



รายงานฉบับสมบูรณ์

โครงการประสิทธิภาพของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric
สาร monolaurin และกรด lactic ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโต
ของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในเนื้อสุกร

โดย นางผุสดี ตังวณิชรินทร์

มิถุนายน 2554

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการประสิทธิภาพของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร
monolaurin และกรด lactic ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ
Staphylococcus aureus ในเนื้อสุกร

ผู้วิจัย

นางผุสดี ตั้งวัชรินทร์

สังกัด

คณะเทคโนโลยีและการพัฒนาชุมชน
มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง

สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกอ. และสกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

ชื่อโครงการวิจัย:ประสิทธิภาพของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin และกรด lactic ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในเนื้อสุกร

ผู้วิจัย: นางผุสดี ตั้งวัชรินทร์

คำสำคัญ: น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรดลอริก สารโมโนลอรีน กรดแลกติก เชื้อ *Staphylococcus aureus* เนื้อสุกร

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์ของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่แยกได้จากซากสุกร ด้วยการวิเคราะห์หาค่า Fractional bactericidal concentration index (FBCI) และระยะเวลาที่ใช้ในการทำลายแบคทีเรียร่วมกับ Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) และ Scanning and Transmission Electron Microscopy จากการศึกษาพบว่า ความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถทำลายเชื้อ *S. aureus* (Minimum bactericidal concentrations, MBC) ของกรด lauric สาร monolaurin และกรด lactic มีค่าเท่ากับ 3.2 mg/ml 0.1 mg/ml และ 0.4% (v/v) ตามลำดับ การใช้กรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic มีฤทธิ์เสริมกัน โดยมีค่า FBCI เท่ากับ 0.25 และ 0.63 ตามลำดับ และการใช้สารร่วมกันที่ความเข้มข้นต่ำที่สุดสามารถออกฤทธิ์ในการทำลายแบคทีเรีย โดยการเหนี่ยวนำเซลล์แบคทีเรียจากสภาวะปกติเข้าสู่สภาวะเครียดขึ้นอยู่กับนชนิดและระดับความเข้มข้นของสาร และยังส่งผลให้ไซโทพลาสซึมและเมมเบรนของแบคทีเรียเกิดการสูญเสียและเปลี่ยนแปลงไป ในขณะที่น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ความเข้มข้น 10% ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้

สำหรับการศึกษาผลของสารดังกล่าวในเนื้อสุกรสด โดยแบ่งเนื้อสันนอกสุกรสดออกเป็น 3 กลุ่ม ซึ่ง 2 กลุ่ม ทำการศึกษาผลของสารต่อจุลินทรีย์ทั้งหมดในเนื้อสุกร และทดสอบทางประสาทสัมผัส และอีกหนึ่งกลุ่มทำการศึกษาผลของสารต่อเชื้อ *S. aureus* โดยการเติมเชื้อ *S. aureus* เพื่อให้ตัวอย่างมีปริมาณเชื้อเริ่มต้น 5 log cfu/g จากนั้นนำตัวอย่างเนื้อสุกรแต่ละกลุ่มมาแบ่งเป็น 8 treatments ได้แก่ 1) ตัวอย่างที่ไม่จุ่มสารละลายใดๆ 2) ตัวอย่างจุ่มน้ำ (กลุ่มควบคุม) 3) จุ่มสารละลายน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ความเข้มข้น 10% (v/v) 4) จุ่มสารละลายกรด lactic ความเข้มข้น 0.4% (v/v) 5) จุ่มสารละลายกรด lauric ความเข้มข้น 3.2 mg/ml acid 6) จุ่มสารละลายกรด lauric ร่วมกับกรด lactic (0.2 mg/ml + 0.1% (v/v)) 7) จุ่มสารละลาย monolaurin ความเข้มข้น 0.1 mg/ml และ 8) จุ่มสารละลาย monolaurin ร่วมกับกรด lactic (0.05 mg/ml + 0.1% (v/v)) จากผลการทดลองพบว่าการใช้กรด lauric และสาร monolaurin เพียงชนิดเดียวมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียในเนื้อสุกรมากกว่าการใช้สารร่วมกับกรด lactic แต่อย่างไรก็ตามการใช้สารละลายไขมัน

ทั้งสามชนิดเพียงอย่างเดียวมีผลต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านสี กลิ่น และลักษณะปรากฏโดยรวมของเนื้อมูกร ในขณะที่เนื้อมูกรที่สัมผัสสารร่วมกันมีคุณภาพทางประสาทสัมผัสเป็นที่ยอมรับ

สำหรับการศึกษาการเก็บรักษาเนื้อมูกรสด ภายหลังการเตรียมเนื้อมูกร นำเนื้อมูกรนอกมูกร ไม่จุ่มและจุ่มน้ำ (กลุ่มควบคุม) กรด lauric ร่วมกับกรด lactic (0.2 mg/ml + 0.1% (v/v)) และ สาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic (0.05 mg/ml + 0.1% (v/v)) เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำเนื้อมูกรบรรจุแบบสุญญากาศในถุงพลาสติกชนิด PE จากนั้นทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 1 2 4 และ 8 วัน จากผลการทดลองพบว่า การใช้สารละลายไขมันทั้งสองชนิด ร่วมกับกรด lactic มีประสิทธิภาพในการควบคุมการเจริญของเชื้อ *S. aureus* และจุลินทรีย์ทั้งหมดมากที่สุดทั้งที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 4 และ 15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน ($P \leq 0.05$) แต่ค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายเหล่านี้มีผลทำให้เนื้อมูกรมีการสูญเสียน้ำหนักมากขึ้นลดลง โดยมีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาและภายหลังทำให้เนื้อมูกรอยู่ในช่วง 4.25-5.02% และ 22.88-23.78% ตามลำดับ และเนื้อสัมผัสดีขึ้น ในขณะที่การไม่จุ่มและจุ่มน้ำสามารถควบคุมการเจริญของเชื้อ *S. aureus* และจุลินทรีย์ทั้งหมดในเนื้อมูกรที่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ได้เพียง 2 และ 1 วัน ตามลำดับ และที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ไม่สามารถควบคุมแบคทีเรียได้ และยิ่งไปกว่านั้นยังพบการสูญเสียน้ำหนักของเนื้อมูกรกลุ่มควบคุม โดยมีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาและภายหลังทำให้เนื้อมูกรอยู่ในช่วง 3.77-4.99% และ 22.03-24.44% ตามลำดับ สำหรับการเก็บรักษาทั้งที่อุณหภูมิ 4 และ 15 องศาเซลเซียส เนื้อมูกรทุกกลุ่มมีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาและภายหลังทำให้เนื้อมูกร ค่า L^* ค่า PV และค่า TBARs มีค่าเพิ่มขึ้น แต่มีค่า shear force ค่า a^* ค่า C^* และคะแนนทดสอบทางประสาทสัมผัสลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่นานขึ้น ($P \leq 0.05$) ดังนั้นจากผลศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการใช้กรดลอริก หรือสารโมโนลอริกร่วมกับกรดแลกติกสามารถยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อมูกรสดได้ทั้งที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 4 และ 15 องศาเซลเซียส

Research title: Efficacy of virgin coconut oil, lauric acid, monolaurin and lactic acid for inhibition of *Staphylococcus aureus* in pork

Researcher: Pussadee Tangwatcharin

Key words: virgin coconut oil, lauric acid, monolaurin, lactic acid, *Staphylococcus aureus*, pork

Abstract

The objective of this study was to investigate the in vitro antimicrobial activities of virgin coconut oil, lauric acid and monolaurin in combination with lactic acid against *Staphylococcus aureus*, isolated from a pig carcass, by determination of Fractional Bactericidal Concentration Index (FBCI), time-kill method, as well as Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE), scanning and transmission electron microscopy. Minimum bactericidal concentrations (MBC) of lauric acid, monolaurin and lactic acid were 3.2 mg/ml, 0.1 mg/ml and 0.4% (v/v), respectively. The effects of lauric acid + lactic acid and monolaurin + lactic acid combinations were synergistic against both strains, exhibiting FBCIs of 0.25 and 0.63, respectively. In time-kill studies, lauric acid and monolaurin + lactic acid combinations added at their minimum inhibitory concentrations produced a bactericidal effect. The induction of stress in non-stressed cells was dependent on the type and concentration of antimicrobial. This resulted in a loss and change of the cytoplasm and membrane in cells of the bacterium. In contrast, virgin coconut oil (10%) was not active against *S. aureus*.

Fresh pork loins were divided into 3 groups. Two groups were used to determine the effects of antimicrobials on total plate count (TPC) and sensory evaluation, for which the pieces were not inoculated with the bacterial suspension. The another group was used to determine the effect of antimicrobials on *S. aureus*, for which the pieces were inoculated with approximately 5 log cfu/g of initial number of *S. aureus* and then, divided into 8 treatments; 1) non-dipped and 2) dipped in water (control) and each solution of 3) 10% (v/v) virgin coconut oil, 4) 0.4% (v/v) lactic acid, 5) 3.2 mg/ml lauric acid, 6) 0.2 mg/ml lauric acid + 0.1% (v/v) lactic acid, 7) 0.1 mg/ml monolaurin and 8) 0.05 mg/ml monolaurin + 0.1% (v/v) lactic acid. The bacterial counts found in pork loin treated with lauric acid and monolaurin alone were significantly higher ($P \leq 0.05$) than those treated with both lipids in combination with lactic acid at sub-inhibitory concentrations. The color, odor and overall acceptability of the pork loins were adversely affected by treatment with the three lipids and

lactic acid alone but when combinations of the agents were used the sensory quality was acceptable.

For storage study, after prepared, the fresh pork loins were non-dipped and dipped in water (control) and each solution of 0.2 mg/ml lauric acid + 0.1% (v/v) lactic acid and 0.05 mg/ml monolaurin + 0.1% (v/v) lactic acid for 10 minutes. The meat samples were vacuum packed in the PE plastic bags and stored at 4 and 15°C for 0, 1, 2, 4 and 8 days. Both lipids in combination with lactic acid solution were the most effective in control of *S. aureus* and TPC at 4 and 15°C after 8 days of storage ($P \leq 0.05$). The low pH of their solutions caused the highest weight loss of range 4.25-5.02% drip loss, 22.88-23.78% cooking loss and discoloration. In contrast, non-dipped and dipped in water controlled growth of *S. aureus* and TPC for 2 days and 1 day of storage, respectively, at 4°C and uncontrolled growth of bacteria at 15°C. Furthermore, control samples were lost weight in ranges of 3.77-4.99% drip loss and 22.03-24.44% cooking loss. Stored at 4 and 15°C, drip and cooking loss, L^* , PV and TBARs were increased but shear force, a^* , C^* and sensory score were decreased as storage was longer in all solution types ($P \leq 0.05$). Results of this study indicate that lauric acid or monolaurin in combination with lactic acid can be incorporated in fresh pork to effectively extend shelf-life at 4 and 15°C of storage.

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษาและสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยของอาจารย์รุ่นใหม่ และสุดท้ายนี้ ขอขอบคุณอธิการบดีมหาวิทยาลัยทักษิณ คณบดี และบุคลากรของคณะเทคโนโลยีและการพัฒนาชุมชน ที่ให้ความร่วมมือในการดำเนินการวิจัย

นางผุสดี ตั้งวัชรินทร์

14 มิถุนายน 2554

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
Abstract	ค
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ณ
สารบัญตารางภาคผนวก	ฐ
บทที่	
1 บทนำ	1
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	7
3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	35
4 ผลและอภิปรายผลการวิจัย	48
5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ	78
6 เอกสารอ้างอิง	80
ภาคผนวก	88

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ปริมาณของกรดแลกติกที่มีอยู่ในอาหารชนิดต่างๆ โดยธรรมชาติ	10
2	ค่าเฉลี่ย จุลินทรีย์ที่ใช้ออกซิเจนทั้งหมด (log cfu/ตารางเซนติเมตร) บนเนื้อโคในการฉีดพ่นสารละลายกรดแลกติกก่อน และหลังการบรรจุแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ -1.1 และ 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 126 วัน	16
3	ค่าเฉลี่ยคะแนนการรับสัมผัสของเนื้อสันนอกโค ¹ ภายหลังการบรรจุสุญญากาศเป็นเวลา 4 วัน (3±1 องศาเซลเซียส)	19
4	โปรตีนจาก <i>S. aureus</i> ที่มีความเป็นพิษ	22
5	แหล่ง และชนิดสารพิษของ <i>Staphylococcus aureus</i> จากกระบวนการขนส่ง	26
6	แหล่ง และ ชนิดสารพิษของ <i>S. aureus</i> จากอาหารและเครื่องมือ	26
7	ค่าเปอร์เซ็นต์ที่พบแบคทีเรียก่อโรคจากผิวซากสุกรในระหว่างกระบวนการฆ่า	28
8	ปริมาณการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ทั้งหมดในบรรยากาศ และเชื้อแบคทีเรียในลำไส้ระหว่างขั้นตอนการรับสัตว์ การเอาเครื่องในออก การตัดแต่ง และถอดกระดูกออก การลดอุณหภูมิแบบใช้ลมเย็น และแบบใช้น้ำเย็นของโรงฆ่าสัตว์ปีก	30
9	การเปรียบเทียบจำนวนเชื้อแบคทีเรียบนเนื้อสุกรระหว่างจากโรงฆ่ากับตลาดสด (ส่วนที่ 1) โรงฆ่าสัตว์กับซูปเปอร์มาร์เก็ต (ส่วนที่ 2) และซูปเปอร์มาร์เก็ตกับตลาดสด (ส่วนที่ 3) และอายุในการเก็บรักษาของส่วนที่ 3	31
10	การปนเปื้อนของเชื้อ <i>S. aureus</i> ก่อนและระหว่างกระบวนการฆ่าและชำแหละซากสุกรแบบไม่สัมผัสพื้นและสัมผัสพื้น	34
11	การใช้สารร่วมกัน 2 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในการศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้ง	40
12	การใช้สารร่วมกัน 2 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในการศึกษาการลดปริมาณเชื้อ <i>S. aureus</i> ของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ในเนื้อสุกรสด	43
13	ขนาดของ Inhibition zone ^{1, 2} ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>S. aureus</i> ของกรด lauric สาร monolaurin และกรด lactic ³ ที่ระดับความเข้มข้นสุดท้ายต่าง ๆ	49
14	ค่า MIC ₉₀ และ MBC ของสารแต่ละชนิดด้วยวิธี microtitre plate-based antibacterial assay แบบวัดความขุ่น และใช้อินดิเคเตอร์	50
15	ค่า MIC ₉₀ MBC FICI และ FBCI ของการใช้กรด lactic ร่วมกับน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric และ สาร monolaurin ต่อการต้านเชื้อ <i>S. aureus</i>	52

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
16	สัดส่วนของกรดไขมันในน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์	53
17	ค่า pH ของสารที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ	56

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	โครงสร้างของกรดลอริก	9
2	โครงสร้างของโมโนลอรีน	9
3	โครงสร้างของกรดแลกติก	10
4	ปัจจัยสำคัญที่เกิดความเป็นพิษของ <i>S. aureus</i>	24
5	ปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อ <i>S. aureus</i> ก่อนและระหว่างกระบวนการฆ่าและ ฆ่าและซากรูปแบบไม่สัมผัสพื้น และสัมผัสพื้น; ND = ไม่ได้ทำการ ตรวจสอบ, คก = คอกก่อนสุกเข้าพัก, ร = รถขนส่ง, คห = คอกหลังสุก เข้าพัก, นพค = น้ำฝนคอก นลก = น้ำลูกซากรก่อนฆ่า, ผค = แผลทางคอ สุก, ซกค = ซากรก่อนลูก, นลห = น้ำลูกซากรหลังฆ่า, ซหค = ซากร หลังลูก, ซผ = ซากรผ่าซีก, นลซ = น้ำล้างซากร, นพซ = น้ำฝนซากร สุก และซกย = ซากรหลังกระบวนการฆ่า, ¹ อักษรที่แตกต่างกันในขั้นตอน เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)	33
6	ลักษณะของโซนใส (clear zone) ในการยับยั้งเชื้อ <i>S. aureus</i> ของน้ำมัน มะพร้าวบริสุทธิ์ (a) กรด lauric (b) สาร monolaurin (c) และกรด lactic (d) ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ	49
7	แสดงผลการวิเคราะห์ค่า MIC ₉₀ และ MBC ของสารแต่ละชนิดด้วยวิธี microtitre plate-based antibacterial assay แบบใช้ indicator	51
8	การเปลี่ยนแปลงปริมาณของเชื้อ <i>S. aureus</i> ที่สภาวะต่าง ๆ (a) total culturable cells b) non-stressed cells และ c) stressed cells) ภายหลังสัมผัสน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 480 นาที	55
9	ผลของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin และกรด lactic ต่อ การผลิตโปรตีนของเชื้อ <i>S. aureus</i> ภายหลังสัมผัสสารชนิดต่าง ๆ (A และ J คือ molecular weight of protein standard, I คือ ไม่สัมผัสสาร, B คือ 10% น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์, C คือ 10%น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ร่วมกับ 0.4%กรด lactic, D คือ 3.2 mg/ml ของกรด lauric, E คือ 0.1 mg/ml ของสาร monolaurin, F คือ 0.05 mg/ml ของสาร monolaurin ร่วมกับ 0.1% กรด lactic, G คือ 0.2 ของกรด lauric mg/ml ร่วมกับ 0.1% กรด lactic และ H คือ 0.4%กรด lactic) สัมผัสเป็นเวลา 120 นาที ยกเว้น C และ H สัมผัสเป็นเวลา 10 นาที	57

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
10	ผลของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin และกรด lactic ต่อ ผลการตอบสนองทางสัณฐานวิทยาและกายภาพของเซลล์ <i>S. aureus</i> ภายหลังสัมผัสสารชนิดต่าง ๆ (a) คือ ไม่สัมผัสสาร, b) คือ 10%น้ำมัน มะพร้าวบริสุทธิ์, c) คือ 0.4%กรด lactic, d) คือ 10%น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ ร่วมกับ 0.4%กรด lactic, e) คือ 3.2 mg/ml ของกรด lauric, f) คือ 0.2 mg/ml ของกรด lauric ร่วมกับ 0.1% กรด lactic, g) 0.1 mg/ml ของสาร monolaurin และ h) คือ 0.05 mg/ml ของสาร monolaurin ร่วมกับ 0.1% กรด lactic) เป็น เวลา 120 นาที ยกเว้น c) และ d) เป็นเวลา 10 นาที วิเคราะห์ด้วย Scanning and Transmission Electron Microscopy โดย คือ ผนังเซลล์ถูกทำลาย และ คือ เซลล์มีการสูญเสียสารภายในเซลล์ ทำให้ผนังเซลล์ทรุดตัวลง และเซลล์มี รูปร่างเปลี่ยนไป	59
11	ผลของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin และกรด lactic ต่อ ผลการตอบสนองทางสัณฐานวิทยาและกายภาพของเซลล์ <i>S. aureus</i> ภายหลังสัมผัสสารชนิดต่าง ๆ (a) คือ ไม่สัมผัสสาร, b) คือ 10%น้ำมัน มะพร้าวบริสุทธิ์, c) คือ 0.4%กรด lactic, d) คือ 10%น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ ร่วมกับ 0.4%กรด lactic, e) คือ 3.2 mg/ml ของกรด lauric, f) คือ 0.2 mg/ml ของกรด lauric ร่วมกับ 0.1% กรด lactic, g) 0.1 mg/ml ของสาร monolaurin และ h) คือ 0.05 mg/ml ของสาร monolaurin ร่วมกับ 0.1% กรด lactic) เป็น เวลา 120 นาที ยกเว้น H เป็นเวลา 10 นาที ด้วย Scanning and Transmission Electron Microscopy โดย คือ ผนังเซลล์ถูกทำลาย และ คือ เซลล์มีการสูญเสียสารภายในเซลล์ ทำให้ผนังเซลล์ทรุดตัวลง และเซลล์มี รูปร่างเปลี่ยนไป	61
12	ผลของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric และ monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อการเจริญของเชื้อ <i>S. aureus</i> (a) และจุลินทรีย์ทั้งหมด (b) บนเนื้อสุกรส โดยอักษรแตกต่างกันแสดงถึงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ ($P < 0.05$)	61
13	ผลของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric และ monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อค่าความเป็นกรด-ด่างของเนื้อสุกรส	62
14	ผลของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric และ monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของเนื้อสุก	62

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
15	ผลของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric และ monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อค่า shear force ของเนื้อสุกรสด โดยอักษรแตกต่างกันแสดงถึงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)	63
16	ผลของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric และ monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อค่า L^* (a) และ a^* b^* Hue angle (H^*) Chroma (C^*) (b) ของเนื้อสุกรสด โดยอักษรแตกต่างกันแสดงถึงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)	65
17	ผลของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric และ monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสของเนื้อสุกรสด	65
18	ผลของการใช้กรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อการเจริญของเชื้อ <i>S. aureus</i> บนเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างกัน	67
19	ผลของการใช้กรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมดบนเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างกัน	68
20	ผลของการใช้กรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อค่าความเป็นกรด-ด่างของเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างกัน	69
21	ผลของการใช้กรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาของเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิต่างกัน	70
22	ผลของการใช้กรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักภายหลังทำให้สุกของเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างกัน	71
23	ผลของการใช้กรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อค่า shear force ของเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างกัน	72
24	ผลของการใช้กรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อค่า L^* ของเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างกัน	73
25	ผลของการใช้กรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อค่า a^* (a) b^* (b) C^* (c) และ H^* (d) ของเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างกัน	74
26	ผลของการใช้กรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อค่า PV (a) และ TBAR (b) ของเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างกัน	76

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
27	ผลของการใช้กรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อสี (a) กลิ่น (b) และลักษณะปรากฏ (c) ของเนื้อสุกรสตที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างกัน	77

สารบัญตารางผนวก

ตารางผนวกที่	หน้า
1 ความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ <i>S. aureus</i> ด้วยน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ สารละลายกรด lauric monolaurin และกรด lactic ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วยวิธี diffusion agar	89
2 ความสามารถในการยับยั้งเชื้อ <i>S. aureus</i> ด้วยสารละลายโมโนลอรีนที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ	89
3 ความสามารถในการยับยั้งเชื้อ <i>S. aureus</i> ด้วยสารละลายกรดแลกติก ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ	89
4 ประสิทธิภาพการลดปริมาณเชื้อ <i>S. aureus</i> ทั้งหมดของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรดลอริก โมโนลอรีน กรดแลกติก สารละลายกรดลอริก และโมโนลอรีนร่วมกับกรดแลกติกที่ระยะเวลาต่าง ๆ	90
5 ประสิทธิภาพการลดปริมาณเชื้อ <i>S. aureus</i> ที่อยู่ในสภาวะปกติของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรดลอริก โมโนลอรีน กรดแลกติก สารละลายกรดลอริก และโมโนลอรีนร่วมกับกรดแลกติกที่ระยะเวลาต่าง ๆ	90
6 ประสิทธิภาพการลดปริมาณเชื้อ <i>S. aureus</i> ที่อยู่ในสภาวะเครียดของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรดลอริก โมโนลอรีน กรดแลกติก สารละลายกรดลอริก และโมโนลอรีนร่วมกับกรดแลกติกที่ระยะเวลาต่าง ๆ	91
7 การใช้สารละลายน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรดลอริก โมโนลอรีน กรดแลกติก กรด ลอริก และโมโนลอรีนร่วมกับกรดแลกติกต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>S. aureus</i> บนเนื้อสุกรส	91
8 การใช้สารละลายน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรดลอริก โมโนลอรีน กรดแลกติก กรดลอริก และโมโนลอรีนร่วมกับกรดแลกติกต่อการยับยั้งการเจริญของ จุลินทรีย์บนเนื้อสุกรส	92
9 การใช้สารละลายน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรดลอริก โมโนลอรีน กรดแลกติก กรดลอริก และโมโนลอรีนร่วมกับกรดแลกติกต่อค่าความเป็นกรด-ด่างของ เนื้อสุกรส	92
10 การใช้สารละลายน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรดลอริก โมโนลอรีน กรดแลกติก กรดลอริก และโมโนลอรีนร่วมกับกรดแลกติกต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสีย น้ำหนักภายหลังสัมผัสสารของเนื้อสุกรส	92
11 การใช้สารละลายน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรดลอริก โมโนลอรีน กรดแลกติก กรดลอริก และโมโนลอรีนร่วมกับกรดแลกติกต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสีย น้ำหนักภายหลังการทำให้สุกของเนื้อสุกรส	93

สารบัญตารางผนวก(ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
12	การใช้สารละลายน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรดลอริก โมโนลอรีน กรดแลกติก กรด ลอริก และโมโนลอรีนร่วมกับกรดแลกติกต่อค่า shear force ของเนื้อสุกรส	93
13	การใช้สารละลายน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรดลอริก โมโนลอรีน กรดแลกติก กรดลอริก และโมโนลอรีนร่วมกับกรดแลกติกต่อค่า L^* ของเนื้อสุกรส	93
14	การใช้สารละลายน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรดลอริก โมโนลอรีน กรดแลกติก กรด ลอริก และโมโนลอรีนร่วมกับกรดแลกติกต่อค่า a^* ของเนื้อสุกรส	94
15	การใช้สารละลายน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรดลอริก โมโนลอรีน กรดแลกติก กรดลอริก และโมโนลอรีนร่วมกับกรดแลกติกต่อค่า b^* ของเนื้อสุกรส	94
16	การใช้สารละลายน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรดลอริก โมโนลอรีน กรดแลกติก กรดลอริก และโมโนลอรีนร่วมกับกรดแลกติกต่อค่า Hue (H^*) ของเนื้อสุกรส	94
17	การใช้สารละลายน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรดลอริก โมโนลอรีน กรดแลกติก กรดลอริก และโมโนลอรีนร่วมกับกรดแลกติกต่อค่า Chroma (C^*) ของเนื้อสุกรส	95
18	การใช้สารละลายน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรดลอริก โมโนลอรีน กรดแลกติก กรด ลอริก และโมโนลอรีนร่วมกับกรดแลกติกต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านสีของเนื้อสุกรส	95
19	การใช้สารละลายน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรดลอริก โมโนลอรีน กรดแลกติก กรด ลอริก และโมโนลอรีนร่วมกับกรดแลกติกต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นของเนื้อสุกรส	95
20	การใช้สารละลายน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรดลอริก โมโนลอรีน กรดแลกติก กรด ลอริก และโมโนลอรีนร่วมกับกรดแลกติกต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านลักษณะปรากฏโดยรวมของเนื้อสุกรส	96
21	อิทธิพลของกรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อการเจริญของเชื้อ S. aureus บนเนื้อสุกรสที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่าง ๆ	96
22	อิทธิพลของกรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมดบนเนื้อสุกรสที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่าง ๆ	97
23	อิทธิพลของกรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อค่าความเป็นกรด-ด่างของเนื้อสุกรสที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่าง ๆ	97

สารบัญตารางผนวก(ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
24	อิทธิพลของกรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาของเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างๆ	98
25	อิทธิพลของกรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อค่า shear force ของเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างๆ	99
26	อิทธิพลของกรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อค่า L^* ของเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างๆ	99
27	อิทธิพลของกรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อค่า a^* ของเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างๆ	100
28	อิทธิพลของกรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อค่า b^* ของเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างๆ	100
29	อิทธิพลของกรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อค่า Hue (H^*) ของเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างๆ	101
30	อิทธิพลของกรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อค่า Chroma (C^*) ของเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างๆ	101
31	อิทธิพลของกรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อค่า PV ของเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างๆ	102
31	อิทธิพลของกรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อค่า TBARs ของเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างๆ	102
32	อิทธิพลของกรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านสีของเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างๆ	103
32	อิทธิพลของกรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นของเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างๆ	103

บทที่ 1

บทนำ

1. ความสำคัญและที่มา

มะพร้าวเป็นหนึ่งในพืชน้ำมันที่มีความสำคัญมากของประเทศไทย หนึ่งปัจจุบันสถานการณ์ราคามะพร้าวนั้นมีเสถียรภาพค่อนข้างต่ำ โดยมักขึ้นอยู่กับปริมาณผลผลิตที่ได้ตามฤดูกาล (กรมการค้าภายในจังหวัดประจวบคีรีขันธ์, 2550) แต่อย่างไรก็ตามเกษตรกรไทยยังมีความโชคดีบนความโชคร้ายที่มะพร้าวมีสรรพคุณทางยา โดยเฉพาะอย่างยิ่งน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ ซึ่งแพทย์แผนไทยได้นำน้ำมันมะพร้าวไปเป็นส่วนผสมในยารักษาอาการลำไส้อักเสบ โรคหนองใน ไข้หวัดใหญ่ ที่มีสาเหตุเนื่องจากแบคทีเรีย เช่น เชื้อ *Staphylococcus aureus* และแบคทีเรียแกรมบวก เป็นต้น นอกจากนี้ยังได้มีการผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางอย่างแพร่หลาย เช่น สบู่ แชมพู และครีมบำรุงผิว เป็นต้น เนื่องจากน้ำมันมะพร้าวมีสารที่มีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรีย คือกรด lauric และสาร monolaurin ซึ่งเป็นสารอนุพันธ์ของกรด lauric เนื่องจากมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย โดยเฉพาะแบคทีเรียที่มีไขมันห่อหุ้ม (lipid-coated membrane) เป็นเกราะ ทำให้ยาปฏิชีวนะทั่วไปไม่สามารถฆ่าแบคทีเรียนี้ได้ แต่เกราะนี้จะถูกทำลายโดยน้ำมันมะพร้าวเพื่อโอกาสให้สาร monolaurin เข้าไปภายในเซลล์และออกฤทธิ์ในการฆ่าแบคทีเรียนี้ได้ นอกจากนี้ น้ำมันมะพร้าวยังมีสาร alpha-Tocopherol ถึง 39.61 mg/kg ซึ่งเป็นสารต่อต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) โดยการป้องกันเซลล์ไม่ให้ถูกเติมออกซิเจน และเป็นตัวต่อต้านอนุมูลอิสระ (free radicals) (ณรงค์ โฉมเฉลา, 2548)

ในปัจจุบันได้มีการศึกษาเกี่ยวกับการใช้กรด lactic ในโรงฆ่าสุกรเพื่อลดการปนเปื้อนแบคทีเรียทั้งหมดและแบคทีเรียก่อโรคบนซากสุกรและเนื้อสุกร โดยพบว่าความเข้มข้นของสารละลายกรด lactic ที่ระดับ 1-2% สามารถลดแบคทีเรียทั้งหมดและแบคทีเรียก่อโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Netten, Mossel and Huis In t Veld, 1995; Reynolds, 2005) โดยเฉพาะเชื้อ *S. aureus* พบว่าสารละลายกรด lactic ความเข้มข้น 2 % (v/v) สามารถลดลงและควบคุมจำนวนเชื้อดังกล่าวได้นานถึง 7 วัน ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 4 องศาเซลเซียส (ผู้สดี ตั้งวัชรินทร์ และคณะ 2544)

สถานการณ์อุตสาหกรรมเนื้อสัตว์ในประเทศไทยในปัจจุบัน มีการขยายตัวเพิ่มขึ้นอย่างมาก โดยเฉพาะอุตสาหกรรมเนื้อสุกรและเนื้อโค ทั้งนี้เนื่องจากปัญหาของโรคไข้หวัดนกในสัตว์ปีก จึงทำให้ผู้บริโภคหันมานิยมบริโภคเนื้อสุกรและเนื้อโคมากขึ้น จากสถิติการอนุญาตให้ฆ่าสุกรและโคในภาคใต้ของประเทศไทยในปี 2546 มีจำนวน 554,869 และ 29,174 ตัว ตามลำดับ (กรมปศุสัตว์, 2546) ในขณะที่ในปี 2548 เพิ่มขึ้นเป็นจำนวน 741,809 และ 33,286 ตัว ตามลำดับ (กรมปศุสัตว์, 2548) นอกจากนี้เพื่อการส่งเสริมการพัฒนาอุตสาหกรรมเนื้อสัตว์ และสอดคล้องกับความต้องการของผู้บริโภค ผู้ผลิตจึงต้องตระหนักถึงคุณภาพและความปลอดภัยของเนื้อสัตว์ที่ผลิต โดยมีหน่วยงานที่เกี่ยวข้องกับความปลอดภัยอาหาร เช่น

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ได้กำหนดปริมาณจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์สด ดังนี้ จุลินทรีย์รวม/กรัม ต้องมีปริมาณไม่เกิน 1×10^5 โคโลนี *E. coli* ต้องน้อยกว่า 50 MPN / กรัม และเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ ได้แก่ *S. aureus*, *Clostridium perfringens* และ *Bacillus cereus* ต้องน้อยกว่า 200 โคโลนี/กรัม และต้องไม่พบ *Salmonella* และ *Listeria monocytogenes* ต่อ 25 กรัม (Food Control Division, 2004)

เนื้อสุกที่จำหน่ายในตลาดสดทั่วไป มักมีปริมาณจุลินทรีย์สูงกว่าค่ามาตรฐานที่กำหนดไว้ แบคทีเรียก่อโรคที่มีบทบาทสำคัญต่ออุตสาหกรรมเนื้อสัตว์คือ เชื้อ *S. aureus* ซึ่งมีแหล่งการปนเปื้อนมาจากผู้ประกอบอาหารในระหว่างขั้นตอนการผลิต Thaikruea (1995) ได้รายงานว่ เชื้อ *S. aureus* เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษในคนมากที่สุด โดยมีสาเหตุมาจาก enterotoxin A และ C ของเชื้อชนิดนี้ที่มีปนเปื้อนอยู่ในอาหาร ซึ่งสารพิษนี้ทนต่อการถูกทำลายด้วยความร้อน นอกจากนี้ พรศิริ พรหมกิ่งแก้ว และอนิรุทธิ์ เนื่องเม็ก (2546) ยังได้ศึกษาการระบาดของเชื้อ *S. aureus* ในจังหวัดแม่ฮ่องสอน เชียงใหม่ เชียงราย ลำพูน ลำปาง พะเยาแพร่ น่าน อุตรดิตถ์ สุโขทัย พิษณุโลก ตาก นครสวรรค์ เพชรบูรณ์ และอุทัยธานี พบการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* ในเนื้อสุกสดในระดับที่เกินมาตรฐานกำหนดไว้สูงถึง 13.96%

ดังนั้น การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ในการลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* บนผิวเนื้อสุก จึงเป็นการพัฒนาการนำสารจากธรรมชาติคือน้ำมันมะพร้าว ซึ่งมีอยู่มากในจังหวัดทางภาคใต้ มาใช้ในการปรับปรุงคุณภาพของเนื้อสุกที่วางจำหน่ายในตลาดสด เพื่อให้เกิดความปลอดภัยต่อผู้บริโภค และยังเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการพัฒนาการใช้้ำมันมะพร้าวในอุตสาหกรรมเนื้อสัตว์อื่นๆต่อไป

2. วัตถุประสงค์ของโครงการ

2.1 เพื่อศึกษาระดับความเข้มข้นของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin และกรด lactic ที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus* ซึ่งแยกได้จากเนื้อสุก

2.2 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อการลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและรูปร่างของเชื้อชนิดนี้

2.3 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* ของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic บนเนื้อสุกสด

2.4 เพื่อศึกษาอิทธิพลของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อคุณภาพทางกายภาพและประสาทสัมผัสของเนื้อสุก

2.5 เพื่อศึกษาอิทธิพลของกรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อคุณภาพทางจุลินทรีย์ คุณภาพทางกายภาพ และประสาทสัมผัสของเนื่อสุกรสดในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ

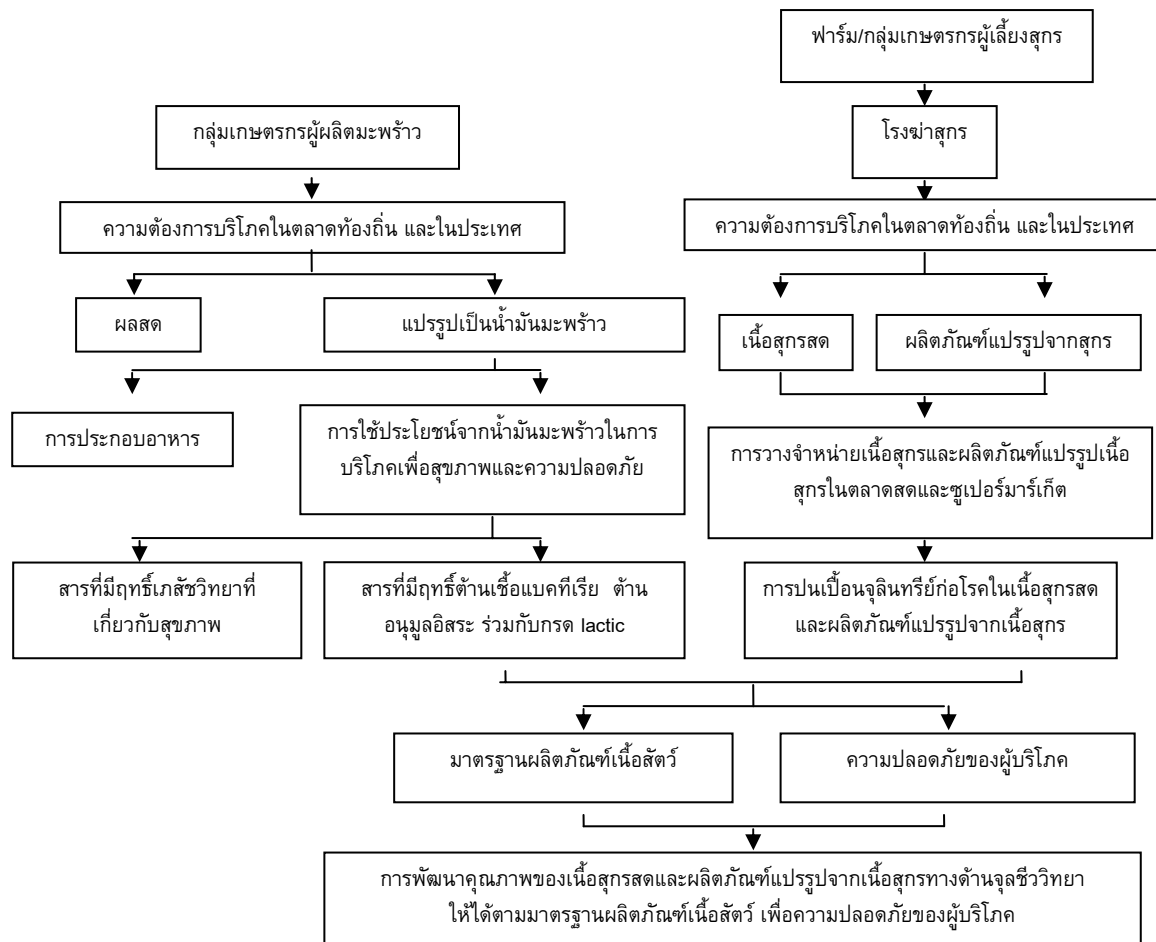
3. ขอบเขตของโครงการวิจัย

ศึกษาการฤทธิ์ของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin และกรด lactic ในการต้านเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่แยกได้จากเนื่อสุกร โดยทำการศึกษาในเบื้องต้นเพื่อศึกษาการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วยวิธี diffusion agar การหาค่า minimum inhibition concentrate (MIC) ของน้ำมันมะพร้าว สารละลายกรด lauric และสาร monolaurin และการออกฤทธิ์ร่วมระหว่างสารละลายน้ำมันทั้ง 3 ชนิด และกรด lactic แบบ antibacterial combination เพื่อทำการคัดเลือก 1 ระดับความเข้มข้นของน้ำมันทั้ง 3 และ 1 ระดับความเข้มข้นของกรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับสารละลายกรด lactic ที่มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียชนิดนี้ได้มากที่สุด เพื่อทำการศึกษาประสิทธิภาพการลดปริมาณของเชื้อ *S. aureus* ในสารละลายเชื้อบริสุทธิ์ และผลการตอบสนองทางรูปร่างของเซลล์ *S. aureus* เนื่องจากการความเครียด โดยศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและรูปร่างของเชื้อชนิดนี้ ด้วยวิธี Population density estimation sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis Scanning และ Transmission Electron Microscopy ตลอดจนศึกษาคุณภาพทางจุลินทรีย์ กายภาพ เคมี และประสาทสัมผัสของเนื่อสุกรสดที่สัมผัสสารละลายกรด lauric และ monolaurin ร่วมกับสารละลายกรด lactic ในระหว่างการเก็บรักษา

5. ทฤษฎี สมมุติฐาน และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

สถานการณ์การผลิตมะพร้าวในประเทศไทยไม่ค่อยดี โดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วงที่มีผลผลิตเป็นปริมาณมาก ทำให้ราคามะพร้าวตกต่ำ ดังนั้นการนำผลผลิตได้จากมะพร้าวมาใช้ประโยชน์ จึงเป็นทางเลือกหนึ่งเพื่อเพิ่มรายได้ให้แก่เกษตรกรและอุตสาหกรรมแปรรูปผลิตภัณฑ์น้ำมันมะพร้าว

เนื่อสุกรจัดเป็นอาหารที่เน่าเสียง่ายและมักพบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ก่อโรค เนื่องจากประกอบด้วยสารอาหารที่สำคัญหลายชนิดที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง โดยปกติภายในกล้ามเนื้อของสัตว์ที่มีสุขภาพสมบูรณ์จะไม่มีจุลินทรีย์ใด ๆ ปนเปื้อน จุลินทรีย์ส่วนใหญ่ที่พบในเนื่อสุกร เกิดจากการปนเปื้อนจากภายนอกตัวสัตว์ ในระหว่างการฆ่าและชำแหละ การตัดแต่งเนื่อสัตว์ รวมไปถึงขั้นตอนในการแปรรูปผลิตภัณฑ์ ซึ่งหากสามารถลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ก่อโรคได้โดยการใช้ น้ำมันมะพร้าว สารละลายกรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับสารละลายกรด lactic จะสามารถพัฒนาคุณภาพของเนื่อสุกรสดทางด้านจุลชีววิทยาให้ได้ตามมาตรฐานเนื่อสัตว์ เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค



6. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

6.1 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

6.1.1 ทราบถึงชนิดและระดับความเข้มข้นของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ที่เหมาะสมในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus* ที่แยกได้จากเนื้อสุกร ซึ่งเป็นองค์ความรู้ใหม่ด้านวิทยาศาสตร์เชิงลึกที่สามารถนำไปต่อยอดในการนำสารเหล่านี้ไปใช้ในการพัฒนาคุณภาพเนื้อสุกรสด

6.1.2 ทราบถึงประสิทธิภาพการลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* ของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic บนเนื้อสุกรสด

6.1.3 ทราบถึงอิทธิพลของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อคุณภาพด้านจุลินทรีย์ กายภาพ เคมี และประสาทสัมผัสของเนื้อสุกรสด เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการเลือกใช้สารและระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมในการนำไปใช้ในทางปฏิบัติจริง และประยุกต์ใช้กับเนื้อสัตว์ และผลิตภัณฑ์แปรรูปจากเนื้อสัตว์ได้ในอนาคต

6.2 หน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

6.2.1 เกษตรกรผู้ปลูกมะพร้าว และโรงงานผลิตน้ำมันมะพร้าว

6.2.2 ผู้บริโภคเนื้อสัตว์ และผลิตภัณฑ์แปรรูปจากเนื้อสัตว์

6.2.3 กลุ่มโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร และศูนย์ส่งเสริมอุตสาหกรรม

6.2.4 สำนักงานสาธารณสุข

6.2.5 สำนักงานเกษตร

6.2.6 สำนักงานพาณิชย์ สำนักงานการค้าภายใน สำนักงานพัฒนาธุรกิจการค้า
สำนักงานพัฒนาชุมชน

6.2.7 สำนักงานการท่องเที่ยวแห่งประเทศไทย

6.2.8 นักวิจัย นักวิชาการ และอาจารย์ ตลอดจนนิสิต-นักศึกษา

6.3 คาดว่าจะตีพิมพ์ผลงานวิจัยในวารสารวิชาการ

6.3.1 ผลงานในงานประชุมวิชาการ

6.3.2 วารสารระดับนานาชาติ

- Antibacterial activity of virgin coconut oil, lauric acid or monolaurin in combination with lactic acid against *Staphylococcus aureus*. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health. [SJR (2009) = 0.064, SNIP = 0.524]. In reviewed.

- Effects of lauric acid or monolaurin in combination with lactic acid on inhibition of inoculated *Staphylococcus aureus* in pork. Meat Science (impact factor 1.954). In reviewed.

6.4 แผนการถ่ายทอดเทคโนโลยีหรือผลการวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมาย

6.4.1 สามารถใช้องค์ความรู้ที่ได้จากการวิจัยไปพัฒนากระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์การใช้ประโยชน์จากน้ำมันมะพร้าว แปรรูปจากเนื้อสัตว์ เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพดี บริโภคได้อย่างปลอดภัย และสามารถนำไปใช้ในกระบวนการผลิตได้จริงอย่างมีประสิทธิภาพ

6.4.2 สามารถใช้องค์ความรู้ที่ได้จากการวิจัยไปจัดสัมมนาเชิงบริการวิชาการในอนาคตได้ โดยการสัมมนานี้จะเกี่ยวกับการพัฒนาผลิตภัณฑ์แปรรูปจากเนื้อสัตว์เพื่อสุขภาพและความปลอดภัยให้แก่กลุ่มผู้ประกอบการโรงงานแปรรูปผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ ร้านจำหน่ายผลิตภัณฑ์แปรรูปจากเนื้อสัตว์ เกษตรกรและโรงงานผลิตน้ำมันมะพร้าว หน่วยงานต่าง ๆ ที่เกี่ยวกับ ตลอดจน อาจารย์ และนิสิตที่สนใจ

6.5 ผลสำเร็จและความคุ้มค่าของการวิจัยที่คาดว่าจะได้รับ

6.5.1 สร้างความรู้ความเข้าใจในเชิงวิชาการให้กับผู้ประกอบการผลิตเนื้อสัตว์ และกลุ่มเกษตรกรผู้ผลิตมะพร้าว ส่งผลให้สามารถพัฒนาผลิตภัณฑ์ได้ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมอาหาร

6.5.2 สามารถใช้ข้อมูลทางวิชาการเพื่อยกระดับมาตรฐานทางจุลินทรีย์ และเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้ข้อมูลที่ได้ยังเป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภคในการเลือกบริโภคผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพได้อย่างปลอดภัยได้ในอนาคต

6.5.3 สามารถใช้ข้อมูลคุณภาพของสารสกัดที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาจากน้ำมันมะพร้าวในการเพิ่มโอกาสการแข่งขันทางค้าในการจัดจำหน่ายสารสกัดดังกล่าวไปยังจังหวัดต่าง ๆ และต่างประเทศได้

6.5.4 สามารถเป็นแนวทางในการเสริมสร้างในการใช้น้ำมันมะพร้าวนำมาทำผลิตภัณฑ์

6.5.5 เป็นการเชื่อมโยงองค์ความรู้ระหว่างผู้ผลิต (กลุ่มเกษตรกรผู้ปลูกมะพร้าวและโรงงานผลิตน้ำมันมะพร้าว) กับส่วนการแปรรูปผลิตภัณฑ์และการตลาด (โรงงานผลิตเนื้อสัตว์และแปรรูปผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์) เพื่อเป็นการเสริมสร้างอาชีพ และความต่อเนื่องในวงจรการผลิต

6.5.6 สามารถประยุกต์ใช้องค์ความรู้ให้เข้ากับวิถีการดำรงชีวิตดั้งเดิมของชุมชนทั้งนี้สามารถใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาคุณภาพชีวิตอย่างพอเพียงและยั่งยืน

6.5.7 สามารถเผยแพร่และบริการวิชาการ เพื่อช่วยในการพัฒนาคุณภาพชีวิตและเสริมสร้างสัมพันธอันดีระหว่างมหาวิทยาลัยทักษิณกับชุมชน

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. น้ำมันมะพร้าว

มะพร้าวเป็นหนึ่งในพืชน้ำมันที่มีความสำคัญมากของประเทศไทย โดยมีแหล่งการผลิตที่สำคัญที่สุด คือ ภาคใต้ ซึ่งมีพื้นที่ปลูก ถึง 4.88 แสนไร่ และผลผลิต 3.58 แสนตัน อุตสาหกรรมการผลิตมะพร้าวในปัจจุบันไม่มีเสถียรภาพด้านราคา (กรมการค้าภายในจังหวัดประจวบคีรีขันธ์, 2550) ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจากการขาดการแปรรูปผลิตภัณฑ์มะพร้าวแบบครบวงจร ดังนั้นการใช้ไขมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric และสาร monolaurin ที่สกัดได้จากมะพร้าวเพื่อพัฒนาคุณภาพเนื้อสุกกรวด จึงเป็นแนวทางการใช้ประโยชน์จากผลพลอยได้ในอุตสาหกรรมแปรรูปมะพร้าว อันเป็นทางเลือกหนึ่งเพื่อเพิ่มรายได้ให้แก่เกษตรกร และอุตสาหกรรมแปรรูปผลิตภัณฑ์มะพร้าว ตลอดจนสามารถพัฒนาคุณภาพของเนื้อสุกทางด้าน จุลชีววิทยาให้ได้ตามมาตรฐานเนื้อสัตว์เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค

1.1 ประเภทของน้ำมันมะพร้าว

น้ำมันมะพร้าวแบ่งออกเป็น 2 ประเภทใหญ่ๆตามกระบวนการผลิต (ณรงค์ โฉมเฉลา, 2548) ดังนี้

1.1.1 น้ำมันมะพร้าว RBD (Refined bleached and deodorized)

เป็นน้ำมันมะพร้าวที่สกัดได้จากเนื้อมะพร้าวห้าวโดยการบีบ หรือใช้ตัวทำละลายผ่านความร้อนสูง และผ่านขบวนการทางเคมี คือ การทำให้บริสุทธิ์ (Refining) ฟอกสี (Bleaching) และกำจัดกลิ่น (Deodorization) หลังจากที่ได้สกัดได้ เพื่อให้เหมาะสำหรับการบริโภค ลักษณะของน้ำมันที่ได้มีสีเหลืองอ่อนไม่มีกลิ่นและรส ปราศจากวิตามินอี เพราะถูกขจัดออกไปโดยขบวนการทางเคมี มีปริมาณกรดไขมันอิสระ (Free fatty acid; FFA) ไม่เกิน 0.1 %

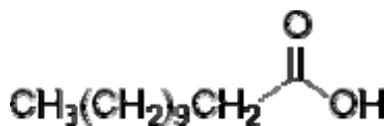
1.1.2 น้ำมันมะพร้าวบีบเย็น (Cold – pressed coconut oil)

ได้จากการสกัดโดยวิธีธรรมชาติ หรือโดยกระบวนการบีบไม่ผ่านความร้อนสูงผลิตจากเนื้อมะพร้าวสดเป็นน้ำมันมะพร้าวที่บริสุทธิ์ สีใสเหมือนน้ำ มีวิตามินอี และไม่ผ่านกระบวนการเติมออกซิเจน (Oxidation) มีค่าเปอร์ออกไซด์ (Peroxide) และกรดไขมันอิสระต่ำมีกลิ่นมะพร้าวอย่างอ่อนๆถึงแรง ขึ้นอยู่กับกระบวนการผลิตมีความชื้นไม่เกิน 0.1 % เรียกน้ำมันมะพร้าวชนิดนี้ว่า น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ หรือ Virgin coconut oil (VCO) เป็นน้ำมันที่ผลิตโดยอุตสาหกรรมขนาดเล็ก หรือในครัวเรือน

1.2 ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในการต้านจุลินทรีย์ก่อโรคในระบบทางเดินอาหารของสารในน้ำมันมะพร้าว

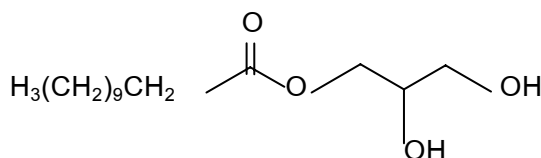
1.2.1 ฤทธิ์ฆ่าแบคทีเรีย

น้ำมันมะพร้าวมีคุณสมบัติเป็นยาฆ่าเชื้อ และสามารถดูดซึมเข้าร่างกายได้ดี ทั้งนี้ น้ำมันมะพร้าวมีสารที่มีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรีย คือ กรด lauric และสาร monolaurin ซึ่งเป็นสารอนุพันธ์ของกรด lauric เนื่องจากมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย โดยเฉพาะแบคทีเรียที่มีไขมันห่อหุ้ม (lipid-coated membrane) เป็นเกราะ ทำให้ยาปฏิชีวนะทั่วไปไม่สามารถฆ่าแบคทีเรียนี้ได้ แต่เกราะนี้จะถูกทำลายโดยน้ำมันมะพร้าวเพื่อโอกาสให้สาร monolaurin เข้าไปภายในเซลล์และออกฤทธิ์ในการฆ่าแบคทีเรียนี้ได้ นอกจากนี้ น้ำมันมะพร้าวยังมีสาร alpha-Tocopherol ถึง 39.61 mg/kg ซึ่งเป็นสารต่อต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) โดยการป้องกันเซลล์ไม่ให้ถูกเติมออกซิเจน และเป็นตัวต่อต้านอนุมูลอิสระ (free radicals) (ณรงค์ โฉมเฉลา, 2548) ซึ่งแพทย์แผนไทยได้มีการใช้น้ำมันมะพร้าวรักษาโรคต่าง ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง โรคที่เกิดจากการติดเชื้อ เนื่องจากน้ำมันมะพร้าวมีกรด lauric และสาร monolaurin ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสารดังกล่าวเป็นสารชนิดเดียวกับในน้ำมันมะพร้าวที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย เช่น *Staphylococcus aureus*, *Listeria* spp. *Streptococcus agalactiae*, Streptococci group A, F และ G โดยสาร Monolaurin นั้นจะทำให้ไขมันที่ล้อมรอบเซลล์ของจุลินทรีย์นั้นสลายตัวทำให้จุลินทรีย์โดยการทำลายผนังไซโทพลาสซึม ที่ให้สารต่าง ๆ ภายในเซลล์ออกมาภายนอกเซลล์ ส่งผลให้โปรตีนและ DNA เกิดการเสื่อมสภาพ (ณรงค์ โฉมเฉลา, 2548; Skrivanova et al., 2006) โดยสาร monolaurin 20 mg/ml สามารถลดการสร้าง exoenzymes, virulence factors, โปรตีน และลดการสร้างสารพิษ Toxin – 1 ซึ่งทำให้เกิดอาการช็อคได้อีกด้วย ส่งผลให้การเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus* ลดลง (Ruzin and Novick, 2000) ในขณะที่สาร monolaurin ความเข้มข้น 0.5 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* O157:H7 ได้นานถึง 24 ชั่วโมง (McLay et al., 2002) นอกจากนี้ยังพบว่าที่ระดับความเข้มข้นของกรด lauric 9.3% ในน้ำมันปาล์ม สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้สูงสุด (Ugbogu et al., 2006) ยิ่งไปกว่านั้น การใช้สารโมนอลอริน 0.2 mg/ml ร่วมกับกรดแลกติกที่ระดับความเข้มข้น 1.7% สามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อ *L. monocytogenes* บนเนื้อปลาตุ๋นได้ (Verhaegh et al., 1996) และค่า minimum inhibition concentration (MIC) ของสารโมนอลอรินต่อ *L. monocytogenes* ลดลงถึง 3 เท่า เมื่อค่า pH ลดลงจาก 7.0 เป็น 5.0 ทั้งนี้ สาร โมนอลอรินจะมีคุณสมบัติเป็น lipophilic และ emulsifier และกรดจะมีคุณสมบัติเป็น chaletor ดังนั้นการใช้สารโมนอลอรินร่วมกับกรดจะเพิ่มประสิทธิภาพในการต้านเชื้อ *L. monocytogenes* ได้ดียิ่งขึ้น (Oh and Marshall, 1992 and 1994) นอกจากนี้ยังพบว่าการเคลือบแผ่นฟิล์มที่ใช้ในการห่อโบโลยาไก่กึ่งด้วยกรดลอริกที่ระดับความเข้มข้น 8% สามารถลดปริมาณการปนเปื้อนเชื้อ *L. monocytogenes* จาก 6 log cfu/g เป็น 2 log cfu/g และสามารถยับยั้งเชื้อดังกล่าวได้นานถึง 21 วัน (Dawson et al., 2002) นอกจากนี้ Kabara (1993) ยังรายงานว่ กรดลอริกมีคุณสมบัติเป็นสาร food emulsifier ที่ได้รับการรับรองความปลอดภัยในการบริโภค (GRAS, generally recognized as safe) โดยสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกา (21 CFR GRAS 182.4505)



ภาพที่ 1 โครงสร้างของกรดลอริก

ที่มา : Sigma Adrich (2010a)



ภาพที่ 2 โครงสร้างของโมโนลอรีน

ที่มา : Sigma Adrich (2010b)

1.2.2 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

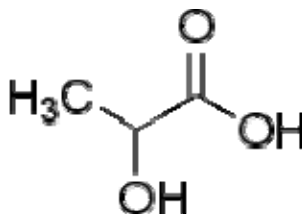
น้ำมันมะพร้าวที่สกัดแบบเย็นนั้นมีสาร alpha-Tocopherol ถึง 39.61 mg/kg ซึ่งเป็นสารต่อต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) โดยการป้องกันเซลล์ไม่ให้ถูกเติมออกซิเจน และเป็นตัวต่อต้านอนุมูลอิสระ (free radicals) (ณรงค์ โฉมเฉลา, 2548)

2. การใช้กรดแลกติกในอุตสาหกรรมอาหาร

กรดแลกติกเป็นกรดอินทรีย์ที่มีอยู่ในอาหารหลายชนิด และเป็นกรดอินทรีย์ที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมโรงงานฆ่าสัตว์และแปรรูปเนื้อสัตว์เพื่อควบคุมปริมาณเชื้อจุลินทรีย์

2.1 การผลิตกรดแลกติก

กรดแลกติกเป็นกรดอินทรีย์ที่ได้จากธรรมชาติจากกระบวนการหมักน้ำตาล โดยเชื้อในตระกูล Streptococcaceae และตระกูล Lactobacillaceae กรดแลกติกสามารถเตรียมได้จากการหมักน้ำตาลทรายขาวบริสุทธิ์ (highly refined sucrose) แล้วทำให้บริสุทธิ์โดยการเปลี่ยนให้เป็นผลึกของ calcium lactate จากนั้นนำมาทำปฏิกิริยากับกรดกำมะถัน (sulfuric acid) เพื่อให้ได้สารละลายกรดแลกติกบริสุทธิ์ สำหรับวิธีอื่น ๆ นั้น อาจทำได้โดยการหมักแป้งมันฝรั่งหรือกากน้ำตาลโดยใช้เชื้อ *Lactobacillus delbruckii* หรือ *Lactobacillus bulgaricus* จากนั้นใช้วิธีทำให้บริสุทธิ์แบบเดียวกับที่กล่าวมา (ศิวาพร ศิวเวช, 2529) โดยมีโครงสร้างเคมีดังภาพที่ 3 นอกจากนี้ กรดแลกติกยังเป็นส่วนประกอบของอาหารบางชนิดซึ่งเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ และมีปริมาณมากน้อยแตกต่างกันไป ดังตารางที่ 1



ภาพที่ 3 โครงสร้างของกรดแลกติก

ที่มา : Sigma Adrich (2010c)

ตารางที่ 1 ปริมาณของกรดแลกติกที่มีอยู่ในอาหารชนิดต่าง ๆ โดยธรรมชาติ

อาหาร	ปริมาณที่มีอยู่ในอาหาร (กรัม/กก.)	ค่าเฉลี่ยอาหารที่ผู้บริโภคกินเข้าไป (ต่อปี)	ค่าเฉลี่ยที่ผู้บริโภคได้รับกรดแลกติกในอาหาร (ต่อปี)
เนื้อหมู	9	41.7	375.3
เนื้อวัว	9	18.6	167.4
เนยแข็ง	13	12.5	162.5
เนยเหลว	10	9.3	93.0
เนื้อไก่	10	9.0	90.0
เนื้อแกะ	9	0.5	45.0
นมเปรี้ยว	10	6.5	69.0
เครื่องใน	9	3.9	35.1
ไส้กรอกหมักแห้ง	17	1.3	22.1
กระทล่ำปลีดอง	11	2.0	22.0
เนื้อม้า	9	1.8	16.2
เนื้อลูกวัว	9	1.4	12.6

ที่มา : Smulders and Woolthus (1986)

2.2 คุณสมบัติของกรดแลกติก

โครงสร้างของกรดแลกติก แบ่งตามคุณสมบัติการบิดระนาบแสงโพลาไรซ์ได้ 2 แบบ คือ D (-) และ L (+) กรดแลกติกในรูป L (+) จะพบได้ในสัตว์และมนุษย์ ในร่างกายมนุษย์เกิดจากเมตาโบลิซึมของกลูโคส หรือไกลโคเจน รวมทั้งยังพบในจุลินทรีย์พวกที่สร้างกรดแลกติก (lactic acid bacteria) ดังนั้น L (+) จึงเรียกได้ว่าเป็น natural or physiological lactic ซึ่งร่างกายมนุษย์สามารถสังเคราะห์ได้ในปริมาณ 114-117 กรัม lactate/ 24 ชั่วโมง/ 70 กิโลกรัม (Smulders and Woolthus, 1986) ส่วนกรดแลกติกในรูป D (-) จะได้มาจากการสังเคราะห์ (Krusch, 1978)

2.3 กรดแลกติกในทางการค้า มี 3 ประเภท คือ

2.3.1 Pure dry form เป็นกรดแลกติกบริสุทธิ์ (2-hydroxy propionic acid) ลักษณะเป็นผงสีขาว มีจุดหลอมเหลว 18 องศาเซลเซียส [racemic dl-form] ถึง 26 องศาเซลเซียส [lactic acid isomer, L (+)] โดยปกติจะอยู่ในรูปสารละลายที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

2.3.2 Edible grade เป็นกรดแลกติกที่ใช้กับอาหาร ลักษณะเป็นของเหลวสีค่อนข้างเหลือง มีความเข้มข้น 50-86%

2.3.3 Pharmaceutical grade เป็นกรดแลกติกที่ใช้ทางการแพทย์ มีลักษณะเป็นของเหลวใส ไม่มีสี มีความเข้มข้น 88-90% (Smulders and Woolthus, 1986)

การใช้กรดแลกติกในอุตสาหกรรมเนื้อสัตว์ได้รับการยอมรับมากขึ้นเนื่องจากเป็นสารที่ได้จากธรรมชาติ และได้การรับรองความปลอดภัยในการใช้เป็นสารปรุงแต่งรสอาหารในประเทศ

สหรัฐอเมริกา (FAO/WHO, 1974) ร่างกายของมนุษย์และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมส่วนใหญ่สามารถรับได้มากกว่า 1500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ซึ่งถือว่าเป็นปริมาณที่สูงมาก นอกจากนี้กรดแลกติกยังมีคุณสมบัติที่สามารถละลายน้ำได้ มีรสชาติแต่จะไม่กลบหรือลบลกลิ่นรสอื่น ๆ เมื่อใส่ลงในผลิตภัณฑ์อาหาร ความเป็นพิษต่ำ ไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค ไม่มีสารตกค้างใด ๆ และมีผลในการทำลายและยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ (Snijders et al., 1985)

2.4 กลไกในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียโดยใช้กรดอินทรีย์

ผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ด้วยกรดนั้น เกิดจากส่วนที่ชอบไขมัน (Lipophilic) ของกรดที่ใช้ ซึ่งจะอยู่ในรูปโมเลกุลที่ไม่แตกตัวและซึมผ่านเข้าไปในพลาสมาเมมเบรน (Plasma membrane) ของแบคทีเรียที่มีค่า pH ค่อนข้างเป็นกลาง (ค่า pH 7) ซึ่งสูงกว่าค่า pH ของไซโตพลาสซึม (Cytoplasm) ดังนั้นเมื่อกรดอยู่ในรูปที่ไม่แตกตัวเข้าไปก็เกิดภาวะแตกตัวออกในรูปของโปรตอน (Protons) และคอนจูเกตเตด เบส (Conjugated base) และจะมีผลในการทำลายออกซิเดทีฟ ฟอสฟอริเลชัน ฟอรั่ม (Oxidative phosphorylation form) ของระบบการขนส่งอิเล็กตรอน (Electron transport system) รวมไปถึงการยับยั้งระบบขนส่งสารโมเลกุล (Substrate molecule) เข้าสู่เซลล์ และผลในการทำลายหรือยับยั้งการเจริญเติบโตโดยกรดอินทรีย์นี้จะขึ้นกับค่าคงที่ของการแตกตัวของกรดด้วย (Adam and Hall, 1988) นอกจากนี้การลดค่า pH ของไซโตพลาสซึมส่งผลให้ไปยับยั้งการสังเคราะห์สารโมเลกุลขนาดใหญ่หลายชนิด เช่น ส่วนประกอบของผนังเซลล์ ดีเอ็นเอ ไขมัน โปรตีน และอาร์เอ็นเอ และเมื่อค่า pH ของกรดลดลง 1.0 จะมีผลให้ประสิทธิภาพของการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียเพิ่มมากขึ้น 10 เท่าตัว (ชัยณรงค์ คันธพนิต, 2529) นอกจากนี้การที่ค่า pH ลดต่ำลง มีผลให้สภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งค่า pH ที่ลดต่ำลงนั้นเป็นการช่วยขยายระยะเวลาในช่วงระยะพักให้นานออกไป จึงทำให้กรดมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ (Woolthius and Smulders, 1985)

2.5 ประสิทธิภาพของการใช้กรดแลกติก ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ ดังนี้

2.5.1 ปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อตั้งต้น Smulders et al. (1986) รายงานว่าถ้าเนื้อสัตว์นั้นมีปริมาณเชื้อตั้งต้นสูง ประสิทธิภาพของกรดแลกติกในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์จะลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อสัตว์ที่มีปริมาณเชื้อตั้งต้นต่ำ และ คมแซ พิลาสมบัติ (2540) ยังได้รายงานจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นบนผิวซากสุกรจากโรงฆ่าที่ได้มาตรฐานมีจำนวนต่ำกว่าโรงฆ่าไม่มาตรฐานอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) และเมื่อนี้ดพื้นด้วยสารละลายกรดแลกติก จำนวนจุลินทรีย์บนซากสุกรจากโรงฆ่าที่ได้มาตรฐานจะต่ำกว่าโรงฆ่าไม่มาตรฐานอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ซึ่งขัดแย้งกับรายงานของ Fu et al. (1994) ที่พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดบนซากสุกรที่ฉีดพ่นด้วยกรดอินทรีย์ไม่มีความแตกต่าง เนื่องจากปริมาณจุลินทรีย์มีจำนวนน้อยมาก เป็นผลมาจากการลวกซาก ขูดขน เฆาขน และการฉีดล้างด้วยน้ำแรงดันสูงในกระบวนการฆ่า จึงทำให้ไม่มีความแตกต่างอย่างชัดเจนระหว่างซากที่ใช้กรดและไม่ใช้กรด

2.5.2 ระดับความเข้มข้นของสารละลายกรดแลกติก สารละลายกรดแลกติกที่ระดับความเข้มข้นสูง จะมีผลทำให้มีค่า pH ต่ำ สามารถยับยั้งและทำลายจุลินทรีย์ได้มากกว่าสารละลายกรดแลกติกที่มีค่า pH สูง (Smulders and Woolthuis, 1986)

El-Khateib *et al.* (1993) รายงานว่าการใช้สารละลายกรดแลกติกระดับความเข้มข้น 2% (v/v) ฉีดพ่นบนเนื้อโคตัดเป็นรูปทรงสี่เหลี่ยมลูกบาศก์ ซึ่งผ่านการถ่ายเชื้อ *Listeria monocytogenes* และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าปริมาณเชื้อ *L. monocytogenes* ที่ผิวเนื้อลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ในระหว่างการเก็บที่เวลา 1 24 และ 48 ชั่วโมง (1.7 1.1 และ 0.6 log cfu/ตารางเซนติเมตร ตามลำดับ) และเปอร์เซ็นต์ของเชื้อ *L. monocytogenes* ที่ติดมากับเนื้อโคจะมีปริมาณลดลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกรดแลกติก นอกจากนี้คมแข พิลาสมบัติ (2540) รายงานว่าการฉีดพ่นสารละลายกรดแลกติก ระดับความเข้มข้น 1 2 และ 3% (v/v) บนซากสุกร พบว่าปริมาณจุลินทรีย์บนผิวซากสุกรมีแนวโน้มลดลงที่ระดับความเข้มข้นของสารละลายกรดแลกติกเพิ่มขึ้น ทั้งนี้จากรายงานของ Snijders *et al.* (1985) กล่าวว่า การใช้สารละลายกรดแลกติกที่ความเข้มข้นระดับใด ควรพิจารณาจากการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัส เช่น สี กลิ่น และรสชาติ เป็นต้น

2.5.3 อุณหภูมิในการเก็บรักษา Smulders and Woolthuis (1986) กล่าวว่าอาจพบจุลินทรีย์บนผิวที่เปียกชื้นบริเวณผิวซาก ซึ่งจะเจริญไปสู่เนื้อเยื่อ หรือบริเวณผิวของไขมันระหว่างกระบวนการแช่เย็น ดังนั้นบริเวณผิวซากควรมีการใช้กรดแลกติกให้เร็วที่สุดภายหลังเสร็จสิ้นกระบวนการฆ่า เพื่อให้การเจริญของจุลินทรีย์ในเนื้อช้าลง และ Cudjoe (1988) ได้ทำการศึกษาการใช้สารละลายกรดแลกติกที่ระดับความเข้มข้น 1% (v/v) ฉีดพ่นลงบนซากโค แล้ววิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (total viable count) ที่อุณหภูมิการเก็บ 4 15 และ 20 องศาเซลเซียส พบว่าสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดลงได้อย่างมีนัยสำคัญทุกอุณหภูมิที่ใช้ในการทดลอง และอายุการเก็บรักษาของตัวอย่างเพิ่มขึ้นอย่างน้อย 3 วัน เมื่อเก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และเพิ่มขึ้น 1 วัน เมื่อเก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ 15 และ 20 องศาเซลเซียส Anderson (1990) ทดลองโดยใช้วิธีการแช่ชิ้นเนื้อโคขนาด 2.54×2.54 ตารางเซนติเมตร ลงในสารละลายกรดแลกติกที่ระดับความเข้มข้น 0 1 2 และ 3% (v/v) เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 40 และ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วินาที พบว่าผลในการลดจำนวนจุลินทรีย์แปรผันโดยตรงกับระดับความเข้มข้นของกรดแลกติกที่ใช้ และทำการวัดการเปลี่ยนแปลงค่า pH ของเนื้อเมื่อวัดปริมาณกรดแลกติกที่ตกค้าง พบว่าค่า pH ลดลงในช่วง 5 วินาทีแรก แล้วเพิ่มขึ้นจนมีค่าใกล้เคียงกับตัวอย่างที่ไม่ได้ผ่านการจุ่มกรดแลกติกหลังการเก็บข้อมูลเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.5.4 วิธีการใช้กรดแลกติก ในการปฏิบัติมีการใช้กรดแลกติกอยู่ 2 วิธี ได้แก่ การฉีดพ่น (spray) และการจุ่ม (dip) โดยวิธีการใช้ขึ้นอยู่กับลักษณะของซากและความเหมาะสม ซึ่งการฉีดพ่นมักจะใช้กับซากที่มีขนาดใหญ่จะมีผลดี คือ ประหยัด แต่วิธีการฉีดพ่นก็มีเงื่อนไขในการใช้ คือ เมื่อทำการฉีดพ่นกรดแลกติกที่แรงดันสูง จะพบการสะสมของเหลวบริเวณใต้ผิวหนัง เมื่อนำซากไปแช่เย็นอาจจะพบลักษณะไม่พึงประสงค์ก็ได้ สำหรับการจุ่มจะนิยมใช้กับชิ้นส่วนชิ้นเล็ก ๆ เช่น

เครื่องในสัตว์ จะทำให้กรดแลกติกสามารถสัมผัสทุกจุดบนผิวชิ้นส่วนได้ แต่วิธีนี้จะทำให้กรดแลกติกสูญเสียประสิทธิภาพในการลดการปนเปื้อนลงที่ละน้อย เนื่องจากสามารถยึดเกาะกับเปปไทด์และโปรตีนได้ง่าย จึงทำให้สามารถปลดปล่อยไอออนลงสู่อิมเมอร์ชัน แทงค์ (immersion tank) ได้ง่าย (Woolthuis and Smulders, 1986)

2.6 การใช้สารละลายกรดแลกติกในการลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* ในหลอดทดลอง

คมแข พิลสมบัติ (2540) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของสารละลายกรดแลกติกในการลดจำนวนเชื้อ *S. aureus* ในหลอดทดลอง (*in vitro* test) ไม่พบการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* โดยการใช้สารละลายกรดแลกติกที่ระดับความเข้มข้นของสารละลายกรดแลกติกเท่ากับ 1 2 และ 3% (v/v) ภายในชั่วโมงแรก แต่เมื่อระยะเวลาที่สารละลายกรดแลกติกสัมผัสกับเชื่อนานขึ้น จะพบแนวโน้มการลดลงมากที่สุดเมื่อกรดแลกติกสัมผัสกับเชื่อนาน 48 ชั่วโมง

ผุสดี ดังวัชรินทร์ (2543) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของสารละลายกรดแลกติกในการลดจำนวนเชื้อ *S. aureus* ในหลอดทดลอง พบว่าสารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 2% (v/v) ระยะเวลาสัมผัสกับเชื่อนาน 1 นาที สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ที่ระดับเชื้อเริ่มต้น 4 และ 5 log cfu/ml และ 2 นาที ที่ระดับเชื้อเริ่มต้น 6 log cfu/ml

นอกจากนี้ การใช้สารละลายกรดแลกติกบนเนื้อสัตว์ยังมีผลต่อคุณภาพของเนื้อทางด้านอื่น ๆ ดังจะได้กล่าวในหัวข้อถัดไป

2.7 การใช้สารละลายกรดแลกติกในการลดปริมาณการปนเปื้อนของจุลินทรีย์บนเนื้อสัตว์

การใช้กรดแลกติกมีผลในการฆ่าจุลินทรีย์ และชะลอการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ทนกรด การทำงานของกรดแลกติกเริ่มจาก กรดแลกติกที่พ่นหรือจุ่มลงในเนื้อจะรวมตัวกับน้ำบริเวณผิวเนื้อสัตว์ และซึมเข้าไปในเซลล์ จากนั้นรวมตัวกับเซลล์เป็นเวลา 10 - 60 นาที แล้วแยกตัวออกมา การเข้าไปรวมตัวกับเซลล์จะทำให้เซลล์มีความเป็นกรดเพิ่มขึ้น (Eklund, 1989) เกิดกระบวนการทางเคมียับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ โดยการใช้กรดแลกติกมีผลในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ (Ingham, 1988)

ระดับการใช้ที่เหมาะสม ยังไม่สามารถยืนยันว่าควรใช้ในระดับใด แต่จากรายงานของ Labots (1983) พบว่าการใช้กรดแลกติกในระดับความเข้มข้นสูงที่ 5% (v/v) มีผลในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์อย่างรวดเร็วแต่จะทำให้สีของเนื้อเปลี่ยนไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค โดยระดับการใช้ที่ไม่มีผลต่อสีของเนื้อ คือที่ระดับความเข้มข้น 2% (v/v)

การศึกษาการใช้สารละลายกรดแลกติกในการลดปริมาณจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์สามารถแบ่งได้ตามประเภทของเนื้อสัตว์ที่ทำการศึกษาดังนี้

2.7.1 เนื้อไก่ Zeitoun and Debevere (1990) กล่าวว่า การลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิตเนื้อสัตว์ โดยใช้กรดอินทรีย์ธรรมชาติ คือ กรดแลกติก จะมีผลในการลดและกำจัดจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย และทำให้เกิดโรคจากเนื้อสัตว์ปีกได้ Hwang and Beuchat (1995) รายงานว่าการใช้สารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 1% (v/v) ฉีดล้างผิวซากของสัตว์ปีก เป็นผลให้ปริมาณเชื้อ *L. monocytogenes* และ *S. aureus* ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกรณีฉีดล้างด้วยน้ำ

Sawaya et al. (1995) ได้ทำการศึกษาการใช้กรดแลกติกเจือจาง โดยการจุ่มซากไก่เนื้อลงในสารละลายกรดแลกติก/โซเดียมแลกเตตความเข้มข้น 10% (w/v) (กรดแลกติก 0.902 mol/l และโซเดียมแลกเตต 0.2082 mol/l) เป็นเวลานาน 1 นาที ก่อนการบรรจุแบบเดิมก๊าซ (modified atmosphere-packaging, MAP) พบว่ากรดแลกติกเจือจางสามารถเพิ่มอายุการเก็บรักษาของซากไก่เนื้อได้ 6-7 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 5-6 วัน ที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส

2.7.2 เนื้อสุกร Netten (1994) กล่าวว่า การใช้สารละลายกรดแลกติกในการลดปริมาณจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์นั้น เป็นการฆ่าเชื้อโรคมากกว่าที่จะเป็นการป้องกันแบคทีเรียที่ปนเปื้อนบริเวณผิวหนังสุกร

Prasai et al. (1992) ได้ทำการศึกษาการใช้สารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 1% (v/v) จืดพ่นบนผิวซากสุกรภายหลังการชำแหละ และหลังการเอาเครื่องในออก เพื่อทำการวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ที่ใช้ออกซิเจนทั้งหมด (aerobic plate count) ภายหลังการจืดพ่นสารละลายกรดแลกติกเป็นเวลา 0 และ 48 ชั่วโมง พบการลดลงของจุลินทรีย์ แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ซึ่งผลภายหลังการจืดพ่นสารละลายกรดแลกติก 48 ชั่วโมง อาจมีเหตุมาจากผิวซากที่แห้ง เนื่องจากการแช่เย็นหรืออุณหภูมิในห้องแช่เย็นและอาจมีเหตุมาจากช่วงระยะพักตัวของเชื้อจุลินทรีย์ที่ถูกทำลายเนื่องจากกรดแลกติก ทำให้การเพิ่มปริมาณของจุลินทรีย์ช้าลง และพบว่าความแตกต่างในด้านรสสัมผัส สีของเนื้อแดง การเปลี่ยนแปลงของสีที่ผิวเนื้อทั้งหมดไม่มีความแตกต่างกันเมื่อเทียบกับกลุ่มซากสุกรที่ไม่ได้จืดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก นอกจากนี้ Prasai (1997) ยังได้ทำการศึกษาถึงผลของการเก็บรักษาเป็นระยะเวลานานกับปริมาณการปนเปื้อนของจุลินทรีย์บนผิวเนื้อสุกร พบว่าปริมาณการปนเปื้อนของจุลินทรีย์บนผิวเนื้อสุกรหลังจากวันที่ 56 ซึ่งผ่านการใช้กรดแลกติกไม่มีความแตกต่างกับเนื้อสุกรที่ไม่ใช้กรด แสดงให้เห็นว่าคุณสมบัติการป้องกันจุลินทรีย์ของกรดแลกติกหลังจาก 28 วัน ไม่สามารถที่จะทำลายการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้

นอกจากนี้ ผุสดี ตั้งวัชรินทร์ และคณะ (2544) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของสารละลายกรด lactic ในการลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* บนเนื้อสันนอกสุกร โดยทำการเก็บรักษาเนื้อที่อุณหภูมิ 4 และ 15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 1 3 5 และ 7 วัน พบว่าเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สารละลายกรด lactic ความเข้มข้น 2 % (v/v) สามารถลดจำนวนเชื้อ *S. aureus* และจะควบคุมจำนวนเชื้อดังกล่าวได้นานถึง 7 วัน ส่วนเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อนี้ได้

2.7.3 เนื้อโค Prasai (1997) ยังได้ทำการศึกษาถึงผลการจืดพ่นสารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 1.5% (v/v) บนเนื้อโค โดยแบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม คือกลุ่มเปรียบเทียบ (ไม่ได้จืดพ่นสารละลายกรดแลกติก, C) กลุ่มจืดพ่นสารละลายกรดแลกติกภายหลังการเก็บรักษา (O/A) กลุ่มจืดพ่นสารละลายกรดแลกติกก่อนการเก็บรักษา (A/O) กลุ่มจืดพ่นสารละลายกรดแลกติกก่อนและหลังการเก็บรักษา (A/A) และกลุ่มจืดพ่นสารละลายกรดแลกติกก่อนการเก็บรักษาและจืดพ่นน้ำหลังการเก็บรักษา (A/W) ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา -1.1 และ 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 14 28 56 84 และ 126 วัน โดยการเก็บรักษาแบบสุญญากาศ พบว่าการจืดพ่นก่อนการเก็บรักษา (A/O) มีผลต่อ

การลดปริมาณของเชื้อแบคทีเรียมากกว่าการฉีดพ่นหลังการเก็บรักษา (O/A) ในวันที่ 28 ของการเก็บรักษา ($P < 0.05$) คือ ลดลง 1.9 และ 1.5 log cfu/ตารางเซนติเมตร ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา -1.1 และ 2 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ปริมาณเชื้อแบคทีเรียบนเนื้อสันนอกที่ผ่านการฉีดพ่นก่อนและหลังการเก็บรักษา (A/A) หรือฉีดพ่นสารละลายกรดแลกติกก่อนการเก็บรักษาและฉีดพ่นน้ำภายหลังการเก็บรักษา (A/W) มีแนวโน้มลดลงน้อยกว่าการฉีดพ่นเฉพาะก่อนการเก็บรักษา (A/O) ($P < 0.10$) แสดงให้เห็นว่าการฉีดพ่นภายหลังการเก็บรักษามีผลน้อยมากต่อการลดปริมาณแบคทีเรียบนเนื้อสันนอกโค รายละเอียดแสดงดังตารางที่ 2

Visser (1988) รายงานการใช้สารละลายกรดแลกติก 2% (v/v) บนลิ้นวัว พบว่าการเก็บรักษาลิ้นวัวเป็นเวลา 14 วัน ภายใต้การบรรจุแบบสุญญากาศ มีผลทำให้อัตราการลดลงของ จุลินทรีย์สูงสุด โดยพบว่าจุลินทรีย์ทั้งหมดลดลงจาก 5.6 เหลือเพียง 2.7 log cfu/ตารางเซนติเมตร โดยอาจมีผลเนื่องมาจากระยะพักตัวของจุลินทรีย์ที่นานขึ้นเมื่อมีการใช้สารละลายกรดแลกติก

2.7.4 เนื้อสัตว์น้ำ Ingram (1988) รายงานว่าการใช้เนื้อปลาจุ่มในสารละลายกรดแลกติกสามารถลดปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียได้ดี โดยการนำเนื้อปลาจุ่มในสารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 1.77 และ 2.55% (v/v) พบการลดลงของเชื้อจุลินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อปลากลุ่มที่ไม่ใช้สารละลายกรดแลกติก

Kim (1995) รายงานว่าการนำเนื้อปลาจุ่มในสารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 2 และ 3% (v/v) ร่วมกับเชื้อแบคทีเรียที่สร้างกรดแลกติกความเข้มข้น 2.5% (v/v) เป็นเวลานาน 1-5 นาที และทำการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบการลดลงของเชื้อแบคทีเรียพวกแกรมลบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และสามารถเก็บเนื้อปลาได้ถึงวันที่ 9 นอกจากนี้ยังได้สรุปว่าเนื้อปลาที่จุ่มด้วยสารละลายกรดแลกติกร่วมกับเชื้อแบคทีเรียที่สร้างกรดแลกติกจะให้ผลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบได้ดีกว่าการใช้สารละลายกรดแลกติกอย่างเดียว และยังคงกล่าวอีกว่าเชื้อแบคทีเรียแกรมลบมีความทนต่อค่า pH ที่ต่ำได้น้อยกว่าแบคทีเรียแกรมบวก ถึงแม้ว่ากรดแลกติกจะสามารถควบคุมเชื้อแบคทีเรียแกรมลบได้ดี แต่กลับพบว่ากลิ่นของเนื้อปลาที่จุ่มในสารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 2 และ 3% (v/v) ไม่เป็นที่พึงพอใจของผู้บริโภค และถ้าหากใช้สารละลายกรดแลกติกความเข้มข้นมากกว่า 3% (v/v) กับเนื้อปลา พบว่ากรดจะย่อยกล้ามเนื้อของปลา

2.8 การใช้สารละลายกรดแลกติกต่อการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ของเนื้อสัตว์

การใช้สารละลายกรดแลกติกฉีดพ่นลงบนผิวเนื้อสัตว์ จะทำให้ลดปริมาณจุลินทรีย์ โดยกรดแลกติกซึมเข้าไปในเนื้อเยื่อสัตว์ทำให้เพิ่มความเป็นกรดของเนื้อเยื่อ ซึ่งจากคุณสมบัติของเนื้อที่เปลี่ยนแปลงนี้ ทำให้จุลินทรีย์ชะงักการเจริญเติบโตหรือตาย

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของระดับค่า pH บริเวณผิวซาก หลังจากฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติกภายหลังสัตว์ตาย 2.5 ชั่วโมง ค่า pH ที่ผิวซากลดลง 3.3 หน่วย และหลังจากนั้น 24 ชั่วโมง พบว่าระดับของค่า pH เพิ่มขึ้น 2 หน่วย แต่ยังคงต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่ได้ผ่านการฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติกอย่างมีนัยสำคัญ และเมื่อทำการวัดค่า pH ที่ 72 ชั่วโมง ค่า pH จะเพิ่มขึ้นใกล้เคียงกับการวัดภายหลังสัตว์ตาย (Snijders et al., 1985)

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ย^a จุลินทรีย์ที่ใช้ออกซิเจนทั้งหมด (log cfu/ตารางเซนติเมตร) บนเนื้อโคในการฉีด
 พ่นสารละลายกรดแลกติกก่อน และหลังการบรรจุแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ -1.1 และ
 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 126 วัน

เวลาการเก็บ รักษา(วัน)	อุณหภูมิการ เก็บรักษา (องศาเซลเซียส)	กลุ่มศึกษา ^b				
		C	O/A	A/O	A/W	A/A
0	-1.1	3.1±0.4	2.1±0.4 ^c	2.2±0.5	2.0±0.4	2.4±0.4
	2	3.1±0.4	2.8±0.4	2.3±0.5	1.9±0.4 ^c	2.2±0.4
14	-1.1	3.5±0.4	3.4±0.4	2.4±0.5 ^c	2.3±0.4 ^c	2.2±0.4 ^c
	2	4.3±0.4	4.2±0.4	2.8±0.5 ^c	2.3±0.4 ^c	2.1±0.5 ^c
28	-1.1	4.2±0.4	4.3±0.5	2.3±0.5 ^c	2.8±0.7	2.0±0.4 ^c
	2	4.8±0.4	5.4±0.5	3.3±0.5 ^c	2.3±0.4 ^c	3.7±0.4
56	-1.1	5.1±0.4	5.6±0.5	4.6±0.5	5.1±0.7	4.8±0.4
	2	6.2±0.4	5.3±0.4 ^c	5.8±0.5	5.4±0.4	5.9±0.4
84	-1.1	6.2±0.4	6.2±0.7	5.2±0.5	4.6±0.5 ^c	5.0±0.4 ^c
	2	7.3±0.4	6.7±0.4	6.6±0.5	5.9±0.4 ^c	5.7±0.4 ^c
126	-1.1	6.6±0.4	6.0±0.4	5.7±0.5	5.5±0.5	5.5±0.4
	2	7.2±0.4	7.1±0.4	6.9±0.5	6.2±0.4	6.7±0.4

^a ค่าเฉลี่ย ± S.E. ของแต่ละกลุ่มการศึกษาจากการสุ่มผิวตัวอย่างกลุ่มละ 3 ตัวอย่าง (6 ตัวอย่าง ในกรณี A/O) ในการทำการสุ่มผิวตัวอย่างทำการสุ่มจาก 4 ตำแหน่ง บนเนื้อสันนอกบริเวณต่างกัน ขนาด 45.6 ตารางเซนติเมตร

^b C กลุ่มเปรียบเทียบ O/A กลุ่มฉีดพ่นกรดหลังการเก็บสุญญากาศ A/O กลุ่มฉีดพ่นกรด ก่อนการเก็บสุญญากาศ A/W กลุ่มฉีดพ่นกรดก่อนและฉีดน้ำหลังการเก็บสุญญากาศ และ A/A กลุ่มฉีดพ่นกรดก่อนและหลังการเก็บสุญญากาศ

^c ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกับกลุ่มเปรียบเทียบอย่างมีนัยสำคัญในแนวนอน ($P < 0.05$)

ที่มา : Prasai (1997)

2.9 การใช้สารละลายกรดแลกติกต่อการสูญเสียน้ำหนักของเนื้อสัตว์

การใช้สารละลายกรดแลกติกจะทำให้เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักเพิ่มขึ้น เนื่องจากกรดแลกติกจะแทรกซึมเข้าสู่เซลล์ผิวของเนื้อสัตว์ ทำให้เนื้อมีประสิทธิภาพความเป็นกรดมากขึ้น อาจมีผลทำให้โปรตีนในกล้ามเนื้อที่ละลายน้ำได้ (sarcoplasmic protein) สูญเสียคุณสมบัติบางประการ โดยจะตกตะกอนลงบนโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของเส้นใยกล้ามเนื้อ (myofibrillar protein) ทำให้เนื้อสัตว์มีความสามารถในการอุ้มน้ำต่ำลง และจะมีน้ำเยิ้มออกมาที่บริเวณผิวหน้าของเนื้อ ดังนั้นจึงมีการ

สูญเสียน้ำหนักขึ้น (จุฑารัตน์ เศรษฐกุล, 2536) นอกจากนี้การสูญเสียน้ำหนักเกิดจากสภาพของเนื้อด้วย ในกรณีของเนื้อที่มีค่า pH ต่ำ คือเป็นเนื้อซิดและน้ำ (pale soft exudative, PSE) มีค่า pH ต่ำโดยปกติอยู่แล้ว ทำให้ความสามารถในการจับน้ำของเนื้อลดลงกว่าเดิม เมื่อมีการใช้สารละลายกรดแลกติกเปรียบเทียบกับในเนื้อปกติ และเนื้อคล้ำ แน่นแข็ง และแห้ง (dark firm dry, DFD) (ชัยณรงค์ คันธพนิต, 2529)

Oliveira and Brito (1996) รายงานว่าจากการใช้สารละลายกรดแลกติกบนซากแกะ โดยทำการฉีดพ่นที่ระดับความเข้มข้น 1.25% และ 4.05% (v/v) พบว่าผลของการใช้สารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 1.25% (v/v) จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับซากที่ไม่ได้ผ่านการฉีดพ่นกรด และการใช้สารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 2% และ 4.05% (v/v) พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ทั้งหมดได้ทั้ง 2 ระดับความเข้มข้น แต่ที่ระดับความเข้มข้น 4.05% (v/v) ทำให้มีน้ำไหลเยิ้มออกมามาก จึงอาจสรุปได้ว่าการใช้สารละลายกรดแลกติกที่ระดับความเข้มข้น 2% (v/v) นั้นจะให้ผลดีที่สุด

Alves (1995) ได้ทำการศึกษาการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ผิวกล้ามเนื้อ *M. gluteobiceps* โดยแบ่งเป็น 4 กลุ่ม คือใช้สารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 2% (v/v) สารละลายกรดอะซิติกความเข้มข้น 2% (v/v) สารละลายกรดผสมของกรดทั้งสองชนิดผสมกับสารละลายโซเดียมแอสคอร์เบตความเข้มข้น 0.2% (v/v) และกลุ่มที่ไม่ใช้สารละลาย จากนั้นบรรจุสุญญากาศและเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง พบว่าตัวอย่างที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติกผสมกับกรดอะซิติกและสารละลายโซเดียมแอสคอร์เบต มีผลต่อการลดปริมาณจุลินทรีย์อย่างมาก แต่พบว่าเป็นสาเหตุให้มีน้ำไหลซึมออกมาเพิ่มขึ้นด้วย โดยมีการสูญเสียของน้ำประมาณ 4.37 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อที่ไม่ได้ฉีดพ่นสารละลายกรด ซึ่งมีความสูญเสียของน้ำประมาณ 2.35 เปอร์เซ็นต์

2.10 การใช้สารละลายกรดแลกติกต่อการเปลี่ยนแปลงรสของเนื้อสัตว์

Guerrero and Taylor (1994) ได้ทำการศึกษาการลดปริมาณจุลินทรีย์ที่บริเวณผิวของเนื้อสัตว์ด้วยกรดแลกติกจากการสังเคราะห์เคมี และจากจุลินทรีย์ พบว่ากรดแลกติกสังเคราะห์มีผลทำให้คุณลักษณะด้านรสสัมผัสของเนื้อสัตว์คงตัว และลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ของเนื้อสัตว์ ทำให้อายุการเก็บรักษาเนื้อสดนานขึ้น แต่อย่างไรก็ตามอาจประยุกต์ใช้เชื้อแบคทีเรียที่สร้างกรดแลกติก (lactic acid bacteria) บนผิวของเนื้อสัตว์เพื่อลดจำนวนจุลินทรีย์และไม่มีผลต่อคุณลักษณะด้านรสสัมผัส

2.11 การใช้สารละลายกรดแลกติกต่อการเปลี่ยนแปลงสี และกลิ่นของเนื้อสัตว์

สีของเนื้อสัตว์มีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภคอย่างมาก ซึ่งผู้บริโภคจะถือว่าเนื้อสัตว์ต้องมีสีแดงสดเสมอ ถ้าเนื้อสัตว์มีสีซีดจางลงหรือคล้ำขึ้นก็เป็นปัจจัยให้ผู้บริโภคไม่ยอมรับเนื้อสัตว์นั้น สีแดงสดของเนื้อสัตว์เกิดจากเนื้อสัตว์นั้นสัมผัสอากาศ เม็ดสีในเนื้อ คือ ไมโอโกลบิน (myoglobin) จะรวมตัวกับออกซิเจนในอากาศเป็นออกซิไมโอโกลบิน (oxymyoglobin) โดยออกซิเจนจะจับกับโมเลกุลของธาตุเหล็กบนเม็ดสีให้อยู่ในรูปเฟอร์รัส (ferrous) ทำให้เนื้อสัตว์มีสีแดง

สด แต่เมื่อเนื้อถูกทิ้งไว้ในอากาศเป็นเวลานานออกซิโมโกลบิน จะถูกออกซิไดซ์เป็นเมทโมโกลบิน (metmyoglobin) และธาตุเหล็กจะเปลี่ยนสภาพมาอยู่ในรูปเฟอร์ริก (ferric) ซึ่งไม่สามารถจับกับออกซิเจนได้ เนื้อสัตว์จะมีสีน้ำตาล สภาวะเช่นนี้อาจเกิดจากการกระทำของแบคทีเรีย เอนไซม์ หรือการทำปฏิกิริยากับไขมัน หรืออื่น ๆ ซึ่งทำให้โมโกลบินจับกับออกซิเจนได้น้อยลง (Shivas et al., 1984; Mancini et al., 2007)

Cudjoe and Kapperud (1991) รายงานการฉีดพ่นกรดแลคติกบนเนื้อไก่สดแช่แข็ง พบว่าผิวหนังจะเป็นสีเทาทันทีหลังจากการฉีดพ่นด้วยกรดแลคติก แต่สีนั้นจะกลับมาเป็นปกติ ภายหลัง 24 ชั่วโมง จึงอาจสรุปว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงของสีในเนื้อไก่สดภายหลังการฉีดพ่นด้วยกรดแลคติก

Smulders and Woolthuis (1986) รายงานว่าสารละลายกรดแลคติกมีผลต่อสีของเนื้อ คือ ทำให้สีซีดจาง ซึ่งบางครั้งไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ความซีดจางของสีเนื้อจะมากขึ้นขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารละลายกรดแลคติก โดยการใช้สารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 1% (v/v) ฉีดพ่นบนซากโค จะพบว่าซากโคสีซีดจางเพียงเล็กน้อย และยังได้รายงานอีกว่าการใช้สารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 1.2% (v/v) กับซากแกะ พบว่าสีของซากแกะยังเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค โดยความเข้มข้นของกรดแลคติกที่เพิ่มขึ้น ทำให้เนื้อมีสีซีดจางขึ้น แต่เมื่อนำซากที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติกไปแช่เย็นที่อุณหภูมิต่ำเป็นเวลา 1-2 วัน พบว่าสีของซากที่เคยซีดจางกลับมาเป็นปกติ

Woolthuis and Smulders (1985) ได้ทำการศึกษาการใช้สารละลายกรดแลคติกที่ความเข้มข้น 0.75 1.00 1.25 1.50 2.00 และ 2.50% (v/v) ฉีดพ่นซากลูกโค ทำการวิเคราะห์หาปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด ทางด้านกายภาพทำการวัดสี และทดสอบรสชาติ (flavour) สรุปว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมคือ 1.25- 2% (v/v) ซึ่งพบการลดลงของจุลินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญ โดยสีและรสชาติเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ซึ่งสอดคล้องกับ Prasai (1991) ที่ได้ทำการศึกษาโดยใช้สารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 1% (v/v) ฉีดพ่นบนซากโคภายหลังการดองหนัง และหลังจากเอาเครื่องในออก ทำการบรรจุแบบสุญญากาศเป็นระยะเวลา 14 วัน ที่อุณหภูมิ 3 ± 1 องศาเซลเซียส ทำการวิเคราะห์สีและกลิ่นของเนื้อแดง และการยอมรับของผู้บริโภค พบว่าเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค และไม่พบความแตกต่างด้านสีและกลิ่นของเนื้อระหว่างซากที่ได้รับการฉีดพ่นกรดภายหลังการดองหนัง และการเอาเครื่องในออกกับซากที่ไม่ได้รับการฉีดพ่นกรด แสดงรายละเอียดดังตารางที่ 3 นอกจากนี้ Surve (1991) ยังรายงานว่า การใช้สารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 1.5% (v/v) ผสมกับกรดอะซิติกความเข้มข้น 1.5% (v/v) บนเนื้อกระบือพบการลดลงของปริมาณแบคทีเรีย และเพิ่มอายุการเก็บรักษาได้นานขึ้นถึง 7 วัน ที่อุณหภูมิ 7 ± 1 องศาเซลเซียส โดยไม่มีผลกระทบต่อสีและกลิ่นของเนื้อกระบือ

Woolthuis (1984) รายงานว่าการใช้ดับสุญญากาศในสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 0.20% (v/v) เป็นเวลา 5 นาที บรรจุโดยวิธีสุญญากาศ (vacuum) เก็บที่อุณหภูมิ 3 ± 1 องศาเซลเซียส พบว่ากรดแลคติกทำให้ดับมีสีซีดลงเล็กน้อย แต่หลังการเก็บโดยวิธีสุญญากาศที่อุณหภูมิ

3±1 องศาเซลเซียส กลับไม่พบความผิดปกติของสัตว์ ขณะที่ Kim (1995) รายงานว่าการนำเนื้อปลาจุ่มในสารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 2 และ 3% (v/v) ร่วมกับเชื้อแบคทีเรียที่สร้างกรดแลกติกความเข้มข้น 2.5% (v/v) เป็นเวลา 1-5 นาที และทำการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าที่ระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น คะแนนการประเมินคุณภาพด้านกลิ่นของเนื้อปลามีแนวโน้มลดลง ($P < 0.10$) และเนื้อปลาที่จุ่มในสารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 3% (v/v) เป็นเวลานาน 1 นาที พบว่ามีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อปลาที่ไม่ได้จุ่มในสารละลายกรดแลกติก

ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ยคะแนนการรับสัมผัสของเนื้อสันนอกโค^a ภายหลังการบรรจุสุญญากาศเป็นเวลา 4 วัน (3±1 องศาเซลเซียส)

โรงฆ่า ^b	การรับสัมผัส	การศึกษา ^c				เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย ^d
		C	D	E	F	
1	สีเนื้อแดง	5.4 ^e	5.6	5.8	5.8	<u>E F D C</u>
	การยอมรับผู้บริโภค	4.8	5.8	6.2	5.6	<u>E D F C</u>
	กลิ่น	3.4	2.4	2.1	2.8	<u>C F D E</u>
2	สีเนื้อแดง	4.8	4.4	5.6	4.8	<u>E C F D</u>
	การยอมรับผู้บริโภค	4.6	5.2	6.0	4.6	<u>E D F C</u>
	กลิ่น	1.4	2.2	3.6	2.2	<u>E D F C</u>

^a เนื้อสันนอกที่ได้จากการตัดแต่งซากในกลุ่มควบคุมและที่ได้รับการฉีดพ่นกรด ซึ่งผ่านการแช่เย็นที่อุณหภูมิ 1±0.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมงภายหลังการฆ่า

^b จำนวนโคในแต่ละโรงฆ่าคือ 20 ตัว

^c C กลุ่มที่ไม่ได้รับการฉีดพ่นสารละลายกรดแลกติก (ควบคุม) D กลุ่มที่ได้รับการฉีดพ่นสารละลายกรดแลกติก 1% (55 องศาเซลเซียส) ภายหลังการดอง E กลุ่มที่ได้รับการฉีดพ่นสารละลายกรดแลกติกภายหลังการเอาเครื่องในออก F กลุ่มที่ได้รับการฉีดพ่นสารละลายกรดแลกติกภายหลังการดองและการเอาเครื่องในออก

^d ค่าเฉลี่ยที่ไม่ได้อยู่บนเส้นตรงเดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ส่วนค่าเฉลี่ยที่อยู่บนเส้นตรงเดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

^e คะแนนในแต่ละการศึกษาเป็นค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ โดยการให้คะแนนสีและการยอมรับของผู้บริโภค มีคะแนน 8 ระดับ (8 คือเป็นที่พึงพอใจมาก และ 1 คือไม่เป็นที่พึงพอใจมาก) ส่วนการให้คะแนนกลิ่น มีคะแนน 5 ระดับ (5 คือกลิ่นไม่ผิดปกติ และ 1 คือกลิ่นผิดปกติ)

ที่มา : Prasai (1991)

ระดับการใช้กรดแลกติกไม่มีการระบุไว้อย่างแน่นอนว่าต้องใช้ในระดับใด จึงจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์และไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพของเนื้อ โดยพบว่า

ระดับการใช้ต่ำสุดที่มีการทดลองใช้คือ 1.00 1.20 1.25 และ 2.00% (v/v) ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนสีของเนื้อ แต่ในช่วงหลังของการฉีดพ่นสารละลายกรดแลกติกลงบนผิวหนังของเนื้อจะเปลี่ยนไปจากปกติ เมื่อนำไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นอกจากนี้ลักษณะของสีเนื้อที่เปลี่ยนขึ้นอยู่กับเนื้อด้วย โดยถ้าเนื้อที่มีลักษณะเป็นเนื้อชิดและฉ่ำน้ำมาฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติกความเข้มข้นเพียง 1.25% (v/v) พบว่ามีผลทำให้สีของเนื้อเปลี่ยน ซึ่งการเปลี่ยนสีของเนื้อที่ใช้สารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 1.25% (v/v) เกิดจากการเปลี่ยนสีของไขมันใต้ผิวหนัง (subcutaneous fat) ที่ปกคลุมอยู่ใต้ผิวหนัง แต่หลังจากมีการตัดแต่งเอาไขมันออกแล้วสามารถใช้กรดแลกติกที่ความเข้มข้นสูงกว่า 2% (v/v) ได้ โดยไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนสี การเปลี่ยนสีของเนื้อที่ไม่มีไขมันปกคลุม เริ่มเกิดขึ้นเมื่อใช้สารละลายกรดแลกติกที่ระดับความเข้มข้น 2.5% (v/v) โดยทำให้เนื้อแดงและหน้าตัดเนื้อเสียสภาพและการเปลี่ยนสีจะเริ่มเกิดขึ้นมากเมื่อใช้สารละลายกรดแลกติกที่ระดับความเข้มข้นสูงขึ้นถึงระดับ 5% (v/v) ซึ่งไม่สามารถยอมรับให้นำมาใช้เนื่องจากทำให้สีของเนื้อแดงเปลี่ยนแปลง (Smulders and Woolthus, 1986)

2.12 การเปรียบเทียบการใช้สารละลายกรดแลกติกและสารละลายกรดอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติบางประการของเนื้อสัตว์

Surve (1991) ที่ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของสารละลายกรดอะซิติกร่วมกับกรดแลกติก และสารละลายกรดอะซิติกร่วมกับกรดโพรพิโอนิก ความเข้มข้น 1 2 3 และ 4% (v/v) ในการลดจำนวนเชื้อ *S. aureus* และจุลินทรีย์ทั้งหมดบนเนื้อกระป๋องที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 168 ชั่วโมง พบว่าที่ระยะเวลาการเก็บรักษานาน 24 ชั่วโมง การใช้สารละลายกรดอะซิติกร่วมกับกรดแลกติกความเข้มข้น 2% (v/v) สามารถลดจำนวนเชื้อ *S. aureus* และจุลินทรีย์ทั้งหมดได้มากกว่าการใช้สารละลายกรดอะซิติกร่วมกับกรดโพรพิโอนิกความเข้มข้น 2% (v/v) ขณะที่การใช้สารละลายกรดอะซิติกร่วมกับกรดแลกติก และสารละลายอะซิติกร่วมกับกรดโพรพิโอนิก ความเข้มข้น 1 และ 2% (v/v) พบว่าเนื้อกระป๋องไม่มีความผิดปกติด้านกลิ่น และที่ระยะเวลาการเก็บรักษานาน 168 ชั่วโมง พบว่าเนื้อกระป๋องมีสีซีดผิดปกติเนื่องจากการใช้สารละลายกรดอะซิติกร่วมกับกรดโพรพิโอนิกความเข้มข้น 3% (v/v) แต่การใช้สารละลายกรดอะซิติกร่วมกับกรดแลกติกความเข้มข้น 3% (v/v) ไม่พบความผิดปกติด้านสีและกลิ่นของเนื้อกระป๋อง ในขณะที่การใช้สารละลายกรดอะซิติกร่วมกับกรดโพรพิโอนิกความเข้มข้น 3% (v/v) พบว่าเนื้อกระป๋องมีกลิ่นผิดปกติ

3. จุลินทรีย์ก่อโรคที่สำคัญในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์แปรรูปจากเนื้อสัตว์

การปนเปื้อนจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์แปรรูปจากเนื้อสุกมักมีสาเหตุเนื่องจากเนื้อสัตว์ที่ใช้ในการผลิตเป็นเนื้อสัตว์ที่ผ่านกระบวนการฆ่าและชำแหละ ขั้นตอนในการแปรรูปผลิตภัณฑ์ตลอดจนการเก็บรักษาที่ไม่ถูกสุขลักษณะ ทั้งนี้จุลินทรีย์ที่พบในเนื้อสัตว์ มีทั้งแบคทีเรีย รา และยีสต์ ซึ่งแหล่งการปนเปื้อนของซากสัตว์ภายในโรงฆ่ามาจากหลายแหล่ง ได้แก่ หนังสัตว์ มูลสัตว์ ภายในกระเพาะ และ ผิวดิน โดยสามารถแบ่งแบคทีเรียในเนื้อสัตว์ได้เป็น 2 กลุ่ม คือ แบคทีเรียก่อโรค

(Pathogenic bacteria) และแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดการเน่าเสีย (Spoilage bacteria) ในประเทศไทย ได้กำหนดมาตรฐานเพื่อควบคุมการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์ คือ ต้องตรวจ ไม่พบเชื้อ *Salmonella* spp. ต่อ 25 กรัม *E. coli* ต้องน้อยกว่า 50 MPN /กรัม และเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ ได้แก่ *S. aureus* ต้องน้อยกว่า 200 โคโลนี/กรัม (Food Control Division, 2004)

ความสำคัญของเชื้อ *S. aureus* ที่มักพบการปนเปื้อนในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์แปรรูปจากเนื้อสัตว์

3.1 รูปร่างและลักษณะทั่วไป

S. aureus มีรูปร่างกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.7 – 1.2 ไมโครเมตรส่วนใหญ่มีการเรียงตัวอยู่เป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น (grapelike cluster) บางครั้งอาจพบเดี่ยวๆเป็นคู่ หรือเป็นสายสั้นๆ ได้ โดยเฉพาะถ้าเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว เชื้อนี้ย้อมติดสีแกรมบวก แต่ถ้าเป็นเชื้อที่เพาะเลี้ยงไว้นาน หรือเชื้อที่ตายแล้วอาจมีขนาดและการติดสีผิดได้ เชื้อนี้ไม่มีแฟลกเจลลาไม่เคลื่อนที่ และไม่สร้างสปอร์ แต่สามารถสร้างสารพิษภายในเซลล์ที่ทนความร้อน เมื่อบริโภคอาหารที่มีเซลล์ของแบคทีเรียชนิดนี้ในจำนวนมากพอจะทำให้เกิดอาหารเป็นพิษได้ เซลล์ของจุลินทรีย์ชนิดนี้ถูกทำลายได้ง่ายแต่สารพิษสามารถทนความร้อนที่อุณหภูมิน้ำเดือดได้นานถึง 60 นาที ดังนั้น จึงต้องใช้อุณหภูมิสูงถึง 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที จึงทำลายสารพิษนี้ได้ นอกจากนี้แล้วโรคอาหารเป็นพิษจากการบริโภคอาหารที่ปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียยังคงเป็นปัญหาสาธารณสุขในปัจจุบัน จัดเป็นภัยใกล้ตัวที่อาจเกิดกับผู้บริโภคได้ตลอดเวลา เมื่อพบการติดเชื้อมีสาเหตุจากแบคทีเรียชนิดใดจะต้องใช้ยารักษาที่ถูกต้องเหมาะสมต่อเชื้อชนิดนั้น การวิเคราะห์หาเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคอาหารเป็นพิษ เช่น *S. aureus* และการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพจึงถือว่ามีผลสำคัญมากในการเฝ้าระวัง เพื่อความปลอดภัยแก่ผู้บริโภคอย่างมีประสิทธิภาพ สอนนโยบายของรัฐบาล ในการใช้ยาปฏิชีวนะที่เหมาะสมในการรักษาโรคที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรีย ทั้งๆ ที่บางครั้งสัตว์อาจแสดงอาการป่วยอย่างเดียวกัน แต่อาจเกิดจากเชื้อต่างชนิดกัน ยาที่ใช้รักษาจะแตกต่างกันไป โดยเฉพาะการติดเชื้อ *S. aureus* ซึ่งเป็นเชื้อที่ดื้อต่อยาต้านจุลชีพหลายชนิด การเลือกยาที่ไม่เหมาะสมจะส่งผลให้เชื้อดื้อต่อยามากขึ้น จนกลายเป็นปัญหาดื้อยาเรื้อรังได้ อีกทั้งเชื้อ *S. aureus* จัดเป็นแบคทีเรียที่ก่อโรกระหว่างสัตว์และคน (zoonosis) ที่สำคัญโรคหนึ่ง การดื้อยาของเชื้อนี้จะส่งผลให้การเลือกใช้ยารักษาผู้ป่วย ยากมากขึ้นด้วย ซึ่งจะเป็นปัญหาสาธารณสุขในอนาคต

S. aureus มีชั้นเปปติโดไกลแคน (peptidoglycan) ของผนังเซลล์ที่หนาและมีกรดไทโคลิก กระจายอยู่ทั่วไปทำให้ผนังเซลล์แข็งแรง จะถูกทำลายได้ด้วยกรดเข้มข้นหรือไลโซไซม์เท่านั้น ชั้นของเปปติโดไกลแคนนี้มีคุณสมบัติเป็นแอนติเจน และมีความจำเพาะสำหรับ *S. aureus* สายพันธุ์ต่าง ๆ ถัดจากชั้นเปปติโดไกลแคนเป็นชั้นโปรตีน (ตารางที่ 4) *S. aureus* เกือบทุกสายพันธุ์จะมีโปรตีนชนิดหนึ่งเรียกว่า “โปรตีน เอ” (ภาพที่ 4) ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่เกิดความเป็นพิษของ *S. aureus* ซึ่งมีคุณสมบัติกับส่วน Fc ของอิมมูโนโกลบูลินจี (IgG) โดยส่วนของ Fab ยังคงจับกับแอนติเจนได้ โปรตีนเอ นี้นำไปใช้ประโยชน์ในการพิษสูง และแยกสายพันธุ์ของเชื้อได้ด้วยวิธีโคแอกกูตินเนชัน (coagglutination) ที่ผนังเซลล์ของ *S. aureus* ยังมีเอนไซม์โคแอกกูเลสซึ่งเมื่อทำ

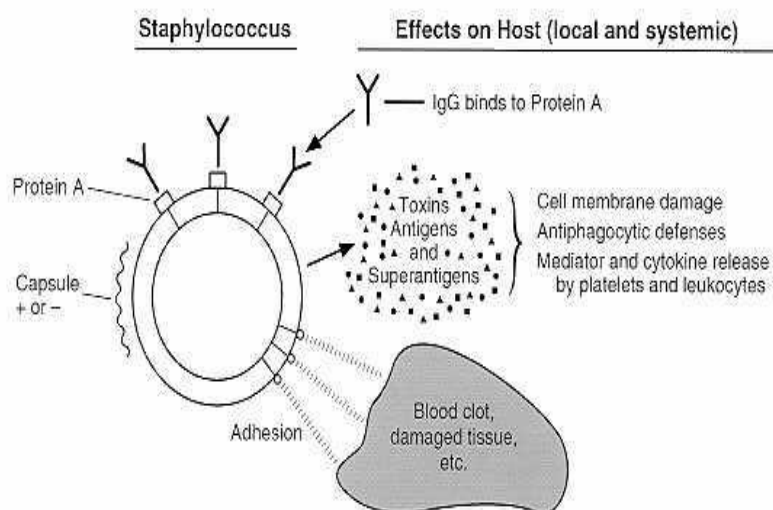
ปฏิกิริยากับไฟบริโนเจนในพลาสมา ทำให้เชื้อเกิดกลุ่มได้ เอนไซม์นี้จึงมีชื่อเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า “clumping factor” นอกจากนี้ *S. aureus* บางสายพันธุ์มีแคปซูลทำให้เชื้อไม่ถูกจับกิน

ตารางที่ 4 โปรตีนจาก *S. aureus* ที่มีความเป็นพิษ

Protein	Pathogenic action	Age reulation
Superantigens		
Enterotoxin A	Food poisoning TSS	-
Enterotoxin B	Food poisoning TSS	+
Enterotoxin C	Food poisoning TSS	+
Enterotoxin D	Food poisoning TSS	+
Enterotoxin E	Food poisoning TSS	-
TSST – 1	Toxic shock syndrome	+
Exfoliatin A (ETA)	Scalded skin syndrome	+
Exfoliatin B (ETB)	Scalded skin syndrome	+
Cytotoxins		
α - Hemolysin	Hemolysis, necrosis	+
β - Hemolysin	Hemolysis, necrosis	+
δ - Hemolysin	?	
γ - Hemolysin	Hemolysis, necrosis	+
Leukocidin	Leukocidin	+
Enzymes		
Proteases	Spread, nutrition	+
Nucleases	Spread, nutrition	-
Lipases	Spread, nutrition	+
Hyaluronidase	Spread, nutrition	-
Esterases	Inactivation of toxic	
Fatty acids	+	
Surface proteins		
Protein A	Anti-phagocytosis	+
Coagulase	?	+
Clumping factors	?	-
Fibronectin binding Proteins	Adhesion	+

ที่มา: Lyon and Novick (2004)

S. aureus มักพบทั่วไปในสภาพแวดล้อม เช่น อากาศ ฝุ่น น้ำ อาหาร และมูล อย่างไรก็ตาม เชื้อนี้มักจะอยู่ที่บริเวณเยื่อของจมูก โพรงจมูก และบริเวณผิวหนังของคน จะพบว่าคนเป็นแหล่งสำคัญในการแพร่กระจายเชื้อนี้ไปยังอาหารและเนื้อสัตว์ โดยเฉพาะการปนเปื้อนมักเกิดขึ้นในขั้นตอนการผลิตอาหารด้วยการใช้มือหรือใช้คนทำงาน ซึ่งมนุษย์และสัตว์นั้นเป็นแหล่งปฐมภูมิของเชื้อชนิดนี้ โดยจะพบอยู่ตามทางเดินหายใจ ลำคอ หรือ เส้นผมและผิวหนังถึง 50% หรือมากกว่านี้ ในคนที่มีสุขภาพดี และอาจพบเชื้อชนิดนี้ 60-80% ในผู้ที่สัมผัสโดยตรงกับผู้ป่วยหรือผู้ที่สัมผัสกับสภาพแวดล้อมในโรงพยาบาล ตลอดจนผู้ประกอบอาหาร รวมทั้งในขั้นตอนของการบรรจุและสภาพแวดล้อมภายนอกนั้นก็เป็นสาเหตุส่วนใหญ่ที่ทำให้เกิดการปนเปื้อน สิ่งที่ต้องคำนึงถึงอีกอย่างหนึ่งก็คือการเก็บอาหารไว้ในอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมเป็นผลให้อาหารที่มีการปนเปื้อนอยู่แล้วมีการเพิ่มจำนวนของเชื้อและสร้างสารพิษอย่างรวดเร็ว โดย *S. aureus* จะสร้างสารพิษ enterotoxin ได้ถึง 6 ชนิด คือ A B C₁ C₂ D และ E ซึ่งในแต่ละสายพันธุ์จะมีการสร้าง enterotoxin ที่แตกต่างกัน แต่ enterotoxin A และ B เท่านั้นที่มักตรวจพบว่าแพร่กระจายอยู่ในอาหารซึ่งเป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษ *S. aureus* ที่สามารถสร้างสารพิษขึ้นได้นี้มักเป็นชนิด Coagulase-positive แต่บางสายพันธุ์ที่เป็น Coagulase-negative ก็สามารถสร้างสารพิษได้เช่นเดียวกับการปนเปื้อนของแบคทีเรียก่อโรคสำคัญของระบบทางเดินอาหารในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์แปรรูปจากเนื้อสัตว์ เชื้อชนิดนี้เมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์จะเห็นเป็นแบคทีเรียรูปร่างกลม มักพบเป็นคู่เกาะกันด้วยสายสั้น ๆ เป็นกิ่งหรือเป็นลักษณะพวงองุ่น เป็นแบคทีเรียแกรมบวกบางสายพันธุ์สามารถสร้างสารพิษที่เป็นโปรตีนซึ่งทนต่อความร้อนได้ดี และเป็นสาเหตุให้เกิดอาการเจ็บป่วยในมนุษย์ ซึ่งโรคอาหารเป็นพิษจากเชื้อ *Staphylococcus* นั้นมีชื่อเรียกคือ Staphyloenterotoxiosis และ Staphylocenterotoxemia เหล่านี้เป็นชื่อของโรคที่เกิดจากเชื้อ *S. aureus*



ภาพที่ 4 ปัจจัยสำคัญที่เกิดความเป็นพิษของ *S. aureus*

ที่มา : Lowy (1998)

S. aureus เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อธรรมดาเกือบทุกชนิด เป็นพวก facultative anaerobes คือเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจน (aerobic) และไม่มีออกซิเจน (anaerobic) แต่เจริญได้ดีกว่าในที่มีออกซิเจน เชื้อจะเจริญได้ช่วงอุณหภูมิ 10 - 45 องศาเซลเซียส แต่ดีที่สุดที่ 37 องศาเซลเซียส สามารถเจริญได้ที่ pH 4.5 - 9.3 แต่ดีที่สุดที่ pH 7-7.5 ลักษณะโคโลนีกลม หนูน ขอบเรียบ เป็นเงา ขนาดประมาณ 1-4 มม. *S. aureus* สามารถสร้างรงควัตถุสีเหลืองที่เรียกว่า triterpenoid carotenoids ทำให้เห็นโคโลนีเป็นสีเหลืองทอง ซึ่งเชื้อได้ชื่อตามลักษณะโคโลนี *S. aureus* เป็นภาษาละตินแปลว่า สีเหลืองทอง การสร้างรงควัตถุของเชื้อนี้จะเห็นได้ชัดขึ้นเมื่อบ่มเชื้อไว้ในอุณหภูมิห้อง 20 - 25 องศาเซลเซียส ต่อไปอีก 24 - 48 ชม. แต่เชื้อจะไม่สร้างรงควัตถุในที่ไม่มีออกซิเจนหรือในอาหารเหลว (broth) *S. aureus* เกือบทุกสายพันธุ์สลายเม็ดเลือดได้ ซึ่งเมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อบน blood agar จะเห็นโซนใส รอบ ๆ โคโลนี และถ้าเป็นสายพันธุ์ที่สร้างแคปซูลได้จะมีโคโลนีเหนียว เยิ้ม

3.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสารพิษเอนโทโรทอกซิน

3.2.1 อุณหภูมิ (temperature) อุณหภูมิที่เชื้อสามารถเจริญเติบโตได้อยู่ในช่วง 7-47 องศาเซลเซียส โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมแก่การเจริญที่สุดอยู่ระหว่าง 35-37 องศาเซลเซียส เชื้อสามารถผลิตเอนโทโรทอกซินได้ในช่วงอุณหภูมิ 10-46 องศาเซลเซียส และจะผลิตได้ดีที่สุดในช่วงอุณหภูมิ 40-45 องศาเซลเซียส โดยพบว่า *S. aureus* สายพันธุ์ S-6 สามารถผลิตเอนโทโรทอกซิน B ได้สูงถึง 6-40 µg/ml ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ซึ่งสามารถผลิตเอนโทโรทอกซิน B ได้มากกว่าสายพันธุ์ 137 โดยที่สายพันธุ์ S-6 จะเริ่มผลิตภายหลังการเจริญเติบโตไปแล้วประมาณ 2-3 ชั่วโมง นอกจากนี้ยังพบว่าที่ pH 7 อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส นาน 18 ชั่วโมง จะไม่มีการผลิตเอนโทโรทอกซิน A และ B แต่เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง จะเริ่มมีการผลิตเอนโทโรทอกซินทั้ง 2 ชนิด เพิ่มขึ้น และที่อุณหภูมิ 39.4 องศาเซลเซียส อัตราการผลิตเอนโทโรทอกซิน A และ B จะมีปริมาณสูงสุด การผลิตเอนโทโรทอกซินจะเริ่มลดลงเมื่ออุณหภูมิขึ้นถึง 45 องศาเซลเซียส และไม่สามารถผลิตได้เลยที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส แต่เนื่องจากเชื้อ *S. aureus* ไม่สร้างสปอร์ ดังนั้นจึงมักถูกทำลายในกระบวนการผลิตที่ใช้ความร้อน หรือถูกทำลายที่อุณหภูมิระหว่างประกอบอาหาร (Pearson and Dutson, 1990)

3.2.2 ค่าความตึงการน้ำ (water activity, a_w) เชื้อนี้สามารถเจริญได้ดีที่ค่า a_w อยู่ระหว่าง 0.86-0.99 แต่เจริญได้ลดลงเมื่อค่า a_w ต่ำกว่า 0.94 นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อ *S. aureus* ทนต่อความแห้ง สามารถมีชีวิตรอดได้ 50 เปอร์เซ็นต์ บนไข่ผง (Concon, 1988)

3.2.3 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (ค่า pH) ค่า pH ที่เชื้อ *S. aureus* สามารถเจริญได้อยู่ระหว่าง 4.50-9.30 และเจริญได้ดีในช่วงค่า pH 7.00-7.50 โดยที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ค่า pH 7 จะสามารถผลิตเอนโทโรทอกซิน A และ B ได้ในปริมาณสูงสุด แต่ที่ค่า pH 4.50 จะไม่พบการผลิตเอนโทโรทอกซินทั้ง 2 ชนิด ถึงแม้ว่าระยะเวลาจะผ่านไปนานถึง 72 ชั่วโมง และที่ค่า pH 9.00 หรือสูงกว่านี้ การผลิตเอนโทโรทอกซินจะลดลงและผลิตได้ในปริมาณที่น้อยมาก นอกจากนี้

เชื้อ *S. aureus* ยังสามารถเจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเกลือเป็นส่วนประกอบถึง 12-15 เปอร์เซ็นต์ (Pearson and Dutson, 1990)

3.3 ลักษณะอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อ *S. aureus*

สารพิษเอนเทอโรทอกซินจากเชื้อ *S. aureus* เมื่อเข้าสู่ร่างกายจะมีผลต่อระบบประสาทส่วนกลางในกระเพาะอาหาร ลำไส้เล็ก และระบบกล้ามเนื้อที่อยู่นอกอำนาจการควบคุมของจิตใจ อาการของโรคจะเกิดขึ้นภายหลังการบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนของเอนเทอโรทอกซินเข้าไปแล้วประมาณ 4-6 ชั่วโมง โดยจะมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ท้องร่วง ปวดบริเวณท้องน้อย บางรายอาจมีอาการปวดศีรษะ ปวดกล้ามเนื้อ เหงื่อออก อ่อนเพลีย มีไข้ ความดันโลหิตต่ำ อูจจาระและอาเจียนเป็นเลือด ส่วนระดับความรุนแรงของอาการที่เกิดขึ้นจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปริมาณเอนเทอโรทอกซินที่ได้รับเข้าไป และภูมิคุ้มกันของแต่ละบุคคลด้วย ปริมาณเอนเทอโรทอกซินต่ำที่สุดที่มีผลทำให้เกิดอาการของโรคประมาณ $1 \mu\text{g}$ /อาหาร 100 กรัม ส่วนระดับของเอนเทอโรทอกซินในอาหารที่ทำให้เกิดอาการของโรคขึ้นอยู่กับระดับของการปนเปื้อนของเชื้อ ชนิดของอาหาร เวลา และอุณหภูมิในการพักตัวของเชื้อ โดยพบว่าปริมาณเชื้อที่มีผลทำให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคจะมากกว่า 10^6 cells/กรัม (Pearson and Dutson, 1990)

S. aureus สามารถยอยน้ำตาลได้หลายชนิดโดยจะยอยในแบบใช้ออกซิเจน (respiration) และแบบการหมักไม่ใช้ออกซิเจน (fermentation) ผลผลิตของการหมักยอยน้ำตาลจะได้กรดแลคติก แต่ไม่ให้อาหาร *S. aureus* จะทนความแห้งและความและความร้อนได้ดี 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที นอกจากนี้ยังสามารถเจริญได้ในอาหารที่มีเกลือความเข้มข้นสูง 15%NaCl ซึ่งต่างกับแบคทีเรียทั่วไป

เชื้อ *S. aureus* จะมีชีวิตอยู่ในสภาวะแวดล้อมภายนอกมนุษย์และสัตว์ ซึ่งมนุษย์ และสัตว์นั้นเป็นแหล่งปฐมภูมิของเชื้อชนิดนี้โดยจะพบอยู่ตามทางเดินหายใจ ลำคอ หรือเส้นผม และผิวหนังถึง 50% หรือมากกว่านี้ในคนที่มีสุขภาพดี และอาจพบเชื้อชนิดนี้ 60-80% ในผู้ที่สัมผัสโดยตรงกับผู้ป่วยหรือผู้ที่สัมผัสกับสภาพแวดล้อมในโรงพยาบาล ตลอดจนผู้ประกอบอาหาร รวมทั้งในขั้นตอนของการบรรจุและสภาพแวดล้อมนอกนั้นก็จะเป็นสาเหตุส่วนใหญ่ที่ทำให้เกิดการปนเปื้อน สิ่งที่ต้องคำนึงถึงอีกอย่างหนึ่ง คือ การเก็บอาหารไว้ในอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมเป็นผลให้อาหารที่มีการปนเปื้อนอยู่แล้วมีการเพิ่มจำนวนของเชื้อและสร้างสารพิษอย่างรวดเร็ว

จากการศึกษาสารพิษแต่ละชนิดที่ *S. aureus* สร้างขึ้นในผลิตภัณฑ์อาหารและเนื้อจากผลิตภัณฑ์ 30 ชนิด พบการปนเปื้อนมาจากพนักงานส่งเนื้อ เนื้อบด และสัตว์ปีก แสดงผลการศึกษาในตารางที่ 5 และ 6

จากการศึกษาพบว่าสารพิษที่ *S. aureus* ผลิตโดยมี host คือมนุษย์ ซึ่งแหล่งที่ตรวจสอบต่าง ๆ ดังนี้ สัตว์ คณงานฆ่าหมู พบสารพิษชนิด E และ B ในขณะที่ host ที่เป็นสัตว์ปีกแหล่งที่ตรวจสอบคือ โรงงานฆ่าสัตว์ปีก ไม่พบสารพิษชนิดใด แบบไม่เจาะจง host แหล่งที่ตรวจสอบต่าง ๆ ดังนี้ สัตว์ คณงานฆ่าหมูพบสารพิษชนิด D (Lsigidi et al., 1992)

ตารางที่ 5 แหล่ง และชนิดสารพิษของ *Staphylococcus aureus* จากกระบวนการขนส่ง

host	แหล่ง	N(%)	ชนิดสารพิษ
มนุษย์	คณงานฆ่าหมู	4 (13.33)	SEA,SEB
สัตว์ปีก	โรงฆ่าสัตว์ปีก	1(3.33)	-
ไม่เจาะจง host	คณงานฆ่าหมู	1(3.33)	SED

ที่มา: Lsigidi et al. (1992)

ตารางที่ 6 แหล่ง และ ชนิดสารพิษของ *S. aureus* จากอาหารและเครื่องมือ

host	แหล่ง	n	ชนิดสารพิษ
มนุษย์	เนื้อมด	4	SEA
	เครื่องมือ	9	SEB, SEC
ไม่เจาะจง host	คณงานฆ่าสัตว์	1	-
	เครื่องมือ	5	-

ที่มา : Lsigidi et al. (1992)

ลักษณะอาการที่บ่งบอกว่าติดเชื้อ *S. aureus* นั้นจะแสดงให้เห็นอย่างรวดเร็วและรุนแรงในหลาย ๆ กรณี โดยทั้งนี้จะขึ้นอยู่กับสภาพความต้านทานสารพิษของร่างกาย ปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อในอาหารและปริมาณสารพิษที่สร้างขึ้นในอาหาร รวมทั้งสภาพร่างกายโดยทั่วไปของผู้ที่ได้รับเชื้อด้วยอาการทั่วไปที่พบคือผู้ป่วยจะมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน วิงเวียน เป็นตะคริวในช่องท้องและอ่อนเพลีย ในผู้ป่วยบางรายอาจมีอาการอื่นแทรกซ้อน หลายรายจะมีอาการปวดหัว เป็นตะคริวที่กล้ามเนื้อและมีการเปลี่ยนแปลงความดันโลหิตเป็นระยะ ๆ รวมทั้งอาจมีการเต้นของชีพจรผิดปกติซึ่งโดยทั่วไปอาการจะดีขึ้นภายใน 2-3 วัน

ข้อมูลจากโรงพยาบาลสมาชิกเครือข่าย 33 แห่ง ในปี พ.ศ. 2543 แยกเชื้อจากผู้ป่วยจำนวนทั้งสิ้น 205,765 ราย พบแยกได้เป็นเชื้อ *S. aureus* มากเป็นอันดับ 4 คิดเป็น 7.84% (12,990 สายพันธุ์) โดยเป็นเชื้อที่แยกได้จากเลือด 151,117 สายพันธุ์ พบเชื้อ *S. aureus* มากเป็นอันดับ 3 คิดเป็น 11.54% (1,549 สายพันธุ์) จากตัวอย่างน้ำไขสันหลังผู้ป่วย 1,240 ราย เป็นเชื้อ *S. aureus* 3.59% (52 สายพันธุ์) จากตัวอย่างปัสสาวะผู้ป่วย 26,343 ราย แยกได้เชื้อ 29,531 สายพันธุ์ เป็นเชื้อ *S. aureus* 1.88% (555สายพันธุ์) จากเสมหะผู้ป่วย 33,195 ราย แยกได้เชื้อ 38,907 สายพันธุ์ เป็นเชื้อ *S. aureus* 9.81% (3,818สายพันธุ์) จากหนองผู้ป่วย 31,771 ราย แยกได้เชื้อ 36,799 สายพันธุ์ เชื้อที่มากเป็นอันดับ 1 คือ *S. aureus* 17.97% (7,347สายพันธุ์) จากอุจจาระผู้ป่วย 5,337 ราย แยกได้เชื้อ 6,994 สายพันธุ์ เป็นเชื้อ *S. aureus* 2.8% (196 สายพันธุ์) เมื่อจำแนกชนิดของเชื้อ *S. aureus* ตามหอผู้ป่วย OPD IPD และ ICU พบเป็นเชื้อ Methicillin

Resistant *S. aureus* (MRSA) 15% 28% และ 40% ตามลำดับ พบเชื้อ *S. aureus* ตามหอผู้ป่วย OPD INP และ ICU

ปริมาณการติดเชื้อสามารถเกิดอาการได้เมื่อรับประทานอาหารที่มีสารพิษน้อยกว่า 1 ไมโครกรัมที่ปนเปื้อนในอาหาร ซึ่งสารพิษชนิดนี้จะมีปริมาณสูงมากเมื่อมีเชื้อถึง 100,000 ต่อกรัม อาหารการวินิจฉัยอาการป่วยในคนและวิธีการตรวจเชื้อ *S. aureus* ที่ได้ผลดีนั้นนิยมใช้วิธีทางเซรุ่มวิทยา (serology) การเข้าสู่ร่างกาย *S. aureus* เข้าสู่ร่างกายได้จากการรับประทานอาหารที่มีเชื้อปนเปื้อน อาหารที่มักพบเชื้อ *S. aureus* ปนเปื้อน ได้แก่ เนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อ เนื้อสัตว์ปีกและผลิตภัณฑ์จากไข่ อาหารประเภทสลัด เช่น ไข่ ทูน่า เนื้อไก่ มันฝรั่ง และมักกะโรนี ผลิตภัณฑ์ขนมอบ ครีมพาย เอแคลร์ ช็อกโกแลต แชนวิช และผลิตภัณฑ์นม ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสม และเก็บไว้เป็นเวลานานก่อนรับประทาน อันตรายของ *S. aureus*

S. aureus บางสายพันธุ์สามารถสร้างสารพิษ คือ enterotoxin ซึ่งเป็นโปรตีนที่ทนต่อความร้อนได้ดี และเป็นสาเหตุทำให้เกิดอาการเจ็บป่วยในมนุษย์ สารพิษชนิดนี้ทนความร้อนถึงระดับ 143.3 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 9 วินาทีได้ ดังนั้น อุณหภูมิในการหุงต้มธรรมดาหรืออุณหภูมิน้ำเดือดจึงไม่สามารถทำลายสารพิษชนิดนี้ได้ โรคอาหารเป็นพิษที่เกิดจากเชื้อ *S. aureus* นั้นมีชื่อเรียกว่า Staphyloenterotoxiosis และ Staphyloenterotoxemia ลักษณะอาการที่บ่งบอกว่าติดเชื้อ *S. aureus* นั้นจะแสดงให้เห็นอย่างรวดเร็วและรุนแรงในหลายๆ กรณี ซึ่งอาการทั่วไปของผู้ได้รับเชื้อที่พบคือ ผู้ป่วยจะมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน วิงเวียน เป็นตะคริวในช่องท้องและอ่อนเพลียในผู้ป่วยบางรายอาจมีอาการอื่นแทรกซ้อน หลายรายจะมีอาการปวดหัว เป็นตะคริวที่กล้ามเนื้อ และมีการเปลี่ยนแปลงความดันโลหิตเป็นระยะ ๆ รวมทั้งอาจมีการเต้นของชีพจรผิดปกติซึ่งโดยทั่วไปอาการจะดีขึ้นภายใน 2-3 วัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาพความต้านทานสารพิษของร่างกาย ปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อในอาหารและปริมาณสารพิษที่สร้างขึ้นในอาหาร รวมทั้งสภาพร่างกายโดยทั่วไปของผู้ที่ได้รับเชื้อด้วย (สมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545)

เชื้อ *S. aureus* มักพบทั่วไปในสภาพแวดล้อม เช่น อากาศ ฝุ่น น้ำ อาหาร และมูล อย่างไรก็ตามเชื้อนี้มักจะอยู่ที่บริเวณเยื่อของจมูก โพรงจมูก และบริเวณผิวหนังของคน จะพบว่าคนเป็นแหล่งสำคัญในการแพร่กระจายเชื้อนี้ไปยังอาหารและเนื้อสัตว์ โดยเฉพาะการปนเปื้อนมักเกิดขึ้นในขั้นตอนการผลิตอาหารด้วยการใช้มือหรือใช้คนทำงาน โดย *S. aureus* จะสร้างสารพิษ enterotoxin ได้ถึง 6 ชนิด คือ A B C₁ C₂ D และ E ซึ่งในแต่ละสายพันธุ์จะมีการสร้าง enterotoxin ที่แตกต่างกัน แต่ enterotoxin A และ B เท่านั้นที่มักตรวจพบว่าเป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษ (สมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545)

เนื่องจาก *S. aureus* มีแหล่งการปนเปื้อนมาจากคนและสัตว์ ดังนั้นแล้วจึงมักพบนี้ปนเปื้อนอยู่ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ จากการศึกษาของ Atanassova, Meindl and Ring (2001) พบการปนเปื้อนเชื้อ *S. aureus* ในเนื้อสุกสดมาก 51% (69/135)

3.4 การปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* ในเนื้อสัตว์

Saide-Albornoz (1995) ได้ทำการตรวจหาเชื้อ *S. aureus* และ *Salmonella* spp. บนเนื้อสุกรโดยสุ่มตัวอย่างจากบริเวณสันนอก สะโพกที่ติดกับซากสุกร สันนอกที่ตัดแต่งเอากระดูกออก ทำการสุ่มจากชั้นตอนต่าง ๆ คือ ภายหลังขั้นตอนการเผาขนและขัดขน ภายหลังเสร็จสิ้นกระบวนการเก็บไว้ในห้องเย็น 24 ชั่วโมง ก่อนบรรจุและทำการบรรจุด้วยระบบสุญญากาศ แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 36 วัน ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 7 แสดงให้เห็นว่าเชื้อ *S. aureus* พบมากที่สุดในการศึกษาครั้งนี้ ซึ่งพบมากที่สุดบริเวณเนื้อสันนอกและสะโพก ภายหลังจากการเก็บไว้ในห้องเย็น 24 ชั่วโมง เชื้อ *Salmonella* spp. พบมากเป็นอันดับสองโดยพบมากที่สุดบริเวณเนื้อสันนอกและสะโพกภายหลังกระบวนการเผาขน แต่ไม่พบเชื้อ *Salmonella* spp. ในเนื้อสุกรที่บรรจุด้วยระบบสุญญากาศแล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 36 วัน

ตารางที่ 7 ค่าเปอร์เซ็นต์ที่พบแบคทีเรียก่อโรคจากผิวซากสุกรในระหว่างกระบวนการฆ่า

ชนิดของเชื้อ	เปอร์เซ็นต์ตัวอย่างเนื้อสุกรในโรงฆ่าที่พบแบคทีเรียก่อโรค				
	ส่วนผิวสะโพกและสันนอกที่ติดกับซาก		สันนอกที่ตัดแต่งเอากระดูกออก		
	A ^a	B ^a	C ^a	D ^b	E ^c
<i>Staphylococcus aureus</i> ^d	4.4	7.4	2.6	2.6	4.4
<i>Salmonella</i> spp.	4.4	1.1	0.4	0.7	NF

A = ตัวอย่างซากสุกรภายหลังการเผาขนและขัดขน

B = ตัวอย่างซากสุกรภายหลังเสร็จสิ้นกระบวนการฆ่าทุกขั้นตอน

C = ตัวอย่างซากสุกรภายหลังเก็บที่ห้องเย็น 24 ชั่วโมง

D = สันนอกที่ผ่านการตัดแต่งเอากระดูกออก

E = สันนอกที่ผ่านการตัดแต่งเอากระดูกออก บรรจุด้วยระบบสุญญากาศเก็บไว้ 36 วัน ที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส

a = ค่าเปอร์เซ็นต์ที่สามารถแยกเชื้อได้จากสันนอกและสะโพก 270 ตัวอย่าง

b = ค่าเปอร์เซ็นต์ที่สามารถแยกเชื้อได้จากสันนอก 135 ตัวอย่าง

c = ค่าเปอร์เซ็นต์ที่สามารถแยกเชื้อได้จากสันนอก 45 ตัวอย่าง

d = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P = 0.0399$) จากตัวอย่างตำแหน่ง A และ C

^oNF = ตรวจไม่พบ

ที่มา : ดัดแปลงจาก Saide-Albornoz (1995)

Longdell (1994) กล่าวว่า การเปิดซากแบบวิธีดั้งเดิม (conventional eviscerating) คือการใช้คนเปิดซาก จะพบปัญหาเครื่องในได้รับความเสียหายและเกิดการฉีกขาดได้ง่าย ทำให้จุลินทรีย์

นทรีย์ที่อยู่ในระบบทางเดินอาหารสามารถแพร่กระจายไปยังส่วนต่าง ๆ ของซากและขั้นตอนการผลิตในโรงงานฆ่าสัตว์ การพัฒนาเครื่องมืออัตโนมัติในการเปิดซากจะช่วยลดปัญหาดังกล่าวได้ Pearson และ Duston (1986) รายงานว่าเชื้อ *Salmonella* spp. ไม่เพียงแต่พบในลำไส้ (mesenteric) แต่ยังพบบริเวณต่อมน้ำเหลืองที่ขั้วตับ (portal lymph nodes) อีกด้วย ฉะนั้นในขั้นตอนการเอาเครื่องในออกถ้าเครื่องในได้รับความเสียหาย จะมีโอกาสสูงที่ซากจะได้รับการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. อีกครั้ง

Ellerbroek (1997) รายงานว่าอากาศในขั้นตอนการปฏิบัติงานของโรงฆ่าสัตว์ปีกที่ตำแหน่งต่าง ๆ พบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ทั้งหมด และเชื้อแบคทีเรียในลำไส้ ซึ่งแสดงรายละเอียดดังตารางที่ 8 โดยพบว่าอากาศในบริเวณรับสัตว์ การเอาเครื่องในออก และห้องแช่เย็นมีปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกมากที่สุด เช่นเชื้อ *Micrococcus* spp. *Corynebacterium* spp. *Staphylococcus* spp. และยีสต์ (Yeasts) และมักพบเชื้อแบคทีเรียแกรมลบในบริเวณการเอาเครื่องในออก เช่น เชื้อ *Moraxella* spp. และ *Acinetobacter* spp. นอกจากนี้ยังมักพบเชื้อ *Corynebacterium* spp. *Acinetobacter* spp. และ *Moraxella* spp. ในบริเวณห้องแช่เย็น โดยจะพบเชื้อ *Micrococcus* spp. และ *Alcaligenes* spp. ในอากาศบริเวณห้องลดอุณหภูมิแบบใช้ลมเย็น แต่ไม่พบเชื้อนี้ในอากาศบริเวณห้องลดอุณหภูมิแบบใช้น้ำเย็น

ตารางที่ 8 ปริมาณการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ทั้งหมดในบรรยากาศ และเชื้อแบคทีเรียในลำไส้ ระหว่างขั้นตอนการรับสัตว์ การเอาเครื่องในออก การตัดแต่ง และถอดกระดูกออก การลดอุณหภูมิแบบใช้ลมเย็น และแบบใช้น้ำเย็นของโรงฆ่าสัตว์ปีก

ตำแหน่ง	จุลินทรีย์ทั้งหมด (log cfu/เมตร ³)	เชื้อแบคทีเรียในลำไส้ (log cfu/เมตร ³)
การรับสัตว์	4.06	3.24
การเอาเครื่องในออก	3.99	2.63
การตัดแต่งและถอดกระดูกออก	3.40	1.04
การลดอุณหภูมิแบบใช้ลมเย็น	3.28	2.02
การลดอุณหภูมิแบบใช้น้ำเย็น	4.16	2.06

ที่มา : Ellerbroek (1997)

Buchanan (1992) ได้ทำการศึกษาปริมาณการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ทั้งหมดและเชื้อ *S. aureus* บนเนื้อสะโพกโค เนื้อสะโพกสุกร และเนื้อสะโพกไก่ โดยทำการเก็บรักษาเนื้อสัตว์ในตู้เย็นที่มีอุณหภูมิต่างกัน คือ 5 12 และ 19 องศาเซลเซียส และทำการตรวจวิเคราะห์ในวันที่ 0 2 4 7 และ 10 0 2 3 4 และ 7 0 1 2 3 และ 4 ตามลำดับ พบว่าที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 5 องศาเซลเซียส สามารถชะลอการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ทั้งหมด และเชื้อ *S. aureus* ได้

Mathieu (1992) ได้กล่าวถึงในกรณีที่โรงฆ่ามีห้องเย็นไม่เพียงพอ การฉีดพ่นสารละลายกรดอินทรีย์ เช่น กรดแลกติก กรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก กรดบิวเทอริก กรดซอร์บิก และสารละลายโซเดียมคลอไรด์ลงบนซากอ่อน สามารถช่วยยับยั้งและทำลายจุลินทรีย์ที่อยู่บนผิวซากลงได้ โดยเฉพาะเชื้อ *S. aureus* และ *Salmonella* spp. ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของโรคอาหารเป็นพิษ

นอกจากนี้ Atanassova Meindl and Ring (2001) ยังพบการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* บนเนื้อสุกรถึง 69 ตัวอย่าง จากจำนวนตัวอย่างทั้งหมด 135 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 51.00 เช่นเดียวกันกับ Vorster (1994) สามารถตรวจพบเชื้อ *S. aureus* ในเนื้อสะโพกโคและเนื้อไหล่สุกรที่ได้จากตลาดในประเทศแอฟริกาใต้ในระหว่างปี ค.ศ. 1991 โดยพบการปนเปื้อนถึง 23.4 เปอร์เซ็นต์ และ 6.7 เปอร์เซ็นต์ และมีจำนวนเชื้อ *S. aureus* เฉลี่ยเท่ากับ 2.5 และ 2.2 log cfu/กรัม เช่นเดียวกันกับ Sasitorn (1993) ที่ได้ศึกษาการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในเนื้อสุกรจากโรงฆ่าสัตว์ที่ส่งเนื้อสุกรไปขายที่ตลาดสด (W) เปรียบเทียบกับเนื้อสุกรที่ตลาดสด และเนื้อสุกรจากโรงฆ่าสัตว์ที่ส่งเนื้อสุกรไปขายที่ซูเปอร์มาร์เก็ต (P) เปรียบเทียบกับเนื้อสุกรที่ซูเปอร์มาร์เก็ต โดยทำการสุ่มตัวอย่างแห่งละ 100 ตัวอย่าง และทำการสุ่มตัวอย่างจากซูเปอร์มาร์เก็ตเปรียบเทียบกับตัวอย่างจากตลาดสด ผลแสดงในตารางที่ 9 โดยตรวจพบว่าเนื้อสุกรที่ได้จากโรงฆ่าสัตว์มีปริมาณการปนเปื้อนจุลินทรีย์ทั้งหมด เชื้อ *S. aureus* และเชื้อ *Salmonella* spp. น้อยกว่าเนื้อสุกรที่ได้จากตลาดสดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ขณะที่เนื้อสุกรที่ได้จากโรงฆ่าสัตว์มีปริมาณการปนเปื้อนจุลินทรีย์ทั้งหมด และเชื้อ *Salmonella* spp. น้อยกว่าซูเปอร์มาร์เก็ตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) และมีแนวโน้มปริมาณการปนเปื้อนเชื้อ *S. aureus* บนเนื้อสุกรที่ได้จากโรงฆ่าสัตว์น้อยกว่าเนื้อสุกรที่ได้จากซูเปอร์มาร์เก็ต นอกจากนี้ยังตรวจพบว่าเนื้อสุกรที่ได้จากซูเปอร์มาร์เก็ตมีปริมาณการปนเปื้อนจุลินทรีย์ทั้งหมดน้อยกว่าเนื้อสุกรจากตลาดสดอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P \leq 0.01$) และมีแนวโน้มปริมาณการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. และเชื้อ *S. aureus* บนเนื้อสุกรที่ได้จากซูเปอร์มาร์เก็ตน้อยกว่าเนื้อสุกรที่ได้จากตลาดสด

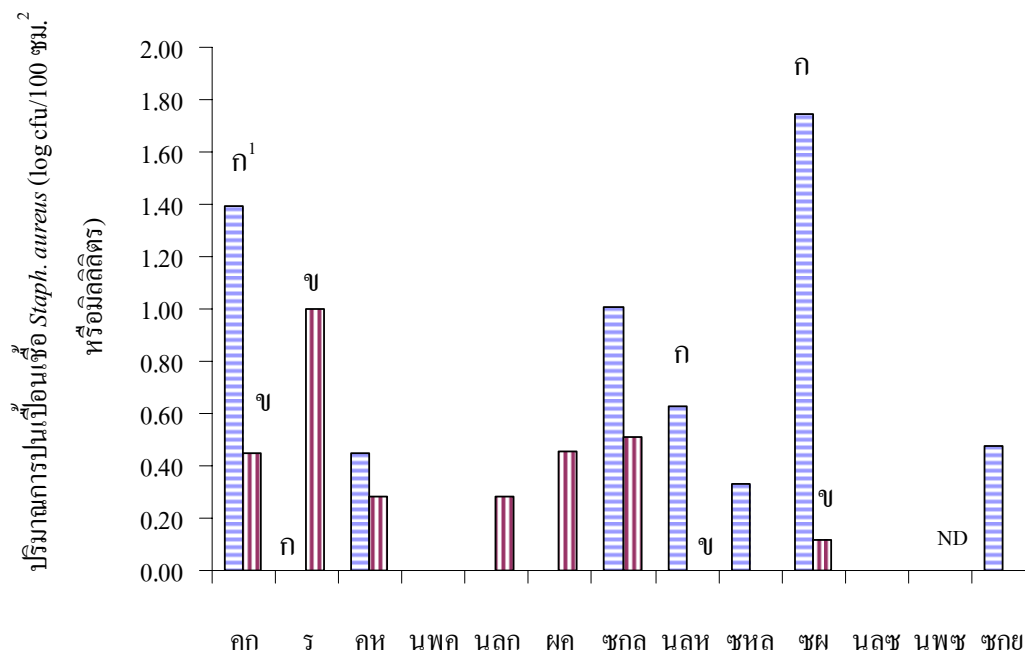
ตารางที่ 9 การเปรียบเทียบจำนวนเชื้อแบคทีเรียบนเนื้อสุกรระหว่างจากโรงฆ่ากับตลาดสด (ส่วนที่ 1) โรงฆ่าสัตว์กับซูเปอร์มาร์เก็ต (ส่วนที่ 2) และซูเปอร์มาร์เก็ตกับตลาดสด (ส่วนที่ 3) และอายุในการเก็บรักษาของส่วนที่ 3

สถานที่เก็บตัวอย่าง	ปริมาณการปนเปื้อน (cfu/g)							อายุการเก็บรักษา (วัน)
	SPC ที่ 30 องศาเซลเซียส	Coliforms	<i>E. coli</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Salmonella</i> spp.	<i>C. perfringens</i>	
โรงฆ่าสัตว์ ^a	2.3x10 ⁶	7.6x10 ⁴	3.1x10 ⁴	2.6x10 ³	1.6x10	0.33 (33%)	1.1x10 ³	NT
ตลาดสด ^a	7.1x10 ⁹	4.6x10 ⁸	3.1x10 ⁸	3.6x10 ⁴	5.4x10	0.70 (70%)	7.1x10 ⁴	NT
T-test	(P=0.000)	(P=0.000)	(P=0.01)	(P=0.000)	(P=0.000)			
โรงฆ่าสัตว์ ^a	9.6x10 ⁵	2.5x10 ⁴	2.5x10 ⁴	5.5x10 ²	0.6	0.18 (18%)	2.1x10 ³	NT
ซูเปอร์มาร์เก็ต ^a	6.7x10 ⁶	1.3x10 ⁶	1.3x10 ⁶	1.6x10 ³	2.3	0.56 (56%)	2.3x10 ³	NT
T-test	(P=0.01)	(P=0.01)	(NS)	(P=0.038)	(NS)	(P=0.000)	(NS)	
ซูเปอร์มาร์เก็ต ^b	1.1x10 ⁸	2.7x10 ⁶	2.0x10 ⁶	6.2x10 ³	3.7x10	0.24 (24%)	1.2x10 ³	5.28
ตลาดสด ^b	9.5x10 ⁸	4.7x10 ⁷	3.0x10 ⁷	6.6x10 ³	5.4x10	0.25 (25%)	1.3x10 ³	NT
T-test	(P=0.003)	(P=0.000)	(P=0.001)	(NS)	(NS)	(NS)	(NS)	(P=0.000)
n ^a = 100 จำนวนตัวอย่างในการสุ่มหาเชื้อ <i>Salmonella</i>					n ^b = 50			
NS = แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ					NT = ไม่ได้ทำการตรวจสอบ			
ที่มา : Sasitorn (1993)								

ยิ่งไปกว่านั้น ผุสดี ตังวชิรินทร์ และไชยวรรณ วัฒนจันทร์ (2551) ได้ทำการศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* ในกระบวนการฆ่าและชำแหละซากสุกรแบบสัมผัสและไม่สัมผัสพื้นของโรงฆ่าสัตว์ในเขตเทศบาลนครหาดใหญ่ พบว่าการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* ในขั้นตอนคอกพักรถขนสุกร น้ำลวกซากหลังฆ่า และซากผ่าซีก ของกระบวนการฆ่าและชำแหละซากสุกรแบบไม่สัมผัสพื้นและแบบสัมผัสพื้นมีปริมาณแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) (ภาพที่ 5) โดยในขั้นตอนดังกล่าวของกระบวนการฆ่าและชำแหละซากสุกรแบบไม่สัมผัสพื้นมีการปนเปื้อน (1.39 0.63 และ 1.75 log cfu/100 ซม.² หรือ มล. ตามลำดับ) มากกว่าแบบสัมผัสพื้น (0.45 0.00 และ 0.12 log cfu/100 ซม.² หรือ มล. ตามลำดับ) ยกเว้นขั้นตอนรถขนสุกร ทั้งนี้อาจมีสาเหตุจาก

การทำความสะอาดคอกพักที่ไม่ถูกสุขลักษณะ อาจทำให้มีการปนเปื้อนจากสุกรที่เข้ามาก่อนวันทำการเก็บตัวอย่างได้ และส่งผลให้มีการปนเปื้อนของเชื้อชนิดนี้ในขั้นตอนคอกพักหลังสุกรเข้า น้ำลวกซากหลังฆ่า ซากผ่าซีก โดยมีค่าสหสัมพันธ์ระหว่างทั้ง 3 ขั้นตอน อยู่ในระดับสูง ($r = 0.95$ 0.76 และ 0.81 ตามลำดับ) นอกจากนี้ การปนเปื้อนของเชื้อชนิดนี้ในน้ำลวกซากหลังของกระบวนการฆ่าและชำแหละซากแบบไม่สัมผัสพื้นมากกว่าแบบสัมผัสพื้น อาจเนื่องมาจากกระบวนการฆ่าและชำแหละซากแบบไม่สัมผัสพื้นเริ่มปฏิบัติงานในขณะที่น้ำลวกซากมีในช่วง 45-57 องศาเซลเซียส จึงอาจทำให้เชื้อมีชีวิตอยู่ได้ แต่อย่างไรก็ตาม ขั้นตอนมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* ได้ ทำให้ปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อมีชีวิตอยู่บนซากสุกรหลังกระบวนการฆ่าลดลงถึง $1.27 \log \text{ cfu}/100 \text{ ซม.}^2$ และจำนวนซากสุกรพบการปนเปื้อนลดลงถึง 50% (ตารางที่ 11) เนื่องจากน้ำพ่นซากมีสารละลายคลอรีนเป็นองค์ประกอบ โดยมีความเข้มข้นในช่วง 254-262 ppm ยกเว้นการเก็บตัวอย่างในซ้ำที่ 3 (50 ppm) โดยคลอรีนจะทำปฏิกิริยากับโปรตีนพลาสติก ทำให้โปรตีนของเซลล์ตกตะกอน ทำลายผนังเซลล์ และเอนไซม์ต่าง ๆ ภายในเซลล์ ทำให้การเจริญหยุดชะงักและตายในที่สุด (Kirk and Mitchell, 1980)

สำหรับกระบวนการฆ่าและชำแหละซากแบบสัมผัสพื้น พบว่าน้ำลวกซากก่อนฆ่ามีปริมาณการปนเปื้อนมากกว่าน้ำลวกซากหลังฆ่า ทั้งนี้เนื่องจากน้ำลวกซากที่ใช้เป็นน้ำที่ใช้ในกระบวนการฆ่าและชำแหละซากแบบไม่สัมผัสพื้น แต่ไม่เปิดเครื่องภายหลังปฏิบัติงานเสร็จนานประมาณ 3 ชั่วโมง ทำให้อุณหภูมิของน้ำลดลง ทำให้เชื้อ *S. aureus* ที่มีชีวิตอยู่สามารถเจริญเพิ่มจำนวนได้ และเมื่อทำการเปิดเครื่องเพื่อเพิ่มอุณหภูมิของน้ำเพื่อใช้ในกระบวนการฆ่าและชำแหละซากแบบสัมผัสพื้น จึงทำให้พบการปนเปื้อนเชื้อชนิดนี้ในน้ำลวกซากก่อนฆ่า และเมื่อทำการเปิดเครื่องเป็นเวลานานขึ้นทำให้อุณหภูมิสูงขึ้น โดยอยู่ในช่วง 60-62 องศาเซลเซียส ตลอดเวลาการดำเนินการฆ่า ส่งผลให้เชื้อมีชีวิตอยู่ลดลง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Pearson and Dutson (1986) ที่กล่าวว่าในขั้นตอนการลวกซากเป็นขั้นตอนที่สามารถลดการปนเปื้อนของแบคทีเรียลงได้ เนื่องจากจุลินทรีย์ส่วนใหญ่จะถูกทำลายในน้ำลวกซาก แต่เมื่อเวลาผ่านไป ภายในถังลวกซากจะมีการสะสมของดิน อูจาระ และเลือดมากขึ้น อาจจะทำให้พบแบคทีเรียที่สามารถทนความร้อนได้ดีสามารถมีชีวิตอยู่ได้ จำนวนแบคทีเรียในถังลวกซากจะอยู่ในช่วงระหว่าง 2 -4 $\log \text{ cfu}/\text{มล.}$ และจะลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มจาก 54 เป็น 60 องศาเซลเซียส และจะกลับมาเจริญเติบโตอีกในช่วงอุณหภูมิ 25-40 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 5 ปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* ก่อนและระหว่างกระบวนการฆ่าและชำแหละ ซากสุกรแบบไม่สัมผัสพื้น (▨) และสัมผัสพื้น (▤); ND = ไม่ได้ทำการตรวจสอบ, กก = คอกก่อนสุกรเข้าพัก, ร = รถขนสุกร, คห = คอกหลังสุกรเข้าพัก, นพค = น้ำฝนคอก, นลค = น้ำล้างซากก่อนฆ่า, ผค = แผลแทงคอสุกร, ชกค = ซากสุกรก่อนล้าง, นลห = น้ำล้างซากหลังฆ่า, ชลค = ซากสุกรหลังล้าง, ชผ = ซากสุกรผ่าซีก, นลช = น้ำล้างซากสุกร, นพช = น้ำฝนซากสุกร และชกย = ซากสุกรหลังกระบวนการฆ่า, ¹อักษรที่แตกต่างกันในขั้นตอนเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ที่มา : ผุสดี ตังวัชรินทร์ และไชยวรรณ วัฒนจันทร์ (2551)

4. การตอบสนองต่อแบคทีเรียเพื่อการอยู่รอดในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม

โดยปกติแบคทีเรียจะมีอยู่ในสภาวะ non-stressed cells แต่เมื่ออยู่ในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่นในกระบวนการแปรรูปอาหาร ซึ่งมักมีขั้นตอนการให้ความร้อน และความเย็นเป็นต้น แบคทีเรียจะมีการปรับตัวเพื่อให้สามารถมีชีวิตอยู่รอดได้ โดยแบคทีเรียจะมีการเปลี่ยนแปลงด้านกายวิภาค สรีรวิทยา และระบบ metabolism ทำให้แบคทีเรียอยู่ในสภาวะ stressed cells เพื่ออยู่รอดในสภาพแวดล้อมนั้น ๆ ได้ ซึ่งการปรับเปลี่ยนสภาวะนี้อาจส่งผลให้แบคทีเรียมีความสามารถทนต่อสารเคมี แรงดัน และสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมอื่น ๆ ได้มากขึ้น (cross-protection) หรือน้อยลง ทั้งนี้ได้มีการรายงานพบว่า เชื้อ *E. coli* O157:H7 ที่อยู่ในสภาวะ heat-stressed cells สามารถทนต่อการดัดได้มากขึ้น (Griffiths, 2005) ทั้งนี้ได้มีการรายงานพบว่า เชื้อ *S. aureus* ไม่สามารถมีชีวิตอยู่รอดได้ในสภาพแวดล้อมที่มีค่า pH เท่ากับ 2 แต่เชื้อชนิดนี้จะสามารถมีชีวิตอยู่ได้ในสภาพแวดล้อมที่มีค่า pH เท่ากับ 4 เนื่องจากกลไก sigB-

dependent ภายในเซลล์ ซึ่งการตอบสนองต่อสภาวะเครียดของเชื้อชนิดนี้ทำหน้าที่เกี่ยวกับสร้าง NADH และการขนส่งผ่านเมมเบรน (Chan et al., 1998)

ตารางที่ 10 การปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* ก่อนและระหว่างกระบวนการฆ่าและฆ่าเชื้อซากสุกร แบบไม่สัมผัสพื้นและสัมผัสพื้น

ขั้นตอน	การปนเปื้อนของเชื้อ <i>Staphylococcus aureus</i> ^{1/, 2/, 3/}			
	โรงฆ่าสัตว์แบบไม่สัมผัสพื้น		โรงฆ่าสัตว์แบบสัมผัสพื้น	
คอกก่อนสุกรเข้าพัก	2 (2)	33.33%	1 (1)	16.67%
รถขนสุกร	0 (0)	0.00%	0 (0)	0.00%
คอกหลังสุกรเข้าพัก	1 (1)	16.67%	1 (1)	16.67%
น้ำฟนคอก	0 (0)	0.00%	0 (0)	0.00%
น้ำลวกซากก่อนฆ่า	0 (0)	0.00%	0 (1)	16.67%
แผลแทงคอสุกร	0 (0)	0.00%	1 (1)	16.67%
ซากสุกรก่อนลวก	2 (2)	33.33%	1 (1)	16.67%
น้ำลวกซากหลังฆ่า	1 (2)	33.33%	0 (0)	0.00%
ซากสุกรหลังลวก	0 (1)	16.67%	0 (0)	0.00%
ซากสุกรผ่าซีก	3 (5)	83.33%	0 (1)	16.67%
น้ำล้างซากสุกร	0 (0)	0.00%	0 (0)	0.00%
น้ำฟนซากสุกร	0 (0)	0.00%	ND	
ซากสุกรหลังกระบวนการฆ่า	1 (2)	33.33%	0 (0)	0.00%

^{1/} x(y); x = จำนวนตัวอย่างที่พบการปนเปื้อนเกินมาตรฐาน, y = จำนวนตัวอย่างที่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus*

^{2/} % ตัวอย่างที่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus*

^{3/} มาตรฐานเนื้อสุกร คือ พบการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* < 2 log cfu/100 ซม.² หรือ มิลลิลิตร (ศศิธร คณรัตน์ และกาญจน์ ธรรมาพิพัฒน์กุล, 2534)

ที่มา : ผุสดี ตั้งวัชรินทร์ และไชยวรรณ วัฒนจันทร์ (2551)

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

1. วัสดุและอุปกรณ์

- 1.1 ปีเปตขนาด 25 ml
- 1.2 จานอาหารเลี้ยงเชื้อ
- 1.3 กระบอกสำหรับใส่ปีเปตและจานอาหารเลี้ยงเชื้อ
- 1.4 หลอดทดลองฝาตรง พร้อมฝา
- 1.5 ตะเกียงแอลกอฮอล์
- 1.6 ทิป และกล่องใส่ทิป
- 1.7 ขวดดูแลน ขนาด 500 และ 100 ml
- 1.8 ลูบ และเข็มเย็บเชื้อ
- 1.9 ตะเกียงแอลกอฮอล์
- 1.10 Micropipete ยี่ห้อ Finnpiptete รุ่น FJ 16145 และยี่ห้อ SOCOREX รุ่น 12065478
- 1.11 เครื่องดูดสารละลาย (Dispense)
- 1.12 Micropipet ขนาด 0.1 และ 1 ml ยี่ห้อ Nichiryo
- 1.13 ปีเปต ขนาด 10 และ 25 ml
- 1.14 ตูบ่มเชื้อ ยี่ห้อ Binder รุ่น BD 240
- 1.15 เครื่องชั่งน้ำหนัก 2 และ 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Sartorius รุ่น CP 3202S
- 1.16 เครื่องผสมสาร (Verter mixture) ยี่ห้อ Scientific Industries รุ่น G560E
- 1.17 ตู้บลมร้อน (Hot air oven) ยี่ห้อ Memmert รุ่น LINE 500
- 1.17 เตามาโคเวฟ ยี่ห้อ Sharp รุ่น R-27P
- 1.18 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminaflow) ยี่ห้อ Thermo Electron Corporation รุ่น Forma Class II,

A2

- 1.19 เครื่องนึ่งความดัน ยี่ห้อ Microm series รุ่น SA-300V
- 1.20 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath) ยี่ห้อ Memmert รุ่น WNB22
- 1.21 เครื่อง Microplate reader ยี่ห้อ Biochrom Ltd รุ่น UVM 340
- 1.22 ตู้เย็น ยี่ห้อ Toshiba รุ่น GR-M46KD
- 1.23 Mutipipete ยี่ห้อ Autoclavable รุ่น DB 7050

2. สารเคมี จัดซื้อจากบริษัท Merck (Germany) และ Sigma-Aldrich

- 2.1 เอทานอล
- 2.2 เมทานอล
- 2.3 โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)

2.4 Ciprofloxacin

2.5 Potassium tellurite

3. อาหารเลี้ยงเชื้อ อาหารเลี้ยงเชื้อทุกชนิดจัดซื้อจากบริษัท Merck (Germany)

3.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar (PCA)

3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller-Hinton broth (MHB)

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller-Hinton agar (MHA)

3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ Baird-Parker Egg Yolk-Tellurite Medium

3.5 วุ้น (Agar – agar)

4. วิธีการดำเนินการวิจัย และสถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

4.1 ศึกษาระดับความเข้มข้นของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin และกรด lactic ที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Staphylococcus aureus*

4.1.1 ชนิดของสารต้านแบคทีเรีย

สารที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ น้ำมันมะพร้าวที่ผ่านกระบวนการสกัดแบบเย็น (บริษัท น้ำมันมะพร้าวไทย จำกัด) ที่ผลิตขึ้นภายในประเทศไทย ในขณะที่กรด lauric (Sigma-Aldrich) และสาร monolaurin (Sigma-Aldrich) กรด Lactic (Med-Chem Labs)

4.1.2 ชนิดแบคทีเรีย

แบคทีเรียที่ใช้ในการศึกษานี้ คือ เชื้อ *S. aureus* ที่แยกได้จากเนื้อสุกร และจัดเก็บเป็น stock culture ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เมื่อทำการทดลอง นำ stock culture มาละลายน้ำแข็ง ที่อุณหภูมิห้อง 4 องศาเซลเซียส และนำมาเพาะเลี้ยงบน Plate count agar บ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 22-24 ชั่วโมง เพื่อให้เชื้ออยู่ในสภาวะ late log phase (non-stressed cells) ตามวิธีของ Tangwatcharin et al. (2006)

4.1.3 ทำการศึกษาความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus* (ตามข้อ 4.1.2) ด้วยน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin และกรด lactic ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วยวิธี diffusion agar ตามวิธีของ Bauer et al. (1966) ทั้งนี้ทำการวางแผนการทดลองของสารแต่ละชนิด (ข้อ 4.1.1) แบบ Completely randomized design (CRD) โดยสารแต่ละชนิดมีระดับความเข้มข้นสุดท้ายของสาร จำนวน 8 treatments ได้แก่ ที่ความเข้มข้น 0-10% สำหรับน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ 0-20.0 mg/ml สำหรับ กรด lauric และสาร monolaurin และ 0-2% สำหรับกรด lactic ทำการทดลองจำนวน 2 ซ้ำต่อครั้ง เป็นจำนวน 3 ครั้ง รวม 48 ตัวอย่างต่อชนิดสาร และรวมทั้งสิ้น 192 ตัวอย่าง

4.1.3.1 วิธี diffusion agar

1) เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller-Hinton agar (MHA) ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 25 ml

2) เตรียม disc ปลอดเชื้อ โดยการตัดกระดาษกรอง เบอร์ 1 (whatman filter paper No. 1) ให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.6 mm แล้วนำมาหนึ่งฆ่าเชื้อ จากนั้นเตรียมน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin และกรด lactic ให้มีความเข้มข้นสุดท้ายบน disc ดังตารางที่ 1 โดยใช้ sterile 20% Dimethylsulfoxide (20% DMSO) ในการเจือจาง น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin และใช้น้ำกลั่นปลอดเชื้อ สำหรับกรด lactic แบบ 2 fold โดยมีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 0-10% (v/v) 0-640 mg/ml 0-160 mg/ml และ 0-80% (v/v) ตามลำดับ จากนั้นนำสารละลายดังกล่าวมาหยดลงบน disc 10 ml ยกเว้นกรด lactic ที่ระดับความเข้มข้นบน disc สุดท้าย 1.6% ซึ่งเตรียมโดยหยดกรด lactic ความเข้มข้น 80% ปริมาตร 20 ml ทั้งให้ตัวอย่าง disc แห้งในตู้ปลอดเชื้อ ดังนั้น สารแต่ละชนิดจะมีความเข้มข้นสุดท้ายบน disc อยู่ในช่วง 0-1% (v/v) 0-6.4 mg 0-1.6 mg และ 0-1.6% (v/v) ตามลำดับ

3) เตรียม inoculation of plate ด้วยวิธี overlay method โดยเทสารละลายเชื้อบริสุทธิ์จากข้อ 4.1.2 ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA เหลว 3.5 ml ให้มีความเข้มข้นของเชื้อ 5×10^5 cfu ml⁻¹ แล้วนำมาเทลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA ในข้อ 1) พักไว้ให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว จากนั้นนำแผ่น disk ที่เตรียมในข้อ 2) มาวางบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ แต่ละจานวาง disc 5-6 แผ่น โดยวาง disc ที่มีความเข้มข้นสุดท้าย 0% หรือ 0 mg บนทุกจาน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง วัดขนาดของโซนใส (clear zone หรือ inhibition zone)

4.1.4 ศึกษาระดับความเข้มข้นต่ำสุด (minimum inhibition concentration, MIC) ของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin และกรด lactic ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus* ด้วยวิธี broth microdilution method ตามวิธีของ CLSI M7-A4 (2002) วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยมี treatments เช่นเดียวกับข้อ 4.1.3 มีตัวอย่างรวม 15 ตัวอย่างต่อชนิดสาร รวมทั้งสิ้น 60 ตัวอย่าง

4.1.4.1 การวิเคราะห์หาค่า MIC₉₀ และ minimum bactericidal concentration (MBC) ด้วยวิธี microtitre plate-based antibacterial assay แบบวัดความขุ่น และใช้ indicator

1) นำสารละลายเชื้อบริสุทธิ์ ในข้อ 4.1.2 มาเจือจางเพื่อให้แต่ละ well ของ microtitre plate มีความเข้มข้นของเชื้อ 5×10^5 cfu/ml

2) เตรียมน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin และกรด lactic เช่นเดียวกับข้อ 2.2.1.3 โดยมีความเข้มข้นสุดท้ายใน well อยู่ในช่วง 0-10% (v/v) 0-64 mg/ml 0-1.6 mg/ml และ 0-1.6% (v/v) ตามลำดับ

3) เตรียมสารละลาย resazurin ความเข้มข้น 3.375 mg/ml เพื่อใช้เป็น indicator โดยนำมาผ่านการกรองด้วย Millipore Syringe Filters ขนาด pore size 0.22 μ m (Millipore) ด้วยวิธีการปลอดเชื้อ

4) เตรียม serial dilution ของสารละลาย Ciprofloxacin เพื่อใช้เป็น positive control โดยการเจือจางแบบ 2 fold มีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 1.25×10^{-5} – 2.5×10^{-2} mg/ml

- 5) นำสารละลายที่เตรียมจากข้อ 2) และสารละลายเชื้อบริสุทธิ์ จากข้อ 1) ใส่ลงใน well ของ microtitre plate โดยให้ความเข้มข้น ดังต่อไปนี้
- อาหารเลี้ยงเชื้อ 1xMueller-Hinton broth (MHB) ปริมาตร 80 ml
 - อาหารเลี้ยงเชื้อ 3xMHB ปริมาตร 40 ml
 - สารละลายเชื้อบริสุทธิ์ความเข้มข้น 5×10^6 cfu/ml หรือสารละลาย 0.85% NaCl ปลอดเชื้อ ปริมาตร 20 ml
 - serial dilution ของ น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin และกรด lactic ปริมาตร 20 ml
 - สารละลาย resazurin ในข้อ 3) สำหรับวิธี microtitre plate-based antibacterial assay แบบใช้อินดิเคเตอร์ หรือน้ำกลั่นปลอดเชื้อ วิธี microtitre plate-based antibacterial assay แบบวัดความขุ่น ปริมาตร 40 ml
- 6) ปิดฝา microtitre plate ด้วย lid ปลอดเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง วัดความขุ่น ด้วยเครื่อง microtitre plate reader รุ่น UVM 340 (Biocompare, USA) และดูการเปลี่ยนสีของสารละลาย resazurin จากสีน้ำเงิน เป็นสีชมพู
- 7) ทำการวิเคราะห์ค่า MIC_{90} และ MBC โดยการนำตัวอย่างจาก well ที่มีความขุ่นน้อยที่สุด หรือไม่มีการเปลี่ยนสีของสารละลาย resazurin ของสารแต่ละชนิด ปริมาตร 10 ml หยดลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นบันทึกระดับความเข้มข้นต่ำสุดของสารชนิดต่าง ๆ ที่พบการเจริญเติบโตของเชื้อน้อยกว่า 100 cfu/ml เป็นค่า MIC_{90} และที่ไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อเป็นค่า MBC ของสารชนิดนั้น ๆ

4.1.5 ศึกษาการต้านเชื้อ *S. aureus* ของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ด้วยวิธี antibacterial combination โดยวิเคราะห์แบบ checker board broth dilution ตามวิธีของ Bharadwaj et al. (2003) Doores (2005) Gutierrez et al. (2008) และ Vasconcelos de Oliveira et al. (2010) มีตัวอย่างรวมทั้งสิ้น 225 ตัวอย่าง

4.1.5.1 การวิเคราะห์หาค่า Fractional inhibitory concentration index (FICI) และ Fractional bactericidal concentration index (FBCI) ของการใช้สารร่วมกันระหว่าง a) น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์และกรด lactic b) กรด lauric และกรด lactic และ c) สาร monolaurin และกรด lactic โดยวิเคราะห์แบบ checker board broth dilution ด้วยวิธี microtitre plate-based antibacterial assay แบบวัดความขุ่น

1) เตรียมสารต่าง ๆ เช่นเดียวกับข้อ 1) 2) และ 4) ในข้อ 4.1.4

2) เตรียมน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin และกรด lactic เช่นเดียวกับข้อ 4.1.3 โดยมีความเข้มข้นสุดท้ายอยู่ในช่วง $1/16MIC-2MIC$ ยกเว้นน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ ดังนั้นความเข้มข้นสุดท้ายของสารแต่ละชนิดใน well อยู่ในช่วง 10% (v/v) 2-64

mg/ml 0.00625-0.2 mg/ml และ 0.025-0.8% (v/v) ตามลำดับ โดยในแต่ละ well ทำการเติมสารดังต่อไปนี้

- อาหารเลี้ยงเชื้อ 1xMueller-Hinton broth (MHB) ปริมาตร 60 ml
- อาหารเลี้ยงเชื้อ 4xMHB ปริมาตร 40 ml
- สารละลายเชื้อบริสุทธิ์ความเข้มข้น 5×10^6 cfu/ml หรือสารละลาย 0.85% NaClปลอดเชื้อ ปริมาตร 20 ml
- serial dilution ของ น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin และกรด lactic ปริมาตร 20 ml
- น้ำกลั่นปลอดเชื้อ ปริมาตร 40 ml

4.1.6 การวิเคราะห์หาปริมาณกรด lauric ในน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์

นำน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ (ตามข้อ 4.1.1) มาเจือจางที่ระดับความเข้มข้น 0-10% จากนั้นนำมาวิเคราะห์หาปริมาณกรด lauric ตามวิธีของ Ugbogu et al. (2006) ตรวจยืนยันผลกรดไขมันด้วยวิธี GC เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณกรด lauric ในน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์

4.6.1.1 การวิเคราะห์หาปริมาณกรด lauric ด้วยการตรวจวัดกรดไขมัน โดยการเตรียมตัวอย่างน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ให้มีความเข้มข้น 50% ในสารละลาย 95% ethanol : diethyl ether (1:1) ปริมาตร 50 ml แล้วหยดสารละลาย 1% phenolphthalein ในสารละลาย 95% ethanol ปริมาตร 1 ml ไทเทรตด้วยสารละลาย 0.1 M NaOH จนกระทั่งเกิดสีชมพูอ่อนภายใน 15 วินาทีเป็นจุดยุติ และบันทึกปริมาตรของสารละลาย 0.1 M NaOH ที่ใช้ไป นำไปคำนวณในสมการดังนี้

ปริมาณกรดไขมัน = (ปริมาตรของสารละลาย 0.1 M NaOH ที่ใช้ไป $\times$ 5.61)/ปริมาตรตัวอย่าง

4.1.7 การวิเคราะห์ข้อมูล

4.1.7.1 นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองในข้อ 2.2.1.3 มาวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ Anova procedure ด้วยโปรแกรม SAS (Statistical Analysis Systems Institute, 1998) โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

4.1.7.2 บันทึกความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อ *S. aureus* ในการใช้น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ในข้อ 4.1.5 จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปประมวลผลค่า MIC และ MBC ของการใช้สารสกัดร่วมกันและวิเคราะห์ค่า Fractional inhibitory concentration index (FICI) และ Fractional bactericidal concentration index (FBCI) ตามลำดับ โดยพิจารณาการออกฤทธิ์เสริมกัน ดังนี้

- 1) FICI หรือ FBCI ≤ 0.5 คือ synergy
- 2) FICI หรือ FBCI > 0.5 to 1.0 คือ partial synergy/addition

3) FICI หรือ FBCI > 1.0 to <2.0 คือ indifference

4) FICI หรือ FBCI $\geq$ 2.0 คือ antagonism

4.1.7.2 ทำการคัดเลือก 3 ระดับความเข้มข้นของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin รวมและ/หรือไม่รวมกับกรด lactic ที่มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้มากที่สุด เพื่อทำการศึกษาประสิทธิภาพการลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* ในสารละลายเชื้อบริสุทธิ์ และบนเนื้อสุกร ต่อไป

4.2 ศึกษาประสิทธิภาพการลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* ของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin รวมกับกรด lactic ในสารละลายเชื้อบริสุทธิ์

4.2.1 ทำการศึกษาประสิทธิภาพการลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* ของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin รวมและ/หรือไม่รวมกับกรด lactic โดยนำสารที่คัดเลือกได้จากข้อ 4.1 มาใส่ลงในสารละลายเชื้อบริสุทธิ์ เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 5 10 15 30 60 และ 120 นาที จากนั้นทำการวิเคราะห์หา Population density estimate Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) และ Scanning and Transmission Electron Microscopy ดังข้อ 4.2.4 4.2.5 และ 4.2.6 ตามลำดับ ทั้งนี้ทำการวางแผนการทดลองแบบ 10 x 7 factorial in completely randomized design (CRD) โดย ปัจจัยที่ 1 คือ การใช้สารร่วมกัน 2 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ จำนวน 10 treatments ดังข้อ 4.2.2 และปัจจัยที่ 2 คือ ระยะเวลาที่แบคทีเรียสัมผัสสาร ได้แก่ 0 5 10 15 30 60 และ 120 นาที ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ รวมทั้งสิ้น 210 ตัวอย่าง

4.2.2 ชนิดและระดับความเข้มข้นของสาร

ชนิดของสารสกัดที่ใช้ในข้อ 4.2.1 คือ ระดับความเข้มข้นของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin รวมและ/หรือไม่รวมกับกรด lactic ที่มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้มากที่สุด จากข้อ 4.1.4 - 4.1.6 รวมทั้งสิ้น 10 treatments ดังตารางที่ 12

ตารางที่ 11 การใช้สารร่วมกัน 2 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในการศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้ง

ชนิดของสาร	ความเข้มข้นต่ำสุดของการใช้สารร่วมกัน 2 ชนิด*			
กรด lactic (%(v/v)) ร่วมกับน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ (%(v/v))	0.4 (10)	0.4 (0)		
กรด lactic (%(v/v)) ร่วมกับกรด lauric (mg/ml)	0 (3.2)	0.025 (0.8)	0.05 (0.4)	0.1 (0.2)
กรด lactic (%(v/v)) ร่วมกับสาร monolaurin (mg/ml)	0 (0.1)	0.025 (0.1)	0.05 (0.05)	0.2 (0.0125)

* x(y), x หมายถึง ความเข้มข้นต่ำของกรด lactic และ y หมายถึง ความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric หรือสาร monolaurin

4.2.3 ชนิด และระดับความเข้มข้นเริ่มต้นของแบคทีเรีย

ชนิดแบคทีเรียที่ใช้ในข้อ 4.2.1 คือ เชื้อ *S. aureus* ที่แยกได้จากเนื้อมะพร้าว และการไม่เติมแบคทีเรีย ซึ่งวิธีการจัดเตรียมเชื้อทำเช่นเดียวกับข้อ 4.1.2 ทั้งนี้ระดับความเข้มข้นเริ่มต้นของแบคทีเรีย คือ 5 log cfu/ml

4.2.4 Population density estimate

จากการศึกษาในข้อ 4.2.1 ภายหลังจากที่สารละลายเชื้อบริสุทธิ์สัมผัสกับน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin รวมและ/หรือไม่รวมกับกรด lactic ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ทำการวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียที่เหลือยู่ภายหลังจากสัมผัสสารสกัดบนอาหาร Muller-Hilton agar (MHA) เพื่อหาปริมาณ Total culturable cells และอาหารเลี้ยงเชื้อ Baird-Parker agar เพื่อหาปริมาณ Culturable cells โดยทำการบ่มที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง เพื่อวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงสภาวะของเซลล์ในการศึกษาผลการตอบสนองทางสัณฐานวิทยาและกายภาพของเซลล์ *S. aureus* เนื่องจากสภาวะเครียด (Morphological and physiological responses of *S. aureus* to stress) ตามวิธีของ Tangwatcharin et al. (2006)

4.2.5 Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)

จากการศึกษาในข้อ 4.2.1 ภายหลังจากที่สารละลายเชื้อบริสุทธิ์สัมผัสกับน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin รวมและ/หรือไม่รวมกับกรด lactic ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ทำการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงการสังเคราะห์โปรตีน เพื่อการศึกษาผลการตอบสนองทางสัณฐานวิทยาและกายภาพของเซลล์ *S. aureus* เนื่องจากสภาวะเครียด (Morphological and physiological responses of *S. aureus* to stress) ตามวิธีของ Ruzin and Novick (2000) โดยการนำแบคทีเรียที่สัมผัสกับสารชนิดต่าง ๆ มาทำการหมุนเหวี่ยงที่ 16,000 x g เป็นเวลา 5 นาที แล้วเอาส่วนใสทั้งทำการล้าง 3 ครั้ง ด้วย phosphate buffer saline ทำการสกัดโปรตีนด้วย ReadyPrep protein extraction kit (total protein) (Bio-Rad Laboratories) จากนั้นทำการวิเคราะห์ SDS-PAGE ด้วย 12% Tris-HCl gels (Bio-Rad Laboratories) ย้อมสี gels ด้วย Silver stain developer (Bio-Rad Laboratories)

4.2.6 Scanning and Transmission Electron Microscopy (SEM and TEM)

จากการศึกษาในข้อ 4.2.1 ภายหลังจากที่สารละลายเชื้อบริสุทธิ์สัมผัสกับน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin รวมและ/หรือไม่รวมกับกรด lactic ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ทำการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงรูปร่าง ผนังเซลล์และองค์ประกอบภายในเซลล์ เพื่อการศึกษาผลการตอบสนองทางสัณฐานวิทยาและกายภาพของเซลล์ *S. aureus* เนื่องจากสภาวะเครียด (Morphological and physiological responses of *S. aureus* to stress) ตามวิธีของ Tangwatcharin et al. (2006)

4.2.6.1 SEM ทำการเตรียมแบคทีเรีย โดยทำการคงสภาพแบคทีเรียเพื่อ fix ครั้งที่ 1 ด้วยสารละลาย 2.5% glutaraldehyde ($C_5H_8O_2$) ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง จากนั้นทำการล้างแบคทีเรียด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 3 ครั้ง และทำการ fix ครั้งที่ 2 ด้วย

1% osmium (OsO_4) เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง และล้างแบคทีเรียด้วยน้ำกลั่น 2-3 ครั้ง แล้วทำการขจัดน้ำออกจากแบคทีเรีย (dehydration) โดยใช้ ethanol series ที่ระดับความเข้มข้น 50 70 80 90 และ 100% ความเข้มข้นละ 2 ครั้ง ๆ ละ 15 นาที แล้วนำแบคทีเรียไปทำให้แห้ง ด้วยวิธี Critical Point Drying ตามวิธีการปฏิบัติงานการใช้เครื่อง CPD (WI-RES-CPD-001) จากนั้นนำแบคทีเรียมาติดบนแท่นวางตัวอย่าง (stub) โดยใช้เทปกาว 2 หน้า carbon tape น้ำยาทาเล็บ carbon paint หรือ silver paint เป็นตัวยึด แล้วนำตัวอย่างไปเคลือบทอง ตามวิธีปฏิบัติงานการใช้เครื่อง Sputter Coater (WI-RES-Coater-001) และจึงนำตัวอย่างไปส่องดูเซลล์ด้วยเครื่อง SEM (FEI Quanta 400, USA)

4.2.6.2 TEM ทำการเตรียมแบคทีเรีย โดยทำการคงสภาพแบคทีเรียเพื่อ fix ครั้งที่ 1 ด้วยสารละลาย 2.5% glutaraldehyde ($\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2$) ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง แล้วล้างด้วย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที จากนั้นทำการ fix ครั้งที่ 2 ด้วย 1% OsO_4 เป็นเวลา 1 – 2 ชั่วโมง แล้วล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที ทำการ en block-stain โดยการย้อมชิ้นตัวอย่างใน 2% uranyl เป็นเวลา 20 นาที และทำการ dehydration ใน ethanol series ระดับความเข้มข้น 70 80 90 และ 100% ความเข้มข้นละ 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที ยกเว้นความเข้มข้น 100% ทำการ dehydration 2 ครั้ง ๆ ละ 10 นาที จากนั้นทำการ infiltration เป็นการนำสารตัวกลางเข้าสู่เซลล์ ด้วย propylene oxide จำนวน 2 ครั้ง ๆ ละ 15 นาที propylene oxide: epoxy resin, (1:1) เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง propylene oxide: epoxy resin, (1:2) เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง และ pure epoxy resin เป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง แล้วจึงทำการ embedding ด้วยการหยด pure epoxy resin ลงใน capsule ประมาณ $\frac{1}{4}$ ไล์ฟองอากาศออกหน้าตัวอย่างเคลงบนกระดาษ แล้วเขียนลงใน capsule โดยให้ชิ้นตัวอย่างอยู่ปลายสุดของ capsule ตรวจฟองอากาศแล้วเติม pure epoxy resin จนเต็ม แล้วทำการ polymerization โดยนำตัวอย่างไปอบที่อุณหภูมิ 70-80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง และนำ block ที่ได้ไปตัด section ตามวิธีปฏิบัติการใช้เครื่อง Ultramicrotome (WI-RES-Ultramicrotome-001) และจึงนำตัวอย่างไปส่องดูเซลล์ด้วยเครื่อง TEM (JEOL JEM-2010, USA)

4.2.7 การวิเคราะห์ข้อมูล

4.2.7.1 บันทึกปริมาณแบคทีเรียที่เหลืออยู่ภายหลังสัมผัสสารที่เป็นเวลาต่าง ๆ ในข้อ 4.2.1 และนำข้อมูลที่ได้ไปประมวลผล และนำเสนอเป็นค่า log cfu

4.2.7.2 นำข้อมูลไปประมวลผล Population density estimate ในข้อ 4.2.4 หาค่า non-stressed และ stressed cells ของแบคทีเรียแต่ละชนิด ดังสมการ

$$\text{Stressed cells} = \text{Total culturable} - \text{culturable}$$

$$\text{Non-stressed cells} = \text{Culturable}$$

4.2.7.3 เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยปริมาณ Non-stressed และ Stressed cells ของเชื้อ *S. aureus* ที่เหลืออยู่ภายหลังสัมผัสสารและระดับความเข้มข้นต่าง ๆ โดย

GLM procedure ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรม SAS (Statistical Analysis System Institute, 1998)

4.3 ศึกษาประสิทธิภาพการลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* ของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ในเนื้อสุกกรสด

4.3.1 ทำการศึกษาประสิทธิภาพการลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* ของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic โดยนำสารที่คัดเลือกได้จากข้อ 4.1 เช่นเดียวกับข้อ 4.2.1 มาสัมผัสกับเนื้อสุกกรสดที่ผ่านการเติมเชื้อ *S. aureus* ในข้อ 4.3.5 เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นทำการวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อ *S. aureus* ในข้อ 4.3.6 ทั้งนี้ทำการวางแผนการทดลองแบบ CRD โดยมีชนิดและระดับความเข้มข้นของสาร 8 treatments ดังตารางที่ 8 ในข้อ 4.3.3 ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ รวมทั้งสิ้น 24 ตัวอย่าง

4.3.2 ทำการศึกษาประสิทธิภาพการลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic โดยนำสารที่คัดเลือกได้จากข้อ 4.1 เช่นเดียวกับข้อ 4.2.1 มาสัมผัสกับเนื้อสุกกรสด ในข้อ 4.3.5 เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นทำการวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและคุณภาพทางกายภาพของเนื้อสุกกรสดในข้อ 4.3.6 และ 4.3.7 ตามลำดับ ทั้งนี้ทำการวางแผนการทดลองแบบ CRD โดยมีชนิดและระดับความเข้มข้นของสาร 8 treatments ดังตารางที่ 8 ในข้อ 4.3.3 ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ รวมทั้งสิ้น 24 ตัวอย่างต่อการวิเคราะห์

4.3.3 ชนิดและระดับความเข้มข้นของสาร ชนิดของสารที่ใช้ในข้อ 4.3.1 และ 4.3.2 คือ ไม่สัมผัส น้ำปลอดเชื้อ น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin ร่วมและ/หรือไม่ร่วมกับกรด lactic ดังตารางที่ 13 ที่มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้มากที่สุด จากข้อ 4.1.2 รวมทั้งสิ้น 8 treatments

4.3.4 ชนิด และระดับความเข้มข้นเริ่มต้นของแบคทีเรีย ชนิดแบคทีเรียที่ใช้ในข้อ 4.3.1 คือ เชื้อ *S. aureus* ที่แยกได้จากเนื้อสุกกร ซึ่งวิธีการจัดเตรียมเชื้อทำเช่นเดียวกับข้อ 4.1.2 ทั้งนี้ระดับความเข้มข้นเริ่มต้นของแบคทีเรีย คือ 7 log cfu/ml

ตารางที่ 12 การใช้สารร่วมกัน 2 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในการศึกษาประสิทธิภาพการลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* ของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ในเนื้อสุกกรสด

ชนิดของสาร	ความเข้มข้นต่ำสุดของการใช้สารร่วมกัน 2 ชนิด*	
น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ (%(v/v)) ร่วมกับกรด lactic (%(v/v))	0 (10)	0.4 (0)
กรด lauric (mg/ml) ร่วมกับกรด lactic (%(v/v))	0 (3.2)	0.1 (0.2)
สาร monolaurin (mg/ml) ร่วมกับกรด lactic (%(v/v))	0 (0.1)	0.1 (0.05)

* x(y), x หมายถึง ความเข้มข้นต่ำของกรด lactic และ y หมายถึง ความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric หรือสาร monolaurin

4.3.5 การเตรียมเนื้อสุกร จัดซื้อเนื้อสันนอกสุกรจากตลาดเทศบาลเมืองพัทลุง โดยทำเตรียมเนื้อสันนอกสุกรให้มีขนาดหนา 2.5 เซนติเมตร น้ำหนักประมาณ 150-200 g (ประสิทธิภาพ และอภิษฎา, 2548) และแบ่งครึ่งเนื้อสันนอกสุกรตามแนวยาว แล้วทำการจุ่มเนื้อสันนอกสุกรครึ่งที่หนึ่งลงในสารละลายเชื้อบริสุทธิ์ในข้อ 4.3.4 โดยให้มีปริมาณเชื้อเริ่มต้น $5 \log \text{ cfu/g}$ เพื่อใช้ในการศึกษาในข้อ 4.3.1 (ผู้ดี และคณะ, 2544) และครึ่งที่สองไม่ทำการจุ่มสารละลายเชื้อบริสุทธิ์เพื่อใช้ในการศึกษาในข้อ 4.3.2 และ 4.3.7

4.3.6 วิเคราะห์หาปริมาณเชื้อ *S. aureus* และจุลินทรีย์ทั้งหมด

จากการศึกษาในข้อ 4.3.1 และ 4.3.2 ภายหลังที่เนื้อสุกรสดสัมผัสกับน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin ร่วมและ/หรือไม่ร่วมกับกรด lactic ทำการวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อ *S. aureus* และจุลินทรีย์ทั้งหมด ตามวิธีของ Bacteriological Analytical Manual Online โดย US FDA ปี 2001 (2006)

4.3.7 การวิเคราะห์ทางกายภาพของเนื้อสุกรสด โดยไม่มีการเติมแบคทีเรียลงในเนื้อสุกรตามวิธีของ ประภาพร และทิพรดี (2548)

4.3.7.1 ค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยนำเนื้อสุกรสดก่อนและหลังสัมผัสสารมาวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยเครื่องพีเอชมิเตอร์ (Mettler Toledo SG2, Mettler Toledo International Inc., USA)

4.3.7.2 สีของเนื้อ ทำการวัดสีของเนื้อสุกรสดก่อนและหลังสัมผัสสาร ด้วยเครื่องวัดสี ColorFlex Firmware version 1.72 (HunterLab Association, Inc., USA.)

4.3.7.3 การสูญเสียของเหลวในเนื้อสุกรสดภายหลังสัมผัส (Exudate loss) โดยการชั่งน้ำหนักเนื้อสุกรสดก่อนและภายหลังสัมผัสสารชนิดต่าง ๆ

4.3.7.4 การสูญเสียน้ำหนักภายหลังการทำให้สุก (Cooking loss) โดยนำเนื้อสุกรสดที่ผ่านการชั่งน้ำหนักเพื่อวิเคราะห์การสูญเสียน้ำหนักภายหลังสัมผัสสารชนิดต่าง ๆ แล้วมาบรรจุลงในถุงพลาสติก และปิดผนึกแบบสุญญากาศ จากนั้นนำไปต้มที่อุณหภูมิ 80 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที แล้วทำการชั่งน้ำหนักเนื้อสุกรที่สุกแล้ว

4.3.7.5 ความนุ่มของเนื้อ โดยการเตรียมเนื้อสุกรที่สุกทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส แล้วตัดให้มีขนาด $10 \times 20 \times 5$ มิลลิเมตร แล้วนำไปวัดค่า shear force ด้วยเครื่อง Texture analysis โดยใช้ Warner Bratzler shear apparatus โดยกำหนด full scale load เท่ากับ 10 กิโลกรัม และ cross head speed เท่ากับ 200 mm/min ตามวิธีของ Jensen et al. (2003) และ Wattanachant et al. (2008)

4.3.8 การทดสอบประสาทสัมผัสของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ในเนื้อสุกรสด โดยการทดสอบประสาทสัมผัส ได้แก่ สีโดยการมองเห็นด้วยตา กลิ่นแปลกปลอมโดยการดม และลักษณะปรากฏโดยรวม โดยการทดสอบแบบ Different-from-Control Test ตามวิธีของ ประภาพร และจุฑารัตน์ (2548) ทั้งนี้ทำการวางแผนการทดลองแบบ CRD เช่นเดียวกับข้อ 4.3.2 แต่ไม่มีการเติมแบคทีเรียลงในเนื้อสุกร โดยมีผู้ทำการ

ทดสอบจำนวน 10 คน ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ รวม 8 ตัวอย่างต่อคน รวมทั้งสิ้น 240 ตัวอย่าง โดยมีเกณฑ์การให้คะแนนดังนี้

- | | |
|-------------------------------|-----------------------------|
| 1 คือ extremely unacceptable | 6 คือ slightly acceptable |
| 2 คือ very much unacceptable | 7 คือ moderately acceptable |
| 3 คือ moderately unacceptable | 8 คือ very much acceptable |
| 4 คือ slightly unacceptable | 9 คือ extremely acceptable |
| 5 คือ between acceptable | |

4.3.9 การวิเคราะห์ข้อมูล

4.3.9.1 บันทึกปริมาณแบคทีเรียที่เหลืออยู่ภายหลังสัมผัสสารที่เป็นเวลาต่าง ๆ ในข้อ

4.3.1 และ 4.3.1 และนำข้อมูลที่ได้ไปประมวลผล และนำเสนอเป็นค่า log cfu

4.3.9.2 บันทึกค่าต่าง ๆ ของคุณภาพทางกายภาพของเนื้อสุกรในข้อ 4.3.7 และทำการประมวลผลการสูญเสียของเหลวในเนื้อสุกรสดภายหลังสัมผัสสารของเนื้อสุกรสด และการสูญเสียน้ำหนักภายหลังการทำให้สุก แล้วนำเสนอค่าเป็นเปอร์เซ็นต์ ดังสมการ

%Exudate loss = (น้ำหนักก่อนสัมผัสสาร-น้ำหนักภายหลังสัมผัสสาร) x 100 / น้ำหนักก่อนสัมผัสสาร

%Cooking loss = (น้ำหนักก่อนทำให้สุก-น้ำหนักหลังทำให้สุก) x 100 / น้ำหนักก่อนทำให้สุก

สำหรับค่าสี ทำการบันทึกค่า L^* a^* และ b^* value จากนั้นทำการคำนวณ Hue angle (H^*) และ Chroma (C^*) value ดังสมการ

$$H^* = \tan^{-1}(b^*/a^*)$$

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$$

4.3.9.3 บันทึกคะแนนทดสอบประสาทสัมผัสของเนื้อสุกรสดในข้อ 4.3.8

4.3.9.5 เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยปริมาณเชื้อ *S. aureus* ค่า pH สีของเนื้อ การสูญเสียน้ำหนักในภายหลังสัมผัสสาร การสูญเสียน้ำหนักภายหลังการทำให้สุก ความนุ่มของเนื้อ และคะแนนทดสอบประสาทสัมผัสของเนื้อสุกรสดในระหว่างการเก็บรักษาที่เป็นเวลาต่าง ๆ โดย GLM procedure ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรม SAS (Statistical Analysis System Institute, 1998)

4.4 ศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่ออายุการเก็บรักษาของเนื้อสุกรสดที่สัมผัสกรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic

4.4.1 การศึกษาอิทธิพลของกรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อการเจริญของเชื้อ *S. aureus* บนเนื้อสุกรสด โดยนำสารจากการคัดเลือกในข้อ 4.3 ซึ่งมีประสิทธิภาพใน

การลดปริมาณการปนเปื้อนเชื้อ *S. aureus* มากที่สุด และมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางกายภาพของเนื้อสุกรสดน้อยที่สุด มาสัมผัสกับเนื้อสุกรสดในข้อ 4.4.5 เป็นเวลา 10 นาที แล้วเก็บรักษาภายในถุงพลาสติกปิดสนิท เป็นเวลา 0 1 2 4 และ 8 วัน จากนั้นทำการวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อ *S. aureus* ทั้งนี้ทำการวางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD (2x4x5) โดย factor a คือ อุณหภูมิในการเก็บรักษา จำนวน 2 ระดับ ได้แก่ อุณหภูมิที่ 4 และ 15 องศาเซลเซียส สำหรับ factor b คือ การเติมสาร จำนวน 4 ระดับ ได้แก่ การไม่สัมผัสสาร สัมผัสน้ำ กรด lauric ร่วมกับกรด lactic และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic และ factor c คือ ระยะเวลาการเก็บรักษา จำนวน 5 ระดับ ได้แก่ 0 1 2 4 และ 8 วัน ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ รวม 120 ตัวอย่าง

4.4.2 การศึกษาอิทธิพลของกรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมดบนเนื้อสุกรสด และคุณภาพทางกายภาพของเนื้อสุกรสดในข้อ 4.4.7 - 4.4.9 โดยวางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD (2x4x5) เช่นเดียวกับข้อ 4.4.1 ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ รวม 120 ตัวอย่างต่อการวิเคราะห์

4.4.3 ชนิดและระดับความเข้มข้นของสารสกัดด้านแบคทีเรีย

ชนิดของสารสกัดที่ใช้ในข้อ 4.4.1 คือ กรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ที่มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณการปนเปื้อนเชื้อ *S. aureus* มากที่สุดจากข้อ 4.2 และ 4.3 เพียง 2 treatment

4.4.4 ชนิด และระดับความเข้มข้นเริ่มต้นของแบคทีเรีย

ชนิดแบคทีเรียที่ใช้ในข้อ 4.4.1 คือ เชื้อ *S. aureus* ที่แยกได้จากเนื้อสุกร ซึ่งวิธีการจัดเตรียมเชื้อทำเช่นเดียวกับข้อ 4.1.2 ทั้งนี้ระดับความเข้มข้นเริ่มต้นของแบคทีเรีย คือ 5 log cfu/ml

4.4.5 การเตรียมเนื้อสุกร

ทำการเตรียมเนื้อสุกรเช่นเดียวกับข้อ 4.3.5 ตามวิธีของ ประภาพร ขอไพบูลย์ และอภิษฎา ศรีเครือคง (2548) และผุสดี และคณะ (2544) สำหรับเนื้อสุกรที่ทำการวิเคราะห์จุลินทรีย์ทั้งหมด (ข้อ 4.3.2) และคุณภาพด้านกายภาพและเคมีไม่ทำการจุ่มสารละลายเชื้อบริสุทธิ์ (ข้อ 4.3.7-4.3.9)

4.4.6 วิเคราะห์หาปริมาณเชื้อ *S. aureus* และจุลินทรีย์ทั้งหมด

จากการศึกษาในข้อ 4.4.1 และ 4.4.2 ภายหลังจากที่เนื้อสุกรสดสัมผัสกับน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin ร่วมและ/หรือไม่ร่วมกับกรด lactic ทำการวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อ *S. aureus* และจุลินทรีย์ทั้งหมด ตามวิธีของ Bacteriological Analytical Manual Online โดย US FDA ปี 2001 (2006)

4.4.7 การวิเคราะห์ทางกายภาพของเนื้อสุกรสด โดยไม่มีการเติมแบคทีเรียลงในเนื้อสุกรตามวิธีของ ประภาพร และทิพรดี (2548) โดยทำการวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง สีของเนื้อ การสูญเสียน้ำหนักภายหลังการทำให้สุก และความนุ่มของเนื้อ เช่นเดียวกับข้อ 4.3.6 และการสูญเสียของเหลวในเนื้อสุกรสดในระหว่างการเก็บรักษา ดังสมการ

$\% \text{Drip loss} = (\text{น้ำหนักก่อนเก็บรักษา} - \text{น้ำหนักภายหลังเก็บรักษา}) \times 100 / \text{น้ำหนักก่อนเก็บรักษา}$

4.4.8 การวิเคราะห์ทางเคมีบางประการของเนื้อสุกรสด โดยไม่มีการเติมแบคทีเรียลงในเนื้อสุกร

4.4.8.1 การวิเคราะห์ความหืน โดยนำเนื้อสุกรสดก่อนและภายหลังการเก็บรักษาที่ระยะเวลาต่าง ๆ มาทำวัดความหืนโดยการวิเคราะห์หาค่า peroxide (PV) peroxide (PV) (AOAC, 1990) และค่า TBARS (Tokur, 2006)

1) ค่า peroxide (PV) ตามวิธีของ AOAC (1990)

นำตัวอย่างมาบดจนเป็นเนื้อเดียวกัน ซึ่งตัวอย่างเนื้อสุกรสด 1-2 กรัม เติมโพแทสเซียมไอโอไดด์ 1 กรัม เติมตัวทำละลาย (กรดอซิติก 3:คลอโรฟอร์ม 2) 20 ml ให้ความร้อนจนเดือดประมาณ 30 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น เติมน้ำกลั่น 35 ml เติมสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ความเข้มข้น 5% ไทเทรตจนมีสีเหลืองจาง เติมน้ำแบ่ง 1% 2-3 หยด ไทเทรตด้วยโซเดียมไทโอซัลเฟต 0.002 N จนได้จุดยุติสีขาวขุ่น

2) ค่า TBARS ตามวิธีของ Tokur (2006)

ซึ่งตัวอย่างเนื้อสุกรสด 10 กรัม เติมน้ำกลั่น 97.5 ml และ HCl 6 N 2.5 มิลลิลิตร บดผสมจนเป็นเนื้อเดียวกัน กลั่นด้วยเครื่องสกัดโปรตีนจนได้ปริมาตร 200 มิลลิลิตร นำมาใช้วิเคราะห์ 5 ml เติม TBA 5 ml ให้ความร้อน 35 นาที จากนั้นทิ้งไว้ให้เย็น นำมาวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 538 nm

4.4.9 การทดสอบทางประสาทสัมผัส

การทดสอบประสาทสัมผัสของสารน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ในเนื้อสุกรสด เช่นเดียวกับข้อ 4.3.7 โดยการทดสอบประสาทสัมผัสได้แก่ สีโดยการมองเห็นด้วยตา กลิ่นโดยการดม และลักษณะปรากฏโดยรวม โดยการทดสอบแบบ Different-from-Control Test ตามวิธีของ ประภาพร ขอไพบุลย์ และจุฑารัตน์ เลื่อนักตะวา (2548)

4.4.10 การวิเคราะห์ข้อมูล

4.4.10.1 ทำการวิเคราะห์ข้อมูลต่าง ๆ เช่นเดียวกับข้อ 4.3.9

4.4.10.2 ทำการบันทึกค่าคุณภาพทางเคมีบางประการของเนื้อสุกรสดในข้อ 4.4.8

4.4.10.3 เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ย ค่า PV และ TBARS และคะแนนทดสอบประสาทสัมผัสของเนื้อสุกรสดในระหว่างการเก็บรักษาที่เป็นเวลาต่าง ๆ โดย GLM procedure ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรม SAS (Statistical Analysis System Institute, 1998)

บทที่ 4

ผลและอภิปรายผลการวิจัย

1. ศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus* ที่ระดับความเข้มข้นของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin และกรด lactic ที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus*

1.1 การศึกษาความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus* ด้วยน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin และกรด lactic ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

เนื่องจากในการทดลองนี้ ได้ใช้สารละลาย 20% DMSO เป็นตัวทำละลายสารที่นำมาศึกษา จึงได้ทำการตรวจสอบสารละลาย 20% DMSO ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus* โดยทดลองเปรียบเทียบกับสารละลาย 0.85% NaCl พบว่า ปริมาณเชื้อที่ทำการเจือจางด้วยสารละลาย 20% DMSO และ 0.85% NaCl ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) แสดงให้เห็นว่าการใช้สารละลาย 20% DMSO เป็นตัวทำละลายเพื่อเจือจางความเข้มข้นของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric และสาร monolaurin ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus*

จากผลการศึกษาความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus* ด้วยน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin และกรด lactic ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วยวิธี Kirby-Bauer disc diffusion agar พบว่า กรด lauric สาร monolaurin และกรด lactic ที่ระดับความเข้มข้นช่วง 1.6 – 6.4 mg 0.1-1.6 mg และ 0.1-1.6% (v/v) ตามลำดับ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus* ที่มีความเข้มข้น 5×10^5 cfu/ml ในขณะที่น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus* (ตารางที่ 14 และภาพที่ 5) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์มีกรดไขมันเพียง 0.58% ซึ่งสอดคล้องกับ Ugbogu *et al.* (2006) ที่รายงานว่าน้ำมันปาล์มที่มีกรดไขมัน 0.58% มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus* ได้เพียง 1.9 mm เท่านั้น

1.2 การศึกษาวิเคราะห์หาระดับความเข้มข้นที่ต่ำที่สุด (minimum inhibition concentration, MIC) ของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin และกรด lactic ที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus*

ผลการศึกษาค่า MIC₉₀ และ MBC ของสารแต่ละชนิดด้วยวิธี microtitre plate-based antibacterial assay แบบวัดความขุ่น และใช้ indicator พบว่า วิธี microtitre plate-based antibacterial assay แบบวัดความขุ่นมีประสิทธิภาพมากกว่าแบบใช้ indicator เนื่องจากกรดจะสนับสนุนให้ resazurin ถูก reducing เป็น resorufin (Zhang *et al.*, 2004) ทำให้กรด lactic ที่ระดับความเข้มข้นสูง ไม่ปรากฏเป็นสีน้ำเงินหรือชมพู แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อทำการหาค่า MIC₉₀ และ MBC ของสารแต่ละชนิด โดยการนำตัวอย่างที่มีความเข้มข้นมากกว่า MIC ของแต่ละวิธีมาเพาะเลี้ยงแบคทีเรียบน MHA พบว่าค่า MIC₉₀ และ MBC ของสารแต่ละชนิดของทั้ง 2 วิธี มีระดับความเข้มข้นสูงขึ้น (ตารางที่ 15 และภาพที่ 6)

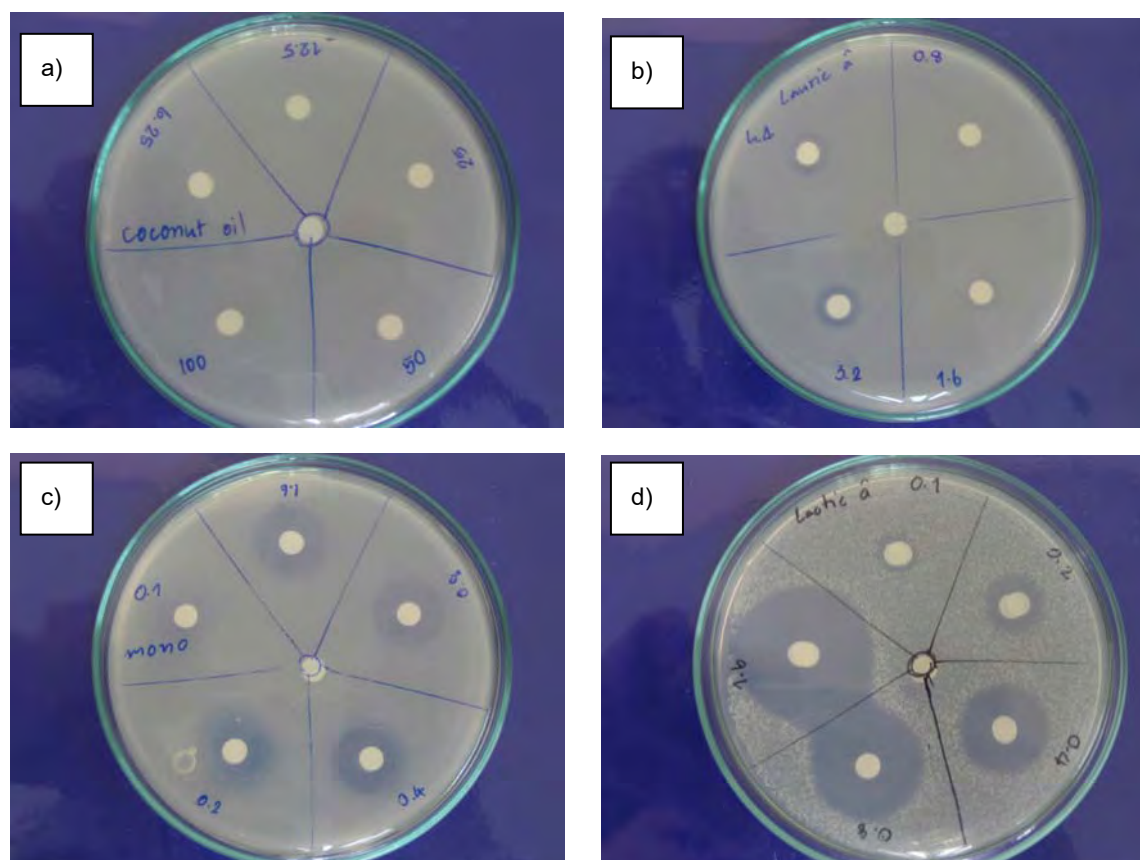
ตารางที่ 14 ขนาดของ Inhibition zone^{1, 2} ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ของกรด lauric สาร monolaurin และกรด lactic³ ที่ระดับความเข้มข้นสุดท้ายต่าง ๆ

กรด lauric								
ระดับความเข้มข้น	0	0.1	0.2	0.4	0.8	1.6	3.2	6.4
Inhibition zone	0	0	0	0	0	$6 \pm 1.41^{\text{a}}$	$10 \pm 0.00^{\text{b}}$	$10.5 \pm 0.71^{\text{b}}$
สาร monolaurin								
ระดับความเข้มข้น	0	0.1	0.2	0.4	0.8	1.6		
Inhibition zone	0	7.5 ± 0.71	$13.5 \pm 0.71^{\text{b}}$	$14 \pm 2.83^{\text{b}}$	$18 \pm 1.41^{\text{c}}$	$18.5 \pm 2.12^{\text{c}}$		
กรด lactic								
ระดับความเข้มข้น	0	0.025	0.05	0.1	0.2	0.4	0.8	1.6
Inhibition zone	0	0	0	$10 \pm 0.00^{\text{a}}$	$13 \pm 0.00^{\text{a}}$	$20.5 \pm 1.41^{\text{b}}$	$27 \pm 1.41^{\text{b}}$	$32.5 \pm 0.71^{\text{c}}$

¹ ความยาวของเส้นผ่านศูนย์กลางของ inhibition zone ของสารแต่ละชนิด แสดงค่าเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และมีหน่วยเป็นมิลลิเมตร

² อักษรที่แตกต่างกันในสารเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

³ กรด lauric และสาร monolaurin มีหน่วยเป็น mg/ml สำหรับกรด lactic มีหน่วยเป็น %(v/v)



ภาพที่ 6 ลักษณะของโซนใส (clear zone) ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ (a) กรด lauric (b) สาร monolaurin (c) และกรด lactic (d) ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ตารางที่ 15 ค่า MIC₉₀ และ MBC ของสารแต่ละชนิดด้วยวิธี microtitre plate-based antibacterial assay แบบวัดความขุ่น และใช้อินดิเคเตอร์

ชนิดของสาร	วิธีการวิเคราะห์	MIC	MIC ₉₀	MBC
น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ (%(v/v))	วัดความขุ่น	-	-	-
	ใช้อินดิเคเตอร์	-	-	-
กรด lauric (mg/ml)	วัดความขุ่น	1.6	3.2	3.2
	ใช้อินดิเคเตอร์	0.4	3.2	3.2
สาร monolaurin (mg/ml)	วัดความขุ่น	0.025	0.1	0.1
	ใช้อินดิเคเตอร์	0.025	0.1	0.1
กรด lactic (%(v/v))	วัดความขุ่น	0.1	0.4	0.4
	ใช้อินดิเคเตอร์	ND*	0.4	0.4

* ND หมายถึง resazurin ถูก reducing เป็น resorufin ในกรด lactic ที่ความเข้มข้นช่วง 0.1-1.6%(v/v)

1.3 การศึกษาการต้านเชื้อ *S. aureus* ของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ด้วยวิธี antibacterial combination โดยวิเคราะห์แบบ checker board broth dilution

จากผลการวิเคราะห์หาค่า MIC₉₀ และ MBC ของการใช้สารร่วมกันระหว่าง a) น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์และกรด lactic b) กรด lauric และกรด lactic และ c) สาร monolaurin และกรด lactic ในการต้านเชื้อ *S. aureus* โดยการวิเคราะห์แบบ checker board broth dilution ด้วยวิธี microtitre plate-based antibacterial assay แบบวัดความขุ่น พบว่า การใช้กรด lauric ร่วมกับกรด lactic และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ดี ทั้งนี้เนื่องจากกรดทั้ง 2 ชนิดออกฤทธิ์เสริมกัน ในขณะที่การใช้้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ร่วมกับกรด lactic ไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียชนิดนี้ (ตารางที่ 16)

ดังนั้นจากผลการศึกษาระดับความเข้มข้นของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin และกรด lactic ที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus* สามารถคัดเลือกการใช้สารร่วมกันระหว่าง น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric และสาร monolaurin กับกรด lactic ที่ระดับความเข้มข้นเป็น MBC ของสารแต่ละคู่ เพื่อทำการศึกษาประสิทธิภาพการลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* ในสารละลายเชื้อบริสุทธิ์ต่อไป



ภาพที่ 7 แสดงผลการวิเคราะห์ค่า MIC₉₀ และ MBC ของสารแต่ละชนิดด้วยวิธี microtitre plate-based antibacterial assay แบบใช้ indicator

หมายเหตุ : C1 หมายถึง positive control ประกอบด้วย 3xMHB + 1xMHB + สารละลาย resazurin หรือน้ำกลั่นปลอดเชื้อ + serial dilution ของสารยับยั้ง (C1 ในคอลัมน์ที่ 1 แถวที่ 1-6 คือ serial dilution ของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ และแถวที่ 7-12 คือ serial dilution ของกรด lauric สำหรับ C1 ในคอลัมน์ที่ 6 แถวที่ 1-6 คือ serial dilution ของสาร monolaurin และแถวที่ 7-12 คือ serial dilution ของกรด lactic) + สารละลาย 0.85%NaCl ส่วน C2 หมายถึง negative control ประกอบด้วย 3xMHB + 1xMHB + สารละลาย resazurin หรือน้ำกลั่นปลอดเชื้อ + สารละลาย 20%DMSO + สารละลายเชื้อบริสุทธิ์ และสำหรับ C3 หมายถึง positive control ประกอบด้วย 3xMHB + 1xMHB + สารละลาย resazurin หรือน้ำกลั่นปลอดเชื้อ + serial dilution ของสาร Ciprofloxacin + สารละลายเชื้อบริสุทธิ์

ตารางที่ 16 ค่า MIC₉₀ MBC FICI และ FBCI ของการใช้กรด lactic ร่วมกับน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric และ สาร monolaurin ต่อการต้านเชื้อ *S. aureus*

ชนิดของสาร	ความเข้มข้นต่ำสุดของการใช้ สารร่วมกัน 2 ชนิด*		ค่า Index	แปลผล	
กรด lactic (%(v/v)) ร่วมกับ น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ (%(v/v))	MIC ₉₀	0.4 (10)	FICI	-	-
	MBC	0.4 (10)	FICI	-	-
กรด lactic (%(v/v)) ร่วมกับ กรด lauric (mg/ml)	MIC ₉₀	0.025 (0.4)	FICI	0.1875	synergy
		0.05 (0.4)	FICI	0.25	synergy
		0.1 (0.2)	FICI	0.3125	synergy
	MBC	0.025 (0.8)	FBCI	0.3125	synergy
		0.05 (0.4)	FBCI	0.375	synergy
		0.1 (0.2)	FBCI	0.3125	synergy
กรด lactic (%(v/v)) ร่วมกับ สาร monolaurin (mg/ml)	MIC ₉₀	0.025 (0.05)	FICI	0.5625	partial synergy/addition
		0.1 (0.05)	FICI	0.75	partial synergy/addition
		0.2 (0.00625)	FICI	0.5625	partial synergy/addition
	MBC	0.05 (0.05)	FBCI	0.625	partial synergy/addition
		0.1 (0.05)	FBCI	0.75	partial synergy/addition
		0.2 (0.0125)	FBCI	0.625	partial synergy/addition

* x(y) : x หมายถึง ความเข้มข้นต่ำของกรด lactic และ y หมายถึง ความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric หรือสาร monolaurin

1.4 การวิเคราะห์หาปริมาณกรด lauric ในน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์

จากผลการทดลองพบว่า น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์มีปริมาณกรดไขมันเท่ากับ 0.56% ในขณะที่การวิเคราะห์หาปริมาณกรด lauric ด้วยวิธี GC มีค่าเท่ากับ 335.60 g kg⁻¹ และมีสัดส่วนของกรดไขมันในน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ดังแสดงในตารางที่ 17 ทั้งนี้พบว่า น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์มีสัดส่วนของกรด lauric มากที่สุด คือ 47.16% รองลงมาคือ กรด myristic palmitic caprylic caprinic oleic stearic และ linoleic ตามลำดับ

ตารางที่ 17 สัดส่วนของกรดไขมันในน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์

ชนิดของกรดไขมัน	สัดส่วนของกรดไขมันในน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ (%)
caprylic acid (C 8:0)	6.13
Pelargonic acid (C 9:0)	0.00
Caprinic acid (C 10:0)	5.98
Undecylic acid (C 11:0)	0.02
Lauric acid (C 12:0)	47.16
Tridecylic acid (C 13:0)	0.03
Myristic acid (C 14:0)	17.78
Pentadecylic acid (C 15:0)	0.01
Palmitic acid (C 16:0)	8.51
Palmitoleic acid (C 16:1)	0.01
Margaric acid (C 17:0)	0.01
Stearic acid (C 18:0)	3.03
Oleic acid (C 18:1)	5.87
Linoleic acid (C 18:2)	0.99
Linolenic acid (C 18:3)	0.00
Arachidic acid (C 20:0)	0.08
Eicosenic acid (C 20:1)	0.03
Behenic acid (C 22:0)	0.02
Erucic acid (C 22:1)	0.00
Lignoceric acid (C 24:0)	0.02
Nervonic acid (C 24:1)	0.00

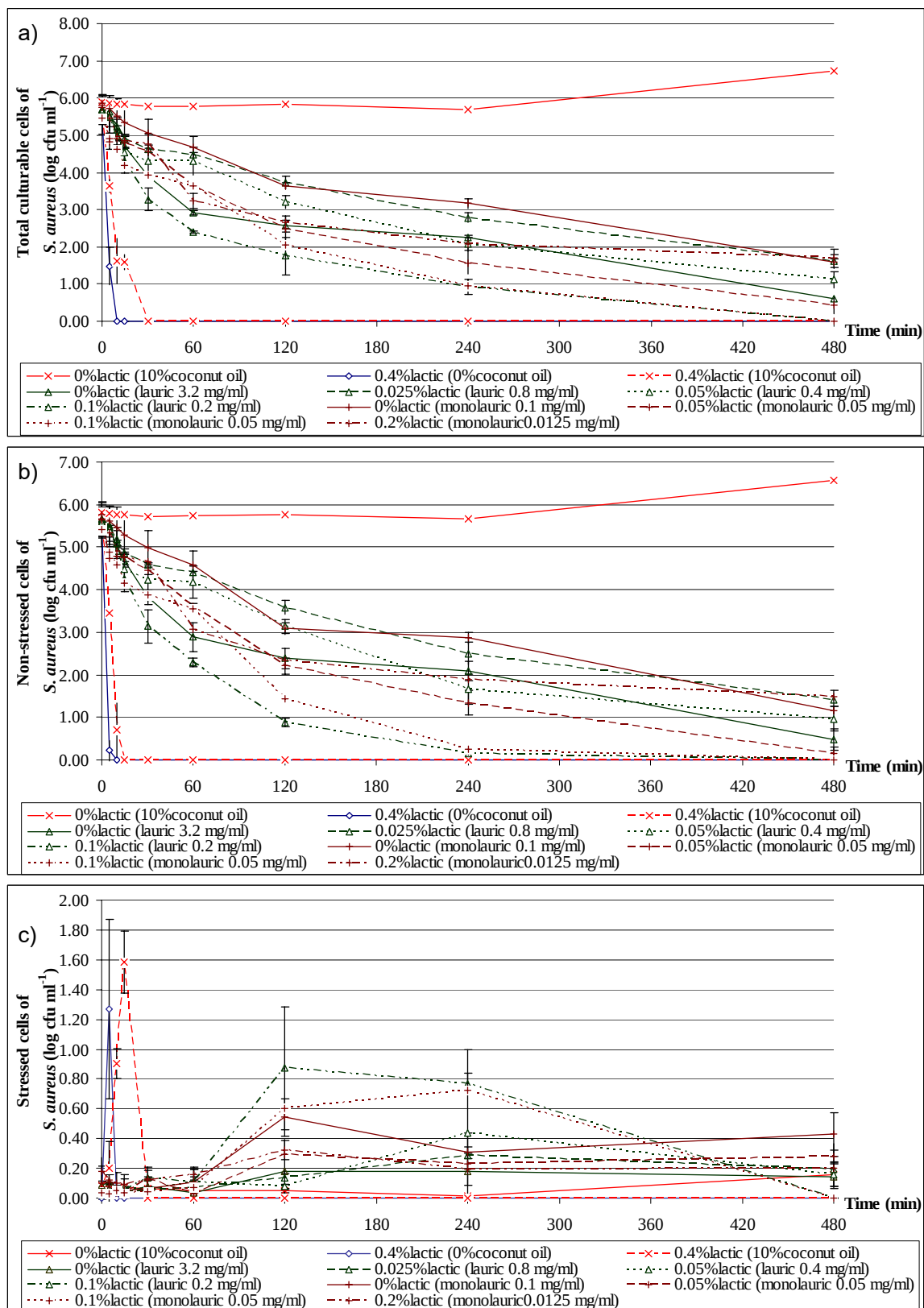
2. ศึกษาประสิทธิภาพการลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* ของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ในสารละลายเชื้อบริสุทธิ์

2.1 Population density estimate

จากการศึกษาพบว่า การใช้กรด lactic ความเข้มข้น 0.4% และน้ำมันมะพร้าวร่วมกับกรด lactic ความเข้มข้น 10 และ 0.4% ตามลำดับ มีประสิทธิภาพในการลดจำนวนเชื้อ *S. aureus* ได้ดีกว่ากลุ่มอื่น ($P \leq 0.05$) โดยแบคทีเรียทั้งหมด และที่อยู่ในสภาวะ non-stressed cell มีจำนวนลดอย่างรวดเร็ว และไม่สามารถตรวจพบแบคทีเรียทั้งหมดภายหลังสัมผัสสารเป็นเวลา 10 และ 30 นาที ตามลำดับ และแบคทีเรียที่อยู่ในสภาวะ non-stressed cells ภายหลังสัมผัสสารเป็นเวลา 10 และ 15 นาที ตามลำดับ นอกจากนี้ ยังเห็นยวนาให้แบคทีเรียที่อยู่ในสภาวะ non-stressed cells เข้าสู่สภาวะ stressed cells สูงสุดภายหลังสัมผัสสารเป็นเวลา 5 และ 15 นาที ตามลำดับ ($P \leq 0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 1.27 ± 0.60 และ $1.58 \pm 0.21 \log \text{ cfu/ml}$ (ภาพที่ 8) โดยกรด lactic จะทำให้สารภายในเซลล์ของเชื้อ *S. aureus* เกิดการเปลี่ยนแปลง (ภาพที่ 10c และ 10d) มีการสังเคราะห์โปรตีนลดลง (ภาพที่ 9) และสูญเสียผนังเซลล์ (ภาพที่ 11c และ 11d) ทั้งนี้ เนื่องจากการดื้ออินทรีย์

สามารถซึมผ่านเข้าสู่เซลล์ของแบคทีเรียส่งผลให้ค่าความเป็นกรดภายในเซลล์สูงขึ้นและทำให้เซลล์ตายลง และยังมีส่วนในการยับยั้งการสังเคราะห์สารต่าง ๆ ภายในเซลล์เช่น อาร์เอ็นเอ ดีเอ็นเอ โปรตีน รวมทั้งขัดขวางการขนส่งสารชนิดต่าง ๆ ภายในเซลล์ รวมทั้งเข้าไปทำลายแบคทีเรียจากภายในเซลล์ (Alves, 1995) และเหตุให้เกิดการสูญเสียผนังเซลล์ (Chaveerach et al., 2002) นอกจากนี้ ผลของระดับค่า pH ของสารยังเป็นปัจจัยหนึ่งในการลดจำนวนแบคทีเรีย โดยค่า pH ของกรด lactic ต่ำกว่ากลุ่มอื่น (ตารางที่ 18) เนื่องจากประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียของกรด นอกจากจะขึ้นอยู่กับความเฉพาะของกรดในการทำลายแบคทีเรียแล้ว ยังขึ้นอยู่กับความสามารถในการแตกตัว (pK_a) ด้วย โดยรูปแบบการแตกตัวของกรดขึ้นอยู่กับค่า pK_a (Gould 1995) ทั้งนี้ ค่า pH ต่ำที่เชื้อสามารถมีชีวิตรอดได้เท่ากับ 4.2 (Griffiths, 2005)

สำหรับการใช้กรด lauric ร่วมกับกรด lactic พบว่ากรด lauric ความเข้มข้น 0.2 mg/ml ร่วมกับกรด lactic ความเข้มข้น 0.1% ตามลำดับ มีประสิทธิภาพในการลดจำนวนเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุด โดยสามารถลดจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดได้อย่างรวดเร็ว (2.17 log cycle) ภายหลังสัมผัสสารนาน 120 นาที และเหี่ยวนำไปแบคทีเรียที่อยู่ในสภาวะ non-stressed cells เข้าสู่สภาวะ stressed cells ได้มากที่สุดภายหลังสัมผัสสารนาน 120-240 นาที ($P \leq 0.05$) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 0.77-0.87 log cfu/ml หลังจากนั้นเมื่อสัมผัสสารนานขึ้น แบคทีเรียทั้ง 3 สภาวะ มีจำนวนลดจนไม่สามารถตรวจพบได้ภายในเวลา 480 นาที (ภาพที่ 8) ทั้งนี้ ประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียของกรดไขมันอิ่มตัวขึ้นอยู่กับ hydrophobic group เนื่องจาก hydrophobic group จะไม่ขัดขวางสมดุลระหว่าง hydrophobic proteins และ lipid ของผนังเซลล์แบคทีเรีย และกรด lauric เป็นกรดไขมันที่มีความสมดุลระหว่าง hydrophobic และ hydrophilic group มากที่สุด (Ouattara et al., 1997) ในขณะที่การใช้สาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic พบว่ากรด lauric ความเข้มข้น 0.05 mg/ml ร่วมกับกรด lactic ความเข้มข้น 0.1% ตามลำดับ มีประสิทธิภาพในการลดจำนวนเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุด โดยสามารถลดจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดได้อย่างรวดเร็ว (4.49 log cycle) ภายหลังสัมผัสสารนาน 240 นาที และเหี่ยวนำไปแบคทีเรียที่อยู่ในสภาวะ non-stressed cells เข้าสู่สภาวะ stressed cells ได้มากที่สุดภายหลังสัมผัสสารนาน 120-240 นาที ($P \leq 0.05$) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 0.60-0.72 log cfu/ml หลังจากนั้นเมื่อสัมผัสสารเป็นเวลา 480 นาที แบคทีเรียทั้ง 3 สภาวะ มีจำนวนลดจนไม่สามารถตรวจพบได้ (ภาพที่ 8) ทั้งนี้ กรด lauric และสาร monolaurin จะมีผลทำให้สารภายในเซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลง (ภาพที่ 11e-h) มีการสังเคราะห์โปรตีนลดลง (ภาพที่ 8) และสูญเสียผนังเซลล์ (ภาพที่ 9e-h) โดยสาร monolaurin จะทำลายผนังเซลล์ทั้งชั้นนอกและใน ทำให้โปรตีนและ DNA เสียสภาพ และการใช้ร่วมกับกรด lactic จะเพิ่มการดูดซึมของสาร monolaurin เข้าไปสู่เซลล์ได้มากขึ้น (Skrivanova et al., 2006) และยิ่งไปกว่านั้น การใช้กรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic มีค่า pH อยู่ในช่วง 4 (ตารางที่ 18) ซึ่งเป็นสภาวะที่ทำให้เชื้อ *S. aureus* มีการปรับสภาวะเซลล์เพื่อให้มีชีวิตรอดได้ด้วยการเหี่ยวนำของยีน *sodA* โดยทำหน้าที่เกี่ยวกับการผลิต superoxide dismutase และมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 23.5 kDa (Griffiths, 2005) ซึ่งสามารถพบได้ในแบคทีเรียที่สัมผัสสารแต่ละชนิด (ภาพที่ 9)



ภาพที่ 8 การเปลี่ยนแปลงปริมาณของเชื้อ *S. aureus* ที่สภาวะต่าง ๆ (a) total culturable cells b) non-stressed cells และ c) stressed cells) ภายหลังสัมผัสน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 480 นาที

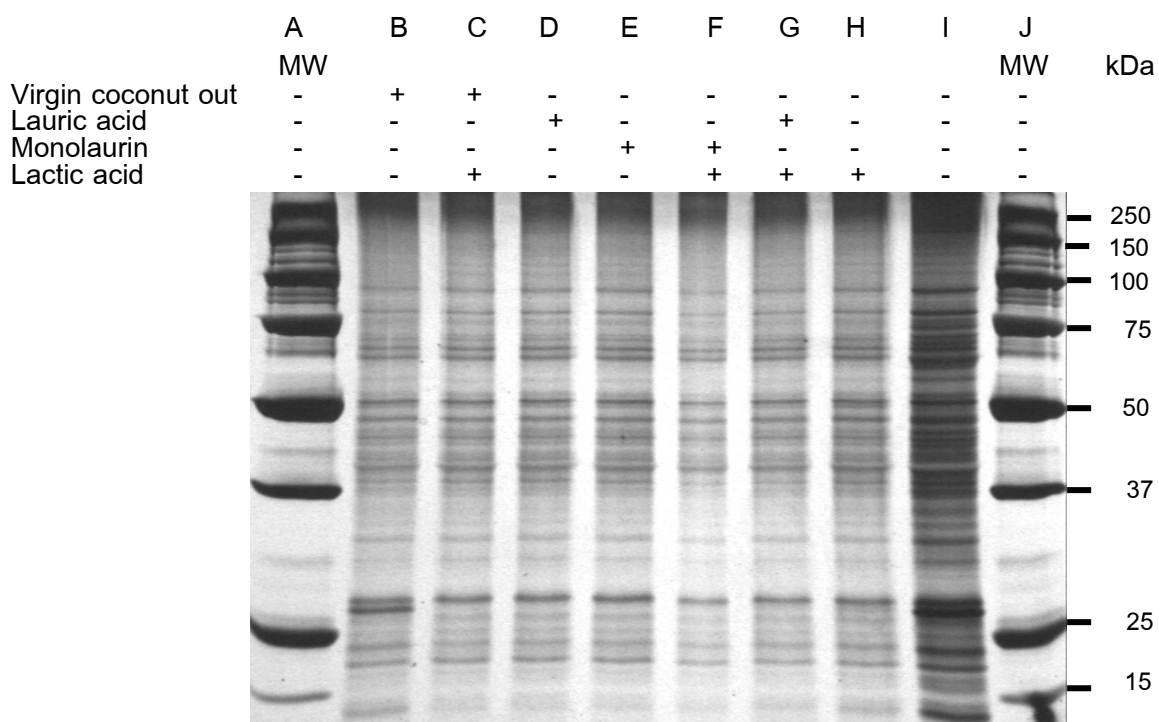
ตารางที่ 18 ค่า pH ของสารที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้นของสาร	ค่า pH
0 %lactic (10%coconut oil)	5.36 $\pm$ 0.03 ^f
0.4%lactic (0%coconut oil)	2.90 $\pm$ 0.02 ^a
0.4%lactic (10%coconut oil)	3.43 $\pm$ 0.04 ^b
0%lactic (lauric 3.2 mg/ml)	4.69 $\pm$ 0.03 ^e
0.025%lactic (lauric 0.8 mg/ml)	4.44 $\pm$ 0.05 ^d
0.05%lactic (lauric 0.4 mg/ml)	4.40 $\pm$ 0.06 ^d
0.1%lactic (lauric 0.2 mg/ml)	4.38 $\pm$ 0.03 ^d
0%lactic (monolauric 0.1 mg/ml)	5.83 $\pm$ 0.02 ^g
0.05%lactic (monolauric 0.05 mg/ml)	4.47 $\pm$ 0.02 ^d
0.1%lactic (monolauric 0.05 mg/ml)	4.44 $\pm$ 0.05 ^d
0.2%lactic (monolauric 0.0125 mg/ml)	4.25 $\pm$ 0.04 ^c

^{a-f} อักษรที่แตกต่างกันของสารแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

2.2 Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)

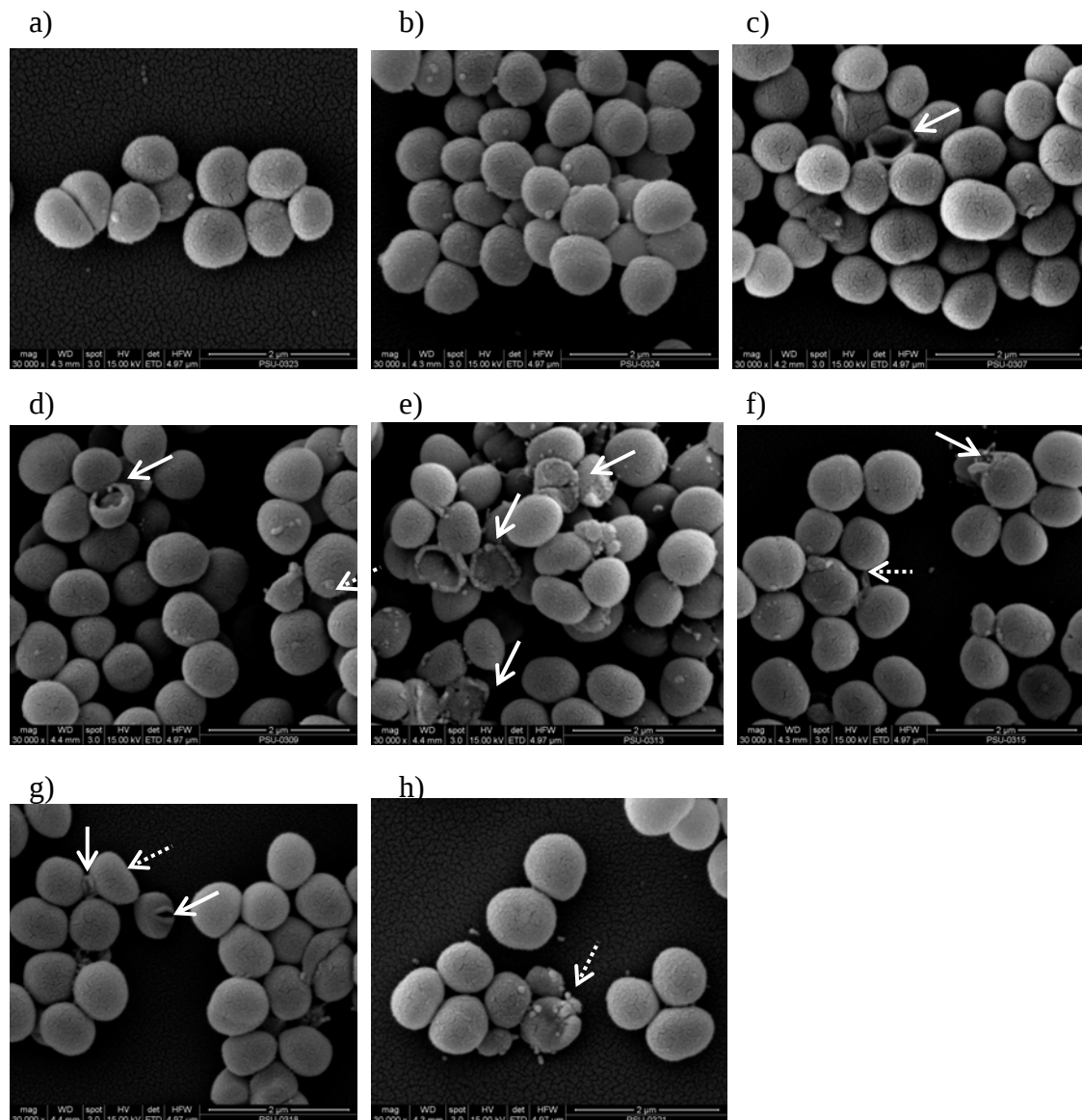
จากผลการวิเคราะห์ SDS-PAGE พบว่า เชื้อ *S. aureus* ที่สัมผัสสารแต่ละชนิดที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ สัมผัสเป็นเวลา 120 นาที ยกเว้นกรด lactic และน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ร่วมกับกรด lactic สัมผัสเป็นเวลา 10 นาที มีการสังเคราะห์โปรตีนลดลง โดยเฉพาะอย่างยิ่ง โปรตีนที่น้ำหนักโมเลกุลประมาณ 30 และ 70 kDa มีปริมาณลดลง (ภาพที่ 4) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Ruzin and Novick (2000) ที่พบว่า เชื้อ *S. aureus* มีการสังเคราะห์โปรตีนที่น้ำหนักโมเลกุลประมาณ 30 และ 70 kDa ลดลงภายหลังสัมผัส 0.015 mg/ml ของกรด lauric หรือ 0.020 mg/ml ของสาร monolaurin เป็นเวลา 210 นาที นอกจากนี้ จากการศึกษายังพบว่า เชื้อ *S. aureus* ที่สัมผัสสารแต่ละชนิดมีการสังเคราะห์โปรตีนที่น้ำหนักโมเลกุลประมาณ 27 kDa ลดลง ยกเว้น แบคทีเรียที่สัมผัสน้ำมันมะพร้าวความเข้มข้น 10% ยังมีการสังเคราะห์โปรตีนที่น้ำหนักโมเลกุลดังกล่าวเช่นเดียวกับแบคทีเรียที่ไม่สัมผัสสาร



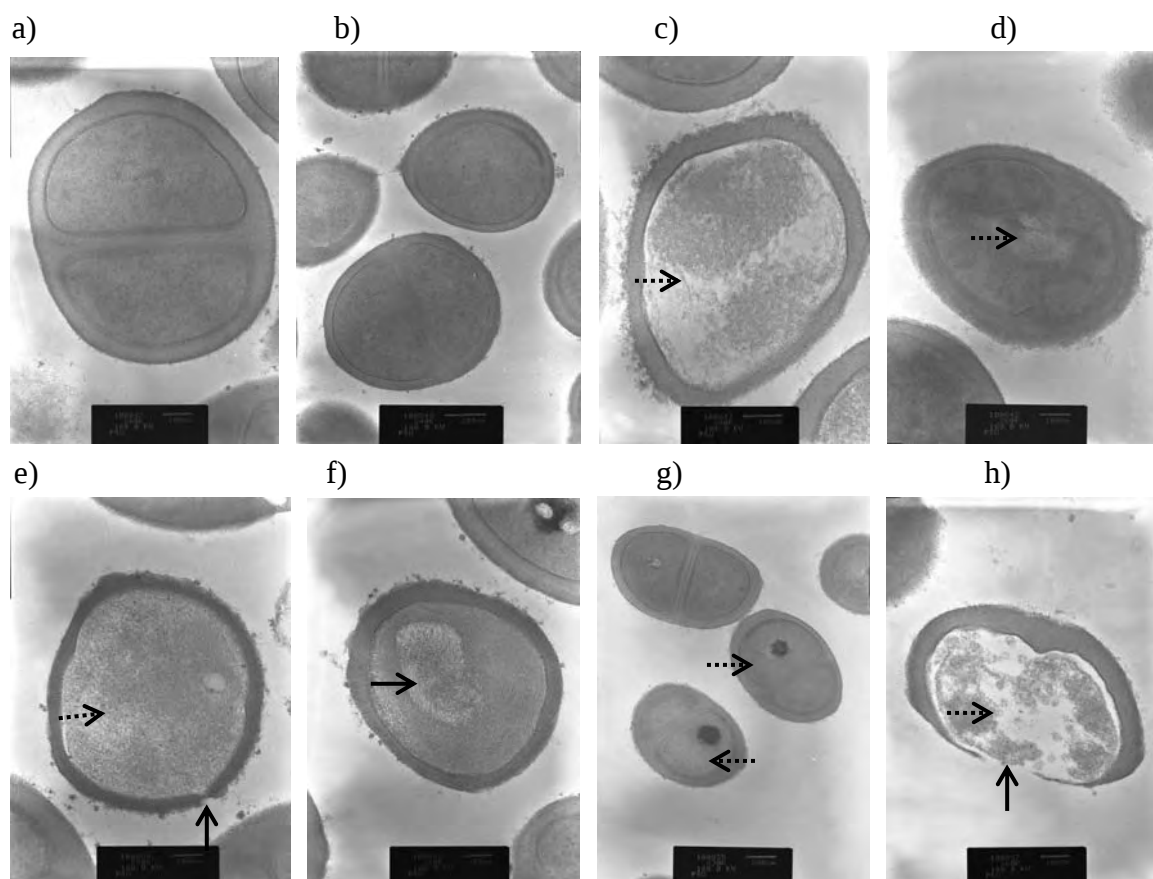
ภาพที่ 9 ผลของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin และกรด lactic ต่อการผลิตโปรตีนของเชื้อ *S. aureus* ภายหลังจากสัมผัสสารชนิดต่าง ๆ (A และ J คือ molecular weight of protein standard, I คือ ไม่สัมผัสสาร, B คือ 10%น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์, C คือ 10%น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ร่วมกับ 0.4%กรด lactic, D คือ 3.2 mg/ml ของกรด lauric, E คือ 0.1 mg/ml ของสาร monolaurin, F คือ 0.05 mg/ml ของสาร monolaurin ร่วมกับ 0.1% กรด lactic, G คือ 0.2 ของกรด lauric mg/ml ร่วมกับ 0.1% กรด lactic และ H คือ 0.4%กรด lactic) สัมผัสเป็นเวลา 120 นาที ยกเว้น C และ H สัมผัสเป็นเวลา 10 นาที

2.3 Scanning and Transmission Electron Microscopy (SEM and TEM)

จากผลการวิเคราะห์ SEM และ TEM พบว่า ผนังเซลล์ของเชื้อ *S. aureus* ถูกทำลายภายหลังจากที่สัมผัสสารแต่ละชนิดที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงและสูญเสียสารภายในเซลล์ และผนังเซลล์บางส่วนหลุดร่วงลง ส่งผลรูปร่างของเซลล์เปลี่ยนไป (ภาพที่ 5 และ 6) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Bakal and Diaz (2005) ที่พบว่า ผนังเซลล์และสารภายในเซลล์ของเชื้อ *S. aureus* เปลี่ยนแปลงภายหลังจากสัมผัส 8 g/ml ของสาร lauric arginate เป็นเวลา 30 นาที แต่อย่างไรก็ตาม จากการศึกษพบว่าแบคทีเรียที่สัมผัสน้ำมันมะพร้าวเพียงอย่างเดียว ผนังและรูปร่างของเซลล์มีลักษณะปกติ และไม่แตกต่างกับแบคทีเรียที่ไม่สัมผัสสาร ทั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษา population of density ที่พบว่าการใช้ไขมันมะพร้าวบริสุทธิ์เพียงอย่างเดียว สามารถยืดระยะเวลาเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus* ได้เพียง 240 นาที และหลังจากนั้นจำนวนแบคทีเรียเพิ่มขึ้น โดยจำนวน stressed cells ของเชื้อ *S. aureus* ไม่เพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาสัมผัส 480 นาที



ภาพที่ 10 ผลของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin และกรด lactic ต่อผลการตอบสนองทางสัณฐานวิทยาและกายภาพของเซลล์ *S. aureus* ภายหลังสัมผัสสารชนิดต่าง ๆ (a) คือ ไม่สัมผัสสาร, b) คือ 10%น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์, c) คือ 0.4%กรด lactic, d) คือ 10%น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ร่วมกับ 0.4%กรด lactic, e) คือ 3.2 mg/ml ของกรด lauric, f) คือ 0.2 mg/ml ของกรด lauric ร่วมกับ 0.1% กรด lactic, g) 0.1 mg/ml ของสาร monolaurin และ h) คือ 0.05 mg/ml ของสาร monolaurin ร่วมกับ 0.1% กรด lactic) เป็นเวลา 120 นาที ยกเว้น c) และ d) เป็นเวลา 10 นาที วิเคราะห์ด้วย Scanning and Transmission Electron Microscopy โดย → คือ ผนังเซลล์ถูกทำลาย และ ...→ คือ เซลล์มีการสูญเสียสารภายในเซลล์ ทำให้ผนังเซลล์ทรุดตัวลง และเซลล์มีรูปร่างเปลี่ยนไป



ภาพที่ 11 ผลของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin และกรด lactic ต่อผลการตอบสนองทางสัณฐานวิทยาและกายภาพของเซลล์ *S. aureus* ภายหลังสัมผัสสารชนิดต่าง ๆ (a) คือ ไม่สัมผัสสาร, b) คือ 10% น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์, c) คือ 0.4% กรด lactic, d) คือ 10% น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ร่วมกับ 0.4% กรด lactic, e) คือ 3.2 mg/ml ของกรด lauric, f) คือ 0.2 mg/ml ของกรด lauric ร่วมกับ 0.1% กรด lactic, g) 0.1 mg/ml ของสาร monolaurin และ h) คือ 0.05 mg/ml ของสาร monolaurin ร่วมกับ 0.1% กรด lactic) เป็นเวลา 120 นาที ยกเว้น H เป็นเวลา 10 นาที ด้วย Scanning and Transmission Electron Microscopy โดย $\rightarrow$ คือ ผนังเซลล์ถูกทำลาย และ $\cdots\rightarrow$ คือ เซลล์มีการสูญเสียสารภายในเซลล์ ทำให้ผนังเซลล์ทรุดตัวลง และเซลล์มีรูปร่างเปลี่ยนไป

3. การศึกษาประสิทธิภาพการลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* และจุลินทรีย์ทั้งหมดของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ในเนื้อสุกร

3.1 การศึกษาประสิทธิภาพการลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* และจุลินทรีย์ทั้งหมดของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ในเนื้อสุกร

จากการศึกษาพบว่าการใช้สารละลายกรด lauric สาร monolaurin กรด lactic และกรด lauric ร่วมกับกรด lactic สามารถลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* และจุลินทรีย์ทั้งหมดบนเนื้อสุกรสดได้มาก

ที่สุด ($P \leq 0.05$) รองลงมาคือ สารละลาย monolaurin ร่วมกับกรด lactic ในขณะที่การใช้น้ำไม่สามารถลดปริมาณของแบคทีเรียชนิดนี้ได้ (ภาพที่ 12a และ 12b) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากภายหลังสัมผัสสารดังกล่าวเนื้อสุกกรสดมีค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง (ภาพที่ 13) ซึ่งการที่ระดับ pH บนผิวหน้าที่ลดลงจะมีผลให้อิออนของกรดมีความสามารถในการทำลายจุลินทรีย์ได้มากขึ้น โดยกลไกการทำลายจุลินทรีย์พบว่ากรดซึ่งอยู่ในรูปของกรดที่ไม่แตกตัวจะจับกับผนังเซลล์ของแบคทีเรีย เป็นผลให้กรดในรูปที่แตกตัวสามารถแพร่เข้าสู่เซลล์ภายในของจุลินทรีย์ และเกิดการรวมตัวกับสารภายในเซลล์เป็นผลให้ภายในเซลล์มีความเป็นกรดเกิดขึ้น จุลินทรีย์จะพยายามรักษาสมาดุลของ pH ภายในเซลล์ แต่เมื่อค่า pH ของสภาวะแวดล้อมลดลงทำให้เกิดการผ่านเข้า – ออก ของสารอาหาร และเกิดการรั่วไหลของเมตาบอลิซึมภายในเซลล์ออกสู่ภายนอก มีผลไปยับยั้งการเมตาบอลิซึมของเซลล์จุลินทรีย์ หรือทำให้กิจกรรมภายในเซลล์ลดลง และทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ และตายในที่สุด (Hardin et al., 1995) และการใช้กรด lactic ร่วมกับกรด lauric และ monolaurin ด้วยความเข้มข้นที่ต่ำกว่าการใช้สารเพียงชนิดเดียวแต่กลับมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* บนเนื้อสุกกรสดได้เช่นเดียวกัน เนื่องจากการใช้ร่วมกับกรด lactic จะเพิ่มการดูดซึมของกรด lauric และ monolaurin เข้าไปสู่เซลล์แบคทีเรียได้มากขึ้น (Skrivanova et al., 2006) และยังสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่ากรด lauric หรือ monolaurin ร่วมกับกรด lactic มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* เสริมกัน

นอกจากนี้ การใช้สารชนิดต่าง ๆ ยังสามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดได้ ($P \leq 0.05$) โดยการใช้สารละลายกรด lactic เพียงชนิดเดียว มีประสิทธิภาพมากที่สุด รองลงมาคือ สารละลายกรด lauric ร่วมกับกรด lactic monolaurin ร่วมกับกรด lactic กรด lauric monolaurin น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ และน้ำ ตามลำดับ ทั้งนี้การใช้สารแอลกอฮอล์มีผลทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของเนื้อสุกกรสดลดลงมากที่สุด (ภาพที่ 13) ซึ่งมีผลในการทำลายและยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (Snijders et al., 1985)

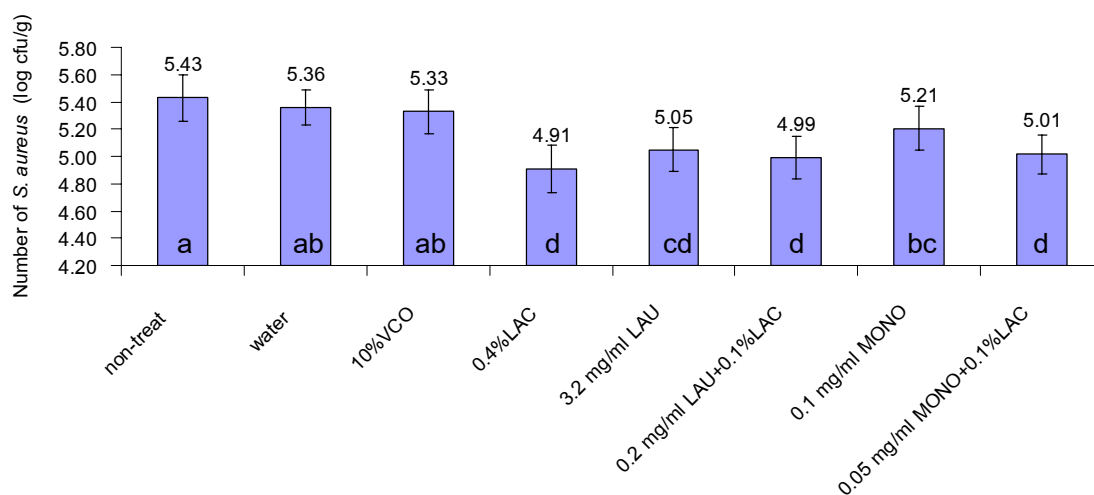
3.2 การศึกษาผลของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อคุณภาพทางกายภาพของเนื้อสุกกร

จากการศึกษาพบว่าการใช้สารชนิดต่าง ๆ ไม่มีอิทธิพลต่อค่าความเป็นกรด-ด่างของเนื้อสุกกรสด ($P > 0.05$) แต่อย่างไรก็ตาม การใช้สารละลายกรด lauric กรด lactic กรด lauric ร่วมกับกรด lactic และ monolaurin ร่วมกับกรด lactic มีแนวโน้มทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของเนื้อสุกกรสดลดลง ($P \leq 0.07$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาการใช้สารละลายกรด lactic ในเนื้อไก่ที่พบว่า สารละลายกรด lactic ความเข้มข้น 0.5%(v/v) มีผลทำให้เนื้อไก่มีค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง ในขณะที่เนื้อไก่ที่สัมผัสสารละลาย monolaurin ความเข้มข้น 0.5%(w/v) มีค่าความเป็นกรด-ด่างไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม (Anang et al., 2010)

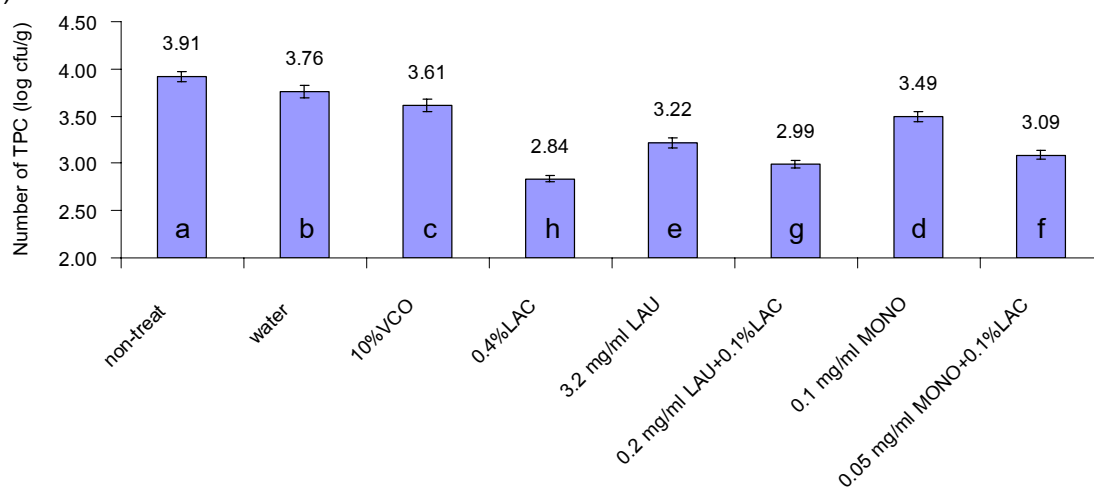
จากการศึกษาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักภายหลังสัมผัสสาร พบว่า การใช้สารละลายกรด lactic เพียงอย่างเดียว ทำให้มีการสูญเสียน้ำหนักภายหลังสัมผัส (exudate loss) และภายหลังทำให้สุก (cooking loss) มากที่สุด ($P \leq 0.05$) รองลงมาคือสารละลายน้ำมันร่วมกับกรด

lactic (ภาพที่ 14) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเนื้อสุกรสดที่สัมผัสกรด lactic มีค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงมากกว่าเนื้อสุกรสดที่สัมผัสสารชนิดอื่น โดยที่สภาวะเป็นกรดจะมีผลทำให้เส้นใยในกล้ามเนื้อเกิดการหดตัว เนื้อสัตว์ลดความสามารถในการอุ้มน้ำ จึงเกิดการสูญเสียน้ำมากขึ้น (Adam and Hall, 1988) และยังส่งผลให้เนื้อสุกรมีความนุ่มน้อยลง ซึ่งสอดคล้องกับภาพที่ 15 พบว่าเนื้อสุกรสดที่สัมผัสกรด lactic มีค่า shear force มากที่สุด ($P \leq 0.05$)

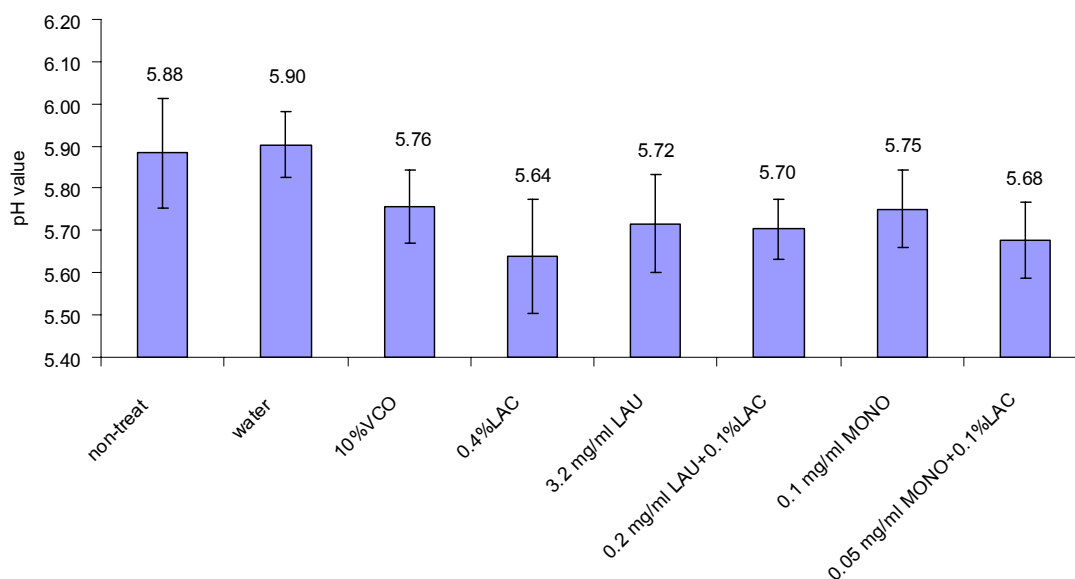
a)



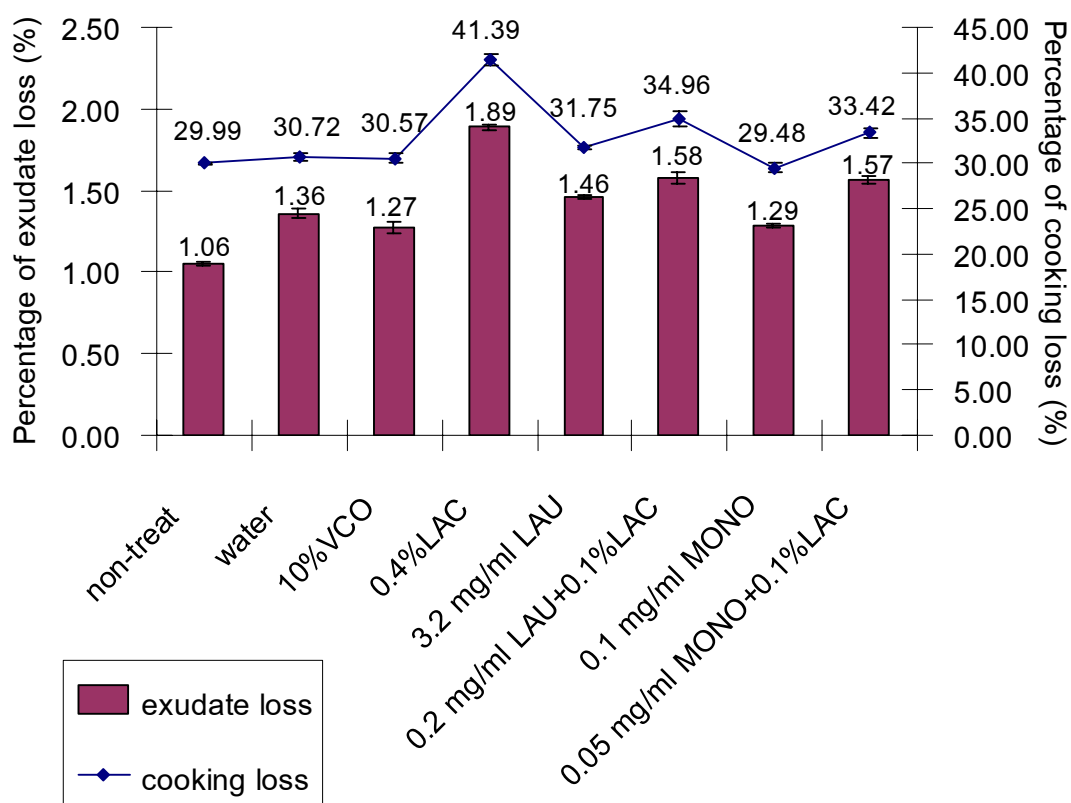
b)



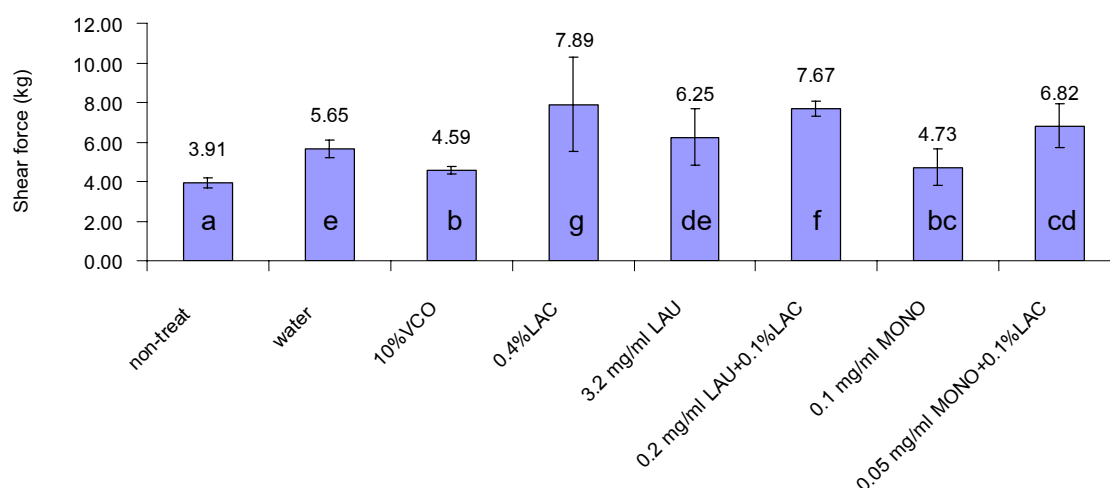
ภาพที่ 12 ผลของน้ำมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric และ monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อการเจริญของเชื้อ *S. aureus* (a) และจุลินทรีย์ทั้งหมด (b) บนเนื้อสุกรสด โดยอักษรแตกต่างกันแสดงถึงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)



ภาพที่ 13 ผลของน้ำมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric และ monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อค่าความเป็นกรด-ด่างของเนื้อสุกรสด



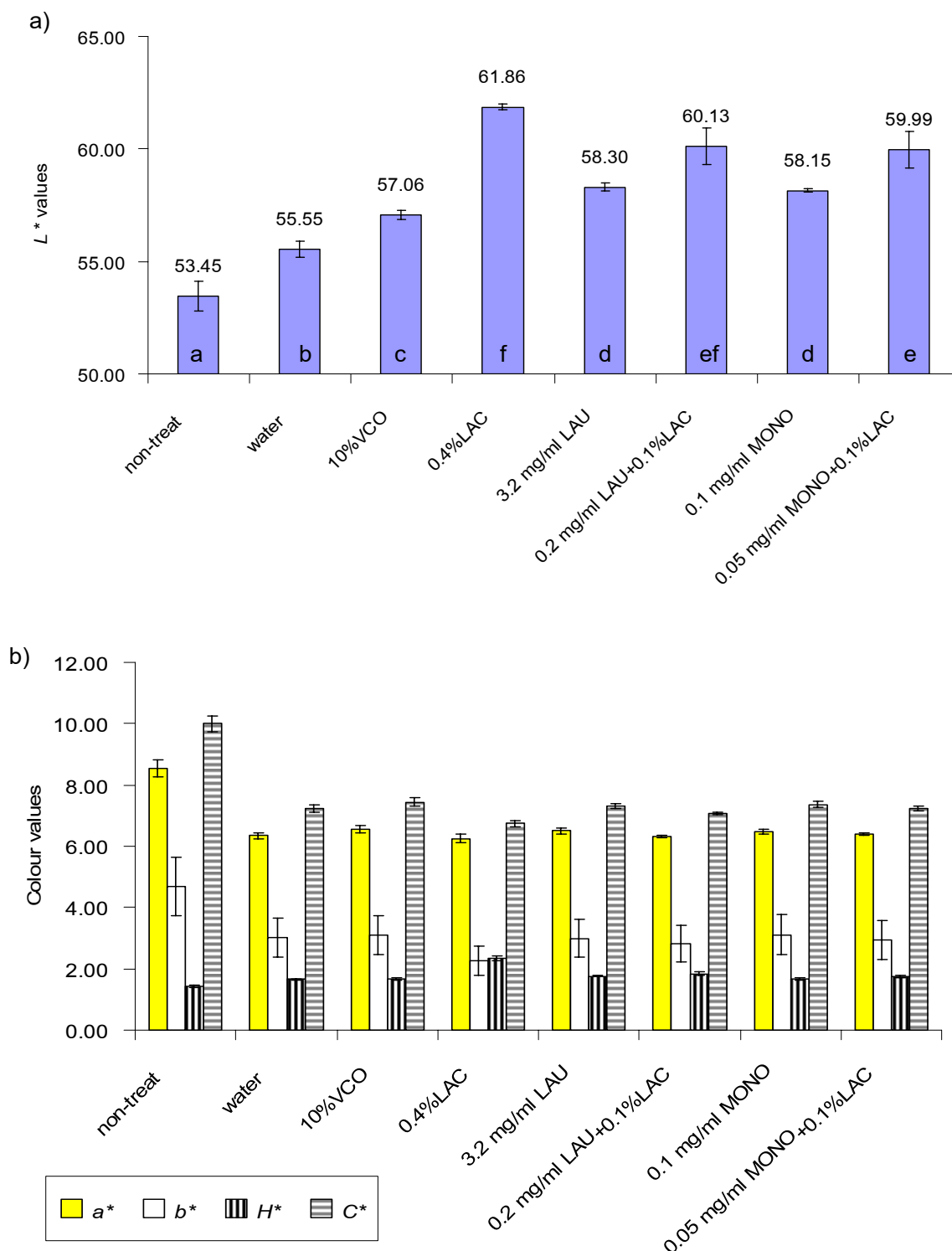
ภาพที่ 14 ผลของน้ำมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric และ monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของเนื้อสุกร



ภาพที่ 15 ผลของน้ำมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric และ monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อค่า shear force ของเนื้อสุกรสุก โดยอักษรแตกต่างกันแสดงถึงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

จากการศึกษาค่าสีของเนื้อสุกรพบว่า สารแต่ละชนิดมีผลทำให้เนื้อสุกรสดมีค่า L^* เพิ่มขึ้น ($P \leq 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของเนื้อสุกรภายหลังสัมผัสสาร (exudates loss) เนื่องจากค่าความสว่างจะขึ้นอยู่กับความชื้นที่ผิว เมื่อแสงตกกระทบที่ผิวทำให้แสงสะท้อนกลับ (reflecting property) (Young and West, 2001; Shrestha and Min, 2006) ซึ่งการศึกษารังนี้พบว่าเนื้อสุกรสดที่สัมผัสน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์มีค่า L^* มากที่สุด (ภาพที่ 16a) เช่นเดียวกันกับค่า a^* ของเนื้อสุกรสดที่พบว่าสารแต่ละชนิดผลทำให้เนื้อสุกรสดมีค่า a^* ลดลง ($P \leq 0.05$) ดังภาพที่ 16b เนื่องจากเนื้อสัตว์ที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงทำให้มีสีแดงลดลง (Arganosa and Marriott, 1998; Shrestha and Min, 2006) ในขณะที่การใช้สารแต่ละชนิดไม่มีผลต่อค่า b^* ของเนื้อสุกรสด ($P > 0.05$) แต่อย่างไรก็ตามการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของค่า H^* ขึ้นอยู่กับค่า a^* และ b^* (Van Laack, Berry and Solomon, 1996; Shrestha and Min, 2006) ดังนั้นการลดลงของค่า a^* ในขณะที่ค่า b^* ไม่เปลี่ยนแปลงมีผลทำให้ค่า H^* เพิ่มขึ้น แสดงถึงการสูญเสียสีแดงของเนื้อสุกรสดที่สัมผัสกรด lactic นอกจากนี้ยังส่งผลให้ค่า C^* ของเนื้อสุกรสดลดลง ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการสูญเสียสีของเนื้อสุกรสด แต่เมื่อใช้กรด lactic ร่วมกับสารละลายน้ำมันโดยใช้ความเข้มข้นของกรด lactic ลดลงมีผลทำให้ค่า a^* เพิ่มขึ้น และ H^* ลดลง แสดงให้เห็นถึงการสูญเสียสีแดงลดลง เนื่องจากการลด lactic จะมีผลทำให้เกิด deoxymyoglobin มากกว่า oxymyoglobin (Giardina et al., 1996) แต่อย่างไรก็ตามการเกิด metmyoglobin ของเนื้อสัตว์เกิดใน pH ช่วงตั้งแต่ 5.6 ลงมา ทำให้มีผลต่อความคงตัวของสี และ unbloom ของเนื้อสัตว์ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้ที่พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างของเนื้อสุกรที่สัมผัสกรด lactic เพียงชนิดเดียวเท่านั้นที่มีค่า 5.66 ในขณะที่การสัมผัสกรด lactic ความเข้มข้นต่ำร่วมกับสารละลายน้ำมันมีค่าความเป็นกรด-ด่างสูงกว่า คือ 5.72

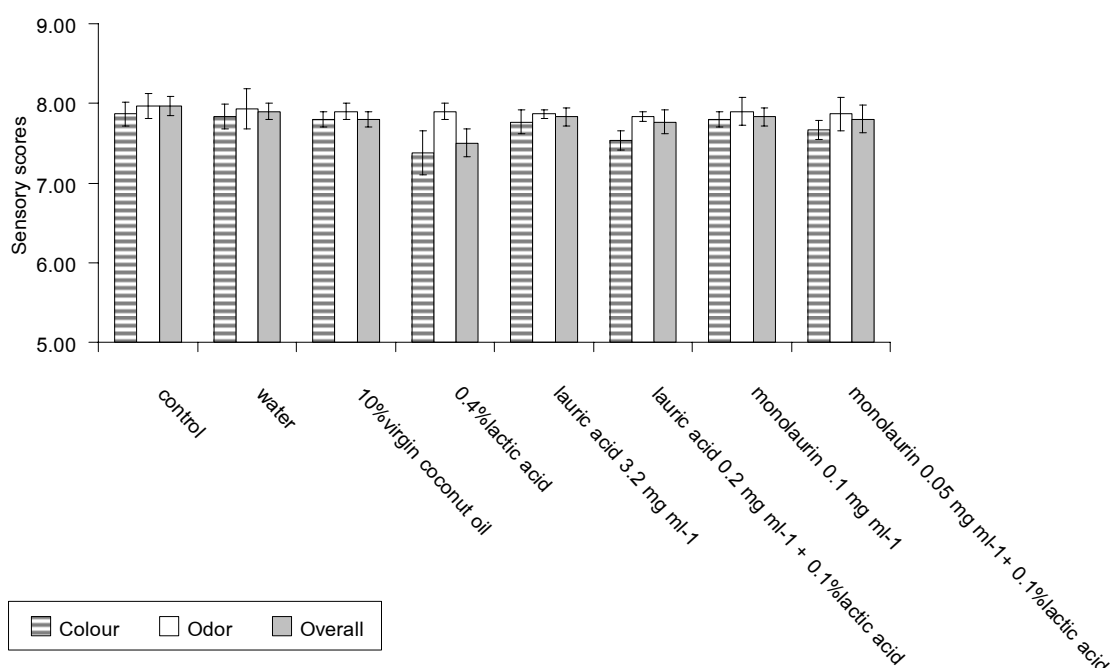
ทั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Sawyer et al. (2009) ที่พบว่าการใช้กรด lactic ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.5%(v/v) เป็นต้นไป จึงจะมีผลทำให้เนื้อวุ้นมีสีซีด



ภาพที่ 16 ผลของน้ำมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric และ monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อค่า L^* (a) และ a^* b^* Hue angle (H^*) Chroma (C^*) (b) ของเนื้อสุกกรวด โดยอักษรแตกต่างกัน แสดงถึงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

3.3 การศึกษาผลของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric สาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสของเนือสุกรสด

จากการศึกษาคุณภาพทางประสาทสัมผัสของเนือสุกรสด พบว่าการใช้กรด lactic เพียงอย่างเดียวทำให้เนือสุกรมีสีและลักษณะปรากฏโดยรวมไม่เป็นที่ยอมรับมากที่สุด ($P \leq 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Shrestha and Min (2006) ที่พบว่าการใช้สารละลายกรด lactic ความเข้มข้น 1%(v/v) มีผลทำให้การยอมรับด้านสีและลักษณะปรากฏโดยรวมของเนือสุกรสดลดลง ในขณะที่การศึกษานี้พบว่าการใช้สารละลายน้ำมันมะพร้าวร่วมกับกรด lactic ทำให้เนือสุกรมีสีเป็นที่ยอมรับเช่นเดียวกับเนือสุกรที่สัมผัสน้ำ ($P > 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับค่าสีของเนือสุกรสดในการศึกษาข้างต้น แต่อย่างไรก็ตามการใช้สารละลายน้ำมันทั้งที่รวมและไม่รวมกับกรด lactic ทำให้เนือสุกรสดได้รับการยอมรับด้านกลิ่นน้อยเนือสุกรสัมผัสน้ำและควบคุม ($P \leq 0.05$) ถึงกระนั้นคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นของเนือสุกรสดที่สัมผัสสารละลายน้ำมันทั้งที่รวมและไม่รวมกับกรด lactic อยู่ในช่วง 7.70 – 7.90 ซึ่งจัดว่าอยู่ในเกณฑ์ยอมรับระดับปานกลาง (moderately acceptable) ดังภาพที่ 17



ภาพที่ 17 ผลของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric และ monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสของเนือสุกรสด

4. การศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่ออายุการเก็บรักษาของเนื้อสุกรสดที่สัมผัส กรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic

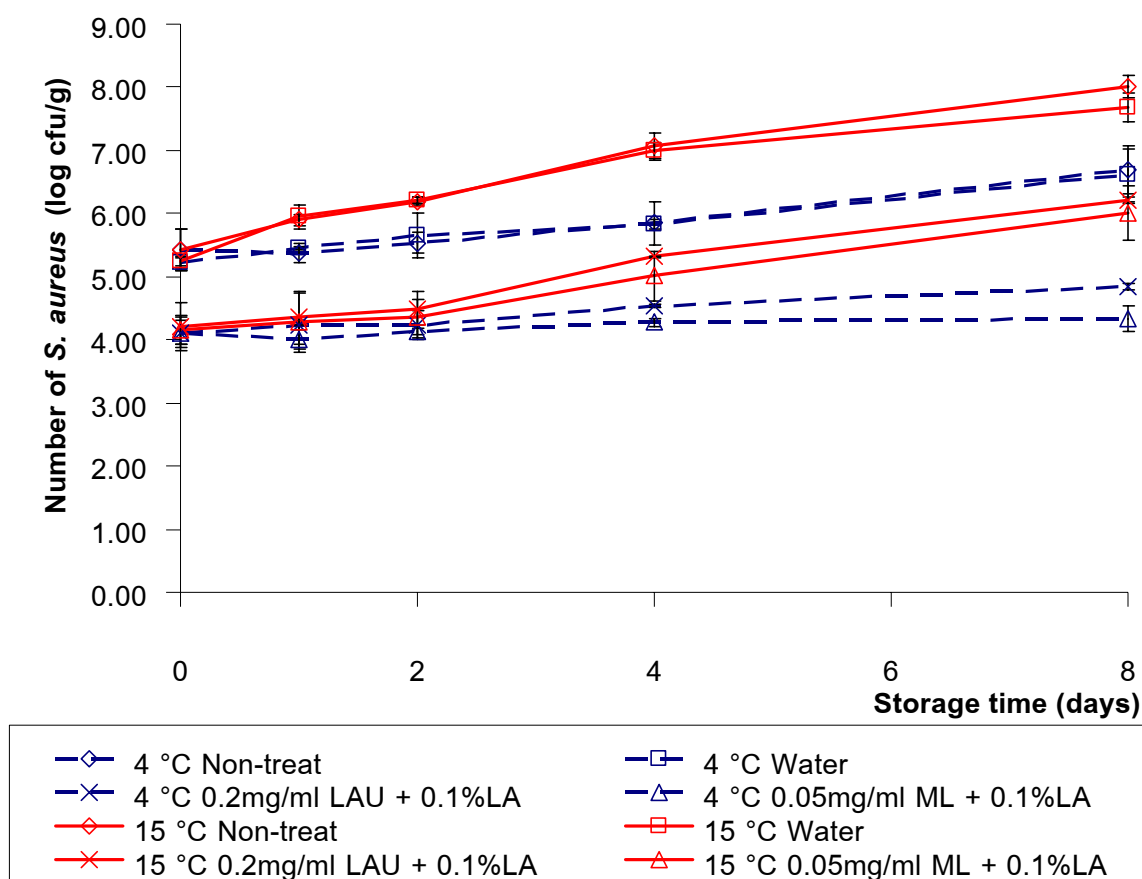
4.1 การศึกษาอิทธิพลของกรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อการเจริญของเชื้อ *S. aureus* บนเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่าง ๆ

จากการศึกษาอิทธิพลของกรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อการเจริญของเชื้อ *S. aureus* บนเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิ 4 และ 15 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 0 1 2 4 และ 8 วัน พบว่า ภายหลังเนื้อสุกรสัมผัสสารละลาย 0.2 mg/ml LAU + 0.1% LA และ 0.05 mg/ml ML+0.1%LA เชื้อ *S. aureus* บนเนื้อสุกรสดมีปริมาณลดลง 1.2 log cfu/g ($P \leq 0.05$) และเมื่อทำการรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าการใช้สารละลาย 0.05 mg/ml ML+0.1%LA สามารถควบคุมการเจริญของเชื้อ *S. aureus* บนเนื้อสุกรสดได้นานที่สุด คือ 8 วัน รองลงมาคือ การใช้สารละลาย 0.2 mg/ml LAU + 0.1% LA โดยสามารถควบคุมการเจริญของแบคทีเรียชนิดนี้ได้ยาวนาน 4 วัน ในขณะที่การใช้น้ำกลั่นและการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพียงอย่างเดียวสามารถควบคุมแบคทีเรียชนิดนี้ได้เพียง 2 วัน เท่านั้น เช่นเดียวกันการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ที่พบว่าการใช้สารละลาย 0.05 mg/ml ML+0.1%LA และ 0.2 mg/ml LAU + 0.1% LA สามารถควบคุมการเจริญของเชื้อ *S. aureus* บนเนื้อสุกรสดได้นาน 2 วัน ในขณะที่การใช้น้ำกลั่นและการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพียงอย่างเดียว ไม่สามารถควบคุมแบคทีเรียชนิดนี้ได้ (ภาพที่ 18) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากกรด lauric และ lactic จะออกฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* เสริมกัน โดยกรด lactic เพิ่มการดูดซึม ทำให้กรด lauric เข้าไปอยู่ที่เมมเบรนได้มากขึ้น และมีรบกวนการทำงานของเมมเบรน ยิ่งไปกว่านั้นนอกจากการใช้สาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic จะมีผลต่อการทำงานของเมมเบรนทั้งชั้นในและชั้นนอกแล้ว ยังมีผลต่อระบบแลกเปลี่ยนสารภายใน-นอกเซลล์อีกด้วย (Tokarczyk and Marshall, 2008) โดยจะไปขัดขวางการแลกเปลี่ยนสารโมเลกุลใหญ่ และสารที่มีสมบัติไม่ชอบน้ำ (Anang et al., 2010) นอกจากนี้ อุณหภูมิต่ำสุด (minimum temperature) ที่เชื้อ *S. aureus* สามารถเจริญเติบโตได้ คือ 6.7 องศาเซลเซียส และจะสามารถปรับสภาพเจริญเติบโตที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส ได้ดียิ่งขึ้น (Bennett, 2001) โดยที่อุณหภูมิต่ำสามารถลดอัตราการแลกเปลี่ยนระหว่างการไหลของของเหลวภายในกับภายนอกเซลล์ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้ทำให้กรดไขมันซึ่งปกติเป็นสายยาวเปลี่ยนเป็นผลึก บางส่วนที่เมมเบรนเซลล์ทำให้เซลล์ตาย (Berry and Foegeding, 1997)

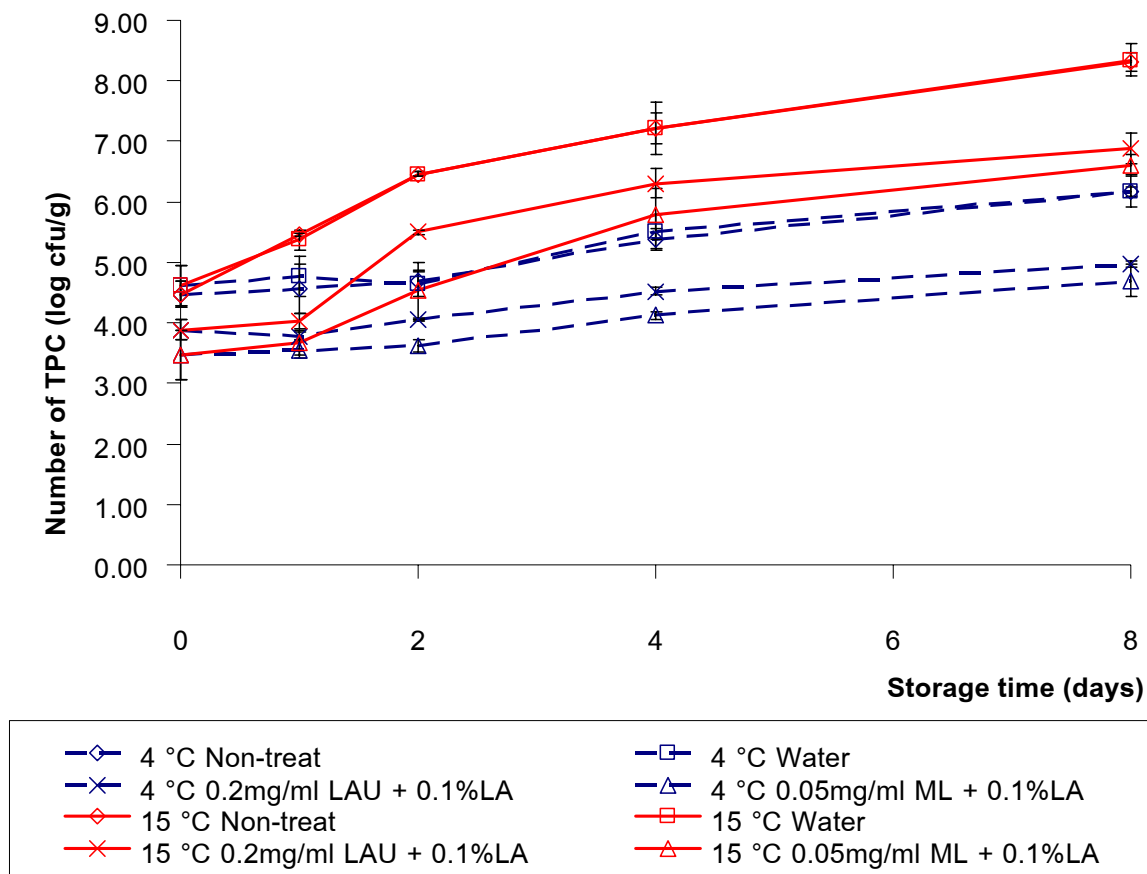
4.2 การศึกษาอิทธิพลของกรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมดบนเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่าง ๆ

จากภาพที่ 18 การศึกษาอิทธิพลของสารละลายต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 4 และ 15 องศาเซลเซียส ต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ทั้งหมดบนเนื้อสุกรสด ตลอด 8 วัน พบว่า ภายหลังเนื้อสุกรสัมผัสสารละลาย 0.05 mg/ml ML+0.1%LA ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดบนเนื้อสุกรสดมีปริมาณลดลง 1 log cfu/g ($P \leq 0.05$) ในขณะที่การใช้สารละลาย 0.2 mg/ml LAU + 0.1% LA สามารถลดจุลินทรีย์

ทั้งหมดได้ $0.57 \log \text{ cfu/g}$ และเมื่อทำการรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าเนื้อสุกรสดทุกกลุ่มตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 2 วัน มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่หลังจากนั้นมีปริมาณจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่นานขึ้น แต่อย่างไรก็ตามปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดบนเนื้อสุกรสดที่สัมผัสสารละลายกรด lauric และ monolaurin ร่วมกับกรด lactic ที่ทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 8 วัน (4.97 ± 0.06 และ $4.70 \pm 0.26 \log \text{ cfu/g}$ ตามลำดับ) มีปริมาณไม่แตกต่างกับเนื้อสุกรสดที่สัมผัสน้ำก่อนทำการเก็บรักษา ($P > 0.05$) ($4.62 \pm 0.32 \log \text{ cfu/g}$) ในขณะที่ การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส พบว่าการใช้สารละลาย 0.05 mg/ml ML+0.1%LA และ 0.2 mg/ml LAU + 0.1% LA สามารถควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมดบนเนื้อสุกรสดได้นาน 1 วัน แต่อย่างไรก็ตามสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้นานถึง 8 วัน โดยมีปริมาณแบคทีเรียน้อยกว่ากลุ่มควบคุมก่อนทำการเก็บรักษา ในขณะที่การใช้น้ำกลั่นและการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพียงอย่างเดียว ไม่สามารถควบคุมแบคทีเรียชนิดนี้ได้ (ภาพที่ 19) เช่นเดียวกันกับข้อ 4.1



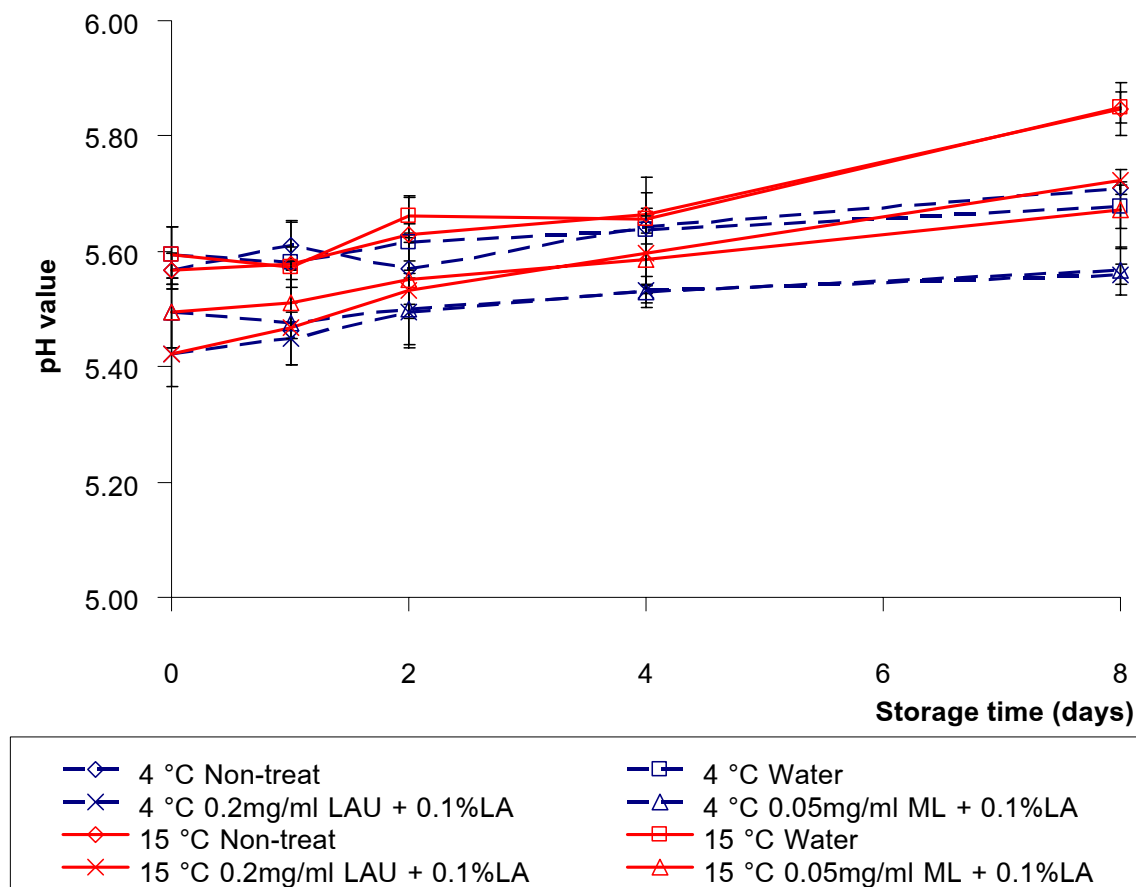
ภาพที่ 18 ผลของการใช้กรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อการเจริญของเชื้อ *S. aureus* บนเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างกัน



ภาพที่ 19 ผลของการใช้กรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมดบนเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างกัน

4.3 การศึกษาอิทธิพลของกรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อคุณภาพทางกายภาพของเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่าง ๆ

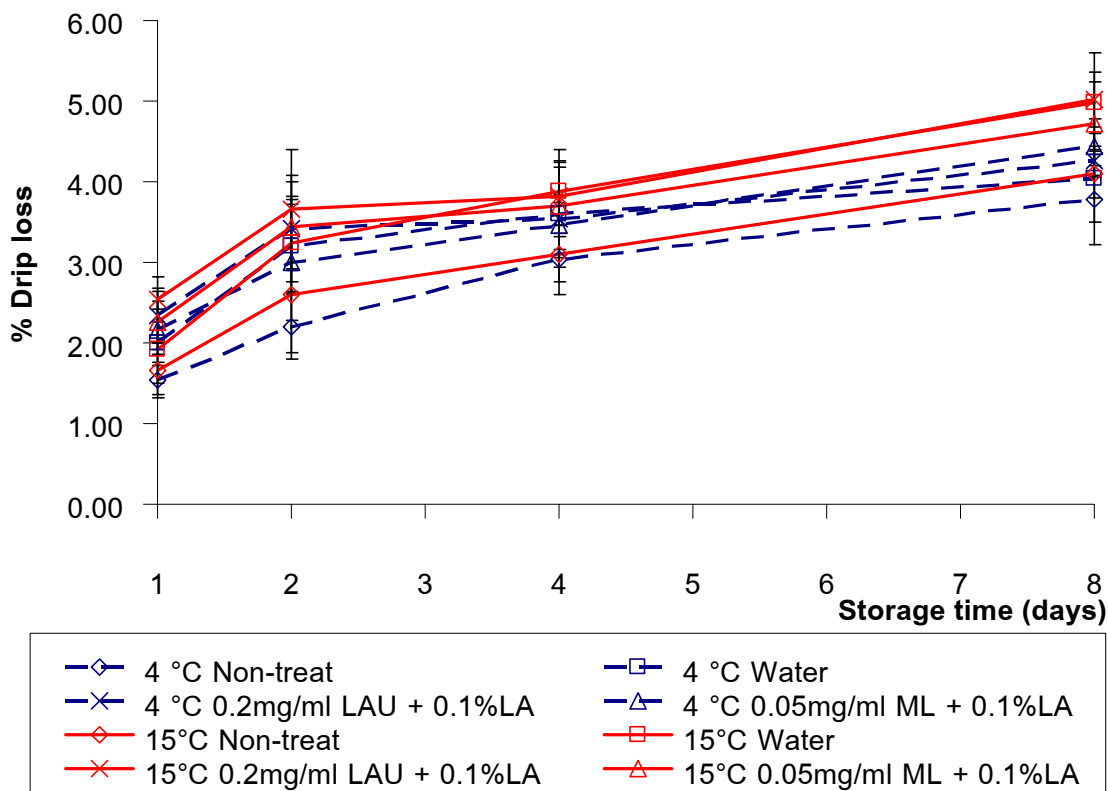
จากการศึกษา พบว่าไม่มีอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดของสาร อุณหภูมิการเก็บรักษา และระยะเวลาการเก็บต่อค่าความเป็นกรด-ด่างของเนื้อสุกรสด ($P > 0.05$) แต่อย่างไรก็ตาม การใช้สารละลายกรด lauric กรด lactic กรด lauric ร่วมกับกรด lactic และ monolaurin ร่วมกับกรด lactic มีผลทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของเนื้อสุกรสดลดลง ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่ภายหลังการเก็บเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิ 4 และ 15 องศาเซลเซียส ค่า pH ของเนื้อสุกรสดทุกกลุ่มการทดลองมีค่าเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บนานขึ้น (ภาพที่ 20) ทั้งนี้เนื่องจากจุลินทรีย์ในเนื้อจะเพิ่มมากขึ้น ทำให้เกิดการย่อยสลายโปรตีนของเนื้อและปล่อยสาร decarboxylate amino acid และแอมโมเนียทำให้ค่า pH เพิ่มขึ้น (Adam and Hall, 1988) แต่อย่างไรก็ตาม การเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน เนื้อสุกรสดมีค่า pH ไม่แตกต่างกันกับเนื้อสุกรกลุ่มควบคุมก่อนทำการเก็บรักษา ($P > 0.05$)



ภาพที่ 20 ผลของการใช้กรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อค่าความเป็นกรด-ด่างของเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างกัน

จากการศึกษาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียของเหลวในเนื้อสุกรสดภายหลังการเก็บรักษา (%drip loss) ที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บรักษาต่างๆ พบว่าหลังการเก็บรักษาทั้งที่ 4 และ 15 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 2 4 และ 8 วัน เนื้อสันนอกสุกรที่สัมผัสสารละลาย และ 0.2 mg/ml LAU+0.1%LA มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียของเหลวภายหลังการเก็บรักษามากที่สุด ($P \leq 0.05$) โดยการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีค่าเท่ากับ 2.34 ± 0.33 3.42 ± 0.65 3.53 ± 0.21 และ 4.25 ± 0.18 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส มีค่าเท่ากับ 2.54 ± 0.29 3.65 ± 0.74 3.82 ± 0.37 และ 5.02 ± 0.34 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับค่าความเป็นกรด-ด่างของเนื้อสุกรสดภายหลังสัมผัสสารนี้มีค่าต่ำกว่าเนื้อสุกรกลุ่มอื่น และค่าความเป็นกรด-ด่างที่ลดลงนี้ ส่งผลทำให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพ เส้นใยกล้ามเนื้อหดตัวเนื้อสันจึงอุ้มน้ำได้น้อยลง และเกิดการสูญเสียน้ำมากขึ้น (Offer and Trinick, 1983; Adam and Hall, 1988) นอกจากนี้ยังพบว่าเนื้อสุกรสดทุกกลุ่มที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิทั้งที่ 4 และ 15 องศาเซลเซียส มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียของเหลวภายหลังการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บที่นานขึ้น โดยการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียของเหลวภายหลังการเก็บรักษาต่ำกว่าที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 8 วัน (ภาพที่ 21) เช่นเดียวกันกับ

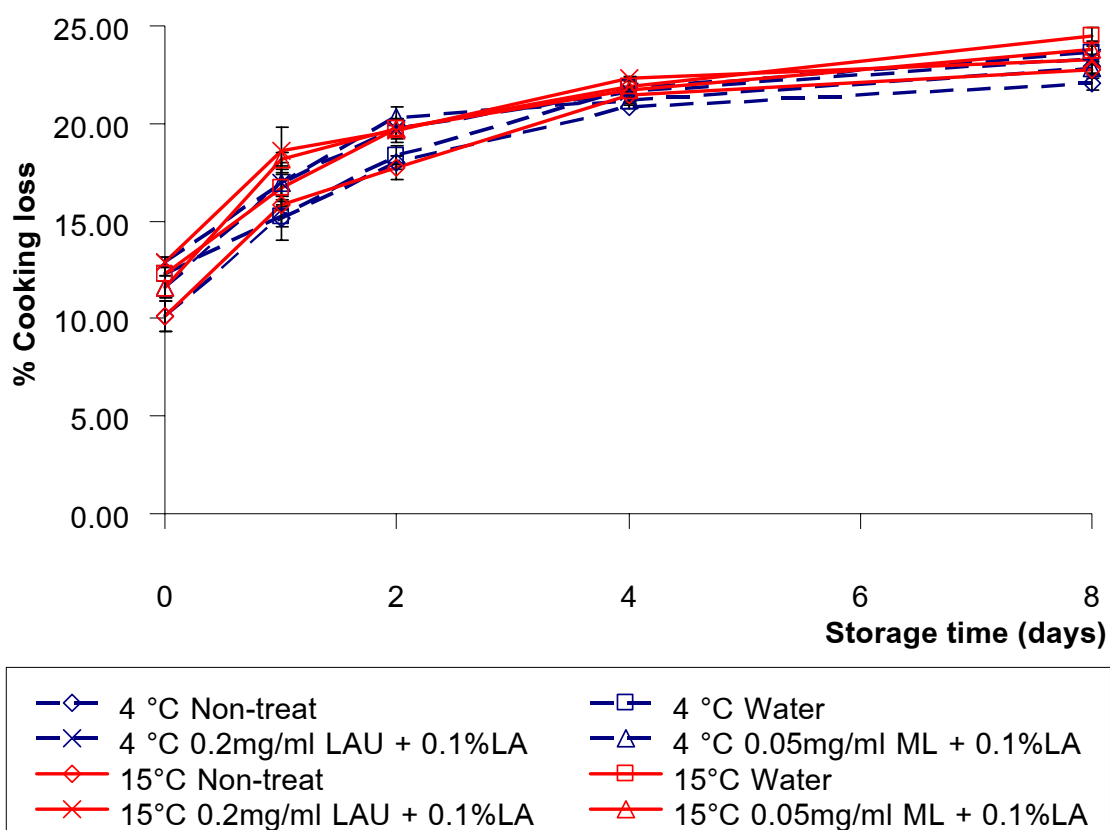
การศึกษาของผุสดี ตังวรินทร์ วิภา รัชทอง และชัยพิสิทธิ์ พรหมศิริวรกุล (2553) ที่ได้รับการศึกษาผลของอุณหภูมิการเก็บรักษาต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของเนื้อสุกรสด พบว่าเนื้อสุกรสดจะมีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่นานขึ้น ($P \leq 0.05$) โดยการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เนื้อสุกรสดจะมีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักน้อยกว่าที่อุณหภูมิ 10 และ 15 องศาเซลเซียส ($P \leq 0.05$)



ภาพที่ 21 ผลของการใช้กรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาของเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิต่างกัน

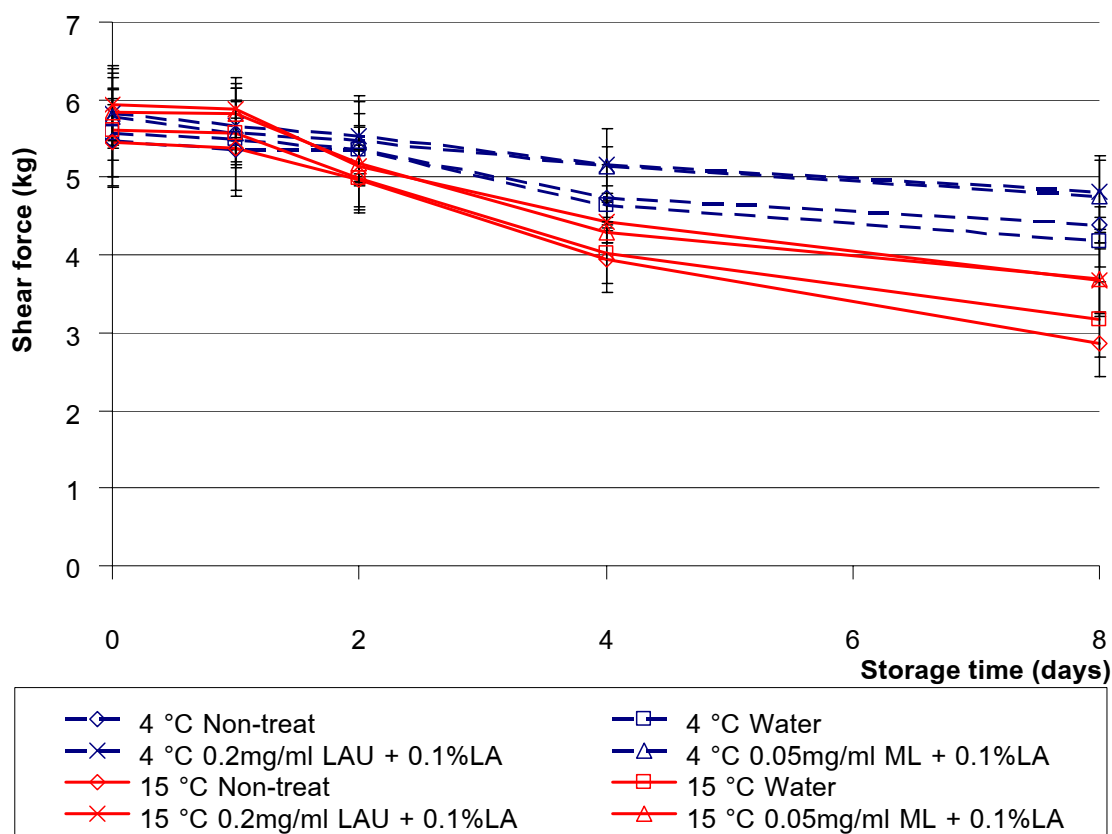
เช่นเดียวกันกับการศึกษาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียของเหลวในเนื้อสุกรสดภายหลังทำให้สุก (%cooking loss) ที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บรักษาต่างๆ พบว่าหลังการเก็บรักษาทั้งที่ 4 และ 15 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0 1 2 4 และ 8 วัน เนื้อสันนอกสุกรที่สัมผัสสารละลาย 0.2 mg/ml LAU+0.1%LA มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียของเหลวภายหลังการเก็บรักษามากที่สุด ($P \leq 0.05$) โดยการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีค่าเท่ากับ 12.90 ± 0.24 16.93 ± 1.09 19.71 ± 0.54 21.63 ± 0.25 และ 23.34 ± 0.15 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส มีค่าเท่ากับ 12.90 ± 0.24 18.61 ± 1.18 19.62 ± 0.62 22.33 ± 0.05 และ 23.28 ± 0.27 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าเนื้อสุกรสดทุกกลุ่มที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิทั้งที่ 4 และ 15 องศาเซลเซียส มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียของเหลวภายหลังการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บที่นานขึ้น โดย

การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียของเหลวภายหลังการเก็บรักษาต่ำกว่าที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 8 วัน (ภาพที่ 22)



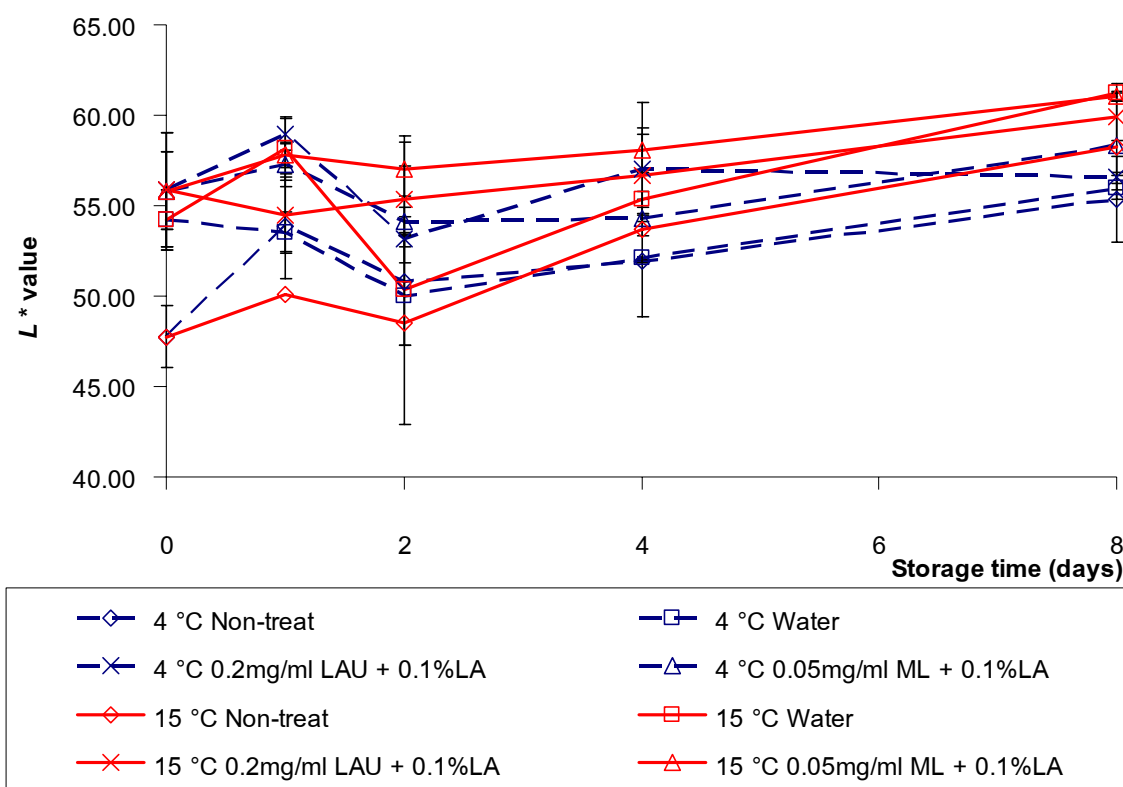
ภาพที่ 22 ผลของการใช้กรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักภายหลังทำให้สุกของเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างกัน

ทั้งนี้ จากการศึกษาค่า shear force ของเนื้อสุกรสุกที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บรักษาต่างๆ พบว่าหลังการเก็บรักษาทั้งที่ 4 และ 15 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0 และ 1 วัน เนื้อสุกรสุกที่สัมผัสสารละลาย 0.2 mg/ml LAU+0.1%LA มีค่า shear force มากที่สุด ($P \leq 0.05$) (ภาพที่ 23) ทั้งนี้เนื่องมาจากเนื้อสุกรสดภายหลังสัมผัสสารละลายมีค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงมากกว่าเนื้อสุกรสดกลุ่มอื่น โดยที่สภาวะเป็นกรดจะมีผลทำให้เส้นใยในกล้ามเนื้อเกิดการหดตัว เนื้อสัตว์ลดความสามารถในการอุ้มน้ำ จึงเกิดการสูญเสียน้ำมากขึ้น (Adam and Hall, 1988) และยังส่งผลให้เนื้อสุกรมีความนุ่มน้อยลง แต่เมื่อทำการเก็บรักษานานขึ้นพบว่าค่า shear force ของเนื้อสุกรสุกทุกกลุ่มมีค่าลดลงตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Díaz et al. (2008) ที่พบว่าเนื้อสันนอกสุกรจะมีค่า shear force ลดลง 3.161 กิโลกรัม ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 สัปดาห์



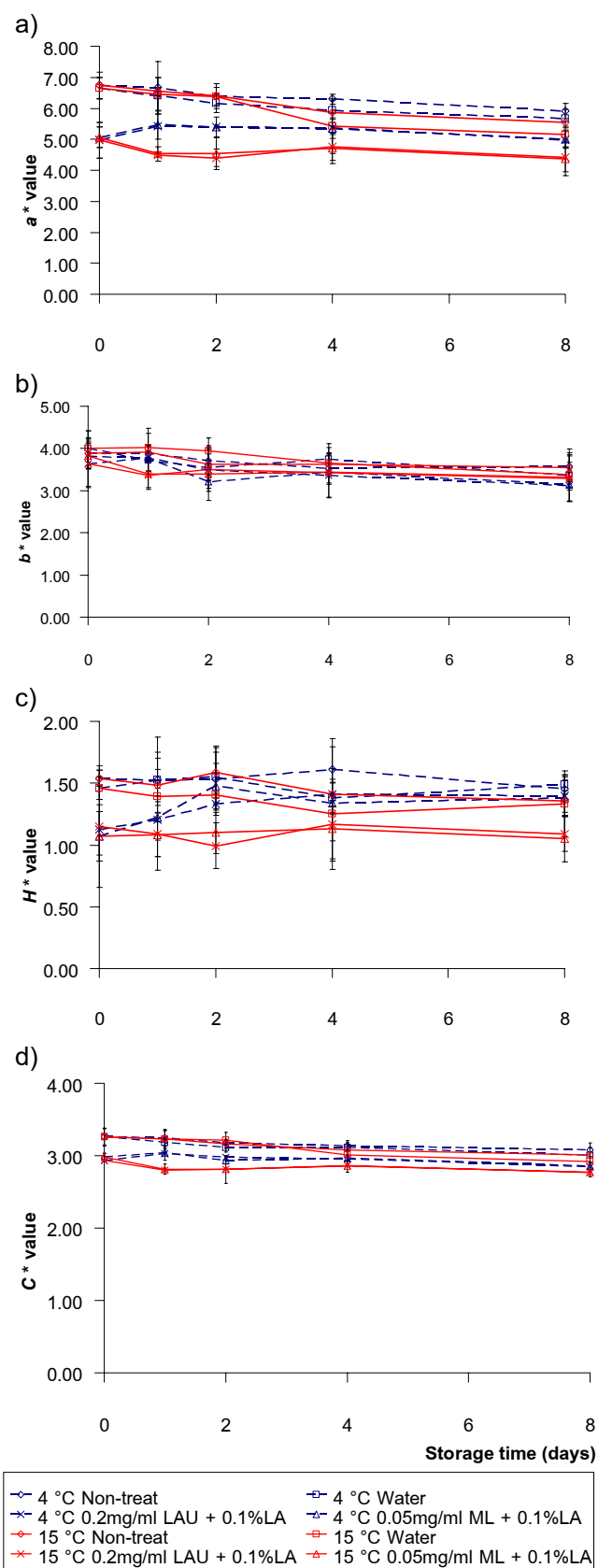
ภาพที่ 23 ผลของการใช้กรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อค่า shear force ของเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างกัน

จากการศึกษาค่าสีของเนื้อสุกรสดพบว่า สารแต่ละชนิดมีผลทำให้เนื้อสุกรสดมีค่า L^* เพิ่มขึ้น ($P \leq 0.05$) และเมื่อทำการเก็บรักษานานขึ้นที่ทั้งสองอุณหภูมิ เนื้อสุกรสดมีค่า L^* เพิ่มขึ้นตามลำดับ (ภาพที่ 24) ซึ่งสอดคล้องกับเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของเนื้อสุกรภายหลังสัมผัสสาร (exudates loss) และภายหลังการเก็บรักษา (drip loss) เนื่องจากค่าความสว่างจะขึ้นอยู่กับความชื้นที่ผิว เมื่อแสงตกกระทบที่ผิวทำให้แสงสะท้อนกลับ (reflecting property) (Young and West, 2001; Shrestha and Min, 2006) นอกจากนี้ในการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้กรด lactic ความเข้มข้นต่ำ (0.1%) จึงทำให้เนื้อสุกรสดมีค่า L^* ไม่แตกต่างจากเนื้อสุกรสดที่สัมผัสน้ำกลั่น แต่อย่างไรก็ตามหากใช้กรด lactic ความเข้มข้น 0.5% จะมีผลทำให้ความสามารถในการอุ้มน้ำลดลง เนื่องจากความเป็นกรดของกรด lactic ทำให้ไมโอไฟบริลลาและซาร์โคพลาสมิกโปรตีนเกิดการเสื่อมสภาพ และสูญเสียคุณสมบัติการอุ้มน้ำ (Sawyer et al., 2009)



ภาพที่ 24 ผลของการใช้กรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อค่า L^* ของเนื้อมูกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างกัน

เช่นเดียวกันกับค่า a^* ของเนื้อมูกรสด พบว่าเนื้อมูกรสดที่สัมผัสสารละลาย 0.2 mg/ml LAU+0.1%LA และ 0.05 mg/ml ML+0.1%LA มีค่า a^* ลดลง ($P \leq 0.05$) ดังภาพที่ 24a เนื่องจากเนื้อสัตว์ที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงทำให้มีสีแดงลดลง (Arganosa and Marriott, 1998; Shrestha and Min, 2006) โดยกรด lactic จะทำให้ deoxymyoglobin มีความคงตัวมากกว่า oxymyoglobin (Giardina et al., 1996) และเมื่อทำการเก็บรักษาที่ทั้งสองอุณหภูมิ เนื้อมูกรสดมีค่า a^* ลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่นานขึ้น เช่นเดียวกับการศึกษาของ Hui et al. (2011) ที่รายงานว่า การเก็บรักษาเนื้อมูกรที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 4 7 และ 10 วัน เนื้อมูกรจะมีค่า a^* ลดลงตามระยะเวลาการเก็บที่นานขึ้น ($P \leq 0.05$) ในขณะที่การใช้สารแต่ละชนิดไม่มีผลต่อค่า b^* ของเนื้อมูกรสดตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 8 วัน ที่ทั้งสองอุณหภูมิ ($P > 0.05$) (ภาพที่ 25b) แต่อย่างไรก็ตามการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของค่า H^* ขึ้นอยู่กับค่า a^* และ b^* (Van Laack et al., 1996; Shrestha and Min, 2006) ดังนั้นการลดลงของค่า a^* ในขณะที่ค่า b^* ไม่เปลี่ยนแปลงมีผลทำให้ค่า H^* เพิ่มขึ้น (ภาพที่ 25c) แสดงถึงการสูญเสียสีแดงของเนื้อมูกรสดที่สัมผัสกรด lactic นอกจากนี้ยังส่งผลให้ค่า C^* ของเนื้อมูกรสดลดลง (ภาพที่ 25d) ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการสูญเสียสีของเนื้อมูกรสด (Giardina et al., 1996)



ภาพที่ 25 ผลของการใช้กรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อค่า a^* (a) b^* (b) C^* (c) และ H^* (d) ของเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างกัน

4.4 การศึกษาอิทธิพลของกรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อคุณภาพทางเคมีบางประการของเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่าง ๆ

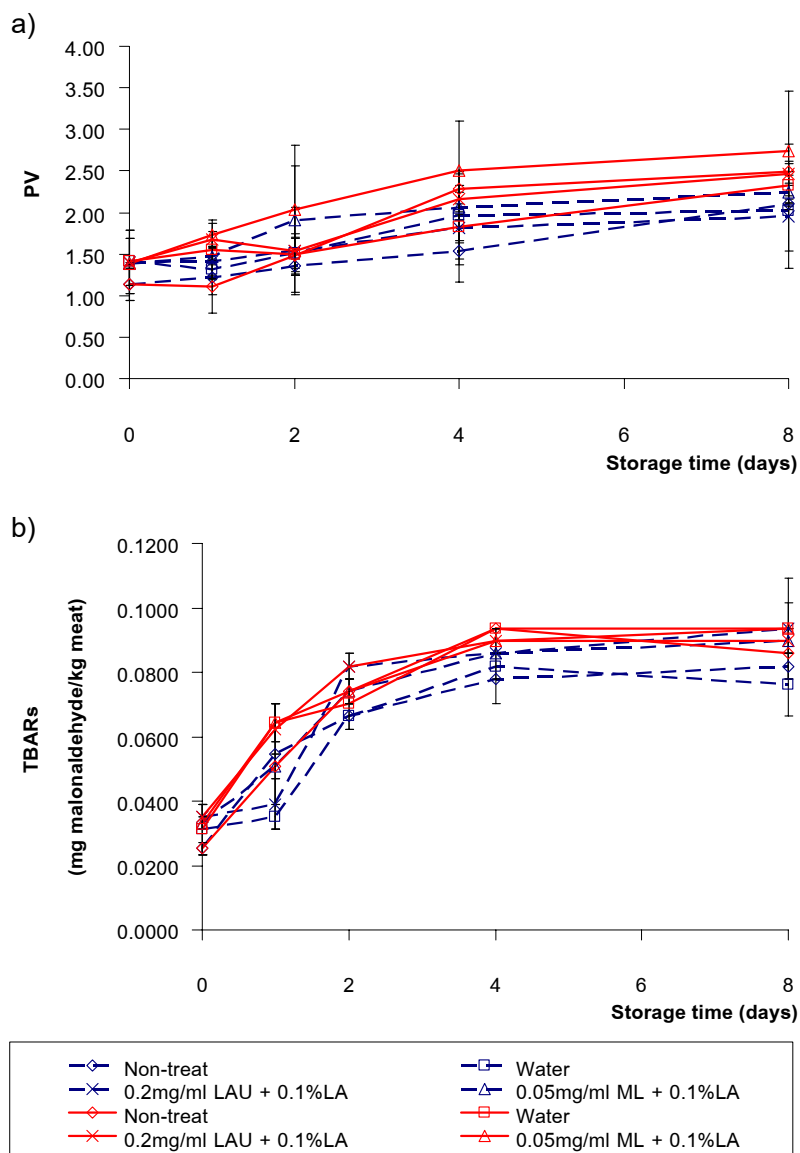
จากการศึกษาค่าเปอร์ออกไซด์ (PV) ของเนื้อสุกรสดภายหลังสัมผัสสารชนิดต่าง ๆ ที่อุณหภูมิและระยะเวลาในการเก็บรักษาต่างกัน พบว่าเนื้อสุกรสดทุกกลุ่มมีค่าเปอร์ออกไซด์เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่นานขึ้น ($P \leq 0.05$) โดยค่าเปอร์ออกไซด์ของเนื้อสุกรสดที่สัมผัสสารละลาย 0.2 mg/ml LAU+0.1%LA และ 0.05 mg/ml ML+0.1%LA ที่อุณหภูมิ 4 และ 15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นมากกว่าเนื้อสุกรกลุ่มควบคุม ($P \leq 0.07$) (ภาพที่ 26a) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการกรด lactic มีผลทำให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพ ส่งผลให้ผิวของโปรตีนปลดปล่อยเหล็ก (non-heme) ออกมา จึงทำให้เกิดการออกซิเดชันขึ้น (Erickson, Akok and Min, 1998)

เช่นเดียวกันกับการศึกษาค่า TBARS ของเนื้อสุกรสดที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างกัน แสดงให้เห็นว่าค่า TBARS ของเนื้อสุกรสดที่ทำการเก็บรักษาทั้งสองอุณหภูมิมีค่า TBARS เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บที่นานขึ้น ($P \leq 0.05$) เช่นเดียวกันกับการศึกษาของ Shrestha and Min (2006) พบว่าเนื้อสุกรสดจะมีค่า TBARS เพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 12 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นอกจากนี้จากการศึกษานี้ยังพบว่าค่า TBARS ของเนื้อสุกรสดที่สัมผัสสารละลาย 0.2 mg/ml LAU+0.1%LA และ 0.05 mg/ml ML+0.1%LA ที่อุณหภูมิ 4 และ 15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นมากกว่าเนื้อสุกรกลุ่มควบคุม ($P \leq 0.07$) (ภาพที่ 26b) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Sawyer et al. (2009) ที่รายงานว่าเนื้อวัวที่สัมผัสกรด lactic ความเข้มข้น 0.5% เป็นเวลา 5 วัน มีค่า TBARS เพิ่มขึ้นจาก 0.38 เป็น 0.81 mg malenaldehyd/kg of fresh tissue

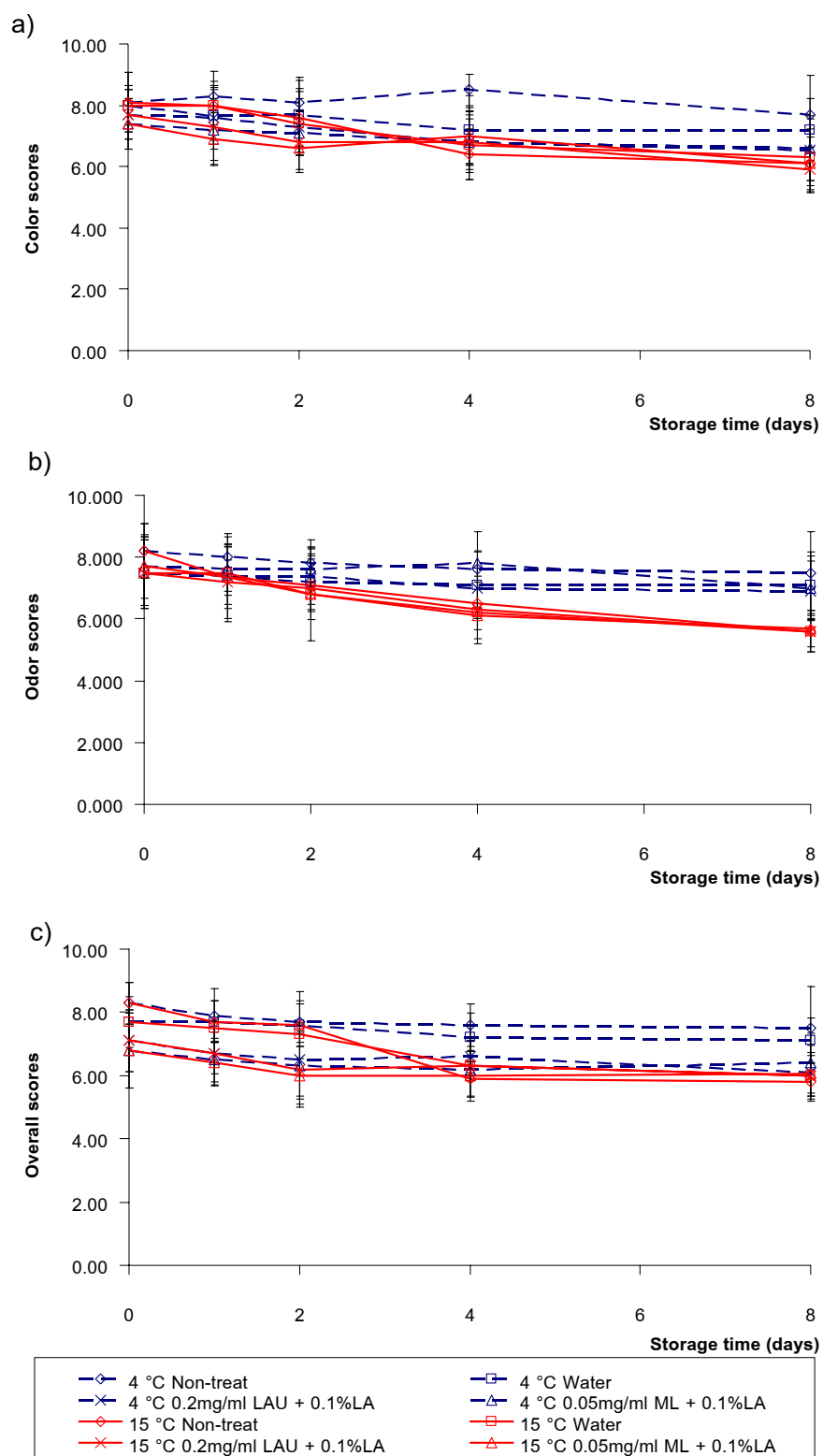
4.5 การศึกษาอิทธิพลของกรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสของเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่าง ๆ

จากการศึกษาคุณภาพทางประสาทสัมผัสของเนื้อสุกรสดภายหลังสัมผัสสารพบว่า สี กลิ่น และลักษณะปรากฏโดยรวมของเนื้อสุกรสดทุกกลุ่มไม่แตกต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับค่า L^* ในการศึกษาครั้งนี้และสอดคล้องกับการศึกษาของ Shrestha and Min (2006) และ Barana et al. (2009) ที่แสดงให้เห็นว่าการใช้กรด lactic ที่ความเข้มข้นต่ำ คือ 1% ไม่มีผลต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัส เช่น สี กลิ่น และลักษณะปรากฏโดยรวม แต่เมื่อการศึกษาครั้งนี้ทำการเก็บรักษาเนื้อสุกรสดพบว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ทำให้เนื้อสุกรสดมีคุณภาพทางประสาทสัมผัสลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่นานขึ้น ในขณะที่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส คุณภาพทางประสาทสัมผัสกลับมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 8 วัน ซึ่งสอดคล้องกับเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา และค่า L^* ที่มีค่าเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บที่นานขึ้น ทำให้ผู้ทดสอบให้คะแนนการยอมรับได้ด้านสีและลักษณะปรากฏของเนื้อสุกรสดลดลงเนื่องจากสีซีดของเนื้อสุกรสดที่เพิ่มขึ้น (ภาพที่ 27a และ c) นอกจากนี้เมื่อทำการ

เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เนื้อสุกรสดมีคะแนนการยอมรับได้ด้านกลิ่นน้อยกว่าที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 8 วัน ทั้งนี้เนื่องจากเนื้อสุกรสดที่ทำการเก็บที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วตามระยะเวลาการเก็บที่นานขึ้น ทำให้เนื้อสุกรสดมีกลิ่นเน่าเสียจนทำให้คะแนนการยอมรับได้ด้านกลิ่นลดลง ในขณะที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เนื้อสุกรสดมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ ทำให้เนื้อสุกรสดมีกลิ่นเน่าเสียเพียงเล็กน้อย



ภาพที่ 26 ผลของการใช้กรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อค่า PV (a) และ TBAR (b) ของเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างกัน



ภาพที่ 27 ผลของการใช้กรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อสี (a) กลิ่น (b) และลักษณะปรากฏ (c) ของเนื้สุกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างกัน

บทที่ 5

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

1. สรุปผลการวิจัย

1.1 ระดับความเข้มข้นของสารละลายกรด lauric สาร monolaurin และกรด lactic ที่มีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* คือ 0.16 – 6.4 0.1 – 1.6 mg/ml และ 0.1 – 1.6 %(v/v) ตามลำดับ

1.2 ค่า MIC และ MBC ของสารละลายกรด lauric คือ 1.6 และ 3.2 mg/ml ตามลำดับ สารละลาย monolaurin คือ 0.1 และ 0.1 mg/ml ตามลำดับ และสารละลายกรด lactic คือ 0.1 และ 0.4 %(v/v) ตามลำดับ

1.3 ค่า FBC (Fractional bactericidal concentration index) ของสารละลายกรด lauric ร่วมกับกรด lactic (0.2 mg/ml + 0.1%(v/v)) และ monolaurin ร่วมกับกรด lactic (0.05 mg/ml + 0.05%(v/v)) เท่ากับ 0.3125 และ 0.6250 ตามลำดับ

1.4 ปริมาณ total culturable cells และ non-stressed cells ของเชื้อ *S. aureus* ลดลงอย่างรวดเร็วภายหลังสัมผัสสารละลายกรด lauric สาร monolaurin กรด lactic ทั้งแบบสัมผัสสารชนิดเดียวและร่วมกัน และเมื่อสัมผัสสารละลายกรด lauric และสาร monolaurin เป็นเวลา 120-240 นาที โดยส่งผลให้แบคทีเรียถูกเหนี่ยวนำเข้าสู่สภาวะ stressed cells มากที่สุด ($P \leq 0.05$) ในขณะที่การสัมผัสสารละลายกรด lactic จะใช้เวลาเพียง 15 นาที เท่านั้น

1.5 การใช้กรด lauric สาร monolaurin และกรด lactic ทั้งแบบที่ใช้สารชนิดเดียวและร่วมกัน จะมีผลทำให้สารภายในเซลล์ของเชื้อ *S. aureus* เกิดการเปลี่ยนแปลง มีการสังเคราะห์โปรตีนลดลง และสูญเสียผนังเซลล์

1.6 น้ำมันมะพร้าวไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ถึงแม้ว่าจะมีกรด lauric เป็นองค์ประกอบอยู่ 47.61% ของกรดไขมัน ก็ตาม

1.7 การใช้สารละลายกรด lauric ร่วมกับกรด lactic (0.2 mg/ml + 0.1%(v/v)) และ monolaurin ร่วมกับกรด lactic (0.05 mg/ml + 0.1%(v/v)) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* บนเนื้อสุกสด และมีผลต่อคุณภาพทางกายภาพ และทางประสาทสัมผัสน้อยที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารเพียงชนิดเดียว

1.8 การใช้กรด lauric ร่วมกับกรด lactic (0.2 mg/ml + 0.1%(v/v)) และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic (0.05 mg/ml + 0.1%(v/v)) สามารถลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* บนเนื้อสุกได้มากที่สุด โดยทั้งที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 4 และ 15 องศาเซลเซียส สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้นานถึง 8 วัน

1.9 การใช้กรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic มีผลทำให้ค่า pH ของเนื้อสุกสดลดลง ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาและภายหลังทำให้สุก ค่า L^* มี

ค่าเพิ่มขึ้น แต่ไม่แตกต่างจากเนื้อสุกรสดที่สัมผัสน้ำ แต่เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 15 องศาเซลเซียส จะมีค่า pH เพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลา 8 วัน ($P \leq 0.05$)

1.10 การเก็บรักษาเนื้อสุกรสดที่ทั้งสองอุณหภูมิ มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาและภายหลังทำให้สุกของเนื้อสุกรสดมีค่าเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บที่นานขึ้น ($P \leq 0.05$)

1.11 การใช้กรด lauric ร่วมกับกรด lactic (0.2 mg/ml + 0.1%(v/v)) มีผลทำให้ค่า shear force ของเนื้อสุกรสดเพิ่มขึ้น

1.12 การใช้กรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic มีผลทำให้ค่าเปอร์ออกไซด์และค่า TBARS ของเนื้อสันนอกสุกรสดเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บที่นานขึ้น ($P \leq 0.05$)

1.13 สี กลิ่น และลักษณะปรากฏโดยรวมของเนื้อสุกรสดทุกกลุ่มไม่แตกต่างกัน แต่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ทำให้เนื้อสุกรสดมีคุณภาพทางประสาทสัมผัสลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่นานขึ้น ในขณะที่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส คุณภาพทางประสาทสัมผัสกลับมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 8 วัน

2. ข้อเสนอแนะ

2.1 ควรทำการศึกษาผลการยับยั้งของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อแบคทีเรียแกรมลบและแกรมบวกในเนื้อสุกรสด และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ เพื่อนำผลการศึกษาที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในชีวิตประจำวัน และอุตสาหกรรมแปรรูปเนื้อสัตว์

2.2 ควรทำการศึกษาอิทธิพลของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับเกลือของกรดอินทรีย์ต่อคุณภาพทางจุลชีววิทยา กายภาพ เคมี และประสาทสัมผัสของเนื้อสุกร และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ เพื่อลดผลกระทบของการใช้กรด lactic ต่อคุณภาพทางกายภาพ เคมี และประสาทสัมผัส

เอกสารอ้างอิง

- กรมการค้าภายในจังหวัดประจวบคีรีขันธ์. 2550. มะพร้าวผลแก่ (ออนไลน์). สืบค้นจาก : <http://www.dit.go.th/uploadnew/prachuapkhirikhan/fact%20sheet%20coconut.pdf> [15 พฤษภาคม 2551].
- กรมปศุสัตว์. 2546. จำนวนสัตว์ที่อนุญาตให้ฆ่าเป็นอาหาร (ออนไลน์). สืบค้นจาก : <http://www.dld.go.th/ict/yearly/yearly46/index.html> [12 ธันวาคม 2549].
- กรมปศุสัตว์. 2548. จำนวนสัตว์ที่อนุญาตให้ฆ่าเป็นอาหาร (ออนไลน์). สืบค้นจาก : <http://www.dld.go.th/ict/yearly/yearly48/index.html> [12 ธันวาคม 2549].
- คมแข พิลสมบัติ. 2540. “การลดปริมาณการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์บนผิวซากสุกรที่ผ่านขบวนการฆ่ามาตรฐาน และไม่มาตรฐานโดยการใช้สารละลายกรดแลกติกและคลอรีน.” วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาสัตวศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- ชัยณรงค์ คันรพนิต. 2529. วิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์. กรุงเทพมหานคร: ไทยวัฒนาพานิช.
- ณรงค์ โฉมเฉลา. 2548. บทบาทของน้ำมันมะพร้าวต่อสุขภาพและความงาม (ออนไลน์). สืบค้นจาก : <http://www.dtam.moph.go.th/alternative/viewstory.php?id=360> [23 เมษายน 2550].
- ประภาพร ขอไพบูลย์ และจุฑารัตน์ เลื่อนกัตวา. 2548. ผลของกรดกลูโคโนค กรดแอสคอร์บิก สารในชินต่อการลดจำนวนเชื้อ *Escherichia coli* ในเนื้อสุกร. ว.เกษตรพระจอมเกล้า. 23: 1–6.
- ประภาพร ขอไพบูลย์ และทิพรดี คงสุวรรณ. 2548. ผลของเซทิลไพรเดียมคลอไรด์ โปแตสเซียมซอร์เบต และไตรโซเดียมฟอสเฟต และการใช้สารร่วมกันต่อการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* บนผิวเนื้อสุกร. การประชุมวิชาการ สาขาสัตวบาล / สัตวศาสตร์ / สัตวแพทยศาสตร์ ครั้งที่ 5. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่. 14-15 พฤศจิกายน 2548.
- ประภาพร ขอไพบูลย์ และอภิษฎา ศรีเครือคง. 2548. การลดเชื้อ *Escherichia coli* ในเนื้อสุกร โดยการใช้ความร้อน น้ำ สารละลายผสมของไตรโซเดียมฟอสเฟตและกรดแอสคอร์บิก สารละลายผสมของโปแตสเซียมซอร์เบตและกรดแอสคอร์บิก. การประชุมวิชาการ สาขาสัตวบาล / สัตวศาสตร์ / สัตวแพทยศาสตร์ ครั้งที่ 5. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่. 14-15 พฤศจิกายน 2548.
- มุสดี ตั้งวัชรินทร์. 2543. ประสิทธิภาพสารละลายกรดแลกติกในการลดปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella derby* และ *Staphylococcus aureus* ในหลอดอาหาร. วิทยานิพนธ์ สาขาสัตวศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- มุสดี ตั้งวัชรินทร์ จุฑารัตน์ เศรษฐกุล ประภาพร ขอไพบูลย์ และทิพรวรรณ ปริญญาศิริ. 2544. ประสิทธิภาพของสารละลายกรดแลกติกในการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella Derby* และ *Staphylococcus aureus*

- บนเนื้อสุกร. การประชุมวิชาการครั้งที่ 39 สาขาสัตว สัตวแพทยศาสตร์ ประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร. 5-7 กุมภาพันธ์ 2544.
- มุสดี ตังวัชรินทร์ และไชยวรรณ วัฒนจันทร์. 2552. การปนเปื้อนของแบคทีเรียในกระบวนการฆ่าสุกรแบบ สัมผัสพื้นและไม่สัมผัสพื้นในเขตเทศบาลนครหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 27: 122-131.
- มุสดี ตังวัชรินทร์ วิภา รักษาทอง และธัญพิสิษฐ์ พรหมศิริวรกุล. 2553. อิทธิพลของกรดแอสคอร์บิกและ ความเย็นต่อการรอดชีวิตของเชื้อ *Salmonella* Rissen ในเนื้อสันนอกสุกร.วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 23: 44-51.
- พรศิริ พรหมกิ่งแก้ว และอนิรุช เนืองเม็ก. 2546 การศึกษาการปนเปื้อนของ *Salmonella* และ *Staphylococcus aureus* ในเนื้อสัตว์จากตลาดสดในภาคเหนือ. สืบค้นจาก: <http://www.dld.go.th/th/> [15 สิงหาคม 2553].
- ศิวาพร ศิวเวช. 2529. วัตถุเจือปนอาหาร. กรุงเทพมหานคร: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สมณฑา วัฒนสินธุ์. 2545. จุลชีววิทยาทางอาหาร. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.
- Adam, M.R. and Hall, C.A. 1988. Growth inhibition of food-borne pathogens by lactic acid and acetic acid their mixtures. Int. J. FOOD Sci. Technol. 23: 287-292.
- Alves, L. 1995. Meat decontamination with organic acids II - Vacuum packed meat. Vet. Tecnica. 5: 22 - 26.
- Anang, D.M., Rusul, G., Ling, F.H. 2010. Inhibitory effects of lactic acid and lauricidin on spoilage organisms of chicken breast during storage at chilled temperature. Int. J. Food Microbiol. 144: 152-9.
- Anderson, M.E. 1990. Reducing microbial population on beef tissue: concentration and temperature of lactic acid. J. Food Saf. 10: 131 - 190.
- Arganosa, G.C., and Marriott, N.G. 1989. Organic acids as tenderizers of collagen in restructured beef. J. Food Sci. 54: 1173-1176.
- Association of Official Analytical Chemists. 1990. Association of Official Analytical Chemists. In: (15th edn. ed.), Official Methods of Analysis, Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
- Atanassova, V., Meindl, A. and Ring, C. 2001. Prevalence of *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxins in raw pork and uncooked smoked ham: a comparison of classical culturing detection and RFLP-PCR. Int. J. Food Microbiol. 68: 105-133.

- Bacteriological Analytical Manual (BAM) Online. *Staphylococcus aureus*. U.S. Food and Drug Administration. 2001. [Cited on 2006 Dec 9]. Available from URL: <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-12.html>.
- Bakal, G. and Diaz, A. 2005. The lowdown on lauric arginate. *Food Qual.* 12: 54–61.
- Barana, C., Shimada, K., Liyanage, R., Fukushima, M. and Sekikawa, M. 2009. Removing of central nervous tissues from dressed carcasses: Washing with a low concentration of lactic acid in spraying cabinet. 20: 366-390.
- Bauer, A.W., Kirby, W.M.M., Sherris, J.C. and Turck, M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Amer. J. Clin. Pathol.* 45: 493-496.
- Bennett, R.W. 2001. *Staphylococcus aureus*. In Labbé, R.G. and García, S. (eds), *Guide to Foodborne Pathogens*. John Wiley and Sons, Inc., USA. pp. 201-220.
- Berry, E.D. and P.M. Foegeding. 1997. Cold temperature adaptation and growth of microorganisms. *J. Food Prot.* 60: 1583-1594.
- Bharadwaj, R., A. Vidya, B. Dewan, and A. Pal. 2003. An *in vitro* study to evaluate the synergistic activity of norfloxacin and metronidazole. *Indian J. Pharmacol.* 35: 220-226.
- Chan, P.F., Foster, S.J., Ingham, E. and Clements, M.O. 1998. The *Staphylococcus aureus* alternative sigma factor sigmaB controls the environmental stress response but not starvation survival or pathogenicity in a mouse abscess model. *J. Bacteriol.* 180: 6082-6089.
- Chaveerach, P., Keuzenkamp, D.A. and Urlings, H.A. 2002. *In vitro* study on the effect of organic acids on *Campylobacter jejuni/coli* populations in mixtures of water and feed. *Poul. Sci.* 81: 621-628.
- CLSI. 2002. Reference method for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard M7-A4. Clinical Laboratory Standards Institute, Wayne, Pa.
- Concon, J.M. 1988. *Food Toxicology Part II*. Marcel Dekker, New York.
- Cudjoe, K.S. 1988. The effect of lactic acid spray on keeping qualities of meat during storage. *J. Food Microbiol.* 32: 1 - 7.
- Dawson, P.L., Carl, G.D., Acton, J.C. and Han, I.Y. 2002. Effect of lauric acid and nisin-impregnated soy-based films on the growth of *Listeria Monocytogenes* on turkey bologna. *Poultry Science.* 81:721–726.
- Díaz, P., Nieto, G., Garrido, M.D. and Bañón, S. 2008. Microbial, physical-chemical and sensory spoilage during the refrigerated storage of cooked pork loin processed by the *sous vide* method. *Meat Sci.* 80: 287-292.

- Doores S. Organic acid. 2005. In Antimicrobials in Foods ed. Davidson PM, Sofos JN, Brannen, JI, 3rd ed. pp. 91-142. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Eklund, T. 1989. Organic Acid and Esters. Elsevier Applied Science, London.
- EL-knateib, T. 1993. Inactivation and attachment of *Listeria monocytogens* on beef muscle treated with lactic acid and selected bacteriocins." J. Food Prot. 56: 29 - 30.
- Erickson, M.C., Akoh, C.C. and Min, D.B. 1998. Lipid oxidation of muscle foods. *In* Food lipids, chemistry, nutrition and biotechnology. pp. 297–332. Marcel Dekker Inc.
- Food Control Division, Food and Drug Administration, Thailand. 2004. Country report foodborne diseases: situation of diarrheal diseases in Thailand. FAO/WHO Regional Conference on Food Safety for Asia and the Pacific. Seremban, Malaysia. 24-27 May 2004. pp. 241-244.
- Giardina, B., Ascenzi, P., Clementi, M.E., De Sanctis, G., Rizzi, M., and Colta, M. 1996. Functional modulation by lactate of myoglobin. J. Biol. Chem. 271:16999-17001.
- Griffiths, W.M. 2005. Understanding Pathogen Behaviour. CRC Press, USA. 611 p.
- Guerrero, I. and Taylor, A.J. 1994. Meat surface decontamination using lactic acid from chemical and microbial sources. Leb. Wiss. Technol. 27: 201 - 209.
- Gutierrez, J., Barry-Ryan, C. and Bourke, P. 2008. The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. Int. J. Food Microbiol. 124: 91-97.
- Hardin, M.D., Acuff, G.R., Lucia, L.M., Oman, J.S. and Savell, J.W. 1995. Comparison of methods for contamination removal from beef carcass surfaces. J. Food Prot. 58: 368-374.
- Hwang, C.A. and Beuchat, L.R. 1995. Efficacy of selected chemicals for killing pathogenic and spoilage microorganisms on chicken skin. J. Food Prot. 58: 19 - 23.
- Ingram, M. 1988. The preservative action of acid substances in food. Chem. Ind. 75: 1154 - 1163.
- Jensen, J.M., Robbins, K.L., Ryan, K.J., Homco-Ryay, C., McKeith, F.K. and Brewer, M.S. 2003. Effects of lactic and acetic acid salts of quality characteristics of enhanced pork during retail display. Meat Sci. 63: 501-508.
- Kabara, J.J. 1993. Medium-chain fatty acids and esters. *In* Davidson, P.M. and Brannen, A.L. (eds), Antimicrobials in Foods, 2nd Edn., pp. 307-342. Marcel Dekker, New York.
- Kim, C.R. 1995. Gram - negative bacteria in refrigerated catfish fillets treated with lactic culture and lactic acid. J. Food Prot. 58: 639 - 643.

- Kitahara, T., Koyama, N., Matsuda, J., Aoyama, Y., Hirakata, Y., Kamihiro, S. Kohno, S., Nakashima, M. and Sasaki, H. 2004. Antimicrobial activity of saturated fatty acids and fatty amines against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Biol. Pharm. Bull. 27: 1321–1326.
- Krusch, U. 1978. Ernährungsphysiologische Gesichtspunkte der L (+) und D (-) milchsaure in sauremilchprodukten. Kieler. Milchwirtsch. Forschung. 30: 341 - 346.
- Longdell, G.R. 1994. Advance technologies in the meat industry. Meat Sci. 36: 277 - 291.
- Lopze-Bote, C. and Warriss, P.D. 1988. A note on the relationships between measures of water holding capacity in the *M. longissimus dorsi* and total drip loss from butchered pig carcasses during storage. Meat Sci. 23: 227-234.
- Lowy, F. D. 1998. *Staphylococcus aureus* infections. N. Engl. J. Med. 339: 520–532.
- Lsigidi, B.K., Mathieu, A-M., Devriess, L.A., Godard, C. and Hoof, J.V. 1992. Enterotoxin production in different *Staphylococcus aureus* biotypes isolated from food and meat plants. J. Appl. Bacteriol. 72: 16-20.
- Lyon, J.G. and Novick, P.R. 2004. Peptide signaling in *Staphylococcus aureus* and other Gram-positive bacteria. Peptides. 25: 1389-1403.
- Mancini, R.A., Hunt, M.C., Seyfert, M., Kropf, D.H., Hachmeister, K.A., Herald, T.J. and Johnson, D.E. 2007. Effects of ascorbic and citric acid on beef lumbar vertebramarrow colour. Meat Sci. 76: 568-573.
- Mathieu, A.M. 1992. Hot – Boning and acid decontamination : a technology for developing country. Fleischwirtsch. 72: 1273 – 1275.
- McLay, J.C., Kennedy, M.J., O'Rourke, A.-L., Elliot, R.M. and Simmonds, R.S. 2002. Inhibition of bacterial foodborne pathogens by the lactoperoxidase system in combination with monolaurin. Int. J. Food Micro. 73: 1-9.
- Netten, P.V. 1994. An *in vitro* meat model for the immediate bactericidal effect of lactic acid decontamination on meat surfaces. J. Appl. Bact. 76: 49 - 54.
- Netten, P. V., Mossel, D. A. A. and Huis In t Veld, J. 1995. Lactic acid decontamination of fresh pork carcasses: a pilot plant study. Int. J. Food Microbiol. 25: 1-9.
- Offer, G. and Trinick, J. 1983. On the mechanism of water holding in meat the swelling and shrinking of myofibrils. Meat. Sci. 18: 254.
- Oh, D. and Marshall, D.L. 1992. Effect of pH on the minimum inhibitory concentration of monolaurin against *Listeria monocytogenes*. J. Food Prot. 55: 449–450.

- Oh, D. and Marshall, D.L. 1994. Enhanced inhibition of *Listeria monocytogenes* by glycerol monolaurate with organic acids. *J. Food Sci.* 59: 1258–1261.
- Oliveira, M. and Brito, D. 1996. Lactic acid effect on the decontamination of sheep meat (lamb) packed in vacuum. *Vet. Technica.* 6: 30-33.
- Pearson, A.M. and Dutson, T.R. 1986. *Advance in Meat Research vol. 2 Meat and Poultry Microbiology.* The Avi publishing, U.S.A.
- Pearson, A.M. and Dutson, T.R. 1990. *Meat and Health Advances in Meat Research vol.6.* Elsevier Science, New York
- Prasai, R.K. 1991. Microbiological effects decontamination of beef carcass at various location in processing. *J. Food Prot.* 54: 868 - 872.
- Prasai, R.K. 1997. Microbiological quality of beef subprimals as affected by lactic acid sprays applied at various points during vacuum storage. *J. Food Prot.* 60: 795 - 798.
- Prasai, R. K., Acuff, G. R., Lucia, L. M., Morgan, J. B., May, S. G., and Savell, J. W. 1992. Microbiological effects of acid decontamination of pork carcasses at various locations in processing. *Meat Sci.* 32: 413–423.
- Reynolds, A. E. 2005. Utilization of spray wash with organic acids (peroxyacetic acid and lactic acid) and chlorinated wash in combination, utilizing direct application methods, for pathogen reduction on pork and beef carcasses in small and very small meat processing plants (online). Available: http://www.fsis.usda.gov/PDF/NewTechnology_C29SummaryFY2003.pdf [15 June 2008].
- Ruzin, A. and Novick, R.P. 2000. Equivalence of lauric acid and glycerol monolaurate as inhibitors of signal transduction in *Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol.* 182: 2668-2671.
- Saide-Albornoz, J.J. 1995. Contamination of pork carcasses during slaughter, fabrication and chilled storage. *J. Food Prot.* 58: 993 - 997.
- SAS software. 1998. *Statistical Analysis Systems Institute Inc., USA.*
- Sasitorn, K. 1993. Microbial ecology of pork in Bangkok. *In Proceeding 11th International Symposium.* WAVFH. Bangkok : Triranasar press. pp. 354 – 362.
- Sawaya, W.N. 1995. Storage stability of chicken as affected by MAP and lactic acid treatment. *J. Food Sci.* 60: 611-614.
- Sawyer, J.T., Apple, J.K., Johnson, Z.B., Baublits, R.T. and Yancey, J.W.S. 2009. Fresh and cooked color of dark-cutting beef can be altered by post-rigor enhancement with lactic acid. *Meat Sci.* 83: 263-270.

- Shivas, S.D. 1984. Effect of ascorbic acid on display life of ground beef. J. Food Prot. 47: 11-18.
- Shrestha, S. and Min, Z. 2006. Effect of lactic acid pretreatment on the quality of fresh pork packed in modified atmosphere. J. Food Eng. 72: 254-260
- Sigma-Aldrich, Inc. 2010a. Lauric acid (online). Available: http://www.sigmaaldrich.com/catalog/ProductDetail.do?lang=en&N4=W261416|ALDRICH&N5=SEARCH_CONCAT_PNO|BRAND_KEY&F=SPEC. [2010 June 27].
- Sigma-Aldrich, Inc. 2010b. 1-Lauroyl-*rac*-glycerol (online). Available: http://www.sigmaaldrich.com/catalog/ProductDetail.do?lang=en&N4=M1765|SIGMA&N5=SEARCH_CONCAT_PNO|BRAND_KEY&F=SPEC [2010 June 27]
- Sigma-Aldrich, Inc. 2010c. DL-Lactic acid (online). Available: http://www.sigmaaldrich.com/catalog/ProductDetail.do?lang=en&N4=69785|FLUKA&N5=SEARCH_CONCAT_PNO|BRAND_KEY&F=SPEC [2010 June 27]
- Snijders, J.M.A., Van Longtertijn, J.G., Mossel, D.A.A. and Smulder, F.L.M. 1985. Lactic acid as a decontamination in slaughter and processing procedures. Vet. Quart. 7: 277-282.
- Skrivanova, E., Marounek, M., Benda, V. and Brezina, P. 2006. Susceptibility of *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. and *Clostridium perfringens* to organic acids and monolaurin. Vet. Med. 51: 81-88.
- Smulders, F. J. M. and Woolthuis, C. H. J. 1986. Immediate and delayed microbiological effects of lactic acid decontamination of calf carcasses- influence on conventionally boned versus hot-boned and vacuum packaged cuts. J. Food Prot. 48: 838.
- Shrestha, S. and Min, Z. 2006. Effect of lactic acid pretreatment on the quality of fresh pork packed in modified atmosphere. Journal of food engineering. 72: 254-260.
- Surve, A.N. 1991. Preservative effect of combinations of acetic acid with lactic or propionic acid on buffalo meat stored at refrigeration temperature." Meat Sci. 29: 309-322.
- Tangwatcharin, P., Chanthachum, S., Khopaibool, P. and Griffiths, M.W. 2006. Morphological and physiological responses of *Campylobacter jejuni* to stress. J. Food Prot. 69: 2747-2753.
- Thaikruea, L. 1995. An unusual outbreak of food poisoning. South. Asian J. Trop. Med. Pub. Heal. 26:78-85.
- Tokarsky O, Marshall DL. 2008. Mechanism of synergistic inhibition of *Listeria monocytogenes* growth by lactic acid, monolaurin and Nisin. Appl. Environ. Microbiol. 74: 7126-9.
- Tokur, B., Korkmaz, K. and Ayas, D. 2006. Comparison of two thiobarbituric Acid (TBA) method for monitoring lipid oxidation in fish. J. Fish. Aquatic Sci. 23:331-334

- Ugbogu, O.C., Onyeagba, R.A. and Chigbu, O.A. 2006. Lauric acid content and inhibitory effect of palm kernel oil on two bacterial isolates and *Candida albicans*. African J. Biotech. 5: 1045-1047.
- Van Laack, R.L.J.M., Berry, B.W. and Solomon, M.B. 1996. Variations in internal color of cooked beef patties. J. Food Sci. 61: 410-414.
- Vasconcelos de Oliveira, C.E., T.L.M. Stamford, N.J.G. Neto, and E. Leite de Souza. 2010. Inhibition of *Staphylococcus aureus* in broth and meat broth using synergies of phenolics and organic acid. Int. J. Food Microbiol. 137: 312-316.
- Verhaegh, E.G.A., Marshall, D.L. and Oh, D.H. 1996. Effect of monolaurin and lactic acid on *Listeria monocytogenes* attached to catfish fillets. Int. J. Food Microbiol. 29: 403-410.
- Visser, I.J.R. 1988. Microbiological conditions and keeping quality of veal tongues as affected by lactic acid decontamination and vacuum packaging. J. Food Prot. 51: 208-213.
- Wattanachant, S., Sornprasitt, T. and Polpara, Y. 2008. Quality characteristics of raw and canned goat meat in water, brine, oil and Thai curry during storage. Songklanakarin J. Sci. Technol. 30: 41-50.
- Woolthuis, C.H.J. 1984. Microbial decontamination of porcine liver with lactic acid and hot water." J. Food Prot. 47: 220-226.
- 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.
- Young, O.A. and West, J. 2001. Meat color. In Hui, Y.H., Nip, W.-K., Rogers, R.W. and Young, O.A. (eds), Meat Science and Applications. Marcel Dekker Inc., New York, pp. 39-70.
- Zeitoun, A.A.M. and Debevere, J.M. 1990. The effect of treatment with buffered lactic acid on microbial decontamination and on shelf-life of poultry. Int. J. Food Microbiol. 11: 305-312.
- Zhang, H., Du, G. and Zhang, J. 2004. Assay of mitochondrial functions by resazurin in vitro. Act. Pharmacol. Sin. 25: 385-389

ภาคผนวก

**การทดลองที่ 1 ศึกษาระดับความเข้มข้นของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ สารละลายกรด lauric
สาร monolaurin และกรด lactic ที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ
S. aureus ในสารละลายเชื้อบริสุทธิ์**

ตารางผนวกที่ 1 ความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *S. aureus* ด้วยน้ำมันมะพร้าว
บริสุทธิ์ สารละลายกรด lauric monolaurin และกรด lactic ที่ระดับความเข้มข้น
ต่าง ๆ ด้วยวิธี diffusion agar

Source	DF	SS	MS	F	Pr > F
Model	8	1.88100000	0.47025000	26.87	0.0001
CONCEN	8	1.88100000	0.47025000	26.87	0.0001
Error	18	0.17500000	0.01750000		
Corrected Total	26	2.05600000			
C.V. = 8.216619		R-Square = 0.914883			

ตารางผนวกที่ 2 ความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ด้วยสารละลายโมโนลอรีนที่ระดับความ
เข้มข้นต่างๆ

Source	DF	SS	MS	F	Pr > F
Model	6	1.59887000	0.17765222	12.28	0.0001
CONCEN	6	1.59887000	0.17765222	12.28	0.0001
Error	14	0.28926667	0.01446333		
Corrected Total	20	1.88813667			
C.V. = 4.258123		R-Square = 0.846798			

ตารางผนวกที่ 3 ความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ด้วยสารละลายกรดแลกติก ที่ระดับ
ความเข้มข้นต่างๆ

Source	DF	SS	MS	F	Pr > F
Model	8	8.71166667	2.17791667	186.68	0.0001
CONCEN	8	8.71166667	2.17791667	186.68	0.0001
Error	18	0.11666667	0.01166667		
Corrected Total	26	8.82833333			
C.V. = 9.530501		R-Square = 0.986785			

การทดลองที่ 2 ศึกษาประสิทธิภาพการลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* ของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ สารละลายกรดลอริก โมโนลอรีนร่วมกับสารละลายกรดแลกติกใน สารละลายเชื้อบริสุทธิ์

ตารางผนวกที่ 4 ประสิทธิภาพการลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* ทั้งหมดของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรดลอริก โมโนลอรีน กรดแลกติก สารละลายกรดลอริก และโมโนลอรีนร่วมกับ กรดแลกติกที่ระยะเวลาต่าง ๆ

Source	DF	SS	MS	F	Pr > F
Model	69	680.0783	9.8562	110.42	0.0001
CHEM	9	345.3619	38.3735	429.90	0.0001
TIME	6	243.8739	40.6456	455.36	0.0001
CHEM*TIME	54	90.84248	1.6822	18.85	0.0001
Error	140	12.4966	0.0892		
Corrected Total	209	692.5749			
C.V. = 7.681784 R-Square = 0.981956					

ตารางผนวกที่ 5 ประสิทธิภาพการลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* ที่อยู่ในสภาวะปกติของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรดลอริก โมโนลอรีน กรดแลกติก สารละลายกรดลอริก และโมโนลอรีน ร่วมกับกรดแลกติกที่ระยะเวลาต่าง ๆ

Source	DF	SS	MS	F	Pr > F
Model	87	1983.7851	22.8021	615.22	0.0001
CHEM	7	1258.5966	179.7995	4851.10	0.0001
TIME	10	302.7709	30.2770	816.89	0.0001
CHEM*TIME	70	422.4175	6.0345	162.82	0.0001
Error	176	6.5232	0.0370		
Corrected Total	263	1990.3083			
C.V. = 7.014224 R-Square = 0.996723					

ตารางผนวกที่ 6 ประสิทธิภาพการลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* ที่อยู่ในสภาวะเครียดของน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรดลอริก โมโนลอรีน กรดแลกติก สารละลายกรดลอริก และโมโนลอรีนร่วมกับกรดแลกติกที่ระยะเวลาต่าง ๆ

Source	DF	SS	MS	F	Pr > F
Model	87	20.5910	0.2366	26.79	0.0001
CHEM	7	1.7448	0.2492	28.22	0.0001
TIME	10	7.4006	0.7400	83.77	0.0001
CHEM*TIME	70	11.4455	0.1635	18.51	0.0001
Error	176	1.5548	0.0088		
Corrected Total	263	22.1458			
C.V. = 51.94331 R-Square = 0.929793					

การทดลองที่ 3 ศึกษาการใช้สารละลายน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรดลอริก โมโนลอรีน กรดแลกติก กรด ลอริก และโมโนลอรีนร่วมกับกรดแลกติกต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* และจุลินทรีย์ทั้งหมดบนเนื้อสุกรสด

ตารางผนวกที่ 7 การใช้สารละลายน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรดลอริก โมโนลอรีน กรดแลกติก กรดลอริก และโมโนลอรีนร่วมกับกรดแลกติกต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* บนเนื้อสุกรสด

Source	DF	SS	MS	F	Pr>F
Model	7	6.4086	0.9155	16.10	0.0001
TRT	7	6.4086	0.9155	16.10	0.0001
Error	16	0.9100	0.0568		
Corrected Total	23	7.3186			
C.V. = 5.0073 R-Square = 0.8756					

ตารางผนวกที่ 8 การใช้สารละลายน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรดลอริก โมโนลอรีน กรดแลกติก กรดลอริก และโมโนลอรีนร่วมกับกรดแลกติกต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์บนเนื้อสุกรส

Source	DF	SS	MS	F	Pr>F
Model	7	2.9187	0.4169	33.11	0.0001
TRT	7	2.9187	0.4169	33.11	0.0001
Error	16	0.2014	0.0125		
Corrected Total	23	3.1202			

C.V. = 3.3223

R-Square = 0.9354

ตารางผนวกที่ 9 การใช้สารละลายน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรดลอริก โมโนลอรีน กรดแลกติก กรดลอริก และโมโนลอรีนร่วมกับกรดแลกติกต่อค่าความเป็นกรด-ด่างของเนื้อสุกรส

Source	DF	SS	MS	F	Pr>F
Model	7	0.5965	0.0852	3.54	0.0171
TRT	7	0.5965	0.0852	3.54	0.0171
Error	16	0.3850	0.0240		
Corrected Total	23	0.9815			

C.V. = 2.0129

R-Square = 0.6077

ตารางผนวกที่ 10 การใช้สารละลายน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรดลอริก โมโนลอรีน กรดแลกติก กรดลอริก และโมโนลอรีนร่วมกับกรดแลกติกต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักภายหลังสัมผัสสารของเนื้อสุกรส

Source	DF	SS	MS	F	Pr>F
Model	7	1.3397	0.1913	93.18	0.0001
TRT	7	1.3397	0.1913	93.18	0.0001
Error	16	0.0328	0.0020		
Corrected Total	23	1.3726			

C.V. = 10.5709

R-Square = 0.9760

ตารางผนวกที่ 11 การใช้สารละลายน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรดลอริก โมโนลอรีน กรดแลกติก กรดลอริก และโมโนลอรีนร่วมกับกรดแลกติกต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก ภายหลังการทำให้สุกของเนื้อสุกกรสด

Source	DF	SS	MS	F	Pr>F
Model	7	92.3291	13.1898	8.74	0.0002
TRT	7	92.3291	13.1898	8.74	0.0002
Error	16	24.1568	1.5098		
Corrected Total	23	116.4859			

C.V. = 8,1982 R-Square = 0.7926

ตารางผนวกที่ 12 การใช้สารละลายน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรดลอริก โมโนลอรีน กรดแลกติก กรดลอริก และโมโนลอรีนร่วมกับกรดแลกติกต่อค่า shear force ของเนื้อสุกกรสด

Source	DF	SS	MS	F	Pr>F
Model	7	45.4972	6.4996	5.03	0.0036
TRT	7	45.4972	6.4996	5.03	0.0036
Error	16	20.6556	20.6556		
Corrected Total	23	66.1529			

C.V. = 19.1316 R-Square = 0.6877

ตารางผนวกที่ 13 การใช้สารละลายน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรดลอริก โมโนลอรีน กรดแลกติก กรดลอริก และโมโนลอรีนร่วมกับกรดแลกติกต่อค่า L^* ของเนื้อสุกกรสด

Source	DF	SS	MS	F	Pr>F
Model	7	153.2707	21.8958	89.27	0.0001
TRT	7	153.2707	21.8958	89.27	0.0001
Error	16	3.9242	0.2452		
Corrected Total	23	157.1950			

C.V. = 0.8529 R-Square = 0.9750

ตารางผนวกที่ 14 การใช้สารละลายน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรดลอริก โมโนลอรีน กรดแลกติก กรดลอริก และโมโนลอรีนร่วมกับกรดแลกติกต่อค่า a^* ของเนื้อสุกรส

Source	DF	SS	MS	F	Pr>F
Model	7	12.0983	1.7283	99.59	0.0001
TRT	7	12.0983	1.7283	99.59	0.0001
Error	16	0.27766	0.0173		
Corrected Total	23	12.3759			

C.V. = 1.9738 R-Square = 0.9775

ตารางผนวกที่ 15 การใช้สารละลายน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรดลอริก โมโนลอรีน กรดแลกติก กรดลอริก และโมโนลอรีนร่วมกับกรดแลกติกต่อค่า b^* ของเนื้อสุกรส

Source	DF	SS	MS	F	Pr>F
Model	7	9.9796	1.4256	3.22	0.0250
TRT	7	9.9796	1.4256	3.22	0.0250
Error	16	7.0886	0.4430		
Corrected Total	23	17.0682			

C.V. = 21.3308 R-Square = 0.5842

ตารางผนวกที่ 16 การใช้สารละลายน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรดลอริก โมโนลอรีน กรดแลกติก กรดลอริก และโมโนลอรีนร่วมกับกรดแลกติกต่อค่า Hue (H^*) ของเนื้อสุกรส

Source	DF	SS	MS	F	Pr>F
Model	7	1.5069	0.2152	90.80	0.0001
TRT	7	1.5069	0.2152	90.80	0.0001
Error	16	0.0379	0.0023		
Corrected Total	23	1.5448			

C.V. = 2.7619 R-Square = 0.9754

ตารางผนวกที่ 17 การใช้สารละลายน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรดลอริก โมโนลอรีน กรดแลกติก กรดลอริก และโมโนลอรีนร่วมกับกรดแลกติกต่อค่า Chroma (C*) ของเนื้อสุกกรสด

Source	DF	SS	MS	F	Pr>F
Model	7	21.6349	3.090	163.35	0.0001
TRT	7	21.6349	3.090	163.35	0.0001
Error	16	0.3027	0.0189		
Corrected Total	23	17.0682			

C.V. = 1.8225 R-Square = 0.9862

ตารางผนวกที่ 18 การใช้สารละลายน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรดลอริก โมโนลอรีน กรดแลกติก กรดลอริก และโมโนลอรีนร่วมกับกรดแลกติกต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านสีของเนื้อสุกกรสด

Source	DF	SS	MS	F	Pr>F
Model	7	0.5965	0.0852	3.54	0.0171
TRT	7	0.5965	0.0852	3.54	0.0171
Error	16	0.3850	0.0240		
Corrected Total	23	0.9815			

C.V. = 2.0129 R-Square = 0.6077

ตารางผนวกที่ 19 การใช้สารละลายน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรดลอริก โมโนลอรีน กรดแลกติก กรดลอริก และโมโนลอรีนร่วมกับกรดแลกติกต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นของเนื้อสุกกรสด

Source	DF	SS	MS	F	Pr>F
Model	7	0.0362	0.0051	0.22	0.9744
TRT	7	0.0362	0.0051	0.22	0.9744
Error	16	0.3733	0.0233		
Corrected Total	23	0.4095			

C.V. = 1.9345 R-Square = 0.0885

ตารางผนวกที่ 20 การใช้สารละลายน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ กรดลอริก โมโนลอรีน กรดแลกติก กรดลอริก และโมโนลอรีนร่วมกับกรดแลกติกต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านลักษณะปรากฏโดยรวมของเนื้อสุกรส

Source	DF	SS	MS	F	Pr>F
Model	7	0.3933	0.0561	3.14	0.0276
TRT	7	0.3933	0.0561	3.14	0.0276
Error	16	0.2866	0.0179		
Corrected Total	23	0.6800			

C.V. = 1.7160 R-Square = 0.5784

การทดลองที่ 4 การศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่ออายุการเก็บรักษาของเนื้อสุกรสที่สัมผัส กรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic

ตารางผนวกที่ 21 อิทธิพลของกรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อการเจริญของเชื้อ *S. aureus* บนเนื้อสุกรสที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างๆ

Source	DF	SS	MS	F	Pr>F
Model	39	132.3372	3.3932	56.82	0.0001
Treat	3	73.0643	24.3547	407.78	0.0001
Tem	4	37.6076	9.4019	157.42	0.0001
Time	1	11.8822	11.8822	198.95	0.0001
Treat* Tem	12	2.1511	0.1799	3.00	0.0016
Tem* Time	3	0.1974	0.0658	3.00	0.3532
Treat* Time	4	6.6842	1.6710	27.98	0.0001
Treat* Tem* Time	12	0.7500	0.0625	1.05	0.4160
Error	80	4.7779	0.0597		
Corrected Total	119	137.1152			

C.V. = 4.5769 R-Square = 0.9651

ตารางผนวกที่ 22 อิทธิพลของกรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมดบนเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างๆ

Source	DF	SS	MS	F	Pr>F
Model	39	199.2169	5.1081	88.04	0.0001
Treat	3	44.5560	14.8520	255.99	0.0001
Tem	4	93.8337	23.4584	404.33	0.0001
Time	1	39.5708	39.5708	682.04	0.0001
Treat* Tem	12	1.5362	0.1280	2.21	0.0188
Tem* Time	3	0.7432	0.2477	4.27	0.0075
Treat* Time	4	18.3193	4.5798	78.94	0.0001
Treat* Tem* Time	12	0.6574	0.0547	0.94	0.5082
Error	80	4.6414	0.0580		
Corrected Total	119	203.8583			
C.V. = 4.6712 R-Square = 0.9772					

ตารางผนวกที่ 23 อิทธิพลของกรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อค่าความเป็นกรด-ด่างของเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างๆ

Source	DF	SS	MS	F	Pr>F
Model	39	10.3281	0.2648	95.29	0.0001
Treat	3	3.1923	1.0641	382.89	0.0001
Tem	4	4.1422	1.0355	372.61	0.0001
Time	1	0.0197	0.0197	7.11	0.0093
Treat* Tem	12	2.9341	0.2445	87.98	0.0001
Tem* Time	3	0.0007	0.0002	0.09	0.9645
Treat* Time	4	0.0160	0.0040	1.44	0.2279
Treat* Tem* Time	12	0.0228	0.0019	0.69	0.7601
Error	80	0.2223	0.0027		
Corrected Total	119	10.5504			
C.V. = 0.9632 R-Square = 0.9789					

ตารางผนวกที่ 24 อิทธิพลของกรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาของเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างๆ

Source	DF	SS	MS	F	Pr>F
Model	31	82.9802	2.6767	11.87	0.0001
Treat	3	9.2604	3.0868	13.69	0.0001
Tem	3	69.2347	23.0782	102.35	0.0001
Time	1	2.0117	2.0117	8.92	0.0040
Treat* Tem	9	0.9333	0.1037	0.46	0.8959
Tem* Time	3	0.0654	0.02180	0.10	0.9616
Treat* Time	3	0.7880	0.2626	1.16	0.3301
Treat* Tem* Time	9	0.6865	0.0762	0.34	0.9587
Error	64	14.4311	0.2254		
Corrected Total	95	97.4113			

C.V. = 14.5197 R-Square = 0.8518

ตารางผนวกที่ 24 อิทธิพลของกรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักภายหลังทำให้สุกของเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างๆ

Source	DF	SS	MS	F	Pr>F
Model	51	3852.3752	75.5367	281.67	0.0001
Treat	7	344.5069	49.2152	183.52	0.0001
Tem	1	14.5681	14.5681	54.32	0.0001
Time	4	3404.7970	851.1992	3174.02	0.0001
Treat* Tem	7	2.1981	0.3140	1.17	0.3214
Tem* Time	28	73.6103	2.6289	9.80	0.0001
Treat* Time	4	12.6945	3.1736	11.83	0.0001
Error	188	50.4173	0.2681		
Corrected Total	239	3902.7926			

C.V. = 2.7735 R-Square = 0.9870

ตารางผนวกที่ 25 อิทธิพลของกรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อค่า shear force ของเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างๆ

Source	DF	SS	MS	F	Pr>F
Model	39	70.6986	1.8127	9.35	0.0001
Treat	3	3.8876	1.2958	6.68	0.0004
Tem	4	53.0139	13.2534	68.34	0.0001
Time	1	5.3358	5.3358	27.51	0.0001
Treat* Tem	12	0.6869	0.0572	0.30	0.9886
Tem* Time	3	0.1523	0.0507	0.26	0.8527
Treat* Time	4	7.4000	1.8500	9.54	0.0001
Treat* Tem* Time	12	0.2219	0.0184	0.10	1.0000
Error	80	15.5142	0.1939		
Corrected Total	119	86.2129			
C.V. = 8.8062 R-Square = 0.8200					

ตารางผนวกที่ 26 อิทธิพลของกรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อค่า L^* ของเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างๆ

Source	DF	SS	MS	F	Pr>F
Model	39	1357.5926	34.8100	5.91	0.0001
Treat	3	489.3958	163.1319	27.68	0.0001
Tem	4	492.9454	123.2363	20.91	0.0001
Time	1	38.3296	38.3296	6.50	0.0127
Treat* Tem	12	138.6203	11.5516	1.96	0.0391
Tem* Time	3	46.1779	15.3926	2.61	0.0570
Treat* Time	4	71.4415	17.8601	3.03	0.0222
Treat* Tem* Time	12	80.6819	6.7234	1.14	0.3404
Error	80	471.5517	5.8943		
Corrected Total	119	1829.1443			
C.V. = 4.4213 R-Square = 0.7422					

ตารางผนวกที่ 27 อิทธิพลของกรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อค่า a^* ของเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างๆ

Source	DF	SS	MS	F	Pr>F
Model	39	69.0137	1.7695	9.04	0.0001
Treat	3	48.7544	16.2514	83.04	0.0001
Tem	4	7.6385	31.3903	42.54	0.0001
Time	1	4.6118	4.6118	23.56	0.0001
Treat* Tem	12	3.7965	0.3163	1.62	0.1035
Tem* Time	3	3.7965	0.3163	1.62	0.0602
Treat* Time	4	1.2339	0.3084	1.58	0.1887
Treat* Tem* Time	12	1.4708	0.1225	0.63	0.8139
Error	80	15.6471	0.1957		
Corrected Total	119	84.6709			

C.V. = 7.9452 R-Square = 0.8150

ตารางผนวกที่ 28 อิทธิพลของกรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อค่า b^* ของเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างๆ

Source	DF	SS	MS	F	Pr>F
Model	39	7.1843	0.1842	1.31	0.1556
Treat	3	2.667	0.6889	4.89	0.0036
Tem	4	3.5993	0.8998	6.39	0.0002
Time	1	0.0156	0.0156	0.11	0.7398
Treat* Tem	12	0.4898	0.0405	0.29	0.9897
Tem* Time	3	0.1090	0.0363	0.26	0.8554
Treat* Time	4	0.1845	0.0461	0.33	0.8587
Treat* Tem* Time	12	0.7221	0.0601	0.43	0.9482
Error	80	11.2688	0.1408		
Corrected Total	119	18.4531			

C.V. = 10.4289 R-Square = 0.3893

ตารางผนวกที่ 29 อิทธิพลของกรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อค่า Hue (H^*) ของเนื้อมูกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างๆ

Source	DF	SS	MS	F	Pr>F
Model	39	3.8479	0.0986	2.07	0.0030
Treat	3	2.2824	0.7608	15.98	0.0001
Tem	4	0.0720	0.0180	0.38	0.8232
Time	1	0.6218	0.6218	13.06	0.0040
Treat* Tem	12	0.3982	0.0331	0.70	0.8959
Tem* Time	3	0.1173	0.0391	0.82	0.4855
Treat* Time	4	0.2161	0.0540	1.14	0.3460
Treat* Tem* Time	12	0.1397	0.0116	0.24	0.9951
Error	80	3.8079	0.0475		
Corrected Total	119	7.6559			
C.V. = 16.42283 R-Square = 0.5026					

ตารางผนวกที่ 30 อิทธิพลของกรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อค่า Chroma (C^*) ของเนื้อมูกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างๆ

Source	DF	SS	MS	F	Pr>F
Model	39	2.9361	0.0752	7.26	0.0001
Treat	3	1.9224	0.6408	61.80	0.0001
Tem	4	0.5738	0.1434	13.84	0.0001
Time	1	0.1230	0.1234	11.90	0.0009
Treat* Tem	12	0.1153	0.0096	0.93	0.5243
Tem* Time	3	0.0647	0.0215	2.08	0.1090
Treat* Time	4	0.0401	0.0100	0.97	0.4303
Treat* Tem* Time	12	0.0961	0.0080	0.77	0.6767
Error	80	0.8295	0.0103		
Corrected Total	119	3.7657			
C.V. = 3.3692 R-Square = 0.7797					

ตารางผนวกที่ 31 อิทธิพลของกรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อค่า PV ของ
เนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างๆ

Source	DF	SS	MS	F	Pr>F
Model	39	21.7165	0.5568	4.96	0.0001
Treat	3	2.0980	0.6993	6.23	0.0007
Tem	4	15.8102	3.9525	35.19	0.0001
Time	1	1.2073	1.2073	10.75	0.0015
Treat* Tem	12	0.9428	0.0785	0.70	0.7474
Tem* Time	3	0.1583	0.0527	0.47	0.7041
Treat* Time	4	0.8194	0.2048	1.82	0.1323
Treat* Tem* Time	12	0.6804	0.0567	0.50	0.9058
Error	80	8.9855	0.1123		
Corrected Total	119	30.7021			
C.V. = 19.2943 R-Square = 0.7073					

ตารางผนวกที่ 31 อิทธิพลของกรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อค่า TBARs
ของเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างๆ

Source	DF	SS	MS	F	Pr>F
Model	39	0.0623	0.0015	36.97	0.0001
Treat	3	73.0643	24.3547	407.78	0.0001
Tem	4	0.0571	0.0142	330.36	0.0001
Time	1	0.0012	0.0012	29.60	0.0001
Treat* Tem	12	0.0007	0.0000	1.38	0.1917
Tem* Time	3	0.0003	0.0001	2.73	0.0492
Treat* Time	4	0.0008	0.0002	5.00	0.0012
Treat* Tem* Time	12	0.0011	0.0000	2.25	0.0166
Error	80	0.0034	0.0000		
Corrected Total	119	0.0658			
C.V. = 9.8833 R-Square = 0.9474					

ตารางผนวกที่ 32 อิทธิพลของกรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อคุณภาพทาง
ประสาทสัมผัสด้านสีของเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างๆ

Source	DF	SS	MS	F	Pr>F
Model	39	342.3200	8.7774	10.43	0.0001
Treat	3	75.5100	25.1700	29.91	0.0001
Tem	4	155.9825	39.9956	46.34	0.0001
Time	1	35.2800	0.0156	41.93	0.0001
Treat* Tem	12	11.0775	0.9231	1.10	0.3591
Tem* Time	3	15.4900	5.1633	6.14	0.0004
Treat* Time	4	21.2805	5.3206	6.32	0.0001
Treat* Tem* Time	12	27.6975	2.3081	2.74	0.0012
Error	760	639.5000	0.8414		
Corrected Total	779	981.8200			

C.V. = 12.6263 R-Square = 0.3486

ตารางผนวกที่ 32 อิทธิพลของกรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อคุณภาพทาง
ประสาทสัมผัสด้านกลิ่นของเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างๆ

Source	DF	SS	MS	F	Pr>F
Model	39	376.0950	9.6434	10.07	0.0001
Treat	3	21.3850	7.1283	7.44	0.0001
Tem	4	182.8200	45.7050	47.72	0.0001
Time	1	93.8450	93.8450	97.98	0.0001
Treat* Tem	12	5.6400	0.4700	0.49	0.9208
Tem* Time	3	4.9050	1.6350	1.71	0.1641
Treat* Time	4	60.2800	15.0700	15.73	0.0001
Treat* Tem* Time	12	7.2200	0.6016	0.63	0.8192
Error	760	727.9000	0.9577		
Corrected Total	799	1103.9950			

C.V. = 13.7403

R-Square = 0.3406

ตารางผนวกที่ 33 อิทธิพลของกรด lauric และสาร monolaurin ร่วมกับกรด lactic ต่อคุณภาพทาง
 ประสาทสัมผัสด้านลักษณะปรากฏโดยรวมของเนื้อสุกรสดที่อุณหภูมิและ
 ระยะเวลาการเก็บต่างๆ

Source	DF	SS	MS	F	Pr>F
Model	39	410.8887	10.5356	14.24	0.0001
Treat	3	164.0237	54.6745	73.89	0.0001
Tem	4	130.7450	32.6862	44.17	0.0001
Time	1	30.8112	30.8112	41.64	0.0001
Treat* Tem	12	31.7950	2.6495	3.58	0.0001
Tem* Time	3	11.8537	3.9512	5.34	0.0012
Treat* Time	4	22.7450	5.6862	7.68	0.0001
Treat* Tem* Time	12	18.9150	1.5762	2.13	0.0134
Error	760	562.3500	0.7399		
Corrected Total	799	973.2387			
C.V. = 12.5051 R-Square = 0.4221					