

ภาคผนวก ก

การศึกษาผลของการแช่แข็งและการทำให้ละลายต่อการอยู่รอดของ *Salmonella* Rissen ในอาหารเหลวหมูจำลอง (Pork Model Broth)

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของการแช่แข็งต่อการอยู่รอดของ *Salmonella* Rissen ในอาหารเหลวหมูจำลอง (Pork Model Broth)
2. เพื่อศึกษาผลของชนิดของการทำให้ละลายต่อการอยู่รอดของ *Salmonella* Rissen ในอาหารเหลวหมูจำลอง (Pork Model Broth)

วัสดุอุปกรณ์

1. จุลินทรีย์ ได้แก่ *Salmonella* Rissen SAP 08946/02
2. อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ ได้แก่ Tryptic Soy Broth/Tryptic Soy Agar; TSB/TSA (TSB/ TSA, พีเอช 7.3 ± 0.2 , Difco), Pork model broth และ Xylose Lysine Deoxycholate Agar (XLD, พีเอช 7.4 ± 0.2 , Difco)
3. เครื่องมือที่ใช้ ได้แก่ ตู้บ่มเชื้อ ตู้เย็น ตู้แช่แข็ง เครื่องปั่นเหวี่ยง

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์

เชื้อเชื้อ *S. Rissen* จาก stock culture ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ลงในอาหารวุ้นเยือก TSA แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเชยลงในอาหารวุ้นเยือก TSA อีกครั้ง นำไปบ่มที่สภาวะเดิม และซัดแยกโคโลนีเดี่ยวบน TSA plate แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเชยเชื้อประมาณ 5 โคโลนีลงในอาหารเหลว TSB ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง แล้วนำมาปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที ล้างเซลล์สองครั้งด้วยสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วนำมาปรับความขุ่นให้เท่ากับ MaFarland เบอร์ 4 จะได้เชื้อความเข้มข้นเริ่มต้น 10^7 cfu ต่อมิลลิลิตร

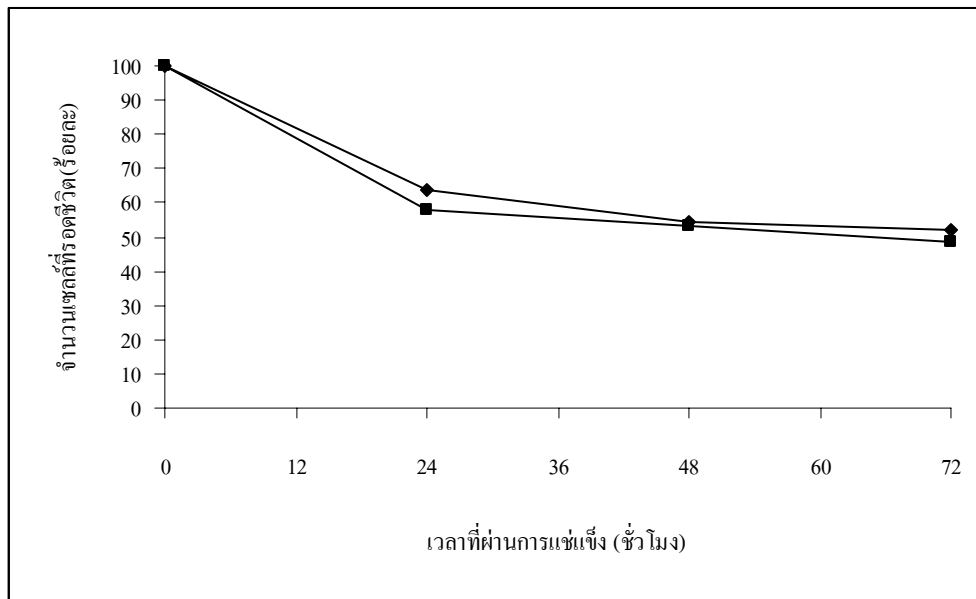
2. การศึกษาผลของการแช่แข็งและการทำให้ละลายต่อการอยู่รอดของ *Salmonella* Rissen ในอาหารเหลวหมูจำลอง (Pork Model Broth)

เมื่อปรับความขุ่นของเชื้อได้แล้ว ปิเปตสารแขวนลอยเชื้อปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเหลว TSB ซึ่งมีปริมาตร 9 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิประมาณ -18 องศาเซลเซียส หาจำนวนเซลล์รอดชีวิตในชั่วโมงที่ 0 ด้วยเทคนิคการ spread plate ลงบน TSA และ XLD เพื่อนำไปหาจำนวนเซลล์บาค์เจ็บบน TSA และ XLD แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนับจำนวนเซลล์บน TSA plate และ XLD

ผลการทดลองและวิจารณ์

การศึกษาผลของการแช่แข็งและการทำให้ละลายต่อการอยู่รอดของ *Salmonella* Rissen ในอาหารเหลวหมูจำลอง ที่นำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -22.7 องศาเซลเซียส เป็นเวลาต่างๆ และทำให้ละลายอย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง หรือทำให้ละลายอย่างช้าที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 18 ชั่วโมง ได้ผลดังรูปที่ 1 ซึ่งพบว่าเมื่อเวลาในการแช่แข็งเพิ่มขึ้น ปริมาณเซลล์ที่รอดชีวิตของ *S. Rissen* ลดลงทั้งที่มีการทำให้ละลายอย่างรวดเร็วและการทำให้ละลายอย่างช้า และเมื่อเปรียบเทียบผลของการทำให้ละลายพบว่า การทำให้ละลายอย่างรวดเร็วทำให้จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตของ *S. Rissen* เหลืออยู่มากกว่าการทำให้ละลายอย่างช้า โดยหลังจากผ่านการแช่แข็งเป็นเวลา 72 ชั่วโมง พบว่าจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตของ *S. Rissen* ในอาหารเหลวหมูจำลองที่ถูกทำให้ละลายอย่างรวดเร็วและการทำให้ละลายอย่างช้าเหลืออยู่ร้อยละ 51.78 และ 48.51 ตามลำดับ ส่วนจำนวนเซลล์ที่บาค์เจ็บบน TSA และ XLD ของ *S. Rissen* ในอาหารเหลวหมูจำลองที่ถูกทำให้ละลายอย่างรวดเร็วก็มีจำนวนน้อยกว่าที่ถูกทำให้ละลายอย่างช้า

การที่เซลล์ถูกยับยั้งโดยการแช่แข็งนั้นเนื่องมาจากเมื่อมีการแช่แข็ง น้ำอิสระที่อยู่ในอาหารจะเปลี่ยนสถานะกลายเป็นน้ำแข็ง และทำให้น้ำที่อยู่ภายในเซลล์เคลื่อนที่ออกมาอยู่นอกเซลล์ เพื่อรักษาสมดุลออสโมติก ซึ่งทำให้ความเข้มข้นของตัวถูกละลายภายในเซลล์เพิ่มขึ้น และปริมาตรของเซลล์ลดลง ซึ่งมีผลต่อการทำงานของเซลล์ ทำให้เซลล์ไม่สามารถเจริญเพิ่มจำนวนได้ และพบว่าระยะเวลาในการทำให้ละลายมีผลต่อจำนวนเซลล์รอดชีวิต เนื่องจากการทำให้ละลายอย่างรวดเร็ว อุณหภูมิจะสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว และถ้าจุลินทรีย์ปรับตัวได้ก็จะสามารถเจริญต่อไปได้ ส่วนการทำให้ละลายอย่างช้าทำให้แบคทีเรียต้องเผชิญกับสภาพที่มีอุณหภูมิต่ำเป็นเวลานาน ซึ่งอุณหภูมิต่ำเป็นอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ ทำให้มีจำนวนลดลง



รูปที่ 1 ผลของการแช่แข็งและการทำให้ละลายต่อการอยู่รอดของ *S. Rissen* ในอาหารเหลวหมู
จำลอง โดย (◆)ผ่านการทำให้ละลายอย่างรวดเร็ว และ (■)ผ่านการทำให้ละลายอย่างช้า

ภาคผนวก ข

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลาย

1. สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.1 สูตรอาหาร modified BHI-EY medium

Brain Heart Infusion (BHI)	37.0	กรัม
น้ำตาลแลคโตส	10.0	กรัม
ฟีนอลเรด	10.0	มิลลิลิตร
(ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ในแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 95)		
วุ้น	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ปรับค่าพีเอช 7.6 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นทำให้เย็นลงจนมีอุณหภูมิประมาณ 45-50 องศาเซลเซียส แล้วเติมไข่แดง (egg yolk) ปริมาตร 30 มิลลิลิตร ลงไป

1.2 สูตรอาหาร acidified Potato Dextrose Agar (acidified PDA)

potato dextrose broth	24.0	กรัม
วุ้น	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นทำให้เย็นลงจนมีอุณหภูมิประมาณ 48 องศาเซลเซียส แล้วเติมสารละลายกรดทาร์ตริก (tartaric acid) ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 18.5 มิลลิลิตร ลงไป

1.3 สูตรอาหาร Koser's citrate broth

$\text{NaNH}_4\text{HPO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1.5	กรัม
KH_2PO_4 (monobasic)	1.0	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0.2	กรัม
โซเดียมซิเตรต (sodium citrate.2H ₂ O)	3.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ปรับค่าพีเอชเป็น 6.7 ± 0.2 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

1.4 สูตรอาหาร Braid-Parker egg yolk agar (BPA)

Braid Parker agar	63.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นทำให้เย็นลงจนมีอุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส แล้วเติมสารละลายผสมระหว่างสารละลายไข่แดงและสารละลายเทลลูไรต์ (tellurite) โดยวิธีเตรียมสารละลายไข่แดงเป็นดังนี้ ปิเปตไข่แดง ปริมาตร 15 มิลลิลิตร ลงในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ปริมาตร 35 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลายเทลลูไรต์ (tellurite) ความเข้มข้นร้อยละ 1 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงไป ผสมให้เข้ากัน จากนั้นปิเปตสารละลายผสม 30 มิลลิลิตร เติมนลงใน Braid Parker agar ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

1.5 สูตรอาหาร Iron milk medium (modified)

นมสด	1,000	มิลลิลิตร
Ferrous sulfate.7H ₂ O	1.0	กรัม
น้ำกลั่น	50.0	มิลลิลิตร

ละลายเฟอร์รัสซัลเฟตในน้ำกลั่น เติมนมสดลงไปอย่างช้าๆจนครบ 1,000 มิลลิลิตร และผสมให้เข้ากันโดยใช้ magnetic stirrer แบ่งใส่หลอดทดลองขนาด 16 ×150 มิลลิลิตร หลอดละ 11 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 118 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 นาที

1.6 สูตรอาหาร Lactose broth (LB)

เนื้อสกัด	3.0	กรัม
เปปโตน	5.0	กรัม
น้ำตาลแลคโตส	5.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ปรับค่าพีเอชเป็น 6.9 ± 0.2 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2. สารละลายเกลือของกรดอินทรีย์

2.1 การเตรียมสารละลายโซเดียมแลคเตต ความเข้มข้น 459 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ปิเปตสารละลายโซเดียมแลคเตต ความเข้มข้นร้อยละ 60 ปริมาตร 76.5 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นให้มีปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

2.2 การเตรียมสารละลายโซเดียมอะซิเตต ความเข้มข้น 504 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ละลายโซเดียมอะซิเตต (CH_3COONa) 50.4 กรัม ด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับให้มีปริมาตร 100 มิลลิลิตร

2.3 การเตรียมสารละลายโพแทสเซียมซอร์เบต ความเข้มข้น 604 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ละลายโพแทสเซียมซอร์เบต 61.53 กรัม ด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับให้มีปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ภาคผนวก ค

วิธีวิเคราะห์จุลินทรีย์และมาตรฐานผลิตภัณฑ์

1. วิธีการวิเคราะห์จุลินทรีย์ในเนื้อสุกรและแฮม (Bacteriological Analytical Manual online ; BAM online)

1. *Salmonella*

ชั่งเนื้อสุกรและแฮมตัวอย่างละ 25 กรัม ใส่ลงในถุงพลาสติกปลอดเชื้อ จากนั้นเติม lactose broth ปริมาตร 225 มิลลิลิตรลงไป นำไปตีปั่นด้วยเครื่องตีปั่นเป็นเวลา 2 นาที แล้วเทลงในขวดฝาเกลียวปลอดเชื้อ ปิดฝาขวดแล้ววางตั้งทิ้งไว้ 60 นาที คลายเกลียวออก 1/4 รอบ นำไปปั่นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปิดฝาขวดให้สนิทแล้วเขย่าตัวอย่าง จากนั้นปิเปตตัวอย่างปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดอาหาร RV และปิเปตตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตรใส่ลงในหลอด TT นำทั้งสองหลอดไปปั่นที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมแบบหมุนวน แล้วปิเปตตัวอย่างจากหลอด RV และ TT หลอดละ 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนจานอาหาร MSRV 5 จุด และขีดแยกโคโลนีเดี่ยวบนอาหาร XLD นำไปปั่นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เลือกลโคโลนีที่ทำให้เกิดวงขุนบนอาหาร MSRV แล้วใช้เข็มเขี่ยเชื้อด้านนอกสุดของโคโลนีลงในหลอด TSI และ LIM ส่วนบนอาหาร XLD เลือกลโคโลนีที่มีสีชมพู ซึ่งอาจจะมีหรือไม่มีสีดำตรงกลางก็ได้ เขี่ยลงในหลอด TSI และ LIM เช่นเดียวกัน แล้วนำไปปั่นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ถ้าหากโคโลนินั้นเป็น *Salmonella* จะพบว่าบริเวณผิวเอียงของหลอด TSI เป็นสีแดงและกันหลอดเป็นสีเหลือง อาจจะมีหรือไม่มีก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ก็ได้ ส่วนในหลอด LIM พบว่าอาหารขุ่น และเมื่อหยด Kovacs' reagent ลงไปบนผิวหน้า 2-3 หยด พบว่าเป็นวงแหวนสีเหลือง

2. *Staphylococcus aureus*

ชั่งเนื้อสุกรและแฮมตัวอย่างละ 25 กรัม ใส่ลงในถุงพลาสติกปลอดเชื้อ จากนั้นเติมสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 225 มิลลิลิตรลงไป นำไปตีปั่นด้วยเครื่องตีปั่นเป็นเวลา 1 นาที จะได้ตัวอย่างที่มีความเจือจาง 10^{-1} แล้วเจือจางตัวอย่างด้วยสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ให้ถึงระดับความเจือจาง 10^{-2} ปิเปตตัวอย่างที่มีความเจือจาง 10^{-1} และ 10^{-2} ความเจือจางละ 0.1 มิลลิลิตร มาเกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าอาหาร BP (ความเจือจางละ 2 ซ้ำ) นำไปปั่นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ประมาณร้อยละ 5-10 นับจำนวนโคโลนีและเขี่ยโคโลนีที่มีรอยขุนได้โคโลนี และอาจมีโซนใสใต้รอยขุนนั้นลงในหลอดอาหาร TSA และอาหารเหลว BHI ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร นำไปปั่นที่อุณหภูมิ 37 องศา

5. ยีสต์และรา

ชั่งແໜ່ນດ້ວຍຢ່າງລະ 25 ກຣັມ ໄສ່ລຽງໃນຖົງຟລາສຕິກທີ່ປອດເຂື່ອ ຈາກນັ້ນເຕີມສາຣລະລາຍ ເປປໂຕນຄວາມເຂັ້ມຂົ້ນຮ້ອຍລະ 0.1 ປຣິມາຕຣ 225 ມິລລິລິຕຣລຽງໄປ ນຳໄປຕີປັ່ນດ້ວຍເຄື່ອງຕີປັ່ນເປັນເວລາ 1 ນາທີ ຈະໄດ້ດ້ວຍຢ່າງທີ່ມີຄວາມເຈືອຈາງ 10^{-1} ແລ້ວເຈືອຈາງດ້ວຍຢ່າງດ້ວຍສາຣລະລາຍເປປໂຕນຄວາມເຂັ້ມຂົ້ນ ຮ້ອຍລະ 0.1 ເພື່ອໃຫ້ໄດ້ຮັບລະດັບຄວາມເຈືອຈາງ 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} ແລະ 10^{-6} ປີເປຕດ້ວຍຢ່າງປຣິມາຕຣ 0.1 ມິລລິລິຕຣ ເຄື່ອຍໃຫ້ທັງຟົວນ້ຳອາຫານ acidified PDA ນຳໄປປັ່ນທີ່ອຸ້ນຖູມີ 25 ອຶ່ງສາເຊລເຊີຍສ ເປັນເວລາ 5 ວັນ (ຖ້າບໍ່ມີເຂື່ອຈື່ນໃຫ້ປັ່ນຕໍ່ອີກ 2 ວັນ) ແລ້ວນັບຈຳນວນໂຄໂລນີທີ່ເຈຣິຢູບນອາຫານ

6. ແບັກທີເຣີໂຄລິຟອີຣ໌ມ

ຊັ່ງແໜ່ນດ້ວຍຢ່າງລະ 25 ກຣັມ ໄສ່ລຽງໃນຖົງຟລາສຕິກປອດເຂື່ອຈາກນັ້ນເຕີມສາຣລະລາຍ ເປປໂຕນຄວາມເຂັ້ມຂົ້ນຮ້ອຍລະ 0.1 ປຣິມາຕຣ 225 ມິລລິລິຕຣລຽງໄປ ນຳໄປຕີປັ່ນດ້ວຍເຄື່ອງຕີປັ່ນເປັນເວລາ 2 ນາທີ ຈະໄດ້ດ້ວຍຢ່າງທີ່ມີຄວາມເຈືອຈາງ 10^{-1} ທຳການເຈືອຈາງຕໍ່ໄປດ້ວຍສາຣລະລາຍເປປໂຕນຄວາມເຂັ້ມຂົ້ນ ຮ້ອຍລະ 0.1 ຈົນເຣັດລະດັບຄວາມເຈືອຈາງ 10^{-3} ປີເປຕດ້ວຍຢ່າງທີ່ແຕ່ລະລະດັບຄວາມເຈືອຈາງ (10^{-1} , 10^{-2} ແລະ 10^{-3}) ປຣິມາຕຣ 1 ມິລລິລິຕຣ ລຽງໃນຟລອດອາຫານ LST ທີ່ມີຟລອດດັກກ້າຊ ຄວາມເຈືອຈາງລະ 3 ຟລອດ ນຳ ຟລອດອາຫານທັງໝົດໄປປັ່ນທີ່ອຸ້ນຖູມີ 35 ອຶ່ງສາເຊລເຊີຍສ ເປັນເວລາ 24 ± 2 ຊົ່ວໂມງ ນັບຈຳນວນຟລອດ ທີ່ໃຫ້ຜົນລຽບ ແລ້ວນຳຟລອດທີ່ເກີດກ້າຊໄປທຣອບຂັ້ນຍື່ນຍັ້ນຕໍ່ໄປໂດຍໃຊ້ລູບທີ່ປຣາສຈາກເຂື່ອຄ້າຍເຂື່ອ ຈາກຟລອດອາຫານ LST ທຸກຟລອດທີ່ເກີດກ້າຊ 1 ລູບເຕີມ ລຽງໃນຟລອດອາຫານ BGLB ທີ່ມີຟລອດດັກກ້າຊ ຟລອດຕໍ່ຟລອດ ນຳໄປປັ່ນທີ່ອຸ້ນຖູມີ 35 ອຶ່ງສາເຊລເຊີຍສ ເປັນເວລາ 48 ± 2 ຊົ່ວໂມງ ຕຣວຈອບການເກີດ ກ້າຊ ແລະນັບຈຳນວນຟລອດທີ່ເກີດກ້າຊເພື່ອຍື່ນຍັ້ນການເກີດກ້າຊຂອງຟລອດອາຫານ LST ນຳໄປຄຳນວນ ຫາ ຄ່າ MPN ຂອງແບັກທີເຣີໂຄລິຟອີຣ໌ມ ຈາກຕາຣາງ MPN

7. ຈຳນວນຈຸລິນທຣີຍ໌ທັງໝົດ

ຊັ່ງແໜ່ນດ້ວຍຢ່າງລະ 25 ກຣັມ ໄສ່ລຽງໃນຖົງຟລາສຕິກປອດເຂື່ອຈາກນັ້ນເຕີມ ສາຣລະລາຍເປປໂຕນຄວາມເຂັ້ມຂົ້ນຮ້ອຍລະ 0.1 ປຣິມາຕຣ 225 ມິລລິລິຕຣລຽງໄປ ນຳໄປຕີປັ່ນດ້ວຍເຄື່ອງຕີ ປັ່ນເປັນເວລາ 1 ນາທີ ຈະໄດ້ດ້ວຍຢ່າງທີ່ມີຄວາມເຈືອຈາງ 10^{-1} ທຳການເຈືອຈາງຕໍ່ໄປດ້ວຍສາຣລະລາຍ ເປປໂຕນຄວາມເຂັ້ມຂົ້ນຮ້ອຍລະ 0.1 ໃຫ້ມີລະດັບຄວາມເຈືອຈາງເທົ່າກັບ 10^{-6} ແລະ 10^{-7} (ຄວາມເຈືອຈາງລະ 2 ຊ້ຳ) ຈາກນັ້ນຫາຈຳນວນຈຸລິນທຣີຍ໌ທັງໝົດ ໂດຍວິທີ pour plate ລຽງໃນອາຫານ PCA ແລ້ວນຳໄປປັ່ນທີ່ ອຸ້ນຖູມີ 37 ອຶ່ງສາເຊລເຊີຍສ ເປັນເວລາ 48 ຊົ່ວໂມງ ນັບຈຳນວນໂຄໂລນີທີ່ເຈຣິຢູບໃນອາຫານ

2. มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (เนื้อสุกร) มกอช.6000-2547

1 ขอบข่าย

มาตรฐานเนื้อสุกรนี้ เป็นมาตรฐานของเนื้อจากสัตว์ในวงศ์ Suidae โดยเป็นเนื้อสดที่ยังไม่ผ่านกระบวนการแปรรูป ครอบคลุมจากโรงฆ่าสัตว์ถึงการขนส่งสู่ตลาด

2. บทนิยาม

- 2.1 ซากสุกร (pig carcass) หมายถึง ส่วนร่างกายทั้งหมดของสุกรหลังเอาเลือด ขน หัว เครื่องใน มันเปลว และเล็บออกแล้ว
- 2.2 เนื้อสุกร (pork) หมายถึง เนื้อเยื่อจากซากสุกรซึ่งสามารถใช้บริโภคเป็นอาหารได้ โดยมีกล้ามเนื้อลาย (skeletal muscle) จากสุกรเป็นส่วนประกอบที่มีอยู่ในปริมาณสูงสุด อาจผ่านกระบวนการแช่เย็น แต่ยังไม่ได้ถูกกระทำใดๆ อย่างอื่นเพื่อวัตถุประสงค์ในการถนอมอาหาร และต้องเป็นไปตามข้อกำหนดในมาตรฐานนี้
- 2.3 หนังสุกร (skin) หมายถึง ส่วนของหนังที่เลาะออกมาจากซากสุกร และผ่านกระบวนการชุดขนแล้ว
- 2.4 เครื่องใน (offal) หมายถึง อวัยวะภายในที่ผ่านการตรวจสอบแล้วว่าสามารถบริโภคได้
- 2.5 ไขมันสุกร (fat) หมายถึง ส่วนของซากสุกรที่เป็นเนื้อเยื่อไขมัน ที่ได้แยกส่วนของกล้ามเนื้อ และกระดูกออกแล้ว
- 2.6 มันเปลวสุกร (fat leaf) หมายถึง มันของสุกรที่ไม่ได้ติดอยู่กับชั้นผิวหนัง
- 2.7 เลือดสุกร (blood) หมายถึง ของเหลวที่อยู่ในเลือดและหัวใจของสุกร ปกติมีสีแดง
- 2.8 สุกรผ่าซีก (side) หมายถึง ซากสุกรที่ถูกตัดแบ่งครึ่งตามแนวของกระดูกสันหลัง

3. มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (แหนม) มพช. 145/2546

1. ขอบข่าย

- 1.1 มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนี้ครอบคลุมแหนมที่ทำจากเนื้อหมู หนังหมู หูหมูและจุกหมู ไม่ครอบคลุมแหนมกระดุกหมูอ่อน แหนมข้อไก่และอื่นๆ

2. บทนิยาม

ความหมายของคำที่ใช้ในมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนี้ มีดังต่อไปนี้

- 2.1 แหนม หมายถึง ผลิตภัณฑ์ทำจากเนื้อหมูส่วนสะโพกที่แยกไขมันและเอ็นออกแล้ว ผสมกับหนังหมู อาจผสมหูหมูหรือจุกหมูที่ต้มสุกและหั่นเป็นเส้นแล้ว เดิมเกลือ ข้าวสุก กระเทียมบด น้ำตาลทราย ผสมให้เข้ากัน อาจเติมพริกสดด้วยก็ได้ ห่อเป็นมัด หรือบรรจุในภาชนะบรรจุลักษณะอื่นๆ หมักจนมีรสเปรี้ยว

3. คุณลักษณะที่ต้องการ

3.1 ลักษณะทั่วไป

ในภาชนะบรรจุเดียวกัน ต้องมีรูปทรงเดียวกัน และมีขนาดใกล้เคียงกัน มีการกระจายตัวของส่วนประกอบที่ใช้ทำผสมกันอย่างทั่วถึง ลักษณะเนื้อแน่น ไม่มีโพรงอากาศ และมีน้ำที่เกิดจากการหมักได้เล็กน้อย

3.2 สี

ต้องมีสีชมพูตามธรรมชาติของแหนม

3.3 กลิ่นรส

ต้องมีกลิ่นรสที่ดีตามธรรมชาติที่เกิดจากการหมักของส่วนประกอบที่ใช้ มีรสเปรี้ยวพอเหมาะ ปราศจากกลิ่นอื่นที่ไม่พึงประสงค์ เช่น กลิ่นอับ กลิ่นเหม็น

3.4 ลักษณะเนื้อสัมผัส

ต้องเนื้อแน่น ไม่ยุ่ย

เมื่อตรวจสอบโดยวิธีให้คะแนนตามข้อ 8.1 แล้วต้องได้คะแนนเฉลี่ยของแต่ละลักษณะจากผู้ตรวจสอบทุกคนไม่น้อยกว่า 3 คะแนน และไม่มีลักษณะใดได้ 1 คะแนน จากผู้ตรวจสอบคนใดคนหนึ่ง

3.5 สิ่งแปลกปลอม

ต้องไม่พบสิ่งแปลกปลอมที่ไม่ใช่ส่วนประกอบที่ใช้ เช่น เส้นผม ขนสัตว์ ดิน ทราย กรวด ชิ้นส่วนหรือสิ่งปฏิกูลจากสัตว์

ภาคผนวก ง

1. การคำนวณความเข้มข้นของสารละลายเกลือของกรดอินทรีย์ในแต่ละหลุม

สารละลายเกลือของกรดอินทรีย์ความเข้มข้น x มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นั่นคือ

สารละลาย 1,000 ไมโครลิตร มีเนื้อสาร	x	มิลลิกรัม
สารละลาย 100 ไมโครลิตร มีเนื้อสาร	x	มิลลิกรัม
	10	

เติมอาหาร MHB 100 ไมโครลิตร

ดังนั้นในหลุมมีปริมาตรทั้งหมด 200 ไมโครลิตร มีเนื้อสาร	x	มิลลิกรัม
	20	

เติมเชื้ออีก 20 ไมโครลิตร ดังนั้น ในหลุมที่ 1 มีปริมาตรทั้งหมด 120 ไมโครลิตร

ปริมาตร 120 ไมโครลิตร มีเนื้อสาร	=	$\frac{x}{20}$	มิลลิกรัม
----------------------------------	---	----------------	-----------

ถ้าปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร มีเนื้อสาร	=	$\frac{x}{20} \times \frac{1,000}{120}$	มิลลิกรัม
---------------------------------------	---	---	-----------

	=	$\frac{5x}{12}$	มิลลิกรัม
--	---	-----------------	-----------

ดังนั้นในหลุมที่ 1 มีความเข้มข้นของเกลือเท่ากับ	$\frac{5x}{12}$	มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
---	-----------------	-----------------------

ภาคผนวก จ

ผลการทดลอง

ตารางที่ จ.1 คุณภาพทางจุลินทรีย์ของเนื้อสุกร 30 ตัวอย่าง

ตัวอย่าง	ค่า pH	ค่า a _w	จุลินทรีย์ที่วิเคราะห์			
			จุลินทรีย์ทั้งหมด (โคโลนีต่อกรัม)	แบคทีเรียโคลิฟอร์ม (MPN ต่อกรัม)	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Staphylococcus aureus</i> (โคโลนีต่อกรัม)
1	5.86	0.96	2.29×10 ⁹	> 1100	-	3.8 ×10 ⁵
2	5.67	0.98	2.14×10 ⁹	> 1100	+	2.6 ×10 ⁶
3	5.56	0.98	1.9 ×10 ⁸	> 1100	-	-
4	5.88	0.98	3.18×10 ⁸	> 1100	+	-
5	5.72	0.93	2.63 ×10 ⁹	> 1100	+	2.7 ×10 ⁶
6	5.51	0.97	4.65 ×10 ⁶	> 1100	+	2.5 ×10 ⁵
7	5.65	0.97	1.7 ×10 ⁸	> 1100	+	-
8	5.83	0.98	1.1 ×10 ⁸	> 1100	+	-
9	5.50	0.96	2.3×10 ⁹	240	+	-
10	5.54	0.98	2.4×10 ⁹	> 1100	-	4.2 ×10 ²
11	5.72	0.99	1.8×10 ⁹	> 1100	+	-
12	5.68	0.98	3.42×10 ⁷	> 1100	+	-
13	5.80	0.98	5.89×10 ⁸	> 1100	+	-
14	6.01	0.97	8.23×10 ⁶	> 1100	+	2.3 ×10 ⁵
15	5.53	0.97	5.1×10 ⁸	> 1100	+	-
16	5.61	0.98	3.5×10 ⁸	> 1100	+	3.0×10 ²
17	5.77	0.98	6.24×10 ⁸	> 1100	+	2.96 ×10 ⁶
18	5.84	0.98	4.6×10 ⁶	> 1100	+	7.6 ×10 ⁵
19	5.53	0.97	8.35×10 ⁶	> 1100	+	5.2×10 ⁶
20	5.59	0.98	3.8×10 ⁸	> 1100	+	-
21	5.64	0.97	1.56×10 ⁸	> 1100	+	2.0×10 ³
22	5.72	0.98	1.75×10 ⁹	> 1100	+	5.0 ×10 ⁶
23	5.55	0.98	4.67×10 ⁷	> 1100	-	-
24	5.53	0.98	1.22×10 ⁹	> 1100	+	-
25	5.59	0.98	1.0×10 ⁹	> 1100	+	1.57 ×10 ⁵
26	5.51	0.98	1.45×10 ⁹	> 1100	+	-
27	5.52	0.97	2.2×10 ⁹	> 1100	+	-
28	5.57	0.98	1.7×10 ⁹	> 1100	+	-
29	5.65	0.98	6.25×10 ⁶	> 1100	+	-
30	5.50	0.98	5×10 ⁸	> 1100	+	-

หมายเหตุ + พบในตัวอย่าง 25 กรัม

- ไม่พบในตัวอย่าง 25 กรัม

ตารางที่ จ.2 คุณภาพทางจุลินทรีย์ของเหนม

ตัวอย่าง	ค่า pH	ค่า a _w	จุลินทรีย์ที่วิเคราะห์					
			จุลินทรีย์ทั้งหมด (โคโลนีต่อกรัม)	<i>C. perfringens</i> (โคโลนีต่อกรัม)	<i>E. coli</i> (MPN ต่อกรัม)	<i>S. aureus</i> (โคโลนีต่อกรัม)	<i>Salmonella</i> spp.	ยีสต์และรา (โคโลนีต่อ กรัม)
1	4.20	0.93	2.5 × 10 ⁸	-	< 3.0	-	+	1.09×10 ⁴
2	4.13	0.95	2.12 × 10 ⁸	-	< 3.0	-	-	6.6×10 ⁵
3	4.34	0.94	1.31 × 10 ⁸	-	< 3.0	-	-	1.0×10 ³
4	4.22	0.93	1.03 × 10 ⁸	-	< 3.0	-	-	9.1×10 ³
5	5.10	0.95	1.5 × 10 ⁸	-	< 3.0	-	+	2.0×10 ²
6	4.71	0.95	2.85 × 10 ⁸	-	93	5.9 × 10 ³	-	-
7	4.40	0.94	1.0 × 10 ⁸	-	1100	2.5 × 10 ³	+	-
8	4.51	0.93	1.2 × 10 ⁸	-	460	1.6 × 10 ³	-	2.9×10 ⁵
9	4.66	0.93	2.1 × 10 ⁸	-	> 1100	-	-	4.5×10 ⁵
10	4.56	0.93	2.0 × 10 ⁸	-	< 3.0	-	-	7.3×10 ²
11	4.95	0.95	2.5 × 10 ⁸	-	< 3.0	-	+	1.1×10 ³
12	4.56	0.94	1.25 × 10 ⁸	1.0×10 ²	< 3.0	-	-	1.83×10 ³
13	5.48	0.94	2.36 × 10 ⁸	-	> 1100	3.6	+	2.2×10 ³
14	4.63	0.94	1.07 × 10 ⁸	-	290	-	-	1.85×10 ⁴
15	4.71	0.94	1.37 × 10 ⁸	-	23	-	-	1.01×10 ⁴
16	5.24	0.95	2.48 × 10 ⁸	-	7.4	-	-	6.0×10 ³
17	4.82	0.96	1.98 × 10 ⁸	-	< 3.0	-	-	1.45×10 ³
18	4.74	0.95	1.60 × 10 ⁸	1.0×10 ²	9.2	-	+	5.0×10 ²
19	5.28	0.96	1.87 × 10 ⁸	-	9.2	-	+	2.36×10 ⁴
20	4.79	0.96	1.43 × 10 ⁸	-	< 3.0	-	+	3.35×10 ⁴
21	4.51	0.94	2.71 × 10 ⁸	-	460	2.81 × 10 ³	+	1.9×10 ³
22	4.47	0.94	1.88 × 10 ⁸	-	< 3.0	6.03 × 10 ²	-	2.5×10 ³
23	4.35	0.94	2.23 × 10 ⁸	-	21	4.23 × 10 ²	-	6.7×10 ³
24	4.22	0.96	2.09 × 10 ⁸	-	36	-	+	5.5×10 ²
25	4.23	0.98	2.56 × 10 ⁸	-	< 3.0	-	-	1.6×10 ³
26	4.27	0.98	1.32 × 10 ⁸	-	43	4.0 × 10 ²	-	1.0×10 ²
27	4.27	0.98	1.76 × 10 ⁸	-	< 3.0	-	-	1.0×10 ²
28	4.39	0.97	2.03 × 10 ⁸	-	< 3.0	-	+	2.3×10 ³
29	4.29	0.94	2.39 × 10 ⁸	-	20	-	-	6.9×10 ⁵
30	4.83	0.95	2.79 × 10 ⁸	-	> 1100	-	-	-
เฉลี่ย	4.60	0.95						

หมายเหตุ + พบในตัวอย่าง 25 กรัม

- ไม่พบในตัวอย่าง 25 กรัม

ตารางที่ จ.3 จำนวนเซลล์ *S. Rissen* ที่รอดชีวิตในเนื้อสุกรที่เติมเกลือของกรดอินทรีย์ แล้วนำไปแช่แข็งและทำให้ละลาย ครั้งที่ 1

ระยะเวลา ในการ แช่แข็ง (ชั่วโมง)	โซเดียมแลคเตต		โซเดียมอะซิเตต		โพแทสเซียมซอร์เบต		ไม่มีการเติมเกลือ	
	log	% survival	log	% survival	log	% survival	log	% survival
	CFU/ml		CFU/ml		CFU/ml		CFU/ml	
0	6.4935	100	6.2565	100	6.6946	100	6.2553	100
12	6.0755	93.56	5.8976	94.26	5.7404	85.75	6.0414	96.58
24	5.3160	81.87	5.4094	86.46	5.1818	77.40	5.8921	94.19
48	5.3579	82.51	5.4698	87.42	5.0969	76.13	5.2553	84.01
72	5.2014	80.10	5.3531	85.56	5.0969	76.13	5.2041	83.20

ตารางที่ จ.4 จำนวนเซลล์ *S. Rissen* ที่รอดชีวิตในเนื้อสุกรที่เติมเกลือของกรดอินทรีย์ แล้วนำไปแช่แข็งและทำให้ละลาย ครั้งที่ 2

ระยะเวลา ในการ แช่แข็ง (ชั่วโมง)	โซเดียมแลคเตต		โซเดียมอะซิเตต		โพแทสเซียมซอร์เบต		ไม่มีการเติมเกลือ	
	log	% survival	log	% survival	log	% survival	log	% survival
	CFU/ml		CFU/ml		CFU/ml		CFU/ml	
0	6.4945	100	6.3135	100	6.4106	100	6.6232	100
12	6.2878	96.82	5.9542	94.31	6.0128	93.79	6.1875	93.42
24	5.5966	86.17	5.5119	87.30	5.6946	88.83	5.5441	83.71
48	6.0043	92.45	5.4983	87.09	5.3160	82.92	5.3222	80.36
72	5.6385	86.82	5.4843	86.87	5.2122	81.30	5.2788	79.70

ตารางที่ จ.5 จำนวนเซลล์ *S. Rissen* ที่รอดชีวิตในเนื้อสุกรที่เติมเกลือของกรดอินทรีย์ แล้วนำไปแช่แข็งและทำให้ละลาย ครั้งที่ 3

ระยะเวลา ในการ แช่แข็ง (ชั่วโมง)	โซเดียมแลคเตต		โซเดียมอะซิเตต		โพแทสเซียมซอร์เบต		ไม่มีการเติมเกลือ	
	log	% survival	log	% survival	log	% survival	Log	% survival
	CFU/ml		CFU/ml		CFU/ml		CFU/ml	
0	6.2148	100	6.0000	100	6.1523	100	6.2095	100
12	6.1399	98.79	5.9469	99.12	5.5502	90.21	6.0170	96.90
24	5.4548	87.77	5.3579	89.30	5.4183	88.07	5.3979	86.93
48	5.0644	81.49	5.4771	91.29	5.2553	85.42	5.2601	84.71
72	5.1139	82.28	5.2833	88.06	5.1875	84.32	5.2148	83.98

ตารางที่ จ.6 จำนวนเซลล์ *S. Rissen* ที่บาดเจ็บในเนื้อสุกรที่เติมเกลือของกรดอินทรีย์ แล้วนำไปแช่แข็งและทำให้ละลาย ครั้งที่ 1

ระยะเวลา ในการ แช่แข็ง (ชั่วโมง)	โซเดียมแลคเตต		โซเดียมอะซิเตต		โพแทสเซียมซอร์เบต		ไม่มีการเติมเกลือ	
	เซลล์แข็งแรง (log CFU/ml)	% injured cell	เซลล์แข็งแรง (log CFU/ml)	% injured cell	เซลล์แข็งแรง (log CFU/ml)	% injured cell	เซลล์แข็งแรง (log CFU/ml)	% injured cell
0	5.8129	10.48	5.3560	14.39	5.3838	19.58	5.5563	11.17
12	5.0000	17.70	4.8976	16.96	4.6020	19.83	5.3692	11.13
24	4.6955	11.67	4.7202	12.74	4.3010	17.00	4.6232	21.54
48	4.6580	13.06	4.4091	19.39	4.3384	14.88	4.4771	14.81
72	4.5051	13.39	4.4504	16.86	4.3617	14.42	4.5682	12.22

ตารางที่ จ.7 จำนวนเซลล์ *S. Rissen* ที่บาดเจ็บในเนื้อสุกรที่เติมเกลือของกรดอินทรีย์ แล้วนำไปแช่แข็งและทำให้ละลาย ครั้งที่ 2

ระยะเวลา ในการ แช่แข็ง (ชั่วโมง)	โซเดียมแลคเตต		โซเดียมอะซิเตต		โพแทสเซียมซอร์เบต		ไม่มีการเติมเกลือ	
	เซลล์แข็งแรง (log CFU/ml)	% injured cell	เซลล์แข็งแรง (log CFU/ml)	% injured cell	เซลล์แข็งแรง (log CFU/ml)	% injured cell	เซลล์แข็งแรง (log CFU/ml)	% injured cell
0	5.6522	12.97	5.0253	20.40	5.2765	17.69	5.2672	20.47
12	4.8096	23.51	4.8603	18.37	5.0492	16.02	5.0969	17.62
24	4.4698	20.13	4.5292	17.83	4.6128	19.00	4.6180	16.70
48	4.4623	25.68	4.5911	16.50	4.4137	16.97	4.4150	17.04
72	4.4532	21.02	4.2558	22.40	4.1523	20.33	4.2148	20.16

ตารางที่ จ.8 จำนวนเซลล์ *S. Rissen* ที่บาดเจ็บในเนื้อสุกรที่เติมเกลือของกรดอินทรีย์ แล้วนำไปแช่แข็งและทำให้ละลาย ครั้งที่ 3

ระยะเวลา ในการ แช่แข็ง (ชั่วโมง)	โซเดียมแลคเตต		โซเดียมอะซิเตต		โพแทสเซียมซอร์เบต		ไม่มีการเติมเกลือ	
	เซลล์แข็งแรง (log CFU/ml)	% injured cell	เซลล์แข็งแรง (log CFU/ml)	% injured cell	เซลล์แข็งแรง (log CFU/ml)	% injured cell	เซลล์แข็งแรง (log CFU/ml)	% injured cell
0	5.4082	12.98	4.7634	20.61	4.6990	23.62	4.9614	20.10
12	4.8663	20.74	4.4771	24.72	4.3979	20.76	4.4843	25.47
24	4.3579	20.11	4.5441	15.19	4.2988	20.66	4.1324	23.44
48	3.9494	22.02	4.2041	23.24	4.0607	22.73	4.2405	19.38
72	3.8538	24.64	3.9494	25.25	3.9652	23.56	3.7924	27.28

ตารางที่ จ.9 จำนวนเซลล์ *S. Rissen* ที่ตายในเนื้อสุกรที่เติมเกลือของกรดอินทรีย์ แล้วนำไปแช่แข็ง และทำให้ละลาย ครั้งที่ 1

ระยะเวลาในการแช่แข็ง (ชั่วโมง)	โซเดียมแลคเตต (% dead cell)	โซเดียมอะซิเตต (% dead cell)	โพแทสเซียมซอร์เบต (% dead cell)	ไม่มีการเติมเกลือ (% dead cell)
0	0	0	0	0
12	6.44	5.74	14.25	3.42
24	18.13	13.54	22.60	5.81
48	17.49	12.57	23.86	15.99
72	19.90	14.44	23.86	16.80

ตารางที่ จ.10 จำนวนเซลล์ *S. Rissen* ที่ตายในเนื้อสุกรที่เติมเกลือของกรดอินทรีย์ แล้วนำไปแช่แข็ง และทำให้ละลาย ครั้งที่ 2

ระยะเวลาในการแช่แข็ง (ชั่วโมง)	โซเดียมแลคเตต (% dead cell)	โซเดียมอะซิเตต (% dead cell)	โพแทสเซียมซอร์เบต (% dead cell)	ไม่มีการเติมเกลือ (% dead cell)
0	0	0	0	0
12	3.18	5.69	6.20	6.58
24	13.82	12.70	11.17	16.29
48	17.49	12.91	17.07	19.64
72	13.18	13.13	18.69	20.30

ตารางที่ จ.11 จำนวนเซลล์ *S. Rissen* ที่ตายในเนื้อสุกรที่เติมเกลือของกรดอินทรีย์ แล้วนำไปแช่แข็ง และทำให้ละลาย ครั้งที่ 3

ระยะเวลาในการแช่แข็ง (ชั่วโมง)	โซเดียมแลคเตต (% dead cell)	โซเดียมอะซิเตต (% dead cell)	โพแทสเซียมซอร์เบต (% dead cell)	ไม่มีการเติมเกลือ (% dead cell)
0	0	0	0	0
12	1.20	0.89	9.79	3.10
24	12.23	10.70	11.93	13.07
48	18.51	8.72	14.58	15.29
72	17.71	11.94	15.68	16.02

ตารางที่ จ.12 จำนวนเซลล์ *S. aureus* ที่รอดชีวิตในเนื้อสุกรที่เติมเกลือของกรดอินทรีย์ แล้วนำไป
แช่แข็งและทำให้ละลาย ครั้งที่ 1

ระยะเวลา ในการ แช่แข็ง (ชั่วโมง)	โซเดียมแลคเตต		โซเดียมอะซิเตต		โพแทสเซียมซอร์เบต		ไม่มีการเติมเกลือ	
	log	% survival	log	% survival	log	% survival	log	% survival
	CFU/ml		CFU/ml		CFU/ml		CFU/ml	
0	6.4843	100	6.1599	100	6.0414	100	6.5051	100
12	5.9614	91.94	5.9085	95.92	5.9638	98.72	5.9845	92.00
24	5.5450	85.51	5.7404	93.19	5.6990	94.33	5.9164	90.95
48	5.3054	81.82	5.5911	90.77	5.5855	92.45	5.7593	88.54
72	5.2553	81.05	5.3979	87.63	5.3979	89.35	5.4983	84.52

ตารางที่ จ.13 จำนวนเซลล์ *S. aureus* ที่รอดชีวิตในเนื้อสุกรที่เติมเกลือของกรดอินทรีย์ แล้วนำไป
แช่แข็งและทำให้ละลาย ครั้งที่ 2

ระยะเวลา ในการ แช่แข็ง (ชั่วโมง)	โซเดียมแลคเตต		โซเดียมอะซิเตต		โพแทสเซียมซอร์เบต		ไม่มีการเติมเกลือ	
	log	% survival	log	% survival	log	% survival	log	% survival
	CFU/ml		CFU/ml		CFU/ml		CFU/ml	
0	6.3160	100	6.0492	100	6.2148	100	6.1818	100
12	5.9566	94.31	5.9004	97.54	5.9731	96.11	5.9890	96.88
24	5.7597	92.26	5.8921	97.40	5.8388	93.95	5.9445	96.16
48	5.5911	88.52	5.7404	94.90	5.6767	91.34	5.7160	92.46
72	5.3655	84.95	5.2405	86.63	5.5911	89.96	5.4548	88.24

ตารางที่ จ.14 จำนวนเซลล์ *S. aureus* ที่รอดชีวิตในเนื้อสุกรที่เติมเกลือของกรดอินทรีย์ แล้วนำไป
แช่แข็งและทำให้ละลาย ครั้งที่ 3

ระยะเวลา ในการ แช่แข็ง (ชั่วโมง)	โซเดียมแลคเตต		โซเดียมอะซิเตต		โพแทสเซียมซอร์เบต		ไม่มีการเติมเกลือ	
	log	% survival	log	% survival	log	% survival	log	% survival
	CFU/ml		CFU/ml		CFU/ml		CFU/ml	
0	6.2430	100	6.2923	100	6.0531	100	6.1139	100
12	5.8633	93.92	5.9518	94.59	5.8779	97.10	5.8949	96.42
24	5.7708	92.44	5.9370	94.35	5.6201	92.85	5.9004	96.51
48	5.4482	87.27	5.7993	92.16	5.6628	93.55	5.7033	93.28
72	5.2148	83.53	5.2304	83.12	5.6532	93.39	5.4183	88.62

ตารางที่ จ.15 จำนวนเซลล์ *S. aureus* ที่บาดเจ็บในเนื้อสุกรที่เติมเกลือของกรดอินทรีย์แล้วนำไปแช่แข็งและทำให้ละลาย ครั้งที่ 1

ระยะเวลา ในการ แช่แข็ง (ชั่วโมง)	โซเดียมแลคเตต		โซเดียมอะซิเตต		โพแทสเซียมซอร์เบต		ไม่มีการเติมเกลือ	
	เซลล์แข็งแรง (log CFU/ml)	% injured cell	เซลล์แข็งแรง (log CFU/ml)	% injured cell	เซลล์แข็งแรง (log CFU/ml)	% injured cell	เซลล์แข็งแรง (log CFU/ml)	% injured cell
0	5.3424	17.61	5.7669	6.38	5.5490	8.15	5.9314	8.82
12	5.4499	8.58	5.4742	7.35	5.4784	8.14	5.5943	6.52
24	5.2716	4.93	5.2502	8.54	5.1986	8.78	5.3798	9.07
48	5.2831	0.42	5.2881	5.42	5.3202	4.75	5.5623	3.42
72	5.0524	3.86	5.2970	1.87	5.1788	4.06	5.3850	2.06

ตารางที่ จ.16 จำนวนเซลล์ *S. aureus* ที่บาดเจ็บในเนื้อสุกรที่เติมเกลือของกรดอินทรีย์ แล้วนำไปแช่แข็งและทำให้ละลาย ครั้งที่ 2

ระยะเวลา ในการ แช่แข็ง (ชั่วโมง)	โซเดียมแลคเตต		โซเดียมอะซิเตต		โพแทสเซียมซอร์เบต		ไม่มีการเติมเกลือ	
	เซลล์แข็งแรง (log CFU/ml)	% injured cell	เซลล์แข็งแรง (log CFU/ml)	% injured cell	เซลล์แข็งแรง (log CFU/ml)	% injured cell	เซลล์แข็งแรง (log CFU/ml)	% injured cell
0	5.2429	16.99	5.5054	8.99	5.4473	12.35	5.1804	16.20
12	5.4533	8.45	5.4986	6.81	5.1584	13.64	5.4482	9.03
24	5.2482	8.88	5.2428	11.02	5.2468	10.14	5.7905	2.59
48	5.4474	2.57	5.3977	5.97	5.1522	9.24	5.5205	3.42
72	5.2389	2.36	5.1425	1.87	5.3658	4.03	5.3424	2.06

ตารางที่ จ.17 จำนวนเซลล์ *S. aureus* ที่บาดเจ็บในเนื้อสุกรที่เติมเกลือของกรดอินทรีย์ แล้วนำไปแช่แข็งและทำให้ละลาย ครั้งที่ 3

ระยะเวลา ในการ แช่แข็ง (ชั่วโมง)	โซเดียมแลคเตต		โซเดียมอะซิเตต		โพแทสเซียมซอร์เบต		ไม่มีการเติมเกลือ	
	เซลล์แข็งแรง (log CFU/ml)	% injured cell	เซลล์แข็งแรง (log CFU/ml)	% injured cell	เซลล์แข็งแรง (log CFU/ml)	% injured cell	เซลล์แข็งแรง (log CFU/ml)	% injured cell
0	5.1617	17.32	5.2673	16.29	5.4151	10.54	5.3631	12.28
12	5.5619	5.14	5.5626	6.54	5.4470	7.33	5.5477	5.89
24	5.4615	5.36	5.4502	8.20	5.0884	9.46	5.6455	4.32
48	5.1208	6.01	5.0089	13.63	5.2664	7.00	5.5082	3.42
72	5.1705	0.85	5.1326	1.87	5.0494	10.68	5.3067	2.06

ตารางที่ จ.18 จำนวนเซลล์ *S. aureus* ที่ตายในเนื้อสุกรที่เติมเกลือของกรดอินทรีย์ แล้วนำไปแช่แข็ง และทำให้ละลาย ครั้งที่ 1

ระยะเวลาในการแช่แข็ง (ชั่วโมง)	โซเดียมแลคเตต (% dead cell)	โซเดียมอะซิเตต (% dead cell)	โพแทสเซียมซอร์เบต (% dead cell)	ไม่มีการเติมเกลือ (% dead cell)
0	0	0	0	0
12	8.06	4.08	1.28	8.00
24	14.48	6.81	5.67	9.05
48	18.18	9.23	7.55	11.46
72	18.95	12.37	10.65	15.48

ตารางที่ จ.19 จำนวนเซลล์ *S. aureus* ที่ตายในเนื้อสุกรที่เติมเกลือของกรดอินทรีย์ แล้วนำไปแช่แข็ง และทำให้ละลาย ครั้งที่ 2

ระยะเวลาในการแช่แข็ง (ชั่วโมง)	โซเดียมแลคเตต (% dead cell)	โซเดียมอะซิเตต (% dead cell)	โพแทสเซียมซอร์เบต (% dead cell)	ไม่มีการเติมเกลือ (% dead cell)
0	0	0	0	0
12	5.69	2.46	3.89	3.12
24	8.81	2.60	6.05	3.84
48	11.48	5.10	8.66	7.54
72	15.05	13.37	10.04	11.76

ตารางที่ จ.20 จำนวนเซลล์ *S. aureus* ที่ตายในเนื้อสุกรที่เติมเกลือของกรดอินทรีย์ แล้วนำไปแช่แข็ง และทำให้ละลาย ครั้งที่ 3

ระยะเวลาในการแช่แข็ง (ชั่วโมง)	โซเดียมแลคเตต (% dead cell)	โซเดียมอะซิเตต (% dead cell)	โพแทสเซียมซอร์เบต (% dead cell)	ไม่มีการเติมเกลือ (% dead cell)
0	0	0	0	0
12	6.08	5.41	2.89	3.58
24	7.56	5.65	7.15	3.49
48	12.73	7.83	6.45	6.72
72	16.47	16.88	6.61	11.38

ภาคผนวก จ

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ตารางที่ น.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลการศึกษาการยับยั้งการเจริญของ *S. Rissen* ในเนื้อสุกรที่เติมเกลือของกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ และผ่านการแช่แข็งเป็นเวลา 12 ชั่วโมง

ANOVA

survival

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	83.422	3	27.807	3.206	.083
Within Groups	69.389	8	8.674		
Total	152.812	11			

survival

Duncan

salt	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
ps	3	89.9167	
control	3		95.6333
sa	3		95.8967
sl	3		96.3900
Sig.		1.000	.770

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

การตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Multiple range test : DMRT ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

เกลือของกรดอินทรีย์ที่เติม

จำนวนเซลล์รอดชีวิตเฉลี่ย (ร้อยละ)

โซเดียมแลคเตต	96.39 a
โซเดียมอะซิเตต	95.90 a
โพแทสเซียมซอร์เบต	89.92 b
ชุดควบคุม (ไม่มีการเติมเกลือ)	95.63 a

ตารางที่ น.2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลการศึกษาการยับยั้งการเจริญของ *S. Rissen* ในเนื้อสุกรที่เติมเกลือของกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ และผ่านการแช่แข็งเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ANOVA

survival

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	27.246	3	9.082	.448	.726
Within Groups	162.203	8	20.275		
Total	189.449	11			

survival

Duncan

		Subset for alpha = .05
salts	N	1
3.00	3	84.7667
1.00	3	85.2700
2.00	3	87.6867
4.00	3	88.2767
Sig.		.394

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

การตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Multiple range test : DMRT ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

เกลือของกรดอินทรีย์ที่เติม

จำนวนเซลล์รอดชีวิตเฉลี่ย (ร้อยละ)

โซเดียมแลคเตต	85.27 a
โซเดียมอะซิเตต	87.69 a
โพแทสเซียมซอร์เบต	84.77 a
ชุดควบคุม (ไม่มีการเติมเกลือ)	88.23 a

ตารางที่ ๓.3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลการศึกษาการยับยั้งการเจริญของ *S. Rissen* ในเนื้อสุกรที่เติมเกลือของกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ และผ่านการแช่แข็งเป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ANOVA

survival

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	86.753	3	28.918	1.637	.257
Within Groups	141.362	8	17.670		
Total	228.115	11			

survival

Duncan

		Subset for alpha = .05
salt	N	1
ps	3	81.4900
control	3	83.0267
sl	3	85.4833
sa	3	88.6000
Sig.		.088

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

การตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Multiple range test : DMRT ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

เกลือของกรดอินทรีย์ที่เติม

จำนวนเซลล์รอดชีวิตเฉลี่ย (ร้อยละ)

โซเดียมแลคเตต	85.48 a
โซเดียมอะซิเตต	88.60 a
โพแทสเซียมซอร์เบต	81.49 a
ชุดควบคุม (ไม่มีการเติมเกลือ)	83.03 a

ตารางที่ ๓.4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลการศึกษาการยับยั้งการเจริญของ *S. Rissen* ในเนื้อ
สุกรที่เติมเกลือของกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ และผ่านการแช่แข็งเป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ANOVA

survival

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	62.590	3	20.863	2.340	.150
Within Groups	71.336	8	8.917		
Total	133.926	11			

survival

Duncan

salt	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
ps	3	80.5833	
control	3	82.2933	82.2933
sl	3	83.0667	83.0667
sa	3		86.8300
Sig.		.357	.112

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

การตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Multiple range test : DMRT ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

เกลือของกรดอินทรีย์ที่เติม

จำนวนเซลล์รอดชีวิตเฉลี่ย (ร้อยละ)

โซเดียมแลคเตต	83.07 ab
โซเดียมอะซิเตต	86.83 a
โพแทสเซียมซอร์เบต	80.58 b
ชุดควบคุม (ไม่มีการเติมเกลือ)	82.29 ab

ตารางที่ จ.5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลการศึกษาการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ในเนื้อสุกรที่เติมเกลือของกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ และผ่านการแช่แข็งเป็นเวลา 12 ชั่วโมง

ANOVA

survival

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	24.440	3	8.147	2.547	.129
Within Groups	25.588	8	3.199		
Total	50.028	11			

survival

Duncan

salt	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
sl	3	93.3900	
control	3	95.1000	95.1000
sa	3	96.0167	96.0167
ps	3		97.3100
Sig.		.123	.185

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

การตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Multiple range test : DMRT ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

เกลือของกรดอินทรีย์ที่เติม

จำนวนเซลล์รอดชีวิตเฉลี่ย (ร้อยละ)

โซเดียมแลคเตต	93.39 b
โซเดียมอะซิเตต	96.02 ab
โพแทสเซียมซอร์เบต	97.31a
ชุดควบคุม (ไม่มีการเติมเกลือ)	95.10 ab

ตารางที่ ๖.6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลการศึกษการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ในเนื้อสุกรที่เติมเกลือของกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ และผ่านการแช่แข็งเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ANOVA

survival

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	44.876	3	14.959	1.954	.200
Within Groups	61.239	8	7.655		
Total	106.115	11			

survival

Duncan

		Subset for alpha = .05
salt	N	1
sl	3	90.0700
ps	3	93.7100
control	3	94.5400
sa	3	94.9800
Sig.		.076

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

การตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Multiple range test : DMRT ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

เกลือของกรดอินทรีย์ที่เติม

จำนวนเซลล์รอดชีวิตเฉลี่ย (ร้อยละ)

โซเดียมแลกเตต	90.07 a
โซเดียมอะซิเตต	94.98 a
โพแทสเซียมซอร์เบต	93.71 a
ชุดควบคุม (ไม่มีการเติมเกลือ)	94.54 a

ตารางที่ ๗.7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลการศึกษการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ในเนื้อสุกรที่เติมเกลือของกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ และผ่านการแช่แข็งเป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ANOVA

survival

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	91.518	3	30.506	4.931	.032
Within Groups	49.495	8	6.187		
Total	141.013	11			

survival

Duncan

salt	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
sl	3	85.8700	
control	3		91.4267
ps	3		92.4467
sa	3		92.6100
Sig.		1.000	.591

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

การตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Multiple range test : DMRT ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

เกลือของกรดอินทรีย์ที่เติม

จำนวนเซลล์รอดชีวิตเฉลี่ย (ร้อยละ)

โซเดียมแลคเตต	85.87 b
โซเดียมอะซิเตต	92.61 a
โพแทสเซียมซอร์เบต	92.45 a
ชุดควบคุม (ไม่มีการเติมเกลือ)	91.43 a

ตารางที่ ๘.๘ การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลการศึกษการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ในเนื้อสุกรที่เติมเกลือของกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ และผ่านการแช่แข็งเป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ANOVA

survival

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	93.145	3	31.048	6.408	.016
Within Groups	38.763	8	4.845		
Total	131.908	11			

survival

Duncan

salt	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
sl	3	83.1767	
sa	3	85.7933	
control	3	87.1267	87.1267
ps	3		90.9000
Sig.		.068	.069

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

การตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Multiple range test : DMRT ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

เกลือของกรดอินทรีย์ที่เติม

จำนวนเซลล์รอดชีวิตเฉลี่ย (ร้อยละ)

โซเดียมแลคเตต	83.18 b
โซเดียมอะซิเตต	85.79 b
โพแทสเซียมซอร์เบต	90.90 a
ชุดควบคุม (ไม่มีการเติมเกลือ)	87.13 ab

ประวัติผู้เขียน

นางสาวกัญญารัตน์ จูปรารักษ์ เกิดวันที่ 25 เดือนมีนาคม พ.ศ. 2524 ที่จังหวัดพระนครศรีอยุธยา สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาจากโรงเรียนจอมสุรางค์อุปถัมภ์ ปีการศึกษา 2542 เข้าศึกษาต่อในระดับวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา สำเร็จ

การศึกษาในปีการศึกษา 2545 และเข้าศึกษาต่อในระดับวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยี
ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ปีการศึกษา
2546 ถึงปีการศึกษา 2549