บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

5.1 การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในขั้นตอนก่อนการทำให้สุก หลังจากการทำให้สุก และในผลิตภัณฑ์ที่บรรจุในถุงปิดสนิท สรุปได้ดังนี้

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

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

5.2 ผลของความเข้มข้นของกรดแลคติคต่อการลดจำนวนเชื้อ *A. caviae* ที่คัดแยกได้จากกระบวนการผลิตไส้กรอกไก่อิมัลชั่นรมควันภายหลังการทำให้สุกในหลอดทดลอง พอสรุปได้เป็นข้อ ๆ ดังนี้

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

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

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

5.3 ผลของกรดแลคติคต่อการลดจำนวนของเชื้อ *A. caviae* ระดับ 2 log cfu / g ที่แยกได้จากกระบวนการผลิตในไส้กรอกไก่อิมัลชั่นรมควันด้วยวิธีการราด

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

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

ข้อเสนอแนะ

1. การทดลองต่อไปควรศึกษาเปรียบเทียบวิธีการใช้กรดแลคติค เช่น วิธีการแช่ด้วยกรดแลคติค โดยแช่ตัวอย่างด้วยกรดแลคติคขณะไปทำให้เย็นก่อนนำเข้าเครื่องตัด หรือตัวอย่างก่อนการบรรจุ
2. ควรศึกษาเปรียบเทียบวิธีการใช้กรดแลคติคในการยืดอายุการเก็บ เมื่อใช้ไส้บรรจุต่างกัน โดยพิจารณาผลทางอายุการเก็บ และผลทางประสาทสัมผัส
3. ควรศึกษาผลของอุณหภูมิ และสภาวะการบรรจุในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ โดยพิจารณาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์
4. เปรียบเทียบผลด้านอายุการเก็บรักษากับผลิตภัณฑ์ที่ใช้ benzoate / sorbate และ ผลิตภัณฑ์ที่ใช้ทั้งกรดแลคติค รวมกับ benzoate / sorbate เป็นวัตถุกันเสีย โดยพิจารณาผลในด้านการยืดอายุการเก็บ ทางประสาทสัมผัส และทางเศรษฐศาสตร์

เอกสารอ้างอิง

จุฑารัตน์ เลี่ยนกัตวา. 2545. ผลของกรดกลูโคนิค กรดแอสคอร์บิก และสารไนซินต่อการลดจำนวนเชื้อ *Salomonella derby* และ เชื้อ *E. coli* ในเนื้อสุกร. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2545. “กระบวนการแปรรูปเนื้อสัตว์.” หน้า1-4. ใน การฝึกอบรมหลักสูตรการประกอบธุรกิจผลิตภัณฑ์เพิ่มมูลค่าจากเนื้อสุกร. 14-31 ตุลาคม 2545 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพมหานคร.

ชัยณรงค์ คันธพนิต. 2529. วิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์ไทยวัฒนาพานิช. หน้า 169-192.

ดวงพร คันธโชติ. 2537. อนุกรมวิธานของแบคทีเรียและปฏิบัติการ. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์ .

พวงพร โชติไกร. 2525. จุลชีววิทยาของอาหารและนม. กรุงเทพมหานคร : ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง.

ชัยณรงค์ คันธพนิต. 2529. วิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์. กรุงเทพฯ : วัฒนาพานิชย์.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ. 2539. จุลชีววิทยาทั่วไป. กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 84 พ.ศ. 2527.ข้อ 4(8)พระราชบัญญัติอาหาร.พ.ศ. 2522

เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์. 2536. เทคโนโลยีเนื้อสัตว์. กรุงเทพฯ : คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ศิวาพร ศิวเวชช. 2535. วัตถุเจือปนอาหารในผลิตภัณฑ์อาหาร. นครปฐม : ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน.

สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2545 ก. การสุขาภิบาลอาหาร. กรุงทพฯ : มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2545 ข. จุลชีววิทยาทางอาหาร. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

สุมาลี เหลืองสกุล. 2541. จุลชีววิทยาทางอาหาร. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒประสานมิตร.

อดิศร เสวตวิวัฒน์ ปรีชา จึงสมานุกูล มัณฑนา พันธ์บัวหลวง และอรุณ บ่างตระกูลนนท์. 2537. “การศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์เนื้อที่จำหน่ายในเขตกรุงเทพมหานคร.” วราสารเกษตรพระจอมเกล้า. 12 : 15-24.

โอรส รักชาติ. 2537. การยืดอายุการเก็บไส้กรอกเวียนนาโดยใช้กรดแลคติค. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

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

Adams, M.R. and Moss, M.O. 1995. Chapter 4 The Microbiology of Food Preservation . **Food Microbiology**. Cambridge : The Royal Society of Chemistry : 55-102.

Altwegg, M. 1985. *Aeromonas* : an enteric pathogen. **Infection** . 13:228-230.

Altwegg, M. and Geiss, H.K. 1989. *Aeromonas* as a human pathogen. **CRC Critical Reviews in Microbiology**. 16:253–286.

Anderson, M.E. 1990. Reducing microbial population on beef tissue : Concentration and Temperature of lactic acid. **J. Food Saf**. 10 : 131-190.

Bacteriological Analytical manual. 2002. Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. [Online]. Available word wide web,: http://www.cfsan.fda.gov/~ebam-4.html (Accessed 8 July 2007)

Bauerman, J.F. 1979. Processing of poultry products with or without Sodium nitrite. **J. Food Tech**. 33 : 42.

Barmpalia, I.M., Geornaras, I., belk, K.E., Scanga, J.A., Kendall, P.A., Smith, G.C. and Sofos, J.N. 2004. Control of *Listeria monocytogenes* on Frankfurters with Antimicrobials in the Formulation and by Dipping in Organic Acid Solution. **J. Food Prot**. 67 : 2456-2464.

Blom, H.,Nerbrink, E., Dainty, R., Hagtvedt, T., Broch, E., Nissen, H. and Nesbakken, T. 1997. Addition of 2.5% acetate control growth of *Listeria monocyctogenes* in vacuum-packed, sensory-acceptable servelat sausage and cooked ham stored at 4 ^{O}C. **Int. J. Food Microbiol**. 38 : 71-76.

Borch, E., Nerbrink, E., and Svensson, P. 1988. Identification of major contamination sources during processing of emulsion sausage. **Int. J. Food Microbiol**. 7 : 317-330.

Brown, M.H. 1982. Meat Microbiology. London : Applied Science Publishers.

Carnahan, A.M., Altwegg, M. 1996. Taxonomy. In: Austin B et al., eds. *The genus Aeromonas.* London, Wiley: 1–38.

Colwell, R.R., MacDonell, M.R., De Ley, J. 1986. Proposal to recognize thefamily *Aeromonadaceae* fam. **Int. J. Systematic Bacteriology**. 36:473–477.

Dennis, S.H., Hazel, M.A., Titi, A. and Rainer, P. 2004. Recommended Test panel for Differentiation of *Klebsiella* species on the Basis of a Trilateral Interlaboratory Evaluation of 18 Biochemical Test. **J. Clinic. Micro.** 42 : 3665-3669.

Dickson, J.S. 1992. Acetic acid action on Beef tissue surface contaminate with *Salmonella typhimurium*. **J. Food Prot.** 57 : 297-301.

Doores, S. 1993. Organic acid. pp. 75-103. In. Branen, A.L. and Darson, P.M. (ed). Antimicrobial in Food. Marcel Dekker, Inc, New York.

Dubal, Z.B., Paturkar, A.M., Waskar, V.S., Zende, R.J., Latha, C., Rawool, D.B., and Kadam, M.M. 2004. Effect of food grade organic acids on inoculated *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli* and *S. Typhimurium* in sheep/goat meat stored at refrigeration temperature. **Meat Science**. 66 : 817-821.

Freese, E., Sheu, C.W. and Galliers, E. 1973. Function of lipophilic acids as antimicrobial food additive. **Nature**. 241 : 321-325.

Gavriel, A.A., Landre, J.P. and Lamb, A.J. 1998. Incidence of mesophilic Aeromonas within a public drinking water supply in north-east Scotland. **J. Applied Microbiology**. 84 : 383-392.

Geornaras, I., Skandamis, P.N., Belk, K.E., Scanga, J.A., Kendall, P.A., Smith, G.C. and Sofos, J.N. 2005. Post - processing antimicrobial treatments to control *Listeria monocytogenes* in commercial vacuum – packaged bologna and ham stored at 10°C. **J. Food Prot.** 68 : 991-998.

Gill, C.O. and Jones, T. 1995. The presence of *Aeromonas, Listeria* and *Yersinia* in carcass processing equipment at two pig slaughtering plants. **J. Food Micro**. 12 : 135-141.

Graf, J., Dunlap, P. V. and Ruby, E. G. 1994. Effect of transposon-induced motility mutations on colonization of the host light organ by *Vibrio fischeri*. **J. Bacteriol.** 176 : 6986–6991.

Greer, G.C. and Dilts, B.D. 1992. Factors affecting the susceptibility of meat borne pathogen and spoilage bacteria to organic acids. **Food Research International**. 25 : 335-364.

Holten, C.H. 1971. Lactic Acid Weinheim : Verlag chemie Gmbh.

ISO 6888:1999(E), Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs-Horizontal Method for the enumeration of coagulase – position *Staphylococci* (*Staphylococcus aureus* and other species) – Part 1 : technique using Baird – parker agar medium, pp. 4-6.

ISO 4866:2003(E), Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs-Horizontal Method for the enumeration of microorganisms-Colony-count technique at 30°C, pp. 1-9.

ISO 6579:2002(E), Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs-Horizontal Method for the detection of Salmonella spp., pp. 1-23.

Janda J.M., Duffey, P.S. 1988. Mesophilic aeromonads in human disease : current taxonomy, laboratory identification, and infectious disease spectrum. **Reviews in Infectious Diseases**. 10:980–987.

Janda, J.M., Abbott, S.L., Khashe, S., Kellogg, G.H., and Shimada, T. 1996. Further Studies on Biochemical characteristic and serologic Properties of the Genus Aeromonas. **J. Clinical Microbiology**. 34 : 1930-1933.

Kersters, I., Van, L., Hug, G., Jasssen, P., Kersters, K. and Verstraet, W. 1995. Influence of temperature and process technology on the occurrence of *Aeromonas* species and hygienic indicator organisms in drinking water production plants. **Microbial Ecology**. 30 : 203-218.

Kramlich, W.E., Pearson, A.M. and Tauber, F.W. 1973. Process Meat. AVI Publ., Westport.

Krusch, U. 1978. Ernahrungsphysiologische Gesichtspunkte der L(+) und D(-) Milchsaure in Sauermilchprodukten. **Kieler Milchwirlschaftliche Forschungsberichten**. 30 : 341-346.

Metaxopoulos, J., Kritikos, D. and Prosinos, E.H. 2002. Examination of microbiological parameters relevant to the implementation of GMP and HACCP system in Greek meat industry in the production of cooked sausages and cooked cured meat products. **Food Control**. 14 : 323-332.

Mrema, N., Mpuchane, S. and Gashe, B.A. 2006. Prevalence of Salmonella in raw minced meat, raw fresh sausages and raw burger patties from retail outlets in Gaborone, Botswana. **Food Control**. 17 : 207-212.

Mohamed, A.A. and Nassar, A.M. 2004. Occurrence of *Klebsiella* in some meat products and the effect of Cold storage and some meat additive on its growth rate in Assiut. **J. Veterinary Medical**. 50 : 50-62.

Nichols, G.L. 1996. Fact Sheets on Emerging Waterborne Pathogens: Final Report to the Department of the Environment: Aeromonas hydrophila. WRc and Public Health Laboratory Service. DWI 4248/1.

Pearson A.M. and Gillett T.A. 1996. Processd Meats. New York : Chapman & Hall.

Pipek, P. and Baco, B. 1997. Lactic acid : Meat surface decontaminant II. **Maso**. 8 : 65-68.

Pipek, P., Houska, M., Jelenikova, J., Ky'hos, K., Hoke, K. and Sikulova', M. 2005. Microbial decontamination of beef carcasses by combination of steamimg and lactic acid spray. **J. Food Engineering** . 67 : 309-315.

Pipek, P., Houska, M., Jelenikova, J., Ky'hos, K., Hoke, K., and Sikulova', M. 2006. Decontamination of pork carcasses by steam and lactic acid. **J. Food Engineering**. 74 : 224-31.

Podschhun, R. and Ullmann, U. 1998. *Klebsiella* spp. As nosocomial pathogen : epidemiology, taxonomy, typing method and pathogenicity factors. **Clinical Microbiology Review**. 11 : 589-603.

Popoff, M. 1984. Genus III *Aeromonas* Kluyver and van Niel 1936 398AL. In: Krieg NR, Holt JG, eds. **Bergey's manual of systematic bacteriology**, Vol. 1. Baltimore, MD, Williams & Wilkins : 545–548.

Price, L.G. and Greene, B.E. 1978. Factors affecting panelists perceptions of cured meat flavor. **J. Food Science**. 43 : 319.

Rice, K.M. and Pierson, M.D. 1982. Inhibition of Salmonella by sodium nitrite and potassium sorbate in frankfurter. **J. Food Sci**. 47 : 1615.

Romans, J.R. and Ziegler, P.T. 1977. The Meat We Eat. Illinois : Interstate Printers & Publisher.

Sachindra, N.M., Sakhare, P.Z., Yashoda, K.P. and Narasinha, D.R. 2005. Microbial profile of buffalo sausage during processing and storage. **Food Control**. 16 : 31-35.

Shrestha, S. and Min, Z. 2006. Effect of Lactic acic pretreatment on the quality of Fresh Pork packed in modified Atmosphere. **J. Food Engineering**. 72 : 254-260.

Shay, B.J., Gram, F.H., Ford, A.L., Ratchiff, D. and Egan. 1978. Microbiological quality and storage life of sliced vacuum-packed smallgoods. **J. Food Tech. Aust**. 30 : 48.

Siragusa, G.R. 1995. The effectiveness of carcass decontamination system for controlling the presence of pathogens on the surface of meat animal carcasses. **J. Food Safety**. 15 : 229-238.

Smulders, F.J.M. and Woolthuis, C.H.J. 1993. Influence of two levels of hygiene on the microbiological condition of veal as a products of two slaughtering / processing sequences. **J. Food Prot**. 46: 1032 – 1035.

Snijder, J.M.A., Van Log testijn, J.G., Mossel, D.A.A.and Smulders, F.J.M. 1985. Lactic acid as a decontaminant in the meat industry. **Proc. Eur. Meet. Meet. Res. Work**. 303 : 232-233.

Surkiewiez, F.F., Johnston, R.W. and Carosella, J.M. 1977. Bacteriological survey of frankfurters produced at establishments under federal inspection. **J. Milk Food**.

Vila, J., Ruiz, J., Gallardo, F., Vargas, M., Solert, L., Figueras, M.J. and Gascom, J. 2003. *Aeromonas* spp. And Traveler's Diarrhea : Clinical Features and Antimicrobial Resistance. **Emerging Infectious Disease**. 9 : 552-555.

Vreeman, G. 1985. Lactic acid : A versatile Ingredient. Food Flav. Ingred. Proc. Pkg. 7 : 44-45, 62.

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

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก.

การตรวจวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา

ภาคผนวก ก.
การตรวจวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา

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

ก . 1.1 การทดสอบทาง Biochemical Test

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

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

Tube NS ที่เติมเชื้อ *Salmonella* ONPG DISC จะไม่เปลี่ยนสี

Tube NS ที่เติมเชื้อ *E. coli* ONPG DISC จะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง

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

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

จะสรุปว่าตรวจพบเชื้อ *Salmonella* ก็ต่อเมื่อ Biochemical Test เกิดลักษณะข้างต้นทุกประการ จะเกิดอย่างใดอย่างหนึ่งไม่ได้

ก. 1.2 การทดสอบคุณสมบัติทาง Serological Test (Slide agglutination test)

การทดสอบ Serological Test เชื้อที่จะนำมาทดสอบ ต้องผ่านการทดสอบทาง Biochemical Test มาแล้วและทำการทดสอบต่อไปนี้

- หยด NS 0.85% 1 หยดลงบน slide ที่สะอาดปราศจากเชื้อ ใช้ loopเขี่ยเชื้อจาก Plate NA agar ลงบนแผ่น slide ผสมให้เข้ากัน เอียง slide ไปมา สังเกตปฏิกิริยาการจับกลุ่ม ซึ่งจะเกิดขึ้นภายในเวลา 30 – 60 วินาที โดยใช้กระดาษสีดำเป็นพื้นหลัง เพื่อให้สังเกตตะกอนได้ง่าย การทดสอบนี้ ลักษณะของเชื้อ *Salmonella* spp. ต้องไม่ตกตะกอน ถ้าเกิดตะกอนแสดงว่าเชื้อ Strains นั้นเกิด Auto – agglutination ไม่สามารถทดสอบทาง serotype ได้

- จากนั้นนำเชื้อจาก Plate NA ที่ให้ผลข้างต้น (ไม่ตกตะกอนกับ NS) ไปทำการทดสอบทางซีรัมวิทยากับ *Salmonella* Antiserum O Polyvalent A – I และ A – 67 โดยใช้ Needle เขี่ยเชื้อจาก Plate NA ที่ Positive จำนวนเล็กน้อยมาผสมกับ Antiserum บน Slide แล้ว Smear เอียง Slide กลับไปกลับมาประมาณ 1 นาที ดูผลการเกิด Agglutination ถ้าตกตะกอนถือว่า Positive ถ้าผล Positive กับ Polyvalent A – 67 antiserum แสดงว่าเชื้อนี้อยู่ระหว่าง Group A ถึง Group 67

ถ้า Positive กับ Polyvalent A – I antiserum แสดงว่าเชื้อนี้อยู่ระหว่าง Group A ถึง Group I นำไปทดสอบหา Group ต่อไปโดยใช้ Antigen O Group A, B, C, D และ E ถ้าพบ Positive กับ Group ใดก็แสดงว่าเป็น *Salmonella* Group นั้น

ในการทดสอบ Agglutination Test ให้ทำการทดสอบกับเชื้อ Positive control โดยใช้เชื้อ *Salmonella* และทดสอบกับเชื้อ Negative control โดยใช้เชื้อ *E. coli* เพื่อทำการเปรียบเทียบผลกับตัวอย่างด้วย

ผลการทดสอบ Agglutination Test

	A – I	A – 67	A	B	C	D	E	NS
Positive control (เชื้อ *Salmonella*)	+	+	+	+	+	+	+	-
Negative control (เชื้อ *E. coli*)	-	-	-	-	-	-	-	-

การอ่านผล Positive ของตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อ *Salmonella*

TSI	LIA	Urea slant	ONPG DISC	VP	Indole
S / B / H_2S	S / B / H_2S				
1. R / Y/ + -	1. P / P / + -	- Ve	- Ve	- Ve	- Ve
2. Y /Y/ +	2. P /P / +	- Ve	- Ve	- Ve	- Ve
3. R / R / -	3. P / Y / -	- Ve	- Ve	- Ve	- Ve

S = Slant, B = Butt, H_2S = Hydrogen sulfide, - = Negative

R = Red, Y = Yellow, P = Purple, + = Positive

จะสรุปว่าตรวจพบเชื้อ *Salmonella* spp. ก็ต่อเมื่อผล Biochemical Test เกิดดังลักษณะข้างต้นทุกประการ จะเกิดอย่างใดอย่างหนึ่งไม่ได้

ก. 2 การทดสอบขั้นยืนยันเชื้อ *Staph*. aureus

ก. 2.1 การ Confirmation *Staph. aureus*

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

- ทำ Coagulase Test เพื่อ Confirm *Staph. aurus* โดยใช้ Loop แตะเชื้อจาก BHI ใส่ลงใน Tube ที่มี Rabbit Plasma 0.5 ml. ผสมให้เข้ากันนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 $\pm$ 1°C นาน 4 – 24 ชั่วโมง

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

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

- การอ่านผล ลักษณะของ ต้องเกิดดังต่อไปนี้จึงสรุปว่าตรวจพบเชื้อ *Staph. aureus* จะเกิดลักษณะใดลักษณะหนึ่งไม่ได้

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

- ถ้าผลการทดสอบของตัวอย่าง เกิดลักษณะตามข้างต้น ให้รายงานผลว่าตรวจพบเชื้อ *Staph. aureus*

ภาคผนวก ข

แบบทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส

ภาคผนวก ข
แบบทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส

ข.1 แบบทดสอบการประเมินผลทางประสาทสัมผัส ของไส้กรอกไก่อิมัลชั่นรมควัน

ทดสอบผลิตภัณฑ์ด้วยการชิม แล้วให้คะแนน กรุณาพิจารณาลักษณะของผลิตภัณฑ์และทดสอบ แล้วให้คะแนนตามรายละเอียดที่กำหนดให้ดังนี้

สี : คะแนน	5	สีซึ่งมีอยู่ตามปกติของผลิตภัณฑ์
	4	สีใกล้เคียงกับสีปกติของผลิตภัณฑ์ แต่อาจเข้มหรือจางกว่าเล็กน้อย
	3	สีใกล้เคียงกับสีปกติของผลิตภัณฑ์ แต่ไม่สม่ำเสมอเนื่องจากกรรมวิธีการผลิต
	2	สีแตกต่างจากสีปกติของผลิตภัณฑ์อย่างเห็นได้ชัดเจน
	1	สีเขียวคล้ำหรือสีผิดปกติเนื่องจากจุลินทรีย์
ลักษณะปรากฏ : คะแนน	5	ลักษณะปกติของไส้กรอกทั่วไป
	4	เริ่มมีลักษณะเยิ้มปรากฏ
	3	มีลักษณะเยิ้มเป็นเมือก สังเกตเห็นได้
	2	มีเมือกลื่นเห็นได้ชัดเจน
	1	มีเมือกลื่นมาก และเริ่มเกิดโคโลนีของจุลินทรีย์
กลิ่นรส : คะแนน	5	กลิ่นรสเฉพาะของไส้กรอก หอมน่ารับประทาน และมีรสอร่อย
	4	กลิ่นรสเฉพาะของไส้กรอก หอมน่ารับประทาน แต่มีรสจัดหรืออ่อนเกินไปเล็กน้อย
	3	กลิ่นรสเฉพาะของไส้กรอก หอมน่ารับประทาน แต่มีรสจัดหรืออ่อนเกินไปมาก
	2	กลิ่นเปลี่ยนแปลงไปจากผลิตภัณฑ์ปกติเล็กน้อย
	1	กลิ่นหืน เหม็นเปรี้ยว หรือบูดเน่า

ลักษณะเนื้อสัมผัส : คะแนน

5 เนื้อละเอียดเป็นเนื้อเดียวกัน มีความแน่นเนื้อเป็นปกติของผลิตภัณฑ์

4 เนื้อละเอียดเป็นเนื้อเดียวกันค่อนข้างดี มีความแน่นเนื้อมากหรือน้อยกว่าปกติเล็กน้อย

3 เนื้อละเอียดเป็นเนื้อเดียวกันพอใช้ ค่อนข้างหยาบมีฟองอากาศบ้าง

2 เนื้อยุ่ย มีฟองอากาศ มีน้ำและน้ำมันเริ่มแยกตัวออกมา

1 เนื้อยุ่ย มีฟองอากาศ มีน้ำและน้ำมันแยกตัวออกเห็นได้ชัดเจน

การยอมรับรวม : คะแนน7 ชอบมาก

6 ชอบปานกลาง

5 ชอบเล็กน้อย

4 เฉยๆ

3 ไม่ชอบเล็กน้อย

2 ไม่ชอบปานกลาง

1 ไม่ชอบมาก

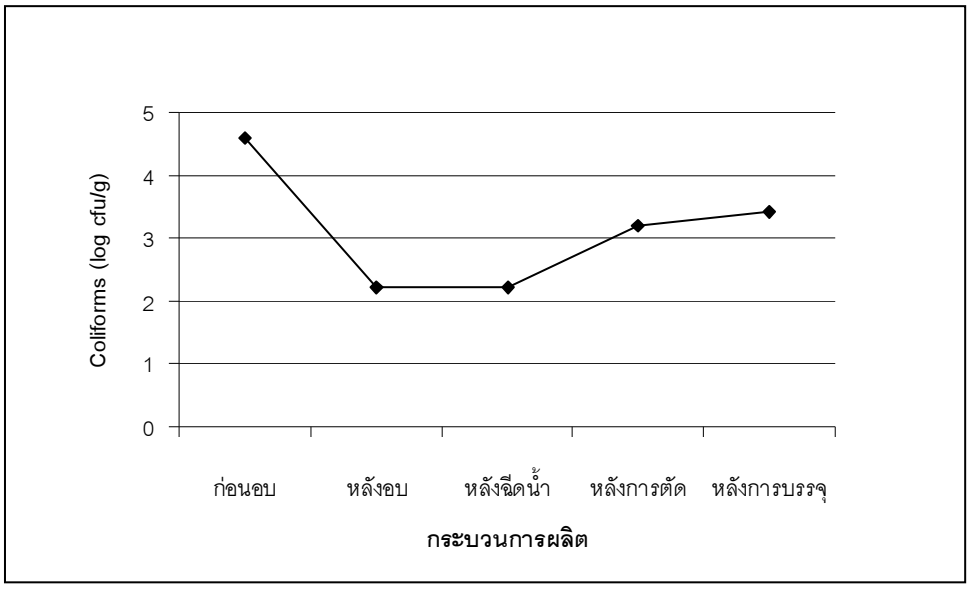
	ตัวอย่าง						
ลักษณะทางประสาทสัมผัส							
สี							
ลักษณะปรากฏ							
กลิ่นรส							
ลักษณะเนื้อสัมผัส							
การยอมรับโดยรวม							

ภาคผนวก ค

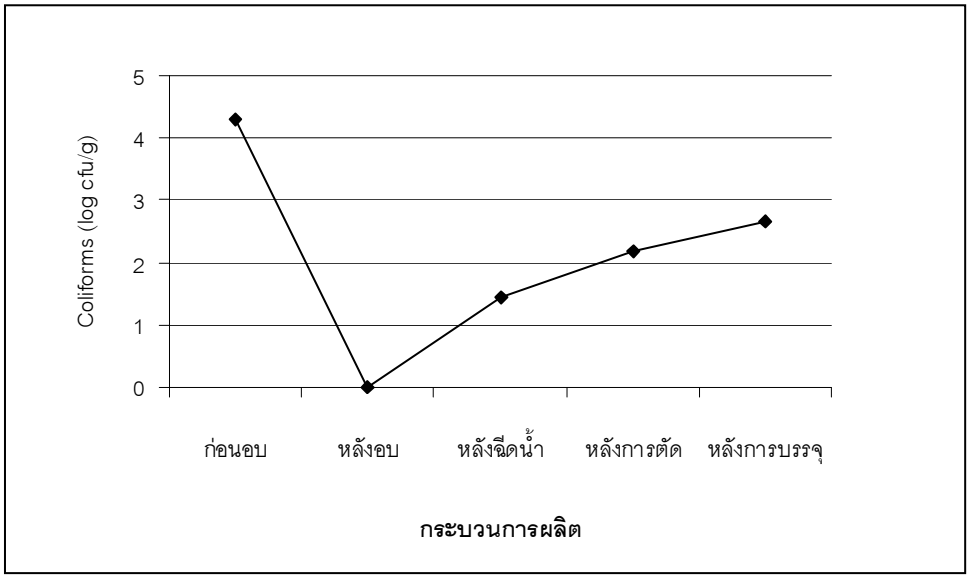
ผลการทดลอง

ภาคผนวก ค

ผลการทดลอง



ภาพที่ ค. 1 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ปนเปื้อนผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่อิมัลชั่นรมควัน ในขั้นตอนก่อนการทำให้สุก ภายหลังการอบ ภายหลังการฉีดน้ำ ภายหลังการตัดเป็นชิ้น และภายหลังการบรรจุถุงปิดสนิท



ภาพที่ ค. 2 ปริมาณ Coliforms ที่ปนเปื้อนผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่อิมัลชั่นรมควัน ในขั้นตอนก่อนการทำให้สุก ภายหลังการอบ ภายหลังการฉีดน้ำ ภายหลังการตัดเป็นชิ้น และภายหลังการบรรจุถุงปิดสนิท

ตารางที่ ค. 1 ผลการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อ *K. pneumoniae* โดยสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

อาหารทดสอบทางชีวเคมี	ผลการทดสอบ *K. pneumoniae*	อาหารทดสอบทางชีวเคมี	ผลการทดสอบ *K. pneumoniae*
Gram strain	negative	D-Xylose	+
Hemolysis	-	Rhamnose	+
TSI	K/A	Sucrose	+
H_2S	-	Adonitol	+
Motility	-	L-Arabonose	+
Indole	-	Inositol	+
Citrate	+	Sorbitol	+
Urease	+	Raffinose	+
Esculin	+	Salicin	+
Malonate	+	LDA	-
VP	+	Lysine	+
Glucose Gas	+ / +	Arginine	-
Lactose	+	Ornithine	-
Maltose	+		

ภาคผนวก ง

สถานที่ผลิตไส้กรอกไก่อิมัลชั่นรมควัน

ภาคผนวก ง
สถานที่ผลิตไส้กรอกไก่อิมัลชั่นรมควัน

กระบวนนำเอา emulsion อัดใส่ในไส้ และมัดเป็นท่อนในเครื่องอัตโนมัติ

ไส้กรอกภายหลังจากออกจากตู้อบ แล้วนำมาไว้ที่ลานพักเพื่อทำการลดอุณหภูมิของไส้กรอกด้วยการฉีดน้ำ

ไส้กรอกภายหลังการบรรจุใส่ถุงเพื่อรอการปิดปากถุงและเก็บเข้าคลังสินค้าเพื่อรอการจำหน่าย

ภาพที่ ง. 1 สถานที่ผลิตไส้กรอกไก่อิมัลชั่นรมควัน

ประวัติผู้เขียน

นางสาววรรณวิมล มัธยม เกิดวันที่ 18 กันยายน 2522 ที่จังหวัดราชบุรี สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตร์บัณฑิต (วท.บ.) ในสาขาวิชาจุลชีววิทยา จากสถาบันราชภัฏสวนสุนันทา ปีการศึกษา 2544 และศึกษาต่อในระดับวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต ณ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง สาขาวิชาสุขาภิบาลอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร ในปี พ.ศ. 2547 สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วท.ม.) ในปีการศึกษา 2550