

ผลของการใช้กรดแลคติกต่อการลดจำนวนเชื้อแบคทีเรียที่สกัดแยกได้
จากกระบวนการผลิตไส้กรอกไก่รมควัน

EFFECT OF LACTIC ACID ON REDUCTION OF ISOLATED BACTERIA
FROM SMOKED EMULSION CHICKEN SAUSAGE PROCESS

วรรณวิมล มัธยม
WANWIMON MATTHAYOM

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสุขาภิบาลอาหาร

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2550

KMITL-2007-AI-M-054-050

**ผลของการใช้กรดแลคติกต่อการลดจำนวนเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้
จากกระบวนการผลิตไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควัน**

**EFFECT OF LACTIC ACID ON REDUCTION OF ISOLATED BACTERIA
FROM SMOKED EMULSION CHICKEN SAUSAGE PROCESS**

**วรรณวิมล มัธยม
WANWIMON MATTHAYOM**

**วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาสุขาภิบาลอาหาร
บัณฑิตวิทยาลัย
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2550
KMITL-2007-AI-M-054-050**

EFFECT OF LACTIC ACID ON REDUCTION OF ISOLATED BACTERIA
FROM SMOKED EMULSION CHICKEN SAUSAGE PROCESS

WANWIMON MATTHAYOM

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE PROGRAM IN FOOD SANITATION
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
2007
KMITL-2007-AI-M-054-050

COPYRIGHT 2007

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของการใช้กรดแลคติกต่อการลดจำนวนเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากกระบวนการผลิตไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควัน
ชื่อนักศึกษา	นางสาววรรณวิมล มัชฌิม
รหัสนักศึกษา	47067706
ปริญญา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต
สาขาวิชา	สุขาภิบาลอาหาร
พ.ศ.	2550
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ.ดร. อติศร เสวตวิวัฒน์

บทคัดย่อ

การศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในกระบวนการผลิตไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควัน ในขั้นตอนหลังการอัดไส้ หลังออกจากตู้อบ หลังการฉีดน้ำ หลังการตัดเป็นชิ้น และหลังการบรรจุในถุงปิดสนิท พบว่า มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดในขั้นตอนข้างต้นจำนวน $4.59 + 0.21$, $2.23 + 0.09$, $2.22 + 0.07$, $3.21 + 0.05$ และ $3.42 + 0.23$ log cfu/g ตามลำดับ และมีปริมาณ coliforms จากการถ่ายเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดบนอาหาร total plate count agar ลงบน Violet red bile agar เท่ากับ $4.29 + 0.08$, $0.00 + 0.00$, $1.44 + 0.17$, $2.19 + 0.07$ และ $2.65 + 0.06$ log cfu/g ตามลำดับ และตรวจไม่พบ *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella* spp. ในทุกช่วงขั้นตอนที่ทำการทดลอง จากที่พบปริมาณ coliforms โดยเฉลี่ยร้อยละ 75.9 ของปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดที่ตรวจสอบ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ในช่วงหลังการฉีดน้ำ จึงได้ทำการสุ่มโคโลนีของ coliforms ในช่วงดังกล่าว จนถึงหลังการบรรจุในถุงปิดสนิท ส่งยืนยันหาสายพันธุ์ชนิดของเชื้อที่สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข พบว่า ร้อยละ 90 ของโคโลนีที่ส่งตรวจเป็นเชื้อ *Aeromonas caviae* ดังนั้นจึงทำการศึกษาผลของการใช้กรดแลคติกต่อการลดจำนวนเชื้อ *A. caviae* ที่คัดแยกได้จากตัวอย่างไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควัน โดยดูผลของกรดแลคติกที่ความเข้มข้น 0 1.5 2.0 และ 2.5% ที่มีต่อเชื้อ *A. caviae* ในปริมาณเชื้อ 2 4 และ 6 log cfu/ml ในหลอดทดลอง พบว่า ความเข้มข้นของกรดแลคติกที่ทำการศึกษาทุกความเข้มข้น มีผลต่อการลดจำนวนเชื้อ *A. caviae* ทุกระดับปริมาณเชื้อที่ทำการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยเฉพาะกรดแลคติกที่ความเข้มข้นสูงจะให้ผลการยับยั้งและทำลายเชื้อดังกล่าวให้หมดไปเร็วที่สุด นอกจากนี้ ปริมาณ *A. caviae* เริ่มต้นยังมีผลต่อเวลาที่ใช้ในการลดจำนวนด้วยกรดแลคติกในทุกความเข้มข้นที่ทำการทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จากนั้นได้

ทำการศึกษากลยุทธ์ของกรดแลคติกต่อการลดจำนวน *A. caviae* ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่อิมัลชันรวมวัน โดยทำการถ่ายเชื้อ *A. caviae* ที่ระดับ $2 \log \text{ cfu/ml}$ ลงในไส้กรอกไก่อิมัลชันรวมวันที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยแสง UV หลังจากนั้น ศึกษาผลของความเข้มข้นของกรดแลคติกที่ความเข้มข้น 0 1.5 2.0 และ 2.5% โดยทำการราดด้วยกรดแลคติกในแต่ละระดับความเข้มข้น แล้วเก็บผลิตภัณฑ์ทั้งหมดที่อุณหภูมิ $4 \pm 1^\circ\text{C}$ เป็นเวลา 0 1 3 5 7 14 และ 21 วัน เพื่อทำการหาปริมาณเชื้อ *A. caviae* ที่มีชีวิตอยู่ในผลิตภัณฑ์ในช่วงการเก็บที่ระยะเวลาที่ทำการศึกษา พบว่า ระดับความเข้มข้นของกรดแลคติกมีผลต่อจำนวนเชื้อ *A. caviae* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) กล่าวคือ กรดแลคติกเข้มข้น 2.5% ให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. caviae* ได้ดีที่สุด โดยที่ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่อิมัลชันรวมวันสามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิตู้เย็นได้นานเกิน 21 วัน โดยที่ปริมาณมาตรฐานการตรวจหาเชื้อ coliforms ไม่เกินมาตรฐานที่สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช) กำหนดไว้ ในขณะที่กรดแลคติกเข้มข้น 0 1.5 และ 2.0% มีปริมาณเชื้อเกินมาตรฐานที่สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติกำหนด เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิเดียวกันเป็นระยะเวลา 1 7 และ 14 วัน ตามลำดับ นอกจากนี้ ผลการทดสอบคุณภาพการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการราดด้วยกรดแลคติกนี้ พบว่า ผู้บริโภคยังให้การยอมรับทางประสาทสัมผัสในด้าน สี ลักษณะปรากฏ และ กลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ที่ราดด้วยกรดแลคติกความเข้มข้นสูงที่ 2.0 และ 2.5% มากกว่าผลิตภัณฑ์กลุ่มควบคุม (ราดด้วยกรดแลคติก 0%) และผลิตภัณฑ์ที่ราดด้วยกรดแลคติก 1.5% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ตามลำดับ

Thesis Title	Effect of Lactic acid on Reduction of Isolated Bacteria from Smoked Emulsion Chicken Sausage Process.
Student	Miss. Wanwimon Matthayom
Student ID.	47067706
Degree	Master of Science
Program	Food Sanitation
Year	2007
Thesis Advisor	Assoc.Prof.Dr. Adisorn Swetwiwathana

ABSTRACT

The type of bacterial contamination during post stuffing, post-cooked, post cooling, post-peeling and post-packing of smoked emulsion chicken sausage process was determined. The results revealed that bacterial count during aforementioned process were $4.59 + 0.21$, $2.23 + 0.09$, $2.22 + 0.07$, $3.21 + 0.05$ and $3.42 + 0.23$ log cfu/g, respectively. Among these bacterial number on total plate count agar in each process samples, most of them implied to be coliforms on violet red bile agar at amount of $4.29 + 0.08$, $0.00 + 0.00$, $1.44 + 0.17$, $2.19 + 0.07$ และ $2.65 + 0.06$ log cfu/g, respectively. *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* spp. were not detected in each process sample. The 75.9% of coliforms' isolates from total plate count agar in each process sample, especially, during post – cooling, post-peeling and post-packing process were randomly picked up and sent to National Institute of Health (NIH), Department of Medical Science, Ministry of Public Health for identification. It was found that 90 % of sending isolates were confirmed as *Aeromonas caviae*. Thus, effect of lactic acid at the concentration of 0, 1.5, 2.0 and 2.5 % on the amount of isolated *A. caviae* at 2, 4 and 6 log cfu/ml were investigated in an in-vitro broth. The results exhibited the best antagonistic effect of lactic acid at 2.0 and 2.5 % on all studied amount of *A. caviae* within 1 minute, while lactic acid at 1.5 % could eradicate amount of *A. caviae* at 2, 4 and 6 log cfu/ml within 5, 10 and 15 minutes respectively. The effect of showering of lactic acid concentration at 0, 1.5, 2.0 and 2.5 % on 2 log cfu/ml of contaminated *A. caviae* on cooked and UV sterilization smoked emulsion chicken sausage under keeping temperature at $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$ for 0, 1, 3, 5, 7, 14 and 21 day were

examined. It was revealed that showering the *A. caviae* contaminated samples with lactic acid at 2.5 % were the most effective concentration to prolong the shelf-life of this smoked emulsion chicken sausage and lead the coliforms count harmonized under microbiological standard regulation revised from National Bureau of Agricultural Commodity and Food Standards (ACFS). More than 21 days during keeping at $4 \pm 1^{\circ}$ C, while showering the *A. caviae* contaminated samples with lactic acid at 0, 1.5 and 2.0 % showed the coliforms count were harmonized to the microbiological standard within 1, 7 and 14 days respectively. Besides, samples showered with 2.0 and 2.5 % were organoleptically more preferable on product's colour, product's appearance and overall taste of product than the samples that showered with 0 and 1.5 % lactic acid.

กิติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงลงได้ เนื่องจากได้รับความกรุณาเป็นอย่างสูงจาก รศ. ดร. อติศร เสวตวิวัฒน์ ที่ให้เกียรติเป็นอาจารย์ผู้ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รวมทั้งกรุณาให้ความรู้ คำแนะนำ และชี้แนะแนวทางที่เป็นประโยชน์แก่ข้าพเจ้าเสมอมา ตลอดจนช่วยตรวจทานแก้ไข วิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ ข้าพเจ้ารู้สึกซาบซึ้ง และขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณ รศ. ดร. วราวุฒิ ครุสงฆ์ ผศ. ดร. ประภาพร ขอไพบูลย์ และ คุณเพ็ญศรี รอดมา ที่ให้เกียรติเป็นคณะกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ และช่วยแก้ไขตรวจสอบ วิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ คณาจารย์ทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ และถ่ายทอด ประสบการณ์ต่าง ๆ แก่ข้าพเจ้าตลอดระยะเวลาการศึกษาจนข้าพเจ้าสำเร็จการศึกษา

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตรทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือในการทำ วิจัยในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ คุณอนันต์ จันทรานุกูล กรรมการผู้จัดการบริษัท ศรีไทย ฟู้ดแอนด์เบฟ เวอร์เรจ จำกัด (มหาชน) และ บริษัท ผลิตภัณฑ์อาหารศรีไทย จำกัด ที่ให้ความกรุณา และ อนุเคราะห์วัตถุดิบ รวมทั้งสถานที่ในการทำงานทดลอง และวิจัยจนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณพี่ ๆ ที่ห้องปฏิบัติการ บริษัท ศรีไทย ฟู้ดแอนด์เบฟเวอร์เรจ จำกัด (มหาชน) พี่ ๆ เพื่อน ๆ น้อง ๆ ที่ฝ่ายผลิต บริษัท ผลิตภัณฑ์อาหารศรีไทย จำกัด ที่ให้คำแนะนำ ช่วยเหลือ และอำนวยความสะดวกต่าง ๆ ตลอดการทำงานวิจัย และถือเป็นส่วนสำคัญอย่างยิ่งที่ทำให้ งานวิจัยดังกล่าวสำเร็จได้ด้วยดี

ขอขอบคุณ เพื่อน ๆ ปริญญาโท ทุกท่านที่ให้คำแนะนำช่วยเหลือ และความปรารถนาดี เสมอมา

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา พี่น้อง ที่ให้การสนับสนุนเป็นอย่างดีในทุกด้าน และให้กำลังใจมาโดยตลอด จนงานวิจัยนี้สำเร็จด้วยดี

คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบแด่บุคคลข้างต้นที่กล่าว มาทั้งหมด และผู้มีพระคุณที่ไม่ได้กล่าวนามทุกท่าน หากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีข้อผิดพลาดประการ ใด ข้าพเจ้าขอน้อมรับไว้แต่ผู้เดียว

วรรณวิมล มัชฌิม

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	III
กิตติกรรมประกาศ.....	V
สารบัญ.....	VI
สารบัญตาราง.....	VIII
สารบัญภาพ.....	X
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 ขอบเขตการศึกษา.....	2
1.3 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา.....	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 ไส้กรอก (Sausage).....	4
2.2 ชนิดและปริมาณการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิตไส้กรอก.....	5
2.3 การเน่าเสียของไส้กรอก.....	13
2.4 อายุการเก็บรักษาของเนื้อ และผลิตภัณฑ์.....	14
2.5 สารยับยั้งจุลินทรีย์.....	14
2.6 การใช้กรดอินทรีย์ในอุตสาหกรรมอาหาร.....	17
2.7 กลไกการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยกรดอินทรีย์.....	19
2.8 กรดแลคติกที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร.....	22
2.9 การใช้กรดแลคติกในเนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อ.....	24
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ.....	27
3.1 วัตถุประสงค์.....	27
3.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง.....	27
3.3 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์.....	27
3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง.....	28
3.5 สถานที่ดำเนินการทดลอง.....	28

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ (ต่อ)	
3.6 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย.....	28
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์.....	37
บทที่ 5 สรุปผลการศึกษา.....	62
ข้อเสนอแนะ.....	64
เอกสารอ้างอิง.....	65
ภาคผนวก.....	71
ภาคผนวก ก. การตรวจวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา.....	72
ภาคผนวก ข. แบบทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส.....	77
ภาคผนวก ค. ผลการทดลอง.....	80
ภาคผนวก ง. สถานที่ผลิตได้กรอกไก่อิมัลชันรมควัน.....	83
ประวัติผู้เขียน.....	85

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 Genospecies และ Phenospecies ของ genus <i>Aeromonas</i>	8
2.2. ผลการทดสอบทางชีวเคมีที่ใช้ในการคัดแยกเชื้อ <i>Aeromonas</i> spp.....	9
2.3. ความสัมพันธ์ของลักษณะอาการ และความถี่ของการติดเชื้อ <i>Aeromonas</i> spp. ในมนุษย์.....	10
2.4 ผลการทดสอบทางชีวเคมีที่ใช้ในการคัดแยกเชื้อ <i>Klebsiella</i> spp.....	12
2.5 กรดอินทรีย์และเกลือของกรดที่ใช้มากในอุตสาหกรรมอาหาร.....	18
2.6 ค่าคงที่ของการแตกตัว (pK _a) ของกรดอินทรีย์.....	19
2.7 ปริมาณกรดแลคติกในอาหารบางประเภท.....	23
4.1 การเปรียบเทียบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด กับปริมาณ Coliforms ในกระบวนการผลิต ไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควัน.....	39
4.2 ผลการวินิจฉัยสายพันธุ์ของเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากกระบวนการผลิตไส้กรอกไก่อิมัลชัน รมควันที่ส่งยืนยันสายพันธุ์ที่ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข.....	40
4.3 ผลการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อ <i>A. caviae</i> จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข.....	41
4.4 การตรวจหา <i>Salmonella</i> spp. และ <i>Staph. aureus</i> ในกระบวนการผลิต ไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควัน.....	43
4.5 ผลของสารละลายกรดแลคติก ที่ระดับความเข้มข้น 0 1.5 2.0 และ 2.5% และระยะเวลาใน การลดจำนวนเชื้อ <i>A. caviae</i> ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10 ² 10 ⁴ และ 10 ⁶ cfu / ml ในหลอดทดลอง.....	47
4.6 ปริมาณ <i>A. caviae</i> ที่ระดับ 2 log cfu / g โดยการถ่ายเชื้อลงในไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควัน แล้วรอดด้วยกรดแลคติกที่ระดับความเข้มข้น 0 1.5 2.0 และ 2.5% เมื่อเก็บไว้ เป็นเวลา 21 วัน ที่ 4 ± 1°C.....	49
4.7 การเปลี่ยนแปลงค่าความสว่างของไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควัน ที่รอดด้วยกรดแลคติก ความเข้มข้น 0 1.5 2.0 และ 2.5% เมื่อเก็บเป็นเวลา 21 วัน ที่ 4 ± 1°C	52
4.8 การเปลี่ยนแปลงค่าสีแดงของไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควัน ที่รอดด้วยกรดแลคติก ความเข้มข้น 0 1.5 2.0 และ 2.5% เมื่อเก็บเป็นเวลา 21 วัน ที่ 4 ± 1°C.....	53

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.9	คะแนนสีของไส้กรองไคอิมัลชันรมควัน ที่ราดด้วยสารละลายกรดแลคติก
	ความเข้มข้น 0 1.5 2.0 และ 2.5% เมื่อเก็บเป็นเวลา 21 วัน ที่ $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$55
4.10	คะแนนลักษณะปรากฏของไส้กรองไคอิมัลชันรมควัน ที่ราดด้วยสารละลายกรดแลคติก
	ความเข้มข้น 0 1.5 2.0 และ 2.5% เมื่อเก็บเป็นเวลา 21 วัน ที่ $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$56
4.11	คะแนนกลิ่นรสของไส้กรองไคอิมัลชันรมควัน ที่ราดด้วยสารละลายกรดแลคติก
	ความเข้มข้น 0 1.5 2.0 และ 2.5% เมื่อเก็บเป็นเวลา 21 วัน ที่ $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$57
4.12	คะแนนเนื้อสัมผัสของไส้กรองไคอิมัลชันรมควัน ที่ราดด้วยสารละลายกรดแลคติก
	ความเข้มข้น 0 1.5 2.0 และ 2.5% เมื่อเก็บเป็นเวลา 21 วัน ที่ $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$58
4.13	คะแนนการยอมรับโดยรวมของไส้กรองไคอิมัลชันรมควัน ที่ราดด้วยสารละลาย
	กรดแลคติกความเข้มข้น 0 1.5 2.0 และ 2.5% เมื่อเก็บเป็นเวลา 21 วัน ที่ $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$59
4.14	คะแนนเฉลี่ยของการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไส้กรองไคอิมัลชันรมควัน
	ที่ราดด้วยสารละลายกรดแลคติกที่ระดับความเข้มข้น 0 1.5 2.0 และ 2.5%
	เมื่อเก็บเป็นเวลา 21 วัน ที่ $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$60
ค.1	ผลการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อ <i>K. pneumoniae</i>
	โดยสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
	กระทรวงสาธารณสุข.....82

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 กราฟการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์.....	20
2.2 โครงสร้างของกรดแลคติก D (-) และ L (+).....	22
3.1 กระบวนการผลิตไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควัน.....	30
ค.1 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ปนเปื้อนผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควันในขั้นตอน ก่อนการทำให้สุก ภายหลังจากการทำให้สุก ภายหลังจากการฉีดยา ภายหลังจากการตัดเป็นชิ้น และภายหลังจากการบรรจุปิดสนิท.....	81
ค.2 แสดงปริมาณ Coliforms ที่ปนเปื้อนผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควันในขั้นตอน ก่อนการทำให้สุก ภายหลังจากการทำให้สุก ภายหลังจากการฉีดยา ภายหลังจากการตัดเป็นชิ้น และภายหลังจากการบรรจุปิดสนิท.....	81
ง.1 สถานที่ผลิตไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควัน.....	84

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมา และความสำคัญของปัญหา

ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกประเภทอีมัลชัน (emulsion sausage products) เป็นผลิตภัณฑ์ที่อาศัยการรวมตัวกันของโปรตีนจากเนื้อสัตว์ ไขมันสัตว์ และน้ำ ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ในกลุ่มนี้คือ แฟรงเฟอ์เตอร์ (frankfurter) เวียนนา (vienna) คอคเทล (cocktail) โบโลน่า (bologna) เป็นต้น (จุฑารัตน์ เศรษฐกุล, 2545) ในปัจจุบันผลิตภัณฑ์ไส้กรอกมีจำหน่ายอย่างแพร่หลายในห้างสรรพสินค้า ตลาดสด และตามจุดขายเคลื่อนที่ต่างๆ โดยในจุดจำหน่ายแต่ละจุดอาจจะไม่มีการควบคุมอุณหภูมิที่เหมาะสม อันจะส่งผลให้สินค้าเสื่อมเสียก่อนวันหมดอายุที่แจ้งไว้บนฉลากสินค้า ในด้านของผู้ผลิตก็ถือว่าการสูญเสียทางด้านกำไร โอกาส และลดความเชื่อมั่นของลูกค้าหรือผู้บริโภค ทางด้านของผู้บริโภคเองก็อาจได้รับอันตรายจากการบริโภคสินค้าที่หมดอายุด้วยความรู้เท่าไม่ถึงกาล

สภาพการขนส่งสินค้าไปยังลูกค้าหรือผู้บริโภคก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์ โดยรถยนต์ที่ใช้ในการขนส่งสินค้าไม่มีการควบคุมอุณหภูมิภายในตู้ขนส่ง เมื่อสินค้าไปถึงลูกค้าก็ต้องลำเลียงออกจากตู้ขนส่ง กว่าที่ลูกค้าจะทำการตรวจรับสินค้าเสร็จก็ใช้เวลานาน ซึ่งช่วงเวลาดังกล่าวมีผลให้เชื้อจุลินทรีย์ที่หลงเหลือมากับผลิตภัณฑ์มีการเจริญเติบโต และเพิ่มจำนวนขึ้นเป็นผลให้ผลิตภัณฑ์เสื่อมเสียเร็วขึ้น ดังนั้นถ้าสามารถควบคุมจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ให้มีจำนวนน้อยที่สุดเท่าที่จะเป็นไปได้ตั้งแต่ภายในโรงงาน ก็จะมีผลให้จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ปลายทางน้อยลงตามไปด้วย โดยกระบวนการผลิตไส้กรอกจะมีขั้นตอนในการทำให้สุกด้วยการอบที่อุณหภูมิประมาณ 78°C การทำให้สุกมีจุดประสงค์หลายประการ คือ การทำให้เกิดสีในผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้ยังถือเป็นการพาสเจอร์ไรส์ไส้กรอกเพื่อลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมาจากขั้นตอนการผลิตก่อนหน้านั้น (จุฑารัตน์ เศรษฐกุล, 2545) หลังจากไส้กรอกผ่านกระบวนการทำให้สุกและรมควันแล้ว ก็ต้องนำมาทำให้เย็นในทันทีด้วยการฉีดพ่นด้วยน้ำ การตัดไส้กรอก และการบรรจุ ถ้ากระบวนการภายหลังการทำให้สุกไม่มีการควบคุม เชื้อจุลินทรีย์สามารถปนเปื้อนกลับมาที่ตัวผลิตภัณฑ์ได้จาก เครื่องมือ น้ำที่ใช้ในการทำให้เย็น พนักงาน และจากข้อมูลการผลิตไส้กรอกไก่อีมัลชันรมควันของโรงงานผลิตภัณฑ์อาหารศรีไทยในช่วงเดือนมกราคม - พฤษภาคม 2548 มียอดการคืนสินค้า 4.4% ของยอดการส่งสินค้า คิดเป็นมูลค่า 154,308 บาท ต่อหนึ่งชนิดสินค้า โดยลักษณะสินค้าที่ส่งคืนมาส่วนใหญ่จะเป็นสินค้าที่เสื่อมเสียก่อนวันหมดอายุที่ระบุไว้ที่

ฉลาก และสภาพสินค้ามีลักษณะเป็นเนื้อมี สีของสินค้าเปลี่ยน ซึ่งการเสื่อมเสียของสินค้านี้สันนิษฐานว่าน่าจะมาจากเชื้อจุลินทรีย์เป็นสาเหตุ ด้วยเหตุนี้จึงมีการศึกษาหาเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนกลับมายังผลิตภัณฑ์ในขั้นตอนต่าง ๆ ภายหลังจากทำให้สุก และเนื่องจากมีการใช้กรดแลคติกกันอย่างแพร่หลาย เพื่อลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์โดยการฉีดพ่นที่ผลิตภัณฑ์ก่อนการบรรจุ ดังเช่น โอรส รักชาติ (2537) ได้ทำการศึกษาวิธีการใช้กรดแลคติกที่ความเข้มข้น 2.0% โดยการฉีดพ่นที่ผลิตภัณฑ์ใส่กรอกก่อนทำการบรรจุ เก็บไว้นาน 10 วัน ที่ $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$ พบว่าสามารถยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้เกิน 10 วัน จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดจึงจะเกินมาตรฐาน ในขณะที่ไม่ทำให้คุณภาพทางประสาทสัมผัสเปลี่ยนแปลง และ Bampalia และคณะ (2004) นำใส่กรอก Frankfurters มาแช่ในสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 2.5% หลังจากนั้นทำการบรรจุแบบสุญญากาศ เก็บเป็นเวลา 40 วัน ที่ 10°C พบว่าในวันที่ 12 ของการเก็บรักษาตัวอย่างที่แช่ด้วยกรดแลคติก 2.5% มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ $6.0 \log \text{ cfu/g}$ ในขณะที่ตัวอย่างที่ไม่ได้แช่ในกรดแลคติกมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ $8.87 \log \text{ cfu/g}$.

ด้วยเหตุนี้ จึงทำการศึกษาลักษณะของระดับความเข้มข้นในการใช้สารละลายกรดแลคติก เพื่อลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการปนเปื้อน ในผลิตภัณฑ์ใส่กรอกไก่อิมัลชันรมควัน ระหว่างกระบวนการผลิตภายหลังการทำให้สุกก่อนการบรรจุในถุงปิดสนิท ทั้งนี้เพื่อรักษาผลิตภัณฑ์ให้มีอายุการเก็บรักษาตามเวลาที่กำหนด รักษาไว้ซึ่งคุณภาพทางจุลชีววิทยา และคุณภาพทางประสาทสัมผัสที่ไม่เปลี่ยนแปลงตามระยะเวลาการเก็บที่กำหนดไว้

1.2 ขอบเขตการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในใส่กรอกไก่อิมัลชันรมควัน ระหว่างกระบวนการก่อนการทำให้สุก หลังจากการทำให้สุก และในผลิตภัณฑ์ที่บรรจุในถุงปิดสนิท โดยทำการตรวจหาเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มที่เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงคุณภาพ ได้แก่ Total Plate Count, Coliforms และจุลินทรีย์ที่เป็นดัชนีบ่งชี้ความปลอดภัยในอาหาร ได้แก่ *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*

ศึกษาปริมาณ และสายพันธุ์ของเชื้อจุลินทรีย์ ที่ปนเปื้อนกลับมายังผลิตภัณฑ์ใส่กรอกไก่อิมัลชันรมควันในถุงปิดสนิท ทำการตรวจยืนยันสายพันธุ์ของเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้โดยสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

ศึกษามลของความเข้มข้นของสารละลายกรดแลคติก ต่อการลดจำนวนลงของเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ จากกระบวนการผลิตภายหลังขั้นตอนการทำให้สุก

1.3 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.3.1 ศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควัน ระหว่างกระบวนการก่อนการทำให้สุก หลังจากการทำให้สุก และในผลิตภัณฑ์ที่บรรจุในถุงปิดสนิท โดยทำการตรวจหาเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มที่เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงคุณภาพ ได้แก่ Total Plate Count, Coliforms และจุลินทรีย์ที่เป็นดัชนีบ่งชี้ความปลอดภัยในอาหาร ได้แก่ *Salmonella* spp., *Staph. aureus*

1.3.2 ศึกษาปริมาณ และสายพันธุ์ของเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนกลับมายังผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควันในถุงปิดสนิท และทำการตรวจยืนยันสายพันธุ์ของเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้โดยสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

1.3.3 ศึกษาผลของความเข้มข้นของสารละลายกรดแลคติก ต่อการลดจำนวนลงของเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ จากกระบวนการผลิตภายหลังขั้นตอนการทำให้สุก

บทที่ 2

ทฤษฎีและผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ไส้กรอก (Sausage)

ไส้กรอก (Sausage) เป็นผลิตภัณฑ์แปรรูปที่รู้จักกันอย่างแพร่หลายมานาน และมีชื่อเรียกแตกต่างกันในแต่ละประเทศ ซึ่งคำว่า Sausage มีรากศัพท์มาจากภาษาละตินว่า Salsus หมายถึง การใส่เกลือ หรือการเก็บรักษาเนื้อโดยใช้เกลือ (Roman, 1977) ความแตกต่างของไส้กรอกเกิดจากการใช้เครื่องเทศ และเครื่องปรุงรสตามความนิยมของแต่ละท้องถิ่น

โดยสามารถแบ่งชนิดของไส้กรอกตามกรรมวิธีการผลิตได้ดังนี้ (จุฑารัตน์ เศรษฐกุล, 2545)

1) ไส้กรอกสด (Fresh sausage) ไส้กรอกที่ผู้บริโภคจะต้องนำไปทำให้สุกก่อนการบริโภค ไส้กรอกชนิดนี้เน่าเสียง่ายต้องเก็บรักษาที่อุณหภูมิไม่เกิน 4 °C และไม่ควรเก็บนานเกิน 2 – 3 วัน เนื่องจากผลิตภัณฑ์ยังไม่ผ่านกระบวนการให้ความร้อน ดังนั้นจึงมีโอกาสที่จุลินทรีย์ที่คงเหลืออยู่จากการปนเปื้อนในกระบวนการผลิตเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วเมื่อเจอสภาพที่เหมาะสม

2) ไส้กรอกเปรี้ยว (Fermented sausage) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ต้องผ่านกระบวนการหมักโดยจุลินทรีย์เพื่อให้เกิดรสเปรี้ยว แล้วจึงนำมาผ่านกระบวนการทำให้แห้งเพื่อลดค่า Aw ในผลิตภัณฑ์ ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ เช่น ซาลามิ (Salami) เป็นผลิตภัณฑ์ที่สามารถเก็บไว้ได้นาน โดยไม่ต้องเก็บในตู้เย็น เมื่อจะบริโภคก็ไม่ต้องทำให้สุก และผลิตภัณฑ์ที่คนไทยรู้จักดี คือ ไส้กรอกอีสาน (ไส้กรอกเปรี้ยว) ก็เป็นผลิตภัณฑ์ที่อาศัยการหมักจากจุลินทรีย์เพื่อทำให้เกิดรสเปรี้ยว แต่เมื่อจะบริโภคต้องนำไปทำให้สุกก่อน

3) ไส้กรอกสุก (Cooked sausage) เป็นผลิตภัณฑ์ไส้กรอกที่ใช้เนื้อสัตว์บดผสมกับเครื่องปรุงรสบรรจุใส่ไส้ แล้วหลังจากนั้นนำไปทำให้สุกโดยการต้ม เช่น ไส้กรอกตับ (Liver sausage) ไส้กรอกเลือด (Blood sausage) เป็นต้น

4) ผลิตภัณฑ์ชิ้นน้ำเกลือ และต้มสุก (Cooked cured products) ได้แก่ ผลิตภัณฑ์ในกลุ่มไม่ลดรูป เช่น เบคอน (Bacon) แฮมหมัก (Cured ham)

5) ผลิตภัณฑ์หมักเกลือ และดิบ (Dry cured meat products) ได้แก่ ผลิตภัณฑ์ในกลุ่มไม่ลดรูป แต่จะไม่ผ่านการทำให้สุก เช่น เบคอนรมควันเย็น (Black forest bacon) แฮมดองเค็มรมควันเย็น (Dry cured ham) แต่ผลิตภัณฑ์ที่รู้จักกันแพร่หลายคือ Pama ham

6) ผลิตภัณฑ์ในกลุ่มอิมัลชัน (Emulsion meat products) เป็นผลิตภัณฑ์อาศัยการรวมตัวของโปรตีนจากเนื้อสัตว์ ไขมันสัตว์ และน้ำ โดยโปรตีนที่เหมาะสมจะเป็นพวกโปรตีนของเส้นใยกล้ามเนื้อ (Myofibrillar protein) ซึ่งจะทำหน้าที่เป็น อิมัลซิไฟเออร์ (Emulsifier) ระหว่างไขมัน และน้ำ ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ในกลุ่มนี้ได้แก่ แฟรงเฟอ์เตอร์ (Frankfurter) เวียนนา (Vienna) เป็นต้น

2.2 ชนิด ปริมาณและการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิตไส้กรอกอิมัลชัน

วัตถุดิบหลักที่ใช้ในการผลิตไส้กรอกคือ เนื้อสัตว์ซึ่งเป็นอาหารที่เน่าเสียได้ง่าย ทั้งนี้เนื่องจากเนื้อสัตว์เป็นแหล่งอาหารที่ดีของจุลินทรีย์ที่มีความชื้นสูง มีพีเอชเกือบเป็นกลาง (สุมาลี เหลืองสกุล, 2541) โดยทั่วไปจุลินทรีย์ที่พบในเนื้อสัตว์ ได้แก่ *Pseudomonas* spp., *Micrococcus* spp., *Enterobacteria* spp., *Flavobacterium* spp., *Microbacterium* spp., *Acinetobacter* spp. และ *Lactobacillus* spp. (จุฑารัตน์ เศรษฐกุล, 2545) ดังนั้นไส้กรอกซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์แปรรูปจากเนื้อสัตว์จำเป็นต้องเก็บรักษาในอุณหภูมิต่ำ (4°C) เพื่อชะลอการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่หลงเหลือจากกระบวนการผลิตและที่ปนเปื้อนกลับมาภายหลัง ถ้าเก็บที่อุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิตู้เย็น (4°C) จะทำให้จุลินทรีย์เพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว เป็นผลให้ลักษณะทางกายภาพของไส้กรอกเปลี่ยนไป เช่น สีของผลิตภัณฑ์ กลิ่นรส เป็นต้น (โอรส รักษาติ, 2537) รวมทั้งอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์สั้นลง

จำนวนและชนิดของจุลินทรีย์ จะเป็นตัวบ่งชี้ถึงสุขลักษณะของกระบวนการผลิตภายในโรงงานอุตสาหกรรม การเก็บรักษา การขนส่ง และที่จุดจำหน่าย Metaxopoulos และคณะ (2002) ตรวจหาจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total viable counts) ในโรงงานผลิตไส้กรอกของประเทศกรีซ จุดที่เก็บตัวอย่างคือ วัตถุดิบ ผลิตภัณฑ์สุดท้าย น้ำที่ใช้ในกระบวนการผลิต และเครื่องมือ ซึ่งพบเชื้อจำนวน 5.0×10^5 cfu/g, 1.0×10^4 cfu/g, 100 cfu/g และ 1.0×10^3 cfu/cm³ ตามลำดับ

Mrema และคณะ (2006) ทำการเก็บตัวอย่างไส้กรอกจำนวน 120 ตัวอย่าง เพื่อตรวจหา *Salmonella* spp. และพบว่ามิได้กรอกจำนวน 31 ตัวอย่างที่ตรวจพบ *Salmonella* spp. ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 25.8 ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมด อติศร เสวตวิวัฒน์และคณะ (2537) ทำการเก็บตัวอย่างไส้กรอกที่จำหน่ายในตลาด และห้างสรรพสินค้าในเขตกรุงเทพมหานครในช่วงเดือน มกราคม ถึง เมษายน 2536 รวม 27 ตัวอย่าง พบว่าผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ไม่เข้าเกณฑ์กำหนดคุณภาพทางจุลชีววิทยา ของ

อาหารและภาชนะสัมผัสอาหารของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ในช่วง $300 - 27 \times 10^7$ cfu/ml, MPN *E. coli* / g. มากกว่า 3 พบ 3 ตัวอย่างใน 27 ตัวอย่าง *Staph. aureus* / g. มากกว่า 100 พบ 2 ตัวอย่างใน 27 ตัวอย่าง *Salmonellae* ต่อ 25 g. พบ 2 ตัวอย่างใน 27 ตัวอย่าง

ในประเทศไทย โดยสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช) ได้ กำหนดมาตรฐานของสินค้าประเภทไส้กรอกไว้ว่า ต้องมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่เกิน 1.0×10^6 cfu/g, Coliforms ไม่เกิน 500 cfu/g, *E. coli* ไม่เกิน 3 cfu/g, ไม่พบ *Salmonella* spp. ในตัวอย่าง 25 g, *Staph. aureus* ต้องไม่พบต่อตัวอย่าง 1 g และ *Clostridium perfringens* ต้องไม่พบ ต่อ ตัวอย่าง 0.01 g ตามลำดับ

กระบวนการผลิตไส้กรอกอิมัลชันเริ่มตั้งแต่ การเตรียมวัตถุดิบ การบดเนื้อ (Grinding) การสับผสม (Chopping) การห่อบรรจุไส้ (Stuffing) การทำให้สุก (Heating) การรมควัน (Smoking) การลดอุณหภูมิ (Showering) การตัดเป็นแท่ง (Cutting) การบรรจุ (Packing) และสุดท้ายการเก็บเพื่อรอการจำหน่าย (จุฑารัตน์ เศรษฐกุล, 2545) ในปัจจุบันขั้นตอนการทำให้สุก เป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นพร้อมกับการรมควันในตู้อบ (Smoking chamber) มี 3 ขั้นตอนคือ 1) เริ่มอบไส้กรอกที่อุณหภูมิ 80-90 °C เพื่อให้ไส้กรอกเกิดการเซ็ทตัว 2) การรมควันที่อุณหภูมิ 60-70 °C 3) การต้มไส้กรอกที่อุณหภูมิ 70 °C (เยาวลักษณ์ สุรพันธุ์พิศิษฐ์, 2536) กระบวนการทำให้สุก มีจุดประสงค์หลายประการ คือ การเกิดสีของตัวผลิตภัณฑ์ ทำให้ผลิตภัณฑ์มีสีส่นนำรับประทาน ทำให้ผลิตภัณฑ์คงรูปร่างไม่เหลวและการต้มยังถือเป็นกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์ (Pasteurization) เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ให้ยาวนานขึ้น Surkiewize และคณะ (1977) รายงานว่า ไส้กรอกแฟรงเฟอ์เตอร์ ที่อบเสร็จมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดอยู่ในช่วง 10^4 cfu/g ซึ่งเป็นปริมาณที่ต่ำกว่าในส่วนผสมดิบที่มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดอยู่ในช่วง $5.0 \times 10^4 - 1.0 \times 10^7$ cfu/g Sachindra และคณะ (2005) ทำการศึกษาปริมาณจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิตไส้กรอกจากเนื้อ กระบือ โดยเริ่มจากวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิต พบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด 5.4×10^5 cfu / g, Coliforms (MPN) 23.2, *Staph. aureus* 157 cfu / g, ยีสต์และรา 2.29×10^2 cfu / g แต่เมื่อผ่าน กระบวนการทำให้สุกมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดลดลงเหลือ 3.7×10^3 cfu / g, Coliforms (MPN) 0.2, ยีสต์และรา 0.72 cfu / g, ตรวจไม่พบ *Staph. aureus* และ *Cl. perfringens*

2.2.1 *Aeromonas caviae* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อน สามารถเคลื่อนที่ได้โดยใช้ Polar Flagella บางชนิดเคลื่อนที่ไม่ได้ metabolism มีทั้งแบบ respiration และ fermentation ให้ผล oxidase และ catalase เป็นบวก เป็นพวก facultative anaerobe ที่ผ่านมามีการจัดให้ Genus *Aeromonas* อยู่ใน Family Vibrionaceae (Popoff, 1984) แต่มีงานวิจัยบางชิ้นเสนอให้ Genus *Aeromonas* มี Family เป็นของตัวเอง คือ Family Aeromonadaceae (Colwell และคณะ , 1986) *Aeromonas* มีลักษณะทางชีวเคมีที่คล้ายกับ *Enterobacteriaceae*

Genus *Aeromonas* ประกอบด้วยสมาชิกอย่างน้อย 13 genospecies เช่น *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. sobria*, *A. veronii*, *A. schubertii* และ *A. salmonicida*. (ตารางที่ 2.1)

ตารางที่ 2.1 Genospecies และ Phenospecies ของ genus *Aeromonas*

DNA Hybridization Group	Reference strain (T = type strain)	Genospecies	Phenospecies
1	ATCC 7966 ^T	<i>A. hydrophila</i>	<i>A. hydrophila</i>
2	ATCC 51108 ^T	<i>A. bestiarum</i>	<i>A. hydrophila</i>
3	ATCC 33658 ^T	<i>A. salmonicida</i>	<i>A. salmonicida</i>
3	CDC 0434-84	<i>A. salmonicida</i>	<i>A. hydrophila</i>
4	ATCC 15468 ^T	<i>A. caviae</i>	<i>A. caviae</i>
5	A CDC 0862-83	<i>A. media</i>	<i>A. caviae</i>
5B	CDC 0435-84	<i>A. media</i>	<i>A. media</i>
6	ATCC 23309 ^T	<i>A. eucrenophila</i>	<i>A. eucrenophila</i>
7	CIP 7433 ^T	<i>A. sobria</i>	<i>A. sobria</i>
8	ATCC 9071	<i>A. veronii</i>	<i>A. veronii</i> biovar <i>sobria</i>
9	ATCC 49568 ^T	<i>A. jandaei</i>	<i>A. jandaei</i>
10	ATCC 35624 ^T	<i>A. veronii</i>	<i>A. veronii</i>
11	ATCC 35941	Unnamed	<i>Aeromonas</i> sp. (ornithine positive)
12	ATCC 43700 ^T	<i>A. schubertii</i>	<i>A. schubertii</i>
13	ATCC 43946	Unnamed	<i>Aeromonas</i> Group 501
14	ATCC 49657 ^T	<i>A. trota</i>	<i>A. trota</i>
15	CECT 4199 ^T	<i>A. allosaccharophila</i>	<i>A.allosaccharophilab</i>
16	CECT 4342 ^T	<i>A. encheleiab</i>	<i>A. encheleiab</i>

ที่มา : ดัดแปลงจาก Carnahan และ Altwegg (1996)

เชื้อในกลุ่มของ *Aeromonas* spp. สามารถคัดแยกสายพันธุ์ได้โดยการทดสอบทางชีวเคมี เพื่อทำการยืนยันชนิดสายพันธุ์ ตามตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ผลการทดสอบทางชีวเคมีที่ใช้ในการคัดแยกเชื้อ *Aeromonas* spp.

Test ^b	<i>Aeromonas</i> species ^a									
	Ah	Ab	Asa	Ac	Am	Aeu	Aso	Avs	Aj	
Ldc	+	±	±	-	-	-	+	+	+	
Odc	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Adh	+	(+)	±	+	(+)	(+)	-	+	+	
Esc	+	+	+	(+)	(+)	+	-	-	-	
Gas-Gl	(+)	±	±	-	-	+	±	(+)	+	
V-P	(+)	±	±	-	-	-	-	(+)	(+)	
Ara-A	(+)	+	+	+	+	(+)	-	(-)	(-)	
Man-A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Suc-A	+	+	+	+	+	+	+	+	-	
Cephs	-	-	-	-	/	/	/	+	-	

^a: Ah, *A. hydrophila*; Ab, *A. bestiarum*; Asa, *A. salmonicidae*; Ac, *A. caviae*; Am, *A. media*; Aeu, *A. eucrenophila*; Aso, *A. sobria*; Avs, *A. veronii* biovar *sobria* และ Aj, *A. jandeei*

Symbols: +, ≥95% of isolates were positive; -, ≥95% of isolates were negative; (+), 85 to 94% of isolates were positive; (-), 85 to 94% of isolates were negative; ±, 14 to 84% of isolates were positive; /, no data.

^b: Ldc, lysine decarboxylase; Odc, ornithine decarboxylase; Adh, aldehyde decarboxylase; Esc, esculin hydrolysis; Gas-Gl, gas from glucose; V-P, Voges power test; Ara-A, acid from arabinose; Man-A, acid from mannose; Suc-A, acid from succinate; Cephs, cephalothin (30 mg) sensitivity.

ที่มา : Graf และคณะ (1994)

โดยปกติแบคทีเรียใน Genus *Aeromonas* สามารถพบได้ทั่วไปในสภาพแวดล้อม และในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ เป็นเชื้อที่ก่อโรคเกี่ยวกับทางเดินอาหาร (ตารางที่ 2.3)

ตารางที่ 2.3 ความสัมพันธ์ของลักษณะอาการ และความถี่ของการติดเชื้อ *Aeromonas* spp. ในมนุษย์

Type of infection	Characteristics	Relative frequency
<i>Diarrhoea</i>		
Secretory	Acute watery diarrhoea, vomiting	Very common
Dysenteric	Acute diarrhoea with blood and mucus	Common
Chronic	Diarrhoea lasting more than 10 days	Common
Choleraic	"Rice water" stools	Rare
<i>Systemic</i>		
Cellulitis	Inflammation of connective tissue	Common
Myonecrosis	Haemorrhage, necrosis with/without gas gangrene	Rare
Erythema gangrenosum	Skin lesions with necrotic centre, sepsis	Uncommon
Septicaemia	Fever, chills, hypotension, high mortality	Fairly common
Peritonitis	Inflammation of peritoneum	Uncommon
Pneumonia	Pneumonia with septicaemia, sometimes necrosis	Rare
Osteomyelitis	Bone infection following soft-tissue infection	Rare
Cholecystitis	Acute infection of gallbladder	Rare
Eye infections	Conjunctivitis, corneal ulcer, endophthalmitis	Rare

ที่มา : ดัดแปลงจาก Janda และ Duffey (1988) ; Nichols และคณะ (1996)

โดยที่ *A. caviae* เป็นเชื้อที่ทำให้เกิดปัญหาในอุตสาหกรรมอาหารชนิดหนึ่งเนื่องจากเป็นเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเจ็บป่วยจากการรับประทานอาหาร ที่ปนเปื้อนสารพิษจากเชื้อชนิดนี้ ส่งผลให้เกิดอาการลำไส้อักเสบ ท้องเสียในผู้ใหญ่ แต่สำหรับเด็กจะมีอาการที่รุนแรงกว่าผู้ใหญ่ซึ่ง Vila และคณะ (2003) ทำการคัดแยก *Aeromonas* spp. ในอุจจาระของนักท่องเที่ยวที่ท้องเสีย จำนวน 18 คน พบเชื้อ *A. caviae* ในอุจจาระผู้ป่วย 7 คน คิดเป็นร้อยละ 39 จากทั้งหมด 18 คน

สำหรับ Gill และ Jones (1995) ทำการศึกษาการปนเปื้อนของ *Aeromonas* spp. ที่ซากสุกรในโรงงานชำแหละ จากการ swabs ตัวอย่างซากสุกร ทั้งหมด 24 ซาก พบเชื้อ *A. caviae* 6 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 25 ของตัวอย่างทั้งหมด จะเห็นว่าในเนื้อสุกรก็สามารถพบเชื้อชนิดนี้ได้ ซึ่งอาจจะเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เชื้อชนิดนี้ปนเปื้อนมายังวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตไส้กรอกได้

2.2.2 *Klebsiella pneumoniae* จัดอยู่ใน Family Enterobacteriaceae เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อน ไม่เคลื่อนที่ สร้าง Capsule ได้ เป็นพวก facultative anaerobe หมักกลูโคสได้กรดและแก๊ส (ดวงพร คันธโชติ, 2537) เชื้อในกลุ่มของ *Klebsiella* spp. สามารถคัดแยกสายพันธุ์ได้โดยการทดสอบทางชีวเคมี เพื่อทำการยืนยันชนิดสายพันธุ์ ตามตารางที่ 2.4 โดยเชื้อ *K. pneumoniae* เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคปอดอักเสบ สามารถพบเชื้อชนิดนี้ได้ทั่วไปในสภาพแวดล้อม และเป็น normal flora ในระบบทางเดินหายใจ ภายในลำคอ และผิวหนังของมนุษย์ (Podschun และ Ullmann, 1998)

ตารางที่ 2.4 ผลการทดสอบทางชีวเคมีที่ใช้ในการคัดแยกเชื้อ *Klebsiella* spp.

Biochemical test	Result for <i>Klebsiella</i> species ^a						
	Kp	Koz	Krh	Kox	Kt	Kpl	Kor
Lysine decarboxylase	+	d	-	+	+	+	+
Orithine decarboxylase	-	-	-	-	-		+
Indole	-	-	-	+	-	d	+
Methyl red	d	d	+	d	+	+	+
Voges-Proskauer	+	-	-	+	+	+	d
Growth at 10°C	-	-	-	d	+	+	+
Gas from lactose	d	-	-	-	-	-	-
Malonate	+	-	+	+	+	+	+
Fermentation of:							
D-Arabinose	d	d	d	+	-	d	d
β-Gentiobiose	+	+	-	+	+	+	+
D-Melzitose	-	-	-	d	+	-	-
2-Deoxy-D-ribose	d	-	d	d	+	+	+
L-Sorbose	d	d	d	+	+	+	+
D-tagatose	d	-	d	+	d	-	d

^a: Kp, *K. pneumoniae*; Koz, *K. ozaenae*; Krh, *K. rhinoscleromatis*; Kox, *K. oxytoca*; Kt, *K. terrigena*; Kpl, *K. planticola*; Kor, *K. ornithinolytica*

Symbols: -, 0 to 10% positive; d, 11 to 89% positive; +, 90 to 100% positive.

ที่มา : ดัดแปลงจาก Dennis และคณะ (2004)

ดังนั้นเมื่อได้กรอกผ่านกระบวนการต้ม และรมควัน ผลิตภัณฑ์ยังต้องผ่านกระบวนการผลิตอีกหลายขั้นตอนก่อนการนำไปบรรจุ ได้กรอกมีโอกาสเกิดการปนเปื้อนกลับมาอีกครั้งได้จากน้ำที่ใช้ในการทำให้น้ำเย็น เครื่องมือและอุปกรณ์ในการผลิต รวมทั้งพนักงานที่มีสุขลักษณะนิสัยที่ไม่ดี (สุมาลี เหลืองสกุล, 2541)

2.3 การเน่าเสียของไส้กรอก

การเน่าเสียของไส้กรอกแบ่งได้เป็น 3 ลักษณะ คือ (โอรส รักชาติ, 2537)

2.3.1 การเกิดเมือก

การเกิดเมือกจะเกิดบริเวณผิวด้านนอกของไส้บรรจุ ที่ชั้นนอกของไส้จะมีการเจริญของจุลินทรีย์ได้ก็ต่อเมื่อมีความชื้นที่เหมาะสม ถ้าความชื้นสูงเชื้อ *Micrococcus* กับยีสต์จะเจริญ ถ้าความชื้นต่ำเชื้อราที่เจริญ (สุมาลี เหลืองสกุล, 2541) เริ่มแรกอาจเกิดเป็นโคโลนีเดี่ยวก่อน ต่อมาก็จะรวมตัวกันเป็นเมือกสีเทา แต่ก็สามารถแก้ไขได้โดยการนำไส้กรอกมาล้างด้วยน้ำร้อน

2.3.2 การเกิดรสเปรี้ยว

การเกิดรสเปรี้ยวจะเกิดขึ้นภายในตัวผลิตภัณฑ์ จากเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตกรดแลคติกได้ โดยแหล่งที่มาของเชื้อได้แก่ ผลิตภัณฑ์นมที่ใช้เป็นส่วนผสมในไส้กรอก การเปรี้ยวของไส้กรอกเกิดจากการใช้น้ำตาลแลคโตส และน้ำตาลชนิดอื่นๆ แล้วได้กรดแลคติกออกมา

2.3.3 การเกิดสีเขียวของไส้กรอก

การเกิดสีเขียวในไส้กรอกเนื่องจากแบคทีเรียในกลุ่ม *Lactobacillus* ซึ่งสามารถเจริญบนผิวผลิตภัณฑ์ โดยใช้แก๊สออกซิเจน หรือ Nitric – oxide myoglobin ได้สาร oxidized porphyrin ซึ่งมีสีเขียว



การเกิดสีเขียว (greening) มี 3 แบบ (เยาวลักษณ์ สุรพันธุ์พิศิษฐ์, 2536)

1) Core greening การเปลี่ยนเป็นสีเขียวที่เริ่มจากจุดเล็ก ๆ ทั่วไปมักเกิดขึ้นที่จุดกึ่งกลางของชิ้นเนื้อ แล้วขยายวงกว้างขึ้นเรื่อย ๆ

2) Surface greening เป็นการเปลี่ยนสีที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ *Lactobacillus viridescens* ที่เจริญบนผิวหน้าของไส้กรอกที่มีการปนเปื้อนเชือนี้ภายหลังจากที่ผลิตภัณฑ์ทำการอบและรมควันแล้ว ส่งผลให้ไส้กรอกเปลี่ยนเป็นสีเขียวที่ผิวหน้า

3) Green ring การเปลี่ยนสีแบบนี้จะพบได้ไม่บ่อยนัก การเกิดเป็นวงแหวนสีเขียวเกิดขึ้นภายในไส้กรอก ซึ่งวงแหวนนี้จะเกิดขึ้นที่ความลึก 2 – 3 มิลลิเมตร จากผิวของผลิตภัณฑ์

Borch และคณะ (1988) พบว่าจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุที่ทำให้ไส้กรอกเปลี่ยนเป็นสีเขียวคือ *L. viridescens*, *Leuconostoc*, *Weissella* spp., *Carnobacterium divergens*, *Enterococcus* และ *Pediococcus* spp. การเกิดสีเขียวจะเกิดขึ้นถ้าไส้กรอกมี pH ค่อนข้างเป็นกรดและมีออกซิเจนเพียงเล็กน้อย (สุมาลี เหลืองสกุล, 2541)

2.4 อายุการเก็บรักษาของเนื้อ และผลิตภัณฑ์

อายุการเก็บรักษาของเนื้อ และผลิตภัณฑ์ ขึ้นอยู่กับปริมาณ และชนิดของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน ถ้ามีมากก็จะส่งผลให้อายุการเก็บรักษาสั้นลง ทั้งนี้ลักษณะทางเคมี และทางกายภาพของตัวผลิตภัณฑ์ การเก็บรักษา รวมทั้งการบรรจุล้วนมีผลต่ออายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์เช่นกัน Shay และคณะ (1978) ทำการตรวจนับปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในผลิตภัณฑ์แฮม และได้กรอก เมื่อเก็บไว้ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 5 °C พบว่ามีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ 10^8 cfu / g และผลิตภัณฑ์เริ่มมีกลิ่นผิดปกติ โดยมีแนวโน้มว่าอายุการเก็บรักษาจะขึ้นอยู่กับความชื้น และปริมาณจุลินทรีย์ตั้งต้น

2.5 สารยับยั้งจุลินทรีย์

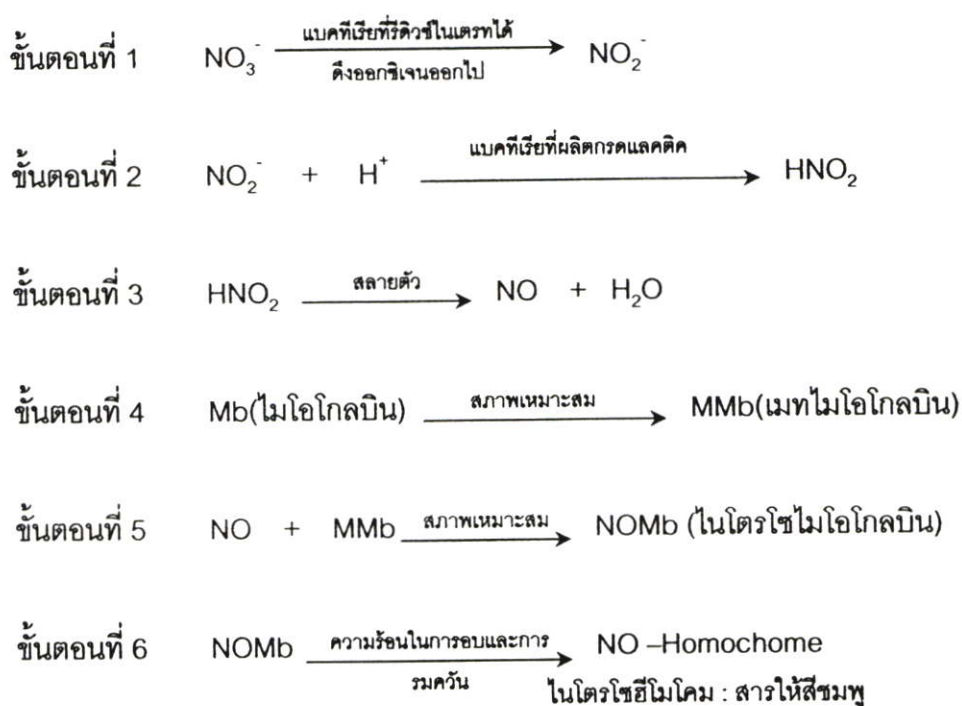
2.5.1 เกลือ (Salt) เป็นส่วนผสมพื้นฐานในการทำไส้กรอก โดยเกลือมีบทบาทเกี่ยวกับการถนอมรักษาสัตว์ผลิตภัณฑ์ คือ 1) ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ถ้าใช้เกลือในปริมาณร้อยละ 5.0 – 7.0 2) เพิ่มรสชาติ ถ้าใช้ในปริมาณร้อยละ 1.5 – 3.0 3) เป็นตัวช่วยละลายโปรตีนมายโอซิน (myosin) และ แอคติน (actin) ในเนื้อ นอกจากนั้นยังช่วยในเรื่องของเนื้อสัมผัส ทำให้เนื้อนุ่ม และชุ่มน้ำได้ดี (เยาวลักษณ์ สุรพันธุ์พิศิษฐ์, 2536)

2.5.2 น้ำตาล (Sugar) เติมลงในผลิตภัณฑ์เพื่อเพิ่มรสชาติ ให้ความหวานแก่ผลิตภัณฑ์ น้ำตาลที่นิยมใช้ได้แก่ น้ำตาลซูโคส กลูโคส และฟรุกโตส น้ำตาลมีบทบาทต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ดังนี้

- 1) น้ำตาลช่วยลดความเค็มในผลิตภัณฑ์ ทำให้ผลิตภัณฑ์มีรสชาติที่อ่อนนุ่มลง ช่วยป้องกันไม่ให้เนื้อสัตว์สูญเสียน้ำส่งผลให้ผลิตภัณฑ์เนื้อไม่แห้ง และแข็งกระด้าง
- 2) ช่วยในเรื่องสีของผลิตภัณฑ์ เมื่อผ่านกระบวนการให้ความร้อนทำให้ผลิตภัณฑ์เกิดสีน้ำตาลที่บริเวณผิวหน้า เพิ่มความน่ารับประทานให้กับผลิตภัณฑ์มากยิ่งขึ้น
- 3) เป็นตัวช่วยเร่งการเปลี่ยนแปลงของโซเดียมไนเตรทเป็นไนตริกออกไซด์ ส่งผลให้ปริมาณของสารไนเตรทที่เหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์น้อยลง และเกิดสีแดงได้เร็วขึ้น
- 4) ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดยน้ำตาลมีผลไปลดค่า Aw ของผลิตภัณฑ์

2.5.3 เกลือไนไตรท์ (Nitrite) และไนเตรท (Nitrate) เกลือทั้ง 2 ชนิดนี้ใช้ได้เฉพาะรูปเกลือโซเดียม และโปแตสเซียมเท่านั้น โซเดียมไนไตรท์มีลักษณะเป็นผง มีสีเหลืองซีด โปแตสเซียมไนไตรท์ มีลักษณะเป็นเม็ดขนาดเล็ก โซเดียมไนเตรทมีลักษณะเป็นผง หรือเม็ดสีขาว และโปแตสเซียมไนเตรทมีลักษณะเป็นเม็ดสีขาวละเอียด (ศิวาพร ศิวเวช, 2535) บทบาทของเกลือไนไตรท์ และเกลือไนเตรทกับผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ มีดังนี้ (เยาวลักษณ์ สุรพันธุ์พิศิษฐ์, 2536)

- 1) ช่วยเพิ่มรสชาติ (Taste) และกลิ่นรส (Flavor) ทำให้มีกลิ่นรสเฉพาะตัวของผลิตภัณฑ์
- 2) ช่วยยับยั้งการหืนของไขมันในผลิตภัณฑ์เนื้อโดยจะไปยับยั้งปฏิกิริยาการเติมออกซิเจนของไขมัน (Oxidative rancidity)
- 3) ช่วยให้ผลิตภัณฑ์เนื้อมีสีแดง มีผลเนื่องจากการแตกตัวให้สารไนตริกออกไซด์ เพื่อเข้าทำปฏิกิริยากับไมโอโกลบิน ตามขั้นตอนต่อไปนี้



ที่มา : Kramlich และคณะ (1973) ; เยาวลักษณ์ สุรพันธุ์พิศิษฐ์ (2536)

จากขั้นตอนดังกล่าวทำให้ผลิตภัณฑ์เนื้อมีสีแดง และรักษาสีแดงของผลิตภัณฑ์ได้นานสม่ำเสมอ

4) ช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ในส่วนของการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ไนไตรท์ จะทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโน ซึ่งมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงชั้นที่ผนังเซลล์และเอนไซม์ไฮโดรจีเนสของเชื้อจุลินทรีย์ ระบบการทำงานของไฮโดรจีเนสจะผิดปกติไปด้วย เนื่องจากปฏิกิริยาของไนไตรท์กับรงควัตถุในฮีโม และประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จะดีขึ้นที่ความเป็นกรด-ด่างต่ำ

สารประกอบไนโตรเจนนอกจากจะยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์อื่น ๆ แล้ว ยังสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Clostridium botulinum* ได้ด้วย (Price และ Greene, 1978 ; ศิวาพร ศิวเวช, 2535)

สำหรับการใช้ในไตรท์มีปัญหาเกี่ยวกับการเกิดสารประกอบไนโตรซามีน (Nitrosamine) โดยเฉพาะในสภาพที่เป็นกรด ดังนั้นในการใช้ต้องคำนึงถึงความปลอดภัยของผู้บริโภคในแง่ของปริมาณตกค้างในผลิตภัณฑ์ เพราะสารดังกล่าวได้พิสูจน์แล้วว่าเป็นสารก่อมะเร็ง (Carcinogen) ซึ่งประเทศไทยมีการควบคุมการใช้สารไนเตรท - ไนไตรท์ในอาหารโดยพระราชบัญญัติอาหารและยา พ.ศ. 2522 ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 84(2527) เรื่องวัตถุเจือปนในอาหาร ได้อนุญาตให้ใช้สารประกอบไนโตรท ในผลิตภัณฑ์เนื้อได้ไม่เกิน 200 ส่วนในล้านส่วน โดยคำนวณในรูปของโซเดียมไนไตรท์ ส่วนสารประกอบไนเตรทให้ใช้ได้ไม่เกิน 500 ส่วนในล้านส่วน

2.5.4 กรดซอร์บิกและเกลือซอร์เบท เป็นวัตถุกันเสียที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย เป็นสารประเภทกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัว กรดซอร์บิก (2,4 - hexadienoic) มีสูตรโมเลกุล $\text{CH}_3 - \text{CH} = \text{CH} - \text{CH} = \text{CH} - \text{COOH}$ ใช้ในการทำละลายเชื้อยีสต์ และราได้ดีกว่าพวกแบคทีเรีย และมีความสามารถในการทำลายได้ดีที่ pH ไม่เกิน 6.5 โดยที่กรดซอร์บิกและเกลือซอร์เบทจะไปขัดขวางการทำงานของ Sulfhydryl enzyme ได้แก่ Fumalase aspartase และ Succinic dehydrogenase และขัดขวางการทำงานของ Catalase ซึ่งมีผลทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถใช้สารประกอบคาร์บอน เพื่อการดำรงชีวิต ทำให้จุลินทรีย์ตายในที่สุด จุดประสงค์ของการใช้เกลือซอร์เบท ก็เพื่อลดการใช้เกลือไนไตรท์ลงส่วนหนึ่งเพื่อผลในการยับยั้งจุลินทรีย์ และใช้เกลือไนไตรท์เป็นสารทำให้เกิดสีเพียงอย่างเดียว (โอรส รักษาติ, 2537)

2.5.5 เกลือของกรดแอสคอร์บิก และ อิริโธเรบิก (Ascorbate and Erythorbate) นิยมใช้ในรูปของเกลือโซเดียม บทบาทของเกลือแอสคอร์บิกและ อิริโธเรบิกต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อคือ

- 1) เป็นสารรีดิวซ์ (Reducing agent) ทำให้สารเมทไมโอโกลบินที่มีในเนื้อสัตว์ ถูกรีดิวซ์เป็นออกซิโมโอโกลบิน ทำให้สีของผลิตภัณฑ์มีความคงตัว ไม่ซีดจาง
- 2) ช่วยเร่งปฏิกิริยาการเกิดไนตริกออกไซด์ โดยเร่งอัตราการหมักและการเกิดสีแดงในเนื้อให้เร็วขึ้น
- 3) เป็นสารกันหืน (Antioxidant)
- 4) การใช้กรดแอสคอร์บิกร่วมกับสารประกอบไนไตรท์ และไนเตรทสามารถลดปริมาณสารไนโตรซามีนที่เกิดขึ้นได้ (ศิวาพร ศิวเวช, 2535)

2.5.6 การรมควัน (Smoking) การรมควันเป็นการใช้ความร้อน และควันไฟเพื่อถนอมอาหาร เพิ่มกลิ่นรส และสีให้กับอาหาร ทำให้ผลิตภัณฑ์แห้ง การรมควันเป็นการถนอมโดยการเคลือบสารเคมีจากเขม่าควันที่ผิวของอาหาร เขม่าควันที่เกิดจากการเผาไหม้จากวัสดุพวก ไม้ ชี เลื่อย แกลบ หรือขานอ้อย (สุมาลี เหลืองสกุล, 2541) องค์ประกอบที่สำคัญในควันไฟที่มีผลต่อการถนอมรักษา และทำให้เกิดกลิ่นรสกับผลิตภัณฑ์ คือ ฟีนอล (Phenols) และฟอร์มัลดีไฮด์ (Formaldehyde) โดยสารฟอร์มัลดีไฮด์เป็นสารประกอบที่มีประสิทธิภาพที่ดีที่สุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (เยาว์ลักษณะ สุรพันธ์พิศิษฐ์, 2535) รองลงมาคือ ฟีนอล สารประกอบอื่นๆ ที่พบในควันจะเป็นพวกกรดอะลิฟาติก (Aliphatic acid) เช่น กรดฟอร์มิก (Formic acid) กรดคาโปรอิก (Caproic acid) แอลกอฮอล์ชนิดปฐมภูมิและทุติยภูมิ (Primary and secondary alcohol) อะเซทาลดีไฮด์ (Acetaldehyde) และอัลดีไฮด์ (Aldehyde) เป็นต้น

การรมควันเป็นกระบวนการที่ทำให้ผลิตภัณฑ์สัมผัสกับแก๊สที่ได้จากการเผาไหม้วัสดุประเภทไม้บางชนิด ซึ่งบทบาทของสารประกอบของควันต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ คือ (จุฑารัตน์ เศรษฐกุล, 2545)

- 1) ยืดอายุการเก็บรักษา ด้วยสารประกอบพวกฟีนอล ทำหน้าที่เป็นสารกันหืน และสารประกอบพวกอัลดีไฮด์ กรดอะซิติก กรดฟอร์มิก ทำหน้าที่เป็นตัวยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์
- 2) เพิ่มกลิ่น และรสชาติจากสารประกอบพวกฟีนอล อัลดีไฮด์ คาร์บอนิลแลคโตน
- 3) ปรับปรุงสีสันจากสารประกอบคาร์บอนิล ฟีนอล อัลดีไฮด์
- 4) เพิ่มความแข็งของผิวผลิตภัณฑ์จากสารประกอบฟอร์มัลดีไฮด์

2.6 การใช้กรดอินทรีย์ในอุตสาหกรรมอาหาร

กรดมีการใช้ในการประกอบอาหารมาช้านานแล้ว เพื่อเพิ่มรสชาติของอาหาร เช่น น้ำมะนาว น้ำส้มสายชู น้ำมะขามเปียก ต่อมาก็มีการนำกรดมาใช้ประโยชน์ในทางการถนอมอาหาร เช่น การดองผลไม้ เนื้อสัตว์ เป็นต้น เรื่อยมาจนถึงปัจจุบันก็นำกรดมาใช้ประโยชน์ในทางอุตสาหกรรมอาหารกันอย่างกว้างขวาง ดังตารางที่ 2.5

ตารางที่ 2.5 กรดอินทรีย์และเกลือของกรดที่ใช้มากในอุตสาหกรรมอาหาร

วัตถุกันเสีย	ใช้กับอาหาร	ปริมาณที่ใช้ (mg/kg)
E200 กรดซอร์บิก	น้ำสลัด	<200
E201 เกลือโซเดียม	ขนมอบ	
E202 เกลือโพแทสเซียม	ของหวานจากผลไม้	
E203 เกลือแคลเซียม		
E210 กรดเบนโซอิก	ไซเดอร์ น้ำอัดลม	<3000
E211 เกลือโซเดียม	ผลิตภัณฑ์จากผลไม้	
E212 เกลือโพแทสเซียม	ซอสบรรจุขวด	
E213 เกลือแคลเซียม		
E260 กรดอะซิติก	ผักดอง ซอส	ใช้ได้ตาม%ที่ต้องการ
E270 กรดแลคติก	อาหารหมัก ซอส น้ำสลัด เครื่องดื่ม	ใช้ได้ตาม%ที่ต้องการ
E280 กรดโพรพิโอนิก	ผลิตภัณฑ์ขนมอบ	1000-5000
E281 เกลือโซเดียม	cheese spread	

ที่มา : Adams และ Moss (1995) ; สุขุมณา วัฒนสินธุ์ (2545 ก)

หน้าที่ของกรดอินทรีย์ในอุตสาหกรรมอาหารได้แก่ ได้แก่ (Vreeman, 1985 ; ไอร์ส รักชาติ, 2537)

1. Flavouring : ใช้เพื่อปรับปรุงรสชาติของอาหาร และผลิตภัณฑ์อาหาร
2. Preservation : ใช้ในการถนอมและยืดอายุการเก็บรักษาอาหาร
3. pH regulation : ใช้ควบคุมสภาพความเป็นกรด-ด่างของอาหาร
4. Colour retention/control : ช่วยในการรักษา หรือควบคุมสีของผลิตภัณฑ์
5. Digestibility improvement : ปรับปรุงคุณสมบัติด้านการย่อย เช่น กระบวนการย่อยโปรตีน

ปัจจุบันมีการใช้กรดอินทรีย์เพื่อเป็นสารถนอมรักษาสภาพผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ ในการลดจำนวนจุลินทรีย์ โดยกรดอินทรีย์มีคุณสมบัติทั้งทำลายแบคทีเรีย (Bactericidal) และยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (Bacteriostatic) ปัจจัยที่มีผลต่อการทำลายจุลินทรีย์ของกรดอินทรีย์ขึ้นอยู่กับ ระดับ pH ความสามารถในการแตกตัวของกรด และความจำเพาะเจาะจงของกรดใน

การทำลายจุลินทรีย์ (จุฬารัตน์ เลียนักตวา, 2545) สำหรับกรดอินทรีย์และเกลือของกรดเหล่านี้ที่นิยมนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร โดยเป็นสารที่ไม่กำหนดปริมาณที่ใช้เติมในอาหาร ได้แก่ กรดแลคติก กรดซิทริก กรดมาลิก กรดอะซิติก กรดทาร์ทาริก เป็นต้น (สุมาลี เหลืองสกุล, 2541)

2.7 กลไกการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยกรดอินทรีย์

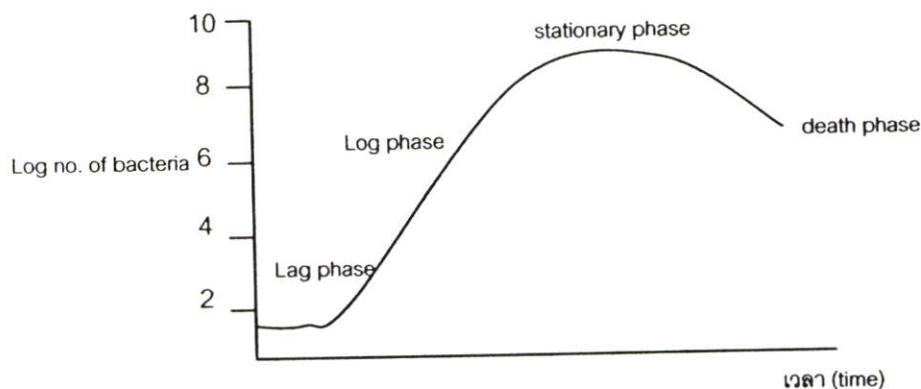
การยับยั้งจุลินทรีย์ของกรดอินทรีย์ ขึ้นอยู่กับค่า pH ความเข้มข้น ชนิดความยาวพันธะของกรด และค่า degree of branching ของกรด ประสิทธิภาพของกรดขึ้นอยู่กับค่าคงที่ของการแตกตัว (pK_a) หรือ ค่า pH ที่ 50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งค่า pK_a ของกรดอินทรีย์ส่วนใหญ่อยู่ในช่วง pH เท่ากับ 3 – 5 (จุฬารัตน์ เลียนักตวา, 2545) ดังตารางที่ 2.6

ตารางที่ 2.6 ค่าคงที่ของการแตกตัว (pK_a) ของกรดอินทรีย์

Acids	pK_1	pK_2	pK_3
Acetic acid	4.75		
Dehydroacetic acid	5.27		
Sodium diacetate	4.75		
Adipic acid	4.43	5.41	
Caprylic acid	4.89		
Citric acid	3.14	4.77	6.39
Fumaric acid	3.03	4.44	
Lactic acid	3.08		
Malic acid	3.40	5.11	
Propionic acid	4.87		
Succinic acid	4.16	5.61	
Tartaric acid	2.98	4.34	

ที่มา : Doores (1993)

การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ แสดงได้จากเส้นแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า log จำนวนจุลินทรีย์ กับเวลา (นาทึ) ของการเจริญเติบโต ซึ่งมีลักษณะเป็นเส้นโค้ง เรียกว่า Growth curve ตามภาพที่ 2.1



ภาพที่ 2.1 กราฟการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

ที่มา : สุขุมทนา วัฒนสินธุ์ (2545 ข)

การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์แบ่งได้เป็น 4 ระยะ (phase) (ภาพที่ 2.1) ระยะที่ 1 เรียกว่า Lag phases เป็นระยะที่จุลินทรีย์ปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อม จำนวนของจุลินทรีย์ยังไม่เพิ่มขึ้น แต่จะมีการสะสมสารภายในเซลล์และเอนไซม์บางชนิด เพื่อให้เพียงพอต่อกระบวนการทางชีวเคมีของเซลล์ ระยะที่ 2 เรียกว่า Logarithmic phase เป็นระยะที่จุลินทรีย์มีการแบ่งตัวอย่างรวดเร็วในการแบ่งตัวแต่ละครั้งจะใช้เวลาเท่าๆ กัน โดยระยะนี้อัตราการเจริญจะมากที่สุด สารอาหารที่สะสมจากระยะที่ 1 จะถูกใช้ไปในระยะนี้อย่างมากและรวดเร็ว ระยะที่ 3 เรียกว่า Stationary phase ระยะนี้ จุลินทรีย์จะมีจำนวนสูงสุดคงที่ การแบ่งตัวเพิ่มจะเท่ากับอัตราการตาย ในช่วงปลายระยะนี้จะเริ่มมีการขับของเสียที่เป็นพิษออกมา และระยะสุดท้ายคือระยะที่ 4 เรียกว่า Death phase เป็นระยะที่จุลินทรีย์จะตายอย่างรวดเร็ว สาเหตุการตายเกิดจากสารอาหารหมดและเกิดการสะสมของของเสียและสารพิษที่เกิดจากกระบวนการเมตาบอลิซึม (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ, 2539) ดังนั้นสามารถควบคุมจุลินทรีย์เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาอาหารได้โดยการยืดระยะเวลาในช่วง lag phase ออกไปให้นานที่สุด โดยพยายามทำให้เกิดสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมกับการเจริญของจุลินทรีย์ เช่น การเปลี่ยนแปลงความชื้น สภาพความเป็นกรด - ด่างในอาหาร หรือการเติมสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหาร (ชัยณรงค์, 2529 ; ไอรส รักษาติ, 2537)

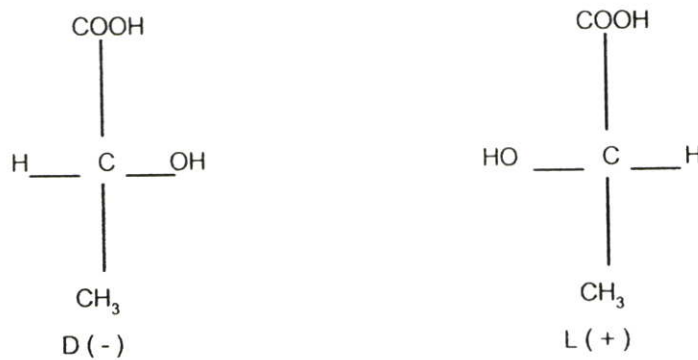
กรดอินทรีย์มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ เพราะกรดเป็นตัวที่ทำให้เกิดสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญ โดย pH ที่ลดต่ำลง กรดแต่ละชนิดมีคุณสมบัติในการแตกตัว และค่า pK_a ที่ต่างกัน แต่กลไกในการทำลายจุลินทรีย์จะคล้ายกัน โดยทั่วไป กรดซึ่งอยู่ในรูปของกรดที่ไม่แตกตัวจะเข้าไปจับกับผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ เป็นผลให้กรดที่อยู่ในรูปที่แตกตัวได้สามารถแพร่เข้าสู่เซลล์ของจุลินทรีย์ และเกิดการรวมตัวกันกับสารภายในเซลล์ทำให้ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์มีความเป็นกรดเกิดขึ้น ปกติแล้วเซลล์จุลินทรีย์จะพยายามรักษาสมาดุลกรด-เบสภายในเซลล์ให้มี pH เป็นกลาง แต่ pH ของสภาพแวดล้อมลดลง เนื่องจากกรดทำให้โครงสร้างภายในเซลล์ เช่น โปรตีน กรดนิวคลีอิก และเซลล์เมมเบรน เปลี่ยนไป จุลินทรีย์ที่พยายามรักษาสมาดุลภายในเซลล์ทำให้เกิดการผ่านเข้าออกของการนำสารอาหารเข้าสู่เซลล์ และเกิดการรั่วไหลของเมตาบอลิซึมภายในเซลล์ออกสู่ภายนอก มีผลยับยั้งการเมตาบอลิซึมของเซลล์จุลินทรีย์ทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญได้ และตายในที่สุด (Doores, 1993)

กรดอินทรีย์โดยทั่วไปมีความปลอดภัยต่อการบริโภค ผลของการใช้กรดในระยะยาวพบว่าไม่เป็นอันตรายต่อการบริโภค เนื่องจากกรดส่วนใหญ่จะถูกเมตาบอลิซึมได้ในร่างกาย โดยผ่านกระบวนการลิปิดออกซิเดชัน และวัฏจักรของกรดไตรคาร์บอกซิลิก (Tricarboxylic acid cycle)

กรดอินทรีย์ที่ใช้เป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์ในเนื้อ และผลิตภัณฑ์เนื้อ เช่น กรดอะซิติก กรดแลคติก กรดซิตริก กรดฟอรั่มิก กรดซอร์บิก หรือกรดแอสคอร์บิก เป็นต้น แต่ที่นิยมมากที่สุด คือ กรดแลคติก และกรดอะซิติก

2.8 กรดแลคติกที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

กรดแลคติกเป็นกรดอินทรีย์ที่เกิดตามธรรมชาติ เป็นกรดที่พบในนมเปรี้ยว ผักดอง และผลิตภัณฑ์อื่นๆ ที่เกิดการหมัก เกลือของกรดแลคติกและกรดแลคติกนับเป็นวัตถุดิบเสียอีกชนิดหนึ่งที่นิยมใช้ (ตารางที่ 2.7) เนื่องจากสามารถช่วยลดค่า Water activity และความเป็นกรด-ด่างของผลิตภัณฑ์ตามลำดับ ทำให้เก็บผลิตภัณฑ์ได้นานขึ้น (ศิวาพร ศิวเวช, 2535)



ภาพที่ 2.2 โครงสร้างของกรดแลคติก D (-) และ L (+)

ที่มา : ไอรส รักชาติ, (2537)

โครงสร้างของกรดแลคติก (ภาพที่ 2.2) แบ่งตามสมบัติการบิดระนาบแสงโพลาไรซ์ได้ 2 แบบ คือ D (-) และ L (+) (ภาพที่ 2.2) L (+) เป็นรูปแบบที่เกิดแล้วใช้ได้ในร่างกายมนุษย์ (เยาวชน ลักษณะ สุรพันธ์พิเชียร, 2536) รวมทั้งยังพบในจุลินทรีย์ที่สร้างกรดแลคติก (Lactic acid bacteria) ดังนั้น L (+) จึงเรียกได้ว่าเป็น natural or physiological lactic acid ส่วน D (-) นี้จะได้มาจากการสังเคราะห์ (Krusch, 1978 อ้างถึงโดย ไอรส รักชาติ, 2537)

กรดแลคติกที่ใช้ในทางการค้ามี 3 ประเภท (Holten, 1971) คือ

1. Pure dry form (2-hydroxy propanoic acid) ลักษณะเป็นผงสีขาว มีจุดหลอมเหลวเท่ากับ 18°C (racemic dl-form) และ 26°C [(lactic acid isomer, L(+)] ปกติใช้ในรูปสารละลาย เตรียมได้ที่ความเข้มข้นต่างๆ
2. Edible grade L (+) lactic acid เป็นของเหลวสีค่อนข้างเหลือง ปกติแล้วเป็นสารละลายเข้มข้น 50-80 %
3. Pharmaceutical grade เป็นของเหลวใส ไม่มีสี มีความเข้มข้น 88-90 %

ตารางที่ 2.7 ปริมาณกรดแลคติกในอาหารบางประเภท

FOOD	Lactic acid content (g / kg)	Per capita consumption (kg)	Per capita Lactic acid ingestion (g)
Pork	9	41.9	375.3
Beef	9	18.6	167.4
Cheese (Gouda)	13	12.5	162.5
Butter milk	10	9.3	93.0
Poultry	10	9.0	90.0
Yoghurt	10	6.9	69.0
Edible Slaughter offals	9	3.9	35.1
Dry fermented sausage	17	1.3	22.1
Sauerkraut	11	2.0	22.0
Horse meat	9	1.8	16.2
Veal	9	1.4	12.6
Mutton	9	0.5	4.5

ที่มา : Vreeman (1985)

กรดแลคติกมีคุณสมบัติ คือ เป็นกรดอินทรีย์ที่มีรสกรดอ่อน จึงไม่กลบกลิ่นรสของอาหาร ในประเทศไทยอนุญาตให้ใช้กรดแลคติกเป็นวัตถุเจือปนอาหารได้ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 84 (2527) เรื่องวัตถุเจือปนในอาหาร และได้กำหนดมาตรฐานของกรดแลคติกไว้ว่า เป็นของเหลว ชัน เหนียว ไม่มีสี หรือสีเหลืองอ่อน เกือบไม่มีกลิ่น สมบัติของกรดแลคติกเมื่อเปรียบเทียบกับกรดซิดิก นั้นมีความแตกต่างกันเล็กน้อย ตรงที่รสชาติ ซึ่งกรดแลคติกมีรสอ่อนและนุ่มกว่ากรดซิดิกที่จะมีรสที่เข้มกว่าและอยู่ในรูปที่เป็นผลึกหรือผง แต่กรดแลคติกจะอยู่ในรูปของเหลว (Vreeman, 1985 ;โอรส รักษาติ, 2537)

2.9 การใช้กรดแลคติกในเนื้อสัตว์ และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์

กรดแลคติกที่ใช้ในเนื้อสัตว์ และผลิตภัณฑ์ก็เพื่อช่วยให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพได้มาตรฐาน ช่วยให้สีของผลิตภัณฑ์คงตัว ช่วยลดค่า Water activity ช่วยยืดอายุการเก็บรักษาเพราะสามารถลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในเนื้อเนื้อวัว เบ็ด ไก่ และซากหมูในโรงฆ่าสัตว์ (เยาวลักษณ์ สุรพันธ์พิเชียร, 2536)

ในทางปฏิบัติการนำกรดแลคติกมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อจุดประสงค์ในการยืดอายุการเก็บรักษา ซึ่งมีปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพของกรดได้แก่ (โอรส รักษาติ, 2537)

2.9.1 ธรรมชาติของเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ Dickson (1992) รายงานว่าการใช้สารละลายกรดจะมีประสิทธิภาพในการลดเชื้อ *S. Typhimurium*, *Listeria monocytogenes* และ *E. coli* 0157 : H7 ในเนื้อที่มีไขมันมาก ดีกว่าในเนื้อที่มีไขมันน้อย

2.9.2 ปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น เนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ที่มีปริมาณ การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์สูง การใช้สารละลายกรดที่มีความเข้มข้นต่ำอาจไม่เพียงพอต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ แต่ทั้งนี้ก็ขึ้นกับชนิดของจุลินทรีย์ ที่มีต่อสารละลายกรด Greer และ Dilts (1992) เปรียบเทียบความไวของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคกับเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย ต่อกรดแลคติกและกรดอะซิดิกที่ ความเข้มข้น 1 – 3 % ที่อุณหภูมิ 20 และ 55 °C พบว่า *Staph. aureus* มีความไวต่อกรดสูงโดยสามารถลดจำนวนลงได้ 1.4 log cfu/g และเชื้อ *S. Typhimurium* สามารถทนกรดได้ดีที่สุดโดยสามารถลดจำนวนเชื้อลงได้เพียง 0.4 log cfu/g

2.9.3 วิธีการใช้สารละลายกรด จะขึ้นอยู่กับลักษณะ หรือชนิดของผลิตภัณฑ์ โดยวิธีทั่วไปในการใช้กรดจะทำ 2 ลักษณะ คือ การฉีดพ่น (Spray) และการแช่ (Dip) สำหรับการผสมกรดลงในผลิตภัณฑ์นั้นไม่นิยมปฏิบัติ เพราะถ้าใช้กับผลิตภัณฑ์ที่ต้องการให้เกิดอิมัลชัน (Emulsion) แล้ว จะทำให้การรวมตัวของอิมัลชันไม่ดี ดังนั้นในการเลือกจะใช้วิธีใดก็พิจารณาจาก ผลิตภัณฑ์เป็น

หลัก คือ ถ้าเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีขนาดใหญ่ หรือผลิตภัณฑ์ที่มีจำนวนมากๆ และการซึมผ่านของกรด เป็นไปได้ดี ก็เลือกใช้วิธีการฉีดพ่น เพื่อลดปัญหาการสิ้นเปลือง แต่ถ้าผลิตภัณฑ์เป็นชิ้นขนาดเล็ก ก็ใช้วิธีการแช่ลงในสารละลายกรด (Freese และคณะ, 1973 ; Snijder และคณะ, 1985) ทั้งนี้ก็ ควรคำนึงถึงความเหมาะสมของขั้นตอนการผลิต

2.9.4 ระดับความเข้มข้นของสารละลายกรด ไม่มีข้อกำหนดแต่จะใช้เกณฑ์การยอมรับ ทางประสาทสัมผัส และผลทางด้านการยับยั้งจุลินทรีย์ในการตัดสินใจ ซึ่งประสิทธิภาพการยับยั้ง จุลินทรีย์นั้นเมื่อใช้กรดที่ระดับความเข้มข้นสูงจะมีประสิทธิภาพดีกว่า และยังขึ้นอยู่กับวิธีการนำ สารละลายกรดไปใช้ด้วย โอรส รักชาติ (2537) ทำการศึกษาผลของกรดแลคติกในการยับยั้ง จุลินทรีย์ในไส้กรอกเวียนนา โดยแปรปริมาณความเข้มข้นของกรดแลคติกโดยวิธีการแช่ที่ระดับ 0 1.0 1.5 และ 2.0% ปริมาตรโดยปริมาตร ระดับความเข้มข้นของกรดแลคติกที่เหมาะสมที่สุดด้วย วิธีการแช่คือ 1.5 % แต่สำหรับวิธีการฉีดพ่นแปรระดับความเข้มข้นของกรดแลคติกที่ 0 1.5 2.0% ระดับความเข้มข้นของกรดแลคติกที่เหมาะสมที่สุดด้วยวิธีการฉีดพ่นที่สุดคือ 2.0% แต่ถ้าความ เข้มข้นของกรดแลคติกสูงเกินไปก็จะส่งผลกระทบต่อผลิตภัณฑ์ โดยสีของผลิตภัณฑ์จะซีดและมี กลิ่นของกรดติดกับผลิตภัณฑ์ (จุฑารัตน์ เลี่ยนกัตวา, 2545)

2.9.5 ระยะเวลาและอุณหภูมิของสารละลายกรดที่สัมผัสกับเนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อ

Anderson (1990) ทดลองใช้วิธีการแช่ชิ้นเนื้อวัวลงในสารละลายกรดแลคติกเข้มข้น 0 1 2 และ 3% ปริมาตรโดยปริมาตร และที่อุณหภูมิ 25 40 55 และ 70 °C เป็นเวลา 15 วินาที พบว่า ผลในการลดจำนวนจุลินทรีย์แปรผันโดยตรงกับระดับความเข้มข้นของกรด และอุณหภูมิของ สารละลายกรดแลคติกที่ใช้ คือ ถ้ากรดที่มีความเข้มข้นสูงสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ได้ดีกว่า ความเข้มข้นต่ำ และถ้าใช้สารละลายกรดที่อุณหภูมิสูงก็จะให้ผลในการลดเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่าที่ อุณหภูมิต่ำ

2.9.6 อุณหภูมิในการเก็บรักษาและสภาวะการบรรจุ ปกติแล้วเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ เช่น ไส้กรอก แฮม และเบคอน เป็นต้น ต้องเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่ำ เพื่อยืดอายุการเก็บรักษา Pipek และคณะ (2005) ใช้ L-(+)-lactic acid ความเข้มข้น 2% ฉีดพ่นลงบนซากวัว ทำการเก็บ ตัวอย่างมาตรวจ Total plate counts ตามช่วงเวลา 24 96 และ 120 ชั่วโมงตามลำดับ ภายหลัง การเก็บในห้องเย็น เชื้อจุลินทรีย์ลดลงโดยเฉลี่ยจาก 4×10^2 เหลือ 2×10^1 cfu / g Barmपालia และคณะ (2004) ได้ทำการถ่ายเชื้อ *Listeria monocytogenes* $2-3 \log$ cfu / cm² ลงใน Frankfurters แล้วทำการจุ่มไส้กรอกลงในสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 2.5% แล้วบรรจุ

สุญญากาศ เก็บที่ 10 °C เป็นเวลานาน 40 วัน กรดแลคติกสามารถลดปริมาณเชื้อ *L. monocytogenes* ลงได้ 0.7-2.1 log cfu / cm²

โอรส รักชาติ (2537) นำได้กรอกเวียนนาแซในสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 2.0% นำมาบรรจุสุญญากาศ แปรอุณหภูมิในการเก็บรักษาเป็น 4 ± 1 °C และ 10 ± 1 °C เป็นเวลา 21 วัน แล้วทำการตรวจนับปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดปรากฏว่า ที่อุณหภูมิ 4 ± 1 °C จะเก็บได้นานกว่าที่ 10 ± 1 °C โดยปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเกินมาตรฐาน เมื่อวันที่ 15 และ 12 ของการเก็บตามลำดับ

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 วัตถุดิบ

3.1.1 ผลิตภัณฑ์ไส้กรอก

ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ ใช้ไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควันจากแหล่งการผลิตไส้กรอกทางการค้าของบริษัทแห่งหนึ่งในเขตปริมณฑลที่ได้รับการรับรองมาตรฐาน GMP โดยมีขั้นตอนการผลิตดังภาพที่ 3.1

3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากกระบวนการผลิตไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควัน ภายหลังจากทำให้สุก

3.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

3.2.1 Lactic acid (L - LAC FG 80) ของบริษัท วิกกี เอนเตอร์ไพรซ์ จำกัด

3.3 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์

3.3.1 เครื่องชั่งสารอิเล็กทรอนิกส์(เตรียมอาหาร)	CHOYO Mk-500c (JAPAN)
3.3.2 Hot plate stirrer	SNIJDERS (HOLLAND)
3.3.3 เครื่องชั่งตัวอย่าง	AND EK-300I (JAPAN)
3.3.4 Hot air oven	MEMMERT (GERMANY)
3.3.5 Autoclave	HIRAYAMA HA-3D (JAPAN)
3.3.6 Water bath อุณหภูมิ 100 ± 1 °C	MEMMERT (GERMANY)
3.3.7 Water bath อุณหภูมิ 41.5 ± 1 °C	MEMMERT (GERMANY)
3.3.8 Water bath อุณหภูมิ 45 ± 1 °C	HAAKE SWB 20 (GERMANY)
3.3.9 Incubator อุณหภูมิ 37 ± 1 °C	MEMMERT (GERMANY)
3.3.10 Stomacher	VOLEX (U.S.A.)

3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดสอบ

3.4.1 Plate count agar (PCA)	MERCK (U.S.A.)
3.4.2 Buffer peptone water (BPW)	DIFCO (U.S.A.)
3.4.3 Rappaport-vasilliadis medium (RVS)	MERCK (U.S.A.)
3.4.4 Xylose-lysine-deoxycholate (XLD) agar	MERCK (U.S.A.)
3.4.5 Brilliant green agar (BGA)	OXOID (ENGLAND)
3.4.6 Baird parker medium (BP)	MERCK (U.S.A.)
3.4.7 Violet red bile agar (VRBA)	MERCK (U.S.A.)
3.4.8 Tryptic soy broth (TSB)	MERCK (U.S.A.)
3.4.9 Peptone	DIFCO (U.S.A.)
3.4.10 Sodium chloride	MERCK (U.S.A.)

3.5 สถานที่ดำเนินการทดลอง

3.5.1 โรงงานผลิตไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควันในเขตปริมณฑล

3.5.2 ห้องปฏิบัติการบริษัท ศรีไทยฟู้ดแอนด์เบฟเวอเรจ จำกัด (มหาชน) 69 หมู่ 4 ถ. วัดกิงแก้ว ต. ราชاتهวา อ.บางพลี จ.สมุทรปราการ 10540

3.6 ขั้นตอนและวิธีดำเนินงานวิจัย

3.6.1 ศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ ในขั้นตอนก่อนการทำให้สุก หลังจากการทำให้สุก และในผลิตภัณฑ์ที่บรรจุในถุงปิดสนิท

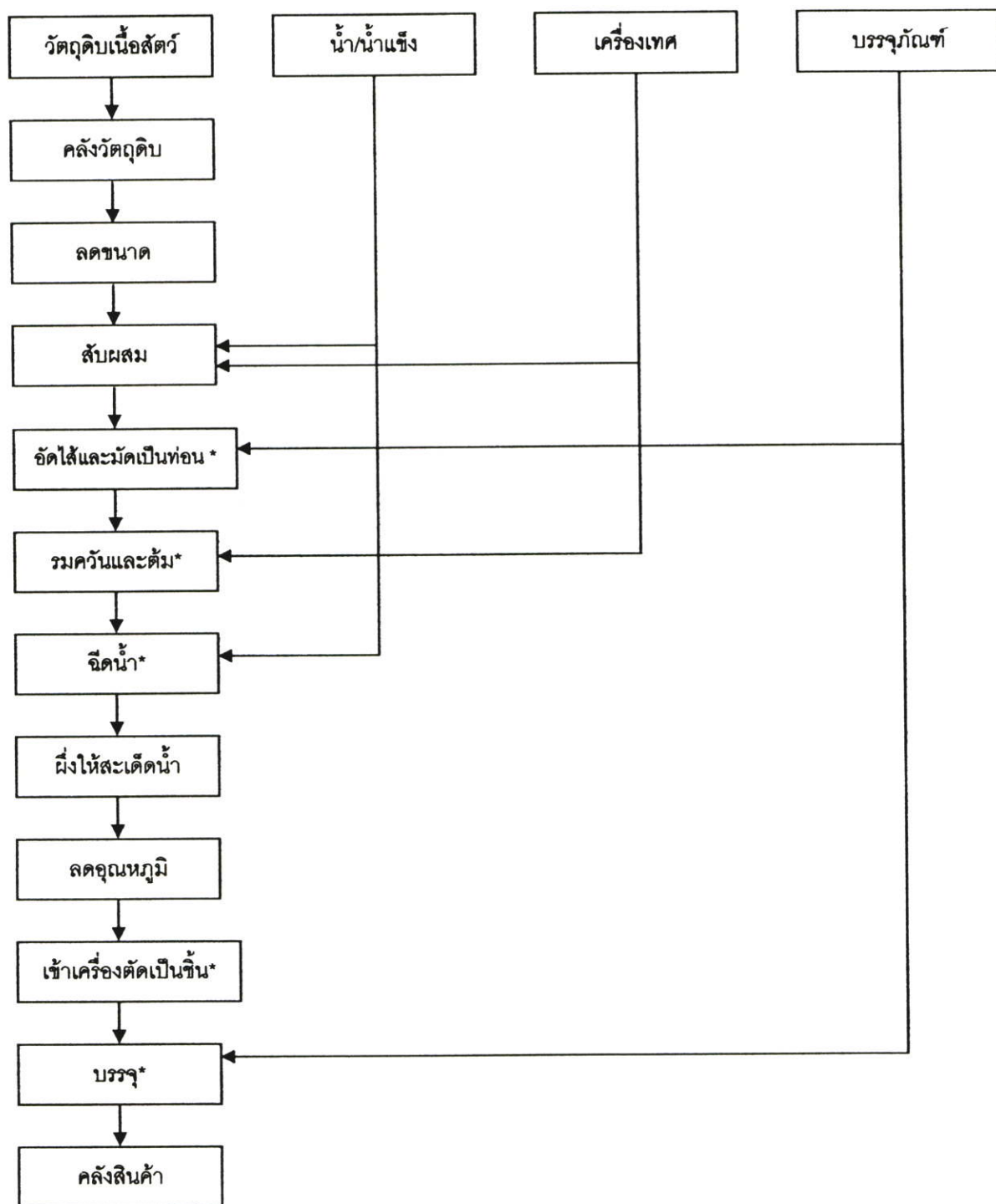
ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควันตามจุดต่างๆ (ตามภาพที่ 3.1) ดังนี้

- ไส้กรอกที่อัดใส่แล้วก่อนเข้าตู้อบ
- ไส้กรอกหลังออกจากตู้อบ (ก่อนฉีดน้ำ)
- ไส้กรอกหลังออกจากตู้อบ (หลังฉีดน้ำ)
- ไส้กรอกหลังออกจากเครื่องตัดไส้กรอก
- ไส้กรอกที่บรรจุใส่ถุงปิดสนิท

การเก็บตัวอย่างในจุดทั้ง 5 จุด นั้นต้องทำการเก็บตัวอย่างในชุดการผลิตเดียวกัน (การผลิต 1ชุด เท่ากับประมาณ 1.5 ตันหรือ 1,500 กิโลกรัม) โดยปริมาณการเก็บตัวอย่างจะสุ่มเก็บจุดละ 1 กิโลกรัม แต่ในผลิตภัณฑ์ที่บรรจุแล้วจะทำการสุ่มตัวอย่าง 3 กิโลกรัม (สินค้าบรรจุจุดละ 1 กิโลกรัม)

การเก็บตัวอย่างทำการเก็บทั้งหมด 4 ชุดการผลิตในช่วงเวลา 3 เดือน

จากตัวอย่างที่สุ่มเก็บมานำมาทำการตรวจหาจุลินทรีย์ที่เป็นดัชนีบ่งชี้ความปลอดภัยในอาหาร ได้แก่ *Salmonella* spp., *Staph. aureus* และตรวจนับจุลินทรีย์ในกลุ่มที่เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงคุณภาพ ได้แก่ Total Plate Count และ Coliforms ตามลำดับ



* จุดที่ทำการเก็บตัวอย่างเพื่อศึกษาการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิตไส้กรอกไก่อิมัลชันนมควั่น

ภาพที่ 3.1 กระบวนการผลิตไส้กรอกไก่อิมัลชันนมควั่น

3.6.1.1 การตรวจวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Bacteria Plate Count) (ISO 4866 : 2003)

3.6.1.1.1 การเตรียมตัวอย่างวัตถุดิบ สุ่มเก็บตัวอย่างใส่กรอกไก้อิมัลชันรวมควันในกระบวนการผลิตตามภาพที่ 3.1

3.6.1.1.2 นำตัวอย่างที่ได้จากการเตรียมตัวอย่างในข้อ 3.6.1.1.1 ปริมาณ 25 กรัม เติมสารละลาย DF (Peptone salt dilution fluid) ปริมาตร 225 มิลลิลิตร นำไปเข้าเครื่อง Stomacher เพื่อผสมตัวอย่าง ได้สารละลายตัวอย่างที่มีความเข้มข้น 10^{-1} แล้วนำไปทำการเจือจางแบบ 10 fold dilution ต่อไปจนได้ระดับความเจือจางที่ต้องการ

3.6.1.1.3 นำตัวอย่างที่เจือจางในระดับความเข้มข้นต่างๆ ในข้อ 3.6.1.1.2 ใส่ลงใน Petri – dish ทุก Dilution โดยใส่ Dilution ละ 1 มิลลิลิตร (ทำ dilution ละ 2 ซ้ำ)

3.6.1.1.4 Pour plate ด้วย PCA (Plate count agar) ที่หลอมละลายแล้วและมีอุณหภูมิ $44 - 47^{\circ}\text{C}$ ให้หนา 10 – 15 มิลลิลิตร ต่อ Plate ผสมให้เข้ากับ Suspension ของตัวอย่าง

3.6.1.1.5 เมื่อ PCA แข็งตัวนำเข้าบ่มในตู้ Incubator ที่อุณหภูมิ $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 72 ± 3 ชั่วโมง

3.6.1.1.6 การรายงานผล เลือก Plate ที่มี Colonies ระหว่าง 15 – 300 Colonies เพื่อคำนวณเป็นโคโลนีต่อกรัม

3.6.1.2 การตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Salmonella* spp. (ISO 6579 : 2002)

3.6.1.2.1 การเตรียมตัวอย่างวัตถุดิบ สุ่มเก็บตัวอย่างใส่กรอกไก้อิมัลชันรวมควันในกระบวนการผลิต ตามภาพที่ 3.1

3.6.1.2.2 Pre – enrichment โดยนำตัวอย่างที่ได้จากการเตรียมตัวอย่างในข้อ 3.6.1.2.1 ปริมาณ 25 กรัม เติม BPW (Buffered peptone water) ปริมาตร 225 มิลลิลิตร นำไปเข้าเครื่อง Stomacher เพื่อผสมตัวอย่าง แล้วนำเข้าบ่มใน Incubator ที่อุณหภูมิ $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 18 ± 2 ชั่วโมง

3.6.1.2.3 Enrichment โดยดูดสารละลายจากการข้อ 3.6.1.2.2 ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ใส่ใน RVS broth (Rappaport – vasilliadis medium with soya) 10 มิลลิลิตร นำเข้าบ่มใน Water bath ที่อุณหภูมิ $41.5 \pm 1^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 24 ± 3 ชั่วโมง

3.6.1.2.4 Selective ใช้ loop ตะเชื้อจาก RVS 1 loop แล้ว Streak ลงบน BGM (Brilliant green agar modified) , XLD (Xylose lysine deoxycholate agar) นำไปบ่มใน Incubator ที่อุณหภูมิ $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 24 ± 3 ชั่วโมง

3.6.1.2.5 การอ่านผล Positive

BGM – Colony สีชมพูใส หรือสีขาวขุ่น

XLD – Colony สีดำล้อมรอบด้วยสีแดง หรือสีชมพู

1. จาก Plate BGM และ XLD ที่เป็น negative ให้นำไปบ่มต่อที่อุณหภูมิ $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 24 ± 3 ชั่วโมง ถ้าผลยังเป็น negative ให้รายงานผลเป็น ตรวจไม่พบเชื้อ *Salmonella* spp. ในตัวอย่าง

2. ถ้ามี Colony ของเชื้อขึ้นบน Plate ให้เลือกมา 1 Colony ที่แน่ใจว่าเป็น Colony ของเชื้อ แต่ถ้าใน 1 plate มี typical colony > 5 Colonies ให้นำมาทั้งหมด 5 Colonies จากนั้น Streak ลงบน Nutrient agar Plate นำไปบ่มที่อุณหภูมิ $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 24 ± 3 ชั่วโมง จากนั้นนำ pure culture ที่ได้ ทำ Biochemical Test และ Serological Test แล้วนำเชื้อจาก 1 colony stab ลง Butt และ Streak ลงบน Slant ของ TSI และ LIA agar นำไปบ่มที่ อุณหภูมิ $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 24 ± 3 ชั่วโมง ถ้าผลเป็น Negative ให้เลือกอีก 4 colony ลง TSI, LIA agar และ Nutrient agar Plate อีกครั้งหนึ่งนำเข้าบ่มที่ อุณหภูมิ $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 24 ± 3 ชั่วโมง จากนั้น นำ Colony ที่ Positive ใน Plate Nutrient agar ไปทำ Biochemical Test และ Serological Test ตามภาคผนวก ก 1 และ ก 2 ตามลำดับ

3.6.1.3 การตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Staph. aureus* (ISO 6888 : 1999)1

3.6.1.3.1 การเตรียมตัวอย่างวัตถุดิบ สุ่มเก็บตัวอย่างไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควันในกระบวนการผลิต ตามภาพที่ 3.1

3.6.1.3.2 นำตัวอย่างที่ได้จากการเตรียมตัวอย่างในข้อ 3.6.1.3.1 ปริมาณ 25 กรัม เติมสารละลาย DF (Peptone Salt Dilution Fluid) ปริมาตร 225 มิลลิลิตร นำไปเข้าเครื่อง Stomacher เพื่อผสมตัวอย่าง จะได้สารละลายตัวอย่างที่มีความเข้มข้น 10^{-1}

3.6.1.3.3 ใช้ pipette ดูดสารละลายจากข้อ 3.6.1.3.2 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงใน TSB (Tryptic Soy Broth) 10 มิลลิลิตร นำเข้าบ่มใน Incubator ที่อุณหภูมิ $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 18 – 24 ชั่วโมง

3.6.1.3.4 ใช้ pipette ดูดสารละลายจากข้อ 3.6.1.3.3 ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบน plate ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ BP (Baird Parker medium) + 30 % Egg yolk แล้วทำการ spread ให้กระจายทั่ว plate นำเข้าบ่มใน Incubator ที่อุณหภูมิ $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

3.6.1.3.5 การอ่านผล Positive

Colonies สีดำ ล้อมรอบด้วยโซนสีขาวขุ่น (Opaque zone)

Colonies สีดำล้อมรอบด้วยโซนใส (Clear zone)

Colonies ดำวาว นูน ที่ไม่มีโซน

เมื่อพบ Colonies ที่ให้ผล Positive ให้ขั้นตอนการ Confirmation *Staph. aureus* ตามแผนก ก. 3

3.6.1.4 การตรวจวิเคราะห์ Coliforms (ดัดแปลงจาก BAM : Enumeration of *E. coli* and the Coliform Bacteria, chapter 4)

3.6.1.4.1 การเตรียมตัวอย่าง นำเชื้อที่ขึ้นในการตรวจวิเคราะห์ Total Bacteria Plate Count ใน Dilution ที่อ่านค่าได้ทั้งหมดมาทำการถ่ายลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ VRBA (Violet red bile agar) ทุก Colonies นำเข้าปอมใน Incubator ที่อุณหภูมิ $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 24 ± 3 ชั่วโมง

3.6.1.4.2 การอ่านผล เลือกนับ Colony ที่มีสีชมพู สีชมพูบานเย็น แล้วนำไปคำนวณเป็น โคโลนีต่อกรัม เก็บเพาะเลี้ยงเชื้อที่มี Colonies สีชมพูทั้งหมดลงใน TSA deeptube agar

3.6.1.4.3 ทำการสุ่มหลอด TSA deeptube agar โคโลนีที่ให้ผลเป็นบวกในข้อ 3.6.1.4.2 เพื่อทำการยืนยันสายพันธุ์ของ Coliforms ที่พบในตัวอย่างไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควัน ที่สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

3.6.2 การศึกษาผลของความเข้มข้นกรดแลคติกต่อการลดจำนวนสารละลายเชื้อ *A. caviae* ที่แยกได้จากกระบวนการผลิตไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควันในหลอดทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Factorial in Completely Randomized Design (4 X 3) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยศึกษาระดับความเข้มข้นของสารละลายกรดแลคติก ต่อปริมาณความเข้มข้นของเชื้อในระดับต่างๆ ในช่วงระยะเวลา 0 1 5 10 และ 15 นาทีตามลำดับ

ปัจจัยที่ 1 ระดับความเข้มข้นของสารละลายกรดแลคติกที่เหมาะสม

- | | |
|------------|--|
| กลุ่มที่ 1 | เติมน้ำ(อุณหภูมิห้อง) 0% |
| กลุ่มที่ 2 | เติมสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 1.5 % |
| กลุ่มที่ 3 | เติมสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 2.0% |
| กลุ่มที่ 4 | เติมสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 2.5% |

ปัจจัยที่ 2 ปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ใช้ในการศึกษา คือ สารละลายเชื้อที่ความเข้มข้น 10^2 10^4 และ 10^6 cfu/ml ตามลำดับ (เป็น Coliforms สายพันธุ์ที่พบมากที่สุดในกระบวนการผลิตมาทำการทดลองในหลอดทดลอง)

การเตรียมสารละลายกรดแลคติกที่ความเข้มข้น 1.5 2.0 และ 2.5%

- กรดแลคติกที่ใช้คือ L-LAC FG 80 ของ บริษัท วิคกี เอนเตอร์ไพรซ์ จำกัด

- ผสมกรดแลคติกกับน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วตามระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังจากนั้นดูดสารละลายกรดแลคติกที่เตรียมได้ใส่หลอดทดลองความเข้มข้นละ 9 ml. ต่อหลอด

- ดูดสารละลายเชื้อ *A. caviae* ที่ระดับ 10^3 10^5 และ 10^7 cfu/ml ปริมาณ 1 ml ใส่ลงในหลอดที่มีสารละลายกรดแลคติกที่เตรียมจากข้างต้น จะได้สารละลายเชื้อ *A. caviae* ที่ระดับความเข้มข้น 10^2 10^4 และ 10^6 cfu/ml ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 0 1 5 10 และ 15 นาที ทำการตรวจนับเชื้อตามเวลาที่กำหนดไว้ โดยดูดสารละลายเชื้อในกรดแลคติก ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาณ 1 ml. ลงบนอาหาร VRBA ทำการ Spread plate นำเข้าบ่มที่อุณหภูมิ $37 \pm 1^\circ\text{C}$ เป็นเวลา 18 – 24 ชั่วโมง

3.6.3 การศึกษาผลของกรดแลคติกต่อการลดจำนวนของเชื้อ *A. caviae* ที่แยกได้จากกระบวนการผลิตในไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควันด้วยวิธีการราด

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยศึกษาผลของสารละลายกรดแลคติกต่อการลดจำนวนเชื้อ *A. caviae* ในช่วงระยะเวลาการเก็บไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควันที่อุณหภูมิ $4 \pm 1^\circ\text{C}$

กรดแลคติกที่ใช้ในการราดไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควัน แบ่งเป็น 4 กลุ่มการทดลอง ได้แก่

กลุ่มที่ 1	กลุ่มควบคุมที่ราดด้วยน้ำ (อุณหภูมิห้อง) 0%
กลุ่มที่ 2	ราดสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 1.5%
กลุ่มที่ 3	ราดสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 2.0%
กลุ่มที่ 4	ราดสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 2.5%

1) ไส้กรอกทั้ง 4 กลุ่มน้ำหนัก 70 กรัมต่อชิ้น นำมาผ่านการฆ่าเชื้อด้วยแสง UV เป็นเวลา 60 นาที กลับขึ้นไส้กรอกทุก 30 นาที

2) ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควันในแต่ละกลุ่มที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยแสง UV แล้วทำการถ่ายสารละลายเชื้อ Coliforms ที่คัดแยกได้จากกระบวนการผลิตความเข้มข้น 10^2 cfu / ml โดยการนำไส้กรอกมาทำการจุ่มในสารละลายเชื้อ Coliforms เป็นเวลา 3 นาที แล้วนำชิ้นผึ่งให้แห้งเป็นเวลา 15 นาที

3) นำผลิตภัณฑ์ใส่กรอกในแต่ละกลุ่มราดด้วยสารละลายกรดแลคติก ที่ความเข้มข้นต่างๆ ซึ่งการราดด้วยกรดแลคติกจะใช้ถังฝักบัวราดลงบนผลิตภัณฑ์ใส่กรอกที่ทำการเกลี่ยให้สม่ำเสมอบนโต๊ะบรรจุสินค้า โดยใช้กรดแลคติก 2 ลิตรต่อใส่กรอก 1 กิโลกรัม จากนั้นผึ่งให้แห้งเป็นเวลา 30 นาที

4) ทำการบรรจุสินค้าในถุงปิดสนิท นำเข้าเก็บในห้องเย็นอุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 21 วัน

3.6.3.1 ตรวจสอบผลทางจุลชีววิทยา ด้วยการตรวจนับตรวจนับ Coliforms ตามข้อ 3.6.1.4 (Spot technique) ในช่วงเวลา 21 วัน ทำการตรวจนับในวันที่ 0 1 3 5 7 14 และ 21 ตามลำดับ รายงานผลเป็น log cfu / g.

3.6.3.2 ตรวจวัดสีของผลิตภัณฑ์ โดยใช้เครื่อง Chromameter โดยวัดซ้ำ 3 ครั้ง

- ใช้ใส่กรอก 3 ชิ้นต่อหนึ่งตัวอย่าง (วัดที่ผิววนอก)
- ใช้หัววัดสีกับผิวใส่กรอกโดยตรง
- เครื่องรายงานผลเป็นค่าของสีโดยอัตโนมัติ

3.6.3.3 ประเมินผลทางกายภาพ

3.6.3.3.1 การประเมินประสาทสัมผัส โดยใช้ Scoring test เพื่อประเมินประสาทสัมผัสทางด้านสี ลักษณะปรากฏ กลิ่นรส เนื้อสัมผัส และการยอมรับรวมของผู้บริโภค (ตามแบบฟอร์มการประเมินผลในภาคผนวก ข.) ต่อใส่กรอกไก่อิมัลชันรมควันที่ราดด้วยสารละลายกรดแลคติกที่ระดับความเข้มข้น 1.5 2.0 และ 2.5 % จากจำนวนผู้ทดสอบ 20 คน เทียบกับใส่กรอกไก่อิมัลชันรมควันที่เป็นกลุ่มควบคุมที่ราดด้วยน้ำโดยไม่เติมกรดแลคติก โดยกำหนดระดับคะแนนการประเมินทางด้านสี ลักษณะปรากฏ กลิ่นรส และเนื้อสัมผัสมีระดับคะแนน 5 ระดับ ส่วนการยอมรับโดยรวมมีระดับคะแนน 7 ระดับ ดังนี้

- | | | | |
|-----------------|-------------------|--------------------|----------|
| 1 = ไม่ชอบมาก | 2 = ไม่ชอบปานกลาง | 3 = ไม่ชอบเล็กน้อย | 4 = เฉยๆ |
| 5 = ชอบเล็กน้อย | 6 = ชอบปานกลาง | 7 = ชอบมาก | |

การเตรียมตัวอย่างใส่กรอกเพื่อการทดสอบทำโดยกลุ่มตัวอย่างแต่ละกลุ่มมีทั้ง 2 แบบคือ

- 1) แบบดิบ เพื่อให้ผู้บริโภคประเมินทางด้านสี ลักษณะปรากฏ และกลิ่น-รส ของใส่กรอก
- 2) แบบสุก ด้วยการทำให้สุกด้วยเครื่อง Roller Grill เพื่อให้ผู้บริโภคประเมินทางด้านกลิ่นรสเนื้อสัมผัส และนำตัวอย่างทั้ง 2 แบบมาประเมินการยอมรับรวมของแต่ละกลุ่มตัวอย่าง

3.6.3.4 วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองทุกการทดลอง มาวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป (SPSS analysis of variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแต่ละวิธีด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในขั้นตอนก่อนการทำให้สุก หลังจากการทำให้สุก และในผลิตภัณฑ์ที่บรรจุในถุงปิดสนิท

จากข้อมูลการผลิตไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควันของโรงงานผลิตภัณฑ์อาหารศรีไทย ในช่วงเดือนมกราคม – พฤษภาคม 2548 มียอดการคืนสินค้า 4.4 % ของยอดส่ง ต่อหนึ่งชนิดสินค้า โดยลักษณะสินค้าที่ส่งคืนมาส่วนใหญ่เป็นสินค้าที่เสื่อมเสียก่อนวันหมดอายุที่ระบุไว้ที่ฉลาก และสภาพสินค้ามีลักษณะเป็นเมือก สีของสินค้าเปลี่ยน ซึ่งการเสื่อมเสียของสินค้านี้สันนิษฐานว่าน่าจะเกิดจากเชื้อจุลินทรีย์เป็นสาเหตุ จึงทำการตรวจหาปริมาณจุลินทรีย์ที่เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงคุณภาพ ได้แก่ Total Plate Count, Coliforms และตรวจหาจุลินทรีย์ที่เป็นดัชนีบ่งชี้ความปลอดภัยในอาหาร ได้แก่ *Salmonella* spp. และ *Staph. aureus* ในกระบวนการผลิตไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควัน (ตามภาพที่ 3.1) ซึ่งจากการศึกษาได้ผลดังนี้

4.1.1 ผลการตรวจหาปริมาณจุลินทรีย์ที่เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงคุณภาพในกลุ่ม Total Plate Count และ Coliforms

จากการศึกษาแหล่งปนเปื้อนของจุลินทรีย์ ในกระบวนการผลิตไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควัน โดยทำการสุ่มเก็บตัวอย่างไส้กรอกในกระบวนการผลิตทั้งหมด 5 จุด ดังนี้ ไส้กรอกที่อัดไส้ก่อนเข้าตู้อบ ไส้กรอกหลังออกจากตู้อบ(ก่อนฉีดน้ำ) ไส้กรอกหลังการฉีดน้ำ ไส้กรอกหลังออกจากเครื่องตัด และไส้กรอกที่บรรจุในถุงปิดสนิท ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ตรวจนับพบเชื้อในกระบวนการผลิตข้างต้นจำนวน $4.59 + 0.21$, $2.23 + 0.09$, $2.22 + 0.07$, $3.21 + 0.05$ และ $3.42 + 0.23$ Log cfu/g ตามลำดับ (ตารางที่ 4.1) ซึ่งปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดจากการศึกษามีผลใกล้เคียงกับผลการศึกษาของ Metaxopolus และคณะ (2002) ที่ทำการศึกษหาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในกระบวนการผลิตไส้กรอกในโรงงานอุตสาหกรรมของประเทศกรีซจำนวน 56 ตัวอย่าง จากโรงงาน 3 แห่ง พบว่าในส่วนของตัวอย่างไส้กรอกที่อัดไส้แล้วก่อนนำเข้าอบโดยเฉลี่ยมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด 5.0×10^5 cfu/g ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่นับได้จากไส้กรอกที่อัดไส้แล้วก่อนนำเข้าอบ พบเชื้อในปริมาณที่มากกว่ากระบวนการอื่น อาจเนื่องจากการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์มาจากหลายทางเช่น วัตถุดิบเนื้อสัตว์ เครื่องเทศ เครื่องมือ อุปกรณ์ในการผลิต เวลา และอุณหภูมิในแต่ละกระบวนการผลิตที่นานเกินไปจึงทำให้มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์สูง (Brown, 1982) หลังจากนั้นได้

กรอกที่ผ่านการอบแล้ว (ก่อนฉีดน้ำ) ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดมีการลดจำนวนลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) คือ ลดลงเหลือ $2.23 + 0.09 \log \text{ cfu/g}$ หรือ ประมาณ $2 \log \text{ cfu/g}$ โดยอุณหภูมิที่ใช้ในการอบและรมควันได้กรอกอยู่ในช่วง $70 - 90^\circ\text{C}$ จากขั้นตอนดังกล่าวส่งผลให้เชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนอยู่ในผลิตภัณฑ์ก่อนอบนั้นลดลง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Sachindra และคณะ (2005) ทำการศึกษาเปรียบเทียบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในไส้กรอกเนื้อกระป๋องก่อนและหลังอบ โดยก่อนอบมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด $5.1 \pm 0.35 \log \text{ cfu/g}$ หลังจากอบแล้วมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดลดลงเหลือ $3.75 \pm 0.31 \log \text{ cfu/g}$ มีค่าเฉลี่ยลดลงประมาณ $1.35 \log \text{ cfu/g}$

ต่อมาหลังจากได้กรอกฉีดน้ำแล้ว เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดมีปริมาณ $2.22 + 0.07 \log \text{ cfu/g}$ คือ เชื้อจุลินทรีย์มีปริมาณไม่แตกต่างกันกับไส้กรอกหลังออกจากตู้อบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ส่วนในกระบวนการหลังออกจากเครื่องตัดไส้กรอกและหลังบรรจุในถุงปิดสนิท ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด มีปริมาณเพิ่มขึ้นจากกระบวนการหลังการฉีดน้ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยเชื้อที่ปนเปื้อนกลับมายังผลิตภัณฑ์สันนิษฐานว่ามาจากเครื่องตัดที่มีการบำรุงรักษาและการทำความสะอาดที่ไม่มีประสิทธิภาพ ทำให้มีการสะสมของสิ่งสกปรกหรือเชื้อจุลินทรีย์ตามซอกของเครื่องมือที่การทำความสะอาดเข้าไม่ถึง รวมทั้งพนักงานที่ปฏิบัติงาน และอุปกรณ์อื่นๆ ที่สัมผัสโดยตรงกับผลิตภัณฑ์ ทั้งนี้ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด ที่ตรวจนับได้จากกระบวนการภายหลังการบรรจุในถุงปิดสนิทยังถือว่าไม่เกินมาตรฐานของสินค้าประเภทไส้กรอก ของสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ

หลังจากได้ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ปนเปื้อนกับผลิตภัณฑ์ในกระบวนการผลิต หลังจากนั้นจึงทำการตรวจสอบปริมาณของ Coliforms ที่เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงคุณภาพในกระบวนการผลิต โดยนำโคโลนิของเชื้อที่ขึ้นบน PCA ทั้งหมดใน Dilution ที่อ่านค่าได้มา Spot ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ VRBA (Violet Red Bile agar) เพื่อดูว่าจากปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดมีจุลินทรีย์ในกลุ่ม Coliforms อยู่ในปริมาณเท่าใด ผลการศึกษาพบว่า (ตารางที่ 4.1) ในกระบวนการที่ 1 ไส้กรอกหลังจากการอัดไส้และมัดเป็นท่อนมีปริมาณ Coliforms เท่ากับ $4.29 + 0.08 \log \text{ cfu/g}$. คิดเป็นร้อยละ 93.5 ของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด กระบวนการที่ 2 ไส้กรอกหลังจากออกจากตู้อบ ไม่พบ Coliforms แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิในการอบและรมควันสามารถทำลายเชื้อในกลุ่มนี้ได้หมด คือ เชื้อมีปริมาณลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) จากผลการศึกษาปริมาณ Coliforms สอดคล้องกับการศึกษาของ Sachindra และคณะ (2005) ทำการศึกษาเปรียบเทียบปริมาณ Coliforms ในไส้กรอกเนื้อกระป๋องก่อนและหลังอบ โดยก่อนอบมีปริมาณ Coliforms 98 MPN/g เมื่อได้กรอกผ่านการอบแล้ว Coliforms มีปริมาณลดลงเหลือ 0.2 MPN/g กระบวนการที่ 3 ไส้กรอกหลังการฉีดน้ำมีปริมาณ Coliforms เท่ากับ $1.44 + 0.17 \log \text{ cfu/g}$. คิดเป็นร้อยละ 64.9

ของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด เชื้อเพิ่มขึ้นประมาณ 1 log cfu/g กระบวนการที่ 4 ได้กรอกหลังการตัดเป็นชิ้นมีปริมาณ Coliforms เท่ากับ $2.19 + 0.07 \log \text{cfu/g}$. คิดเป็นร้อยละ 68.2 ของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด และในกระบวนการสุดท้าย กระบวนการที่ 5 ได้กรอกหลังการบรรจุในถุงปิดสนิทมีปริมาณ Coliforms เท่ากับ $2.65 + 0.06 \log \text{cfu/g}$. คิดเป็นร้อยละ 77.2 ของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด จากผลการศึกษาดังกล่าวเชื้อ Coliforms หลังผ่านกระบวนการชีดน้ำปริมาณเชื้อเริ่มมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.1 การเปรียบเทียบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด กับปริมาณ Coliforms ในกระบวนการผลิตไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควัน

กระบวนการผลิต	จุลินทรีย์ทั้งหมด (log cfu/g)+SD	Coliforms (log cfu/g)+SD	ร้อยละของ Coliforms
1. ไส้กรอกหลังการอัดและ มัดเป็นท่อน	$4.59 + 0.21^a$	$4.29 + 0.08^a$	93.5
2. ไส้กรอกหลังออกจากตู้อบ	$2.23 + 0.09^c$	$0.00 + 0.00$	-
3. ไส้กรอกหลังชีดน้ำ	$2.22 + 0.07^c$	$1.44 + 0.17^d$	64.9
4. ไส้กรอกกรอกหลังออก จากเครื่องตัด	$3.21 + 0.05^b$	$2.19 + 0.07^c$	68.2
5. ไส้กรอกหลังการบรรจุ ปิดสนิท	$3.43 + 0.23^b$	$2.65 + 0.06^b$	77.2

ตัวอักษรที่ไม่เหมือนกันตามแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบแบบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

เมื่อวิเคราะห์ปริมาณร้อยละของ Coliforms จากปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด พบว่าเป็น จุลินทรีย์ที่มีสัดส่วนเป็นส่วนใหญ่ของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ดังนั้นจึงทำการสุ่มโคลินีของเชื้อที่ ขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ VRBA ที่มีลักษณะ และสีของโคลินีที่แตกต่างกัน 5 กลุ่มส่งยืนยันสายพันธุ์ ของเชื้อที่สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ปรากฏว่า ร้อยละ 90 ของโคลินีที่ส่งตรวจเป็นเชื้อ *Aeromonas caviae* และร้อยละ 10 ของ โคลินีที่ส่งตรวจเป็นเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ตามตารางที่ 4.2 และผลการทดสอบทาง ชีวเคมีของเชื้อ *A. caviae* นี้ตามตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.2 ผลการวินิจฉัยสายพันธุ์ของเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากกระบวนการผลิตไส้กรอก ไก่มีลชันนมควิน ที่ส่งยืนยันสายพันธุ์ที่สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

ครั้งที่	จำนวนเชื้อที่ส่ง	ผลการวินิจฉัยเชื้อ	จำนวนเชื้อ ที่พบ	คิดเป็นร้อยละ
1	5 เชื้อ	- <i>A. caviae</i>	5 เชื้อ	100
2	5 เชื้อ	- <i>A. caviae</i>	4 เชื้อ	90
		- <i>K. pneumoniae</i>	1 เชื้อ	10
รวมค่าเฉลี่ยที่พบ		- <i>A. caviae</i>		90
		- <i>K. pneumoniae</i>		10

ตารางที่ 4.3 ผลการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อ *A. caviae* จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์
สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

อาหารทดสอบทางชีวเคมี	ผลการทดสอบ <i>A. caviae</i>	อาหารทดสอบทางชีวเคมี	ผลการทดสอบ <i>A. caviae</i>
TSI	A/A	Sucrose	+
VP + 1% NaCl	-	Lactose	-
LIM	- / + / +	NB + 0% NaCl	+
HIB + 1% NaCl	+	NB + 1% NaCl	+
Mannitol	+	NB + 3% NaCl	+
Inositol	-	NB + 8% NaCl	-
Mannose	-	Lysine + 1% NaCl	-
Arabinose	+	Orithine + 1% NaCl	-
Urea	-	Arginine + 1% NaCl	+
Citrate	-	Ampicillin (10µg)	R
Salicin	-	Carbenicillin (100µg)	R
Cellobiose	-	Cephalothin (30µg)	R
Esculin + 1% NaCl	+	Colistin (10µg)	S
Dextrose acid (Acid/gas)	+ / -	O129 (10µg) และ (150µg)	R

หลังจากที่ทราบผลการยืนยันสายพันธุ์ของ Coliforms ที่พบในกระบวนการผลิตส่วนใหญ่หรือร้อยละ 90 เป็นเชื้อ *A. caviae* ซึ่งเชื้อ *A. caviae* ไม่ใช่เชื้อในกลุ่ม Coliforms แต่สามารถขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ VRBA ได้และให้ผล positive ได้นั้นอาจเนื่องจากเชื้อ *Aeromonas* มีลักษณะทางชีวเคมีคล้ายกับเชื้อในกลุ่ม *Enterobacteriaceae* (Janda และคณะ, 1996) ซึ่งเชื้อสามารถเกิดการปนเปื้อนจากน้ำที่ใช้ฉีดล้างกรอกเพราะภายหลังจากการนำเอาไส้กรอกออกจากตู้อบผลิตภัณฑ์สัมผัสกับน้ำที่ใช้ฉีดเป็นอันดับแรก โดย *A. caviae* อาจปนเปื้อนมากับน้ำ เพราะน้ำที่ใช้ในโรงงานอุตสาหกรรมแห่งนี้ใช้น้ำบาดาล ที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ไม่มีประสิทธิภาพ ตามที่ Kersters และคณะ (1995) พบว่า สมาชิกของจีนัส *Aeromonas* ส่วนมากจะพบได้ตามแหล่งน้ำในธรรมชาติทั่วไปทั้งน้ำผิวดินและน้ำใต้ดิน ส่วน Gavriel และคณะ (1998) กล่าวว่าสามารถพบ ได้

ในน้ำดื่มที่ผ่านการฆ่าเชื้อ และไม่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน หลังจากนั้นปริมาณ *A. caviae* มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจนถึงขั้นตอนสุดท้ายของการผลิต นอกจากน้ำที่ใช้ในการผลิตจะมีส่วนทำให้เกิดการปนเปื้อนแล้ว *A. caviae* ก็สามารถปนเปื้อนมาจากพนักงานที่ปฏิบัติงานได้ เพราะ *A. caviae* นอกจากพบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อมแล้ว *A. caviae* ยังเป็นเชื้อที่อยู่ภายในลำไส้ของมนุษย์ (Altwegg, 1985) ด้วยเหตุนี้ถ้าพนักงานมีสุขลักษณะในการปฏิบัติที่ไม่ถูกต้องก็เป็นสาเหตุทำให้ *A. caviae* ปนเปื้อนมายังผลิตภัณฑ์ได้ โดยเฉพาะพนักงานที่ต้องสัมผัสกับผลิตภัณฑ์โดยตรง เช่น พนักงานในส่วนของการบรรจุ ซึ่งจากผลการศึกษาเห็นได้ว่าปริมาณ *A. caviae* ในผลิตภัณฑ์ได้กรอกภายหลังการบรรจุในถุงปิดสนิทนั้นมีปริมาณสูงกว่าในกระบวนการอื่น ๆ ก่อนหน้านั้น

จากการส่งยีสต์สายพันธุ์เชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้นอกจากพบว่าเป็น *A. caviae* แล้ว อีกร้อยละ 10 เป็นเชื้อ *K. pneumoniae* ที่ปนเปื้อนในกระบวนการผลิต ซึ่งอาจปนเปื้อนมาจากพนักงานที่เป็นโรคเกี่ยวกับระบบทางเดินหายใจมาสัมผัส ไอหรือจามมาที่ผลิตภัณฑ์จึงทำให้เกิดการปนเปื้อนจากเชื้อดังกล่าว (Podschun และ Ullmann, 1998) Mohamed และ Nassar, (2004) ทำการเก็บตัวอย่างได้กรอกจากซูเปอร์มาร์เก็ต ในประเทศอียิปต์ จำนวน 25 ตัวอย่าง พบว่า มีจำนวน 2 ตัวอย่างที่ปนเปื้อนเชื้อ *K. pneumoniae* หรือคิดเป็นร้อยละ 8 ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมด ซึ่งในการศึกษาได้ตรวจพบว่า *A. caviae* เป็นเชื้อที่มีการตรวจพบมากที่สุด ในตัวอย่างที่ทำการศึกษาทั้งหมด กล่าวคือ พบมากถึงร้อยละ 90 ดังนั้น จึงได้เลือกเชื้อ *A. caviae* ที่คัดแยกได้จากกระบวนการผลิตได้กรอกไก่อิมัลชันนมควัน ไว้ใช้สำหรับศึกษาต่อไป

4.1.2 ผลการตรวจหาจุลินทรีย์ที่เป็นดัชนีบ่งชี้ความปลอดภัยในอาหารในกลุ่ม *Salmonella* spp. และ *Staph. aureus* ในกระบวนการผลิตได้กรอกไก่อิมัลชันนมควัน

สำหรับการศึกษาการตรวจหาเชื้อที่เป็นดัชนีบ่งชี้ความปลอดภัยของอาหาร ในได้กรอกไก่อิมัลชันนมควัน คือ *Salmonella* spp. และ *Staph. aureus* นั้นในกระบวนการผลิตดังกล่าวตรวจไม่พบเชื้อทั้ง 2 ชนิด (ตารางที่ 4.4) ไม่ว่าจะในกระบวนการหลังการอัดใส่ หลังการอบ หลังการจืดน้ำ หลังการตัด และในผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่บรรจุในถุงปิดสนิทก่อนนำเข้าไปเก็บในคลังสินค้าเพื่อรอการจัดจำหน่าย แสดงว่ากระบวนการผลิตได้กรอกไก่อิมัลชันนมควัน สามารถควบคุมการปนเปื้อนเชื้อทั้ง 2 ชนิดได้

ตารางที่ 4.4 ผลการตรวจหา *Salmonella* spp. และ *Staph. aureus* ในกระบวนการผลิต
ไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควัน

กระบวนการผลิต	<i>Salmonella</i> spp. พบ/ไม่พบ : 25g	<i>Staph. aureus</i> พบ/ไม่พบ : 1g
1. ไส้กรอกหลังการอัดและมัดเป็นท่อน	N	N
2. ไส้กรอกหลังออกจากตู้อบ	N	N
3. ไส้กรอกหลังฉีดย้ำ	N	N
4. ไส้กรอกกรอกหลังออกจากเครื่องตัด	N	N
5. ไส้กรอกหลังการบรรจุถุงปิดสนิท	N	N

N = Not-detected

โดยเชื้อทั้ง 2 ชนิดนี้อาจยังมีในกระบวนการผลิต แต่มีจำนวนน้อยมากจนตรวจไม่พบ กระบวนการผลิตที่สามารถควบคุมเชื้อทั้ง 2 ชนิดนี้อาจเริ่มตั้งแต่วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตที่ไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อดังกล่าว เครื่องเทศที่ใช้ในการผลิต เช่น เกลือไนไตรท์ เกลือซอร์เบท Bauerman (1979) ศึกษาการใช้เกลือไนไตรท์ในไส้กรอกแฟรงเฟอर्टอเรียโก้ และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 2.2 – 4.4 °C พบว่า ถึงแม้จะเก็บตัวอย่างไว้นาน 2 สัปดาห์ก็ตรวจไม่พบ *Staphylococcus* spp. ในขณะเดียวกัน Rice และ Pierson (1982) ศึกษาผลของเกลือไนไตรท์ และเกลือซอร์เบทในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella* spp. ในไส้กรอกแฟรงเฟอर्टอเรียโก้ที่เก็บในอุณหภูมิ 15 และ 27 °C เป็นเวลา 21 วัน พบว่าตัวอย่างที่ใส่เกลือซอร์เบทร่วมกับเกลือไนไตรท์ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีทั้งที่อุณหภูมิ 15 และ 27 °C และจากผลการศึกษาของ Metaxopoulos และคณะ (2002) ทำการตรวจหาเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค คือ *Staph. aureus* และ *Salmonella* spp. จากโรงงานผลิตไส้กรอกในประเทศกรีซจำนวน 3 โรงงาน ทำการตรวจหาในเครื่องเทศที่ใช้ในการผลิต พบว่าตรวจไม่พบเชื้อทั้ง 2 ชนิด และตรวจไม่พบ *Staph. aureus* ในวัตถุดิบเนื้อสัตว์ที่ใช้ในการผลิต เมื่อไส้กรอกผ่านการอบในตู้อบ จนถึงก่อนการบรรจุจะมีการใช้กรดแลคติกในการลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ จึงมีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้ง 2 ชนิดนี้ ซึ่งสอดคล้องกับ Dubal และคณะ (2004) ที่ทำการศึกษาผลของกรดแลคติกต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรค โดยทำการถ่ายเชื้อ *Staph. aureus*, *L. monocytogenes* และ *S. Typhimurium* ลงในเนื้อแกะ แล้วทำการฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก 2.0% แล้วนำเข้าเก็บที่อุณหภูมิ 5 – 7 °C เป็นเวลา 12 วัน ปรากฏว่าตรวจไม่พบ *Staph. aureus*, *L. monocytogenes* และ *S. Typhimurium*

4.2 ผลของความเข้มข้นของกรดแลคติกต่อปริมาณเชื้อ *A. caviae* ที่คัดแยกได้จากกระบวนการผลิตไส้กรอกไก่อิมัลชันนมควันภายหลังการทำให้สุกในหลอดทดลอง

เนื่องจากการศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในขั้นตอนก่อนการทำให้สุก หลังจากการทำให้สุก และในผลิตภัณฑ์ที่บรรจุในถุงปิดสนิท โดยตรวจหาปริมาณจุลินทรีย์ที่เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงคุณภาพในกลุ่ม Total Plate Count และ Coliforms และตรวจหาจุลินทรีย์ที่เป็นดัชนีบ่งชี้ความปลอดภัยในอาหารในกลุ่ม *Salmonella* spp. และ *Staph. aureus* ในกระบวนการผลิตไส้กรอกไก่อิมัลชันนมควัน โดยเชื้อส่วนใหญ่ที่ปนเปื้อนในกระบวนการผลิตได้แก่เชื้อ *A. caviae* คิดเป็นร้อยละ 90 และ *K. pneumoniae* คิดเป็นร้อยละ 10 ซึ่งมีปริมาณการปนเปื้อนที่ต่ำกว่าเชื้อ *A. caviae* ที่สันนิษฐานว่าน่าเป็นสาเหตุสำคัญที่ปนเปื้อนแล้วทำให้เกิดการเสื่อมเสียในผลิตภัณฑ์ ดังนั้นจึงนำเชื้อ *A. caviae* มาทำการศึกษาผลของความเข้มข้นของกรดแลคติกที่ 4 ระดับความเข้มข้น คือ 0 1.5 2.0 และ 2.5% ต่อปริมาณเชื้อ *A. caviae* เริ่มต้นที่ 10^2 10^4 และ 10^6 cfu/ml รวมถึงระยะเวลาในการฆ่าเชื้อในหลอดทดลอง

4.2.1 ผลของความเข้มข้นของสารละลายกรดแลคติกและระยะเวลาในการลดจำนวนเชื้อ *A. caviae* ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10^2 10^4 และ 10^6 cfu / ml ในหลอดทดลอง

จากผลการศึกษาดังแสดงในตารางที่ 4.5 พบว่าที่ปริมาณเชื้อ *A. caviae* เริ่มต้น 10^2 cfu/ml กรดแลคติกที่ระดับความเข้มข้น 1.5 2.0 และ 2.5% สามารถฆ่าเชื้อ *A. caviae* ได้อย่างมีประสิทธิภาพเมื่อเทียบกับหลอดควบคุม โดยที่ระดับความเข้มข้นของกรดแลคติก 1.5% สามารถลดปริมาณเชื้อเริ่มต้นจาก 1.0×10^2 cfu/ml เหลือ 70 cfu/ml ได้ในช่วงเวลา 1 นาที และทำให้ *A. caviae* หดหายไปในช่วงเวลา 5 นาที ในส่วนของกรดแลคติกที่ระดับความเข้มข้น 2.0 และ 2.5% นั้นให้ผลการศึกษาเหมือนกัน คือ สามารถฆ่าเชื้อ ลงได้หมดในช่วง 1 นาที

ในขณะที่ปริมาณเชื้อ *A. caviae* เริ่มต้นที่ 10^4 cfu/ml กรดแลคติกที่ระดับความเข้มข้น 1.5 2.0 และ 2.5% สามารถฆ่าเชื้อ *A. caviae* ได้อย่างมีประสิทธิภาพเมื่อเทียบกับหลอดควบคุม โดยที่ระดับความเข้มข้นของกรดแลคติก 1.5% สามารถลดปริมาณเชื้อเริ่มต้นจาก 1.0×10^4 cfu/ml เหลือ 85 cfu/ml ได้ในช่วงเวลา 5 นาที และทำให้หมดไปในช่วงเวลา 10 นาที ส่วนของระดับความเข้มข้นของกรดแลคติกที่ 2.0 และ 2.5% นั้นให้ผลการศึกษาเหมือนกัน คือ สามารถฆ่าเชื้อลงได้หมดในช่วง 1 นาที

สำหรับการศึกษาที่ปริมาณเชื้อ *A. caviae* เริ่มต้นที่ 10^6 cfu/ml กรดแลคติกที่ระดับความเข้มข้น 1.5 2.0 และ 2.5% สามารถฆ่าเชื้อ *A. caviae* ได้อย่างมีประสิทธิภาพเมื่อเทียบกับหลอดควบคุม โดยที่ระดับความเข้มข้นของกรดแลคติก 1.5% สามารถลดปริมาณเชื้อเริ่มต้นจาก 1.0×10^6 cfu/ml เหลือ 42 cfu/ml ได้ในช่วงเวลา 10 นาที และทำให้หมดไปในช่วงเวลา 15 นาที ส่วนของระดับความเข้มข้นของกรดแลคติกที่ 2.0 และ 2.5% นั้นให้ผลการศึกษาเหมือนกัน คือสามารถฆ่าเชื้อ ลงได้หมดในช่วง 1 นาที

จากการศึกษาผลของความเข้มข้นของกรดแลคติกที่ 4 ระดับความเข้มข้น คือ 0 1.5 2.0 และ 2.5% ตามลำดับ และในปริมาณเชื้อ *A. caviae* ที่ระดับ 10^2 10^4 และ 10^6 cfu/ml พบว่าความเข้มข้นของกรดแลคติกมีผลต่อการลดจำนวนเชื้อ *A. caviae* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยพบว่าความเข้มข้นของกรดแลคติกที่สูง มีผลต่อการลดจำนวนเชื้อได้ดีกว่าที่ความเข้มข้นต่ำ กรดแลคติกที่ความเข้มข้น 2.0 และ 2.5% สามารถลดจำนวนเชื้อ *A. caviae* ในหลอดทดลองได้ดี โดยไม่พบจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ สำหรับความเข้มข้น 1.5% สามารถลดจำนวนเชื้อได้ดีเมื่อเทียบกับหลอดควบคุมที่ไม่มีการเติมกรดแลคติก นอกจากนี้ปริมาณ *A. caviae* เริ่มต้นมีผลต่อเวลา ที่ใช้ในการลดจำนวนเชื้อของแต่ละความเข้มข้นของกรดแลคติกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยเฉพาะอย่างยิ่งกรดแลคติกที่ใช้ในระดับความเข้มข้นต่ำต้องใช้เวลา นานขึ้นในการลดจำนวนเชื้อ จากการทดลองที่ระดับความเข้มข้นของกรดแลคติก 2.0 และ 2.5% พบว่าสามารถลดเชื้อ *A. caviae* ที่ระดับ 10^2 10^4 และ 10^6 cfu / ml ให้หมดไปได้ในระยะเวลาเพียง 1 นาที สำหรับกรดแลคติกที่ระดับความเข้มข้น 1.5% ต้องใช้เวลาในการลดจำนวนเชื้อ นาน 5 10 และ 15 นาที ในการลดจำนวนเชื้อ *A. caviae* ที่ระดับ 10^2 10^4 และ 10^6 cfu / ml ตามลำดับ ซึ่งค่า pH ของสารละลายกรดแลคติกที่ระดับความเข้มข้น 1.5 2.0 และ 2.5% จากการศึกษารั้งนี้เท่ากับ 2.57 ± 0.007 , 2.48 ± 0.007 และ 2.44 ± 0.01 โดยค่า pH มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตและการอยู่รอดของจุลินทรีย์ (สุมาลี เหลืองสกุล, 2541) ดังที่ได้อธิบายไว้แล้วในบทที่ 2 เรื่องกลไกการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยกรดอินทรีย์ ในขณะที่หลอดควบคุม (สารละลายกรดแลคติก 0%) มีค่า pH เท่ากับ 6.04 ± 0.01 และปริมาณเชื้อ *A. caviae* มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเนื่องจากเป็นช่วง pH ที่เหมาะสมในการเจริญของแบคทีเรียคือในช่วง pH 6.0 - 8.0 (สุมนทรา วัฒนสินธุ์, 2545 ข) จากการศึกษารั้งนี้มีงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับผลของกรดแลคติกต่อการลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์โดย Geornaras และคณะ (2005) ที่ทำการศึกษาคผลของกรดแลคติกต่อการลดปริมาณเชื้อ *L. monocytogenes* โดยทำการถ่ายเชื้อจำนวน 3-4 log cfu/ml ลงใน bologna แล้วนำไปจุ่มในกรดแลคติก 2.5% เป็นเวลา 2 นาที แล้วบรรจุแบบสุญญากาศและเก็บที่ 10°C เป็นเวลา 48 วัน พบว่าเชื้อ *L. monocytogenes* ในกลุ่มตัวอย่างที่จุ่มในกรดแลคติกมี

ปริมาณเชื้อลดลงจาก 2.7 เหลือ 1.8 log cfu/g ในวันที่ 40 ของการเก็บ แต่ในกลุ่มตัวอย่างควบคุมกลับมีปริมาณเชื้อ *L. monocytogenes* เพิ่มขึ้นจาก 3.4 เป็น 7.8 log cfu/g ในวันที่ 40 ของการเก็บรักษา

Greer และ Dilts (1992) กล่าวว่า เนื้อสัตว์ที่มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในปริมาณสูงการใช้กรดอินทรีย์ที่มีความเข้มข้นต่ำอาจไม่มีผลต่อการทำลายจุลินทรีย์และการลดจำนวนแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคเช่น *L. monocytogene*, *Yersinia enterocolitica*, *S. Typhimurium*, *E. coli* O157:H7 และ *Campylobacter jejuni* หรือแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในเนื้อ หากจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นมีปริมาณมากเกินไปจะมีผลให้การลดจำนวนจุลินทรีย์ได้น้อย และใช้เวลาเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 4.5 ผลของสารละลายกรดแลคติก ที่ระดับความเข้มข้น 0 1.5 2.0 และ 2.5% และระยะเวลาในการลดจำนวนเชื้อ *A. caviae* ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10^2 10^4 และ 10^6 cfu / ml ในหลอดทดลอง

ความเข้มข้น Lactic acid เวลา (นาที)	ค่า pH ± SD	จำนวนเชื้อ <i>A. caviae</i> (log cfu/ml)														
		เชื้อเริ่มต้น 10^2 cfu/ml					เชื้อเริ่มต้น 10^4 cfu/ml					เชื้อเริ่มต้น 10^6 cfu/ml				
		0	1	5	10	15	0	1	5	10	15	0	1	5	10	15
0%	6.04 ± 0.007	1.0×10^{2a}	1.0×10^{2b}	1.45×10^{2b}	1.46×10^{2b}	1.49×10^{2b}	1.0×10^{4a}	1.0×10^{4b}	1.63×10^{4b}	1.74×10^{4b}	1.81×10^{4b}	1.0×10^{6a}	1.0×10^{6b}	1.34×10^{6b}	1.45×10^{6b}	1.57×10^{6b}
1.5%	2.57 ± 0.007	1.0×10^{2a}	70^{ab}	0^a	0^a	0^a	1.0×10^{4a}	2.1×10^{2ab}	85^{ab}	0^a	0^a	1.0×10^{6a}	1.7×10^{4ab}	1.26×10^{2ab}	42^{ab}	0^a
2.0%	2.48 ± 0.01	1.0×10^{2a}	0^a	0^a	0^a	0^a	1.0×10^{4a}	0^a	0^a	0^a	0^a	1.0×10^{6a}	0^a	0^a	0^a	0^a
2.5%	2.44 ± 0.01	1.0×10^{2a}	0^a	0^a	0^a	0^a	1.0×10^{4a}	0^a	0^a	0^a	0^a	1.0×10^{6a}	0^a	0^a	0^a	0^a

ตัวอักษรที่ไม่เหมือนกันตามแนวตั้งหมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % เมื่อเปรียบเทียบแบบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

4.3 ผลของกรดแลคติกต่อการลดจำนวนของเชื้อ *A. caviae* ระดับ 2 log cfu / g ที่แยกได้จากกระบวนการผลิตในไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควันด้วยวิธีการราด

จากการศึกษาผลของความเข้มข้นของกรดแลคติกต่อปริมาณเชื้อ *A. caviae* ที่คัดแยกได้จากกระบวนการผลิตไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควันภายหลังการทำให้สุกในหลอดทดลอง พบว่า กรดแลคติกความเข้มข้น 1.5 2.0 และ 2.5% สามารถลดจำนวนเชื้อ *A. caviae* ในหลอดทดลองลงได้อย่างมีประสิทธิภาพ การนำกรดแลคติกมาใช้กับผลิตภัณฑ์เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาและลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์นั้นไม่มีข้อจำกัดในเรื่องของระดับความเข้มข้นที่จะใช้ แต่ควรที่จะคำนึงถึงความสามารถในการลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ และผลในด้านประสาทสัมผัสเป็นเกณฑ์ในการตัดสินใจเลือกใช้ ดังนั้นในการเลือกระดับความเข้มข้นของกรดแลคติก โดยวิธีการราดนั้นจึงได้ใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นที่ 1.5 2.0 และ 2.5% เทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ราดด้วยน้ำที่ไม่ได้เติมกรดแลคติก (0%) เนื่องจากว่าการราดเป็นการปฏิบัติหลังจากกระบวนการผลิตเสร็จสิ้นแล้ว โดยทำก่อนที่จะบรรจุผลิตภัณฑ์ การซึมผ่านของกรดจึงน้อยกว่าการแช่ ดังนั้นจึงนำมาสู่การศึกษาเพื่อการนำมาใช้จริงภายในกระบวนการผลิต โดยการถ่ายเชื้อ *A. caviae* ให้มีการปนเปื้อนที่ระดับ 2 log cfu/g เนื่องจากการศึกษาการปนเปื้อนของ Coliforms (ในข้อ 4.1.1) ในกระบวนการผลิตไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควัน พบว่า ผลิตภัณฑ์ในถุงปิดสนิทมีปริมาณการปนเปื้อนเชื้อสูงสุดที่ระดับ 2 log cfu/g

การตรวจนับจำนวนเชื้อ *A. caviae* ในตัวอย่างกลุ่มที่ผ่านการถ่ายเชื้อ *A. caviae* ที่ระดับ 2 log cfu/g แล้วราดด้วยสารละลายกรดแลคติกที่ระดับความเข้มข้น 0 1.5 2.0 และ 2.5% ภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิ $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 21 วัน แล้วทำการตรวจสอบคุณภาพทางจุลชีววิทยา ตรวจวัดสีด้วยเครื่อง Chromameter และทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยการชิม ในวันที่ 0 1 3 5 7 14 และ 21 ของการเก็บรักษา

4.3.1 ผลของสารละลายกรดแลคติก ที่ระดับความเข้มข้น 0 1.5 2.0 และ 2.5% ต่อจำนวนเชื้อ *A. caviae* ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 21 วัน

จากการตรวจหาปริมาณเชื้อ *A. caviae* ในตัวอย่างกลุ่มการทดลองต่าง ๆ ที่อุณหภูมิการเก็บ $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 0 1 3 5 7 14 และ 21 วัน (ตารางที่ 4.6) พบว่า ตลอดอายุการเก็บรักษากลุ่มตัวอย่างที่ราดด้วยกรดแลคติกที่ทุกระดับความเข้มข้นมีจำนวนเชื้อ *A. caviae* น้อยกว่ากลุ่มควบคุม โดยกลุ่มที่ราดด้วยกรดแลคติกความเข้มข้น 1.5% มีจำนวนเชื้อ *A. caviae* มากกว่าในกลุ่มที่ราดด้วยกรดแลคติก 2.0 และ 2.5% ตลอดอายุการเก็บรักษา แสดงให้เห็นว่าระดับความเข้มข้นของกรดแลคติกมีผลต่อจำนวนเชื้ออย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบจำนวน

เชื้อ *A. caviae* ในระดับความเข้มข้นของกรดแลคติกเดียวกันที่เก็บในอุณหภูมิ $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$ พบว่า เมื่อระยะเวลาเก็บรักษานานขึ้น จำนวนเชื้อดังกล่าวจะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.6 ปริมาณ *A. caviae* ที่ระดับ $2 \log \text{cfu} / \text{g}$ โดยการถ่ายเชื้อลงในไส้กรอกไก่มัลชั้นรมควัน แล้วรอดด้วยกรดแลคติกที่ระดับความเข้มข้น 0 1.5 2.0 และ 2.5% เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 21 วัน ที่ $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$

อายุการเก็บ (วัน)	<i>A. caviae</i> log cfu/g + SD			
	ระดับความเข้มข้นของกรดแลคติกที่ใช้ (%v/v)			
	0%	1.5%	2.0%	2.5%
0	$2.36 + 0.007_{x..}^a$	$2.25 + 0.01_x^b$	$1.99 + 0.05_x^{bc}$	$1.74 + 0.03_x^c$
1	$2.89 + 0.07_x^a$	$2.36 + 0.02_x^b$	$2.11 + 0.01_x^b$	$1.93 + 0.01_x^b$
3	$3.42 + 0.01_y^a$	$2.49 + 0.04_{xy}^b$	$2.19 + 0.01_x^b$	$2.12 + 0.02_x^b$
5	$3.69 + 0.01_y^a$	$2.53 + 0.01_{xy}^b$	$2.25 + 0.01_x^c$	$2.17 + 0.04_x^c$
7	$3.84 + 0.01_y^a$	$2.74 + 0.01_y^b$	$2.45 + 0.007_{xy}^{bc}$	$2.30 + 0.07_x^c$
14	$4.14 + 0.007_z^a$	$2.88 + 0.01_y^b$	$2.63 + 0.007_{xy}^b$	$2.49 + 0.07_y^c$
21	$4.21 + 0.01_z^a$	$3.01 + 0.04_y^b$	$2.74 + 0.008_y^{bc}$	$2.52 + 0.04_y^c$

A..*

* ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) เป็นการเปรียบเทียบผลของสารต่อการลดจำนวนเชื้อ *A. caviae* ในตัวอย่างที่อายุการเก็บเท่ากัน

** ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) เป็นการเปรียบเทียบจำนวนเชื้อ *A. caviae* ที่พบเมื่อใช้กลุ่มสารละลายความเข้มข้นเดียวกันในระยะเวลาการเก็บนานขึ้น

โดยผลการทดลองดังกล่าว Woolthuis และ Smulders (1985) อธิบายได้ว่า ผลในการลดจำนวนจุลินทรีย์ แปรผันกับระดับความเข้มข้นของกรด คือ ความเข้มข้นของกรดที่สูงมีผลในการลดจำนวนจุลินทรีย์ได้ดีกว่าความเข้มข้นต่ำ ซึ่งจากการศึกษาครั้งนี้ กลุ่มตัวอย่างที่รอดด้วยกรด แลคติกความเข้มข้น 1.5% นั้นไม่ส่งผลต่อการลดจำนวนของเชื้อ *A. caviae* จากปริมาณเชื้อเริ่มต้น และเชื้อมีแนวโน้มเพิ่มปริมาณขึ้นเรื่อยๆ จนมีปริมาณ Coliforms เกินมาตรฐานในช่วง

วันที่ 7 ของอายุการเก็บรักษา แต่เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมพบว่า มีปริมาณ Coliforms เกินมาตรฐานในช่วงวันที่ 1 ของการเก็บรักษา ดังนั้นกลุ่มตัวอย่างที่ราดด้วยกรดแลคติกความเข้มข้น 2.0% ปริมาณเชื้อลดลงโดยเฉลี่ย 0.12 log cfu / g จากปริมาณเชื้อเริ่มต้น ในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา เชื้อเริ่มมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ จนมีปริมาณ Coliforms เกินมาตรฐานในวันที่ 14 ของการเก็บรักษา และกลุ่มตัวอย่างที่ราดด้วยกรดแลคติกความเข้มข้น 2.5% ปริมาณเชื้อลดลงโดยเฉลี่ย 0.19 log cfu / g จากปริมาณเชื้อเริ่มต้น ในวันที่ 0 ของการเก็บรักษาและเริ่มเพิ่มขึ้นอีกโดยเฉลี่ย 0.56 log cfu / g จนในช่วงวันที่ 21 ของการเก็บรักษาปริมาณ Coliforms ยังไม่เกินมาตรฐาน ที่สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติระบุให้มี Coliforms ไม่เกิน 500 cfu/g โดยกลุ่มตัวอย่างที่ราดด้วยกรดแลคติกความเข้มข้น 2.5% อาจมีอายุการเก็บรักษาได้มากกว่า 21 วัน

จากการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้มีงานวิจัยที่ศึกษาผลของกรดแลคติก ต่อการลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค โดย Geomaras และคณะ (2005) ถ่ายเชื้อ *L. monocytogenes* 3-4 log cfu/cm² ลงในผลิตภัณฑ์แฮม แล้วนำไปจุ่มใน 2.5% Lactic acid (LA; Sigma, St. Louis, Mo) เป็นเวลา 2 นาที ผึ่งให้แห้งแล้วทำการบรรจุแบบสุญญากาศ เก็บเข้าห้องเย็น ที่ 10°C เป็นเวลา 48 วัน ผลปรากฏว่า เชื้อ *L. monocytogenes* ลดลงจาก 2.9 ± 0.1 log cfu/cm² เหลือ 2.2 ± 0.1 log cfu/cm² ในวันที่ 48 ของการเก็บรักษา ในขณะที่ตัวอย่างควบคุมที่ไม่มีการใช้กรดแลคติกมีปริมาณเชื้อ *L. monocytogenes* เพิ่มขึ้นจาก 3.4 ± 0.1 เป็น 7.2 ± 0.4 log cfu/cm² ในวันที่ 48 ของการเก็บรักษา

เมื่อนำข้อมูลจากตารางที่ 4.6 มาวิเคราะห์ พบว่า ตัวอย่างที่ทำการราดด้วยกรดแลคติกที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ จะมีอายุการเก็บรักษาได้นานยิ่งขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มตัวอย่างควบคุม ซึ่งกลไกการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ เกิดจากกรดจะไปทำให้เกิดสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต โดยทำให้ pH ลดต่ำลง ซึ่งเป็นการขยายช่วงระยะ lag phase ออกไป (Siragusa, 1995) สำหรับผลการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของกรดแลคติก Adam และ Hall (1988) อธิบายว่ากรดแลคติกในสภาพที่ไม่แตกตัวเมื่อเข้าสู่ plasma membrane ของแบคทีเรียแล้วจะเข้าไปแตกตัว และทำลายระบบขนถ่าย substrate molecule เข้าสู่เซลล์ ทำให้ metabolisms ต่าง ๆ ของเซลล์ผิดปกติ การแบ่งตัวจึงไม่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ดังนั้นตัวอย่างไส้กรอกไก้อิมัลชันรมควันที่ราดด้วยกรดแลคติก ที่ระดับความเข้มข้นมากจึงมีระยะ lag phase ที่ขยายออกไปมากกว่า

นอกจากนี้ ยังมีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้กรดแลคติกในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ที่ปนเปื้อนในอาหารซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาครั้งนี้ด้วย เช่น Dubal และคณะ (2004) ได้ทำการศึกษามลของกรดแลคติกต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อแกะ โดยทำการถ่ายเชื้อ *Staph. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli* และ *S. Typhimurium* ลงในเนื้อแกะ แล้วทำการฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก 2.0% แล้วนำเข้าเก็บที่อุณหภูมิ 5 – 7°C เป็นเวลา 12 วัน พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด โดยเฉลี่ยตลอดอายุการเก็บรักษาในตัวอย่างที่ฉีดพ่นด้วยกรดแลคติกนั้นมีปริมาณ $5.07 \pm 0.73 \log \text{ cfu/g}$ ซึ่งน้อยกว่าในตัวอย่างเนื้อแกะที่ไม่ได้ฉีดพ่นด้วยกรดแลคติกที่มีปริมาณ จุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ $5.59 \pm 0.74 \log \text{ cfu/g}$ สำหรับจุลินทรีย์ที่ก่อโรค คือ *Staph. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli* และ *S. Typhimurium* ในตัวอย่างควบคุมพบเชื้อดังกล่าว 3.0 ± 0.06 , 2.86 ± 0.34 , 3.16 ± 0.12 และ $2.95 \pm 0.12 \log \text{ cfu/g}$ ตามลำดับ แต่ในตัวอย่างที่ฉีดพ่นด้วยกรดแลคติก พบปริมาณ *E. coli* $2.74 \pm 0.07 \log \text{ cfu/g}$ และตรวจไม่พบ *Staph. aureus*, *L. monocytogenes* และ *S. Typhimurium*

Shrestha และ Min (2006) ทำการศึกษามลของกรดแลคติก ต่อคุณภาพของเนื้อสุกรสด โดยทำการฉีดพ่นเนื้อสุกรด้วยกรดแลคติก ที่ระดับความเข้มข้น 1 2 4 และ 6% แล้วเก็บรักษาตัวอย่างที่อุณหภูมิ $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 12 วัน พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดจะมีปริมาณจะลดลงถ้าความเข้มข้นของกรดเพิ่มขึ้น ในวันที่ 12 ของการเก็บรักษาตัวอย่างที่ฉีดพ่นด้วยกรดแลคติก ที่ระดับความเข้มข้น 1 2 4 และ 6% มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ 6.16 5.98 5.17 และ 5.07 $\log \text{ cfu/g}$ ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าตัวอย่างควบคุมที่มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด 6.33 $\log \text{ cfu/g}$

จากการศึกษาทั้งหมดข้างต้น พบว่า ถ้าในกระบวนการผลิตไส้กรอกมีการปนเปื้อนเชื้อในกลุ่ม Coliforms ที่ระดับ 2 $\log \text{ cfu/g}$ การใช้กรดแลคติกก็เป็นอีกทางเลือกในการยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ให้อยู่ในมาตรฐานที่กำหนด โดยเฉพาะการใช้กรดแลคติกที่ระดับความเข้มข้น 2.5% สามารถยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้นานเกินกว่า 21 วัน โดยในช่วงวันที่ 21 ของการเก็บรักษาปริมาณ Coliforms ยังไม่เกินมาตรฐานที่ทางสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติระบุว่าต้องมี Coliforms ไม่เกิน 500 cfu/g

4.3.3 ผลการเปลี่ยนแปลงค่าสีของไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควันที่ราดด้วยกรดแลคติก ที่ระดับความเข้มข้น 0 1.5 2.0 และ 2.5% ด้วยเครื่อง Chromameter

จากผลการศึกษาผลของกรดแลคติกที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการลดปริมาณเชื้อ *A. caviae* ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควัน พบว่า กรดแลคติกที่มีความเข้มข้นสูงให้ผลในการลดปริมาณเชื้อได้ดีกว่าความเข้มข้นต่ำ จึงทำการทดสอบการเปลี่ยนแปลงค่าสีของไส้กรอก ที่ราดด้วยกรดแลคติกความเข้มข้น 0 1.5 2.0 และ 2.5% เก็บที่ $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 21 วัน โดยทำการตรวจวัดค่าสีทุกวันที่ 0 1 3 5 7 14 และ 21 ของการเก็บรักษา ด้วยเครื่อง Chromameter เพื่อศึกษาระดับความเข้มข้นของกรดแลคติกมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสีของผลิตภัณฑ์อย่างไร

การวัดค่าการเปลี่ยนแปลงสีจะทำการวัดค่าความสว่าง และค่าสีแดงของไส้กรอกซึ่งผลการศึกษาเป็นดังตารางที่ 4.7 และ 4.8 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.7 การเปลี่ยนแปลงค่าความสว่างของไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควัน ที่ราดด้วยกรดแลคติก ความเข้มข้น 0 1.5 2.0 และ 2.5% เมื่อเก็บเป็นเวลา 21 วัน ที่ $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 21 วัน

อายุการเก็บ (วัน)	L + เบียงเบนมาตรฐาน (0 - 100)			
	ระดับความเข้มข้นของกรดแลคติกที่ใช้ % v/v			
	0%	1.50%	2.00%	2.50%
0	50.4 + 0.4	50.1 + 0.06	50.2 + 0.07	50.5 + 0.07
1	51.3 + 0.1	51.2 + 0.07	51.2 + 0.8	51.1 + 0.06
3	51.7 + 0.4	51.2 + 1.0	51.2 + 0.07	51.3 + 0.02
5	52.0 + 0.8 ^a	51.3 + 0.06 ^b	51.5 + 0.04 ^b	51.5 + 0.09 ^b
7	52.5 + 0.2 ^a	51.7 + 0.04 ^b	52.0 + 0.02 ^a	51.6 + 0.14 ^b
14	53.4 + 0.3 ^a	52.10 + 0.1 ^b	52.2 + 0.05 ^b	51.7 + 0.05 ^c
21	53.9 + 0.1 ^a	52.9 + 0.03 ^b	52.9 + 0.08 ^b	51.9 + 0.07 ^c

ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) เป็นการเปรียบเทียบผลของสารต่อการเปลี่ยนแปลงค่าสีในตัวอย่างที่อายุการเก็บเท่ากัน

ตารางที่ 4.8 การเปลี่ยนแปลงค่าสีแดงของไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควันที่ราดด้วยกรดแลคติกความเข้มข้น 0 1.5 2.0 และ 2.5 % เมื่อเก็บเป็นเวลา 21 วัน ที่ $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$

อายุการเก็บ (วัน)	a + เบี่ยงเบนมาตรฐาน			
	ระดับความเข้มข้นของกรดแลคติกที่ใช้ % v/v			
	0%	1.50%	2.00%	2.50%
0	+18.9 + 0.4 ^c	+19.4 + 0.2 ^b	+19.5 + 0.04 ^b	+20.17 + 0.09 ^a
1	+18.9 + 0.4	+19.3 + 0.01	+19.4 + 0.03	+19.3 + 0.03
3	+18.9 + 0.2	+19.1 + 0.08	+19.2 + 0.4	+19.3 + 0.01
5	+18.5 + 0.1 ^b	+18.8 + 0.3 ^a	+19.1 + 0.4 ^a	+19.2 + 0.2 ^a
7	+18.4 + 0.06 ^b	+18.6 + 0.2 ^b	+18.6 + 0.1 ^b	+19.2 + 0.04 ^a
14	+18.2 + 0.3	+18.4 + 0.2	+18.4 + 0.01	+18.8 + 0.04
21	+17.6 + 0.4 ^b	+17.3 + 0.4 ^b	+18.2 + 0.05 ^a	+18.6 + 0.06 ^a

ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) เป็นการเปรียบเทียบผลของสารต่อการเปลี่ยนแปลงค่าสีในตัวอย่างที่ยุอายุการเก็บเท่ากัน

จากตารางที่ 4.7 ค่าความสว่างของสีผลิตภัณฑ์ของกลุ่มตัวอย่างที่ราดด้วยกรดแลคติกความเข้มข้น 1.5 2.0 และ 2.5% ในวันที่ 0 1 และ 3 ของการเก็บรักษา ไม่มีความแตกต่างกับตัวอย่างในกลุ่มควบคุม ($P > 0.05$) โดยค่าเฉลี่ยของความสว่างอยู่ในช่วงกลาง ๆ ประมาณ 50-51 เมื่อตัวอย่างเข้าสู่วันที่ 5 7 14 และ 21 ของการเก็บรักษา ตัวอย่างในกลุ่มที่ราดด้วยกรดแลคติกความเข้มข้น 1.5 2.0 และ 2.5% มีความแตกต่างกับกลุ่มตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) กล่าวคือ กลุ่มตัวอย่างที่ราดด้วยกรดแลคติกมีค่าความสว่างของผลิตภัณฑ์น้อยกว่าตัวอย่างควบคุม แสดงว่าสีของผลิตภัณฑ์ในกลุ่มตัวอย่างที่ราดด้วยกรดแลคติกมีสีเข้มกว่ากลุ่มตัวอย่างควบคุมที่มีค่าความสว่างสูงกว่าจึงมีสีซีด จากผลการเปลี่ยนแปลงค่าความสว่างของไส้กรอกสอดคล้องกับค่าของสีแดงของผลิตภัณฑ์ ตามตารางที่ 4.8 คือ เมื่อเปรียบเทียบค่าสีแดงของกลุ่มตัวอย่างที่ราดด้วยกรดแลคติกที่ความเข้มข้น 1.5 2.0 และ 2.5 % มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มตัวอย่างควบคุม ($P \leq 0.05$) เนื่องจากกลุ่มตัวอย่างควบคุมมีความซีดมากกว่ากลุ่มที่ราดด้วยกรด (จากค่าความสว่าง) จึงส่งผลให้ค่าสีแดงของผลิตภัณฑ์ในกลุ่ม

ควบคุมต่ำกว่ากลุ่มตัวอย่างที่ราดด้วยกรดแลคติก ซึ่งจะมีสีแดงที่ชัดเจนกว่า โดยผลของกรดแลคติกต่อการเปลี่ยนแปลงค่าสี โอรส รักษาติ (2535) อธิบายว่า กรดแลคติกที่ความเข้มข้นสูงขึ้นไปช่วยเสริมให้สีแดงเด่นชัดขึ้นตลอดอายุการเก็บรักษา เมื่อเทียบกับตัวอย่างที่เป็นตัวควบคุม ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเมื่อผ่านกระบวนการทำให้สุกจะทำให้รงควัตถุสีแดงพวก Myoglobin เกิดการเปลี่ยนแปลงไปอยู่ในรูปของ Nitrosohemochrome ซึ่งมีสีชมพู และจะเสถียรต่อความร้อน แต่จะไม่เสถียรต่อออกซิเจน และแสง เพราะว่าการที่มีไนตริกออกไซด์อิสระเกาะอยู่กับ Ferrous ion นั้น ถ้าได้รับออกซิเจนหรือแสงก็พร้อมที่จะ Oxidize ferrous ion ไปเป็น Ferric ion ทำให้สีแดงซีดจางลง แต่ในกรณีที่มีกรดเข้าไปช่วยจะทำหน้าที่เหมือน Reducing agent คอยเร่งให้ไนตริกออกไซด์อิสระ ทำหน้าที่เป็นตัว Reduce เพื่อไม่ให้ Ferrous ion ถูกเปลี่ยนเป็น Ferric ion ทั้งนี้ไส้ที่ใช้ในการบรรจุไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควัน ที่ใช้ในการศึกษาในครั้งนี้เป็นไส้ชนิด Cellophane และใช้วิธีการราดส่งผลให้ปริมาณกรดที่ซึมผ่านไส้บรรจุเข้าไปภายในเนื้อไส้กรอกเพียงพอ และอยู่ในช่วง pH ที่เหมาะสมในการส่งเสริมให้สีแดงเข้มขึ้น (พวงพร โชติไกร, 2525 ; ชัยณรงค์ คันธพนิต, 2529) ดังนั้นจะเห็นว่าตัวอย่างที่ผ่านการราดด้วยกรดจะมีสีแดงที่เด่นชัดกว่าตัวอย่างที่ไม่ได้ราดด้วยกรดแลคติก

4.3.4 ผลการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควันที่ผ่านการราดด้วยกรดแลคติกที่ระดับความเข้มข้น 0 1.5 2.0 และ 2.5%

จากผลการศึกษาผลของกรดแลคติกที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการลดปริมาณเชื้อ *A. caviae* ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควัน พบว่า กรดแลคติกที่มีความเข้มข้นสูงให้ผลในการลดปริมาณเชื้อได้ดีกว่าความเข้มข้นต่ำ หลังจากนั้นทำการทดสอบการเปลี่ยนแปลงค่าสีของไส้กรอกที่ราดด้วยกรดแลคติก เพื่อดูผลของกรดต่อการเปลี่ยนแปลงค่าสีของผลิตภัณฑ์ด้วยเครื่อง Chromameter พบว่าตัวอย่างที่ราดด้วยกรดแลคติกที่ระดับความเข้มข้น 1.5 2.0 และ 2.5% ไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ แต่กลับส่งผลให้สีของผลิตภัณฑ์ดีขึ้น ดังนั้นจึงทำการศึกษาค่าผลของสารละลายต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควันภายหลังการราดด้วยกรดแลคติกที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 0 1 3 5 7 14 และ 21 วัน โดยทำการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคจำนวน 20 คน โดยสังเกตสี ลักษณะปรากฏ กลิ่นรส เนื้อสัมผัส และการยอมรับรวม โดยใช้แบบทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส (แสดงในภาคผนวก ข) ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.9 – 4.13

ตารางที่ 4.9 คะแนนสีของไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควัน ที่ราดด้วยสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 0 1.5 2.0 และ 2.5% เมื่อเก็บเป็นเวลา 21 วัน ที่ 4 ± 1 °C

อายุการเก็บ (วัน)	คะแนนสี + SD			
	ระดับความเข้มข้นของกรดแลคติกที่ใช้ (%v/v)			
	0%	1.50%	2.00%	2.50%
0	4.9 + 0.3	4.8 + 0.4	4.9 + 0.3	4.9 + 0.3
1	4.8 + 0.4 ^b	4.8 + 0.4 ^b	4.8 + 0.4 ^b	5.0 + 0.0 ^a
3	4.5 + 0.7 ^b	4.5 + 0.8 ^b	4.9 + 0.3 ^a	4.9 + 0.3 ^a
5	4.3 + 0.7 ^b	4.4 + 0.7 ^b	4.8 + 0.2 ^a	4.8 + 0.4 ^a
7	4.2 + 0.6 ^b	4.1 + 0.9 ^b	4.5 + 0.7 ^a	4.6 + 0.5 ^a
14	4.0 + 0.8	4.0 + 0.8	4.3 + 0.6	4.5 + 0.7
21	4.0 + 0.8	4.0 + 0.8	4.2 + 0.7	4.3 + 0.7

ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เป็นการเปรียบเทียบผลของสารต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านสีในตัวอย่างที่อายุการเก็บเท่ากัน

เมื่อพิจารณาผลทางด้านประสาทสัมผัส ดังตารางที่ 4.9 นั้นพบว่า แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของคะแนนสีทางด้านประสาทสัมผัสนั้น ตัวอย่างที่ราดด้วยกรดแลคติกจะมีคะแนนเฉลี่ยสูงกว่ากลุ่มตัวอย่างควบคุม เมื่อคะแนนทางด้านสีดีขึ้นย่อมทำให้ลักษณะปรากฏ (ตารางที่ 4.10) มีคะแนนดีตามมาด้วย และลักษณะปรากฏจะสอดคล้องกับการเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ จากการทดลองผู้ทดสอบเริ่มสังเกตเห็นการเกิดโคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์หรือเมือก เมื่ออายุการเก็บรักษาเข้าสู่วันที่ 21 ในกลุ่มตัวอย่างควบคุม

ตารางที่ 4.10 คะแนนลักษณะปรากฏของไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควัน ที่ราดด้วยสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 0 1.5 2.0 และ 2.5% เมื่อเก็บเป็นเวลา 21 วัน ที่ $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$

อายุการเก็บ (วัน)	คะแนนลักษณะปรากฏ + SD			
	ระดับความเข้มข้นของกรดแลคติกที่ใช้ (%v/v)			
	0%	1.50%	2.00%	2.50%
0	4.8 + 0.4	4.9 + 0.3	4.9 + 0.3	5.0 + 0.0
1	4.8 + 0.4	4.7 + 0.5	4.8 + 0.4	4.8 + 0.4
3	4.7 + 0.5	4.7 + 0.5	4.8 + 0.4	4.8 + 0.4
5	4.5 + 0.5 ^b	4.6 + 0.6 ^b	4.8 + 0.2 ^a	4.8 + 0.4 ^a
7	4.4 + 0.5 ^b	4.6 + 0.6 ^b	4.7 + 0.5 ^a	4.8 + 0.4 ^a
14	4.3 + 0.5 ^b	4.5 + 0.5 ^{ab}	4.6 + 0.5 ^{ab}	4.7 + 0.5 ^a
21	4.2 + 0.4 ^b	4.2 + 0.8 ^b	4.4 + 0.5 ^{ab}	4.6 + 0.5 ^a

ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) เป็นการเปรียบเทียบผลของสารต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านลักษณะปรากฏในตัวอย่างที่อายุการเก็บเท่ากัน

ตารางที่ 4.11 คะแนนกลิ่นรสของไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควัน ที่ราดด้วยสารละลายกรดแลคติก ความเข้มข้น 0 1.5 2.0 และ 2.5% เมื่อเก็บไว้นาน 21 วัน ที่ $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$

อายุการเก็บ (วัน)	คะแนนกลิ่นรส + SD			
	ระดับความเข้มข้นของกรดแลคติกที่ใช้ (%v/v)			
	0%	1.50%	2.00%	2.50%
0	4.8 + 0.4	4.9 + 0.3	4.9 + 0.3	4.9 + 0.3
1	4.8 + 0.4	4.9 + 0.3	4.8 + 0.4	4.9 + 0.3
3	4.7 + 0.5	4.9 + 0.3	4.8 + 0.4	4.9 + 0.3
5	4.5 + 0.5 ^b	4.8 + 0.4 ^a	4.8 + 0.2 ^a	4.9 + 0.3 ^a
7	4.4 + 0.5 ^b	4.8 + 0.4 ^a	4.8 + 0.4 ^a	4.8 + 0.4 ^a
14	4.4 + 0.5 ^b	4.4 + 0.5 ^b	4.5 + 0.7 ^{ab}	4.7 + 0.5 ^a
21	4.2 + 0.4 ^b	4.3 + 0.7 ^b	4.3 + 0.6 ^b	4.6 + 0.5 ^a

ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) เป็นการเปรียบเทียบผลของสารต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นรสในตัวอย่างที่อายุการเก็บเท่ากัน

จากตารางที่ 4.11 คะแนนทางด้านกลิ่นรสที่อายุการเก็บรักษาตั้งแต่วันที่ 0 ถึงวันที่ 7 กลุ่มตัวอย่างที่ราดด้วยกรดแลคติกทุกระดับไม่มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อตัวอย่างเข้าสู่วันที่ 14 จนถึงวันที่ 21 กลุ่มที่ราดด้วยกรดแลคติกความเข้มข้น 2.5% จะมีความแตกต่างกับกลุ่มตัวอย่างที่ราดด้วยกรดแลคติกความเข้มข้น 1.5 และ 2.0% โดยกลุ่มที่ราดด้วยแลคติก 2.5% ให้คะแนนเฉลี่ยสูงกว่า ทั้งนี้กลุ่มตัวอย่างควบคุม กลุ่มที่ราดด้วยกรดแลคติก 1.5 และ 2.0% ก็ได้คะแนนเฉลี่ยต่ำกว่า แต่ระดับคะแนนตลอดอายุการเก็บรักษาไม่ได้ถูกปฏิเสธจากผู้ทดสอบ (ถือคะแนน ≤ 3 เป็นเกณฑ์)

ตารางที่ 4.12 คะแนนเนื้อสัมผัสของไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควัน ที่ราดด้วยสารละลายกรดแลคติก ความเข้มข้น 0 1.5 2.0 และ 2.5% เมื่อเก็บเป็นเวลา 21 วัน ที่ $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$

อายุการเก็บ (วัน)	คะแนนเนื้อสัมผัส + SD (ns)			
	ระดับความเข้มข้นของกรดแลคติกที่ใช้ (%v/v)			
	0%	1.50%	2.00%	2.50%
0	4.9 + 0.3	4.9 + 0.3	4.8 + 0.4	5.0 + 0.0
1	4.9 + 0.3	4.8 + 0.4	4.7 + 0.5	4.9 + 0.3
3	4.9 + 0.3	4.8 + 0.4	4.7 + 0.5	4.9 + 0.3
5	4.8 + 0.4	4.7 + 0.5	4.7 + 0.5	4.7 + 0.5
7	4.8 + 0.4	4.6 + 0.5	4.6 + 0.3	4.7 + 0.5
14	4.8 + 0.4	4.5 + 0.7	4.6 + 0.3	4.7 + 0.5
21	4.7 + 0.5	4.5 + 0.7	4.5 + 0.7	4.6 + 0.5

ns : คะแนนเฉลี่ยการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านเนื้อสัมผัสไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

จากตารางที่ 4.12 คะแนนทางด้านเนื้อสัมผัสนั้น ไม่ได้มีแนวโน้มสัมพันธ์กับปริมาณกรดที่ใช้ แต่ในช่วงท้ายของอายุการเก็บคะแนนด้านเนื้อสัมผัสมีแนวโน้มลดลง ซึ่งการเปลี่ยนแปลงจะสัมพันธ์กับปริมาณการเพิ่มขึ้นของจุลินทรีย์ โดยที่ปริมาณจุลินทรีย์สูงขึ้นคะแนนลักษณะเนื้อสัมผัสจะลดลง พวงพร โชติไกร (2525) จุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นจะทำให้เกิดลักษณะเป็นเมือก มีการแยกตัวของน้ำและไขมัน ทำให้เนื้อสัมผัสและ สำหรับคะแนนการยอมรับรวม (ตารางที่ 4.13) จะเห็นได้ว่า ระดับความเข้มข้นของกรดแลคติก ไม่ทำให้เกิดความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

ตารางที่ 4.13 คะแนนการยอมรับโดยรวมของไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควัน ที่ราดด้วยสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 0 1.5 2.0 และ 2.5% เมื่อเก็บเป็นเวลา 21 วัน ที่ $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$

อายุการเก็บ (วัน)	คะแนนการยอมรับโดยรวม + SD			
	ระดับความเข้มข้นของกรดแลคติกที่ใช้ (%v/v)			
	0%	1.50%	2.00%	2.50%
0	5.5 + 0.5 ^b	5.5 + 1.1 ^b	5.7 + 0.9 ^a	5.8 + 0.8 ^a
1	5.5 + 1.1 ^b	5.5 + 0.8 ^b	5.5 + 0.8 ^b	5.8 + 1.0 ^a
3	5.4 + 1.1	5.5 + 0.5	5.4 + 1.1	5.5 + 0.8
5	5.3 + 0.9	5.4 + 1.1	5.4 + 1.1	5.5 + 0.8
7	5.2 + 1.0	5.2 + 0.6	5.3 + 0.5	5.4 + 0.7
14	5.2 + 0.6	5.2 + 0.7	5.2 + 1.0	5.4 + 0.8
21	5.1 + 0.9	5.1 + 1.0	5.1 + 0.6	5.3 + 0.9

ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เป็นการเปรียบเทียบผลของสารต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านการยอมรับโดยรวม ในตัวอย่างที่อายุการเก็บเท่ากัน

ตารางที่ 4.14 คะแนนเฉลี่ยของการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไส้กรอกไก่อิมัลชันนมควั่น ที่ราดด้วยสารละลายกรดแลคติกที่ระดับความเข้มข้น 0 1.5 2.0 และ 2.5% เมื่อเก็บเป็นเวลา 21 วัน ที่ $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$

กลุ่ม	คะแนนเฉลี่ย + SD				
	สี	ลักษณะปรากฏ	กลิ่นรส	เนื้อสัมผัส	การยอมรับรวม
0 %	4.4 + 0.62 ^b	4.5 + 0.46 ^b	4.5 + 0.46 ^b	4.8 + 0.38 ^a	5.3 + 0.87 ^a
1.5 %	4.4 + 0.69 ^b	4.6 + 0.52 ^b	4.7 + 0.42 ^a	4.7 + 0.42 ^a	5.3 + 0.84 ^a
2.0 %	4.6 + 0.45 ^a	4.7 + 0.45 ^a	4.7 + 0.48 ^a	4.7 + 0.51 ^a	5.4 + 0.85 ^a
2.5 %	4.7 + 1.1 ^a	4.8 + 0.38 ^a	4.8 + 0.37 ^a	4.7 + 0.46 ^a	5.5 + 0.85 ^a

ตัวอักษร ที่แตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) เป็นการเปรียบเทียบผลของความเข้มข้นของกรดแลคติกต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไส้กรอกไก่อิมัลชันนมควั่น ที่ราดด้วยกรดแลคติกความเข้มข้น 0 1.5 2.0 และ 2.5%

จากตารางที่ 4.14 พบว่าระดับความเข้มข้นของกรดแลคติกไม่มีผลทำให้เกิดความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ด้านเนื้อสัมผัส และการยอมรับโดยรวม โดยในกลุ่มตัวอย่างควบคุมและกลุ่มตัวอย่างที่ราดด้วยกรดแลคติกทุกระดับความเข้มข้น จะมีคะแนนไม่แตกต่างกัน โดย โอรส รักษาติ (2537) อธิบายว่า กรดแลคติก ไม่มีผลกับเนื้อสัมผัสเนื่องจากการเกิดเนื้อสัมผัสขึ้นอยู่กับการเกิดเป็น emulsion ว่าเกิดได้ดีเพียงใด ซึ่งความแตกต่างของปริมาณกรดที่ใช้อาจไม่เพียงพอที่จะส่งผลกระทบต่อเกิด emulsion จึงทำให้เนื้อสัมผัสของกลุ่มตัวอย่างทั้งหมดเป็นไปอย่างสม่ำเสมอ ๆ กัน จนผู้ทดสอบไม่สามารถบอกความแตกต่างของลักษณะเนื้อสัมผัสได้

คะแนนเฉลี่ยการทดสอบทางประสาทสัมผัสทางด้านสี ลักษณะปรากฏ และกลิ่นรสของกลุ่มตัวอย่างที่ราดด้วยกรดแลคติกความเข้มข้น 2.0 และ 2.5% มีความแตกต่างกับตัวอย่างที่ราดด้วยกรดแลคติก 1.5% และกลุ่มตัวอย่างควบคุม อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) โดยในกลุ่มที่ราดด้วยกรดแลคติก 2.0 และ 2.5% ให้คะแนนเฉลี่ยที่สูงกว่าตัวอย่างควบคุม และตัวอย่างที่ราดด้วยกรดแลคติก 1.5% แสดงว่าระดับความเข้มข้นของกรดแลคติกมีผลทำให้เกิดความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) คือความเข้มข้นที่สูงส่งผลให้สี ลักษณะปรากฏ และกลิ่นรสของตัวอย่างดีขึ้น

ซึ่งผลการวัดสีด้วยเครื่องมือจะสัมพันธ์กับคะแนนสีที่วัดโดยวิธีทางประสาทสัมผัส ผลด้านลักษณะปรากฏ และกลิ่นรสจะแปรผันกับระดับความเข้มข้นของกรดแลคติกที่ใช้ คือ การกรดด้วยกรดแลคติกความเข้มข้นสูงจะส่งผลให้คะแนนลักษณะปรากฏสูงด้วย

การทดสอบทางประสาทสัมผัสด้าน สี ลักษณะปรากฏ กลิ่นรส เนื้อสัมผัส และการยอมรับโดยรวมจะแปรผันกับการเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ เพราะว่าเมื่อปริมาณจุลินทรีย์เพิ่มมากขึ้นคะแนนการทดสอบดังกล่าวจะลดลง เมื่ออายุการเก็บเพิ่มขึ้น ผลการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของการศึกษาครั้งนี้ให้ผลการศึกษาล้ำกับของ โอไรส รักชาติ (2537) ที่ทำการแช่ใส่กรอกเวียนนาด้วยกรดแลคติกที่ความเข้มข้น 0 1.0 1.5 และ 2.0% พบว่าระดับความเข้มข้นของกรดที่สูงจะแปรผันตรงกับคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้าน สี ลักษณะปรากฏ กลิ่นรส เนื้อสัมผัส และการยอมรับโดยรวม

จากการศึกษาผลของระดับความเข้มข้นของกรดแลคติกความเข้มข้น 0 1.5 2.0 และ 2.5 % พบว่าความเข้มข้นของกรดแลคติกที่ 2.0 และ 2.5% ทำให้คุณภาพทางประสาทสัมผัสดีขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างในกลุ่มควบคุม ดังนั้นการเลือกใช้ระดับกรดแลคติกจึงควรคำนึงถึงผลในการยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เป็นสำคัญ จากการศึกษาครั้งนี้ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมในด้านการลดจำนวนจุลินทรีย์เพื่อยืดอายุการเก็บรักษา และทำให้คุณภาพทางประสาทสัมผัสดีขึ้น คือ กรดแลคติกความเข้มข้น 2.5%

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

5.1 การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในขั้นตอนก่อนการทำให้สุก หลังจากการทำให้สุก และในผลิตภัณฑ์ที่บรรจุในถุงปิดสนิท สรุปได้ดังนี้

5.1.1 ผลการศึกษาการตรวจหาปริมาณจุลินทรีย์ที่เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงคุณภาพ ได้แก่ Total Plate Count ในกระบวนการผลิตทั้งหมด 5 จุด ดังนี้ ไล่กรอกที่อัดไล่ก่อนเข้าตู้อบ ไล่กรอกหลังออกจากตู้อบ (ก่อนฉีดน้ำ) ไล่กรอกหลังการฉีดน้ำ ไล่กรอกหลังจากออกจากเครื่องตัด และไล่กรอกที่บรรจุในถุงปิดสนิท ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ตรวจนับพบเชื้อในกระบวนการผลิตข้างต้นจำนวน $4.59 + 0.21$, $2.23 + 0.09$, $2.22 + 0.07$, $3.21 + 0.05$ และ $3.42 + 0.23$ Log cfu/g ตามลำดับ และมีปริมาณ Coliforms เท่ากับ $4.29 + 0.08$, 0 , $1.44 + 0.17$, $2.19 + 0.07$ และ $2.65 + 0.06$ log cfu/g. ตามลำดับ

5.1.2 ผลการศึกษาการตรวจหาจุลินทรีย์ที่เป็นดัชนีบ่งชี้ความปลอดภัยในอาหาร ได้แก่ *Salmonella* spp. และ *Staph. aureus* ในกระบวนการผลิตไล่กรอกไก่อิมัลชันรมควัน สรุปว่าในกระบวนการผลิตดังกล่าวตรวจไม่พบเชื้อทั้ง 2 ชนิด

5.2 ผลของความเข้มข้นของกรดแลคติกต่อการลดจำนวนเชื้อ *A. caviae* ที่คัดแยกได้จากกระบวนการผลิตไล่กรอกไก่อิมัลชันรมควันภายหลังการทำให้สุกในหลอดทดลอง พบสรุปได้เป็นข้อ ๆ ดังนี้

5.2.1 ปริมาณเชื้อ *A. caviae* ที่ระดับ 10^2 cfu/ml สารละลายกรดแลคติกที่ความเข้มข้น 1.5 2.0 และ 2.5% มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อได้ดีที่สุด โดยไม่พบจำนวนโคโลนีของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ในช่วงเวลา 5 นาที 1 นาที และ 1 นาที ตามลำดับ

5.2.2 ปริมาณเชื้อ *A. caviae* ที่ระดับ 10^4 cfu/ml สารละลายกรดแลคติกที่ความเข้มข้น 1.5 2.0 และ 2.5% มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อได้ดีที่สุด โดยไม่พบจำนวนโคโลนีของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ในช่วงเวลา 10 นาที 1 นาที และ 1 นาที ตามลำดับ

5.2.3 ปริมาณเชื้อ *A. caviae* ที่ระดับ 10^6 cfu/ml สารละลายกรดแลคติกที่ความเข้มข้น 1.5 2.0 และ 2.5% มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อได้ดีที่สุด โดยไม่พบจำนวนโคโลนีของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ในช่วงเวลา 15 นาที 1 นาที และ 1 นาที ตามลำดับ

5.3 ผลของกรดแลคติกต่อการลดจำนวนของเชื้อ *A. caviae* ระดับ 2 log cfu / g ที่แยกได้จากกระบวนการผลิตในไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควันด้วยวิธีการราด

ผลของสารละลายกรดแลคติกที่ระดับความเข้มข้น 0 1.5 2.0 และ 2.5% ต่อจำนวนเชื้อ *A. caviae* ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 0 1 3 5 7 14 และ 21 วัน สรุปได้ว่าสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 2.5% สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้ดีที่สุด คือ สามารถยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ได้มากกว่า 21 วัน โดยปริมาณเชื้อไม่เกินมาตรฐานที่สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ ได้กำหนดมาตรฐานของสินค้าประเภทไส้กรอกไว้ว่าต้องมี Coliforms ไม่เกิน 500 cfu/g ในขณะที่ ความเข้มข้น 1.5 และ 2.0% มีปริมาณ Coliforms เกิน 500 cfu/g ในวันที่ 7 และ 14 ของการเก็บรักษา

ผลการทดสอบการเปลี่ยนแปลงของสีด้วยเครื่อง chromameter และผลเฉลี่ยการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไส้กรอกที่ผ่านการราดด้วยกรดแลคติกที่ความเข้มข้น 2.0 และ 2.5% จะมีผลให้สี ลักษณะปรากฏ และกลิ่นรสดีกว่ากลุ่มตัวอย่างควบคุม และกลุ่มที่ราดด้วยกรดแลคติก 1.5% อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ตามลำดับ ดังนั้นในการตัดสินใจเลือกใช้ปริมาณความเข้มข้นของกรดแลคติกในการศึกษาครั้งนี้จึงขึ้นอยู่กับผลในการยืดอายุการเก็บรักษาให้ผลิตภัณฑ์อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน ที่สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติกำหนดมาตรฐานของสินค้าประเภทไส้กรอกไว้ว่า ต้องมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่เกิน 1.0×10^6 cfu/g, Coliforms ไม่เกิน 500 cfu/g, *E. coli* ไม่เกิน 3 cfu/g, ไม่พบ *Salmonella* spp. ในตัวอย่าง 25 g, *Staph. aureus* ต้องไม่พบต่อตัวอย่าง 1 g และ *Clostridium perfringens* ต้องไม่พบ ต่อตัวอย่าง 0.01 g ตามลำดับ

ข้อเสนอแนะ

1. การทดลองต่อไปควรศึกษาเปรียบเทียบวิธีการใช้กรดแลคติก เช่น วิธีการแช่ด้วยกรดแลคติก โดยแช่ตัวอย่างด้วยกรดแลคติกขณะไปทำให้เย็นก่อนนำเข้าเครื่องตัด หรือตัวอย่างก่อนการบรรจุ
2. ควรศึกษาเปรียบเทียบวิธีการใช้กรดแลคติกในการยืดอายุการเก็บ เมื่อใช้ใส่บรรจุต่างกัน โดยพิจารณาผลทางอายุการเก็บ และผลทางประสาทสัมผัส
3. ควรศึกษาผลของอุณหภูมิ และสภาวะการบรรจุในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ โดยพิจารณาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์
4. เปรียบเทียบผลด้านอายุการเก็บรักษากับผลิตภัณฑ์ที่ใช้ benzoate / sorbate และ ผลิตภัณฑ์ที่ใช้ทั้งกรดแลคติก ร่วมกับ benzoate / sorbate เป็นวัตถุดิบเสีย โดยพิจารณาผลในด้านการยืดอายุการเก็บ ทางประสาทสัมผัส และทางเศรษฐศาสตร์

เอกสารอ้างอิง

- จุฑารัตน์ เลี่ยนกัตวา. 2545. ผลของกรดกลูโคนิก กรดแอสคอร์บิก และสารในชินต่อการลดจำนวนเชื้อ *Salomonella derby* และ เชื้อ *E. coli* ในเนื้อสุกร. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2545. “กระบวนการแปรรูปเนื้อสัตว์.” หน้า1-4. ใน การฝึกอบรมหลักสูตรการประกอบธุรกิจผลิตภัณฑ์เพิ่มมูลค่าจากเนื้อสุกร. 14-31 ตุลาคม 2545 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพมหานคร.
- ชัยณรงค์ คันธพนิต. 2529. วิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์ไทยวัฒนาพานิช. หน้า 169-192.
- ดวงพร คันธโชติ. 2537. อนุกรมวิธานของแบคทีเรียและปฏิบัติการ. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.
- พวงพร โชติไกร. 2525. จุลชีววิทยาของอาหารและนม. กรุงเทพมหานคร : ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง.
- ชัยณรงค์ คันธพนิต. 2529. วิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์. กรุงเทพฯ : วัฒนาพานิชย์.
- นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ. 2539. จุลชีววิทยาทั่วไป. กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 84 พ.ศ. 2527. ข้อ 4(8)พระราชบัญญัติอาหาร.พ.ศ. 2522
- เยาวลักษณ์ สุรพันธ์พิศิษฐ์. 2536. เทคโนโลยีเนื้อสัตว์. กรุงเทพฯ : คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- ศิวาพร ศิวเวช. 2535. วัตถุประสงค์อาหารในผลิตภัณฑ์อาหาร. นครปฐม : ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน.
- สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2545 ก. การสุขาภิบาลอาหาร. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.
- สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2545 ข. จุลชีววิทยาทางอาหาร. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.
- สุมาลี เหลืองสกุล. 2541. จุลชีววิทยาทางอาหาร. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒประสานมิตร.
- อดิศร เสวตวิวัฒน์ ปรีชา จึงสมานกุล มั่นชานา พันธุ์บัวหลวง และอรุณ บำงตระกูลนนท์. 2537. “การศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์เนื้อที่จำหน่ายในเขตกรุงเทพมหานคร.” วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 12 : 15-24.

- โอรส รักชาติ. 2537. การยืดอายุการเก็บไส้กรอกเวียนนาโดยใช้กรดแลคติก. วิทยานิพนธ์
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์
มหาวิทยาลัย
- Adam, M.R. and Hall, C.J. 1988. Growth inhibition of food-borne pathogens by lactic
and acetic acid and their mixture. *Int. Food Sci & Technol.* 23: 287-292.
- Adams, M.R. and Moss, M.O. 1995. Chapter 4 The Microbiology of Food Preservation .
Food Microbiology. Cambridge : The Royal Society of Chemistry : 55-102.
- Altwegg, M. 1985. *Aeromonas* : an enteric pathogen. *Infection* . 13:228-230.
- Altwegg, M. and Geiss, H.K. 1989. *Aeromonas* as a human pathogen. *CRC Critical
Reviews in Microbiology.* 16:253–286.
- Anderson, M.E. 1990. Reducing microbial population on beef tissue : Concentration and
Temperature of lactic acid. *J. Food Saf.* 10 : 131-190.
- Bacteriological Analytical manual. 2002. Enumeration of *Escherichia coli* and the
Coliform Bacteria. [Online]. Available word wide web, :
<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam-4.html> (Accessed 8 July 2007)
- Bauerman, J.F. 1979. Processing of poultry products with or without Sodium nitrite. *J.
Food Tech.* 33 : 42.
- Bampalia, I.M., Geomaras, I., belk, K.E., Scanga, J.A., Kendall, P.A., Smith, G.C. and
Sofos, J.N. 2004. Control of *Listeria monocytogenes* on Frankfurters with
Antimicrobials in the Formulation and by Dipping in Organic Acid Solution. *J.
Food Prot.* 67 : 2456-2464.
- Blom, H., Nerbrink, E., Dainty, R., Hagtvedt, T., Broch, E., Nissen, H. and Nesbakken, T.
1997. Addition of 2.5% acetate control growth of *Listeria monocytogenes* in
vacuum-packed, sensory-acceptable serelat sausage and cooked ham stored
at 4 °C. *Int. J. Food Microbiol.* 38 : 71-76.
- Borch, E., Nerbrink, E. and Svensson, P. 1988. Identification of major contamination
sources during processing of emulsion sausage. *Int. J. Food Microbiol.* 7 : 317-
330.
- Brown, M.H. 1982. *Meat Microbiology.* London : Applied Science Publishers.
- Camahan, A.M., Altwegg, M. 1996. Taxonomy. In: Austin B et al., eds. *The genus
Aeromonas.* London, Wiley: 1–38.

- Colwell, R.R., MacDonell, M.R., De Ley, J. 1986. Proposal to recognize the family *Aeromonadaceae* fam. **Int. J. Systematic Bacteriology**. 36:473–477.
- Dennis, S.H., Hazel, M.A., Titi, A. and Rainer, P. 2004. Recommended Test panel for Differentiation of *Klebsiella* species on the Basis of a Trilateral Interlaboratory Evaluation of 18 Biochemical Test. **J. Clinic. Micro.** 42 : 3665-3669.
- Dickson, J.S. 1992. Acetic acid action on Beef tissue surface contaminate with *Salmonella typhimurium*. **J. Food Prot.** 57 : 297-301.
- Doores, S. 1993. Organic acid. pp. 75-103. In. Branen, A.L. and Darson, P.M. (ed). *Antimicrobial in Food*. Marcel Dekker, Inc, New York.
- Dubal, Z.B., Paturkar, A.M., Waskar, V.S., Zende, R.J., Latha, C., Rawool, D.B., and Kadam, M.M. 2004. Effect of food grade organic acids on inoculated *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli* and *S. Typhimurium* in sheep/goat meat stored at refrigeration temperature. **Meat Science**. 66 : 817-821.
- Freese, E., Sheu, C.W. and Galliers, E. 1973. Function of lipophilic acids as antimicrobial food additive. **Nature**. 241 : 321-325.
- Gavriel, A.A., Landre, J.P. and Lamb, A.J. 1998. Incidence of mesophilic *Aeromonas* within a public drinking water supply in north-east Scotland. **J. Applied Microbiology**. 84 : 383-392.
- Geornaras, I., Skandamis, P.N., Belk, K.E., Scanga, J.A., Kendall, P.A., Smith, G.C. and Sofos, J.N. 2005. Post - processing antimicrobial treatments to control *Listeria monocytogenes* in commercial vacuum – packaged bologna and ham stored at 10°C. **J. Food Prot.** 68 : 991-998.
- Gill, C.O. and Jones, T. 1995. The presence of *Aeromonas*, *Listeria* and *Yersinia* in carcass processing equipment at two pig slaughtering plants. **J. Food Micro.** 12 : 135-141.
- Graf, J., Dunlap, P. V. and Ruby, E. G. 1994. Effect of transposon-induced motility mutations on colonization of the host light organ by *Vibrio fischeri*. **J. Bacteriol.** 176 : 6986–6991.
- Greer, G.C. and Dilts, B.D. 1992. Factors affecting the susceptibility of meat borne pathogen and spoilage bacteria to organic acids. **Food Research International**. 25 : 335-364.

- Holten, C.H. 1971. Lactic Acid Weinheim : Verlag chemie Gmbh.
- ISO 6888:1999(E), Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs-Horizontal Method for the enumeration of coagulase – position *Staphylococci* (*Staphylococcus aureus* and other species) – Part 1 : technique using Baird – parker agar medium, pp. 4-6.
- ISO 4866:2003(E), Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs-Horizontal Method for the enumeration of microorganisms-Colony-count technique at 30°C, pp. 1-9.
- ISO 6579:2002(E), Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs-Horizontal Method for the detection of *Salmonella* spp., pp. 1-23.
- Janda, J.M., Duffey, P.S. 1988. Mesophilic aeromonads in human disease : current taxonomy, laboratory identification, and infectious disease spectrum. **Reviews in Infectious Diseases**. 10:980–987.
- Janda, J.M., Abbott, S.L., Khashe, S., Kellogg, G.H., and Shimada, T. 1996. Further Studies on Biochemical characteristic and serologic Properties of the Genus *Aeromonas*. **J. Clinical Microbiology**. 34 : 1930-1933.
- Kerstens, I., Van, L., Hug, G., Jassen, P., Kersters, K. and Verstraet, W. 1995. Influence of temperature and process technology on the occurrence of *Aeromonas* species and hygienic indicator organisms in drinking water production plants. **Microbial Ecology**. 30 : 203-218.
- Kramlich, W.E., Pearson, A.M. and Tauber, F.W. 1973. Process Meat. AVI Publ., Westport.
- Krusch, U. 1978. Ernährungsphysiologische Gesichtspunkte der L(+) und D(-) Milchsäure in Sauermilchprodukten. **Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichten**. 30 : 341-346.
- Metaxopoulos, J., Kritikos, D. and Prosinos, E.H. 2002. Examination of microbiological parameters relevant to the implementation of GMP and HACCP system in Greek meat industry in the production of cooked sausages and cooked cured meat products. **Food Control**. 14 : 323-332.
- Mrema, N., Mpuchane, S. and Gashe, B.A. 2006. Prevalence of *Salmonella* in raw minced meat, raw fresh sausages and raw burger patties from retail outlets in Gaborone, Botswana. **Food Control**. 17 : 207-212.

- Mohamed, A.A. and Nassar, A.M. 2004. Occurrence of *Klebsiella* in some meat products and the effect of Cold storage and some meat additive on its growth rate in Assiut. **J. Veterinary Medical**. 50 : 50-62.
- Nichols, G.L. 1996. Fact Sheets on Emerging Waterborne Pathogens: Final Report to the Department of the Environment: *Aeromonas hydrophila*. WRc and Public Health Laboratory Service. DWI 4248/1.
- Pearson, A.M. and Gillett, T.A. 1996. Processed Meats. New York : Chapman & Hall.
- Pipek, P. and Baco, B. 1997. Lactic acid : Meat surface decontaminant II. **Maso**. 8 : 65-68.
- Pipek, P., Houska, M., Jelenikova, J., Ky'hos, K., Hoke, K. and Sikulova', M. 2005. Microbial decontamination of beef carcasses by combination of steaming and lactic acid spray. **J. Food Engineering** . 67 : 309-315.
- Pipek, P., Houska, M., Jelenikova, J., Ky'hos, K., Hoke, K., and Sikulova', M. 2006. Decontamination of pork carcasses by steam and lactic acid. **J. Food Engineering**. 74 : 224-31.
- Podschhun, R. and Ullmann, U. 1998. *Klebsiella* spp. As nosocomial pathogen : epidemiology, taxonomy, typing method and pathogenicity factors. **Clinical Microbiology Review**. 11 : 589-603.
- Popoff, M. 1984. Genus III *Aeromonas* Kluver and van Niel 1936 398AL. In: Krieg NR, Holt JG, eds. **Bergey's manual of systematic bacteriology**, Vol. 1. Baltimore, MD, Williams & Wilkins : 545-548.
- Price, L.G. and Greene, B.E. 1978. Factors affecting panelists perceptions of cured meat flavor. **J. Food Science**. 43 : 319.
- Rice, K.M. and Pierson, M.D. 1982. Inhibition of *Salmonella* by sodium nitrite and potassium sorbate in frankfurter. **J. Food Sci**. 47 : 1615.
- Romans, J.R. and Ziegler, P.T. 1977. *The Meat We Eat*. Illinois : Interstate Printers & Publisher.
- Sachindra, N.M., Sakhare, P.Z., Yashoda, K.P. and Narasinha, D.R. 2005. Microbial profile of buffalo sausage during processing and storage. **Food Control**. 16 : 31-35.

- Shrestha, S. and Min, Z. 2006. Effect of Lactic acid pretreatment on the quality of Fresh Pork packed in modified Atmosphere. *J. Food Engineering*. 72 : 254-260.
- Shay, B.J., Gram, F.H., Ford, A.L., Ratchiff, D. and Egan. 1978. Microbiological quality and storage life of sliced vacuum-packed smallgoods. *J. Food Tech. Aust.* 30 : 48.
- Siragusa, G.R. 1995. The effectiveness of carcass decontamination system for controlling the presence of pathogens on the surface of meat animal carcasses. *J. Food Safety*. 15 : 229-238.
- Smulders, F.J.M. and Woolthuis, C.H.J. 1993. Influence of two levels of hygiene on the microbiological condition of veal as a products of two slaughtering / processing sequences. *J. Food Prot.* 46: 1032 – 1035.
- Snijder, J.M.A., Van Log testijn, J.G., Mossel, D.A.A. and Smulders, F.J.M. 1985. Lactic acid as a decontaminant in the meat industry. *Proc. Eur. Meet. Meet. Res. Work.* 303 : 232-233.
- Surkiewicz, F.F., Johnston, R.W. and Carosella, J.M. 1977. Bacteriological survey of frankfurters produced at establishments under federal inspection. *J. Milk Food*.
- Vila, J., Ruiz, J., Gallardo, F., Vargas, M., Solert, L., Figueras, M.J. and Gascom, J. 2003. *Aeromonas* spp. And Traveler's Diarrhea : Clinical Features and Antimicrobial Resistance. *Emerging Infectious Disease*. 9 : 552-555.
- Vreeman, G. 1985. Lactic acid : A versatile Ingredient. *Food Flav. Ingrid. Proc. Pkg.* 7 : 44-45, 62.
- Woolthuis., C.H.J. and Smulders, F.J.M. 1985. Microbial decontamination of calf carcasses by lactic acid sprays. *J. Food Prot.* 48 : 832 – 837.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก.
การตรวจวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา

ภาคผนวก ก.

การตรวจวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา

ก. 1 การทดสอบทาง Biochemical Test และ การทดสอบคุณสมบัติทาง Serological Test ของเชื้อ *Salmonella* spp.

ก . 1.1 การทดสอบทาง Biochemical Test

- Tube Urea Slant ใช้ Needle แตะเชื้อแล้ว streak ลงไป นำไปบ่มที่อุณหภูมิ $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 24 ± 3 ชั่วโมง ลักษณะที่ Positive ของ Urea agar จะเปลี่ยนเป็นสีชมพูแดงถึงแดงเข้ม แต่ถ้าเป็นเชื้อ *Salmonella* Urea agar จะให้ผล Negative โดย Urea agar จะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง

- ทดสอบ ONPG DISC แตะเชื้อ *Salmonella* ใน Plate NA agar Stab ลงใน Tube ที่มี NS 0.85% ประมาณ 1 ml. 1 Tube และนำเชื้อ *E. coli* Stab ลงใน Tube Normal Saline solution 0.85% อีก 1 Tube (เชื้อ *E. coli* เป็น Negative control) นำทั้ง 2 Tube ไปบ่มที่อุณหภูมิ $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ประมาณ 5 นาที แล้วนำ ONPG DISC ใส่ลงใน Tube ทั้ง 2 ที่มีเชื้ออยู่ นำเข้าบ่มที่ อุณหภูมิ $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 24 ± 3 ชั่วโมง จากนั้นนำออกมาอ่านผล

Tube NS ที่เติมเชื้อ *Salmonella* ONPG DISC จะไม่เปลี่ยนสี

Tube NS ที่เติมเชื้อ *E. coli* ONPG DISC จะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง

- ทดสอบ VP reaction แตะเชื้อ *Salmonella* ใน Plate NA agar Stab ลงใน Tube ที่บรรจุ VP Medium นำไปบ่มที่อุณหภูมิ $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 24 ± 3 ชั่วโมง ทดสอบ VP โดยหยด 5% α Naphthol Solution 3 หยดและหยด 40% KOH Solution 1 หยด ทิ้งไว้ 15 นาที ลักษณะที่ Positive ของเชื้อ *Salmonella* ผล VP ต้องไม่เปลี่ยนสี ปฏิกริยา VP เป็นการตรวจ acetylmethyl carbinol ที่ได้จากการที่เชื้อใช้น้ำตาลกลูโคส

- ทดสอบ Indole Reaction โดยใช้ loop แตะเชื้อ *Salmonella* ใน Plate NA agar Stab ลงใน Tube ที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptone 5 ml. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 24 ± 3 ชั่วโมง แล้วนำมาทดสอบ โดยหยด Kovac's Reagent 1 ml. สังเกตผล Indole ลักษณะที่พบเชื้อ *Salmonella* จะไม่เกิด Ring สีแดง (negative reaction) เนื่องจากเชื้อ *Salmonella* ไม่ย่อยสามารถน้ำตาล Tryptone ได้

จะสรุปว่าตรวจพบเชื้อ *Salmonella* ก็ต่อเมื่อ Biochemical Test เกิดลักษณะข้างต้นทุกประการ จะเกิดอย่างใดอย่างหนึ่งไม่ได้

การอ่านผล Positive ของตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อ *Salmonella*

TSI	LIA	Urea slant	ONPG DISC	VP	Indole
S / B / H ₂ S	S / B / H ₂ S				
1. R / Y / + -	1. P / P / + -	- Ve	- Ve	- Ve	- Ve
2. Y / Y / +	2. P / P / +	- Ve	- Ve	- Ve	- Ve
3. R / R / -	3. P / Y / -	- Ve	- Ve	- Ve	- Ve

S = Slant, B = Butt, H₂S = Hydrogen sulfide, - = Negative
R = Red, Y = Yellow, P = Purple, + = Positive

จะสรุปว่าตรวจพบเชื้อ *Salmonella* spp. ก็ต่อเมื่อผล Biochemical Test เกิดดังลักษณะข้างต้นทุกประการ จะเกิดอย่างใดอย่างหนึ่งไม่ได้

ก. 2 การทดสอบขั้นยืนยันเชื้อ *Staph. aureus*

ก. 2.1 การ Confirmation *Staph. aureus*

- นำ Colonies ที่สงสัยพบเชื้อทั้ง 3 แบบ ลงใน Brain Heat Infusion (BHI) บ่มในตู้บ่ม $37 \pm 1^\circ\text{C}$ นาน 18 - 24 ชั่วโมง

- ทำ Coagulase Test เพื่อ Confirm *Staph. aureus* โดยใช้ Loop ตะเชื้อจาก BHI ใส่ลงใน Tube ที่มี Rabbit Plasma 0.5 ml. ผสมให้เข้ากันนำไปบ่มที่อุณหภูมิ $37 \pm 1^\circ\text{C}$ นาน 4 - 24 ชั่วโมง

- อ่านผลที่ 4 ชั่วโมง โดยเอียงหลอดดูว่ามีอาการแข็งตัว (clot) ของ Rabbit plasma ที่กั้นหลอดให้รายงานผลเป็น Positive ถ้ายังไม่ Clot นำเข้าบ่มต่อจนครบ 24 ชั่วโมง แล้วตรวจผลอีกครั้ง

- ใช้ Loop ตะเชื้อใน BHI และ Smear ลงบน DNASE agar ที่เตรียมไว้ บ่มในตู้บ่ม $37 \pm 1^\circ\text{C}$ นาน 18-24 ชั่วโมง นำออกมาหยดด้วย 1 N HCL. ลักษณะที่ Positive จะเกิด Clear Zone ใสขึ้นรอบ ๆ จุดที่ Smear

- การอ่านผล ลักษณะของ Biochem ต้องเกิดดังต่อไปนี้จึงสรุปว่าตรวจพบเชื้อ *Staph. aureus* จะเกิดลักษณะใดลักษณะหนึ่งไม่ได้

	4 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
Rabbit plasma	+ (clot)	+ (clot)
DNASE agar		+ (เกิด Clear zone ใส รอบ ๆ เชื้อ)

- ถ้าผลการทดสอบของตัวอย่าง เกิดลักษณะตามข้างต้น ให้รายงานผลว่าตรวจพบเชื้อ *Staph. aureus*

ภาคผนวก ข
แบบทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส

ภาคผนวก ข

แบบทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส

ข.1 แบบทดสอบการประเมินผลทางประสาทสัมผัส ของไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควัน

ทดสอบผลิตภัณฑ์ด้วยการชิม แล้วให้คะแนน กรุณาพิจารณาลักษณะของผลิตภัณฑ์และทดสอบ แล้วให้คะแนนตามรายละเอียดที่กำหนดให้ดังนี้

สี : คะแนน

- 5 สีซึ่งมีอยู่ตามปกติของผลิตภัณฑ์
- 4 สีใกล้เคียงกับสีปกติของผลิตภัณฑ์ แต่อาจเข้มหรือจางกว่าเล็กน้อย
- 3 สีใกล้เคียงกับสีปกติของผลิตภัณฑ์ แต่ไม่สม่ำเสมอเนื่องจากกรรมวิธีการผลิต
- 2 สีแตกต่างจากสีปกติของผลิตภัณฑ์อย่างเห็นได้ชัดเจน
- 1 สีเขียวคล้ำหรือสีผิดปกติเนื่องจากจุลินทรีย์

ลักษณะปรากฏ : คะแนน 5 ลักษณะปกติของไส้กรอกทั่วไป

- 4 เริ่มมีลักษณะเยิ้มปรากฏ
- 3 มีลักษณะเยิ้มเป็นเมือก สังเกตเห็นได้
- 2 มีเมือกสีเห็นได้ชัดเจน
- 1 มีเมือกสีเข้มมาก และเริ่มเกิดโคโลนีของจุลินทรีย์

กลิ่นรส : คะแนน

- 5 กลิ่นรสเฉพาะของไส้กรอก หอมน่ารับประทาน และมีรสอร่อย
- 4 กลิ่นรสเฉพาะของไส้กรอก หอมน่ารับประทาน แต่มีรสจัดหรืออ่อนเกินไปเล็กน้อย
- 3 กลิ่นรสเฉพาะของไส้กรอก หอมน่ารับประทาน แต่มีรสจัดหรืออ่อนเกินไปมาก
- 2 กลิ่นเปลี่ยนแปลงไปจากผลิตภัณฑ์ปกติเล็กน้อย
- 1 กลิ่นหืน เหม็นเปรี้ยว หรือบูดเน่า

ลักษณะเนื้อสัมผัส : คะแนน

- 5 เนื้อละเอียดเป็นเนื้อเดียวกัน มีความแน่นเนื้อเป็นปกติของผลิตภัณฑ์
- 4 เนื้อละเอียดเป็นเนื้อเดียวกันค่อนข้างดี มีความแน่นเนื้อมากหรือน้อยกว่าปกติเล็กน้อย
- 3 เนื้อละเอียดเป็นเนื้อเดียวกันพอใช้ ค่อนข้างหยาบมีฟองอากาศบ้าง
- 2 เนื้ออยู่ มีฟองอากาศ มีน้ำและน้ำมันเริ่มแยกตัวออกมา
- 1 เนื้ออยู่ มีฟองอากาศ มีน้ำและน้ำมันแยกตัวออกเห็นได้ชัดเจน

การยอมรับรวม : คะแนน

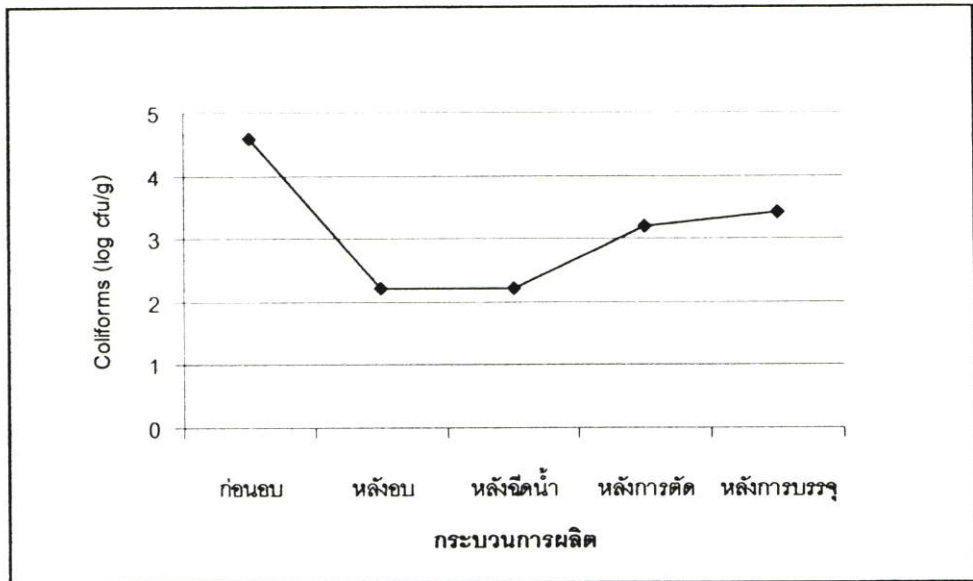
- 7 ชอบมาก
- 6 ชอบปานกลาง
- 5 ชอบเล็กน้อย
- 4 เฉยๆ
- 3 ไม่ชอบเล็กน้อย
- 2 ไม่ชอบปานกลาง
- 1 ไม่ชอบมาก

	ตัวอย่าง						
ลักษณะทางประสาทสัมผัส							
สี							
ลักษณะปรากฏ							
กลิ่นรส							
ลักษณะเนื้อสัมผัส							
การยอมรับโดยรวม							

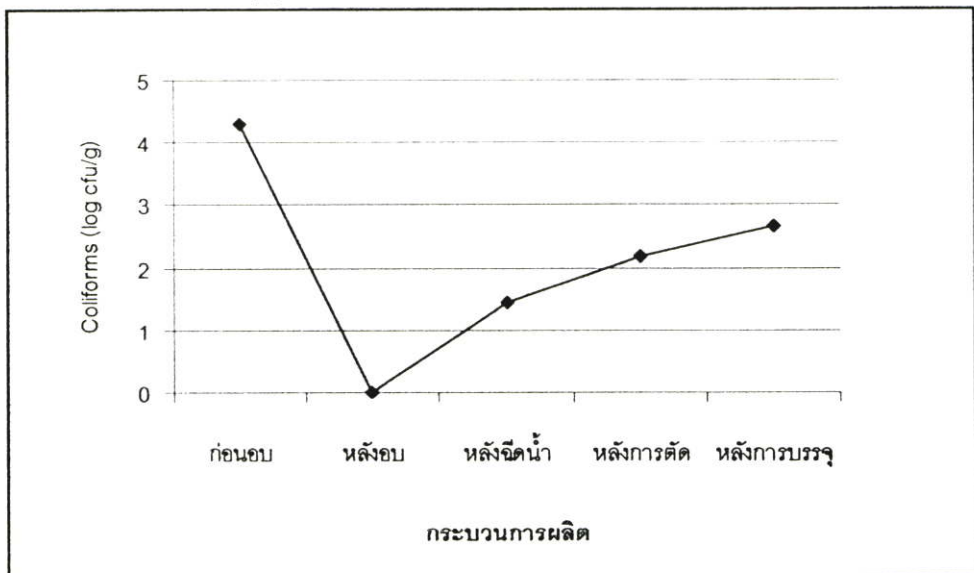
ภาคผนวก ค
ผลการทดลอง

ภาคผนวก ค

ผลการทดลอง



ภาพที่ ค. 1 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ปนเปื้อนผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควัน ในขั้นตอนก่อนการทำให้สุก ภายหลังจากอบ ภายหลังจากการฉีดน้ำ ภายหลังจากการตัดเป็นชิ้น และ ภายหลังจากบรรจุถุงปิดสนิท



ภาพที่ ค. 2 ปริมาณ Coliforms ที่ปนเปื้อนผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควัน ในขั้นตอนก่อนการทำให้สุก ภายหลังจากอบ ภายหลังจากการฉีดน้ำ ภายหลังจากการตัดเป็นชิ้น และ ภายหลังจากบรรจุถุงปิดสนิท

ตารางที่ ค. 1 ผลการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อ *K. pneumoniae* โดยสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์
สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

อาหารทดสอบทางชีวเคมี	ผลการทดสอบ <i>K. pneumoniae</i>	อาหารทดสอบทางชีวเคมี	ผลการทดสอบ <i>K. pneumoniae</i>
Gram strain	negative	D-Xylose	+
Hemolysis	-	Rhamnose	+
TSI	K/A	Sucrose	+
H ₂ S	-	Adonitol	+
Motility	-	L-Arabinose	+
Indole	-	Inositol	+
Citrate	+	Sorbitol	+
Urease	+	Raffinose	+
Esculin	+	Salicin	+
Malonate	+	LDA	-
VP	+	Lysine	+
Glucose Gas	+ / +	Arginine	-
Lactose	+	Ornithine	-
Maltose	+		

ภาคผนวก ง
สถานที่ผลิตไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควัน

ภาคผนวก ง
สถานที่ผลิตไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควัน



กระบวนการนำเอา emulsion อัดใส่ในไส้ และมัดเป็นท่อนในเครื่องอัดในมัด



ไส้กรอกภายหลังจากออกจากตู้อบ แล้วนำมาไว้ที่ลานพักเพื่อทำการลดอุณหภูมิของไส้กรอกด้วยการฉีบน้ำ



ไส้กรอกภายหลังจากการบรรจุใส่ถุงเพื่อรอการปิดปากถุงและเก็บเข้าคลังสินค้าเพื่อรอการจำหน่าย

ภาพที่ ง. 1 สถานที่ผลิตไส้กรอกไก่อิมัลชันรมควัน

ประวัติผู้เขียน

นางสาววรรณวิมล มัชฌม เกิดวันที่ 18 กันยายน 2522 ที่จังหวัดราชบุรี สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตร์บัณฑิต (วท.บ.) ในสาขาวิชาจุลชีววิทยา จากสถาบันราชภัฏสวนสุนันทา ปีการศึกษา
2544 และศึกษาต่อในระดับวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ณ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณ
ทหารลาดกระบัง สาขาวิชาสุขาภิบาลอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร ในปี พ.ศ. 2547 สำเร็จ
การศึกษาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วท.ม.) ในปีการศึกษา 2550