่ สปอร์บางชนิดจะเพิ่มความต้านทานขึ้นในลำดับแรกของการเก็บรักษา แต่หลังจากนั้นเริ่มลดลงที่ระยะแรกๆของการแตกหน่อหรือออก ความทนทานต่อความร้อนของสปอร์หายไป

### ข. ส่วนประกอบของอาหารขณะการใช้ความร้อนทำลายเชื้อ

1. ความชื้น ความร้อนชื้น ( moist heat ) จะฆ่าจุลินทรีย์ได้ดีกว่าความร้อนแห้ง ( dry heat ) เช่น การทำให้อาหารทั่วๆไปปราศจากจุลินทรีย์ต้องใช้ความร้อนชื้น อุณหภูมิประมาณ 120 องศาเซลเซียส ประมาณ 20-30 นาที แต่ถ้าใช้ความร้อนแห้งต้องใช้อุณหภูมิระหว่าง 160-180 องศาเซลเซียส ประมาณ 3-4 ชั่วโมง ความร้อนชื้นจะทำให้โปรตีน เช่น เอนไซม์ เกิดการเสียสภาพทางธรรมชาติ ( denaturation ) และตกตะกอน ( coagulation ) ความร้อนแห้งจะทำให้ส่วนประกอบอินทรีย์ภายในเซลล์เกิด oxidation ซึ่งการเกิด denature ของโปรตีนในเซลล์จะเกิดได้ที่

อุณหภูมิต่ำกว่าและใช้เวลาสั้นกว่าการเกิด oxidation เช่น endospore ของ *B. anthracis* จะถูก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำลายได้ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสภายในเวลา 2 ถึง 15 นาที โดยใช้ความร้อนขึ้น ถ้าใช้ความร้อนแห้งจะใช้เวลาถึง 180 นาที ที่อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส ซึ่งตารางที่ 1.2 จะแสดงให้เห็นถึงการใช้เวลาและอุณหภูมิสูงในการทำลายสปอร์ของแบคทีเรีย โดยใช้ความร้อนแห้ง endospore ของแบคทีเรียจะทนความร้อนได้ดี ส่วน vegetative cell ของแบคทีเรียจะถูกทำลายด้วยความร้อนได้ง่าย เช่นการใช้ความร้อนขึ้นที่อุณหภูมิ 60-70 องศาเซลเซียส เวลา 5-10 นาที สามารถทำลาย vegetative cell ของแบคทีเรียลงได้ vegetative cell ของยีสต์และราสามารถถูกทำลายได้โดยความร้อนขึ้นอุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส เวลา 5-10 นาที การทำลายสปอร์ของราที่ใช้เวลาเท่าเดิมแต่อุณหภูมิจะเท่ากับ 70 - 80 องศาเซลเซียส การใช้ความร้อนขึ้นในการทำลายจุลินทรีย์จะให้ในรูปของไอน้ำ (steam) น้ำเดือด (boiling water) หรืออุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิน้ำเดือด (subboiling temperature)

ตารางที่ 2.2 แสดงเวลาที่ใช้ในการฆ่าเชื้อสปอร์ของแบคทีเรียโดยใช้ความร้อนขึ้นและความร้อนแห้ง

แบคทีเรีย	ความร้อนขึ้น		ความร้อนแห้ง	
	อุณหภูมิ (°C)	เวลาในการฆ่าเชื้อ (นาที)	อุณหภูมิ (°C)	เวลาในการฆ่าเชื้อ (นาที)
<i>Bacillus anthracis</i>	100	2 - 15	140	up to 180
	105	5 - 10	160	9 - 90
			180	3
<i>Clostridium botulinum</i>	100	300 - 530	120	50
	110	32 - 90	130	15 - 35
<i>Clostridium perfringens</i>	100	5 - 45	120	50
	105	5 - 27	130	5 - 35
	115	4	140	5
	120	1		
<i>Clostridium Tetani</i>	100	5 - 90	130	20 - 40
	105	5 - 25	140	5 - 15
			160	12

ที่มา: Pelczar et al. (1993)

2. ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ตามปกติจุลินทรีย์จะทนความร้อนได้ดีที่สุดเมื่ออยู่ในอาหารซึ่งมี pH เป็นกลางหรือใกล้เป็นกลาง และเมื่ออาหารที่จุลินทรีย์อยู่มีความเป็นกรดหรือด่างเพิ่มขึ้น จุลินทรีย์จะทนความร้อนได้น้อยลง การเปลี่ยนแปลง pH ในทางที่เป็นกรดมากขึ้นจะทำลายจุลินทรีย์ได้ดีมากกว่าเพิ่ม pH ไปในทางเป็นด่าง โดยทั่วไปจึงใช้ความร้อนฆ่าจุลินทรีย์ในอาหารที่เป็นกรดไม่มากนัก ตัวอย่างเช่น มะเขือเทศ ที่ pH 3.9 มะเขือเทศสามารถใช้อุณหภูมิในกระบวนการผลิตที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาที เพื่อทำลายสปอร์ทั่วไปของจุลินทรีย์ได้ แต่ที่ pH 4.8 จะต้องใช้เวลาเพิ่มขึ้นเป็น 110 นาที ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส และการเติมสารกันเสียลงไปส่วนหนึ่งจะมีผลในการลด pH ให้ต่ำลงแล้วยังช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์บางชนิดอีกด้วย (Banwart .1979)

จากการที่ pH มีผลต่อการทนความร้อนของเซลล์หรือสปอร์ จึงแบ่งอาหารออกเป็น 4 พวก โดยอาศัย pH เป็นหลัก คืออาหารที่มีความเป็นกรดสูง ( high acid food ) อาหารที่มีความเป็นกรด ( acid food ) อาหารที่มีกรดปานกลาง ( medium acid food ) และอาหารที่มีความเป็นกรดต่ำ ( low acid food )

#### ค. ส่วนประกอบของอาหารที่มีผลต่อความต้านทานต่อความร้อน

1. คาร์โบไฮเดรต เช่น น้ำตาลซูโครสจะช่วยเพิ่มความต้านทานความร้อนของเซลล์ คือเมื่อความเข้มข้นของซูโครสเพิ่มขึ้นการทนความร้อนของจุลินทรีย์ก็จะเพิ่มขึ้นด้วย อันเนื่องมาจากการช่วยลด  $A_w$  ตัวอย่างเช่น สปอร์ของ *Cl. botulinum* จะมีความสัมพันธ์การทนความร้อนโดยตรงกับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสในสารประกอบของอาหาร คือเมื่อความเข้มข้นของซูโครสเพิ่มขึ้น ความสามารถในการทนความร้อนก็จะเพิ่มขึ้น

2. เกลือ การเติมเกลือลงไปในอาหารจะช่วยลด  $A_w$  โดยเกลือใช้โดยทั่วไป ได้แก่ โซเดียมคลอไรด์ ซึ่งเมื่อมีอยู่ในอาหารเพียงเล็กน้อย คือ ต่ำกว่าร้อยละ 4 จะเพิ่มการต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์ แต่ถ้ามีความเข้มข้นสูงขึ้นมากรกว่าร้อยละ 8 จะให้ผลตรงกันข้าม คือ ลดการต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์ เช่น เติมโซเดียมคลอไรด์ลงในน้ำถั่วประมาณร้อยละ 0.5-3.0 พบว่าสปอร์ของจุลินทรีย์พวกเทอร์โมไฟล์ต้านทานความร้อนได้ดีขึ้น

3. แป้ง โปรตีน ไขมัน และ เครื่องเทศ แป้งไม่มีผลต่อการต้านทานความร้อนของ จุลินทรีย์ แต่ถ้าจุลินทรีย์มีโอกาสเจริญเติบโตในอาหารที่มีแป้งจะเจริญเติบโตได้ดีกว่าในอาหารที่ปราศจากแป้ง

สารประเภทโปรตีนพบว่าช่วยเพิ่มการต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์ได้ดี

น้ำมันในเครื่องเทศและเครื่องปรุงรส เช่น มัสตาร์ด กานพลู หอม พริกไทย กระเทียม ทำให้การต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์ลดลง สำหรับอาหารที่มีปริมาณน้ำมันสูง เพราะน้ำมันเป็นอุปสรรคสำคัญในการใช้ความร้อนฆ่าจุลินทรีย์

## 2.8 การใช้โซเดียมแลคเตทในการลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในเนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์

โซเดียมแลคเตทเป็นเกลือที่มีการใช้มากกว่า 20 ปี แล้วในอุตสาหกรรมอาหาร แต่เดิมจะใช้เป็นสารให้ความชุ่มชื้น (humectant properties) (Reid, 1969) ปัจจุบันใช้ในอุตสาหกรรมเนื้อสัตว์ใช้เป็นสารช่วยเพิ่มกลิ่นรสและยืดอายุการเก็บรักษา (Duxbery, 1988) ผลิตภัณฑ์ภายหลังการให้ความร้อนจะต้องถูกสัมผัส เช่น การนำมาหั่นหรือการบรรจุ ซึ่งอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนที่ยากแก่การควบคุม จึงมีการสนใจศึกษาการใช้โซเดียมแลคเตทกับผลิตภัณฑ์เนื้อทั้งเนื้อสดและเนื้อปรุงสุก สารโซเดียมแลคเตทเป็นสารที่ได้จากธรรมชาติ ไม่เป็นพิษ ละลายน้ำได้ดีมาก มีรสเค็มอ่อนๆ ไม่เค็มจัด จึงใช้ได้ในความเข้มข้นสูงกว่าโซเดียมคลอไรด์มาก ไม่กลบหรือลบลกกลิ่นของสารให้กลิ่นรสอื่นเมื่อใส่ลงในผลิตภัณฑ์อาหาร มีการรับรองความปลอดภัยในฐานะที่ใช้เป็นสารปรุงแต่งอาหารในประเทศสหรัฐอเมริกา และมีบทบาทเด่นชัดด้านการถนอมอาหารและยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในอาหาร โดยจะสามารถควบคุมการเจริญของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียของอาหาร (spoilage bacteria) และแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค (pathogenic bacteria) ในเนื้อสดและเนื้อที่ผ่านกระบวนการแปรรูปแล้ว โดยคาดว่ากลไกการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์โดยโซเดียมแลคเตทเกิดจาก lipophilic acid ที่มีฤทธิ์อ่อนซึมผ่านเข้าไปในเซลล์เมมเบรนในรูปที่ไม่แตกตัว (undissociate) ไม่มีขั้วและทำให้เซลล์มีฤทธิ์เป็นกรดและลด Aw ภายในเซลล์ (Jeffrey and Maurer, 1997) และทำให้เกิดการสูญเสียรูปร่างของเซลล์ (plasmolysis) และขัดขวางปฏิกิริยาของเอนไซม์ทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ลดลง ในขณะที่ Woolthuis and Smulder (1985) กล่าวว่า การลดปริมาณจุลินทรีย์โดยโซเดียมแลคเตทจะเป็นการเพิ่ม lag phase ทำให้ไปลด maximum growth rate ให้กับจุลินทรีย์และการเก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็น (0 องศาเซลเซียส) ของผลิตภัณฑ์เนื้อทำให้สามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของโซเดียมแลคเตทได้เนื่องจากตามปกติแล้วอุณหภูมิที่ใกล้เคียงกับ 0 องศาเซลเซียสจะมีจำนวนจุลินทรีย์น้อยมากที่สุดที่สามารถอยู่และเจริญได้ โดยทั่วไปอาจกล่าวได้ว่าที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสและต่ำกว่าจะช่วยจำกัดการเจริญเติบโตและขยายจำนวนของจุลินทรีย์ที่จะทำให้เนื้อเน่าเสียได้ และนอกจากนั้นยังช่วยป้องกันการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่จัดว่าเป็นเชื้อโรคได้อีกด้วย ดังนั้นที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสจึงเรียกว่าเป็นอุณหภูมิวิกฤติ (critical temperature) สำหรับการปฏิบัติและเก็บรักษาเนื้อสัตว์ ซึ่งถ้าปล่อยให้อุณหภูมิสูงกว่านี้เนื้ออาจเสื่อมเสียคุณภาพได้เช่นเดียวกันกับที่ Wit and Rombout, 1990 กล่าวว่า การใช้โซเดียมแลคเตทร้อยละ 5 มีผลยับยั้งจุลินทรีย์ได้โดยคาดว่าเนื่องจากการทำให้ Aw ลดลง ผลกระทบจากสาร antimicrobial นี้มีผลต่อการมีชีวิตอยู่ของ lactic acid bacteria, *Staph. aureus* และ *S. Typhimurium* โดยจะไปเพิ่มระยะ lag phase ปริมาณการเจริญของจุลินทรีย์ลดลง อัตราการเจริญจะค่อนข้างลดลง สภาพที่ตรงข้ามกับการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องแจ้งชื่อของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เจริญเติบโต เช่น ทำให้มีอุณหภูมิที่ต่ำกว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์จะสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ การใช้โซเดียมแลคเตทในผลิตภัณฑ์เนื้อจะทำให้ผลิตภัณฑ์มี pH เท่ากับ 6.3 – 6.7 ซึ่งจะดีกว่าการใช้กรดแลคติก (pH 3.86) Williams and Phillip (1998) พบว่าการใช้โซเดียมแลคเตท pH 5.5 และ 5.0 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อที่ทำให้เนื้อไก่(ส่วนอก)เสื่อมเสียได้ ส่วนกลิ่นรสเล็กน้อยที่ไม่ยอมรับ เช่น กลิ่นโลหะ (metallic) หรือกลิ่นของกรดที่ผิดปกติ (acidic off-flavor) จะถูกแก้ไขโดยการใช้เครื่องเทศหรือเกลือ และผู้ชิมจะไม่สามารถรับกลิ่นรสที่ผิดปกติได้เมื่อผ่านการปรุงรส ความเข้มข้นของโซเดียมแลคเตทที่นิยมใช้กับผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ คือ ร้อยละ 2 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก ซึ่งการใช้จะมีผลต่อค่า Aw การที่ค่า Aw ต่ำจะช่วยยืดอายุการเก็บรักษาได้นานขึ้น โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์เนื้อที่มีค่า Aw = 0.96 การใช้โซเดียมแลคเตทจะช่วยให้อายุการเก็บรักษานานขึ้นโดยที่ผลิตภัณฑ์จะต้องมีค่า Aw ที่ต่ำ (Chirife and Fontan, 1980) และประสิทธิภาพขึ้นอยู่กับสารประกอบอื่น ๆ ที่ใช้ด้วย เช่น ปริมาณไนไตรท์หรือการบรรจุแบบสุญญากาศ และเมื่อมีการเติมโซเดียมแลคเตทร้อยละ 1 ในแฮมพบว่า จะสามารถลดค่า Aw ซึ่งจะไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่า pH สีและกลิ่นรส (flavor) ของแฮม และการใช้โซเดียมแลคเตทร้อยละ 2 ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์โดยช่วยยืดอายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นอีกเท่าตัว (Anonymous, 1988)

Brewer et al. (1991) พบว่า การใช้โซเดียมแลคเตทที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 หรือ 3 สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในไส้กรอกหมูสด (fresh pork sausage) ได้ทำให้ pH ลดต่ำลง แต่จะเกิดรสเปรี้ยวและกลิ่นไม่พึงประสงค์ (sour - and off - flavor) ในวันที่ 7 ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และตัวอย่างไส้กรอกหมูสดที่ใช้โซเดียมแลคเตทร้อยละ 2 ปริมาณ จุลินทรีย์ทั้งหมด (total plate counts) จะมีค่าเท่ากับ  $10^8$  CFU/g เมื่อวันที่ 24 ของการเก็บรักษา โซเดียมแลคเตทจะปกป้องสีแดงของเนื้อและส่งเสริม pork and salty- flavor ของไส้กรอกหมูสด

Debevere (1989) พบว่าการใช้โซเดียมแลคเตทร้อยละ 2 กับดับหมูที่ผ่านการพาสเจอร์ไลซ์ และบรรจุปิดผนึกแบบสุญญากาศจะช่วยลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียพวก aerobic, anaerobic และ lactic acid bacteria ได้ คือมีค่าเท่ากับ  $10^3$  CFU/g ภายหลังจากการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 6 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 อาทิตย์ซึ่งการเพิ่มหรือเติมโซเดียมแลคเตทลงไปร้อยละ 1-2 จะช่วยให้ค่า pH ของผลิตภัณฑ์ลดลงจาก 6.40 เป็น 6.35 ในตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไลซ์

Miller and Acuff (1994) พบว่าการใช้โซเดียมแลคเตทร้อยละ 3 และ 4 สามารถควบคุมการเจริญของเชื้อ *S. Typhi*, *E. coli* 0157: H7 ในผลิตภัณฑ์เนื้อสุก (cooked beef) ที่บรรจุในสภาพสุญญากาศและเก็บที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับไม่ใช้โซเดียมแลคเตทและที่ใช้โซเดียมแลคเตทร้อยละ 2 แต่โซเดียมแลคเตทไม่มีผลในการยับยั้งเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

*Staph. aureus* มากนัก การรักษาความสะอาดของสุวลักษณ์และอุณหภูมิการเก็บรักษาที่เหมาะสมจะเป็นสิ่งสำคัญสำหรับการควบคุมการเจริญของ *Staph. aureus* มากกว่าการใช้โซเดียมแลคเตท

Papadopoulos *et al.* (1991) รายงานว่า เนื้อวัวที่ผ่านการทอดและบรรจุปิดผนึกแบบสุญญากาศและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส ที่มีการใช้โซเดียมแลคเตทร้อยละ 3 และ 4 ปรากฏว่ามีค่า cooking yield สูงขึ้น เพิ่มสีและมีอายุการเก็บรักษาที่นานขึ้นถึง 84 วัน แต่ผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัส รายงานว่ามีอาการระคายเคืองที่คอเล็กน้อยหลังการทดสอบชิมผลิตภัณฑ์ที่มีการใช้โซเดียมแลคเตทร้อยละ 4 และผลหลังการชิมยิ่งแน่ชัดยิ่งขึ้นเมื่อเกิดกับ fresh catfish fillet คือ แม้ว่าอายุการเก็บรักษาจะมากขึ้นภายหลังการใช้โซเดียมแลคเตทร้อยละ 3 แต่ผู้บริโภคไม่ยอมรับเพราะเกิด sodium-metallic aftertaste โดย Williams *et al.* (1995) พบว่าการเกิด sodium-aftertaste จะเกิดมากขึ้นที่ความเข้มข้นโซเดียมแลคเตทร้อยละ 12-12.5 และวิเคราะห์ได้ว่าการใช้โซเดียมแลคเตทร้อยละ 2 กับ catfish fillet ที่ pH 5.5 ผลิตภัณฑ์จะได้รับการยอมรับและอายุการเก็บรักษาจะเพิ่มขึ้นอีก 3 วันด้วย

สำหรับปริมาณกรดแลคติกที่ใช้ในอาหารทั่วไปแสดงในตารางที่ 1.3 ในขณะที่ความสามารถของโซเดียมแลคเตทในการลดค่าวอเตอร์แอคทิวิตีเมื่อมีเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 1.5 ในได้กรอกแสดงในตารางที่ 1.4

### ตารางที่ 2.3 ปริมาณกรดแลคติกในอาหารทั่วไป

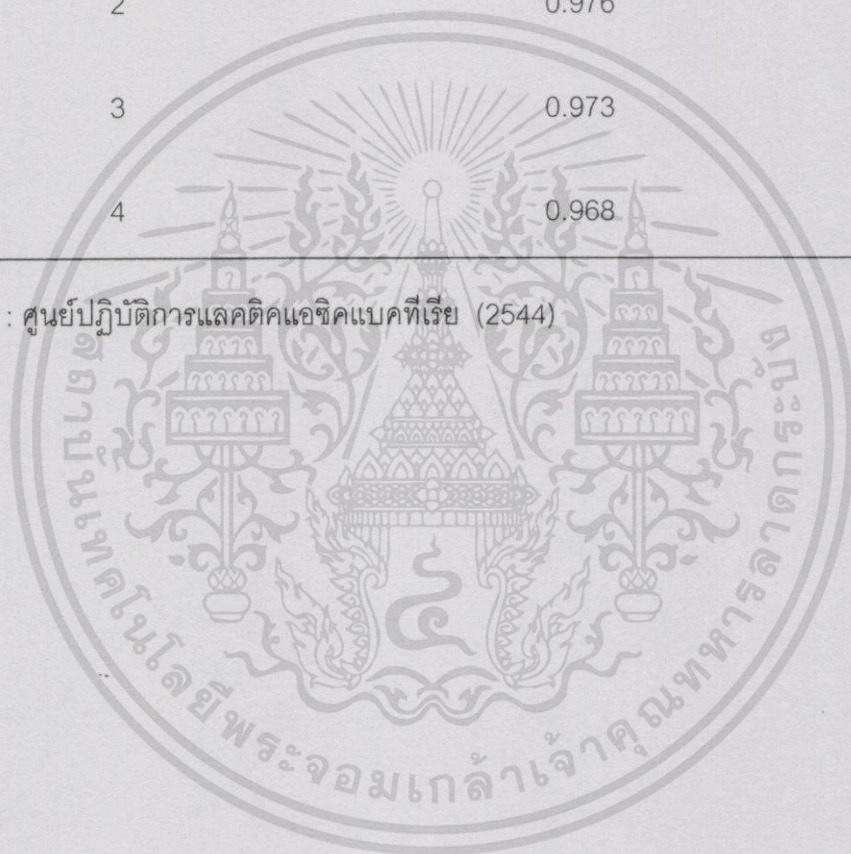
ผลิตภัณฑ์	ความเข้มข้น (ร้อยละ)
เนื้อหมู, เนื้อวัว, เนื้อไก่	0.9
ไส้กรอก	1.7
เนยแข็ง	1.3
โยเกิร์ต	1.7

ที่มา : ศูนย์ปฏิบัติการแลคติกแอซิคแบคทีเรีย (2544)

ตารางที่ 2.4 ความสามารถของโซเดียมแลคเตทในการลดค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ เมื่อมีเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 1.5 ในไส้กรอกมีดังนี้

ปริมาณการเติม (ร้อยละ)	Aw
ควบคุม	0.982
1	0.980
2	0.976
3	0.973
4	0.968

ที่มา : ศูนย์ปฏิบัติการแลคติกแอซิคแบคทีเรีย (2544)



## บทที่ 3

## อุปกรณ์และวิธีการ

## 3.1 วัสดุดิบ

## 3.1.1 เนื้อไก่

ใช้เนื้อไก่สด ส่วนนอกหรือสันใน ที่ได้จาก โลดัสซูปเปอร์มาร์เก็ต และมีอายุจากวันที่ผลิตไม่เกิน 3 วัน และมีการควบคุมอุณหภูมิไม่เกิน 7 องศาเซลเซียส ก่อนการแปรรูป

## 3.1.2 ส่วนผสมที่ใช้ในกระบวนการผลิต

- 3.1.2.1 เกลือ (ตราปรุngthิพย์)
- 3.1.2.2 ผงชูรส (ตราอายิโนะโมะไตะ)
- 3.1.2.3 สารฟอสเฟต (แอคคอร์ดี)
- 3.1.2.4 พริกไทย (ตรามือ)
- 3.1.2.5 แป้งมันสำปะหลัง (ตราปلامังกร)
- 3.1.2.6 น้ำแข็ง

## 3.1.3 เชื้อจุลินทรีย์

- 3.1.3.1 *S. Enteritidis*
- 3.1.3.2 *E. coli*
- 3.1.3.3 *Staph. aureus*

## 3.2 อุปกรณ์ในการผลิต

3.2.1 เครื่องบดผสม	Moulinex รุ่น Masterchef 450 electronic	ญี่ปุ่น
3.2.2 หม้อต้มน้ำร้อน		
3.2.3 เครื่องวัดอุณหภูมิภายใน	HANNA Instrument รุ่น HI 8424	อิตาลี
3.2.4 เทอร์โมมิเตอร์ ( อุณหภูมิ 0 -100 องศาเซลเซียส )		
3.2.5 ถุงพลาสติก ( polyethylene )		
3.2.6 เครื่องปิดผนึกแบบสุญญากาศ	Better Pack	ไทย
3.2.7 ตู้เพาะเชื้อ ( incubater )	Memmert	เยอรมัน
3.2.8 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ ( autoclave )	Tomy SS – 245	ญี่ปุ่น
3.2.9 ตู้เย็น	Thermotek	ไทย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.10	เครื่องชั่งละเอียด	OHAUS	สหรัฐอเมริกา
		Mettler AE 50	สวิสเซอร์แลนด์
3.2.11	ปิเปตต์อัตโนมัติ	Finn pipette	ฟินแลนด์
3.2.12	Hot plate	VELP SCIENTIFICA	อิตาลี
3.2.12	เครื่องแก้ว		

### 3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

- 3.3.1 Nutrient Agar (NA) บริษัท Meark
- 3.3.2 Xylose Lysine Deoxycholate Agar (XLD Agar) บริษัท Meark
- 3.3.3 Mannitol Salt Egg Yolk Agar (MSEY Agar) บริษัท Meark
- 3.3.4 Eosin Methylene Blue Agar (EMB Agar) บริษัท Meark
- 3.3.5 Brilliant Green Bile Lactose Broth (BGLB) บริษัท Meark
- 3.3.6 Lauryl Sulphate Broth (LST) บริษัท Meark
- 3.3.7 Typticase Soy Broth (TSB) บริษัท Meark
- 3.3.8 สารละลายโซเดียมแลคเตท (Sodium L – lactate, 60 % w/w)

### 3.4 สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

### 3.5 วิธีการทดลอง

#### 3.5.1 กรรมวิธีการผลิตลูกชิ้นไก่ (เขาวลักษณะ สุรพันธุ์พิศิษฐ์, 2537)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนประกอบที่สำคัญ : เนื้อไก่	300	กรัม
พริกไทย	1.95	กรัม
ผงชูรส	0.3	กรัม
แอสคอร์บัต	0.75	กรัม
เกลือ	7.5	กรัม
แป้งมัน	22	กรัม
น้ำ	90	กรัม

3.5.1.1 ทำการผลิตลูกชิ้น นำเนื้อไก่สด 300 กรัม มาล้างทำความสะอาดหั่นเป็นรูปสี่เหลี่ยม แล้วนำมาเข้าเครื่องบดเนื้อ เก็บรักษาเนื้อไก่บดที่อุณหภูมิ (-)3 ถึง 0 องศาเซลเซียส เวลาประมาณ 1-2 ชั่วโมง

3.5.1.2 ทำการผสมเนื้อไก่บด โดยใช้เครื่องผสม เติมน้ำแข็ง 1/3 ส่วน ตีนาน 2 นาที แล้วเติมผงชูรส แอสคอร์บัต และน้ำแข็ง 1/3 ส่วน ตีอีก 2 นาที จากนั้นเติมแป้งมัน พริกไทย และน้ำแข็ง 1/3 ส่วน ตีจนส่วนผสมมีเนื้อที่ละเอียดมีลักษณะเหนียวนุ่มมือ (ควบคุมอุณหภูมิไม่เกิน 7 องศาเซลเซียส) จะใช้เวลาประมาณ 2 นาที จากนั้นทำการปั้นส่วนผสมให้เป็นลูกกลมขนาดเท่ากัน (เส้นผ่าศูนย์กลาง 2.5 ซม. ; น้ำหนัก 10 กรัม / ลูก)

3.5.1.3 ทำให้ลูกชิ้นเกิดการขึ้นรูปโดยใส่ในหม้อน้ำร้อนชุดแรกอุณหภูมิ 40 – 60 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที แล้วทำให้ลูกชิ้นสุกโดยใส่ในหม้อน้ำร้อนชุดที่สอง อุณหภูมิ 70-75 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที

3.5.1.4 นำลูกชิ้นมาทำให้เย็นในน้ำเย็นอุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที

3.5.1.5 บรรจุถุงพลาสติกใสและปิดผนึกในสภาพสุญญากาศ

3.5.1.6 เก็บรักษาในห้องเย็น อุณหภูมิ  $4 \pm 1$  องศาเซลเซียส

3.5.2 การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการขึ้นรูปของลูกชิ้นไก่และการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิภายในลูกชิ้นขณะให้ความร้อนในระหว่างการขึ้นรูปในหม้อน้ำร้อนชุดแรกและการทำให้สุกในหม้อน้ำร้อนชุดที่สอง

ศึกษาอุณหภูมิในการขึ้นรูปของลูกชิ้นที่เหมาะสมซึ่งเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคจากขั้นตอนการผลิตลูกชิ้น ข้อที่ 3.5.1.3 แปรค่าอุณหภูมิเป็น 3 ช่วง คือ 40-45 องศาเซลเซียส 50-55 องศาเซลเซียส และ 60-65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วจึงนำลูกชิ้นลงต้มในหม้อน้ำร้อนชุดที่สอง อุณหภูมิ 70-75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ทำการวัดอุณหภูมิภายในลูกชิ้นในขณะที่ลูกชิ้นอยู่ในหม้อต้มน้ำร้อนชุดแรกและชุดที่สองเพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิภายในลูกชิ้นขณะให้ความร้อน นำลูกชิ้นมาทำให้เย็นในน้ำเย็นอุณหภูมิ 3-4 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที แล้ว

ทำการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคทางประสาทสัมผัส ใช้ผู้ทดสอบชิมทั้งหมด 15 คน เพื่อทดสอบการยอมรับทางด้านความชอบของผู้บริโภค โดยวิธีการทดสอบแบบ Hedonic scaling test แล้วนำผลมาวิเคราะห์ทางสถิติ ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ เลือกอุณหภูมิในการทำให้ลูกชิ้นไก่เกิดการขึ้นรูปที่ผู้บริโภครยอมรับมากที่สุดเพื่อนำไปศึกษาในขั้นตอนต่อไป

### 3.5.3 การศึกษาอุณหภูมิที่มีผลต่อการอยู่รอดของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคบางชนิด

3.5.3.1 ศึกษาระยะเวลาสำหรับการ pre - enrichment ที่เหมาะสมของการตรวจหาเชื้อ *S. Enteritidis*, *E. coli* และ *Staph. aureus* ที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 65, 70 และ 75 องศาเซลเซียส ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Broth (TSB)

เตรียมสารละลายเชื้อ *S. Enteritidis* (ภาคผนวก ก) ที่มีปริมาณเชื้อ  $10^5$  CFU/ml ในหลอดทดลองปริมาตร 10 มิลลิลิตร จำนวน 5 หลอด จากนั้นนำหลอดเชื้อจุ่มในอ่างน้ำร้อน (water bath) ที่อุณหภูมิ  $65 \pm 2$   $70 \pm 2$   $75 \pm 2$  องศาเซลเซียส อุณหภูมิละ 5 หลอด โดยให้ระดับน้ำในอ่างน้ำร้อนอยู่เหนือระดับเชื้อในหลอดทดลอง ซึ่ง 1 ใน 5 หลอดทดลองนี้จะมีเทอร์โมมิเตอร์เสียบไว้ในหลอดเพื่ออ่านอุณหภูมิของสารละลายเชื้อในอ่างน้ำร้อน เมื่ออุณหภูมิในหลอดทดลองถึงระดับที่ต้องการ เริ่มจับเวลาที่ 0.5 1 2 และ 3 นาที ตามลำดับ นำหลอดทดลองออกจากอ่างน้ำร้อนแล้วแช่ในน้ำเย็นทันที (อุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียส) จากนั้นทำการตรวจนับปริมาณเชื้อ *S. Enteritidis* ที่เหลือรอด โดยวิธี spread plate technique โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Broth เป็นอาหารที่ใช้ในการ pre-enrichment และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

ทำการตรวจนับเชื้อที่ผ่านการให้ความร้อนในแต่ละอุณหภูมิภายหลังการบ่มดังนี้

ตารางที่ 3.1 ระยะเวลาในการบ่มเชื้อ *S. Enteritidis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ภายหลังการให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลา 0.5, 1, 2 และ 3 นาที ตามลำดับ

อุณหภูมิ ในการให้ความร้อน (°C)	ระยะเวลาในการบ่มที่อุณหภูมิ 35 - 37 °C ( ชั่วโมง )				
65	0	2	4	6	8
70	0	4	6	8	10 12
75	0	10	12	14	16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำการทดลองซ้ำการทดลองเดิม โดยเปลี่ยนจาก *S. Enteritidis* เป็น *E. coli* และ *Staph. aureus*

3.5.3.2 การอยู่รอดของเชื้อ *S. Enteritidis*, *E. coli* และ *Staph. aureus* ที่อุณหภูมิ 65, 70 และ 75 องศาเซลเซียสในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB

เตรียมสารละลายเชื้อ *S. Enteritidis* (ภาคผนวก ก) ที่มีปริมาณเชื้อเท่ากับ  $10^5$  CFU/ml ในหลอดทดลองปริมาตร 10 มิลลิลิตร จุ่มในอ่างน้ำร้อน (water bath) ที่อุณหภูมิ  $65 \pm 2$   $70 \pm 2$   $75 \pm 2$  องศาเซลเซียส อุณหภูมิละ 6 หลอด โดยให้ระดับน้ำในอ่างน้ำร้อนอยู่เหนือระดับเชื้อในหลอดทดลอง ซึ่ง 1 ใน 6 หลอดทดลองนี้จะมีเทอร์โมมิเตอร์เสียบไว้ในหลอดเพื่ออ่านอุณหภูมิของสารละลายเชื้อในอ่างน้ำร้อน เมื่ออุณหภูมิในหลอดทดลองถึงระดับที่ต้องการ เริ่มจับเวลาที่ 30 60 90 120 และ 180 วินาที ตามลำดับ นำหลอดทดลองออกจากอ่างน้ำร้อนแล้วแช่ในน้ำเย็นทันที (อุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียส) จากนั้นนำสารละลายเชื้อบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ใช้เวลาการ pre - enrichment ที่เหมาะสมที่ศึกษาในหัวข้อ 3.5.3.1 ทั้ง 3 อุณหภูมิ และทำการตรวจนับปริมาณเชื้อ *S. Enteritidis* ที่เหลือรอด โดยวิธี spread plate technique ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

ทำการทดลองซ้ำการทดลองเดิม โดยเปลี่ยนจาก *S. Enteritidis* เป็น *E. coli* และ *Staph. aureus*

### 3.5.4 การศึกษาการอยู่รอดของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคบางชนิดที่ผสมอยู่ในลูกชิ้นไก่ที่อุณหภูมิ 65, 70 และ 75 องศาเซลเซียส ณ เวลาต่างๆ

ทำการผลิตลูกชิ้นไก่ตามขั้นตอนการผลิต คือ นำเนื้อไก่มาล้างทำความสะอาด บดเนื้อและเก็บแช่เย็นอุณหภูมิ -3 ถึง 0 องศาเซลเซียส เวลา 1-2 ชั่วโมง จากนั้นจึงทำการสับผสมตามขั้นตอน ข้อ 3.5.1.2 แล้วทำการผสมเชื้อ *S. Enteritidis* ลงคลุกเคล้าให้เชื้อจุลินทรีย์กระจายอย่างทั่วถึงและมีปริมาณเชื้ออยู่ประมาณ  $10^5$  CFU/g ในส่วนผสม นำมาปั้นเป็นลูกกลมเท่าๆกัน (มีน้ำหนักประมาณ 10 กรัม ต่อ 1 ลูก) แล้วทำการแบ่งส่วนผสม 25 กรัม เพื่อนับจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้น จากนั้นนำลูกชิ้นลงต้มในหม้อน้ำร้อนชุดแรก ณ อุณหภูมิที่เหมาะสมซึ่งได้ทำการศึกษาจากข้อ 3.5.2 ทำการจับเวลาและสุ่มตัวอย่างลูกชิ้นออกมาที่เวลา 5 และ 10 นาที แล้วจึงนำลูกชิ้นไปตรวจหาปริมาณเชื้อ *S. Enteritidis* ที่รอดชีวิต เมื่อครบเวลา 10 นาที แล้วจึงตักลูกชิ้นใส่ลงในหม้อน้ำร้อนชุดที่สองที่อุณหภูมิ 65-70 องศาเซลเซียส จนอุณหภูมิภายในลูกชิ้นขึ้นถึง  $65 \pm 2$  องศาเซลเซียส ทำการจับเวลาและสุ่มตัวอย่างลูกชิ้นออกมาที่เวลา 5 10 และ 15 นาที แล้วนำลูกชิ้นมาทำให้เย็นในน้ำเย็นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วที่อุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ก่อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่จะนำลูกขึ้นไปตรวจหาปริมาณเชื้อ *S. Enteritidis* ที่รอดชีวิตจากการให้ความร้อน (ภาคผนวก ฉ) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ จากนั้น ทำการทดลองซ้ำการทดลองเดิม โดยเปลี่ยนอุณหภูมิหม้อต้มน้ำร้อน ชุดที่สองเป็นอุณหภูมิ 70-75 และ 75-80 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เพื่อให้ได้อุณหภูมิภายในเท่ากับ  $70 \pm 2$  และ  $75 \pm 2$  องศาเซลเซียส ตามลำดับ และทำการทดลองซ้ำการทดลองเดิมโดยเปลี่ยนจากเชื้อ *S. Enteritidis* เป็น เชื้อ *E. coli* และ *Staph. aureus*

พิจารณาเลือกอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมที่ทำให้ปริมาณการอยู่รอดของเชื้อ *S. Enteritidis*, *E. coli* และ *Staph. aureus* ที่ผสมอยู่ในลูกขึ้นไก่ โดยต้องไม่พบ *Salmonella* ในตัวอย่างอาหาร 25 กรัม, *E. coli* โดยวิธีเอ็มพีเอ็น (MPN) น้อยกว่า 3 ในตัวอย่าง 1 กรัม และต้องไม่พบ *Staph. aureus* ในตัวอย่าง 0.1 กรัม (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2533) เพื่อศึกษาผลของการใช้วัตถุดิบเสียต่อไป

### 3.5.5 ผลของสารละลายโซเดียมแลคเตทต่ออายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ลูกขึ้นไก่

#### 3.5.5.1 ผลของการแช่โซเดียมแลคเตทต่ออายุการเก็บรักษาลูกขึ้นไก่

นำลูกขึ้นไก่ที่ผ่านกระบวนการผลิตและให้ความร้อนที่เหมาะสมในข้อที่ 3.5.4 มาแช่น้ำเย็นอุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที แล้วนำมาแช่ในสารละลายโซเดียมแลคเตทความเข้มข้น ร้อยละ 0 1 2 และ 3 ของปริมาตรน้ำ (น้ำที่ใช้ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว) โดยแช่ลูกขึ้นเป็นเวลา 30 วินาที สะเด็ดน้ำแล้วนำไปบรรจุถุงพลาสติกและปิดผนึกด้วยเครื่องปิดผนึกแบบสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $4 \pm 1$  องศาเซลเซียส วางแผนการทดลองแบบ RCBD ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ ทำการตรวจหาเชื้อ *S. Enteritidis*, *E. coli*, *Staph. aureus* และจุลินทรีย์ทั้งหมด (total plate count) ทุก 5 วัน เป็นเวลา ทั้งหมด 30 วัน

#### 3.5.5.2 ผลของโซเดียมแลคเตทที่เติมลงในส่วนผสมลูกขึ้นไก่ต่ออายุการเก็บรักษาลูกขึ้นไก่

ทำการผลิตลูกขึ้นไก่ตามขั้นตอนการผลิตข้อ 3.5.1.1 โดยทำการเติมสารละลายโซเดียมแลคเตทลงป้ร้อยละ 0 1 2 และ 3 ในขั้นตอนการผสม ตีจนส่วนผสมมีเนื้อที่ละเอียด บั้้นส่วนผสมเป็นลูกกลมขนาดเท่าๆกัน แล้วนำลงต้มในหม้อต้มน้ำร้อนชุดแรก อุณหภูมิ 50 - 55 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที แล้วทำให้ลูกขึ้นสุกในหม้อต้มน้ำร้อนชุดที่สองอุณหภูมิ 70 - 75 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที ทำให้เย็นที่อุณหภูมิ 4 - 5 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที บรรจุในถุงพลาสติกและปิดผนึกด้วยเครื่องปิดผนึกแบบสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $4 \pm 1$  องศาเซลเซียส วางแผนการทดลองแบบ RCBD โดยมีปัจจัย คือ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ทำการตรวจหาเชื้อ *S.* เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตให้มาใช้ประโยชน์ในการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Enteritidis, *E. coli*, *Staph. aureus* และจุลินทรีย์ทั้งหมด (total plate count) ทุก 5 วัน เป็นเวลาทั้งหมด 30 วัน



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 ผลของอุณหภูมิในการขึ้นรูปของลูกชิ้นไก่และการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิภายในลูกชิ้นขณะให้ความร้อนในหม้อน้ำร้อนชุดแรกและชุดที่สองต่อลักษณะปรากฏของลูกชิ้น

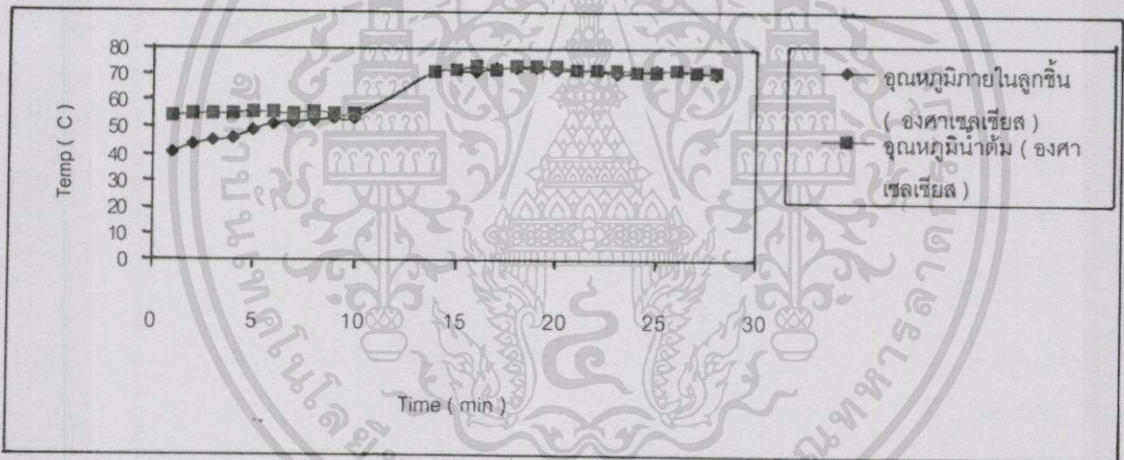
จากการศึกษาอุณหภูมิในการฟอร์มตัวของลูกชิ้นที่เหมาะสมในขั้นตอนการผลิตลูกชิ้น ข้อ 3.5.2 แปรค่าอุณหภูมิ 3 ช่วง คือ 40 – 45 องศาเซลเซียส 50 – 55 องศาเซลเซียส และ 60 - 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที และนำลูกชิ้นลงต้มในหม้อน้ำร้อนชุดที่สอง อุณหภูมิ 70 – 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ได้กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิภายในลูกชิ้นขณะให้ความร้อนดังภาพที่ 4.1 และเมื่อทำการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคด้านความชอบต่อลูกชิ้นโดยการทดสอบทางประสาทสัมผัส แบบ Ranking test ให้ผู้ชิมทั้งหมด 15 คน พบว่า อุณหภูมิการฟอร์มตัวของลูกชิ้นที่ 50 – 55 องศาเซลเซียส เวลา 10 นาที มีการยอมรับของผู้บริโภคมากที่สุด (แสดงอยู่ในตารางผนวก ข) โดยลักษณะลูกชิ้นมีความเหนียวแน่นมากกว่าลูกชิ้นที่มีอุณหภูมิการฟอร์มตัวที่ 40 – 45 องศาเซลเซียส และ 60 – 65 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 4.1) ลูกชิ้นที่ผ่านอุณหภูมิในการขึ้นรูปที่ 40 – 45 องศาเซลเซียส จะมีลักษณะอ่อนนุ่มไม่เหนียวแน่นและลูกชิ้นที่ผ่านการขึ้นรูปที่ 60 – 65 องศาเซลเซียส จะมีลักษณะเนื้อร่วน ยุ่ย แห้ง ไม่เหนียว เนื่องจากทั้งสองช่วงอุณหภูมิดังกล่าวเป็นอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมต่อการขึ้นรูปหรือการเกิดเจลของโปรตีนในเนื้อไก่ของลูกชิ้นไก่ซึ่งการเกิดเจลจะส่งผลให้เกิดความเหนียว ความยืดหยุ่นและความสามารถในการอุ้มน้ำของลูกชิ้นไก่ โดยกลไกการเกิดเจลจะเริ่มจากโปรตีนเกิดการคลายตัว (protein unfolding) เมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 30-40 องศาเซลเซียสและโปรตีนจะมาจับเรียงตัวกันใหม่ระหว่างโปรตีนกับโปรตีน (protein – protein interaction) เกิดการสานตัวเป็นร่างแหที่มีลักษณะขุ่นหนืด แต่ยังไม่คงตัว ลักษณะขุ่นหนืดที่เกิดขึ้นเรียกว่า " sol " ซึ่งจะเกิดขึ้นเมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 45 – 55 องศาเซลเซียส และลำดับสุดท้ายของการเกิดเจล คือโปรตีนจะเกิดเป็นโครงร่างสามมิติ (three – dimension network) ที่มีความอยู่ตัวเมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิสูงกว่า 70 องศาเซลเซียส (Xiong and Brekke. 1990) นั่นคือที่อุณหภูมิ 40 – 45 องศาเซลเซียส โปรตีนในเนื้อไก่จะเกิดการคลายตัวแต่ไม่ได้เกิดการจัดเรียงตัวกันเป็นโครงร่างตาข่ายที่สมบูรณ์ เจลที่ได้จึงไม่คงตัว ทำให้ได้ลูกชิ้นที่มีลักษณะเนื้ออ่อนนุ่มไม่เหนียว และที่อุณหภูมิ 60 – 65 องศาเซลเซียส โปรตีนไม่ได้เรียงตัวหรือสานเป็นร่างแหอย่างสมบูรณ์แต่เกิดการเสียสภาพของโปรตีนเสียก่อน โปรตีนจึงจับกับน้ำได้ไม่ดี ดังเช่น Xiong et al.(1987) พบว่า การเสียสภาพของโปรตีนไมโอไฟบริลลาจากเนื้อไก่จะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่ขึ้นต้นการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกิดที่อุณหภูมิ 60.8 องศาเซลเซียส ลูกชิ้นจึงมีลักษณะเนื้อร่วนยุ่ย แข็ง ไม่เหนียว ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้ จึงเลือกอุณหภูมิการฟอรั่มตัวของลูกชิ้นที่อุณหภูมิ 50 – 55 องศาเซลเซียส ในหม้อต้มน้ำร้อนแรกและนำลงต้มต่อในหม้อน้ำร้อนชุดที่สองที่อุณหภูมิ 70 – 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมในกระบวนการผลิตลูกชิ้นไก่ เพื่อนำไปใช้ในหัวข้อต่อไป

ตารางที่ 4.1 ลักษณะปรากฏของลูกชิ้นที่อุณหภูมิการขึ้นรูปต่างๆ

อุณหภูมิในการขึ้นรูป ( ° C )	ลักษณะปรากฏ
40 – 45	เนื้อเนียน อ่อนนุ่ม ไม่เหนียว หรือยืดหยุ่นมากนัก
50 – 55	เนื้อเนียน เหนียวแน่น ยืดหยุ่น
60 – 65	เนื้อร่วน ยุ่ย แข็งไม่เหนียว



ภาพที่ 4.1 การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิภายในลูกชิ้นและน้ำต้มลูกชิ้นในระหว่างการให้ความร้อนในหม้อต้มลูกชิ้น 2 ช่วง : ช่วงแรกในหม้อต้มที่ 1 ที่อุณหภูมิ 50 – 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที และช่วงที่สองในหม้อต้มที่ 2 ที่อุณหภูมิ 70 – 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

## 4.2 ผลอุณหภูมิที่มีผลต่อการอยู่รอดของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคบางชนิดในอาหารเลี้ยงเชื้อ

### 4.2.1 เวลาสำหรับการ pre – enrichment ที่เหมาะสมในการตรวจหาเชื้อ *S. Enteritidis*, *E. coli* และ *Staph. aureus* เมื่อผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 65 70 และ 75 องศาเซลเซียส ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB

ตามปกติแล้วเชื้อ *Salmonella* spp., *E. coli* และ *Staph. aureus* เป็นเชื้อที่สามารถถูกทำลายได้โดยความร้อนในระดับพาสเจอร์ไลซ์ โดยเชื้อ *Salmonella* spp. ถูกทำลายที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง หรือ 60 องศาเซลเซียส นาน 0.2 – 6.5 นาที (Macrae et al. 1993) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ในคัสตาดีใช้เวลา 11.3 นาทีและใน chicken a la' king ใช้เวลา 9.6 นาที (Banwart . 1979) หรือที่อุณหภูมิ 62 องศาเซลเซียส นาน 4 นาที (ผานิตย์และศิริพร. 2541) สำหรับเชื้อ *E. coli* มีค่า D – value ที่อุณหภูมิ 52 54 และ 56 องศาเซลเซียส เท่ากับ 6.3 2.1 และ 0.6 นาที ตามลำดับ ใน อาหาร nutrient broth (Theresa and Ingham. 1994) และค่า D- value ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส มีค่าเท่ากับ 0.45 - 0.47 นาที ในเนื้อวัว (beef) , 0.37 – 0.55 นาที ในไส้กรอกหมู, 0.38 – 0.55 นาที ในเนื้อไก่ และ 0.55 – 0.58 นาที ในเนื้อ turkey (Jay.1996) และใน ice cream mix มีค่า D- value ที่อุณหภูมิ 57.3 องศาเซลเซียส เท่ากับ 5.7 นาที ในขณะที่ *Staph. aureus* มีค่า D – value ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสใน Ringer's solution เท่ากับ 0.11 นาที (pH 7.2) เนื้อ (beef) มีค่าเท่ากับ 2.2-2.6 นาที, skim milk เท่ากับ 3.1-3.4 นาที และในไส้กรอกแพนเฟเตอร์ การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 71.1 องศาเซลเซียส พบว่าสามารถทำลายเชื้อได้หมด และการใช้ไมโครเวฟให้ความร้อนนาน 2 นาที สามารถทำลายเชื้อได้มากกว่า  $2 \times 10^6$  cells / g (Jay. 1996) และในคัสตาดี เชื้อ *Staph. aureus* มีค่า D – value ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เท่ากับ 7.7 –7.8 นาทีและใน chicken a la' king มีค่าเท่ากับ 5.2 – 5.4 นาที (Banwart. 1979)และที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียสมีค่า D – value เท่ากับ 0.2-2.0 นาที (Adams and Moss. 1995)

จากการศึกษาหาค่า D – value หรือความต้านทานความร้อนของเชื้อ *S. Enteritidis*, *E. coli* และ *Staph. aureus* ที่ อุณหภูมิ 65 70 และ 75 องศาเซลเซียส ซึ่งปริมาณเชื้อที่เหลือรอดนี้จะอยู่ในสภาพที่มีความบกพร่องทางกายภาพหรือที่เรียกว่าเซลล์บาดเจ็บ (injured cell) เนื่องจากผลของความร้อนจะส่งผลกระทบต่อเซลล์แต่ละเซลล์ ดังนั้นเพื่อที่จะได้ผลของการตรวจนับจุลินทรีย์ดังกล่าวเป็นที่ยอมรับ จึงจำเป็นต้องตรวจนับจุลินทรีย์ที่ได้รับบาดเจ็บเป็นประการแรก คือ ต้องมีการรักษาเซลล์บาดเจ็บนี้โดยการบ่มเชื้อเหล่านี้ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเสริม (enrichment media) โดยเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase soy broth (TSB) เพื่อให้เชื้อสามารถรักษาตัวเอง

ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมแล้วจึงจะสามารถเพิ่มจำนวนได้อีกครั้ง ทำการบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

องศาเซลเซียส จากนั้นตรวจนับปริมาณเชื้อที่เวลาต่างๆ ของเชื้อแต่ละชนิด แล้วจึงทำการตรวจนับปริมาณเชื้อ โดยทำการเจือจางด้วยวิธี 10 Fold dilution จนได้ความเจือจางที่เหมาะสมต่อการนับจำนวน ทำการตรวจนับปริมาณเชื้อโดยวิธี spread plate technique บนอาหาร Nutrient Agar นำไปบ่มเพาะเชื้อที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตการเปลี่ยนแปลงของปริมาณเชื้อ และคัดเลือกเวลาที่เหมาะสมต่อการรักษาเซลล์ที่บาดเจ็บ โดยสังเกตเชื้อเริ่มมีการเพิ่มจำนวนจากการตรวจนับไม่ได้มาตรวจนับได้ แต่ต้องไม่มีการเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว เพื่อนำมารายงานผลของปริมาณจุลินทรีย์ที่เหลือรอด

จากผลการศึกษาการรอดชีวิตของเชื้อ *S. Enteritidis* *E. coli* และ *Staph. aureus* ที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 65 70 และ 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0.5 1 2 และ 3 นาที ที่ชั่วโมงการ pre -enrichment ต่างๆ พบว่า

การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0.5 1 2 และ 3 นาที พบว่าเวลาที่เหมาะสมในการบ่มเชื้อเพื่อรักษาเซลล์ของ *S. Enteritidis* *E. coli* และ *Staph. aureus* ที่บาดเจ็บจากการได้รับความร้อน คือ 2 4 4 และ 8 ชั่วโมง ตามลำดับ (ตารางที่ 4.2)

การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0.5 1 2 นาที พบว่าเวลาที่เหมาะสมในการบ่มเชื้อเพื่อรักษาเซลล์ของ *S. Enteritidis* และ *E. coli* คือ 6 8 และ 10 ชั่วโมง ตามลำดับ ส่วน *Staph. aureus* คือ 4 6 และ 6 ชั่วโมง ตามลำดับ ในขณะที่การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาทีนั้นตรวจไม่พบทุกเชื้อทุกชั่วโมงที่ pre -enrichment (ตารางที่ 4.3)

การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0.5 และ 1 นาที พบว่าเวลาที่เหมาะสมในการบ่มเชื้อเพื่อรักษาเซลล์ของ *S. Enteritidis* *E. coli* และ *Staph. aureus* คือ 10 และ 12 ชั่วโมง ตามลำดับ ในขณะที่เมื่อให้ความร้อนเป็นเวลา 2 นาที เวลาในการบ่มเชื้อเพื่อรักษาเซลล์ของ *S. Enteritidis* และ *Staph. aureus* คือ 14 และ 12 ชั่วโมง ตามลำดับ ส่วน *E. coli* ตรวจไม่พบทุกชั่วโมงที่ pre -enrichment ส่วนเมื่อให้ความร้อนเป็นเวลา 3 นาทีนั้นตรวจไม่พบทุกชั่วโมงที่ pre -enrichment (ตารางที่ 4.4)

สำหรับตารางที่ 4.5 เป็นสรุปเวลาที่เหมาะสมในการ pre - enrichment ของเชื้อ *S. Enteritidis* *E. coli* และ *Staph. aureus* ที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 65 70 และ 75 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 4.2 ปริมาณเชื้อ *S. Enteritidis* *E. coli* และ *Staph. aureus* ที่รอดชีวิต เมื่อผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เวลา 0.5 1 2 3 นาที ที่ช่วงไมงการ pre-enrichment ต่างๆ

อุณหภูมิ (°C)	เวลา (นาที)	pre - enrichment ( ชั่วโมง )	ปริมาณเชื้อที่รอดชีวิต ( CFU/ml )			
			<i>S. Enteritidis</i>	<i>E. coli</i>	<i>Staph. aureus</i>	
65	0.5	0	NG	NG	NG	
		2	$9.7 \times 10^3$	$8.1 \times 10^3$	$1.9 \times 10^4$	
		4	$3.9 \times 10^4$	$4.1 \times 10^4$	$6.8 \times 10^4$	
		6	$5.2 \times 10^4$	$5.1 \times 10^4$	$8.5 \times 10^4$	
		8	$7.9 \times 10^4$	$6.4 \times 10^4$	$1.1 \times 10^5$	
		1	0	NG	NG	NG
			2	NG	NG	NG
			4	$5.5 \times 10^3$	$3.5 \times 10^3$	$9.9 \times 10^3$
	6		$6.8 \times 10^3$	$4.0 \times 10^3$	$1.4 \times 10^4$	
	8		$8.3 \times 10^3$	$6.3 \times 10^3$	$1.9 \times 10^4$	
	2		0	NG	NG	NG
			2	NG	NG	NG
			4	$1.5 \times 10^2$	$1.2 \times 10^2$	$3.4 \times 10^2$
		6	$2.1 \times 10^2$	$1.5 \times 10^2$	$4.2 \times 10^2$	
		8	$2.7 \times 10^2$	$2.1 \times 10^2$	$5.0 \times 10^2$	
		3	0	NG	NG	NG
			2	NG	NG	NG
			4	NG	NG	NG
	6		NG	NG	NG	
	8		$1.3 \times 10^2$	$1.1 \times 10^2$	$1.1 \times 10^2$	

หมายเหตุ : NG = non growth

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ปริมาณเชื้อ *S. Enteritidis* *E. coli* และ *Staph. aureus* ที่รอดชีวิต เมื่อผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เวลา 0.5 1 2 3 นาที ที่ชั่วโมงการ pre-enrichment ต่างๆ

อุณหภูมิ (°C)	เวลา (นาที)	pre - enrichment (ชั่วโมง)	ปริมาณเชื้อที่รอดชีวิต (CFU/ml)		
			<i>S. Enteritidis</i>	<i>E. coli</i>	<i>Staph. aureus</i>
70	0.5	0	NG	NG	NG
		4	NG	NG	$1.2 \times 10^4$
		6	$6.3 \times 10^3$	$3.2 \times 10^3$	$4.1 \times 10^4$
		8	$2.9 \times 10^4$	$2.2 \times 10^3$	$5.3 \times 10^4$
		10	$4.3 \times 10^4$	$3.3 \times 10^3$	$6.2 \times 10^4$
		12	$5.8 \times 10^4$	$3.9 \times 10^3$	$7.5 \times 10^4$
	1	0	NG	NG	NG
		4	NG	NG	NG
		6	NG	NG	$4.7 \times 10^3$
		8	$2.6 \times 10^3$	$1.4 \times 10^3$	$5.2 \times 10^3$
		10	$3.4 \times 10^3$	$1.7 \times 10^3$	$7.1 \times 10^3$
		12	$5.9 \times 10^3$	$2.5 \times 10^3$	$7.5 \times 10^3$
2	0	NG	NG	NG	
	4	NG	NG	NG	
	6	NG	NG	$1.2 \times 10^2$	
	8	NG	NG	$1.6 \times 10^2$	
	10	$1.1 \times 10^2$	$1.3 \times 10^2$	$1.9 \times 10^2$	
	12	$1.6 \times 10^2$	$1.6 \times 10^2$	$2.4 \times 10^2$	
3	0	NG	NG	NG	
	4	NG	NG	NG	
	6	NG	NG	NG	
	8	NG	NG	NG	
	10	NG	NG	NG	
	12	NG	NG	NG	

หมายเหตุ : NG = non growth

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 ปริมาณเชื้อ *S. Enteritidis* *E. coli* และ *Staph. aureus* ที่รอดชีวิต เมื่อผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส เวลา 0.5 1 2 3 นาที ที่ชั่วโมงการ pre-enrichment ต่างๆ

อุณหภูมิ (°C)	เวลา (นาที)	pre - enrichment ( ชั่วโมง )	ปริมาณเชื้อที่รอดชีวิต ( CFU/ml )			
			<i>S. Enteritidis</i>	<i>E. coli</i>	<i>Staph. aureus</i>	
75	0.5	0	NG	NG	NG	
		10	$5.6 \times 10^3$	$1.9 \times 10^3$	$7.9 \times 10^3$	
		12	$1.4 \times 10^4$	$1.6 \times 10^4$	$3.1 \times 10^4$	
		14	$2.6 \times 10^4$	$2.3 \times 10^4$	$5.2 \times 10^4$	
		16	$3.4 \times 10^4$	$2.8 \times 10^4$	$6.3 \times 10^4$	
		1	0	NG	NG	NG
	1	10	NG	NG	NG	
		12	$1.3 \times 10^3$	$5.4 \times 10^2$	$2.9 \times 10^3$	
		14	$2.1 \times 10^3$	$6.3 \times 10^2$	$3.2 \times 10^3$	
		16	$2.8 \times 10^3$	$7.5 \times 10^2$	$4.0 \times 10^3$	
		2	0	NG	NG	NG
			10	NG	NG	NG
	12		NG	NG	$1.1 \times 10^2$	
	14		$1.2 \times 10^2$	NG	$1.2 \times 10^2$	
	3	16	$1.5 \times 10^2$	NG	$1.6 \times 10^2$	
		0	NG	NG	NG	
		10	NG	NG	NG	
		12	NG	NG	NG	
14		NG	NG	NG		
16		NG	NG	NG		

หมายเหตุ: NG = non growth

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 สรุปเวลาที่เหมาะสมในการ pre - enrichment เชื้อ *S. Enteritidis* *E. coli* และ *Staph. aureus* ที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 65, 70 และ 75 องศาเซลเซียส ณ เวลา ต่างๆ

เชื้อจุลินทรีย์	อุณหภูมิฆ่าเชื้อ (°C)	เวลา (นาที)	เวลาที่ใช้ในการ pre - enrichment (ชั่วโมง)	
<i>S. Enteritidis</i>	65	0.5	2	
		1	4	
		2	4	
	70	3	8	
		0.5	6	
		1	8	
		2	10	
		3	-	
		0.5	10	
	<i>E. coli</i>	65	0.5	2
			1	4
			2	4
70		3	8	
		0.5	6	
		1	8	
		2	10	
		3	-	
		0.5	10	
75		0.5	12	
		1	14	
		2	-	
	3	8		
	0.5	6		
	1	8		
	2	10		
	3	-		
	0.5	10		
<i>Staph. aureus</i>	65	0.5	2	
		1	4	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 (ต่อ)

เชื้อจุลินทรีย์	อุณหภูมิฆ่าเชื้อ (°C)	เวลา (นาที)	เวลาที่ใช้ในการ pre – enrichment ( ชั่วโมง )
<i>Staph. aureus</i>	70	2	4
		3	8
		0.5	4
		1	6
		2	6
		3	-
	75	0.5	10
		1	12
		2	12
		3	-

#### 4.2.2 การอยู่รอดของเชื้อ *S. Enteritidis* *E.coli* และ *Staph. aureus* ที่อุณหภูมิ 65 70 และ 75 องศาเซลเซียส ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB

จากการทดลองในหัวข้อ 4.2.1 พบว่า เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นเวลาที่จำเป็นต้องใช้ในการ pre – enrichment จะนานขึ้น และเมื่อระยะเวลาในการให้ความร้อน ( 0.5 1 2 และ 3 นาที ) ที่อุณหภูมิที่ใช้นานขึ้นทำให้เวลาที่จำเป็นต้องใช้ในการ pre – enrichment จะนานขึ้นด้วยเช่นกัน และสามารถสรุปเวลาที่เหมาะสมที่ใช้ในการ pre – enrichment เชื้อทั้ง 3 ชนิดที่อุณหภูมิ 65, 70 และ 75 องศาเซลเซียส ณ เวลาต่างๆไว้ในตารางที่ 4.5 อีกทั้งยังพบว่า เชื้อ *Staph. aureus* เป็นเชื้อที่รอดชีวิตจากความร้อนได้มากกว่าเชื้อ *S. Enteritidis* และ *E. coli* ซึ่งสังเกตได้จากที่อุณหภูมิและเวลาเดียวกันจะมีปริมาณเชื้อ *Staph. aureus* รอดชีวิตมากกว่าเชื้อ *S. Enteritidis* และ *E. coli* ทั้งนี้เนื่องมาจากเชื้อ *Staph. aureus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวกและ *S. Enteritidis* และ *E. coli* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ซึ่งตามปกติแบคทีเรียแกรมบวกจะทนความร้อนได้มากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (Adams and Moss, 1995) จากนั้นทำการหาค่าการรอดชีวิตของเชื้อทั้ง 3 ชนิดที่อุณหภูมิ 65 70 และ 75 องศาเซลเซียส โดยทดสอบหาปริมาณเชื้อที่รอดชีวิตที่อุณหภูมิ 65 70 และ 75 องศาเซลเซียส ที่เวลา 30 60 90 120 180 วินาที และใช้เวลาในการ pre – enrichment ที่อุณหภูมิ 65 70 และ 75 องศาเซลเซียส ที่เหมาะสม ดังแสดงในตารางที่ 4.5 ผลปรากฏดังตารางที่ 4.6 – 4.8 จากนั้นนำค่าปริมาณเชื้อ *S. Enteritidis* *E. coli* และ *Staph. aureus*

ที่รอดชีวิตมาสร้างกราฟการรอดชีวิต (survival curve) เพื่อหาค่า D - value ดังแสดงในภาพที่ 4.2 จากค่า D ที่ได้จากกราฟเปรียบเทียบกับหาค่า D - value จากการคำนวณ พบว่า ค่า D- value จากกราฟมีค่าใกล้เคียงกันกับค่า D - value ที่ได้จากการคำนวณ (ภาคผนวก ง) ผลสรุปดังตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.6 ปริมาณเชื้อ *S. Enteritidis* ที่รอดชีวิตเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 65 70 และ 75 องศาเซลเซียส ณ เวลา ต่างๆ ( ปริมาณเชื้อเริ่มต้น  $3.7 \times 10^5$  CFU/ml หรือ log 5.57 CFU / ml)

อุณหภูมิ (°C)	ปริมาณเชื้อที่รอดชีวิต (CFU/ml) ณ เวลาต่างๆ(วินาที)				
	30	60	90	120	180
65	$5.2 \times 10^4$	$5.5 \times 10^3$	$6.4 \times 10^2$	$1.1 \times 10^2$	NG
70	$2.9 \times 10^4$	$2.6 \times 10^3$	$2.7 \times 10^2$	NG	NG
75	$1.5 \times 10^4$	$1.2 \times 10^3$	$1.1 \times 10^2$	NG	NG

หมายเหตุ : ใช้เวลาในการ pre - enrichment ที่เหมาะสมจากตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.7 ปริมาณเชื้อ *E. coli* ที่รอดชีวิตเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 65, 70 และ 75 องศาเซลเซียส ณ เวลา ต่างๆ ( ปริมาณเชื้อเริ่มต้น  $3.7 \times 10^5$  CFU/ml หรือ log 5.57 CFU / ml)

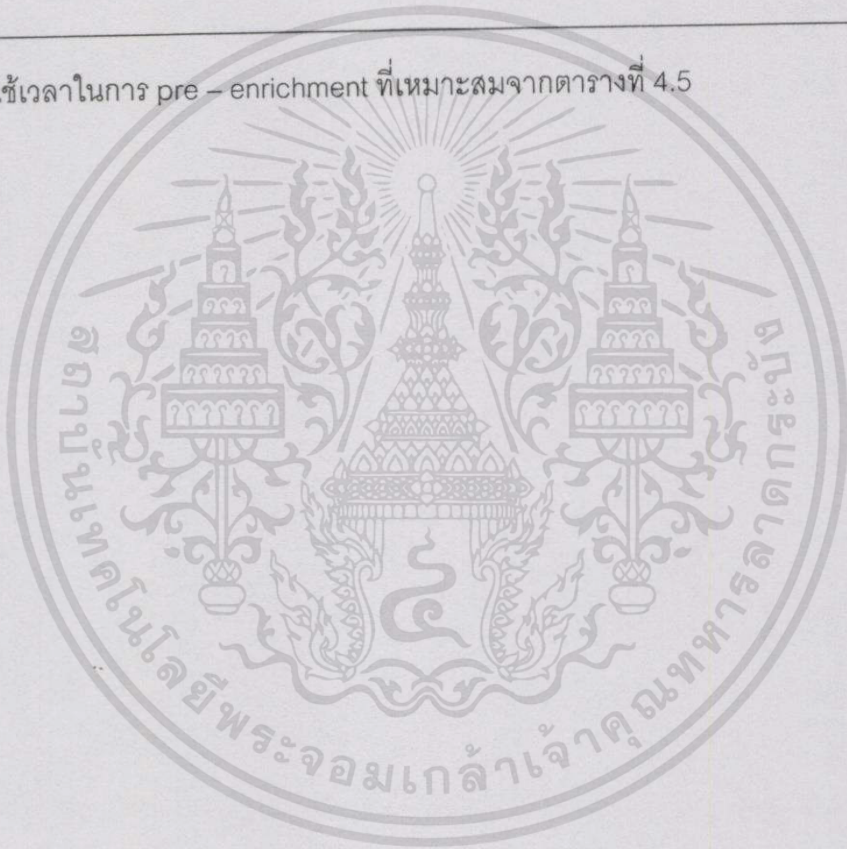
อุณหภูมิ (°C)	ปริมาณเชื้อที่รอดชีวิต (CFU/ml) ณ เวลาต่างๆ(วินาที)				
	30	60	90	120	180
65	$4.1 \times 10^4$	$4.1 \times 10^3$	$6.5 \times 10^2$	$1.2 \times 10^2$	NG
70	$2.2 \times 10^4$	$1.2 \times 10^3$	$1.2 \times 10^2$	NG	NG
75	$1.3 \times 10^4$	$4.2 \times 10^2$	NG	NG	NG

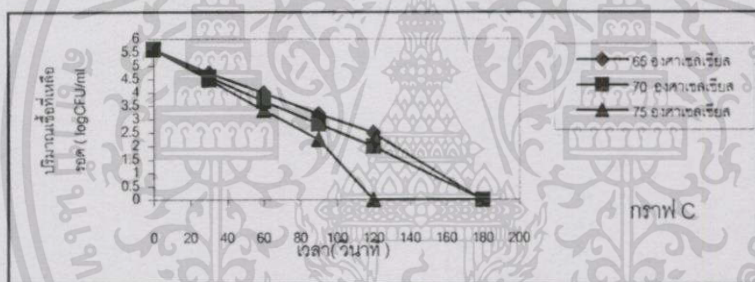
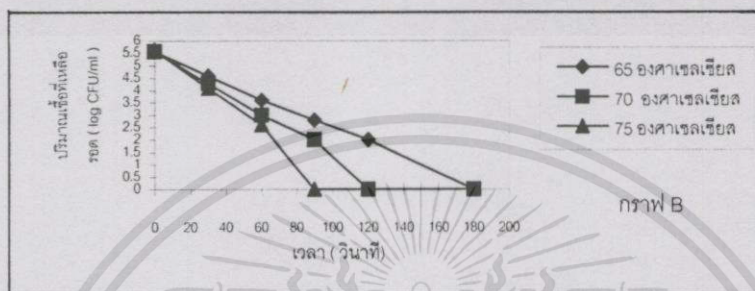
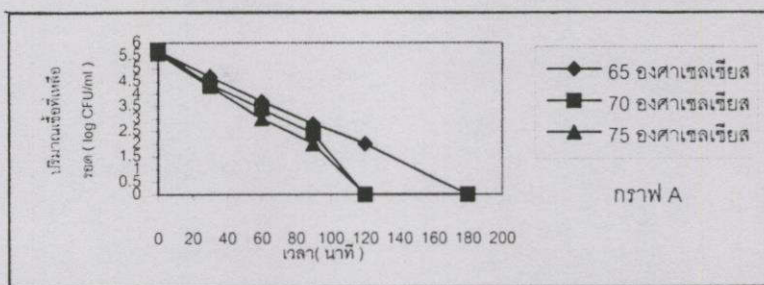
หมายเหตุ : ใช้เวลาในการ pre - enrichment ที่เหมาะสมจากตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.8 ปริมาณเชื้อ *Staph. aureus* ที่รอดชีวิตเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 65, 70 และ 75 องศาเซลเซียส ณ เวลา ต่างๆ ( ปริมาณเชื้อเริ่มต้น  $4.2 \times 10^5$  CFU/ml หรือ log 5.62 CFU / ml)

อุณหภูมิ (°C)	ปริมาณเชื้อที่รอดชีวิต (CFU/ml) ณ เวลาต่างๆ(วินาที)				
	30	60	90	120	180
65	$5.6 \times 10^4$	$9.1 \times 10^3$	$1.6 \times 10^3$	$3.2 \times 10^2$	NG
70	$4.1 \times 10^4$	$4.7 \times 10^3$	$6.6 \times 10^2$	$1.1 \times 10^2$	NG
75	$3.2 \times 10^4$	$3.5 \times 10^3$	$2.2 \times 10^2$	NG	NG

หมายเหตุ : ใช้เวลาในการ pre – enrichment ที่เหมาะสมจากตารางที่ 4.5





ภาพที่ 4.2 กราฟแสดงปริมาณเชื้อ *S. Enteritidis*, *E. coli* และ *Staph. aureus* ที่รอดชีวิตเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 65 70 และ 75 องศาเซลเซียส

กราฟ A : เชื้อ *S. Enteritidis*

กราฟ B : เชื้อ *E. coli*

กราฟ C : เชื้อ *Staph. aureus*

ตารางที่ 4.9 แสดงค่า D- value ของเชื้อ S. Enteritidis, E. coli และ Staph. aureus ในอาหาร TSB ที่อุณหภูมิ 65 70 และ 75 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

ชนิดของเชื้อ	D – value ( sec )					
	65 องศาเซลเซียส		70 องศาเซลเซียส		75 องศาเซลเซียส	
	จำนวน*	กราฟ**	จำนวน*	กราฟ**	จำนวน*	กราฟ**
S. Enteritidis	33	30	27	27	24	23
E. coli	31	30	24	24	20	19
Staph. aureus	36	37	31	32	29	28

หมายเหตุ \* D- value จากการคำนวณโดยใช้สูตร  $D = \frac{t}{\log a - \log b}$  ดังแสดงในตารางผนวก

\*\* D – value จากกราฟของภาพที่ 4.2

จากการคำนวณ (ดังแสดงในภาคผนวก ง.) ค่า D-value ของเชื้อ S. Enteritidis E. coli และ Staph. aureus ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส มีค่าเท่ากับ 33 31 และ 36 วินาที ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เท่ากับ 27 24 และ 31 วินาที ตามลำดับ และที่ 75 องศาเซลเซียส เท่ากับ 24 20 และ 29 วินาที ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น ค่า D – value จะลดลง กล่าวคือเมื่อใช้อุณหภูมิในการฆ่าเชื้อสูงขึ้นเวลาที่ใช้จะสั้น ดังสังเกตได้ว่าที่อุณหภูมิ 70 และ 75 องศาเซลเซียส สามารถทำลายเชื้อทั้งสามสายพันธุ์ได้ดีกว่า 65 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตามที่อุณหภูมิเดียวกัน ค่า D-value ของเชื้อทั้งสามก็ต่างกัน โดยที่ Staph. aureus มีค่า D-value สูงกว่า S. Enteritidis และ E. coli แสดงว่าเชื้อ Staph. aureus สามารถทนความร้อนได้ดีกว่า เพราะ Staph. aureus เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ส่วน S. Enteritidis และ E. coli เป็นแบคทีเรียแกรมลบซึ่งแบคทีเรียแกรมบวกจะทนความร้อนได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบนั่นเอง (Adams and Moss, 1995) และจากการคำนวณหาอัตราการถูกทำลายเชื้อ S. Enteritidis , E. coli และ Staph. aureus ในอาหาร TSB ที่อุณหภูมิ 65 70 และ 75 องศาเซลเซียส พบว่ายิ่งอุณหภูมิสูงขึ้นอัตราการถูกทำลายของเชื้อก็จะมากขึ้นตามไปด้วย ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.10) ตัวอย่างเช่นเชื้อ S. Enteritidis ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส มีอัตราการถูกทำลายเท่ากับ  $1.83 \log - \text{unit}/\text{min}$  นั่นคือ จากเชื้อเริ่มต้นของ S. Enteritidis ที่มีค่าเท่ากับ  $10^5 \text{ CFU}/\text{ml}$  ในเวลา 1 นาที เชื้อสามารถถูกทำลายลงไป  $1.83 \log - \text{unit}$  ส่วนที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียสมีอัตราทำลายเชื้อเท่ากับ  $2.50 \log - \text{unit}/\text{min}$  คือ 1 นาทีเชื้อถูกทำลายลงไปถึง  $2.5 \log - \text{unit}$  และที่อุณหภูมิเดียวกันเชื้อ Staph. aureus มีอัตราการถูกทำลายเชื้อน้อยที่สุด ทั้งนี้ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียสเป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

องศาเซลเซียส มีอัตราการถูกทำลายเชื้อ *S. Enteritidis* *E. coli* และ *Staph. aureus* เท่ากับ 1.83 1.96 และ 1.66 log – unit / min ตามลำดับ ในขณะที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส มีค่าเท่ากับ 2.16 2.49 และ 1.95 log- unit /min ตามลำดับ ส่วนที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส มีค่าเท่ากับ 2.50 2.95 และ 2.08 log – unit / min ตามลำดับ

ตารางที่ 4.10 แสดงอัตราการถูกทำลายของเชื้อ (lethal rate) ของเชื้อ *S. Enteritidis* *E. coli* และ *Staph. aureus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่อุณหภูมิ 65 70 และ 75 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

ชนิดของเชื้อ	อัตราการถูกทำลาย (lethal rate) (log-unit/min)		
	65 องศาเซลเซียส	70 องศาเซลเซียส	75 องศาเซลเซียส
<i>S. Enteritidis</i>	1.83 ± 0.03 <sup>c</sup>	2.16 ± 0.10 <sup>b</sup>	2.50 ± 0.24 <sup>a</sup>
<i>E. coli</i>	1.96 ± 0.02 <sup>c</sup>	2.49 ± 0.16 <sup>b</sup>	2.95 ± 0.18 <sup>a</sup>
<i>Staph. aureus</i>	1.66 ± 0.09 <sup>c</sup>	1.95 ± 0.30 <sup>b</sup>	2.08 ± 0.30 <sup>a</sup>

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

$$\text{อัตราการถูกทำลาย} = \frac{\text{เชื้อเริ่มต้น} - \text{ปริมาณเชื้อที่เหลือรอดที่เวลา X นาที}}{\text{เวลา X นาที}}$$

#### 4.3 ผลของอุณหภูมิที่มีต่อเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคบางชนิดในลูกชิ้นไก่

จากการทดลองโดยการผสมสารละลายเชื้อบริสุทธิ์ *S. Enteritidis* *E. coli* และ *Staph. aureus* ลงในส่วนผสมลูกชิ้นไก่โดยตรง โดยกำหนดให้ภายในลูกชิ้นไก่มีปริมาณเชื้ออยู่  $10^5$  CFU/g จากนั้นจึงนำลูกชิ้นที่ผ่านการขึ้นรูปในหม้อน้ำร้อนแรกที่อุณหภูมิ 50 – 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที และผ่านต่อไปยังหม้อน้ำร้อนที่สองที่อุณหภูมิ 65 – 70 70 – 75 , 75 – 80 องศาเซลเซียส ซึ่งทำให้ลูกชิ้นในหม้อน้ำร้อนมีอุณหภูมิภายในเท่ากับ  $65 \pm 2$   $70 \pm 2$  และ  $75 \pm 2$  องศาเซลเซียส ทำการจับเวลา 5 10 15 นาที สุ่มตัวอย่างลูกชิ้นออกมาทำให้เย็นและตรวจนับปริมาณเชื้อที่เหลือรอดโดยวิธี MPN ซึ่งจะมีการกระตุ้นเซลล์ของจุลินทรีย์ที่บาดเจ็บจากกระบวนการแปรรูปโดยบ่มในอาหาร pre –enrichment เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าต้องใช้เวลาในการ pre –enrichment มากกว่าเนื่องจากเชื้อในลูกชิ้นเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถถูกทำลายได้ที่อุณหภูมิ 50 – 55 องศาเซลเซียส ในหม้อน้ำร้อนแรกเป็นเวลา 10 นาที ซึ่งใช้ในการขึ้นรูปและเมื่อนำลูกขึ้นลงต้มในหม้อน้ำร้อนที่สองที่อุณหภูมิภายใน  $65 \pm 2$   $70 \pm 2$  และ  $75 \pm 2$  องศาเซลเซียส ปริมาณเชื้อจะลดลงอีก ดังนั้นปริมาณเชื้อที่เหลือรอดจึงน้อยมาก เวลาในการรักษาเซลล์ที่บาดเจ็บจึงต้องมากขึ้น และพบว่าเวลาที่เหมาะสมในการตรวจนับเชื้อเท่ากับ 24 ชั่วโมง

ผลการตรวจนับปริมาณเชื้อที่เหลือรอดที่อุณหภูมิต่างๆ มีดังนี้

ในกรณีของการเติมเชื้อ *S. Enteritidis* พบว่าเมื่ออุณหภูมิภายในลูกขึ้นไก่อเท่ากับ  $65 \pm 2$  องศาเซลเซียส เวลา 5 นาที มีปริมาณเชื้อ *S. Enteritidis* ที่เหลือรอดและตรวจนับได้เท่ากับ 5.45 MPN/ 25 g ในขณะที่เวลา 10 และ 15 นาที มีปริมาณเชื้อที่เหลือรอด  $< 3$  MPN/ 25 g (หลังจาก 24 ชั่วโมง ตรวจไม่พบการเจริญของเชื้อ) ส่วนเมื่ออุณหภูมิภายในลูกขึ้นไก่อเท่ากับ  $70 \pm 2$   $75 \pm 2$  องศาเซลเซียส เวลา 5 10 และ 15 นาที มีปริมาณเชื้อที่เหลือรอด  $< 3$  MPN/ 25 g ผลดังตารางที่ 4.11

ส่วนกรณีของการเติมเชื้อ *E. coli* พบว่าอุณหภูมิภายในลูกขึ้นไก่อ  $65 \pm 2$  องศาเซลเซียส เวลา 5 นาที มีปริมาณ *E. coli* ที่เหลือรอดเท่ากับ 4.55 CFU/ 25g ในขณะที่เวลา 10 และ 15 นาที มีปริมาณ *E. coli* ที่เหลือรอด  $< 3$  MPN/ 25 g (หลังจาก 24 ชั่วโมง ตรวจไม่พบการเจริญของเชื้อ) ส่วนเมื่ออุณหภูมิภายในลูกขึ้นไก่อ  $70 \pm 2$  และ  $75 \pm 2$  องศาเซลเซียส เวลา 5 10 และ 15 นาที มีปริมาณเชื้อที่เหลือรอด  $< 3$  MPN/ 25 g (หลังจาก 24 ชั่วโมง ตรวจไม่พบการเจริญของเชื้อ) ผลดังตารางที่ 4.12

สำหรับกรณีของการเติมเชื้อ *Staph. aureus* พบว่าอุณหภูมิภายในลูกขึ้นไก่อ  $65 \pm 2$  และ  $70 \pm 2$  องศาเซลเซียส เวลา 5 นาที มีปริมาณ *Staph. aureus* ที่เหลือรอดเท่ากับ  $1.1 \times 10^1$  และ 3 MPN/ 25 g ตามลำดับ ในขณะที่เวลา 10 และ 15 นาที มีปริมาณเชื้อที่เหลือรอด  $< 3$  MPN/ 25 g (หลังจาก 24 ชั่วโมง ตรวจไม่พบการเจริญของเชื้อ) ส่วนที่อุณหภูมิภายในลูกขึ้นไก่อ  $75 \pm 2$  เวลา 5 10 และ 15 นาที มีปริมาณเชื้อที่เหลือรอด  $< 3$  MPN/ 25 g (หลังจาก 24 ชั่วโมง ตรวจไม่พบการเจริญของเชื้อ) ผลดังตารางที่ 4.13

ตารางที่ 4.11 ปริมาณเชื้อ *S. Enteritidis* ที่รอดชีวิตในลูกชิ้นเมื่อผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิภายในเท่ากับ 65 70 75 องศาเซลเซียส (เชื้อเริ่มต้น  $1.70 \times 10^5$  MPN/ 25g หรือ log 5.23 MPN / 25 g)

อุณหภูมิ ( องศาเซลเซียส )	ปริมาณเชื้อที่รอดชีวิต (MPN/ 25 g) ณ เวลาต่างๆ (นาที)		
	5	10	15
65	5.45	< 3	< 3
70	< 3	< 3	< 3
75	< 3	< 3	< 3

หมายเหตุ : ใช้เวลาในการ pre – enrichment นาน 24 ชั่วโมง

ตารางที่ 4.12 ปริมาณเชื้อ *E. coli* ที่รอดชีวิต ในลูกชิ้นเมื่อผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิภายในเท่ากับ 65 70 75 องศาเซลเซียส (เชื้อเริ่มต้น  $2.5 \times 10^5$  MPN / 25 g หรือ log 5.40 MPN/ 25g)

อุณหภูมิ ( องศาเซลเซียส )	ปริมาณเชื้อที่รอดชีวิต (MPN/ 25 g) ณ เวลาต่างๆ (นาที)		
	5	10	15
65	4.55	< 3	< 3
70	< 3	< 3	< 3
75	< 3	< 3	< 3

หมายเหตุ : ใช้เวลาในการ pre – enrichment นาน 24 ชั่วโมง

ตารางที่ 4.13 ปริมาณเชื้อ *Staph. aureus* ที่รอดชีวิตในลูกชิ้นเมื่อผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 65 70 75 องศาเซลเซียส (เชื้อเริ่มต้น  $2.5 \times 10^5$  MPN / g หรือ log 5.40 MPN / 25 g )

อุณหภูมิ ( องศาเซลเซียส )	ปริมาณเชื้อที่รอดชีวิต (MPN/ 25 g) ณ เวลาต่างๆ (นาที)		
	5	10	15
65	$1.1 \times 10^1$	< 3	< 3
70	3.00	< 3	< 3
75	< 3	< 3	< 3

หมายเหตุ : ใช้เวลาในการ pre – enrichment นาน 24 ชั่วโมง

เมื่อนำค่าปริมาณเชื้อที่เหลือรอดในลูกชิ้นไก่มาคำนวณหาค่า D - value ที่อุณหภูมิต่างๆ (ภาคผนวก ง) ของเชื้อทั้ง 3 ชนิด ดังแสดงในตารางที่ 4.14 พบว่า

- เชื้อ *S. Enteritidis* มีค่า  $D_{65}^{\circ\text{C}}$  เท่ากับ 1.11 นาที ส่วนที่อุณหภูมิ 70 และ 75 องศาเซลเซียส ไม่สามารถคำนวณหาค่า D - value ได้เนื่องจากมีปริมาณเชื้อเหลือรอดอยู่น้อยมาก ( $< 3 \text{ MPN}/25 \text{ g}$ ) หรือไม่มีการเจริญของเชื้อ
- เชื้อ *E. coli* มีค่า  $D_{65}^{\circ\text{C}}$  เท่ากับ 1.05 นาที และที่ 70 และ 75 องศาเซลเซียส ไม่สามารถคำนวณหาค่า D-value ได้เนื่องจากมีปริมาณเชื้อเหลือรอดอยู่น้อยมาก ( $< 3 \text{ MPN}/25 \text{ g}$ ) เช่นเดียวกับเชื้อ *S. Enteritidis*
- เชื้อ *Staph. aureus* มีค่า  $D_{65}^{\circ\text{C}}$  เท่ากับ 1.15 นาที  $D_{70}^{\circ\text{C}}$  เท่ากับ 1.02 นาที ส่วนที่ 75 องศาเซลเซียส ไม่สามารถคำนวณหาค่า D - value ได้เนื่องจากมีปริมาณเชื้อเหลือรอดอยู่น้อยมาก ( $< 3 \text{ MPN}/25 \text{ g}$ ) เช่นเดียวกับเชื้อ *E. coli*

จากการคำนวณหาอัตราการถูกทำลายของเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคในลูกชิ้นไก่ที่อุณหภูมิภายใน  $65 \pm 2$   $70 \pm 2$  และ  $75 \pm 2$  องศาเซลเซียส พบว่า เชื้อ *S. Enteritidis* มีอัตราการถูกทำลายที่อุณหภูมิภายในลูกชิ้นไก่  $65 \pm 2$  องศาเซลเซียส เท่ากับ  $0.90 \text{ log - unit /min}$  ในขณะที่อุณหภูมิภายใน  $70 \pm 2$  และ  $75 \pm 2$  องศาเซลเซียส เชื้อไม่เจริญ ส่วนเชื้อ *E. coli* มีอัตราการถูกทำลายที่อุณหภูมิภายในลูกชิ้นไก่  $65 \pm 2$  มีค่าเท่ากับ  $0.95 \text{ log - unit /min}$  ในขณะที่อุณหภูมิภายใน  $70 \pm 2$  และ  $75 \pm 2$  องศาเซลเซียส เชื้อไม่เจริญ สำหรับเชื้อ *Staph. aureus* มีอัตราการถูกทำลายที่อุณหภูมิภายในลูกชิ้นไก่  $65 \pm 2$  และ  $70 \pm 2$  องศาเซลเซียส เท่ากับ 0.88 และ  $0.98 \text{ log - unit /min}$  ตามลำดับ ในขณะที่อุณหภูมิภายใน  $75 \pm 2$  องศาเซลเซียส เชื้อไม่เจริญ (ตารางที่ 4.15) จากผลดังกล่าวพบว่า เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นอัตราการทำลายเชื้อจะเพิ่มขึ้น และเชื้อที่มีอัตราการทำลายมากไปหาหน่วยที่อุณหภูมิภายในลูกชิ้น  $65 \pm 2$  องศาเซลเซียส ได้แก่เชื้อ *E. coli* *S. Enteritidis* และ *Staph. aureus* ตามลำดับ แสดงว่าเชื้อ *Staph. aureus* ถูกทำลายได้ช้าที่สุดในลูกชิ้น และมีค่า D - value สูงกว่าเชื้อ *S. Enteritidis* และ *E. coli* ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเชื้อ *Staph. aureus* เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกสามารถทนความร้อนได้ดีกว่า *S. Enteritidis* และ *E. coli* ซึ่งเป็นแกรมลบดังที่กล่าวถึงข้างต้น (Adams and Moss. 1995)

ตารางที่ 4.14 แสดงค่า D- value ของเชื้อ *S. Enteritidis*, *E. coli* และ *Staph. aureus* ในลูกชิ้นไก่ ที่อุณหภูมิ 65 70 และ 75 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

ชนิดของเชื้อ	D - value ( นาที )		
	65 องศาเซลเซียส	70 องศาเซลเซียส	75 องศาเซลเซียส
<i>S. Enteritidis</i>	1.11	-	-
<i>E. coli</i>	1.05	-	-
<i>Staph. aureus</i>	1.15	1.02	-

หมายเหตุ : เครื่องหมาย - หมายถึง หาค่า D- value ไม่ได้ เนื่องจากเชื้อไม่เจริญ

ตารางที่ 4.15 แสดงอัตราการถูกทำลาย (lethal rate) ของเชื้อ *S. Enteritidis*, *E. coli* และ *Staph. aureus* ในลูกชิ้นไก่ ที่อุณหภูมิ 65 70 และ 75 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

ชนิดของเชื้อ	อัตราการถูกทำลายเชื้อ (lathal rate) ( log-unit/min )*		
	65 องศาเซลเซียส	70 องศาเซลเซียส	75 องศาเซลเซียส
<i>S. Enteritidis</i>	0.90	-	-
<i>E. coli</i>	0.95	-	-
<i>Staph. aureus</i>	0.88	0.98	-

หมายเหตุ : เครื่องหมาย - หมายถึง หาค่าไม่ได้ เนื่องจากเชื้อไม่เจริญ

$$\text{อัตราการถูกทำลาย} = \frac{\text{เชื้อเริ่มต้น} - \text{ปริมาณเชื้อที่รอดชีวิตเวลา X นาที}}{\text{เวลา X นาที}}$$

ตามปกติเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคทั้ง 3 สายพันธุ์เป็นเชื้อที่สามารถถูกทำลายได้ด้วยความร้อนในระดับการพาสเจอร์ไรซ์ (100 องศาเซลเซียส หรือ ต่ำกว่า 100 องศาเซลเซียส แต่สูงกว่า 60 องศาเซลเซียส) จากการทดลอง การใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส สามารถทำลายเชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์ลงได้ ส่วนเวลาที่ใช้อย่างแตกต่างกันไปตามชนิดของอาหาร ดังจะเห็นได้จากผลการทดลองพบว่า การหาค่า D - value ของเชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์ ในหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Broth และในลูกชิ้นไก่แตกต่างกันโดยที่ค่า D - value ของเชื้อในหลอดทดลองมีค่าน้อยกว่าในลูกชิ้นไก่ กล่าวคือในหลอดทดลองที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส มีค่าเท่ากับ 30 - 37 วินาที ส่วนในลูกชิ้นไก่มีค่าเท่ากับ 63-69 วินาที ทั้งนี้เนื่องมาจากความแตกต่างขององค์ประกอบของอาหาร โดยที่อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในหลอดทดลองมีลักษณะเป็นของเหลว ดังนั้นการเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์การค้า ไม่ว่าจะดื่มหรือรับประทาน อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่งผ่านความร้อนจะเป็นแบบพาความร้อน (convection) ส่วนในลูกชิ้นไก่ซึ่งมีลักษณะเป็นของแข็ง การส่งผ่านความร้อนจะเกิดในลักษณะการนำความร้อน (conduction) เวลาที่ใช้ในการทำลายเชื้อในลูกชิ้นไก่จึงใช้นานกว่าในอาหารเหลว นอกจากนี้แล้วในลูกชิ้นไก่อังมีองค์ประกอบของอาหาร เช่น แป้ง โปรตีน ซึ่งมีสมบัติเป็นตัวปกป้องเชื้อจากความร้อนอีกด้วย ดังนั้นระยะเวลาในการทำลายเชื้อจึงต้องใช้นานกว่าอาหารในหลอดทดลองที่เป็นของเหลว

จากการทดลองหาปริมาณเชื้อที่เหลือรอด (จากปริมาณเชื้อเริ่มต้น  $10^5$  MPN/ 25 ก.) ในหม้อต้มน้ำร้อนแรกสำหรับขึ้นรูปของลูกชิ้นไก่ (อุณหภูมิ 50 – 55 องศาเซลเซียส เวลา 10 นาที) พบว่ามีปริมาณเชื้อเหลือประมาณ  $10^2 - 10^3$  MPN/ 25 ก. (ดังตารางที่ 4.16 - 4.18) ดังนั้นเมื่อนำลูกชิ้นมาต้มต่อในหม้อต้มที่ 2 ที่อุณหภูมิ 65-70 องศาเซลเซียส (อุณหภูมิภายในลูกชิ้น 65 องศาเซลเซียส) จึงมีปริมาณเชื้อ *S. Enteritidis*, *E. coli* และ *Staph. aureus* เหลืออยู่ 5.45, 4.55 และ  $1.1 \times 10^1$  MPN/ 25 ก. (เวลา 5 นาที) ในขณะที่เวลา 10, 15 นาที ตรวจนับเชื้อไม่ได้โดยวิธี MPN ( $< 3$  MPN/ 25 ก.) ส่วนที่อุณหภูมิ 70 – 75 องศาเซลเซียส (อุณหภูมิภายในลูกชิ้น 70 องศาเซลเซียส) เวลา 5 นาที มีปริมาณเชื้อ *Staph. aureus* เหลืออยู่เท่ากับ 3 MPN/25 ก. ในขณะที่เวลา 10 และ 15 นาที ตรวจนับเชื้อไม่ได้ (ภาคผนวก จ) ทั้งนี้แสดงว่า อุณหภูมิภายในลูกชิ้นไก่ 65 องศาเซลเซียส เวลา 10 นาที สามารถทำลายเชื้อทั้งสามสายพันธุ์ลงจนเกือบหมด ในการทำลายเซลล์แบคทีเรียด้วยความร้อนเกิดจากเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นโปรตีนภายในเซลล์แบคทีเรียจะเกิดการสูญเสียสภาพธรรมชาติ (denature) และตกตะกอน (coagulate) โปรตีนที่เป็นส่วนประกอบหนึ่งในเซลล์ ได้แก่ ไสโตพลาสซึม ซึ่งจะประกอบด้วย ไรโบโซม เอนไซม์ และนิวเคลียส ที่มี DNA และ RNA อยู่ เมื่อโปรตีนเปลี่ยนแปลงสภาพ เอนไซม์ถูกยับยั้งการทำงาน cytoplasmic membrane ของเซลล์แบคทีเรียถูกทำลาย ความสามารถในการปล่อยให้สารซึมผ่าน (permeability) ของผนังเซลล์เปลี่ยนแปลงไป เซลล์ของแบคทีเรียจึงถูกทำลายได้ (Pelczar et al. 1993) แต่ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียสนี้ ในกระบวนการผลิตลูกชิ้นไก่คุณภาพการเกิดเจลของลูกชิ้นอาจไม่เป็นที่ยอมรับนัก เพราะโปรตีนจะเกิดเป็นโครงร่างสามมิติที่สมบูรณ์และมีความคงตัวเมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิสูงกว่า 70 องศาเซลเซียส (Xiong and Breke. 1990) ดังนั้น จึงเลือกใช้อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการต้มลูกชิ้นในหม้อต้มที่ 2 เท่ากับ 70 – 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เพื่อให้ลูกชิ้นมีอุณหภูมิภายในที่  $70 \pm 2$  องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ซึ่งอุณหภูมิและเวลาดังกล่าวนี้อาจสามารถประกันคุณภาพของลูกชิ้นไกว่าปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคทั้ง 3 สายพันธุ์ที่ทำการศึกษาได้

ตารางที่ 4.16 ปริมาณเชื้อ *S. Enteritidis* (MPN/ 25 g) ในลูกชิ้นไก่ เมื่อผ่านการให้ความร้อนที่ อุณหภูมิ 50 – 55 องศาเซลเซียส ในหม้อต้มน้ำแรก (เพื่อขึ้นรูปลูกชิ้นไก่) ที่เวลา 5 และ 10 นาที (เชื้อเริ่มต้น  $1.70 \times 10^5$  MPN / 25 g)

เวลา (นาที)	ปริมาณเชื้อที่รอดชีวิต (MPN/ 25 g)
5	$5.10 \times 10^3$
10	$2.40 \times 10^2$

หมายเหตุ : อุณหภูมิที่ใช้โดยเฉลี่ยเท่ากับ 51.4 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 4.17 ปริมาณเชื้อ *E. coli* (MPN / 25 g) ในลูกชิ้นไก่ เมื่อผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 – 55 องศาเซลเซียส ในหม้อต้มน้ำแรก (เพื่อขึ้นรูปลูกชิ้นไก่) ที่เวลา 5 และ 10 นาที (เชื้อเริ่มต้น  $2.25 \times 10^5$  MPN / 25 g)

เวลา (นาที)	ปริมาณเชื้อที่รอดชีวิต (MPN/ 25 g)
5	$6.46 \times 10^3$
10	$1.32 \times 10^2$

หมายเหตุ : อุณหภูมิที่ใช้โดยเฉลี่ยเท่ากับ 52.1 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 4.18 ปริมาณเชื้อ *Staph. aureus* (MPN/ 25 g) ในลูกชิ้นไก่ เมื่อผ่านการให้ความร้อนที่ อุณหภูมิ 50 - 55 องศาเซลเซียส ในหม้อต้มน้ำแรก (เพื่อขึ้นรูปลูกชิ้นไก่) ที่เวลา 5 และ 10 นาที (เชื้อเริ่มต้น  $2.50 \times 10^5$  MPN / 25 g)

เวลา (นาที)	ปริมาณเชื้อที่รอดชีวิต (MPN/ 25 g)
5	$1.62 \times 10^4$
10	$1.07 \times 10^3$

หมายเหตุ : อุณหภูมิที่ใช้โดยเฉลี่ยเท่ากับ 51.2 องศาเซลเซียส

#### 4.4 ผลของการใช้สารละลายโซเดียมแลคเตทต่อการยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นไก่

##### 4.4.1 การแช่ลูกชิ้นในสารละลายโซเดียมแลคเตท

โดยดำเนินการผลิตผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นไก่ตามที่ได้ศึกษาในหัวข้อที่ 3.5.1 3.5.2 และ 3.5.4 โดยเมื่อทำการบดผสมส่วนผสมแล้วนำมาขึ้นรูปในหม้อต้มแรกที่อุณหภูมิ 50-55 องศาเซลเซียส เวลา 10 นาที และนำลูกชิ้นไก่มาต้มต่อไปในหม้อต้มที่สองที่อุณหภูมิ 70 - 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เพื่อให้ลูกชิ้นมีอุณหภูมิภายในเท่ากับ  $70 \pm 1$  องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นจึงนำมาแช่น้ำเย็นอุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วจึงนำลูกชิ้นมาแช่ในสารละลายโซเดียมแลคเตท (อุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียส) ความเข้มข้นร้อยละ 0 1 2 3 เป็นเวลา 30 วินาที นำลูกชิ้นใส่ในถุงพลาสติก (polyethylene) แล้วนำไปปิดผนึกด้วยเครื่องปิดผนึกแบบสุญญากาศ เก็บรักษาสภาพที่อุณหภูมิ  $4 \pm 1$  องศาเซลเซียส จากนั้นทำการตรวจหาเชื้อ *S. Enteritidis* *E. coli* และ *Staph. aureus* ด้วยวิธี Most Probable Number (MPN) ทุก 5 วัน เป็นเวลา 30 วัน พบว่า ตั้งแต่วันแรกของการผลิต จนถึงวันที่ 30 ตรวจไม่พบเชื้อทั้ง 3 ชนิด ( $< 3$  MPN / g) ที่ทุกระดับความเข้มข้นของการใช้สารโซเดียมแลคเตท (ร้อยละ 1 2 และ 3) รวมถึง control ที่ไม่มีการแช่สารโซเดียมแลคเตท ทั้งนี้เป็นเพราะอุณหภูมิที่ใช้ในกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นไก่ (อุณหภูมิหม้อต้มแรก 50 - 55 องศาเซลเซียส, 10 นาที และอุณหภูมิหม้อต้มที่สอง 70 - 75 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที ให้มีอุณหภูมิภายในลูกชิ้นไก่เท่ากับ  $70 \pm 1$  องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที และทำให้เย็นด้วยน้ำเย็นอุณหภูมิ 4 - 5 องศาเซลเซียส เวลา 10 นาที) สามารถทำลายเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคทั้ง 3 สายพันธุ์ได้ จากผลการทดลองในตารางที่ 4.19 4.20 และ 4.21 พบว่า ปริมาณเชื้อ *S. Enteritidis* *E. coli* และ *Staph. aureus* เหลือรอดเท่ากับ 4.5 ตรวจนับไม่ได้ และ 3 MPN/ 25 ก. ตามลำดับ

ตารางที่ 4.19 ปริมาณเชื้อ *S. Enteritidis* (MPN/ 25 g) ในลูกชิ้นไก่ เมื่อผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 - 55 องศาเซลเซียส ในหม้อต้มน้ำแรก (เพื่อขึ้นรูปลูกชิ้นไก่) ที่เวลา 5 และ 10 นาที

เวลา (นาที)	ปริมาณเชื้อที่รอดชีวิต (MPN/ 25 g)
5	$1.4 \times 10^2$
10	4.5

หมายเหตุ : อุณหภูมิเฉลี่ย 51.4 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 4.20 ปริมาณเชื้อ *E. coli* (MPN/ 25 g) ในลูกชิ้นไก่ เมื่อผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 – 55 องศาเซลเซียส ในหม้อต้มน้ำแรก(เพื่อขึ้นรูปลูกชิ้นไก่) ที่เวลา 5 และ 10 นาที

เวลา (นาที)	ปริมาณเชื้อที่รอดชีวิต (MPN/ 25 g)
5	$1.7 \times 10^1$
10	-

หมายเหตุ : อุณหภูมิเฉลี่ย 51.4 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 4.21 ปริมาณเชื้อ *Staph. aureus* (MPN/ 25 g) ในลูกชิ้นไก่ เมื่อผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 – 55 องศาเซลเซียส ในหม้อต้มน้ำแรก(เพื่อขึ้นรูปลูกชิ้นไก่) ที่เวลา 5 และ 10 นาที

เวลา (นาที)	ปริมาณเชื้อที่รอดชีวิต (MPN/ 25 g)
5	$1.3 \times 10^3$
10	3

หมายเหตุ : อุณหภูมิเฉลี่ย 51.40 องศาเซลเซียส

ดังนั้นเมื่อลูกชิ้นไก่ผ่านการให้ความร้อนต่อไปในหม้อต้มที่ 2 อุณหภูมิ 70 – 75 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที จึงไม่สามารถตรวจนับเชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์ได้ ( ตารางผนวกที่ 2 3 4 ) ในกรณีของการบรรจุถุงพลาสติกที่ปิดผนึกด้วยเครื่องปิดผนึกแบบสุญญากาศและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส หากมีการตรวจพบเชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์ สาเหตุอาจเกิดจากการปนเปื้อนภายหลังการผลิต ขณะจำหน่ายผลิตภัณฑ์หรือเนื่องจากเก็บรักษาสผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิไม่เหมาะสม ( อุณหภูมิสูงกว่า 4 องศาเซลเซียส ) สุขลักษณะบุคคลที่ไม่ดี ความสะอาดของสถานที่เก็บรักษาสผลิตภัณฑ์ อาจมีการปนเปื้อนของเชื้อจากคนหรือสิ่งแวดล้อมในระหว่างการเก็บรักษาสผลิตภัณฑ์กลับเข้าไปในผลิตภัณฑ์อีก ดังนั้นจากการทดลองและสภาวะการเก็บรักษาสผลิตภัณฑ์นี้ สามารถประกันคุณภาพลูกชิ้นไกว่าปลอดภัยจากจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ซึ่งได้แก่ *S. Enteritidis* *E. coli* และ *Staph. aureus* ได้ และจากผลการตรวจนับปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (total plate count) ทุก 5 วัน เป็นเวลา 30 วัน ผลปรากฏดัง ตารางที่ 4.22 พบว่า ตัวอย่างลูกชิ้นที่ไม่แช่สารละลายโซเดียมแลคเตท และแช่สารละลายโซเดียมแลคเตทร้อยละ 1 ผลิตภัณฑ์จะมีกลิ่นเปรี้ยว มีเมือกที่ผิวและมีปริมาณเอนโทรปีเป็นเอนโทรปีที่สูงจนเกินไปสำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จุลินทรีย์เท่ากับ  $10^8$  CFU/25 g. (log 8.00 CFU/25g.) ภายหลังจากเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไว้ 15 วัน และการแช่สารละลายโซเดียมแลคเตทร้อยละ 2 และ 3 สามารถชะลอการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ โดยจะมีปริมาณจุลินทรีย์  $10^7$ - $10^8$  CFU/25g. (log 7.00-8.00 CFU/25g.) ในวันที่ 25 ของการเก็บรักษา การเสื่อมเสียของลูกชิ้นไก่จะเกิดจากจุลินทรีย์ที่พบทั่วไปในเนื้อไก่ ซึ่งอาจเป็นเชื้อที่เหลือรอดได้จากอุณหภูมิพาสเจอร์ไรซ์ในกระบวนการผลิตลูกชิ้นไก่หรือเกิดจากการปนเปื้อนของเชื้อซึ่งสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 4 องศาเซลเซียส ได้แก่พวก *Pseudomonas*, *Bacillus* และ *Enterobacter* ปริมาณโซเดียมแลคเตทที่เพิ่มขึ้นจะส่งผลให้จำนวนจุลินทรีย์ลดลง ผลิตภัณฑ์มีอายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น นั่นคือ โซเดียมแลคเตท จะสามารถควบคุมการเจริญของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียของอาหารได้ ดังนั้น ผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นไก่ที่ไม่แช่สารละลายโซเดียมแลคเตทและแช่สารละลายโซเดียมแลคเตทร้อยละ 1 จะมีอายุการเก็บรักษา 15 วัน ส่วนที่แช่ในสารละลายโซเดียมแลคเตทร้อยละ 2 และ 3 จะยืดอายุการเก็บรักษาได้เท่ากับ 25 วัน

ตารางที่ 4.22 ผลของการแช่ลูกชิ้นไก่ในสารละลายโซเดียมแลคเตทที่ความเข้มข้นร้อยละ 0 1 2 และ 3 ต่อปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (total plate count) (log CFU/25g) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาต่างๆ

ระยะเวลา (วัน)	log CFU/ 25g.			
	โซเดียมแลคเตท (ร้อยละ)			
	0	1	2	3
0	$3.28 \pm 0.07^a$	$3.17 \pm 0.06^a$	$2.17 \pm 0.06^b$	$2.09 \pm 0.04^b$
5	$3.92 \pm 0.04^a$	$3.83 \pm 0.05^a$	$3.50 \pm 0.06^b$	$3.35 \pm 0.07^b$
10	$6.83 \pm 0.03^a$	$5.52 \pm 0.07^b$	$4.20 \pm 0.03^c$	$3.23 \pm 0.03^d$
15	$8.11 \pm 0.02^a$	$8.08 \pm 0.01^a$	$5.72 \pm 0.12^b$	$5.44 \pm 0.15^b$
20	$8.35 \pm 0.09^a$	$8.25 \pm 0.04^a$	$7.70 \pm 0.08^b$	$6.68 \pm 0.09^c$
25	ND	ND	$8.10 \pm 0.12$	$7.06 \pm 0.02$
30	ND	ND	$8.28 \pm 0.19$	$7.45 \pm 0.10$

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

ND = not determine

#### 4.4.2 การผสมสารละลายโซเดียมแลคเตทลงไปในส่วนผสมของลูกชิ้นไก่

ดำเนินการผลิตผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นไก่ตามขั้นตอนการผลิตลูกชิ้นไก่ โดยผสมสารละลายโซเดียมแลคเตท ปริมาณร้อยละ 0 1 2 และ 3 ของน้ำหนักเนื้อไก่ ตามลำดับลงไปในขั้นตอนการบดผสม แล้วทำการต้มลูกชิ้นในหม้อแรกที่มีอุณหภูมิน้ำต้ม 50 – 55 องศาเซลเซียส เวลา 10 นาที และนำลูกชิ้นไก่มาต้มต่อไปในหม้อต้มที่สอง ที่มีอุณหภูมิน้ำต้ม 70 – 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เพื่อให้ลูกชิ้นมีอุณหภูมิภายในเท่ากับ  $70 \pm 1$  องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นจึงนำมาแช่ในน้ำเย็นอุณหภูมิ 4 - 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำลูกชิ้นใส่ในถุงพลาสติก (polyethylene) ) แล้วนำไปปิดผนึกด้วยเครื่องปิดผนึกแบบสุญญากาศ เก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ  $4 \pm 1$  องศาเซลเซียส ผลการตรวจหาเชื้อ *S. Enteritidis* *E. coli* และ *Staph. aureus* ด้วยวิธี Most Probable Number (MPN) ทุก 5 วัน เป็นเวลา 30 วัน พบว่า ตั้งแต่วันแรกจนถึงวันที่ 30 ของการเก็บรักษาตรวจไม่พบเชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์ ( $< 3$  MPN / g) ที่ทุกระดับความเข้มข้นของการใช้สารโซเดียมแลคเตท (ร้อยละ 1 2 และ 3) รวมถึง control ที่ไม่มีการผสมสารโซเดียมแลคเตท ( ตารางผนวกที่ 5 6 และ 7 )เช่นเดียวกับผลของการแช่ลูกชิ้นไก่ในสารละลายโซเดียมแลคเตท ทั้งนี้เนื่องจากผลของความร้อนในการขึ้นรูปลูกชิ้นในหม้อต้มที่ 1 (50 – 55 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 10 นาที สามารถลดปริมาณเชื้อ *S. Enteritidis* *E. coli* และ *Staph. aureus* ได้เท่ากับ 4.5, ตรวจนับไม่ได้ และ 3 MPN/25g. (ตารางที่ 4.23 4.24 และ 4.25) และจะเห็นได้ว่าที่ 5 นาที ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมแลคเตทที่เพิ่มขึ้นสามารถลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ลงได้อีก ดังนั้นเมื่อลูกชิ้นผ่านต่อไปในหม้อต้มน้ำร้อนที่ 2 อุณหภูมิ 70 – 75 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที จึงไม่สามารถตรวจนับเชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์ได้

ในกรณีของการตรวจนับปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ทุก 5 วัน เป็นเวลา 30 วัน พบว่า ตัวอย่างลูกชิ้นไก่ที่ไม่มีการผสมสารละลายโซเดียมแลคเตทและผสมสารละลายโซเดียมแลคเตทร้อยละ 1 ผลิตภัณฑ์จะมีกลิ่นเปรี้ยว มีเมือกและมีปริมาณ จุลินทรีย์เท่ากับ  $10^8$  CFU/25g. (  $\log 8.00$  CFU / 25 g) ในวันที่ 15 ของการเก็บรักษาและการผสมสารละลายโซเดียมแลคเตทร้อยละ 2 และ 3 สามารถชะลอการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ โดยจะมีปริมาณจุลินทรีย์  $10^8$  CFU/25g. ในวันที่ 30 (ตารางที่ 4.26) เช่นเดียวกับผลของการแช่ลูกชิ้นในสารละลายโซเดียมแลคเตท คือปริมาณโซเดียมแลคเตทที่เพิ่มขึ้นจะส่งผลให้จำนวนจุลินทรีย์ลดลง ผลิตภัณฑ์ที่มีอายุการเก็บรักษานานขึ้นคือ ลูกชิ้นไก่ที่ไม่ผสมสารละลายและผสมสารละลายโซเดียมแลคเตทจะมีอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ 15 วัน ส่วนผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นไก่ที่ผสมสารละลายโซเดียมแลคเตทร้อยละ 2 และ 3 จะสามารถยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้เท่ากับ 30 วัน ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับ Brewer et al.(1991) ซึ่งพบว่าไส้กรอกหมูสดที่ใช้โซเดียมแลคเตทร้อยละ 0 และ 1 จะมีปริมาณจุลินทรีย์ (total plate count) เท่ากับ  $10^8$  CFU/g. ในวันที่ 10 ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารทงส่วนไว้สำหรับการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตให้มาใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และการใช้โซเดียมแลคเตทร้อยละ 2 ปริมาณจุลินทรีย์จะมีค่า  $10^8$  CFU/g. ในวันที่ 24 ของการเก็บรักษา ดังนั้นการผสมสารละลายโซเดียมแลคเตทลงไปในผลิตภัณฑ์จะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดีกว่าการแช่เพราะการผสมทำให้โซเดียมแลคเตทรวมตัวเป็นเนื้อเดียวกันกับผลิตภัณฑ์ทำให้เกิดผลการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ทั่วผลิตภัณฑ์ ส่วนการแช่สารละลายโซเดียมแลคเตทจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคหรือทำให้อาหารเสื่อมเสียได้เพียงผิวภายนอกของผลิตภัณฑ์เท่านั้น และจากผลการทดลองจะเห็นได้ว่า ลูกชิ้นไก่ไม่ได้เสื่อมเสียจากเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคทั้ง 3 สายพันธุ์ที่ทำการศึกษาในระยะเวลาการเก็บรักษา 30 วัน แต่เสื่อมเสียจากเชื้ออื่นที่ทำให้อาหารเสื่อมเสีย

ตารางที่ 4.23 ผลการผสมสารละลายโซเดียมแลคเตทร้อยละ 0 1 2 และ 3 ต่อปริมาณเชื้อ *S. Enteritidis* (MPN/ 25 g) ในลูกชิ้นไก่ เมื่อผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 – 55 องศาเซลเซียส ในหม้อต้มน้ำแรก ที่เวลา 5 และ 10 นาที

เวลา ( นาที )	ปริมาณเชื้อที่รอดชีวิต (MPN/ 25 g)			
	สารละลายโซเดียมแลคเตท (ร้อยละ)			
	0	1	2	3
5	$1.4 \times 10^2$	$1.3 \times 10^2$	$1.1 \times 10^2$	$1.0 \times 10^2$
10	4.5	NG	NG	NG

หมายเหตุ : อุณหภูมิที่ใช้โดยเฉลี่ยเท่ากับ 51.4 องศาเซลเซียส

NG = not growth

ตารางที่ 4.24 ผลการผสมสารละลายโซเดียมแลคเตทร้อยละ 0 1 2 และ 3 ต่อปริมาณเชื้อ *E. coli* (MPN/ 25 g) ในลูกชิ้นไก่ เมื่อผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 - 55 องศาเซลเซียส ในหม้อต้มน้ำแรก (สำหรับชั้นรูปลูกชิ้น) ที่เวลา 5 และ 10 นาที

เวลา ( นาที )	ปริมาณเชื้อที่รอดชีวิต (MPN/ 25 g)			
	สารละลายโซเดียมแลคเตท (ร้อยละ)			
	0	1	2	3
5	$1.7 \times 10^1$	$1.4 \times 10^1$	7.5	6.2
10	NG	NG	NG	NG

หมายเหตุ : อุณหภูมิที่ใช้โดยเฉลี่ยเท่ากับ 51.4 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.25 ผลการผสมสารละลายไซโตียมแลคเตทร้อยละ 0 1 2 และ 3 ต่อปริมาณเชื้อ *Staph. aureus* (MPN/ 25 g) ในลูกชิ้นไก่ เมื่อผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 - 55 องศาเซลเซียส ในหม้อต้มน้ำแรก ที่เวลา 5 และ 10 นาที

เวลา (นาที)	ปริมาณเชื้อที่รอดชีวิต (MPN/ 25 g)			
	สารละลายไซโตียมแลคเตท (ร้อยละ)			
	0	1	2	3
5	$1.3 \times 10^2$	$1.2 \times 10^2$	$9.1 \times 10^1$	$7.3 \times 10^1$
10	3	NG	NG	NG

หมายเหตุ : อุณหภูมิที่ใช้โดยเฉลี่ยเท่ากับ 51.4 องศาเซลเซียส

NG = not growth

ตารางที่ 4.26 ผลของการผสมสารละลายไซโตียมแลคเตทในลูกชิ้นไก่ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0 1 2 และ 3 ต่อปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (total plate count) (logCFU/25g) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาต่างๆ

ระยะเวลา (วัน)	logCFU/ 25g			
	ไซโตียมแลคเตท (ร้อยละ)			
	0	1	2	3
0	$3.28 \pm 0.10^a$	$3.18 \pm 0.14^a$	$2.09 \pm 0.04^b$	$2.02 \pm 0.02^b$
5	$3.69 \pm 0.15^a$	$3.57 \pm 0.14^{ab}$	$3.36 \pm 0.12^{ab}$	$3.21 \pm 0.06^b$
10	$6.29 \pm 0.09^a$	$5.46 \pm 0.11^b$	$4.07 \pm 0.08^c$	$3.16 \pm 0.07^d$
15	$8.07 \pm 0.08^a$	$7.89 \pm 0.14^a$	$5.31 \pm 0.11^b$	$5.15 \pm 0.48^b$
20	$8.29 \pm 0.10^a$	$8.06 \pm 0.08^a$	$6.68 \pm 0.15^b$	$6.13 \pm 0.06^c$
25	ND	ND	$7.52 \pm 0.19$	$7.03 \pm 0.14$
30	ND	ND	$8.04 \pm 0.07$	$7.53 \pm 0.23$

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

ND = not determined

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อย่างไรก็ตามเนื่องจากไม่พบความแตกต่างของการใช้โซเดียมแลคเตทอย่างเห็นได้ชัดกับเชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์ที่ทำการศึกษา ประกอบกับถ้าสามารถควบคุมอุณหภูมิในการขึ้นรูปและทำการให้สุกได้เป็นอย่างดีอาจไม่จำเป็นต้องใช้โซเดียมแลคเตทในกระบวนการผลิตลูกชิ้นไก่ก็ได้ นอกจากนี้ควรมีการควบคุมปัจจัยที่มีผลต่อการควบคุมหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อในผลิตภัณฑ์ด้วยดังนี้

1. วัตถุดิบ คือ เนื้อไก่สดส่วนนอก ควรใช้เนื้อไก่ที่มีอายุไม่เกิน 3 วัน นับจากวันที่ผลิตและมีการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ (4-5 องศาเซลเซียส) จนกว่าจะนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นไก่
2. ส่วนผสมในการผลิตลูกชิ้นไก่ เช่น เกลือ พริกไทย ผงชูรส แป้งมันสำปะหลัง จะเก็บรักษาในภาชนะปิดสนิท ป้องกันการปนเปื้อนจากสิ่งแวดล้อมภายนอก
3. ขนาดของลูกชิ้น ควรสม่ำเสมอเพื่อให้เกิดประสิทธิภาพการนำความร้อนที่ดีที่สุด สม่ำเสมอและเหมาะสมกับอุณหภูมิและเวลาที่กำหนดไว้ (ในการทดลองนี้ เท่ากับ 10 กรัม / ลูก)
4. ถุงพลาสติกที่ใช้บรรจุลูกชิ้นต้องสะอาด การบรรจุต้องปิดสนิทเพื่อป้องกันการเกิดการปนเปื้อนซ้ำ (recontaminate)
5. การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เพื่อรอจำหน่าย รอกการขนส่งหรืออยู่ในระหว่างการขนส่งควรใช้อุณหภูมิต่ำ (< 4 องศาเซลเซียส) และมีอุณหภูมิคงที่ มีความสะอาด ปลอดภัยจากการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ เพราะผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นเป็นเพียงผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการพาสเจอร์ไลซ์เท่านั้น (อุณหภูมิต่ำกว่า 100 องศาเซลเซียสแต่สูงกว่า 60 องศาเซลเซียส) ต้องอาศัยความเย็นหรืออุณหภูมิต่ำเพื่อช่วยในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ให้นานยิ่งขึ้น
6. ปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ *S. Enteritidis* *E. coli* *Staph. aureus* ในลูกชิ้นต้องไม่สูงเกิน  $10^6 - 10^7$  CFU / g เพราะความร้อนภายในลูกชิ้นที่อุณหภูมิ  $70 \pm 1$  องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที อาจไม่เพียงพอที่จะทำลายเชื้อทั้งสามได้หมด
7. อุณหภูมิที่เหมาะสมที่ใช้ในกระบวนการผลิตลูกชิ้นไก่นี้ คือ อุณหภูมิในหม้อแรก(สำหรับการขึ้นรูปลูกชิ้นไก่) เท่ากับ 50 – 55 องศาเซลเซียส เวลา 10 นาที และหม้อต้มที่สอง (สำหรับการทำให้ลูกชิ้นไก่สุก) ที่อุณหภูมิ 70 – 75 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที และทำให้เย็นด้วยน้ำเย็นอุณหภูมิ 4 – 5 องศาเซลเซียส บรรจุในถุงพลาสติก(PE) ปิดผนึกแบบสุญญากาศเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลอง

การศึกษาอุณหภูมิในการขึ้นรูปของลูกชิ้นไก่ในกระบวนการผลิตที่เหมาะสมเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคและการศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีต่อการอยู่รอดของเชื้อ *S. Enteritidis* *E. coli* และ *Staph. aureus* ในกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นไก่ ทั้งที่อยู่ในรูปของสารละลายเชื้อและเชื้อที่ผสมในลูกชิ้นไก่ เพื่อลดหรือป้องกันอันตรายที่จะมีผลทำให้ผลิตภัณฑ์ไม่ปลอดภัย ซึ่งจะช่วยลดความเสี่ยงของผู้บริโภคที่จะได้รับอันตรายจากอาหารที่จะบริโภคเข้าไป และการศึกษาผลของการใช้สารละลายโซเดียมแลคเตทต่ออายุการเก็บรักษาสีผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นไก่ เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นไก่ที่มีคุณภาพดีและมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค สามารถสรุปผลได้ดังนี้

1. อุณหภูมิในการขึ้นรูปของลูกชิ้นไก่ในขั้นตอนการผลิตลูกชิ้นไก่ที่เหมาะสม คือ อุณหภูมิ 50 – 55 องศาเซลเซียส เวลา 10 นาที มีการยอมรับของผู้บริโภคมากที่สุด
2. การรอดชีวิตของเชื้อ *S. Enteritidis* *E. coli* และ *Staph. aureus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Broth ที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 65 70 และ 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0.5 1 2 และ 3 นาที ที่ชั่วโมงการ pre – enrichment ต่างๆ พบว่า

การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เวลา 0.5 1 2 และ 3 นาที เวลาที่เหมาะสมในการบ่มเชื้อเพื่อรักษาเซลล์ของ *S. Enteritidis* *E. coli* และ *Staph. aureus* ที่บาดเจ็บจากความร้อน คือ 2 4 4 และ 8 ชั่วโมง ตามลำดับ

การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เวลา 0.5 1 และ 2 นาที เวลาที่เหมาะสมในการบ่มเชื้อเพื่อรักษาเซลล์ของ *S. Enteritidis* และ *E. coli* ที่บาดเจ็บคือ 6 8 และ 10 ชั่วโมง ตามลำดับ ส่วน *Staph. aureus* คือ 4 6 และ 6 ตามลำดับ ในขณะที่ 3 นาที ตรวจไม่พบเชื้อทุกชั่วโมงที่ pre -enrichment

การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส เวลา 0.5 และ 1 นาที เวลาที่เหมาะสมในการบ่มเชื้อเพื่อรักษาเซลล์ของ *S. Enteritidis* , *E. coli* และ *Staph. aureus* ที่บาดเจ็บ คือ 10 และ 12 ชั่วโมง ตามลำดับ ในขณะที่ 2 นาที เวลาที่เหมาะสมในการบ่มเชื้อเพื่อรักษาเซลล์ของ *S. Enteritidis* และ *Staph. aureus* คือ 14 และ 12 ตามลำดับ ส่วน *E. coli* ตรวจไม่พบเชื้อทุกชั่วโมงที่ pre – enrichment ในขณะที่ 3 นาที ตรวจไม่พบเชื้อทุกชั่วโมงที่ pre -enrichment

3. การศึกษาหาค่า D – value ของเชื้อ *S. Enteritidis* , *E. coli* และ *Staph. aureus* ที่อุณหภูมิ 65 70 และ 75 องศาเซลเซียส พบว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อ *S. Enteritidis* มีค่า D - value ที่ อุณหภูมิ 65 70 และ 75 องศาเซลเซียส เท่ากับ 33 27 และ 24 วินาที ตามลำดับ และมีอัตราการถูกทำลายเชื้อ (lethal rate) ที่อุณหภูมิ 65 70 และ 75 องศาเซลเซียส ค่าเท่ากับ 1.83 2.16 และ 2.50 log - unit / min ตามลำดับ

เชื้อ *E. coli* มีค่า D - value ที่ อุณหภูมิ 65 70 และ 75 องศาเซลเซียส เท่ากับ 31 24 และ 20 วินาที ตามลำดับ และมีอัตราการถูกทำลายเชื้อ (lethal rate) ที่อุณหภูมิ 65 70 และ 75 องศาเซลเซียส ค่าเท่ากับ 1.96 2.49 และ 2.95 log - unit / min ตามลำดับ

เชื้อ *Staph. aureus* มีค่า D - value ที่ อุณหภูมิ 65 70 และ 75 องศาเซลเซียส เท่ากับ 36 31 และ 29 วินาที ตามลำดับ และมีอัตราการถูกทำลายเชื้อ (lethal rate) ที่ อุณหภูมิ 65 70 และ 75 องศาเซลเซียส ค่าเท่ากับ 1.63 1.95 และ 2.16 log - unit / min ตามลำดับ

4. การอยู่รอดของเชื้อ *S. Enteritidis*, *E. coli* และ *Staph. aureus* ที่ผสมอยู่ในลูกชิ้นไก่ พบว่า D - value ของเชื้อ *S. Enteritidis* ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส มีค่าเท่ากับ 1.11 นาที D - value ของเชื้อ *E. coli* อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส มีค่าเท่ากับ 1.05 นาที D - value ของเชื้อ *Staph. aureus* อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส มีค่าเท่ากับ 1.15 นาที และอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส มีค่าเท่ากับ 1.02 วินาที
5. อุณหภูมิที่ใช้ในกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นไก่ พบว่าที่อุณหภูมิหม้อต้มแรก ( สำหรับขึ้นรูปลูกชิ้นไก่ ) 50 - 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที และอุณหภูมิหม้อต้มที่สอง ( สำหรับทำให้ลูกชิ้นสุก ) 70 - 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ( อุณหภูมิภายในของลูกชิ้นไก่ที่  $70 \pm 1$  องศาเซลเซียส เวลา 10 นาที ) ลูกชิ้นที่ผ่านการแช่และผสมสารละลายโซเดียมแลคเตทความเข้มข้นร้อยละ 0 1 2 และ 3 บรรจุในถุงพลาสติกที่ปิดผนึกด้วยเครื่องปิดผนึกแบบสุญญากาศและเก็บรักษาสถิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน พบว่าตรวจไม่พบเชื้อ *S. Enteritidis* *E. coli* และ *Staph. aureus* ทั้งในตัวอย่างที่ใช้และไม่ใช้สารละลายโซเดียมแลคเตท
6. การตรวจปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของการแช่ลูกชิ้นในสารละลายโซเดียมแลคเตทความเข้มข้นร้อยละ 0 1 2 และ 3 พบว่า ลูกชิ้นที่ไม่แช่สารละลายโซเดียมแลคเตทและแช่สารละลายโซเดียมแลคเตทความเข้มข้นร้อยละ 1 เกิดการเสื่อมเสีย(ปริมาณจุลินทรีย์เท่ากับ  $10^8$  CFU/ 25g.) ในวันที่ 15 ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ลูกชิ้นที่แช่สารละลายโซเดียมแลคเตทความเข้มข้นร้อยละ 2 และ 3 เกิดการเสื่อมเสียในวันที่ 25 ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

การตรวจปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของการผสมโซเดียมแลคเตทในลูกชิ้นร้อยละ 0 1 2 และ 3 พบว่า

ลูกชิ้นที่ไม่ผสมโซเดียมแลคเตทและผสมโซเดียมแลคเตทร้อยละ 1 เกิดการเสื่อมเสียในวันที่ 15 ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในขณะที่ลูกชิ้นที่ผสมโซเดียมแลคเตท ร้อยละ 2 และ 3 เกิดการเสื่อมเสียในวันที่ 30 ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส



## บรรณานุกรม

- ทอง ภัครษ์พันธุ์. 2524. การใช้ความร้อนในขบวนการแปรรูป. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 160 น.
- นฤดม บุญหลง. 2533. รายงานอุตสาหกรรม : ผลิตภัณฑ์จากเนื้อปลาและผลิตภัณฑ์ทะเล. กรมส่งเสริมอุตสาหกรรม. 182 น.
- ผานิตย์ จินตนะดีลกุล และ ศิริพร พานิชัยตร. 2541. "การยับยั้งเชื้อซาลโมเนลลาในการหมักแหนม." ปัญหาพิเศษ ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 51 น.
- พวงพร โชติกไกร. 2534. จุลชีววิทยาของอาหารและนม. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง กรุงเทพฯ. 334 น.
- เพ็ญศรี รอดมา ทองพันธ์ สัจจาละ และภัชราภรณ์ สุวรรณวิทยา. 2534. "การศึกษาปริมาณ *Staphylococcus aureus* ในอาหารแช่แข็ง." อาหาร. 21(3): 97-204.
- เยาวลักษณ์ สุรพันธ์พิศิษฐ์. 2537. บทปฏิบัติการวิชาเนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 20น.
- ลัดดาวลัย รัสมิทัต. 2536. จุลชีววิทยาทางอาหาร. มหาวิทยาลัยบูรพา. 247 น.
- วิไล สนิธิเพิ่มพูน. 2540. อาหารเป็นพิษและการเกิดโรคจากอาหาร. เอกสารประกอบการเรียนวิชาจุลชีววิทยาทางอาหาร. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 5 น.
- ศูนย์ปฏิบัติการแลคติกแอซิดแบคทีเรีย. 2544. แลคเตทช่วยถนอมเนื้อ. จดหมายข่าว ล. อ. บ. ปีที่ 10 ฉ.28 : ม.ค - เม.ย. 3 น.
- ศิริพร สธนเสาวภาคย์. 2539. "ข้อมูลพื้นฐานทางวิทยาศาสตร์ในการตั้งข้อกำหนดเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคในอาหาร." อาหาร. 26(1): 1-6.
- สุจิตรา เลิศพฤกษ์. 2531. คู่มือปฏิบัติการเทคโนโลยีของผลิตภัณฑ์เนื้อ. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะธุรกิจการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีการเกษตรแม่โจ้. 450 น.
- สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2533. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมลูกชิ้นเนื้อวัว ลูกชิ้นหมูและลูกชิ้นไก่. พิมพ์เพิ่มเติมครั้งที่ 1 กระทรวงอุตสาหกรรม. 7 น.
- อดิศร เสวตวิวัฒน์ ปรีชา จึงสมานกุล มณฑนา พันธุ์บัวหลวง และอรุณ บ้างตระกูลนนท์. 2537. "การศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์เนื้อที่จำหน่ายในเขตกรุงเทพมหานคร." เกษตรพระจอมเกล้า. 12(2): 15-24.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- อดิศร เสวตวิวัฒน์ และ นภา โล่ห์ทอง. 2534. "อาหารเพาะเชื้อสำหรับพรีเอนริชชาลโมเนลลา ในแฮมและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการบ่มเชื้อ." *ว. กรมวิทย์.* 33(1) : 1-12 น.
- อรุณ บ้างตระกูลนนท์. 2540. "การตรวจหาเชื้อ Salmonella ในอาหารและผลิตภัณฑ์ : ผลการสำรวจเชื้อ Salmonella spp. ในประเทศไทย." *สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์.* 60 น.
- Adams, M.R. and M.O, Moss. 1995. *Food Microbiology.* Combridge : The Royal Society of Chemistry. 398 p.
- Anonymous. 1988. "A meat problem solved." *Food Processing.* December , p.9
- AOAC. 1995. *Official method of analysis.* 16<sup>th</sup> ed. Association of Analysis Chemists. Arlington, Virginia.
- Banwart, G.J. 1979. *Basic Food Microbiology.* Westport : AVI Publishing Company, Inc. 781 p.
- Brewer, S., F, Keith., S, Martin., A, Dallmier and J, Meyer. 1991. "Sodium lactate effect on shelf-life, sensory and physical characteristics of fresh pork sausage." *J. Food Sci.* 59(5) :1176-1178.
- Chirife, J. and C. F, Fontan. 1980. "Prediction of water activity of aqueous solutions in connection with intermediate moisture foods : experimental investigation of the  $a_w$  lowering behavior of sodium lactate and some related compounds." *J. Food Sci.* 45 : 802-804.
- Curren, H.R. and F.R, Evans. 1945. "Heat activation inducing germination in the spores of thermotolerant and thermophilic aerobic bacteria." *J. Bacteriol.* 49 : 335.
- Debevere, J. M. 1989. "The effect of sodium lactate on the shelf-life of vacuum-packed coarse liver paste." *Fleischwitsch International.* 3 : 68.
- Doyle, M.P., L.R., Beuchat and T.J., Montville. 1997. *Food microbiology fundamentals and frontiers.* Washington D.C. : ASM Press. 768 p.
- Duxbery, D. D. 1988. "Natural sodium lactate extends shelf life of whole and ground meats." *Food Processing.* January, p.91.
- Eley, A. R.-1992. *Microbial Food Poisoning.* London : Chapman & Hall. 211 p.
- Jay, J. M. 1996. *Modern Food Microbiology.* New York : Chapman & Hall. 661 p.

- Jeffrey, J. R. and A. J., Maurer. 1997. "Microbiological quality of cooked chicken breasts containing commercially available shelf – life extenders." *Poultry Sci.* 76 : 908-913.
- Jerngklinchan, J., C. Koowatanakul, K. Daengprom and K. Saitanu. 1994. "Occurrence of Salmonellae in raw broilers and their products in Thailand." *J. Food Prot.* 57(9) : 808-810.
- Macrae, R., R. K. Robinson and M. J. Sadler. 1993. *Encyclopedia of Food Science, Food Technology and Nutrition*. Vol. 6. London : Aarcourt Brace Javanavich, Publisher. pp. 3981-3991.
- Miller, R. K. and G.R. Acuff. 1994. "Sodium lactate affects pathogens in cooked beef." *J. Food Sci.* 59(1) : 15-19.
- Papadopoulos, L. S, R.K. Miller, G.R. Acuff. and C. Vanderzant. 1991. "Chemical composition of cooked beef during storage." *J. Food Sci.* 56(2) : 341-347.
- Pelczar, M.J., E.C.S. Chan and N.R. Krieg. 1993. *Microbiology Concepts and Applications*. New York : Mc Graw-Hill, Inc. 890 p.
- Reid, T.F. 1969. "Lactic acid and lactates in food products." *Food Manufacture.* 44(10) : 54.
- Russel, A. D. and D. Harries. 1968. "Damage to *Escherichia coli* on exposure to moist heat." *Appl. Microbiol.* 16 : 1394-1399.
- Theresa, A. G. and S. C. Ingham. 1994. "Heat shock, anaerobic jar incubation and fluid thioglycollate medium have contrasting effects on D – values of *Escherichia coli*." *J. Food Prot.* 57(8) : 671 – 673.
- Williams, S.K. and K. Phillip. 1998. "Sodium lactate affects sensory and objective characteristics of tray-packed broiler chicken breast meat." *Poultry Sci.* 77(5) : 765 – 769.
- Williams, S. K., G. E. Rodrick, and R. L. West. 1995. "Sodium lactate affects shelf life and consumer acceptance of fresh cat fish *Zictalurus nebulosus*, marmoratus fillets stored under simulated retail conditions." *J. Food Sci.* 60 : 636–639.
- Wit, D.C and F.M. Rombout. 1990. "Antimicrobial activity of sodium lactate." *J. Food Microbiology.* 7 : 113-120.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Woolthuis, C.H.J. and F.J.M, Smulders. 1985. "Microbiial decontamination of calf carcasses by lactic acid spays." *J. Food Prot.* 48 : 832-837.

Xiong, Y. L., C. J. Brekke and H. K. Leung. 1987. "Thermal denaturation of muscle protein from different species and muscle types as studied by differential scanning colorimetry." *Can. Inst. Food Sci. J.* 20 : 357-362.

Xiong, Y. L. and C. J. Brekke. 1990. "Physicochemical and gelation properties of pre – and post – rigor chicken muscle." *J. Food Sci.* 55 : 1544-1548.



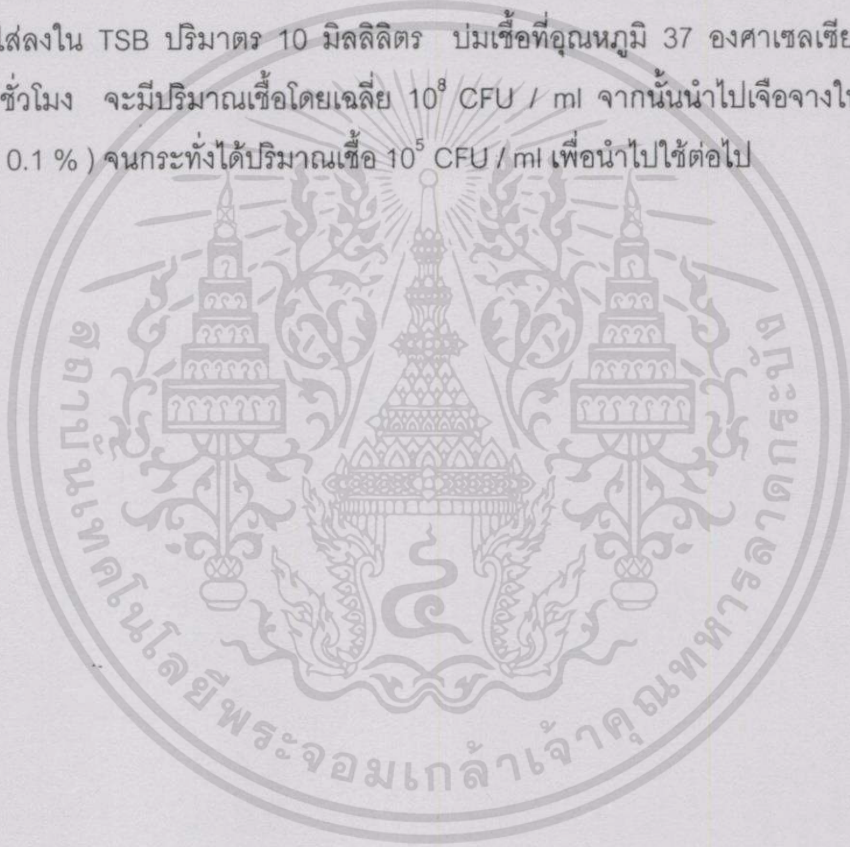


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## การเตรียมสารละลายเชื้อบริสุทธิ์ ( Stock culture solution )

เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลองนี้ คือ *S. Enteritidis* , *E.coli* และ *Staph. aureus* โดยเลี้ยงเชื้อดังกล่าวบน Nutrient agar ( NA ) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงนำมาเก็บที่อุณหภูมิ 2-5 องศาเซลเซียส และทำการถ่ายเชื้อเดือนละครั้ง

การเตรียมสารละลายเชื้อบริสุทธิ์ทำโดยการถ่ายเชื้อจาก NA ปริมาณ 1 หลอด ลงบน TSA slant บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นจึงถ่ายเชื้อจาก TSA slant ปริมาณ 1 หลอดลงในหลอดที่บรรจุ Trypticase soy broth ( TSB ) ปริมาณ 10 มิลลิลิตร บ่มเชื้อที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วดูดสารละลายที่มีเชื้อเจริญอยู่นี้ ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร ใส่ลงใน TSB ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 20 ชั่วโมง จะมีปริมาณเชื้อโดยเฉลี่ย  $10^8$  CFU / ml จากนั้นนำไปเจือจางในสารละลาย peptone ( 0.1 % ) จนกระทั่งได้ปริมาณเชื้อ  $10^5$  CFU / ml เพื่อนำไปใช้ต่อไป



ภาคผนวก ข  
 ตารางการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านความชอบโดยรวมของผู้ชิมที่มีต่อลูกชิ้นไก่  
 และสูตรส่วนผสมลูกชิ้นไก่



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบบสอบถาม Hedonic scaling test ด้านความชอบโดยรวมของลูกชิ้นไก่

ชื่อผู้ชิม \_\_\_\_\_ วันที่ \_\_\_\_\_

ผลิตภัณฑ์ ลูกชิ้นไก่

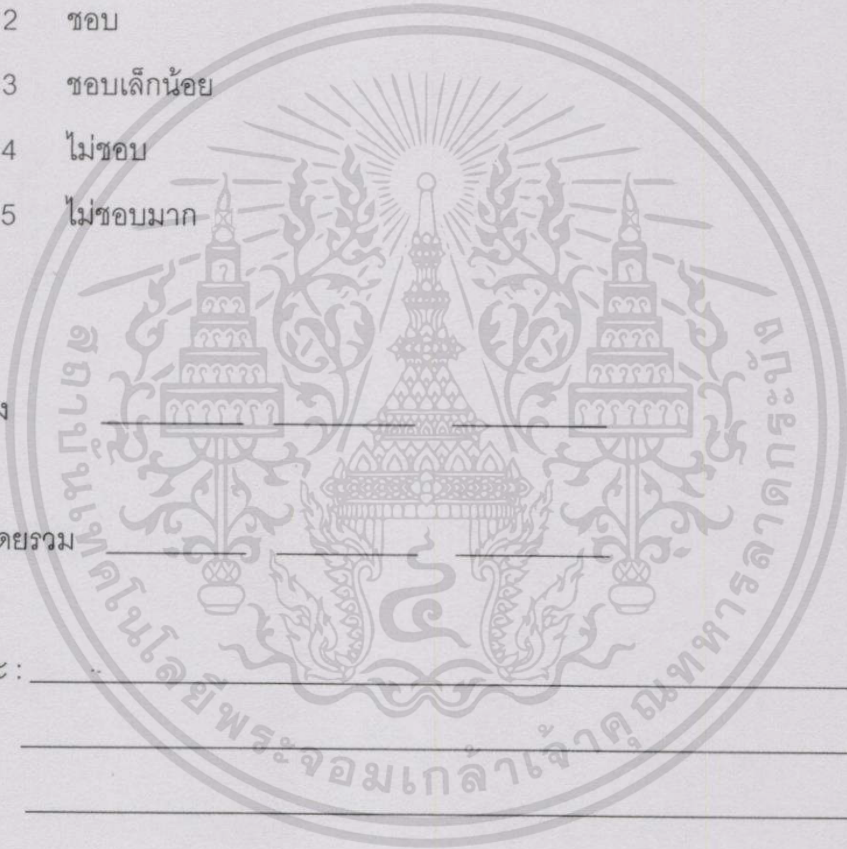
คำชี้แจง : กรุณาชิมตัวอย่างลูกชิ้นไก่จากซ้ายไปขวา แล้วให้คะแนนความชอบโดยการให้  
คะแนนจาก 1-5

- 1 ชอบมาก
- 2 ชอบ
- 3 ชอบเล็กน้อย
- 4 ไม่ชอบ
- 5 ไม่ชอบมาก

รหัสตัวอย่าง \_\_\_\_\_

ความชอบโดยรวม \_\_\_\_\_

ข้อเสนอแนะ : \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_



ตารางภาคผนวกที่ 1 คะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านความชอบโดยรวมของผู้ชิมที่มีต่อลูกชิ้นไก่

ผู้ชิม	ความชอบโดยรวม		
	ตัวอย่างที่ 1	ตัวอย่างที่ 2	ตัวอย่างที่ 3
1	3	2	2
2	3	2	2
3	2	2	2
4	2	2	3
5	2	2	3
6	2	2	3
7	3	1	3
8	3	2	3
9	2	1	3
10	2	1	2
11	2	2	2
12	3	2	3
13	3	1	3
14	2	2	2
15	3	1	3
รวม	37	25	39
เฉลี่ย	2.466	1.667	2.60
ค่าเบี่ยงเบน	0.516	0.488	0.507
CV %	20.97	29.27	20.39

หมายเหตุ ตัวอย่างที่ 1 คือ ลูกชิ้นไก่ที่ใช้อุณหภูมิในการขึ้นรูป 40 – 45 องศาเซลเซียส  
 ตัวอย่างที่ 2 คือ ลูกชิ้นไก่ที่ใช้อุณหภูมิในการขึ้นรูป 50 – 55 องศาเซลเซียส  
 ตัวอย่างที่ 3 คือ ลูกชิ้นไก่ที่ใช้อุณหภูมิในการขึ้นรูป 60 – 65 องศาเซลเซียส



## การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของลูกชิ้นและน้ำร้อนในระหว่างกระบวนการผลิตลูกชิ้นไก่

⊗ ที่อุณหภูมิภายในของลูกชิ้นไก่ เท่ากับ  $65 \pm 2$  องศาเซลเซียส

อุณหภูมิหม้อน้ำร้อนแรก(สำหรับการขึ้นรูปลูกชิ้นไก่) 50 – 55 องศาเซลเซียส เวลา 10 นาที (น้ำต้ม 1000 ml : ลูกชิ้น 30 ลูก)

เวลา ( นาที )	อุณหภูมิภายในลูกชิ้น ( ° C )	อุณหภูมิน้ำต้ม ( ° C )
1	41.3	55
2	42.4	54
3	43.5	55
4	44.7	56
5	47.8	54
6	49.5	55
7	50.6	56
8	52.4	56
9	53.4	55
10	53.4	55

อุณหภูมิหม้อน้ำร้อนที่สอง(สำหรับการทำให้สุก) 65 – 70 องศาเซลเซียส

come up time เท่ากับ 2 – 3 นาที

เวลา ( นาที )	อุณหภูมิภายในลูกชิ้น ( ° C )	อุณหภูมิน้ำต้ม ( ° C )
1	65.7	67
2	66.5	68
3	67.9	69
4	68.8	69
5	68.9	68
6	68.7	67
7	68.3	66
8	67.8	66
9	66.1	65
10	65.5	65
11	64.5	65

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

12	64.1	66
13	64.7	65
14	65.0	65
15	65.1	66

ทำให้เย็น (cooling)

อุณหภูมิน้ำ เท่ากับ 3-4 องศาเซลเซียส ( น้ำ 120 ml : ลูกชิ้น 3 ลูก )

เวลา ( นาที )	อุณหภูมิภายในลูกชิ้น ( ° C )	อุณหภูมิน้ำเย็น ( ° C )
1	50.2	9
2	38.5	10
3	28.6	10
4	24.8	11
5	22.3	12
6	20.3	13
7	19.0	13
8	18.4	13
9	18.0	14
10	17.5	15

⊗ ที่อุณหภูมิภายใน เท่ากับ  $70 \pm 2$  องศาเซลเซียส

อุณหภูมิหม้อน้ำร้อนแรก(สำหรับการขึ้นรูปลูกชิ้นไก่) 50 – 55 องศาเซลเซียส เวลา 10 นาที

เวลา ( นาที )	อุณหภูมิภายในลูกชิ้น ( ° C )	อุณหภูมิน้ำต้ม ( ° C )
1	40.2	54
2	43.5	55
3	44.7	55
4	45.4	55
5	49.1	56
6	50.7	56
7	51.7	55
8	52.7	56
9	53.1	55
10	53.7	55

อุณหภูมิหม้อน้ำร้อนที่สอง(สำหรับการทำให้สุก) 70 – 75 องศาเซลเซียส

come up time เท่ากับ 3 – 4 นาที

เวลา ( นาที )	อุณหภูมิภายในลูกชิ้น ( ° C )	อุณหภูมิน้ำต้ม ( ° C )
1	71.1	71
2	72.0	72
3	71.1	73
4	72.4	72
5	72.4	73
6	72.2	73
7	71.3	73
8	71.5	72
9	71.3	72
10	70.1	72
11	71.2	71
12	72.0	71
13	71.3	72

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

14	70.5	71
15	70.3	71

ทำให้เย็น (cooling)

อุณหภูมิน้ำ เท่ากับ 3-4 องศาเซลเซียส

เวลา ( นาที )	อุณหภูมิภายในลูกชิ้น ( ° C )	อุณหภูมิน้ำเย็น ( ° C )
1	50.2	9
2	38.5	10
3	28.6	10
4	24.8	11
5	22.3	12
6	20.3	13
7	19.0	13
8	18.4	13
9	18.0	14
10	17.5	15



⊗ ที่อุณหภูมิภายใน เท่ากับ  $75 \pm 2$  องศาเซลเซียส

อุณหภูมิหม้อน้ำร้อนแรก(สำหรับการขึ้นรูปลูกชิ้นไก่) 50-55 องศาเซลเซียส เวลา 10 นาที

เวลา ( นาที )	อุณหภูมิภายในลูกชิ้น ( ° C )	อุณหภูมิน้ำต้ม ( ° C )
1	40.4	55
2	43.5	55
3	44.5	55
4	45.7	54
5	46.7	54
6	49.7	55
7	50.6	55
8	51.9	56
9	53.0	57
10	54.5	56

อุณหภูมิหม้อน้ำร้อนที่สอง(สำหรับการทำให้สุก) 75-80 องศาเซลเซียส

come up time เท่ากับ 4-5 นาที

เวลา ( นาที )	อุณหภูมิภายในลูกชิ้น ( ° C )	อุณหภูมิน้ำต้ม ( ° C )
1	75.1	77
2	75.5	77
3	76.2	76
4	77.1	77
5	76.4	78
6	76.1	77
7	75.9	77
8	75.5	78
9	75.0	78
10	75.2	79
11	76.0	79
12	76.2	78
13	75.5	77
14	76.6	78

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

15

76.2

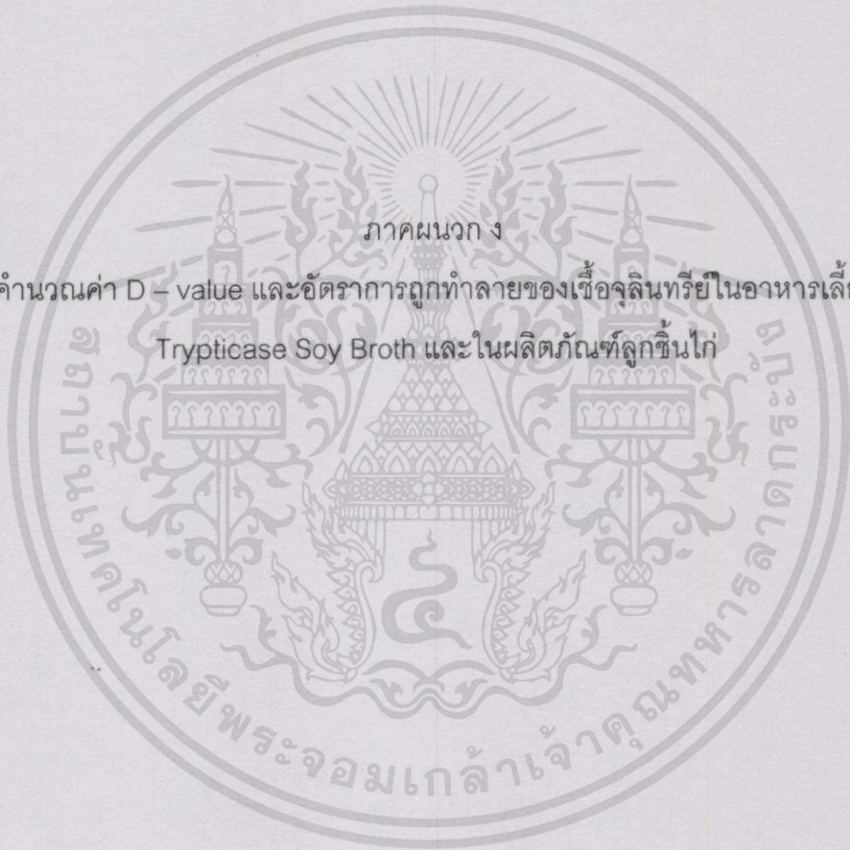
78

ทำให้เย็น (cooling)

อุณหภูมิน้ำ เท่ากับ 3-4 องศาเซลเซียส

เวลา ( นาที )	อุณหภูมิภายในลูกชิ้น ( ° C )	อุณหภูมิน้ำเย็น ( ° C )
1	52.3	9
2	41.2	12
3	38.5	13
4	35.4	16
5	26.4	16
6	25.2	17
7	22.1	17
8	20.2	18
9	18.4	19
10	17.5	20

ภาคผนวก ง  
 การคำนวณค่า D – value และอัตราการถูกทำลายของเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ  
 Trypticase Soy Broth และในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นไก่



## การหาค่า D - value จากการคำนวณ

$$D = \frac{t}{\log a - \log b}$$

เมื่อ D = เวลา ( นาที )

t = เวลาของการให้ความร้อนเป็นนาที

a = ปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น

b = จำนวนจุลินทรีย์ที่เหลือรอดเมื่อเวลา t นาที

ค่า D - value ของ *S. Enteritidis* ในอาหาร Trypticase Soy Broth

$$\text{ค่า } D_{65^{\circ}\text{C}} = \frac{1}{5.57 - 3.74}$$

$$= 0.55 \text{ นาที เท่ากับ } 33 \text{ วินาที}$$

$$\text{ค่า } D_{70^{\circ}\text{C}} = \frac{1}{5.57 - 3.41}$$

$$= 0.46 \text{ นาที เท่ากับ } 27 \text{ วินาที}$$

$$\text{ค่า } D_{75^{\circ}\text{C}} = \frac{1}{5.57 - 3.07}$$

$$= 0.40 \text{ นาที เท่ากับ } 24 \text{ วินาที}$$

ค่า D - value ของ *E. coli* ในอาหาร Trypticase Soy Broth

$$\text{ค่า } D_{65^{\circ}\text{C}} = \frac{1}{5.57 - 3.61}$$

$$= 0.51 \text{ นาที เท่ากับ } 31 \text{ วินาที}$$

$$\text{ค่า } D_{70^{\circ}\text{C}} = \frac{1}{5.57 - 3.08}$$

$$= 0.40 \text{ นาที เท่ากับ } 24 \text{ วินาที}$$

$$\text{ค่า } D_{75^{\circ}\text{C}} = \frac{1}{5.57 - 2.62}$$

$$= 0.34 \text{ นาที เท่ากับ } 20 \text{ วินาที}$$

ค่า D - value ของ *Staph. aureus* ในอาหาร Trypticase Soy Broth

$$\text{ค่า } D_{65^{\circ}\text{C}} = \frac{1}{5.62 - 3.96}$$

$$= 0.60 \text{ นาที เท่ากับ } 36 \text{ วินาที}$$

$$\text{ค่า } D_{70^{\circ}\text{C}} = \frac{1}{5.62 - 3.67}$$

$$= 0.51 \text{ นาที เท่ากับ } 31 \text{ วินาที}$$

$$\text{ค่า } D_{75^{\circ}\text{C}} = \frac{1}{5.62 - 3.54}$$

$$= 0.48 \text{ นาที เท่ากับ } 29 \text{ วินาที}$$

ค่า D - value ของ *S. Enteritidis* ในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นไก่

$$\begin{aligned} \text{ค่า } D_{65^{\circ}\text{C}} &= \frac{5}{5.23 - 0.74} \\ &= \frac{5}{4.49} = 1.11 \text{ นาที (1 นาที 7 วินาที)} \end{aligned}$$

ค่า D - value ของ *E. coli* ในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นไก่

$$\begin{aligned} \text{ค่า } D_{65^{\circ}\text{C}} &= \frac{5}{5.40 - 0.66} \\ &= \frac{5}{4.74} = 1.05 \text{ นาที (1 นาที 3 วินาที)} \end{aligned}$$

ค่า D - value ของ *Staph. aureus* ในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นไก่

$$\begin{aligned} \text{ค่า } D_{65^{\circ}\text{C}} &= \frac{5}{5.40 - 1.04} \\ &= \frac{5}{4.36} = 1.15 \text{ นาที (1 นาที 9 วินาที)} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{ค่า } D_{70^{\circ}\text{C}} &= \frac{5}{5.40 - 0.48} \\ &= \frac{5}{4.92} = 1.02 \text{ นาที (1 นาที 1 วินาที)} \end{aligned}$$

การคำนวณอัตราการถูกทำลาย (lethal rate) จากการคำนวณ

$$\text{lethal rate} = \frac{\text{เชื้อเริ่มต้น} - \text{ปริมาณเชื้อเหลือรอดที่เวลา X นาที}}{\text{เวลา X นาที}}$$

ค่า lethal rate ของ *S. Enteritidis* ใน TSB

$$\text{ที่ 65 องศาเซลเซียส lethal rate} = \frac{5.57 - 3.74}{1} = 1.83 \text{ log-unit / min}$$

$$\text{ที่ 70 องศาเซลเซียส lethal rate} = \frac{5.57 - 3.41}{1} = 2.16 \text{ log-unit / min}$$

$$\text{ที่ 75 องศาเซลเซียส lethal rate} = \frac{5.57 - 3.07}{1} = 2.50 \text{ log-unit / min}$$

ค่า lethal rate ของ *E. coli* ใน TSB

$$\text{ที่ 65 องศาเซลเซียส lethal rate} = \frac{5.57 - 3.61}{1} = 1.96 \text{ log-unit / min}$$

$$\text{ที่ 70 องศาเซลเซียส lethal rate} = \frac{5.57 - 3.08}{1} = 2.49 \text{ log-unit / min}$$

$$\text{ที่ 75 องศาเซลเซียส lethal rate} = \frac{5.57 - 2.62}{1} = 2.95 \text{ log-unit / min}$$

ค่า lethal rate ของ *Staph. aureus* ใน TSB

$$\text{ที่ 65 องศาเซลเซียส lethal rate} = \frac{5.62 - 3.96}{1} = 1.66 \text{ log-unit / min}$$

$$\text{ที่ 70 องศาเซลเซียส lethal rate} = \frac{5.62 - 3.67}{1} = 1.95 \text{ log-unit / min}$$

$$\text{ที่ 70 องศาเซลเซียส lethal rate} = \frac{5.62 - 3.54}{1} = 2.08 \text{ log-unit / min}$$

การคำนวณอัตราการถูกทำลายของเชื้อ (lethal rate) ในลูกชิ้น

ค่า lethal rate ของ *S. Enteritidis* ในลูกชิ้น

$$\text{ที่ 65 องศาเซลเซียส lethal rate} = \frac{5.23 - 0.74}{5} = 0.90 \text{ log-unit / min}$$

5

ค่า lethal rate ของ *E. coli* ในลูกชิ้น

$$\text{ที่ 65 องศาเซลเซียส lethal rate} = \frac{5.40 - 0.66}{5} = 0.95 \text{ log-unit / min}$$

ค่า lethal rate ของ *Staph. aureus* ในลูกชิ้น

$$\text{ที่ 65 องศาเซลเซียส lethal rate} = \frac{5.40 - 1.04}{5} = 0.88 \text{ log-unit / min}$$

$$\text{ที่ 70 องศาเซลเซียส lethal rate} = \frac{5.40 - 0.48}{5} = 0.98 \text{ log-unit / min}$$



ภาคผนวก จ

ตารางแสดงปริมาณเชื้อ *S. Enteritidis*, *E. coli* และ *Staph. aureus* ที่เหลือรอดในลูกชิ้นไก่ที่ผ่านการแช่และผสมสารละลายโซเดียมแลคเตทความเข้มข้นร้อยละ 0 1 2 และ 3 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ตารางผนวกที่ 2 แสดงปริมาณเชื้อ *S. Enteritidis* ที่เหลือรอดในลูกชิ้นไก่ที่ผ่านการแช่สารละลาย โซเดียมแลคเตทความเข้มข้นร้อยละ 0 1 2 และ 3 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เวลาต่างๆ

เวลา ( วัน )	MPN / 25g			
	โซเดียมแลคเตท ( ร้อยละ )			
	0	1	2	3
0	< 3	< 3	< 3	< 3
5	< 3	< 3	< 3	< 3
10	< 3	< 3	< 3	< 3
15	< 3	< 3	< 3	< 3
20	< 3	< 3	< 3	< 3
25	< 3	< 3	< 3	< 3
30	< 3	< 3	< 3	< 3

ตารางผนวกที่ 3 แสดงปริมาณเชื้อ *E. coli* ที่เหลือรอดในลูกชิ้นไก่ที่ผ่านการแช่สารละลาย โซเดียมแลคเตทความเข้มข้นร้อยละ 0 1 2 และ 3 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เวลาต่างๆ

เวลา ( วัน )	MPN / 25g			
	โซเดียมแลคเตท ( ร้อยละ )			
	0	1	2	3
0	< 3	< 3	< 3	< 3
5	< 3	< 3	< 3	< 3
10	< 3	< 3	< 3	< 3
15	< 3	< 3	< 3	< 3
20	< 3	< 3	< 3	< 3
25	< 3	< 3	< 3	< 3
30	< 3	< 3	< 3	< 3

ตารางผนวกที่ 4 แสดงปริมาณเชื้อ *Staph. aureus*. ที่เหลือรอดในลูกชิ้นไก่ที่ผ่านการแช่สารละลายโซเดียมแลคเตทความเข้มข้นร้อยละ 0 1 2 และ 3 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เวลาต่างๆ

เวลา ( วัน )	MPN / 25g			
	โซเดียมแลคเตท ( ร้อยละ )			
	0	1	2	3
0	< 3	< 3	< 3	< 3
5	< 3	< 3	< 3	< 3
10	< 3	< 3	< 3	< 3
15	< 3	< 3	< 3	< 3
20	< 3	< 3	< 3	< 3
25	< 3	< 3	< 3	< 3
30	< 3	< 3	< 3	< 3

ตารางผนวกที่ 5 แสดงปริมาณเชื้อ *S. Enteritidis* ที่เหลือรอดในลูกชิ้นไก่ที่ผ่านการผสมสารละลายโซเดียมแลคเตทความเข้มข้นร้อยละ 0 1 2 และ 3 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เวลาต่างๆ

เวลา ( วัน )	MPN / 25g			
	โซเดียมแลคเตท ( ร้อยละ )			
	0	1	2	3
0	< 3	< 3	< 3	< 3
5	< 3	< 3	< 3	< 3
10	< 3	< 3	< 3	< 3
15	< 3	< 3	< 3	< 3
20	< 3	< 3	< 3	< 3
25	< 3	< 3	< 3	< 3
30	< 3	< 3	< 3	< 3

ตารางผนวกที่ 6 แสดงปริมาณเชื้อ *E. coli* ที่เหลือรอดในลูกชิ้นไก่ที่ผ่านการผสมสารละลาย  
โซเดียมแลคเตทความเข้มข้นร้อยละ 0 1 2 และ 3 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศา  
เซลเซียส เวลาต่างๆ

เวลา ( วัน )	MPN / 25g			
	โซเดียมแลคเตท ( ร้อยละ )			
	0	1	2	3
0	<3	<3	<3	<3
5	<3	<3	<3	<3
10	<3	<3	<3	<3
15	<3	<3	<3	<3
20	<3	<3	<3	<3
25	<3	<3	<3	<3
30	<3	<3	<3	<3

ตารางผนวกที่ 7 แสดงปริมาณเชื้อ *Staph. aureus* ที่เหลือรอดในลูกชิ้นไก่ที่ผ่านการผสมสาร  
ละลายโซเดียมแลคเตทความเข้มข้นร้อยละ 0 1 2 และ 3 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ  
4 องศาเซลเซียส เวลาต่างๆ

เวลา ( วัน )	MPN / 25g			
	โซเดียมแลคเตท ( ร้อยละ )			
	0	1	2	3
0	<3	<3	<3	<3
5	<3	<3	<3	<3
10	<3	<3	<3	<3
15	<3	<3	<3	<3
20	<3	<3	<3	<3
25	<3	<3	<3	<3
30	<3	<3	<3	<3

## ภาคผนวก จ

การตรวจนับปริมาณเชื้อ *S. Enteritidis*, *E. coli* และ *Staph. aureus* ที่เหลือรอดจากการให้ความร้อน โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Broth เป็น pre – enrichment medium และการตรวจนับเชื้อทั้งหมดตามโดยวิธี Most Probable Number

การตรวจนับปริมาณเชื้อ *S. Enteritidis*, *E. coli* และ *Staph. aureus* ที่เหลือรอดจากการให้ความร้อน โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Broth เป็น pre-enrichment medium

อุปกรณ์ 1. ถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ

2. ถุงพลาสติกปราศจากเชื้อบรรจุ 0.1 % peptone water สำหรับเจือจางปริมาณ 225 ml

3. หลอดทดลองขนาดกลาง บรรจุ 0.1 % peptone water 9 ml

4. แท่งแก้วสามเหลี่ยม

5. ปิเปต 10 ml, 1 ml, 0.1 ml

6. คีมคีบ, กรรไกร

7. จานเพาะเชื้อ

8. แอลกอฮอล์ 95 %

9. อาหารเลี้ยงเชื้อ - 0.1 % peptone  
- Nutrient Agar

วิธีการ

1. นำสารละลายเชื้อ 1 ml ใส่ใน (0.1 %) peptone 90 ml โดยวิธีปราศจากเชื้อ เขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกัน จะได้ความเจือจาง 1 : 10

2. เจือจางตัวอย่างอาหาร 1 : 100 , 1 : 1000 ด้วย (0.1 %) peptone 9 ml จนถึงระดับที่ต้องการ

3. ปิเปตตัวอย่างอาหารตามระดับความเจือจางที่ต้องการ หยดลงบนผิวหน้าอาหารเพาะเชื้อ Nutrient Agar จานละ 0.1 ml ระดับความเจือจางละ 2 - 3 จาน

4. ใช้แท่งแก้วสามเหลี่ยมจุ่มแอลกอฮอล์ 95 % ลนไฟเกลี้ยง (spread) เชื้อให้กระจายไปทั่วผิวหน้าอาหารเพาะเชื้อ

5. บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 24 - 48 ชั่วโมง

6. นับจำนวนโคโลนีที่ผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อและรายงานผลเป็น CFU / ml

การตรวจนับปริมาณเชื้อ *S. Enteritidis*, *E. coli* และ *Staph. aureus* โดยวิธี Most Probable Number )

อุปกรณ์ 1. ถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ

2. ถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ บรรจุ (0.1 %) peptone สำหรับเจือจางปริมาตร 225 ml
3. จานเพาะเชื้อ, ปิเปต 10 ml, 1 ml
4. หลอดทดลองและหลอดแก้ว Durham
5. คีมคีบ, กรรไกร, หลูป้ายเชื้อ
6. อาหารเลี้ยงเชื้อ - Lauryl sulfate tryptose broth (LST)
  - Brilliant green lactose bile broth (BGLB)
  - Eosin methylene blue (EMB) agar
  - Trypticase Soy Broth (TSB)
  - Xylose - Lysine - Desoxycholate (XLD) agar
  - Manitol Salt (MS) agar ที่มีส่วนผสมของไข่แดงปราศจากเชื้อ

วิธีการตรวจนับเชื้อ *E. coli* (AOAC, 1995)

1. ชั่งตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกปราศจากเชื้อที่บรรจุ (0.1 %) peptone ปริมาตร 225 ml ตีปนด้วย stomacher 2 นาที แล้วทำ dilution  $10^{-2}$  และ  $10^{-3}$
2. ปิเปต 1 ml ของตัวอย่างอาหารที่เจือจางที่ระดับ 1 : 10, 1 : 100 และ 1 : 1000 ใส่ลงในหลอดแก้วที่มี Lauryl sulfate tryptose broth (มีหลอด Durham คั่วอยู่ภายใน) ระดับความเจือจางละ 3 หลอด
3. นำหลอดดังกล่าวไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิตู้บเพาะเชื้ออุณหภูมิ 35 – 37 องศาเซลเซียส เป็น 24 – 48 ชั่วโมง
4. หลังการบ่มครบ 24 ชั่วโมง ให้อ่านผลของหลอดที่มีแก๊สเกิดขึ้นใน Durham tube ถ้ายังไม่มีการเกิดขึ้นให้บ่มต่อจนครบ 48 ชั่วโมง จึงนำมาอ่านผลอีกครั้งหนึ่ง
5. ทดสอบ confirm ใส่ตัวอย่าง 1 หลูป จากหลอดที่มีแก๊สลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ Brilliant green lactose bile broth (BGLB)
6. บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วตรวจสอบหลอดที่มีแก๊สเกิดขึ้น
7. ประเมินค่า Coliform โดยเทียบจากตาราง MPN

$$\text{MPN / กรัมของตัวอย่างอาหาร} = \frac{\text{ค่า MPN ที่อ่านจากตาราง} \times \text{dilution factor แรก}}$$

### วิธีการตรวจนับเชื้อ *Staph. aureus* (AOAC, 1995)

1. ชั่งตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกปราศจากเชื้อที่บรรจุ (0.1 %) peptone ปริมาตร 225 ml ตีปนด้วย stomacher 2 นาที แล้วทำ dilution  $10^{-2}$  และ  $10^{-3}$
2. ปิเปต 1 ml ของตัวอย่างอาหารที่เจือจางที่ระดับ 1 : 10, 1 : 100 และ 1 : 1000 ใส่ลงในหลอดแก้วที่มี trypticase Soy broth ระดับเจือจางละ 3 หลอด
3. นำหลอดดังกล่าวไปบ่มเพาะเชื้อที่ตู้บ่มเพาะเชื้ออุณหภูมิ 35 – 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 – 48 ชั่วโมง
4. หลังการบ่มครบ 24 ชั่วโมง ให้อ่านผลของหลอดที่ขุ่น ถ้ายังไม่ขุ่นให้บ่มต่อจนครบ 48 ชั่วโมง จึงนำมาอ่านผลอีกครั้งหนึ่ง
5. ตรวจสอบหลอดที่ขุ่น ใช้ลูปแตะอาหารที่ขุ่น นำมา streak บนอาหาร Mannitol Salt Egg Yolk (MSEY) และบ่มเพาะเชื้อที่ 35 – 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
6. ดูลักษณะโคโลนีเฉพาะของ *Staph. aureus* บนอาหาร MSEY แล้วประเมินค่าปริมาณเชื้อโดยเทียบจากตาราง MPN

### วิธีการตรวจนับเชื้อ *S. Enteritidis* (อดิศร และนภา, 2534)

1. ชั่งตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกปราศจากเชื้อที่บรรจุ (0.1 %) peptone ปริมาตร 225 ml ตีปนด้วย stomacher 2 นาที แล้วทำ dilution  $10^{-2}$  และ  $10^{-3}$
2. ปิเปต 1 ml ของตัวอย่างอาหารที่เจือจางที่ระดับ 1 : 10, 1 : 100 และ 1 : 1000 ใส่ลงในหลอดแก้วที่มี trypticase Soy broth ระดับเจือจางละ 3 หลอด
3. นำหลอดดังกล่าวไปบ่มเพาะเชื้อที่ตู้บ่มเพาะเชื้ออุณหภูมิ 35 – 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 – 48 ชั่วโมง
4. หลังการบ่มครบ 24 ชั่วโมง ให้อ่านผลของหลอดที่ขุ่น ถ้ายังไม่ขุ่นให้บ่มต่อจนครบ 48 ชั่วโมง จึงนำมาอ่านผลอีกครั้งหนึ่ง
5. ตรวจสอบหลอดที่ขุ่น ใช้ลูปแตะอาหารที่ขุ่น นำมา streak บนอาหาร XLD และบ่มเพาะเชื้อที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
6. ดูลักษณะโคโลนีเฉพาะของ *S. Enteritidis* บนอาหาร XLD แล้วประเมินค่าปริมาณเชื้อโดยเทียบจากตาราง MPN

ตารางภาคผนวกที่ 8 ค่า MPN ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % เมื่อใช้ระดับความเจือจางละ 3 หลอด

หลอดที่ให้ผลบวก				หลอดที่ให้ผลบวก				หลอดที่ให้ผลบวก				หลอดที่ให้ผลบวก			
0.1	0.01	0.001	MPN	0.1	0.01	0.001	MPN	0.1	0.01	0.001	MPN	0.1	0.01	0.001	MPN
0	0	0	< 3	1	0	0	3.6	2	0	0	9.1	3	0	0	23
0	0	1	3	1	0	1	7.2	2	0	1	14	3	0	1	39
0	0	2	6	1	0	2	11	2	0	2	20	3	0	2	64
0	0	3	9	1	0	3	16	2	0	3	26	3	0	3	95
0	1	0	3	1	1	0	7.3	2	1	0	15	3	1	0	43
0	1	1	6.1	1	1	1	11	2	1	1	20	3	1	1	75
0	1	2	9.2	1	1	2	15	2	1	2	27	3	1	2	120
0	1	3	12	1	1	3	19	2	1	3	34	3	1	3	160
0	2	0	6.2	1	2	0	11	2	2	0	21	3	2	0	93
0	2	1	9.3	1	2	1	15	2	2	1	28	3	2	1	150
0	2	2	12	1	2	2	20	2	2	2	35	3	2	2	210
0	2	3	16	1	2	3	24	2	2	3	42	3	2	3	290
0	3	0	9.4	1	3	0	16	2	3	0	29	3	3	0	240
0	3	1	13	1	3	1	20	2	3	1	36	3	3	1	460
0	3	2	16	1	3	2	24	2	3	2	44	3	3	2	1100
0	3	3	19	1	3	3	29	2	3	3	53	3	3	3	>1100

ที่มา : AOAC ( 1995 )

## ประวัติผู้เขียน

นางสาวรัตนภัทร เทียงมิตร เกิดวันที่ 10 พฤษภาคม 2515 ที่จังหวัดลำปาง สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตรบัณฑิต (สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร) จากสถาบันเทคโนโลยีราชมงคล คณะเกษตรศาสตร์บางพระ (ลำปาง) ปีการศึกษา 2537 ศึกษาต่อในระดับวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ณ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในสาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร ในปีพ.ศ. 2539 และสำเร็จการศึกษาในปีพ.ศ. 2544

