

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของเกลือของกรดอินทรีย์ร่วมกับการแช่แข็งและการทำให้ ละลายต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในเนื้อสุกร
นักศึกษา	นางสาวกัญญารัตน์ จูปรางค์
รหัสประจำตัว	46063411
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
พ.ศ.	2550
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผศ.ดร.สุริย์ นานาสมบัติ

บทคัดย่อ

ในการศึกษาคุณภาพทางจุลินทรีย์ของเนื้อสุกรและแฮม ชนิดละ 30 ตัวอย่าง พบว่าในเนื้อสุกรมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดอยู่ในช่วง 4.6×10^6 - 2.3×10^9 โคโลนีต่อกรัม และพบ *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* และแบคทีเรียโคลิฟอร์ม ปนเปื้อนในตัวอย่างคิดเป็นร้อยละ 86.67, 43.33 และ 96.67 ของจำนวนตัวอย่างเนื้อสุกรทั้งหมดที่วิเคราะห์ ตามลำดับ ส่วนในแฮมพบว่ามีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดอยู่ในช่วง 1.0×10^8 - 2.8×10^8 โคโลนีต่อกรัม ยีสต์และเชื้อราที่มีจำนวนอยู่ในช่วง 1.0×10^2 - 6.9×10^7 โคโลนีต่อกรัม พบ *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* และ *Clostridium perfringens* ร้อยละ 36.67, 26.67, 53.33 และ 6.67 ของจำนวนตัวอย่างแฮมทั้งหมดที่วิเคราะห์ ตามลำดับ

การศึกษาผลของเกลือโซเดียมแลคเตต โซเดียมอะซิเตต และโพแทสเซียมซอร์เบตต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย 8 ชนิด ได้แก่ *Salmonella* Rissen, *Salmonella* Typhimurium, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas fluorescens* และ *Vibrio parahaemolyticus* โดยการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งได้ (Minimum Inhibitory Concentration ; MIC) ในสภาพที่มีพีเอชต่างกัน 6 ระดับ ได้แก่ พีเอช 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5 และ 7.0 พบว่าประสิทธิภาพการยับยั้งของเกลือทั้งสามชนิดขึ้นอยู่กับชนิดของแบคทีเรียและค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยพบว่าในสภาพที่มีพีเอชต่ำ (พีเอช 4.5-5.5) โซเดียมแลคเตตมีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียส่วนใหญ่ที่นำมาทดสอบ เชื้อ *Listeria monocytogenes* ไวต่อโซเดียมแลคเตตมากที่สุดที่พีเอช 4.5 (ค่า MIC เท่ากับ 23.9 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และ *V. parahaemolyticus* สามารถต้านทานต่อโซเดียมแลคเตตได้ดีที่สุด (ค่า MIC มากกว่า 191.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ในสภาพที่มีพีเอชสูง (พีเอช 6.0-6.5) พบว่า *E. coli* ถูกยับยั้งโดยโพแทสเซียมซอร์เบตได้ดีกว่าโซเดียมแลคเตตและโซเดียมอะซิเตต และโพแทสเซียมซอร์เบต

ยังสามารถยับยั้ง *E. coli* ได้ดีที่พีเอช 4.5-5.5 ส่วนประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียโดยโซเดียมอะซิเตตพบว่าค่าพีเอชมีผลน้อยมากโดยเฉพาะในช่วง 5.0-6.5 และ *Y. enterocolitica* ไวต่อโซเดียมอะซิเตตมากที่สุดในช่วงพีเอช 4.5-7.0 (ค่า MIC เท่ากับ 13.12-52.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ขณะที่ *S. aureus*, *V. parahaemolyticus* และ *E. coli* ด้านทานต่อโซเดียมอะซิเตตได้ดีที่สุด (ค่า MIC มากกว่า 210 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

การศึกษาผลของโซเดียมแลคเตต (1.91 มิลลิกรัมต่อกรัมเนื้อสุกร) โซเดียมอะซิเตต (8.4 มิลลิกรัมต่อกรัมเนื้อสุกร) และโพแทสเซียมซอร์เบต (2.56 มิลลิกรัมต่อกรัมเนื้อสุกร) ร่วมกับการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -23 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง และการทำให้ละลายด้วยอัตราซ้ำต่อการยับยั้งการเจริญของ *S. Rissen* และ *S. aureus* ในเนื้อสุกร พบว่าจำนวนเซลล์ *S. Rissen* และ *S. aureus* ที่รอดชีวิตในเนื้อสุกรทั้งหมดลดลงเมื่อระยะเวลาในการแช่แข็งเพิ่มขึ้น และหลังจากผ่านการแช่แข็งเป็นเวลา 72 ชั่วโมง พบว่าจำนวนเซลล์ *S. Rissen* ที่รอดชีวิตในเนื้อสุกรที่เติมเกลือโพแทสเซียมซอร์เบตน้อยกว่าในเนื้อสุกรที่เติมโซเดียมอะซิเตต แต่จำนวนเซลล์ *S. aureus* ที่รอดชีวิตในเนื้อสุกรที่เติมโซเดียมแลคเตตหรือโซเดียมอะซิเตตน้อยกว่าในเนื้อสุกรที่เติมโพแทสเซียมซอร์เบต นอกจากนี้ยังพบว่าจำนวนเซลล์ที่ตายของแบคทีเรียทั้งสองชนิดเพิ่มขึ้นหลังจากผ่านการแช่แข็งเป็นเวลา 24 ชั่วโมงและเมื่อทำการแช่แข็งครบ 72 ชั่วโมง จำนวนเซลล์ *S. Rissen* ที่ตายในเนื้อสุกรที่เติมโพแทสเซียมซอร์เบตมีจำนวนมากที่สุด ขณะที่จำนวนเซลล์ *S. Rissen* ที่บาดเจ็บในเนื้อสุกรที่เติมเกลือทุกชนิดเพิ่มขึ้น และเช่นเดียวกัน *S. aureus* ในเนื้อสุกรที่เติมโซเดียมแลคเตตมีจำนวนเซลล์ที่ตายมากที่สุด แต่จำนวนเซลล์ที่บาดเจ็บลดลงหลังจากการแช่แข็งเป็นเวลา 72 ชั่วโมง

Thesis title	Effect of organic acid salts in combination with freezing and thawing on growth inhibition of pathogenic bacteria in pork
Student	Kanyarat Chooprang
Student ID	46063411
Degree	Master of science
Program	Biotechnology
Year	2007
Thesis Advisor	Asst.Prof.Dr.Suree Nanasombat

ABSTRACT

In this study, the microbiological quality of pork and Nham (30 samples each) was analyzed. Total viable counts in pork samples were in the range of 4.6×10^6 - 2.3×10^9 CFU/g, and *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* and coliform bacteria were contaminated in 86.67%, 43.33% and 96.67% of pork samples, respectively. The total viable counts (1.0×10^8 - 2.8×10^8 CFU/g) were found in nham samples. Yeasts and molds in nham were in the range of 1.0×10^2 - 6.9×10^5 CFU/g, and *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, and *Clostridium perfringens* were present in 36.67%, 26.67%, 53.33%, and 6.67% of nham samples tested, respectively.

The effect of sodium lactate, sodium acetate and potassium sorbate on growth inhibition of eight bacterial species including *Salmonella* Rissen, *Salmonella* Typhimurium, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas fluorescens* and *Vibrio parahaemolyticus* was investigated by determining the minimum inhibitory concentration (MIC) values at six different pH levels (4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5 and 7.0). The effective of three organic acid salts was found to depend on types of bacteria and pH of medium. At low pH (pH 4.5-5.5), sodium lactate showed great inhibitory effect to most of tested bacteria. *L. monocytogenes* was the most sensitive to sodium lactate at pH 4.5 (MIC 23.9 mg/ml), while *V. parahaemolyticus* was the most resistant (MIC >191.25 mg/ml) to sodium lactate. At high pH (pH 6.0-6.5), *E. coli* was inhibited by potassium sorbate better than sodium lactate and sodium acetate. Potassium sorbate had good inhibitory activity against *E. coli* at pH 4.5-5.5. The pH value had less effect to antibacterial action of sodium acetate particularly at pH 5.0-6.5. *Y. enterocolitica* was the most sensitive strain to sodium acetate at pH 4.5-7.0 (MIC 13.12-52.5 mg/ml), whereas *S. aureus*, *V. parahaemolyticus* and *E. coli* were the most resistant strains to sodium acetate (> 210 mg/ml).

Combined effect of sodium lactate (1.91 mg/g), sodium acetate (8.4 mg/g) and potassium sorbate (2.56 mg/g) with freezing ($-23\pm 2^{\circ}\text{C}$ for 72 h) and slow thawing on growth inhibition of *S. Rissen* and *S. aureus* in pork. Survival cells of *S. Rissen* and *S. aureus* decreased as the freezing time increased. After freezing for 72 h, the number of *S. Rissen* viable cells in pork treated with potassium sorbate were significantly lower than those in pork with the other two salts. However, the survival cells of *S. aureus* in pork added with sodium lactate or sodium acetate were significantly lower than those in samples with potassium sorbate. In addition, the number of dead cells of both bacterial species increased after 24 h of freezing. At 72 h of freezing, the number of *S. Rissen* dead cells were the highest in pork with potassium sorbate, whereas injured cells of *S. Rissen* in pork added with all types of organic acid salts increased. Similarly, the highest number of *S. aureus* dead cells were found in pork with sodium lactate, but the number of *S. aureus* injured cells decreased at 72 h of freezing.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผศ.ดร.สุริย์ นานาสมบัติ ที่ได้ให้ความช่วยเหลือ ให้คำชี้แนะ ช่วยแก้ไขปัญหา ให้ความรู้และข้อคิดเห็นในด้านต่างๆที่เป็นประโยชน์ตลอดจนช่วยแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้เสร็จสมบูรณ์ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

กราบขอบพระคุณ รศ.ดวงใจ โอชัยกุล ผศ.ดร.มารีสา จาคูพรพิพัฒน์ และ รศ.อรไท สุขเจริญ ซึ่งเป็นคณะกรรมการสอบหัวข้อวิทยานิพนธ์ที่ได้กรุณาสละเวลาให้คำปรึกษาและให้คำชี้แนะในการแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย บัณฑิตศึกษาคณะวิทยาศาสตร์ และเจ้าหน้าที่ธุรการภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ทุกท่านที่ช่วยอำนวยความสะดวกและติดต่อประสานงาน ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่ช่วยอำนวยความสะดวกในด้านอุปกรณ์และสารเคมี

ขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ และน้องภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ทุกคน ในความช่วยเหลือและคอยเป็นกำลังใจตลอดมา

และที่สำคัญขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อกิตติ จูปรางค์ และคุณแม่จำเนียร จูปรางค์ และทุกคนในครอบครัวที่ได้เสียสละทุนทรัพย์ ให้ความรัก และให้กำลังใจผู้วิจัยตลอดมา

สำหรับคุณค่าและประโยชน์ที่เกิดจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบให้กับคุณพ่อคุณแม่ และสมาชิกทุกคนในครอบครัว ครูอาจารย์ที่เคารพทุกท่านที่ได้ประสาทวิชาความรู้และถ่ายทอดประสบการณ์ที่ดีให้แก่ผู้วิจัย ตลอดจนผู้มีพระคุณทุกท่าน

กัญญารัตน์ จูปรางค์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	III
กิตติกรรมประกาศ.....	V
สารบัญ	VI
สารบัญตาราง	IX
สารบัญรูป	X
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	3
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
2.1 องค์ประกอบของเนื้อสัตว์	5
2.2 การปนเปื้อนจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์.....	7
2.2.1 แหล่งที่มาของจุลินทรีย์	7
2.2.2 ชนิดของจุลินทรีย์ที่พบปนเปื้อนในเนื้อสัตว์	9
2.3 การเจริญของจุลินทรีย์บนเนื้อสัตว์	11
2.3.1 ชนิดและจำนวนของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนและการแพร่กระจาย ของเชื้อในเนื้อ	11
2.3.2 คุณสมบัติทางกายภาพของเนื้อ	11
2.3.3 คุณสมบัติทางเคมีของเนื้อ.....	11
2.3.4 ปริมาณออกซิเจน	12
2.3.5 อุณหภูมิ	12
2.4 การลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ของเนื้อสัตว์.....	12
2.5 การควบคุมจุลินทรีย์โดยใช้กรดอินทรีย์	13
2.5.1 ผลของกรดอินทรีย์ต่อการรอดชีวิตและการตายของจุลินทรีย์.....	14
2.5.2 กลไกการทำงานของกรดอินทรีย์.....	14
2.5.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของกรดอินทรีย์.....	15

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.5.4 การประยุกต์ใช้.....	18
2.5.5 ผลต่อลักษณะทางประสาทสัมผัสและคุณภาพการสัมผัสอื่นๆของเนื้อ.....	20
2.5.6 การใช้กรดอินทรีย์ร่วมกับวิธีการถนอมอาหารอื่นๆ.....	21
2.6 การใช้กรดและเกลือของกรดอินทรีย์ในการลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในอาหาร....	21
2.6.1 กรดอะซิติกและเกลืออะซิเตต	22
2.6.2 กรดแลคติกและเกลือแลคเตต.....	24
2.6.3 กรดซอร์บิกและเกลือซอร์เบต	31
2.7 การควบคุมจุลินทรีย์โดยการแช่แข็งและการทำให้ละลาย.....	40
2.7.1 การแช่แข็ง	40
2.7.2 การทำให้ละลาย.....	44
บทที่ 3 การวิจัยและการดำเนินงาน.....	45
3.1 อุปกรณ์และสารเคมี	45
3.1.1 ตัวอย่างเนื้อสุกรและแฮม	45
3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์.....	45
3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ สารละลายที่ใช้ทำเจือจาง และสารเคมี	45
3.1.4 เครื่องมือ.....	46
3.2 วิธีการทดลอง	46
3.2.1 การศึกษาคุณภาพทางจุลินทรีย์ของเนื้อสุกรและแฮมที่จำหน่ายใน กรุงเทพมหานคร.....	46
3.2.2 การศึกษาผลการยับยั้งของสารละลายเกลือของกรดอินทรีย์ต่อ แบคทีเรียชนิดต่างๆ โดยการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งได้	47
3.2.3 การศึกษาผลของเกลือของกรดอินทรีย์ร่วมกับการแช่แข็งและ การทำให้ละลาย ต่อการยับยั้งเจริญของ <i>Salmonella</i> Rissen และ <i>Staphylococcus aureus</i> ในเนื้อสุกร	48
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผล.....	51
4.1 ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ของเนื้อสุกรและแฮมที่จำหน่าย ในกรุงเทพมหานคร	51

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.2 ผลการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารละลายโซเดียมแลคเตต โซเดียมอะซิเตต และโพแทสเซียมซอร์เบต ที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียต่างๆ.....	56
4.3 ผลของโซเดียมแลคเตต โซเดียมอะซิเตต และโพแทสเซียมซอร์เบต ร่วมกับการแช่แข็งและการทำให้ละลาย ต่อการยับยั้งเจริญของ <i>Salmonella</i> Rissen และ <i>Staphylococcus aureus</i> ในเนื้อสุกร	62
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	71
บรรณานุกรม	73
ภาคผนวก ก.....	80
ภาคผนวก ข.....	83
ภาคผนวก ค.....	86
ภาคผนวก ง	98
ภาคผนวก จ	99
ภาคผนวก ฉ.....	107
ประวัติผู้เขียน	115

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 องค์ประกอบทางเคมีของสารอาหารต่างๆที่มีในกล้ามเนื้อของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่โตเต็มวัย ในระยะหลังการเกร็งตัวก่อนจะเข้าสู่ระยะ post mortem	6
2.2 จำนวนจุลินทรีย์เฉลี่ยที่ปนเปื้อนในขั้นตอนการบรรจุเนื้อวัวในโรงฆ่าสัตว์.....	9
2.3 ประสิทธิภาพในการลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ของวิธีต่างๆ.....	13
2.4 ผลของพีเอชต่อปริมาณไอออนที่ได้จากการแตกตัวของกรดอินทรีย์	16
2.5 ช่วงพีเอชโดยประมาณของอาหารต่างๆ	17
2.6 ช่วงพีเอชในการเจริญของจุลินทรีย์ที่สำคัญในอาหาร	19
2.7 ผลของการใช้กรดแลกติกและกรดอะซิติกต่อคุณภาพของเนื้อ.....	20
2.8 การใช้แลกเตตเป็นสารต้านจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์เนื้อ	27
2.9 ผลของโซเดียมแลกเตตต่อค่า a_w และการเจริญของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์เนื้อ.....	28
2.10 ผลของโซเดียมคลอไรด์หรือโซเดียมแลกเตตต่อค่า a_w ของเนื้อวัวบดสุกซึ่งมีความชื้นร้อยละ 55	28
2.11 ค่า a_w ต่ำสุดในการเจริญและการรอดชีวิตของ <i>L. monocytogenes</i> ในอาหารเหลวที่เติมสาร humectant.....	30
2.12 ผลของพีเอชต่อการแตกตัวของกรดซอร์บิก	34
4.1 คุณภาพทางจุลินทรีย์ของเนื้อสุกรและแฮมที่จำหน่ายในกรุงเทพมหานคร	51
4.2 ค่าพีเอชและ a_w เฉลี่ยของเนื้อสุกรและแฮม	55
4.3 ความเข้มข้นต่ำสุดของสารละลายโซเดียมแลกเตต โซเดียมอะซิเตต และโพแทสเซียมซอร์เบต ที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียที่พีเอชต่างๆ.....	57

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 กลไกการยับยั้งจุลินทรีย์โดยกรดอินทรีย์.....	15
4.1 ผลของเกลือของกรดอินทรีย์ร่วมกับการแช่แข็งและการทำให้ละลายต่อจำนวนเซลล์ ที่รอดชีวิต เซลล์ที่บาดเจ็บ และเซลล์ที่ตายของ <i>Salmonella</i> Rissen ในเนื้อสุกร	65
4.2 ผลของเกลือของกรดอินทรีย์ร่วมกับการแช่แข็งและการทำให้ละลายต่อจำนวนเซลล์ ที่รอดชีวิต เซลล์ที่บาดเจ็บ และเซลล์ที่ตายของ <i>Staphylococcus aureus</i> ในเนื้อสุกร	66
ก.1 ผลของการแช่แข็งและการทำให้ละลายต่อการอยู่รอดของ <i>Salmonella</i> Rissen ในอาหารเหลวหมูจำลอง.....	82