สำนักหอสมุดกลาง สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ

การศึกษาการอยู่รอดของเชื้อ *E.coli* , *Salmonella enteritidis* และ *Staphylococcus aureus* ในระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์มายองเนส

(Study on Survival of *E.coli* , *Salmonella enteritidis* and *Staphylococcus aureus* during Storage Mayonnaise Product)

T097040

นางสาวจีริน พลานุเวช

เสนอ

ปค.
จ541ก
2541

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....97040
วัน,เดือน,ปี.....5 JUN 2541

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต (อุตสาหกรรมเกษตร)

พ.ศ. 2541

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1816

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การศึกษาการอยู่รอดของเชื้อ *E.coli* , *Salmonella enteritidis* และ *Staphylococcus aureus* ในระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์มายองเนส

(Study on Survival of *E.coli* , *Salmonella enteritidis* and *Staphylococcus aureus* during Storage Mayonnaise Product)

โดย

น.ส.จิรินพลานุเวช

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

..../...../..... **อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ**

( )

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

.....

( )

หัวหน้าภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

15467
-7 ก.ค. 2541

จฬ.
ว 5411
2540

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จีริน พลานุเวช. 2541. : การศึกษาการอยู่รอดของเชื้อ *E.coli* , *Salmonella enteritidis* และ *Staphylococcus aureus* ในระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์มายองเนส (Study on Survival of *E.coli* , *Salmonella enteritidis* and *Staphylococcus aureus* during Storage Mayonnaise Product) . ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
อาจารย์ที่ปรึกษา : ผศ.ดร.ประภาพร ขอไพบูลย์ , 45 หน้า

น้ำสลัดหรือมายองเนส (Mayonnaise) จัดได้ว่าเป็นซอสเย็นเนื่องจากในกระบวนการผลิตจะใช้ความเย็นช่วยในการทำให้เกิดอีมัลชัน (emulsion) โดยไม่มีการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนแต่อย่างใด จึงมีความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษได้แก่ *Staphylococcus aureus* , *Salmonella enteritidis* และ *Escherichia coli* จากวัตถุดิบ หรือขั้นตอนการผลิตและการบรรจุได้ ปัจจัยหลักในการยับยั้งและทำลายเชื้อจุลินทรีย์คือความเป็นกรดและสารกันเสียในผลิตภัณฑ์มายองเนส ในการทดลองนี้เป็นการศึกษาการอยู่รอดของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ที่ถ่ายเชื้อลงในมายองเนสที่มีการเติมโซเดียมเบนโซเอท (Sodium benzoate) ร้อยละ 0.09 ที่มีค่า pH 4.0 $\pm$ 0.1 และ 4.5 $\pm$ 0.1 ในระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 35 วันที่อุณหภูมิห้อง พบว่าภายหลังการเก็บรักษามายองเนสที่มีค่า pH 4.0 $\pm$ 0.1 และ 4.5 $\pm$ 0.1 เป็นเวลา 7 วัน ตรวจไม่พบเชื้อ *S.enteritidis* และ *E.coli* ส่วนเชื้อ *S.aureus* สามารถตรวจพบได้แต่มีแนวโน้มลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษา โดยมายองเนสที่มีค่า pH 4.0 $\pm$ 0.1 ในวันที่ 7,14,21,28 และ 35 ของระยะเวลาการเก็บรักษา พบว่าเชื้ออยู่รอดในผลิตภัณฑ์ร้อยละ 28.85,25.31,21.77,17.35 และ 0 ตามลำดับ ส่วนมายองเนสที่มีค่า pH 4.5 $\pm$ 0.1 ในวันที่ 7,14,21,28 และ 35 ของระยะเวลาการเก็บรักษา พบว่าเชื้ออยู่รอดในผลิตภัณฑ์ร้อยละ 41.73,28.01,24.05,19.82 และ 14.14 ตามลำดับ ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของค่า pH พบว่าค่า pH ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาเป็นเวลา 35 วัน ที่อุณหภูมิห้อง

.....	.....	18/3/41
ลายมือชื่อนักศึกษา	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา	วัน/เดือน/ปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

รายงานปัญหาพิเศษฉบับนี้ สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีนั้น ผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.ประภาพร ขอไพบูลย์ เป็นอย่างสูง ที่กรุณาเป็นอาจารย์ที่ปรึกษา ให้คำแนะนำ และตรวจสอบแก้ไข ปัญหาพิเศษฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ รศ.ดร. วราวุฒิ ครูส่ง และ ผศ.เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์ ที่กรุณาเป็นกรรมการที่ปรึกษาและให้ความช่วยเหลือด้านการศึกษาอย่างดียิ่งตลอดมา

ขอกราบขอบพระคุณ อ.วิไล สนธิเพิ่มพูน ที่เป็นผู้ชี้แนะ และให้ความช่วยเหลือในการริเริ่มทำปัญหาพิเศษฉบับนี้

ขอขอบพระคุณบริษัท กริฟฟิทท์ ลาบอรา ทอร์รี่ส์ ประเทศไทยจำกัด และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทุกท่าน ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการผลิตมายองเนสเพื่อทำการทดลองในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ นายสมยศ ตันติวงศ์วาณิช ที่กรุณาให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือและสารเคมีต่างๆรวมทั้งให้คำแนะนำ ข้อมูลทางวิชาการ และเทคนิคในการทำการทดลองด้วยดีเสมอมา

ขอขอบคุณ นายวุฒิ ทิณพงษ์ ที่ค่อยให้กำลังใจในการทำการทดลอง และทำการถ่ายภาพรวมทั้งการทำภาพสไลด์ ทำให้ปัญหาพิเศษฉบับนี้มีสีสันมากขึ้น

ขอขอบคุณ นางสาว พรพรรณ เสรีเจริญ สถิตย์ ที่ช่วยทำการทดลองบางส่วนให้เสร็จสมบูรณ์ไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณ ดร.สมเกียรติ วรปัญญาอนันต์ ที่กรุณาช่วยแปลเนื้อหาบางส่วนที่เป็นภาษาฝรั่งเศส ซึ่งผู้จัดทำไม่มีความสามารถเพียงพอ

ขอขอบคุณ บราวนี่ ผู้ซื่อสัตย์ ที่ค่อยอยู่เป็นเพื่อนตลอดระยะเวลาการทำรูปเล่มของปัญหาพิเศษฉบับนี้

ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่ห้องธุรการและห้องปฏิบัติการ ที่ให้ความช่วยเหลืออำนวยความสะดวกในระหว่างการปฏิบัติงาน รวมทั้งขอขอบคุณเพื่อนๆ น้องๆ ทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจอย่างดีจนได้รับความสำเร็จ

สำหรับผู้ที่ไม่อาจลืมกราบขอบพระคุณได้เลยเพราะเป็นผู้สร้างและให้โอกาสแก่ผู้จัดทำได้มีปัญหาพิเศษและปริญญานี้ คือ คุณพ่อ คุณแม่ และคุณย่า หากว่าปัญหาพิเศษฉบับนี้มีประโยชน์อยู่บ้าง ผู้จัดทำขออุทิศให้แก่บรรพบุรุษ และเจ้ากรรมนายเวร

นางสาวจีริน พลานุเวช

มีนาคม 2541

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญ

	หน้า
บทคัดย่อ	i
กิตติกรรมประกาศ	ii
สารบาญ	iii
สารบาญตาราง	iv
สารบาญภาพ	v
สารบาญภาพภาคผนวก	vii
บทที่	
1.บทนำ	1
2.วารสารปริทัศน์	3
2.1ประวัติความเป็นมาของมายองเนส	3
2.2การปนเปื้อนของผลิตภัณฑ์มายองเนส	3
2.3มาตรฐานของผลิตภัณฑ์มายองเนส	8
2.4การใช้หลักการ hurdle ในการควบคุมความปลอดภัยในผลิตภัณฑ์มายองเนส	9
2.5บทบาทของสารกันเสียในผลิตภัณฑ์มายองเนส	11
3.อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	13
3.1วัตถุดิบ	13
3.2อุปกรณ์และสารเคมี	13
3.3วิธีการทดลอง	14
4.ผลการทดลอง	18
4.1ลักษณะทางกายภาพของมายองเนสที่มีค่า pH 4.0 ± 0.1 และ 4.5 ± 0.1	18
4.2ผลการตรวจวิเคราะห์ทางด้านจุลินทรีย์ของมายองเนสที่มีค่า pH 4.0 ± 0.1	25
4.3 ผลการตรวจวิเคราะห์ทางด้านจุลินทรีย์ของมายองเนสที่มีค่า pH 4.5 ± 0.1	27
4.4ผลการตรวจวัดค่า pH ของมายองเนสที่มีค่า pH 4.0 ± 0.1 และ4.5 ± 0.1 ภายหลังการเก็บรักษาไว้ 35 วันที่อุณหภูมิห้อง	31
5.สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	33
เอกสารอ้างอิง	35
ภาคผนวก	37
ประวัติผู้เขียน	48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	ตัวอย่างของผลิตภัณฑ์ที่มีการใช้ปัจจัย hurdle ในการควบคุมความคงตัวและความปลอดภัย	10
3.1	แสดงขั้นตอนการผลิตมายองเนส ของบริษัทกริฟฟิทท์ลาร์บอราทอรี่ส์ประเทศไทยจำกัด	14
4.1	มายองเนสที่ใช้เป็นตัวอย่างเปรียบเทียบที่มีค่าpH 4.0 ± 0.1 ในระยะเวลาการเก็บรักษา 35 วัน ที่อุณหภูมิห้อง	21
4.2	มายองเนสที่มีการถ่ายเชื้อ *S.enteritidis* ที่มีค่า pH 4.0 ± 0.1 ในระยะเวลาการเก็บรักษา 35 วัน ที่อุณหภูมิห้อง	21
4.3	มายองเนสที่มีการถ่ายเชื้อ *S.aureus* ที่มีค่า pH 4.0 ± 0.1 ในระยะเวลาการเก็บรักษา 35 วัน ที่อุณหภูมิห้อง	22
4.4	มายองเนสที่มีการถ่ายเชื้อ *E.coli* ที่มีค่า pH 4.0 ± 0.1 ในระยะเวลาการเก็บรักษา 35 วัน ที่อุณหภูมิห้อง	22
4.5	มายองเนสที่ใช้เป็นตัวอย่างเปรียบเทียบที่มีค่าpH 4.5 ± 0.1 ในระยะเวลาการเก็บรักษา 35 วัน ที่อุณหภูมิห้อง	23
4.6	มายองเนสที่มีการถ่ายเชื้อ *S.enteritidis* ที่มีค่า pH 4.5 ± 0.1 ในระยะเวลาการเก็บรักษา 35 วัน ที่อุณหภูมิห้อง	23
4.7	มายองเนสที่มีการถ่ายเชื้อ *S.aureus* ที่มีค่า pH 4.5 ± 0.1 ในระยะเวลาการเก็บรักษา 35 วัน ที่อุณหภูมิห้อง	24
4.8	มายองเนสที่มีการถ่ายเชื้อ *E.coli* ที่มีค่า pH 4.5 ± 0.1 ในระยะเวลาการเก็บรักษา 35 วัน ที่อุณหภูมิห้อง	24
4.9	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อแต่ละชนิดในแต่ละตัวอย่างของมายองเนสที่มีค่า pH 4.0 ± 0.1 กับระยะเวลาการเก็บรักษา	27
4.10	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อแต่ละชนิดในแต่ละตัวอย่างของมายองเนสที่มีค่า pH 4.5 ± 0.1 กับระยะเวลาการเก็บรักษา	29
4.11	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละของเชื้อ *S.aureus* ที่อยู่รอดกับระยะเวลาการเก็บรักษามายองเนสที่มีค่า pH 4.0 ± 0.1 และ 4.5 ± 0.1	30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.12 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดที่อยู่รอดกับระยะเวลาการเก็บรักษามายองเนสที่มีค่า pH 4.0 ± 0.1 และ 4.5 ± 0.1 31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพภาคผนวกที่		หน้า
1	เชื้อ *S.enteritidis* ที่ใช้ในการทดลองถ่ายลงไปในมายองเนส	37
2	เชื้อ *S.aureus* ที่ใช้ในการทดลองถ่ายลงไปในมายองเนส	37
3	เชื้อ *E.coli* ที่ใช้ในการทดลองถ่ายลงไปในมายองเนส	38
4	การตรวจนับโดยวิธี spread plate หาเชื้อ *Salmonella spp.* ในอาหาร XLD Agar	40
5	การตรวจนับโดยวิธี spread plate หาเชื้อ *S.aureus* ในอาหาร MS-EY Agar	42
6	การตรวจนับโดยวิธี spread plate หาเชื้อ *E.coli* ในอาหาร EMB Agar	44
7	การตรวจนับโดยวิธี spread plate หาเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด ในอาหาร PCA	46
8	เครื่อง KORUMA ใช้ในการผลิตมายองเนสของบริษัท กริฟฟิทท์ ลาบอราทอร์รี่ส์	47

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

ปัจจุบันผู้บริโภคมีแนวโน้มในการยอมรับอาหารจากชาติตะวันตกมากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งอาหารที่เรียกว่า "fast food" เช่น สลัด ซึ่งกำลังเป็นที่ได้รับความนิยมในหมู่วัยรุ่นไทย โดยทั่วไปอาหารชนิดนี้ประกอบด้วยผักนานาชนิด และน้ำสลัด หรือที่เรียกกันว่ามายองเนส (Mayonnaise) นั่นเอง ส่วนประกอบหลักของมายองเนสจะประกอบไปด้วย น้ำมันพืช น้ำตาลทรายขาว น้ำส้มสายชูกลั่น 10% และไข่แดงผง ส่วนในกระบวนการผลิตถือว่า มายองเนสเป็นซอสเย็น คือจะใช้ความเย็นช่วยในการทำให้เกิดอีมัลชั่น (emulsion) โดยไม่มีการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนแต่อย่างใด จึงมีความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคได้ ปัจจัยหลักในการยับยั้งหรือทำลายเชื้อจุลินทรีย์คือความเป็นกรดในผลิตภัณฑ์ ทั่วไปตามความต้องการของท้องตลาดมายองเนสที่มีรสชาติถูกปากผู้บริโภคชาวไทย จะมีค่าความเป็นกรดด่าง (pH) อยู่ที่ 4.0-4.5 จึงจัดว่ามายองเนสเป็นอาหารประเภทที่มีกรด (acid foods) คือมีค่า pH อยู่ในช่วง 3.7-4.5 (Desrosier,1970) นอกจากนี้สารกันเสียที่เติมลงในผลิตภัณฑ์ยังเป็นปัจจัยหนึ่งที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้

ปัจจุบันได้มีการศึกษาปัจจัยต่างๆที่มีผลในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหาร โดยเฉพาะจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค (pathogens) และมีการนำปัจจัยเหล่านั้นมาประยุกต์ใช้ในกระบวนการผลิตอาหารเพื่อทำให้เกิดความปลอดภัย (safe) ความคงตัว (stable) คุณค่าทางอาหาร (nutrition) และรสชาติ (tasty) ที่ดีขึ้น ความปลอดภัยของอาหารและการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายชนิดร่วมกัน ซึ่งเรียกปัจจัยรวมเหล่านี้ว่า hurdle ซึ่งจะทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ ผลของ hurdle นี้เป็นพื้นฐานสำคัญในการถนอมอาหาร ควบคุมการเน่าเสียของผลิตภัณฑ์จากจุลินทรีย์ และป้องกันการเกิดอาหารเป็นพิษ นอกจากนี้ hurdle technology ที่นำมาใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์นั้น ยังเกี่ยวพันไปถึงหลักการของระบบ HACCP ซึ่งใช้ในการควบคุมกระบวนการผลิต จึงแนะนำให้มีการใช้ hurdle technology ในผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิด เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ให้สามารถผลิตเป็นอุตสาหกรรมได้

ปัจจัย hurdle ที่เป็นที่รู้จักกันดีได้แก่ a_w , ค่า pH , อุณหภูมิ และ สารกันเสีย (preservative) เป็นต้น ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการควบคุมจำนวนจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์อาหาร มายองเนสเป็นผลิตภัณฑ์ที่ไม่ได้ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนแต่อย่างใด แต่ผลิตภัณฑ์ชนิดนี้โดยทั่วไปแล้วจะมีค่า pH ประมาณ 4.0-4.5 ซึ่งจัดอยู่ในประเภทอาหารที่เป็นกรด ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าความเป็นกรด และสารกันเสียที่เติมในผลิตภัณฑ์ จึงจัดเป็นปัจจัย hurdle ที่จะสามารถยับยั้งและทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ที่อาจปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ได้ เชื้อจุลินทรีย์ที่อาจปนเปื้อนมาจากไข่แดงผง ซึ่งเป็นวัตถุดิบสำคัญ หรือปนเปื้อนในระหว่างการผลิต และการบรรจุมายองเนส ได้แก่เชื้อ *Salmonella spp., E. coli* และ *S. aureus* ซึ่งเชื้อแต่ละชนิดสามารถเจริญเติบโตได้ที่ค่า pH 4.5-9.0 , 4.4-9.0 และ 4.0-9.8 ตามลำดับ (Varnam,1991)

ในการทดลองนี้จึงเป็นการศึกษาผลของค่า pH ในผลิตภัณฑ์มายองเนสที่มีการเติมสารกันเสีย ต่อการยับยั้งและทำลายเชื้อจุลินทรีย์ ที่อาจปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ ได้แก่ *E. coli S. enteritidis* และ *S. aureus* ในระหว่างการเก็บรักษา โดยได้ทำการทดลองถ่ายเชื้อบริสุทธิ์ของ *E. coli* , *S. enteritidis* และ *S. aureus* ลงในผลิตภัณฑ์มายองเนสที่มีค่า pH ที่ 4.0±0.1และ 4.5±0.1 เพื่อศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างค่า pH ต่ออัตราการอยู่รอดของเชื้อแต่ละชนิด ในระหว่างการเก็บรักษา

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาอัตราการอยู่รอดของเชื้อ *E coli* , *S. aureus*และ *S. enteritidis*ในผลิตภัณฑ์มายองเนสที่มีสารกันเสียร้อยละ 0.09 และมีค่า pH ที่ 4.0 ± 0.1 และ 4.5 ± 0.1 ในระหว่างการเก็บรักษา
2. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ระหว่างการเก็บรักษามายองเนส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 ประวัติและความเป็นมาของมายองเนส

มายองเนส (Mayonnaise) จัดว่าเป็นซอสเย็น ซึ่งมีต้นกำเนิดมาจากประเทศฝรั่งเศส โดยเกิดจากการตีไข่แดงแล้วเติมน้ำมันพืชทีละน้อย จนเกิดลักษณะอีมัลชันเป็นครีมข้นขาว และอาจมีการเติมรสชาติโดยใส่น้ำมะนาว มาสตาด หรือน้ำส้มสายชู ถึงอย่างไรก็ตามซอสชนิดนี้จะมีรสชาติค่อนข้างจืด จึงมีการดัดแปลงรสชาติของมายองเนสตามความชอบของผู้บริโภค เช่น mayonnaise verte (มายองเนสที่มีการเติมเครื่องเทศสีเขียวที่บดละเอียด) sauce re′moulade (มายองเนสที่มีการเติม ปลาเค็ม แตงกวาดอง และเม็ดเคเปอร์) เป็นต้น

รากศัพท์ของคำว่ามายองเนสยังไม่มีผู้ใดทราบที่มาอย่างแท้จริง อาจมาจากคำว่า mayeunaise ซึ่งคำว่า moyeu นั้นเป็นคำฝรั่งเศสโบราณแปลว่าไข่แดง แต่พ่อครัวที่มีชื่อเสียงของฝรั่งเศสท่านหนึ่งที่ชื่อว่า Marie-Antoine Care′me ได้กล่าวว่าน่าจะมาจากคำว่า manier ซึ่งเป็นคำกิริยาแปลว่าการตี (Goetz,1988)

มายองเนสจากชาติตะวันตกมีค่า pH 3.6-4.0 และมีค่าร้อยละ acidity 0.29-0.50 โดยคิดจากปริมาณกรดอะซิติกทั้งหมดที่มีในผลิตภัณฑ์ มีค่า a_w 0.925 ในส่วนต่อเนื่องหรือส่วนที่เป็นน้ำจะประกอบไปด้วย เกลือร้อยละ 9-11 และน้ำตาลร้อยละ 7-10 (Jay,1992) ลักษณะอีมัลชันที่เกิดเป็นชนิดน้ำมันในน้ำ (oil in water emulsion) คือมีน้ำมันเป็นส่วนไม่ต่อเนื่อง (discontinuous phase) และน้ำเป็นส่วนต่อเนื่อง (continuous phase) ในการทำให้เกิดอีมัลชั่นจะใช้วิธีโฮโมจิไนซ์ มายองเนสจะมีปริมาณน้ำมันมากกว่าร้อยละ 70 อัตราส่วน P/V (phase volume ratio) หรือสัดส่วนปริมาตรของส่วนที่ไม่ต่อเนื่อง จะมีค่าสูงมากทำให้มีเสถียรภาพต่ำ การเตรียมจะทำโดยผสมอย่างระมัดระวังและถูกต้องที่อุณหภูมิต่ำ และใช้สารช่วยให้เกิดอีมัลชั่น (กิติพงษ์,2535)

2.2 การปนเปื้อนของผลิตภัณฑ์มายองเนส

ในการผลิตมายองเนสจะมีการใช้ความเย็นช่วยในการทำให้เกิดอีมัลชั่น จึงจัดว่ามายองเนสเป็นซอสเย็น ความเย็นที่ใช้ในระหว่างโฮโมจีไนซ์ จะอยู่ในช่วงอุณหภูมิ 10-20 องศาเซลเซียส เพื่อให้เกิดอีมัลชั่นที่มีความเสถียรมากขึ้น ซึ่งอุณหภูมิดังกล่าวไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ใดๆเลย จึงกล่าวได้ว่าในขั้นตอนการผลิตมายองเนสไม่มีการใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุณหภูมิในการยับยั้งการเจริญเติบโตหรือทำลายเชื้อจุลินทรีย์แต่อย่างใด ในการปนเปื้อนของผลิตภัณฑ์ชนิดนี้อาจเกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสีย (spoilage organisms) หรือเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (pathogen organisms) ซึ่งอาจปนเปื้อนมากับวัตถุดิบหรือในกระบวนการผลิตและบรรจุได้

<u>จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียในมายองเนส (spoilage organisms)</u>

ในการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ประเภทนี้มักมากับวัตถุดิบ เช่นน้ำตาลหรือเครื่องเทศต่างๆ ส่วนมากเป็นยีสต์ในตระกูล *Saccharomyces* ที่มักพบในผลิตภัณฑ์มายองเนส ส่วนแบคทีเรียที่ตรวจพบมีเพียง 2 ชนิดเท่านั้นคือ *Lactobacillus brevis* ซึ่งทำให้เกิดก๊าซขึ้นในผลิตภัณฑ์ และ *Bacillus vulgatus* ทำให้มายองเนสมีสีคล้ำและเกิดการแยกชั้นขึ้น จากการตรวจสอบพบว่าเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวมักปนเปื้อนมากับ พริกไทยและปาปริก้า ซึ่งเป็นเครื่องเทศที่ใส่ลงในมายองเนส ส่วนเชื้อราจะเจริญบริเวณผิวหน้าที่มีปริมาณออกซิเจนเพียงพอเท่านั้น

การเสื่อมเสียของมายองเนสโดยเชื้อจุลินทรีย์ประเภทนี้ส่วนใหญ่จะทำให้เกิดก๊าซ และกลิ่นของกรดบิวทีริก ขึ้นในผลิตภัณฑ์ก่อนการแยกชั้นที่ตามมาภายหลัง จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดความเสื่อมเสียในมายองเนสมักเป็นชนิดที่สามารถหมักน้ำตาลได้ ซึ่งสามารถเจริญเติบโตในขณะที่ค่า pH ในผลิตภัณฑ์ยังคงต่ำอยู่ ซึ่งมีผลในการป้องกันจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยโปรตีน และไขมันได้อย่างสิ้นเชิง ด้วยเหตุนี้จึงทำให้ตรวจพบยีสต์ และแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติในผลิตภัณฑ์มายองเนสที่มีการเสื่อมเสียเป็นส่วนใหญ่

<u>เชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดอาหารเป็นพิษในมายองเนส</u>

ในการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ประเภทนี้มักมาจากวัตถุดิบเช่น ไข่แดงผง และอาจเกิดการปนเปื้อนในขณะขบวนการผลิต หรือการบรรจุโดยจากพนักงานผู้ปฏิบัติงานเอง แต่มายองเนสที่มีการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ประเภทนี้ จะไม่ปรากฏลักษณะเสื่อมเสียทางกายภาพให้เห็นแต่อย่างใด แตกต่างจากมายองเนสที่มีการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดความเสื่อมเสีย จะปรากฏลักษณะเสื่อมเสียอย่างชัดเจน ฉะนั้นการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค จึงมีความอันตรายต่อผู้บริโภคมากกว่า ดังนั้นควรเคร่ง ครัดและระมัดระวังในการผลิตเป็นพิเศษ เพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ประเภทนี้ ซึ่งได้แก่เชื้อ *S.aureus* , *Salmonella spp.* และ *E.coli*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก. *S.aureus* เป็นเชื้อแบคทีเรียที่มีรูปร่างกลม แกรมบวก มีการเกาะกันเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น หรืออยู่เป็นคู่ๆ มักพบในอาหารที่เป็นของแข็ง (solid media) มากกว่าอาหารที่เป็นของเหลว (liquid media) มีลักษณะโคโลนีสีทอง เหลือง หรือไม่มีสี เป็นมันวาวและเรียบนูน เมื่อเจริญบนอาหารแข็ง coagulase positive หรือมี Staphylocoagulase เป็น extracellular enzyme ซึ่งช่วยเร่งปฏิกิริยาการแข็งตัวของ plasma และสำหรับ coagulase ที่สร้างขึ้นนี้ จะเป็นสารที่แสดงถึงความเป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคของ *Staphylococcus* เป็นพวก facultative anaerobe และสามารถสร้างเอนไซม์เลซิติเนส (lecitinase) ที่สามารถย่อยสลายไข่แดงได้ ช่วงอุณหภูมิที่สามารถเจริญเติบโตคือ 7-48 °ซ.และเจริญดีที่สุดที่ 37 °ซ. สามารถเจริญที่ pH 4.0-9.8 และที่เหมาะสมคือ pH 6.0-7.0 เจริญที่มีค่า a_w 0.83-0.99

แบคทีเรียชนิดนี้พบได้ทั่วไปในสัตว์และส่วนต่างๆของร่างกายมนุษย์ โดยเฉพาะจมูก มือ แผล และสิว ซึ่งมีโอกาสปนเปื้อนลงสู่อาหารได้อย่างมาก เชื้อนี้เมื่อปนเปื้อนลงในอาหาร ในช่วงการเจริญของแบคทีเรีย จะสร้าง toxin ที่เรียกว่า enterotoxin ซึ่งเป็นสารพิษที่ทำให้ผนังลำไส้อักเสบ ซึ่งสารพิษมีอยู่ 5 ชนิดด้วยกันคือ ชนิด A,B,C,D และ E แต่ละชนิดมีความเป็นพิษแตกต่างกัน ซึ่งส่วนมากแล้วสารพิษของเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ pH และ a_w ที่เชื้อเจริญอยู่

<u>ลักษณะของเชื้อแบคทีเรียที่สร้างสารพิษมีดังนี้คือ</u>

บางชนิดทนเกลือ ได้ถึง ร้อยละ 10-20 และบางชนิดทนสารละลายน้ำตาลได้ถึงร้อยละ 50-60 ส่วนช่วง pH ที่ต่ำสุดในการสร้างสารพิษ คือ 4.8 ภายใต้สภาพที่มีอากาศ และช่วง pH ที่ต่ำสุดในการสร้างสารพิษ คือ 5.5 ภายใต้สภาพที่ไม่มีอากาศ โดยช่วง a_w ที่ต่ำสุดในการสร้างสารพิษ คือ 0.86 ภายใต้สภาพที่มีอากาศ และช่วง a_w ที่ต่ำสุดในการสร้างสารพิษ คือ 0.90 ภายใต้สภาพที่ไม่มีอากาศ

<u>ลักษณะอาการของโรคอาหารเป็นพิษที่เกิดจากเชื้อ *S.aureus*</u>

เมื่อบริโภคอาหารซึ่งมี enterotoxin ของ *S.aureus* เข้าไปจะทำให้เกิดอาการผิดปกติขึ้นกับระบบทางเดินอาหารอย่างฉับพลัน ความรุนแรงของอาการจะขึ้นกับความต้านทานของผู้บริโภคแต่ละคน และปริมาณของสารพิษที่บริโภคเข้าไป อาการจะเกิดหลังจากที่บริโภคสารพิษนี้เข้าไป 3 ชั่วโมง แต่อาจจะแตกต่างกันอยู่ในระหว่างช่วง 0.5-6 ชั่วโมง อาการต่างๆที่พบรวมถึงอาการมึนงง คลื่นไส้ อาเจียน เป็นตะคริวที่ท้อง ท้องเดิน นอกจากนี้ยังพบอาการปวดศีรษะ มีการเกร็งของกล้ามเนื้อ มีไข้ แต่บางครั้งอุณหภูมิของร่างกายจะลดลง ทำให้มีอาการหนาวสั่น อาการโรคที่เกิดขึ้นอย่างเฉียบพลันนี้ จะหายเองภายในเวลา 24-72 ชั่วโมง ในรายที่เป็นมากอาจต้องส่งโรงพยาบาล แต่ที่ถึงตายมีน้อยมาก ส่วนปริมาณของสารพิษที่น้อยที่สุดที่จะทำให้เกิดอาการเจ็บ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ป่วยขึ้นได้นั้นยังไม่มีตัวเลขที่แน่นอน ทั้งนี้ต้องขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของเชื้อ อาหารที่เชื้อนี้เจริญอยู่ สุขภาพของผู้บริโภคและปัจจัยอื่นๆอีก

ลักษณะของสารพิษ

enterotoxin ของเชื้อ *S.aureus* นั้นเป็นโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 26,000-30,000 ประกอบด้วยโพลีเปปไทด์สายเดียวจับกันเป็นห่วงเรียกว่า cystine loop ด้วยแรงยึดไดซัลไฟด์ระหว่างกรดอะมิโน เนื่องจากชนิดของกรดอะมิโนในห่วงนี้ของ enterotoxin แต่ละชนิดเหมือนกัน จึงเข้าใจว่าส่วนนี้น่าจะเป็นส่วนที่มีพิษของโมเลกุล enterotoxin ชนิด A และ D ทำให้เกิดโรคมากที่สุด การผลิตสารพิษจะเกิดตามหลังการเจริญของเชื้อไม่นานนัก ดังนั้นสภาพที่เหมาะสมต่อการสร้างสารพิษก็จะเป็นสภาพที่ดีที่สุดในการเจริญ การผลิตสารพิษจะทำได้ดีที่อุณหภูมิ 15.6-46.1 ^{o}ซ. แต่ที่ดีที่สุดจะอยู่ที่ 40 ^{o}ซ. ขึ้นกับสายพันธุ์และชนิดของอาหาร ซึ่งใช้เวลาผลิตเพียง 4-6 ชั่วโมงเท่านั้น และจะลดลงตามอุณหภูมิที่ลดลงหรือเพิ่มขึ้น enterotoxin นี้มักจะมีการสร้างขึ้นหลังจากที่มีจุลินทรีย์ชนิดนี้อยู่ประมาณ 10^{6} โคโลนีต่อกรัมอาหาร และสามารถทนความร้อนดี โดยทั่วไปความร้อนที่ใช้ในการพลาสเจอร์ไรซ์ (72 ^{o}ซ. นาน 15 วินาที) หรือ Ultra High Temperature (143.3 ^{o}ซ. นาน 9 วินาที) ไม่สามารถทำลาย enterotoxin ได้ enterotoxin ชนิด B ทนความร้อนมากที่สุด ฉะนั้นอาหารที่มีสารพิษนี้อยู่ ถึงแม้จะทำลาย *S.aureus* หมดแล้ว ก็ยังพบว่าทำให้เกิดอาการอาหารเป็นพิษได้ ถ้าหากบริโภคอาหารนั้นเข้าไป

การปนเปื้อนลงในผลิตภัณฑ์มายองเนส

ในการผลิตมายองเนสจำเป็นต้องใช้สารเพื่อช่วยทำให้เกิดอีมัลชั่นที่มีความเสถียรมากขึ้น ซึ่งส่วนประกอบที่สำคัญนี้คือ ไข่แดงผง จึงมีโอกาสการปนเปื้อนของเชื้อ *S.aureus* เนื่องจากเชื้อนี้พบมากในไข่และผลิตภัณฑ์จากไข่ ประเภทไข่แดงแช่แข็งหรือไข่ผง ในการผลิตและการบริโภคจะไม่มีการผ่านความร้อนแต่อย่างใด จึงมีโอกาสเกิดอาหารเป็นพิษได้มาก นอกจากนี้ยังพบว่าลักษณะกลิ่น และรสของอาหารที่มี *S.aureus* ปนเปื้อนมานี้ จะไม่มีการเปลี่ยนแปลงหรือมีลักษณะของการเน่าเสีย แม้ว่าจะมีการเกิด proteolysis หรือการหมักขึ้นบ้างก็ตาม

สำหรับการป้องกันไม่ให้เกิดอาหารเป็นพิษจากเชื้อนี้ วิธีที่ดีที่สุดคือป้องกันไม่ให้มี *S.aureus* ปนเปื้อนมาในอาหาร โดยพยายามปรับปรุงให้มีสุขาภิบาลที่ถูกต้องป้องกันไม่ให้มีการเจริญเติบโตโดยปรับค่า pH ของอาหารให้อยู่ในช่วงที่เชื้อไม่ชอบ และมีการตรวจสอบวัตถุดิบคือไข่แดงผงว่าไม่มีเชื้อ *S.aureus* ก่อนการผลิตทุกครั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ช.*Salmonella* เป็นจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุสำคัญของโรค Salmonellosis เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ มีรูปร่างเป็นท่อน เคลื่อนไหวได้เนื่องจากมี flagella แบบ peritrichous flagellation สามารถสร้างไฮโดรเจนซัลไฟด์ สร้างกรดและก๊าซจากกลูโคส มอลโตส แมนนิทอล และ ซอร์บิทอลได้ แต่ไม่ทำให้เกิดการหมักใน salicin น้ำตาลทราย หรือแลคโตส เป็นแบคทีเรียชนิด facultative aerobe และสามารถเจริญได้ดีในที่มีอากาศด้วย เจริญได้ในช่วงอุณหภูมิกว้าง อุณหภูมิต่ำสุดที่ 6.7-7.8 °ซ. และเจริญที่อุณหภูมิสูงสุดที่ 45.6 °ซ. แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดคือ 37 °ซ. ช่วง pH อยู่ที่ 4.5-9.0 ส่วนค่า a_w ที่ช่วง 0.93-0.95 ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของอาหารด้วย สามารถใช้ความร้อนทำลายเชื้อนี้ที่อุณหภูมิ 66 °ซ. เป็นเวลาอย่างน้อย 12 นาที

<u>แหล่งที่มาของโรค</u>

การจะเป็นโรคติดเชื้อ *Salmonella* นั้นขึ้นอยู่กับการต้านทานโรคของผู้บริโภค ความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อ และจำนวนเชื้อที่ถูกบริโภคเข้าไป เช่น *S.enteritidis* ที่ถูกบริโภคเข้าไป 10^6 โคโลนีก็ทำให้เกิดโรคได้แล้ว การเจริญของ *S.enteritidis* ในอาหารมักไม่ทำให้ลักษณะของอาหารเปลี่ยนแปลงไป ไม่ว่าจะเป็นกลิ่นหรือรส ดังนั้นถ้ามีเชื้อโรคอยู่ในอาหารมากเท่าใดก็จะทำให้ผู้บริโภคเกิดโรคติดเชื้อได้มากขึ้นและมีระยะฟักตัวเร็วขึ้น

แหล่งของเชื้อที่สำคัญ ได้แก่ของเสียจากการขับถ่ายของมนุษย์และสัตว์ ทางเดินอาหารของสัตว์เลือดอุ่น อาหารที่มีการปนเปื้อนจาก *Salmonella* ผู้ที่เคยป่วยเป็น Salmonellosis (ผู้ที่เคยป่วยเป็นโรค Salmonelosis นั้น แม้ว่าจะหายแล้ว แต่จะเป็นพาหะอยู่อีกระยะหนึ่ง) ฉะนั้นถ้าหากให้ผู้ป่วยที่เป็นโรคนี้ ทำงานเกี่ยวข้องกับการแปรรูปอาหาร *Salmonella* อาจปนเปื้อนไปสู่อาหารได้

อาหารประเภทไข่และผลิตภัณฑ์ไข่ โดยเฉพาะอย่างยิ่งจากไข่เป็ดจะพบว่ามีการปนเปื้อนของ *Salmonella* มากกว่าไข่ไก่ ผลิตภัณฑ์ไข่เช่น ไข่ผงหรือไข่แช่แข็ง มักมีการปนเปื้อนจากเชื้อนี้เสมอ การปนเปื้อนของไข่และผลิตภัณฑ์ไข่นั้น จะเกิดขึ้นตั้งแต่ท่อรังไข่ของสัตว์ปีกหรือหลังจากวางไข่แล้ว โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้ามีการวางไข่ไว้ในที่ชื้นแฉะ การเจริญของ *Salmonella* จะเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็วที่เปลือกไข่ เมื่อมีการแตกของไข่หรือนำไข่มาใช้โดยไม่มีการทำความสะอาดให้ดีพอ *Salmonella* ที่อยู่ที่เปลือกไข่จะปนเปื้อนเข้าไปในผลิตภัณฑ์ได้

<u>ลักษณะอาการของโรค</u>

อาการในแต่ละคนจะไม่เท่ากันขึ้นอยู่กับ ความต้านทานโรค ชนิดของเชื้อ และจำนวนเชื้อที่บริโภคเข้าไป ระยะฟักตัวของเชื้อโรคประมาณ 12-36 ชั่วโมง อาการที่สำคัญคือ คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้องและท้องเสีย อาจปวดท้องหรือหนาวสั่น นอกจากนี้อุจจาระอาจเป็นน้ำ มีสีเขียว อ่อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพลีย มีไข้ปานกลาง ง่วง อัตราการตายต่ำกว่าร้อยละ 1 ส่วนใหญ่จะมีอาการอยู่ 2-3 วันก็จะดีขึ้น แต่ยังคงต้องพักผ่อนต่อไปอีก ผู้ป่วยที่หายแล้วมีโอกาสเป็นพาหะของโรคร้อยละ 0.2-5

<u>การปนเปื้อนลงในผลิตภัณฑ์มายองเนส</u>

การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดนี้มักมาจากไข่แดงผง ที่ใช้ในการผลิต เนื่องจากไข่และผลิตภัณฑ์ไข่มีโอกาสปนเปื้อนของเชื้อ *S.enteritidis* สูง ดังนั้นควรป้องกันโดยตรวจหาเชื้อดังกล่าวในไข่ผงก่อนการนำมาผลิตทุกครั้ง และรวมถึงการรักษาสุขลักษณะที่ดีของพนักงานด้วย

ค.*Enteropathogenic Escherichia coli* (EEC) เป็นแบคทีเรียเกรมลบ ซึ่งมีทั่วไปตามธรรมชาติ โดยเฉพาะในลำไส้ของมนุษย์ และสัตว์เลือดอุ่น อาจพบได้ตามอุจจาระและสิ่งสกปรกโสโครกต่างๆ ดังนั้นเชื้อตัวนี้จึงเป็นดังชี้ถึงการสุขาภิบาลของสถานที่ต่างๆ เชื้อสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษแตกต่างจากเชื้อ *E.coli* คือมี คุณสมบัติบางประการแตกต่างกัน โดยสามารถแยกชนิดได้โดยใช้ antiserum ทำปฏิกิริยาของตัวอย่างเชื้อที่แยกได้จากอาหาร เชื้อชนิดที่สร้างสารพิษที่เป็น enterotoxin 2 ชนิด คือชนิด heat stable (ST) และ heat-labile (LI) เชื้อชนิดนี้เข้าไปในลำไส้เล็ก และสร้าง enterotoxin อุณหภูมิที่เชื้อเจริญอยู่ที่ 10-40 °ซ. โดยมีอุณหภูมิที่เหมาะสม 37 °ซ. และช่วง pH ที่เหมาะในการเจริญเติบโตอยู่ในช่วง 7.0-7.5 มีค่าpH ต่ำสุดที่ 4.40 และค่า pH สูงสุดที่ 9.00 ค่า a_w ต่ำสุดอยู่ที่ 0.93 เชื้อชนิดนี้สามารถปนเปื้อนลงในอาหารได้มากที่สุด และเกิดโรคอาหารเป็นพิษเมื่อบริโภคเชื้อนี้เข้าไปมากกว่า 10^3 โคโลนีต่ออาหาร 1กรัม จะทำให้เกิดอาการท้องร่วงถ่ายเป็นเลือด และมีอาการปวดในช่องท้อง

<u>การปนเปื้อนลงในผลิตภัณฑ์มายองเนส</u>

ในการปนเปื้อนของเชื้อชนิดนี้มักเกิดจากความไม่สะอาดของพนักงานเอง และสุขาภิบาลของโรงงานยังไม่ดีพอ ซึ่งอาจปนเปื้อนขณะการผลิตหรือการบรรจุ เมื่อมีเชื้อดังกล่าวในผลิตภัณฑ์จะไม่ทำให้เกิดความเสื่อมเสียทางกายภาพเลย จึงมีความอันตรายต่อผู้บริโภคอย่างมาก

2.3 มาตรฐานของผลิตภัณฑ์มายองเนส

มายองเนสเป็นผลิตภัณฑ์อาหารจากชาติตะวันตก ในประเทศไทยสำนักงานมาตรฐานอุตสาหกรรมยังไม่มีการระบุมาตรฐานของผลิตภัณฑ์ชนิดนี้ ส่งผลให้ในการกำหนดมาตรฐานในการผลิตเพื่อจำหน่ายภายในประเทศ หรือเพื่อการส่งออกจึงต้องอาศัยมาตรฐานของชาติตะวันตก โดยแต่ละประเทศที่ผลิตก็จะมีมาตรฐานแตกต่างกันออกไปดังแสดงในตารางที่ 2.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 แสดงมาตรฐานของผลิตภัณฑ์มายองเนส

Organism	Number
Total Plate Count	$1x10^3$ in 1 g.(a):$5x10^4$ in 1 g. (b,c)
Coliform or *Enterobacteria*	0 in 0.1 g. or 10 g. (a,b,d);25 g. (c)
E.coli or Fecal coliform	0 in 1 g. (a)
Salmonella spp.	0 in 0.1 g. (b)
Staphylococcus aureus	0 in 0.1 g. (b)
Yeasts	10 in 1 g.(b);$1x10^2$ in 1 g. (c)
Molds	10 in 1 g. (b)
Yeasts and Molds	20 in 1 g. (a)

หมายเหตุ (a) : Argentina
(b) : Poland
(c) : Chile
(d) : Netherlands

ที่มา: (Marshall,1986)

2.4 การใช้หลักการ hurdle ในการควบคุมความปลอดภัยในผลิตภัณฑ์มายองเนส

ปัจจัย hurdle ที่เป็นที่รู้จักกันดีในวงการอุตสาหกรรมได้แก่ a_w pH อุณหภูมิ เป็นต้น ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการควบคุมจำนวนจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์อาหาร hurdle technology นี้อาจเรียกว่าcombined process , combined method , combination preservation , combination technique , technologia degli ostacoli , technologie des barrierers ซึ่งเป็นเทคโนโลยีที่ประสบความสำเร็จมากในการที่จะควบคุมจุลินทรีย์ รสชาติ คุณค่าทางอาหาร และสมบัติต่างๆ ของอาหารตามต้องการ

การทำ hurdle เพื่อให้เกิดความคงตัวและความปลอดภัยของอาหารแต่ละชนิดจะแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับชนิดของผลิตภัณฑ์ แต่อย่างไรก็ตามจะต้องสามารถควบคุม จำนวนจุลินทรีย์ทั่วไปที่มีอยู่ในอาหารให้ได้ จำนวนจุลินทรีย์ตั้งต้นที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์จะต้องไม่เพิ่มจำนวนมากยิ่งขึ้นอย่างรวดเร็วจนทำให้ผลิตภัณฑ์นั้นเน่าเสียหรือเกิดอาหารเป็นพิษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังแสดงในภาพที่ 2.1 เป็นตัวอย่างของผลิตภัณฑ์ที่มีการใช้ปัจจัย hurdle ในการควบคุมความปลอดภัย โดยตัวอย่างที่ 1 แสดงถึงผลิตภัณฑ์อาหารที่มีการใช้ปัจจัย hurdle 6 ปัจจัยคือ อุณหภูมิสูงขณะแปรรูป (F) , อุณหภูมิต่ำขณะการเก็บรักษา(t) , ปรับค่า a_w ให้เหมาะสม (a_w), ปรับค่า pH ให้เหมาะสม (pH), ค่า redox potential (E_h) และสารกันเสียที่เติมลงในผลิตภัณฑ์ (pres.) จำนวนเชื้อจุลินทรีย์แทนด้วยลูกศรจะต้องไม่สามารถเอาชนะปัจจัยhurdle ทั้ง 6 มาได้ จึงทำให้เกิดความคงตัวและปลอดภัยในผลิตภัณฑ์ขึ้น อย่างไรก็ตามในตัวอย่างที่ 1 นี้เป็นเพียงแค่ทฤษฎีเท่านั้น ซึ่งในทางปฏิบัติจริงความสูงหรือความสำคัญของปัจจัยhurdle แต่ละปัจจัยมีค่าไม่เท่ากัน ดังเช่นตัวอย่างที่ 2 ปัจจัย hurdle ที่มีความสำคัญในการทำให้เกิดความปลอดภัยคือ ค่า a_w และสารกันเสีย ส่วนการเก็บรักษาในอุณหภูมิต่ำ , ค่า pH และค่า E_h เป็นปัจจัย hurdle ที่มีความสำคัญน้อยกว่า แต่ทั้ง 5 ปัจจัยมีผลเพียงพอต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการในผลิตภัณฑ์ได้ ถ้ามีจำนวนเชื้อเริ่มต้นน้อยดังตัวอย่างที่ 3 ปัจจัย hurdle เพียง 2-3 ปัจจัยก็เพียงพอสำหรับความคงตัว และความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์

ภาพที่ 2.1 ตัวอย่างของผลิตภัณฑ์ที่มีการใช้ปัจจัย hurdle ในการควบคุมความคงตัว และความปลอดภัย

ในผลิตภัณฑ์มายองเนสปัจจัย hurdle ที่มีผลต่อความคงตัวและความปลอดภัย ที่สำคัญคือ ค่า pH และรองลงมาคือสารกันเสียที่เติมลงไป โดยที่ผลิตภัณฑ์เป็นกรด เพื่อทำลายสภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ส่วนสารกันเสียที่นิยมใช้คือ โซเดียมเบนโซเอท มีผลยับยั้งหรือทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดความเสื่อมเสียในผลิตภัณฑ์ เช่น ยีสต์และรา แต่ทั้งนี้ต้องคำนึงถึงเชื้อเริ่มต้นให้มีค่าน้อยที่สุด เพื่อความปลอดภัยในผลิตภัณฑ์ ดังตัวอย่างที่ 3 ในภาพที่ 2.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 บทบาทของสารกันเสียในผลิตภัณฑ์มายองเนส

กรดเบนโซอิกและเกลือเบนโซเอทนั้น เป็นสารกันเสียที่นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์มายองเนส เพราะมีราคาถูกเมื่อเปรียบเทียบกับสารกันเสียชนิดอื่น เมื่อใส่ในอาหารโดยมากมักไม่ทำให้รสชาติของอาหารเปลี่ยนแปลง และสารกันเสียชนิดนี้มักถูกทำลายโดยความร้อน จึงเหมาะสำหรับผลิตภัณฑ์ที่ไม่ผ่านความร้อน

ในทางอุตสาหกรรมนิยมใช้โซเดียมเบนโซเอทหรือโพแทสเซียมเบนโซเอท ในการผลิตมายองเนส ซึ่งสารกันเสียชนิดนี้จะไปเคลือบที่ผนังเซล ทำให้คุณสมบัติของผนังเซลเปลี่ยนแปลงไป เช่น ความสามารถในการให้สารต่างๆแทรกซึมผ่าน (permeability) ของผนังเซลเปลี่ยนแปลงไปนั้น ทำให้ทางเดินของอาหารจากภายนอกเซลเข้าสู่ภายในเซลของจุลินทรีย์เกิดการขัดข้องไปด้วย ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้จุลินทรีย์ต่างๆ ชงักการเจริญเติบโตและตายลงในที่สุด เนื่องจากประสิทธิภาพของสารกันเสียชนิดนี้ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ของอาหาร คุณสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ที่สำคัญของอาหารที่มีผลต่อประสิทธิภาพของสารกันเสียได้แก่ ค่า pH ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ปริมาณของสารกันเสียที่จะต้องใช้ เบนโซเอทเมื่อใส่ลงในอาหารจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของกรด และถ้าหากอาหารนั้นมีค่า pH 4.0 หรือต่ำกว่า สารกันเสียชนิดนี้จะคงอยู่ในรูปที่ไม่แตกตัว (undissociated form) ซึ่งจะเป็นรูปที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุดของสารกันเสียชนิดนี้ เนื่องจากในรูปที่ไม่แตกตัวนี้จะไม่มีประจุ จึงสามารถละลายในส่วนที่เป็นไขมันในส่วนเยื่อหุ้มเซลของเชื้อจุลินทรีย์ได้ดี (Branen,Davidson and Salminen,1990) มายองเนสจึงเป็นผลิตภัณฑ์ที่เหมาะที่จะใช้สารกันเสียชนิดนี้ ช่วยยืดอายุในการเก็บรักษาเนื่องจากมายองเนสที่มีรสชาติถูกปากผู้บริโภคชาวไทยมี pH 4.0-4.5 ดังแสดงในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ผลของค่า pH ต่อการแตกตัวของกรดเบนโซอิก

ค่า pH	ร้อยละของกรดเบนโซอิกที่อยู่ในรูปที่ไม่แตกตัว
2.0	98
3.0	95
4.0	60
4.5	30
5.0	13

ที่มา : (ศิวพร,2529)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 2.2 จะเห็นว่ามายองเนสที่มีค่า pH 4.0 เมื่อใส่กรดเบนโซอิกจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ได้มากกว่ามายองเนสที่มีค่า pH 4.5 เนื่องจากที่ pH 4.0 กรดเบนโซอิกอยู่ในรูปที่ไม่แตกตัวมากกว่าที่ pH 4.5 สำหรับปริมาณที่อนุญาติให้ใช้ในอาหารได้ ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 84 คือ อนุญาติให้ใช้ กรดเบนโซอิก หรือโซเดียมเบนโซเอท หรือ โพแทสเซียมเบนโซเอท ได้ในปริมาณสูงสุดไม่เกิน 1,000 มิลลิกรัมต่อ 1 กิโลกรัมของอาหาร หรือร้อยละ 0.1 ในอาหารทั้งหมด

ส่วนอันตรายที่จะได้รับจากสารกันเสียชนิดนี้นั้น จากการทดลองพบว่าจะไม่ทำให้เกิดการสะสมขึ้นในร่างกาย เนื่องจากร่างกายมีกลไกในการขจัดความเป็นพิษของกรดเบนโซอิก โดยกรดเบนโซอิกที่บริโภคเข้าไป จะไปรวมกับ glycine เกิดเป็น hippuric acid ขึ้นและถูกขับออกทางปัสสาวะ ส่วนที่เหลือที่ไม่ได้ถูกร่างกายขับออกในรูปของ hippuric acid นั้น จะถูกขจัดโดยการรวมกับ glycuronic acid แล้วขับออกทางปัสสาวะในรูปของ benzoyl glycuronic acid ตามปกติการขับถ่าย hippuric acid ทางปัสสาวะในคนจะประมาณ 1.0-2.5 กรัมต่อวัน ซึ่งจะเท่ากับกรดเบนโซอิกที่บริโภคเข้าไป 0.7-1.7 กรัม ส่วนอัตราเร็วที่สุดในการขจัดออกในรูปของ hippuric acid หลังจากมีการบริโภคกรดเบนโซอิก เข้าไปคือ 17 มิลลิกรัมต่อนาที ซึ่งจะเท่ากับว่าได้บริโภค กรดเบนโซอิก 24 กรัมต่อวัน

สำหรับประสิทธิภาพของกรดเบนโซอิก ในการยับยั้งการเจริญเติบโตหรือทำลายจุลินทรีย์นั้น จะเรียงลำดับจาก ยีสต์ รา และแบคทีเรีย คือจะยับยั้งการเจริญเติบโตหรือทำลายยีสต์ได้ดีที่สุด รองลงมาคือรา และแบคทีเรีย และจะมีประสิทธิภาพสูงสุดที่ pH 2.0-5.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ

มายองเนส ที่ผลิตโดยบริษัทกริฟฟิทท์ ลาบอราทอร์รี่ส์ ประเทศไทยจำกัด 482 หมู่ 1 ซอยผูกมิตร ถ.รถรางเก่า ต.สำโรงใต้ อ.พระประแดง จ.สมุทรปราการ

3.2 อุปกรณ์และสารเคมี

1.stock culture ของเชื้อ *E coli*

2.stock culture ของเชื้อ *S. aureus*

3.stock culture ของเชื้อ *S. enteritidis*

4.Xylose lysine deoxycholate agar (XLD Agar)

5.Eosin methylene-blue lactose sucrose agar (EMB Agar)

6.Mannitol salt phenol-red agar(MS Agar)

7.Egg yolk 3%

8.Plate count agar (PCA)

9.Nutrient Broth (NB)

10.Tween 80

11.Peptone

12.จานเพาะเชื้อ

13.หลอดทดลองขนาดกลาง

14.ปิเปต 1 และ 0.1 มิลลิลิตร

15.ขวดรูปชมพู่ 250 มิลลิลิตร

16.บิกเกอร์ 500 มิลลิลิตร

17.แท่งแก้วงอ

18.ตะเกียงแอลกอฮอล์

19.ขวดแก้วเก็บตัวอย่าง

20.pH meter

21.Blender อะลูมิเนียม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

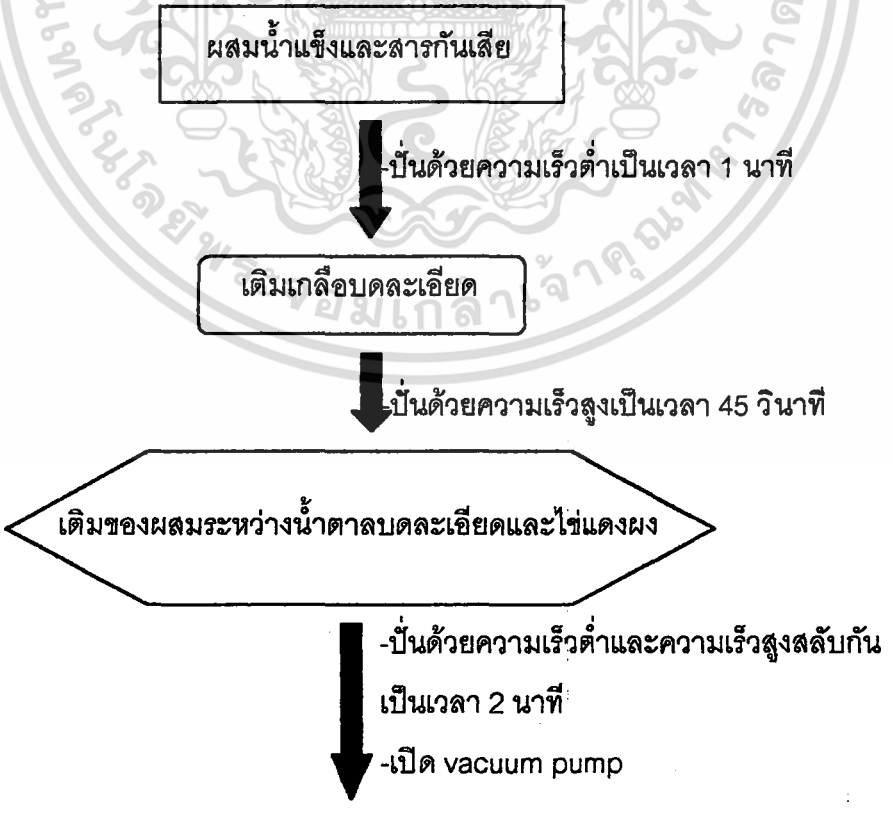
3.3 วิธีการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1 การผลิตมายองเนส ที่มีค่า pH 4.0 ± 0.1 และ pH 4.5 ± 0.1

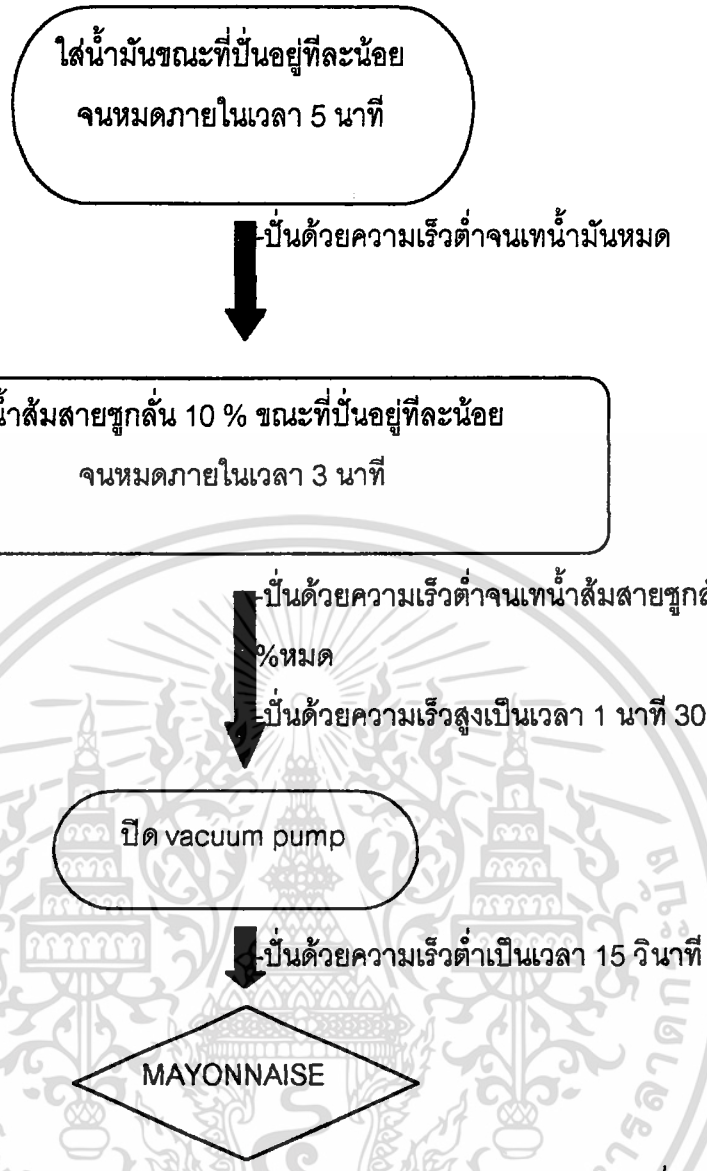
ส่วนประกอบที่สำคัญ :	น้ำมันพืช	68%
	*น้ำส้มสายชูกลั่น 10 %	6%
	(สำหรับมายองเนสที่มีค่า pH 4.0 ± 0.1)	
	*น้ำส้มสายชูกลั่น 10 %	5.4%
	(สำหรับมายองเนสที่มีค่า pH 4.5 ± 0.1)	
	ไข่แดงผง	3%
	สารกันเสีย (โซเดียมเบนโซเอท)	0.09%
	น้ำตาลทรายขาวบดละเอียด (ไอซิ่ง)	14%
	เกลือบดละเอียด	6%

ขั้นตอนการผลิตมายองเนส

ในการผลิตมายองเนสของบริษัท กริฟฟิทท์ ลาบอราทอร์รี่ส์ ประเทศไทยจำกัด นั้นจะใช้เครื่อง KORUMA ผลิตซึ่งเป็นเครื่องปั่นผสมแบบโฮโมจีนซ์ ระบบสูญญากาศ ที่มีระดับความเร็วในการปั่น 2 ระดับ คือ speed 1 (ปั่นความเร็วสูง) และspeed 2 (ปั่นความเร็วต่ำ) โดยมีขั้นตอนในการผลิตดังภาพที่ 3.1



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



<u>ภาพที่ 3.1</u> แสดงขั้นตอนการผลิตภัณฑ์มายองเนสของบริษัท กริฟฟิทท์ ลาบอราทอร์รี่ส์ ประเทศไทยจำกัด

นำมายองเนสที่มีค่า pH 4.0 ± 0.1 และ 4.5 ± 0.1 แบ่งเป็น 2 ส่วนดังนี้

<u>ส่วนที่ 1</u> มายองเนสที่ใช้เปรียบเทียบ (control) เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 35 วัน ก่อนนำไปเก็บรักษาจะตรวจปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Plate Count) และตรวจหาปริมาณเชื้อ*E.coli* , *Salmonella spp.* และ *S.aureus* และสุ่มตรวจหาเชื้อดังกล่าวทุกๆ 7 วัน

<u>ส่วนที่2</u> มายองเนสที่มีการถ่ายเชื้อ *E.coli* , *S.enteritidis* และ *S.aureus* โดยแยกถ่ายเชื้อแต่ละชนิดลงในมายองเนสดังขั้นตอนที่ 2

<u>ขั้นตอนที่ 2</u> การศึกษาการอยู่รอดของเชื้อ *E.coli* , *S.enteritidis* และ *S.aureus* ที่ถ่ายลงในผลิตภัณฑ์มายองเนส ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 35 วัน

1.การเตรียม stock culture solution ของเชื้อ*E.coli* , *S.enteritidis* และ *S.aureus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.1นำ 1 loop ของเชื้อบริสุทธิ์แต่ละเชื้อมาถ่ายลงในอาหาร NB (Nutrient Broth) 100 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร

1.2นำแต่ละขวดไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 °ซ. เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.การนับจำนวนเชื้อใน Stock culture solution ของเชื้อ *E.coli* , *S.enteritidis* และ *S.aureus*

2.1เตรียมสารละลายบัฟเฟอร์(Peptone 0.1 % และ Tween 80 0.05%) pH 7.0±0.1ปริมาตร 9 มิลลิลิตร จำนวน10 หลอด

2.2นำ 1 มิลลิลิตรของStock culture solution แต่ละชนิดมาทำการเจือจางในสารละลายบัฟเฟอร์ ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-1}-10^{-10}

2.3นำสารละลายเชื้อที่เจือจางแล้ว มาทำการ spread plate ระดับความเจือจางละ 3 ซ้ำโดยใช้ PCA เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ

2.4นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35°ซ. เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนับจำนวนโคโลนีโดยรายงานผลเป็นจำนวนโคโลนีต่อมิลลิลิตร

2.5เก็บStock culture solution ของเชื้อแต่ละชนิดที่ทราบความเข้มข้นแน่นอนไว้ในตู้เย็น 4 °ซ.เพื่อใช้ต่อไป

3.การถ่ายเชื้อแต่ละชนิดลงใน Mayonnaise (Inoculation of stock culture solution)

3.1ถ่ายเชื้อจาก Stock culture solution ที่เตรียมได้จากข้อ 2 ใส่ในมายองเนสโดยให้มีความเข้มข้นของเชื้อ ประมาณ 10^{4}-10^{7} โคโลนีต่อกรัม โดยใช้blender อะลูมิเนียมปั่นผสมสารละลายเจือจางเชื้อ และ Mayonnaise เป็นเวลา 15 วินาที

3.2บรรจุ Mayonnaise 300 กรัม แบบ aceptic ลงในขวดแก้วเก็บตัวอย่างที่ทำการฆ่าเชื้อแล้ว ขวดละ 50 กรัม

3.3เก็บตัวอย่างจากข้อ 3.2 จำนวน 6 ขวด ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 35 วัน เพื่อนำมาตรวจหาอัตราการอยู่รอดของเชื้อ ทุก 7 วัน

4.การตรวจนับจำนวนเชื้อ

4.1ทำการตรวจนับเชื้อทุก 7 วันจนครบ 35 วัน

4.2โดยใช้ มายองเนส 10 กรัมต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 90 มิลลิลิตร ที่ระดับความเจือจาง 10^{-4}-10^{-7} ทำ 3 ซ้ำในแต่ละระดับความเจือจางโดย ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดดังนี้

4.2.1เชื้อ *E. coli*ใช้อาหาร EMB Agar โดยวิธี spread plate โคโลนีที่ได้มีสีดำ หรือสีเขียวปีกแมลงทับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2เชื้อ *S. aureus* ใช้อาหาร MSEY Agar (MS Agar และ Egg yolk 3 %)วิธี spread plate โคโลนีที่ได้มีสีเหลืองและมีclear zone บริเวณรอบๆ

4.2.3เชื้อ *S. enteritidis.* ใช้อาหาร XLD Agar วิธี spread plate โคโลนีที่ได้มีสีเดียวกับสีของอาหารเลี้ยงเชื้อ (สีชมพู) มีหรือไม่มีสีดำตรงกลางโคโลนี

4.2.4เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด ซึ่งใช้ Mayonnaise ที่ไม่มีการถ่ายเชื้อใดๆลงไป เพื่อเป็นตัว control โดยใช้อาหาร PCA วิธี spread plate

4.3นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35°ซ. เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง แล้วจึงบันทึกผล

ขั้นตอนที่ 3 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ระหว่างการเก็บรักษามายองเนส

1.วัดค่า pH ของมายองเนสที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (ส่วนที่ 1) และมายองเนสที่มีการถ่ายเชื้อแต่ละชนิด (ส่วนที่ 2) ด้วยเครื่องpH meter ทุก 7 วัน จนครบ 35 วัน

2.วิเคราะห์ความแตกต่างเบื้องต้นด้วยโปรแกรม RCB (Randomized Complete Block Design) และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT (Duncan ' s New Method Range Test) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 99 ($P<0.01$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

97040

บทที่ 4
ผลการทดลอง

4.1 ลักษณะทางกายภาพของมายองเนส ที่มีค่า pH 4.0 ± 0.1 และ pH 4.5 ± 0.1

ลักษณะทางกายภาพของมายองเนสที่มีโซเดียมเบนโซเอทร้อยละ 0.09 ที่มีค่า pH 4.0 ± 0.1 และ pH 4.5 ± 0.1 ของตัวอย่างเปรียบเทียบ และตัวอย่างที่มีการถ่ายเชื้อ *S.enteritidis* , *E.coli* และ *S.aureus* ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 35 วัน โดยทำการตรวจสอบทุกๆ 7 วัน พบว่าลักษณะทางกายภาพของตัวอย่างเปรียบเทียบ และตัวอย่างที่มีการถ่ายเชื้อ *S.enteritidis* , *E.coli* และ *S.aureus* ไม่มีความแตกต่างกันคือ มีลักษณะเป็นซอสสีขาวอมเหลือง ไม่มีการแยกชั้น ไม่มีกลิ่นหืน มีกลิ่นน้ำส้มสายชูแรง แสดงในตารางที่ 4.1 และ 4.2 และภาพที่ 4.1-4.8

ตารางที่ 4.1 แสดงลักษณะทางกายภาพของมายองเนสที่มีค่า pH 4.0 ± 0.1 ของตัวอย่างเปรียบเทียบ และตัวอย่างที่มีการถ่ายเชื้อ *S.enteritidis* , *E.coli* และ *S.aureus* ระหว่างการเก็บรักษา

เวลา (วัน)	ลักษณะทางกายภาพ			
	มายองเนส ตัวอย่างเปรียบเทียบ	มายองเนสที่ถ่ายเชื้อ *S.enteritidis*	มายองเนสที่ถ่ายเชื้อ *E.coli*	มายองเนสที่ถ่ายเชื้อ *S.aureus*
0	ซอสข้นสีขาวอมเหลือง ไม่มีการแยกชั้น ไม่มีกลิ่นหืน มีกลิ่นน้ำส้มสายชูแรง	เช่นเดียวกับตัวอย่างเปรียบเทียบ	เช่นเดียวกับตัวอย่างเปรียบเทียบ	เช่นเดียวกับตัวอย่างเปรียบเทียบ
7	ซอสข้นสีขาวอมเหลือง ไม่มีการแยกชั้น ไม่มีกลิ่นหืน มีกลิ่นน้ำส้มสายชูแรง	เช่นเดียวกับตัวอย่างเปรียบเทียบ	เช่นเดียวกับตัวอย่างเปรียบเทียบ	เช่นเดียวกับตัวอย่างเปรียบเทียบ
14	ซอสข้นสีขาวอมเหลือง ไม่มีการแยกชั้น ไม่มีกลิ่นหืน มีกลิ่นน้ำส้มสายชูแรง	เช่นเดียวกับตัวอย่างเปรียบเทียบ	เช่นเดียวกับตัวอย่างเปรียบเทียบ	เช่นเดียวกับตัวอย่างเปรียบเทียบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เวลา (วัน)	ลักษณะทางกายภาพ			
	มายองเนสตัวอย่างเปรียบเทียบ	มายองเนสที่ถ่ายเชื้อ *S.enteritidis*	มายองเนสที่ถ่ายเชื้อ *E.coli*	มายองเนสที่ถ่ายเชื้อ *S.aureus*
21	ซอสข้นสีขาวอมเหลือง ไม่มีการแยกชั้น ไม่มีกลิ่นหืน มีกลิ่นน้ำส้มสายชูแรง	เช่นเดียวกับตัวอย่างเปรียบเทียบ	เช่นเดียวกับตัวอย่างเปรียบเทียบ	เช่นเดียวกับตัวอย่างเปรียบเทียบ
28	ซอสข้นสีขาวอมเหลือง ไม่มีการแยกชั้น ไม่มีกลิ่นหืน มีกลิ่นน้ำส้มสายชูแรง	เช่นเดียวกับตัวอย่างเปรียบเทียบ	เช่นเดียวกับตัวอย่างเปรียบเทียบ	เช่นเดียวกับตัวอย่างเปรียบเทียบ
35	ซอสข้นสีขาวอมเหลือง ไม่มีการแยกชั้น ไม่มีกลิ่นหืน มีกลิ่นน้ำส้มสายชูแรง	เช่นเดียวกับตัวอย่างเปรียบเทียบ	เช่นเดียวกับตัวอย่างเปรียบเทียบ	เช่นเดียวกับตัวอย่างเปรียบเทียบ

ตารางที่ 4.2 แสดงลักษณะทางกายภาพของมายองเนสที่มีค่า pH 4.5 $\pm$ 0.1 ของตัวอย่างเปรียบเทียบ และตัวอย่างที่มีการถ่ายเชื้อ *S.enteritidis* , *E.coli* และ *S.aureus* ระหว่างการเก็บรักษา

เวลา (วัน)	ลักษณะทางกายภาพ			
	มายองเนสตัวอย่างเปรียบเทียบ	มายองเนสที่ถ่ายเชื้อ *S.enteritidis*	มายองเนสที่ถ่ายเชื้อ *E.coli*	มายองเนสที่ถ่ายเชื้อ *S.aureus*
0	ซอสข้นสีขาวอมเหลือง ไม่มีการแยกชั้น ไม่มีกลิ่นหืน มีกลิ่นน้ำส้มสายชูแรง	เช่นเดียวกับตัวอย่างเปรียบเทียบ	เช่นเดียวกับตัวอย่างเปรียบเทียบ	เช่นเดียวกับตัวอย่างเปรียบเทียบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เวลา (วัน)	ลักษณะทางกายภาพ			
	มายองเนส ตัวอย่างเปรียบเทียบ	มายองเนสที่ถ่ายเชื้อ *S.enteritidis*	มายองเนสที่ถ่ายเชื้อ *E.coli*	มายองเนสที่ถ่ายเชื้อ *S.aureus*
7	ซอสข้นสีขาวอมเหลือง ไม่มีการแยกชั้น ไม่มีกลิ่นหืน มีกลิ่นน้ำส้มสายชูแรง	เช่นเดียวกับตัวอย่างเปรียบเทียบ	เช่นเดียวกับตัวอย่างเปรียบเทียบ	เช่นเดียวกับตัวอย่างเปรียบเทียบ
14	ซอสข้นสีขาวอมเหลือง ไม่มีการแยกชั้น ไม่มีกลิ่นหืน มีกลิ่นน้ำส้มสายชูแรง	เช่นเดียวกับตัวอย่างเปรียบเทียบ	เช่นเดียวกับตัวอย่างเปรียบเทียบ	เช่นเดียวกับตัวอย่างเปรียบเทียบ
21	ซอสข้นสีขาวอมเหลือง ไม่มีการแยกชั้น ไม่มีกลิ่นหืน มีกลิ่นน้ำส้มสายชูแรง	เช่นเดียวกับตัวอย่างเปรียบเทียบ	เช่นเดียวกับตัวอย่างเปรียบเทียบ	เช่นเดียวกับตัวอย่างเปรียบเทียบ
28	ซอสข้นสีขาวอมเหลือง ไม่มีการแยกชั้น ไม่มีกลิ่นหืน มีกลิ่นน้ำส้มสายชูแรง	เช่นเดียวกับตัวอย่างเปรียบเทียบ	เช่นเดียวกับตัวอย่างเปรียบเทียบ	เช่นเดียวกับตัวอย่างเปรียบเทียบ
35	ซอสข้นสีขาวอมเหลือง ไม่มีการแยกชั้น ไม่มีกลิ่นหืน มีกลิ่นน้ำส้มสายชูแรง	เช่นเดียวกับตัวอย่างเปรียบเทียบ	เช่นเดียวกับตัวอย่างเปรียบเทียบ	เช่นเดียวกับตัวอย่างเปรียบเทียบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

15467

ภาพที่ 4.1 มายองเนสที่ใช้เป็นตัวอย่างเปรียบเทียบ ที่มีค่า pH 4.0 ± 0.1 ในระยะเวลาการเก็บรักษา 35วัน ที่อุณหภูมิห้อง

ภาพที่ 4.2 มายองเนสที่ทำการถ่ายเชื้อ*S.enteritidis* ที่มีค่า pH 4.0 ± 0.1 ในระยะเวลาการเก็บรักษา 35วัน ที่อุณหภูมิห้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ

ภาพที่ 4.3 มายองเนสที่ทำการถ่ายเชื้อ *S.aureus* ที่ระดับ pH 4.0 ± 0.1 ในระยะเวลาการเก็บรักษา 35วัน ที่อุณหภูมิห้อง

ภาพที่ 4.4 มายองเนสที่ทำการถ่ายเชื้อ *E.coli* ที่มีค่า pH 4.0 ± 0.1 ในระยะเวลาการเก็บรักษา 35วัน ที่อุณหภูมิห้อง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.5 มายองเนสที่ใช้เป็นตัวอย่างเปรียบเทียบ ที่มีค่า pH 4.5 ± 0.1 ในระยะเวลาการเก็บรักษา 35วัน ที่อุณหภูมิห้อง

ภาพที่ 4.6 มายองเนสที่ทำการถ่ายเชื้อ *S.enteritidis* ที่มีค่า pH 4.5 ± 0.1 ในระยะเวลาการเก็บรักษา 35วัน ที่อุณหภูมิห้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.7 มายองเนสที่ทำการถ่ายเชื้อ *S.aureus* ที่มีค่า pH 4.5 ± 0.1 ในระยะเวลาการเก็บรักษา 35วัน ที่อุณหภูมิห้อง

ภาพที่ 4.8 มายองเนสที่ทำการถ่ายเชื้อ *E.coli* ที่ระดับ pH 4.5 ± 0.1 ในระยะเวลาการเก็บรักษา 35วัน ที่อุณหภูมิห้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลการตรวจวิเคราะห์ทางด้านจุลินทรีย์ของมายองเนสที่มีค่า pH 4.0 ± 0.1

ผลการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Plate Count) และเชื้อ *Salmonella spp.,S.aureus* และ *E.coli* ในตัวอย่างเปรียบเทียบที่มีค่าpH 4.0 ± 0.1 ภายหลังการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 35 วัน พบว่าปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด มีแนวโน้มลดลงจากเชื้อเริ่มต้น 2.2 x 10^4 โคโลนีต่อกรัม ตรวจไม่พบเชื้อ *Salmonella spp.,S.aureus* และ *E.coli* ในตัวอย่างเปรียบเทียบเริ่มต้น และในระหว่างการเก็บรักษา ดังแสดงในตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 แสดงปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Plate Count) และปริมาณเชื้อ *E.coli Salmonella spp.* และ *S. aureus* ในตัวอย่างเปรียบเทียบ ที่มีค่าpH 4.0 ± 0.1ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 35 วัน

ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์		ระยะเวลาการเก็บรักษา(วัน)					
		0	7	14	21	28	35
S.aureus	โคโลนี/กรัม	<1 [1/]	<1	<1	<1	<1	<1
	Log CFU/กรัม	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Salmonella spp.	โคโลนี/กรัม	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	Log CFU/กรัม	<1	<1	<1	<1	<1	<1
E.coli	โคโลนี/กรัม	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	Log CFU/กรัม	<1	<1	<1	<1	<1	<1
TPC	โคโลนี/กรัม	2.20×10^4	1.02×10^3	2.67×10^1	1.50×10^1	1.33×10^1	6.61×10^0
	Log CFU/กรัม	4.34	3.02	1.43	1.18	1.12	0.82

หมายเหตุ [1/] ตรวจไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ในตัวอย่างมายองเนส 0.1 กรัม โดยวิธี spread plate

ส่วนปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ตรวจพบ ในมายองเนสแต่ละตัวอย่างที่มีการเติมเชื้อ *S.enteritidis* ,*S.aureus* และ *E.coli* ภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 35 วัน พบว่าปริมาณเชื้อเริ่มต้นของเชื้อ*S.enteritidis* มีค่า 4.5 x 10^5 โคโลนีต่อกรัม ภายหลังการเก็บรักษา 7 วัน ตรวจไม่พบเชื้อในตัวอย่างดังกล่าว ส่วนเชื้อ *E.coli* ซึ่งมีปริมาณเชื้อเริ่มต้น 5.25x 10^7 โคโลนี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

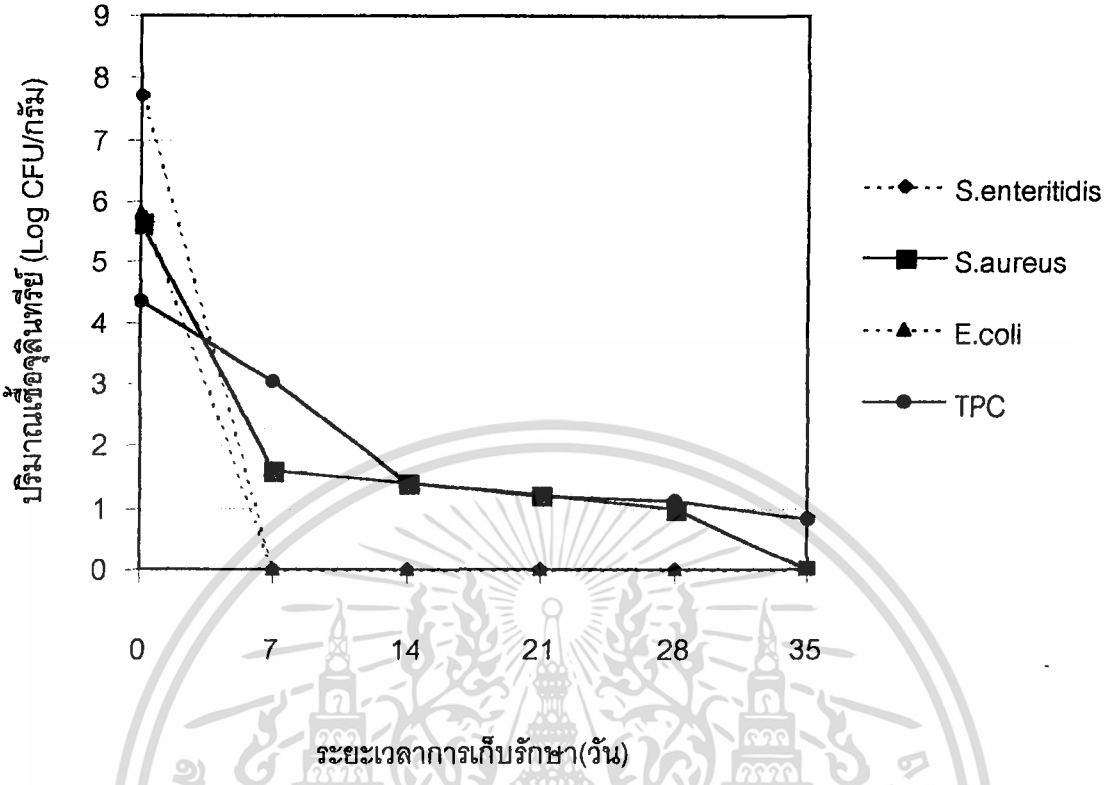
ต่อกรัม ภายหลังการเก็บรักษา 7 วัน ตรวจไม่พบเชื้อในตัวอย่างดังกล่าวเช่นเดียวกัน ส่วนเชื้อ *S.aureus* ซึ่งมีเชื้อเริ่มต้น 4.5 x 10^5 โคโลนีต่อกรัม ปริมาณเชื้อจะลดลงภายหลังการเก็บไว้เป็นเวลา 7 วัน เชื้อลดลงเหลือ 4.27 x 10^1 โคโลนีต่อกรัม และภายหลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 35 วัน จะตรวจไม่พบเชื้อดังกล่าว ดังแสดงในตาราง 4.4 และภาพที่ 4.9

ตารางที่ 4.4แสดงปริมาณเชื้อ*E.coli* , *S. enteritidis* และ *S. aureus* ในมายองเนสแต่ละตัวอย่างที่มีค่า pH 4.0 ± 0.1 ซึ่งมีการเติมเชื้อดังกล่าว ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 35 วัน

ตัวอย่าง / ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์		ระยะเวลาการเก็บรักษา(วัน)					
		0	7	14	21	28	35
S.aureus	โคโลนี/กรัม	4.50×10^5	4.27×10^1	2.67×10^1	1.70×10^1	9.55×10^0	<1 [1/]
	Log CFU/กรัม	5.65	1.63	1.43	1.23	0.98	<1
S.enteritidis	โคโลนี/กรัม	6.33×10^5	<1	<1	<1	<1	<1
	Log CFU/กรัม	5.80	<1	<1	<1	<1	<1
E.coli	โคโลนี/กรัม	5.20×10^7	<1	<1	<1	<1	<1
	Log CFU/กรัม	7.72	<1	<1	<1	<1	<1

หมายเหตุ [1/] ตรวจไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ในตัวอย่างมายองเนส 0.1 กรัมโดยวิธี spread plate

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



<u>ภาพที่ 4.9</u> กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อแต่ละชนิดในแต่ละตัวอย่างของมายองเนสที่มีค่า pH 4.0 $\pm$ 0.1กับระยะเวลาการเก็บรักษา

<u>หมายเหตุ</u> จากกราฟเส้น-----แสดงถึงการตรวจไม่พบจำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตที่ตัวอย่าง 0.1 กรัม จุลินทรีย์ที่รอดชีวิต ที่ตัวอย่าง 0.1 กรัม

4.3 ผลการตรวจวิเคราะห์ทางด้านจุลินทรีย์ของมายองเนสที่มีค่า pH 4.5 $\pm$ 0.1

ผลการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Plate Count) และเชื้อ *Salmonella spp.,S.aureus* และ *E.coli* ในตัวอย่างเปรียบเทียบที่มีค่าpH 4.5 $\pm$ 0.1 ภายหลังการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 35 วัน พบว่าปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด มีแนวโน้มลดลงจากเชื้อเริ่มต้น 1.0×10^{3} โคโลนีต่อกรัม ตรวจไม่พบเชื้อ *Salmonella spp.,S.aureus* และ *E.coli* ในตัวอย่างเปรียบเทียบเริ่มต้น และในระหว่างการเก็บรักษา ดังแสดงในตารางที่ 4.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 แสดงปริมาณเชื้อจุลินท รีย์ทั้งหมด (Total Plate Count) และปริมาณเชื้อ *E.coli* *Salmonella spp.* และ *S. aureus* ในตัวอย่างเปรียบเทียบ ที่มีค่าpH 4.5 ± 0.1ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 35 วัน

ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์		ระยะเวลาการเก็บรักษา(วัน)					
		0	7	14	21	28	35
S.aureus	โคโลนี/กรัม	<1 [1./]	<1	<1	<1	<1	<1
	Log CFU/กรัม	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Salmonella spp.	โคโลนี/กรัม	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	Log CFU/กรัม	<1	<1	<1	<1	<1	<1
E.coli	โคโลนี/กรัม	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	Log CFU/กรัม	<1	<1	<1	<1	<1	<1
TPC	โคโลนี/กรัม	1.10×10^3	8.90×10^2	5.37×10^2	3.06×10^2	1.66×10^2	5.62×10^1
	Log CFU/กรัม	3.00	2.95	2.73	2.49	2.22	1.75

หมายเหตุ [1./] ตรวจไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ในตัวอย่างมายองเนส 0.1 กรัมโดยวิธี spread plate

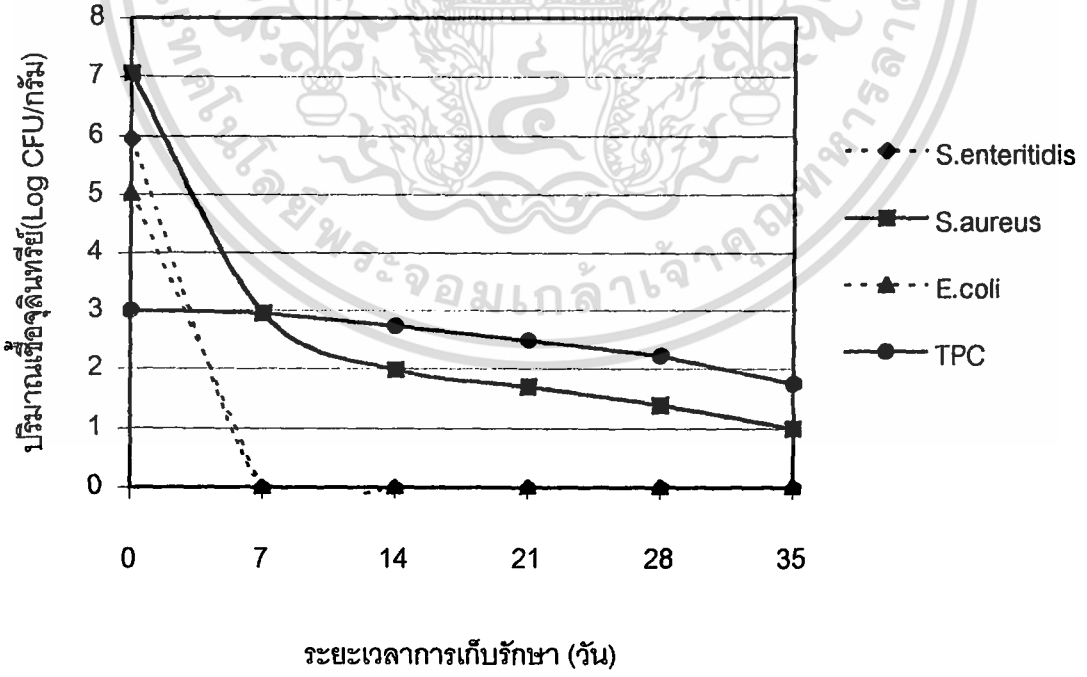
ส่วนปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ตรวจพบ ในมายองเนสแต่ละตัวอย่างที่มีการเติมเชื้อ *S.enteritidis* ,*S.aureus* และ *E.coli* ภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 35 วัน พบว่า ปริมาณเชื้อเริ่มต้นของเชื้อ*S.enteritidis* มีค่า 9.0×10^5 โคโลนีต่อกรัม ภายหลังการเก็บรักษา 7 วัน ตรวจไม่พบเชื้อในตัวอย่างดังกล่าว ส่วนเชื้อ *E.coli* ซึ่งมีปริมาณเชื้อเริ่มต้น 1.07×10^5 โคโลนีต่อกรัม ภายหลังการเก็บรักษา 7 วัน ตรวจไม่พบเชื้อในตัวอย่างดังกล่าวเช่นเดียวกัน ส่วนเชื้อ *S.aureus* ซึ่งมีเชื้อเริ่มต้น 1.18×10^7 โคโลนีต่อกรัม ปริมาณเชื้อจะลดลงภายหลังการเก็บไว้เป็นเวลา 7 วัน เชื้อลดลงเหลือ 8.91×10^2 โคโลนีต่อกรัม และภายหลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 35 วัน เชื้อลดลงเหลือ 1.00×10^1 ดังแสดงในตาราง 4.6 และภาพที่ 4.10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6แสดงปริมาณเชื้อ*E.coli* , *S. enteritidis* และ *S. aureus* ในมายองเนสแต่ละตัวอย่างที่มีค่า pH 4.5 ± 0.1 ซึ่งมีการเติมเชื้อดังกล่าว ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 35 วัน

ตัวอย่าง / ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์		ระยะเวลาการเก็บรักษา(วัน)					
		0	7	14	21	28	35
S.aureus	โคโลนี/กรัม	1.18×10^{7}	8.91×10^{2}	9.50×10^{1}	5.01×10^{1}	2.51×10^{1}	1.00×10^{1}
	Log CFU/กรัม	7.07	2.95	1.98	1.70	1.40	1.00
S.enteritidis	โคโลนี/กรัม	9.00×10^{5}	<1 [1./]	<1	<1	<1	<1
	Log CFU/กรัม	5.95	<1	<1	<1	<1	<1
E.coli	โคโลนี/กรัม	1.00×10^{3}	<1	<1	<1	<1	<1
	Log CFU/กรัม	5.03	<1	<1	<1	<1	<1

หมายเหตุ [1./] ตรวจไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ในตัวอย่างมายองเนส 0.1 กรัมโดยวิธี spread plate

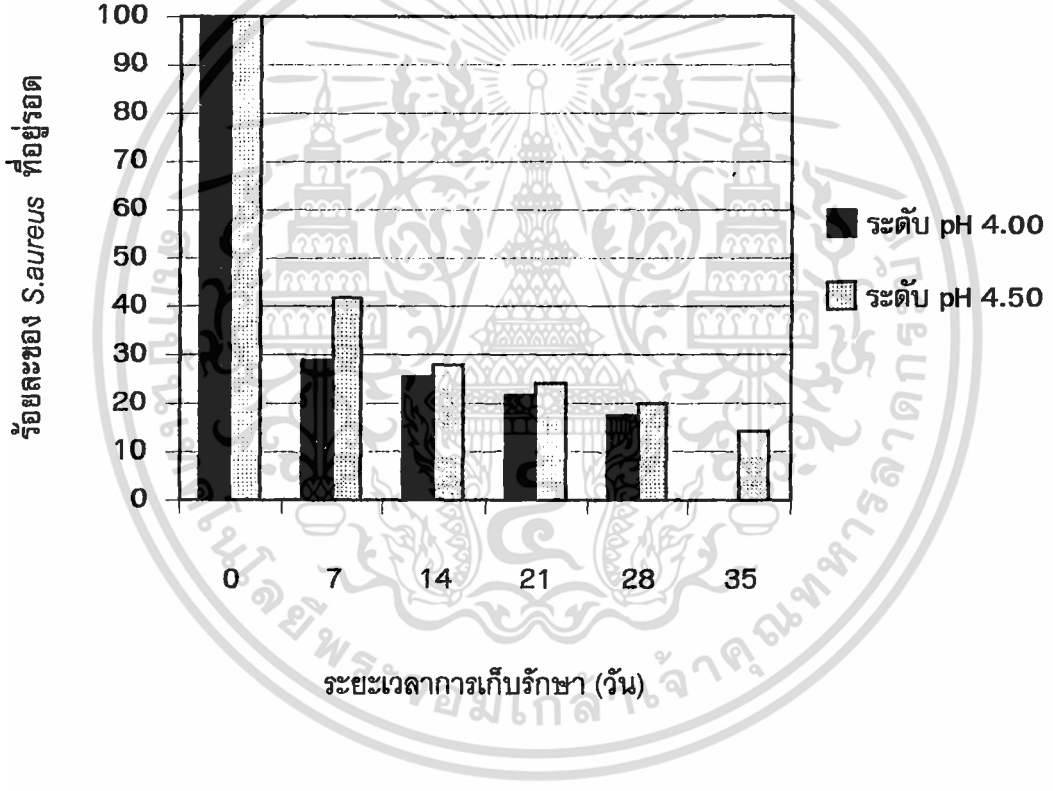


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>ภาพที่ 4.10</u> กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อแต่ละชนิดในแต่ละตัวอย่างของมายองเนสที่มีค่า pH 4.5 ± 0.1กับระยะเวลาการเก็บรักษา

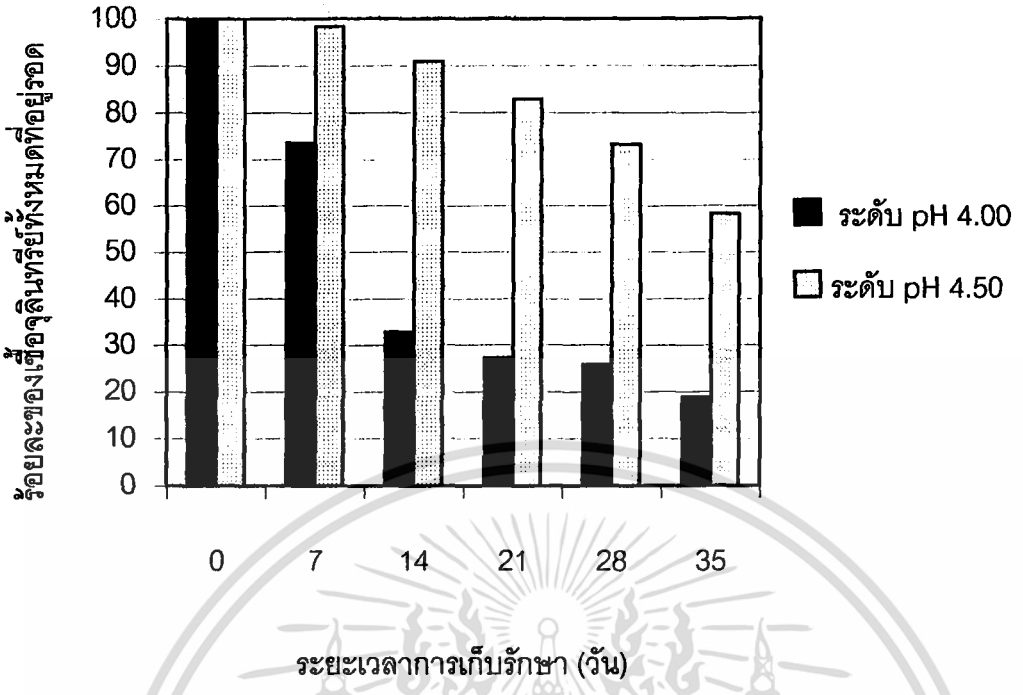
<u>หมายเหตุ</u> จากกราฟเส้น-----แสดงถึงการตรวจไม่พบจำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตที่ตัวอย่าง 0.1 กรัม จุลินทรีย์ที่รอดชีวิต ที่ตัวอย่าง 0.1 กรัม

จากตารางที่ 4.4 และ 4.6 พบว่าเชื้อ *S.aureus* ทนต่อความเป็นกรดในมายองเนสได้ดีกว่าเชื้อ *E.coli* , *S.enteritidis* ดังแสดงในภาพที่ 4.11 เช่นเดียวกับปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างเปรียบเทียบของมายองเนสที่มีค่าpH 4.0 ± 0.1 และ 4.5 ± 0.1 ดังแสดงในภาพที่ 4.12



<u>ภาพที่ 4.11</u> กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละของเชื้อ *S.aureus* ที่อยู่รอดกับระยะเวลาการเก็บรักษามายองเนส ที่มีค่า pH 4.0 ± 0.1 และ 4.5 ± 0.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.12 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดที่อยู่รอด กับระยะเวลาการเก็บรักษามายองเนส ที่มีค่า pH 4.0 $\pm$ 0.1 และ 4.5 $\pm$ 0.1

4.4 ผลการตรวจวัดค่า pH ของมายองเนสที่มีค่า pH 4.0 $\pm$ 0.1 และ pH 4.5 $\pm$ 0.1 ภายหลังการเก็บรักษา 35 วันที่อุณหภูมิห้อง

การตรวจวัดค่า pH ของมายองเนสแต่ละตัวอย่างที่ทำการถ่ายเชื้อลงไป และมายองเนสที่เป็นตัวอย่างเปรียบเทียบ ภายหลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 0,7,14,21,28 และ 35 พบว่าค่า pH ของตัวอย่างที่มีการถ่ายเชื้อทั้งหมด รวมทั้งตัวอย่างเปรียบเทียบ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 99 ($P<0.01$) แสดงในตารางที่ 4.7 และ4.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.7 ผลของค่า pH ในระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 35 วันที่อุณหภูมิห้อง ของมายองเนส ที่ระดับ pH 4.0 ±0.1

ตัวอย่าง	ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)					
	0	7	14	21	28	35
S.enteritidis [1/]	4.03[a]	4.08[a]	4.00[a]	4.03[a]	4.08[a]	4.02[a]
S.aureus [2/]	4.04[a]	4.08[a]	4.03[a]	4.09[a]	3.97[a]	4.00[a]
E.coli [3/]	4.02[a]	4.08[a]	3.92[a]	4.04[a]	4.02[a]	4.02[a]
ตัวอย่างเปรียบเทียบ	3.95[a]	4.03[a]	4.03[a]	3.96[a]	4.04[a]	4.03[a]

หมายเหตุ [1/] : *S.enteritidis* หมายถึง มายองเนสที่มีการเติมเชื้อ *S.enteritidis*

[2/] *S.aureus* หมายถึง มายองเนสที่มีการเติมเชื้อ *S.aureus*

[3/] *E.coli* หมายถึง มายองเนสที่มีการเติมเชื้อ *E.coli*

[a] ตัวอักษรที่เหมือนกันตามแนวนอน หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 99

ตารางที่4.8 ผลของค่า pH ในระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 35 วันที่อุณหภูมิห้อง ของมายองเนส ที่ระดับ pH 4.5 ± 0.1

ตัวอย่าง	ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)					
	0	7	14	21	28	35
S.enteritidis [1/]	4.44[a]	4.46[a]	4.46[a]	4.42[a]	4.48[a]	4.46[a]
S.aureus [2/]	4.46[a]	4.49[a]	4.45[a]	4.45[a]	3.43[a]	4.42[a]
E.coli [3/]	4.47[a]	4.48[a]	3.49[a]	4.43[a]	4.45[a]	4.44[a]
ตัวอย่างเปรียบเทียบ	4.45[a]	4.46[a]	4.46[a]	3.42[a]	4.48[a]	4.46[a]

หมายเหตุ [1/] : *S.enteritidis* หมายถึง มายองเนสที่มีการเติมเชื้อ *S.enteritidis*

[2/] *S.aureus* หมายถึง มายองเนสที่มีการเติมเชื้อ *S.aureus*

[3/] *E.coli* หมายถึง มายองเนสที่มีการเติมเชื้อ *E.coli*

[a] ตัวอักษรที่เหมือนกันตามแนวนอน หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 99

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

มายองเนสที่ใช้ในการทดลอง ผลิตจากบริษัท กริฟฟิทท์ ลาบอราทอร์รี่ส์ ประเทศไทย จำกัด เมื่อเทียบกับมาตรฐานของผลิตภัณฑ์มายองเนสจากชาติตะวันตก ซึ่งกำหนดให้พบเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด 1×10^3 โคโลนีต่อกรัม (ประเทศอาเจนตินา) หรือ 5×10^4 โคโลนีต่อกรัม (ประเทศโพแลนด์และชิลี) เชื้อ *E.coli* ให้พบ 0 โคโลนีต่อกรัม เชื้อ *Salmonella spp.* พบ 0 โคโลนีต่อ0.1กรัม และเชื้อ *S.aureus* พบ 0 โคโลนีต่อ0.1กรัม (Marshall,1980) พบว่าอยู่ในเกณฑ์ที่ส่วนรวมกำหนด คือมายองเนสที่ใช้ในการทดลองที่มีค่า pH 4.0 $\pm$ 0.1พบเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด 2.2×10^4 โคโลนีต่อกรัม ที่ pH 4.5 $\pm$ 0.1 .1พบเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด 1.0×10^3 โคโลนีต่อกรัม และตรวจไม่พบเชื้อ *Salmonella spp., S.aureus* และ *E.coli*

ผลิตภัณฑ์มายองเนสที่ผู้บริโภคชาวไทยยอมรับจะมีค่า pH 4.0-4.5 ซึ่งเป็นผลดีในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ที่ทำให้เกิดโรคที่อาจปนเปื้อนลงในผลิตภัณฑ์ได้ เนื่องจากเชื้อ *E.coli* และ *S.enteritidis* สามารถเจริญเติบโตได้ที่pH ต่ำสุด 4.4-4.5 เชื้อ *S.aureus* สามารถเจริญได้ที่ pH ต่ำสุด 4.0 จากการทดลองพบว่ามายองเนสที่มี pH 4..0 $\pm$ 0.1 และ 4.5 $\pm$ 0.1 สามารถทำลายเชื้อเชื้อ *E.coli* และ *S.enteritidis* ได้ภายหลัง 7 วันเนื่องจากเชื้อทั้ง 2 ไม่สามารถทนต่อสภาพความเป็นกรดในอาหารได้ ส่วนเชื้อ *S.aureus* มีความสามารถทนสภาพความเป็นกรดได้มากกว่า จึงตรวจพบเชื้อได้แต่มีแนวโน้มลดลงเมื่อการเก็บรักษามากขึ้น แต่เชื้อจะลดลงมากกว่าครึ่งหนึ่ง เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 7 วัน และเชื้อไม่สามารถสร้างสารพิษได้เนื่องจากค่า pH ต่ำสุดในการสร้างสารพิษคือ 4.8 (ในสภาพที่มีอากาศ) ชี้ให้เห็นว่าจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ที่เป็นแกรมลบ มีความทนต่อผลิตภัณฑ์ชนิดนี้น้อยกว่าแกรมบวก เนื่องจากแกรมลบมีไขมันพวก lipoprotein อยู่มากที่ผนังเซล ทำให้การดูดซึมของโซเดียมเบนโซเอทเกิดได้ดี เนื่องจากสารกันเสียชนิดนี้เมื่ออยู่ในรูปที่ไม่แตกตัว จะไม่มีประจุทำให้ละลายในไขมันได้ดี (Branen,Davidson and Salminen,1990)

เมื่อพิจารณาถึงการลดจำนวนลงของเชื้อ *S.aureus* และ เชื้อจุลินทรย์ทรีย์ทั้งหมด ในผลิตภัณฑ์ มายองเนสที่มี pH 4.0 $\pm$ 0.1 จะมีอัตราเร็วกว่า มายองเนสที่มี pH 4.5 $\pm$ 0.1 เนื่องจากโซเดียมเบนโซเอทมีประสิทธิภาพดีที่ pH ต่ำและเชื้อทนต่อสภาพความเป็นกรดของผลิตภัณฑ์ไม่ได้ โดยส่วนใหญ่แล้วค่าความเป็นกรดจะช่วยยับยั้งและทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ส่วนสารกันเสียที่เติมลงในผลิตภัณฑ์มีบทบาทช่วยยับยั้งและทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดความเสื่อมเสียมากกว่า แต่สิ่งที่สำคัญที่สุดคือสุขาภิบาลในโรงงาน และสุขลักษณะของพนักงาน จะต้องคำนึงถึงเป็นอันดับแรก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัจจัยสำคัญที่มีผลในการยับยั้งหรือทำลายเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์มายองเนสคือ ความเป็นกรด และสารกันเสีย ที่เติมลงไปในผลิตภัณฑ์ เนื่องจากมายองเนสมีค่า pH อยู่ในช่วง 4.0-4.5 จึงจัดอยู่ในอาหารประเภทที่มีกรด (Acid foods) และมีการเติมสารกันเสียได้แก่ โซเดียมเบนโซเอท ร้อยละ 0.09ลงไปในผลิตภัณฑ์ชนิดนี้ด้วย จากการทดลองพบว่ามายองเนสที่มีค่า pH 4.0 $\pm$ 0.1 และ 4.5 $\pm$ 0.1 สามารถทำลายเชื้อ *S.enteritidis* และ *E.coli* ได้ภายหลัง 7 วัน ส่วนเชื้อ *S.aureus* และเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดมีแนวโน้มลดลงเรื่อยๆ เมื่อเวลาการเก็บรักษานานขึ้น จนไม่สามารถตรวจพบเชื้อ *S.aureus* ในมายองเนสที่ pH 4.0 $\pm$ 0.1 เมื่อเก็บรักษาได้ 35 วัน แสดงให้เห็นว่าถ้าความเป็นกรดมากขึ้นจะมีความปลอดภัยในอาหารมากยิ่งขึ้น แต่ทั้งนี้ต้องคำนึงถึงรสชาติที่ผู้บริโภคส่วนใหญ่ยอมรับด้วย ดังนั้นจึงควรเก็บผลิตภัณฑ์นี้ไว้ 1 สัปดาห์ ก่อนการจัดจำหน่าย เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตและทำลายเชื้อจุลินทรีย์ ที่ทำให้เกิดโรคที่อาจปนเปื้อนมาได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กิติพงษ์ ห่วงรักษ์ . 2535 . กระบวนการแปรรูปอาหาร . ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง . 797 น.

สุมาลี เหลืองสกุล . 2527 . จุลชีววิทยาทางอาหาร . ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร . 342 น.

ศิวพร ศิวเวช . 2529 . จุลชีววิทยาทางอาหาร . ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ หาดใหญ่ . 331 น.

ศิวพร ศิวเวช . 2529 . วัตถุเจือปนอาหาร : เล่ม 1 . ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน , กรุงเทพ . 162 น.

Branen , A.L. , P.M.Davidson and S.Salminen . 1990 . FOOD ADDITIVE . Marcell Dekker , Inc . New York . 736 p.

Cliver , D.O . 1990 . FOODBORNE DISEASES . Academic Press,Inc. London .395 p.

Desrosier, N.W . 1970 . The Technology of Food Preservative . 3rd ed . The AVI Publishing Company , Inc . Westport , Connecticut . 493 p.

Frasier , W.C. and D.C.Westhoff . 1988 . Food Microbiology . 4th ed. McGraw-Hill Book Company , Singapore . 539 p.

Goetz,P.W. 1988 . MICROPAEDIA : The new encyclopaedia Britannica Volume 7 . 15th ed . Encyclopaedia Britannica , Inc. Chicago . 1044 p.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Gould ,G.W.1995 . New Methods of Food Preservation . Blackie Academic and Professional , London . 323 p.

Jay,J.M. 1992 . MODERN FOOD MICRO-BIOLOGY . 4 th ed . Van Nostrand Reinhold , New York . 701 p.

Leistner,J.M. 1994 . Food Design by hurdle technology and HACCP . Adalbert-RAPS-Foundation , Germany . 62 p.

Marshell,J.d. 1986 . Food Legistation Surveys Number 9 . Microbiological Standards for Foodstuffs . 2 nd ed . Leatherhead : The British Food Manufacturing Industries Research Association.

Varnam,A.H. 1991 . FOODBORNE PATHOGENS . BPCC Hazell Books , London . 484 p.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

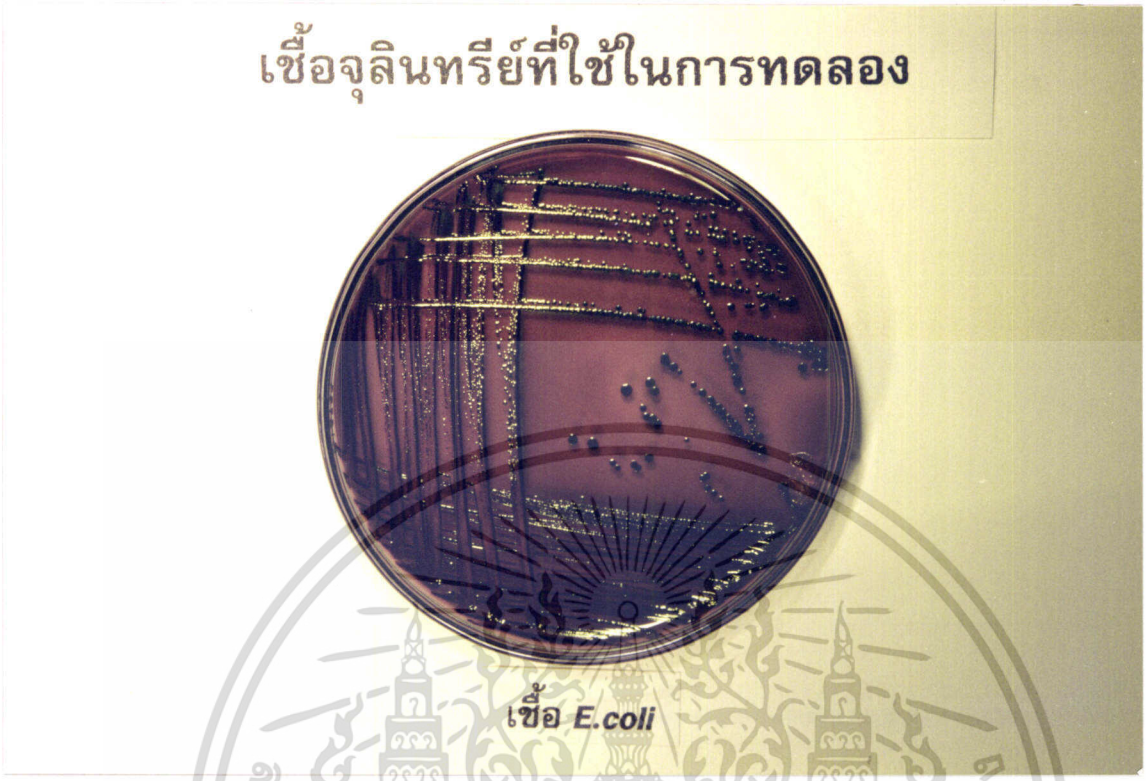
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ภาพที่ 1 เชื้อ *S.enteritidis* ที่ใช้ในการถ่ายเชื้อลงไปในมายองเนส

ภาพที่ 2 เชื้อ *S.aureus* ที่ใช้ในการถ่ายเชื้อลงไปในมายองเนส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3 *E.coli* ที่ใช้ในการถ่ายเชื้อลงไปในมายองเนส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

วิธีการตรวจหาเชื้อ *Salmonella spp.* ในมายองเนส

<u>อุปกรณ์และสารเคมี</u>

1.Xylose lysine deoxycholate agar (XLD Agar)

2.Tween 80

3.Peptone

4.จานเพาะเชื้อ

5.หลอดทดลองขนาดกลาง

6.ปิเปต 1 และ 0.1 มิลลิลิตร

7.แท่งแก้วงอ

8.ตะเกียงแอลกอฮอล์

<u>การเตรียมXLD Agar</u>

1.ส่วนประกอบ (กรัม / ลิตร)

Yeast extract	3.00	กรัม
sodium chloride	5.0	กรัม
D(+)xylose	3.5	กรัม
lactose	7.5	กรัม
sucrose	7.5	กรัม
L(+)lysine	5.0	กรัม
Sodium deoxycholate	2.5	กรัม
Sodium thisulfate	6.8	กรัม
ammonium iron (III) citrate	0.8	กรัม
phenol red	0.08	กรัม
agar-agar	13.5	กรัม

2.การเตรียม(XLD agar)

ละลาย XLD agar 55 กรัม / น้ำกลั่น 1 ลิตร ที่ pH 7.4 $\pm$0.2 ให้ความร้อนโดย water bath จนละลายหมด ทำการเทลงในจานเพาะเชื้อ จานละ 15 มิลลิลิตร โดยไม่ต้องเข้า autoclave

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการทดลอง

1.ชั่งมายองเนส 10 กรัมลงในสารละลายบัฟเฟอร์ ที่ฆ่าเชื้อแล้ว 90 มิลลิลิตร (Tween 80 ร้อยละ 0.05 และ Peptone ร้อยละ 0.1)

2.เขย่าให้มายองเนสกระจายตัวจนหมด

3.เตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ ที่ฆ่าเชื้อแล้ว 9 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองขนาดกลางเพื่อทำ dilution ตามที่ต้องการ

4.นำหลอด dilution ที่ต้องการหา ปิเปตมา 0.1 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร XLD agar เรียบร้อยแล้ว

5.ทำการ spread plate ด้วยแท่งแก้วงอที่รนไฟและรอจนเย็นแล้วให้ทั่ว ทำ dilution ละ 3 ซ้ำ

6.นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ^{o}ซ. เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ภาพที่4 การตรวจนับโดยวิธี spread plate หาเชื้อ *Salmonlla spp.* ในอาหาร XLD agar

วิธีการตรวจหาเชื้อ *S.aureus.* ในมายองเนส

อุปกรณ์และสารเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.Mannitol Salt Phenol-red agar (MS agar)

2.Tween 80

3.Peptone

4.จานเพาะเชื้อ

5.หลอดทดลองขนาดกลาง

6.ปีเปต 1 และ 0.1 มิลลิลิตร

7.แท่งแก้วงอ

8.ตะเกียงแอลกอฮอล์

9.แอลกอฮอล์ร้อยละ 70

10.ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตรที่ทำการฆ่าเชื้อแล้ว

11.ไข่ไก่

<u>การเตรียม MS agar</u>

1.ส่วนประกอบ (กรัม / ลิตร)

Peptone	10.0	กรัม
meat extract	1.0	กรัม
sodium chloride	75.0	กรัม
D(-)mannitol	10.0	กรัม
phenol red	0.025	กรัม
agar-agar	12.0	กรัม

2.การเตรียม (MS agar)

ละลาย MS agar 108 กรัม / น้ำกลั่น 1 ลิตร ที่ pH 7.4 $\pm$0.1 ให้ความร้อนโดย water bath จนละลายหมด นำไปเข้า autoclave ที่อุณหภูมิ 121 ^{o}ซ. 15 นาที

3.การเตรียม Egg yolk

แช่ไข่ไก่ทั้งฟองลงในแอลกอฮอล์ร้อยละ 70 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นตอกไข่เอาแต่ไข่แดง โดยวิธี aceptic ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่ฆ่าเชื้อแล้ว

4.การเตรียม MS-EY agar

ปีเปต Egg yolk อย่าง aceptic ลงใน MS agar ร้อยละ 3 เขย่าเบาๆให้ผสมทั่วกัน ทำการเทลงในจานเพาะเชื้อ จานละ 15 มิลลิลิตร

<u>วิธีการทดลอง</u>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.ชั่งมายองเนส 10 กรัมลงในสารละลายบัฟเฟอร์ ที่ฆ่าเชื้อแล้ว 90 มิลลิลิตร (Tween 80 ร้อยละ 0.05 และ Peptone ร้อยละ 0.1)

2.เขย่าให้มายองเนสกระจายตัวจนหมด

3.เตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ ที่ฆ่าเชื้อแล้ว 9 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองขนาดกลางเพื่อทำ dilution ตามที่ต้องการ

4.นำหลอด dilution ที่ต้องการหา ปิเปตมา 0.1 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร MS-EY agar เรียบร้อยแล้ว

5.ทำการ spread plate ด้วยแท่งแก้วงอที่รนไฟและรอจนเย็นแล้วให้ทั่ว ทำ dilution ละ 3 ซ้ำ

6.นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 °ซ. เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ภาพที่5 การตรวจนับโดยวิธี spread plate หาเชื้อ *S.aureus.* ในอาหาร MS-EY agar

วิธีการตรวจหาเชื้อ *E.coli.* ในมายองเนส

อุปกรณ์และสารเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.Eosin Methylene-blue Lactose Sucrose agar(EMB agar)

2.Tween 80

3.Peptone

4.จานเพาะเชื้อ

5.หลอดทดลองขนาดกลาง

6.ปิเปต 1 และ 0.1 มิลลิลิตร

7.แท่งแก้วงอ

8.ตะเกียงแอลกอฮอล์

การเตรียมEMB agar

1.ส่วนประกอบ (กรัม / ลิตร)

Peptone	10.0	กรัม
di-potassium hydrogen phosphate	2.0	กรัม
lactose	5.0	กรัม
sucrose	5.0	กรัม
eosin Y,yellowish	0.4	กรัม
methylene blue	0.07	กรัม
agar-agar	13.5	กรัม

2.การเตรียม(EMB agar)

ละลาย EMB agar 36กรัม / น้ำกลั่น 1 ลิตร ที่ pH 7.1 $\pm$0.1 ให้ความร้อนโดย water bath จนละลายหมด นำไปเข้า autoclave ที่อุณหภูมิ 121 $^{\circ}$ซ. 15 นาที ทำการเทลงในจานเพาะเชื้อ จานละ 15 มิลลิลิตร

วิธีการทดลอง

1.ชั่งมายองเนส 10 กรัมลงในสารละลายบัฟเฟอร์ ที่ฆ่าเชื้อแล้ว 90 มิลลิลิตร (Tween 80 ร้อยละ 0.05 และ Peptone ร้อยละ 0.1)

2.เขย่าให้มายองเนสกระจายตัวจนหมด

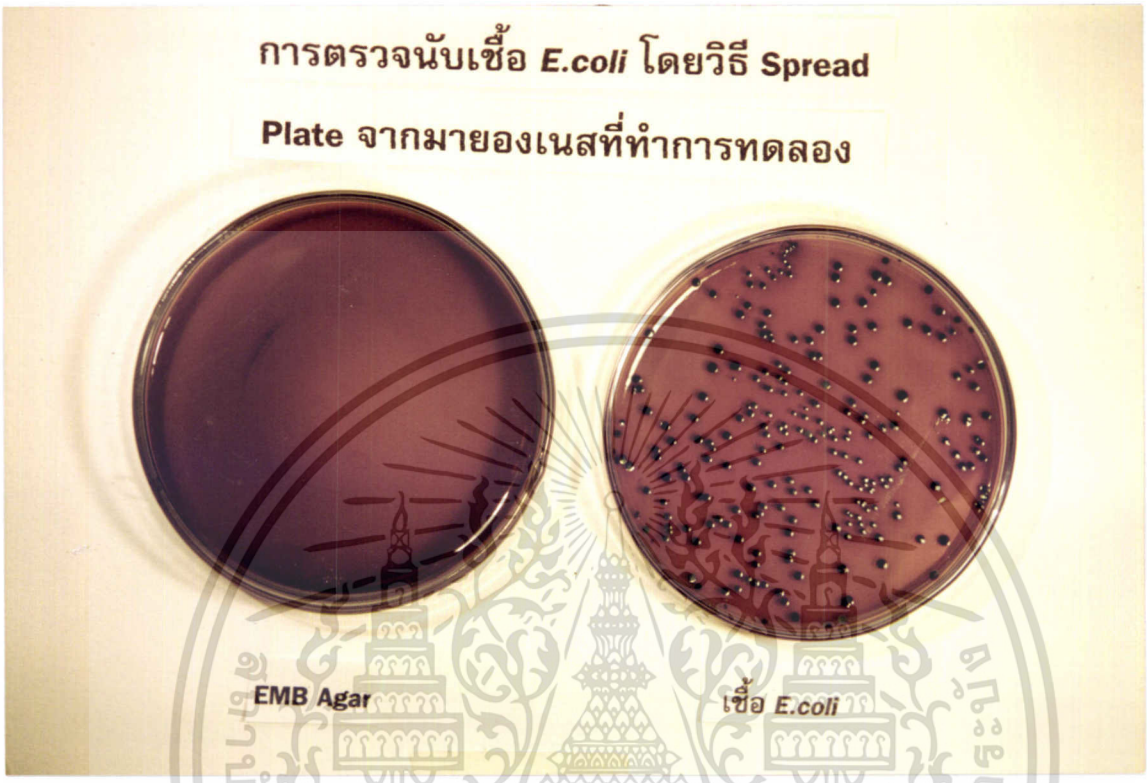
3.เตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ ที่ฆ่าเชื้อแล้ว 9 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองขนาดกลางเพื่อทำ dilution ตามที่ต้องการ

4.นำหลอด dilution ที่ต้องการหา ปิเปตมา 0.1 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร EMB agar เรียบร้อยแล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.ทำการ spread plate ด้วยแท่งแก้วงอที่รนไฟและรอจนเย็นแล้วให้ทั่ว ทำ dilution ละ 3 ซ้ำ

6.นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 °ซ. เป็นเวลา 24 ชั่วโมง



ภาพที่6 การตรวจนับโดยวิธี spread plate หาเชื้อ *E.coli*. ในอาหาร EMB agar

วิธีการตรวจหาเชื้อจุลินทรีย์ทั่วไป ในมายองเนส

อุปกรณ์และสารเคมี

1.Casein-peptone Dextrose Yeast agar(PCA agar)

2.Tween 80

3.Peptone

4.จานเพาะเชื้อ

5.หลอดทดลองขนาดกลาง

6.ปิเปต 1 และ 0.1 มิลลิลิตร

7.แท่งแก้วงอ

8.ตะเกียงแอลกอฮอล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียมPCA agar

1.ส่วนประกอบ (กรัม / ลิตร)

Peptone from casien	5.0	กรัม
Yeast extract	2.5	กรัม
D(+)glucose	1.0	กรัม
agar-agar	14.0	กรัม

2.การเตรียม(PCA agar)

ละลาย PCA agar 22.5กรัม / น้ำกลั่น 1 ลิตร ที่ pH 7.0 ±0.1 ให้ความร้อน จนละลายหมด นำไปเข้า autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °ซ. 15 นาที ทำการเทลงในจานเพาะเชื้อ จานละ 15 มิลลิลิตร

วิธีการทดลอง

1.ชั่งมายองเนส 10 กรัมลงในสารละลายบัฟเฟอร์ ที่ฆ่าเชื้อแล้ว 90 มิลลิลิตร (Tween 80 ร้อยละ 0.05 และ Peptone ร้อยละ 0.1)

2.เขย่าให้มายองเนสกระจายตัวจนหมด

3.เตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ ที่ฆ่าเชื้อแล้ว 9 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองขนาดกลางเพื่อทำ dilution ตามที่ต้องการ

4.นำหลอด dilution ที่ต้องการหา ปิเปตมา 0.1 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร PCA agar เรียบร้อยแล้ว

5.ทำการ spread plate ด้วยแท่งแก้วงอที่รนไฟและรอจนเย็นแล้วให้ทั่ว ทำ dilution ละ 3 ซ้ำ

6.นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 °ซ. เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่7 การตรวจนับโดยวิธี spread plate หาเชื้อ จุลินทรีย์ทั่วไป ในอาหาร PCA agar

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

เครื่องผลิตมายองเนส

ภาพที่8 เครื่องKORUMA ใช้ในการผลิตมายองเนสของบริษัทกริฟฟิทท์ ลาบอราทอร์รี่ส์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

นางสาว จีริน พลานุเวช เกิดเมื่อวันเสาร์ที่ 26 มิถุนายน 2519 สำเร็จการชั้นมัธยมศึกษาจาก โรงเรียนเซนต์โยเซฟ บางนา ในปี พ.ศ. 2537 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต (อุตสาหกรรมเกษตร) จากภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในปี พ.ศ. 2541

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้