



ใบรับรองปัญหาพิเศษปริญญาตรี  
ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์

A

เรื่อง

การตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาและจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมในลูกไก่คัดทิ้งที่หมัก  
ด้วยกรดอินทรีย์บางชนิด

Salmonella and Total Plate Count in Culling Chick Fermented  
by Some Acid for 6 Week Period

โดย

นาย ธนิต ชินศิริราษฎร์

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษา

(ผศ. อรุษา แสงไสยภณ)

ภาควิชารับรอง

(รศ.ดร.รณชัย สิทธิไกรพงษ์)

หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์

วันที่ ๓๐ เดือน ๕ พ.ศ. ๕๙

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิทยาลัยเกษตรกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง



T100604

การตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาและจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมในลูกไก่คัดทิ้งที่หมัก

ด้วยกรดอินทรีย์บางชนิด

Salmonella and Total Plate Count in Culling Chick Fermented

by Some Acid for 6 Week Period

โดย

นาย ธนิต ชินดิธรางกูร

เสนอ

ป.พ.

ค 262 ก

2544

เลขหมู่.....

เลขทะเบียน..... 100604

วัน,เดือน,ปี..... 19 JUN 2000

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า

เจ้าคุณทหารลาดกระบัง

กรุงเทพมหานคร

พ.ศ. 2544

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทคัดย่อปัญหาพิเศษ

### เรื่อง

การตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาและจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมในลูกไก่คัดทิ้งที่หมัก  
ด้วยกรดอินทรีย์บางชนิด

Salmonella and Total Plate Count in Culling Chick Fermented  
by Some Acid for 6 Week Period

การตรวจหาเชื้อจุลินทรีย์รวมในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดบางชนิด ทำการทดลองเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ โดยการนำลูกไก่คัดทิ้งมาบด และทำการหมักด้วยกรดโพรพิโอนิก 85 เปอร์เซ็นต์ กรดฟอร์มิก 85 เปอร์เซ็นต์ และกรดโพรพิโอนิกร่วมกับกรดฟอร์มิก 85 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้กรดในปริมาณ 3.5 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักลูกไก่คัดทิ้ง เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งไม่ได้เติมกรด ตรวจนับเชื้อจุลินทรีย์ในวันเริ่มหมักมาเปลี่ยนเป็นค่า log แล้วนำมาเปรียบเทียบทางสถิติ พบว่าลูกไก่คัดทิ้งที่เติมกรดมีจำนวนจุลินทรีย์ลดลงจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเริ่มทำการหมักด้วยกรดกลุ่มที่ใช้ คือ กรดโพรพิโอนิก กรดฟอร์มิก กรดโพรพิโอนิกร่วมกับกรดฟอร์มิก และกลุ่มควบคุม พบจำนวนจุลินทรีย์ 8.5123, 5.4879, 5.4437 และ 14.3575 ตามลำดับ และเมื่อทำการหมักเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์พบว่าจำนวนจุลินทรีย์น้อยกว่ากลุ่มควบคุม โดยลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดฟอร์มิกจะพบเชื้อจุลินทรีย์น้อยที่สุด คือ 6.8827 และมีค่าความเป็นกรด - ต่างต่ำที่สุดทำให้เชื้อจุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญได้ รองลงมา คือกรดโพรพิโอนิกร่วมกับกรดโพรพิโอนิก และกรดฟอร์มิก คือ 6.9022 และ 8.9233 ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาปัจจัยเรื่องระยะเวลาในการหมัก พบว่าเมื่อเวลาการหมักผ่านไป เชื้อจุลินทรีย์เพิ่มจำนวนขึ้นจนถึงสัปดาห์ที่ 4 แต่จะลดลงในสัปดาห์ที่ 5 และ 6 อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

ค่าความเป็นกรด - ต่าง ( pH) ของลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรด พบว่า เมื่อเริ่มทำการหมักด้วยกรดมีค่าความเป็นกรด - ต่างน้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดโพรพิโอนิก กรดฟอร์มิก กรดโพรพิโอนิกร่วมกับกรดฟอร์มิก และกลุ่มควบคุมมีค่าความเป็นกรด - ต่างเท่ากับ 5.2667, 4.3667, 4.5333 และ 6.80 ตามลำดับ และเมื่อทำการหมักเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า ลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดโพรพิโอนิก กรดฟอร์มิก กรดโพร-

พิอินิกร่วมกับกรดฟอร์มิก มีค่าความเป็นกรด - ด่างเท่ากับ 5.4429, 5.1762 และ 5.8381 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

การตรวจเชื้อซัลโมเนลลาเมื่อเริ่มทำการหมักด้วยกรดและในสัปดาห์ที่ 4 พบว่าเมื่อเริ่มทำการหมักด้วยกรดมีเชื้อซัลโมเนลลาปนเปื้อนอยู่ในทุกกลุ่ม ยกเว้นกลุ่มที่ใช้กรดฟอร์มิก เมื่อเวลาผ่านไป 4 สัปดาห์ไม่พบการเจริญของเชื้อซัลโมเนลลาในทุกกลุ่มทดลอง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## คำนิยม

ในการทำปัญหาพิเศษฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ได้ด้วยดี ข้าพเจ้าต้องขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านที่ให้ความรู้ และให้คำแนะนำ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง อาจารย์อนุชา แสงโสภณ และอาจารย์กนกภรณ์ ศรีกิจเกษมวัฒน์ ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษา ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำในการทำงาน ตลอดจนช่วยเหลือในการแก้ไขสิ่งบกพร่องต่าง ๆ จนปัญหาพิเศษฉบับนี้ถูกต้องสมบูรณ์ยิ่งขึ้น และขอขอบคุณที่อาจารย์ได้กรุณาเสียสละเวลาให้ ขอขอบพระคุณ อาจารย์ คมแข พิลาสมบัติ และท่านผู้ควบคุมดูแลห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ความกรุณาอำนวยความสะดวกและให้ความช่วยเหลือ ดูแลเอาใจใส่เป็นอย่างดี รวมทั้ง ขอขอบพระคุณ อาจารย์ ณหทัย วิจิตรโรทัย และอาจารย์ จรรยา คงฤทธิ์ ที่ช่วยเหลือในการแก้ไขปัญหาต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นในระหว่างการทำงานและเอื้อเฟื้ออุปกรณบางอย่าง

ขอขอบพระคุณ ห้องสมุดทุกสถาบันที่เป็นแหล่งข้อมูลในการค้นคว้า รุ่นพี่ร่วมสถาบัน และเพื่อน ๆ ทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือมาโดยตลอด และขอขอบพระคุณโรงฟักไข่หนองจอก ที่ได้อนุเคราะห์ลูกไก่คัดทิ้งในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้ เป็นอย่างยิ่ง

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่เป็นกำลังใจ ให้การสนับสนุน และอุปการะ ในด้านการศึกษา ทำให้ข้าพเจ้าทำปัญหาพิเศษฉบับนี้ได้สำเร็จอย่างสมบูรณ์

นายธนิต ชันติธรางกูร

1 พฤษภาคม 2545

## สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	14
ผลการทดลอง	
ผลการตรวจนับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดในลูกไก่คัดทิ้ง ที่หมักด้วยกรดต่างชนิดกัน	18
ผลการวัดค่าความเป็นกรด-ด่างในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วย กรดต่างชนิดกัน	20
การวิเคราะห์ผลทางสถิติของจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่พบใน ลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรด	21
การวิเคราะห์ผลทางสถิติของค่าความเป็นกรด-ด่างใน ลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรด	28
ผลการตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วย กรดต่างชนิดกัน	34
สรุปผลการทดลองและวิจารณ์	38
เอกสารอ้างอิง	40
ภาคผนวก	43

## สารบัญญัตินี้

ตารางที่		หน้า
1	แสดงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (colony/g) ที่นับได้ในลูกไก่คัดทิ้งหมักด้วยสารละลายกรดโพธิ์ไอโอดีน กรดฟอร์มิค กรดโพธิ์ไอโอดีนร่วมกับกรดฟอร์มิค และกลุ่มควบคุม เป็นเวลา 6 สัปดาห์	19
2	แสดงค่าความเป็นกรด – ต่าง ในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยสารละลายกรดโพธิ์ไอโอดีน กรดฟอร์มิค และกรดโพธิ์ไอโอดีนร่วมกับกรดฟอร์มิค เป็นเวลา 6 สัปดาห์	21
3	แสดงค่าเฉลี่ยโดยคำนวณเป็นค่า log ของจำนวนจุลินทรีย์ที่ตรวจพบในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยสารละลายกรดโพธิ์ไอโอดีน กรดฟอร์มิค และกรดโพธิ์ไอโอดีนร่วมกับกรดฟอร์มิค เมื่อเริ่มหมัก	23
4	แสดงค่าเฉลี่ยโดยคำนวณเป็นค่า log ของจำนวนจุลินทรีย์ที่ตรวจพบในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยสารละลายกรดโพธิ์ไอโอดีน กรดฟอร์มิค และกรดโพธิ์ไอโอดีนร่วมกับกรดฟอร์มิค เป็นเวลา 6 สัปดาห์	24
5	แสดงค่าเฉลี่ยโดยคำนวณเป็นค่า log ของจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่หมักด้วยกรด จากสัปดาห์ที่ 0 ถึง สัปดาห์ที่ 6	26
6	แสดงค่าเฉลี่ยโดยคำนวณเป็นค่า log ของจำนวนจุลินทรีย์ที่ตรวจพบในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยสารละลายกรดโพธิ์ไอโอดีน กรดฟอร์มิค และกรดโพธิ์ไอโอดีนร่วมกับกรดฟอร์มิค เมื่อทำการหมักเป็นเวลา 6 สัปดาห์	27
7	แสดงค่าเฉลี่ยความเป็นกรด-ต่างในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยสารละลายกรดโพธิ์ไอโอดีน กรดฟอร์มิค และกรดโพธิ์ไอโอดีนร่วมกับกรดฟอร์มิค เมื่อเริ่มหมัก	29
8	แสดงค่าเฉลี่ยความเป็นกรด – ต่าง ในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยสารละลายกรดโพธิ์ไอโอดีน กรดฟอร์มิค และกรดโพธิ์ไอโอดีนร่วมกับกรดฟอร์มิค เป็นเวลา 6 สัปดาห์	30
9	แสดงค่าเฉลี่ยความเป็นกรด-ต่างในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดจากสัปดาห์ที่ 0 ถึง 6	31

- |    |  |    |
|----|--|----|
| 10 | แสดงค่าเฉลี่ยความเป็นกรด – ต่างในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยสารละลายกรดโพธิ์ไอ-นิก กรดฟอร์มิค และกรดโพธิ์ไอ-นิกร่วมกับกรดฟอร์มิค เมื่อทำการหมักเป็นเวลา 6 สัปดาห์ | 33 |
| 11 | ผลการตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดโพธิ์ไอ-นิก กรดฟอร์มิค และกรดโพธิ์ไอ-นิกร่วมกับกรดฟอร์มิค ในสัปดาห์เริ่มหมัก                            | 35 |
| 12 | ผลการตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดโพธิ์ไอ-นิก กรดฟอร์มิค และกรดโพธิ์ไอ-นิกร่วมกับกรดฟอร์มิค ในสัปดาห์ที่ 4                                | 36 |

#### ตารางผนวกที่

- |   |   |    |
|---|---|----|
| 1 | การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนจุลินทรีย์โดยรวมที่พบในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดโพธิ์ไอ-นิก กรดฟอร์มิค และกรดโพธิ์ไอ-นิกร่วมกับกรดฟอร์มิค เมื่อเริ่มหมัก     | 48 |
| 2 | การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนจุลินทรีย์โดยรวมที่พบในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดโพธิ์ไอ-นิก กรดฟอร์มิค และกรดโพธิ์ไอ-นิกร่วมกับกรดฟอร์มิค เป็นเวลา 6 สัปดาห์ | 48 |
| 3 | การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความเป็นกรด-ต่างในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดโพธิ์ไอ-นิก กรดฟอร์มิค และกรดโพธิ์ไอ-นิกร่วมกับกรดฟอร์มิค เมื่อเริ่มหมัก            | 49 |
| 4 | การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความเป็นกรด-ต่างในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดโพธิ์ไอ-นิก กรดฟอร์มิค และกรดโพธิ์ไอ-นิกร่วมกับกรดฟอร์มิค เป็นเวลา 6 สัปดาห์        | 49 |

## สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แสดงค่าเฉลี่ยโดยคำนวณเป็นค่า log ของจำนวนจุลินทรีย์ที่ตรวจพบ ในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยสารละลายกรดโพธิ์อินิก กรดฟอร์มิก และ กรดโพธิ์อินิกร่วมกับกรดฟอร์มิก เมื่อเริ่มหมัก	23
2	แสดงค่าเฉลี่ยโดยคำนวณเป็นค่า log ของจำนวนจุลินทรีย์ที่ตรวจพบ ในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยสารละลายกรดโพธิ์อินิก กรดฟอร์มิก และ กรดโพธิ์อินิกร่วมกับกรดฟอร์มิก เป็นเวลา 6 สัปดาห์	24
3	แสดงค่าเฉลี่ยโดยคำนวณเป็นค่า log ของจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ในลูกไก่ คัดทิ้งที่หมักด้วยกรด จากสัปดาห์ที่ 0 ถึง สัปดาห์ที่ 6	26
4	แสดงค่าเฉลี่ยโดยคำนวณเป็นค่า log ของจำนวนจุลินทรีย์ที่ตรวจพบ ในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยสารละลายกรดโพธิ์อินิก กรดฟอร์มิก และ กรดโพธิ์อินิกร่วมกับกรดฟอร์มิก เมื่อทำการหมักเป็นเวลา 6 สัปดาห์	27
5	แสดงค่าเฉลี่ยความเป็นกรด-ต่างในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยสารละลาย กรดโพธิ์อินิก กรดฟอร์มิก และกรดโพธิ์อินิกร่วมกับกรดฟอร์มิก เมื่อเริ่มหมัก	29
6	แสดงค่าเฉลี่ยความเป็นกรด-ต่างในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยสารละลาย กรดโพธิ์อินิก กรดฟอร์มิก และกรดโพธิ์อินิกร่วมกับกรดฟอร์มิก เมื่อทำการหมักเป็นเวลา 6 สัปดาห์	30
7	แสดงค่าเฉลี่ยความเป็นกรด-ต่าง ในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดจาก สัปดาห์ที่ 0 ถึง 6	31
8	แสดงค่าเฉลี่ยความเป็นกรด - ต่าง ในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยสารละลาย กรดโพธิ์อินิก กรดฟอร์มิก และกรดโพธิ์อินิกร่วมกับกรดฟอร์มิก เมื่อทำการหมักเป็นเวลา 6 สัปดาห์	33

การตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาและจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมในลูกไก่คัดทิ้งที่หมัก  
ด้วยกรดอินทรีย์บางชนิด

Salmonella and Total Plate Count in Culling Chick Fermented  
by Some Acid for 6 Week Period

คำนำ

ปัจจุบันมีการเลี้ยงสัตว์เกิดขึ้นเป็นจำนวนมาก จึงก่อให้เกิดปัญหาเกี่ยวกับของเสียต่าง ๆ ภายในฟาร์ม ประกอบกับวัตถุดิบอาหารสัตว์ภายในประเทศได้มีการนำเข้ามาจากต่างประเทศ จึงทำให้ราคาวัตถุดิบอาหารสัตว์มีราคาสูง ดังนั้นผู้ประกอบการฟาร์มเลี้ยงสัตว์ต่าง ๆ จึงได้มีการหาวัตถุดิบอาหารสัตว์เพื่อทดแทนวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่มีราคาสูงเหล่านี้ เพื่อลดต้นทุนการผลิต การนำของเสียจากฟาร์มเลี้ยงไก่ เช่น ไข่ตายโคม ลูกไก่คัดทิ้ง จึงเป็นทางเลือกหนึ่งของผู้ประกอบการทำฟาร์มเลี้ยงสัตว์ โดยการนำของเสียเหล่านี้มาใช้เป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ ซึ่งจะช่วยให้ของเสียภายในฟาร์มเลี้ยงสัตว์ลดลง และราคาค่าวัตถุดิบอาหารลดลง

การปนเปื้อนในเนื้อสัตว์ส่วนใหญ่มาจากภายนอก โดยปนเปื้อนไปในช่วงการฆ่าและการชำแหละรวมถึงการจำหน่าย ในระหว่างการฆ่าและการชำแหละ แหล่งของจุลินทรีย์ส่วนใหญ่มาจากผิวหนังของสัตว์ เช่น ขน หนัง กีบเท้า และมาจากทางเดินอาหารของสัตว์

อันตรายที่เกิดจากเชื้อซัลโมเนลลาจะก่อให้เกิดโรกระบบทางเดินอาหารเช่น อาเจียน ท้องเสีย อาจมีโลหิตปนด้วยและอาจรุนแรงถึงขั้นโลหิตเป็นพิษ

อนุชาและวิชัย (2541) พบว่าปริมาณของเสียส่วนใหญ่จะอยู่ในภาคเกิดลูกไก่ ซึ่งได้แก่ ไข่ตายโคม เศษเปลือกไข่ และลูกไก่คัดทิ้ง คิดเป็น 3.00 , 6.96 และ 0.25 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนัก ไข่ที่นำเข้าไปทั้งหมดหรือมีน้ำหนักเฉลี่ย 44.72 , 44.3 และ 39.00 กรัม/หน่วย ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่าของเสียที่เกิดขึ้นมีปริมาณที่มาก โดยเฉพาะถ้าเป็นของเสียที่เกิดจากฟาร์มขนาดใหญ่ ปริมาณของเสียก็จะมีมาก การที่จะกำจัดของเสียเหล่านี้จึงเป็นไปได้ยาก การที่จะนำของเสียเหล่านั้นมากลับมาใช้เพื่อให้เกิดประโยชน์จึงเป็นการดีกว่า และของเสียเหล่านี้ ได้แก่ ไข่ตายโคม เศษเปลือกไข่ และลูกไก่คัดทิ้ง มีสารอาหารจำนวนมากอันได้แก่ โปรตีนที่ได้จากเนื้อไก่และขนไก่ แร่ธาตุต่าง ๆ ที่ได้จากเปลือกไข่และกระดูก จึงทำให้คิดว่าน่าจะนำมาใช้แทนวัตถุดิบ

อาหารสัตว์ต่าง ๆ ที่เป็นแหล่งแร่ธาตุและแหล่งโปรตีนได้ ดังนั้นงานทดลองนี้จึงได้นำลูกไก่คัดทิ้งหมักมาศึกษาว่ามีเชื้อซัลโมเนลลาปนเปื้อนหรือไม่ เพื่อความปลอดภัยต่อสัตว์และผู้บริโภค

### วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์รวมในลูกไก่คัดทิ้งหมักด้วยกรด
2. เพื่อตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาในลูกไก่คัดทิ้งหมักด้วยกรด
3. เพื่อเป็นแนวทางในการใช้เป็นอาหารสัตว์ต่อไป

### ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทำให้ทราบว่ากรดชนิดต่าง ๆ มีผลต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์รวมและการเจริญของเชื้อซัลโมเนลลาที่มีอยู่ในลูกไก่คัดทิ้งหมักในระยะเวลาต่าง ๆ กันเพื่อใช้เป็นแนวทางในการตัดสินใจในการนำไปผลิตเป็นอาหารสัตว์ต่อไป



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### การตรวจเอกสาร

จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนไปในเนื้อส่วนใหญ่มาจากภายนอก โดยปนเปื้อนไปในระหว่างการฆ่าและการชำแหละรวมถึงการจำหน่าย ในระหว่างการฆ่าและการชำแหละ แหล่งของจุลินทรีย์ส่วนใหญ่มาจากผิวหนังของสัตว์ เช่น ขน หน้ กีบเท้า และมาจากทางเดินอาหารของสัตว์ (วิลาวุธ, 2537) อากาศเป็นแหล่งแพร่กระจายทั้งสารเคมีที่เป็นมลพิษ เศษซากพืช ขนสัตว์ เกสรพืช สาหร่าย โปรโตซัว แบคทีเรีย ยีสต์ สปอร์ของรา และไวรัส ดังนั้น อาหารก็จะถูกปนเปื้อนด้วยสิ่งเหล่านี้หากไม่ปิดอาหารไว้อย่างมิดชิด (สาขาวิชาคหกรรมศาสตร์, 2539) จุลินทรีย์ที่ตรวจพบในอากาศส่วนใหญ่จะเป็นสปอร์ของรา และในอากาศยังมียีสต์อยู่ด้วยแต่จำนวนน้อยกว่าสปอร์ของรา การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในอาหารจากน้ำเสียมักพบว่า มี Salmonella เป็นจำนวนมาก การบำบัดน้ำเสียอาจลดจำนวน Salmonella ลงได้ถึงร้อยละ 90 แต่ยังคงพบว่ามี Salmonella หลงเหลืออยู่ในน้ำทิ้งและตะกอน (สาขาวิชาคหกรรมศาสตร์, 2539) แหล่งเชื้อโรคของคน เช่น Salmonella อยู่ในลำไส้ของสัตว์ เช่นเดียวกับคน จึงเป็นไปได้ที่จุลินทรีย์ทั้งหลายสามารถผ่านจากลำไส้ไปยังอวัยวะและเนื้อเยื่ออื่น ๆ ได้ (สาขาวิชาคหกรรมศาสตร์, 2539) จุลินทรีย์ที่พบตามพื้นผิวของอาหารสด ตามปกติภายในเนื้อเยื่อของพืชและสัตว์ที่มีสุขภาพดีจะปราศจากจุลินทรีย์ (sterile) แต่อย่างไรก็ตามผิวหนังของผักและเนื้อสดที่เป็นวัตถุดิบมักจะปนเปื้อนด้วยจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ซึ่งอาจเนื่องมาจากสิ่งต่อไปนี้คือ สภาพแวดล้อมของวัตถุดิบ วิธีการของผู้ผลิต ระยะเวลาและสภาพการเก็บรักษาของวัตถุดิบ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องควบคุมให้จุลินทรีย์ของวัตถุดิบเหล่านี้อยู่ในระดับต่ำ การมีจุลินทรีย์ในปริมาณสูงชี้ให้เห็นว่ามีเหตุการณ์ที่ไม่พึงประสงค์เกิดขึ้น และอาหารนั้นจะถูกทำลายหรือเกิดความเสียหายได้ง่าย (บุญสง, 2529)

แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับอาหารเนื้อ ถ้าเป็นพวกที่ทำให้เกิดการเจ็บป่วยหลังการบริโภค อาจจะมาจกสัตว์ที่เป็นโรค หรืออาจมาจากการปนเปื้อนของเนื้อจากสัตว์ที่สมบูรณ์และเนื้อที่มาจากสัตว์ที่เป็นโรค จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคในสัตว์และสามารถติดต่อมาถึงคน ได้แก่ แบคทีเรียพวก Brucella, Salmonella, Streptococcus และ Mycobacterium จุลินทรีย์พวกนี้จะมีอยู่กับเนื้อ โดยไม่ทำให้เกิดการเน่าเสียของเนื้อสัตว์ก่อนบริโภค (สาขาวิชาคหกรรมศาสตร์, 2539)

จุลินทรีย์ที่พบไปในเนื้อมีมากมายหลายชนิด ทั้งแบคทีเรีย รา และยีสต์ แบคทีเรียที่พบในเนื้อสัตว์ส่วนใหญ่เป็นพวกแกรมบวก ที่พบบ่อย ได้แก่ Micrococcus นอกจากนี้ ได้แก่ Corynebacterium, Staphylococcus, Bacillus และ Lactobacillus ส่วนแบคทีเรียแกรมลบ

ที่พบมาก ได้แก่ *Escherichia coli* นอกจากนี้ได้แก่ *Pseudomonas* และ *Acinetobacter* ( วิชาวิทย์ , 2537 )

ที่ผิวนอกของปลาจะพบแบคทีเรีย  $10^2 - 10^3$  เซลล์ต่อตารางเซนติเมตร และที่ลำไส้จะมีระหว่าง  $10^4 - 10^7$  เซลล์ต่อกรัม จุลินทรีย์นี้จะสะท้อนถึงสภาพแวดล้อมที่ปลาอาศัยอยู่ ( สาขาวิชาคหกรรมศาสตร์ , 2539 ) ปกติเนื้อสัตว์ที่ถูกฆ่าแล้วนำมาแช่เย็นจะมีจุลินทรีย์เฉพาะพื้นผิวเท่านั้น ส่วนภายในเนื้อเยื่อจะปราศจากเชื้อ เนื้อสดจะถูกหั่นด้วยมีดหรือเลื่อย สภาพดังกล่าวทำให้มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ต่อเนื้อเยื่อเพิ่มขึ้น จุลินทรีย์ที่พบบ่อยในเนื้อสด คือ แบคทีเรียพวก *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Enterococci* และ *coliform bacteria* (บัญญัติ ,2534)

เหตุที่เนื้อปลามีสารอาหารและ pH ที่เหมาะสำหรับการเจริญของแบคทีเรีย จึงทำให้แบคทีเรียเจริญได้เป็นอย่างดี เป็นผลให้เกิดการเน่าเสียอย่างรวดเร็ว ตามปกติในสัตว์ที่ตายจะเกิดระยะที่เรียกว่า rigor mortis ซึ่งเป็นช่วงที่เกิดการเกร็งของกล้ามเนื้อทำให้เนื้อสัตว์มีความแข็งแรงและ เหนียวจึงเกิดการย่อยสลายตัวเองหรือย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์ได้ยากมาก ดังนั้นในเนื้อสัตว์ที่มีระยะ rigor mortis ยาวจะเน่าเสียช้ากว่าเนื้อสัตว์ที่มีระยะ rigor mortis สั้นกว่า เช่น เนื้อปลามีระยะ rigor mortis สั้นกว่าเนื้อวัวและควาย จึงเน่าเสียได้รวดเร็วกว่า (บัญญัติ, 2534)

เปิดไก่ที่จะนำมาชำแหละ ปกติจะมีแบคทีเรียที่มีอยู่เป็นประจำตามผิวหนังของไก่อยู่แล้ว ดังนั้นวิธีการฆ่า การถอนขน การชำแหละจะต้องมีสภาพทางสุขาภิบาลที่ดี ปริมาณแบคทีเรียที่มีรายงานพบว่าอยู่ระหว่าง 100 ถึง 1,000 เซลล์ต่อตารางเซนติเมตรของผิวหนังไก่ ถ้าการสุขาภิบาลไม่ดี ปริมาณเชื้อจะเพิ่มสูงกว่านี้อาจถึง 100 เท่าหรือมากกว่า ( บัญญัติ ,2534 )

แหล่งสำคัญในการปนเปื้อนของจุลินทรีย์สำหรับเนื้อพวกสัตว์ปีก เหมือนกับในเนื้อสัตว์ในอดีตเนื้อสัตว์ปีกและไข่จัดว่าเป็นแหล่งสำคัญของแบคทีเรียของพวก *Salmonella* เพราะสัตว์ปีกพวกไก่และเป็ด ได้รับเชื้อแบคทีเรียนี้จากอาหารที่ไ้เลี้ยงโดยเฉพาะจากเศษเนื้อและปลาปน นอกจาก *Salmonella* จุลินทรีย์ที่พบและมีบทบาทสำคัญในเนื้อสัตว์ปีก ได้แก่ *Pseudomonas*, *Mycococcus*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Proteus*, *Bacillus*, *Sarcina*, *Escherichia*, *Streptomyces*, *Penicillin* และ *Rhodotorula* ( สาขาวิชาคหกรรมศาสตร์ , 2539 )

Gray *et al.*, (1984) ;Hawa *et al.*, (1984) พบว่าเชื้อ *Salmonella* จากเนื้อไก่แช่แข็งเป็นสาเหตุสำคัญที่สุดที่ก่อให้เกิดโรค *Salmonellosis* ในคน

ในเปิดหรือไก่ที่มีสุขภาพสมบูรณ์แข็งแรง จะพบแบคทีเรียในอวัยวะสืบพันธุ์น้อยมาก เช่น *Micrococcus* และ *Lactobacillus* จะอยู่ตามท่อนำไข่หรือรังไข่ และที่รังไข่จะมีแบคทีเรียมาก

กว่าท่อน้ำไข่ เนื่องจากที่ท่อน้ำไข่มีการสร้างไข่ขาวที่ประกอบด้วยโปรตีนบางชนิดที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ ส่วนที่ช่องคลอดและมดลูกจะพบ Coliformbacteria และ Enterococci และที่ทวารหนักจะพบ *E. coli*, Micrococcus และ Enterococcus สำหรับเชื้อโรคที่พบในไข่มีหลายชนิด ได้แก่ *Salmonella pullorum*, *S. typhimurium*, *S. enteritidis*, *S. Thompson*, *S. schottmuelleri*, Mycobacterium และ Pleuropneumonia – like organism (PPLO) (บัญญัติ, 2534)

แบคทีเรียที่พบในผลิตภัณฑ์ของสัตว์ปีกที่สำคัญ ได้แก่ สกุล Enterobacter, Alcaligenes, Escherichia, Bacillus, Flavobacterium, Micrococcus, Paracolobacterium, Proteus, Pseudomonas, Staphylococcus, Corynebacterium และ Salmonella นอกจากนี้อาจพบยีสต์อีกด้วย ได้แก่ Trichosporon, Torulopsis, Candida และ Rhodotorula (สุขใจ, 2535)

เมื่อไข่ออกจากแม่ไก่จะปลอดจากเชื้อ แต่แบคทีเรียบางชนิดอาจมีอยู่ในตัวแม่ไก่อยู่แล้ว เช่น Salmonella และไวรัสของสัตว์ปีกอาจบุกรุกเข้าไปในรังไข่ของแม่ไก่ แล้วเข้าไปปนเปื้อนกับไข่แดงก่อนที่จะก่อเป็นไข่ (สาขาวิชาคหกรรมศาสตร์, 2539) จุลินทรีย์บางพวกโดยเฉพาะแบคทีเรียและเชื้อราอาจจะผ่านเปลือกไข่เข้าไปได้ เมื่อนวลหรือชั้นโปรตีนบาง ๆ ที่เคลือบเปลือกไข่ถูกทำลาย ชนิดของจุลินทรีย์ที่ตรวจพบมักเป็นจุลินทรีย์ที่มักพบโดยทั่วไปในสิ่งแวดล้อมที่พบมากที่สุดมักเป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปร่างกลมและท่อน ซึ่งไม่ทำให้ไข่เน่า และพบแบคทีเรียรูปท่อนแกรมลบสองสามชนิด ซึ่งบางชนิดทำให้ไข่เน่าได้ (บัญญัติ, 2534)

Avidin เป็นโปรตีนที่จะไปรวมตัวกับไบโอตินทำให้จุลินทรีย์ที่ต้องการไบโอตินไม่สามารถเจริญได้ แต่แบคทีเรียบางชนิดที่สามารถสังเคราะห์ไบโอตินได้ เช่น *Salmonella enteritidis*, *Serratia marcescens* และ *Proteus vulgaris* จะเจริญได้ตามปกติ (บัญญัติ, 2534)

มีการศึกษาสภาวะต่าง ๆ ของไข่ขาวที่มีผลต่อความต้านทานต่อ *E. coli*, Pseudomonas, และ Salmonella พบว่าการดื่มน้ำออกจากโมเลกุลของไข่ขาวจะทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ Salmonella เพิ่มขึ้น ถ้าเติมน้ำในไข่ขาวจะทำให้ Pseudomonas เจริญอย่างรวดเร็ว แต่ไม่มีผลต่อ *E. coli* และ Salmonella (บัญญัติ, 2534)

โรคติดต่อที่เกิดจากไข่เป็นพาหะที่สำคัญ ได้แก่ Salmonellosis ที่เกิดจาก Salmonella หลายชนิด ได้แก่ *S. pullorum*, *S. typhimurium*, *S. gallinarum*, *S. infantis*, *S. possdam*, *S. thomson* และ *S. schottmuelleri* (บัญญัติ, 2534)

Foster et al., (1970) กล่าวว่าเชื้อ Salmonella เมื่ออยู่ในร่างกายสัตว์แล้วสัตว์ไม่แสดงอาการเป็น โรคแต่จะเป็นพาหะของโรคโดยจะขับอุจจาระที่มีเชื้อนี้ออกมาเมื่อถ่ายทอดไปสู่คนทำ

ให้คนแสดงอาการของโรคที่รุนแรงได้ นอกจากนี้ยังอาจได้รับเชื้อทางอ้อมจากอาหารที่ผ่านการปรุงไม่ถูกสุขลักษณะ ถ้าสัตว์ได้รับเชื้อเข้าไปสัตว์อาจเป็นพาหะนำเชื้อซัลโมเนลลาไปสู่มนุษย์ทำให้เกิดโรค salmonosis ขึ้นได้ (Robert *et al.*, 1981.)

แมลงเป็นสิ่งสำคัญมาก โดยเป็นตัวนำเชื้อโรค ซึ่งจะเกาะติดตามขน ขา และ ปีกของแมลง แมลงเป็นพาหะของเชื้อ Salmonella, Shigella, Vibrio, Escherichia และอื่น ๆ ที่เป็นสาเหตุการเสี่ยของอาหาร ( สาขาวิชาคหกรรมศาสตร์ , 2539 )

มีรายงานเกี่ยวกับการศึกษาแยกเชื้อ Salmonella จากสัตว์ที่เป็นพาหะนำเชื้อมาปนเปื้อนอาหาร ได้แก่ จิ้งจกและแมลงสาบพบอัตราการปนเปื้อนถึงร้อยละ 10.7 และ 4.17 ตามลำดับ ( อรุณและคณะ, 2532; ทักษิณา และคณะ, 2531 )

เชื้อที่พบปะปนมากในน้ำ เบ็ด ไก่ หมู และผลิตภัณฑ์ของหมู ฯลฯ ได้แก่ *S. enteritidis*, *S. typhimurium*, *S. paratyphi*, *S. choleraesuis*, *S. hischfeldii* และ *S. schotmuelleri* นอกจากนี้ยังพบจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของโรคในระบบทางเดินอาหารอื่น ๆ อีก เช่น อหิวาตกโรค (*Vibrio cholerae*) โรค Shigellosis เกิดจาก *Shigella dysenteise*, *S. flexneri*, *S. ambigua*, *S. alkalescens*, *S. boydii* โรคอุจจาระร่วงจากเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* ซึ่งพบในอาหารทะเลและโรค amoebiasis ที่เกิดจาก *Entamoeba histolytica* เป็นต้น ( บัญญัติ ,2534 )

อาหารโดยทั่วไปจะมีแบคทีเรียต่าง ๆ ปะปนอยู่ด้วยหลายชนิด โดยเฉพาะแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ เช่น *Vibrio parahaemolyticus*, *Salmonella spp.* และมีรายงานว่าแบคทีเรียเหล่านี้เป็นสาเหตุของโรคอุจจาระร่วง (บัญญัติ, 2534)

น้ำนมอาจถือได้ว่าเป็นอาหารที่สมบูรณ์แบบของมนุษย์อย่างหนึ่ง เพราะประกอบด้วย โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน เกลือแร่ วิตามิน และน้ำ ดังนั้นน้ำนมจึงเหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ด้วย (บัญญัติ, 2534) การรีดนมด้วยเทคนิคปราศจากเชื้อ (aseptic technique) ก็ยังพบจุลินทรีย์ 500 - 5,000 เซลล์ต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ชนิดของจุลินทรีย์ที่พบมาก ได้แก่ *Staphylococcus*, *Mycoccus*, *Corynebacterium* ( สาขาวิชาคหกรรมศาสตร์, 2539 ) สำหรับแบคทีเรียที่ตรวจพบในน้ำนมบ่อย ๆ คือ *Streptococci*, *Lactobacilli*, *Coliform bacteria*, *Bacilli*, *Pseudomonas* รวมไปถึงเชื้อมัย-โคแบคทีเรีย (บัญญัติ, 2534)

จุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตในช่วงอุณหภูมิซึ่งกว้างมาก จากอุณหภูมิที่ต่ำมากซึ่งเป็นลักษณะของพวก psychrophile จนถึงพวกที่เจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิซึ่งสูงมากซึ่งเป็นลักษณะของพวก thermophile จุลินทรีย์ทุกหมู่เหล่านี้มีอุณหภูมิที่เหมาะสม อุณหภูมิต่ำสุดและอุณหภูมิสูงสุดที่อาจเจริญเติบโตได้ อุณหภูมิซึ่งสูงกว่าอุณหภูมิสูงสุดที่จุลินทรีย์อาจเจริญเติบโตได้โดยทั่ว

ไปจะทำลายจุลินทรีย์ ส่วนอุณหภูมิซึ่งต่ำกว่าอุณหภูมิต่ำสุดที่จุลินทรีย์อาจเจริญเติบโตได้ โดยปกติจะทำให้จุลินทรีย์หยุดนิ่ง ( ยับยั้งเมแทบอลิซึม ) และอาจหมายถึงการเก็บรักษาชีวิตของจุลินทรีย์ ( บัญญัติ , 2534 )

Mesophilic bacteria เป็นแบคทีเรียที่มีอุณหภูมิเหมาะสมในการเจริญอยู่ปานกลาง ประมาณ 25 – 40 องศาเซลเซียส แบคทีเรียเหล่านี้ ได้แก่ พวกที่ทำให้เกิดโรคกับมนุษย์ เช่น *Neisseria gonorrhoeae*, *Treponema pallidum*, *Salmonella typhosa*, *Shigella dysenteriae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* ฯลฯ หรือพวกที่มีถิ่นอาศัยในร่างกายมนุษย์ เช่น *E. coli*, *Enterobacter aerogenes* ฯลฯ ( บัญญัติ , 2534 )

แบคทีเรียบางชนิดสามารถปรับตัวให้เจริญในที่ที่มีอุณหภูมิสูงหรือต่ำกว่าที่เคยดำรงชีวิตตามปกติ เช่น *E. coli* และ *Enterobacter aerogenes* ซึ่งเป็น mesophilic bacteria แต่สามารถปรับตัวให้ดำรงชีวิตอยู่ได้ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียสเป็นเวลานาน จึงเรียกแบคทีเรียนี้ว่า psychrotrophic bacteria แบคทีเรียบางชนิด เช่น *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Actinomyces* ฯลฯ ไม่ใช่ thermophilic bacteria แต่สามารถปรับตัวให้เจริญได้ที่อุณหภูมิสูงกว่า 50 องศาเซลเซียสจึงเรียกว่า thermotrophic bacteria ( บัญญัติ , 2534 )

แร่ธาตุบางชนิดโดยเฉพาะพวกเกลืออนินทรีย์ต่าง ๆ นอกจากจะใช้เพื่อการเจริญของแบคทีเรียบางชนิดได้อีกด้วย เนื่องจากแบคทีเรียเมื่อเจริญในที่ที่มีเกลืออนินทรีย์บางชนิดแล้วให้สีแตกต่างกันไป เช่น ถ้าเจริญในที่ที่มี selenite จะเปลี่ยนเป็น selenium และให้สีแดงใช้วิเคราะห์ *Salmonella* และ *Shigella* หรือถ้าเจริญในที่ที่มี tellurite จะเปลี่ยนเป็น tellurium และให้สีดำใช้วิเคราะห์ *Vibrio cholerae* และ *Corynebacterium diphtheriae* เป็นต้น ( บัญญัติ , 2534 )

อากาศเป็นของผสมจะมีก๊าซไนโตรเจน 78 เปอร์เซ็นต์ ออกซิเจน 20 เปอร์เซ็นต์ และคาร์บอนไดออกไซด์ 0.03 เปอร์เซ็นต์ ก๊าซทั้งสามชนิดนี้จะมีความสำคัญต่อการเจริญของจุลินทรีย์อย่างยิ่ง เช่น *Rhizobium* จะใช้ก๊าซไนโตรเจนจากอากาศในกระบวนการตรึงไนโตรเจนขณะอยู่ที่ปมรากพืชตระกูลถั่ว *Azotobacter* จะใช้ก๊าซไนโตรเจนจากอากาศในกระบวนการตรึงไนโตรเจนขณะดำรงชีวิตเป็นอิสระในดิน photosynthetic bacteria จะใช้คาร์บอนไดออกไซด์ในกระบวนการสังเคราะห์แสง ส่วน aerobic bacteria ต้องการออกซิเจนไปใช้ในการสร้างพลังงานแบบ oxidative phosphorylation ( บัญญัติ , 2534 )

แบคทีเรียแต่ละชนิดเมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมจะมี generation time สั้นที่สุด และเวลาที่ใช้ในแต่ละ generation time ของแบคทีเรียจะแตกต่างกันไป เช่น *E. coli* ใช้เวลาใน

การแบ่งเซลล์แต่ละครั้งประมาณ 20 นาที *Mycobacterium tuberculosis* ใช้เวลา 360 นาที *Nitrobacter agilis* ใช้เวลา 1,200 นาที ส่วน *Vibrio marinus* ใช้เวลา 81 นาที (บัญญัติ, 2534)

Zobell et al., (1979) อ้างโดยบัญญัติ (2534) พบว่า แบคทีเรียทั้งพวกที่สร้างสปอร์และไม่สร้างสปอร์ ไม่สามารถเจริญในอาหารเหลวซึ่งอยู่ในที่มีแรงดัน 2,940 – 8,820 ปอนด์ต่อตารางนิ้วได้ และแบคทีเรียในทะเลมีความทนต่อแรงดันได้มากกว่าแบคทีเรียในน้ำจืดหรือในอากาศ นอกจากนี้ยังพบว่าแรงดันมีผลต่อรูปร่างการเคลื่อนที่และการแบ่งเซลล์ เช่น แบคทีเรียที่อยู่บนบกสามารถเจริญและแบ่งเซลล์ได้อย่างรวดเร็วภายใน 48 ชั่วโมงเมื่อใช้ความดันปกติของบรรยากาศ ( 14.7 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ) แต่เมื่อนำไปเลี้ยงในที่มีความดันสูง ๆ ทำให้แบคทีเรียบางชนิดเปลี่ยนแปลงสภาพจากเคลื่อนที่เป็นไม่เคลื่อนที่ได้

แบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค เช่น วัณโรค บรูเซลโลซิส ( brucellosis ) แมสไตติส ( mastitis ) เชื้อพวกนี้มีอยู่ในวัวที่ป่วยเป็นโรคและอาจติดต่อมาสู่มนุษย์ได้ นอกจากนี้ยังมีเชื้อที่ทำให้เกิดโรคไทฟอยด์ คอติบ ท้องเดิน ( บุญส่ง , 2529 )

จุลินทรีย์แต่ละชนิดต้องการสภาพแวดล้อมในการเจริญที่แตกต่างกันได้ถ้าหากต้องการเพาะเลี้ยงให้จุลินทรีย์เจริญอย่างรวดเร็วก็จะต้องจัดสภาพแวดล้อมให้เหมาะสม ในทางตรงกันข้าม ถ้าหากจะลดอัตราการเจริญของจุลินทรีย์ก็จัดสภาพแวดล้อมให้ผิดปกติออกไป ซึ่งการกระทำนี้จะนำมาใช้ในการควบคุมจุลินทรีย์ต่อไป ( บัญญัติ , 2534 )

ฟอร์มาลดีไฮด์ที่แตกตัวออกมาจากกรดกรดอินทรีย์ในการทำลายแบคทีเรียจำพวกเบตาแบคทีเรีย และจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย ตลอดจนแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค ซึ่งฟอร์มาลดีไฮด์จะไปทำปฏิกิริยากับโปรตีน จะทำให้เนื้อปลามีลักษณะแข็งขึ้น ฉะนั้นถ้าเติมกรดมากหรือเก็บผลิตภัณฑ์นานเกินไป จะทำให้ลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ไม่เป็นที่ต้องการ ฟอร์มาลดีไฮด์ที่สลายตัวออกมาจากกรดในสภาพที่เป็นกรดจะเป็นสารที่มีฤทธิ์ในการทำลายจุลินทรีย์ ฉะนั้นถ้าผลิตภัณฑ์อาหารมีสภาพเป็นกรดมาก จะทำให้ฟอร์มาลดีไฮด์มากและจะทำให้มีความสามารถต่อต้านจุลินทรีย์มากขึ้น ( ตูมาลี , 2541 )

กรดโพทิโอนิกที่ใช้ในอุตสาหกรรม จะอยู่ในรูปโซเดียมและแคลเซียมโพทิโอเนต ชื่อการค้าที่รู้จักกันทั่วไปในชื่อไมคอบานและโมลาเจน (กุลยา, 2533)

กรดโพทิโอนิก มีน้ำหนักโมเลกุล 74.08 ถ้าเป็นสารบริสุทธิ์จะไม่มีสี มีกลิ่นฉุน ละลายน้ำได้ดี มีจุดเดือด 141°C โซเดียมโพทิโอเนตและแคลเซียมโพทิโอเนต มีน้ำหนักโมเลกุล 96.06 และ 186.22 ตามลำดับ มีสีขาวละลายน้ำได้เล็กน้อย มีกลิ่นเหม็นกับกลิ่นของกรดโพทิโอนิก (กุลยา, 2533)

กรดไพรูวิกเป็นกรดที่ไม่แตกตัว จะไปยับยั้งการใช้สารอาหารของจุลินทรีย์ สารประกอบนี้ถ้าประกอบด้วยคาร์บอนน้อยกว่า 7 ตัวจะให้ผลในการป้องกันได้ดีที่ pH ต่ำ และ เกลีสขอเบตสามารถยับยั้งการเจริญของ *Samonella spp.* (สุมาลี ,2541)

กรดอินทรีย์ที่นิยมใช้ในการหมัก ได้แก่ กรดฟอร์มิก และกรดไพรูวิก ซึ่งการใช้กรดอินทรีย์นั้นสามารถเก็บรักษาวัตถุดิบไว้ในสภาพความเป็นกรด-ด่างที่สูงกว่าได้ โดยไม่จำเป็นต้องทำให้อยู่ในสภาพที่เป็นกลางก่อนนำไปเลี้ยงสัตว์ (Green et al.,1983)

เมื่อใช้กรดฟอร์มิก ผสมกับหญ้าพืชอาหารสัตว์ที่จะใช้ทำอาหารหมัก ประมาณ 0.4 เปอร์เซ็นต์ สามารถเพิ่มคุณภาพของอาหารหมักได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้การใช้ข้าวโพดทำอาหารหมักนั้น ควรตัดระยะที่ข้าวโพดมีเมล็ดเต็มฝักแล้ว แต่เมล็ดยังไม่แก่ และถ้าจะให้ได้อาหารหมักที่มีคุณภาพดีที่สุด ต้องผสมกรดฟอร์มิกลงไป ประมาณ 1 เปอร์เซ็นต์ (Takano, 1972)

กรดฟอร์มิกมีความเหมาะสม และมีประสิทธิภาพดีกว่ากรดชนิดอื่น ๆ คือ มีความสามารถในการทำให้เกิดเมแทโบไลต์ในลำไส้ของปลาได้เป็นอย่างดี และยังพบว่า กรดอินทรีย์ที่นิยมใช้ คือ กรดฟอร์มิก ให้ใช้เพียงตัวเดียวในการหมักปลา เพราะกรดฟอร์มิกกัดภาชนะน้อยกว่ากรดอินทรีย์ และกรดฟอร์มิกยังมีคุณสมบัติเป็นตัวป้องกันการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้เป็นอย่างดี (Borgstrom, 1962)

เกลีสขอเบตสามารถใช้เป็นสารต่อต้านจุลินทรีย์จำพวกที่ทำให้เกิดพิษในอาหารได้ เช่น *Clostridium botulinum*, *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella spp.* (สุมาลี, 2541)

ปริมาณต่ำที่สุดของกรดไฮโดรอะซิติกที่มีต่อ *Salmonella typhosa* คือ 1 : 2,000 ส่วน ปริมาณของกรดอะซิติกที่ยับยั้งการเจริญของ *Salmonella aertryke* คือ 0.04 % ที่ pH 4.9 ค่าความเข้มข้นต่ำของกรดซอร์บิกที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Salmonell sp.* คือ 50 – 1,000 ที่ pH 5.0 – 5.3

เทคนิคการเพิ่มปริมาณเชื้อ ( Enrichment culture technique )

จุลินทรีย์และแบคทีเรียต่างมีจำนวนมากมายและเจริญปะปนกัน การแยกเชื้อให้บริสุทธิ์จึงทำได้โดยการจัดสภาพแวดล้อมให้เหมาะสม โดยเฉพาะด้านอาหารในอาหารเลี้ยงเชื้อต้องใส่สารบางอย่างเพื่อเร่งการเจริญของแบคทีเรียที่ต้องการ ( บัญญัติ ,2534 )

อาหารเลี้ยงเชื้อสามารถจำแนกได้เป็น 2 ชนิด ใหญ่ ๆ

1. อาหารเลี้ยงเชื้อจำแนกตามส่วนประกอบของอาหาร
  - 1.1 synthetic media เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ทราบส่วนประกอบทางเคมีแน่นอน
  - 1.2 non synthetic media เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ทราบส่วนประกอบทางเคมีแน่นอน
2. อาหารเลี้ยงเชื้อจำแนกตามประโยชน์ที่ใช้
  - 2.1 transport media เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เก็บรักษาแบคทีเรียหรือจุลินทรีย์ในสิ่งส่งตรวจไว้ชั่วคราวก่อนที่จะนำส่งตรวจเหล่านี้ไปวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ
  - 2.2 enrichment media เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้แยกจุลินทรีย์ชนิดใดชนิดหนึ่งที่เจริญปะปนอยู่กับจุลินทรีย์อื่น ๆ อาหารเลี้ยงเชื้อประกอบด้วยสารอาหารที่จุลินทรีย์ใช้ในการเจริญและที่จำเป็นและยังมีสารบางชนิดที่กระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์ที่ต้องการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ เช่น selenite broth เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ Salmonella ที่ดี เนื่องจากมี sodium selenite ใช้ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียลำไส้อื่น ๆ แต่จะกระตุ้นการเจริญของ Sallmonella ดังนั้นถ้าต้องการวิเคราะห์ Salmonella ที่ปนเปื้อนมากับอุจจาระก็นำสารละลายของอุจจาระมาเพาะเลี้ยงใน selenite broth เชื้อที่เจริญได้ก็คือ Salmonella
  - 2.3 selective media เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้แยกจุลินทรีย์ที่ต้องการออกจากจุลินทรีย์อื่น ๆ ดังนั้นในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดนี้จึงต้องใส่สารเคมีบางอย่างเพื่อยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ ส่วนจุลินทรีย์ที่เจริญได้จึงเป็นชนิดที่ต้องการนำมาศึกษาและการเจริญของจุลินทรีย์เหล่านี้เป็นไปอย่างปกติเนื่องจากไม่มีสารกระตุ้นการเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ เช่น ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MacConkey's agar และ eosin methylene blue ( EMB ) agar จะประกอบด้วยสีบางชนิดที่ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกได้ดี ส่วนแบคทีเรียที่เจริญได้จะเป็นแบคทีเรียแกรมลบ ( บัญญัติ ,2534 ) สามารถลดจำนวนแบคทีเรียโดยทั่วไปที่อาจมีการปนเปื้อนอยู่ในตัวอย่าง แต่จะสนับสนุนการเจริญของเชื้อ Salmonella ให้เพิ่มมากขึ้น ทั้งนี้เพราะแบคทีเรียทั่วไปเหล่านี้

จะถูกยับยั้งการเจริญโดยสารยับยั้ง(selective agents) ที่มีอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้

- 2.4 differential media เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้แยกจุลินทรีย์ที่เจริญโดยอาศัยความแตกต่างของจุลินทรีย์แต่ละชนิดขณะเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ ในอาหารเลี้ยงเชื้อนี้จะต้องมีสารเคมีบางชนิดที่ใช้เป็นตัวชี้ (indicator) ด้วย เช่น ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MacConkey's agar ประกอบด้วยน้ำตาลแลคโตส สี crystal violet และ neutral red ถ้าหาก pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อลดต่ำกว่า 6.8 จะเปลี่ยนเป็นสีแดง ดังนั้นเมื่อนำไปเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ที่ต้องการศึกษา ถ้าจุลินทรีย์ชนิดใดสามารถเฟอร์เมนต์น้ำตาลแลคโตสได้ก็จะให้กรดออกมา ทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อมี pH ลดลง โคโลนีของจุลินทรีย์ก็จะมีสีแดง ส่วนจุลินทรีย์ชนิดใดที่ไม่เฟอร์เมนต์น้ำตาลแลคโตสก็จะให้โคโลนีไม่มีสี
- 2.5 assay media เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการศึกษาวิจัยเพื่อตรวจสอบสารบางอย่างที่เกิดขึ้นจากเมตาบอลิซึมของจุลินทรีย์
- 2.6 media for enumeration เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้นับจำนวนของจุลินทรีย์ในแหล่งต่าง ๆ
- 2.7 media for characterization เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมขึ้นเพื่อให้จุลินทรีย์เจริญได้ดีมากที่สุด ส่วนมากนิยมใช้ nutrient agar และ nutrient broth ( บัญญัติ, 2534 )

สีเขียว malachite green, brilliant green และ crystal violet จุลินทรีย์แกรมบวกมีความอ่อนไหวต่อสีเหล่านี้มากกว่าจุลินทรีย์แกรมลบ เช่น crystal violet ยับยั้ง cocci แกรมบวกที่ความเจือจาง 1 : 200,000 ถึง 1 : 300,000 แต่ต้องใช้ความเข้มข้นสูงถึง 10 เท่า ในการยับยั้ง *E. coli* ซึ่งเป็นแกรมลบ *Staphylococcus aureus* แกรมบวกถูกยับยั้งโดย malachite green ที่ความเข้มข้น 1 : 1,000,000 แต่ต้องใช้ความเข้มข้นสูงถึง 1 : 30,000 ในการยับยั้ง *E. coli* ( สุพจน์ , 2534 )

*Salmonella* จัดอยู่ใน Family Enterobacteriaceae ซึ่งมีสายพันธุ์ต่างกันมากกว่า 2,000 serotype รูปร่างเป็นท่อน (rod) ไม่มีสปอร์ ติดสีแกรมลบ ส่วนมากมีแฟลกเจลลาแบบรอบเซลล์ (peritrichos) จึงทำให้เคลื่อนที่ได้ ยกเว้น *S. Gallinarum* และ *S. Pullorum* ซึ่งไม่มีแฟลกเจลลา ( วราวุฒิ, 2539 ) สามารถเจริญได้ทั้งในที่ที่มีอากาศและมีอากาศน้อย ( facultative anaerobe ) สามารถเจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อพื้น ๆ โดยทั่วไป สามารถสร้างกรดจากน้ำตาล

กลูโคสและเมนิทอลได้ แต่ไม่สามารถสร้างกรดจากน้ำตาลซูโครส แลคโตส และซอร์บิต ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีฟอสเฟต ไม่สามารถสร้าง indole และไม่สามารถย่อยสลายยูเรีย

Salmonella มีขนาดโดยทั่วไปเท่ากับ  $0.7 - 1.5 \times 2.5$  ไมโครเมตร ส่วนมากมักไม่ทนความร้อน เช่น จะตายเมื่อได้รับความร้อน 55 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง หรือ 50 องศาเซลเซียส นาน 15 - 20 นาที ยกเว้น *S. Senftenberg* 775 W เป็นสายพันธุ์ที่ทนความร้อนได้ดีกว่า Salmonella ทั่วไป ถึง 10 - 20 เท่า เชื้อ Salmonella นี้โดยทั่วไปเจริญได้ในช่วง 5 - 47 องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญคือ 37 องศาเซลเซียส อุณหภูมิต่ำกว่า 5 องศาเซลเซียส สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อนี้ได้ อุณหภูมิแช่แข็งมีผลทำลายเชื่อน้อยมาก ส่วนมากจะป้องกันการเจริญหรือเพิ่มจำนวนของเชื้อเท่านั้น ( วราวุฒิ, 2539 )

เชื้อ Salmonella มีความทนต่อสภาวะที่แห้งแฉะ และทนต่อสารเคมี เช่น Brilliant green, Sodium tetrathionate และ Sodium deoxycholate ซึ่งสารเคมีเหล่านี้สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ coliformbacilli ( บุญทา, 2524 )

The International Commission on Microbiological Specification for Food on the International Union of Biological Societies ( 1996 ) รายงานว่าอุณหภูมิที่เชื้อ Salmonella สามารถเจริญได้ดีคือช่วงอุณหภูมิ 33 - 34 องศาเซลเซียส ค่า pH อยู่ที่ 7 - 7.5 ค่า Water activity ที่ 0.99

Salmonellosis เป็นโรคติดเชื้อในระบบทางเดินอาหารเนื่องจากแบคทีเรีย salmonella โรคนี้มีการติดเชื้อและการแพร่ระบาดเกิดขึ้นบ่อย การระบาดของโรคนี้มีบันทึกมานานแล้ว และการระบาดก็มีเกิดขึ้นในยุคปัจจุบัน

เชื้อsalmonellaที่ทำให้เกิดโรคทางเดินอาหาร ได้แก่ *S. typhimurium*, *S. heidelberg*, *S. enteritidis* และเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคไทฟอยด์ ได้แก่ *S. typhi* ( สาขาวิชาคหกรรมศาสตร์, 2539 )

การบริโภคอาหารที่มีเชื้อ salmonella จำนวนมากจะทำให้เกิดการเจ็บป่วยหลังจากการบริโภคอาหารระหว่าง 6 - 36 ชั่วโมง อาการของโรคจะมีไข้ ปวดศีรษะ ปวดท้อง มีอาการท้องเดินและอาเจียน อาการเจ็บป่วยอาจมีอยู่ 1 - 8 วัน ในผู้ป่วยสูงอายุ คนไข้ และเด็กอ่อน เมื่อติดเชื้ออาจทำให้ถึงตายได้ ( สาขาวิชาคหกรรมศาสตร์, 2539 )

นิยามศักดิ์ และคณะ ( 2525 ) รายงานว่า โรค salmonellosis ในกระป๋องเกิดจากเชื้อ *S. thompson*, *S. agona*, *S. intantis* และ *S. virchow* และเป็นโรคหนึ่งที่ทำให้สูญเสียทางเศรษฐกิจ โดยเฉพาะการตายของลูกกระป๋อง

อาหารที่มักตรวจพบ Salmonella และ Shigella อยู่เสมอ ได้แก่ ไข่ สัตว์ปีกและผลิตภัณฑ์ เนื้อและผลิตภัณฑ์ อาหารทะเลและผลิตภัณฑ์ ( สุมาลี, 2539 )

Salmonella ที่เป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อ Salmonella ในไก่มากที่สุด 5 อันดับแรก คือ *S. pullorum* ( 32 % ), *S. typhimurium* ( 12 % ), *S. java* ( 12 % ), *S. virchow* ( 12 % ) และ *S. derby* ( 12 % ) แต่ *S. typhimurium* เป็นสาเหตุของโรค เชื้อ Salmonella ในสัตว์ปีกทุกชนิดรวมกันคือ 56 % ซึ่งมีผลต่อการส่งออกของไก่ ( วรวิ และคณะ, 2530 )

Silliker et al., (1980) ได้รายงานการปนเปื้อนเชื้อ Salmonella ในผลพลอยได้จากสัตว์พบว่า เนื้อสัตว์ป็นเป็นแหล่งที่พบการปนเปื้อนของเชื้อมากที่สุด อันดับถัดมาเป็น ผลพลอยได้จากสัตว์ปีกคิดเป็นร้อยละ 47.3 และ 33.3 ตามลำดับ ซึ่งถือว่าพบการปนเปื้อนในปริมาณมากที่สุด

เชื้อรูปท่อนที่อยู่ในลำไส้ที่มีความสำคัญในอาหารมาก ได้แก่ *Salmonella sp.* , *Shigella sp.* , *Vibrio sp.* และ *Escherichia sp.* ในบางโอกาสเชื้อเหล่านี้มักเป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อทางเดินอาหาร ทำให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหาร เช่น *Vibrio cholera* ทำให้เกิดอหิวาตกโรค Salmonella ทำให้เกิดโรคไทฟอยด์และโรคท้องร่วง Shigella ทำให้เกิดโรคบิดและ *E. coli* ทำให้เกิดโรคท้องร่วง เป็นต้น เชื้อบางชนิดในบางครั้งมีจำนวนน้อยจนอาจตรวจไม่พบถ้าใช้ตัวอย่างอาหารจำนวนน้อย หรือเชื้อเจริญสู่เชื้อชนิดอื่นที่มีในอาหารไม่ได้ แต่ตามพระราชบัญญัติอาหารได้กำหนดไว้ไม่มีเชื้อดังกล่าวในอาหารเพราะเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคจึงจำเป็นต้องส่งเสริมการเจริญให้เชื้อดังกล่าวมีจำนวนเพิ่มขึ้นเสียก่อน ซึ่งหากมีเชื้ออยู่ก็จะสามารถตรวจพบได้ง่ายขึ้น ( สุมาลี , 2539 )

## อุปกรณ์และวิธีการ

### อุปกรณ์

1. เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อโรคโดยใช้ความดันไอน้ำ (autoclave) ยี่ห้อ All AMERICAN
2. เครื่องบดเนื้อแบบใช้ motor
3. เครื่องชั่งยี่ห้อ Santorius รุ่น BA 610 มีความละเอียด ทศนิยม 2 ตำแหน่ง
4. เครื่องเขย่า ( vortex )
5. ไมโครเวฟ ยี่ห้อ turbor TRX 249 M
6. เครื่อง Laminar flow
7. ตู้บ่มเชื้อ ( incubator )
8. เครื่องนับจำนวนโคโลนี ( colony counter )
9. ตะเกียงแอลกอฮอล์
10. เครื่องต้มอาหาร ( hot plate )
11. บีกเกอร์ 1000 ml
12. ถูพลาสติกใส
13. แท่งแก้ว
14. แท่งแม่เหล็ก
15. pH meter
16. ขวดหมัก
17. หลอดทดลอง
18. จานเลี้ยงเชื้อ ( plate )
19. Falsk ขนาด 500 ml
20. loop และ เข็ม เขี่ยเชื้อ
21. pipette ขนาด 1 ml

### สารเคมี

1. alcohol 70 %
2. Propionic acid 85%
3. Formic acid 85%
4. chlorex

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. โยเดียมคลอไรด์
6. Peptone water
7. อาหารเลี้ยงเชื้อ PCA (Plate Count Agar )
8. อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ( Tryptic Soy Broth )
9. อาหารเลี้ยงเชื้อ TTB ( Tetrathionate Broth base )
10. อาหารเลี้ยงเชื้อ HE ( Hektoen enteric agar )
11. อาหารเลี้ยงเชื้อ XLD ( Xylose Lysine Deoxycholate )
12. อาหารเลี้ยงเชื้อ TSI ( Triple sugar iron agar )
13. อาหารเลี้ยงเชื้อ LIM ( Lysine indole motility )

### วิธีการ

#### 1. การเตรียมลูกไก่คัตทิ้งเพื่อใช้ในการหมัก

นำลูกไก่คัตทิ้งมาบดให้ละเอียดโดยใช้เครื่องบดแบบmoter ให้ละเอียด หลังจากนั้น

นำลูกไก่คัตทิ้งมาแบ่งใส่ขวดหมัก ขวดละ 50 g โดยแบ่งออกเป็น 4 กลุ่มดังนี้

กลุ่มที่ 1 ( T1 ) หมักด้วยสารละลายกรดโพรพิโอนิก ( propionic acid ) 85%  
ในปริมาณ 3.5 % ของน้ำหนักลูกไก่คัตทิ้ง

กลุ่มที่ 2 ( T2 ) หมักด้วยสารละลายกรดฟอร์มิก ( formic acid ) 85% ในปริมาณ  
3.5% ของน้ำหนักลูกไก่คัตทิ้ง

กลุ่มที่ 3 ( T3 ) หมักด้วยสารละลายกรดโพรพิโอนิก ( propionic acid ) 85% ร่วม  
กับสารละลายกรดฟอร์มิก ( formic acid ) 85% ในปริมาณ 3.5% ของน้ำหนักลูกไก่คัต  
ทิ้ง

กลุ่มที่ 4 ( T4 ) เป็นกลุ่มควบคุมไม่มีการเติมกรดลงไป

#### 2. วิธีการคัดแยกเชื้อ *Salmonella spp.* ( วราวูธ, 2539)

2.1 สุ่มตัวอย่างลูกไก่คัตทิ้งปริมาณ 25 g ใส่ลงใน flask ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic  
Soy Broth (TSB) เหย้าให้เข้ากัน

2.2 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

2.3 ให้ pipette ดูดตัวอย่างที่บ่มมา 1 ml ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Tetrathionate  
Broth base (TTB) ที่อยู่ในหลอดทดลอง

- 2.4 นำอาหารเลี้ยงเชื้อ TTB ไปบ่มที่ตู้บ่มอุณหภูมิ 35 –37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 18 – 24 ชั่วโมง
  - 2.5 ใช้ loop จุ่มลงใน อาหารเลี้ยงเชื้อ TTB แล้วมา streak ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) และอาหารเลี้ยงเชื้อ Hektoen enteric agar (HE) ด้วยวิธีการ aseptic technique
  - 2.6 นำอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 2 ไปบ่มที่ตู้บ่มอุณหภูมิ 35 – 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน
  - 2.7 ใช้เข็มเย็บเชื้อเย็บเชื้อที่สงสัย จากอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD และ อาหารเลี้ยงเชื้อ HE โดยวิธีการ aseptic technique
  - 2.8 ใช้เข็มเย็บเชื้อ stab ลงบน อาหารเลี้ยงเชื้อ TSI ให้ถึงก้นหลอด แล้วใช้เข็มเย็บเชื้ออันเดิมปาดเชื้อให้ทั่วหน้าวุ้น
  - 2.9 ใช้เข็มเย็บเชื้ออันเดิม stab ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Lysine Indolt Motility (LIM) ถึงกลางหลอด
  - 2.10 นำไปบ่มที่ตู้บ่มอุณหภูมิ 35 – 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
3. การคัดเลือกและตรวจนับโคโลนี
- 3.1 การตรวจนับจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar (PCA) (สูมาลี, 2539)  
เลือกนับจานเพาะเชื้อที่มีการเกิดโคโลนีแพร่กระจายอย่างสม่ำเสมอ และมีจำนวนระหว่าง 25 – 250 โคโลนี ต่อจานเลี้ยงเชื้อโดยใช้เครื่องนับโคโลนี
  - 3.2 การคัดเลือกและตรวจสอบเชื้อ Salmonella (วรารุฑ, 2539)
    - 3.2.1 การคัดเลือกเชื้อและการตรวจสอบจากอาหาร HE และ XLD  
คัดเลือกเชื้อที่สงสัยว่าเป็น 3 โคโลนีต่อ 1 ลักษณะ ถ้าไม่มี โคโลนีเกิดขึ้นแสดง ว่าไม่มีการเกิดของเชื้อ Salmonella
    - 3.2.2 การตรวจสอบเชื้อจากอาหาร TSI และ LIM  
อาหารเลี้ยงเชื้อ TSI ผิวหน้าอาหารจะมีสีแดง (ชมพูบานเย็น) บริเวณก้นหลอดอาหารมีสีเหลือง มีก๊าซหรืออาจไม่มีก็ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4. แผนการทดลอง

การทดลองหมักลูกไก่คั้ดทั้งด้วยกรด เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ใช้การทดลองแบบแฟคทอเรียล (3 x 7 Factorial in CRD) ซึ่งประกอบด้วย 2 ปัจจัย โดยมีปัจจัยที่หนึ่ง คือ ชนิดของกรดที่ใช้หมัก และปัจจัยที่สอง คือ ระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก โดยแบ่งการทดลองออกกลุ่มละ 4 ซ้ำ

#### 5. การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ ( Analysis of Variance ) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลอง ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS โดยวิธี P-value difference (PDIFF) (อาวุธ , 2542)

#### 6. สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ

#### 7. ระยะเวลาทำการทดลอง

ใช้ระยะเวลาทำการทดลองทั้งสิ้น 7 สัปดาห์ โดยเริ่มทำการทดลองหมักลูกไก่คั้ดทั้งตั้งแต่วันที่ 21 พฤศจิกายน พ.ศ. 2543 สิ้นสุดการทดลองวันที่ 6 มกราคม พ.ศ. 2544

100604

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ผลการทดลอง

### ผลการตรวจนับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดต่างชนิดกัน

จากการทดลอง พบว่า เมื่อเริ่มหมัก (สัปดาห์ที่ 0) จำนวนจุลินทรีย์ที่นับได้จากลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยสารละลายกรดโพธิโอติก 85 เปอร์เซ็นต์ ในปริมาณ 3.5 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักลูกไก่คัดทิ้ง หมักด้วยสารละลายกรดฟอร์มิก 85 เปอร์เซ็นต์ ในปริมาณ 3.5 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักลูกไก่คัดทิ้ง และหมักด้วยสารละลายกรดโพธิโอติก 85 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ สารละลายกรดฟอร์มิก 85 เปอร์เซ็นต์ ในปริมาณ 3.5 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักลูกไก่คัดทิ้ง คือ  $3.26 \times 10^8$  ,  $7.7 \times 10^6$  และ  $2.78 \times 10^5$  โคโลนีต่อกรัม ตามลำดับ ( ตารางที่ 1 ) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ที่ตรวจนับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ได้  $2.28 \times 10^{14}$  โคโลนีต่อกรัม ดังแสดงในพบว่า มีจำนวนจุลินทรีย์ลดลงจากกลุ่มควบคุม แสดงให้เห็นว่า กรดมีผลทำให้เชื้อจุลินทรีย์มีจำนวนลดลง

ในสัปดาห์ที่ 1 จำนวนจุลินทรีย์ที่นับได้จากลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยสารละลายกรดโพธิโอติก กรดฟอร์มิก และกรดโพธิโอติกร่วมกับกรดฟอร์มิก คือ  $7.7 \times 10^7$  ,  $1.96 \times 10^5$  และ  $7.2 \times 10^6$  โคโลนีต่อกรัม ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 1 จะเห็นได้ว่าการใช้กรดฟอร์มิก จะทำให้มีจำนวนจุลินทรีย์เกิดขึ้นน้อยที่สุด เมื่อเทียบกับการใช้กรดโพธิโอติกและกรดฟอร์มิก นอกจากนั้น กลุ่มควบคุมที่ไม่ได้เติมกรด เกิดการเน่าเสียทำให้ไม่สามารถทำการตรวจนับเชื้อจุลินทรีย์ได้

ในสัปดาห์ที่ 2 จำนวนจุลินทรีย์ที่นับได้จากลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยสารละลายกรดโพธิโอติก กรดฟอร์มิก และกรดโพธิโอติกร่วมกับกรดฟอร์มิก คือ  $4.13 \times 10^8$  ,  $2.42 \times 10^9$  และ  $4.57 \times 10^7$  โคโลนีต่อกรัม ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 1 และพบว่าเชื้อจุลินทรีย์มีจำนวนเพิ่มขึ้นจากสัปดาห์ที่ 1 แต่ยังมีน้อยกว่ากลุ่มควบคุมเมื่อเริ่มหมัก

ในสัปดาห์ที่ 3 จำนวนจุลินทรีย์ที่นับได้จากลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยสารละลายกรดโพธิโอติก กรดฟอร์มิก และกรดโพธิโอติกร่วมกับกรดฟอร์มิก คือ  $3.63 \times 10^{10}$  ,  $3.94 \times 10^9$  และ  $4.12 \times 10^7$  โคโลนีต่อกรัม ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 1 จะเห็นได้ว่า เชื้อจุลินทรีย์มีจำนวนเพิ่มขึ้นอีกจากสัปดาห์ที่ 2 ยกเว้น กลุ่มที่หมักด้วยกรดโพธิโอติกร่วมกับกรดฟอร์มิก จะมีจำนวนจุลินทรีย์ ลดลงจากสัปดาห์ที่ 2

ในสัปดาห์ที่ 4 จำนวนจุลินทรีย์ที่นับได้จากลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยสารละลายกรดโพธิโอติก กรดฟอร์มิก และกรดโพธิโอติกร่วมกับกรดฟอร์มิก คือ  $6.37 \times 10^{11}$  ,  $4.48 \times 10^9$  และ

$4.35 \times 10^9$  โคลนีต่อกรัม ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 1 จะพบว่า เชื้อจุลินทรีย์มีจำนวนเพิ่มขึ้นจากสัปดาห์ที่ 3 แต่อย่างน้อยกว่ากลุ่มควบคุมเมื่อเริ่มหมัก และยังพบว่ากลุ่มที่หมักด้วยกรดไพรูวิกอินิกร่วมกับกรดฟอร์มิค มีจำนวนจุลินทรีย์น้อยกว่ากลุ่มที่หมักด้วยกรดไพรูวิกอินิกและกรดฟอร์มิค

ในสัปดาห์ที่ 5 จำนวนจุลินทรีย์ที่นับได้จากลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยสารละลายกรดไพรูวิกอินิก กรดฟอร์มิค และกรดไพรูวิกอินิกร่วมกับกรดฟอร์มิค คือ  $3.29 \times 10^8$  ,  $6.69 \times 10^4$  และ  $3.53 \times 10^5$  โคลนีต่อกรัม ตามลำดับ ( ตารางที่ 1 ) ซึ่งพบว่า เชื้อจุลินทรีย์มีจำนวนลดลงจากสัปดาห์ที่ 4 และพบว่าการใช้กรดฟอร์มิค มีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์เกิดขึ้นน้อยที่สุด เมื่อเทียบกับการใช้กรดไพรูวิกอินิกและกรดไพรูวิกอินิกร่วมกับกรดฟอร์มิค

ตารางที่ 1 แสดงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (colony/g) ที่นับได้ในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยสารละลายกรดไพรูวิกอินิก กรดฟอร์มิค กรดไพรูวิกอินิกร่วมกับกรดฟอร์มิค และกลุ่มควบคุมเป็นเวลา 6 สัปดาห์

สัปดาห์ที่	กลุ่มทดลอง (colony/g)			กลุ่มควบคุม ( ไม่เติมกรด )
	กรดไพรูวิกอินิก	กรดฟอร์มิค	กรดไพรูวิกอินิก ร่วมกับกรดฟอร์มิค	
0	$3.26 \times 10^8$	$7.7 \times 10^6$	$2.78 \times 10^5$	$2.28 \times 10^{14}$
1	$7.7 \times 10^7$	$1.96 \times 10^5$	$7.2 \times 10^6$	-
2	$4.13 \times 10^8$	$2.42 \times 10^9$	$4.57 \times 10^7$	-
3	$3.63 \times 10^{10}$	$3.94 \times 10^9$	$4.12 \times 10^7$	-
4	$6.37 \times 10^{11}$	$4.48 \times 10^9$	$4.35 \times 10^9$	-
5	$3.29 \times 10^8$	$6.69 \times 10^4$	$3.53 \times 10^5$	-
6	$3.74 \times 10^6$	$8.83 \times 10^3$	$3.63 \times 10^5$	-

หมายเหตุ - หมายถึง ตัวอย่างที่เกิดการเน่าเสียไม่สามารถนำมาตรวจนับได้

ในสัปดาห์ที่ 6 จำนวนจุลินทรีย์ที่นับได้จากลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยสารละลายกรดไพรูวิกอินิก กรดฟอร์มิค และกรดไพรูวิกอินิกร่วมกับกรดฟอร์มิค คือ  $3.74 \times 10^6$  ,  $8.83 \times 10^3$  และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$3.63 \times 10^5$  โคโลนีต่อกรัม .ตามลำดับ ( ตารางที่ 1 ) โดยพบว่า ในการใช้กรดโพธิโอนิกร่วมกับกรดฟอร์มิค เชื้อจุลินทรีย์มีจำนวนเพิ่มขึ้นจากสัปดาห์ที่ 5 แต่อย่างน้อยกว่าในสัปดาห์ที่4 และพบว่าการใช้กรดฟอร์มิคมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ลดลงกว่าทุกสัปดาห์ที่ทำการทดลอง

### ผลการวัดค่าความเป็นกรด – ด่าง ในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดต่างชนิดกัน

เมื่อเริ่มหมัก (สัปดาห์ที่ 0) ค่าความเป็นกรด – ด่าง ที่วัดได้จากลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยสารละลายกรดโพธิโอนิก 85 เปอร์เซ็นต์ ในปริมาณ 3.5 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยสารละลายกรดฟอร์มิค 85 เปอร์เซ็นต์ ในปริมาณ 3.5 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักลูกไก่คัดทิ้ง และหมักด้วยสารละลายกรดโพธิโอนิก 85 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ สารละลายกรดฟอร์มิค 85 เปอร์เซ็นต์ ในปริมาณ 3.5 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักลูกไก่คัดทิ้ง คือ 5.27 , 4.37 และ 4.53 ตามลำดับ โดยกลุ่มควบคุมวัดค่าความเป็นกรด – ด่าง ได้ 6.80 ดังแสดงในตารางที่ 3

สัปดาห์ที่ 1 พบค่าความเป็นกรด – ด่าง ที่วัดได้จากลูกไก่คัดทิ้งของกลุ่มที่หมักด้วยกรดฟอร์มิคมีค่าต่ำที่สุด เท่ากับ 4.80 ถัดมา คือ กลุ่มที่หมักด้วยกรดโพธิโอนิกร่วมกับกรดฟอร์มิค ซึ่งมีค่า pH เท่ากับ 5.13 และกรดโพธิโอนิก ซึ่งมีค่า 5.47 ตามลำดับ

สัปดาห์ที่ 2 ค่าความเป็นกรด – ด่าง ที่วัดได้จากลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยสารละลายกรดเพิ่มขึ้นจากสัปดาห์ที่ 1 โดยค่าความเป็นกรด – ด่าง ของกลุ่มที่หมักด้วยกรดฟอร์มิคมีค่าต่ำที่สุด เท่ากับ 5.23 ถัดมา คือ กลุ่มที่หมักด้วยกรดโพธิโอนิกร่วมกับกรดฟอร์มิคมีค่า 5.57 และกรดโพธิโอนิก มีค่า 6.07 ตามลำดับ

สัปดาห์ที่ 3 ค่าความเป็นกรด – ด่าง ที่วัดได้จากลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยสารละลายกรดยังคงมีค่าเพิ่มสูงขึ้น และกลุ่มที่หมักด้วยกรดฟอร์มิคยังมีค่าความเป็นกรด – ด่าง ต่ำที่สุด คือ เท่ากับ 5.73 ถัดมา คือ กลุ่มที่หมักด้วยกรดโพธิโอนิกร่วมกับกรดฟอร์มิคมีค่า 6.10 และกรดโพธิโอนิก มีค่า 6.37 ตามลำดับ

สัปดาห์ที่ 4 ค่าความเป็นกรด – ด่าง ที่วัดได้จากทุกกลุ่มการทดลอง มีค่าลดลงจากสัปดาห์ที่ 3 และกลุ่มที่หมักด้วยกรดฟอร์มิค ยังมีค่าความเป็นกรด – ด่าง ต่ำที่สุด คือ เท่ากับ 5.67 ถัดมา คือ กลุ่มที่หมักด้วยกรดโพธิโอนิกร่วมกับกรดฟอร์มิคมีค่า 5.73 และกรดโพธิโอนิก มีค่า 6.00 ตามลำดับ

สัปดาห์ที่ 5 ค่าความเป็นกรด – ด่าง ที่วัดได้จากลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยสารละลายกรดโพธิโอนิก กรดฟอร์มิค และกรดโพธิโอนิกร่วมกับกรดฟอร์มิค คือ 5.97 , 5.33 และ 5.50

ตามลำดับ ( ตารางที่ 2 ) ซึ่งพบว่า ค่าความเป็นกรด - ด่าง มีค่าลดลงจากสัปดาห์ที่ 4 ในทุกกลุ่มทดลอง และกลุ่มที่หมักด้วยกรดฟอร์มิกยังมีค่าความเป็นกรด - ด่าง ต่ำที่สุด

สัปดาห์ที่ 6 ค่าความเป็นกรด - ด่าง ของทุกกลุ่มการทดลองจะลดลงจากสัปดาห์ที่ 5 แต่ยังคงมีค่าสูงกว่าในวันที่เริ่มหมัก แต่ไม่สูงไปกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่ได้เติมกรด โดยพบว่าการหมักด้วยกรดฟอร์มิกมีค่า pH ต่ำที่สุดคือ 5.10 ถัดมา คือ กลุ่มที่หมักด้วยกรดโพธิโธนิกร่วมกับกรดฟอร์มิกมีค่า 5.53 และกรดโพธิโธนิกร่วมกับกรดโพธิโธนิกร่วมกับกรดฟอร์มิก มีค่า 5.73 ตามลำดับ ( ตารางที่ 2 )

**ตารางที่ 2** แสดงค่าความเป็นกรด - ด่าง ในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยสารละลายกรดโพธิโธนิกร่วมกับกรดฟอร์มิก และกรดโพธิโธนิกร่วมกับกรดฟอร์มิก เป็นเวลา 6 สัปดาห์

สัปดาห์ที่	ค่าความเป็นกรด - ด่าง			
	กรดโพธิโธนิกร่วมกับกรดฟอร์มิก	กรดฟอร์มิก	กรดโพธิโธนิกร่วมกับกรดฟอร์มิก	กลุ่มควบคุม (ไม่เติมกรด)
0	5.27	4.37	4.53	6.80
1	5.47	4.80	5.13	-
2	6.07	5.23	5.57	-
3	6.37	5.73	6.10	-
4	6.00	5.67	5.73	-
5	5.97	5.33	5.50	-
6	5.73	5.10	5.53	-

หมายเหตุ - หมายถึง ตัวอย่างที่เกิดการเน่าเสียไม่สามารถนำมาตรวจวัดได้

**การวิเคราะห์ผลทางสถิติของจำนวนจุลินทรีย์ที่พบในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรด**

เมื่อนำผลการตรวจนับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดต่างชนิดกัน ใน ตารางที่ 1 มาเปลี่ยนเป็นค่า log แล้วนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวน เมื่อเริ่มหมัก (สัปดาห์ที่ 0) พบว่า ชนิดของกรดที่ใช้หมักมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( ตารางผนวกที่ 1 ) ซึ่งเมื่อทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ PDIFF ดังแสดงในตารางที่ 3 และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงแก้ไขข้อมูลหรือต้องอ้างถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการเกษตร**

**สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง**

ภาพที่ 1 แล้ว จะเห็นได้ว่า ผลการตรวจนับในเวลาเริ่มหมักถูกไค้คิดทิ้งด้วยกรดนั้นจะมีจำนวนจุลินทรีย์น้อยกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่ได้เติมกรด โดยพบว่า การใช้กรดโพธิโธนิกร่วมกับกรดฟอร์มิค จะพบเชื้อจุลินทรีย์น้อยที่สุด คือ 5.4437 ถัดมา คือ การใช้กรดฟอร์มิค กรดโพธิโธนิค และกลุ่มควบคุม โดยตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์จำนวน 5.4879 , 8.5123 และ 14.3575 ตามลำดับ โดยให้ผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่า กรดทั้ง 3 กลุ่มการทดลองมีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์เมื่อเริ่มหมัก

เมื่อทำการหมักถูกไค้คิดทิ้งเป็นเวลา 6 สัปดาห์ (ตารางที่ 1)นำมาเปลี่ยนเป็นค่า log แล้วนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนดังตารางผนวกที่ 2 พบว่า ชนิดของกรดที่ใช้หมัก และระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่า ปัจจัยทั้งสองชนิดนี้มีอิทธิพลร่วมกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ PDIFF ดังตารางที่ 4 และภาพที่ 2 แล้วพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยการใช้กรดฟอร์มิคในการหมักถูกไค้คิดทิ้งจะตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์น้อยที่สุด คือ 6.8827 ถัดมา คือ กรดโพธิโธนิกร่วมกับกรดฟอร์มิค โดยตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์เป็นจำนวน 6.9022 และเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้เติมกรดในวันเริ่มหมัก จำนวนจุลินทรีย์มากที่สุด คือ 8.9233 และจากตารางที่ 5 และภาพที่ 3 จะเห็นได้ว่า เมื่อทำการหมักกรดจำนวนจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญจนถึงสัปดาห์ที่ 5 และ 6 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามจำนวนจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นไม่ได้สูงกว่ากลุ่มที่ไม่เติมกรดแต่อย่างใด

เมื่อทำการเปรียบเทียบระหว่างระยะเวลาที่ทำการหมัก พบว่า จำนวนเชื้อจุลินทรีย์มีการเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ตั้งแต่เริ่มหมักจนถึงสัปดาห์ที่ 4 แต่เมื่อทำการหมักไปจนถึงสัปดาห์ที่ 5 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ตรวจพบจะมีจำนวนลดลง และพบเชื้อจุลินทรีย์มีจำนวนน้อยที่สุดในสัปดาห์ที่ 6 คือ 5.3595 โดยในแต่ละสัปดาห์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังตารางที่ 5 และภาพที่ 3

เมื่อพิจารณาอิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัยทั้งสอง ซึ่งได้แก่ ชนิดของกรดที่ใช้ และระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยดังตารางที่ 6 ภาพที่ 4 พบว่า เมื่อทำการหมักถูกไค้คิดทิ้งที่หมักด้วยกรดโพธิโธนิคไปได้ 1 สัปดาห์ จำนวนจุลินทรีย์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง แต่เมื่อเวลาผ่านไป จำนวนจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญยิ่งไปจนถึงสัปดาห์ที่ 4 แต่ลดลงในสัปดาห์ที่ 5 โดยในสัปดาห์ดังกล่าวมีจำนวนจุลินทรีย์แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญกับสัปดาห์ที่เริ่มหมัก ส่วนในสัปดาห์ที่ 6 มีจำนวนจุลินทรีย์ต่ำที่สุด โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

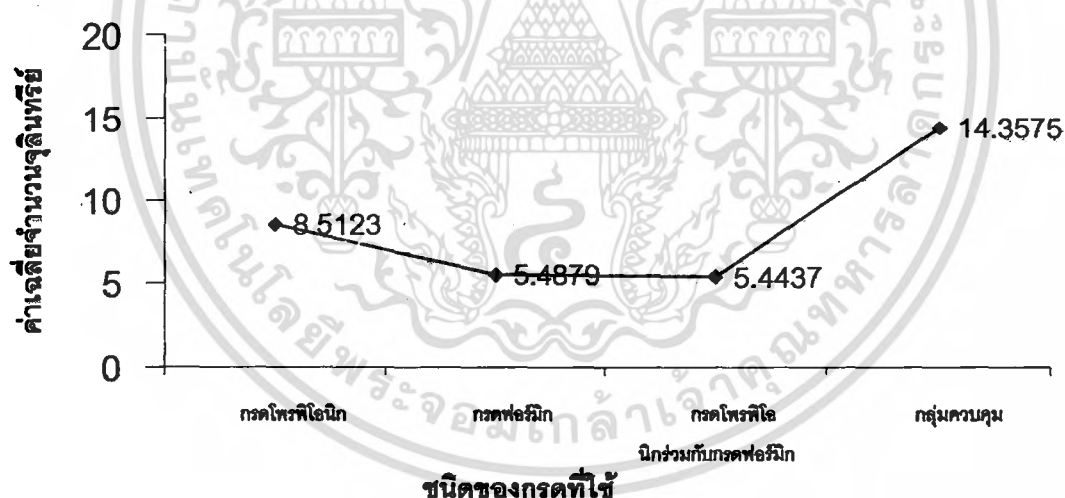
ตารางที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ยโดยคำนวณเป็นค่า log ของจำนวนจุลินทรีย์ที่ตรวจพบในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยสารละลายกรดโพธิ์โอนิก กรดฟอร์มิค และกรดโพธิ์โอนิกร่วมกับกรดฟอร์มิค เมื่อเริ่มหมัก

ชนิดของกรดที่ใช้หมัก (Treatment)	ค่าเฉลี่ย (log)
กรด โพธิ์โอนิก**	8.5123 ± 0.0328 <sup>a</sup>
กรดฟอร์มิค*	5.4879 ± 0.0255 <sup>b</sup>
กรดโพธิ์โอนิกร่วมกับกรดฟอร์มิค*	5.4437 ± 0.0198 <sup>b</sup>
กลุ่มควบคุม (ไม่เติมกรด)**	14.3575 ± 0.0224 <sup>c</sup>

CV (%) = 0.303

Grand Mean = 8.450 ± 3.749

อักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (\*\*P<0.01 และ \*P<0.05)



ภาพที่ 1 แสดงค่าเฉลี่ยโดยคำนวณเป็นค่า log ของจำนวนจุลินทรีย์ที่ตรวจพบในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยสารละลายกรดโพธิ์โอนิก กรดฟอร์มิค และกรดโพธิ์โอนิกร่วมกับกรดฟอร์มิค เมื่อเริ่มหมัก

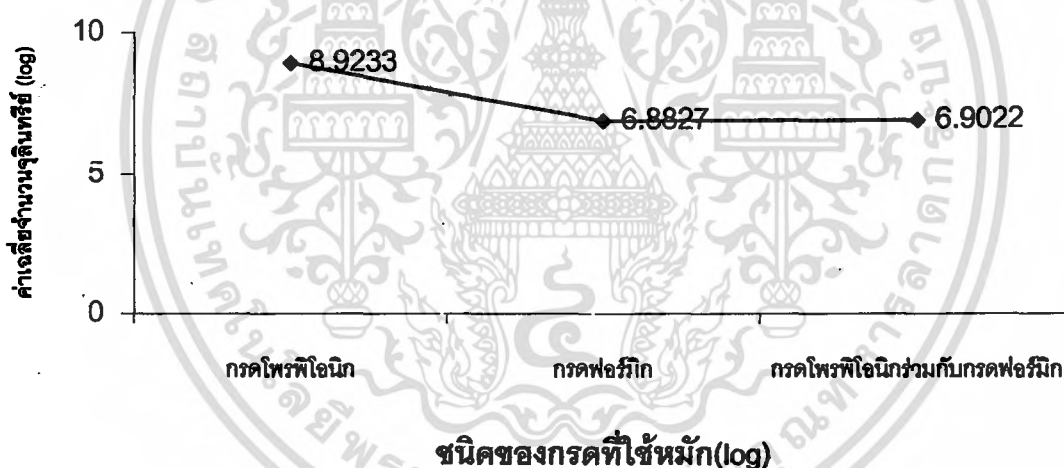
ตารางที่ 4 แสดงค่าเฉลี่ยโดยคำนวณเป็นค่า log ของจำนวนจุลินทรีย์ที่ตรวจพบในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยสารละลายกรดโพธิ์อินิก กรดฟอร์มิค และกรดโพธิ์อินิกร่วมกับกรดฟอร์มิค เป็นเวลา 6 สัปดาห์

ชนิดของกรดที่ใช้หมัก (Treatment)	ค่าเฉลี่ย (log)
กรดโพธิ์อินิก**	8.9233 ± 1.7599 <sup>1</sup>
กรดฟอร์มิค*	6.8827 ± 2.5138 <sup>1</sup>
กรดโพธิ์อินิกร่วมกับกรดฟอร์มิค*	6.9022 ± 1.4361 <sup>1</sup>

CV (%) = 0.420

Grand Mean = 7.569 ± 2.085

อักษรที่แตกต่างกัน คือ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (\*\* P<0.01 และ \* P<0.05)



ภาพที่ 2 แสดงค่าเฉลี่ยโดยคำนวณเป็นค่า log ของจำนวนจุลินทรีย์ที่ตรวจพบในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยสารละลายกรดโพธิ์อินิก กรดฟอร์มิค และกรดโพธิ์อินิกร่วมกับกรดฟอร์มิค เป็นเวลา 6 สัปดาห์

ถูกโคัดทิ้งที่หมักด้วยกรดฟอร์มิก เมื่อหมักด้วยเป็นเวลา 1 สัปดาห์ พบจุลินทรีย์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ แต่หลังจากนั้นจุลินทรีย์จะเพิ่มจำนวนขึ้นในสัปดาห์ที่ 2, 3 และ 4 ตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง แต่จะลดลงในสัปดาห์ที่ 5 และ 6 โดยพบเชื้อจุลินทรีย์ต่ำที่สุดในสัปดาห์ที่ 6 (ตารางที่ 6 และภาพที่ 4)

ถูกโคัดทิ้งที่หมักด้วยกรดโพธิโธนิกร่วมกับกรดฟอร์มิก พบเชื้อจุลินทรีย์ต่ำที่สุดในวันเริ่มหมัก (สัปดาห์ที่ 0) หลังจากนั้นจะเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ โดยสัปดาห์ที่ 2 และ 3 จำนวนจุลินทรีย์มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ แต่จะลดจำนวนลงในสัปดาห์ที่ 5 และ 6 โดยในสัปดาห์ดังกล่าวจำนวนจุลินทรีย์มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

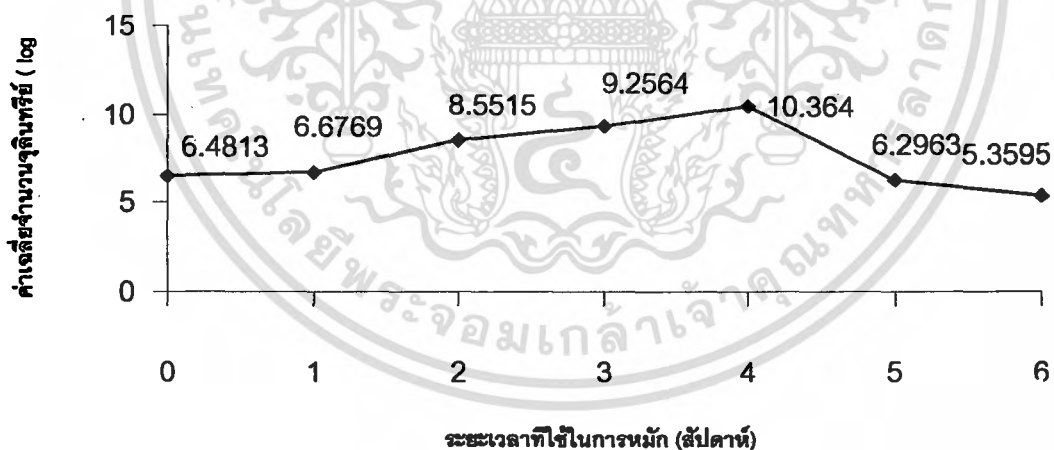
ตารางที่ 5 แสดงค่าเฉลี่ยโดยคำนวณเป็นค่า log ของจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ จากสัปดาห์ที่ 0 ถึง สัปดาห์ที่ 6

สัปดาห์ที่	ค่าเฉลี่ย
0	6.4813 ± 1.5003 <sup>a</sup>
1	6.6769 ± 1.1148 <sup>a</sup>
2	8.5515 ± 0.7371 <sup>b</sup>
3	9.2564 ± 1.2804 <sup>b</sup>
4	10.3640 ± 1.0533 <sup>b</sup>
5	6.2963 ± 1.6682 <sup>a</sup>
6	5.3595 ± 1.1301 <sup>a</sup>

CV (%) = 0.420224

Grand Mean = 7.569 ± 2.085

อักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01)



ภาพที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ยโดยคำนวณเป็นค่า log ของจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ จากสัปดาห์ที่ 0 ถึง สัปดาห์ที่ 6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

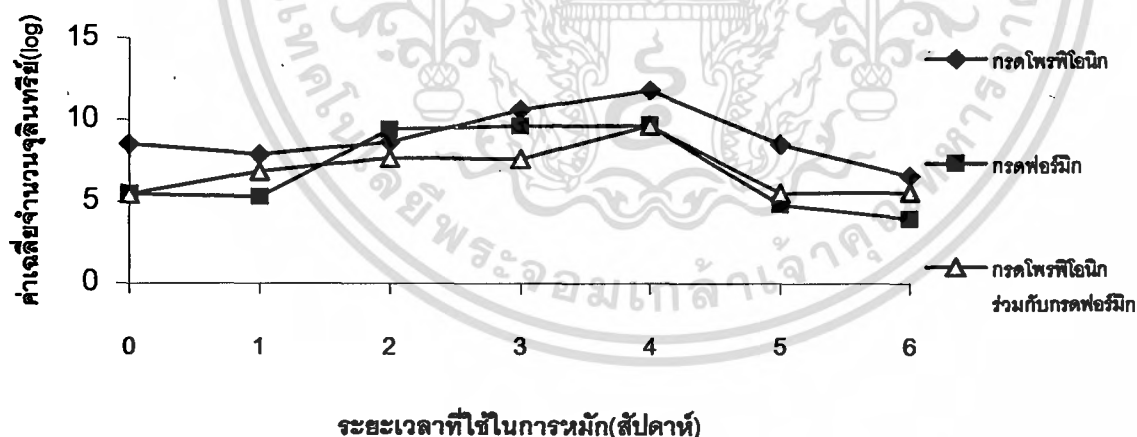
ตารางที่ 6 แสดงค่าเฉลี่ยโดยคำนวณเป็นค่า log ของจำนวนจุลินทรีย์ที่ตรวจพบในลูกไก่คัดทิ้ง ที่หมักด้วยสารละลายกรดโพธิ์อินิก กรดฟอร์มิก และกรดโพธิ์อินิกร่วมกับกรดฟอร์มิก เมื่อทำการหมักเป็นเวลา 6 สัปดาห์

สัปดาห์ที่	กรดโพธิ์อินิก	กรดฟอร์มิก	กรดโพธิ์อินิกร่วมกับกรดฟอร์มิก
0	8.5123 <sup>๓</sup>	5.4879 <sup>๓</sup>	5.4437 <sup>๓</sup>
1	7.8863 <sup>๓</sup>	5.2915 <sup>๓</sup>	6.8529 <sup>๓</sup>
2	8.6135 <sup>๓</sup>	9.3818 <sup>๓</sup>	7.6591 <sup>๓</sup>
3	10.5595 <sup>๓</sup>	9.595 <sup>๓</sup>	7.6147 <sup>๓</sup>
4	11.8033 <sup>๓</sup>	9.6505 <sup>๓</sup>	9.6383 <sup>๓</sup>
5	8.5159 <sup>๓</sup>	4.8251 <sup>๓</sup>	5.5477 <sup>๓</sup>
6	6.5726 <sup>๓</sup>	3.9468 <sup>๓</sup>	5.5591 <sup>๓</sup>

CV = 0.420 %

Grand Mean = 7.569 ± 2.085

อักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)



ภาพที่ 4 แสดงค่าเฉลี่ยโดยคำนวณเป็นค่า log ของจำนวนจุลินทรีย์ที่ตรวจพบในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยสารละลายกรดโพธิ์อินิก กรดฟอร์มิก และกรดโพธิ์อินิกร่วมกับกรดฟอร์มิก เมื่อทำการหมักเป็นเวลา 6 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## การวิเคราะห์ผลทางสถิติของค่าความเป็นกรด - ต่างที่วัดได้ในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรด

เมื่อนำผลการวัดค่าความเป็นกรด - ต่าง ของลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดต่างชนิดกัน ในสัปดาห์ที่ 0 (เมื่อเริ่มหมัก) ในตารางที่ 3 แล้วนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวน ดังตารางผนวกที่ 4 พบว่า ชนิดของกรดที่ใช้หมักมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ PDIFF ดังตารางที่ 7 และภาพที่ 5 แล้วพบว่า ในวันเริ่มหมักลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดมีค่าความเป็นกรด-ต่าง น้อยกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่ได้เติมกรดอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยพบว่า การใช้กรดฟอร์มิกในการหมักลูกไก่คัดทิ้งมีค่าความเป็นกรด-ต่าง ต่ำที่สุด เท่ากับ 4.3667 ถัดมาคือ กรดโพธิ์โอนิกร่วมกับกรดฟอร์มิก กรดโพธิ์โอนิก และกลุ่มควบคุม โดยมีค่าความเป็นกรด-ต่าง เท่ากับ 4.5333 , 5.2667 และ 6.80 ตามลำดับ

เมื่อนำค่าความเป็นกรด-ต่าง ของลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดโพธิ์โอนิก กรดฟอร์มิก และกรดโพธิ์โอนิกร่วมกับกรดฟอร์มิก เป็นเวลา 6 สัปดาห์ ไปวิเคราะห์ความแปรปรวน ดังตารางผนวกที่ 5 พบว่า ทั้งชนิดของกรดที่ใช้หมัก ระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก และอิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัยทั้งสอง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของชนิดกรดโดยใช้ PDIFF ดังตารางที่ 8 และภาพที่ 6 แล้วพบว่า การใช้กรดฟอร์มิกหมักลูกไก่คัดทิ้งมีค่าความเป็นกรด-ต่าง ต่ำที่สุด คือ 5.1762 รองลงมาคือ กรดโพธิ์โอนิกร่วมกับกรดฟอร์มิก และกรดโพธิ์โอนิก โดยมีค่าความเป็นกรด-ต่างเท่ากับ 5.4429 และ 5.8381 ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างเวลาที่ทำกรหมัก ดังตารางที่ 9 ภาพที่ 7 พบว่า ค่าความเป็นกรด-ต่าง เพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 1 , 2 และ 3 ตามลำดับ โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับเวลาเริ่มหมัก และหลังจากนั้นใน สัปดาห์ที่ 4 , 5 และ 6 จะมีค่าความเป็นกรด-ต่าง ลดลงเรื่อย ๆ โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับเวลาเริ่มหมัก ยกเว้นในสัปดาห์ที่ 2 และ 5 มีค่าความเป็นกรด-ต่าง แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ

ตารางที่ 7 แสดงค่าเฉลี่ยความเป็นกรด - ต่าง ในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยสารละลายกรดโพธิ์อิน-  
นิก กรดฟอร์มิก และกรดโพธิ์อินร่วมกับกรดฟอร์มิก เมื่อเริ่มหมัก

ชนิดของกรดที่ใช้หมัก	ค่าเฉลี่ยความเป็นกรด-ต่าง
กรดโพธิ์อิน	$5.2667 \pm 0.5774^b$
กรดฟอร์มิก	$4.3667 \pm 0.5774^c$
กรดโพธิ์อินร่วมกับกรดฟอร์มิก	$4.5333 \pm 0.5774^c$
กลุ่มควบคุม (ไม่เติมกรด)	$6.8000 \pm 0.0000^a$

CV (%) = 0.953895

Grand Mean =  $5.242 \pm 1.005$

อักษรที่แตกต่างกัน คือ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ )



ภาพที่ 5 แสดงค่าเฉลี่ยความเป็นกรด-ต่างในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยสารละลายกรดโพธิ์อิน  
กรดฟอร์มิก และกรดโพธิ์อินร่วมกับกรดฟอร์มิก เมื่อเริ่มหมัก

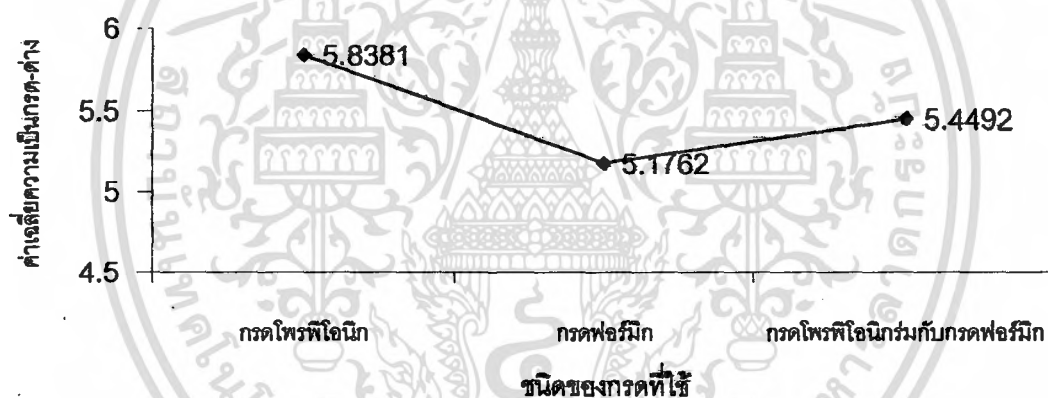
ตารางที่ 8 แสดงค่าเฉลี่ยความเป็นกรด - ด่าง ในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยสารละลายกรดโพธิ์อินนิก กรดฟอร์มิก และกรดโพธิ์อินนิกร่วมกับกรดฟอร์มิก เป็นเวลา 6 สัปดาห์

ชนิดของกรดที่ใช้หมัก	ค่าเฉลี่ยความเป็นกรด-ด่าง
กรดโพธิ์อินนิก	5.8381 ± 0.2990 <sup>a</sup>
กรดฟอร์มิก	5.1762 ± 0.3519 <sup>b</sup>
กรดโพธิ์อินนิกร่วมกับกรดฟอร์มิก	5.4492 ± 0.3214 <sup>b</sup>

CV (%) = 1.607661

Grand Mean = 5.486 ± 0.509

อักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเชิงทางสถิติ (P<0.01)



ภาพที่ 6 แสดงค่าเฉลี่ยความเป็นกรด-ด่างในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยสารละลายกรดโพธิ์อินนิก กรดฟอร์มิก และกรดโพธิ์อินนิกร่วมกับกรดฟอร์มิก เป็นเวลา 6 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 9 แสดงค่าเฉลี่ยความเป็นกรด - ด่าง ในลูกไก่คัดทิ้งหมักกรดจากสัปดาห์ที่ 0 ถึง 6

สัปดาห์ที่	ค่าเฉลี่ยความเป็นกรด-ด่าง
0	$4.7222 \pm 0.4177^a$
1	$5.1333 \pm 0.3041^a$
2	$5.6222 \pm 0.3723^a$
3	$6.0667 \pm 0.2915^a$
4	$5.8000 \pm 0.1658^a$
5	$5.6000 \pm 0.2915^a$
6	$5.4556 \pm 0.2920^a$

CV (%) = 1.608

Grand Mean =  $5.486 \pm 0.509$

อักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ )



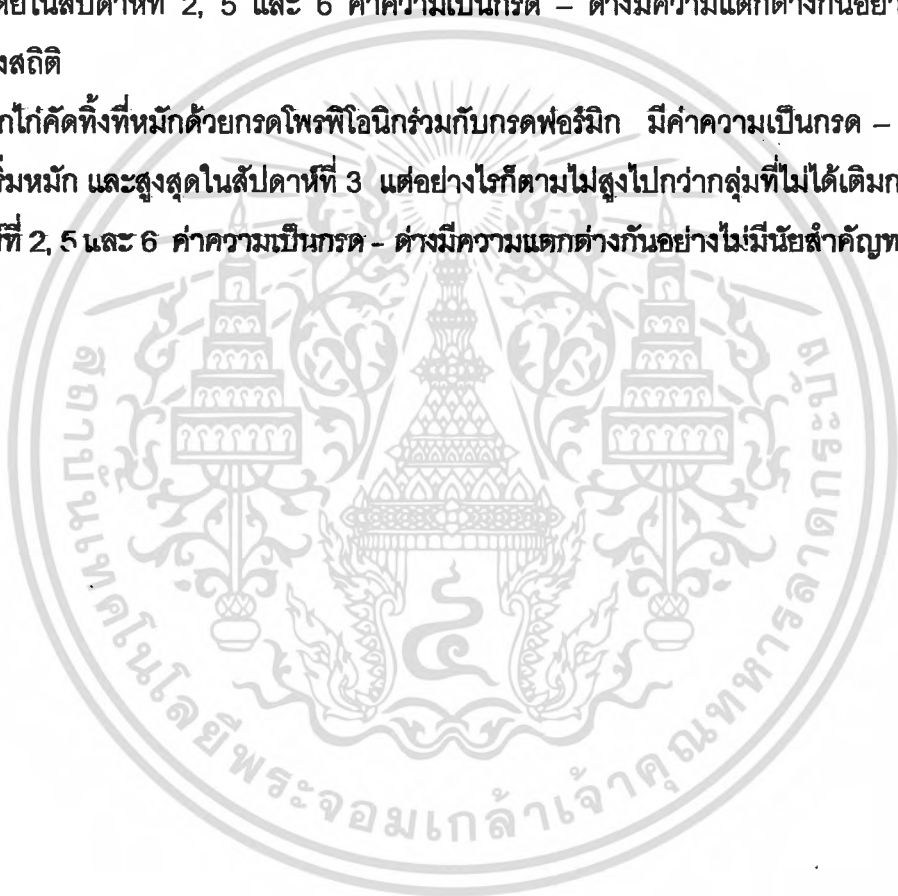
ภาพที่ 7 แสดงค่าเฉลี่ยความเป็นกรด - ด่าง ในลูกไก่คัดทิ้งจากสัปดาห์ที่ 0 ถึง 6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อพิจารณาอิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัยทั้งสอง ซึ่งได้แก่ ชนิดของกรดที่ใช้ และระยะเวลาที่ใช้หมัก พบว่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยดังตารางที่ 10 และ ภาพที่ 8 ในลูกไก่คั้ดทิ้งที่หมักด้วยกรดโพธิ์อินิก มีค่าความเป็นกรด - ด่าง ในวันเริ่มหมักต่ำที่สุด โดยที่ค่าความเป็นกรด - ด่าง ในสัปดาห์ที่ 2, 4 และ 5 มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

ลูกไก่คั้ดทิ้งที่หมักด้วยกรดฟอร์มิค พบว่าค่าความเป็นกรด - ด่าง ในวันเริ่มหมักมีค่าต่ำสุด และมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป หลังจากนั้นในสัปดาห์ที่ 4 ค่าความเป็นกรด - ด่างจะเริ่มลดลง โดยในสัปดาห์ที่ 2, 5 และ 6 ค่าความเป็นกรด - ด่างมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

ลูกไก่คั้ดทิ้งที่หมักด้วยกรดโพธิ์อินิกร่วมกับกรดฟอร์มิค มีค่าความเป็นกรด - ด่างต่ำที่สุดในวันเริ่มหมัก และสูงสุดในสัปดาห์ที่ 3 แต่อย่างไรก็ตามไม่สูงไปกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เติมกรด และในสัปดาห์ที่ 2, 5 และ 6 ค่าความเป็นกรด - ด่างมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ



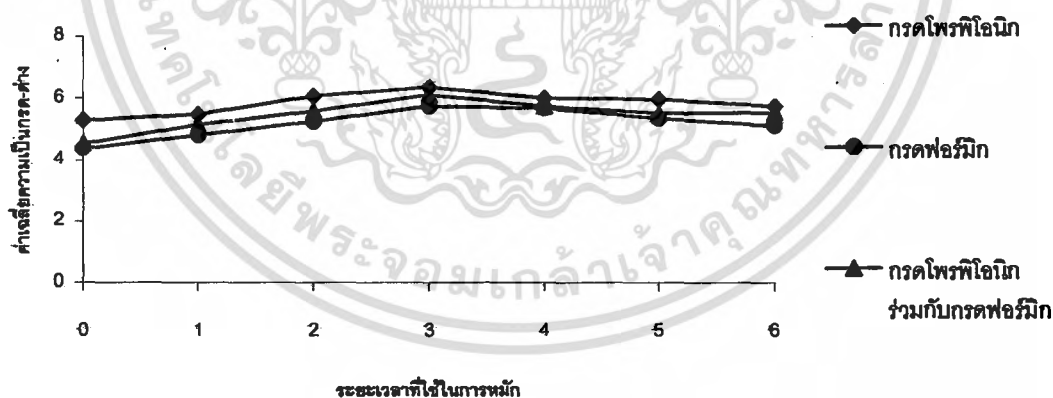
ตารางที่ 10 แสดงค่าเฉลี่ยความเป็นกรด - ด่าง ในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยสารละลายกรดโพธิโชนิก กรดฟอร์มิก และกรดโพธิโชนิกร่วมกับกรดฟอร์มิก เมื่อทำการหมักเป็นเวลา 6 สัปดาห์

สัปดาห์ที่	กรดโพธิโชนิก	กรดฟอร์มิก	กรดโพธิโชนิกร่วมกับกรดฟอร์มิก
0	5.2667 <sup>กข</sup>	4.3667 <sup>ค</sup>	4.5333 <sup>ค</sup>
1	5.4667 <sup>ก</sup>	4.8000 <sup>ข</sup>	5.1333 <sup>ข</sup>
2	6.0667 <sup>ข</sup>	5.2333 <sup>ข</sup>	5.5667 <sup>ค</sup>
3	6.3657 <sup>ก</sup>	5.7333 <sup>ค</sup>	6.1000 <sup>ข</sup>
4	6.0000 <sup>ข</sup>	5.6667 <sup>ค</sup>	5.7333 <sup>ค</sup>
5	5.9667 <sup>ข</sup>	5.3333 <sup>ค</sup>	5.5000 <sup>ก</sup>
6	5.7333 <sup>ค</sup>	5.1000 <sup>ค</sup>	5.5333 <sup>ค</sup>

CV = 1.608 %

Grand Mean = 5.486 ± 0.509

อักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )



ภาพที่ 8 แสดงค่าเฉลี่ยความเป็นกรด - ด่าง ในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยสารละลายกรดโพธิโชนิก กรดฟอร์มิก และกรดโพธิโชนิกร่วมกับกรดฟอร์มิก เมื่อทำการหมักเป็นเวลา 6 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดต่างชนิดกัน

ได้ทำการตรวจรวมโดยใช้อาหารแข็ง 2 ชนิด ได้แก่ XLD และ แล้วคัดเลือกโคโลนีที่สงสัยว่าเป็นเชื้อ Salmonella ซึ่งมีลักษณะเป็นโคโลนีสีชมพูหรือดำเป็นมันไปตรวจสอบต่อในอาหาร TSI และ LIM เพื่อดูการสร้างกรด, ก๊าซ และการเคลื่อนที่ของ Salmonella เพื่อยืนยันผล

ในวันเริ่มหมัก เมื่อทำการเติมกรดโพธิโอนิก กรดฟอร์มิค และกรดโพธิโอนิกร่วมกับกรดฟอร์มิกลงในลูกไก่คัดทิ้งที่บดแล้วและนำมาเปรียบเทียบกับลูกไก่คัดทิ้งที่บดแล้วที่ไม่ได้เติมกรด (กลุ่มควบคุม) ดังตารางที่ 11 พบว่าในกลุ่มควบคุมเกิดผลบวกทั้งหมดซึ่งหมายถึงว่า ในลูกไก่คัดทิ้งบดมีเชื้อซัลโมเนลลาปะปนอยู่ และเมื่อเติมด้วยกรดโพธิโอนิกยังคงได้ผลบวกเช่นเดิม แสดงว่ากรดดังกล่าวไม่มีผลในการยับยั้งเชื้อซัลโมเนลลาในวันเริ่มหมัก แต่เมื่อมีการเติมกรดฟอร์มิคจะไม่พบการเจริญของเชื้อซัลโมเนลลาเลยโดยให้ผลลบทั้งหมด และสำหรับลูกไก่คัดทิ้งบดที่มีการเติมกรดโพธิโอนิกร่วมกับกรดฟอร์มิคจะพบการเจริญของเชื้อซัลโมเนลลาจากอาหาร XLD โดยพบว่าเกิดด่างขึ้นทำให้บริเวณก้นหลอดมีสีเหลือง มีการสร้างก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์มีสีดำ และที่ผิวของอาหารมีสีแดงเกิดขึ้น แต่ไม่พบในอาหาร HE เนื่องจากเชื้อซัลโมเนลลามีมากกว่า 2,000 ชนิดการตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาจึงจำเป็นที่จะต้องใช้อาหารเลี้ยงเชื้อตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไปในการตรวจซึ่งเชื้อบางสายพันธุ์อาจเกิดได้ในอาหารทั้ง 2 ชนิดเชื้อบางสายพันธุ์อาจเกิดได้ในอาหารเพียงชนิดเดียว ประกอบกับอาหาร HE มีสารยับยั้งที่แรงกว่าในอาหาร XLD ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่ากรดโพธิโอนิกร่วมกับกรดฟอร์มิคมีผลต่อการเจริญหรือทำลายของเชื้อซัลโมเนลลาบางชนิดที่สามารถเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ HE โดยจะมีการเกิดด่างขึ้นทำให้บริเวณก้นหลอดมีสีเหลือง มีการสร้างก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์มีสีดำ และที่ผิวของอาหารมีสีแดงเกิดขึ้น แสดงว่ามีการเจริญของเชื้อซัลโมเนลลา

การที่เกิดผลบวกในกลุ่มลูกไก่คัดทิ้งบดที่หมักด้วยกรดโพธิโอนิกและกลุ่มควบคุม เนื่องจากเชื้อซัลโมเนลลามีเอนไซม์ lysine decarboxylase สามารถย่อย lysine ทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อมีสภาพเป็นด่างจึงทำให้สีของ Bromcresolpurple ที่ใช้เป็น indicator ในอาหารมีสีม่วง นอกจากนี้เมื่อตรวจสอบสารประกอบอินโดล โดยการหยดน้ำยาโคแว็ค (Kovac) จะให้ผลเป็นสีแดง และอาหารมีสีขุ่นเนื่องจากเชื้อ Salmonella มีแฟลกเจลลาช่วยในการเคลื่อนที่

เมื่อทำการหมักด้วยกรดเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดโพธิโอนิก, กรดฟอร์มิค, กรดโพธิโอนิกร่วมกับกรดฟอร์มิค ไม่พบการเจริญของเชื้อ Salmonella แสดงว่ากรดที่ใช้มีความสามารถที่จะควบคุมการเจริญหรือทำลายเชื้อซัลโมเนลลาได้ เมื่อเวลาผ่านไป 4 สัปดาห์

ตารางที่ 11 ผลการตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาในลูกไก่คัดทิ้งหมักด้วยกรดไพรูฟิอิก กรดฟอร์มิค และกรดไพรูฟิอิกร่วมกับกรดฟอร์มิค ในสัปดาห์เริ่มหมัก

กลุ่มทดลอง	XLD						HE					
	TSI			LIM			TSI			LIM		
	Butt	Slant	H <sub>2</sub> S	Lysine	Indole	Motile	Butt	Slant	H <sub>2</sub> S	Lysine	Indole	Motile
กรดไพรูฟิอิก	A	+	+	+	+	+	A	+	+	+	+	+
กรดฟอร์มิค	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
กรดฟอร์มิคร่วมกับ กรดไพรูฟิอิก	B	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
กลุ่มควบคุม	A	+	+	+	+	+	A	+	+	+	+	+

Butt A = เกิดสภาพความเป็นกรดบริเวณก้นหลอด ปรากฏสีเหลือง

Butt B = เกิดสภาพความเป็นด่างบริเวณก้นหลอด ปรากฏสีแดง

Slant + = การเปลี่ยนแปลงบริเวณผิวหน้าเกิดสีแดง

Slant - = ไม่มีเปลี่ยนแปลงบริเวณผิวหน้าเป็นสีแดงอมส้ม

Lysine + = มีการย่อยสลายกรดอะมิโนไลซีนแย่งคิงสีม่วง

Lysine - = ไม่มีการย่อยสลายกรดอะมิโนไลซีนเกิดสีเหลือง

Indole + = เกิดสีแดงในอาหารเลี้ยงเชื้อภายหลังจากหยดน้ำยา Kovac

Indole - = เกิดสีเหลืองในอาหารเลี้ยงเชื้อภายหลังจากหยดน้ำยา Kovac

Motile + = อาหารขุ่นเนื่องจาก salmonella มี flagella ในการเคลื่อนที่

Motile - = อาหารไม่ขุ่น

ตารางที่ 12 ผลการตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาในลูกไก่คัดทิ้งหมักด้วยกรดไพรูฟิอิก กรดฟอร์มิค และกรดไพรูฟิอิกร่วมกับกรดฟอร์มิค ในสัปดาห์ที่ 4

กลุ่มทดลอง	XLD						HE					
	TSI			LIM			TSI			LIM		
	Butt	Slant	H <sub>2</sub> S	Lysine	Indole	Motile	Butt	Slant	H <sub>2</sub> S	Lysine	Indole	Motile
กรดไพรูฟิอิก	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
กรดฟอร์มิค	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
กรดฟอร์มิกร่วมกับ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
กรดไพรูฟิอิก												

Butt A = เกิดสภาพความเป็นกรดบริเวณก้นหลอด ปรากฏสีเหลือง

Slant + = การเปลี่ยนแปลงบริเวณผิวหน้าเกิดสีแดง

Lysine + = มีการย่อยสลายกรดอะมิโนไลซีนยังคงสีม่วง

Indole + = เกิดสีแดงในอาหารเลี้ยงเชื้อภายหลังจากหยดน้ำยา Kovac

Motile + = อาหารขุ่นเนื่องจาก salmonella มี flagella ในการเคลื่อนที่

Butt B = เกิดสภาพความเป็นด่างบริเวณก้นหลอด ปรากฏสีแดง

Slant - = ไม่มีเปลี่ยนแปลงบริเวณผิวหน้ายังคงเป็นสีแดงอมส้ม

Lysine - = ไม่มีการย่อยสลายกรดอะมิโนไลซีนเกิดสีเหลือง

Indole - = เกิดสีเหลืองในอาหารเลี้ยงเชื้อภายหลังจากหยดน้ำยา Kovac

Motile - = อาหารไม่ขุ่น

ตารางที่ 13 ตารางเปรียบเทียบผลการตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาในลูกไก่คัดทิ้งหมักด้วยกรดไพรูวิก กรดฟอร์มิก และกรดไพรูวิกร่วมกับกรดฟอร์มิก ใน สัปดาห์เริ่มหมักกับสัปดาห์ที่4

กลุ่มทดลอง	XLD												HE											
	TSI						LIM						TSI						LIM					
	Butt		Slant		H <sub>2</sub> S		Lysine		Indole		Motile		Butt		Slant		H <sub>2</sub> S		Lysine		Indole		Motile	
	W0	W4	W0	W4	W0	W4	W0	W4	W0	W4	W0	W4	W0	W4	W0	W4	W0	W4	W0	W4	W0	W4	W0	W4
กลุ่มควบคุม	A	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	A	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
กรดไพรูวิก	A	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	A	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
กรดฟอร์มิก	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
กรดฟอร์มิกร่วมกับกรดไพรูวิก	B	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

W0 = สัปดาห์เริ่มหมัก

W4 = สัปดาห์ที่ 4

Butt A = เกิดสภาพความเป็นกรดบริเวณก้นหลอด ปรากฏสีเหลือง

Butt B = เกิดสภาพความเป็นด่างบริเวณก้นหลอด ปรากฏสีแดง

Slant + = การเปลี่ยนแปลงบริเวณผิวหน้าเกิดสีแดง

Slant - = ไม่มีเปลี่ยนแปลงบริเวณผิวหน้าเป็นสีแดงอมส้ม

Lysine + = มีการย่อยสลายกรดอะมิโนไลซีนยังคงสีม่วง

Lysine - = ไม่มีการย่อยสลายกรดอะมิโนไลซีนเกิดสีเหลือง

Indole + = เกิดสีแดงในอาหารเลี้ยงเชื้อภายหลังจากหยดน้ำยา Kovac

Indole - = เกิดสีเหลืองในอาหารเลี้ยงเชื้อภายหลังจากหยดน้ำยา Kovac

Motile + = อาหารขุ่นเนื่องจาก salmonella มี flagella ในการเคลื่อนที่

Motile - = อาหารไม่ขุ่น

### สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการตรวจนับเชื้อจุลินทรีย์รวมในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดต่างชนิดกันเป็นเวลา 6 สัปดาห์ จะเห็นได้ว่าจำนวนจุลินทรีย์ที่หมักด้วยกรดจะมีจำนวนน้อยกว่ากลุ่มควบคุม และพบว่าลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดฟอร์มิกจะพบเชื้อจุลินทรีย์น้อยที่สุด และมีค่าความเป็นกรด - ด่างต่ำที่สุดทำให้เชื้อจุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญได้ รองลงมา คือกรดฟอสฟอริกร่วมกับกรดโพธิโอนิก และกรดฟอสฟอริก ตามลำดับ ซึ่งจะมีค่าความเป็นกรด - ด่างสูงกว่า จึงมีการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้มากกว่า (ตารางที่ 6) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Yeoh และ Quee Lan (1980) ที่พบว่าเมื่อทำการหมักปลาด้วยกรดฟอสฟอริก 85 เปอร์เซ็นต์ในปริมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ และหมักด้วยกรดโพธิโอนิก 85 เปอร์เซ็นต์ในปริมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ พบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 2 สัปดาห์ การหมักปลาด้วยกรดฟอสฟอริกมีจำนวนจุลินทรีย์น้อยที่สุด

เมื่อทำการพิจารณาปัจจัยระหว่างชนิดของกรดที่ใช้หมักกับระยะเวลา พบว่าเมื่อเวลาการหมักผ่านไป เชื้อจุลินทรีย์เพิ่มจำนวนขึ้นอย่างมีนัยสำคัญจนถึงสัปดาห์ที่ 4 แต่ลดลงในสัปดาห์ที่ 5 และ 6 ซึ่งพบจุลินทรีย์ต่ำที่สุดในสัปดาห์ที่ 6 อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

ส่วนการตรวจเชื้อซัลโมเนลลาโดยการตรวจเมื่อเริ่มหมักและสัปดาห์ที่ 4 พบว่ามีเชื้อซัลโมเนลลาปนเปื้อนอยู่ในลูกไก่คัดทิ้งสด แต่เมื่อเติมกรดฟอสฟอริกแล้วตรวจหาเชื้อในวันเริ่มหมักกลับไม่พบเชื้อดังกล่าวเลย แสดงว่ากรดฟอสฟอริกสามารถทำลายเชื้อซัลโมเนลลาได้อย่างรวดเร็ว และเมื่อเวลาผ่านไป 4 สัปดาห์ การหมักลูกไก่คัดทิ้งด้วยกรดทั้ง 3 กลุ่ม สามารถทำลายเชื้อซัลโมเนลลาได้ เนื่องจากไม่พบการเจริญของเชื้อซัลโมเนลลาเลย ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของกรดฟอสฟอริกยังมีคุณสมบัติเป็นตัวป้องกันการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้เป็นอย่างดี Borgstrom (1962) และ Roth-T et al. (1994) ที่กล่าวว่า การเติมกรดโพธิโอนิกลงในสุรอาหาร 4 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้เชื้อซัลโมเนลลาไม่สามารถเจริญเติบโตได้

จากผลการทดลองในครั้งนี้ จะเห็นได้ว่าการใช้กรดหมักลูกไก่คัดทิ้งสามารถเก็บรักษาลูกไก่คัดทิ้งเพื่อเป็นอาหารสัตว์ได้เป็นเวลา 6 สัปดาห์ โดยการใช้กรดฟอสฟอริกพบจุลินทรีย์รวมต่ำที่สุด ถัดมาคือ กรดโพธิโอนิกร่วมกับกรดฟอสฟอริกและกรดโพธิโอนิก ตามลำดับ และการใช้กรดหมักลูกไก่คัดทิ้งสามารถทำลายเชื้อซัลโมเนลลาที่ปนเปื้อนมากับลูกไก่คัดทิ้งได้เป็นอย่างดี โดยเฉพาะกรดฟอสฟอริก ซึ่งเมื่อเติมลงไปแล้วตรวจหาเชื้อจะไม่พบเชื้อดังกล่าวเลย ดังนั้นหากจะนำลูกไก่คัดทิ้งไปเลี้ยงสัตว์เลยโดยไม่ทำการหมักสามารถทำลายเชื้อซัลโมเนลลาได้โดยการเติมกรดฟอสฟอริกก่อนนำไปใช้ แต่หากมีลูกไก่คัดทิ้งเหลือจำนวนมาก เหลือจากการเลี้ยงสัตว์และต้องการเก็บรักษาไว้ใช้นาน ๆ ควรทำการหมักโดยใช้กรดฟอสฟอริก เนื่องจากการตรวจพบจุลินทรีย์รวมและเชื้อ

ชัลโมเนลลานั้นน้อยที่สุด มีการกักต่อนภาชนะน้อยกว่ากรดอินทรีย์บางชนิด และสามารถนำไปให้สัตว์กินได้โดยตรง

นอกจากนี้คุณค่าทางโภชนาะของลูกไก่ค้ำที่หมักด้วยกรดดังกล่าวยังคงอยู่ไม่ได้ลดลงแต่อย่างใด ทั้งยังสามารถเพิ่มไนโตรเจนฟรีแอกซ์แทกท์และเปอร์เซนต์เถ้าสูงได้ด้วย (นันทิยา, 2543)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เอกสารอ้างอิง

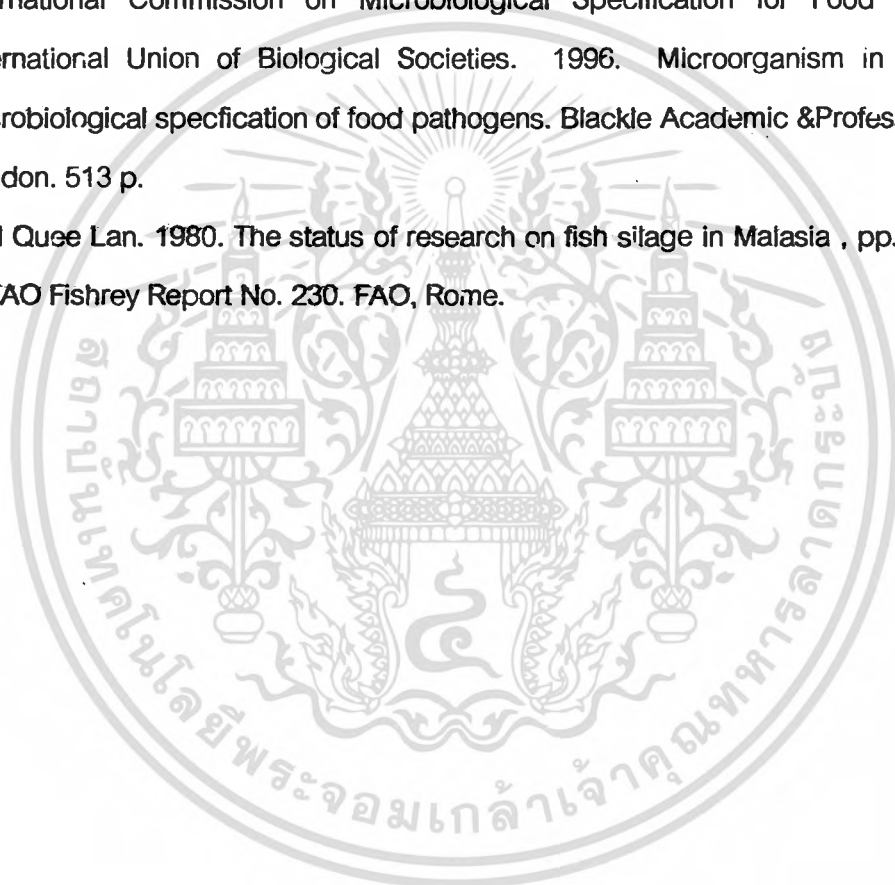
- กุลยา จันทรอรุณ. 2533. เคมีอาหาร ภาควิชาตำราและเอกสารวิชาการ. หน่วยศึกษานิเทศน์ กรมการฝึกหัดครู. กรุงเทพมหานคร. 315 น.
- ทักษิณา สอนสนิท, บัญญัติ ศรีสุขงาม, และ อรุณ ป่างตระกูลนนท์. 2531. การระบาดของวิทยาของ Salmonella ในแมลงสาบ. วารสารศรีนครินทรวิโรฒวิจัยและพัฒนา 1(3) : 46-53
- นันทิยา แซ่เตียว. 2543. การศึกษาองค์ประกอบและระยะเวลาที่เหมาะสมในการหมักลูกไก่คัดทิ้ง. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพมหานคร. 51 น.
- นิยมศักดิ์ อุปทุม, วิมลพร จิระวัฒนพงศ์, นิमित สีสิริกุล, สมใจ ศรีหาคิม, เกษม จงเสถียร และวันชัย ถวิลไพร. 2525. รายงานการติดเชื้อซัลโมเนลลาในโคกระบือ. เวชสารสัตว์แพทย์ 12(4) : 271-277.
- บัญญัติ สุขศรีงาม. 2534. จุลชีววิทยาทั่วไป. ภาควิชาจุลชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา, กทม. 507 น.
- บุญทา วรินทร์รัตน์. 2524. แบคทีเรียที่ก่อโรค. มหาวิทยาลัยรามคำแหง, กทม. 186น.
- บุญส่ง แสงอ่อน. 2529. คู่มือการสอนจุลชีววิทยา. ภาควิชาชีววิทยา, คณะเภสัชศาสตร์, มหาวิทยาลัยมหิดล. กทม. 226 น.
- ปฐม เลหาเกษตร. 2540. การเลี้ยงสัตว์ปีก. ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์, เทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กทม. 328 น.
- วราปี สุวัฒน์วิโรจน์, นฤมล ชัยมงคลและอรุณ ป่างตระกูลนนท์. 2530. ซัลโมเนลลาซีโรไทป์ที่เป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อซัลโมเนลลาในสัตว์ปีก. น. 130 – 140. ใน ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการปศุสัตว์ ครั้งที่ 6, กทม.
- วราวุธ ครูสง. 2539. บทปฏิบัติการจุลชีววิทยาอาหารขั้นสูง, ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร, คณะวิทยาศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กทม. 47 น.
- วิลาวัลย์ เจริญจิระตระกูล. 2537. การเน่าเสียของอาหารและการป้องกัน. ภาควิชาจุลชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. ปัตตานี. 263 น.
- สาขาวิชาคหกรรมศาสตร์. 2539. เคมีและจุลชีววิทยาของอาหาร. มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช, กทม. 236 น.
- สุพจน์ ไข่เทียมวงศ์. 2534. จุลชีววิทยา MI 211. ภาควิชาชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยรามคำแหง. กทม. 648น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- สุมาลี บุญมา, อรุณ ป่างตระกูลนนท์, วิทยา โคสิตานนท์, ศวีรัตน์ พรเรืองวงศ์, ภักดี วัฒนมา ไตรภาพ, วิชัย ศุภสินธุ์. 2534. ความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อซัลโมเนลลาที่แยกได้จาก เนื้อวัว เนื้อสุกร เนื้อไก่ และหมู. วารสารสัตวแพทย์ 10(2) : 6-13
- สุมาลี เหลืองสกุล 2539. คู่มือปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางอาหาร. ภาควิชาชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒประสานมิตร. กทม. 127 น.
- สุมาลี เหลืองสกุล 2541. จุลชีววิทยาทางอาหาร. . ภาควิชาชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒประสานมิตร. กทม. 248 น
- สุขใจ ชูจันทร์. 2535. ปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางอาหาร. ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์, คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กทม. 68 น.
- อรุณ ป่างตระกูลนนท์, สุวัฒน์ ป่างตระกูลนนท์, ศวีรัตน์ พรเรืองวงศ์, ธัญชลี แก้วก้างวาลและ บัญญัติ สุขศรีงาม. 2532. การวิเคราะห์เชื้อโรราของซัลโมเนลลาในจิ้งจก. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 31:47-56.
- อาวุธ ตันโซ. 2540. การผลิตสัตว์ปีก. ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์, คณะเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กทม. 561 น.
- อาวุธ ตันโซ. 2542. การวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS. ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์, คณะเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กทม. 347 น.
- Borgstrom , G. 1962 . Fish silage . Fish as food . Vol. 2 , Nutrition , Sanitation , and Utilization . New York and London : Academic Press .
- Foster, E.M. , F. E. Nelson, M. L. Speck, R. N. Doetsh and J. C. Olson, Jr. and T.A. Roberts. 1970. Dairy Microbiology. Prentice-Hall, Inc, New Jersey. 375 p.
- Gray, R. J. H. , P. M. Elliott and R. I. Tomlins. 1984. Control of pathogens on fresh poultry. J. of Food Sci. 49(1) : 142.
- Green , S.,J. Wiseman and D.J.A. Cole . 1983 . Fish silage in pig diets . Pig News Info . 4 (3) : 269 –273
- Hawa, S.G., G.J. Morrison and G.M. Fleet. 1984. Method to rapidly enumerate Salmonella on chicken carcass J. Food Prot. 47(12):932-936
- Robert, T. A. , G. Hobbs, J. H. B. Christian, and N. Skorgaard. 1981. Psychrotrophic microorganisms in spoilage and pathogenicity. Academic Press, London. 923 p.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Roth, T., Wagner, H. and W. Zuleger. 1994. Examination of feeds for salmonella infestation. CAB ABSTRACT 1993-1994
- Silliker, J. H. , R. P. , Elliott, A.C. Baird-Parker, F. L. , Bryan, J. H. B. Christian, D. S. Clark, J. C. Olson, Jr. and T. A. Roberts. 1980. Microbial ecology of foods. Academic press, New York. 997 p.
- Takano , N. 1972 . Grassland farming part 4 , Silage ASPEC – FFTC . Extension Butellin No. 23
- The International Commission on Microbiological Specification for Food on the International Union of Biological Societies. 1996. Microorganism in food 5 microbiological specification of food pathogens. Blackie Academic & Professionals, London. 513 p.
- Yeoh and Quee Lan. 1980. The status of research on fish silage in Malasia , pp. 19-23. In FAO Fishery Report No. 230. FAO, Rome.





เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### การเตรียมสารละลายสำหรับเชื้อจางตัวอย่าง

สารละลายที่ใช้สำหรับเชื้อจางตัวอย่าง คือ Peptone water ซึ่งมีส่วนประกอบ ดังนี้

- Peptone from meat      1 กรัม
- NaCl                              8.5 กรัม
- น้ำกลั่น                              1000 มิลลิลิตร

### วิธีการเตรียม

- นำ peptone , NaCl มาละลายในน้ำกลั่นจนละลายหมด
- นำ peptone water มาแบ่งลงใส่หลอดทดลองหลอดละ 9.3 ml ตามจำนวนหลอดที่ต้องการ
- นำไปทำให้ปลอดเชื้อในตู้นิ่งฆ่าเชื้อโรคโดยใช้ความดันไอน้ำ โดยใช้อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

### การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

#### 1. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar (PCA)

- 1.1 ตวงน้ำ 1000 ml ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 1000 ml
- 1.2 ชั่ง TSB 22 g เทลงในบีกเกอร์ นำไปต้มโดยใช้แท่งแก้วคนตลอดเวลาเพื่อป้องกันไม่ให้อาหารเลี้ยงเชื้อไหม้และติดกันขวด
- 1.3 ต้มจนกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อละลายจนหมดและใส
- 1.4 เทใส่ลงใน flask ขนาด 500 ml ในปริมาณ 250 ml
- 1.5 ใช้สำลีอุดปาก flask แล้วปิดทับด้วยกระดาษ แล้วรัดด้วยหนังยาง
- 1.6 นำอาหารเลี้ยงเชื้อไปทำให้ปลอดเชื้อ ในตู้นิ่งฆ่าเชื้อโรคโดยใช้ความดันไอน้ำ โดยใช้อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

#### 2. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Soy Broth (TSB)

- 2.1 น้ำ 1000 ml ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 1000 ml
- 2.2 ชั่ง TSB 30 g เทลงในบีกเกอร์ นำไปต้มโดยใช้แท่งแก้วคนตลอดเวลาเพื่อป้องกันไม่ให้อาหารเลี้ยงเชื้อไหม้และติดกันขวด
- 2.3 ต้มจนกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อละลายจนหมดและใส
- 2.4 เทใส่ลงใน flask ขนาด 500 ml ในปริมาณ 250 ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 2.5 ใช้สำลีสูดปาก flask แล้วปิดทับด้วยกระดาษ แล้วมัดด้วยหนังยาง
  - 2.6 นำอาหารเลี้ยงเชื้อไปทำให้ปลอดเชื้อ ในตู้นิ่งฆ่าเชื้อโรคโดยใช้ความดันไอน้ำ โดยใช้อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 15 นาที
3. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Tetrathionate Broth base (TTB)
- 3.1 ตวงน้ำ 1000 ml ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 1000 ml
  - 3.2 ชั่ง TTB 46 g เติลงในบีกเกอร์ นำไปต้มโดยใช้แท่งแก้วคนตลอดเวลาเพื่อป้องกันไม่ให้อาหารเลี้ยงเชื้อไหม้และติดกันขวด
  - 3.3 ต้มจนกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อละลายจนหมดและใส
  - 3.4 เติมสารละลาย Iodine ร่วมกับสารละลาย Brilliant green ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TTB
  - 3.5 ใส่ลงในหลอดทดลองที่ผ่านการทำให้ปลอดเชื้อ ในตู้นิ่งฆ่าเชื้อโรคโดยใช้ความดันไอน้ำ โดยใช้อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที หลอดละ 10 ml
4. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Hektoen enteric agar (HE)
- 4.1 ตวงน้ำ 1000 ml ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 1000 ml
  - 4.2 ชั่ง HE 75 g เติลงในบีกเกอร์ นำไปต้มโดยใช้แท่งแก้วคนตลอดเวลาเพื่อป้องกันไม่ให้อาหารเลี้ยงเชื้อไหม้และติดกันขวด
  - 4.3 ต้มจนกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อละลายจนหมดและใส
  - 4.4 เทใส่ลงใน plate
  - 4.5 ทิ้งไว้ให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง
5. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Xylose Lysine Desoxycholate (XLD)
- 5.1 ตวงน้ำ 1000 ml ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 1000 ml
  - 5.2 ชั่ง XLD 55 g เติลงในบีกเกอร์ นำไปต้มโดยใช้แท่งแก้วคนตลอดเวลาเพื่อป้องกันไม่ให้อาหารเลี้ยงเชื้อไหม้และติดกันขวด
  - 5.3 ต้มจนกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อละลายจนหมดและใส
  - 5.4 เทใส่ลงใน plate
  - 5.5 ทิ้งไว้ให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง

6. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Triple sugar iron agar (TSI)
  - 6.1 ตวงน้ำ 1000 ml ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 1000 ml
  - 6.2 ชั่ง TSI 65 g เติลงในบีกเกอร์ นำไปต้มโดยใช้แท่งแก้วคนตลอดเวลาเพื่อป้องกันไม่ให้อาหารเลี้ยงเชื้อไหม้และติดกันขวด
  - 6.3 ต้มจนกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อละลายจนหมดและใส
  - 6.4 เทใส่ลงในหลอดทดลองฝาเกลียว
  - 6.5 นำอาหารไปทำให้ปลอดเชื้อ ในตู้นิ่งฆ่าเชื้อโรคโดยใช้ความดันไอน้ำ โดยใช้ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที หลอดละ 10 ml
  - 6.6 เชียงหลอดให้เป็น slant
7. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Lysine Indole Motility (LIM)
  - 7.1 ตวงน้ำ 1000 ml ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 1000 ml
  - 7.2 ชั่ง LIM 36.5 g เติลงในบีกเกอร์ นำไปต้มโดยใช้แท่งแก้วคนตลอดเวลาเพื่อป้องกันไม่ให้อาหารเลี้ยงเชื้อไหม้และติดกันขวด
  - 7.3 ต้มจนกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อละลายจนหมดและใส
  - 7.4 ใส่ลงในหลอดขนาดเล็ก หลอดละ 3 ml
  - 7.5 นำอาหารเลี้ยงเชื้อไปทำให้ปลอดเชื้อ ในตู้นิ่งฆ่าเชื้อโรคโดยใช้ความดันไอน้ำ โดยใช้ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

**ตารางผนวกที่ 1** การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนจุลินทรีย์โดยรวมที่พบในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดโฟลิก กรดฟอร์มิก และกรดโฟลิกร่วมกับกรดฟอร์มิก เมื่อเริ่มหมัก

SOV	DF	SS	MS	F
Treatment	3	210.8548153	70.2849384	99999.99**
Error	12	0.0078618	0.0006551	
Total	15	210.8626771		

\*\* ความแตกต่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

**ตารางผนวกที่ 2** การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนจุลินทรีย์โดยรวมที่พบในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดโฟลิก กรดฟอร์มิก และกรดโฟลิกร่วมกับกรดฟอร์มิก เป็นเวลา 6 สัปดาห์

SOV	DF	SS	MS	F
Treatment	20	360.7230073	18.0361504	17826.11**
A	2	76.9964985	38.4982492	38049.92**
B	6	241.2632131	40.2105355	39742.27**
AxB	12	42.4632957	3.538608	3497.40**
Error	63	0.0637423	0.0010118	
Total	83	360.7867496		

A ชนิดของกรดที่ใช้หมัก

B ระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก

\*\* ความแตกต่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางผนวกที่ 3** การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความเป็นกรด-ด่างในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดโพรพิโอนิก กรดฟอร์มิก และกรดโพรพิโอนิกร่วมกับกรดฟอร์มิกเมื่อเริ่มหมัก

SOV	DF	SS	MS	F
Treatment	3	11.08916667	3.69638889	1478.56**
Error	8	0.02	0.0025	
Total	11	11.10916667		

\*\* ความแตกต่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

**ตารางผนวกที่ 4** การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความเป็นกรด-ด่างในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดโพรพิโอนิก กรดฟอร์มิก และกรดโพรพิโอนิกร่วมกับกรดฟอร์มิกเป็นเวลา 6 สัปดาห์

SOV	DF	SS	MS	F
Treatment	20	15.75047619	0.78752381	101.25**
A	2	4.65809524	2.32904762	299.45**
B	6	10.58380952	1.76396825	226.80**
AxB	12	0.50857143	0.04238095	5.45**
Error	42	0.32666667	0.00777778	
Total	62	16.07714286		

A ชนิดของกรดที่ใช้หมัก

B ระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก

\*\* ความแตกต่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

การวิเคราะห์ทางสถิติ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SAS (Statistical Analysis System) Version 6.03 ประกอบด้วย data step และ proc step ดังนี้

การวิเคราะห์ทางสถิติ จำนวนจุลินทรีย์โดยใช้ CRD (โดยใช้กรดโพธิ์อินิก กรดฟอร์มิก และกรดโพธิ์อินิกร่วมกับกรดฟอร์มิก ในวันเริ่มหมัก)

DATA CRD;

input treat rep colony;

CARDS;

1 1 8.55145

1 2 8.47129

1 3 8.51587

1 4 8.51055

2 1 5.45939

2 2 5.48287

2 3 5.48855

2 4 5.52114

3 1 5.45332

3 2 5.41497

3 3 5.45939

3 4 5.44716

4 1 14.34242

4 2 14.37291

4 3 14.38021

4 4 14.33445

PROC GLM;

CLASS TREAT;

MODEL COLONY=TREAT;

LSMEANS TREAT/PDIFF STDERR;

RUN;



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์ทางสถิติ จำนวนจุลินทรีย์โดยใช้กรดโพรฟิโอนิก กรดฟอร์มิก และกรดโพรฟิโอนิกร่วมกับกรดฟอร์มิก ในสัปดาห์ที่ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 (3x7 Factorial in CRD)

DATA PCA;

DO ACID=1 TO 3;

DO WEEK=1 TO 7;

DO REP=1 TO 4;

INPUT COLONY@;

OUTPUT;

END;

END;

END;

CARDS;

8.55145	8.47129	8.51587	8.51055
7.87852	7.89209	7.87157	7.90309
8.58883	8.68485	8.61909	8.5611
10.57054	10.53148	10.58433	10.55145
11.79796	11.81424	11.83759	11.76342
8.53656	8.51055	8.55145	8.46538
6.59329	6.57054	6.57519	6.55145
5.45939	5.48287	5.48855	5.52114
5.25527	5.2833	5.32634	5.30103
9.37291	9.42813	9.31806	9.40824
9.60206	9.57054	9.62325	9.58433
9.61066	9.64738	9.66276	9.68124
4.80346	4.84757	4.82737	4.82217
3.939345	3.9222	3.95809	3.96755
5.45332	5.41497	5.45939	5.44716
6.92428	6.80618	6.90309	6.77815

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7.65896 7.62737 7.69897 7.65128  
 7.61489 7.59329 7.62737 7.62325  
 9.6149 9.63949 9.64738 9.65128  
 5.53656 5.54654 5.5611 5.54654  
 5.58883 5.57978 5.54158 5.52633

;

PROC GLM;

CLASS ACID WEEK;

MODEL COLONY=ACID WEEK ACID\*WEEK;

LSMEANS ACID WEEK ACID\*WEEK/PDIFF STDERR;

RUN;



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยใช้ CRD (โดยใช้กรดโพธิ์อินิก กรดฟอร์มิก และกรดโพธิ์อินิกร่วมกับกรดฟอร์มิก ในวันเริ่มหมัก)

DATA PHWO;

INPUT TREAT REP PH;

CARDS;

1 1 5.2

1 2 5.3

1 3 5.3

2 1 4.4

2 2 4.3

2 3 4.4

3 1 4.5

3 2 4.6

3 3 4.5

4 1 6.8

4 2 6.8

4 3 6.8

PROC GLM;

CLASS TREAT;

MODEL PH=TREAT;

LSMEANS TREAT/PDIFF STDERR;

RUN;



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยใช้กรดโพธิ์อินิก กรดฟอร์มิก และ กรดโพธิ์อินิกร่วมกับกรดฟอร์มิก ในสัปดาห์ที่ 1 ; 2 , 3 , 4 , 5 และ 6 (3x7 Factorial in CRD)

DATA ALLPH;

DO ACID=1 TO 3;

DO WEEK=1 TO 7;

DO REP=1 TO 3;

INPUT PH@;

OUTPUT;

END;

END;

END;

CARDS;

5.2 5.3 5.3

5.6 5.4 5.4

6.2 6 6

6.4 6.3 6.4

6 6 6

5.9 5.9 6.1

5.8 5.8 5.6

4.4 4.3 4.4

4.9 4.7 4.8

5.3 5.2 5.2

5.7 5.9 5.6

5.6 5.8 5.6

5.3 5.4 5.3

5.1 5 5.2

4.5 4.6 4.5



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.5.2 5.2

5.6 5.5 5.6

6.2 6.1 6

5.8 5.7 5.7

5.5 5.5 5.5

5.6 5.5 5.5

;

PROC GLM;

CLASS ACID WEEK;

MODEL PH=ACID WEEK ACID\*WEEK;

LSMEANS ACID WEEK ACID\*WEEK/PDIFF STDERR;

RUN;



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้