



ใบรับรองปัญหาพิเศษ

ภาควิชาเทคนิคเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร

เรื่อง

การใช้เชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียและกรดแลคติกในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อสุกร

Using Lactic Acid Bacteria and Lactic Acid to Inhibit Some Microorganism in Pork


โดย

นาย ทวีสิทธิ์ อัครชัยเจริญ  
นาย อรัญ ชมภูพันธ์

ได้รับการตรวจสอบและอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาหลักสูตร  
วทบ. (พัฒนาการเกษตร)

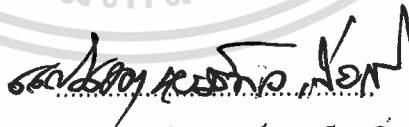
เมื่อวันที่ 20 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2539

ประธานกรรมการปัญหาพิเศษ

 20/05/39

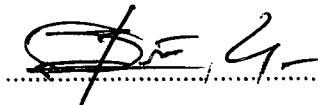
( ผศ.ดร. จุฑารัตน์ เทรยรุกุล )

กรรมการปัญหาพิเศษ



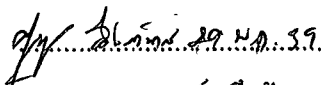
( ผศ. แสนนัด หงษ์ทรงเกียรติ )

กรรมการปัญหาพิเศษ



( อ.สุรินทร์ ทองฟุ่ก )

หัวหน้าภาควิชา



( ผศ. ศุภสมบูรณ์ อังรัตนगर )

รพ.  
ท 2327  
2538

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การใช้เชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียและกรดแลคติกในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อสุกร  
Using Lactic Acid Bacteria and Lactic Acid to Inhibit Some Microorganism in Pork



T096221

โดย

นาย ทวีสิงห์ อัสวชัยเจริญ  
นาย อรรถ ชมภูษันธ์

รฟ.  
ทลชฎก  
๒๕๓๙

เลขหมู่.....  
เลขทะเบียน.....  
วันเดือนปี.....

96221

เสนอ


ภาควิชาเทคนิคเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร  
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (พัฒนาการเกษตร)  
พ.ศ. ๒๕๓๙

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อ

ชื่อเรื่อง : การใช้เชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียและกรดแลคติกในการยับยั้งเชื้อ  
จุลินทรีย์ในเนื้อสุกร  
โดย : นาย ทวีสิงห์ อัสวชัยเจริญ  
: นาย อรัญ ชมภูพันธ์  
ชื่อปริญญา : วิทยาศาสตร์บัณฑิต (พัฒนาการเกษตร)

ประธานกรรมการปัญหาพิเศษ :

  
( ผศ.ดร.จุฑารัตน์ เศรษฐกุล )  
20, 05, 2539

การทดลองครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการลดปริมาณการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์โดยการใช้ Lactic Acid Bacteria และ Lactic acid 2% เพื่อหาแนวทางในการยืดระยะเวลาในการเก็บรักษาเนื้อสุกรให้ยาวนานยิ่งขึ้นโดยทำการทดลองกับเนื้อสันนอกสุกร ( *M. longissimus dorsi* ) โดยทำการแบ่งเนื้อออกเป็น 3 กลุ่ม จากเนื้อสันนอกที่มีลักษณะคล้ายกันกลุ่มแรกทำการสเปรย์ด้วย Lactic acid 2% กลุ่มที่ 2 สเปรย์ด้วยสารละลายเชื้อ *Lactobacillus sake* และกลุ่มที่ 3 เป็นเนื้อในกลุ่ม Control หลังจากนั้นทำการตรวจหาจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี TPC ( Total Plate Count ) ตามระยะเวลาที่กำหนด คือ ตรวจเชื้อเริ่มต้นก่อนทำการสเปรย์และต่อไปชั่วโมงที่ 2, 24 วันที่ 2, 3 และ 5 ตามลำดับ โดยภายหลังจากชั่วโมงที่ 2 เก็บเนื้อทุกกลุ่มไว้ในห้องอุณหภูมิ 7-10 องศาเซลเซียสตรวจสอบคุณสมบัติทางกายภาพของเนื้อสุกร คือ สัมผัสและกลิ่นของเนื้อ

ผลที่ได้ปรากฏว่ากลุ่มที่ใช้ Lactic acid 2 % ให้ผลตอบสนองต่อการยับยั้งปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด รองลงมาคือกลุ่มที่ใช้ *Lactobacillus sake* ได้พบว่าเชื้อตั้งต้นก่อนทำการสเปรย์ของกลุ่มที่ใช้ Lactic acid 2 % เชื้อจุลินทรีย์  $3.56 \times 10^7$  โคโลนี/กรัม หลังทำการสเปรย์ตรวจนับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ ชั่วโมงที่ 2, 24, วันที่ 2, 3 และ 5 มีจำนวน  $1.10 \times 10^7$ ,  $1.39 \times 10^7$ ,  $4.34 \times 10^7$ ,  $4.29 \times 10^7$  และ  $5.40 \times 10^7$  โคโลนีต่อกรัม ตามลำดับ การทดลองกลุ่ม 2 ที่ทำการสเปรย์ด้วยเชื้อ *Lactobacillus sake* พบว่าเชื้อตั้งต้นก่อนทำการสเปรย์ มีจำนวนเชื้อ  $8.60 \times 10^7$  โคโลนี/กรัม หลังทำการสเปรย์ตรวจนับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ ชั่วโมงที่ 2, 24, วันที่ 2 และ 5 มีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์  $1.25 \times 10^7$ ,  $5.14 \times 10^7$ ,  $8.55 \times 10^7$ ,  $9.50 \times 10^7$  และ  $8.60 \times 10^7$  โคโลนี/กรัม ตามลำดับ การทดลองกลุ่ม 3 เป็นเนื้อที่ใช้ในการ Control ทำการนับเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จุลินทรีย์ ตั้งแต่ ชั่วโมงที่ 0 , 2 , 24 , วันที่ 2 , 3 และ 5 มีจำนวนเชื้อ  $6.58 \times 10^6$  ,  $6.90 \times 10^6$  ,  $4.94 \times 10^7$  ,  $7.30 \times 10^7$  ,  $1.20 \times 10^8$  และ  $1.80 \times 10^8$  ตามลำดับ

ผลการตรวจสอบคุณภาพภายนอกของเนื้อสุกร โดยการพิจารณาจากสายตาพบว่า กลุ่ม Control เนื้อจะเริ่มเปลี่ยนสีและมีกลิ่นเหม็นเร็วที่สุด รองลงมาคือกลุ่มที่ใช้ *Lactobacillus sake* โดยพบว่ากลุ่ม Control เนื้อเริ่มจะมีสีเขียวคล้ำและมีกลิ่นเหม็นตั้งแต่วันที่ 3 เป็นต้นไป ส่วนในกลุ่ม *Lactobacillus sake* พบว่าเนื้อจะเริ่มเปลี่ยนสีและมีกลิ่นในวันที่ 5 แม้เนื้อจะเริ่มมีกลิ่น แต่ก็มีระดับที่ไม่รุนแรงเท่ากับกลุ่ม Control ส่วนกลุ่มที่ใช้ Lactic acid 2% พบว่าสีของเนื้อยังคงสดใสจนถึงวันที่ 5 กลิ่นของเนื้อก็ยังสามารถยอมรับได้ แม้สีจะออกเขียวในบางแห่ง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## คำนิยม

ในการทำปัญหาพิเศษในครั้งนี้ ข้าพเจ้าผู้จัดทำได้รับความกรุณาช่วยเหลือจากหลาย ๆ ท่านที่เกี่ยวข้อง โดยเฉพาะบิดามารดาที่ให้กำลังใจและการอนุเคราะห์ช่วยเหลือด้านการเงินมาด้วยดีโดยตลอด

นอกจากนี้ได้รับความช่วยเหลือด้านวิชาการต่าง ๆ จาก ผศ.ดร.จุฑารัตน์ เศรษฐกุล ซึ่งเป็นประธานกรรมการปัญหาพิเศษที่ได้มีความกรุณาให้คำปรึกษาและแนะนำแนวทางในการทำงาน ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องด้วยความเอาใจใส่ยิ่ง อีกทั้ง ผศ.แสนนัด หงษ์ทรงเกียรติ และอาจารย์สุรินทร์ ทองฟูโก ที่ได้สละเวลามาเป็นกรรมการปัญหาพิเศษและช่วยให้คำแนะนำต่าง ๆ จนทำให้ปัญหาพิเศษฉบับนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ตลอดจนอาจารย์อดิศร เสวตวิวัฒน์ ซึ่งได้ให้คำแนะนำเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงเชื้อแลคโตบาซิลลัส และที่จะลืมเสียมิได้เลยพื้ที่กำลังทำวิทยานิพนธ์ปริญญาโท ได้แก่ พี่คมแข พี่นันทนิจ และพี่ภัทราภรณ์ ที่ได้ดูแลและให้คำแนะนำในการทดลองแก่ผู้จัดทำขณะทำการทดลอง จนปัญหาพิเศษในครั้งนี้สำเร็จได้ด้วยดี และผู้จัดทำขอขอบพระคุณทุกท่านที่มีส่วนช่วยเหลือแต่มิได้กล่าวนามมาในที่นี้มา ณ. โอกาสนี้

ผู้จัดทำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ

	หน้า
สารบัญตาราง	(1)
สารบัญภาพ	(2)
สารบัญตารางภาคผนวก	(3)
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	4
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	11
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	17
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ	23
เอกสารอ้างอิง	25
ภาคผนวก	27



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. แสดงตารางการปฏิบัติงาน	16
2. แสดงจำนวนเชื้อจุลินทรีย์โดยเฉลี่ยเปรียบเทียบระหว่าง กลุ่มที่ใช้ Lactic acid 2% กับกลุ่มที่ใช้ <i>Lactobacillus sake</i>	18
3. แสดงจำนวนเชื้อจุลินทรีย์โดยเฉลี่ยเปรียบเทียบระหว่าง กลุ่มที่ใช้ Lactic acid 2% กลุ่มที่ใช้ <i>Lactobacillus sake</i> และกลุ่ม Control	21



## สารบัญภาพ

ภาพที่

หน้า

1. แสดงจำนวนเชื้อจุลินทรีย์โดยเฉลี่ยเปรียบเทียบระหว่าง  
กลุ่มที่ใช้ Lactic acid 2% กลุ่มที่ใช้ Lactobacillus sake  
และกลุ่ม Control

22



## สารบัญตารางภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่	หน้า
1. แสดงจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อสุกรของแต่ละกลุ่มการทดลอง ตอนที่ 1	28
2. แสดงจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อสุกรของแต่ละกลุ่มการทดลอง ตอนที่ 2	30
3. แสดงอุณหภูมิโดยเฉลี่ยภายในเนื้อสุกร	31



## บทที่ 1

### บทนำ

#### ความสำคัญของปัญหา

การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์เป็นสาเหตุสำคัญของการเสื่อมคุณภาพของเนื้อสัตว์ การเกิดโรคตลอดจนการเน่าเสียต่าง ๆ การปนเปื้อนนี้มีโอกาสเกิดขึ้นได้สูงมาก ในระหว่างขบวนการฆ่าและชำแหละ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเทศไทย ทั้งนี้เพราะระบบการจัดการด้านการสุขาภิบาลในโรงฆ่าสัตว์ส่วนใหญ่ยังไม่มีมาตรฐานที่ดีพอ เนื้อสัตว์มีการปนเปื้อนมาจากการรวมวิธีการฆ่าและการชำแหละการสุขาภิบาลในโรงฆ่า อุปกรณ์การชำแหละซากและยังเกิดจากน้ำที่ใช้ในระบบโรงฆ่าไม่สะอาด นอกจากนี้การปนเปื้อนยังสามารถเกิดได้จาก การเก็บรักษา การขนส่ง ตลอดจนการจัดการจัดจำหน่ายให้อีกด้วย การลดปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ จึงสามารถทำได้ด้วยการจัดการในเรื่องต่าง ๆ ที่กล่าวมาให้ได้มาตรฐาน หรืออาจจะได้จากการนำเอาวิธีการต่าง ๆ มาใช้ได้แก่ การนำกรดแลคติกมาใช้ในการลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ ตลอดจนการควบคุมจุลินทรีย์ที่จะก่อให้เกิดโรคได้ เช่น SALMONELLA และ STAPHYLOCOCCUS ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของโรคอาหารเป็นพิษ แต่ในการใช้กรดแลคติกนี้มีข้อจำกัดที่ต้องพิจารณาก่อนนำมาใช้ คือ กรดแลคติกมีราคาค่อนข้างสูง ซึ่งจะเป็นการเพิ่มต้นทุนการผลิตหากจะมีการนำมาใช้กันอย่างจริงจัง ในการศึกษาในครั้งนี้จึงได้มีการใช้เชื้อบริสุทธิ์ทางการค้า ( STARTER CULTURE ) ซึ่งเป็นกลุ่มของแบคทีเรียที่สามารถผลิตกรดแลคติกได้ ในการใช้ทดแทนกรดแลคติกที่มีการใช้กันอยู่ การใช้เชื้อแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกนี้จะมีราคาค่อนข้างถูกเมื่อเทียบกับการใช้กรดแลคติกโดยตรง ในการศึกษาในครั้งนี้ถือจะเป็นการทดลองวิธีการใช้กรดแลคติกและเชื้อแลคติก แอซิดแบคทีเรีย ในการลดการปนเปื้อนและควบคุมเชื้อจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## จุดประสงค์ของการศึกษา

1. เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้เชื้อบริสุทธิ์ทางการค้าในการลดการปนเปื้อนและควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์
2. เพื่อศึกษาการใช้กรดแลคติกเพื่อลดปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์

## สมมติฐานการวิจัย

แลคติก แอซิด แบคทีเรีย (LACTIC ACID BACTERIA) เป็นกลุ่มของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหารและจากการศึกษาพบว่าแลคติก แอซิด แบคทีเรียมีความสามารถในการผลิตกรดแลคติกออกมาได้ เมื่ออยู่ในสภาวะที่เหมาะสม ดังนั้นหากมีการนำ แลคติก แอซิด แบคทีเรียมาทำการจุ่มหรือพ่นลงบนเนื้อสัตว์แล้วก็น่าจะมีการสร้างกรดแลคติกขึ้นมาเพื่อทำการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่มีการปนเปื้อนในเนื้อสัตว์ได้

## ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงความเป็นไปได้ในการนำเชื้อบริสุทธิ์ทางการค้ามาใช้ลดการปนเปื้อนและควบคุมปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์
2. พัฒนาการผลิตวัตถุดิบเนื้อสัตว์ให้มีคุณภาพ เพื่อประโยชน์ในการผลิตเนื้อสัตว์แปรรูปและช่วยยืดระยะเวลาในการเก็บรักษาเนื้อสัตว์ให้ยาวนานยิ่งขึ้น

## ขอบเขตของการศึกษา

1. เป็นการวิจัยเชิงทดลอง (EXPERIMENTAL DESIGN)
2. ศึกษาถึงความเป็นไปได้และการตอบสนองของเชื้อกลุ่ม แลคติก แอซิด แบคทีเรีย ที่มีต่อการลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่มีประโยชน์ในเนื้อสัตว์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## นิยามศัพท์

การปนเปื้อน หมายถึง ภาวะที่มีสิ่งแปลกปลอมที่ไม่พึงประสงค์เข้ามาปะปนกับ  
สิ่งที่เราสนใจ

เชื้อบริสุทธิ์ทางการค้า หมายถึง เชื้อจุลินทรีย์ที่ทราบสายพันธุ์ที่แน่นอน และนำ  
ไปใช้ประโยชน์ในการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ ประเภทอศัยการหมัก

เชื้อจุลินทรีย์ หมายถึง สิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่อยู่ในเนื้อสัตว์ไม่สามารถมองเห็นได้  
ด้วยตาเปล่าซึ่งก่อให้เกิดประโยชน์และโทษ

แลคติก แอซิด แบคทีเรีย หมายถึง กลุ่มของแบคทีเรียที่สามารถสร้างกรด  
แลคติกได้เป็นผลิตภัณฑ์

ขบวนการ Metabolism หมายถึง ขบวนการเปลี่ยนแปลงทางเคมีซึ่งเกิดภายใน  
ร่างกายของสิ่งมีชีวิต โดยมีเอนไซม์เข้ามาควบคุมเพื่อสร้างพลังงานจากอาหาร และออกซิเจน  
จากการหายใจเข้าไป รวมทั้งการซ่อมแซม สร้าง ส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย และควบคุมการให้  
ส่วนต่าง ๆ ของร่างกายทำงานเป็นปกติ

## บทที่ 2

### การตรวจเอกสาร

#### แหล่งของการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในการปนเปื้อนของเนื้อสัตว์

เนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์นับได้ว่าเป็นวัสดุอาหารที่เน่าเสียได้ง่ายที่สุด ดังนั้นจึงต้องการการดูแลและการจัดการที่ใกล้ชิดในแทบทุกขั้นตอน หลังจากที่สัตว์ถูกฆ่าตายและเอาอวัยวะภายในออกแล้ว โดยทั่วไปเนื้อสัตว์ขณะนั้นจะยังคงมีสถานะจุลชีวะเหมือนกับในช่วงก่อนทำการฆ่า บริเวณผิวหนังของสัตว์เช่น ขน หนัง ตามปกติจะมี ดิน ทราย และน้ำซึ่งมีจุลินทรีย์ปะปนอยู่ แต่ในขณะที่เดียวกันภายในกล้ามเนื้ออาจกล่าวได้ว่าแทบจะไม่มีการปนเปื้อนดังกล่าวอยู่เลย อย่างไรก็ตามในสิ่งตกค้างในลำไส้และกระเพาะอาหาร จะปรากฏว่ามีเชื้อปนเปื้อนอยู่ในระดับค่อนข้างสูง และก็เป็นที่น่าพอใจที่จุลินทรีย์บางส่วนจากแหล่งนี้จะสามารถเข้าไปปนเปื้อนในซากอยู่บ้างไม่มากนักน้อย นอกจากนั้นถึงแม้ในสัตว์ที่มีสุขภาพอนามัยแข็งแรงสมบูรณ์ดีนั้น ก็มิอาจบอกได้ว่าในซากจะมีเชื้อจำนวนมาก อาจจะมีจุลินทรีย์อยู่บ้างในตับ ไต ต่อมต่างๆ และม้าม ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้อาจเข้าสู่กล้ามเนื้อได้อยู่แล้ว โดยทางระบบการหมุนเวียนของโลหิต แต่จะมีจำนวนไม่มากเท่าใดนัก การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์นี้อาจเริ่มเกิดขึ้นในขั้นตอนแรกๆ ของการฆ่าสัตว์เลยทีเดียว คือตั้งแต่ขั้นตอนการแทงคอเอาเลือดออก จนถึงขบวนการเปิดซากเอาเครื่องในออก โดยจุลินทรีย์จากอวัยวะภายในและจากในระบบหมุนเวียนโลหิต จะถูกนำและกระจายไปยังส่วนต่างๆของร่างกายสัตว์ในทันที ส่วนที่ว่า การปนเปื้อนเหล่านี้จะส่งผลให้เกิดการเน่าเสียหรือไม่อย่างไรนั้น จะขึ้นอยู่กับปัจจัยสิ่งแวดล้อมอื่นๆ อีกหลายประการ เช่น ความสามารถของจุลินทรีย์ที่จะใช้ตัวกลางอาหารซึ่งมีโปรตีนสูงมีคาร์โบไฮเดรตต่ำของเนื้อสัตว์ หรือความสามารถอยู่ได้สภาวะขาดออกซิเจน หรือมีแต่น้อยมาก ซึ่งจากสภาวะต่างๆเหล่านี้จุลินทรีย์บางชนิดก็ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ ( ชัยณรงค์ , 2529 )

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เชื้อจุลินทรีย์ที่มักพบปนเปื้อนในเนื้อสัตว์

### 1. *Salmonella* spp.

เป็นแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน ไม่สร้างสปอร์บางสายพันธุ์สามารถเคลื่อนที่ได้ บางสายพันธุ์ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ (Jay ,1970) อุณหภูมิเหมาะแก่การเจริญเติบโตของเชื้อ คือ 37 องศาเซลเซียส แต่เชื้อสามารถเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิ ระหว่าง 5-47 องศาเซลเซียส และสามารถเพิ่มจำนวนได้ที่อุณหภูมิตั้งแต่ 7-40 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส สามารถทำลายเชื้อได้ภายใน 40 นาที แต่ในอุณหภูมิ 60-81 องศาเซลเซียส สามารถทำลายเชื้อได้ภายใน 4 นาที เท่านั้น ค่า pH ที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโต คือ 6.5-7.5 และการทนกรดจะขึ้นอยู่กับปริมาณของเชื้อแต่ละ Serotype ส่วนการปนเปื้อนของเชื้อชนิดนี้ คือ การขนส่ง อาหารสัตว์ น้ำ มนุษย์และ มูลของสัตว์ ( Concon , 1988 )

ลักษณะอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อมีแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม คือ

- ไข้เอนเทอริก (Enteric fever) ได้แก่ โรคไทฟรอย (Typhoid Disease) เกิดจาก *S. typhi* , *S. paratyphi* A , B และ C
- โลหิตเป็นพิษ (Septicemia) เกิดจาก *S. choleraesuis* เชื้อจะเข้าสู่กระแสโลหิต และทำให้เกิดภาวะโรคแทรกซ้อนในผู้ป่วยที่มีอาการอ่อนเพลีย ( Shanson , 1982 )
- โรคระบบทางเดินอาหารอักเสบ (Gastroenteritis) เชื้อ *Salmonella* ส่วนใหญ่จะทำให้เกิดอาการแบบที่ 3 นี้ โดยเชื้อที่ทำให้เกิดโรคนี้น่ามากที่สุด คือ *S. typhimurium* ( Jay , 1970 )

### 2. *Staphylococcus* spp.

เป็นแบคทีเรียที่ดัดสีแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ สามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน *S.aureus* มีการผลิตสารพิษ enterotoxin ในเนื้อสัตว์ ซึ่งถ้าหากบริโภคเข้าไปจะมีผลทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ และยังพบว่า *S.aureus* เป็นเชื้อที่ทนต่อความแห้งได้ดี การปนเปื้อนของเชื้อมีดังนี้คือ จากสิ่งแวดล้อม (อากาศ ฝุ่น น้ำ อาหารและอุจจาระ) มักพบเชื้อมีบริเวณ เชื้อบูของจุมูก คอหอย และผิวหนังของมนุษย์ (Concon , 1988) William and Dennis (1988) กล่าวว่า enterotoxin จะถูกผลิตภายหลังจากเชื้อได้มีการเจริญเติบโตแล้ว ปริมาณเชื้อที่เจริญแล้วสร้างสารพิษจนเกิดความเป็นพิษกับผู้ที่บริโภคเข้าไป มีประมาณ  $10^6$  Cell/g อุณหภูมิที่เหมาะสมแก่การผลิตสารพิษอยู่ในช่วง 15.6 - 46.1 องศา

เซลเซียส แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดคือ 40 องศาเซลเซียส อุณหภูมิโดยทั่วไปแล้วเชื้อ *Staphylococcus spp.* สามารถเจริญได้ในอุณหภูมิระหว่าง 10-45 องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมแก่การเจริญเติบโตที่สุดอยู่ระหว่าง 35-37 องศาเซลเซียส เนื่องจากเชื้อนี้เป็นพวกที่ไม่สามารถสร้างสปอร์ ดังนั้นมักถูกทำลายในขบวนการผลิตที่ใช้ความร้อนหรือถูกทำลายที่อุณหภูมิระหว่างการประกอบอาหาร ค่า pH ที่เหมาะสมที่เชื้อ *Staphylococcus spp.* สามารถเจริญได้ในค่า pH ที่กว้างส่วนใหญ่จะเจริญได้ดีในสภาพที่เป็นด่างซึ่งที่ค่า pH 9 บางสายพันธุ์ยังสามารถเจริญได้ ในสภาพที่เป็นกรดจะสามารถยับยั้งเชื้อนี้ได้ดี

### 3. *Escherichia coli* ( *E.coli* )

เป็นแบคทีเรียแกรมลบ เคลื่อนที่ได้ รูปร่างเป็นแท่ง เจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนและในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ส่วนมากเชื้อ *E.coli* เกือบทุกชนิดจะถูกทำลายที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หรือ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15-30 นาที (Concon , 1988 ) โดยทั่วไปจะยอมรับกันว่า *E.coli* เป็น Normal flora ในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์ แต่บางสายพันธุ์สามารถทำให้เกิดอันตรายต่อผู้ที่ได้รับเชื้อเข้าไป ซึ่ง *E.coli* มีทั้งกลุ่มที่สร้างสารพิษ และไม่สร้างสารพิษแต่สามารถเข้าทำลายลำไส้ทำให้เกิดอาการเจ็บป่วยได้ อุณหภูมิที่เหมาะสมแก่การเจริญเติบโตที่สุดของเชื้อนี้คือ 37 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดวัดโดยค่า pH ของเชื้อ *E.coli* เจริญได้ดีในช่วง pH 7-7.5 ค่า pH ต่ำสุดที่เชื้อสามารถเจริญได้คือ 4.0 และค่าสูงที่สุดที่เชื้อเจริญได้คือ 8.5 การปนเปื้อนของเชื้อมีดังนี้คือ จากเครื่องในของสัตว์ และคน อุจจาระ เนื้อสัตว์ที่ปรุงไม่สุก ( William and Dennis , 1988 )

### 4. *Enterobacter*

เซลล์รูปท่อนสั้นเคลื่อนที่โดยใช้แฟลกเจลลารอบเซลล์ ไม่สร้างสปอร์บางสายพันธุ์สร้างแคปซูล สามารถใช้ซิเตรตและแอซิโตนเป็นแหล่งคาร์บอน หมักกลูโคสให้กรดและก๊าซ ที่ 37 องศาเซลเซียส พบทั่วไปในธรรมชาติโดยเฉพาะ พืช รั้วพืช น้ำ และทางเดินอาหาร ชนิดที่มีความสำคัญด้านอาหาร ได้แก่ *E. aerogenes* . *E. cloacae* ทำให้เน่าเหม็นเกิดเหม็นยา *E. aerogenes* จัดเป็นพวกแบคทีเรียโคลิฟอร์ม ซึ่งเป็นกลุ่มแบคทีเรียที่ชี้ให้เห็นถึงคุณภาพของอาหารหากมีแบคทีเรียพวกนี้อยู่ อาหารนั้นอาจมีการปนเปื้อนจากอุจจาระหรือน้ำโสโครก ( วิลาวัณย์ , 2539 )

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 5. *Pseudomonas* spp.

เป็นแบคทีเรียที่มีรูปร่างเป็นท่อน มีขนาด 0.5-1 x 1.5-4 ไมโครเมตร เคลื่อนที่โดยใช้แฟลกเจลลาอาจมีเส้นเดียวหรือหลายเส้น คัดสีแกรมลบ กระบวนการสร้างและสลายพลังงานเป็นแบบการหายใจไม่พบการหมัก เป็นพวกต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต แบคทีเรียพวกนี้พบในธรรมชาติ เช่น ดิน น้ำ พืช ทางเดินอาหารคนและสัตว์ ช่วงอุณหภูมิในการเจริญเติบโต 4 - 43 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตส่วนใหญ่อยู่ใกล้ ๆ 30 องศาเซลเซียส ทุกชนิดสามารถเจริญเติบโตได้ดีในช่วง pH คือ 7.0-8.5 และส่วนใหญ่ไม่สามารถเจริญเติบโตที่ pH 6.0 หรือต่ำกว่า ลักษณะของเชื้อ *Pseudomonas* มีความสามารถในการย่อยสลายโปรตีนในเนื้อสัตว์ได้สูง ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในเนื้อสัตว์ คือก่อให้เกิดกลิ่นแอมโมเนีย pH ของเนื้อมีค่าสูงขึ้นและเกิดเมือกที่ผิวของเนื้อสัตว์ ( วิชาวัณโรค , 2539 )

### คุณสมบัติของกรดที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

กรดมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ถึงแม้ว่าจะเป็นกรดที่ถูกเติมลงไปในการอาหารหรือเป็นกรดที่มีอยู่ในส่วนประกอบของอาหาร หรือกรดที่ถูกสร้างมาจากการหมักก็ตาม ถ้าความเข้มข้นของกรดเพียงพอจะมีผลต่อการทำลายจุลินทรีย์ แต่ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดของกรดและชนิดของจุลินทรีย์ ทั้งนี้มีรายงานการวิจัยของต่างประเทศ พบว่าผลของการทำลายแบคทีเรียของกรดแอซิดิกความเข้มข้น 4 % สามารถทำลายแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* , *Escherichia coli* , *Pseudomonas aeruginosa* และ *Salmonella typhosa* ได้ภายในระยะเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ในขณะที่กรดแลคติก ความเข้มข้นเพียง 0.75 % สามารถทำลายได้ในสภาพเดียวกัน ( สราวุฒิ , 2538 )

การจุ่มเนื้อสัตว์ลงในกรดแลคติก มีผลให้จำนวนจุลินทรีย์ลดลงเพราะกรดแลคติกสามารถมีผลยับยั้งและทำลายเชื้อโรคได้ และยังขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของกรดจากการทดลองกรดแลคติกความเข้มข้น 1 % ปริมาตรโดยปริมาตร มีผลในการยับยั้งหรือชะลอการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ จำนวนจุลินทรีย์ลดลงภายหลังการใช้ระยะเวลาหนึ่ง ส่วนกรดแลคติกที่มีความเข้มข้น 2 % ปริมาตรโดยปริมาตร มีผลในการยับยั้งและทำลายจุลินทรีย์ จำนวนจุลินทรีย์จะลดลงทันทีภายหลังจากการใช้ ผลจากการใช้กรดแลคติกลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ จะสามารถยืดระยะเวลาในการเก็บรักษาเนื้อให้นานขึ้น นอกจากนี้ยังเป็นการเพิ่มคุณภาพของเนื้อสัตว์อีกด้วย ผลเสียของการจุ่มเนื้อลงในกรดแลคติกก็คือ จะทำให้สีของเนื้อซีดลงเล็กน้อยถ้าใช้กรดแลคติกความเข้มข้นต่ำ เมื่อเนื้อที่ใช้ถูกเก็บรักษาไว้ประมาณ 1 วันสีของเนื้อจะกลับเป็นปกติเหมือนเดิม ( จุฑาทิพย์ , 2533 )

ที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## คุณสมบัติของ Lactic acid bacteria

เชื้อ *Lactobacillus* จัดอยู่ในกลุ่ม Lactic bacteria ตีคลีแกรมลบไม่สร้างสปอร์ มีรูปร่างกลมและเป็นแท่ง การที่กลุ่มแบคทีเรียเหล่านี้สามารถผลิตกรดแลคติกออกมา จำเป็นต้องมีการหมักน้ำตาลเพื่อใช้ในการสร้างผลิตภัณฑ์โดยการผ่านกระบวนการ Metabolism ที่สภาวะแวดล้อมพอเหมาะคุณสมบัติของกรดแลคติกนี้มี pH 3.82 ซึ่งค่อนข้างเป็นกรดแก่ สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์บางชนิดที่ไม่สามารถทน pH ของกรดแลคติกได้ แต่ที่สำคัญกลุ่มแลคติกแบคทีเรียจะผลิตไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ( $H_2O_2$ ) , diacetyl , secondary reaction products และ bacteriocins สารเหล่านี้สามารถยับยั้งจุลินทรีย์อื่นๆ ได้ และจากการทดลองเชื้อ *Lactobacillus* spp. เป็นตัวยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Staphylococcus* ซึ่งสารที่ยับยั้งก็คือ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ( $H_2O_2$ ) มารวมตัวกับกรดแลคติกเป็นสารประกอบหนึ่งมีชื่อว่า lactoperoxide ซึ่งมีอยู่ในเชื้อ *Lactobacillus* อยู่แล้วอีกสารหนึ่งคือ Diacetyl (2,3-butanedione) ถูกสร้างขึ้นโดยผ่านกระบวนการ Metabolism จากการหมักซีสเตรดด้วยกลุ่มแลคติกแอซิดแบคทีเรีย มีรายงานว่าค่าความเข้มข้น 200  $\mu\text{g/ml}$  Diacetyl จะสามารถยับยั้งกลุ่มแบคทีเรียแกรมลบต่าง ๆ ได้ความเข้มข้น 300  $\mu\text{g/ml}$  จะสามารถยับยั้งกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวกได้ และที่ความเข้มข้น 344  $\mu\text{g/ml}$  ก็จะสามารถยับยั้งกลุ่มแบคทีเรียที่สามารถก่อให้เกิดโรคทั้งหลายได้อาทิเช่น *Salmonella* , *E. coli* , *Yersinia* เป็นต้น

คุณสมบัติของ *Lactobacillus* ที่มีความสำคัญด้านอาหาร

1. ความสามารถในการหมักน้ำตาลให้กรดแลคติก นำไปใช้ในผลิตภัณฑ์นมอุตสาหกรรมผลิตกรดแลคติกในระดับอุตสาหกรรม เช่นใช้ *L. delbrueckii* ผลิตกรดแลคติกจากหางนม *L. pentosus* (*L. plantarum*) ผลิตกรดแลคติกจากโรงงานกระดาษ
2. ความสามารถในการผลิตก๊าซและสารระเหยอื่น ๆ
3. ความสามารถในการสร้างเมือก มีผลทำให้น้ำจุ่น ผักดองเกิดเมือก
4. ความสามารถในการทนความร้อนทำให้อยู่รอดภายหลังจากการพาสเจอร์ไรท์หรือการใช้ความร้อนอื่น ๆ
5. ความสามารถในการเจริญที่อุณหภูมิต่ำเป็นสาเหตุที่ทำให้ผลิตภัณฑ์เนื้อ เช่น แฮม ไส้กรอก เกิดการเน่าเสียและมีรสเปรี้ยว ( วิลาวัณย์ , 2539 )

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## คุณสมบัติของเชื้อบริสุทธิ์ทางการค้าที่ใช้ในการทดลอง

เชื้อบริสุทธิ์ทางการค้าประกอบด้วยเชื้อ *Lactobacillus curvatus* , *Staphylococcus carnosus* , *Micrococcus varians* ซึ่งเชื้อ *Lactobacillus curvatus* และ *Micrococcus varians* จัดอยู่ในกลุ่มแลคติกแอซิดแบคทีเรีย ดิคลีแกรมลบเป็นกลุ่มที่ไม่สร้างสปอร์มีรูปร่างเป็นแท่งและทรงกลม การที่กลุ่มแบคทีเรียเหล่านี้สามารถผลิตกรดแลคติกออกมา จำเป็นต้องมีน้ำตาลเป็นสารตั้งต้นเพื่อนำไปสู่การหมัก แล้วจึงสร้างผลิตภัณฑ์ใหม่ออกมา คือ กรดแลคติก โดยผ่านขบวนการ Metabolism ในสภาวะที่เหมาะสม ซึ่งไม่จำกัดความเข้มข้นของน้ำตาลและปัจจัยอื่น ๆ ในการเจริญเติบโต เช่น กรดอะมิโน , วิตามิน , และนิวคลีอิกแอซิด แต่อาจจะถูกควบคุมโดยปริมาณออกซิเจน ภายใต้อินโซลูชันเหล่านี้ กลุ่มแลคติกแอซิด แบคทีเรียสามารถแบ่งการหมักได้เป็น 2 ชนิด คือ ชนิด Homofermentative กับชนิด Heterofermentative

1. ชนิด Homofermentative จะใช้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในการหมักให้เป็นผลิตภัณฑ์เพียงชนิดเดียวก็คือ กรดแลคติก เช่นเชื้อ *Lactobacillus spp.* (เกือบทุกสกุล)
2. ชนิด Heterofermentative จะใช้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในการหมักให้เป็นผลิตภัณฑ์ได้หลายชนิดก็คือ เอธานอล , กรดอะซิติก , คาร์บอนไดออกไซด์ , แลคติกแอซิดและที่สำคัญก็คือ กรดแลคติก เชื้อเหล่านี้ได้แก่ *Micrococcus spp.* , *Streptococcus spp.* , *Pediococcus spp.* เมื่อกลุ่มแลคติกแอซิด แบคทีเรีย ชนิด Homofermentative และ Heterofermentative อาศัยอยู่ร่วมกันก็จะได้ประโยชน์ร่วมกัน โดย Heterofermentative จะมีผลิตภัณฑ์ที่ได้จำพวกน้ำตาลอยู่คือ Dextran และ Manitol ซึ่งสารเหล่านี้จะนำไปใช้เป็นสารตั้งต้น ในการหมักอีกครั้ง และสร้างกรดแลคติกเพิ่มขึ้นอีก (George, 1983)

## การใช้เชื้อ *Lactobacillus* ในการลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์

การนำเอาเชื้อ *Lactobacillus* และ *Pediococcus* มาเพื่อใช้ยัดอายุของเนื้อเป็นที่รู้จักกันมาหลายปี โดยเฉพาะอย่างยิ่งการทำผลิตภัณฑ์เนื้อ อายุการเก็บรักษาเนื้อสัตว์จะยาวขึ้นเนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าวจะผลิตสารบางอย่าง เช่น lactic acid ที่จะมายับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดอื่น และนอกจากนี้ยังทำให้เกิดการแข่งขันเพื่อการอยู่รอดระหว่างเชื้อจุลินทรีย์ที่เดิมเข้าไปและเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อในกลุ่มพวก *Pseudomonas* ( Stiles และ Hastings, 1991 )

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Isabel Guerrero และคณะ (1995) ได้ทดลองใช้เชื้อ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Pediococcus pentosaceus* เติมนลงในเนื้อโคและเนื้อสุกร โดยเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์พวก *Pseudomonas* ได้อย่างมีประสิทธิภาพภายใน 3 วันแรก และการที่เชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่พึงประสงค์ลดลง ก็เนื่องมาจากการแข่งขันกันระหว่างเชื้อจุลินทรีย์ด้วยกันเองมากกว่าที่จะเป็นผลเนื่องมาจากกรด lactic ที่เชื้อ *Lactobacillus* สร้างขึ้น

### มาตรฐานการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์

เนื่องจากการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียมีอันตรายต่อผู้บริโภค จึงได้มีการกำหนดมาตรฐานการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย โดยมาตรฐานการส่งออกเนื้อสัตว์ของกรมปศุสัตว์ ปี 2535 ได้กำหนดมาตรฐานไว้ดังนี้ Total Plate Count ให้มีจำนวนจุลินทรีย์น้อยกว่า 500,000 โคโลนีหรือเซลล์/กรัม , Faecal Streptococci ให้มีค่าเท่ากับ 1,000 โคโลนีหรือเซลล์/กรัม , MPN coliform ให้มีค่าเท่ากับ 5,000 โคโลนีหรือเซลล์/กรัม , เชื้อ *Staphylococcus aureus* ให้พบได้น้อยกว่า 100 โคโลนีหรือเซลล์/กรัม และห้ามมิให้มีการตรวจพบเชื้อ *Salmonella* ในเนื้อสัตว์ที่จะส่งออก ( กรมปศุสัตว์ , 2535 )

นอกจากการกำหนดมาตรฐานการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้กำหนดไว้ภายในประเทศแล้ว ในต่างประเทศก็ได้มีการกำหนดมาตรฐานไว้เช่นกัน โดยเฉพาะกลุ่มประเทศที่พัฒนาแล้วจะมีการกำหนดมาตรฐานที่ค่อนข้างเข้มงวด ดังเช่นประเทศเยอรมันนี ได้มีการกำหนดมาตรฐานการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์บนซากสุกรไว้ดังนี้ Total aerobic count ให้มีจำนวนจุลินทรีย์น้อยกว่า 10,000 โคโลนีหรือเซลล์/ซม. และห้ามมิให้มีการตรวจพบเชื้อดังต่อไปนี้ *Salmonella* , *Compyrobacter* , *Yersinia* และ *Listeria* ( Troeger , 1993 )

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### บทที่ 3

#### อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

##### อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1. เนื้อสั้นนอกของสุกร ( *M. longissimus dersi* )
2. กรดแลคติก ( L- Star 80 )
3. เชื้อบริสุทธิทางการค้า LS-25 ( *Lactobacillus sake* ) ผลิตโดย Gewurzmuller GmbH , D-70444 Stuttgart , Germany
4. ตู้บภายในไค้ความคั่น ( Incubator )
5. หม้อนึ่งความคั่นไอ ( Autocave )
6. เครื่องวัดอุณหภูมิ ( Thermo meter )
7. แผ่นรองไค้ความร้อน ( Hot Plate ) พร้อม เครื่องเขยาระบบแม่เหล็ก ( Magnetic Stir )
8. อุปกรณ์เครื่องแก้วที่ใช้ในการตรวจนับเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ หลอดดูดวัดปริมาตร(Pipet) , ขวดเตรียมสารละลาย (Elenmyer Flash) , จานรอง ( Petri Dish ) , หลอดทดลอง ( Test Tube ) , กระจกตวง ( Scale Cylinder )
9. ตู้เย็น ( Refrigerator )
10. ตะแกรงใส่หลอดทดลอง
11. ตะเกียง ( Bunsen Burner )
12. เครื่องซังอิเล็กโทโรนิก
13. อาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ Plate count Agar (PCA) Glucose Yeast Peptone Agar ( GYP )

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

### 1. การเตรียมเชื้อบริสุทธิ์ทางการค้า

ชั่งเชื้อบริสุทธิ์ทางการค้าหนัก 1 กรัม แล้วนำไปละลายในน้ำเกลือ 0.85 % ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ประมาณ 10 cc. หลังจากนั้นให้ใช้ loop ที่ผ่านการเผาไฟจุ่มในสารละลาย แล้วนำไปเจือจางบนอาหาร GYP ที่เตรียมไว้ นำเชื้อไปทำการบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ใช้เข็มเย็บโคลโลนีของเชื้อ *Lactobacillus* โดยจะสังเกตจากเคลียร์โซนรอบ เซล นำไปเลี้ยงต่อใน GYP ที่เตรียมไว้ในหลอด นำไปบ่มอีก 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นให้ทำการ ถ่ายเชื้อลงใน GYP เหลว นำไปบ่มอีก 20 ชั่วโมงเพื่อให้เชื้อแข็งแรงขึ้นการนำไปใช้ให้นำเชื้อที่ เตรียมได้ 1 มล. ผสมลงในสารละลายน้ำตาล 10 % จำนวน 99 มล. แล้วจึงนำไปใช้ในการ ทดลอง

### 2. Plate count agar ( PCA )

ชั่ง Plate count agar 23.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มล. ทำให้ร้อนโดย ตั้งบน Hot plate ที่อุณหภูมิ 80-90 องศาเซลเซียส เพื่อให้ Plate count agar ละลาย ปล่อยให้เย็น ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส วัดค่า pH แล้วจึงนำ อาหารที่ได้ไป Sterile ที่อุณหภูมิ 115 องศา เซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

### 3. Glucose Yeast Peptone Agar ( GYP )

ชั่ง Glucose 10 กรัม , Yeast 10 กรัม , Peptone 10 กรัม , Agar 15 กรัม และ Calcium carbonate 5 กรัม นำส่วนผสมทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น 1,000 มล. ทำให้ ร้อนโดยตั้งบน Hot plate ที่อุณหภูมิ 80-90 องศาเซลเซียส เพื่อให้ agar ละลาย ปล่อยให้เย็นนำ อาหารที่ได้ไป Sterile ที่อุณหภูมิ 115 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

### 4. กรดแลคติก 2 %

นำกรดแลคติก 2 มล. ผสมลงในน้ำกลั่น 98 มล.

## แผนการทดลอง

### การทดลองที่ 1

นำเนื้อสันนอกสุกร 4 ก้อน ๆ ละประมาณ 4 กก.ทำการแบ่งเนื้อแต่ละก้อน ออกเป็น 2 ชิ้น ๆ ละประมาณ 2 กก.นำมาหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นของเนื้อสุกรในแต่ละชิ้น โดยการสุ่มมาจากบริเวณผิวของเนื้อสุกรทั่วทั้งชิ้น หลังจากนั้นให้นำเนื้อสุกรทั้ง 2 ชิ้นมาทำการทดลองดังนี้

เนื้อสุกรชิ้นที่ 1 ให้ทำการสเปรย์ด้วยเชื้อ *Lactobacillus sake* ที่เตรียมไว้ เนื้อสุกรที่สเปรย์เสร็จแล้วให้ทำการสุ่มตัวอย่างอีกทันที เสร็จแล้วบรรจุลงในถุงที่ปราศจากเชื้อนำไปแช่ตู้เย็นที่อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส ให้นำเนื้อออกมาทำการตรวจหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เมื่อครบกำหนด 6 ชั่วโมง, 12 ชั่วโมง, 1 วัน, 3 วัน และ 7 วัน ตามลำดับ

เนื้อสุกรชิ้นที่ 2 ดำเนินการเหมือนเนื้อชิ้นที่ 1 แต่เปลี่ยนสารที่ใช้สเปรย์จากเชื้อ *Lactobacillus sake* เป็นกรดแลคติก 2 %

เนื้อสุกรก้อนที่ 2, 3 และ 4 ให้ดำเนินขั้นตอนการทำเหมือนเนื้อสุกรก้อนที่ 1 ทุกประการ

### การทดลองที่ 2

นำเนื้อสันนอกสุกรมา 3 ก้อน ๆ ละประมาณ 3 กิโลกรัม ทำการแบ่งเนื้อแต่ละก้อนออกเป็น 3 ส่วน ๆ ละ 1 กิโลกรัม โดยประมาณ วัตถุประสงค์ของเนื้อสุกรจากนั้นสุ่มตัวอย่างจากเนื้อทุกชิ้น ๆ ละ 25 กรัม เพื่อนำไปทำการตรวจหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นที่มีอยู่ในเนื้อ เนื้อที่ทำการแบ่งแล้วให้นำมาทำการทดลองดังนี้

เนื้อส่วนที่ 1 ทำการสเปรย์ด้วยกรดแลคติก 2%

เนื้อส่วนที่ 2 ทำการสเปรย์ด้วยเชื้อบริสุทธิ์ทางการค้า โดยที่ก่อนทำการสเปรย์ให้นำเนื้อสุกรแต่ละชิ้นมาทำการจุ่มในสารละลายน้ำตาล 10 % แล้วนำไปผึ่งให้หมาดก่อน

เนื้อส่วนที่ 3 ไม่ต้องดำเนินการใด ๆ ทั้งสิ้นใช้เป็นกลุ่ม Control

เมื่อดำเนินการตามที่กำหนดแล้วให้เก็บเนื้อสุกรทั้ง 3 กลุ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นให้ทำการวัดอุณหภูมิภายในเนื้อสุกรทุกชิ้นอีกครั้งและทำการสุ่มตัวอย่างเพื่อตรวจนับปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ โดยเฉพาะเนื้อกลุ่มที่ 2 ให้ทำการตรวจหาเชื้อ

Lactobacillus ค้างว่ามีเชื้อเจริญเติบโตอยู่หรือไม่ เสร็จแล้วให้นำเนื้อสุกรใส่ถาดโฟมแล้วห่อด้วยพลาสติก นำไปแช่ตู้เย็นที่อุณหภูมิ 7-10 องศาเซลเซียสให้เนื้อสุกรทั้ง 3 กลุ่มออกมาทำการวัดอุณหภูมิภายใน และทำการสุ่มตัวอย่างเพื่อตรวจนับปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เมื่อครบ 1 วัน 2 วัน 3 วัน และ 5 วันตามลำดับ โดยเฉพาะเนื้อกลุ่มที่ 2 ให้ทำการตรวจหาเชื้อแลคโตบาซิลลัส ค้างว่ายังมีการเจริญเติบโตอยู่หรือไม่

### การตรวจหาแบคทีเรีย

1. ชั่งตัวอย่างเนื้อ น.น. 25 กรัม เติม Phosphate buffer pH 7.2 จำนวน 225 มล. (dilution 1:10)
2. เตรียมสารละลายจากตัวอย่างให้มีระดับความเจือจาง  $1:10^2$ ,  $1:10^3$ ,  $1:10^4$ ,  $1:10^5$ ,  $1:10^6$
3. ใส่สารละลายแต่ละระดับความเจือจางของตัวอย่าง จำนวน 1 มล. ใน Petri dish โดยทำการทดลอง 2 ซ้ำ
4. ใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar ที่หลอมเหลวและทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิ 44-46 องศาเซลเซียส จำนวน 15-20 มล. ลงใน Petri dish
5. ผสมให้เข้ากันกับสารละลายของตัวอย่างโดยแกว่ง Petri dish ไปทางซ้ายและขวาสลับกัน
6. ทิ้งไว้ 20 นาทีเพื่อให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว คั่ว Petri dish ให้ร้อนอยู่ด้านบนฝา Plate หยอดลงบนผิววุ้นเพราะจะทำให้โคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์เกิดการแผ่กว้าง จนอ่านค่าไม่ได้
7. นำไปเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง
8. เลือกนับ Petri dish คู่ที่มีจำนวนอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี และคู่ที่มีระดับความเจือจางรองลงมาเพื่อใช้ประกอบพิจารณาการคำนวณ
9. นำจำนวนโคโลนีที่นับได้มาคูณด้วยระดับความเจือจางที่ตรวจนับ (dilution factor) จะได้จำนวนโคโลนีต่อกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## การบันทึกข้อมูล

ทำการจดบันทึกจำนวน โคโลนีแบคทีเรียของ dilution ที่ทำการนับ

## การวิเคราะห์ข้อมูล

นำค่าที่ได้จากแต่ละตัวอย่างมาคิดค่าเฉลี่ยของจำนวนแบคทีเรีย โดยค่าเฉลี่ย  
จำนวนแบคทีเรีย =  $a + b \times 0.5 \times 10^5$  (DILUTION ต่ำสุด)

a . b คือ จำนวน Petri dish ที่ถูกนับที่ dilution ซึ่งมีจำนวนโคโลนี อยู่ระหว่าง  
30-300โคโลนี หน่วย = โคโลนี / กรัม.

โดยที่ค่ามาตรฐานของการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์จะมีค่าเท่ากับ  $1.00 \times 10^5$   
โคโลนี/กรัม นอกจากนี้ค่ามาตรฐานยังกำหนดมิให้พบเชื้อ *Salmonella* , *E. coli* , *Staphylococcus*  
และ *Clostridium* ในการปนเปื้อนในเนื้อสัตว์ ซึ่งค่ามาตรฐานนี้อาจจะสูงหรือต่ำกว่านี้ขึ้นอยู่กับข้อ  
กำหนดของแต่ละประเทศ

## สถานที่ทำการทดลอง

ทำการศึกษาที่ห้องปฏิบัติการจุลินทรีย์เนื้อสัตว์ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์  
คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
กรุงเทพมหานคร

## ระยะเวลาที่ทำการศึกษา

ระหว่างเดือนธันวาคม 2538 ถึง เดือนพฤษภาคม 2539 ดังมีรายละเอียดดังตารางที่ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ตารางที่ 1 แสดงการปฏิบัติงาน

การปฏิบัติงาน	พ.ย.	ธ.ค.	ม.ค.	ก.พ.	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.
1. การเตรียมเนื้อหา และตรวจเอกสาร	xxxxxxxxxx						
2. เรียบเรียงเอกสารและ เขียนโครงร่างปัญหาพิเศษ	xxxxxxxxxx						
3. ดำเนินการทดลอง	xxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxx						
4. สรุปผลการทดลองและนำ เสนอปัญหาพิเศษ	xxxxxxx						
5. ตรวจเอกสารเพิ่มเติมและ จัดทำรูปเล่มปัญหาพิเศษ	xxxx						

### งบประมาณ

ประมาณ 5,000 บาท มีรายละเอียดดังนี้

1. ค่าเนื้อสุกรสันนอก 30 กิโลกรัม ๆ ละ 85 บาท	เป็นเงิน	2,550	บาท
2. ค่าอาหารเลี้ยงเชื้อ		2,000	บาท
3. ค่าสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง		200	บาท
4. อื่น ๆ		250	บาท
รวม		5,000	บาท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 4

### ผลการทดลองและวิจารณ์

#### ผลการทดลองที่ 1

จากการทดลองที่ 1 จากการทดลองการเปรียบเทียบการใช้เชื้อ Lactobacillus sake และ Lactic acid 2% ( ตารางที่ 2 ) พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ก่อนทำการทดลอง และหลังจากการสเปรย์เนื้อสุกรด้วยเชื้อ Lactobacillus sake ในนาที่ที่ 0 , ชั่วโมงที่ 6 , ชั่วโมงที่ 12 , ชั่วโมงที่ 24 , วันที่ 3 และวันที่ 7 มีค่าเท่ากับ  $6.98 \times 10^5$   $1.24 \times 10^7$   $1.20 \times 10^7$   $1.05 \times 10^7$   $1.10 \times 10^7$   $7.10 \times 10^5$  และ  $1.35 \times 10^7$  ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าจำนวนจุลินทรีย์ในเนื้อสุกรมีจำนวนเพิ่มขึ้นใน 1 วันแรกของการทดลอง ดังจะเห็นได้จากการที่มีจำนวนจุลินทรีย์ มีการเพิ่มจำนวนสูงกว่าจำนวนจุลินทรีย์ก่อนที่จะมีการสเปรย์เชื้อ Lactobacillus sake ลงบนเนื้อ ภายหลังจากการทดลองเป็นเวลา 3 วัน พบว่ามีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์มีการลดลงแต่ก็ยังมีจำนวนสูงกว่าจำนวนจุลินทรีย์ก่อนที่จะทำการทดลอง เมื่อเก็บเนื้อสุกรต่อไปอีกจนครบ 7 วัน พบว่าจำนวนเชื้อจุลินทรีย์มีปริมาณมากกว่าจำนวนจุลินทรีย์ก่อนที่จะมีการทดลอง แสดงให้เห็นว่าการใช้ Lactobacillus sake มีผลทำให้ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น ในส่วนของจำนวนจุลินทรีย์ในกลุ่มที่ใช้กรดแลคติก 2 % พบว่า พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ก่อนทำการทดลองและหลังจากการสเปรย์เนื้อสุกรด้วยกรดแลคติก 2 % ในนาที่ที่ 0 , ชั่วโมงที่ 6 , ชั่วโมงที่ 12 , ชั่วโมงที่ 24 , วันที่ 3 และวันที่ 7 มีค่าเท่ากับ  $1.14 \times 10^7$   $6.91 \times 10^6$   $3.42 \times 10^6$   $4.84 \times 10^6$   $5.35 \times 10^6$   $1.19 \times 10^7$  และ  $1.39 \times 10^7$  ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าจำนวนจุลินทรีย์ในเนื้อสุกรมีจำนวนลดลงในช่วง 6 ชั่วโมงแรกโดยมีจำนวนลดลง หลังจากนั้นจำนวนของจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ และเมื่อทำการทดลองครบ 7 วัน พบว่าจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ได้เพิ่มมากขึ้นแต่มีจำนวนไม่แตกต่างจากจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ก่อนทำการทดลองเท่าใดนัก

ประสิทธิภาพในการลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์โดยการใช้เชื้อ Lactobacillus sake นั้นปรากฏว่า เชื้อบริสุทธิ์ทางการค้ายังไม่สามารถลดการปนเปื้อนได้ จากผลการทดลองที่ออกมาจำนวนเชื้อจุลินทรีย์มีจำนวนเพิ่มขึ้นในช่วงแรกของการทดลอง ซึ่งอาจจะเกิดจากจำนวนเชื้อที่เติมลงไป ถึงแม้ว่าในวันที่ 3 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์จะมีจำนวนลดลงซึ่งอาจเกิดเกิดจากกรดแลคติกที่เชื้อบริสุทธิ์ทางการค้าผลิตออกมาก็เป็นไปได้ แต่ทั้งนี้ยังไม่สามารถควบคุมจำนวนจุลินทรีย์ให้ได้ผลดีทั้งนี้อาจเป็นเพราะกรดแลคติกที่ผลิตออกมามีปริมาณน้อยเกินไป

คุณภาพภายนอกของเนื้อสุกรภายหลังจากการสเปรย์ด้วยเชื้อ *Lactobacillus sake* พบว่าสีของเนื้อสุกรจะซีดลงเพียงเล็กน้อย จนถึงวันที่ 3 คุณภาพของเนื้อจะเริ่มแยกลง กล่าวคือ เริ่มมีสีเขียวเกิดขึ้น และในวันที่ 7 สีของเนื้อค่อนข้างเขียวคล้ำกระจายทั่วผิวเนื้อ มีลักษณะเป็นเมือกและมีกลิ่นเกิดขึ้น

ประสิทธิภาพในการลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ โดยการใช้ Lactic acid 2% ปรากฏว่า จากผลการทดลองที่ออกมา สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ได้มากกว่าจุลินทรีย์ก่อนการทดลอง ซึ่งพบว่ากรดแลคติก 2 % จะทำให้เนื้อมีสีซีดอย่างชัดเจน ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ จุฑาทิพย์ หลังจากการทำสเปรย์ เมื่อถึงวันที่ 7 คุณสมบัติของเนื้อจะค่อนข้างหยาบ และอยู่ขณะมีการตัดชิ้นเนื้อทดสอบกล่าวคือ เนื้อเริ่มมีสีเขียวและมีเมือกเกิดขึ้น แต่จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ในวันที่ 3 จนถึงวันที่ 7 มีจำนวนใกล้เคียงกับจำนวนจุลินทรีย์เมื่อเริ่มต้นก่อนที่จะทำการสเปรย์ด้วย Lactic acid 2% แสดงว่าการใช้ Lactic acid 2% จะช่วยลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ ภายในช่วงเวลา 1 วัน แต่หลังจากนั้นจำนวนจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้นแต่ก็ไม่เพิ่มขึ้นมากกว่าเมื่อตอนเริ่มต้น

ตารางที่ 2 แสดงปริมาณเชื้อจุลินทรีย์โดยเฉลี่ยเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ใช้ Lactic acid 2% กับกลุ่มที่ใช้เชื้อ *Lactobacillus sake*

เวลาที่ใช้ในการตรวจนับเชื้อจุลินทรีย์	Lactic acid 2% (โคโลนี/กรัม)	เชื้อ <i>Lactobacillus sake</i> (โคโลนี/กรัม)
ก่อนทำการทดลอง	$1.14 \times 10^7$	$6.98 \times 10^5$
หลังการทดลองนาทีที่ 0	$6.91 \times 10^6$	$1.24 \times 10^7$
หลังการทดลองชั่วโมงที่ 6	$3.42 \times 10^6$	$1.20 \times 10^7$
หลังการทดลองชั่วโมงที่ 12	$4.48 \times 10^6$	$1.05 \times 10^7$
หลังการทดลองชั่วโมงที่ 24	$5.35 \times 10^6$	$1.10 \times 10^7$
วันที่ 3	$1.19 \times 10^7$	$7.10 \times 10^6$
วันที่ 7	$1.39 \times 10^7$	$1.35 \times 10^7$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ผลการทดลองที่ 2

จากผลการทดลองตารางที่ 3 แสดงให้เห็นว่ากลุ่มที่ทำการสเปรย์ด้วย Lactic acid 2% พบว่าเชื้อตั้งต้นก่อนการทดลองมีเชื้อจุลินทรีย์จำนวน  $3.56 \times 10^7$  โคโลนี/กรัม หลังทำการสเปรย์ผ่านไป 2 ชม. พบว่ามีเชื้อจุลินทรีย์จำนวน  $1.10 \times 10^7$  ซึ่งลดลง  $2.46 \times 10^7$  โคโลนี/กรัม และเมื่อเวลาผ่านไป 24 ชม. เชื้อยังมีการลดจำนวนลงจากเชื้อตั้งต้น คือมีจำนวนเท่ากับ  $1.39 \times 10^7$  โคโลนี/กรัม ซึ่งปริมาณลดลงเพียงเล็กน้อย แต่จำนวนเชื้อจุลินทรีย์เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชม. กลับเพิ่มขึ้นจากจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่เวลา 2 ชม. เป็นปริมาณเท่ากับ  $0.29 \times 10^7$  โคโลนี/กรัม และเมื่อเวลาผ่านไปเป็นเวลา 2 วัน 3 วัน และ 5 วัน พบว่าจำนวนมากกว่าเชื้อตั้งต้น คือมีจำนวนเท่ากับ  $4.34 \times 10^7$  โคโลนี/กรัม  $4.29 \times 10^7$  โคโลนี/กรัม และ  $5.40 \times 10^7$  โคโลนี/กรัม ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า Lactic acid 2% ที่สเปรย์บนเนื้อสุกร และเก็บไว้ที่ อุณหภูมิ 7-10 องศาเซลเซียส มีประสิทธิภาพในการลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์เมื่อเวลาผ่านไป ไม่เกิน 24 ชม. ซึ่งแตกต่างจากการทดลองในครั้งแรกทั้งนี้อาจเป็นเพราะในการทดลองครั้งแรกภายหลังจากการ สเปรย์ด้วย Lactic acid เนื้อจะถูกเก็บไว้ในห้องเย็นอุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส ส่วนการทดลองที่ 2 เนื้อจะถูกเก็บที่อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลานาน 2 ชั่วโมงก่อน จากนั้นจึงถูกนำไปเก็บที่ห้องเย็นอุณหภูมิ 7-10 องศาเซลเซียส ซึ่งแสดงให้เห็นว่าความเย็นมีส่วนช่วยยับยั้งและลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ได้ แต่เมื่อเวลาผ่านไปมากกว่า 24 ชม. พบว่าเชื้อจุลินทรีย์มีจำนวนเพิ่มมากขึ้นเล็กน้อย แสดงให้เห็นว่า Lactic acid สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อไม่ให้เป็นมากนัก และจากการทดลองในครั้งนี้ Lactic acid 2% จะให้ผลในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้น้อยกว่าการใช้ Lactic acid ที่มีการทดลองในต่างประเทศทั้งนี้อาจมีสาเหตุมาจากเนื้อที่นำมาทดลองนำมาจากโรงฆ่าสัตว์ภายในประเทศ ซึ่งมีการจัดการด้านสุขาภิบาลที่ยังไม่ดีพอจึงทำให้มีเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนอยู่ในปริมาณสูง ผลของการใช้ Lactic acid จึงยับยั้งการปนเปื้อนได้น้อยกว่าในต่างประเทศซึ่งมีการจัดการด้านสุขาภิบาลที่ดีกว่าจึงมีการปนเปื้อนในเนื้อสัตว์ค่อนข้างต่ำ

ในด้านคุณสมบัติทางกายภาพของเนื้อสุกรหลังจากที่ทำการสเปรย์ด้วย Lactic acid 2% ลงไปบนเนื้อสุกรเป็นผลทำให้สีของเนื้อสุกรมีสีซีดอย่างชัดเจนแต่ก็ไม่ซีดมากจนต่างไปจากสีของเนื้อสุกรปกติ หลังจากเก็บไว้ตามระยะเวลาที่กำหนดเนื้อที่มีสีซีดก็จะมีสีเข้มขึ้นเกือบปกติ และเมื่อทำการเปรียบเทียบกับกลุ่ม 2 และ 3 ในวันที่ 3 และ 5 คุณสมบัติทางกายภาพของเนื้อ จะดีกว่ากลุ่มที่ 2 และ 3 กล่าวคือเนื้อไม่มีสีเขียวคล้ำและไม่มีการคล้ำของเนื้อเน่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองกลุ่มที่ 2 ที่ทำการสเปรย์ด้วยเชื้อ *Lactobacillus sake* มีจำนวนเชื้อตั้งต้นก่อนทำการทดลอง  $8.60 \times 10^7$  โคโลนี/กรัม เมื่อเวลาผ่านไปหลังการทดลองเป็นเวลา 2 ชม. เชื้อมีจำนวนเพิ่มมากขึ้นเล็กน้อยอาจจะเกิดจากเชื้อที่เดิมลงไป และเมื่อเวลาผ่านไป 24 ชม. , 2 วัน 3 วัน และ 5 วันพบว่า จำนวนเชื้อได้มีการเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ซึ่งอาจจะเกิดจาก เชื้อ *Lactobacillus* ช่วยยับยั้งไม่ให้เชื้อจุลินทรีย์เพิ่มจำนวนมากขึ้นไปกว่าเดิมมากนัก และในการตรวจหาเชื้อ *Lactobacillus* ภายหลังการสเปรย์เป็นเวลา 2 ชม. แล 5 วัน ผลปรากฏว่าพบเชื้อ *Lactobacillus* เจริญอยู่บนอาหาร GYP แต่ไม่สามารถนับจำนวนได้เนื่องจากเกิด Clear zone แผ่กระจายไปทั่ว Plate

ในส่วนของคุณสมบัติทางด้านกายภาพของเนื้อสุกร พบว่าก่อนทำการสเปรย์ด้วยเชื้อ *Lactobacillus* ต้องทำการจุ่มในสารละลายน้ำตาล 10 % เป็นเวลานาน 7 นาที เพื่อให้พื้นที่ผิวของเนื้อสุกรได้มีการดูดซับสารละลายน้ำตาลจึงทำให้สีซีดลง หลังทำการสเปรย์ด้วยเชื้อ *Lactobacillus sake* ปรากฏว่าสีของเนื้อมีสีซีดอย่างเห็นได้ชัดและเมื่อเปรียบเทียบกับการสเปรย์ด้วยกรดแลคติก 2% พบว่าสีของเนื้อสุกรที่สเปรย์ด้วยเชื้อ *Lactobacillus sake* มีสีซีดกว่าเล็กน้อย ทั้งนี้อาจเป็นเพราะเมื่อเวลาผ่านไปลักษณะของสีและกลิ่นของเนื้อยังอยู่ในสภาพปกติ จนถึงวันที่ 5 สีของเนื้อสุกรเริ่มมีสีเขียวคล้ำและเริ่มมีกลิ่นของเนื้อเน่าจาง ๆ ผิดกับเนื้อในกลุ่มที่ 3

ผลการทดลองกลุ่มที่ 3 พบว่าเชื้อตั้งต้นมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์เท่ากับ  $6.58 \times 10^7$  โคโลนี/กรัม เมื่อเวลาผ่านไปพบว่าเชื้อจุลินทรีย์ มีจำนวนเพิ่มขึ้น อย่างเห็นได้ชัดในวันที่ 1 และ 2 โดยเฉพาะในวันที่ 3 และวันที่ 5 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ได้เพิ่มขึ้นอย่างมากเมื่อทำการเปรียบเทียบกับเนื้อสุกรกลุ่มที่ 1 และ 2 พบว่าจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ยังไม่เพิ่มมาก ในส่วนของลักษณะทางกายภาพของเนื้อสุกรพบว่าสภาพของเนื้อสุกรได้เริ่มมีการเสื่อมคุณภาพตั้งแต่วันที่ 3 กล่าวคือ เนื้อมีสีเขียวคล้ำและมีกลิ่นเหม็นเวลาทำการสุ่มตัวอย่างเนื้อมีลักษณะเปื่อยยุ่ยคดเป็นชิ้นได้ยาก



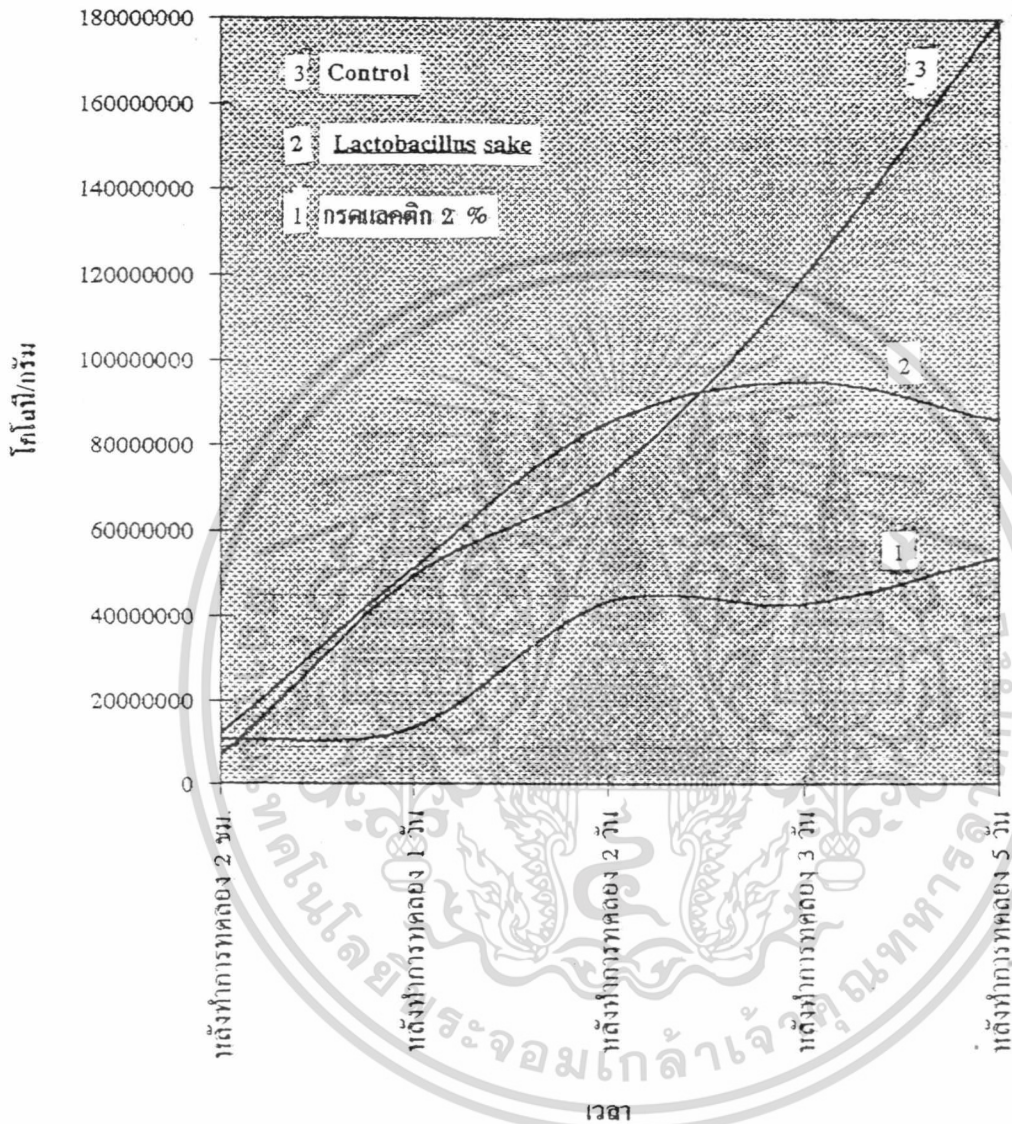
14750

ตารางที่ 3 แสดงปริมาณจำนวนเชื้อจุลินทรีย์โดยเฉลี่ยเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ใช้ Lactic acid 2 % กลุ่มที่ใช้เชื้อ *Lactobacillus sake* และกลุ่ม *Lactobacillus*

เวลาที่ใช้ในการตรวจ นับเชื้อจุลินทรีย์	Lactic acid 2% (โคโลนี/กรัม)	เชื้อ <i>Lactobacillus sake</i> (โคโลนี/กรัม)	กลุ่ม Control (โคโลนี/กรัม)
ก่อนทำการทดลอง	$3.56 \times 10^7$	$8.60 \times 10^6$	$6.58 \times 10^6$
หลังทำการทดลอง 2 ชม.	$1.10 \times 10^7$	$1.25 \times 10^7$	$6.90 \times 10^6$
หลังทำการทดลอง 24 ชม.	$1.39 \times 10^7$	$5.14 \times 10^7$	$4.94 \times 10^7$
หลังทำการทดลอง 2 วัน	$4.34 \times 10^7$	$8.55 \times 10^7$	$7.30 \times 10^7$
หลังทำการทดลอง 3 วัน	$4.29 \times 10^7$	$9.50 \times 10^7$	$1.20 \times 10^8$
หลังทำการทดลอง 5 วัน	$5.40 \times 10^7$	$8.60 \times 10^7$	$1.80 \times 10^8$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีลิขสิทธิ์และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผู้อำนวยการศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพ  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า  
เจ้าคุณทหารลาดกระบัง



ภาพที่ 1 แสดงปริมาณจำนวนเชื้อจุลินทรีย์โดยเฉลี่ยเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ใช้กรด Lactic acid 2 % กลุ่มที่ใช้เชื้อ *Lactobacillus sake* และ Control

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 5

### สรุปและข้อเสนอแนะ

การใช้เชื้อ *Lactobacillus sake* เพื่อลดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์นั้น เชื้อบริสุทธิ์ทางการค้าซึ่งอยู่ในรูปสารละลายเชื้อ *Lactobacillus sake* จะผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนอยู่ในเนื้อสุกรได้ แต่ยังไม่ได้มากเท่ากับการใช้กรดแลคติก กล่าวคือเมื่อเริ่มต้นการทดลองปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนจะเพิ่มจำนวนมากขึ้นหลังจากนั้นจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนจะมีการลดลงหรือมีการคงที่อยู่ในช่วงระยะเวลาหนึ่งแล้วจึงมีการเพิ่มจำนวนขึ้นอีกครั้งจนสิ้นสุดการทดลอง สาเหตุที่ทำให้จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนอยู่ในเนื้อสุกร ลดลงหรือคงที่แต่มีผลไม่ได้ยาวนานเท่า Lactic acid 2% นั้น คือ

1. ปริมาณเชื้อบริสุทธิ์ทางการค้าที่ใช้ในการทดลองนั้นอาจจะน้อยเกินไปทำให้การผลิตกรดแลคติกมีปริมาณน้อยหรือเข้มข้นน้อยเกินไปที่จะยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อปนเปื้อนได้

2. เนื้ออาจมีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์บางชนิดที่สามารถแข่งขันการเจริญได้ดีกว่าเชื้อบริสุทธิ์ทางการค้า ทำให้บริสุทธิ์ทางการค้าถูกยับยั้งการเจริญเติบโตไปหรืออาจถูกทำลายไปบ้าง ประสิทธิภาพในการผลิตกรดแลคติกจึงลดลง อาจมีผลทำให้ไม่มีประสิทธิภาพพอในการควบคุมเชื้อจุลินทรีย์

ดังนั้นอาจสรุปได้ว่าเชื้อบริสุทธิ์ทางการค้าอาจมีส่วนยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้บ้างเมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อในกลุ่มควบคุม แต่การทดลองยังมีข้อบกพร่องอยู่บ้าง คือ ไม่ได้ทำการวัดค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ของปริมาณกรดแลคติกที่บริสุทธิ์ทางการค้าผลิตออกมามีมากเท่าใด

การใช้ Lactic acid 2% ในการลดการปนเปื้อนในเนื้อสุกรนั้นผลปรากฏว่ามีประสิทธิภาพในการลดปริมาณการปนเปื้อนในเนื้อสุกรได้ดีช่วงระยะเพียง 1 - 2 วันเท่านั้น ซึ่งในส่วนนี้น่าจะมีสาเหตุมาจากการเก็บเนื้อสุกรที่อุณหภูมิสูง คือ 7-10 องศาเซลเซียส แต่ในการทดลองที่เก็บเนื้อสุกรที่อุณหภูมิต่ำ คือ ที่ 1-4 องศาเซลเซียส นั้นพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนได้นานถึง 7 วัน ( ดังแสดงในตารางที่ 3 )

ในด้านคุณสมบัติของเนื้อ ปรากฏว่าการใช้เชื้อ *Lactobacillus sake* ลักษณะของเนื้อ มีสภาพที่ดีกว่า Lactic acid 2% คือเนื้อจะมีสภาพใกล้เคียงกับความเป็นจริง ผิดกับ Lactic acid 2% เมื่อถึงระยะเวลาหนึ่งเนื้อจะมีลักษณะหยาบมีผิวสัมผัสที่เลวลง ส่วนเนื้อที่ใช้เชื้อ *Lactobacillus sake* เมื่อถึงระยะเวลาหนึ่งเนื้อก็จะมีลักษณะคล้ายเนื้อที่หมดสภาพ คือมีสีเขียวคล้ำ และเริ่มมีกลิ่น

ข้อเสนอแนะ จากผลการทดลองการใช้ *Lactobacillus sake* เพื่อลดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ การใช้เชื้อบริสุทธิ์ทางการค้าจำเป็นต้องมีวิธีในการแยกเชื้อทางการค้าให้บริสุทธิ์ ผู้ที่จะสามารถแยกเชื้อได้นั้นควรต้องเป็นผู้มีความรู้ความชำนาญ เพื่อที่จะเตรียมเชื้อ *Lactobacillus sake* มาใช้ในการทดลองให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุด และที่สำคัญการควบคุมสภาพแวดล้อมของการทดลองก็มีผลอย่างมากในการทดลอง เช่น อุณหภูมิ อากาศ ความชื้น ความสะอาด วิธีการทดลอง ฯลฯ โดยเฉพาะอากาศและอุณหภูมินั้นจะมีผลอย่างมากในการเจริญเติบโตของเชื้อ *Lactobacillus sake* ซึ่งเป็นเชื้อแลคโตบาซิลลัสจะมีการเจริญเติบโตได้ดีในที่มีอุณหภูมิสูงและไม่มีอากาศสำหรับการทดลองในครั้งนี้เนื้อสุกรที่นำมาใช้ในการทดลองมีขนาดที่ไม่ใหญ่นัก การสุ่มตัวอย่างเนื้อหลายครั้งอาจจะซ้ำกับรอยเค็มที่มีการสุ่มตัวอย่างไปแล้ว ผลที่ได้ออกมาจึงอาจมีการคาดเคลื่อนไปบ้าง นอกจากนี้แล้วการตรวจหาเชื้อ *Lactobacillus* นั้นควรมีการตรวจหาในทุกกลุ่มการทดลองทั้งก่อนและหลังทำการทดลอง เพื่อจะได้ทราบว่าในสภาพธรรมชาตินั้นมีเชื้อ *Lactobacillus* เจริญเติบโตอยู่ก่อนหรือไม่

## เอกสารอ้างอิง

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2538. การประชุมเชิงปฏิบัติการ เรื่อง การตรวจวินิจฉัยและการตรวจ ยืนยันแบคทีเรียที่ก่อโรคทางเดินอาหารด้วยวิธี Reutine culture และวิธีMSRV medium ( 19-23 มิถุนายน 2538 ) . (โรเนียว)

กองสัตวแพทย์สาธารณสุข . 2535 . มาตรฐานการตรวจเนื้อ . กรมปศุสัตว์ . กรุงเทพฯ ฯ : 91-92.

ชัยณรงค์ กัณชนิต . 2529. วิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์ . กรุงเทพฯ ฯ : โรงพิมพ์ไทยวัฒนาพานิช.

จุฬาทิพย์ ตรีรัตนพันธ์ . 2533 . การศึกษาลักษณะกรดแลคติกในการควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อ  
กรุงเทพฯ ฯ : ปัญหาพิเศษปริญญาตรี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล . 2539 . จุลินทรีย์ที่มีความสำคัญด้านอาหาร . กรุงเทพฯ ฯ : โอ.เอส.พรินติ้ง เฮาส์.

สรารุณี ครุสง . 2538 . จุลชีววิทยาในกระบวนการแปรรูปอาหาร . กรุงเทพฯ ฯ : โอเดียนสโตร์ .

Concon , J.M. 1988 . Food Toxicology Part 2 . New York . U.S.A : Marcel Dekker . INC .  
1371 p.

George J. Banwart. 1983. Basic Food Microbiology . U.S.A : The Saybook Press, Inc. 453P.

Guerrero I , Mendiola R , Ponce E , Prado A . 1993 . "Inoculation of Lactic acid bacteria on meat Surface as a Means Decontamination in Semitropical Condition " . Meat Science 40 . Great Britain : Elsevier Science Limited . P. 397-411

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Jay , J.M. 1970 . Modern Food Microbiology . Canada : Reinhold Book Corporation .  
328 p.

Peason , A.M. and T.R. Dutson . 1990 . Meat and Health Advances in Meat Research Volume  
๕ . New York . U.S.A : Elsevier Science Publishing Co , INC . 554 p.

Shanson , D.C. 1982 . Microbiology in Clinical Practice . Wright PSC , Bristol . 574 p.

Snijders , J.M.A. , J .G. Van logtertijn , Mosel and F.J.M. Smulders. 1985. "Lactic acid as a  
decontamination in slaughter and processing procedures" . vet Q.Q.t vet. sci 7(4) . P  
277-282

Stiles , M.E. and Hustings , J.W. . 1991 . Trends in food Science and Technology .  
London : Elsevier Science Publisher Ltd . P 247

Troeger , K . 1993 . Scalding and dehairing technology in fluence on the bacteria count  
of pig . Fleischwirtsch . 73(10) : 1157-1160

Willaim , C.F. and W.C. Dennis . 1988 . Food Microbiology . Singapore : Kim Keong  
Printing Co.Pte. Ltd. . 539 p.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 1 แสดงจำนวนจุลินทรีย์ในเนื้อสุกรก่อนทำการทดลอง,หลังจากทำการทดลอง นาทที่ 0 , ชั่วโมงที่ 6 , ชั่วโมงที่ 12 , ชั่วโมงที่ 24 , วันที่ 3 และวันที่ 7 โดยทำการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ใช้ Lactic acid 2 % และกลุ่มที่ใช้ *Lactobacillus sake*

เวลาที่ใช้ในการตรวจ นับเชื้อจุลินทรีย์	Lactic acid 2 % (โคโลนี/กรัม)	<i>Lactobacillus sake</i> (โคโลนี/กรัม)
<u>ซ้ำที่ 1</u>		
ก่อนทำการทดลอง	$5.20 \times 10^5$	$4.30 \times 10^5$
หลังทำการทดลองนาทที่ 0	$4.60 \times 10^5$	$6.90 \times 10^5$
หลังทำการทดลองชั่วโมงที่ 6	$3.60 \times 10^5$	$4.00 \times 10^6$
หลังทำการทดลองชั่วโมงที่ 12	$8.00 \times 10^4$	$9.90 \times 10^5$
หลังทำการทดลองชั่วโมงที่ 24	$1.30 \times 10^6$	$1.01 \times 10^6$
หลังทำการทดลองวันที่ 3	$1.80 \times 10^5$	$2.20 \times 10^5$
หลังทำการทดลองวันที่ 7	$5.60 \times 10^5$	$1.72 \times 10^6$
<u>ซ้ำที่ 2</u>		
ก่อนทำการทดลอง	$1.28 \times 10^7$	$5.70 \times 10^6$
หลังทำการทดลองนาทที่ 0	$3.60 \times 10^6$	$6.20 \times 10^6$
หลังทำการทดลองชั่วโมงที่ 6	$3.35 \times 10^6$	$9.10 \times 10^6$
หลังทำการทดลองชั่วโมงที่ 12	$7.00 \times 10^6$	$7.10 \times 10^6$
หลังทำการทดลองชั่วโมงที่ 24	$2.65 \times 10^6$	$8.85 \times 10^6$
หลังทำการทดลองวันที่ 3	$2.44 \times 10^7$	$9.90 \times 10^6$
หลังทำการทดลองวันที่ 7	$2.02 \times 10^7$	$1.62 \times 10^6$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 1 (ต่อ)

เวลาที่ใช้ในการตรวจ นับเชื้อจุลินทรีย์	Lactic Acid 2% ( โคโลนี/กรัม )	เชื้อ <i>Lactobacillus sake</i> ( โคโลนี/กรัม )
<b>ซ้ำที่ 3</b>		
ก่อนทำการทดลอง	$3.00 \times 10^7$	$1.51 \times 10^7$
หลังทำการทดลองนาที่ที่ 0	$2.22 \times 10^7$	$1.36 \times 10^7$
หลังทำการทดลองชั่วโมงที่ 6	$8.55 \times 10^6$	$9.15 \times 10^6$
หลังทำการทดลองชั่วโมงที่ 12	$1.14 \times 10^7$	$7.25 \times 10^6$
หลังทำการทดลองชั่วโมงที่ 24	$1.60 \times 10^7$	$4.20 \times 10^6$
หลังทำการทดลองวันที่ 3	$2.15 \times 10^7$	$8.75 \times 10^6$
หลังทำการทดลองวันที่ 7	$2.18 \times 10^7$	$2.13 \times 10^7$
<b>ซ้ำที่ 4</b>		
ก่อนทำการทดลอง	$2.32 \times 10^6$	$6.65 \times 10^6$
หลังทำการทดลองนาที่ที่ 0	$1.30 \times 10^6$	$2.91 \times 10^7$
หลังทำการทดลองชั่วโมงที่ 6	$1.41 \times 10^6$	$2.57 \times 10^7$
หลังทำการทดลองชั่วโมงที่ 12	$8.85 \times 10^5$	$2.70 \times 10^7$
หลังทำการทดลองชั่วโมงที่ 24	$1.42 \times 10^6$	$3.00 \times 10^7$
หลังทำการทดลองวันที่ 3	$1.55 \times 10^6$	$9.55 \times 10^6$
หลังทำการทดลองวันที่ 7	$1.31 \times 10^7$	$2.97 \times 10^7$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางภาคผนวกที่ 2 แสดงจำนวนเชื้อจุลินทรีย์โดยการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ใช้ Lactic Acid 2 % กลุ่มใช้เชื้อ Lactobacillus sake และกลุ่ม Control**

เวลาที่ใช้ในการตรวจ นับเชื้อจุลินทรีย์	Lactic Acid 2 % ( โคโลนี/กรัม )	เชื้อ <u>Lactobacillus sake</u> ( โคโลนี/กรัม )	กลุ่ม Control ( โคโลนี/กรัม )
<b>ซ้ำที่ 1</b>			
ก่อนทำการทดลอง	$1.33 \times 10^7$	$7.85 \times 10^6$	$3.05 \times 10^6$
หลังทำการทดลอง 2 ชม.	$1.50 \times 10^7$	$6.00 \times 10^6$	$5.45 \times 10^6$
หลังทำการทดลอง 1 วัน	$6.70 \times 10^6$	$5.20 \times 10^7$	$5.75 \times 10^6$
หลังทำการทดลอง 2 วัน	$1.19 \times 10^7$	$9.50 \times 10^7$	$1.27 \times 10^8$
หลังทำการทดลอง 3 วัน	$4.80 \times 10^7$	$7.50 \times 10^7$	$1.12 \times 10^8$
หลังทำการทดลอง 5 วัน	$2.20 \times 10^7$	$2.39 \times 10^7$	$1.41 \times 10^8$
<b>ซ้ำที่ 2</b>			
ก่อนทำการทดลอง	$8.55 \times 10^7$	$7.96 \times 10^6$	$7.15 \times 10^6$
หลังทำการทดลอง 2 ชม.	$7.70 \times 10^6$	$9.55 \times 10^6$	$9.85 \times 10^6$
หลังทำการทดลอง 1 วัน	$2.75 \times 10^7$	$2.83 \times 10^7$	$6.65 \times 10^7$
หลังทำการทดลอง 2 วัน	$6.75 \times 10^7$	$8.65 \times 10^7$	$8.35 \times 10^8$
หลังทำการทดลอง 3 วัน	$6.95 \times 10^7$	$9.50 \times 10^7$	$1.31 \times 10^8$
หลังทำการทดลอง 5 วัน	$1.12 \times 10^8$	$1.11 \times 10^8$	$2.42 \times 10^8$
<b>ซ้ำที่ 3</b>			
ก่อนทำการทดลอง	$8.00 \times 10^6$	$1.01 \times 10^7$	$9.55 \times 10^6$
หลังทำการทดลอง 2 ชม.	$1.05 \times 10^7$	$2.22 \times 10^7$	$5.40 \times 10^6$
หลังทำการทดลอง 1 วัน	$7.75 \times 10^6$	$7.40 \times 10^7$	$7.60 \times 10^7$
หลังทำการทดลอง 2 วัน	$5.10 \times 10^7$	$7.50 \times 10^7$	$1.26 \times 10^8$
หลังทำการทดลอง 3 วัน	$1.13 \times 10^7$	$1.17 \times 10^8$	$1.17 \times 10^8$
หลังทำการทดลอง 5 วัน	$3.00 \times 10^7$	$1.26 \times 10^8$	$1.59 \times 10^8$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 3 แสดงอุณหภูมิภายในเนื้อสุกรโดยเฉลี่ย

เวลาที่ใช้วัดอุณหภูมิ	Lactic acid 2% (°C)	เชื้อ <i>Lactobacillus sake</i> (°C)	กลุ่ม Control (°C)
ก่อนทำการทดลอง	15.3	13.0	15.0
หลังทำการทดลอง 2 ชม.	24.2	23.9	22.4
หลังทำการทดลอง 1 วัน	6.9	7.0	7.1
หลังทำการทดลอง 2 วัน	7.4	7.7	7.7
หลังทำการทดลอง 3 วัน	7.6	7.3	7.6
หลังทำการทดลอง 5 วัน	8.7	8.5	8.8



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้