หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของการใช้กรดแลคติคต่อการลดจำนวนเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากกระบวนการผลิตไส้กรอกไก่อิมัลชั่นรมควัน
ชื่อนักศึกษา	นางสาววรรณวิมล มัธยม
รหัสนักศึกษา	47067706
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	สุขาภิบาลอาหาร
พ.ศ.	2550
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ.ดร. อดิศร เสวตวิวัฒน์

บทคัดย่อ

การศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในกระบวนการผลิตไส้กรอกไก่อิมัลชั่นรมควัน ในขั้นตอนหลังการอัดไส้ หลังออกจากตู้อบ หลังการฉีดน้ำ หลังการตัดเป็นชิ้น และหลังการบรรจุในถุงปิดสนิท พบว่า มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดในขั้นตอนข้างต้นจำนวน 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 จากการถ่ายเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดบนอาหาร total plate count agar ลงบน Violet red bile agar เท่ากับ 4.29 + 0.08, 0.00 + 0.00, 1.44 + 0.17, 2.19 + 0.07 และ 2.65 + 0.06 log cfu/g ตามลำดับ และตรวจไม่พบ *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella* spp. ในทุกช่วงขั้นตอนที่ทำการทดลอง จากที่พบปริมาณ coliforms โดยเฉลี่ยร้อยละ 75.9 ของปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดที่ตรวจสอบ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ในช่วงหลังการฉีดน้ำ จึงได้ทำการสุ่มโคโลนีของ coliforms ในช่วงดังกล่าว จนถึงหลังการบรรจุในถุงปิดสนิท ส่งยืนยันหาสายพันธุ์ชนิดของเชื้อที่สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข พบว่า ร้อยละ 90 ของโคโลนีที่ส่งตรวจเป็นเชื้อ *Aeromonas caviae* ดังนั้นจึงทำการศึกษาผลของการใช้กรดแลคติคต่อการลดจำนวนเชื้อ *A. caviae* ที่คัดแยกได้จากตัวอย่างไส้กรอกไก่อิมัลชั่นรมควัน โดยดูผลของกรดแลคติคที่ความเข้มข้น 0 1.5 2.0 และ 2.5% ที่มีต่อเชื้อ *A. caviae* ในปริมาณเชื้อ 2 4 และ 6 log cfu/ml ในหลอดทดลอง พบว่า ความเข้มข้นของกรดแลคติคที่ทำการศึกษาทุกความเข้มข้น มีผลต่อการลดจำนวนเชื้อ *A. caviae* ทุกระดับปริมาณเชื้อที่ทำการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยเฉพาะกรดแลคติคที่ความเข้มข้นสูงจะให้ผลการยับยั้งและทำลายเชื้อดังกล่าวให้หมดไปเร็วที่สุด นอกจากนี้ ปริมาณ *A. caviae* เริ่มต้นยังมีผลต่อเวลาที่ใช้ในการลดจำนวนด้วย กรดแลคติคในทุกความเข้มข้นที่ทำการทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จากนั้นได้

ทำการศึกษาผลของกรดแลคติคต่อการลดจำนวน *A. caviae* ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่อิมัลชั่นรมควัน โดยทำการถ่ายเชื้อ *A. caviae* ที่ระดับ 2 log cfu/ml ลงในไส้กรอกไก่อิมัลชั่นรมควันที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยแสง UV หลังจากนั้น ศึกษาผลของความเข้มข้นของกรดแลคติคที่ความเข้มข้น 0 1.5 2.0 และ 2.5% โดยทำการราดด้วยกรดแลคติคในแต่ละระดับความเข้มข้น แล้วเก็บผลิตภัณฑ์ทั้งหมดที่อุณหภูมิ 4 $\pm$ 1°C เป็นเวลา 0 1 3 5 7 14 และ 21 วัน เพื่อทำการหาปริมาณเชื้อ *A. caviae* ที่มีชีวิตอยู่ในผลิตภัณฑ์ในช่วงการเก็บที่ระยะเวลาที่ทำการศึกษา พบว่า ระดับความเข้มข้นของกรดแลคติคมีผลต่อจำนวนเชื้อ *A. caviae* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) กล่าวคือ กรดแลคติคเข้มข้น 2.5% ให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. caviae* ได้ดีที่สุด โดยที่ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่อิมัลชั่นรมควันสามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิตู้เย็นได้นานเกิน 21 วัน โดยที่ปริมาณมาตรฐานการตรวจหาเชื้อ coliforms ไม่เกินมาตรฐานที่สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช) กำหนดไว้ ในขณะที่กรดแลคติคเข้มข้น 0 1.5 และ 2.0% มีปริมาณเชื้อเกินมาตรฐานที่สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติกำหนด เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิเดียวกันเป็นระยะเวลา 1 7 และ หลัง 14 วัน ตามลำดับ นอกจากนี้ ผลการทดสอบคุณภาพการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการราดด้วยกรดแลคติคนี้ พบว่าผู้บริโภคยังให้การยอมรับทางประสาทสัมผัสในด้าน สี ลักษณะปรากฏ และ กลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ที่ราดด้วยกรดแลคติคความเข้มข้นสูงที่ 2.0 และ 2.5% มากกว่าผลิตภัณฑ์กลุ่มควบคุม (ราดด้วยกรดแลคติค 0%) และผลิตภัณฑ์ที่ราดด้วยกรดแลคติค 1.5% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ตามลำดับ

Thesis Title	Effect of Lactic acid on Reduction of Isolated Bacteria from Smoked Emulsion Chicken Sausage Process.
Student	Miss. Wanwimon Matthayom
Student ID.	47067706
Drgree	Master of Science
Program	Food Sanitation
Year	2007
Thesis Advisor	Assoc.Prof.Dr. Adisorn Swetwiwathana

ABSTRACT

The type of bacterial contamination during post stuffing, post-cooked, post cooling, post-peeling and post-packing of smoked emulsion chicken sausage process was determined. The results revealed that bacterial count during aforementioned process were 4.59 + 0.21, 2.23 + 0.09, 2.22 + 0.07, 3.21 + 0.05 and 3.42 + 0.23 log cfu/g, respectively. Among these bacterial number on total plate count agar in each process samples, most of them implied to be coliforms on violet red bile agar at amount of 4.29 + 0.08, 0.00 + 0.00, 1.44 + 0.17, 2.19 + 0.07 และ 2.65 + 0.06 log cfu/g, respectively. *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* spp. were not detected in each process sample. The 75.9% of coliforms' isolates from total plate count agar in each process sample, especially, during post – cooling, post-peeling and post-packing process were randomly picked up and sent to National Institute of Health (NIH), Department of Medical Science, Ministry of Public Health for identification. It was found that 90 % of sending isolates were confirmed as *Aeromonas caviae*. Thus, effect of lactic acid at the concentration of 0, 1.5, 2.0 and 2.5 % on the amount of isolated *A. caviae* at 2, 4 and 6 log cfu/ml were investigated in an in-vitro broth. The results exhibited the best antagonistic effect of lactic acid at 2.0 and 2.5 % on all studied amount of *A. caviae* within 1 minute, while lactic acid at 1.5 % could eradicate amount of *A. caviae* at 2, 4 and 6 log cfu/ml within 5, 10 and 15 minutes respectively. The effect of showering of lactic acid concentration at 0, 1.5, 2.0 and 2.5 % on 2 log cfu/ml of contaminated *A caviae* on cooked and UV sterilization smoked emulsion chicken sausage under keeping temperature at 4 $\pm$ 1°C for 0, 1, 3, 5, 7, 14 and 21 day were

examined. It was revealed that showering the *A. caviae* contaminated samples with lactic acid at 2.5 % were the most effective concentration to prolong the shelf-life of this smoked emulsion chicken sausage and lead the coliforms count harmonized under microbiological standard regulation revised from National Bureau of Agricultural Commodity and Food Standards (ACFS). More than 21 days during keeping at $4 \pm 1^{\circ}$ C, while showering the *A. caviae* contaminated samples with lactic acid at 0, 1.5 and 2.0 % showed the coliforms count were harmonized to the microbiological standard within 1, 7 and 14 days respectively. Besides, samples showered with 2.0 and 2.5 % were organoleptically more preferable on product's colour, product's appearance and overall taste of product than the samples that showered with 0 and 1.5 % lactic acid.

กิติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงลงได้ เนื่องจากได้รับความกรุณาเป็นอย่างสูงจาก รศ. ดร. อดิศร เสวตวิวัฒน์ ที่ให้เกียรติเป็นอาจารย์ผู้ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รวมทั้งกรุณาให้ความรู้ คำแนะนำ และชี้นำแนวทางที่เป็นประโยชน์แก้ข้าพเจ้าเสมอมา ตลอดจนช่วยตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ ข้าพเจ้ารู้สึกซาบซึ้ง และขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณ รศ. ดร. วราวุฒิ ครูส่ง ผศ. ดร. ประภาพร ขอไพบูลย์ และคุณเพ็ญศรี รอดมา ที่ให้เกียรติเป็นคณะกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ และช่วยแก้ไขตรวจสอบวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ คณาจารย์ทุกท่านที่ได้ประสิทธิประสาทวิชาความรู้ และถ่ายทอดประสบการณ์ต่าง ๆ แก่ข้าพเจ้าตลอดระยะเวลาการศึกษาจนข้าพเจ้าสำเร็จการศึกษา

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตรทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือในการทำวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ คุณอนันต์ จันทรานุกูล กรรมการผู้จัดการบริษัท ศรีไทย ฟู้ดแอนด์เบฟเวอร์เรจ จำกัด (มหาชน) และ บริษัท ผลิตภัณฑ์อาหารศรีไทย จำกัด ที่ให้ความกรุณา และอนุเคราะห์วัตถุดิบ รวมทั้งสถานที่ในการทำงานทดลอง และวิจัยจนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณพี่ ๆ ที่ห้องปฏิบัติการ บริษัท ศรีไทย ฟู้ดแอนด์เบฟเวอร์เรจ จำกัด (มหาชน) พี่ ๆ เพื่อน ๆ น้อง ๆ ที่ฝ่ายผลิต บริษัท ผลิตภัณฑ์อาหารศรีไทย จำกัด ที่ให้คำแนะนำ ช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกต่าง ๆ ตลอดการทำงานวิจัย และถือเป็นส่วนสำคัญอย่างยิ่งที่ทำให้งานวิจัยดังกล่าวสำเร็จได้ด้วยดี

ขอขอบคุณ เพื่อน ๆ ปริญญาโท ทุกท่านที่ให้คำแนะนำช่วยเหลือ และความปารถนาดีเสมอมา

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา พี่น้อง ที่ให้การสนับสนุนเป็นอย่างดีในทุกด้าน และให้กำลังใจมาโดยตลอด จนงานวิจัยนี้สำเร็จด้วยดี

คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบแด่บุคคลข้างต้นที่กล่าวมาทั้งหมด และผู้มีพระคุณที่ไม่ได้กล่าวนามทุกท่าน หากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีข้อผิดพลาดประการใด ข้าพเจ้าขอน้อมรับไว้แต่ผู้เดียว

วรรณวิมล มัธยม

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....III

กิตติกรรมประกาศ.....V

สารบัญ.....VI

สารบัญตาราง.....VIII

สารบัญภาพ.....X

บทที่ 1 บทนำ.....1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....1

1.2 ขอบเขตการศึกษา.....2

1.3 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา.....3

บทที่ 2 ทฤษฎีและผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....4

2.1 ไส้กรอก (Sausage).....4

2.2 ชนิดและปริมาณการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิตไส้กรอก.....5

2.3 การเน่าเสียของไส้กรอก.....13

2.4 อายุการเก็บรักษาของเนื้อ และผลิตภัณฑ์.....14

2.5 สารยับยั้งจุลินทรีย์.....14

2.6 การใช้กรดอินทรีย์ในอุตสาหกรรมอาหาร.....17

2.7 กลไกการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยกรดอินทรีย์.....19

2.8 กรดแลคติคที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร.....22

2.9 การใช้กรดแลคติคในเนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อ.....24

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ.....27

3.1 วัตถุดิบ.....27

3.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง.....27

3.3 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์.....27

3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง.....28

3.5 สถานที่ดำเนินการทดลอง.....28

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ (ต่อ)
3.6 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย.....28

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์.....37

บทที่ 5 สรุปผลการศึกษา.....62

ข้อเสนอแนะ.....64

เอกสารอ้างอิง.....65

ภาคผนวก.....71
ภาคผนวก ก. การตรวจวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา.....72
ภาคผนวก ข. แบบทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส.....77
ภาคผนวก ค. ผลการทดลอง.....80
ภาคผนวก ง. สถานที่ผลิตไส้กรอกไก่อิมัลชั่นรมควัน.....83

ประวัติผู้เขียน.....85

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 Genospecies และ Phenospecies ของ genus *Aeromonas*.....8

2.2. ผลการทดสอบทางชีวเคมีที่ใช้ในการคัดแยกเชื้อ *Aeromonas* spp.....9

2.3. ความสัมพันธ์ของลักษณะอาการ และความถี่ของการติดเชื้อ *Aeromonas* spp. ในมนุษย์.....10

2.4 ผลการทดสอบทางชีวเคมีที่ใช้ในการคัดแยกเชื้อ *Klebsiella* spp.....12

2.5 กรดอินทรีย์และเกลือของกรดที่ใช้มากในอุตสาหกรรมอาหาร.....18

2.6 ค่าคงที่ของการแตกตัว (pK_a) ของกรดอินทรีย์.....19

2.7 ปริมาณกรดแลคติคในอาหารบางประเภท.....23

4.1 การเปรียบเทียบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด กับปริมาณ Coliforms ในกระบวนการผลิตไส้กรอกไก่อิมัลชั่นรมควัน.....39

4.2 ผลการวินิจฉัยสายพันธุ์ของเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากกระบวนการลิตไส้กรอกไก่อิมัลชั่นรมควันที่ส่งยืนยันสายพันธุ์ที่ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข.....40

4.3 ผลการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อ *A. caviae* จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข.....41

4.4 การตรวจหา *Salmonella* spp. และ *Staph. aureus* ในกระบวนการผลิตไส้กรอกไก่อิมัลชั่นรมควัน.....43

4.5 ผลของสารละลายกรดแลคติค ที่ระดับความเข้มข้น 0 1.5 2.0 และ 2.5% และระยะเวลาในการลดจำนวนเชื้อ *A. caviae* ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10^2 10^4 และ 10^6 cfu / ml ในหลอดทดลอง.....47

4.6 ปริมาณ *A. caviae* ที่ระดับ 2 log cfu / g โดยการถ่ายเชื้อลงในไส้กรอกไก่อิมัลชั่นรมควัน แล้วราดด้วยกรดแลคติคที่ระดับความเข้มข้น 0 1.5 2.0 และ 2.5% เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 21 วัน ที่ 4 $\pm$ 1°C.....49

4.7 การเปลี่ยนแปลงค่าความสว่างของไส้กรอกไก่อิมัลชั่นรมควัน ที่ราดด้วยกรดแลคติค ความเข้มข้น 0 1.5 2.0 และ 2.5% เมื่อเก็บเป็นเวลา 21 วัน ที่ 4 $\pm$ 1°C 52

4.8 การเปลี่ยนแปลงค่าสีแดงของไส้กรอกไก่อิมัลชั่นรมควัน ที่ราดด้วยกรดแลคติค ความเข้มข้น 0 1.5 2.0 และ 2.5% เมื่อเก็บเป็นเวลา 21 วัน ที่ 4 $\pm$ 1°C.....53

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4.9 คะแนนสีของไส้กรอกไก่อิมัลชั่นรมควัน ที่ราดด้วยสารละลายกรดแลคติค ความเข้มข้น 0 1.5 2.0 และ 2.5% เมื่อเก็บเป็นเวลา 21 วัน ที่ 4 ± 1°C 55

4.10 คะแนนลักษณะปรากฏของไส้กรอกไก่อิมัลชั่นรมควัน ที่ราดด้วยสารละลายกรดแลคติค ความเข้มข้น 0 1.5 2.0 และ 2.5% เมื่อเก็บเป็นเวลา 21 วัน ที่ 4 ± 1°C.....56

4.11 คะแนนกลิ่นรสของไส้กรอกไก่อิมัลชั่นรมควัน ที่ราดด้วยสารละลายกรดแลคติค ความเข้มข้น 0 1.5 2.0 และ 2.5% เมื่อเก็บเป็นเวลา 21 วัน ที่ 4 ± 1°C.....57

4.12 คะแนนเนื้อสัมผัสของไส้กรอกไก่อิมัลชั่นรมควัน ที่ราดด้วยสารละลายกรดแลคติค ความเข้มข้น 0 1.5 2.0 และ 2.5% เมื่อเก็บเป็นเวลา 21 วัน ที่ 4 ± 1°C.....58

4.13 คะแนนการยอมรับโดยรวมของไส้กรอกไก่อิมัลชั่นรมควัน ที่ราดด้วยสารละลาย กรดแลคติคความเข้มข้น 0 1.5 2.0 และ 2.5% เมื่อเก็บเป็นเวลา 21 วันที่ 4 ±1°C.....59

4.14 คะแนนเฉลี่ยของการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไส้กรอกไก่อิมัลชั่นรมควัน ที่ราดด้วยสารละลายกรดแลคติคที่ระดับความเข้มข้น 0 1.5 2.0 และ 2.5% เมื่อเก็บเป็นเวลา 21 วัน ที่ 4 ± 1°C.....60

ค.1 ผลการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อ *K. pneumoniae* โดยสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข.....82

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

2.1 กราฟการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์.....20

2.2 โครงสร้างของกรดแลคติค D (-) และ L (+).....22

3.1 กระบวนการผลิตไส้กรอกไก่อิมัลชั่นรมควัน.....30

ค.1 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ปนเปื้อนผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่อิมัลชั่นรมควันในขั้นตอน ก่อนการทำให้สุก ภายหลังการทำให้สุก ภายหลังการฉีดน้ำ ภายหลังการตัดเป็นชิ้น และภายหลังการบรรจุถุงปิดสนิท.....81

ค.2 แสดงปริมาณ Coliforms ที่ปนเปื้อนผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่อิมัลชั่นรมควันในขั้นตอน ก่อนการทำให้สุก ภายหลังการทำให้สุก ภายหลังการฉีดน้ำ ภายหลังการตัดเป็นชิ้น และภายหลังการบรรจุถุงปิดสนิท.....81

ง.1 สถานที่ผลิตไส้กรอกไก่อิมัลชั่นรมควัน.....84