ผลของกรดกลูโคนิค กรดแอสคอร์บิก และสารไนซินต่อการลดจำนวนเชื้อ Salmonella derby และ เชื้อ E. coli ในเนื้อสุกร

EFFECTS OF GLUCONIC ACID ASCORBIC ACID AND NISIN ON SALMONELLA DERBY AND E. COLI REDUCTION IN PORK MEAT

จุฑารัตน์ เลี่ยนกัตวา
JUTHARAT LIENKATAWA

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร
บัณฑิตวิทยาลัย
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2545
ISBN 974-648-750-7

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ผลของกรดกลูโคนิค กรดแอสคอร์บิก และสารไนซินต่อการลดจำนวนเชื้อ *Salmonella derby* และ เชื้อ *E. coli* ในเนื้อสุกร

EFFECTS OF GLUCONIC ACID ASCORBIC ACID AND NISIN ON *SALMONELLA DERBY* AND *E. COLI* REDUCTION IN PORK MEAT

จุฑารัตน์ เลี่ยนกัตวา
JUTHARAT LIENKATAWA

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 43709
วัน, เดือน, ปี 30 ก.ย. 2545

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร
บัณฑิตวิทยาลัย
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2545

ISBN 974-648-750-7

EFFECTS OF GLUCONIC ACID ASCORBIC ACID AND NISIN ON *SALMONELLA DERBY* AND *E. COLI* REDUCTION IN PORK MEAT

JUTHARAT LIENKATAWA

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN FOOD SCIENCE
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
2002

ISBN 974-648-750-7

COPYRIGHT 2002
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของกรดกลูโคนิค กรดแอสคอร์บิก และสารไนซินต่อการลดจำนวนเชื้อ *Salmonella derby* และ เชื้อ *E. coli* ใน เนื้อสุกร
นักศึกษา	นางสาวจุฑารัตน์ เลี่ยนกัตวา
รหัสประจำตัว	4206602
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์การอาหาร
พ.ศ.	2545
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	ผศ.ดร.ประภาพร ขอไพบูลย์

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของสารละลายกรดแอสคอร์บิก สารละลายกรดกลูโคนิค สารละลายไนซิน และ สารละลายผสมของสารดังกล่าว ต่อการลดจำนวนเชื้อ *Escherichia coli* และเชื้อ *Salmonella derby* ในตัวอย่างเนื้อสุกรที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยแสง UV เป็นเวลา 60 นาที และ ผ่านการถ่ายเชื้อ *E. coli* และ เชื้อ *S. derby* โดยแบ่งตัวอย่างเนื้อสุกรเป็น 7 กลุ่ม จุ่มในสารละลายต่อไปนี้ สารละลายกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ สารละลายกรดกลูโคนิคเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ สารละลายไนซินเข้มข้น 1,000 IU/ml สารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์และกรดกลูโคนิคเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ สารละลายผสมระหว่างสารไนซิน 1,000 IU/ml และกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ สารละลายผสมระหว่างสารไนซิน 1,000 IU/ml และกรดกลูโคนิคเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ สารละลายผสมระหว่างสารไนซิน 1,000 IU/ml กรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์และกรดกลูโคนิคเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียล และ 15 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 0 1 3 5 7 9 และ 11 วัน พบว่า สารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค มีประสิทธิภาพในการลดจำนวนเชื้อ *E. coli* และ เชื้อ *S. derby* ได้ดีที่สุด โดยในวันที่ 0 ของการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียล มีจำนวนเชื้อทั้ง 2 ชนิดน้อยกว่ากลุ่มตัวอย่างควบคุมเท่ากับ 0.98 และ 0.67 log reduction ตามลำดับ และภายหลังการเก็บเป็นเวลา 11 วัน จำนวนเชื้อ *E. coli* น้อยกว่าตัวอย่างควบคุม ($p \leq 0.05$) เท่ากับ 1.24 log reduction ในขณะที่สารละลายในกลุ่มอื่นๆ มีจำนวนเชื้อ *E. coli* ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ($p > 0.05$) ส่วนจำนวนเชื้อ *S. derby* ของทั้ง 7 กลุ่มไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) และที่อุณหภูมิการเก็บ 15 องศาเซลเซียล สามารถเก็บตัวอย่างได้นาน 3 วัน โดยตัวอย่างทั้ง 7 กลุ่มมีจำนวนเชื้อ *E. coli* และ เชื้อ *S. derby* ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

สารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค ทำให้เกิดเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักสูงที่สุด และ มีค่า pH ต่ำที่สุด ผลของสารละลายชนิดต่าง ๆ ต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสของเนื้อสุกร พบว่า สารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิคทำให้สีของเนื้อซีดลง และ เมื่อนำไปนึ่งสุกจะมีรสเปรี้ยวแตกต่างจากตัวอย่างควบคุม ($p \leq 0.05$) แต่ความนุ่มเนื้อ รสเฝื่อน และรสชาติแปลกปลอม ไม่มีความแตกต่างจากตัวอย่างควบคุม ($p > 0.05$)

Thesis Title	Effects of gluconic acid, ascorbic acid and nisin on *Salmonella derby* and *E. coli* reduction in pork meat
Student	Miss. Jutharat Lienkatawa
Student ID	42066002
Degree	Master of Science
Programme	Food Science
Year	2002
Thesis Advisor	Assist. Prof.Dr.Prapaporn khopaibool.

ABSTRACT

The effects of ascorbic acid, gluconic acid, nisin and mixed solution on reduction of *Escherichia coli* and *Salmonella derby* were studied by inoculating on 60 minutes UV-steriled pork meat. Meat samples were deviced into 7 groups and dipped in solution of 1% ascorbic acid, 1.5%gluconic acid, 1,000 IU/ml nisin, the mixed solution of 1 % ascorbic acid and 1.5 % gluconic acid, 1,000 IU/ml nisin and 1 % ascorbic acid, 1,000 IU/ml nisin and 1.5 % gluconic acid, 1000 IU/ml nisin 1 % ascorbic acid and 1.5 % gluconic acid and stored at 4 and 15 °C for 0, 1, 3, 5, 7, 9 and 11 days. The mixed solution of ascorbic acid and gluconic acid was the most effective to reduce *E. coli* and *S. derby*. The reduction rate after stored at 4 °C for 0 day were 0.98 and 0.67 log reduction respectively and after 11 day, *E.coli* count was less than control 1.24 log reduction, while other solution were not significant different from control ($p>0.05$). The amount of *S. derby* of all sample groups were not different after stored at 4 °C for 11 days ($p>0.05$). Consequently,at 15°C, all sample groups could be preserved for 3 days and amount of both microoganism in all sample groups were not different from control ($p>0.05$).

The mixed solution of ascorbic acid and gluconic acid had lowest pH and highest weight loss and had effect on discoloration and sourness but no effect on softness, tartness and off-flavor.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงดีได้ เนื่องจากได้รับความกรุณาจาก ผศ.ดร. ประภาพร ขอไพบูลย์ ที่ได้ให้เกียรติเป็นอาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ รวมทั้งกรุณาให้ข้อคิดเห็น และแนะนำแนวทางที่เป็นประโยชน์แก่ข้าพเจ้าตลอดมา ตลอดจนช่วยตรวจทานและแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ ข้าพเจ้ารู้สึกซาบซึ้งและขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ. เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์ และ ดร.พอใจ ถามากร ที่ช่วยเหลือแก้ไขและกรุณาให้คำแนะนำเพิ่มเติมงานวิจัยบางส่วนจนสำเร็จลุล่วงลงได้ด้วยดี

ขอขอบคุณ คุณอัสนี จิรวิบูลย์เวช ที่ได้ให้ความช่วยเหลือในงานวิจัยนี้ คุณบุณยกฤต รัตนพันธุ์ ผู้ช่วยเหลือด้านการวิเคราะห์ทางสถิติและคำแนะนำที่ดีจาก คุณพัชนี รัตนสมบัติ ขอบคุณ คุณ จารุวัตถ์ แต้กุล สำหรับความช่วยเหลือที่ดีตลอดมา ขอขอบคุณพี่ ๆ และ เพื่อนๆ ปริญญาโททุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา คุณลุง และคุณป้า ที่ให้การสนับสนุนเป็นอย่างดีในทุกด้านและให้กำลังใจมาโดยตลอด ขอขอบคุณทุนสนับสนุนวิทยานิพนธ์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ได้ให้ทุนสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบแด่ครูบาอาจารย์และผู้มีพระคุณทุกท่าน หากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีข้อผิดพลาดประการใด ข้าพเจ้าขอน้อมรับไว้แต่เพียงผู้เดียว

จุฑารัตน์ เลี่ยนกัตวา

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....III

กิตติกรรมประกาศ.....IV

สารบัญ.....V

สารบัญตาราง.....VII

สารบัญภาพ.....XI

บทที่ 1 บทนำ.....1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....1

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา.....2

1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....2

บทที่ 2 ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....3

2.1 การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์.....3

2.2 ความสำคัญและการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella*.....5

2.3 ความสำคัญและการปนเปื้อนของเชื้อ *Escherichia coli*.....8

2.4 การใช้กรดอินทรีย์ในการลดจำนวนจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์.....11

2.5 กรดกลูโคนิคและกลูโคนิคแอซิดแลคโตน.....15

2.6 กรดแอสคอร์บิก.....18

2.7 สารไนซิน.....21

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ.....26

3.1 วัตถุดิบ.....26

3.2 อุปกรณ์ในการวิเคราะห์.....26

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง.....26

3.4 สถานที่ทำการทดลอง.....27

3.5 วิธีการทดลอง.....27

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์.....30

4.1 ศึกษาผลของสารละลายกรดกลูโคนิค กรดแอสคอร์บิก สารไนซิน และ สารผสมของสารดังกล่าวในการลดเชื้อ *Escherichia coli* ในเนื้อสุกร.....30

4.2 ศึกษาผลของสารละลายกรดกลูโคนิค กรดแอสคอร์บิก สารไนซิน และ สารผสมของสารดังกล่าวในการลดเชื้อ *Salmonella derby* ในเนื้อสุกร.....44

4.3 ผลของสารละลายกรดกลูโคนิค กรดแอสคอร์บิก สารไนซินและสารผสม ของสารดังกล่าวต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของเนื้อสุกร.....55

4.4 ผลของการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของเนื้อที่ผ่านการ จุ่มในสารละลายกรดกลูโคนิค กรดแอสคอร์บิก สารไนซิน และสารผสมของสารดังกล่าว.....59

บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง.....61

ข้อเสนอแนะ.....63

บรรณานุกรม.....64

ภาคผนวก.....73

ก. การเตรียมสารละลายเชื้อบริสุทธิ์ และ สารละลายเคมีเพื่อใช้ในการทดลอง.....73

ข. การตรวจหาปริมาณจุลินทรีย์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง และเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของเนื้อ.....77

ค.แบบทดสอบการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัส.....80

ประวัติผู้เขียน.....81

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 การปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* ในผลิตภัณฑ์เนื้อสุกร....7

2.2 ค่าคงที่การแตกตัว (pK_a) ของกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ....11

2.3 คุณสมบัติทางกายภาพของกรดแอสคอร์บิก....19

4.1 จำนวนเชื้อ *E. coli* ในเนื้อสุกร ที่ผ่านการจุ่มสารละลายกรดแอสคอร์บิก (A) กรดกลูโคนิค(G) สารไนซิน(N) สารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค(A+G) สารไนซินและกรดแอสคอร์บิก(N+A) สารไนซินและกรดกลูโคนิค (N+G) สารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และ กรดกลูโคนิค(N+A+G) ภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิ 4 ± 1 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 0 1 3 5 7 9 และ 11 วัน....32

4.2 จำนวนเชื้อ *E. coli* ในเนื้อสุกร ที่ผ่านการจุ่มสารละลายกรดแอสคอร์บิก (A) กรดกลูโคนิค(G) สารไนซิน(N) สารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค(A+G) สารไนซิน และกรดแอสคอร์บิก(N+A) สารไนซินและกรดกลูโคนิค (N+G) สารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค(N+A+G) ภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิ 15 ± 1 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 0 1 และ 3 33

4.3 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในเนื้อสุกรที่ผ่านการถ่ายเชื้อ *E. coli* และผ่านการจุ่มสารละลายกรดแอสคอร์บิก(A) กรดกลูโคนิค(G) สารไนซิน(N) สารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) สารไนซินและกรดแอสคอร์บิก (N+A) สารไนซินและกรดกลูโคนิค (N+G) สารไนซิน กรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (N+A+G) ภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิ 4± 1 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 0 1 3 5 7 9 และ 11 วัน....38

4.4 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในเนื้อสุกรที่ผ่านการถ่ายเชื้อ *E. coli* และผ่านการจุ่มสารละลายกรดแอสคอร์บิก(A) กรดกลูโคนิค(G) สารไนซิน(N) สารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) สารไนซินและกรดแอสคอร์บิก (N+A) สารไนซินและกรดกลูโคนิค (N+G) สารไนซิน กรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (N+A+G) ภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิ 15 ± 1 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 0 1 และ 3 วัน....39

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4.5 ค่า pH ของตัวอย่างเนื้อสุกรที่ผ่านการถ่ายเชื้อ *E. coli* และ ผ่านการจุ่มสารละลายกรดแอสคอร์บิก(A) กรดกลูโคนิค(G) สารไนซิน(N) สารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) สารไนซินและกรดแอสคอร์บิก(N+A) สารไนซินและกรดกลูโคนิค (N+G) และ สารไนซิน กรดแอสคอร์บิกและ กรดกลูโคนิค (N+A+G) ภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิ 4 ± 1 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 0 1 3 5 7 9 และ 11 วัน.....42

4.6 ค่า pH ของตัวอย่างเนื้อสุกรที่ผ่านการถ่ายเชื้อ *E.coli* และ ผ่านการจุ่มสารละลายกรดแอสคอร์บิก(A) กรดกลูโคนิค(G) สารไนซิน(N) สารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) สารไนซินและกรดแอสคอร์บิก(N+A) สารไนซินและกรดกลูโคนิค (N+G) และ สารไนซิน กรดแอสคอร์บิกและ กรดกลูโคนิค (N+A+G) ภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิ 15 ± 1 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 0 1 และ 3 วัน.....43

4.7 จำนวนเชื้อ *S. derby* ในเนื้อสุกร ที่ผ่านการจุ่มสารละลายกรดแอสคอร์บิก (A) กรดกลูโคนิค(G) สารไนซิน(N) สารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค(A+G) สารไนซินและกรดแอสคอร์บิก(N+A) สารไนซินและกรดกลูโคนิค (N+G) สารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และ กรดกลูโคนิค(N+A+G) ภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิ 4 ± 1 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 0 1 3 5 7 9 และ 11 วัน.....45

4.8 จำนวนเชื้อ *S. derby* ในเนื้อสุกร ที่ผ่านการจุ่มสารละลายกรดแอสคอร์บิก (A) กรดกลูโคนิค(G) สารไนซิน(N) สารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค(A+G) สารไนซินและกรดแอสคอร์บิก(N+A) สารไนซินและกรดกลูโคนิค (N+G) สารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และ กรดกลูโคนิค(N+A+G) ภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิ 15 ± 1 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 0 1 และ 3 วัน.....47

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4.9 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในเนื้อสุกรที่ผ่านการถ่ายเชื้อ *S. derby* และผ่านการจุ่มสารละลายกรดแอสคอร์บิก(A) กรดกลูโคนิค(G) สารไนซิน(N) สารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) สารไนซินและกรดแอสคอร์บิก (N+A) สารไนซินและกรดกลูโคนิค (N+G) สารไนซิน กรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (N+A+G) ภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิ 4 ± 1 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 0 1 3 5 7 9 และ 11 วัน.....50

4.10 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในเนื้อสุกรที่ผ่านการถ่ายเชื้อ *S. derby* และผ่านการจุ่มสารละลายกรดแอสคอร์บิก(A) กรดกลูโคนิค(G) สารไนซิน(N) สารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) สารไนซินและกรดแอสคอร์บิก (N+A) สารไนซินและกรดกลูโคนิค (N+G) สารไนซิน กรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (N+A+G) ภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิ 15± 1 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 0 1 และ 3 วัน.....51

4.11 ค่า pH ของตัวอย่างเนื้อสุกรที่ผ่านการถ่ายเชื้อ *S. derby* และ ผ่านการจุ่มสารละลายกรดแอสคอร์บิก(A) กรดกลูโคนิค(G) สารไนซิน(N) สารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) สารไนซินและกรดแอสคอร์บิก(N+A) สารไนซินและกรดกลูโคนิค (N+G) และสารไนซิน กรดแอสคอร์บิกและ กรดกลูโคนิค (N+A+G) ภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิ 4 ± 1 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 0 1 3 5 7 9 และ 11 วัน.....53

4.12 ค่า pH ของตัวอย่างเนื้อสุกรที่ผ่านการถ่ายเชื้อ *S. derby* และ ผ่านการจุ่มสารละลายกรดแอสคอร์บิก(A) กรดกลูโคนิค(G) สารไนซิน(N) สารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) สารไนซินและกรดแอสคอร์บิก(N+A) สารไนซินและกรดกลูโคนิค (N+G) และสารไนซิน กรดแอสคอร์บิกและ กรดกลูโคนิค (N+A+G) ภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิ 15 ± 1 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 0 1 และ 3 วัน.....54

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4.13 ค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของตัวอย่างเนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่ม
สารละลายกรดแอสคอร์บิก(A) กรดกลูโคนิค(G) สารไนซิน(N)
สารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G)
สารไนซินและกรดแอสคอร์บิก(N+A) สารไนซินและกรดกลูโคนิค (N+G) และ
สารไนซิน กรดแอสคอร์บิกและ กรดกลูโคนิค (N+A+G) ภายหลังการเก็บที่
อุณหภูมิ 4 ± 1 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 0 1 3 5 7 9 และ 11 วัน.....57

4.14 ค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของตัวอย่างเนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่ม
สารละลายกรดแอสคอร์บิก(A) กรดกลูโคนิค(G) สารไนซิน(N)
สารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G)
สารไนซินและกรดแอสคอร์บิก(N+A) สารไนซินและกรดกลูโคนิค (N+G) และ
สารไนซิน กรดแอสคอร์บิกและ กรดกลูโคนิค (N+A+G) ภายหลังการเก็บที่
อุณหภูมิ 15 ± 1 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 0 1 และ 3 วัน.....58

4.15 คะแนนเฉลี่ยของการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของเนื้อสุกรสด
และเนื้อสุกรนึ่งสุกในแต่ละกลุ่มการทดลองต่อความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม.....59

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

2.1 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์บนผิวหน้าเนื้อวัว.....5

2.2 วงจรการติดต่อของเชื้อ *Salmonella*.....8

2.3 ขบวนการสังเคราะห์กรดกลูโคนิค และกรดกลูโคนิคแอซิดแลคโตน 16

2.4 โครงสร้างของไนซิน.....21

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

เนื้อสัตว์เป็นแหล่งอาหารโปรตีนที่สำคัญและได้รับการบริโภคเพิ่มขึ้นทุกปี จากการสำรวจของกรมปศุสัตว์ในปี พ.ศ 2541 พบว่าคนไทยนิยมบริโภคเนื้อสุกรต่อคนโดยเฉลี่ย 13 กิโลกรัมต่อปี เมื่อเทียบกับเนื้อสัตว์อื่นๆ นับว่าเนื้อสุกรได้รับความนิยมมากที่สุด (สัญชัย จตุรสิทธา. 2543) แต่เนื่องจากการจัดการภายในโรงงานฆ่าสัตว์ โรงงานตัดแต่ง และกระบวนการขนส่งเนื้อสุกรภายในประเทศยังไม่ได้มาตรฐาน ทำให้เกิดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในเนื้อในปริมาณที่สูง ซึ่งจากประกาศของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์เรื่อง ข้อกำหนดสุขลักษณะของอาหารทั่วไป ในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ (เนื้อดิบ) พ.ศ 2535 กำหนดว่าจำนวนจุลินทรีย์รวมต่อกรัมต้องมีปริมาณไม่เกิน 1×10^6 *Escherichia coli* น้อยกว่า 20 MPN/g และเชื้อโรคอาหารเป็นพิษได้แก่ *Staphylococcus aureus* *Clostridium perfringens* และ *Bacillus cereus* ต้องน้อยกว่า 100 cfu/g *Salmonella* และ *Listeria monocytogenes* ต่อ 25 กรัม ต้องตรวจไม่พบ (จุไรรัตน์ รุ่งโรจนารักษ์ และ ศรีสิทธ์ การุณยะวาณิช. 2535) นอกจากนี้ ศรีสิทธิ์ การุณยะวาณิช และคณะ (2541) ได้รายงานการตรวจพบเชื้อ *E. coli* ในเนื้อสุกรมากกว่า 1,100 MPN/g และ *Staph. aureus* มากกว่า 1,000 cfu/g ซึ่งเกินกว่าค่ามาตรฐานที่กำหนดไว้ ดังนั้นจึงได้มีการศึกษาวิธีการลดจำนวนจุลินทรีย์ให้มีปริมาณน้อยลง เพื่อให้เนื้อสุกรมีคุณภาพดี มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค และมีอายุการเก็บที่นานขึ้น

วิธีการลดจำนวนจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์มีหลายวิธี แต่วิธีที่นิยมใช้กันทั่วไป คือ การใช้สารเคมีที่มีคุณสมบัติในการทำลาย และยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดยไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค และไม่มีผลตกค้างในเนื้อสัตว์ สารเคมีที่นิยมใช้ ได้แก่ กรดแลคติก ไนซิน กรดกลูโคนิค และกรดแอสคอร์บิก เป็นต้น ซึ่งสารเคมีเหล่านี้ได้รับการอนุญาตจากองค์การอาหารและยาของสหรัฐ (FDA) ให้ใช้ในการผลิตอาหารได้ โดยจัดเป็นสารที่มีความปลอดภัยในการใช้ (Gernerally Recognized As Safe, GRAS) นอกจากนี้การใช้กรดแอสคอร์บิก ในเนื้อสัตว์ยังช่วยลดการเกิดกลิ่นเหม็นหืนในเนื้อ และทำให้เนื้อสัตว์มีสีเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค (Ogden *et al.*1997) แต่การใช้กรด หรือสารเพียงชนิดเดียว จะมีประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์ได้เพียงบางชนิดเท่านั้น จึงมีการศึกษาการใช้สารต่างๆ ร่วมกัน เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการลดจำนวนจุลินทรีย์ให้ดีขึ้น และยังคงไว้ซึ่งคุณภาพของเนื้อสัตว์ก่อนถึงมือผู้บริโภค

1.2 ขอบเขตการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาผลของกรดกลูโคนิค กรดแอสคอร์บิก สารไนซิน และการใช้สารผสมของสารดังกล่าว ต่อการลดจำนวนเชื้อ *E. coli* และ เชื้อ *S. derby* ที่อุณหภูมิการเก็บรักษาต่างกัน ศึกษาผลของกรดกลูโคนิค กรดแอสคอร์บิก สารไนซิน และสารผสมของสารดังกล่าวต่อการสูญเสียน้ำหนักของเนื้อสุกรสด และผลทางประสาทสัมผัสของเนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มในสารละลายกลุ่มต่างๆ

1.3 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.3.1 ศึกษาผลของการใช้กรดกลูโคนิค กรดแอสคอร์บิก สารไนซิน และ สารผสมของสารดังกล่าว ต่อการลดจำนวนของเชื้อ *E. coli* และ *S. derby* ในเนื้อสุกรสด

1.3.2 ศึกษาผลของกรดกลูโคนิค กรดแอสคอร์บิก ไนซิน และสารผสมของสารดังกล่าวต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของเนื้อสุกรสด

1.3.3 ศึกษาผลของกรดกลูโคนิค กรดแอสคอร์บิก ไนซิน และ สารผสมของสารดังกล่าวต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสของเนื้อสุกร

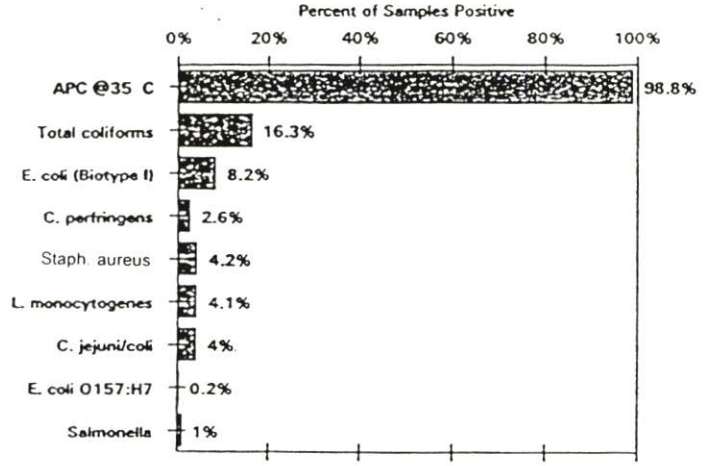
บทที่ 2
ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์

ปริมาณจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์จะมากหรือน้อย ขึ้นอยู่กับสุขภาพของสัตว์และระบบการจัดการในโรงฆ่าสัตว์ หากสัตว์มีสุขภาพที่สมบูรณ์แข็งแรงปริมาณจุลินทรีย์ในตัวสัตว์มีปริมาณน้อย ทำให้เกิดการปนเปื้อนในระหว่างการแปรรูปได้น้อยลง Greenberg *et al.* (1966) พบว่าในสภาพที่ปลอดเชื้อหลังการฆ่าสัตว์ กล้ามเนื้อภายในอาจมีการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นเพียง 0.1–0.01 cfu/g แต่ในสภาพความเป็นจริงที่อุณหภูมิการผลิต 30 – 40 องศาเซลเซียล แบคทีเรียในเนื้อสัตว์จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วประมาณ 2^3 เท่าต่อชั่วโมง (Imgram. 1972) บริเวณที่เกิดการปนเปื้อนมากที่สุดคือ ส่วนผิวหนัง อาจมีการปนเปื้อนของเชื้อสูงถึง $3 \times 10^3 - 1 \times 10^4$ cfu/g ซึ่งอาจเกิดจากกระบวนการผลิต เช่น การกำจัดเลือด การแล่หนัง การชำแหละ คนงาน และอุปกรณ์ต่างๆ รวมทั้งสภาพแวดล้อมภายในโรงฆ่าสัตว์ และการขนส่ง เป็นต้น (Kroft and Breidenstein. 1975) นอกจากนี้ปริมาณจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์ยังขึ้นอยู่กับลักษณะอากาศหรือฤดูกาลด้วยเช่นกัน Sofos *et al.* (1999) ได้ศึกษาปริมาณจุลินทรีย์บนซากเนื้อวัวตั้งแต่การฆ่าสัตว์จนถึงการเก็บรักษาซากในห้องเย็นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทั้งในฤดูฝนและในฤดูหนาวซึ่งพบว่าในฤดูฝนปริมาณ เชื้อ Total coliform count ซึ่งมีจำนวนมากกว่า 10^3 cfu/g จะมีปริมาณ 25 เปอร์เซ็นต์ แต่ในฤดูหนาวจะมีปริมาณเชื้อเพียง 1.5 เปอร์เซ็นต์ การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในระหว่างการฆ่า และการตัดแต่งมีผลสำคัญต่อปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นในเนื้อสัตว์ โดยทั่วไปการปนเปื้อนของเนื้อวัวและเนื้อสุกรภายหลังการฆ่าและแช่เย็น พบว่ามีจำนวนเชื้อ Aerobic mesophiles ประมาณ 10^1–10^5 cfu/g แต่ทั้งนี้ขึ้นกับขนาดของซาก ลักษณะของโรงฆ่าและการจัดการด้านสุขลักษณะด้วยเช่นกัน ระยะเวลาในการแช่เย็นก็มีผลต่อจำนวนเชื้อ Psychotrophs และ Mesophiles ในเนื้อ ทั้งนี้ขึ้นกับ อุณหภูมิ อัตราการไหลเวียนของอากาศ และความชื้นในตู้แช่เนื้อด้วยเช่นกัน ซึ่งหากมีการจัดการที่ดี บริเวณผิวหน้าของซากจะมีปริมาณเชื้อ Psychotrophs ไม่เกิน 10^2 cfu/cm^2 และมีการปนเปื้อนของเชื้อ Enterobacteriaceae น้อยกว่า 10^1–10^2 cfu/cm^2 (Sofos. 1994) ซึ่งเชื้อ จุลินทรีย์ในกลุ่ม Psychotrophs เช่น *Pseudomonas* spp. *Moraxella-Acinetobacter* *B.thermosphacta* *Lactobacillus* spp. จะพบได้มากในเนื้อที่เก็บอุณหภูมิตู้เย็น โดยปริมาณของเชื้อขึ้นอยู่กับค่า pH เริ่มต้นของเนื้อ สภาพบรรยากาศ เมื่อนำเนื้อออกจำหน่ายยังท้องตลาดพบว่าปริมาณและชนิดของเชื้ออาจเพิ่มมากขึ้น ทั้งนี้เพราะมีการสัมผัสผิวหน้าของเนื้อมากขึ้น ส่งผลให้เชื้อมีจำนวนมากขึ้นโดยเฉพาะพวก Aerobic spoilage psychrothophs

โดยทั่วไปจุลินทรีย์ที่มักพบในเนื้อสัตว์ได้แก่ *Pseudomonas* spp. *Acinetobacter* spp. *Micrococcaceae* spp. *Enterobacteria* spp. *Flavobacterium* spp. *Microbacterium* spp. *Lactobacillus* spp. ซึ่งจะทำให้เกิดการเน่าเสียโดยทำให้เกิดปฏิกิริยาการย่อยโปรตีนในเนื้อทำให้เกิดรสเปรี้ยวและเนื้อมีสีเขียวคล้ำนอกจากนี้ยังพบแบคทีเรียที่สร้างสปอร์เช่น *Bacillus* spp. *Alcaligenes* spp. *Streptococcus* spp. *Acromonas* spp. *Carynebacterium* spp. *Clostridium* spp. นอกจากนี้ยังมีเชื้อราที่มักเจริญบนเนื้อสัตว์ เช่น พวก *Mucor* spp. *Geotrichum* spp. *Sporotrichum* spp. และ *Cladosprium* spp.

การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในระหว่างการผลิต แม้ว่ามีเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิดสามารถเจริญเติบโตในเนื้อได้ แต่เชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องควบคุม และก่อให้เกิดเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคได้แก่ เชื้อ *Salmonella* spp. *E. coli* *Staph. auerus* *Yersinia enterocolitica* *Campylobacter jejuni/coli* *Listeria monocytogenes* และ *Clostridium perfringens* เชื้อเหล่านี้อาจปนเปื้อนมาจากตัวสัตว์และในระหว่างการผลิต จากการสำรวจขององค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา ซึ่งอ้างโดย Sheridan *et al.* (1996) พบว่า ซากเนื้อโคในระหว่างการฆ่า และ ตัดแต่ง จำนวน 2089 ตัว มีการปนเปื้อนของเชื้อ Aerobic plate count 98.9 เปอร์เซ็นต์ Coliform 16.3 เปอร์เซ็นต์ *E. coli* (Biotype 1) 8.2 เปอร์เซ็นต์ *Staph. aureus* 4.2 เปอร์เซ็นต์ *Salmonella* 1.0 เปอร์เซ็นต์ *C. perfringens* 2.6 เปอร์เซ็นต์ *Campylobacter jejuni/coli* 4.0 เปอร์เซ็นต์ *Listeria monocytogenes* 4.1 เปอร์เซ็นต์ และ *E. coli* 0157:H7 0.2 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในภาพที่ 2.1 นอกจากนี้ Reynold and Carpenter (1974) พบว่าซากสุกร 16 ตัว จากจำนวนทั้งหมด 116 ตัวมีการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. บริเวณส่วนขาถึง 70 เปอร์เซ็นต์ และผิวหนังส่วนลำคอประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสายพันธุ์ที่พบมากที่สุดคือ *S. derby* *S. saint paul* และ *S. london* นอกจากนี้ในตัวอย่างเนื้อบดมีการปนเปื้อนของเชื้อ *C. perfringens* 53 เปอร์เซ็นต์ *Staph. aureus* 30 เปอร์เซ็นต์ *Listeria monocytogenes* 12 เปอร์เซ็นต์ *Salmonella* spp. 7.5 เปอร์เซ็นต์ และ *Campylobacter jejuni* มีจำนวนน้อยกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ (USDA. 1996)



ภาพที่ 2.1 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์บนผิวหน้าเนื้อวัว

ที่มา : Sheridan *et al.* (1996)

ประกาศของสำนักงานอาหารและยาประเทศสหรัฐอเมริกา (USDA) ในปี ค.ศ 1996 กล่าวว่า เชื้อจุลินทรีย์ที่จัดว่าเป็นอันตรายในการผลิตเนื้อสัตว์ได้แก่ เชื้อ *Salmonella* spp.และ *E. coli* โดยเฉพาะเชื้อ *E. coli* 0157:H7 ซึ่งเชื้อทั้ง 2 นี้หากมีการปนเปื้อนของเชื้อในปริมาณที่สูงอาจเป็นอันตรายถึงขั้นเสียชีวิตได้

2.2 ความสำคัญ และการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella*

2.2.1 ความสำคัญของเชื้อ *Salmonella*

Salmonella เป็นจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษที่เรียกว่า Salmonellosis เกิดได้ทั้งในคนและสัตว์ มีสายพันธุ์มากกว่า 26,000 ซีโรไทด์ แต่ประมาณ 2,000 ซีโรไทด์ จะพบได้ในเนื้อสัตว์ โดยเฉพาะในเนื้อไก่ (Tauxe.1991)

Salmonella เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปแท่ง ไม่สร้างสปอร์ อยู่ในสกุลของ Enterobacteriaceas สามารถเคลื่อนที่ได้ด้วยแฟลกเจลลา ยกเว้น สายพันธุ์ *S. gallinarum* และ *S. pillorum* ที่ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ เชื้อ *Salmonella* จัดเป็นพวก Mesophilic bacteria สามารถเจริญได้ตั้งแต่อุณหภูมิ 8 – 45 องศาเซลเซียล แต่สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 15 – 40 องศาเซลเซียล แต่เชื้อ *S. typhimurium* สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 6.2 องศาเซลเซียล ในอุณหภูมิต่ำหรืออุณหภูมิตู้เย็น เชื้อสามารถเจริญเติบโตได้ช้าลง โดยมีอัตราการเจริญเติบโตเพียง 8-12 ชั่วโมง แต่ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับ ชนิดของเชื้อ จำนวนเซลล์เริ่มต้น ช่วงการเจริญเติบโต และอุณหภูมิที่จุลินทรีย์สามารถเจริญได้ เชื้อ *Salmonella* เป็นเชื้อที่ไวต่อความร้อน สามารถทำลายได้ที่อุณหภูมิประมาณ 60 องศาเซลเซียล แต่อย่างไรก็ตามในอาหารบางชนิดเช่น อาหารที่มีไขมันสูง และอาหารที่มีความชื้นต่ำในกลุ่มช็อกโกเลต จะมีผลให้เชื้อมีความทนต่อความร้อนได้สูงขึ้น

ค่า A_w ที่เชื้อสามารถเจริญได้ประมาณ 0.93 ถึง 0.96 และค่า pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้ออยู่ในช่วง 6.5 – 7.5 แม้ว่า pH ที่เชื้อสามารถเจริญได้ประมาณ pH 4 – 9 แต่เชื้อบางสายพันธุ์ เช่น เชื้อ *S. typhimurium* สามารถเจริญได้ดีในสภาพที่เป็นกรดมาก (Humphrey. 2000)

2.2.2 การปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* ในเนื้อสัตว์

ข้อกำหนดมาตราฐานอาหาร กระทรวงสาธารณสุข ระบุว่า อาหารประเภทเนื้อดิบ และผลิตภัณฑ์จากเนื้อ ต้องตรวจไม่พบเชื้อ *Salmonella* ในตัวอย่าง 25 กรัม แต่จากการศึกษาของ Bangtrakulnoth *et al.* (1994) พบเชื้อ *Salmonella* ในเนื้อสุกรที่ขายตามตลาดสดจังหวัดชลบุรี 45 เปอร์เซ็นต์ โดยประกอบด้วย 13 สายพันธุ์ ได้แก่ *S. derby S. krefeld S. agona S. rissen S. cerro S. lexington S. stanley S. anatum S. london S. enteritidis S. panama S. albany* และ *S. bovismorbificans* สุมาลี บุญมา และ คณะ (2538 และ 2539) พบการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* ในเนื้อวัวและผลิตภัณฑ์ถึง 82 และ 67.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นอกจากนี้ Jerngklinchan *et al.* (1994) ศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* ในเนื้อไก่ และเครื่องในไก่ โดยสุ่มตัวอย่างจากตลาดสด ซุปเปอร์มาเก็ต และโรงงานผลิตเนื้อไก่สดในกรุงเทพมหานคร พบว่าในเนื้อไก่สดมีเชื้อ *Salmonella* 60 เปอร์เซ็นต์ ส่วนตับไก่พบเชื้อ 91 เปอร์เซ็นต์ หัวใจและกระเพาะไก่พบเชื้อ 80 เปอร์เซ็นต์ โดยพบเชื้อ *Salmonella* 5 สายพันธุ์หลักๆ คือ *S. enteritidis S. blockley S. virchow S. hadar* และ *S. paratyphi* ซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดโรค Salmonellosis ในคน นอกจากนี้ยังพบว่าลูกชิ้นไก่ และไส้กรอก จากซุปเปอร์มาเก็ต ซึ่งเก็บในสภาวะแช่แข็งพบเชื้อ 12 และ 9 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และพบเชื้อสายพันธุ์ *S. derby* 33 เปอร์เซ็นต์

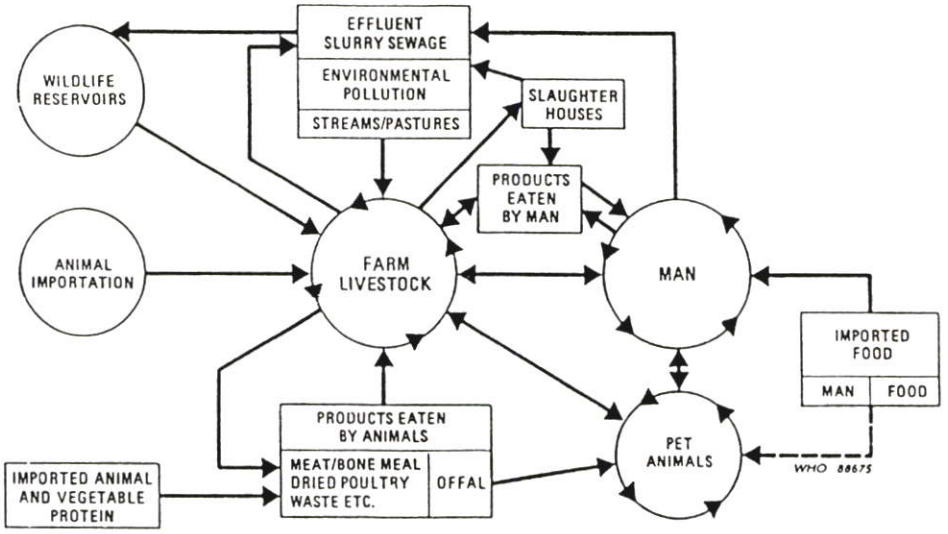
นอกจากนี้ สุมาลี บุญมา และคณะ (2540) ทำการตรวจหาเชื้อ *Salmonella* ในผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ และเนื้อสุกร อันได้แก่ ไส้กรอก ลูกชิ้น แหนม กุนเชียง ไก่ยอ และหมูยอ รวมทั้งสิ้น 200 ตัวอย่าง ที่จำหน่ายตามห้างสรรพสินค้าและตลาดสดในเขตกรุงเทพและนนทบุรี พบว่าในผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ มีการปนเปื้อนของเชื้อ 8 เปอร์เซ็นต์ และ ในผลิตภัณฑ์เนื้อสุกร 24 เปอร์เซ็นต์ ดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 การปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* ในผลิตภัณฑ์เนื้อสุกร

ผลิตภัณฑ์เนื้อหมู	จำนวนตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่างที่พบเชื้อ Salmonella (%)
แหนม	16	13 (81.25)
ไส้กรอกหมู	38	13 (18.42)
หมูยอ	16	1 (6.25)
กุนเชียง	6	-
ลูกชิ้นหมู	17	1 (5.88)
หมูแห้ง	2	2 (100)

ที่มา : สุมาลี บุญมา และคณะ (2540)

จากข้อมูลข้างต้นพบว่าเชื้อ *Salmonella* สามารถปนเปื้อนในเนื้อสัตว์ได้ในปริมาณสูง ทั้งนี้อาจเกิดจากการปนเปื้อนของเชื้อในกระบวนการผลิต และการแปรรูปเนื้อสัตว์ที่ไม่ถูกสุขลักษณะ ซึ่งในขั้นตอนการฆ่าและการตกแต่งเนื้อสัตว์ แม้ว่าการลวก และการล้างซาก จะช่วยลดการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* บนซากเนื้อสัตว์ลงได้ แต่เชื้อก็สามารถเจริญและปนเปื้อนบนซากได้จากอุปกรณ์ในการกำจัดขน และจากลำไส้ในระหว่างการชำแหละ (Gill and Brayant. 1993) จากการศึกษาของ Davies *et al.* (1999) พบว่าภายหลังการชำแหละซากจำนวนเชื้อ *Salmonella* เพิ่มขึ้นเล็กน้อย หากมีการควบคุมกระบวนการผลิตอย่างเข้มงวดโดยเฉพาะขั้นตอนการกำจัดขน การเผาซาก และการชำแหละ จะทำให้การปนเปื้อนของเชื้อลดลง Sheridan *et al.* (1996) กล่าวว่า ในขั้นตอนการชำแหละสัตว์หากมีการระมัดระวังเป็นพิเศษจะมีจำนวนเชื้อ *Salmonella* บนเนื้อหมูเพียง 7 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งการฆ่าแบบปกติจะพบเชื้อปนอยู่ถึง 46 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้การประยุกต์ใช้สารเคมีในขั้นตอนการกำจัดขนพบว่า สามารถลดจำนวนเชื้อ *S. typhimurium* ลงได้ (Castillo *et al.* 1998) เชื้อ *Salmonella* อาจเริ่มเข้าสู่ตัวสัตว์ตั้งแต่อยู่ในฟาร์มโดยขึ้นกับ สภาพแวดล้อมในการเลี้ยง สัตว์อาจได้รับอาหารหรือน้ำที่มีการปนเปื้อนของเชื้อ ได้แก่ ปลาป่น ก้างปลา ถั่วเหลือง รำข้าว เมล็ดปาล์ม ผัก ที่มีเชื้อปนอยู่จะมีผลให้เชื้อไปสะสมอยู่ในลำไส้สัตว์ (Davies and Hinton. 2000) การปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* แสดงดังภาพที่ 2.2



ภาพที่ 2.2 วงจรการติดต่อของเชื้อ *Salmonella*

ที่มา : Rufus (1992)

นอกจากนี้บริเวณคอกพักสัตว์ก่อนเข้าสู่โรงฆ่าหากมีเชื้อ *Salmonella* ปนเปื้อนอยู่ก็มีผลต่อการปนเปื้อนของเชื้อในตัวสัตว์ได้เช่นกัน Swanenburg *et al.* (2001) รายงานว่าในประเทศเยอรมันบริเวณคอกพักสุกรพบเชื้อ *Salmonella* 16 – 50 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังการทำความสะอาดก็ยังพบเชื้อประมาณ 0 - 33 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งบริเวณผนังและพื้นจะพบเชื้อ *Salmonella* ได้มากถึง 70 - 90 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นโอกาสที่เนื้อสัตว์ที่เข้าสู่โรงงานจะเกิดการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* ได้สูง

2.3. ความสำคัญและการปนเปื้อนของเชื้อ *Escherichia coli*

2.3.1 ความสำคัญของเชื้อ *E. coli*

E. coli เป็นแบคทีเรียที่พบได้ทั้งในดิน น้ำ พืชผัก และ อาศัยอยู่ในลำไส้ของคนและสัตว์เลือดอุ่น โดยไม่ก่ออันตราย แต่มีบางสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรคเกี่ยวกับระบบทางเดินอาหารในคนและสัตว์ได้ ได้แก่ สายพันธุ์ EHEC EIEC ETEC และ EPEC ซึ่งอาจทำให้เกิดอาการปวดท้อง ท้องร่วงอย่างรุนแรง ถ่ายเป็นน้ำหรือเลือด และเกิดการอักเสบของปอด เชื้อ *E. coli* พบได้ในอุจจาระ ปัสสาวะ หรือแม้กระทั่งในสิ่งสกปรกต่างๆ ดังนั้นจึงใช้เป็นจุลินทรีย์บ่งชี้ถึงการจัดการด้านสุขาภิบาลของการผลิตได้

เชื้อ *E. coli* เป็นจุลินทรีย์แกรมลบ มีลักษณะเป็นแท่ง เคลื่อนที่ได้ เจริญได้ดีทั้งในสภาวะ ที่มีและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) ให้ผลลบต่อการทดสอบแคสทาเลส (catalase) โคโลนีมีสีเทาบน blood agar และมีสีชมพูบน MacConkey agar ส่วนใหญ่ไม่สลายเม็ดเลือดแดง (hemolysis) สายพันธุ์ที่สลายเม็ดเลือดแดงหรือ Hemolytic *E. coli* เป็นสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรค (อุไม บิลหมัด และศุภลักษณ์ จันทร์อุดม. 2544) เชื้อ *E. coli* จัดเป็นจุลินทรีย์จำพวก Mesophilic bacteria สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 7 – 50 องศาเซลเซียล อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต คือ 37 องศาเซลเซียล ค่า pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญอยู่ระหว่าง 7 – 7.5 และค่า pH ต่ำสุดที่สามารถเจริญได้ เท่ากับ 4.4 ค่า A_w ต่ำสุดที่สามารถเจริญได้คือ 0.93 สายพันธุ์ของเชื้อ *E. coli* ที่ทำให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหารหรือ diarrhae *E. coli* สามารถแบ่งเป็น 4 กลุ่ม ตามลักษณะความรุนแรงของเชื้อ (virulence properties) ลักษณะอาการของโรค และการจับกันของเชื้อในมิวโคซา (mucosa) ของลำไส้ ดังนี้ (ชวลิต ทัศนสว่าง. 2533)

1. Enteropathogen *E. coli* (EPEC) เป็นสายพันธุ์ที่ไม่สร้างเอนเทอโรทอกซิน เจริญเติบโตในลำไส้ส่วนต้น ทำให้เกิดอาการอุจจาระร่วงเป็นน้ำ มีไข้ และหนาวแต่ไม่ค่อยพบอาการอาเจียน หรือมีไข้ ซึ่งมีอาการภายใน 12–30 ชั่วโมงภายหลังได้รับเชื้อ ซึ่งในเด็กแรกเกิดมีอาการไข้รุนแรงกว่าปกติ ซึ่งอาจมีอาการของโรคนานถึง 2 สัปดาห์

2. Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) เป็นเชื้อที่สามารถสร้างเอนเทอโรทอกซินซึ่งแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ heat labile toxin (LT) และ Heat stabile toxin (ST) โดย LT จะทำให้เกิดอาการของโรคอย่างช้าๆ และมีอาการนาน ลักษณะอาการของ LT จะคล้ายกับพิษจากเชื้อโรคอหิวาตกโรค และถูกทำลายได้ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียล นาน 10 นาที ส่วน ST ทนความร้อนได้ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียล นาน 15 นาที และ ทนกรด ทำให้เกิดอาการของโรคตั้งแต่ท้องร่วงเพียงเล็กน้อย จนกระทั่งท้องร่วงอย่างรุนแรง ถ่ายเป็นน้ำ แต่ไม่มีเลือดหรือมูก ปวดท้องและอาเจียน หากพบเชื้อชนิดนี้ในเด็กแรกเกิดอาจทำให้เกิดการสูญเสียน้ำ อย่างรุนแรงได้

3. Enteroinvasive *E. coli* (EIEC) ทำให้เกิดโรคท้องร่วงมีลักษณะคล้ายเชื้อจากโรคบิด มีอาการถ่ายเป็นมูกเหลว อาจมีเลือดปน ปวดเบ่ง มีไข้ และอาจพบอาการอาเจียนได้

4. Enterohaemorrhagic *E. coli* (EHEC) หรืออาจเรียกว่า Verotoxin producing *E.coli* (VTEC) ทำให้เกิดโรคอุจจาระร่วง ถ่ายเป็นน้ำเลือด ท้องร่วงอย่างรุนแรง ความรุนแรงของเชื้อสายพันธุ์นี้ คือ สามารถผลิต Shigella – like toxin I และ Shigella–like toxin II ทำให้เกิดการอักเสบของลำไส้ (haemorrhagic colitis) ทำให้จำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดง และเกร็ดเลือดลดลง (heamolytic anaemia and thrombocytopaenia) อาจทำให้กระเพาะปัสสาวะอักเสบ หรือไตวาย (haemolytic uraemic syndrom) และอาจรุนแรงถึงตายได้ ซึ่งซีโรไทด์ที่สำคัญในกลุ่มนี้

คือ *E. coli* 0157:H7 ซึ่งพบได้ในสัตว์จำพวกวัว ควาย แต่ไม่มีผลทำให้เกิดโรคในสัตว์ สามารถตรวจพบเชื้อนี้ในเนื้อสัตว์ที่ผ่านความร้อนไม่เพียงพอ (undercooked ground meat) น้ำนมดิบ และในผักต่างๆ (จิราวรรณ อุ่นเมตตาอารี และคณะ. 2540) *E. coli* 0157:H7 เป็นเชื้อที่สามารถทนกรดได้สูงกว่าเชื้อ *E. coli* สายพันธุ์อื่นๆ (Arnold and Kaspar. 1995) ซึ่งสามารถเจริญได้ที่ pH 2.5 อย่างน้อย 5 ชั่วโมง ทนการทำลายที่อุณหภูมิ 62.8 องศาเซลเซียล และ สามารถเจริญในสภาพที่ขาดน้ำได้ ปริมาณเชื้อ 1,000 เซลล์สามารถทำให้เกิดโรคได้

2.3.2 การปนเปื้อนของเชื้อ *E.coli* ในเนื้อสัตว์

โดยทั่วไปเชื้อ *E. coli* ที่อาศัยอยู่ในลำไส้ของสัตว์จะถูกขับออกมากับอุจจาระและสามารถมีชีวิตอยู่ในดินที่ชื้นแฉะและน้ำ ได้นานเป็นสัปดาห์ หรืออาจเป็นเดือน (Quinn *et al.* 1998) จึงเป็นปัญหาสุขาภิบาลและระบบการจัดการฟาร์ม จากการตรวจลำไส้และอุจจาระของสุกร ในเขตจังหวัดนครศรีธรรมราช พบเชื้อ *E. coli* 40.5 เปอร์เซ็นต์ (อุไม บิลหมัด และ ศุภลักษณ์ จันทร์อุดม. 2544) Vandonkersgoed *et al.* (1999) พบเชื้อ *E.coli* 0157:H7 ในลำไส้วัว 12.4 เปอร์เซ็นต์ และพบในขั้นตอนการฆ่าสัตว์ 33.6 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งปริมาณเชื้อในลำไส้อาจเป็นปัจจัยสำคัญต่อระดับการปนเปื้อนของเชื้อในซากสัตว์ โดยบริเวณที่มีการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* ในปริมาณสูงได้แก่ ส่วนคอ ท้อง และขา ของสัตว์ จากการตรวจสอบปริมาณจุลินทรีย์บนผิวหน้าของซากสุกรพบเชื้อ *E. coli* และ Coliform ประมาณ 3.07 และ 2.29 log cfu/1,000 cm^2 ตามลำดับ (Gill and Jones. 2000) Siragusa *et al.* (1998) พบว่าในเนื้อวัวมีการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* มากกว่า 4 logcfu/cm^2 และ Hansson (2001) รายงานว่าในเนื้อสุกรมีการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* สูงกว่าในเนื้อวัว โดยจะพบเชื้อประมาณ 74 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนเชื้อ เท่ากับ 315 cfu/cm^2 แต่ในเนื้อวัวจะมีจำนวนเชื้อเพียง 34 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ Vanderlinde *et al.* (1999) พบว่าในซากแกะมีเชื้อ *E.coli* biotype 1 ถึง 75 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในซากเนื้อวัวพบเชื้อ *E.coli* biotype1 (จำนวนน้อยกว่า 10 MPN/cm^2) ประมาณ 96 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งการปนเปื้อนของเชื้อแสดงถึงสุขลักษณะของเนื้อและการจัดการของโรงฆ่าสัตว์

ในปัจจุบันเชื้อ *E. coli* 0157:H7 จัดเป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคที่สำคัญในเนื้อสัตว์ Doyle and Schoeni (1987) ตรวจพบเชื้อ *E. coli* 0157:H7 ในเนื้อวัว 3.7 เปอร์เซ็นต์ ในเนื้อสุกร และเนื้อไก่พบ 1.5 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ Adul – Raouf *et al.* (1996) พบเชื้อ *E. coli* 0157:H7 ในเนื้อไก่ 4 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้มีรายงานการตรวจพบเชื้อในประเทศไทยจากโรงงานฆ่าสัตว์ 8 - 28 เปอร์เซ็นต์ และจากเนื้อวัวตามท้องตลาดพบ 9 เปอร์เซ็นต์ (Suthienkul *et al.* 1990) จิราวรรณ อุ่นเมตตาอารี และคณะ (2540) ตรวจหาเชื้อ *E. coli* 0157:H7 ในเนื้อสุกรดิบ โดยวิธี ELISA พบเชื้อ 14.29 เปอร์เซ็นต์

2.4 การใช้กรดอินทรีย์ในการลดจำนวนจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์

ในปัจจุบันการใช้กรดอินทรีย์ในการลดจำนวนจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์ได้รับความสนใจอย่างสูง โดยกรดอินทรีย์มีคุณสมบัติทั้งทำลายแบคทีเรีย(bactericidal) และยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (bacteriostatic) ปัจจัยที่มีผลต่อการทำลายแบคทีเรียของกรดอินทรีย์ขึ้นกับ ระดับ pH ความแตกตัวของกรด ความเฉพาะเจาะจงของกรดในการทำลายจุลินทรีย์ ซึ่งจุลินทรีย์แต่ละชนิดจะมีความทนทานต่อระดับ pH ได้ต่างกัน ทั้งนี้เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของไฮโดรเจนอิออนมีผลต่อการเจริญและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ประสิทธิภาพของกรดอินทรีย์ในการควบคุมปริมาณจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับ สายพันธุ์ของเชื้อ ชนิด ความเข้มข้นของกรด เวลาในการสัมผัสสาร ค่าความเป็นบัฟเฟอร์ (buffering capacity) ของอาหาร และสภาวะแวดล้อมในการเก็บรักษา

2.4.1. ประสิทธิภาพของกรดอินทรีย์ต่อการยับยั้งจุลินทรีย์

การยับยั้งหรือทำลายจุลินทรีย์ของกรดอินทรีย์ขึ้นอยู่กับ ค่า pH ความเข้มข้น ชนิด ความยาวพันธะของกรด และค่า degree of branching ของกรด การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของกรดในรูปของเปอร์เซ็นต์ จำนวนโมเลกุลของกรด เป็นการแสดงค่า pH สุดท้ายของกรดเท่านั้น จึงเป็นการยากที่จะเปรียบเทียบผลของกรดแต่ละชนิดในการยับยั้งจุลินทรีย์ ประสิทธิภาพของกรดขึ้นอยู่กับค่าคงที่ของการแตกตัว (pK_a) หรือ ค่า pH ที่ 50 เปอร์เซ็นต์ ของกรดทั้งหมดที่แตกตัวได้ ซึ่งค่า pK_a ของกรดอินทรีย์ส่วนใหญ่อยู่ในช่วง pH เท่ากับ 3 - 5 ดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ค่าคงที่ของการแตกตัว(pK_a) ของกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ

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)

Gill and Newton (1982) รายงานว่าการใช้กรดเพื่อลดค่า pH ของเนื้อจะมีความสำคัญต่อการลดลงของจุลินทรีย์มากกว่าปัจจัยอื่นๆ แต่นักวิทยาศาสตร์หลายท่านได้เสนอว่าลักษณะของความเฉพาะเจาะจงของกรด หรือลักษณะของโมเลกุลของกรดแต่ละชนิดก็มีความสำคัญเช่นกัน ทั้งนี้เพราะระดับ pH ของสารละลายกรดแต่ละชนิดจะขึ้นอยู่กับลักษณะการแตกตัวของอิออนของกรดแต่ละชนิดเช่นกัน

กรดอินทรีย์ในกลุ่มกรดลิโปฟิลิก(lipophilic acid) เช่น กรดอะซิติกและอนุพันธุ์ กรดโพพิโอนิก และ กรดคาร์พรีลิกซ์ (caprylic acid) เป็นต้น จะเป็นสารประกอบที่ไม่มีขั้วเมื่อเติมลงไปในอาหารทำให้มีคุณสมบัติเป็นสารต่อต้านจุลินทรีย์ได้ดี ส่วนกรดอินทรีย์ในกลุ่มกรดคาร์บอกซีลิก (carboxylic acid) จะประกอบด้วยสารที่มีคุณสมบัติมีขั้วมากกว่ากรดในกลุ่มกรดลิโปฟิลิก จึงมีผลต่อกลิ่นรสในอาหาร และเนื้อสัมผัสในอาหารได้มากกว่ายับยั้งจุลินทรีย์ (Doores. 1993)

กรดโดยทั่วไปมีความปลอดภัยต่อการบริโภค แต่ในทางกลับกันหากใช้กรดที่มีความเข้มข้นสูงอาจก่อให้เกิดอันตรายได้ ผลของการใช้กรดในระยะยาวพบว่าไม่มีอันตรายต่อการบริโภคทั้งนี้เนื่องจากกรดส่วนใหญ่จะถูกเมตาบอลิซึมได้ในร่างกาย โดยผ่านกระบวนการลิปิดออกซิเดชัน และวัฏจักรของกรดไตรคาร์บอซิลิก (tricarboxylic acid cycle)

กรดอินทรีย์ที่นิยมใช้เป็นสารต่อต้านจุลินทรีย์ในเนื้อเช่น กรดอะซิติก กรดแลคติก กรดซิตริก กรดฟอร์มิก กรดซอร์บิก หรือกรดแอสคอร์บิก เป็นต้น แต่ที่นิยมใช้มากที่สุดในการลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์คือ กรดอะซิติก และกรดแลคติก

2.4.2 กลไกการทำลายจุลินทรีย์ของกรดอินทรีย์

เนื่องจากกรดแต่ละชนิดมีคุณสมบัติที่แตกต่างกันในด้านการแตกตัวของกรด และค่า pK_a ของกรดแต่ละชนิด จึงทำให้ประสิทธิภาพของกรดแตกต่างกันไป แต่จุดที่ทำลายจุลินทรีย์มีความคล้ายกัน โดยทั่วไปกรดซึ่งอยู่ในรูปของกรดที่ไม่แตกตัวจะจับกับผนังเซลล์ของแบคทีเรีย เป็นผลให้กรดในรูปที่แตกตัวสามารถแพร่เข้าสู่เซลล์ภายในของจุลินทรีย์ และเกิดการรวมตัวกับสารภายในเซลล์เป็นผลให้ภายในเซลล์มีความเป็นกรดเกิดขึ้น โดยทั่วไปเซลล์จุลินทรีย์พยายามรักษาสมดุล กรด-เบสภายในเซลล์ให้ค่า pH เป็นกลาง แต่เมื่อค่า pH ของสภาวะแวดล้อมลดต่ำลงเนื่องจากกรดทำให้โครงสร้างภายในเซลล์ เช่น โปรตีน กรดนิวคลีอิก อิออนภายในเซลล์ฟอสโฟลิปิดและเซลล์เมมเบรนเปลี่ยนไป เซลล์จุลินทรีย์พยายามรักษาสมดุลภายในเซลล์ทำให้เกิดการผ่านเข้าออกได้ ทำให้เกิดการนำสารอาหารเข้าสู่เซลล์ และเกิดการรั่วไหลของเมตาบอลิซึมภายในเซลล์ออกสู่ภายนอก มีผลไปยับยั้งการเมตาบอลิซึมของเซลล์จุลินทรีย์ หรือทำให้กิจกรรมภายในเซลล์ลดลง และทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญได้และตายในที่สุด ซึ่งรูปแบบการแตกตัวของกรดที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับค่า pK_a ศักยภาพของสารที่เจาะเข้าไปภายในเซลล์เมมเบรน ระดับการผ่านของ

อิเลคตรอน กรดแก่และกรดอ่อนมีผลในการยับยั้งจุลินทรีย์ต่างกันขึ้นอยู่ความสามารถในการแตกตัว ค่าการให้โปรตรอนในสารละลายกรดที่มีค่า pK_a ต่ำ เมื่อละลายน้ำแตกตัวได้ดี ซึ่งต่างจากกรดที่มีค่า pK_a สูงจะค่อยๆ แตกตัว และไม่ให้โปรตรอนทั้งหมด ทำให้ส่วนที่ไม่แตกตัวจับกับผนังเซลล์ มีผลในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดีกว่า โดยกรดที่มีค่า pK_a สูงจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียในอาหารที่มีความเป็นกรดต่ำได้ดี เช่น อาหารพวกเนื้อสัตว์ เป็นต้น

2.4.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการลดจำนวนจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์ด้วยกรดอินทรีย์ ได้แก่

2.4.3.1 ธรรมชาติของผิวเนื้อสัตว์

Jarvis and Borke (1977) พบว่าเนื้อสัตว์ที่มีปริมาณไขมัน จะมีผลต่อประสิทธิภาพของกรด Dickson (1992) รายงานว่าการใช้กรดจะมีประสิทธิภาพในการลดเชื้อ *S. typhimurium* *Listeria monocytogenes* และ *E. coli* 0157:H7 ในเนื้อที่มีไขมันมากกว่าในซากผอม (lean meat) ทั้งนี้เนื่องจากซากผอมจะมีคุณสมบัติเป็นบัพเฟอร์มากกว่าเนื้อที่มีไขมัน จึงเป็นเหตุให้เนื้อที่มีไขมันมากมีค่า pH ลดลงได้อย่างรวดเร็วตรงบริเวณผิวหน้าเนื้อ

2.4.3.2 จำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้น

เนื้อสัตว์ที่มีปริมาณการปนเปื้อนของจุลินทรีย์สูง การใช้กรดอินทรีย์ที่มีความเข้มข้นต่ำ อาจไม่มีผลต่อการทำลายจุลินทรีย์ Greer and Dilts (1992) พบว่าการลดจำนวนแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคเช่น *L. monocytogenes* *Yersinia enterocolitica* *S. typhimurium* *E. coli* 0157:H7 *Campylobacter jejuni* หรือแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในเนื้อ เช่น *Pseudomonas fragi* *Bronchothrix thermophacta* ในการลดจุลินทรีย์ในซากผอมด้วยกรดอินทรีย์ หากจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นมากเกินไปจะมีผลในการลดจุลินทรีย์ได้น้อย แต่ทั้งนี้ก็ขึ้นอยู่กับชนิดของแบคทีเรียที่มีต่อกรดด้วย

2.4.3.3 ชนิดของกรดอินทรีย์

กรดอินทรีย์ต่างชนิดกัน จะมีประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์ต่างกัน ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติการแตกตัวของกรด Mountrey and O' Malley (1965) ได้ศึกษาเปรียบเทียบการใช้กรด 11 ชนิด ในการลดจำนวนจุลินทรีย์ในสัตว์ปีกพบว่ากรดทั้ง 11 ชนิดสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ โดยกรดอะซิติก กรดอะดิฟิก และกรดซักซินิก จะมีประสิทธิภาพในการยืดอายุของผลิตภัณฑ์ได้มากกว่า กรดแลคติก หรือกรดซอร์บิก

Podolak *et al.* (1996) ได้ศึกษาการลดจำนวนเชื้อ *Listeria monocytogenes* และเชื้อ *E. coli* 0157:H7 บนผิวเนื้อวัวด้วยสารละลายกรดฟูมาลิก กรดแลคติก กรดอะซิติกที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ และที่อุณหภูมิของสารละลาย 55 องศาเซลเซียล ใช้เวลาในการจุ่มเนื้อนาน 5 นาที และเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียล พบว่ากรดฟูมาลิกที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ จะมี

ประสิทธิภาพในการลดจำนวนเชื้อ *Listeria monocytogenes* ได้ดีที่สุดคือ 1 log cfu และลดจำนวนเชื้อ *E. coli* 0157:H7 ได้มากถึง 1.3 log cfu เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้กรดแลคติก หรือกรดอะซิติก ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน

Anderson *et al.* (1992) ได้เปรียบเทียบผลของกรดอะซิติกที่ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ กรดแลคติก 3 เปอร์เซ็นต์ และการใช้กรดทั้งสองชนิดผสมกับกรดซิตริก และกรดแอสคอบิก ในการลดจำนวนจุลินทรีย์บนผิวหน้าเนื้อวัว พบว่ากรดแลคติก 3 เปอร์เซ็นต์ จะมีประสิทธิภาพในการต่อต้านเชื้อ *Salmonella* ได้ดีที่สุดโดยลดได้ถึง 2 log cfu ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียล

2.4.3.4 **ความเข้มข้นและอุณหภูมิของกรดอินทรีย์**

ที่ระดับความเข้มข้นและอุณหภูมิของกรดที่สูง จะมีผลในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดีกว่าอุณหภูมิสารละลายกรดที่ต่ำ แต่ถ้าความเข้มข้นของกรดสูงเกินไปก็มีผลต่อคุณภาพเนื้อสัตว์ โดยสีเนื้อจะซีดและเกิดกลิ่นกรดติดซากเนื้อได้

Ahamad and Marth (1990) ได้ศึกษาการยับยั้งเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในสารละลายกรดอะซิติก กรดซิตริก กรดแลคติกที่ระดับความเข้มข้น 0.3 เปอร์เซ็นต์ และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ บ่มที่อุณหภูมิ 35 และ 13 องศาเซลเซียล พบว่าที่ความเข้มข้นของกรดอะซิติกที่ 0.5 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียล จะสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Listeria monocytogenes* ได้ดีกว่ากรดอะซิติกที่ 0.3 เปอร์เซ็นต์

2.4.3.5 **ความไวต่อกรดของจุลินทรีย์**

เชื้อจุลินทรีย์ที่มีความไวต่อกรดอินทรีย์ ได้แก่เชื้อ *Yersinia enterocolitica Campylobacter Pseudomonas* spp. และพวก Aerobic bacteria จะมีการตอบสนองต่อกรดได้ดีกว่าเชื้อ *Listeria monocytogenes E. coli* 0157:H7 และ Lactic acid bacteria Cacciarelli *et al.* (1983) ได้ศึกษาการใช้กรดอะซิติกความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ บนเนื้อสุกร โดยใช้อุณหภูมิกรด 12.8 องศาเซลเซียล ระยะเวลาการเก็บ 21 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียล พบว่าระยะเวลาการเก็บ 21 วัน เชื้อ Aerobic bacteria ในเนื้อสุกรมีปริมาณต่ำกว่าเนื้อที่ไม่ได้ผ่านการใช้กรด ในขณะที่กรดอินทรีย์ไม่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อ *Lactobacillus* spp Bell *et al.* (1986) ได้ทดลองนำชิ้นเนื้อวัวขนาด 1 เซนติเมตร จุ่มในสารละลายเชื้อชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้น 5×10^6 cfu หลังจากนั้นนำมาผ่านการจุ่มในสารละลายกรดอะซิติกความเข้มข้น 1.2 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสามารถลดจำนวนเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ได้ 33.6 เปอร์เซ็นต์ *S. typhimurium* 31.2 เปอร์เซ็นต์ *Shigella sonnei* 28.7 เปอร์เซ็นต์ และ *E. coli* 5.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ Greer and Dilts (1992) เปรียบเทียบความไวของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคและจุลินทรีย์ที่ทำให้

เกิดการเน่าเสียต่อกรดแลคติกและกรดอะซิติกที่ความเข้มข้น 1-3 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 20 และ 55 องศาเซลเซียล พบว่าเชื้อ *Staph. aureus* มีความไวต่อกรดได้สูงโดยสามารถลดจำนวนเชื้อลงได้ 1.4 log cfu และเชื้อ *S. typhimurium* สามารถทนกรดได้สูงที่สุดโดยสามารถลดจำนวนเชื้อลงได้เพียง 0.4 log cfu

2.4.3.6 **ระยะเวลาที่กรดสัมผัสกับเนื้อ**

จุลินทรีย์จะจับกับบริเวณผิวเนื้อสัตว์ด้วยวิธีต่างๆ กันได้แก่ จุลินทรีย์ถูกห่อหุ้มไว้บริเวณผิวหน้าของเนื้อสัตว์ หรืออยู่บนแผ่นฟิล์มของเหลวบนผิวเนื้อสัตว์ หรือยึดติดด้วยพันธะบริเวณผิวหน้าของเนื้อสัตว์ ซึ่งการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์ หากมีการขจัดออกได้เร็วจะมีผลดีต่อการเกาะติดของจุลินทรีย์ และระยะเวลาในการใช้กรดก็จะสั้นลง ดังนั้นซากสัตว์หรือผิวหน้าเนื้อสัตว์ควรจะนำมาผ่านกรดหลังการฆ่าหรือตกแต่งให้เร็วที่สุด

Cabedo *et al.* (1996) รายงานว่าเมื่อเก็บเนื้อเป็นเวลา 0 2 และ 4 ชั่วโมงก่อนที่จะนำมาฉีดพ่นด้วยกรดอะซิติก ที่ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ พบว่าที่ระยะเวลา 0 ชั่วโมงหลังการฆ่าจะลดจำนวนแบคทีเรียได้มากกว่าที่ 2 ชั่วโมง ถึง 1.18 log cfu/cm^2 และลดได้มากกว่าการทิ้งเนื้อไว้นาน 4 ชั่วโมง ถึง 2.52 log cfu/cm^2

2.5 **กรดกลูโคนิค และกลูโคนิคแอซิดแลคโตน** (Gluconic acid and Gluconic acid lactone)

2.5.1 **กรดกลูโคนิค** (Gluconic acid)

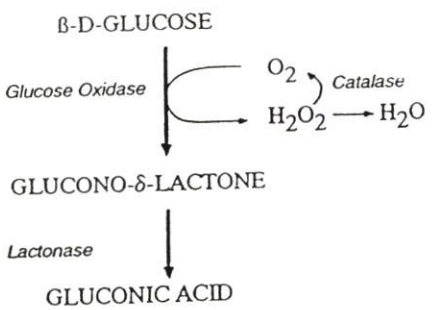
กรดกลูโคนิค มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า กรดเพนทาไฮดรอกซีคาร์โพรอิก (pentahydroxy caproic acid) มีสูตรโครงสร้างเท่ากับ $C_6H_{12}O_7$ เป็นกรดที่พบได้ในธรรมชาติ เช่น ในผลองุ่น ผลไม้ และเบียร์ แต่พบได้มากในน้ำผึ้ง ที่ระดับความเข้มข้นประมาณ 0.5–1 เปอร์เซ็นต์ กรดกลูโคนิคจัดเป็นกรดอินทรีย์ในกลุ่มของแลคโตน ซึ่งมีคุณสมบัติในการเป็น chelating metal ion และให้กลิ่นรสในอาหาร ในอดีตการผลิตกรดกลูโคนิคเกิดจากการออกซิเดชันกลูโคสโดยใช้คลอรีน (Rehm and Reed. 1986) แต่ในปัจจุบันกรดกลูโคนิคสามารถผลิตได้จากเชื้อจุลินทรีย์ เช่น *Pseudomodacea Aspergillus* spp. และ *Penicillium* เป็นต้น

กรดกลูโคนิค เป็นกรดที่มีความเป็นพิษต่ำ ไม่มีกลิ่น และไม่มีฤทธิ์ในการกัดเซาะโลหะ เมื่อรับประทานเข้าสู่ร่างกายจะถูกเมตาบอลิซึมได้ในร่างกาย จึงไม่มีความเป็นพิษในการรับประทาน FDA อนุญาตให้ใช้กรดกลูโคนิคในผลิตภัณฑ์อาหาร กรดกลูโคนิคมีความคงตัวในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ และสามารถละลายได้ดีในอิออนโลหะที่มีประจุ +2 และ +3 (divalent and trivalent metal ion) ในประเทศเยอรมันยอมรับว่ากรดกลูโคนิคเป็นอาหารชนิดหนึ่ง จึงไม่ได้จัดเป็นสารเติมแต่งในอาหาร

ในอุตสาหกรรมการผลิตเบียร์ กรดกลูโคนิคสามารถป้องกันการจับกลุ่ม (coulding) และกระจายตัว (scaling) ของสารประกอบแคลเซียมในผลิตภัณฑ์ ส่วนในผลิตภัณฑ์นมกรดกลูโคนิคช่วยป้องกันการเกิดกลุ่มก้อนในนม (milkstone) นอกจากนี้กรดกลูโคนิคมีผลในการยับยั้งการตกตะกอนของไฟเบอร์ในอุตสาหกรรมทอผ้า ด้วยคุณสมบัติของกรดกลูโคนิคที่ไม่มีฤทธิ์ในการกัดกร่อนโลหะ จึงประยุกต์ใช้กรดเพื่อทำความสะอาดโลหะต่างๆ เช่น ใช้ทำความสะอาดกระป๋องอลูมิเนียม และอุปกรณ์อื่น ๆ เป็นต้น

2.5.2 กลูโคนิคแอซิดแลคโตน

กลูโคนิคแอซิดแลคโตน (gluconic acid lactone, GDL) เป็นเอสเตอร์ของกรดกลูโคนิค ผลิตได้จากการกำจัดโมเลกุลของน้ำออกจากโมเลกุลของกรด ซึ่งมีสูตรโครงสร้างเท่ากับ $C_6H_{10}O_6$ มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 178.14 มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาวไม่มีกลิ่น ขบวนการสังเคราะห์กรดกลูโคนิคแอซิดแลคโตน แสดงได้ดังภาพที่ 2.3



ภาพที่ 2.3 ขบวนการสังเคราะห์กรดกลูโคนิค และกรดกลูโคนิคแอซิดแลคโตน
ที่มา : Rehm and Reed (1986)

เมื่อ GDL ละลายน้ำจะถูกไฮโดรไลซิสได้กรดกลูโคนิค และปฏิกริยานี้จะสิ้นสุดเมื่อจุดสมดุลระหว่างกรดกลูโคนิค และ GDL โดยปฏิกริยาจะเกิดขึ้นอย่างช้าๆ อาจจะใช้ระยะเวลานาน 40–60 นาที หรือมากกว่านั้น ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของ GDL อุณหภูมิ และค่า pH (Rehm and Reed. 1986) ในการเกิดปฏิกิริยาการลดค่า pH ของกรดกลูโคนิคจะเป็นการลดระดับ pH อย่างช้าจนถึงจุดยุติของการเกิดปฏิกิริยา พบว่าที่อุณหภูมิสูงอัตราการเกิดปฏิกริยาไฮโดรไลซิสจะเกิดขึ้นได้รวดเร็วยิ่งขึ้น

ปฏิกิริยาการลด pH ในอาหารของ GDL เกิดขึ้นได้ช้าเมื่อเทียบกับกรดแลคติก กรดอะซิติก หรือ กรดซิตริก ที่เมื่อละลายน้ำจะให้ค่า pH สุดท้ายทันที โดย GDL จะเสียสภาพที่อุณหภูมิ 153 องศาเซลล์เซียล มีความคงตัวที่อุณหภูมิห้อง และที่ความดันบรรยากาศ GDL ได้รับอนุญาตจาก FDA ว่าเป็นสารที่มีความปลอดภัยในการบริโภค

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

2.5.2.1 การประยุกต์ใช้ GDL ในอุตสาหกรรมเนื้อสัตว์

นิยมใช้ GDL ในการผลิตไส้กรอกหมัก โดยใช้ GDL แทนหัวเชื้อจุลินทรีย์ โดยจะมีผลในการลดระดับ pH ในผลิตภัณฑ์อย่างช้าๆ จึงไม่มีผลในการทำลายโครงสร้างโปรตีนของเนื้อ ซึ่งในขบวนการบ่ม (curing) GDL ช่วยเร่งการหมักเนื้อให้เร็วขึ้น ช่วยยืดอายุการเก็บ และเพิ่มกลิ่นรสที่ดีให้แก่ผลิตภัณฑ์ ลดความเสี่ยงในการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ชนิดอื่น ซึ่งต่างจากการใช้เชื้อ Lactic acid bacteria เป็นหัวเชื้อเพื่อลดระดับ pH ในอาหารอาจมีเชื้อ จุลินทรีย์ชนิดอื่นปน โดยทั่วไปจะใช้ GDL ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 ถึง 1 เปอร์เซ็นต์ หากใช้ที่ระดับความเข้มข้นที่สูง GDL จะทำให้เกิดการจับตัวกันของเนื้อได้น้อยลง และเกิดการเสียสภาพของโปรตีนทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความอ่อนนุ่ม นอกจากนี้ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกแห้ง GDL จะช่วยลดปริมาณการใช้สารไนไตรท์และช่วยเพิ่มสีให้แก่ผลิตภัณฑ์ โดยปกติในไส้กรอกหมักจะเติมกรดแลกติกหรือกรดซิตริก เพื่อเพิ่มความเป็นกรดแก่ผลิตภัณฑ์ แต่กรดเหล่านี้มีข้อเสียคือกรดจะมีผลในการลด pH อย่างรวดเร็ว ทำให้เกิดการตกตะกอนของโปรตีนก่อนที่ไขมัน และส่วนผสมอื่นจะเกิดความคงตัวในผลิตภัณฑ์ เมื่อนำไส้กรอกไปให้ความร้อนจะทำให้เกิดการแตกออกของผลิตภัณฑ์ ทำให้ส่วนไขมันไหลออกนอกผลิตภัณฑ์ แต่การใช้ GDL จะเคลือบกับส่วนผสมต่างๆ และเมื่อให้ความร้อนก็ไม่เกิดการแตกออกของผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้มีการนำ GDL มาประยุกต์ใช้ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์ Zepeda *et al.* (1994) ทดสอบผลสารละลายกรดแลคติกเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ สารละลายกรดกลูโคนิคเข้มข้น 1.5 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ในการลดจำนวนจุลินทรีย์ในเนื้อบรรจุสุญญากาศ พบว่า การใช้สารผสมระหว่างกรดกลูโคนิคเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ และกรดแลคติกเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ สามารถควบคุมการเจริญของเชื้อตลอดระยะเวลาการเก็บเป็นเวลา 56 วัน โดยลดจุลินทรีย์ในกลุ่ม Psychotrophic bacteria ลง 2.5 log cfu/cm^2 และในวันที่ 14 ของการเก็บ สามารถลดเชื้อ Lactic acid bacteria ได้ 1.9 log cfu/cm^2 เมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุมการใช้สารละลายกรดกลูโคนิคเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับกรดแลคติกที่ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยมีผลต่อเปลี่ยนแปลงสีในเนื้อเพียงเล็กน้อย

2.6 กรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid)

กรดแอสคอร์บิก (L – ascorbic acid) หรือวิตามินซี พบได้ในธรรมชาติทั้งในพืช และสัตว์ ยกเว้นในมนุษย์ ลิง และ หนูตะเภา ที่ไม่สามารถสังเคราะห์ได้ต้องได้จากการรับประทาน โดยจะพบกรดแอสคอร์บิกในผลไม้รสเปรี้ยว เช่น ส้ม สตอร์เบอรรี และ พบมากในผลเซอรี่ (acerola) นอกจากนี้กรดแอสคอร์บิกสามารถสังเคราะห์ได้จากกลูโคสโดยปฏิกิริยาเคมี หรือขบวนการหมัก แต่ผลผลิตที่ได้มีคุณภาพไม่ดีเท่ากับกรดที่พบได้ในธรรมชาติ กรดแอสคอร์บิกเป็นสารที่ได้รับการยอมรับจากองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา ว่าเป็นสารที่มีความปลอดภัยในการใช้ (GRAS) ซึ่งคุณสมบัติทางกายภาพของกรดแสดงตารางที่ 2.3

กรดแอสคอร์บิกมีลักษณะเป็นผลึกสีขาว ละลายในแอลกอฮอล์และน้ำ แต่ไม่ละลายในไขมัน กรดแอสคอร์บิกสูญเสียกิจกรรม(activity) ได้ง่ายเมื่อละลายน้ำ กรดแอสคอร์บิกเป็นสารรีดิวซ์อย่างแรงจึงถูกออกซิไดซ์ได้ง่ายในอากาศ โดยเฉพาะเมื่อมีไอออนของโลหะ เช่น Fe^{3+} หรือ Cu^{2+} แต่ในสภาวะของแข็งกรดแอสคอร์บิกมีความคงตัวได้ดีในอากาศ เมื่อกรดแอสคอร์บิกถูกออกซิไดซ์โดยอากาศและแสงจะเกิดกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก (dehydroascorbic acid) ซึ่งมีคุณสมบัติเช่นเดียวกับกรดแอสคอร์บิก นอกจากนี้พบว่า ค่าการดูดกลืนแสงของกรดขึ้นอยู่กับค่า pH ของสาร โดยที่ pH เท่ากับ 2 สามารถดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 242 nm แต่ที่ค่า pH เป็นกลางจะสามารถดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่นเพิ่มขึ้นที่ 265 nm (Tannenbaum. 1976)

กรดแอสคอร์บิกทำหน้าที่เป็นโคแฟคเตอร์ ในการสังเคราะห์คอลลาเจน ซึ่งเป็นสารที่จำเป็นในการสร้างกระดูก เอ็น ผิวหนัง และเนื้อเยื่อต่างๆ ทำให้ผนังเลือดแข็งแรง ช่วยกระตุ้นการสร้างฮีโมโกลบิน และสะสมเหล็กในตับ ลดความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจ ทั้งนี้เนื่องจากกรดแอสคอร์บิกมีคุณสมบัติเป็นสารแอนติออกซิเดนซ์ มีผลช่วยลดการเกิดอนุมูลอิสระในร่างกายซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคมะเร็ง เช่น มะเร็งบนผิวหนัง มะเร็งในโพรงจมูก มะเร็งในช่องปาก มะเร็งในหลอดอาหาร และหลอดลม เป็นต้น

ตารางที่ 2.3 คุณสมบัติทางกายภาพของกรดแอสคอร์บิก

ชื่อวิทยาศาสตร์	L-Xyloascorbic acid, L-3-Ketothreo-hexuronic acid lactone
สูตรโมเลกุล	$C_6H_8O_6$
น้ำหนักโมเลกุล	176.12
ลักษณะปรากฏ	Monoclinic needle plate crystals,pleasant,shap acidic taste
จุดหลอมเหลว	190 –192 °ซ
ค่าความจำเพาะ	1.65 ที่ 20 / 4°ซ
p K_1	4.17
p K_2	11.57
คุณสมบัติการละลาย (g/100 ml)	
น้ำ	33 ที่ 20 °ซ 40 ที่ 45°ซ 80 ที่ 100 °ซ
Propylene glycol	5.0
Ethanol	2.0
Liquid solvent	ไม่ละลาย
ค่า Optical activity	a 25_D +21 °ซ (c1.0 . น้ำ)
	a 25_D +48 °ซ (c1.0 . น้ำ)

ที่มา : Joseph and Anthony (1994)

2.6.1 การใช้กรดแอสคอร์บิกในเนื้อสัตว์

กรดแอสคอร์บิกมีคุณสมบัติเป็นสารแอนติออกซิแดนซ์ ซึ่งมีผลต่อการรักษาคุณภาพของฮีโมโกลบินในเนื้อสัตว์ โดยรีดิวซ์เมทไมโอโกลบิล (เนื้อสีน้ำตาลแดง) ซึ่งเป็นสีของเนื้อที่ผู้บริโภคไม่ยอมรับให้กลับเป็นไมโอโกลบิลได้ (สีม่วงแดง) ซึ่งเป็นสีที่ผู้บริโภคยอมรับ Herbers *et al.* (1981) รายงานว่าการใช้กรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ฉีดพ่นลงในเนื้อวัวจะชะลอการเปลี่ยนสีของเนื้อได้อย่างน้อย 1 วัน และหากนำเนื้อวัวจุ่มลงในสารละลายกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ จะยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาการเกิดออซิเดชันของรงควัตถุในเนื้อ และป้องกันการเปลี่ยนสีของกล้ามเนื้อได้นานอย่างน้อย 2 วัน นอกจากนี้ Greene *et al.* (1971) พบว่าการใช้กรดแอสคอร์บิกร่วมกับโพรลิกาเลต (prolygallate) หรือ บิวทิเลตไฮดรอกซีอะนิโซล (butylated hydroxyanisole) สามารถยับยั้งการเปลี่ยนของสีเนื้อ และการเกิดลิปิดออกซิเดชันในเนื้อวัวบด การเกิดเมทไมโอโกลบิลจะเกิดได้เร็วมาก ถ้าหากเนื้อมีเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนอยู่ และมีอุณหภูมิสูง นอกจากนี้การใช้กรดแอสคอร์บิกร่วมกับกรดอินทรีย์ชนิดอื่นจะมีผลในการลดจำนวนจุลินทรีย์และมีผลต่อสีของเนื้อสัตว์

Ogden *et al.* (1997) ศึกษาผลของการใช้กรดโพพิโอนิคและกรดแอสคอร์บิคในการถนอมรักษาเนื้อหมูบด โดยเติมกรดโพพิโอนิกที่ระดับความเข้มข้น 0.136 และ 0.410 mol/l กรดแอสคอร์บิก ระดับความเข้นข้น 0.057 mol/l และใช้กรดโพพิโอนิกร่วมกับกรดแอสคอร์บิกในอัตราส่วนความเข้มข้นต่างๆ กันลงในเนื้อสุกรบด พบว่าผลของการใช้กรดโพพิโอนิกที่ระดับความเข้มข้น 0.306 mol/l ร่วมกับกรดแอสคอร์บิก ที่ระดับความเข้มข้น 0.043 mol/l จะสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ได้นานถึง 8 วัน โดยที่สีและกลิ่นของเนื้อไม่เปลี่ยน

Saha *et al.* (1999) พบว่าเนื้อกวางที่จุ่มลงในสารละลายผสมของกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับสาร EDTA เข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ สามารถยืดอายุการเก็บของเนื้อกวางได้นาน 5 วัน ที่อุณหภูมิการเก็บ 4 องศาเซลเซียล และมีผลในการลดจำนวนเชื้อ Coliform Enterobacteriaceae และ *Staphylococcus*

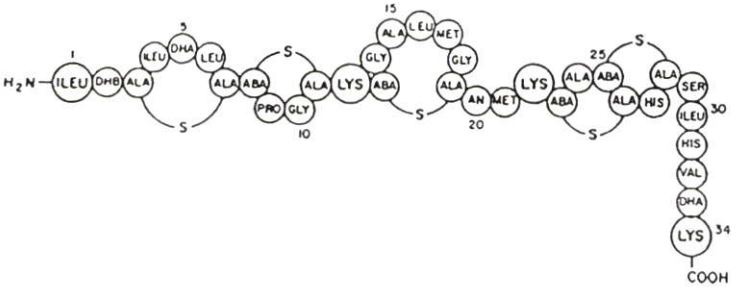
สำหรับผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ กรดแอสคอร์บิกและเกลือของกรดเมื่อใช้ร่วมกับสารไนไตรท์มีผลให้เนื้อมีสีแดง ลดระดับการเติมไนไตรท์ และลดการเกิดเหม็นหืนในผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้ยังมีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Clostridium botulinum* ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก และการใช้โซเดียมไอโซแอสคอร์เบท ที่ระดับความเข้มข้น 0.02 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับโซเดียมไนไตรท์ 50 µg/g มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Cl. botulinum* ได้ดีกว่าการใช้โซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้น 156 µg /g เพียงอย่างเดียว Ashworth and Spencer (1972) พบว่าการเติมเกลือโซเดียมแอสคอร์เบทความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารไนไตรท์ นอกจากนี้การเติมกรดแอสคอร์บิก และเกลือของกรดในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกจะช่วยลดการเกิดไนโตรซามีนในผลิตภัณฑ์ไส้กรอก โดย Fiddler *et al.* (1973) พบว่าการผลิตไส้กรอกสารโซเดียมไนไตรท์จะทำปฏิกิริยากับสารไดเมทิลลาไมด์ (dimethylamine) เกิดเป็นสารประกอบไนโตซามีน ซึ่งการเติมสารโซเดียมแอสคอร์เบท หรือกรดแอสคอร์บิกจะยับยั้งการเกิดสารไนโตรซามีน เช่นเดียวกับ Gray *et al.* (1982) พบว่าแอสคอร์บิลปามิเทตต์ที่ระดับความเข้มข้น 100 และ 500 mg/kg สามารถลดการเกิดสารไนโตรซามีนในเบคอนได้ถึง 92 และ 95 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

2.7 สารไนซิน

ไนซินเป็นสารประกอบโพลีเปปไทด์ (polypeptide) มีคุณสมบัติยับยั้งเชื้อแบคทีเรียหรือที่เรียกว่า bacteriocin ผลิตได้จากเชื้อ *lactococcus lactis sub lactis* สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก เช่น *Micrococcus Listeria* spp. และ *Staphylococcus* spp. เป็นต้น นอกจากนี้สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของแบคทีเรีย ไนซินไม่มีคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์แกรมลบ ยีสต์ และรา ไนซินได้รับอนุญาตจาก FDA ว่าเป็นสารที่มีความปลอดภัยในการใช้ (GRAS) จึงมีการนำมาใช้เป็นสารถนอมอาหาร เนื่องจากไนซินไม่มีความเป็นพิษต่อร่างกายเมื่อรับประทานและไม่ได้ใช้เป็นยารักษาในทางการแพทย์จึงมีความปลอดภัยต่อการบริโภค ไนซินใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ อย่างแพร่หลาย เช่น อาหารกระป๋อง ขบวนการผลิตชีส เนื้อสัตว์ และนม เป็นต้น

2.7.1 คุณสมบัติของไนซิน

ไนซินนิยมใช้ในทางการค้า เรียกว่า Nisaplin ซึ่งผลิตโดยบริษัท Aplin & Barrett ของประเทศอังกฤษ ไนซินประกอบด้วยกรดอะมิโน 29-34 ตัว ชนิด แอล - อะมิโน และ เอส -อะมิโน (lanthionine และ β-methyl lanthionine ring) ไนซินมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 3,500 ดาลตัน ต่อเป็นสายโซ่ โดยที่ปลายหนึ่งเป็นหมู่อะมิโนต่อกับไอโซลิวซีน ส่วนปลายอีกด้านหนึ่งเป็นหมู่คาร์บอซิลิกซึ่งต่อกับไลซีน ภายในสายจะประกอบด้วยวงแหวน 5 วง เชื่อมต่อด้วยพันธะซัลไฟด์ (sulphide bridge) ภายในโมเลกุลของไนซินมีคุณสมบัติเป็นแคทไอออนิก (cationic) และกรดไฮโดรโฟบิก (hydrophobic acid) ซึ่งการเรียงตัวของอะตอมภายในโมเลกุลของไนซินค่อนข้างมีความสลับซับซ้อน แสดงดังภาพที่ 2.4



ภาพที่ 2.4 โครงสร้างของไนซิน

ที่มา : Gould (1995)

ไนซินประกอบด้วยกรดอะมิโนกลุ่มไม่มีวงแหวน (no aromatic) ดังนั้นไนซินจึงไม่ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 nm หรือ 260 nm (Bailey and Hurst. 1971) แม้ว่าขนาดของโมเลกุลของไนซินมีขนาดเล็ก แต่ไนซินมีความคงตัวค่อนข้างสูง

คุณสมบัติการละลาย และความคงตัวของไนซิน ขึ้นอยู่กับค่า pH ของสารละลาย โดยในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเจือจางที่ระดับ pH 2.5 ไนซินสามารถละลายได้ 12 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำไปผ่านความร้อนที่ความดันสูงก็ไม่สูญเสียกิจกรรม(activity) ของสารคุณสมบัติการละลายจะลดลงเหลือร้อยละ 4 ที่ระดับ pH เท่ากับ 5 และ ไม่ละลายในสภาวะเป็นกลางและด่าง ซึ่งพบว่าที่สภาวะเป็นด่าง คุณสมบัติการแตกตัวของโปรตีนในโครงสร้างของไนซินอยู่ในช่วงไอโซอิเลคตริก (isoeletric point) เป็นผลให้โปรตีนเกิดการตกตะกอน ซึ่งเป็นเหตุผลหนึ่งที่ทำให้ไนซินละลายได้ไม่ดีที่ pH ในช่วงนี้

ความคงตัวของไนซินมีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติการละลายของไนซิน โดยไนซินเมื่อละลายในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 50 M มีประสิทธิภาพในการต่อต้านจุลินทรีย์ได้สูงกว่าเมื่อละลายในน้ำกลั่น (Hall. 1966) ไนซินเมื่ออยู่ในสารประกอบที่มีขนาดใหญ่ เช่น นม หรืออาหารเลี้ยงเชื้อ(broth) จะสูญเสียกิจกรรม (activity) ได้น้อยกว่าในสารละลายบัฟเฟอร์ เช่นเดียวกับในเนื้อปรุงสุก ไนซินมีประสิทธิภาพลดลง ทั้งนี้เนื่องจากอนุภาคของเนื้อสัตว์มีผลต่อกิจกรรมของไนซิน (Scott and Taylor. 1981)

2.7.2 ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพของไนซิน

2.7.2.1 ปัจจัยภายในอาหาร ไนซินบริสุทธิ์เก็บในรูปผงแห้งสามารถเก็บในอุณหภูมิตู้เย็นได้นานไม่มีกำหนด แต่สำหรับไนซินที่เป็นส่วนประกอบในอาหารจะสูญเสียกิจกรรมไปตามระยะเวลา โดย Hirsch (1951) พบว่า ในการผลิตชีส (swiss – type cheese) โดยใช้จุลินทรีย์ที่ผลิตไนซินเป็นเชื้อเริ่มต้น ในวันที่ 2 การผลิตปริมาณไนซิน ภายในชิ้นชีสมีปริมาณ เท่ากับ 270 unit/g แต่เมื่อเวลาผ่านไปในวันที่ 20 ของการผลิตมีปริมาณไนซินเท่ากับ 0 unit/g

2.7.2.2 ไนซินจะถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์ในน้ำย่อย โดยเอนไซม์ในกลุ่มโปรติโอไลติกเอนไซม์ เช่น ทริปซิน แพนครีตริน เอนไซม์จากตับ และเอนไซม์ในน้ำย่อย มีผลทำให้กิจกรรมของไนซินลดลง และมีความไวต่อสารมากขึ้น ยกเว้น เอนไซม์เรนเน็ท ซึ่งไม่มีผลต่อกิจกรรมของไนซิน ซึ่งคุณสมบัติเหล่านี้จะมีผลดีต่อการใช้ไนซินในการเป็นสารถนอมอาหาร ทั้งนี้เนื่องจากไนซินสามารถย่อยสลายได้ทันทีเมื่อรับประทานโดยไม่มีผลตกค้างในร่างกาย และไม่สามารถซึมผ่านเข้าสู่กระแสเลือดได้

2.7.2.3 อุณหภูมิ ไนซินมีความคงตัวที่อุณหภูมิต่ำ ดังนั้นไนซินจะออกฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ต่างๆ ที่อุณหภูมิต่ำได้ดี

2.7.2.4 ชนิดของสายพันธุ์ของแบคทีเรีย โดยไนซินจะมีผลต่อแบคทีเรียแกรมบวกและไม่มีผลต่อแบคทีเรียแกรมลบ โดยแบคทีเรียแต่ละชนิดจะมีความไวต่อฤทธิ์ของไนซินไม่เท่ากัน

ซึ่งประสิทธิภาพของไนซินจะขึ้นอยู่กับ ค่า pH ความเข้มข้นของไนซิน ปริมาณไขมันในอาหาร (lipid content) และเอนไซม์ในกลุ่มโปรติโอไลติกเอนไซม์

2.7.3 หน่วยการวัดปริมาณของไนซิน

ในการวัดปริมาณของไนซินในสมัยแรกเริ่ม แสดงในหน่วยของ Reading unit ทั้งนี้เนื่องจากมหาวิทยาลัย Reading ประเทศอังกฤษ เป็นสถานที่แรกที่เริ่มค้นคว้าและวิจัยเกี่ยวกับสารไนซิน ซึ่ง 1 Reading unit เท่ากับ 1 μg ของ standard batch nisin และในปี 1969 องค์การอนามัยโลก (World Health Organization) ได้ยอมรับให้ใช้ไนซินได้ทั่วไป ต่อมาจึงได้เปลี่ยนหน่วยให้เป็นหน่วยมาตราฐาน ที่สามารถใช้ได้ทั่วไปคือ หน่วย international unit (IU) โดย 1 μg ของไนซินบริสุทธิ์มีค่าเท่ากับ 40 IU

2.7.4 คุณสมบัติการยับยั้งแบคทีเรีย

ไนซินสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้หลายชนิด นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของแบคทีเรีย โดยไนซินจะลดความต้านทานความร้อนของสปอร์ของแบคทีเรีย ดังนั้นสปอร์ที่มีความไวต่อไนซินมากจะถูกทำลายด้วยความร้อนได้ดีเมื่อได้รับความร้อน แต่ไนซินจะไม่มีผลในช่วงระยะฟักตัวของสปอร์ของแบคทีเรีย

ไนซินสามารถยับยั้งแบคทีเรียหลายชนิดเช่น *Streptococcus Bacillus Clostridium Micrococcus* และ *Lactobacillus* แต่ไนซินจะไม่มีผลในการยับยั้งพวกยีสต์ และรา ไนซินมีประสิทธิภาพต่ำในการยับยั้งจุลินทรีย์แกรมลบ เนื่องจากในจุลินทรีย์แกรมลบ จะมีส่วนเมมเบรนชั้นนอก ซึ่งประกอบด้วยฟอสโฟลิปิด โปรตีน และลิโปโพลีแซคคาร์ไลด์ (Lipopoly saccharide, LPS) จะขัดขวางการผ่านเข้าออกของสารไนซิน ในส่วนนี้จะมีรูที่ยอมให้สารที่มีขนาดอย่างน้อย 600 ดาลตัน สามารถผ่านเข้าออกได้ แต่โมเลกุลของไนซินมีอนุภาคขนาดใหญ่ (มีขนาดเท่ากับ 3,510 ดาลตัน) เกินกว่าที่จะเข้าทำปฏิกิริยากับส่วนนี้ได้ แต่ไนซินจะสามารถยับยั้งพวกแบคทีเรียแกรมลบได้ก็ต่อเมื่อใช้ร่วมกับสารซีเลติง (chelating agent) เช่น EDTA (ethylene diamine tetra acetic acid) กรดซิตริก ซิเตรท แลคเตท เป็นต้น โดย Steven *et al.* (1991) รายงานว่าการใช้ 20 mM EDTA ร่วมกับ 50 μg/ml ของไนซิน ในสารละลายบัฟเฟอร์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 60 นาทีจะสามารถลดเชื้อ *Salmonella* spp. *Enterobacter aerogenes Shigella flexneri Citrobacter frenndi* และ *E. coli* 0157:H7 ได้ 3 - 6 log cfu/ml และการใช้ไนซินร่วมกับ 20 mM EDTA ซิเตรท หรือ ฟอสเฟต ที่อุณหภูมิ 30 - 42 องศาเซลเซียล จะเพิ่มประสิทธิภาพของไนซินต่อการยับยั้งจุลินทรีย์แกรมลบ (Steven *et al.* 1992) ทั้งนี้เพราะ EDTA จะไปจับกับแมกนีเซียมไอออนในส่วนลิโปโพลีแซคคาร์ไรด์ ซึ่งปกติแล้วแมกนีเซียมไอออน และแคลเซียมไอออนบริเวณลิโปโพลีแซคคาร์ไรด์จะทนต่อการเข้าไปของโมเลกุลของสารปฏิชีวนะ สารทำความสะอาด สี และไนซิน แต่เมื่อ EDTA เข้าไปจับกับแมกนีเซียมไอออนของชั้นนอกของ LPS ทำให้เกิดการสูญเสียลิโปโพลีแซคคาร์ไรด์ และไขมัน จากนอกเซลล์ และเพิ่มการอ่อนแอต่อไนซินมากขึ้น เป็นผลให้ไนซินเข้าทำลายได้ง่าย

2.7.5 จุดที่ไนซินออกฤทธิ์

ไนซินมีคุณสมบัติในการยับยั้ง หรือทำลายจุลินทรีย์ได้นั้นขึ้นอยู่กับปริมาณของไนซินที่ใช้ และความไวของเซลล์ร่างกาย (vegetative cell) และสปอร์ของแบคทีเรียแต่ละชนิด Henning *et al.* (1986) แสดงถึงประสิทธิภาพของไนซินต่อการต่อต้านแบคทีเรียเกิดจากปฏิกิริยาของไนซินกับฟอสโฟลิปิดภายในไซโตพลาสมิกเมมเบรน โดยไนซินทำให้เกิดการรั่วไหลของฟอสโพลิปิดไลโซโซม (phospholipid lysosome) โดยไนซินจะไปรวมตัวกับฟอสโฟลิปิด ทำให้เกิดการสร้างตัวเป็นไนซินฟอสโฟลิปิดคอมแพค (nisin–phospholipid complex) ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงประจุภายในเซลล์ และทำให้เกิดการรั่วไหลของสารเกิดขึ้น องค์ประกอบภายในเซลล์ที่สูญเสียไป เช่น อะดิโนซินไตรฟอสเฟต (ATP) โพแตสเซียมอิออน และ กรดอะมิโน โดยในสภาวะเป็นกรดไนซินจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดี เมื่อศึกษาอย่างละเอียดจนถึงจุดออกฤทธิ์ด้านชีวโมเลกุลนั้น พบว่าไนซินจะไปยับยั้งกลุ่มซัลไฟดริลภายในไซโตพลาสมิกเมมเบรน ไนซินจะมีผลต่อต้านสปอร์ของแบคทีเรียได้มากกว่าเซลล์ร่างกาย ช่วง pH ที่ทำให้ไนซินมีประสิทธิภาพมากที่สุด คือ 6.5 - 6.8

การทำให้เซลล์เกิดการบาดเจ็บเนื่องจากขบวนการให้ความร้อน การแช่เยือกแข็ง และการสัมผัสกรดอินทรีย์ จะเพิ่มการซึมผ่านเข้าออกภายในเซลล์จุลินทรีย์ได้มากขึ้นและทำให้จุลินทรีย์มีความไวต่อไนซินมากขึ้น

2.7.6 ไนซินต่อการลดจำนวนจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์

การใช้ไนซินเพื่อควบคุมและลดจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์ พบว่าไนซินจะมีผลต่อแบคทีเรียแกรมบวก และพวกแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคและเน่าเสียในเนื้อ Ariyapitipun *et al.* (1999) พบว่าไนซินจะสามารถลดจำนวนเชื้อ Mesophile *Enterobacter* และ *Pseudomonas* บนชิ้นเนื้อวัวสดในระยะเวลาการเก็บ 56 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียล ในระดับความเข้มข้นของไนซิน 200 IU/ml นอกจากนี้การใช้ไนซินฉีดพ่นลงไปยังซากผอมและในเนื้อส่วนไขมันที่ระดับความเข้มข้น 500 IU จะสามารถลดจำนวนเชื้อ *C. divergen B. thermophacta* ได้ประมาณ 2-3.6 log cfu ในเนื้อทั้ง 2 ชนิด (Cutter and Siragusa. 1996) Chung *et al.* (1989) ได้ทำการทดลองใช้ชิ้นเนื้อจุ่มลงในสารละลายไนซิน พบว่าเชื้อ *Staph. aureus* และ *L. monocytogenes* จะลดลงจากปริมาณเชื้อเริ่มต้น 1.35 log cfu และ 2.45 log cfu ตามลำดับ ผลของไนซินในการลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ในสารอาหารกับบนผิวหน้าเนื้อสัตว์จะมีผลแตกต่างกัน ไนซินจะมีผลในการลดจุลินทรีย์ในสารอาหารได้มากกว่าในชิ้นเนื้อสัตว์ทั้งนี้อาจเป็นเพราะเซลล์จุลินทรีย์จับกับส่วนเนื้อเยื่อบนผิวหน้าเนื้อสัตว์ได้ดีกว่าในชิ้นอาหารเหลว

นอกจากนี้ยังได้มีการประยุกต์ใช้ไนซินในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบโดยการใช้ร่วมกับสารชนิดอื่นเช่น EDTA ซิเตรท แลตเตท และกรดซิตริก ซึ่งพบว่าไนซินจะสามารถลดจำนวนเชื้อ *S. typhimurium* และ *E. coli* 0157:H7 บนซากผอมของเนื้อวัวโดยการใช้ร่วมกับแลคเตท จะลดจำนวนเชื้อ *S. typhimurium* ได้ 0.40 log cfu/cm^2 และเมื่อใช้ร่วมกับ EDTA จะลดจำนวนเชื้อ E.*coli* 0157:H7 ได้ประมาณ 0.42 log cfu/cm^2 (Cutter and Siragusa. 1995) และ สารผสมดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์บนผิวหน้าของไก่ได้ดีกว่าการใช้คลอรีนความเข้มข้น 20 ppm (Shefet *et al.* 1995)

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 วัตถุดิบ

3.1.1 ชิ้นเนื้อสุกร

ใช้เนื้อสุกรสดส่วนสันนอก ที่ได้จากบริษัท เฟรสมีท จำกัด นำมาบรรจุกล่องพลาสติก เก็บในตู้แช่แข็ง (deep freeze) อุณหภูมิประมาณ –18 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์

1. *Escherichia coli*
2. *Salmonella derby* SH 3804

3.2 อุปกรณ์ในการวิเคราะห์

3.2.1	ตู้เย็นควบคุมอุณหภูมิ	Sanyo	ไทย
3.2.2	ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator)	Memmert	เยอรมัน
3.2.3	ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)	Memmert	เยอรมัน
3.2.4	เครื่องชั่งอิเลคทรอนิค	Mettler toledo	สวิสเซอร์แลนด์
3.2.5	เครื่องวัดความเป็นกรด–ด่าง	Mettler toledo	สวิสเซอร์แลนด์
3.2.6	ตู้เขี่ยเชื้อ (Laminar flow)		
3.2.7	หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave)	Tommy SS-320	ญี่ปุ่น
3.2.8	เครื่องปิดผนึกแบบสูญญากาศ	Sammic	ไทย
3.2.9	เครื่องตีป่นอาหาร (Stomacher 400)		

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

3.3.1	Plate count agar (PCA)	Merck
3.3.2	Lauryl sulphate tryptose broth (LSTB)	Merck
3.3.3	EC broth	Merck
3.3.4	Trypticase soy broth (TSB)	Merck
3.3.5	Trypticase soy agar (TSA)	Merck
3.3.7	Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) agar	Merck
3.3.8	ไนซิน (Nisin from Streptococcus)	Fluka

3.3.9 กรดแอสคอร์บิก (L – ascorbic acid) Metha

3.3.10 กรดกลูโคนิคแอซิกแลคโตน (D- gluconic acid lactone) Sigma

3.4 สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร (โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร) สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.5 วิธีการทดลอง

3.5.1 การเตรียมตัวอย่างชิ้นเนื้อสุกร

นำเนื้อสุกรสันนอกแช่แข็งมาตัดแต่งให้ได้ชิ้นเนื้อที่มีขนาด 5x5x1 เซนติเมตร น้ำหนักประมาณ 40 กรัมต่อชิ้น นำมาผ่านการฆ่าเชื้อด้วยแสง UV ในตู้ปลอดเชื้อ เป็นเวลา 60 นาที โดยกลับชิ้นเนื้อทุก 30 นาที

3.5.2 ศึกษาผลของสารละลายกรดกลูโคนิค กรดแอสคอร์บิก สารไนซิน และสารผสมของสารดังกล่าวในการลดเชื้อ *Escherichia coli* ในเนื้อสุกร

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยศึกษาผลของสารต่าง ๆ ต่อระยะเวลาการเก็บเนื้อสุกรที่อุณหภูมิ 4 ± 1 และ 15 ± 1 องศาเซลเซียล

สารเคมีที่ใช้ในการสัมผัสสาร แบ่งเป็น 8 กลุ่มการทดลอง ได้แก่

กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มเปรียบเทียบ (ไม่สัมผัสกับสารเคมี)

กลุ่มที่ 2 สัมผัสสารละลายกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (A)

กลุ่มที่ 3 สัมผัสสารละลายกรดกลูโคนิคความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (G)

กลุ่มที่ 4 สัมผัสสารละลายไนซินความเข้มข้น 1,000 IU/ml (N)

กลุ่มที่ 5 สัมผัสสารละลายผสมของกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ และกรดกลูโคนิคความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (A+G)

กลุ่มที่ 6 สัมผัสสารละลายผสมระหว่างสารละลายไนซินเข้มข้น 1,000 IU/ml และละลายกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (N+A)

กลุ่มที่ 7 สัมผัสสารละลายผสมระหว่างสารละลายไนซินเข้มข้น 1,000 IU/ml และสารละลายกรดกลูโคนิคความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (N+G)

กลุ่มที่ 8 สัมผัสสารละลายผสมระหว่างสารละลายไนซินเข้มข้น 1,000 IU/ml สารละลายกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ และ สารละลายกรดกลูโคนิคความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (N+A+G)

3.5.2.1 นำตัวอย่างชิ้นเนื้อจากข้อ 3.5.1 มาจุ่มในสารละลายเชื้อ *E. coli* ที่ความเข้มข้นประมาณ 10^5 cfu/ml ที่ได้มาจากการเตรียมดังแสดงในภาคผนวก ก เป็นเวลา 3 นาที ผึ่งให้แห้งในตู้ปลอดเชื้อเป็นเวลา 15 นาที

3.5.2.2 แบ่งชิ้นเนื้อที่ผ่านการเติมเชื้อแล้วจากข้อ 3.5.2.1 เป็น 8 กลุ่มการทดลอง ดังกล่าวในหัวข้อ 3.5.2 โดยกลุ่มที่ 2 - 8 นำมาสัมผัสกับสารเคมีที่ระบุไว้เป็นเวลานาน 5 นาที ผึ่งให้แห้งในตู้ปลอดเชื้อเป็นเวลา 15 นาที นำตัวอย่างของทั้ง 8 กลุ่มการทดลองมาบรรจุแบบสุญญากาศในถุงพลาสติก PE

3.5.2.3 แบ่งตัวอย่างชิ้นเนื้อสุกรในแต่ละกลุ่มจากข้อ 3.5.2.2 เป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 1 องศาเซลเซียล และส่วนที่ 2 เก็บที่อุณหภูมิ 15 ± 1 องศาเซลเซียล สุ่มตัวอย่างชิ้นเนื้อสุกรของทั้ง 8 กลุ่มการทดลองที่เก็บในแต่ละอุณหภูมิมาตรวจวิเคราะห์ตามข้อ 3.5.2.4 ในวันที่ 0 1 3 5 7 9 และ 11 วัน ของการเก็บรักษา

3.5.2.4 นำตัวอย่างชิ้นเนื้อสุกรจากข้อ 3.5.2.3 มาตรวจวิเคราะห์ดังนี้

- การตรวจหาจำนวนเชื้อ *E. coli* โดยวิธี MPN (FDA- BAM. 1992) ดังแสดงในภาคผนวก ข
- การตรวจนับจุลินทรีย์ทั้งหมด (total plate count) ตามวิธี (FDA- BAM. 1992) โดยวิธี pour plate
- วัดค่าความเป็นกรด – ด่าง บนชิ้นเนื้อด้วยเครื่อง pH meter ดังแสดงในภาคผนวก ข

3.5.3 ศึกษาผลของสารละลายกรดกลูโคนิค กรดแอสคอร์บิก สารไนซิน และสารผสมของสารดังกล่าวในการลดเชื้อ *Salmonella derby* ในเนื้อสุกร

ทำการทดลองเช่นเดียวกับหัวข้อ 3.5.2 แต่จุ่มตัวอย่างในสารละลายเชื้อ *S. derby* ความเข้มข้นประมาณ 10^5 cfu/ml แทนสารละลายเชื้อ *E. coli* และตรวจหาจำนวนเชื้อ *S. derby* โดยวิธีMPN (FDA – BAM. 1992)

3.5.4 ศึกษาผลของสารละลายกรดกลูโคนิค กรดแอสคอร์บิก สารไนซิน และสารผสมของสารดังกล่าวต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของเนื้อสุกร

เตรียมตัวอย่างชิ้นเนื้อ ขนาด 5 x 5 x 1 ตารางเซนติเมตร แบ่งชิ้นเนื้อออกเป็น 8 กลุ่มการทดลองตามที่แสดงในหัวข้อ 3.5.2 นำชิ้นเนื้อสัมผัสสารละลายดังกล่าวเป็นเวลานาน 5 นาที และผึ่งให้แห้งเป็นเวลา 15 นาที นำชิ้นเนื้อบรรจุแบบสุญญากาศในถุงพลาสติก PE แบ่งตัวอย่างชิ้นเนื้อทั้ง 8 กลุ่ม ออกเป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 1 องศาเซลเซียล และส่วนที่ 2 เก็บที่อุณหภูมิ 15 ± 1 องศาเซลเซียล สุ่มตัวอย่างชิ้นเนื้อตรวจหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของเนื้อสุกร ตามวิธีการแสดงดังภาคผนวก ข ในวันที่ 0 1 3 5 7 9 และ 11 วัน ของการเก็บรักษา

3.5.5 ศึกษาผลของสารละลายกรดกลูโคนิค กรดแอสคอร์บิก สารไนซิน และสารผสมของสารดังกล่าวต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสของเนื้อสุกร

เตรียมตัวอย่างชิ้นเนื้อ ขนาด 5 x 5 x 1 ตารางเซนติเมตร แบ่งชิ้นเนื้อออกเป็น 8 กลุ่มการทดลอง เช่นเดียวกับหัวข้อ 3.5.2.2 โดยนำตัวอย่างชิ้นเนื้อสัมผัสสารละลายดังกล่าวเป็นเวลา 5 นาที และ วางชิ้นเนื้อไว้นานประมาณ 30 นาที นำมาทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสทางด้าน สี กลิ่นของเนื้อสด และ รสชาติที่แปลกปลอมของเนื้อสุกรนึ่งสุก โดยใช้การทดสอบแบบ Different from control ด้วยแบบทดสอบแสดงในภาคผนวก ค โดยใช้ผู้ทดสอบซึ่งเป็นนักศึกษาปริญญาโทและตรีของภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร (โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร) สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังจำนวน 30 คน

ในการทดสอบรสชาติที่แปลกปลอมทดสอบโดยนำตัวอย่างชิ้นเนื้อจาก 8 กลุ่มการทดลองบรรจุในภาชนะและปิดผนึกด้วยพลาสติกทนร้อนเพื่อป้องกันการสูญเสียกลิ่นรสของเนื้อ หลังจากนั้นนำมาผ่านความร้อนในเครื่องไมโครเวฟโดยใช้ความร้อนระดับกลาง ระยะเวลาในการให้ความร้อนนานประมาณ 6 นาที นำมาทดสอบโดยการชิม วางแผนการทดลองแบบ Randomizied Complete Block Design (RCBD)

3.5.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองทุกการทดลอง มาวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป (SPSS analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยแต่ละวิธีด้วยวิธี Ducan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 ศึกษาผลของสารละลายกรดกลูโคนิค กรดแอสคอร์บิก สารไนซิน และสารผสมของสารดังกล่าวในการลดเชื้อ *Escherichia coli* ในเนื้อสุกร

ทำการตรวจหาจำนวนเชื้อ *E. coli* และปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (total plate count) ในตัวอย่างกลุ่มที่ผ่านการจุ่มสารละลายกรดแอสคอร์บิก (A) กลุ่มที่ผ่านการจุ่มสารละลายกรดกลูโคนิค (G) กลุ่มที่ผ่านการจุ่มสารละลายไนซิน(N) กลุ่มที่ผ่านการจุ่มสารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) กลุ่มที่ผ่านการจุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดแอสคอร์บิก (N+A) กลุ่มที่ผ่านการจุ่มสารละลายระหว่างสารไนซินและกรดกลูโคนิค (N+G) กลุ่มที่ผ่านการจุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค (N+A+G) ภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิ 4 ± 1 องศาเซลเซียล และ 15 ± 1 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 0 1 3 5 7 9 และ 11 วันของการเก็บรักษา

4.1.1 ผลของสารละลายกรดแอสคอร์บิก สารละลายกรดกลูโคนิค สารไนซิน และสารผสมของสารดังกล่าวต่อจำนวนเชื้อ *E. coli* ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 4 ± 1 องศาเซลเซียล

จำนวนเชื้อ *E. coli* ตัวอย่างกลุ่มสารละลายต่างๆ ที่อุณหภูมิการเก็บ 4 ± 1 องศาเซลเซียล แสดงได้ดังตารางที่ 4.1 พบว่าตลอดระยะเวลาการเก็บ 11 วัน สารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) สามารถลดจำนวนเชื้อ *E. coli* ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม โดยในวันที่ 0 ของการเก็บรักษาในกลุ่มที่ผ่านการจุ่มด้วยสารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค (N+A+G) และกลุ่มสารละลายกรดกลูโคนิค (G) มีจำนวนเชื้อ *E. coli* น้อยกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยมีจำนวนเท่ากับ 3.02 3.34 และ 3.46 log MPN/25g ตามลำดับ ซึ่งมีจำนวนเชื้อน้อยกว่ากลุ่มควบคุมเท่ากับ 0.98 0.66 และ 0.54 log reduction ในขณะที่จำนวนเชื้อ *E. coli* ในกลุ่มอื่นๆ ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ในวันที่ 1 ของการเก็บรักษา จำนวนเชื้อ *E.coli* ในตัวอย่างกลุ่มที่ผ่านการจุ่มสารละลายสารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) มีจำนวนเชื้อน้อยกว่าทุกกลุ่มการทดลองโดยมีค่าเท่ากับ 2.95 log MPN/25g ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมจำนวนเชื้อลดลง 1.36 log reduction ในขณะที่กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค(N+A+G)

สารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดกลูโคนิค (N+G) สารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดแอสคอร์บิก (N+A) และ สารละลายกรดกลูโคนิค (G) จำนวนเชื้อน้อยกว่าตัวอย่างควบคุมเท่ากับ 0.99 0.92 0.77 และ 0.76 log reduction ตามลำดับ ในวันที่ 3 5 7 9 และ 11 วัน ของการเก็บรักษา กลุ่มที่ผ่านการจุ่มในสารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) เท่านั้นที่มีจำนวนเชื้อ *E. coli* น้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยมีจำนวนเชื้อลดลงเท่ากับ 0.98 1.13 1.15 1.32 และ 1.24 log reduction ตามลำดับ ในขณะที่กลุ่มการทดลองอื่นๆ มีจำนวนเชื้อ *E. coli* ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ($p > 0.05$)

ผลของระยะเวลาการเก็บต่อจำนวนเชื้อ *E. coli* จากตารางที่ 4.1 พบว่า ตลอดระยะเวลาการเก็บ 11 วัน ในแต่ละกลุ่มสารละลายมีจำนวนเชื้อ *E. coli* ไม่เพิ่มขึ้นจากวันที่ 0 ถึงวันที่ 11 ของการเก็บรักษา แต่มีแนวโน้มลดลง โดยตัวอย่างของกลุ่มที่ผ่านการจุ่มในสารละลายกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) มีแนวโน้มลดลงมากกว่าตัวอย่างในกลุ่มสารละลายอื่นๆ ทั้งนี้เนื่องจากสารละลายผสมดังกล่าวมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อเริ่มต้น และอุณหภูมิการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียล จะช่วยยับยั้งการเจริญของเชื้อให้มีช่วง lag phase ยาวขึ้น (Goddard *et al.* 1996)

4.1.2 ผลของสารละลายกรดแอสคอร์บิก สารละลายกรดกลูโคนิค สารไนซิน และสารผสมของสารดังกล่าวต่อจำนวนเชื้อ *E. coli* ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 15 ± 1 องศาเซลเซียล

จำนวนเชื้อ *E.coli* ในกลุ่มตัวอย่าง ภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิ 15 ± 1 องศาเซลเซียล แสดงดังตารางที่ 4.2 พบว่า ในวันที่ 0 จำนวนเชื้อ *E. coli* ของกลุ่มตัวอย่างที่ผ่านการจุ่มด้วยสารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค (N+A+G) และ กลุ่มสารละลายกรดกลูโคนิค (G) มีจำนวนเชื้อน้อยกว่ากลุ่มควบคุม เท่ากับ 0.98 0.66 และ 0.54 log reduction ตามลำดับ และในวันที่ 1 และ วันที่ 3 ของการเก็บรักษา ตัวอย่างในทุกกลุ่มการทดลองมีจำนวนเชื้อ *E. coli* ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ที่อุณหภูมิการเก็บรักษาที่ 15 ± 1 องศาเซลเซียล สามารถเก็บรักษาตัวอย่างเนื้อสุกรของทุกกลุ่มสารละลายได้เพียง 3 วัน ตัวอย่างเนื้อสุกรจะมีสีเขียวคล้ำ มีเมือกบริเวณผิวของชิ้นเนื้อ และ มีกลิ่นเหม็นเน่า เนื่องจากที่อุณหภูมิการเก็บ 15 ± 1 องศาเซลเซียล เป็นช่วงอุณหภูมิที่เหมาะต่อการเจริญของเชื้อ *E. coli* และ เชื้อที่ทำให้เกิดการเน่าเสียของเนื้อ

ตารางที่ 4.1 จำนวนเชื้อ *E. coli* ในเนื้อสุกร ที่ผ่านการจุ่มสารละลายกรดแอสคอร์บิก (A) กรดกลูโคนิค (G) สารไนซิน (N) สารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) สารไนซินและกรดแอสคอร์บิก (N+A) สารไนซินและกรดกลูโคนิค (N+G) สารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และ กรดกลูโคนิค (N+A+G) ภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิ 4 ± 1 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 0 1 3 5 7 9 และ 11 วัน

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	จำนวนเชื้อ *E. coli* (log MPN/25 g)							
	C***	A	G	N	A+G	N+A	N+G	N+A+G
0	$4.00 \pm 0.14_{x}^{d*}$	$3.81 \pm 0.25_{y}^{bcd}$	$3.46 \pm 0.31_{x}^{abc}$	$3.81 \pm 0.27_{.}^{bcd}$	$3.02 \pm 0.23_{x}^{a}$	$3.88 \pm 0.27_{x}^{cd}$	$3.70 \pm 0.27_{x}^{bcd}$	$3.34 \pm 0.36_{x}^{ab}$
1	$4.31 \pm 0.35_{x}^{c}$	$3.96 \pm 0.38_{y}^{bc}$	$3.55 \pm 0.35_{x}^{ab}$	$3.88 \pm 0.68_{.}^{bc}$	$2.95 \pm 0.005_{x}^{a}$	$3.54 \pm 0.15_{x}^{ab}$	$3.39 \pm 0.23_{x}^{ab}$	$3.32 \pm 0.26_{x}^{ab}$
3	$3.84 \pm 0.20_{.}^{b}$	$3.51 \pm 0.13_{xy}^{ab}$	$3.11 \pm 0.21_{.}^{ab}$	$3.73 \pm 0.32_{.}^{b}$	$2.86 \pm 0.51_{.}^{a}$	$3.63 \pm 0.46_{.}^{ab}$	$3.56 \pm 0.53_{.}^{ab}$	$3.35 \pm 0.70_{x}^{ab}$
5	$4.04 \pm 0.46_{.}^{b}$	$3.93 \pm 0.62_{xy}^{ab}$	$3.22 \pm 0.70_{x}^{ab}$	$3.38 \pm 0.23_{.}^{ab}$	$2.91 \pm 0.55_{.}^{a}$	$3.81 \pm 0.57_{.}^{ab}$	$3.56 \pm 0.70_{x}^{ab}$	$3.79 \pm 0.52_{x}^{ab}$
7	$3.81 \pm 0.16_{x}^{c}$	$3.31 \pm 0.33_{xy}^{abc}$	$2.82 \pm 0.30_{x}^{ab}$	$3.71 \pm 0.57_{.}^{bc}$	$2.66 \pm 0.69_{.}^{a}$	$3.86 \pm 0.66_{.}^{c}$	$4.09 \pm 0.51_{.}^{c}$	$3.40 \pm 0.54_{x}^{abc}$
9	$3.97 \pm 0.56_{.}^{b}$	$3.02 \pm 0.42_{.}^{ab}$	$3.11 \pm 0.48_{x}^{ab}$	$3.58 \pm 0.39_{.}^{ab}$	$2.65 \pm 0.70_{.}^{a}$	$3.78 \pm 0.88_{.}^{ab}$	$3.81 \pm 0.86_{x}^{ab}$	$3.22 \pm 0.70_{x}^{ab}$
11	$3.88 \pm 0.41_{x}^{b}$	$3.33 \pm 0.47_{xy}^{ab}$	$2.87 \pm 0.80_{x}^{ab}$	$3.62 \pm 0.43_{.}^{ab}$	$2.64 \pm 0.70_{.}^{a}$	$3.34 \pm 0.70_{.}^{ab}$	$3.63 \pm 0.46_{x}^{ab}$	$3.11 \pm 0.66_{.}^{ab}$

A..

* ตัวอักษร a ,b, c และ d ที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เป็นการเปรียบเทียบผลของสารต่อการลดจำนวนเชื้อ *E. coli* ในตัวอย่างที่อายุการเก็บเดียวกัน

** ตัวอักษร x y และ z ที่ความแตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เป็นการเปรียบเทียบจำนวนเชื้อ *E. coli* ในกลุ่มสารละลายเดียวกันเมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้น

***แสดงความหมายในแต่ละกลุ่มทดลองดังนี้

C : กลุ่มควบคุม

A : กลุ่มสารละลายกรดแอสคอร์บิก

A+ G : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค

N : กลุ่มสารละลายไนซิน

N+A : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดแอสคอร์บิก

G : กลุ่มสารละลายกรดกลูโคนิค

N+G : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดกลูโคนิค

N + A+ G : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค

ตารางที่ 4.2 จำนวนเชื้อ *E. coli* ในเนื้อสุกร ที่ผ่านการจุ่มสารละลายกรดแอสคอร์บิก (A) กรดกลูโคนิค (G) สารไนซิน (N) สารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) สารไนซินและกรดแอสคอร์บิก (N+A) สารไนซินและกรดกลูโคนิค (N+G) สารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค (N+A+G) ภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิ 15 ± 1 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 0 1 และ 3 วัน

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	จำนวนเชื้อ *E. coli* (log MPN/25g)							
	C***	A	G	N	A+G	N+A	N+G	N+A+G
0	$4.00 \pm 0.14_{x}^{d*}$	$3.81 \pm 0.25_{x}^{bcd}$	$3.46 \pm 0.31_{x}^{abc}$	$3.81 \pm 0.27_{y}^{bcd}$	$3.02 \pm 0.23_{x}^{a}$	$3.88 \pm 0.27_{x}^{cd}$	$3.70 \pm 0.27_{x}^{bcd}$	$3.34 \pm 0.36_{x}^{ab}$
1	$4.40 \pm 0.49_{x}^{a}$	$4.08 \pm 0.52_{x}^{a}$	$4.55 \pm 0.54_{xy}^{a}$	$4.22 \pm 0.38_{z}^{a}$	$3.91 \pm 0.24_{y}^{a}$	$4.55 \pm 0.87_{xy}^{a}$	$4.31 \pm 0.59_{x}^{a}$	$4.20 \pm 0.52_{xy}^{a}$
3	$5.91 \pm 0.81_{y}^{a}$	$5.08 \pm 0.83_{y}^{a}$	$5.22 \pm 0.79_{z}^{a}$	$5.91 \pm 1.02_{z}^{a}$	$5.32 \pm 0.58_{z}^{a}$	$5.47 \pm 0.86_{y}^{a}$	$5.58 \pm 0.50_{y}^{a}$	$5.01 \pm 1.12_{y}^{a}$

A..

* ตัวอักษร a ,b, c และ d ที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เป็นการเปรียบเทียบผลของสารต่อการลดจำนวนเชื้อ *E. coli* ในตัวอย่างที่อายุการเก็บเดียวกัน

** ตัวอักษร x y และ z ที่ความแตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เป็นการเปรียบเทียบจำนวนเชื้อ *E. coli* ในกลุ่มสารละลายเดียวกันเมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้น

***แสดงความหมายในแต่ละกลุ่มทดลองดังนี้

A : กลุ่มสารละลายกรดแอสคอร์บิก

N : กลุ่มสารละลายไนซิน

G : กลุ่มสารละลายกรดกลูโคนิค

N + A+ G : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค

c : กลุ่มควบคุม

A+ G : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค

N+A : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดแอสคอร์บิก

N+G : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดกลูโคนิค

จากผลการศึกษาสารละลายกรดแอสคอร์บิก สารละลายกรดกลูโคนิค สารไนซิน และสารละลายผสมของสารดังกล่าวในการลดเชื้อ *E. coli* ในตัวอย่างเนื้อสุกรภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิ 4 ± 1 องศาเซลเซียล และ 15 ± 1 องศาเซลเซียล ดังแสดงข้างต้นแล้วนั้นสารผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) มีประสิทธิภาพในการลดจำนวนเชื้อ *E. coli* ในชิ้นเนื้อได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับสารในกลุ่มอื่นๆ โดยสามารถลดจำนวนเชื้อ *E. coli* ได้ประมาณ 1 log MPN/25 g และมีผลนานถึง 11 วัน ที่อุณหภูมิการเก็บรักษาที่ 4 ± 1 องศาเซลเซียล นอกจากนี้พบว่ามีผลในการลดจำนวนเชื้อ *E.coli* ได้ดีกว่าการใช้สารละลายกรดแอสคอร์บิก หรือสารละลายกรดลูโคนิคเพียงสารเดียว ทั้งนี้เนื่องจากการใช้สารผสมของกรดจะช่วยเสริมประสิทธิภาพในการเข้าไปทำลายจุลินทรีย์ได้ดีกว่าการใช้กรดหรือสารเพียงชนิดเดียว ซึ่งการทดลองนี้ผลสอดคล้องกับการทดลองของ Ogden *et al.*(1997) กล่าวว่าการใช้กรดแอสคอร์บิกที่ความเข้มข้น 0.057 mol/l ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ Enterobacteriaceae ได้ แต่หากใช้กรดแอสคอร์บิกร่วมกับกรดโพรพิโอนิก สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ และสามารถยืดอายุการเก็บของเนื้อได้นาน 8 วัน นอกจากนี้ Verma and Sahoo (2000) พบว่ากรดแอสคอร์บิกที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ Coliform ในเนื้อกวางบดอุณหภูมิการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียล แต่หากใช้กรดแอสคอร์บิกร่วมกับ EDTA ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ จะสามารถลดจำนวนเชื้อ Coliform ได้ นอกจากนี้ผลของระดับ pH ของสารผสมก็เป็นปัจจัยหนึ่งในการลดจำนวนจุลินทรีย์ โดยค่า pH ของสารละลายผสมของกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) มีค่าอยู่ในช่วง 5.0 – 5.3 ซึ่งความเป็นกรดมากกว่ากลุ่มสารละลายอื่นๆ (แสดงในตารางที่ 4.5) ซึ่งคุณสมบัติของกรดแต่ละชนิดจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้ต่างกันขึ้นอยู่กับ ระดับ pH ความสามารถในการแตกตัว (pK_a) และความเฉพาะเจาะจงของกรดในการทำลายจุลินทรีย์ (Gill and Newton.1982) Hardin *et al.* (1995) พบว่า ระดับ pH บนผิวหน้าเนื้อที่ลดลง จะมีผลให้อิออนของกรดมีความสามารถในการทำลายจุลินทรีย์ได้มากขึ้น โดยกลไกการทำลายจุลินทรีย์ พบว่ากรดซึ่งอยู่ในรูปของกรดที่ไม่แตกตัวจะจับกับผนังเซลล์ของแบคทีเรีย เป็นผลให้กรดในรูปที่แตกตัวสามารถแพร่เข้าสู่เซลล์ภายในของจุลินทรีย์ และเกิดการรวมตัวกับสารภายในเซลล์ เป็นผลให้ภายในเซลล์มีความเป็นกรดเกิดขึ้น จุลินทรีย์พยายามรักษาสมดุลของ pH ภายในเซลล์ แต่เมื่อค่า pH ของสาวะแวดล้อมลดลง ทำให้เกิดการผ่านเข้าออกของสารอาหาร และเกิดการรั่วไหลของเมตาบอลิซึมภายในเซลล์ออกสู่ภายนอก มีผลไปยับยั้งการเมตาบอลิซึมของเซลล์จุลินทรีย์หรือทำให้กิจกรรมภายในเซลล์ลดลง และทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญได้และตายในที่สุด (Krulwich *et al.* 1985) ซึ่งรูปแบบการแตกตัวของกรดขึ้นอยู่กับค่า pK_a โดยกรดที่มีค่า pK_a สูงจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้ดี (Gould. 1995) แต่อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของกรดกลูโคนิค และกรดแอสคอร์บิกในการยับยั้งเชื้อ *E. coli*

พบว่ากรดกลูโคนิคมีผลในการยับยั้งเชื้อได้ดีกว่ากรดแอสคอร์บิก แม้ว่ากรดกลูโคนิคจะมีค่า pK_a น้อยกว่ากรดแอสคอร์บิกก็ตาม โดยกรดกลูโคนิคมีค่า pK_a เท่ากับ 3.70 ส่วนกรดแอสคอร์บิกมีค่า pK_a 2 ค่าโดยมีค่าเท่ากับ 4.17 และ 11.57 ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะลักษณะโมเลกุลของกรดขนาดโมเลกุล ทำให้โครงสร้างของกรดมีความซับซ้อนต่างกัน จึงมีผลต่อการยับยั้งเชื้อต่างกัน (Ryu *et al.* 1999) นอกจากนี้อาจเกิดจากคุณสมบัติของกรดแอสคอร์บิกที่สูญเสียกิจกรรมได้ง่ายเมื่อละลายน้ำ และถูกออกซิไดซ์ได้ง่ายในอากาศจึงมีผลในการลดจำนวนจุลินทรีย์ได้น้อยลงเมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้น จากผลการทดลองนี้พบว่า กรดกลูโคนิคเพียงสารเดียวมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ต่ำกว่าการใช้สารละลายผสมของกรด อาจเป็นเพราะผลของกรดกลูโคนิคแลคโตนที่ใช้ในการทดลอง เมื่อละลายน้ำแล้วจะเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (hydrolysis) ได้กรดกลูโคนิค ซึ่งขบวนการนี้จะเกิดขึ้นอย่างช้าๆ และจะให้ค่า pH ต่ำสุดหลังจากเกิดปฏิกิริยานาน 40–60 นาที หรือมากกว่าขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของกรดกลูโคนิคแลคโตน (Rehm and Reed. 1986) กรดกลูโคนิคจึงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้น้อยเมื่อเทียบกับกรดชนิดอื่นเช่น กรดแลคติก กรดอะซิติก หรือกรดซิตริก ที่เมื่อละลายน้ำจะให้ค่า pH สุดท้ายของกรดได้ทันที ซึ่งกรดดังกล่าวมีผลในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่า Cutter and Siragusa (1994) ใช้กรดแลคติกร่วมกับกรดแอสคอร์บิกในการลดเชื้อ *E. coli* 015:H7 บนชิ้นเนื้อวัวสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ได้น้อยกว่าหรือเท่ากับ 1 .75 log reduction

ส่วนสารละลายไนซิน (N) สารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดแอสคอร์บิก (N+A) และสารละลายผสมระหว่างไนซินและกรดกลูโคนิค (N+G) ไม่มีผลในการลดจำนวนเชื้อ *E. coli* ในชิ้นเนื้อ ทั้งนี้อาจเนื่องจากไนซินไม่มีผลในการยับยั้งจุลินทรีย์แกรมลบ เมื่อใช้ร่วมกับกรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค ซึ่งเป็นกรดอ่อนจึงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้น้อย ซึ่งต่างจากการใช้สารไนซินร่วมกับกรดอินทรีย์ชนิดอื่นเช่น กรดแลคติก หรือกรดซิตริก โดย Steven *et al.* (1992) พบว่าการใช้ไนซินร่วมกับกรดซิตริกโมโนไฮเดรท กรดซิตริก ในสารอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI สามารถลดเชื้อ *E. coli* ได้ ประมาณ 4 – 6 log reduction. Ariyapitipun *et al.* (1999) รายงานว่า การใช้ไนซินร่วมกับกรดแลคติกความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ในกลุ่ม Psychrotophic และ Mesophilic Enterobacteriace บนเนื้อวัว ได้จาก 2.4 log cfu เหลือเพียง 1.35 log cfu การใช้กรดอินทรีย์ในกลุ่มพันธะสายสั้น (short chain acid) ร่วมกับสารไนซินจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของไนซินในการยับยั้งจุลินทรีย์แกรมลบได้มากขึ้น แต่ขึ้นอยู่กับความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ของกรดนั้นๆ ด้วย จากการศึกษาพบว่าการใช้สารละลายผสมของสารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค (N+A+G) มีผลในลดจำนวนเชื้อ *E. coli* ได้ประมาณ 0.6 - 0.7 log reduction โดยมีผลในการลดจำนวนเชื้อได้เพียง 1 วัน ที่อุณหภูมิการเก็บ 4 องศาเซลเซียล ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากผลของ pH ต่อประสิทธิภาพของไนซิน โดยไนซินมีความ

คงตัวมากที่ค่า pH น้อยกว่า 4 - 5 โดยที่ pH 6 ไนซินจะถูกดูดซึมในเนื้อได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ที่ pH 5.5 ดูดซึมในเนื้อได้ 69 เปอร์เซ็นต์ ส่วนที่ pH 4.5 ถูกดูดซึมในเนื้อได้เพียง 43 เปอร์เซ็นต์ (De Vuyst. 1994) ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้นค่า pH ของเนื้ออยู่ในช่วง 5.5 – 6 (แสดงในตารางที่ 4.5) เป็นช่วง pH ที่ไนซินถูกดูดซึมเข้าในเนื้อสัตว์ได้สูง จึงทำให้สารไนซินมีผลในการยับยั้งเชื้อได้ต่ำหรือไม่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อเลย ซึ่งอาจสรุปเหตุผลของการที่สารไนซินมีประสิทธิภาพในการลดจำนวนเชื้อในเนื้อสัตว์ได้น้อยดังนี้ (Chung *et al.* 1989)

1) ไนซินมีความคงตัวต่ำเมื่ออยู่บนผิวหน้าเนื้อ
2) ไนซินอาจถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์โปรติเอสเมื่อสัมผัสบนผิวหน้าเนื้อ
3) เมื่อไนซินจับกับเนื้อเยื่อส่วนไขมันจะทำให้เกิดการรบกวนการทำงาน
4) ไนซินสามารถจับกับโปรตีนในเนื้อได้ง่ายกว่าจับกับเซลล์ของแบคทีเรีย

4.1.3 ผลของสารละลายกรดแอสคอร์บิก สารละลายกรดกลูโคนิค สารไนซิน และสารผสมของสารดังกล่าวต่อจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด

จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในแต่ละกลุ่มการทดลองที่อุณหภูมิการเก็บ 4 $\pm$ 1 องศาเซลเซียล แสดงดังตารางที่ 4.3 พบว่าตลอดระยะเวลาการเก็บ 11 วัน กลุ่มตัวอย่างที่ผ่านการจุ่มในสารละลายไนซิน (N) สารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดแอสคอร์บิก (N+A) สารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดกลูโคนิค (N+G) มีจำนวนเชื้อไม่ต่างจากตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แต่ในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา กลุ่มตัวอย่างที่ผ่านการจุ่มในสารละลายกรดแอสคอร์บิก (A) สารละลายกรดกลูโคนิค (G) สารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) และสารละลายผสมระหว่างสารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และสารละลายกรดกลูโคนิค (N+A+G) มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดน้อยกว่ากลุ่มควบคุม ($p\leq0.05$) เท่ากับ 0.4 0.5 0.8 และ 0.4 log reduction ตามลำดับ และในวันที่ 1 ของการเก็บรักษา กลุ่มตัวอย่างที่จุ่มในสารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) มีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดน้อยกว่ากลุ่มควบคุม 1.1 log reduction ส่วนกลุ่มสารละลายอื่นๆ มีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่ต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) และเมื่อระยะเวลาการเก็บ 3–11 วันของการเก็บรักษา พบว่าทุกกลุ่มการทดลองมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่แตกต่างจากกลุ่มตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องจากค่า pH ของเนื้อเพิ่มมากขึ้น โดยอยู่ในช่วงประมาณ 5.7 – 5.9 ดังแสดงดังหัวข้อที่ 4.1.5 ซึ่งค่า pH ที่สูงขึ้นจะเหมาะต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเน่าเสียของเนื้อ และเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม Psychotrophs ที่สามารถเจริญได้ในภาชนะบรรจุสุญญากาศ และที่อุณหภูมิการเก็บต่ำ (Gill and Newton. 1979)

ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับผลการทดลองของ Zepada *et al.* (1994) ที่พบว่าการใช้กรดกลูโคนิคความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 0 และ 14 ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียล ปริมาณจุลินทรีย์ในกลุ่ม Psychrotropic bacteria ไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) แต่การใช้สารละลายผสมระหว่างกรดกลูโคนิคความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับกรดแลคติก 1.5 เปอร์เซ็นต์ จะสามารถลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์บนชิ้นเนื้อในภาชนะสุญญากาศได้อย่างน้อย 1 log/cm^2 ตลอดระยะเวลาการเก็บ 56 วัน นอกจากนี้ Okayama *et al.* (1987) พบว่าสารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 3 และ 70 เปอร์เซ็นต์ของเอทิลแอลกอฮอล์ สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดบนเนื้อวัวได้นาน 13 วัน แต่สารละลายกรดแอสคอร์บิกไม่มีผลต่อการลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งพบว่าการใช้สารผสมของกรดจะช่วยเสริมฤทธิ์ของสาร แต่ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพของสารที่ใช้ และปริมาณจุลินทรีย์ในตัวอย่างด้วยเช่นกัน ส่วนสารละลายไนซิน และกลุ่มของสารละลายผสมของสารไนซินกับกรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค (N +A N+G และ N+A+G) ไม่มีผลในการลดจำนวนจุลินทรีย์ในเนื้อสุกร ทั้งนี้เนื่องจากคุณสมบัติของสารไนซิน ดังได้กล่าวมาแล้วในหัวข้อ 4.1.1

จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในกลุ่มการทดลองภายหลังการเก็บรักษาที่ 15 ± 1 องศาเซลเซียล แสดงดังตารางที่ 4.4 พบว่า ตลอดระยะเวลาการเก็บ 3 วัน กลุ่มที่ผ่านการจุ่มในสารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดน้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) โดยในวันที่ 0 1 และ 3 วันของการเก็บรักษา มีจำนวนเชื้อลดลง 0.85 1.87 และ 0.99 log reduction ตามลำดับ ส่วนกลุ่มที่ผ่านการจุ่มในสารละลายไนซิน (N) สารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดแอสคอร์บิก (N+A) สารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดกลูโคนิค (N+G) มีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ($p>0.05$) ส่วนกลุ่มที่ผ่านการจุ่มในสารละลายกรดแอสคอร์บิก (A) กรดกลูโคนิค (G) มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดน้อยกว่ากลุ่มควบคุมเฉพาะในวันที่ 0 และ 1 ของการเก็บรักษา ส่วนกลุ่มที่ผ่านการจุ่มในสารละลายผสมระหว่างสารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค (N+A+G) มีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดน้อยกว่ากลุ่มควบคุมเฉพาะในวันที่ 0 เท่านั้น เมื่อระยะเวลาการเก็บเพิ่มขึ้น พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดมีจำนวนเชื้อทั้งหมดเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บ

ตารางที่ 4.3 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในเนื้อสุกรที่ผ่านการถ่ายเชื้อ *E. coli* และ ผ่านการจุ่มสารละลายกรดแอสคอร์บิก (A) กรดกลูโคนิค (G) สารไนซิน (N) สารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค (A+G) สารไนซินและกรดแอสคอร์บิก (N+A) สารไนซินและกรดกลูโคนิค (N+G) สารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และ กรดกลูโคนิค (N+A+G) ภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิ 4 ± 1 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 0 1 3 5 7 9 และ 11 วัน

ระยะเวลาการเก็บ(วัน)	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (log cfu/25g)							
	C***	A	G	N	A+G	N+A	N+G	N+A+G
0	$3.69 \pm 0.28_{v}^{c*}$	$3.20 \pm 0.16_{v}^{ab}$	$3.17 \pm 0.22_{v}^{ab}$	$3.46 \pm 0.16_{v}^{bc}$	$2.84 \pm 0.24_{v}^{a}$	$3.42 \pm 0.24_{v}^{bc}$	$3.34 \pm 0.26_{v}^{bc}$	$3.26 \pm 0.24_{v}^{ab}$
1	$4.96 \pm 0.20_{w}^{c}$	$4.67 \pm 0.56_{w}^{bc}$	$4.55 \pm 0.66_{w}^{bc}$	$4.93 \pm 0.18_{w}^{bc}$	$3.78 \pm 0.22_{w}^{a}$	$4.79 \pm 0.14_{w}^{bc}$	$4.26 \pm 0.30_{w}^{ab}$	$4.69 \pm 0.20_{w}^{bc}$
3	$6.36 \pm 1.33_{w}^{a}$	$6.03 \pm 0.31_{w}^{a}$	$5.93 \pm 0.00_{x}^{a}$	$5.74 \pm 0.56_{wx}^{a}$	$5.14 \pm 0.62_{xy}^{a}$	$5.94 \pm 0.37_{w}^{a}$	$5.63 \pm 0.65_{w}^{a}$	$5.60 \pm 0.66_{wx}^{a}$
5	$6.43 \pm 0.36_{x}^{a}$	$6.30 \pm 0.52_{xy}^{a}$	$6.14 \pm 0.00_{x}^{a}$	$6.09 \pm 0.10_{xy}^{a}$	$5.95 \pm 0.22_{y}^{a}$	$5.93 \pm 0.13_{w}^{a}$	$5.99 \pm 0.00_{w}^{a}$	$5.97 \pm 0.33_{xy}^{a}$
7	$6.82 \pm 0.48_{x}^{a}$	$6.56 \pm 0.61_{xy}^{a}$	$6.50 \pm 0.63_{xy}^{a}$	$6.78 \pm 0.61_{y}^{a}$	$6.30 \pm 0.74_{y}^{a}$	$7.05 \pm 0.31_{y}^{a}$	$6.89 \pm 0.23_{y}^{a}$	$6.60 \pm 0.51_{y}^{a}$
9	$7.28 \pm 0.17_{xy}^{a}$	$7.14 \pm 0.11_{yz}^{a}$	$7.19 \pm 0.13_{yz}^{a}$	$6.79 \pm 0.59_{y}^{a}$	$6.44 \pm 0.66_{y}^{a}$	$6.92 \pm 0.56_{y}^{a}$	$6.77 \pm 0.44_{y}^{a}$	$6.72 \pm 0.42_{y}^{a}$
11	$8.14 \pm 0.35_{y}^{a}$	$7.66 \pm 0.58_{z}^{a}$	$7.78 \pm 0.61_{z}^{a}$	$8.01 \pm 0.81_{z}^{a}$	$8.00 \pm 0.10_{z}^{a}$	$8.25 \pm 0.90_{z}^{a}$	$8.59 \pm 0.62_{z}^{a}$	$8.14 \pm 0.91_{z}^{a}$

A..

* ตัวอักษร a b c และ d ที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เป็นการเปรียบเทียบผลของสารต่อการลดจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างที่อายุเก็บเดียวกัน

** ตัวอักษร v w x y และ z ที่ความแตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เป็นการเปรียบเทียบจำนวนเชื้อในกลุ่มสารละลายเดียวกันเมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้น

***แสดงความหมายในแต่ละกลุ่มทดลองดังนี้

c : กลุ่มควบคุม

A : กลุ่มสารละลายกรดแอสคอร์บิก

A+ G : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค

N : กลุ่มสารละลายไนซิน

N+A : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดแอสคอร์บิก

G : กลุ่มสารละลายกรดกลูโคนิค

N+G : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดกลูโคนิค

N + A+ G : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค

ตารางที่ 4.4 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดในเนื้อสุกรที่ผ่านการถ่ายเชื้อ *E. coli* และผ่านการจุ่มสารละลายกรดแอสคอร์บิก (A) กรดกลูโคนิค (G) สารไนซิน (N) สารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค (A+G) สารไนซินและกรดแอสคอร์บิก (N+A) สารไนซินและกรดกลูโคนิค (N+G) สารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และ กรดกลูโคนิค (N+A+G) ภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิ 15 ± 1 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 0 1 และ 3 วัน

ระยะเวลาการเก็บ(วัน)	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (log cfu/25g)							
	C***	A	G	N	A+G	N+A	N+G	N+A+G
0	$3.69 \pm 0.28_{x}^{a}$	$3.20 \pm 0.16_{x}^{ab}$	$3.17 \pm 0.22_{x}^{ab}$	$3.46 \pm 0.16_{x}^{b}$	$2.84 \pm 0.24_{x}^{a}$	$3.42 \pm 0.24_{x}^{bc}$	$3.34 \pm 0.26_{x}^{bc}$	$3.26 \pm 0.24_{y}^{ab}$
1	$5.53 \pm 0.49_{y}^{c}$	$4.39 \pm 0.61_{y}^{b}$	$4.55 \pm 0.61_{y}^{b}$	$5.03 \pm 0.24_{y}^{bc}$	$3.66 \pm 0.53_{x}^{a}$	$5.04 \pm 0.30_{y}^{bc}$	$5.11 \pm 0.26_{y}^{bc}$	$4.83 \pm 0.14_{y}^{bc}$
3	$8.73 \pm 0.81_{z}^{b}$	$7.87 \pm 0.59_{z}^{ab}$	$7.71 \pm 0.70_{z}^{ab}$	$7.78 \pm 0.46_{z}^{ab}$	$7.55 \pm 0.66_{y}^{a}$	$7.92 \pm 0.14_{z}^{ab}$	$8.29 \pm 0.14_{z}^{ab}$	$7.78 \pm 0.52_{z}^{ab}$

A..

* ตัวอักษร a b c และ d ที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เปรียบเทียบผลของสารต่อการลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างที่อายุการเก็บเดียวกัน

** ตัวอักษร x y และ z ที่ความแตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เปรียบเทียบจำนวนเชื้อในกลุ่มสารละลายเดียวกันเมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้น

***แสดงความหมายในแต่ละกลุ่มทดลองดังนี้

C : กลุ่มควบคุม

A : กลุ่มสารละลายกรดแอสคอร์บิก

A+ G : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค

N : กลุ่มสารละลายไนซิน

N+A : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดแอสคอร์บิก

G : กลุ่มสารละลายกรดกลูโคนิค

N+G : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดกลูโคนิค

N + A+ G : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค

เมื่อเปรียบเทียบผลของอุณหภูมิต่อจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด พบว่าที่อุณหภูมิการเก็บ 15 ± 1 องศาเซลเซียล มีอัตราการเพิ่มขึ้นของจุลินทรีย์สูงกว่าที่อุณหภูมิ 4 ± 1 องศาเซลเซียล โดยในวันที่ 3 ของการเก็บ ที่อุณหภูมิการเก็บ 15 ± 1 องศาเซลเซียล กลุ่มควบคุมมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดสูงถึง 8.73 log cfu/25g แต่ที่อุณหภูมิการเก็บ 4 ± 1 องศาเซลเซียล มีจำนวนเชื้อเพียง 6.36 log cfu/25g และจากประกาศของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์เรื่องข้อกำหนดสุขลักษณะเนื้อสัตว์ดิบ กำหนดว่าจำนวนจุลินทรีย์รวมต่อกรัมต้องมีปริมาณไม่เกิน 6 log cfu (จุไรรัตน์ รุ่งโรจนารักษ์ และ ศรีสิทธ์ การุณยะวาณิช. 2535) ซึ่งในวันที่ 5 ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิการเก็บ 4 องศาเซลเซียล พบว่าในทุกกลุ่มการทดลองมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดสูงถึง 6 log cfu ซึ่งเกินกว่าค่ามาตรฐานจึงไม่เหมาะต่อการนำมาบริโภค นอกจากนี้ Gill (1983) รายงานว่า สภาวะการเน่าเสียของเนื้อจะตรวจพบจำนวนเชื้อ Aerobic count อยู่ในช่วงประมาณ 7 – 9 log cfu/cm^2

4.1.4 ผลของสารละลายกรดกลูโคนิค กรดแอสคอร์บิก สารไนซิน และสารผสมของสารดังกล่าวต่อค่า pH ของเนื้อสุกรที่ผ่านการถ่ายเชื้อ *E.coli*

ค่า pH ของสารละลายชนิดต่างๆ ภายหลังการเตรียมสารมีดังนี้ สารละลายกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 2.66 สารละลายกรดกลูโคนิคความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์มีค่าเท่ากับ 2.35 สารละลายไนซินความเข้มข้น 1,000 IU/ml มีค่าเท่ากับ 1.83 สารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิก 1 เปอร์เซ็นต์และกรดกลูโคนิค 1.5 เปอร์เซ็นต์มีค่าเท่ากับ 2.30 สารละลายผสมระหว่างสารไนซิน 1,000 IU/ml และสารละลายกรดแอสคอร์บิก 1 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 2.64 สารละลายผสมระหว่างสารไนซิน 1,000 IU/ml และสารละลายกรดกลูโคนิค 1.5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 2.37 และสารละลายผสมระหว่างสารไนซิน 1,000 IU/ml สารละลายกรดแอสคอร์บิก 1 เปอร์เซ็นต์ และกรดกลูโคนิคเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 2.33 ภายหลังการจุ่มตัวอย่างเนื้อสุกรในสารละลายแต่ละกลุ่มการทดลองและเก็บที่อุณหภูมิ 4 ± 1 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 0 1 3 5 7 9 และ 11 วัน และที่อุณหภูมิ 15 ± 1 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 0 1 และ 3 วัน แสดงดังตารางที่ 4.5 และ 4.6 พบว่าทุกกลุ่มการทดลองมีค่า pH ต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยกลุ่มตัวอย่างที่ผ่านการจุ่มในสารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) มีค่า pH ต่ำสุด โดยมีค่าเท่ากับ 5.00 ในขณะที่กลุ่มตัวอย่างที่ผ่านการจุ่มในสารละลายไนซิน (N) มีค่า pH สูงกว่ากลุ่มตัวอย่างอื่นๆ คือมีค่าเท่ากับ 5.47 ภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิ 4 ± 1 องศาเซลเซียล พบว่าในวันที่ 1 และ 3 ของการเก็บ สารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) และสารละลายผสมระหว่างสารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค (N+A+G) มีค่า pH ต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ส่วนกลุ่มตัวอย่างในกลุ่มอื่นๆ มีค่า pH ไม่ต่างจากกลุ่มตัว

อย่างควบคุม ($p>0.05$) เมื่อระยะเวลาการเก็บเพิ่มขึ้น ค่า pH ของสารละลายในทุกกลุ่มสารมีค่าเพิ่มขึ้น โดยตลอดระยะเวลา 11 วันของการเก็บ พบว่า กลุ่มตัวอย่างที่ผ่านการจุ่มในสารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) มีค่า pH ต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ซึ่งผลจากค่า pH ของ A+G ต่ำกว่าในกลุ่มสารละลายอื่นๆ เนื่องจากการแตกตัวเป็นกรดอิสระที่สามารถซึมผ่านเข้าสู่ชิ้นเนื้อและมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ดีกว่าสารละลายกลุ่มอื่นๆ ที่มีค่า pH สูงกว่า

ที่อุณหภูมิการเก็บ 15 ± 1 องศาเซลเซียล พบว่าในวันที่ 1 ของการเก็บรักษา สารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) มีค่า pH ต่ำกว่ากลุ่มตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) คือ มีค่าเท่ากับ 5.14 ส่วนตัวอย่างในกลุ่มอื่นๆ มีค่า pH ไม่ต่างจากกลุ่มตัวอย่างควบคุม ($p>0.05$) และในวันที่ 3 ของการเก็บทุกกลุ่มตัวอย่างการทดลองค่า pH ไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

การที่ค่า pH ของตัวอย่างเนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารละลายในกลุ่มต่างๆ มีค่าสูงกว่าค่า pH ของสารละลายที่เตรียม เนื่องมาจากคุณสมบัติการเป็นบัฟเฟอร์ (buffer capacity) ของเนื้อโดยเนื้อจัดเป็นอาหารที่เป็นบัฟเฟอร์ที่มีค่า pH ระดับปานกลาง จึงทำให้ค่า pH ของตัวอย่างเนื้อสุกรมีค่าสูงกว่าในสารละลาย ในขณะเดียวกันกรดจะแตกตัวเกิดเป็นอิออนอิสระ และอิออนอิสระของกรดจะแพร่เข้าสู่ผิวหน้าของชิ้นเนื้อ เป็นผลให้ค่า pH ของตัวอย่างเนื้อสุกรในวันแรกๆ ของการเก็บรักษามีค่าต่ำกว่าในวันต่อๆ ไป เมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้นจำนวนจุลินทรีย์ในตัวอย่างเนื้อสุกรมีจำนวนเพิ่มมากขึ้น ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์จะสามารถเมตาบอไลซ์โปรตีนในเนื้อ และผลิตสารเปปไทด์โมเลกุลต่ำ เช่น สารดีคาร์บอกซิเลต (decarboxylate amino acid) หรือผลิตสารแอมโมเนียออกมา ประกอบกับอิออนอิสระของกรดที่ติดอยู่บนผิวเนื้อเกิดการแตกตัวได้น้อยลงด้วย และซึมผ่านเข้าสู่ผิวหน้าเนื้อก็น้อยลงจึงทำให้ค่า pH ของเนื้อเพิ่มขึ้น (Adam and Hall. 1988) ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับ Woolthuis and Smulder (1985) พบว่าหลังฉีดพ่นสารละลายกรดอินทรีย์ ลงบนผิวหน้าเนื้อ pH ลดลงไปกว่า 3 หน่วย เมื่อเก็บไว้ 48 ชั่วโมง พบว่าค่า pH ของเนื้อเพิ่มขึ้นเท่ากับช่วงก่อนการทดลอง เช่นเดียวกับการทดลองของ Anderson and Marshall (1990) พบว่า ภายหลังการจุ่มสารละลายผสมของกรดอินทรีย์เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ค่า pH บนผิวหน้าเนื้อเท่ากับ 4.3. แต่เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมงเนื้อจะมีค่า pH เพิ่มขึ้นเป็น 5.2 โดยค่า pH ที่ลดลงจะขึ้นอยู่กับจำนวนอิออน ของกรด หรือค่าความเข้มข้นของกรดด้วย ส่วนสารไนซินซึ่งมีค่า pH ของสารละลายภายหลังการเตรียมต่ำที่สุดคือ 1.83 ทั้งนี้เนื่องมาจากการแตกตัวของอิออนของกรดไฮโดรคลอลิกที่ใช้เป็นตัวทำละลายมากกว่าผลของโมเลกุลของสารไนซินเอง โดยอิออนของกรดไฮโดรคลอริกไม่มีการแตกตัวในตัวอย่างเนื้อสุกรจึงทำให้ระดับ pH ของตัวอย่างเนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารละลายไนซิน (N) สูงกว่าตัวอย่างกลุ่มการทดลองอื่นๆ

ตารางที่ 4.5 ค่า pH ของตัวอย่างเนื้อสุกรที่ผ่านการถ่ายเชื้อ *E. coli* และ ผ่านการจุ่มสารละลายกรดแอสคอร์บิก (A) กรดกลูโคนิค (G) สารไนซิน (N) สารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค (A+G) สารไนซินและกรดแอสคอร์บิก (N+A) สารไนซินและกรดกลูโคนิค (N+G) สารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และ กรดกลูโคนิค (N+A+G) ภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิ 4 ± 1 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 0 1 3 5 7 9 และ 11 วัน

ระยะเวลาการเก็บ(วัน)	pH ของตัวอย่างเนื้อสุกรในกลุ่มสารละลายต่างๆที่อุณหภูมิการเก็บ 4 องศาเซลเซียล							
	C***	A	G	N	A+G	N+A	N+G	N+A+G
0	$5.68 \pm 0.05_{wx}$	$5.29 \pm 0.02_{w}$	$5.22 \pm 0.01_{wx}$	$5.47 \pm 0.007_{w}$	$5.00 \pm 0.05_{w}$	$5.37 \pm 0.03_{w}$	$5.31 \pm 0.02_{w}$	$5.14 \pm 0.04_{w}$
1	$5.75 \pm 0.08_{wxy}$	$5.45 \pm 0.26_{w}$	$5.37 \pm 0.08_{wxy}$	$5.56 \pm 0.04_{w}$	$5.22 \pm 0.27_{w}$	$5.50 \pm 0.20_{wx}$	$5.54 \pm 0.28_{wx}$	$5.16 \pm 0.13_{w}$
3	$5.84 \pm 0.13_{xy}$	$5.66 \pm 0.17_{w}$	$5.53 \pm 0.09_{xy}$	$5.50 \pm 0.13_{w}$	$5.28 \pm 0.02_{w}$	$5.55 \pm 0.09_{wxy}$	$5.64 \pm 0.09_{wx}$	$5.33 \pm 0.09_{wxy}$
5	$5.59 \pm 0.03_{w}$	$5.48 \pm 0.04_{w}$	$5.35 \pm 0.06_{wx}$	$5.54 \pm 0.05_{w}$	$5.34 \pm 0.12_{w}$	$5.72 \pm 0.06_{xy}$	$5.43 \pm 0.29_{wx}$	$5.20 \pm 0.25_{wx}$
7	$5.80 \pm 0.05_{wxy}$	$5.64 \pm 0.28_{w}$	$5.55 \pm 0.09_{y}$	$5.94 \pm 0.18_{w}$	$5.23 \pm 0.17_{w}$	$5.61 \pm 0.06_{xy}$	$5.36 \pm 0.13_{w}$	$5.56 \pm 0.15_{xyz}$
9	$5.97 \pm 0.03_{y}$	$5.51 \pm 0.30_{w}$	$5.53 \pm 0.02_{xy}$	$5.44 \pm 0.007_{w}$	$5.25 \pm 0.23_{w}$	$5.58 \pm 0.02_{wxy}$	$5.55 \pm 0.15_{wx}$	$5.82 \pm 0.20_{z}$
11	$5.86 \pm 0.17_{xy}$	$5.80 \pm 0.28_{w}$	$5.48 \pm 0.09_{xy}$	$5.91 \pm 0.14_{z}$	$5.34 \pm 0.05_{w}$	$5.75 \pm 0.05_{y}$	$5.87 \pm 0.06_{z}$	$5.61 \pm 0.06_{yz}$

A..

* ตัวอักษร a b c d e และ f ที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เปรียบเทียบผลของสารต่อค่า pH ในตัวอย่างที่อายุการเก็บเดียวกัน

** ตัวอักษร w x y และ z ที่ความแตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เปรียบเทียบค่า pH ของตัวอย่างในกลุ่มสารละลายเดียวกันเมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้น

***แสดงความหมายในแต่ละกลุ่มทดลองดังนี้

A : กลุ่มสารละลายกรดแอสคอร์บิก

N : กลุ่มสารละลายไนซิน

G : กลุ่มสารละลายกรดกลูโคนิค

N + A + G : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค

C : กลุ่มควบคุม

A + G : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค

N+A : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดแอสคอร์บิก

N+G : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดกลูโคนิค

ตารางที่ 4.6 ค่า pH ของตัวอย่างเนื้อสุกรที่ผ่านการถ่ายเชื้อ *E. coli* และผ่านการจุ่มสารละลายกรดแอสคอร์บิก (A) กรดกลูโคนิค (G) สารไนซิน (N) สารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค (A+G) สารไนซินและกรดแอสคอร์บิก (N+A) สารไนซินและกรดกลูโคนิค (N+G) สารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และ กรดกลูโคนิค (N+A+G) ภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิ 15 ± 1 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 0 1 และ 3 วัน

ระยะเวลาการเก็บ(วัน)	PH ของตัวอย่างเนื้อสุกรในกลุ่มสารละลายต่างๆที่อุณหภูมิการเก็บ 15 องศาเซลเซียล							
	C***	A	G	N	A+G	N+A	N+G	N+A+G
0	$5.68 \pm 0.05_{x}^{f}$	$5.29 \pm 0.02_{x}^{cd}$	$5.22 \pm 0.01_{x}^{c}$	$5.47 \pm 0.007_{x}^{e}$	$5.00 \pm 0.05_{x}^{a}$	$5.37 \pm 0.03_{x}^{d}$	$5.31 \pm 0.02_{x}^{d}$	$5.14 \pm 0.04_{x}^{b}$
1	$5.78 \pm 0.16_{x}^{b}$	$5.54 \pm 0.33_{x}^{ab}$	$5.45 \pm 0.07_{x}^{ab}$	$5.47 \pm 0.10_{x}^{ab}$	$5.14 \pm 0.12_{xy}^{a}$	$5.44 \pm 0.03_{x}^{ab}$	$5.51 \pm 0.04_{x}^{ab}$	$5.64 \pm 0.45_{x}^{ab}$
3	$5.69 \pm 0.24_{x}^{a}$	$5.70 \pm 0.06_{x}^{a}$	$5.53 \pm 0.14_{x}^{a}$	$5.78 \pm 0.25_{x}^{a}$	$5.52 \pm 0.19_{y}^{a}$	$5.70 \pm 0.39_{x}^{a}$	$5.64 \pm 0.07_{x}^{a}$	$5.46 \pm 0.08_{x}^{a}$

A..

* ตัวอักษร a b c d e และ f ที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เปรียบเทียบผลของสารต่อค่า pH ในตัวอย่างที่อายุการเก็บเดียวกัน

** ตัวอักษร w x y และ z ที่ความแตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เปรียบเทียบค่า pH ของตัวอย่างในกลุ่มสารละลายเดียวกันเมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้น

***แสดงความหมายในแต่ละกลุ่มทดลองดังนี้

C : กลุ่มควบคุม

A : กลุ่มสารละลายกรดแอสคอร์บิก

A+G : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค

N : กลุ่มสารละลายไนซิน

N+A : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดแอสคอร์บิก

G : กลุ่มสารละลายกรดกลูโคนิค

N+G : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดกลูโคนิค

N+A+G : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค

4.2 การศึกษาผลของสารละลายกรดกลูโคนิค กรดแอสคอร์บิก สารไนซิน และสารละลายผสมของสารดังกล่าวในการลดเชื้อ *Salmonella derby* ในเนื้อสุกร

การตรวจนับจำนวนเชื้อ *S. derby* และ จุลินทรีย์ทั้งหมด ในตัวอย่างกลุ่มที่ผ่านการจุ่มสารละลายกรดกลูโคนิค (G) สารละลายกรดแอสคอร์บิก (A) สารละลายไนซิน (N) สารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) สารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดแอสคอร์บิก (N+A) สารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดกลูโคนิค (N+G) สารละลายผสมระหว่างสารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค (N+A+G) ภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิ 4 ± 1 องศาเซลเซียล และ 15 ± 1 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 0 1 3 5 7 9 และ 11 วันของการเก็บรักษา

4.2.1 ผลของสารละลายกรดแอสคอร์บิก สารละลายกรดกลูโคนิค สารไนซิน และสารผสมของสารดังกล่าว ต่อจำนวนเชื้อ *S. derby* ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 4 ± 1 องศาเซลเซียล

จำนวนเชื้อ *S. derby* ในตัวอย่างกลุ่มการทดลองต่างๆ ที่อุณหภูมิการเก็บ 4 ± 1 องศาเซลเซียล แสดงดังตารางที่ 4.7 พบว่า ในวันที่ 0 1 3 และ 5 ของการเก็บรักษา กลุ่มตัวอย่างที่จุ่มในสารละลายผสมของกรดกลูโคนิคและกรดแอสคอร์บิก (A+G) มีจำนวนเชื้อ *S. derby* น้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) คือ 3.13 3.18 3.29 และ 3.15 log MPN/25g ตามลำดับ โดยมีจำนวนเชื้อน้อยกว่ากลุ่มควบคุม 0.67 1.12 1.19 และ 1.1 log reduction ตามลำดับ แต่ในวันที่ 7–11 วันของการเก็บรักษา จำนวนเชื้อ *S. derby* ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ส่วนกลุ่มที่จุ่มในสารละลายผสมระหว่างสารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค (N+A+G) พบว่าในวันที่ 0 และ 1 ของการเก็บรักษา มีจำนวนเชื้อ *S. derby* น้อยกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) คือ 3.27 และ 3.39 logMPN/25g ตามลำดับ แต่ในวันที่ 3–11 วันของการเก็บ พบว่าจำนวนเชื้อ *S. derby* ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ส่วนตัวอย่างที่จุ่มสารละลายกรดแอสคอร์บิก (A) สารละลายกรดกลูโคนิค (G) สารละลายไนซิน (N) และสารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดแอสคอร์บิก (N+A) และสารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดกลูโคนิค (N+G) พบว่าตลอดระยะเวลา 11 วันของการเก็บ จำนวนเชื้อ *S. derby* ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ 4.7 จำนวนเชื้อ *S. derby* ในเนื้อสุกร ที่ผ่านการจุ่มสารละลายกรดแอสคอร์บิก (A) กรดกลูโคนิค (G) สารไนซิน (N) สารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค (A+G) สารไนซินและกรดแอสคอร์บิก (N+A) สารไนซินและกรดกลูโคนิค (N+G) สารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค (N+A+G) ภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิ 4 ± 1 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 0 1 3 5 7 9 และ 11 วัน

ระยะเวลาการเก็บ(วัน)	จำนวนเชื้อ *S. derby* (log MPN/25 g)							
	C***	A	G	N	A+G	N+A	N+G	N+A+G
0	$3.80 \pm 0.26_{x}^{b*}$	$3.45 \pm 0.75_{x}^{ab}$	$3.30 \pm 0.34_{x}^{ab}$	$3.48 \pm 0.006_{x}^{ab}$	$3.13 \pm 0.15_{x}^{a}$	$3.54 \pm 0.37_{x}^{ab}$	$3.38 \pm 0.37_{x}^{ab}$	$3.27 \pm 0.39_{x}^{a}$
1	$4.30 \pm 0.40_{x}^{c}$	$3.51 \pm 0.13_{x}^{ab}$	$3.58 \pm 0.39_{x}^{ab}$	$3.90 \pm 0.41_{xy}^{abc}$	$3.18 \pm 0.56_{x}^{a}$	$4.12 \pm 0.39_{x}^{bc}$	$3.65 \pm 0.30_{x}^{abc}$	$3.39 \pm 0.23_{x}^{a}$
3	$4.48 \pm 0.50_{x}^{b}$	$4.04 \pm 0.58_{xy}^{ab}$	$3.74 \pm 0.18_{x}^{ab}$	$4.21 \pm 0.73_{xy}^{ab}$	$3.29 \pm 0.10_{x}^{a}$	$4.19 \pm 0.40_{x}^{ab}$	$3.94 \pm 0.68_{x}^{ab}$	$3.56 \pm 0.73_{x}^{ab}$
5	$4.25 \pm 0.18_{x}^{b}$	$3.85 \pm 0.19_{xy}^{b}$	$3.76 \pm 0.66_{x}^{b}$	$4.01 \pm 0.37_{xy}^{b}$	$3.15 \pm 0.18_{x}^{a}$	$3.94 \pm 0.28_{x}^{b}$	$4.07 \pm 0.27_{x}^{b}$	$3.82 \pm 0.30_{x}^{b}$
7	$4.01 \pm 0.63_{x}^{a}$	$3.87 \pm 0.42_{xy}^{a}$	$3.56 \pm 0.72_{x}^{a}$	$4.20 \pm 0.50_{xy}^{a}$	$3.54 \pm 0.54_{x}^{a}$	$3.62 \pm 0.57_{x}^{a}$	$3.78 \pm 0.51_{x}^{a}$	$3.63 \pm 0.85_{x}^{a}$
9	$4.34 \pm 0.87_{x}^{a}$	$4.14 \pm 0.63_{xy}^{a}$	$3.89 \pm 0.27_{x}^{a}$	$4.61 \pm 0.45_{xy}^{a}$	$3.64 \pm 0.70_{x}^{a}$	$3.82 \pm 0.57_{x}^{a}$	$4.21 \pm 1.00_{x}^{a}$	$4.38 \pm 1.03_{x}^{a}$
11	$4.45 \pm 0.86_{x}^{a}$	$4.47 \pm 0.41_{y}^{a}$	$4.73 \pm 0.40_{x}^{a}$	$4.38 \pm 0.75_{xy}^{a}$	$3.79 \pm 1.21_{x}^{a}$	$4.16 \pm 1.09_{x}^{a}$	$3.98 \pm 0.85_{x}^{a}$	$3.73 \pm 1.04_{x}^{a}$

A..

* ตัวอักษร a b c และ d ที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เป็นการเปรียบเทียบผลของสารต่อการลดจำนวนเชื้อ *S.derby* ในตัวอย่างที่อายุการเก็บเดียวกัน

* ตัวอักษร x y และ z ที่ความแตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เป็นการเปรียบเทียบจำนวนเชื้อ *S.derby* ในกลุ่มสารละลายเดียวกัน เมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้น

***แสดงความหมายในแต่ละกลุ่มทดลองดังนี้

A : กลุ่มสารละลายกรดแอสคอร์บิก

N : กลุ่มสารละลายไนซิน

G : กลุ่มสารละลายกรดกลูโคนิค

N + A + G : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค

c : กลุ่มควบคุม

A+ G : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค

N+A : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดแอสคอร์บิก

N+G : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดกลูโคนิค

ผลของระยะเวลาการเก็บต่อจำนวนเชื้อ *S. derby* พบว่าตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 11 วัน ที่อุณหภูมิ 4 ± 1 องศาเซลเซียล จำนวนเชื้อ *S. derby* ในแต่ละกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แต่มีแนวโน้มสูงขึ้นตามระยะเวลาการเก็บ ซึ่งการเก็บที่อุณหภูมิ 4 ± 1 องศาเซลเซียล จะช่วยยับยั้งการเจริญของเชื้อให้มีช่วง lag phase ยาวขึ้น (Goddard *et al* . 1996)

4.2.2 ผลของสารละลายกรดแอสคอร์บิก สารละลายกรดกลูโคนิค สารไนซิน และสารผสมของสารดังกล่าวต่อจำนวนเชื้อ *S. derby* ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 15 ± 1 องศาเซลเซียล

ที่อุณหภูมิการเก็บ 15 ± 1 องศาเซลเซียล จำนวนเชื้อ *S. derby* แสดงดังตารางที่ 4.8 โดยในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา สารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) และสารละลายผสมระหว่างสารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค (N+A+G) มีจำนวนเชื้อ *S. derby* น้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) คือ 0.316 และ 3.27 log MPN/25g ส่วนสารละลายกรดแอสคอร์บิก (A) สารละลายกรดกลูโคนิค (G) สารละลายไนซิน (N) สารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดแอสคอร์บิก (N+A) สารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดกลูโคนิค (N+G) มีจำนวนเชื้อ *S. derby* ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) และในวันที่ 1 และ 3 พบว่าทุกกลุ่มการทดลองมีจำนวนเชื้อ *S. derby* ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ($p>0.05$) เมื่อพิจารณาผลของระยะเวลาในการเก็บต่อจำนวนเชื้อ *S. derby* พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้นจำนวนเชื้อ *S. derby* เพิ่มมากขึ้น โดยในวันที่ 3 ของการเก็บรักษา ในทุกกลุ่มตัวอย่างทดลองมีจำนวนเชื้อ *S. derby* มากกว่าวันที่ 0 ของการเก็บรักษาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) นั่นคือที่อุณหภูมิการเก็บ 15 ± 1 องศาเซลเซียล ในทุกกลุ่มการทดลองไม่สามารถควบคุมการเจริญของเชื้อ *S. derby* ซึ่งที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียล เป็นอุณหภูมิที่เหมาะต่อการเจริญของเชื้อ *S. derby* โดย Mackey *et al.* (1980) พบว่าบนผิวหน้าเนื้อวัวที่อุณหภูมิการเก็บ 15 องศาเซลเซียล เชื้อ *Salmonella* จะเจริญทุกๆ 2.5 ชั่วโมง จึงทำให้จำนวนเชื้อ *S. derby* เพื่อขึ้นอย่างรวดเร็ว

ตารางที่ 4.8 จำนวนเชื้อ *S. derby* ในเนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่ม สารละลายกรดแอสคอร์บิก (A) กรดกลูโคนิค (G) สารไนซิน (N) สารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค (A+G) สารไนซินและกรดแอสคอร์บิก (N+A) สารไนซินและกรดกลูโคนิค (N+G) สารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค (N+A+G) ภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิ 15 ± 1 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 0 1 และ 3 วัน

ระยะเวลาการเก็บ(วัน)	จำนวนเชื้อ *S. derby* (log MPN/25g)							
	C***	A	G	N	A+G	N+A	N+G	N+A+G
0	$3.80 \pm 0.26_{x}^{b*}$	$3.45 \pm 0.75_{x}^{ab}$	$3.30 \pm 0.34_{x}^{ab}$	$3.48 \pm 0.006_{x}^{ab}$	$3.13 \pm 0.15_{x}^{a}$	$3.54 \pm 0.37_{x}^{ab}$	$3.38 \pm 0.37_{x}^{ab}$	$3.27 \pm 0.39_{x}^{a}$
1	$4.21 \pm 0.96_{x}^{a}$	$4.44 \pm 0.54_{x}^{a}$	$4.95 \pm 0.74_{y}^{a}$	$4.48 \pm 1.01_{x}^{a}$	$4.10 \pm 0.19_{y}^{a}$	$4.77 \pm 0.22_{y}^{a}$	$4.21 \pm 0.77_{x}^{a}$	$4.21 \pm 0.15_{x}^{a}$
3	$7.09 \pm 1.11_{y}^{a}$	$5.68 \pm 1.06_{x}^{a}$	$6.46 \pm 1.02_{y}^{a}$	$6.65 \pm 0.60_{y}^{a}$	$5.65 \pm 0.50_{z}^{a}$	$6.54 \pm 0.76_{z}^{a}$	$6.09 \pm 0.80_{y}^{a}$	$6.21 \pm 0.73_{y}^{a}$

* ตัวอักษร a b c และ d ที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เป็นการเปรียบเทียบผลของสารต่อการลดจำนวนเชื้อ *S.derby* ในตัวอย่างที่อายุการเก็บเดียวกัน

* ตัวอักษร x y และ z ที่ความแตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เป็นการเปรียบเทียบจำนวนเชื้อ *S.derby* ในกลุ่มสารละลายเดียวกัน เมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้น

***แสดงความหมายในแต่ละกลุ่มทดลองดังนี้

A : กลุ่มสารละลายกรดแอสคอร์บิก

N : กลุ่มสารละลายไนซิน

G : กลุ่มสารละลายกรดกลูโคนิค

N + A + G : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค

c : กลุ่มควบคุม

A+ G : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค

N+A : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดแอสคอร์บิก

N+G : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดกลูโคนิค

จากผลการทดลองจะเห็นว่าสารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) และสารละลายผสมระหว่างสารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค (N+A+G) สามารถลดจำนวนเชื้อ *S. derby* ดีกว่าสารละลายกรดแอสคอร์บิก (A) กรดกลูโคนิค (G) สารไนซิน (N) สารผสมของสารไนซินและกรดแอสคอร์บิก (N+A) หรือ สารผสมระหว่างสารไนซินและกรดกลูโคนิค (N+G) ทั้งนี้เนื่องจากสารดังกล่าวมีค่าความเป็นกรดมากกว่าและมีผลต่อการยับยั้งเชื้อ (Doores. 1993) โดยค่า pH ในกลุ่มตัวอย่างที่ผ่านการจุ่มในสารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) และสารละลายผสมระหว่างสารไนซิน สารละลายกรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค (N+A+G) มีค่าเท่ากับ 4.91 และ 5.14 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.11 ซึ่งต่ำกว่ากลุ่มทดลองอื่นๆ ผลการทดลองสอดคล้องกับรายงานของ Baird-Parker (1980) ซึ่งรายงานว่าการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จะได้ผลดีควรมีค่า pH บนผิวหน้าเนื้อต่ำกว่า 5.5 ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของกรดและจุลินทรีย์แต่ละชนิดด้วยเช่นกัน ส่วนการใช้สารละลายไนซิน (N) สารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดแอสคอร์บิก (N+A) และสารละลายผสมระหว่างไนซินและกรดกลูโคนิค (N+G) ไม่มีผลในการลดจำนวนเชื้อ *S. derby* ในชิ้นเนื้อ อาจเนื่องจากไนซินไม่มีผลในการยับยั้งจุลินทรีย์แกรมลบตามที่ได้กล่าวในหัวข้อ 4.1 แต่ Steven *et al.*(1991) พบว่าการใช้ไนซินร่วมกับ EDTA จะสามารถลดจำนวนเชื้อ *S. derby* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI ลงได้ประมาณ 4.2 log reduction และ พบว่าการใช้ไนซินร่วมกับ EDTA และเกลือแลคเตท จะสามารถลดจำนวนเชื้อ *S. typhimurium* บนผิวหน้าเนื้อได้ประมาณ 0.40 log cfu/cm^2 (Cutter and Siragusa. 1995) จากการทดลองพบว่าการใช้สารละลายผสมของกรดอินทรีย์มีผลในการควบคุมการเจริญของเชื้อ *Salmonella* ในเนื้อ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Anderson *et al.* (1992) ที่ใช้สารละลายผสมระหว่างกรดแลคติกเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ และกรดอะซิติกเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ สามารถลดจำนวนเชื้อ *S. typhimurium* ได้ประมาณ 1 log reduction นอกจากนี้การใช้สารละลายผสมระหว่างกรดแลคติกเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ กรดอะซิติกเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ กรดซิตริก 0.25 เปอร์เซ็นต์ และกรดแอสคอร์บิก 0.1 เปอร์เซ็นต์ มีผลในการลดจำนวนเชื้อ *S. typhimurium* บนผิวหน้าเนื้อวัวได้ประมาณ 1 log reduction (Anderson and Marshall. 1990) Rubin (1978) รายงานว่าการใช้สารละลายผสมของกรดอินทรีย์จะเพิ่มการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* ได้มากกว่าการใช้สารละลายเพียงสารเดียวถึง 12 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้ขึ้นกับความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ของกรดแต่ละชนิดด้วย

4.2.3 ผลของสารละลายกรดแอสคอร์บิก สารละลายกรดกลูโคนิค สารไนซิน และสารผสมของสารดังกล่าวต่อจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด

การตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในกลุ่มตัวอย่างการทดลองต่างๆ ที่อุณหภูมิการเก็บ 4 ± 1 องศาเซลเซียล แสดงดังตารางที่ 4.9 พบว่า ในวันที่ 0 1 และ 3 ของการเก็บ กลุ่มตัวอย่างที่จุ่มในสารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดน้อยกว่าตัวอย่างกลุ่มควบคุม 0.73 1.32 และ 1.16 log reduction ตามลำดับ แต่ในวันที่ 5–11 ของการเก็บรักษาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่ต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ส่วนกลุ่มที่ผ่านการจุ่มในสารละลายผสมระหว่างสารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค (N+A+G) มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดน้อยกว่ากลุ่มควบคุม ($p\leq0.05$) ในวันที่ 0 และ 1 เท่ากับ 0.70 และ 0.95 log reduction ตามลำดับ แต่ในวันที่ 3–11 ของการเก็บรักษาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่ต่างจากกลุ่มควบคุม ($p>0.05$) ในขณะที่ตลอดระยะเวลาการเก็บ 11 วัน กลุ่มการทดลองอื่นๆ มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่ต่างจากกลุ่มควบคุมอย่าง มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

การตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิ 15 ± 1 องศาเซลเซียล แสดงดังตารางที่ 4.10 โดยในวันที่ 1 และ 3 วัน ในทุกกลุ่มการทดลองมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ทั้งนี้แสดงว่าการเก็บที่อุณหภูมิ 15 ± 1 องศาเซลเซียล สารละลายชนิดต่างๆไม่มีผลต่อการควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด ($p>0.05$)

จากการทดลองพบว่า สารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค (A+G) มีผลในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดได้แต่ สารละลายกรดแอสคอร์บิกไม่มีผลต่อการลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งพบว่าการใช้สารผสมของกรดจะช่วยเสริมฤทธิ์ของสาร แต่ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพของสารที่ใช้ และจำนวนจุลินทรีย์ในตัวอย่าง ส่วนสารละลายไนซิน และ กลุ่มของสารละลายผสมของสารไนซิน กับ กรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค (N+A N+G และ N+A+G) ไม่มีผลในการลดจำนวนจุลินทรีย์ในเนื้อ ทั้งนี้เนื่องจากคุณสมบัติของสารไนซิน ดังได้กล่าวมาแล้วในหัวข้อ 4.1.1

ตารางที่ 4.9 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในเนื้อสุกรที่ผ่านเชื้อ *S. derby* และผ่านการจุ่มสารละลายกรดแอสคอร์บิก (A) กรดกลูโคนิค (G) สารไนซิน (N) สารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) สารไนซินและกรดแอสคอร์บิก (N+A) สารไนซินและกรดกลูโคนิค (N+G) สารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค (N+A+G) ภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิ 4 ± 1 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 0 1 3 5 7 9 และ 11 วัน

ระยะเวลาการเก็บ(วัน)	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (log cfu/25g)							
	C***	A	G	N	A+G	N+A	N+G	N+A+G
0	$4.28 \pm 0.01_{w}^{c*}$	$3.87 \pm 0.53_{w}^{abc}$	$3.71 \pm 0.41_{w}^{ab}$	$4.21 \pm 0.45_{w}^{bc}$	$3.55 \pm 0.33_{w}^{a}$	$3.89 \pm 0.33_{w}^{abc}$	$3.78 \pm 0.43_{w}^{abc}$	$3.58 \pm 0.53_{v}^{a}$
1	$4.80 \pm 0.16_{w}^{b}$	$3.92 \pm 0.07_{w}^{ab}$	$3.80 \pm 0.34_{w}^{a}$	$4.27 \pm 0.69_{w}^{ab}$	$3.48 \pm 0.24_{w}^{a}$	$4.00 \pm 0.66_{w}^{ab}$	$4.08 \pm 0.66_{w}^{ab}$	$3.85 \pm 0.27_{w}^{a}$
3	$4.97 \pm 0.17_{w}$	$4.32 \pm 0.53_{w}^{ab}$	$4.15 \pm 0.66_{wx}^{ab}$	$4.24 \pm 0.42_{w}^{ab}$	$3.81 \pm 0.74_{w}^{a}$	$4.14 \pm 0.60_{wx}^{ab}$	$4.02 \pm 0.60_{w}^{ab}$	$3.91 \pm 0.55_{wx}^{ab}$
5	$5.36 \pm 0.42_{x}$	$5.14 \pm 0.22_{x}^{a}$	$4.93 \pm 0.08_{xy}^{a}$	$5.18 \pm 0.10_{x}^{a}$	$4.90 \pm 0.24_{x}^{a}$	$5.04 \pm 0.24_{x}^{a}$	$4.93 \pm 0.30_{x}^{a}$	$5.02 \pm 0.25_{xy}^{a}$
7	$6.49 \pm 0.43_{y}^{a}$	$5.66 \pm 0.36_{xy}^{a}$	$5.68 \pm 0.34_{yz}^{a}$	$6.46 \pm 0.77_{y}^{a}$	$5.73 \pm 0.20_{y}^{a}$	$6.29 \pm 0.61_{y}^{a}$	$6.09 \pm 0.22_{y}^{a}$	$5.80 \pm 0.33_{yz}^{a}$
9	$6.83 \pm 0.44_{y}^{a}$	$6.24 \pm 0.43_{yz}^{a}$	$5.86 \pm 0.83_{z}^{a}$	$6.34 \pm 0.27_{y}^{a}$	$5.95 \pm 0.23_{y}^{a}$	$6.12 \pm 0.63_{y}^{a}$	$6.11 \pm 0.49_{y}^{a}$	$5.83 \pm 0.72_{yz}^{a}$
11	$7.38 \pm 0.62_{y}^{b}$	$6.57 \pm 0.28_{yz}^{a}$	$6.37 \pm 0.09_{z}^{a}$	$6.58 \pm 0.33_{y}^{a}$	$6.39 \pm 0.59_{y}^{a}$	$6.66 \pm 0.47_{y}^{a}$	$6.32 \pm 0.14_{y}^{a}$	$6.42 \pm 1.19_{z}^{a}$

A..

* ตัวอักษร a b c และ d ที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เป็นการเปรียบเทียบผลของสารต่อการลดจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างที่อายุเก็บเดียวกัน

** ตัวอักษร v w x y และ z ที่ความแตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เป็นการเปรียบเทียบจำนวนเชื้อในกลุ่มสารละลายเดียวกันเมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้น

***แสดงความหมายในแต่ละกลุ่มทดลองดังนี้

A : กลุ่มสารละลายกรดแอสคอร์บิก

N : กลุ่มสารละลายไนซิน

G : กลุ่มสารละลายกรดกลูโคนิค

N + A+ G : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค

c : กลุ่มควบคุม

A+ G : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค

N+A : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดแอสคอร์บิก

N+G : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดกลูโคนิค

ตารางที่ 4.10 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดในเนื้อสุกรที่ผ่านการถ่ายเชื้อ *S. derby* และผ่านการจุ่มสารละลายกรดแอสคอร์บิก (A) กรดกลูโคนิค (G) สารไนซิน (N) สารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค (A+G) สารไนซินและกรดแอสคอร์บิก (N+A) สารไนซินและกรดกลูโคนิค (N+G) สารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค (N+A+G) ภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิ 15 ± 1 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 0 1 และ 3 วัน

ระยะเวลาการเก็บ(วัน)	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (log cfu/25g)							
	C***	A	G	N	A+G	N+A	N+G	N+A+G
0	$4.28 \pm 0.01_{x}^{c*}$	$3.87 \pm 0.53_{x}^{abc}$	$3.71 \pm 0.41_{x}^{ab}$	$4.21 \pm 0.45_{x}^{bc}$	$3.55 \pm 0.33_{x}^{a}$	$3.89 \pm 0.33_{x}^{abc}$	$3.78 \pm 0.43_{x}^{abc}$	$3.58 \pm 0.53_{x}^{a}$
1	$7.53 \pm 0.57_{y}^{a}$	$7.14 \pm 0.77_{y}^{a}$	$7.03 \pm 0.75_{y}^{a}$	$7.43 \pm 0.89_{y}^{a}$	$6.45 \pm 0.21_{y}^{a}$	$7.57 \pm 0.88_{y}^{a}$	$6.77 \pm 0.98_{y}^{a}$	$6.55 \pm 0.19_{y}^{a}$
3	$8.52 \pm 0.74_{z}^{a}$	$8.37 \pm 0.88_{z}^{a}$	$8.08 \pm 1.01_{z}^{ab}$	$8.33 \pm 0.57_{y}^{a}$	$7.33 \pm 0.57_{z}^{a}$	$8.37 \pm 0.74_{y}^{a}$	$8.08 \pm 1.07_{y}^{a}$	$7.96 \pm 0.74_{z}^{a}$

A..

* ตัวอักษร a b c และ d ที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เปรียบเทียบผลของสารต่อการลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างที่อายุการเก็บเดียวกัน

** ตัวอักษร w x y และ z ที่ความแตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เปรียบเทียบจำนวนเชื้อในกลุ่มสารละลายเดียว เมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้น

***แสดงความหมายในแต่ละกลุ่มทดลองดังนี้

A : กลุ่มสารละลายกรดแอสคอร์บิก

N : กลุ่มสารละลายไนซิน

G : กลุ่มสารละลายกรดกลูโคนิค

N + A + G : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค

c : กลุ่มควบคุม

A+ G : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค

N+A : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดแอสคอร์บิก

N+G : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดกลูโคนิค

4.2.4 **ผลของสารละลายกรดกลูโคนิค กรดแอสคอร์บิก สารไนซิน และสารผสมของสารดังกล่าวต่อค่า pH ของเนื้อสุกรที่ผ่านการถ่ายเชื้อ** *S. derby*

ค่า pH ของตัวอย่างเนื้อสุกร ภายหลังการจุ่มในสารละลายกรดแอสคอร์บิก (A) สารละลายกรดกลูโคนิค (G) สารไนซิน (N) สารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) สารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดแอสคอร์บิก (N+A) สารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดกลูโคนิค (N+G) และสารละลายผสมระหว่างสารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค(N+A+G) ภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิ 4 ± 1 องศาเซลเซียล และ 15 ± 1 องศาเซลเซียล ดังแสดงในตารางที่ 4.11 และ 4.12 พบว่าภายหลังการจุ่มสารละลายทุกกลุ่มการทดลองมีค่า pH ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยกลุ่มที่ผ่านการจุ่มในสารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) มีค่า pH ต่ำสุด คือมีค่าเท่ากับ 4.91 ภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิ 4 ± 1 องศาเซลเซียล ในวันที่ 1-9 ของการเก็บรักษา กลุ่มที่ผ่านการจุ่มในสารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) มีค่า pH ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ส่วนค่า pH ของตัวอย่างในกลุ่มสารละลายกลุ่มอื่นๆ มีค่า pH ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างชัดเจน และในวันที่ 11 ของการเก็บรักษา ในทุกกลุ่มการทดลองมีค่า pH ไม่ต่างจากลุ่มตัวอย่างควบคุม ($p > 0.05$) และ เมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้น ค่า pH ในทุกกลุ่มการทดลองมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เพราะจำนวนเชื้อ *S. derby* และเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดในชิ้นเนื้อเพิ่มมากขึ้น ทำให้ผลิตสารที่เกิดจากการเมตาบอลิซึมของจุลินทรีย์ซึ่งมีผลต่อค่า pH ของเนื้อสุกรซึ่งได้กล่าวแล้วในหัวข้อ 4.1.4

จากตารางที่ 4.12 ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 15 ± 1 องศาเซลเซียล ตัวอย่างกลุ่มสารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) มีค่า pH ต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ตลอดอายุการเก็บรักษา 3 วัน ตัวอย่างในกลุ่มการทดลองอื่นๆ มีค่า pH ไม่ต่างจากกลุ่มตัวอย่างควบคุม ($p > 0.05$)

ตารางที่ 4.11 ค่า pH ของตัวอย่างเนื้อสุกรที่ผ่านการถ่ายเชื้อ *S. derby* และผ่านการจุ่มสารละลายกรดแอสคอร์บิก (A) กรดกลูโคนิค (G) สารไนซิน (N) สารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) สารไนซินและกรดแอสคอร์บิก (N+A) สารไนซินและกรดกลูโคนิค (N+G) สารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และ กรดกลูโคนิค (N+A+G) ภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิ 4 ± 1 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 0 1 3 5 7 9 และ 11 วัน

ระยะเวลาการเก็บ(วัน)	pH ของตัวอย่างเนื้อสุกรในกลุ่มสารละลายต่างๆที่อุณหภูมิการเก็บ 4 องศาเซลเซียล							
	C***	A	G	N	A+G	N+A	N+G	N+A+G
0	$5.56 \pm 0.11_{x}^{d*}$	$5.28 \pm 0.01_{z}^{bc}$	$5.22 \pm 0.04_{x}^{bc}$	$5.31 \pm 0.04_{z}^{c}$	$4.91 \pm 0.09_{x}^{a}$	$5.33 \pm 0.04_{z}^{c}$	$5.37 \pm 0.09_{xy}^{c}$	$5.14 \pm 0.00_{x}^{b}$
1	$5.77 \pm 0.24_{x}^{b}$	$5.40 \pm 0.07_{xy}^{ab}$	$5.51 \pm 0.05_{x}^{ab}$	$5.48 \pm 0.14_{y}^{ab}$	$5.12 \pm 0.03_{xy}^{a}$	$5.47 \pm 0.16_{z}^{ab}$	$5.37 \pm 0.31_{xy}^{ab}$	$5.31 \pm 0.06_{xy}^{a}$
3	$5.97 \pm 0.04_{x}^{b}$	$5.60 \pm 0.13_{yz}^{a}$	$5.45 \pm 0.11_{x}^{a}$	$5.52 \pm 0.12_{xy}^{a}$	$5.29 \pm 0.02_{y}^{a}$	$5.46 \pm 0.12_{x}^{a}$	$5.56 \pm 0.08_{xy}^{a}$	$5.57 \pm 0.24_{y}^{a}$
5	$5.71 \pm 0.21_{x}^{c}$	$5.45 \pm 0.00_{xyz}^{ab}$	$5.48 \pm 0.19_{x}^{abc}$	$5.65 \pm 0.08_{y}^{bc}$	$5.21 \pm 0.00_{y}^{a}$	$5.49 \pm 0.07_{x}^{abc}$	$5.33 \pm 0.08_{xy}^{ab}$	$5.29 \pm 0.28_{xy}^{ab}$
7	$5.77 \pm 0.11_{x}^{b}$	$5.47 \pm 0.10_{xyz}^{ab}$	$5.37 \pm 0.07_{x}^{ab}$	$5.62 \pm 0.05_{xy}^{ab}$	$5.31 \pm 0.12_{y}^{a}$	$5.62 \pm 0.40_{x}^{ab}$	$5.22 \pm 0.17_{x}^{a}$	$5.35 \pm 0.01_{xy}^{ab}$
9	$5.72 \pm 0.16_{x}^{b}$	$5.57 \pm 0.22_{xy}^{ab}$	$5.30 \pm 0.05_{x}^{a}$	$5.59 \pm 0.04_{xy}^{ab}$	$5.34 \pm 0.14_{y}^{a}$	$5.75 \pm 0.09_{y}^{b}$	$5.42 \pm 0.07_{xy}^{a}$	$5.35 \pm 0.07_{xy}^{a}$
11	$5.87 \pm 0.20_{x}^{d}$	$5.74 \pm 0.15_{y}^{d}$	$5.45 \pm 0.51_{x}^{a}$	$5.87 \pm 0.51_{y}^{d}$	$5.30 \pm 0.19_{y}^{a}$	$5.78 \pm 0.51_{x}^{d}$	$5.90 \pm 0.48_{xy}^{a}$	$5.64 \pm 0.05_{y}^{a}$

A..

* ตัวอักษร a b c d e และ f ที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เปรียบเทียบผลของสารต่อค่า pH ในตัวอย่างที่อายุการเก็บเดียวกัน

** ตัวอักษร w x y และ z ที่ความแตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เปรียบเทียบค่า pH ของตัวอย่างในกลุ่มสารละลายเดียวกันเมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้น

*** แสดงความหมายในแต่ละกลุ่มทดลองดังนี้

A : กลุ่มสารละลายกรดแอสคอร์บิก
N : กลุ่มสารละลายไนซิน
G : กลุ่มสารละลายกรดกลูโคนิค
N + A + G : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค
C : กลุ่มควบคุม
A + G : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค
N + A : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดแอสคอร์บิก
N + G : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดกลูโคนิค

ตารางที่ 4.12 ค่า pH ของตัวอย่างเนื้อสุกรที่ผ่านการถ่ายเชื้อ *S. derby* และผ่านการจุ่มสารละลายกรดแอสคอร์บิก (A) กรดกลูโคนิค (G) สารไนซิน (N) สารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค (A+G) สารไนซินและกรดแอสคอร์บิก (N+A) สารไนซินและกรดกลูโคนิค (N+G) สารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และ กรดกลูโคนิค (N+A+G) ภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิ 15 ±1 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 0 1 และ 3 วัน

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	pH ของตัวอย่างเนื้อสุกรในกลุ่มสารละลายต่างๆที่อุณหภูมิการเก็บ 15 องศาเซลเซียล							
	C***	A	G	N	A+G	N+A	N+G	N+A+G
0	$5.56 \pm 0.11_{x}^{cd}$	$5.28 \pm 0.01_{x}^{bc}$	$5.22 \pm 0.04_{x}^{bc}$	$5.31 \pm 0.04_{x}^{c}$	$4.91 \pm 0.09_{x}^{a}$	$5.33 \pm 0.04_{x}^{c}$	$5.37 \pm 0.09_{x}^{c}$	$5.14 \pm 0.00_{x}^{b}$
1	$5.58 \pm 0.02_{x}^{bc}$	$5.72 \pm 0.07_{y}^{c}$	$5.37 \pm 0.18_{x}^{ab}$	$5.62 \pm 0.19_{y}^{bc}$	$5.27 \pm 0.07_{y}^{a}$	$5.44 \pm 0.02_{x}^{ab}$	$5.38 \pm 0.07_{x}^{ab}$	$5.39 \pm 0.07_{y}^{ab}$
3	$5.89 \pm 0.12_{y}^{c}$	$5.56 \pm 0.10_{y}^{b}$	$5.56 \pm 0.18_{x}^{b}$	$5.58 \pm 0.10_{x}^{b}$	$5.52 \pm 0.03_{y}^{b}$	$5.47 \pm 0.03_{x}^{a}$	$5.22 \pm 0.07_{x}^{a}$	$5.46 \pm 0.05_{y}^{ab}$

A..

* ตัวอักษร a b c d e และ f ที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เปรียบเทียบผลของสารต่อค่า pH ในตัวอย่างที่อายุการเก็บเดียวกัน

** ตัวอักษร w x y และ z ที่ความแตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เปรียบเทียบค่า pH ของตัวอย่างในกลุ่มสารละลายเดียวกันเมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้น

***แสดงความหมายในแต่ละกลุ่มทดลองดังนี้

A : กลุ่มสารละลายกรดแอสคอร์บิก

N : กลุ่มสารละลายไนซิน

G : กลุ่มสารละลายกรดกลูโคนิค

N + A + G : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค

C : กลุ่มควบคุม

A+ G : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค

N+A : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดแอสคอร์บิก

N+G : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดกลูโคนิค

4.3 ผลของสารละลายกรดกลูโคนิค กรดแอสคอร์บิก สารไนซิน และสารผสมของสารดังกล่าวต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของเนื้อสุกร

ภายหลังจุ่มชิ้นเนื้อในสารละลายกรดแอสคอร์บิก (A) สารละลายกรดกลูโคนิค (G) สารละลายไนซิน (N) สารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) สารละลายผสมระหว่างสารไนซิน และกรดแอสคอร์บิก (N+A) สารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดกลูโคนิค (N+A) สารละลายผสมระหว่างสารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค (N+A+G) นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 1 องศาเซลเซียล และ 15 ± 1 องศาเซลเซียล เป็นระยะเวลา 0 1 3 5 7 9 และ 11 วัน พบว่าสารละลายกลุ่มต่างๆมีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของเนื้อสุกรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แสดงดังตารางที่ 4.13 และ 4.14

จากตารางที่ 4.13 ภายหลังการจุ่มตัวอย่างเนื้อสุกรในสารละลายกลุ่มต่าง ๆ พบว่า กลุ่มตัวอย่างที่จุ่มในสารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) และ กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค (N+A+G) มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักมากกว่ากลุ่มอื่น ๆ คือมีค่าเท่ากับ 4.28 และ 4.24 ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากค่า pH ของสารละลายทั้ง 2 กลุ่มมีค่าต่ำกว่ากลุ่มตัวอย่างอื่น ๆ ($p \leq 0.05$) ซึ่งการสูญเสียน้ำหนักของเนื้อขึ้นกับค่า pH สารละลาย โดยสารละลายจะทำให้ค่า pH ภายในเซลล์กล้ามเนื้อลดต่ำลงใกล้กับค่าไอโซอิเลคตริก (isoelectric point) ทำให้โปรตีนในกล้ามเนื้อเสียสภาพ และเป็นผลให้เส้นใยกล้ามเนื้อในส่วนไมโอไฟบริล (myofibril) เกิดการหดตัว เป็นเหตุให้เนื้อสัตว์สามารถอุ้มน้ำได้น้อยลงเกิดการสูญเสียน้ำมากขึ้น (Offer and Trinick.1983) ในขณะที่เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของกลุ่มสารละลายกรดกลูโคนิค (G) และ กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดกลูโคนิค (N+G) มีค่าไม่แตกต่างจากกลุ่มตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ซึ่งจากการทดลองยังพบว่า กลุ่มของสารละลายผสมของกรด (กลุ่ม A+G N+A+G N+G N+A) มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียของน้ำสูงกว่ากลุ่มของสารละลายเพียงสารเดียว ซึ่งเป็นเพราะค่าความเป็นกรดของสาร และ ความเข้มข้นของกรดนั่นเอง ซึ่งการทดลองให้ผลสอดคล้องกับ Mendonca *et al.* (1989) ที่พบว่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของสารละลายผสมของกรดระหว่างกรดอะซิติก 3 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมคลอไรด์ 1.5 เปอร์เซ็นต์ สารละลายผสมระหว่างกรดแลคติก 3 เปอร์เซ็นต์ และเกลือโซเดียมแอสคอร์เบท 3 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักสูงกว่าการใช้กลุ่มของสารละลายแลคติกเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์เพียงสารเดียว

เมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้นเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของทุกกลุ่มการทดลองมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บ โดยที่ระยะเวลาการเก็บ 1 วัน ที่อุณหภูมิ 4 ±1 องศาเซลเซียล กลุ่มตัวอย่างควบคุมแม้เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักจะมีแนวโน้มมากขึ้นแต่ก็ยังไม่แตกต่างจากวันแรกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ส่วนในกลุ่มสารละลายผสมระหว่างกรด

แอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) และ กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค (N+A+G) มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักมากขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บ และมากกว่ากลุ่มตัวอย่างกลุ่มอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) คือมีค่า 7.06 และ 7.11 ตามลำดับ ผลสอดคล้องกับการทดลองของ Conner *et al.* (1992) ที่พบว่าในช่วงวันแรกของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิการเก็บ –1.1 องศาเซลเซียล เนื้อวัวที่ผ่านการฉีดพ่นด้วยสารละลายของกรดจะมีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำอย่างน้อย 1 เปอร์เซ็นต์ และมากกว่า 4 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังเก็บไว้นานขึ้น นอกจากนี้ Lopez – Bote and Warriss (1988) พบว่าชิ้นเนื้อที่มีความหนาประมาณ 1.5 – 2.0 เซนติเมตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 1 องศาเซลเซียล มีค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในวันที่ 1 ประมาณ 1.88 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อเก็บไว้นานประมาณ 5 วัน พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักประมาณ 4.43 เปอร์เซ็นต์

ภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิการเก็บ 15 ± 1 องศาเซลเซียล แสดงดังตารางที่ 4.14 พบว่า เมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้นแนวโน้มค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของเนื้อมีค่ามากขึ้น โดยในกลุ่มตัวอย่างสารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) และ สารละลายผสมระหว่างสารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และ กรดกลูโคนิค (N+A+G) มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักมากที่สุด โดยวันที่ 3 ของการเก็บรักษามีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักเท่ากับ 5.39 และ 4.97 ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของตัวอย่างกลุ่มควบคุมที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 ± 1 และ 15 ± 1 องศาเซลเซียล ในวันที่ 3 ของการเก็บรักษา พบว่าที่อุณหภูมิ 15 ± 1 องศาเซลเซียล มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักสูงกว่าที่อุณหภูมิการเก็บ 4 ± 1 องศาเซลเซียล ทั้งนี้อาจเนื่องจากที่อุณหภูมิการเก็บ 15 ± 1 องศาเซลเซียล เป็นช่วงอุณหภูมิที่เหมาะต่อการเจริญของจุลินทรีย์ เมื่อมีจุลินทรีย์เพิ่มมากขึ้นอาจมีบางสายพันธุ์ที่มีกิจกรรมของเอนไซม์ในการย่อยสลายโปรตีนในเนื้อสัตว์ เป็นผลให้เส้นใยกล้ามเนื้อในเนื้อเยื่อถูกทำลายทำให้เกิดการสูญเสียน้ำออกมาได้

ตารางที่ 4.13 ค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของตัวอย่างเนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารละลายกรดแอสคอร์บิก (A) กรดกลูโคนิค (G) สารไนซิน (N) สาร ละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) สารไนซินและกรดแอสคอร์บิก (N+A) สารไนซินและกรดกลูโคนิค (N+G) สารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และ กรดกลูโคนิค (N+A+G) ภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิ 4 ± 1 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 0 1 3 5 7 9 และ 11 วัน

ระยะเวลาการเก็บ(วัน)	เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของชิ้นเนื้อเก็บที่อุณหภูมิการเก็บ 4 องศาเซลเซียล							
	C***	A	G	N	A+G	N+A	N+G	N+A+G
0	$2.30 \pm 0.78_{x}^{a}$	$3.17 \pm 0.14_{x}^{b}$	$2.23 \pm 0.27_{v}^{a}$	$3.06 \pm 0.57_{x}^{b}$	$4.28 \pm 0.14_{w}^{c}$	$3.23 \pm 0.57_{x}^{b}$	$2.03 \pm 0.51_{x}^{a}$	$4.24 \pm 0.24_{y}^{c}$
1	$2.89 \pm 0.04_{z}^{a}$	$4.45 \pm 0.03_{y}^{bc}$	$2.70 \pm 0.55_{vw}^{a}$	$3.89 \pm 0.48_{xy}^{b}$	$5.07 \pm 0.07_{xy}^{c}$	$4.35 \pm 0.90_{xy}^{bc}$	$4.84 \pm 0.21_{y}^{bc}$	$4.96 \pm 0.11_{w}^{c}$
3	$2.52 \pm 0.08_{z}^{a}$	$4.78 \pm 0.99_{y}^{c}$	$3.18 \pm 0.27_{w}^{ab}$	$3.59 \pm 0.07_{xy}^{b}$	$5.59 \pm 0.07_{xy}^{c}$	$3.57 \pm 0.19_{x}^{b}$	$5.21 \pm 0.24_{y}^{c}$	$5.32 \pm 0.14_{wx}^{c}$
5	$2.69 \pm 0.27_{z}^{a}$	$5.23 \pm 0.05_{y}^{bc}$	$3.43 \pm 0.58_{w}^{a}$	$4.49 \pm 0.10_{yz}^{b}$	$6.09 \pm 0.62_{y}^{d}$	$5.65 \pm 0.07_{z}^{cd}$	$4.77 \pm 0.13_{y}^{b}$	$5.71 \pm 0.12_{xy}^{cd}$
7	$2.69 \pm 0.73_{z}^{a}$	$5.06 \pm 0.24_{y}^{bc}$	$4.62 \pm 0.09_{x}^{b}$	$4.41 \pm 0.73_{yz}^{b}$	$5.98 \pm 0.35_{y}^{cd}$	$5.33 \pm 0.45_{yz}^{bcd}$	$4.74 \pm 0.28_{y}^{b}$	$6.32 \pm 0.42_{y}^{d}$
9	$2.76 \pm 0.28_{z}^{a}$	$5.17 \pm 0.04_{y}^{bc}$	$5.59 \pm 0.53_{y}^{bc}$	$5.37 \pm 0.85_{z}^{bc}$	$6.99 \pm 0.05_{z}^{d}$	$5.70 \pm 0.05_{z}^{bc}$	$4.62 \pm 0.59_{y}^{b}$	$6.05 \pm 0.23_{z}^{cd}$
11	$2.79 \pm 0.25_{z}^{a}$	$5.36 \pm 0.65_{y}^{b}$	$5.20 \pm 0.18_{xy}^{b}$	$5.45 \pm 0.28_{z}^{b}$	$7.06 \pm 0.20_{z}^{c}$	$5.48 \pm 0.44_{yz}^{b}$	$4.95 \pm 0.10_{y}^{b}$	$7.11 \pm 0.31_{z}^{c}$

A..

* ตัวอักษร a b c และ d ที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เปรียบเทียบผลของสารต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของตัวอย่างที่อายุการเก็บเดียวกัน

** ตัวอักษร v w x y และ z ที่ความแตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เปรียบเทียบค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในกลุ่มสารละลายเดียวกันเมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้น

***แสดงความหมายในแต่ละกลุ่มทดลองดังนี้

A : กลุ่มสารละลายกรดแอสคอร์บิก

N : กลุ่มสารละลายไนซิน

G : กลุ่มสารละลายกรดกลูโคนิค

N + A + G : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค

c : กลุ่มควบคุม

A+ G : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค

N+A : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดแอสคอร์บิก

N+G : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดกลูโคนิค

ตารางที่ 4.14 ค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของเนื้อสุกรที่ผ่านการจุ่มสารละลายกรดแอสคอร์บิก (A) กรดกลูโคนิค (G) สารไนซิน (N) สารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค (A+G) สารไนซินและกรดแอสคอร์บิก (N+A) สารไนซินและกรดกลูโคนิค (N+G) สารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และ กรดกลูโคนิค (N+A+G) ภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิ 15 ±1 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 0 1 และ 3 วัน

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของตัวอย่างเนื้อสุกรในกลุ่มสารละลายต่างๆที่อุณหภูมิการเก็บ 15 องศาเซลเซียล							
	C***	A	G	N	A+G	N+A	N+G	N+A+G
0	$2.30 \pm 0.78_{x}^{a}$	$3.17 \pm 0.14_{x}^{b}$	$2.23 \pm 0.27_{x}^{a}$	$3.06 \pm 0.57_{x}^{b}$	$4.28 \pm 0.14_{x}^{c}$	$3.23 \pm 0.57_{x}^{b}$	$2.03 \pm 0.51_{x}^{a}$	$4.24 \pm 0.24_{x}^{c}$
1	$3.10 \pm 0.20_{x}^{a}$	$4.76 \pm 0.28_{y}^{b}$	$3.08 \pm 0.22_{y}^{a}$	$4.10 \pm 0.64_{x}^{ab}$	$5.90 \pm 0.64_{y}^{c}$	$4.24 \pm 0.49_{x}^{ab}$	$4.03 \pm 0.66_{y}^{ab}$	$5.14 \pm 0.25_{y}^{bc}$
3	$3.64 \pm 0.43_{x}^{a}$	$4.72 \pm 0.48_{y}^{bc}$	$3.67 \pm 0.31_{y}^{a}$	$3.50 \pm 0.25_{x}^{a}$	$5.39 \pm 0.22_{y}^{c}$	$4.23 \pm 0.50_{x}^{ab}$	$3.74 \pm 0.15_{y}^{a}$	$4.97 \pm 0.40_{y}^{bc}$

A..

* ตัวอักษร a b c และd ที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เปรียบเทียบผลของสารต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของชิ้นเนื้อในตัวอย่างที่อายุการเก็บเดียวกัน

** ตัวอักษร x y และ z ที่ความแตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของชิ้นเนื้อในกลุ่มสารละลายเดียวกันเมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้น

***แสดงความหมายในแต่ละกลุ่มทดลองดังนี้

A : กลุ่มสารละลายกรดแอสคอร์บิก

N : กลุ่มสารละลายไนซิน

G : กลุ่มสารละลายกรดกลูโคนิค

N + A+ G : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค

c : กลุ่มควบคุม

A+ G : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค

N+A : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดแอสคอร์บิก

N+G : กลุ่มสารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดกลูโคนิค

4.4 ผลของการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของเนื้อที่ผ่านการจุ่มในสารละลายกรดกลูโคนิค กรดแอสคอร์บิก สารไนซิน และสารผสมของสารดังกล่าว

จากการศึกษาผลของสารละลายต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเนื้อสุกรภายหลังการจุ่มในสารละลายกรดแอสคอร์บิก(A) สารละลายกรดกลูโคนิค (G) สารละลายไนซิน (N) สารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค (A+G) สารละลายผสมระหว่างสารไนซิน และกรดแอสคอร์บิก (N+A) สารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดกลูโคนิค (N+G) สารละลายผสมระหว่างสารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค (N+A+G) โดยการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคจำนวน 30 คน โดยการสังเกตสี และกลิ่นของเนื้อสุกรสด และโดยการชิมตัวอย่างเนื้อสุกรนึ่งสุก โดยใช้แบบทดสอบชนิด Different from control (แสดงในภาคผนวก ค) โดยทดสอบความแตกต่างกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่ได้ผ่านการจุ่มในสารละลายใดๆ ได้ผลการทดลองดังนี้

ตารางที่ 4.15 คะแนนเฉลี่ยของการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของเนื้อสุกรสด และเนื้อสุกรนึ่งสุกในแต่ละกลุ่มการทดลองต่อความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม

กลุ่มตัวอย่าง	เนื้อสุกรสด		เนื้อสุกรนึ่งสุก			
	สีของเนื้อ	กลิ่นกรด^{ns}	รสเปรี้ยว	ความนุ่ม^{ns}	รสแปลกปลอม^{ns}	รสเฝื่อน^{ns}
Control	0.000^{a}	0.000	0.00^{a}	0.00	0.00	0.00
A	1.739^{c}	0.087	0.326^{ab}	-0.087	0.043	0.347
G	0.000^{a}	0.391	0.435^{ab}	-0.087	-0.217	0.304
N	-0.478^{a}	0.217	0.478^{ab}	0.717	-0.043	0.478
A+G	-1.652^{b}	0.391	0.717^{b}	0.318	0.261	0.391
N+A	1.782^{c}	0.652	0.617^{ab}	0.739	0.174	0.304
N+G	-0.739^{a}	0.652	0.552^{ab}	0.695	0.087	0.565
N+A+G	-0.913^{b}	0.391	0.565^{ab}	0.304	-0.435	0.478

หมายเหตุ : ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งเดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

จากตารางที่ 4.15 พบว่าสีของชิ้นเนื้อที่ผ่านการจุ่มในสารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค (A+G) และ สารผสมระหว่างสารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค (N+A+G) จะมีสีซีดลงแตกต่างจากตัวอย่างควบคุม ($p \leq 0.05$) เพียงเล็กน้อยทั้งนี้เนื่องจากผลของความเข้มข้นของกรดที่สูง และ ขนาดของชิ้นเนื้อในการทดลองนี้มีขนาดเล็กจึงมี

ผลไปทำลายโปรตีนในกล้ามเนื้อ ทำให้สีของเนื้อซีดลง ซึ่งต่างจากตัวอย่างกลุ่มสารละลายกรดแอสคอร์บิก (A) และสารละลายผสมระหว่างสารไนซินและแอสคอร์บิก (N+A) เนื้อมีสีแดงขึ้นกว่าตัวอย่างควบคุม ($p \leq 0.05$) เนื่องจากกรดแอสคอร์บิกมีคุณสมบัติเป็นสารรีดิวซ์ มีผลช่วยชะลอการเปลี่ยนสีและให้สีของเนื้อมีความคงตัวนานขึ้น โดยจะมีผลในการลดการเกิดเมทไมโอโกลบิลในเนื้อ (Lawrie.1979) ซึ่งการทดลองให้ผลสอดคล้องกับการทดลองของ Costilow *et al.* (1955) พบว่าการใช้กรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ฉีดพ่นลงบนเนื้อวัวจะช่วยชะลอการเปลี่ยนสีของเนื้อได้ประมาณ 1 วัน นอกจากนี้ Dixon *et al.* (1987) ได้ใช้สารละลายผสมระหว่างกรดแลคติกเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ กรดอะซิติกเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ กรดซิตริกเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์ และกรดแอสคอร์บิก 0.1 เปอร์เซ็นต์ ฉีดพ่นลงลงบนชิ้นเนื้อวัวพบว่าสีของเนื้อไม่ต่างจากกลุ่มตัวอย่างควบคุม เมื่อพิจารณาผลของกรดต่อกลิ่นบนชิ้นเนื้อพบว่าในทุกกลุ่มตัวอย่างมีกลิ่นของเนื้อไม่ต่างจากตัวอย่างควบคุม ($p \leq 0.05$) และเมื่อนำเนื้อสุกรผ่านการนึ่งสุก พบว่าผู้บริโภคไม่สามารถแยกความแตกต่างของรสชาติแปลกปลอม และรสเฝื่อนของเนื้อในแต่ละกลุ่มตัวอย่างได้ แต่เมื่อพิจารณาผลของสารต่อรสเปรี้ยวของเนื้อ พบว่าเนื้อที่จุ่มในสารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) จะมีรสชาติเปรี้ยว แตกต่างจากตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ส่วนตัวอย่างกลุ่มอื่น ๆ มีรสเปรี้ยวเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยแต่ไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุม ($p>0.05$) ส่วนความนุ่มของเนื้อที่จุ่มในสารละลายทุกกลุ่มการทดลองไม่มีความแตกต่างจากกลุ่มตัวอย่างควบคุม($p>0.05$) ซึ่งจากการทดลอง พบว่าการใช้สารละลายผสมของกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) มีผลต่อสีของเนื้อสุกรสด และทำให้เกิดรสเปรี้ยวของเนื้อสุกรต้มสุก แต่ไม่มีผลต่อความนุ่ม และรสเฝื่อนของเนื้อ ส่วนการใช้สารละลายกรดแอสคอร์บิก (A) สารละลายกรดกลูโคนิค (G) สารไนซิน (N) สารผสมระหว่างสารไนซินและกรดแอสคอร์บิก (N+A) และสารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดกลูโคนิค (N+G) ไม่มีผลต่อสี และ รสชาติของเนื้อสุกร

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

1. การศึกษาผลของสารละลาย 7 กลุ่มการทดลอง ซึ่งประกอบด้วย สารละลายกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (A) สารละลายกรดกลูโคนิคเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (G) สารละลายไนซินเข้มข้น 1000 IU/ml (N) สารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ และกรดกลูโคนิคเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (A+G) สารละลายผสมระหว่างสารไนซิน 1,000 IU/ml และกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (N+A) สารละลายผสมระหว่างสารไนซิน 1,000 IU/ml และกรดกลูโคนิคเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (N+G) สารละลายผสมระหว่างสารไนซิน 1,000 IU/ml กรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ และกรดกลูโคนิคเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (N+A+G) ต่อการลดจำนวนเชื้อ *E. coli* และ เชื้อ *S. derby* ในตัวอย่างเนื้อสุกร ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 1 องศาเซลเซียล และ 15 ± 1 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 11 วัน พบว่า ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 4 ± 1 องศาเซลเซียล สารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) มีผลในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. derby* ดีที่สุด ในขณะที่สารละลายในกลุ่มอื่นๆ มีจำนวนเชื้อ *E. coli* ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ($p>0.05$) ส่วนจำนวนเชื้อ *S. derby* พบว่าทุกกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) และที่อุณหภูมิการเก็บ 15 ± 1 องศาเซลเซียล สามารถเก็บตัวอย่างได้นาน 3 วัน โดยทุกกลุ่มการทดลองมีจำนวนเชื้อ *E. coli* และ เชื้อ *S. derby* ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

2. การศึกษาผลของสารละลายทั้ง 7 กลุ่มต่อค่า pH ของตัวอย่างเนื้อสุกร พบว่าในทุกกลุ่มการทดลองมีค่า pH ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) โดยกลุ่มตัวอย่างที่ผ่านการจุ่มในสารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) มีค่า pH ต่ำสุดคือ 4.9 – 5.0 รองลงมา คือกลุ่มตัวอย่างที่ผ่านการจุ่มในสารละลายผสมระหว่างสารไนซิน กรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (N+A+G) สารละลายกรดกลูโคนิค (G) สารละลายกรดแอสคอร์บิก (A) สารละลายผสมระหว่าง สารไนซิน และกรดแอสคอร์บิก (N+A) สารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดกลูโคนิค (N+G) และ สารไนซิน (N) ตามลำดับ

3. การศึกษาผลของสารละลายทั้ง 7 กลุ่มต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของชิ้นเนื้อ พบว่ากลุ่มที่จุ่มในสารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) และ สารละลายผสมระหว่างสารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค (N+A+G)มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักมากที่สุด และ เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักมีแนวโน้มสูงขึ้นตามระยะเวลาการเก็บ

4. การศึกษาคุณภาพทางประสาทสัมผัสของตัวอย่างเนื้อสุกร พบว่า กลุ่มตัวอย่างที่ผ่านสารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) สารละลายผสมระหว่างสารไนซิน กรดแอสคอร์บิก และกรดกลูโคนิค (N+A+G) ทำให้เนื้อมีสีซีดลง ซึ่งต่างจากการใช้สารละลายกรดแอสร์คอบิก (A) และ สารละลายผสมระหว่างสารไนซินและกรดแอสคอร์บิก (N+A) ที่ทำให้เนื้อมีสีแดงขึ้นกว่าตัวอย่างควบคุม ($p \leq 0.05$) และ เมื่อนำมานึ่งสุกพบว่า เนื้อที่ผ่านการจุ่มในสารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) มีรสเปรี้ยวต่างจากตัวอย่างควบคุม ($p \leq 0.05$) แต่ความนุ่มเนื้อ รสเฝื่อน และรสชาติแปลกปลอมไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

5. การใช้สารละลายกรดกลูโคนิค มีความเหมาะสมในการนำมาใช้ควบคุมจำนวนเชื้อ *E.coli* ได้ดีกว่าสารละลายกลุ่มอื่น ๆ ที่ใช้ในการทดลองในครั้งนี้ เนื่องจากมีค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักที่ต่ำ โดยยังคงคุณภาพของชิ้นเนื้อในด้านสี กลิ่น และรส ไม่แตกต่างจากกลุ่มตัวอย่างควบคุม ส่วนกลุ่มสารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิกและกรดกลูโคนิค (A+G) แม้ว่ามีผลในการลดจำนวนเชื้อ *E. coli* และ *S. derby* ได้ดีกว่าสารละลายอื่นๆ แต่เนื่องจากกรดทั้งสองที่นำมาใช้มีความเข้มข้นสูง ทำให้ค่า pH ของสารละลายผสมของสารละลายผสมต่ำจึงไปมีผลต่อการเปลี่ยนสีของเนื้อและมีอัตราการสูญเสียน้ำหนักของเนื้อสูง

ข้อเสนอแนะ

การศึกษาครั้งต่อไปควรลดปริมาณความเข้มข้นของสารละลายลง หรืออาจมีการใช้สารที่มีคุณสมบัติอุ้มน้ำและมีผลในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ ก็จะช่วยเพิ่มคุณภาพของเนื้อได้ดีขึ้น นอกจากนี้การใช้สารละลายกรดแอสคอร์บิกมีผลในการรักษาสีของเนื้อได้ดี ดังนั้นอาจมีการใช้สารละลายชนิดอื่นที่มีผลในการยับยั้งเชื้อได้สูงร่วมกับการใช้สารละลายแอสคอร์บิกซึ่งอาจทำให้เกิดการยับยั้งเชื้อได้ดีมากขึ้น และคงไว้ซึ่งสีของเนื้อไว้ได้

บรรณานุกรม

จิราวรรณ อุ่นเมตตาอารี ประเวทย์ ตุ้ยเต็มวงศ์ ฆรณี ตุ้ยเต็มวงศ์ อรุณี สาระยา และมาลิน จุลศิริ 2540. "การปนเปื้อนของ *E. coli* 0157:H7 ในผลิตภัณฑ์อาหาร" หน้า 381-386. ใน **การประชุมทางวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์** ครั้งที่ 35.กรุงเทพ ฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จุไรรัตน์ รุ่งโรจนารักษ์ และ ศรีสิทธิ์ การุณยะวานิช. 2535. "ข้อกำหนดสุขลักษณะของอาหารทั่วไป" **วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์**. 34: 47 - 52

ชวลิต ทัศนสว่าง. 2533. **โรคติดต่อ**. กรุงเทพ ฯ : สามัญนิติบุคคล สหประชาพานิชย์.

สัญชัย จตุรสิทธา. 2543. **เทคโนโลยีเนื้อสัตว์**. ภาคสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่.

สุมาลี บุญมา อรุณ บ่างตระกูลนนท์ นพรัตน์ หมานริน มยุรา กุสุมภ์ และ อดิศักดิ์ ศักดิ์สิทธิวัฒนะ. 2538. "การตรวจหาเชื้อซาโมเนลลาโดยวิธี Standard conventional และ วิธี MBRV." **ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการสัตว์แพทย์ครั้งที่ 22**. 20-22 พฤศจิกายน 2538.

สุมาลี บุญมา อรุณ บ่างตระกูลนนท์ นพรัตน์ หมานริน และ ชุทพจน์ อมาตยกุล. 2539. "การตรวจเชื้อซาโมเนลลาในเนื้อสัตว์ โดยวิธี SCM และ วิธี MSRV." **อาหาร**. 26 : 88 - 97

สุมาลี บุญมา นพรัตน์ หมานริน ศรีรัตน์ พรเรืองวงศ์ และ อรุณ บ่างตระกูลนนท์. 2540. "การศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อซัลโมเนลลาในผลิตภัณฑ์จากเนื้อไก่และเนื้อหมู." **วารสารเกษตรศาสตร์**. 31(4) : 413 – 418.

ศรีสิทธิ์ การุณยะวาณิช ปรีชา จึงสมานุกูล และ จุไรรัตน์ รุ่งโรจนารักษ์.2541. "สุขลักษณะความปลอดภัยของอาหารพร้อมปรุงในซุปเปอร์มาร์เกต." **วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์**. 3 : 327–339.

อุไม บิลหมัด และ ศุภลักษณ์ จันทร์อุดม. 2544."Hemolytic *Escherichia coli* ในสุกรที่แสดงอาการท้องเสียและดื้อยาต้านจุลชีพในภาคใต้ของประเทศไทย." **วารสารสัตว์แพทย์**. 11(2) : 25-31.

Adam, M.R. and C.A. Hall. 1988. "Growth inhibition of food-borne pathogens by lactic acid and acetic acid and their mixtures." **Int. J. Food Sci.Technol**. 23 : 287–292

Adul-Raouf, U.M., L.R. Benchat. and M.S. Ammar. 1996."Isolation of *Escherichia coli* 0157:H7 from some Egyptian foods." **Int. J. Food Microbiol**. 29 : 423 – 426.

Ahamad, N. and E.H. Marth. 1990. "Acid–injury of *Listeria monocytogenes*." **J. Food Prot.** 53 : 26 – 29

Anderson, M.E. and R.T. Marshall. 1990. "Reduction microbial populations on beef tissues : Concentation and temperature of an acid mixture." **J. Food Sci.** 55 : 903 – 905.

Anderson, M.E., R.T. Marshall and J. S. Dickson. 1992. " Effecacies of acetic acid, lactic acid and two mixed acids in reducing numbers of bacteria on surfaces of lean meat." **J. Food Saf.** 12 : 139 -147.

Ariyapitipun, T., A. Mustapha and D.C. Andrew. 1999. "Microbial shelf life decontamination of vacuum packaging fresh beef treated with polylactic acid, lactic acid and nisin solution." **J. Food Prot.** 62 : 913–920.

Arnold, K.W. and C.W. Kaspar. 1995. "Starvation and Stationary phase induced acid tolerance in *Escherichia coli* 0157:H7." **Appl. Environ. Microbiol.** 61 : 2,037-2,039

Ashworth, J. and R. Spencer. 1972. "The perigo effect in pork." **J. Food Technol.** 7 : 111-114.

Bailey, F.J. and A. Hurst. 1971. "Preparation of a highly active from of nisin." **Can. J. Microbiol.**17 :61.

Baird – Parker, A.C. 1980. **Microbial ecology of foods. I. Factor affecting life and death of microorganisms.** By the International Commission on Microbiological Specifications for Foods.Chapter 7. Organic acid. Academic Press, New York.

Bangtrakulnoth, A., S. Boonmar., S. Luengyosluechakul., Musum, M and J. Sutanthavibul. 1994. "Study of pig salmonellosis in thailand." **Proc.13 th IPVS congress.** Bangkok : Triranasar press.

Barkate, M.L., G.R. Acuff., L.M. Lucia, and D.S. Hale. 1993. "Hot water decontamination of beef carcasses for reduction of initial bacteria numbers." **Meat Sci.** 35 : 397 – 401.

Bell, R.G., R.T. Marshell and M.E. Anderson. 1986. "Microbiological and sensory test of beef treated with acetic and formic acids." **J. Food Prot.** 49 : 207 – 210.

Bell, R.G. 1997. "Distribution and sources of microbial contamination on beef carcass." **J. Appl. Microbiol.** 82 : 292 - 300.

Cabedo, L., J.N. Sofos and G.R. Smith. 1996. "Removal of bacteria from beef tissue by spray washing after different times of exposure to fecal material."J. Food Prot. 59 : 1,284 – 1,287.

Cacciarelli, M.A., W.C. Stringer, M.E. Anderson, and H.D. Nauman.1983. "Effects of washing and sanitizing on the bacterial flora of vacuum packaged pork loin." J. Food Prot. 46 : 231.

Castilo, A., L.M. Lucia, K.J. Goodson, J.W. Savell, and G.R. Acuff. 1998. "Comparison of water wash, trimming and combined hot water and lactic acid treatments for reducting bacteria of fecal origin on beef carcasses." J. Food Prot. 61 : 823–828

Chung, K-T., J.S. Dickson, and J.D. Crouse. 1989. "Effect of nisin on growth of bacteria attached to meat." Appl. Environ. Microbiol. 55 : 1,329 –1,333.

Conner, D.E., W.B. Mikel, W.R. Jones and J.S. Kotrola. 1992. "Microbial quality of vacuum-packed primal beef cuts during storage at –1.1 ^{o}C for 128 days." J. Food Sci. 92 :109.

Costilow, R.N., B.A. Batshon, L.J. Bratzler, and D.A Robach. 1955. "Interaction between ascorbic acid and psychrophilic bacteria associated with the discoloration of prepackage beef." Food Technol. 9 : 560.

Cutter, C.N. and G.R. Siragusa. 1994. "Decontamination of beef carcass tissue with nisin using a pilot scale model carcass washer." Food Microbiol. 11 : 481 – 489.

Cutter, C.N. and G.R. Siragusa. 1995. "Treatment with nisin and chelators to reduce Salmonella and *Escherichia coli* on beef." J. Food Prot. 57 : 1,028 –1,030.

Cutter, C.N. and G.R. Siragusa. 1996. "Reduction of *Listeria innocua* and *Brochotrix thermosphacta* on beef following nisin spray treatments and vacuum packaging." Food Microbiol. 13 : 23-33

Davies, R.H., I.M. MaLaren and S. Bedford. 1999. "Observation on the distribution of salmonella in pig abattoir." Veterinary record. 145 : 656 – 651

Davies, R.H and M.H. Hinton. 2000. Salmonella in animal feed. pp. 285-300. In Wray, C.and Wray, A. (ed). Salmonella in Domestic Animal.CABI publishing.

De Vyst, L. and E.J. Vandamme. 1994. Bacteriocins of lactic acid bacteria. Chapman & Hall, New York.

Dickson, J.S. 1992. "Acetic acid action on beef tissure surfaces contaminate with salmonella typhimurium." **J. Food Prot.** 57 : 297-301.

Dixon, Z.R., C. Vanderzant, G.R. Acuff, J.W. Savell and D.K. Jones. 1987. "Effect of acid treatment of beef strip loin streaks on the microbiological and sensory characteristics." **Int. J. Food Microbiol.** 5 :181 –186.

Doores, S. 1993. "Organic acids" pp.75-103. In Branen,A.L.and Davidson,P.M. (ed).**Antimicrobial in foods**. Marcel Dekker, Inc, New york.

Doyle, M.P. and J. Schoeni. 1987. "Isolation of *Escherichia coli* 0157:H7 from retail fresh meat and poultry." **Appl. Environ. Microbiol.** 53 : 2,394 –2,396

Fldd1er, W.,E.G. Piotrowski, J.W. Pensabene, R.C. Doerr. and A.E. Wasserman. 1973. "Use of sodium ascorbate or erythobate to inhibit formation of N-nitrosodimethylamine in frankfurters." **J. Food Sci.** 38 :1,084.

FDA (Food and Drug Administration) 1992. **Bacteriological Analytical Manual. 7th edition**. AOAC International Arlington. VA.

Gill, C.O. 1983. "Meat spoilage and evaluation of the potential storage life of fresh meat." **J. Food Prot.** 46 : 444.

Gill, C.O. and K.G. Newton. 1979. "Spoilage of vacuum – packaged dark, firm, dry meat at chill temperatures." **Appl. Environ. Microbiol.** 37 : 362 –364.

Gill, C.O and K.G. Newton. 1982. "Effect of lactic acid concentrations on growth on meat of gram negative psychrotrophs from a meat works." **J. Appl. Environ. Microbiol.** 43 : 283 – 288.

Gill, C.O and J. Brayant. 1993. "The presence of *Escherichia coli*, Salmonella and *Campylobacter* in pig carcass deharing equipment." **Food Microbiol.** 10 : 337 – 344.

Gill, C.O. and T. Jones. 2000. "Microbiological sampling of carcass by excision or swabbing." **J. Food Prot.** 63 : 167 – 173.

Goddard, B.L., W.B. Mikel, D.E. Conner and W.R. Jones. 1996. "Use of organic acid to improve the chemical,physical,and microbial attributes of beef strip loin stored at –1 °C for 112 days." **J. Food Prot.** 59 : 849 - 853.

Gould, G.W. 1995. **New method of food preservation**. Blackie Academic and professional. 135 – 158.

Gray, J.I., S.K. Reddy, J.F. Price, A. Mandagere and W.E. Welkens. 1982. "Inhibition of N-nitrosamine in bacon." **Food Technol.** 36 : 39-45.

Greene, B.E., I. Hsin, and M.W. Zipser.1971."Regradation of oxidation color changes in raw ground beef." **J. Food Sci.** 36 : 940.

Greenberg, R.A., R.B. Tomkin, R.S Kittaka, and A. Amelis. 1966. "Incidence of mesophilic Clostridium spore in raw pork,beef and chicken in processing plant in the US.and Cannada." **Appl. Microbiol.** 14 : 789 - 793.

Greer, G.G. and B.D. Dilts. 1992. "Factors affecting the susceptibility of meatborne pathogen and spoilage bacteria to organic acids." **Food Reseach International.** 25 : 355 – 364.

Hall, R.H. 1966. "Nisin and food preservation." **Proc Biochem.**1:461.

Hansson, I.B. 2001. "Microbiological meat quality in high and low carpacity slaughterhouses in Sweden." **J. Food Prot.** 64 : 820 – 825.

Hardin, M.D., G.R. Acuff, L.M. Lucia, J.S. Oman and J.W. Savell. 1995. "Comparison of medthods for decontamination from beef surfaces." **J. Food Prot.** 58 : 368-379.

Henning, S., R. Metz and W.P. Hammes. 1986. "Studies on the mode of action of nisin." **Int.J.Food Microbiol.** 3 : 121.

Herbers, C.A.Z., D.L. Harrison and D.H. Kropf. 1981 "Ascorbic acid effects on bovine muscle pigments in the presence of radiant energy." **J. Food Sci.** 46 : 7-12.

Hirsch, A. 1951. "Growth and nisin production of a stain of streptococcus lactis." **J. Gen Microbiol.** 5 : 208.

Humphrey, T. 2000. "Public – health aspects of salmonella infection." pp. 245-263. In Wray, C.and Wray, A. (ed). **Salmonella in Domestic Animal.**CABI publishing.

Hurst, A. 1981. "Nisin" **Adv. Appl. Microbiol.** 27 : 85.

Imgram, M. 1972. Meat chilling- the first reason why. p.11- p13. In Cutting,C.L. **Meat chilling-why and how ? Meat Res. Symposium No. 2.** Meat Research Institute. Langford, Bristol.

Jarvis, B. and C.S. Borke. 1977. **Inhibition and inactivation of vegetative microbes.** Acadenic Press. New York.

Jay, J.M. 2000. **Morden food Microbiology.** Asean Publishers,Inc.

Jerngklinchan, J., K. Koowatananukul and K. Saitanu. 1994. "Occurrence of salmonella in raw broilers and their products in thailand." J . Food Prot. 57 : 808 –810.

Joseph, A.M and T.T. Anthony. 1994. Food additive toxicology.Marcel Dekker.,Inc.

Kropf, D.H. and B.C. Breidenstein. 1975. Beef operation in the meat industry. American Meat Institute, Washington.

Krulwich, T.A., R. Agus, M. Schneier and A.A. Guffanti. 1985. "Buffering carpacity of Bacilli that grow at different pH ranges." J. Bac. 162 : 768 -772.

Lawrie, R.A. 1979. The eating quality of meat p. 310.In Meat science, 3 rd ed.Pergamon Press,Oxford.

Lopez-Bote, C. and P.D. Warriss. 1988. "A note on the relationship between measures of water holding capacity in the M.logissimus dorsi and total drip loss from butchered pig carcasses during storage." Meat Sci. 23 : 227 – 234.

Mackey, B.M., T.A. Roberts, I. Mansfield and G. Farkas. 1980. "Growth of *Salmonella* on chilled meat." J. Hyg. Cambridge. (abstact). 85 :115.

Mendonca, A.F., R.A. Molins, A.A. Kraft and H.W. Walker. 1989. "Microbiological, chemical and physical changes in fresh, vacuum packed pork treated with organic acids and salts." J. Food Sci. 54 : 18 – 21.

Mountrey, G.J. and J.O' Malley. 1965. " Acid as poultry meat preservatives." Poultry Sci. 44 : 582.

Offer, G. and J. Trinick. 1983. "On the machanism of water holding in meat : the swelling and shinking of myofibrils." Meat Sci. 18 : 245.

Ogden, S.K.,A.J. Taylor, C.E.R. Dodd, I. Guerrero, H. Buendia and F. Gallardo. 1997. "Preservative effect of combined propionic and ascorbic acids on pork meat stored at 25 °C." J. Food Prot. 60 : 935 – 942.

Okayama, T., I Toshinori and Y. Minoru. 1987. "Effect of ascorbic acid and alpha-tocopherol on storage stability of beef steaks." Meat Sci.19 : 267 - 273.

Podolak, R.K., J.F. Zayas, C.L. Kastner and D.Y. Fung. 1996. "Inhibition *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157 : H7 on beef by application of organic acids." J. Food Prot. 59 : 370 – 373

Quinn, P.R., M.R. Carter, B. Markey and G.R. Carter. 1998. "Enterobacteriaceae" pp. 209-236. In Grafos,S.A. **Clinical veterinary microbiology**. Arte sobre papel, London.

Remh, H.J. and G. Reed. 1986. **Biotechnology : a comprehensive treat**. Weinheim VCH.

Reynold, A.E. and J.A. Carpenter. 1974. " Bactericidal properties of acitic and propionic acid on pork carcass." **Anim. Sci.** 38 : 515 – 519.

Rubin, H.E. 1978. "Toxicological model for a two acid system." **Appl. Environ. Microbiol.** 36: 623 - 624.

Rufus, K.G. 1992. **Salmonella** .CRC Press Inc. Boca Roton, Florida.

Ryu, J.H.,Y Deng and L.R. Beuchat. 1999. "Behavior of acid-adapted and unadapted *Escherichia coli* 0157:H7 when exposed to reduced pH achieved with various organic acids." **J. Food Prot.** 62 : 451 – 455.

Saha, U.,T.R.K. Murthy, and R.N. Kowale. 1999. "Effect of EDTA and ascorbic acid dip traiment on storage stability of goat meat at refrigeration temperature." **J. Food Sci and Technol India.** 36 : 180 – 183.

Scott, V.N. and S.L. Taylor. 1981. "Effect of nisin on the outgrowth of *Clostridium botulinum* spore." **J. Food Sci.** 46 : 117.

Shefet,S.M., W.S. Brian and T.R. Klaenhammer. 1995. "Efficacy of optimized nisin – treatment to inhibit *Samonella typhimurium* and extend shelf life of broiler carcass."**J. Food Prot.** 58 : 1,077 –1,082.

Sheridan, J.J., R.L. Buchanan and T.J. Montville. 1996. **HACCP an interated approach to assuring the microbiological safety of meat and poultry.** Food and Nutrition press Inc. Trumbull. Connecticut. USA.

Siragusa, G.R., W.J. Dorsa, C.N. Cutter, G.L. Bennett, J.E. Keen and M. Koohmaraie. 1998. "The incidence of *Escherichia coli* on beef carcasses and its association with aerobic mesophilic plate count catagories during the slaughter process." **J. Food Prot.** 61 :1,269-1,274.

Sofos, J.N. 1994. Microbial growth and its control in meat, poultry and fish." pp.359-403. In Person, A.M. and Dutson, T.R. (ed). **Advances in meat reseach series volume 9. Quality attributes and their measurement in meat poultry and fish products**. Blackie acadermic and professional.

Sofos, J.N., S.L. kochevar, G.R. Bellinger, D.R. Buege, D.D. Hancock, S.C. Ingham, J.R. Morgan, J.O. Reagan and G.C. Smith. 1999. "Sources and extent of microbiological contamination of beef carcasses in seven united states slaughtering plans." **J. Food Prot.** 62 :140 -145.

Steven, K.A., B.W. Sheldon., N.A. Klapes and T.R. Klaenhammer. 1991. "Nisin treatment for inactivation of Sallmonella species and other gram negative1bacteria." **Appl. Environ. Microbiol.** 57 : 3,613 – 3,615.

Steven, K.A., B.W. Sheldon., N.A. Klapes. and T.R. Klaenhammer. 1992 " Effect of treatment conditions on nisin inactivation of gram negative bacteria." **J. Food Prot.** 55 : 763 –766.

Sutheinkul, O., J.E. Brown and J. Seriwatana. 1990. "Shiga –like toxin producing *E.coli* in Thailand." **Appl. Environ. Microbiol.** 56 :1,135 –1,139.

Swanenburg, M., H.A.P. Urling, D.A. Keuzenkamp and J.M.A. Snijders. 2001. "Salmonella in the lairge of pig slaughterhouse." **J. Food Prot.** 64 :12 – 16.

Tannenbaum, S.R. 1976. **Principles of food science.** . Marcel Dekker Inc.

Tauxe, R.V. 1991. "Salmonella: A postmordern pathrogen." **J. Food Prot.** 54 : 563 –568.

USDA. 1996. **Nationwide Fsderal plant raw ground beef microbiological survey** .Washington. D.C.

Vanderlinde, P.B., B. Shay and J. Marray. 1999. "Microbiology status of Australians sheep meat." **J. Food Prot.** 62: 380 - 385.

Vandonkersgoed, J., T. Graham and V. Gannon. 1999. "The prevalence of verotoxins, *Escherichia coli* 0157:H7 and Salmonella in the faeces and rumen of cattle at processing". **Can. Vet. J.** 40 : 332-338

Varnam, A. H. and J.P. Sutherland. 1995. **Meat and meat products technology, chemistry and microbiology.** Chapman and Hall.

Verma, S.P. and J. Sahoo. 2000. "Extension of shelf life of ground chevon during refrigerated storage by using ascorbic acid." **J. Food Sci and Technol India.** 37 : 565 –570.

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

Zepeda, C.M.G., C.L. Kastner, B.L. Willard, R.K. Phebus, J.R. Schwenke, B.A. Fijal and R. K. Prasai.1994. " Gluconic acid as fresh beef decontaminant." **J. Food Prot.** 57 : 956 – 962.

Ziauddin, K.S., H.S. Rao and N. Faizone.1996. " Effect of organic acid and spices on quality and shelf life of meat at ambient temperature." **J. Food Sci Technol.** 33 : 255 – 258.

ภาคผนวก ก
การเตรียมสารละลายเชื้อบริสุทธิ์ และสารละลายเคมีเพื่อใช้ในการทดลอง

1. การเตรียมตัวอย่างเชื้อจุลินทรีย์ (Cutter and Siragusa. 1996)

1.1 การเตรียมตัวอย่างเชื้อ *Escherichia coli*

นำเชื้อ *E. coli* มาเลี้ยงบนอาหารวุ้นเอียง Trypticase soy agar (TSA) ในหลอดทดลองขนาดเล็ก และบ่มในตู้บ่มที่ควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำลูป เขี่ยเชื้อปริมาณ 1 ลูป มาเลี้ยงในอาหาร Trypticase soy broth (TSB) บ่มในตู้บ่มที่ควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวนเชื้อ *E. coli* แล้วนำสารละลายเชื้อที่เตรียมได้มาเจือจางในสารละลายเปปโตนเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ให้ได้ความเข้มข้นของเชื้อที่ต้องการ คือ 10^5 cfu/ml

1.2 การเตรียมตัวอย่างเชื้อ *Salmonella derby*

นำเชื้อ *S. derby* มาเลี้ยงบนอาหารวุ้นเอียง Trypticase soy agar (TSA) ในหลอดทดลองขนาดเล็ก และบ่มในตู้บ่มที่ควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำลูป เขี่ยเชื้อปริมาณ 1 ลูป มาเลี้ยงในอาหาร Trypticase soy broth (TSB) บ่มในตู้บ่มที่ควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวนเชื้อ *S. derby* แล้วนำสารละลายเชื้อที่เตรียมได้มาเจือจางในสารละลายเปปโตนเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ให้ได้ความเข้มข้นของเชื้อที่ต้องการ คือ 10^5 cfu/ml

2. การเตรียมสารเคมีเพื่อใช้ในการทดลอง

2.1 การเตรียมสารละลายไนซินเข้มข้น 1,000 IU/ml (ดัดแปลงจาก Cutter and Siragusa. 1996)

ชั่งไนซิน (Nisaplin) 0.1 กรัม เติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.02 N ที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียล นาน 15 นาที ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ได้สารละลายไนซิน (stock solution) ที่มีความเข้มข้น 40,000 IU/ml (สารละลายไนซินที่ได้สามารถเก็บได้นานประมาณ 3 สัปดาห์) และทำการปิเปตสารละลายไนซินที่เตรียมไว้ 5 มิลลิลิตร ลงในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.02 N ปริมาตร 195 มิลลิลิตร ซึ่งจะได้สารละลายไนซิน ความเข้มข้น 1,000 IU/ml (ปริมาตรรวมเท่ากับ 200 มิลลิลิตร) นำไปทำให้ปลอดเชื้อโดยผ่าน 0.45 μm membrane filters จากนั้นจึงนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียล

2.2 การเตรียมสารละลายกรดกลูโคนิคเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (Zepeda *et al.* 1994)

ชั่งกรดกลูโคนิค 1.5 กรัม ในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียล นาน 15 นาที โดยปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร นำไปทำให้ปลอดเชื้อโดยผ่าน 0.45 μm membrane filters

2.3 การเตรียมสารละลายกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (Ogden *et al.*1997)

ชั่งกรดแอสคอร์บิก 1 กรัม ในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียล นาน 15 นาที โดยปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร นำไปทำให้ปลอดเชื้อโดยผ่าน 0.45 μm membrane filters

2.4 การเตรียมสารละลายผสมของกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ และกรดกลูโคนิคเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (ดัดแปลงจาก Zepeda *et al.* 1994)

ชั่งกรดแอสคอร์บิก 1 กรัม และ ชั่งกรดกลูโคนิค 1.5 กรัม ในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียล นาน 15 นาที ปรับปริมาตรเท่ากับ 100 มิลลิลิตร นำไปทำให้ปลอดเชื้อโดยผ่าน 0.45 μm membrane filters

2.5 การเตรียมสารละลายผสมของสารละลายไนซินเข้มข้น 1,000 IU/ml และสารละลายกรดกลูโคนิคเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (ดัดแปลงจาก Ariyapitipun *et al.*1999)

ชั่งไนซิน 0.1 กรัม และ ใส่ลงในสารละลายกรดสารละลายกรดกลูโคนิคเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (เตรียมดังข้อ 2.2) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ได้สารละลายไนซินที่มีความเข้มข้น 40,000 IU/ml ทำการปิเปตสารละลายไนซินที่เตรียมไว้ 12.5 มิลลิลิตร ลงในสารละลายกรดสารละลายกรดกลูโคนิคเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ ปรับปริมาตรเท่ากับ 500 มิลลิลิตร ซึ่งจะได้สารละลายไนซินความเข้มข้น 1,000 IU/ml นำไปทำให้ปลอดเชื้อโดยผ่าน 0.45 μm membrane filters

2.6 การเตรียมสารละลายผสมของสารละลายไนซินเข้มข้น 1,000 IU/ml และสารละลายกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (ดัดแปลงจาก Ariyapitipun *et al.* 1999)

ชั่งไนซิน 0.1 กรัม เติมลงในสารละลายกรดสารละลายกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (เตรียมดังข้อ 2.3) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายไนซินที่มีความเข้มข้น 40,000 IU/ml ทำการปิเปตสารละลายไนซินที่เตรียมไว้ 12.5 มิลลิลิตรลงในสารละลายกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ปรับปริมาตรเท่ากับ 500 มิลลิลิตร จะได้สารละลายไนซินความเข้มข้น 1,000 IU/ml นำไปทำให้ปลอดเชื้อโดยผ่าน 0.45 μm membrane filters

2.7 การเตรียมสารละลายผสมของสารละลายไนซินเข้มข้น 1,000 IU/ml สารละลายกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ และ สารละลายกรดกลูโคนิคเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (ดัดแปลงจาก Ariyapitipun *et al.* 1999)

ชั่งไนซิน 0.1 กรัม เติมลงในสารละลายผสมระหว่างกรดสารละลายกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์และกรดกลูโคนิคเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (เตรียมดังข้อ 2.4) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายไนซินที่มีความเข้มข้น 40,000 IU/ml ทำการปิเปตสารละลายไนซินที่เตรียมไว้ 12.5 มิลลิลิตรลงในสารละลายผสมระหว่างกรดแอสคอร์บิก เข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์และกรดกลูโคนิคเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ ปรับปริมาตรเท่ากับ 500 มิลลิลิตร จะได้สารละลายไนซินความเข้มข้น 1,000 IU/ml นำไปทำให้ปลอดเชื้อโดยผ่าน 0.45 μm membrane filters

ภาคผนวก ข
การตรวจหาปริมาณจุลินทรีย์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง และ เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของเนื้อ

1. การตรวจหาปริมาณจุลินทรีย์

1.1 การตรวจหาจำนวนเชื้อ *E. coli* โดยวิธี MPN (FDA- BAM. 1992)

นำตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ต้องการทดสอบบรรจุใส่ในถุงพลาสติกที่ฆ่าเชื้อแล้วเติมสารละลายเปปโตนเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียล นาน 15 นาที นำเข้าเครื่องตีป่นอาหาร (stomacher) ปั่นผสมชิ้นเนื้อเป็นเวลานาน 2 นาที หลังจากนั้นนำชิ้นเนื้อที่ตีป่นมาเจือจางด้วยสารละลายเปปโตนเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ให้ได้ความเจือจางที่เหมาะสม ตรวจหาจำนวนเชื้อ *E. coli* โดยวิธีวิเคราะห์แบบ MPN และทำการยืนยันจำนวนเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ EMB agar และ ตรวจนับจำนวนเชื้อโดยเทียบจากตาราง MPN

1.2 การตรวจหาจำนวนเชื้อ *S. derby* โดยวิธี MPN (FDA- BAM. 1992)

นำตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ต้องการตรวจสอบบรรจุใส่ในถุงพลาสติกที่ฆ่าเชื้อแล้วเติมสารละลายเปปโตนเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียล นาน 15 นาที นำเข้าเครื่องตีป่นอาหาร (stomacher) ปั่นผสมชิ้นเนื้อเป็นเวลานาน 2 นาที หลังจากนั้นนำชิ้นเนื้อป่นมาเจือจางสารละลายเปปโตนเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ให้ได้ความเจือจางที่เหมาะสม นำไปใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryticase soy broth บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้น ปิเปตหลอดอาหารที่มีสีขุ่น ถ่ายลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Selenite broth บ่มในตู้บ่มที่ควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ถ่ายเชื้อมา streak บน Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) agar บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 18–24 ชั่วโมง ตรวจหาจำนวนเชื้อ *S. derby* โดยการเทียบจากตาราง MPN

1.3 การตรวจนับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (FDA- BAM. 1992)

นำตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ต้องการทดสอบบรรจุใส่ในถุงปลอดเชื้อ นำเข้าเครื่องตีป่นอาหาร (stomacher) โดยเติมสารละลายเปปโตนเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียล นาน 15 นาที แล้วทำการปั่นผสมชิ้นเนื้อเป็นเวลานาน 2 นาที หลังจากนั้นทำการเจือจางตัวอย่างชิ้นเนื้อด้วยสารละลายเปปโตนเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ตรวจหาจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด โดยวิธี Pour plate ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar บ่มในตู้บ่มที่ควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำการตรวจนับจำนวนโคโลนีที่เกิด

2. การวัดค่าความเป็นกรด – ด่างของเนื้อ (Ogden *et al.* 1997)

นำตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ปั่นละเอียดหนักประมาณ 10 กรัม ใส่ในถุงปลอดเชื้อ เติมน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน หลังจากนั้นนำไปวัดค่าความเป็น pH ด้วยเครื่อง pH meter

3. การหาเปอร์เซ็นการสูญเสียน้ำหนักของเนื้อ (Mendonca *et al.*1989)

ชั่งน้ำหนักชิ้นเนื้อก่อนจุ่มสารละลายและจดบันทึกผลน้ำหนักเริ่มต้นเป็นค่า X_1 และชั่งนำหนักภาชนะถุงพลาสติก (p) ก่อนบรรจุชิ้นเนื้อจดบันทึกเป็นค่า X_2 หลังจากนั้นนำชิ้นเนื้อจุ่มลงในสารละลายกลุ่มต่างๆ จึงนำชิ้นเนื้อที่ได้บรรจุในภาชนะถุงพลาสติก ชั่งน้ำหนักของชิ้นเนื้อและถุงพลาสติก (p+e+m) จดบันทึกค่าเป็น X_3 หลังจากนั้นนำชิ้นเนื้อออกจากภาชนะถุงพลาสติกและชั่งน้ำหนักเนื้อที่ได้ (m) จดบันทึกค่าเป็น X_4 และ นำค่าไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียจากสูตรดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก} = \frac{X_3 - X_4 - X_2}{X_1} \times 100$$

$$= \frac{(p+e+m) - (m) - (p)}{X_1} \times 100$$

คำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของเนื้อในแต่ละกลุ่มทดลองในวันที่ 0 1 3 5 7 9 และ 11 วันของการเก็บ ที่อุณหภูมิการเก็บ 4 ± 1และ 15 ± 1 องศาเซลเซียล

ภาคผนวก ค

แบบทดสอบการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัส

แบบประเมินผลทางประสาทสัมผัส

เนื้อสุกรสด

วันที่.....เดือน.....พ.ศ 2544 ชื่อผู้ชิม.....

โปรดพิจารณาคุณลักษณะเนื้อหมูต่อไปนี้ โดยสังเกตุลักษณะสี และ กลิ่นของตัวอย่างควบคุม " C " ก่อน แล้วทดสอบตัวอย่างที่มีเลขรหัส 3 ตัว แล้วบอกขนาดของความแตกต่างเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่าง "C "ตามสเกลข้างล่าง

ลักษณะสีของเนื้อ

-5 -4 -3 -2 -1 0 1 2 3 4 5

สีขาวซีด ไม่แตกต่าง สีแดงเข้มมาก

กลิ่นกรดของเนื้อ

-5 -4 -3 -2 -1 0 1 2 3 4 5

ไม่มีกลิ่น ไม่แตกต่าง กลิ่นแรง

ข้อเสนอแนะ :

.....

.....

.....

.....

แบบประเมินผลทางประสาทสัมผัส
เนื้อหมูนึ่งสุก

วันที่.....เดือน.....พ.ศ 2544 ชื่อผู้ชิม.....

โปรดพิจารณาคุณลักษณะและชิมเนื้อหมูต่อไปนี้ โดยชิมตัวอย่างควบคุม " C " ก่อน แล้วทดสอบตัวอย่างที่มีเลขรหัส 3 ตัว แล้วบอกขนาดของความแตกต่างเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่าง "C "ตามสเกลข้างล่าง

กลิ่นแปลกปลอม (off – flavor)

-5	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5
ไม่มีกลิ่น					ไม่แตกต่าง					กลิ่นรุนแรง

รสเปรี้ยวของเนื้อ

-5	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5
ไม่เปรี้ยว					ไม่แตกต่าง					เปรี้ยวมาก

ความอ่อนนุ่มของเนื้อ (Tenderness)

-5	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5
นุ่ม					ไม่แตกต่าง					แข็ง

ลักษณะรสฝาดของเนื้อหมู (tartness)

-5	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5
ฝาดน้อย					ไม่แตกต่าง					รสฝาดมาก

ข้อเสนอแนะ :

.....

.....

.....

ประวัติผู้เขียน

นางสาวจุฑารัตน์ เลี่ยนกัตวา เกิดวันที่ 25 กรกฎาคม 2519 ที่จังหวัดกระบี่ สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตร์บัณฑิต (วท.บ) ในสาขาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร จากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ ปีการศึกษา 2542 และ ศึกษาต่อในระดับวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ณ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในสาขาวิชา วิทยาศาสตร์การอาหาร ในปี พ.ศ 2542 และ สำเร็จการศึกษาในปี พ.ศ 2545