

ผลของสารสกัดกะเพราต่อการเจริญของแบคทีเรียแลคติกในอาหารเหลวในหลอดทดลองและ
ในระหว่างการหมักเนื้อ



นางสาวสุภาณู ศิริพันธุ์พานิชย์

นางสาวอรนุช อินทรเสนา

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2545

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Effect of Holy Basil Extract on Growth of Lactic Acid Bacteria in Liquid Medium
and During Meat Fermentation



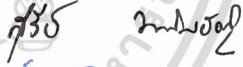

Miss Supanu Siripanpanich
Miss Oranuch Intrasena

Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement for the Degree of
Bachelor of Science
Department of Applied Biology
Faculty of Science
King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang
Academic Year 2002

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงการพิเศษเรื่อง ผลของสารสกัดกะเพราต่อการเจริญของแบคทีเรียแลคติกในอาหารเหลว
 ในหลอดทดลองและในระหว่างการหมักเนื้อ
โดย นางสาวสุภาณุ ศิริพันธุ์พาณิชย์
 นางสาวอรนุช อินทรเสนา
ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์
สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
 อนุมัติให้ โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการตรวจสอบ	ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ รศ.ดร. นवलพรรณ ณ ระนอง	
กรรมการ ผศ.ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ	
กรรมการ ผศ. วีณา ชูโชติ	



(รศ.ดร. นवलพรรณ ณ ระนอง)

หัวหน้าภาควิชา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

โครงการพิเศษเรื่อง	ผลของสารสกัดกะเพราต่อการเจริญของแบคทีเรียแลคติกในอาหารเหลว ในหลอดทดลองและในระหว่างการหมักเนื้อ
นักศึกษา	นางสาวสุภาณุ ศิริพันธุ์พาณิชย์ นางสาวอรนุช อินทรเสนา
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา	2545
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผศ. วิณา ชูโชติ

บทคัดย่อ

การศึกษาในครั้งนี้ได้ตรวจสอบผลของสารสกัดกะเพราต่อการเจริญและการผลิตกรดของแบคทีเรียแลคติก (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus curvatus*, *Pediococcus pentosaceus* และ *Pediococcus acidilactici*) ในอาหารเหลว การเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดกะเพรา (1%, 3% และ 7%) มีผลกระตุ้นการเจริญและการผลิตกรดโดยแบคทีเรียแลคติกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่า *L. plantarum* และ *P. acidilactici* สามารถเจริญได้ดีกว่า *L. curvatus* และ *P. pentosaceus* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ที่ทุกความเข้มข้นของสารสกัดกะเพราจึงได้ทำการคัดเลือกเอาสารสกัดกะเพราความเข้มข้น 7% รวมทั้งเชื้อ *L. plantarum* และ *P. acidilactici* มาใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก คือ แหนม

การศึกษาผลของกะเพราต่อการเจริญและการผลิตกรดของแบคทีเรียแลคติกในระหว่างการหมักแหนมได้ทดลองผลิตแหนมที่เติมกล้าเชื้อ *L. plantarum* และ *P. acidilactici* โดยเปรียบเทียบผลของกะเพรา (7%) และผลของอุณหภูมิในการหมักแหนม (37 และ 42 องศาเซลเซียส) พบว่ากะเพราในแหนมมีผลกระตุ้นการเจริญของแบคทีเรียแลคติกในแหนมหลังจากการหมักนาน 36 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และผลิตภัณฑ์ที่มีค่าพีเอชต่ำสุด (3.03) และเมื่อเปรียบเทียบอุณหภูมิที่ใช้ในการหมักแหนม (37 และ 42 องศาเซลเซียส) พบว่าแหนมที่หมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสมีปริมาณแบคทีเรียแลคติกสูงกว่า ($P < 0.05$) และมีลักษณะเนื้อสัมผัสและลักษณะปรากฏดีกว่า

สำหรับการศึกษาผลของกะเพราต่อความควบคุมเชื้อ *Salmonella Agona* ในระหว่างการหมัก
เอกสารที่หมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาพที่มีกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก *L. plantarum* และ *P. acidilactici* พบว่ากะเพรา 7% ที่เติมลงในแหนมมีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. Agona* โดย

สามารถลดปริมาณเชื้อ *S. Agona* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) หลังจากหมักนาน 48 ชั่วโมง ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าสามารถใช้กะเพราเป็นส่วนผสมชนิดหนึ่งในการผลิตแหนม เพื่อควบคุมเชื้อ *Salmonella* และยังให้กลิ่นเฉพาะของกะเพราในแหนมอีกด้วย



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title	Effect of holy basil extract on growth and acid production by lactic acid bacteria in a liquid medium and during meat fermentation
Name	Miss Supanu Siripanpanich Miss Oranuch Intrasena
Department	Applied Biology
Program	Biotechnology
Academic Year	2002
Special Project Advisor	Assist. Prof. Dr.Suree Nanasombat
Special Project co-advisor	Assist. Prof. Veena Chouchote

Abstract

In this study, effect of holy basil extract on growth and acid production by lactic acid bacteria in a liquid medium was investigated. Increasing concentration (1%, 3% and 7%) of holy basil extract resulted in stimulation of growth and acid production by *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus curvatus*, *Pediococcus pentosaceus* and *Pediococcus acidilactici*. Holy basil extract at the concentration of 7% showed the greatest stimulation of growth and acid production of lactic acid bacteria ($P < 0.05$). In addition, all concentrations of holy basil extract stimulated *L. plantarum* and *P. acidilactici* more than *L. curvatus* and *P. pentosaceus* in a liquid medium. Therefore, the holy basil extract at the concentration of 7% and two species of lactic acid bacteria (*L. plantarum* and *P. acidilactici*) was selected for fermented meat production (Nham).

The effect of holy basil (7%) and fermentation temperature (37 and 42 °C) on growth and acid production by lactic acid bacteria during Nham fermentation in the presence of starter culture (*L. plantarum* and *P. acidilactici*) was studied. The presence of holy basil in Nham significantly stimulated the growth of lactic acid bacteria after 36-hour fermentation at 37 °C ($P < 0.05$) and yielded the finished product with the lowest pH (3.03). When compared two level of fermentation temperature, Nham fermented at 37 °C contained significantly greater populations of lactic acid bacteria and showed better odor, texture and appearance than that fermented at 42 °C

The effect of holy basil on controlling growth of *Salmonella Agona* during Nham fermentation at 37 °C with *L. plantarum* and *P. acidilactici* was determined. Holy basil (7%) significantly inhibited the growth of *S. Agona* after 36-hour fermentation ($P < 0.05$). These results

suggest that holy basil can be used as an ingredient in Nham production to control *Salmonella* and provided specific odor of holy basil to the product.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร. นवलพรรณ ณ ระนอง ประธานกรรมการ อาจารย์วีณา ชูโชติ กรรมการตรวจสอบ และผศ. ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ อาจารย์ที่ปรึกษาผู้ให้คำชี้แนะแนวทาง รวมทั้งช่วยแก้ไขปัญหาและเอาใจใส่คณะผู้จัดทำมาตลอดการดำเนินงานโครงการพิเศษ

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ ที่ให้ความกรุณาช่วยถ่ายทอดความรู้และประสบการณ์ต่างๆ ทั้งในและนอกวิชาเรียนแก่ลูกศิษย์ รวมทั้งคุณพยอม เกียรติกำจร และคุณประเสริฐวิทย์ พงศ์คำ นักวิทยาศาสตร์ที่ให้คำปรึกษาและอำนวยความสะดวกในด้านเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง ฟักสุมา ฟ้าๆ ปริญาโททุกคน ที่ให้คำแนะนำและให้ยืมอุปกรณ์ทำโครงการพิเศษ พี่เดชา ที่ช่วยแนะนำเคล็ดลับในการทดลองซึ่งมีประโยชน์ต่อโครงการพิเศษนี้อย่างมาก และลุงพยอม ไข่แก้ว ที่ช่วยเฝ้าเวรยามตอนทำโครงการช่วงกลางคืน

ท้ายสุดนี้ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ของคณะผู้จัดทำ คุณอมรา อินทรเสนา และ ดร. วันฉัตร ชื่นชม ที่ให้การสนับสนุนอย่างเต็มที่ ทั้งกำลังกาย กำลังใจ และกำลังทรัพย์มาโดยตลอด ขอขอบคุณเพื่อนๆ ทุกคนที่มีส่วนร่วมให้โครงการพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

นางสาวสุกานุ ศิริพันธุ์พาณิชย์

นางสาวอรนุช อินทรเสนา

มีนาคม 2546

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ณ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาของ โครงการพิเศษ	
1.2 วัตถุประสงค์	
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	
1.4 ขั้นตอนของการวิจัยและวิธีการดำเนินงาน	
1.5 ผลที่คาดว่าจะได้รับ	
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ	4
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	30
บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล	34
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	45
เอกสารอ้างอิง	47
ภาคผนวก ก	53
ภาคผนวก ข	55
ภาคผนวก ค	57
ภาคผนวก ง	59

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. ปริมาณของสารที่พบในน้ำมันหอมระเหยของกะเพรา	5
2. ผลิตกัณฑ์เนื้อสด และผลิตกัณฑ์เนื้อหมักซึ่งใส่เกลือแบคทีเรีย	15
3. ร้อยละของโรคที่แสดงออกในคนที่เป็นโรค Salmonellosis	23
4. ชิโรไทป์และปริมาณเชื้อที่ทำให้เกิดโรค	25
5. การจัดแบ่งชิโรวาร์ของ <i>Salmonella</i> ตามลักษณะของ O, H, Vi antigen	26
ANTIGENIC FORMULAS	
6. จำนวนเชื้อ <i>Salmonella</i> ชิโรไทป์ต่างๆ ที่ตรวจพบในตัวอย่างแฮมจากแหล่งที่ผลิตต่างๆ กัน 9 แห่ง ในเขตกรุงเทพมหานคร	28
7. ผลของกะเพราต่อการเจริญของแบคทีเรียแลคติกในระหว่างการหมักแฮมที่อุณหภูมิ 37 และ 42 องศาเซลเซียส	41
8. ผลของกะเพราต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรด และค่าพีเอชในระหว่างการหมักแฮม	42
9. ปริมาณแบคทีเรียแลคติกระหว่างการบ่มในอาหารเหลว	55
10. ปริมาณแบคทีเรียแลคติกในระหว่างการหมักแฮม	56
11. ปริมาณเชื้อ <i>Salmonella</i> Agona ในระหว่างการหมักแฮม	56
12. ปริมาณกรดแลคติกระหว่างการบ่มในอาหารเหลว	57
13. ปริมาณกรดแลคติกในระหว่างการหมักแฮม	58
14. ค่าพีเอชในระหว่างการหมักแฮม	58
15. การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณเชื้อ <i>Lactobacillus plantarum</i> ในอาหารเหลวที่มีการเติมสารสกัดกะเพราที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%	59
16. การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณเชื้อ <i>Lactobacillus curvatus</i> ในอาหารเหลวที่มีการเติมสารสกัดกะเพราที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%	59
17. การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณเชื้อ <i>Pediococcus acidilactici</i> ในอาหารเหลวที่มีการเติมสารสกัดกะเพราที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%	60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่	หน้า
18. การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณเชื้อ <i>Pediococcus pentosaceus</i> ในอาหารเหลวที่มีการเติมสารสกัดกะเพราที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%	60
19. การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณกรดที่ผลิตจาก <i>Lactobacillus plantarum</i> ในอาหารเหลวที่มีการเติมสารสกัดกะเพราที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%	60
20. การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณกรดที่ผลิตจาก <i>Lactobacillus curvatus</i> ในอาหารเหลวที่มีการเติมสารสกัดกะเพราที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%	61
21. การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณกรดที่ผลิตจาก <i>Pediococcus acidilactici</i> ในอาหารเหลวที่มีการเติมสารสกัดกะเพราที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%	61
22. การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณกรดที่ผลิตจาก <i>Pediococcus pentosaceus</i> ในอาหารเหลวที่มีการเติมสารสกัดกะเพราที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%	61
23. การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณเชื้อระหว่าง <i>Lactobacillus plantarum</i> และ <i>Lactobacillus curvatus</i> ในอาหารเหลวที่มีการเติมสารสกัดกะเพราที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%	62
24. การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณกรดที่ผลิตขึ้นระหว่าง <i>Lactobacillus plantarum</i> และ <i>Lactobacillus curvatus</i> ในอาหารเหลวที่มีการเติมสารสกัดกะเพราที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%	62
25. การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณเชื้อระหว่าง <i>Pediococcus acidilactici</i> และ <i>Pediococcus pentosaceus</i> ในอาหารเหลวที่มีการเติมสารสกัดกะเพราที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%	63
26. การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณกรดที่ผลิตขึ้นระหว่าง <i>Pediococcus acidilactici</i> และ <i>Pediococcus pentosaceus</i> ในอาหารเหลวที่มีการเติมสารสกัดกะเพราที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DMRT ที่ระดับ ความเชื่อมั่น 95%	63
27. การเปรียบเทียบความแตกต่างของการเติมและไม่เติมกะเพราต่อการเจริญของ <i>Salmonella Agona</i> ในแฮมม โดยหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสที่ระดับความเชื่อมั่น 95%	64

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1. กระบวนการเมทาบอลิซึมน้ำตาลของเชื้อแบคทีเรียแลคติก	9
2. ผลของสารสกัดกะเพราต่อการเจริญและการผลิตกรดของ <i>Lactobacillus plantarum</i>	35
3. ผลของสารสกัดกะเพราต่อการเจริญของการผลิตกรดของ <i>Lactobacillus curvatus</i>	36
4. ผลของสารสกัดกะเพราต่อการเจริญของการผลิตกรดของ <i>Pediococcus acidilactici</i>	37
5. ผลของสารสกัดกะเพราต่อการเจริญของการผลิตกรดของ <i>Pediococcus pentosaceus</i>	38
6. ผลของใบกะเพราต่อการเจริญของ <i>Salmonella Agona</i>	43



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาของโครงการพิเศษ

ปัจจุบันมีผู้หันมาให้ความสนใจเกี่ยวกับเครื่องเทศกันเป็นจำนวนมาก โดยนิยมนำมาทำยา และปรุงอาหาร ในพืชเครื่องเทศนั้นจะมีน้ำมันหอมระเหยซึ่งแตกต่างกันไปตามชนิดของเครื่องเทศ โดยจะนำมาใช้ในการเพิ่มกลิ่นและรสชาติของอาหารรวมทั้งยังช่วยในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคบางชนิดได้ด้วย มีผู้ศึกษาถึงเครื่องเทศที่มีผลต่อจุลินทรีย์ไว้มากมาย Ellgayyar และคณะ (2001) ได้ศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยจากพืชทั้งหมด 12 ชนิด ต่อการยับยั้งแบคทีเรีย 6 ชนิด เชื้อรา 2 ชนิด และยีสต์ 1 ชนิด พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากโอรีการ์โนร์ (Oregano) รวมทั้งพืชประเภทกะเพราและโหระพา (Basil) ก็ให้ผลในการยับยั้งจุลินทรีย์สูงเช่นกัน โดยให้ผลในการยับยั้ง *E. coli* O157:H7, *S. Typhimurium* และจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ Lachowicz และคณะ (1998) ได้ศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยจากพืชประเภทกะเพราและโหระพาจำนวน 5 ชนิด ต่อการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียแกรมลบ ยีสต์ และรา พบว่าน้ำมันหอมระเหยทั้งหมดที่นำมาศึกษามีผลยับยั้งแบคทีเรียส่วนใหญ่ที่นำมาทดสอบ และอดิศร (2542) ได้ศึกษาพบว่าน้ำสกัดกระเทียมที่ระดับความเข้มข้นเพียง 1% มีประสิทธิภาพในการทำลายและลดปริมาณของ *Salmonella* Anatum และ *Staphylococcus aureus* ในอาหาร TSB ได้ โดยถ้าน้ำสกัดกระเทียมมีความเข้มข้นมากขึ้นในอาหาร TSB ก็จะสามารถลดปริมาณของเชื้อทั้ง 2 ตัวนี้ได้ดียิ่งขึ้น

ແໜ່ນເປັນຜົດຊັດທຳອາຫານຫຼັກທີ່ນິຍົມໃຊ້ເຮືອນເປັນສ່ວນປະກອບ ເພື່ອເພີ່ມຄື່ນຮຸສແລະ ຍັງຊ່ວຍໃນການຍັບຍັງຈູລິນທຣີທີ່ກໍ່ເຮັດໂຮດບາງຊົນ ຮຸສເປື້ອນທີ່ເກີດຂຶ້ນໃນແໜ່ນເກີດຈາກການຜົດ ກຣດໂດຍແບກທີ່ເຮືອແລດຕິກ ຈຶ່ງໄດ້ແກ່ *Lactobacillus* sp. ແລະ *Pediococcus* sp. ອຣນຸຊ (2530) ໄດ້ ຮາຍງານວ່າກຣດແລະສາຍຍັບຍັງທີ່ເຮືອແບກທີ່ເຮືອແລດຕິກທັງ 2 ຊົນດີນີ້ຜົດຂຶ້ນສາມາດຍັບຍັງການເຈຣີຸຸງຂອງ *Salmonella* sp. ໄດ້ ອຸ່ງຳກິ່ງຕາມແມ້ວ່າໃນແໜ່ນແລະຜົດຊັດທຳອາຫານອື່ນໆ ຈະມີແບກທີ່ເຮືອ ແລດຕິກທີ່ຊ່ວຍຜົດກຣດແລະສາຍຍັບຍັງອື່ນໆທີ່ໃຫ້ຜົດໃນການຍັບຍັງແບກທີ່ເຮືອກໍ່ໂຮດ ແຕ່ບ່ອຍຄັ້ງພວກ ກາຣະບາດຂອງໂຮດອາຫານເປັນພິພັກເຮືອຂ້ອງກັບແບກທີ່ເຮືອກໍ່ໂຮດທີ່ປຸງເປັນຜົດຊັດທຳອາຫານອື່ນໆ ໂດຍເລຊາະແໜ່ນ ຈຶ່ງມັກພວກປຸງເປັນຜົດຂອງ *Salmonella* (Lothong ແລະຄະນະ, 1987; Swetwivathana ແລະ Bangtrakulnonth, 1996; Swetwivathana ແລະຄະນະ, 1994) ດັ່ງນັ້ນຈຶ່ງເປັນທີ່ນຳ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับ การใช้งานเพื่อการศึกษานานับ ไม่นองกล่าวหาไปใช้ประโยชน์ด้านธุรกิจค้า
สนใจที่จะแก้ปัญหานี้เพื่อเพิ่มความปลอดภัยให้กับผู้บริโภคมากยิ่งขึ้นโดยการนำเครื่องเทศที่มี
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประสิทธิภาพต่อการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคมารใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตแฮม ซึ่งกะเพราก็เป็นเครื่องเทศชนิดหนึ่งที่น่าจะนำมาใช้เติมลงในแฮมได้ เนื่องจากอาจทำให้ผลิตภัณฑ์มีกลิ่นรสเป็นที่ยอมรับ และในส่วนของน้ำมันหอมระเหยของกะเพราก็ยังมีสาร linalool และ methyl chavicol ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (Lachowicz และคณะ, 1998) นอกจากนี้สาร linalool และ α -pinene ในน้ำมันหอมระเหยของกะเพราก็ยังช่วยกระตุ้นการเจริญของแบคทีเรียแลคติก (Lawrence, 1971) ดังนั้นการเติมกะเพราก็อาจทำให้ปริมาณแบคทีเรียแลคติกเพิ่มมากขึ้นได้ และทำให้ค่าพีเอชของแฮมลดลงอย่างรวดเร็วจากกรดที่แบคทีเรียแลคติกผลิตขึ้น ซึ่งจะช่วยให้การยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ด้วยเหตุนี้จึงได้ทำการศึกษาผลของกะเพร่าต่อการเจริญและการผลิตกรดของแบคทีเรียแลคติกและการควบคุมเชื้อ *S. Agona* ในระหว่างการหมักแฮม

1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของสารสกัดกะเพร่าที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญของแบคทีเรียแลคติกสายพันธุ์ต่างๆ ในอาหารเหลวในหลอดทดลอง
2. เพื่อศึกษาผลของสารสกัดกะเพร่าต่อการเจริญของแบคทีเรียแลคติกในระหว่างการหมักเนื้อ
3. เพื่อศึกษาผลของสารสกัดกะเพร่าและแบคทีเรียแลคติกต่อการควบคุมเชื้อ *S. Agona* ในระหว่างการหมักเนื้อ

1.3 ขอบเขตของโครงการพิเศษ

ทำการทดลองโดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดกะเพร่าที่ระดับต่างๆ กันซึ่งสามารถกระตุ้นการผลิตกรดของแบคทีเรียแลคติกสายพันธุ์ต่างๆ ในอาหารเหลวในหลอดทดลอง จากนั้นคัดเลือกความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารสกัดกะเพร่าหนึ่งระดับและแบคทีเรียแลคติกสายพันธุ์ที่เหมาะสมนำมาศึกษาผลของสารสกัดดังกล่าวต่อแบคทีเรียแลคติกและการควบคุมเชื้อ *S. Agona* ในระหว่างการหมักเนื้อ

1.4 ขั้นตอนการดำเนินงาน

1. การศึกษาผลของสารสกัดกะเพราต่อการเจริญและการผลิตกรดโดยแบคทีเรียแลคติกในอาหารเหลวในหลอดทดลอง
 - 1.1 ทำการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียแลคติกในอาหารเหลวที่มีการเติมน้ำสกัดกะเพราที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน
 - 1.2 ทำการนับปริมาณแบคทีเรียแลคติกโดยวิธีการ Pour plate บนอาหาร MRS agar และตรวจสอบปริมาณกรดที่ถูกผลิตขึ้น ทุกๆ 0,1,3,5 และ 7 วัน
 - 1.3 เปรียบเทียบและคัดเลือกแบคทีเรียแลคติกและระดับความเข้มข้นของน้ำสกัดกะเพราที่เหมาะสมเพื่อนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักต่อไป
2. การศึกษาผลของกะเพราต่อการเจริญและการผลิตกรดโดยแบคทีเรียแลคติกในระหว่างการหมักแหนม
 - 2.1 ใช้แบคทีเรียแลคติกและน้ำสกัดกะเพราความเข้มข้นที่คัดเลือกมาจากข้อ 1 ทำผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก 2 ชนิด คือ แหนม โดยทำการบ่มที่ 2 อุณหภูมิคือ 37 และ 42 องศาเซลเซียส
 - 2.2 ทำการนับปริมาณแบคทีเรียแลคติกโดยวิธีการ Pour plate บนอาหาร MRS agar และตรวจสอบปริมาณกรดที่ถูกผลิตขึ้นที่เวลา 0, 12, 24, 36, 48 และ 72 ชั่วโมง
3. การศึกษาผลของกะเพราต่อการควบคุมเชื้อ *Salmonella Agona* ในระหว่างการหมักแหนม
 - 3.1 ทำการผลิตแหนมเช่นเดียวกับการทดลองในตอนที่ 2 แต่มีการเติมเชื้อ *Salmonella Agona* และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส
 - 3.2 ทำการนับปริมาณเชื้อ *S. Agona* โดยวิธีการ Spread plate บนอาหาร XLD agar ที่เวลา 0, 12, 24, 36, 48 และ 72 ชั่วโมง
4. สรุปและวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ทราบถึงผลของกะเพราและความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรียแลคติก
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่
และการควบคุมเชื้อ *S. Agona* เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุใดแบบสิ่งหนึ่งและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและหลักการ

เครื่องเทศและพืชสมุนไพรมีคำจำกัดความดังนี้ พืชสมุนไพร หมายถึงส่วนยอดของลำต้น พืชที่นำมาใช้ในแง่ของการให้กลิ่นกับอาหาร ซึ่งอาจใช้เป็นพืชสดหรือแห้งก็ตาม สำหรับเครื่องเทศ นั้นหมายถึง ส่วนต่างๆ ของพืชที่ไม่ใช่ส่วนยอด ซึ่งอาจจะเป็นเปลือก ราก ดอก ผล เมล็ด เป็นต้น (ชนพันธุ์, 2537) อีกความหมายคือเป็นของหอมฉุนและเผ็ดร้อนที่ได้มาจากต้นไม้สำหรับใช้ทำยา ไทยและปรุงอาหาร (รุ่งรัตน์, 2540) เครื่องเทศมีคุณค่าทางอาหารน้อยมาก แต่มีประโยชน์ในการ ช่วยทำให้กลิ่นและรสของอาหารดีขึ้น ช่วยกระตุ้นน้ำย่อย ในบางครั้งเครื่องเทศและสมุนไพรก็เป็น ของอย่างเดียวกันขึ้นอยู่กับโอกาสที่นำไปใช้

2.1 กะเพรา

กะเพราเป็นพืชในตระกูลลาเบียติ (Labiatae) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Ocimum sanctum L.* กะเพราเป็นพืชที่มีเนื้อแข็งที่มีอายุได้หลายปี ลักษณะพืชมีลำต้นตั้งตรง เป็นไม้พุ่มเตี้ย มีความสูง 3-4 ฟุต ลำต้นแตกแขนงได้ดี ต้นอ่อนจะมีขนปกคลุม กิ่งและแขนงจะมีลักษณะเป็นสี่เหลี่ยม ใบเป็น รูปไข่เรียวยาว ปลายใบแหลม ใบยาวประมาณ 2-4.5 เซนติเมตร และมีกลิ่นหอม

ดอกของกะเพรามีสีชมพูหรือค่อนข้างม่วง ดอกเป็นดอกช่อชนิดที่มีก้านดอกยาวเท่าๆ กัน ดอกอยู่ที่โคน ช่อดอกจะบานก่อนดอกที่ปลายช่อดอกเสมอ ช่อดอกมีความยาวประมาณ 5-14 เซนติเมตร แต่ละดอกในช่อดอกยาวประมาณ 7 มิลลิเมตร วงกลีบดอกมีขนาดเล็กมาก แต่วงกลีบ เลี้ยงมีความยาวประมาณ 3 มิลลิเมตร ผลกลมผิวค่อนข้างเรียบ

กะเพรมี 2 สายพันธุ์ คือ กะเพราแดง จะมีใบสีแดงลักษณะคล้ายใบสาระแหน่ ลำต้นมีสี แดงหรือแดงแกมเขียว ส่วนอีกชนิดหนึ่งคือกะเพราขาว มีลำต้นและใบสีเขียว นอกจากนี้กะเพรา แดงยังมีรสเผ็ดร้อนกว่ากะเพราเขียวอีกด้วย (บัญญัติ, 2518)

กะเพรานอกจากจะนำไปใช้ประโยชน์ในด้านการปรุงแต่งอาหาร ซึ่งจัดเป็นจำพวกผักแล้ว ยังนำไปใช้ประโยชน์ในด้านอื่นๆ อีกหลายประการ เช่น ในอินเดียและอัฟริกาได้ใช้ทาป้องกันยุงกัด โดยจะมีฤทธิ์อยู่ได้นานถึง 2 ชั่วโมง ชาวฮินดูนำไปใช้เป็นพืชในการประกอบพิธีอันศักดิ์สิทธิ์ต่างๆ

จึงมักพบปลูกตามโบสถ์และที่บ้าน ส่วนประเทศมาเลเซียนิยมนำมารับประทานกับอาหารประเภท สลัดแทนผัก แต่ไม่ใช่เป็นส่วนปรุงแต่งอาหาร ใช้แก้อาการหดรัดเกร็งของหลอดเสียงหรือกล่องเสียง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำให้หายใจได้สะดวก แก้เยื่อจมูกอักเสบ หลอดลมอักเสบและท้องร่วง แพทย์ชาวอินดูบางกลุ่มใช้น้ำสกัดจากกะเพราสดแก้ไอ เจียน ปวดท้อง เนื่องจากการทำงานผิดปกติของเอนไซม์จากกระเพาะอาหารในเด็กและการทำงานผิดปกติของตับรวมทั้งทำลายพยาธิในลำไส้ เมล็ดกะเพราสามารถรับประทานแก้เสลดและบรรเทาอาการผิดปกติของระบบการขับปัสสาวะออกจากร่างกาย ส่วนรากกะเพรานำไปใช้ต้มรับประทานเพื่อขับเหงื่อที่เกิดจากการเป็นโรคไข้มาลาเรีย สำหรับในประเทศไทยนั้นใช้กะเพราเป็นยาหรือส่วนผสมของยาแก้ปวดท้อง ท้องขึ้น ขับลม แก้จุกเสียด น้ำต้มจากใบกะเพราใช้เป็นยาเจริญอาหาร ดอกกะเพราใช้ผสมน้ำผึ้งรับประทานแก้หลอดลมอักเสบ (กรุงไกร, 2519) นอกจากนี้ ชาวฟิลิปปินส์ยังใช้น้ำมันหอมระเหยเป็นเครื่องหอมใช้ผสมน้ำอาบ ใช้ทาภายนอกแก้แอมพาตและบรรเทาอาการเจ็บปวดได้อีกด้วย (Quisumbing, 1951)

กะเพราเป็นเครื่องเทศที่มีประสิทธิภาพต่อการเจริญของจุลินทรีย์ได้เช่นเดียวกับเครื่องเทศอื่นๆ สำหรับประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ต่างๆมี ดังนี้ ในกลุ่มแบคทีเรีย ได้แก่ *Nisseria gonoroeiar*, *Microbacterium tuberculosis*, *Micrococcus*, *Proteus wulkalis*, *Salmonella Bovis-morbificans*, *Micrococcus piogenes* สายพันธุ์ aureus ส่วนในกลุ่มราได้แก่ *Aspergillus sp.*, *Kluyveria sp.*, *Mucor sp.*, *Rizopus sp.* (บัญญัติ, 2518)

สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบสำคัญมีอยู่ในน้ำมันหอมระเหยของกะเพรานั้น บัญญัติ (2518) ได้ทำการทดลองสกัดน้ำมันหอมระเหยพบว่า มีน้ำมันหอมระเหย 0.35% โดยสารที่พบในน้ำมันหอมระเหยมีดังนี้

ตารางที่ 1 ปริมาณของสารที่พบในน้ำมันหอมระเหยของกะเพรา

สารที่พบในน้ำมันหอมระเหยของกะเพรา	ปริมาณ (%)
α -pinene	0.7
camphene	0.7
β -pinene	0.5
sabinene	0.1
limonene	0.2
1,8 - cineol	0.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 (ต่อ)

สารที่พบในน้ำมันหอมระเหยของกะเพรา	ปริมาณ (%)
γ -terpinene	0.1
terpinolene	เล็กน้อย
α -cubebene	0.2
p-cymene	เล็กน้อย
copaene	2.0
linalool	1.5
isocaryophyllene	0.7
β -elemene	5.1
caryophyllene	27.4
α -amorphene	0.3
methyl chavicol	9.9
borneol and α -selinene	0.3
germacrene D and γ -humulene	9.9
calamenene	เล็กน้อย
caryophyllene oxide	0.8
methyl eugenol	37.7
eugenol	เล็กน้อย
delta-cadinene and γ -cadinene	0.8
Unidentified constituents	1.0

ที่มา : บัญญัติ (2518)

นอกจากจะยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ได้แล้ว มีรายงานว่ากะเพรายังสามารถกระตุ้นการเจริญของเส้นใยและการสร้างสปอร์ของ *Asprgillus sp.* และ *Rhizopus sp.* ได้ด้วย โดยที่ถ้าความเข้มข้นต่ำๆ จะสามารถยับยั้งการเจริญได้ แต่ถ้าความเข้มข้นสูงๆ จะยับยั้งการสร้างสปอร์ได้มากกว่าการเจริญของเส้นใย (บัญญัติ, 2518)

เอกสารนี้เป็นเอกสารสิทธิ์ภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของกะเพราขึ้นอยู่กับเมทิลยูจินอล (methyl eugenol) เป็นสำคัญ โดยสารนี้จะให้ผลในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้เช่นเดียวกับ

ยูจีนอล (eugenol) นั่นเอง กล่าวคือ สารตัวนี้จะไปทำลายโปรตีนในเซลล์และทำให้เกิดการบาดเจ็บที่เซลล์เมมเบรนซึ่งเป็นผลให้สารต่างๆ ภายในเซลล์ไหลออกสู่ภายนอก และคุณสมบัติด้านออสโมติกแบรียเออร์ (osmotic barrier) ลดลง เซลล์จึงตายในที่สุด นอกจากนี้ในกะเพรายังมีสารพวกบอร์นีออล (borneol) และลินาลูล (linalool) ซึ่งจะช่วยเสริมประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ด้วย แต่เนื่องจากมีในปริมาณต่ำจึงมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้น้อยมากสำหรับกลไกในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยสารพวกนี้ยังไม่ทราบที่แน่ชัด (บัญญัติ, 2527)

2.2 แบคทีเรียแลคติก

ความหมายของแบคทีเรียแลคติกหมายถึง กลุ่มของแบคทีเรียที่สามารถผลิตกรดแลคติกและมีความสามารถในการหมักนมให้เกิดตะกอนได้ นอกจากนี้ยังรวมถึงแบคทีเรียแกรมลบกลุ่มโคลิฟอร์มด้วย ต่อมาได้พบว่าแบคทีเรียแลคติกมีเพียงแบคทีเรียแกรมบวกเท่านั้น จึงได้มีการแยกกลุ่มแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มออก จากนั้น Orla และ Jensen (1919) ได้ให้ความหมายของแบคทีเรียแลคติกว่า ต้องเป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่มีลักษณะสำคัญคือ ไม่มีการเคลื่อนที่ ไม่มีการสร้างสปอร์ มีความสามารถในการหมักคาร์โบไฮเดรตให้เป็นกรดแลคติก มีรูปร่างเป็นทรงกลม (cocci) และแท่ง (rod)

แบคทีเรียแลคติกเป็นแบคทีเรียที่มีรูปร่างแท่งยาว บางครั้งพบเป็นแท่งโค้ง ถ้าเป็นแท่งสั้นมักเป็น coryneform coccobacilli บางทีต่อกันเป็นสายโซ่ บางครั้งเคลื่อนที่ได้โดย peritrichous flagella ไม่สร้างสปอร์ สามารถย้อมติดสีแกรมบวก เป็นพวกเฟอร์เมนเททิฟแบคทีเรีย (Fermentative bacteria) ที่หมักน้ำตาลกลูโคสแล้วผลิตกรดแลคติก แต่ไม่สามารถหมักแลคเตสได้ แต่จะมีผลพลอยได้จากการหมักคือ แอซิเตต (acetate) เอทานอล (ethanol) คาร์บอนไดออกไซด์ (carbondioxide) ฟอร์เมต (formate) หรือซักซิเนต (succinate) แบคทีเรียแลคติกเป็นจุลินทรีย์ที่เจริญได้ดีที่สภาพที่มีอากาศเล็กน้อย ไม่มีการรีดิวซ์ในเตรต ไม่สลายเจลาตินและเคซีน ไม่สร้างอินโดล และไฮโดรเจนซัลไฟด์ รวมทั้งไม่สร้างเอนไซม์อะคาเลส แต่จะมีบางสายพันธุ์ที่สามารถสลายเปอร์ออกไซด์ (peroxide) ได้ด้วยเอนไซม์ซูโดอะคาเลส (pseudocatalase enzyme) และปฏิกิริยาต่อเบนซิดีน (benzidine) นั้นจะให้ผลลบ บางเชื้อสามารถสร้างรงควัตถุสีเหลือง ส้ม สนิม เหล็ก หรือแดงอิฐ เป็นพวกที่ต้องการอาหารซับซ้อนทั้งกรดอะมิโน เปปไทด์ อนุพันธ์กรดนิวคลีอิก วิตามิน กลีเซอรอล กรดไขมันหรือเอสเทอร์ของกรดไขมัน และคาร์โบไฮเดรต โดยเชื้อแต่ละสายพันธุ์

จะมีความจำเพาะต่อความต้องการอาหารที่แตกต่างกัน สามารถเจริญได้ที่ช่วงอุณหภูมิ 2-53 องศาเซลเซียส แต่เจริญเติบโตได้ดีและเหมาะสมที่อุณหภูมิ 30-40 องศาเซลเซียส พืชที่เหมาะสมต่อ

การเจริญประมาณ 5.5-6.2 แต่เชื้อสามารถเจริญได้ที่ พีเอชประมาณ 5.0 หรือต่ำกว่านี้ได้ อัตราการเจริญจะลดลงที่ภาวะเป็นกลาง หรือเป็นด่าง โมลร้อยละของ G+C ของ DNA อยู่ในช่วง 32-53 (Bd,Tm) (กิตติชัย และคณะ, 2541)

ในปัจจุบันพบว่าแบคทีเรียแลคติกสามารถจำแนกได้ 12 สกุลคือ *Carumobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Aerococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Peddiococcus*, *Weissella*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus* และ *Vagococcus* (Stiles และ Holzapfel, 1997)

1. *Lactobacillus* เชลล์มีรูปร่างเป็นแท่งหรือรูปทรงรี ไม่สร้างสปอร์ เป็นแบคทีเรียกลุ่มใหญ่ที่สุด มีองค์ประกอบคือ เปอร์เซ็นต์โมล G + C ในดีเอ็นเอเท่ากับ 33-35% ต้องการสารอาหารที่ซับซ้อนในการเจริญ พบในแหล่งต่างๆ เช่น เยื่อเมือกของมนุษย์และสัตว์ พืช น้ำเสีย และอาหารเน่าเสีย เป็นต้น แล้วยังพบว่าบางสปีชีส์เป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อในมนุษย์ (Stiles และ Holzapfel, 1997) สกุล *Lactobacillus* ประกอบด้วย 55 สปีชีส์ ซึ่งจัดแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม (Wood และ Holzapfel, 1995) คือ

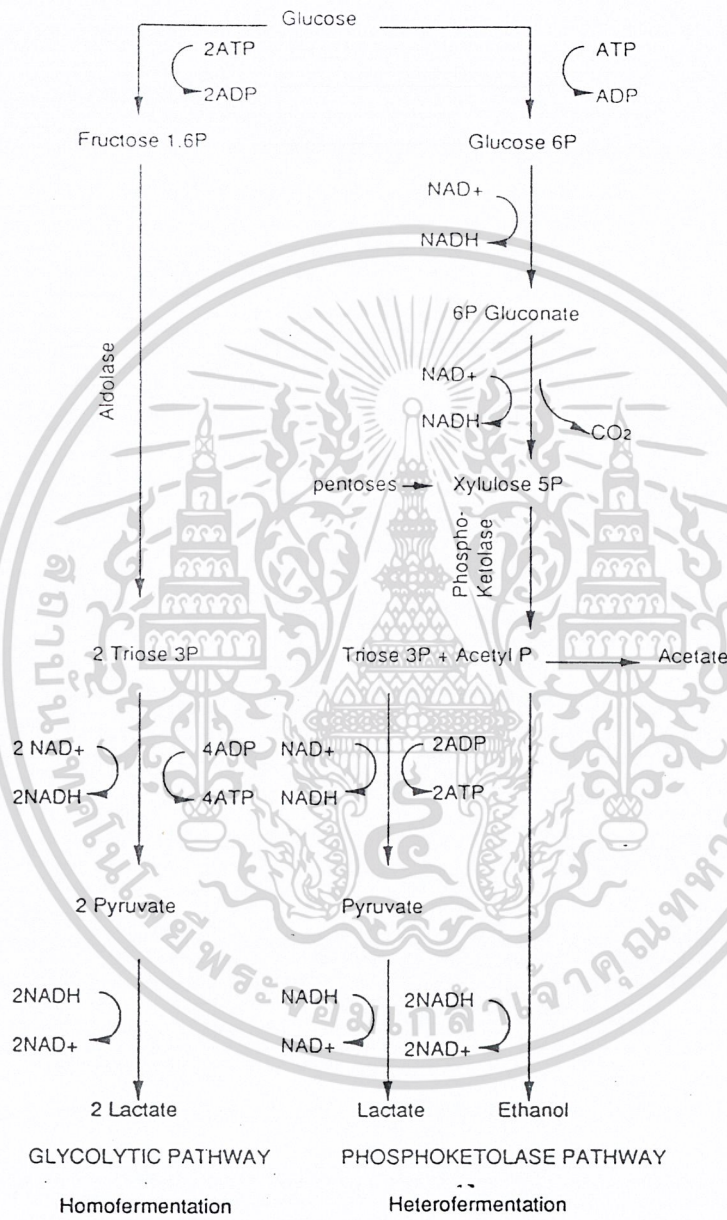
- กลุ่ม *Oligately homofermentative lactobacilli* หมักน้ำตาลเฮกโซส (มากกว่า 85%) เป็นกรดแลคติกโดยวิธี Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) ดังภาพที่ 1 จุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์ Fructose-1,6-bisphosphate-aldolase แต่ไม่ผลิตเอนไซม์ phosphoketolase ดังนั้นจึงสามารถหมักน้ำตาลเพนโทสและกลูโคเนตได้ แบคทีเรียแลคติกในกลุ่มนี้ประกอบด้วย 17 สปีชีส์

- กลุ่ม *Facultatively heterofermentative lactobacilli* หมักน้ำตาลเฮกโซสเป็นกรดแลคติกโดยวิธี EMP จุลินทรีย์สามารถผลิตเอนไซม์ aldolase และ phosphoketolase ดังนั้นจึงสามารถหมักน้ำตาลเฮกโซสและเพนโทส (โดยทั่วไปจะเป็นกลูโคเนต) ประกอบด้วย 18 สปีชีส์

- กลุ่ม *Oligately heterofermentative lactobacilli* หมักน้ำตาลเฮกโซสและเพนโทสผ่านวิถีฟอสโฟกลูโคเนตเป็นแลคเตท เอธานอล (กรดแอซิดิก) และคาร์บอนไดออกไซด์ แบคทีเรียแลคติกในกลุ่มนี้ประกอบด้วย 19 สปีชีส์

2. *Streptococcus* เชลล์มีรูปร่างกลมหรือรูปไข่ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.8-1.2 ไมครอน มีการจัดเรียงตัวเป็นคู่หรือเป็นสายโซ่ โดยการเกิดเป็นสายโซ่จะเกิดได้ดีที่สุดในสภาวะที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว และความยาวของสายโซ่ก็จะเริ่มจากเพียงไม่กี่เชลล์จนมากกว่า 50 เชลล์ เป็นแบคทีเรียพวก homofermentative ดังนั้นจึงมีการผลิตกรดแลคติกชนิด L(+) เป็นผลิตภัณฑ์หลัก เท่านั้นจากการหมักกลูโคส เจริญที่อุณหภูมิ 20-42 องศาเซลเซียส ปัจจุบันประกอบด้วย 39 สปีชีส์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 1 กระบวนการเมทาบอลิซึมน้ำตาลของเชื้อแบคทีเรียแลคติก
 เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ที่มา : กิตติชัย และคณะ (2541)
 ไม่วารณณ์ใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. *Vagococcus* เป็นแบคทีเรียแลคติกที่สามารถเคลื่อนที่ได้ประกอบด้วย 2 สปีชีส์คือ *Vagococcus fluvialis* แยกได้จากอุจจาระของไก่และน้ำในแม่น้ำ และ *Vagococcus salmoninarum* ซึ่งแยกได้จากปลาแซลมอลที่เป็นโรค

4. *Lactococcus* เซลล์มีรูปร่างกลมหรือรูปไข่ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5-1 ไมครอน มีการจัดเรียงตัวเป็นเชลล์เดี่ยว คู่ หรือต่อกันเป็นสายโซ่ ผลิตรกรดแลคติกชนิด L (+) จากการหมักกลูโคส ใช้เป็นก้ำเชื้อในผลิตภัณฑ์นม สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส แต่ไม่เจริญที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ปัจจุบันประกอบด้วย 5 สปีชีส์ ได้แก่ *Lactococcus garviae*, *Lactococcus lactis*, *Lactococcus plantarum*, *Lactobacillus raffinolactis* และ *Lactococcus piscium*

5. *Enterococcus* เซลล์มีรูปร่างไข่ จัดเรียงตัวเป็นเชลล์เดี่ยว คู่ หรือเป็นสายโซ่สั้นๆ ผลิตรกรดแลคติกชนิด L(+) เป็นผลิตภัณฑ์หลักจากการหมักกลูโคส ต้องการสารอาหารที่ซับซ้อนสำหรับการเจริญ สามารถเจริญที่อุณหภูมิ 10 และ 45 องศาเซลเซียส สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ 6.5% และที่พีเอชเท่ากับ 9.6 บางสายพันธุ์สามารถผลิตคะตะเลสเทียมได้

6. *Tetranococcus* เซลล์มีรูปร่างกลม มีการจัดจำแนกใหม่แยกจากสกุล *Pediococcus* เนื่องจากมีความสามารถในการเจริญในอาหาร ซึ่งประกอบด้วยเกลือโซเดียมคลอไรด์สูงถึง 18 %

7. *Pediococcus* เซลล์มีรูปร่างกลม มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.36-1.43 ไมครอน มีการแบ่งตัวในลักษณะ 2 ทิศทางบนระนาบเดียวกัน ทำให้เกิดการเรียงตัวเป็นคู่หรือสี่เซลล์ติดกัน ทุกสปีชีส์ผลิตรกรดแลคติกชนิด DL ยกเว้นสปีชีส์ *P. dextrinicus* ที่ผลิตรกรดแลคติกชนิด L(+) จากการหมักน้ำตาลกลูโคส ปัจจุบันมี 6 สปีชีส์ ได้แก่ *P. acidilactici*, *P. dextrinicus*, *P. inopinatus*, *P. parvulus* และ *P. pentosaceus*

8. *Aerococcus* เซลล์มีรูปร่างกลม มีลักษณะการแบ่งตัวเหมือน *Pediococcus* ประกอบด้วย 2 สปีชีส์ คือ *Aerococcus urinae* และ *A. viridans* ซึ่งเดิมเป็นสปีชีส์ในสกุล *Pediococcus* คือ *P. homari* และ *P. urinaeequi*

9. *Leuconostoc* ลักษณะของเซลล์ขึ้นกับอาหารเลี้ยงเชื้อ ในอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส เซลล์มีลักษณะยัดออกคล้ายกลุ่ม *Lactobacillus* แต่เมื่อเจริญในน้ำนมพบว่าเซลล์มีรูปร่างกลม การจัดเรียงตัวเป็นเชลล์เดี่ยว อยู่เป็นคู่หรือเป็นสายโซ่สั้นถึงปานกลาง ผลิตรกรดแลคติกชนิด D(-) เอทานอล คาร์บอนไดออกไซด์ และสารหอมระเหยจากการหมักด้วยกลูโคส จึงช่วยสร้างกลิ่นรสในอาหารหมักดอง

10. *Oenococcus* ประกอบด้วยสปีชีส์ *Oenococcus oeni* ซึ่งเปลี่ยนมาจาก *Leuconostoc oenos* ด้วยคุณสมบัติการทนต่อกรดและเอทานอลปริมาณสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

11. *Weissella* ประกอบด้วยแบคทีเรีย 7 สปีชีส์ ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับ *Leuconostoc* รูปร่างเซลล์เป็นแท่งและกลม เดิมสกุลนี้อยู่ในสกุลของ *Leuconostoc* และ *Lactobacillus*

12. *Carnobacterium* เซลล์เป็นรูปร่างท่อนตรง ขนาดสั้นถึงปานกลาง หรือเป็นท่อนเรียวยาว มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5-0.7 ไมครอน และยาว 1.1-3.0 ไมครอน จัดเรียงตัวเป็นเซลล์เดี่ยวหรือเซลล์คู่ มักไม่พบการเรียงตัวเป็นสายโซ่ ผลิตรกรดแลคติกชนิด L(+) คาร์บอนไดออกไซด์ แอซีเตท และเอทานอลจากการหมักน้ำตาลเฮกโซส (รดีกร, 2543)

นอกจากนี้แบคทีเรียแลคติกยังสามารถแบ่งได้เป็นกลุ่มใหญ่ๆ 2 กลุ่มด้วยกัน (กิตติชัย และคณะ, 2541) คือ

1. กลุ่ม Homofermentative ซึ่งเป็นพวกที่หมักน้ำตาลกลูโคสได้กรดแลคติกเป็นส่วนใหญ่ โดยทั่วไปร้อยละ 85 หรือมากกว่า และผลพลอยได้อื่นๆ ซึ่งพวกนี้จะหมักน้ำตาลกลูโคส 1 โมล เกิดเป็นกรดแลคติก 1.8 โมล และได้กรดแอซิติค เอทานอล และคาร์บอนไดออกไซด์เล็กน้อย ได้แก่ *L. delbrueckii*, *L. leichmanii*, *L. jensenii*, *L. lactis*, *L. bulgaricus*, *L. helveticus*, *L. acidophilus*, *L. salivarius*, *L. casei*, *L. xylosum*, *L. plantarum*, *L. curvatus*, *L. coryniformis*, *L. homohiochii*

2. กลุ่ม Heterofermentative ซึ่งเป็นพวกที่หมักน้ำตาลกลูโคสให้กรดแลคติกประมาณร้อยละ 50 นอกจากนั้นให้คาร์บอนไดออกไซด์ประมาณ 20-25 % กรดแอซิติกรวมทั้งเอทานอล 20-25 % (อรนุช, 2530)

2.3 แบคทีเรียแลคติกในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก

แบคทีเรียแลคติกเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในการผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก ในการผลิตกรดและกลิ่นรสให้อาหาร รวมทั้งมีบทบาทในผลิตภัณฑ์นมหมักหลายชนิด ทั้งนี้เพื่อยืดอายุการเก็บนมสดให้นานขึ้น โดยการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์นมหมักและเพื่อปรับปรุงคุณภาพของผลิตภัณฑ์นมให้ดีขึ้น (อดิศร, 2533) นอกจากนี้ยังใช้แบคทีเรียแลคติกเป็นอาหารเสริมสำหรับสัตว์เลี้ยง เช่น สุกร แทนยาปฏิชีวนะ (วิลาวณิชย์, 2524) เนื่องจากแบคทีเรียแลคติกช่วยทำให้เกิดความสมดุลของจุลินทรีย์ normal flora ในลำไส้ จึงนำมาบำบัดรักษาโรคเกี่ยวกับระบบทางเดินอาหารที่เกิดจากการติดเชื้อต่างๆ เช่น *E. coli*, *Salmonella* sp. เป็นต้น ดังนั้นอาหารเสริมสัตว์เลี้ยงและผลิตภัณฑ์นมหมักต่างๆ เช่น โยเกิร์ต จึงจัดว่าเป็นพวกโพรไบโอติก (probiotic) คือมีจุลินทรีย์หรือสารต่างๆ ที่ช่วยให้เกิดความสมดุลของ normal flora ในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์ต่างๆ (Fuller, 1986) มีผู้ตั้งข้อสังเกตว่าผลิตภัณฑ์นมและเนื้อจะมีความคล้ายคลึงกันในด้านของคุณค่าทางอาหาร

และการเน่าเสียอันเกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งส่วนมากเป็นจุลินทรีย์ในกลุ่ม *Pseudomonas* และ

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Acromobacter ดังนั้นการใช้แบคทีเรียแลคติกในการปรับปรุงคุณภาพเนื้อและยืดอายุการเก็บเนื้อให้ได้นานขึ้น น่าจะสามารถทำได้เช่นเดียวกันกับในผลิตภัณฑ์นม จึงมีการศึกษาผลของการใช้เชื้อแบคทีเรีย แลคติกในผลิตภัณฑ์นมและเนื้อเพื่อยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์อื่นๆ รวมทั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้ ผลิตภัณฑ์นมและเนื้อเน่าเสีย ซึ่งรวมถึงจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคด้วย สารที่แบคทีเรียแลคติกผลิตออกมาเพื่อยับยั้งจุลินทรีย์กลุ่มอื่นๆ ได้แก่ สารปฏิชีวนะ เช่น ไนซิน (nisin) และไดโพลคอกซิน(diplococcin) ซึ่งผลิตโดยแบคทีเรียแลคติกสกุล *Streptococcus*, ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์, สารที่ไม่ทนความร้อนอื่นๆ , กรดแลคติกและกรดระเหยบางชนิด ซึ่งมีผู้รายงานว่ากรดระเหยหรือระดับพีเอชเพียงอย่างเดียวอย่างหนึ่งไม่สามารถทำให้เกิดการยับยั้งการเจริญของเชื้ออื่นๆ ได้ เมื่อระดับพีเอชสูงขึ้นจาก 4.0-5.5 จนเป็นกลาง จะทำให้คุณสมบัติการยับยั้งการเจริญหมดไปเช่นกัน สารประเภทโปรตีน ซึ่งทนอุณหภูมิสูงได้ดี พบว่ามีสารที่ทนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที สารที่ทนอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และสารที่ทนอุณหภูมิ 121-125 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20-60 นาที ซึ่งเมื่อผ่านความร้อนดังกล่าวแล้วสารพวกนี้ยังคงคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์อื่นๆ ได้ (อรนุช, 2530)

สหรัฐอเมริกาเป็นประเทศแรกที่ใช้เชื้อแบคทีเรียในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตเนื้อ ในปีค.ศ. 1955 Niven และคณะ ได้แนะนำการใช้ *Pediococcus cerevisiae* เป็นก้ำเชื้อแบคทีเรียแลคติกในการหมักผลิตภัณฑ์เนื้อที่ผลิตกันมากในสหรัฐอเมริกาคือไส้กรอก ต่อมาในปีค.ศ. 1958 American Meat Institute Foundation ของสหรัฐอเมริกาได้ยอมรับและอนุญาตให้ใช้ก้ำเชื้อ *Pediococcus cerevisiae* ในการหมักไส้กรอก และมีการใช้เชื้อนี้ในโรงงานผลิตเนื้ออย่างกว้างขวางมากขึ้น โดยเรียกว่า “meat starter culture” ซึ่ง Smith และ Palumbo (1981) ได้ให้คำจำกัดความว่าเป็นจุลินทรีย์ที่ยังมีชีวิตซึ่งนำไปใส่ในเนื้อเพื่อปรับปรุงคุณภาพการหมักให้ดีขึ้น และทำให้อาหารหมักที่ได้มีความปลอดภัยต่อการบริโภค Gilliland (1985) ได้รวบรวมคุณสมบัติของก้ำเชื้อที่ดี และรายงานไว้ว่า ควรเป็นเชื้อที่เจริญในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 26.7-43 องศาเซลเซียส มีความสามารถทนเกลือไนไตรท์เข้มข้น 80-100 ppm และเจริญได้ดีในที่ที่มีเกลือแกง 6 % ต้องไม่เป็นเชื้อโรคหรือเป็นเชื้อที่ไม่สร้างสารพิษใดๆ เป็นเชื้อที่ไม่สร้างกลิ่นเน่าเหม็นให้แก่ผลิตภัณฑ์อาหารหมัก ไม่สร้างเอนไซม์ที่ย่อยโปรตีนและไขมัน ในกรณีที่เป็นแบคทีเรียแลคติกจะต้องเป็นเชื้อชนิด homofermentative ซึ่งจะผลิตกรดแลคติกเป็นส่วนใหญ่จากการใช้น้ำตาลกลูโคส เนื่องจากแบคทีเรียแลคติกกลุ่ม heterofermentative สามารถใช้น้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลที่มีคาร์บอน 6 อะตอมแล้วผลิตสารอื่นๆ รวมทั้งคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งแก๊สดังกล่าวจะไปทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารหมักเกิดการระเบิดและมีกลิ่นรสเปลี่ยนไปจากเดิม จุดประสงค์สำคัญ 2 ประการในการใช้ก้ำเชื้อ

แบคทีเรียแลคติกในอาหารประเภทเนื้อคือ เพื่อลดระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก และเพื่อยืดอายุการไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เก็บของผลิตภัณฑ์เนื้อสดในอุณหภูมิตู้เย็น (Raccach และ Baker, 1978) ประโยชน์อื่นๆ ของการใช้เกลือประเภทนี้คือ ทำให้อาหารหมักที่ได้ปลอดภัยจากสารพิษต่างๆ เช่น ฮีสตามีน (histamine) ไนโตรซามีน (nitrosamine) และ โบทูลินัม (botulinum) เป็นต้น

Hugas และคณะ (1993) ทำการแยกเชื้อแบคทีเรียแลคติกจากไส้กรอกหมักแบบแห้งของสเปนจากผู้ผลิต 15 ราย ได้ทั้งหมด 254 สายพันธุ์ พบเชื้อ *L. Sake* 55%, *L. curvatus* 26%, *L. bavaricus* 11% และ *L. plantarum* 8% พบว่าเชื้อ *L. Sake* และ *L. curvatus* เป็นเชื้อที่เด่นที่พบในไส้กรอกซาลามีของกรีก Hammes และคณะ (1990) กล่าวว่าเชื้อทั้งสองชนิดนี้เหมาะสำหรับใช้เป็นเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นในการผลิตไส้กรอกหมักแบบแห้ง เพราะมีความสามารถในการแข่งขันสูงระหว่างการหมัก โดย *L. Sake* นั้นสามารถสร้างสารแบคทีเรียโอซิน (Schillinger และ Lucke, 1989) ซึ่งสารนี้มีประสิทธิภาพในการป้องกันการเสื่อมเสียในผลิตภัณฑ์เนื้อได้ (Stiles และ Hasting, 1991) ต่อมา Garriga และคณะ (1996) ได้ทำการผลิตไส้กรอกหมักโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นได้แก่ *L. Sake* 5 สายพันธุ์, *L. curvatus* 4 สายพันธุ์, *L. bavaricus* 2 สายพันธุ์ และ *L. plantarum* 1 สายพันธุ์ พบว่า *L. curvatus* CTC435T ทำให้ไส้กรอกมีค่าพีเอชต่ำที่สุด ส่วน *L. plantarum* CTC305 สร้าง D-lactic acid สูงที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับการทดสอบทางประสาทสัมผัสที่พบว่าไม่มีกลิ่นกรดแรงที่สุด และจากการเปรียบเทียบระหว่างสายพันธุ์ของเชื้อ *L. curvatus* พบว่า *L. curvatus* CTC371 จะให้กลิ่นหมักและกลิ่นโดยรวมที่ดี และไม่มีการผลิตกรด

Gilliland (1985) ได้รายงานว่ แบคทีเรียแลคติกจะช่วยป้องกันการสะสมของฮีสตามีน (histamine) ในอาหารหมัก ซึ่งแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษจะเป็นตัวการผลิตสารนี้ โดยเกิดจากการดีคาร์บอกซิเลท (decarboxylate) ของสารฮีสติดีน (histidine) ซึ่งมักพบฮีสตามีน (histamine) ในอาหารหมักต่างๆ เช่น เนยแข็ง ไวน์ และกะหล่ำปลีหมัก เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีการศึกษาพบว่า อาหารที่หมักโดยใช้เกลือแบคทีเรียแลคติกจะปลอดภัยต่อการบริโภคอันเนื่องมาจากสารพิษ เช่น ไนโตรซามีน เนื่องจากแบคทีเรียแลคติกที่มีปริมาณมากจะผลิตกรดอย่างรวดเร็วเป็นผลให้ระดับพีเอชของอาหารลดลงอย่างรวดเร็วเช่นกัน ซึ่งจะไปเร่งให้กากไนไตรท์ (residual nitrite) ที่ได้จากการใส่ดินประสีในอาหารหมักถูกสลายเป็นไนตรัสออกไซด์ จึงทำให้การสะสมของกากไนไตรท์ลดลง ซึ่งเป็นเหตุให้การสะสมไนโตรซามีนลดลงเช่นกัน

นอกจากนี้จากการศึกษาของ Tanaka และคณะ (1980) พบว่า *L. plantarum* สามารถยับยั้งการเจริญของ *C. botulinum* ในเบคอนที่ใส่น้ำตาลซูโครสมากกว่า 0.5% จึงทำให้สามารถลดปริมาณทอกซินของ *C. botulinum* ในเบคอนได้ และการศึกษาของ Burrowes และคณะ (1986) พบว่าในไส้กรอกที่หมักด้วย *L. plantarum* เพียงชนิดเดียวจะตรวจพบแอซีทอลดีไฮด์ (acetaldehyde) ใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขณะที่เมื่อหมักไส้กรอกโดยใช้เชื้อผสมระหว่าง *L. plantarum* กับ *Leuconostoc* ในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 จะตรวจพบเอทานอล

ในระยะเวลาที่ผ่านมาได้มีรายงานถึงการใช้แบคทีเรียแลคติกในผลิตภัณฑ์เนื้อชนิดต่างๆ เป็นจำนวนมาก (ตารางที่ 2) และรายงานการศึกษาถึงผลของการใช้เชื้อแบคทีเรียแลคติกในผลิตภัณฑ์เนื้อ ซึ่งส่วนมากจะศึกษาในด้านการปรับปรุงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ให้มีรูปลักษณะที่ดี มีกลิ่นรสและคุณภาพสม่ำเสมอ การลดระยะเวลาในการผลิต การยับยั้งหรือทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้ผลิตภัณฑ์เนื้อนั้นเสีย รวมถึงการยับยั้งและทำลายแบคทีเรียที่เป็นเหตุของโรคอาหารเป็นพิษ (อติสร, 2533)

Dubois และคณะ (1979) ได้ศึกษาผลของการใช้เชื้อแบคทีเรียแลคติกในกลุ่มของ *Pediococcus* sp. , *Leuconostoc* sp. , *Lactobacillus* sp. และ *Streptococcus* sp. ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 103 ชนิดที่จำแนกได้จากเนื้อโคซ่าทะเล พบว่าแบคทีเรียที่ถูกยับยั้งโดยเชื้อแบคทีเรียแลคติกส่วนมากจะเป็นกลุ่มแบคทีเรียแกรมลบ ส่วนกลุ่มแบคทีเรียแลคติกที่ให้ผลในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ ได้ดีได้แก่ กลุ่มของเชื้อ *Streptococcus* sp. โดยเฉพาะ *S. lactis* จะให้ผลในการยับยั้งเชื้อต่างๆ ได้ดีที่สุด

ในปี ค.ศ. 1980 Bartholomew และ Blumer ได้ศึกษาผลของ *L. plantarum* และ *P. cerevisiae* ในการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus epidermidis* ที่แยกได้จากแฮม พบว่าการเติมเชื้อ *S. epidermidis* ลงในแฮมที่มีกล้าเชื้อ *L. plantarum* จะให้ปริมาณกรดแลคติกที่สูงกว่าและยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. epidermidis* ได้ดีกว่าแฮมที่เติมกล้าเชื้อ *P. cerevisiae* จึงสรุปว่ากรดที่แบคทีเรียแลคติกทั้งสองชนิดผลิตขึ้น มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. epidermidis* Goepfert และ Chung (1970) ได้ศึกษาถึงผลของการใช้กล้าเชื้อ *P. cerevisiae* หรือ *Lactobacillus* sp. ในการหมักไส้กรอกพบว่า กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่ใช้สามารถลดค่าพีเอชของไส้กรอกอย่างรวดเร็ว ค่าพีเอชที่ต่ำและปริมาณเกลือที่เติมลงในไส้กรอกขณะหมักเป็นองค์ประกอบที่สำคัญในการยับยั้งหรือทำลาย *S. Typhimurium* ที่เติมลงในไส้กรอกก่อนทำการหมัก เช่นเดียวกับการทดลองของ Smith และคณะ (1975) ซึ่งใช้ *P. cerevisiae* ผสมกับ *L. plantarum* ในการหมักไส้กรอก Lebanon bologna สามารถทำลายเชื้อ *S. Dublin* หรือ *S. Typhimurium* ได้หมดหลังจากที่หมักไส้กรอกด้วยแบคทีเรียแลคติกผสมดังกล่าวได้ 4 วัน

ตารางที่ 2 ผลิตภัณฑ์เนื้อสด และผลิตภัณฑ์เนื้อหมักซึ่งใส่กลูต้าเชื้อแบคทีเรีย

จุลินทรีย์	ผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก
<i>Pediococcus cerevisiae</i>	<ul style="list-style-type: none"> A. Semi-dry fermented sausages <ul style="list-style-type: none"> a. summer sausage b. cervelat c. thuringer d. pork roll e. summer-style turkey sausage B. Dry fermented sausages <ul style="list-style-type: none"> a. dry sausage b. dry turkey sausage c. salami d. pepperoni e. hot bar sausage C. Processed <ul style="list-style-type: none"> a. country-style ham b. pepperoni c. Genoa
<i>Lactobacillus brevis</i>	<ul style="list-style-type: none"> A. Fresh meat <ul style="list-style-type: none"> a. minced meat
<i>Lactobacillus plantarum</i>	<ul style="list-style-type: none"> A. Semi-dry fermented sausage <ul style="list-style-type: none"> a. summer sausage B. Dry-fermented sausages <ul style="list-style-type: none"> a. salami b. European-type dry sausage C. Processed meat <ul style="list-style-type: none"> a. bacon b. country-style ham

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไมอนุญาตให้นำไปเผยแพร่บนสื่อออนไลน์
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 (ต่อ)

จุลินทรีย์	ผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก
Mixture of <i>P. cerevisiae</i> and <i>L. plantarum</i>	A. Semi-dry fermented sausage <ul style="list-style-type: none"> a. Lebanon bologna b. summer sausage c. cervelat B. Dry fermented sausages <ul style="list-style-type: none"> a. pepperoni b. dry turkey sausage C. Processed meat <ul style="list-style-type: none"> a. cooked , mechanically deboned poultry meat D. Fresh meat <ul style="list-style-type: none"> a. mechaically deboned poultry meat b. ground poultry breast meat

ที่มา : Smith และ Palumbo (1981)

ในปีเดียวกัน Smith และคณะ (1975) ได้รายงานถึงผลของ *P. cerevisiae* และ *L. plantarum* ต่อ *S. Typhimurium* ในการหมัก pepperoni โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 แบบคือ 1) หมักโดยใช้แบคทีเรียแลคติกผสม *P. cerevisiae* และ *L. plantarum* 2) หมักด้วยเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่มีอยู่ในธรรมชาติในเนื้อหมู และ 3) ใส่กรอกที่ไม่มีหมัก โดยเติมเชื้อ *S. Typhimurium* ลงในใส่กรอกให้มีเชื้อเริ่มต้นก่อนทำการทดลอง 10^4 เซลล์ต่อกรัม พบว่าใส่กรอกที่มีการเติมแบคทีเรียแลคติกผสมสามารถทำลายเชื้อ *S. Typhimurium* ให้ลดลงอย่างช้าๆ ในระหว่างการหมัก เมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักซึ่งเป็นช่วงเวลาที่ทำให้ผลิตภัณฑ์อยู่ในรูปแห้ง ไม่สามารถตรวจพบเชื้อ *S. Typhimurium* ในใส่กรอกที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรียแลคติกผสม ส่วนใส่กรอกที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่มีอยู่ตามธรรมชาติในเนื้อหมูและใส่กรอกที่ไม่ผ่านการหมักนั้น สามารถตรวจพบเชื้อ *S. Typhimurium* อยู่เมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมัก โดยที่ค่าพีเอชสุดท้ายของใส่กรอกทั้ง 3 แบบคือ 4.6 5.0 และ 5.7 ตามลำดับ นอกจากนี้ Masters และคณะ (1981) ได้รายงานว่า การใช้ *L. plantarum* ปริมาณเริ่มต้น 10^6 เซลล์ต่อกรัมใน summer sausage พบปัจจัยที่มีผลต่อการลดลงของ

เชื้อ *Salmonella* คือจำนวนเชื้อ *Salmonella* เริ่มต้น ซีโรไทป์ของ *Salmonella* ที่ปนเปื้อน อัตราเร็วของการหมัก และอุณหภูมิระหว่างการผลิต

2.4 แบคทีเรียแลคติกในการหมักแฮม

แฮมหรือหมูสามชั้น เป็นอาหารหมักพื้นบ้านประเภทเนื้อชนิดหนึ่งของไทย ซึ่งนิยมรับประทานกันแทบทุกภาคของประเทศไทย แหล่งผลิตแฮมส่วนใหญ่อยู่ในภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ส่วนประกอบเครื่องปรุงที่ใช้ในการหมักแฮมจะแตกต่างกันไปตามแหล่งผลิตแต่ละแหล่ง โดยทั่วไปแล้วจะประกอบด้วยหมูเนื้อแดงสับละเอียด ข้าวเหนียวหรือข้าวเจ้าสุก กะลือป่น ดินประสิว พริกขี้หนู ผงชูรส หนังกหมู เครื่องเทศ และเครื่องปรุงรสต่างๆ ส่วนในกรรมวิธีการหมักนั้นจะมีลักษณะคล้ายคลึงกัน นิยมทิ้งไว้ 3-5 วัน และมักนำมาบริโภคโดยไม่ผ่านการทำให้สุก โดยทั่วไปเครื่องเทศที่เติมลงในแฮมมีวัตถุประสงค์อยู่ 2 ประการคือ ประการแรกช่วยให้ผลิตภัณฑ์มีกลิ่นดีขึ้น และประการที่สองเป็นการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์บางชนิด มักนิยมใช้พริกไทยและกระเทียม โดยในกระเทียมมีสาร mustard oil, cinnamic aldehyde และ allicin (allylthiosulfenic allyl ester) และพริกไทยมีสาร piperine และ piperidine สารเคมีเหล่านี้สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ และพบว่าการใช้กระเทียมในแฮมให้ผลิตภัณฑ์ที่มีปริมาณกรดสูงกว่าแฮมที่ไม่ใช้กระเทียม (ณรงค์ และ ทศนีย์, 2527) แต่อย่างไรก็ตาม Price และ Schweigert (1971) กล่าวว่า การใช้กระเทียมเพียง 5 % และพริกไทยเพียง 0.2 % ไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์มากนัก อรณูช (2530) และ สมบุญ (2518) ได้ทดลองหมักแฮมโดยใช้เกลือ 2, 3, 4 และ 5 % พบว่าแฮมที่ใช้เกลือ 3 % มีผู้นิยมบริโภคมากที่สุด เนื่องจากให้กลิ่นรสที่ดี และมีทั้งรสเปรี้ยวและรสเค็มเหมาะสม จุลินทรีย์ที่พบในซั้วโมงแรกๆ มักเป็นจุลินทรีย์ที่ติดมากับเนื้อหมูซึ่งได้แก่แบคทีเรียที่มีรูปร่างเป็นแท่งและรูปร่างกลม แกรมบวกและแกรมลบ ซึ่งพบทั้งพวกที่สามารถสร้างกรดได้ และพวกที่ทำให้เกิดการเน่าเสียได้

ในการผลิตแฮมตามปกติ การคัดเลือกจุลินทรีย์จากธรรมชาติขึ้นกับความเข้มข้นของเกลือและการบรรจุในสภาพที่ปราศจากอากาศ โดยเฉพาะจุลินทรีย์ประเภทแบคทีเรียแลคติกที่เป็นแกรมบวก (จรูญ, 2509 และ สมบุญ, 2518) ซึ่งการผลิตแฮมในประเทศไทยส่วนใหญ่ยังคงอาศัยแบคทีเรียแลคติกที่มีอยู่ในวัตถุดิบตามธรรมชาติ เช่น เนื้อหมู หนังกหมู เครื่องเทศ เครื่องมือ และสภาพแวดล้อมของกระบวนการผลิต ทำให้ไม่สามารถควบคุมชนิดและปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการหมักที่มีคุณภาพดีได้ จึงมักประสบปัญหาต่างๆ ในการผลิต เช่น แฮมที่ผลิตแต่ละครั้งมีคุณภาพไม่สม่ำเสมอ คุณภาพและกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์มีความผันแปร ไม่สามารถควบคุม

เอกสารอ้างอิง: เอกสารฉบับนี้จัดทำขึ้นเพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นเท่านั้น ไม่สามารถนำข้อมูลไปใช้โดยไม่ผ่านการอนุมัติจากเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เวลาที่ใช้ในการผลิตให้สม่ำเสมอ รวมทั้งคุณภาพและกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ก็มีความผันแปรไม่สามารถควบคุมเวลาที่ใช้ในการผลิตให้สม่ำเสมอได้ และมีการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโทษค่อนข้างสูง ทั้งนี้เนื่องมาจากการผลิตยังไม่มีกระบวนการควบคุมที่ดีพอ รวมทั้งสุขลักษณะของการผลิตยังไม่ดีเท่าที่ควร (เปรมศิริ, 2545)

จากการศึกษาของสมบุญ (2518) พบว่า แบคทีเรียแลคติกมีบทบาทในการหมักแหมม ซึ่งได้แก่ แบคทีเรียสกุล *Pediococcus* และ *Lactobacillus* พบว่าในระยะ 4 วันแรกของการหมัก แหมม จะมีเปอร์เซ็นต์กรดเพิ่มสูงขึ้นซึ่งสัมพันธ์กับการลดลงของพีเอช หลังจากระยะดังกล่าวค่าพีเอชจะคงที่โดยที่ยังมีการสร้างกรดเพิ่มขึ้น ซึ่งการเพิ่มปริมาณกรดนี้นอกจากจะสัมพันธ์กับค่าพีเอชแล้วยังมีความสัมพันธ์กับจำนวนและชนิดจุลินทรีย์ต่างๆ ในระหว่างการหมักด้วย กล่าวคือ หลังจากหมักได้ประมาณ 24 ชั่วโมง จุลินทรีย์ที่พบในระยะแรกบางชนิดจะเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะพวกที่สามารถสร้างกรดได้ดีและเจริญได้ในที่มีออกาสน้อย ได้แก่ พวก heterofermentative lactobacilli โดยจะเจริญไปพร้อมๆ กับ พวก homofermentative cocci ซึ่งจากการจำแนกพบว่า ได้แก่ *P. cerevisiae* และ *Pediococcus* sp. การเจริญของ *Pediococcus* sp. จะเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วในระยะ 3 วันแรก หลังจาก 72 ชั่วโมงไปแล้วจะพบ homofermentative lactobacilli คือ *L. plantarum* เจริญและสร้างกรด ในขณะที่ยังเหลือ *Pediococcus* sp. และ heterofermentative lactobacilli อยู่เล็กน้อย จากการศึกษาพบว่าในแหมมวันที่สามารถรับประทานได้คือวันที่ 4 มีค่าพีเอชต่ำกว่า 4.5 และกรดแลคติกสูงกว่า 0.5% ซึ่งค่าพีเอชที่ต่ำและเปอร์เซ็นต์กรดที่สูงจะทำให้จุลินทรีย์บางชนิด รวมทั้งแบคทีเรียโคลิฟอร์มและซาลโมเนลลา (*Salmonella* sp.) ไม่สามารถเจริญได้ (สมบุญ, 2518; สุขใจ, 2525) ในขณะที่ *L. plantarum* เจริญและสร้างกรดนั้น ตรวจพบ *L. brevis* ซึ่งเป็น heterofermentative rod เจริญไปพร้อมๆ กัน แต่พบในปริมาณที่น้อยกว่า *L. plantarum*

Tanasupawat และ Daengsubha (1983) ได้แยกเชื้อแกรมบวกที่มีลักษณะเป็นทรงกลมจากแหมมและจำแนกชนิดโดยอาศัยสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ พบชื่อ *Pediococcus acidilactici* และ *Pediococcus pentosaceus* ต่อมาได้แยกเชื้อแกรมบวกรูปแท่งจากแหมม และจำแนกชนิดชนิดได้เป็น *Lactobacillus pentosus* และ *Lactobacillus plantarum* เมื่อเปรียบเทียบการเจริญ พบว่า *Lactobacillus* sp. เจริญได้ในพีเอช 3.5 ในขณะที่ *Pediococcus* sp. เจริญได้ในพีเอชที่สูงกว่าคือ 4.5 แสดงว่า *Lactobacillus* sp. ทนกรดมากกว่า ดังนั้นจึงสามารถตรวจพบในแหมมที่ผ่านการหมักแล้วหลายวัน (เรณู, 2539) H-kittikun และคณะ (1988) ได้เริ่มนำเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นมาเป็นหัวเชื้อในการผลิตแหมม โดยใช้เชื้อแบคทีเรียแลคติกสายพันธุ์เดี่ยว 2 สายพันธุ์ของ *L. plantarum* ที่แยกได้จากแหมมที่จำหน่ายในตลาดจังหวัดเชียงใหม่ ถึงแม้ว่าการเติมหัวเชื้อบริสุทธิ์จะมีผลในการยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเจริญของ *E. coli* และ *Salmonella* sp. แต่ไม่พบความแตกต่างในการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส เมื่อเปรียบเทียบกับแฮมที่หมักโดยใช้วิธีธรรมชาติ

ในการหมักแฮมที่ทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้องมากกว่า 1 สัปดาห์ จะมีความเปรี้ยวเพิ่มขึ้นมาก และเนื้อสัมผัสของแฮมจะเปลี่ยนไปโดยมีความเหนียวน้อยลง ซึ่งเป็นผลมาจากปฏิกิริยาของเอนไซม์บางชนิดซึ่งเกิดขึ้นในแฮมและกรดที่ผลิตออกมามาก ทำให้เนื้อหมักมีลักษณะยุ่ย ดังนั้นจึงควรเก็บแฮมที่หมักแล้ว 4-5 วัน ในที่ที่มีอุณหภูมิต่ำ เพื่อให้เก็บแฮมได้นานมากขึ้น (สมบุญ, 2518) ในการหมักโดยใช้แฮมเก่ามาเป็นกล้าเชื้อ พบว่าเมื่อหมักไปเพียง 24-36 ชั่วโมง จะมีการเพิ่มขึ้นพองๆ กับแฮมซึ่งหมักแบบธรรมชาติโดยไม่เติมแฮมเก่าที่ใช้เวลาหมักถึง 96 ชั่วโมง อย่างไรก็ตามเนื้อสัมผัสของแฮมที่หมักโดยใช้กล้าเชื่อนี้จะไม่มี ความเหนียว ซึ่งสมบุญ (2518) ได้อธิบายว่าเป็นผลมาจากการหมักที่เกิดขึ้นในระยะเวลานับรวดเร็ว รวมทั้งอุณหภูมิที่ใช้ในการหมัก

จากการศึกษาของ Srisomwong (1985) พบว่า การเพิ่มอุณหภูมิทำให้ระยะเวลาในการหมักแฮมลดลง โดยพบแบคทีเรียแลคติกปริมาณมากที่สุดในแฮมที่หมักโดยไม่ใช้กล้าเชื้อ เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งเป็นเวลาเดียวกันกับที่พบในแฮมซึ่งหมักโดยใช้กล้าเชื้อ ส่วนปริมาณสูงสุดของแบคทีเรียแลคติกในแฮมที่ซื้อจากตลาดจะพบหลังจากบ่มได้ 48 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง โดยตลอดระยะเวลาในการหมัก แฮมที่ใช้กล้าเชื้อจะมีปริมาณแบคทีเรียแลคติกมากกว่าแฮมที่ไม่ใช้กล้าเชื้อไม่มากนัก แต่อย่างไรก็ตามปริมาณกรดแลคติกและค่าพีเอชในแฮม 2 ชนิดก็ยังมีค่าใกล้เคียงกัน

จากการศึกษาของ Inoue และคณะ (1980) โดยทำการแยกเชื้อแบคทีเรียแลคติกจากแฮม พบว่ามีบางสายพันธุ์ที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus*, *Cl. sporogenes* และ *E. coli* ได้ชนิดใดชนิดหนึ่ง ในขณะที่บางสายพันธุ์จะมีผลต่อจุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด ซึ่งพบว่าแบคทีเรียแลคติกจะยับยั้งเชื้อดังกล่าวได้ดีเมื่อไม่มีแคลเซียมคาร์บอเนตในอาหารเลี้ยงเชื้อ หรือการยับยั้งจะได้ผลดีเมื่อค่าพีเอชของเชื้อน้อยกว่า 6 นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อปรับพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียแลคติกให้เป็นกลางจะไม่สามารถยับยั้ง *E. coli* ได้ และจากการศึกษาได้พบว่า *Lactobacillus* sp. 105 และ *Pediococcus* sp. PC-1 เป็นเชื้อที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดคือ สามารถยับยั้งได้ทั้ง *S. aureus*, *Cl. sporogenes* และ *E. coli* แม้จะมีแคลเซียมคาร์บอเนตอยู่ด้วย หรือแม้แต่ในที่ที่มีการควบคุมระดับพีเอชให้อยู่ระหว่าง 6-7 ก็ยังพบว่าแบคทีเรียแลคติกทั้ง 2 ชนิดนี้สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อโรคดังกล่าวได้

ในการวิเคราะห์องค์ประกอบของแฮมซึ่งขายในตลาดพบว่า แฮมหนัก 100 กรัม ให้พลังงาน 147.5 แคลอรี มีความชื้น 65.00 กรัม โปรตีน 23.0 กรัม ไขมัน 5.1 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด 2.30 กรัม ใย 450 กรัม ฟอสฟอรัส 179.20 มิลลิกรัม เหล็ก 9.14 มิลลิกรัม วิตามินบี 1 468.0 มิลลิกรัม วิตามินบี 2 11.40 มิลลิกรัม (อัจฉรา, 2507)

2.5 แบคทีเรีย *Salmonella* และรายงานการตรวจพบเชื้อนี้ในอาหารหมักของไทย

Salmonella sp. เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่จัดเป็น pathogens พบได้ทุกแห่งทั่วโลก โดยจะเข้ามามีบทบาทในคนและสัตว์ทุกประเภทเป็นแบคทีเรียกลุ่มใหญ่กลุ่มหนึ่งในสกุล Enterobacteriaceae มีชื่อเรียกเดิมว่า paratyphoid bacteria ส่วนชื่อสกุลตั้งให้เป็นเกียรติแก่ D.E. Salmon นักแบคทีเรียชาวอเมริกัน ได้ร่วมกับ Theobald Smith แยกเชื้อนี้ได้จากสุกรที่ป่วยด้วยโรคอหิวาต์ ในค.ศ. 1885 และค.ศ. 1888 Gartner แยกเชื้อ *S. Enteritidis* ได้จากม้ามของผู้ป่วยที่เสียชีวิตด้วยโรคอาหารเป็นพิษระบาดในประเทศเยอรมัน ปีค.ศ. 1892 Löffler แยกเชื้อ *S. Typhimurium* ได้จากโรคที่คล้ายไทฟอยด์ในหนูขาว

ลักษณะวิทยาของเชื้อ *Salmonella* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อน ไม่สร้างสปอร์ ยาว 2.0-5.0 ไมโครเมตร มีขนาด 0.7-1.5 ไมโครเมตร เจริญได้ดีทั้งในสภาพที่มีและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) ไม่สร้างแคปซูล เคลื่อนที่ด้วยแฟลกเจลลาที่ยาวและมีรอบเชลล์ (peritrichous flagella) แต่บางสายพันธุ์ก็เคลื่อนที่ไม่ได้ สามารถสร้างไฮโดรเจนซัลไฟด์ได้ ยกเว้น *S. Paratyphi A*, *S. Choleraesuis* ลักษณะโคโลนีใน nutrient agar มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2-4 มิลลิเมตร ขอบเรียบ ผิวมัน ไม่มีสี ชื้น ค่อนข้างกลม และมีลักษณะรูปโคมและเป็นเมือก อุณหภูมิที่เจริญได้ 37-45 องศาเซลเซียส สำหรับอุณหภูมิที่เจริญได้ดีที่สุดคือ 42 องศาเซลเซียส เจริญได้ดีในช่วงพีเอช 4.5-9.0 ความชื้นที่เหมาะสมต่อการเจริญประมาณ 0.93-0.99 ความทนทานของเชื้อ *Salmonella* ไม่ทนความร้อน สามารถถูกทำลายได้ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง หรือ 60 องศาเซลเซียส นาน 15-20 นาที หรือ 62 องศาเซลเซียส นาน 4 นาที การใช้ความเย็นหรืออุณหภูมิต่ำไม่สามารถทำลาย *Salmonella* ได้ เพียงแต่ไปยับยั้งการเจริญของเชื้อเท่านั้น *Salmonella* จะหยุดการเจริญเมื่อช่วงความเป็นกรดค่าสูงกว่า 44-47 องศาเซลเซียส ในการยับยั้งการเจริญของ *Salmonella* บางชนิดนี้ พบว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิหรือนำอาหารมาไว้ที่อุณหภูมิห้องหลังจากเก็บในอุณหภูมิต่ำนานๆ จะทำให้เชื้อเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว ดังนั้นก่อนการแช่แข็งจึงควรลวกอาหารก่อน จะทำให้ปลอดภัยมากที่สุด (อรุณ และคณะ , 2537)

ความสามารถในการทำให้เกิดโรค (Pathogenicity) โดยกลไกการทำให้เกิดโรค อาจเป็นผลร่วมกันของตัวเซลล์กับ endotoxin ของแบคทีเรีย ซึ่งจะขึ้นอยู่กับแต่ละซีโรไทป์ สาเหตุทั่วไปของการติดเชื้อเกิดจากการรับประทานอาหารหรือน้ำที่มีเชื้อปะปนเข้าไป ซึ่งผู้ที่ได้รับเชื้ออาจมีอาการ

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หรือไม่มีอาการของโรคปรากฏก็ได้ ถ้าไส้เล็กจะเป็นบริเวณที่เกิดโรค ซึ่งเชื้ออาจอยู่เฉพาะที่ลำไส้ หรืออาจแพร่กระจายไปทั่วร่างกาย บริเวณที่เกิดการติดเชื้อเฉพาะแห่ง คือ Mesenteric lymph node ตับ และถุงน้ำดี ขั้วรุนแรงที่สุดคือ เชื้อ *Salmonella* เข้ากระแสเลือด (bacteremia)

อาการของโรคที่เกิดจาก *Salmonella* จำแนกออกเป็น 3 แบบ คือ

1. Enteric fevers ได้แก่ โรคไข้ไทฟอยด์และพาราไทฟอยด์ เชื้อที่เป็นสาเหตุของไข้ไทฟอยด์ได้แก่ *S. Typhi* เชื้อนี้ต่างกับ *Salmonella* อื่นๆ คือไม่ให้ก๊าซจากการหมักย่อน้ำตาล ให้ไฮโดรเจนซัลไฟด์น้อย มี วิโอ แอนติเจน และ เอช แอนติเจน เพียงเฟสเดียว ส่วนเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคไข้พาราไทฟอยด์ได้แก่ *S. Paratyphi A*, *S. Paratyphi B* และ *S. Paratyphi C* โรคไข้ไทฟอยด์และพาราไทฟอยด์นี้จะเกิดขึ้นเฉพาะในคนเท่านั้น ในการติดเชื้อคือได้รับเชื้อปนเปื้อนเข้าไปในอาหารและน้ำดื่ม โดยเชื้อจะเข้าสู่กระเพาะอาหาร ลำไส้เล็ก ไปตามทางเดินอาหาร ต่อมน้ำเหลือง และเข้าสู่ระบบหมุนเวียนโลหิต ผู้ป่วยที่มีอาการเฉียบพลันสามารถตรวจพบเชื้อได้ในกระแสโลหิต เชื้อสามารถเข้าไปยังอวัยวะต่างๆ ได้รวมทั้งไต ไชกระดูก ลำไส้ ถุงน้ำดี เชื้อขับออกจากอุจจาระ และอาจพบได้ในปัสสาวะ เชื้อทำให้มีอาการอักเสบของ Lymphoid tissue ต่างๆ บางครั้งทำให้เยื่อหุ้มกระดูก ปอดมีการอักเสบได้ ระยะพักตัวของโรคประมาณ 7-14 วัน ผู้ป่วยมีอาการไข้สูง ปวดศีรษะ ปวดเมื่อยตามตัว เบื่ออาหาร มีอาการท้องอืดหรือท้องผูก ม้ามโต ต่อมาจะมีอาการอุจจาระร่วง อาจมีเลือดปนด้วย ถ้ามีการทำลายของเยื่อลำไส้เป็นจำนวนมากอาจทำให้เกิดลำไส้ทะลุได้ ระยะของไข้ Enteric fevers นานประมาณ 3-4 สัปดาห์ โรคพาราไทฟอยด์มีอาการของโรคคล้ายกับไทฟอยด์ แต่จะรุนแรงน้อยกว่า เกิดจากผู้ป่วยรับประทานอาหารหรือน้ำที่มีการปนเปื้อนของเชื้อเข้าไป จะก่อให้เกิดอาการอุจจาระร่วงภายหลังรับประทานอาหารประมาณ 12-24 ชั่วโมง (อรุณ และคณะ, 2537)

2. Septicemia เกิดจากเชื้อ *S. Typhi*, *S. Typhimurium* และ *S. Choleraesuis* เชื้อเข้าสู่กระแสโลหิตโดยตรง สามารถตรวจพบเชื้อในกระแสโลหิตโดยไม่มีอาการของโรคอุจจาระร่วง ผู้ป่วยมีอาการไข้ขึ้นสูงเป็นระยะๆ ตับและม้ามโต และมีอาการปวดบวม เยื่อหุ้มสมองอักเสบ เยื่อปอดอักเสบ ก่อให้เกิดอัตราการตายสูงมากในวัยผู้สูงอายุ และเป็นภาวะแทรกซ้อนในผู้ป่วยที่มีอาการอ่อนเพลีย หรือผู้ที่มีภูมิคุ้มกันต่ำ (อรุณ และคณะ, 2537)

3. Gastroenteritis เชื้อ *Salmonella* ส่วนมากจะทำให้เกิดอาการแบบที่ 3 โดยเชื้อจะติดเข้าไปกับอาหารประเภทเนื้อสัตว์ ไข่ นม เมื่อรับประทานเข้าไป เชื้อจะแทรกเข้าไปอยู่ในเยื่อลำไส้ใหญ่และลำไส้เล็กส่วนกลาง ระยะพักตัวของเชื้อประมาณ 8-24 ชั่วโมง ซึ่งผู้ป่วยจะมีอาการอักเสบในลำไส้เล็กและลำไส้ใหญ่ ปวดท้อง คลื่นไส้ อาเจียน และท้องร่วง (อรุณ และคณะ, 2537) ในช่วงที่มีอุจจาระร่วงจะพบเชื้อในอุจจาระผู้ป่วยได้ประมาณ 1,000,000-1,000,000,000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการเรียนการสอนเท่านั้น ห้ามมิให้ผู้ใดนำเอกสารนี้ไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลล์ต่อกรัม เชื้อที่เป็นสาเหตุมากที่สุดในสหรัฐอเมริกาคือ *S. Typhimurium* และเชื้อ *S. Enteritidis* ซึ่งมีรายงานว่าสาเหตุจากเชื้อมีเพิ่มสูงขึ้นทุกปี (จิริยูทซ์, 2540)

จากการสำรวจอาการที่พบจากการระบาดของโรค 9 ตัวอย่าง (ตารางที่ 3) พบว่าอาการและความรุนแรงของโรคจะขึ้นอยู่กับจำนวน และซีโรไทป์ของ *Salmonella* กลุ่มอาการที่พบมากที่สุดของผู้ป่วยคือ คือ อาการท้องร่วง อาการเกร็งในช่องท้อง เป็นไข้ คลื่นไส้ อาเจียน หนาวสั่น และปวดศีรษะ

- ระยะฟักตัว ในการสุ่มตัวอย่างมา 34 ตัวอย่างของการระบาด จากรายงานประจำสัปดาห์ของ CDC พบว่าระยะเวลาในการฟักตัว มีช่วงเวลาที่แตกต่างกันออกไป ตั้งแต่ 1 ชั่วโมงจนถึง 3 วัน แต่ระยะฟักตัวทั่วไปนั้นมีช่วงเวลาดังแต่ 6-48 ชั่วโมง

- ระยะเวลาของอาการ การติดเชื้อในคนปกติที่มีสุขภาพแข็งแรง ถ้าเกิดอาการกระเพาะลำไส้อักเสบนั้นจะเป็นนาน 2-3 วัน แต่ถ้ามีการติดเชื้อเป็นเวลานานกว่านั้น อาการของโรคอาจแสดงไปเป็นเดือนหรือเป็นปีก็ได้และจะเสียชีวิตในที่สุด พบว่าระยะเวลาการติดเชื้อที่นานกว่า 2 เดือน สัมผัสได้ร้อยละ 25 ของผู้ป่วย และในร้อยละ 20 ของผู้ป่วยจะมีการติดเชื้อ เนื่องจากการขับสารพิษของเชื้อเป็นช่วงๆ ไม่ต่อเนื่องกัน และที่สำคัญถ้าเป็นในเด็กจะมีความไวต่อการติดเชื้อ และมีการขับสารพิษของเชื้อได้ยาวนานและง่ายกว่าผู้ใหญ่

ในการบำบัดรักษาโรคจากการติดเชื้อ *Salmonella* สิ่งที่จะต้องปฏิบัติคือจะต้องรักษาสมดุลของน้ำและเกลือแร่ของผู้ป่วยให้เป็นปกติ และป้องกันการสูญเสียของน้ำในร่างกายอีก ส่วนผู้ป่วยที่มีอาการหนัก ต้องได้รับการรักษาจากแพทย์อย่างใกล้ชิด

ลักษณะของแอนติเจนที่สำคัญของ *Salmonella* มี 3 ชนิด (อรุณ และคณะ, 2537) ดังนี้

1. โอ แอนติเจน หรือ โซมาติก แอนติเจน (O or Somatic antigen) เป็นแอนติเจนที่เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ ประกอบด้วยสารประเภทโพลีแซคคาไรด์โปรตีนร้อยละ 60 ฟอสโฟลิปิดร้อยละ 20-30 และเฮกโซซามีนร้อยละ 3.5-4.5 มีคุณสมบัติคือ สามารถทนความร้อนที่ 100 องศาเซลเซียส ได้นานถึง 2 ชั่วโมง 30 นาที ทนต่อเอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 95% มีความคงทนต่อกรดเจือจาง การเตรียม โอ แอนติเจน เตรียมโดยวิธีต้มแบคทีเรียในรูปสารแขวนลอยด้วยความร้อน 80-100 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง หรือสกัดด้วยแอลกอฮอล์ร้อน

2. เอช หรือแฟลกเจลลา แอนติเจน (H or flagella antigen) เป็นส่วนประกอบของสารประเภทโปรตีน มีคุณสมบัติคือ ถูกทำลายได้ด้วยความร้อนอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ถูกทำลายด้วยแอลกอฮอล์และกรด เชื้อ *Salmonella* ส่วนมากจะมี H-antigen 2 เฟส ได้แก่ เฟส 1 เรียกว่า เฟสจำเพาะ (specific phase) สามารถเกาะกลุ่มกับแอนติซีรัมเนื้อเดียวกันเท่านั้น และเฟส 2 เรียกว่า เฟสไม่จำเพาะ (non specific phase) ซึ่งแต่ละซีโรไทป์มีลักษณะคล้ายๆ กัน และสามารถเกาะกลุ่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น มีข้อสงวนสิทธิ์ในเนื้อหาเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กับชนิดอื่นๆ ได้ จึงไม่สามารถใช้ส่วนนี้ในการแยกชนิด *Salmonella* ตัวอย่างแอนติเจนเพียงเฟสเดียวที่สำคัญคือ *S. Paratyphi A*, *S. Typhi*, *S. Derby*, *S. Enteritidis* และ *S. Dublin* ส่วนซีโรวาร์ที่ไม่มีเอช แอนติเจนคือ *S. Gallinarum*

3. วีไอ แอนติเจน (Vi antigen) เป็นแอนติเจนที่คลุมอยู่รอบนอก โอ แอนติเจน อยู่ชั้นนอกสุดของเซลล์ แต่บางมากจึงไม่เห็นเป็นแคปซูล ประกอบด้วย N-acetyl galactosaminuronic acid residue คุณสมบัติของ วีไอ แอนติเจน คือ จะถูกทำลายเมื่อได้รับความร้อน กรด หรือฟีนอล โดยปกติเชื้อ *Salmonella* ที่มี วีไอ แอนติเจน จะทำให้เกิดอาการของโรครุนแรงกว่าเชื้อที่ไม่มี วีไอ แอนติเจน

ตารางที่ 3 ร้อยละของโรคที่แสดงออกในคนที่เป็นโรค Salmonellosis

อาการของโรค	ปริมาณการระบาดของโรค (ร้อยละ)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
ท้องร่วง	87	100	100	96	93	75	93	96	95
ท้องร่วง (มีเลือดออก)	4	-	-	-	5	-	-	-	-
เกร็งในช่อง ท้อง	70	47	70	81	86	82	76	66	57
เป็นไข้	68	82	-	85	62	80	48	97	43
คลื่นไส้	53	69	80	62	69	70	52	-	38
อาเจียน	53	82	80	40	40	62	26	54	19
หนาวสั่น	38	54	70	79	-	-	52	86	-
ปวดศีรษะ	36	66	60	-	65	-	63	-	29
เวียนศีรษะ	-	-	-	-	42	-	-	-	-
ปวดเมื่อย กล้ามเนื้อ	-	-	90	-	-	-	-	95	-

หมายเหตุ : - หมายถึง ไม่พบในการรายงาน แต่อย่างไรก็ตามอาการดังกล่าวอาจมีเกิดขึ้นได้

ที่มา : รายงานประจำสัปดาห์ของ CDC (จิริยุทธ์, 2540)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองของ Taylor และ McCoy (1969) ได้กล่าวว่า ปริมาณของเชื้อที่จะทำให้เกิดอาการของโรคจะเปลี่ยนแปลงตามชนิดและสายพันธุ์ของเชื้อ *Salmonella* ซึ่งปริมาณของเชื้อทุกระดับทำให้อาสาสมัครจับเชื้อออกมาที่อุจจาระ แม้จะไม่มีอาการของโรค และพบว่าปริมาณ *Salmonella* ประมาณ 100,000-100,000,000 เซลล์ต่อกรัม จึงจะทำให้เกิดโรคได้

เชื้อ *Salmonella* ที่พบในอาหาร สามารถจำแนกได้ 4 พวก (Taylor and McCoy, 1969)

1. *S. Typhi* และ *S. Paratyphi A* และ *C* แหล่งพาหะอยู่ที่คนที่เป็นโรค ขณะขับถ่ายจะมี *S. Typhi* ปนเปื้อนมากับอุจจาระหรือปัสสาวะ น้ำและอาหารก็เป็นตัวนำเชื้อมาสู่คน แม้มีเชื้อเพียงเล็กน้อยก็สามารถทำให้เกิดโรคได้

2. *S. Paratyphi B* เป็นเชื้อพาราไทฟอยด์ มีคนเป็นแหล่งพาหะ และอาหารเป็นตัวนำเชื้อ ต้องมีเชื้อปริมาณมากพอจึงจะทำให้เกิดโรค

3. Food poisoning *Salmonella* แหล่งพาหะคือ สัตว์ นอกจาก *S. Typhi* และ *S. Paratyphi* แล้ว ยังพบเชื้ออื่นๆ เช่น *S. Thompson*, *S. Newport*, *S. Heidelberg* และที่พบมากที่สุดคือ *S. Typhimurium* เชื้อจะปนเปื้อนมากับอาหารซึ่งทำมาจากสัตว์ เมื่อมีเชื้อปนเปื้อนและเก็บที่อุณหภูมิห้อง จะทำให้เชื้อแบ่งตัวเพิ่มจำนวนมากขึ้น

4. Host-specific animal salmonellae คือ *Salmonella* ที่อยู่เฉพาะเจาะจงในสัตว์ เช่น *S. Pullorum* และ *S. Galinarum* พบในสัตว์ปีก *S. Cholerae-suis* พบในสุกร ซึ่งสามารถติดต่อได้ 2 ทางคือ

1. ทางตรง โดยสัมผัสอุจจาระซึ่งมีเชื้อ

2. ทางอ้อม โดยทางสื่อต่างๆ เช่น อาหาร น้ำ ซึ่งปนเปื้อนด้วยอุจจาระที่มีเชื้อ การติดเชื้อทางตรงเกิดขึ้นทั่วไปกับสัตว์เลี้ยงที่ใช้เป็นอาหาร การติดเชื้อโดยน้ำเป็นสื่อที่จำกัดเฉพาะซีโรไทป์ ที่เป็น host specific เช่น *S. Typhi* ในคน และ *S. Dublin* ในสัตว์

ตารางที่ 4 ซีโรไทป์และปริมาณเชื้อที่ทำให้เกิดโรค

ซีโรไทป์	ปริมาณเซลล์ที่ให้ (ล้านเซลล์)	อาสาสมัคร			
		จำนวน ทั้งหมด	เกิด อาการ	ไม่แสดง ออก	ไม่เกิดโรค
S. Meleagridis	0.16	24	-	13	11
	5.5	53	-	44	9
	50	41	16	23	2
S. Anatum	0.16	41	-	20	1
	5.5	48	11	30	7
	67	24	5	19	-
S. Newport	0.15	6	1	2	3
	0.38	8	1	5	2
	1.3	6	3	3	-
S. Derby	0.13	6	-	3	3
	5	12	-	8	4
	15	12	3	4	5
S. Bareilly	0.12	6	1	4	1
	1.7	12	6	5	1
S. Pullorum	1,300	12	5	1	6
	7,000	11	10	1	-

ที่มา : Taylor and McCoy (1969)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อ *Salmonella* สามารถจัดแบ่งเป็นซีโรวาร์ต่างๆ ตามแบบของ Kauffman-White Schema (1997) โดยการจัดตามลักษณะของโอ , เอช และ วีไอ แอนติเจน ได้ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 การจัดแบ่งซีโรวาร์ของ *Salmonella* ตามลักษณะของ O, H, Vi antigen
ANTIGENIC FORMULAS

GROUP	SEROVAR	SOMATIC ANTIGEN	FLAGELLAR ANTIGEN	
			PHASE I	PHASE II
O:2(A)	<i>S. Paratyphi A</i>	1,2,12	a	(1,5)
	<i>S. Kiel</i>	1,2,12	g,p	-
O:4(B)	<i>S. Paratyphi B</i>	1,4,(5),12	b	1,2
	<i>S. Derby</i>	1,4,(5),12	f,g	(1,2)
	<i>S. Typhimurium</i>	1,4,(5),12	I	1,2
O:7(C1)	<i>S. Paratyphi C</i>	6,7,(Vi)	c	1,5
	<i>S. Choleraesuis</i>	6,7	c	1,5
	<i>S. Livingstone</i>	6,7,14	d	I,w
	<i>S. Virchow</i>	6,7	r	1,2
	<i>S. Infantis</i>	6,7,14	r	1,5
O:8(C2-C3)	<i>S. Newport</i>	6,8,20	e,h	1,2:[z67]
	<i>S. Brunei</i>	8,20	y	1,5
O:9 (D1)	<i>S. Typhi</i>	9,12,(Vi)	d	-
	<i>S. Javiana</i>	1,9,12	I,z28	1,5
	<i>S. Gallinarum</i>	1,9,12	-	-
O:3,10(E1)	<i>S. Anatum</i>	3,10,(15),(15,38)	e,h	1,6
	<i>S. Weltevreden</i>	3,10,(15)	r	z6
	<i>S. Lexington</i>	3,10,(15),(15,34)	z10	1,5
	<i>S. Ratchaburi</i>	3,10	z35	1,6
O:11(F)	<i>S. Aberdeen</i>	11	i	1,2
O:13(G)	<i>S. Poona</i>	1,13,22	z	1,6

เอกสารที่มา : Kauffman-White Schema (1997) เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สื่อหน้าเชื้อที่สำคัญที่สุดคืออาหารคนหรืออาหารสัตว์ โดยอาหารสามารถเป็นสื่อหน้าเชื้อได้จากหลายสาเหตุเช่น อาหารนั้นทำมาจากสัตว์ที่ติดเชื้อ หรืออาหารนั้นอาจได้รับเชื้อจากคน สัตว์ หรือสิ่งอื่นๆ ระหว่างการเตรียมอาหารหรือการเก็บรักษา

ในการตรวจเชื้อ *Salmonella* ในประเทศไทยจากรายงานของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ในปี ค.ศ. 1972 ได้ตรวจตัวอย่างແหมม 217 ตัวอย่าง พบเชื้อ *Salmonella* 27 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 12.4 เช่น *S. Derby*, *S. Anatum*, *S. Lexington* เป็นต้น (Phan-urai, 1978) ปี ค.ศ. 1974 มีการสำรวจเนื้อหมู 501 ตัวอย่าง พบ *Salmonella* 39 ตัวอย่าง คิดเป็น 7.8% ปี ค.ศ. 1975 มีการสำรวจเนื้อหมู 237 ตัวอย่าง พบ *Salmonella* 11 ตัวอย่าง คิดเป็น 4.6% จากการสำรวจ 3 ครั้ง *Salmonella* ที่พบบ่อยที่สุดคือ *S. Derby*, *S. Anatum*, *S. Lexington*, *S. Thompson*, *S. Weltevreden* และ *S. Bovis-morbificans* (Phan-Urai, 1978)

จากรายงานของสมหญิง (2520) สำรวจไส้กรอกชนิดต่างๆ ในเขตกรุงเทพมหานคร 317 ตัวอย่าง พบ *Salmonella* จาก 44 ตัวอย่าง เป็นไส้กรอกเวียนนา 15 ตัวอย่าง จากตัวอย่างที่วิเคราะห์ 100 ตัวอย่าง ไส้กรอกโบโลนา 7 ตัวอย่าง จากตัวอย่างที่วิเคราะห์ 100 ตัวอย่าง ไส้กรอกไก่ 21 ตัวอย่าง จากตัวอย่างที่วิเคราะห์ 100 ตัวอย่าง และไส้กรอกดับบด 1 ตัวอย่าง จากตัวอย่างที่วิเคราะห์ 17 ตัวอย่าง เชื้อที่พบเช่น *S. Derby*, *S. Agona*, *S. Anatum*, *S. Newport*, *S. Stanley*, *S. Lexington* และ *S. Bovis-morbificans* จากรายงานของสุขใจ (2525) ตรวจ *Salmonella* ในตัวอย่างແหมมในกรุงเทพมหานคร 450 ตัวอย่าง พบ *Salmonella* 56 ตัวอย่าง คิดเป็น 12.4 % ตรวจตัวอย่างที่จังหวัดเชียงใหม่ 16 ตัวอย่าง พบ *Salmonella* 5 ตัวอย่าง คิดเป็น 41.67 % ซึ่ง *S. Derby* เป็นซีโรไทป์ที่พบมากที่สุดในตัวอย่างແหมมที่ผลิตในกรุงเทพมหานครที่นำมาวิเคราะห์ โดยแสดงผลดังตารางที่ 3

จากรายงานการตรวจหา *Salmonella* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษในແหมม โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *S. Anatum* เป็นซีโรวารที่พบมากในผลิตภัณฑ์ແหมม และเป็นซีโรวารที่ทนต่อการทำลายด้วยกรดแลคติกที่กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกผลิตขึ้นในขณะหมักແหมมได้ดีที่สุด โดยอดิศร (2533) ตรวจແหมมที่หมักโดยไม่เติมเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นพบ *Salmonella* ซีโรไทป์ต่างๆ ดังนี้คือ *S. Derby*, *S. Anatum*, *S. Krefeld* และ *S. Typhimurium* โดยพบร้อยละ 20.6, 17.7, 14.7 และ 5.9 ตามลำดับ และยังตรวจพบ *S. Anatum* ในช่วง 0-5 วันของการหมัก แต่ *S. Derby*, *S. Krefeld* และ *S. Typhimurium* ตรวจพบในช่วงที่สั้นกว่าคือ 0-4 และ 0-3 วัน ตามลำดับ ซึ่งแสดงว่า *S. Anatum* ทนต่อการถูกทำลายจากสารยับยั้งต่างๆ ที่แบคทีเรียแลคติกจากธรรมชาติผลิตขึ้นในขณะหมัก ในปีพ.ศ. 2538 อดิศรและคณะ ตรวจແหมม 36 ตัวอย่าง พบเชื้อ *Salmonella* 12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่าง คิดเป็น 33.3% และจากการศึกษาของอดิศรทั้ง 2 ครั้ง ยืนยันว่า *Salmonella* ที่พบบ่อยใน
ແຫມ່ກໍ່คือ *S. Derby* และ *S. Anatum* (เรณู, 2539)

ตารางที่ 6 จำนวนเชื้อ *Salmonella* ซีโรไทป์ต่างๆ ที่ตรวจพบในตัวอย่างແຫມ່ກໍ່จากแหล่งที่ผลิต
ต่างๆ กัน 9 แห่ง ในเขตกรุงเทพมหานคร

ซีโรวาร์	จำนวนเชื้อ	จำนวน <i>Salmonella</i> sp. ที่พบ (เปอร์เซ็นต์)
<i>S. Agona</i>	9	3.85
<i>S. Anatum</i>	18	7.69
<i>S. Bovis-morbificans</i>	3	1.28
<i>S. Derby</i>	76	32.48
<i>S. Heidenberg</i>	2	0.85
<i>S. Java</i>	21	8.98
<i>S. Krefeld</i>	14	5.98
<i>S. Lexington</i>	31	13.25
<i>S. London</i>	19	8.12
<i>S. Senftenberg</i>	1	0.43
<i>S. Typhimurium</i>	2	0.85
<i>S. Virchow</i>	3	1.28
<i>S. Weltevreden</i>	35	14.96
รวม	234	100

ที่มา : สุขใจ (2525)

สำหรับการตรวจพบ *Salmonella* ในต่างประเทศ ปีค.ศ. 1969 และ 1970 ได้ปรากฏว่า
S. Agona เป็นปัญหาทางด้านสาธารณสุขในสหรัฐอเมริกา โขเวียต เนเธอร์แลนด์ และไอร์แลนด์
โดยในแต่ละประเทศแยกเชื้อ *Salmonella* ได้ครั้งแรกจากอาหารที่ทำด้วยปลาของชาวเปรู ในปี
ค.ศ. 1972 พบว่า *S. Agona* เป็นซีโรไทป์ที่แยกได้มากเป็นอันดับที่ 8 ในสหรัฐอเมริกา นับจาก
ผู้ป่วยพบว่ามีมากกว่า 500 คน และในโขเวียตพบเชื้อซีโรไทป์นี้มากเป็นที่ 2 จากผู้ป่วย 700 ราย

เอกสาร (Axon and Poole, 1973; Oblinger and Kennedy, 1980) นั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การติดเชื้อ *Salmonella* เนื่องจากอาหารในประเทศไทย พบว่าโรคท้องร่วงที่เกิดจาก *Salmonella* มีความสำคัญมากเช่นกัน ในปี ค.ศ. 1971 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้ทำการสำรวจเชื้อโรคลำไส้จากภัตตาคารและร้านอาหารในเขตกรุงเทพมหานคร ได้เก็บอาหารดิบโดยเฉพาะเนื้อและอาหารที่ปรุงแล้วจากหลายภัตตาคารและร้านอาหารต่างๆในพื้นที่ต่างกัน 9 แห่งในกรุงเทพ แล้วนำมาแยกแบคทีเรียโรคลำไส้ ปรากฏว่าเนื้อดิบมีเชื้อ *Salmonella* ปนเปื้อนสูงมาก โดยเฉพาะเนื้อหมูพบเชื้อใน 14 ตัวอย่างจาก 37 ตัวอย่าง คิดเป็น 37.8% รองลงมาคือ เนื้อวัวและสัตว์ปีก ปี ค.ศ. 1974 มีการสำรวจเนื้อหมู 501 ตัวอย่างพบว่ามี *Salmonella* 39 ตัวอย่าง คิดเป็น 7.8% ปี ค.ศ. 1975 สำรวจเนื้อหมู 237 ตัวอย่าง ตรวจพบเชื้อ *Salmonella* 11 ตัวอย่าง คิดเป็น 4.6% จากการสำรวจทั้ง 3 ครั้งนี้ แบคทีเรีย *Salmonella* ที่พบบ่อยที่สุดเรียงจากมากไปน้อยคือ *S. Derby*, *S. Anatum*, *S. Lexington*, *S. Thompson*, *S. weltevreden* และ *S. Bovis-morbificans* ซึ่งชิโรไทป์เหล่านี้แยกได้จากคนในเวลาเดียวกัน (Phan-Urai, 1978 ; สุขใจ, 2525)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีดำเนินการทดลอง

อุปกรณ์

1. วัสดุที่ใช้ในการทดลองได้แก่ กะเพรา เนื้อหมู หนัหมู กระเทียม เกลือ ข้าวสุก
2. เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ได้จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ได้แก่ *Lactobacillus curvatus* TISTR 9382, *Lactobacillus plantarum* TISTR 050, *Pediococcus pentosaceus* TISTR 414, *Pediococcus acidilactici* TISTR 051, *Salmonella* Agona SAP 08947/02
3. อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ได้แก่ Brain Heart Infusion (BHI) agar (Difco Laboratory, Detroit, Michigan), Liquid medium มีส่วนประกอบดังนี้ Beef extract 3 กรัม Tryptone 5 กรัม Sucrose 20 กรัม Glucose 20 กรัม น้ำกลั่น 1 ลิตร ปรับ pH เป็น 6.5, de Man Ragosa and Sharpe (MRS) มีส่วนประกอบดังนี้ Peptone 10 กรัม Beef extract 10 กรัม Yeast extract 5 กรัม Glucose 20 กรัม Tween 80% 1 กรัม Ammonium citrate 2 กรัม Sodium acetate 5 กรัม Magnesium sulphate 0.1 กรัม Manganese sulphate 0.05 กรัม Dipotassium phosphate 2 กรัม Disodium phosphate 2 กรัม Sorbitan Monooleate complex(Span 80) 1 กรัม Agar 15 กรัม Bromthimal purple 0.2 กรัม น้ำกลั่น 1 ลิตร ปรับ pH เป็น 5.8-6.5 , Xyloselysine Desoxycholate (XLD) agar (Difco Laboratory) , Standard Method Agar (SMA) Tryptone 5 กรัม Yeast extract 25 กรัม Glucose 1 กรัม Agar 15 กรัม น้ำกลั่น 1 ลิตร ปรับ pH เป็น 7 และสารละลายเปปโตความเข้มข้น 0.1%
4. สารเคมีที่ใช้ได้แก่ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล (0.1N NaOH) สารละลายฟีนอล์ฟทาลีน
5. เครื่องมือที่ใช้ ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อ (Laminar air flow) ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) เครื่องกรองจุลชีพ (Millipore filter) วอร์เท็กซ์ มิกเซอร์ (Vortex mixer) เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ตู้อบเครื่องแก้ว (Hot air oven) เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) เครื่องกรองดูดอากาศ (Bushner vacuum filter)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการทดลอง

1. การศึกษาผลของสารสกัดกะเพราต่อการเจริญและการผลิตกรดโดยแบคทีเรียแลคติกในอาหารเหลวในหลอดทดลอง

1.1 การเตรียมสารสกัดกะเพรา

นำใบกะเพราสดมาล้างน้ำให้สะอาดแล้วนำไปโบลกให้ละเอียด หลังจากนั้นจึงเติมน้ำกลั่นในอัตราส่วนของใบกะเพราต่อน้ำกลั่นเท่ากับ 1:1 ทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง แล้วจึงกรองด้วยผ้าขาวบาง และนำน้ำสกัดกะเพราที่ได้ไปกรองต่อด้วยเครื่องกรองคูดอากาศ 3 รอบ นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5,000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที แยกตะกอนทิ้งแล้วนำส่วนใสไปปั่นเหวี่ยงเช่นเดียวกันอีก 2 ครั้ง หลังจากนั้นจึงนำไปทำให้ปราศจากเชื้อโดยการกรองด้วยเครื่องกรองจุลชีพ (Millipore filter, 0.45 μm) ทำการทดสอบความปราศจากเชื้อของสารสกัดกะเพราโดยเทคนิค Spread plate บนอาหาร SMA บ่มที่ 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สารสกัดกะเพราที่ได้ต้องใช้ภายใน 60-90 นาที

1.2 การเตรียมกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก

ถ่ายเชื้อแบคทีเรียแลคติกจากหลอดอาหาร MRS slant มา 1 หลบ ใส่ใน MRS broth แล้วนำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 15 นาที เพื่อทำการแยกเซลล์ และล้างเซลล์ด้วยสารละลายเปปโตน 0.1% 2 ครั้ง หลังจากนั้นทำการเจือจางเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้ด้วยสารละลายเปปโตน 0.1% โดยเปรียบเทียบกับ McFarland Standard ให้ได้ความเข้มข้นเท่ากับเบอร์ 0.5 แล้วทำการเจือจางต่อไปจนได้ 1:1000 เท่า จะได้ความเข้มข้นของเซลล์ประมาณ 10^2 - 10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เป็นเชื้อเริ่มต้น ทำการนับปริมาณเชื้อเริ่มต้นโดยใช้เทคนิค Pour plate ในอาหาร MRS agar

1.3 การทดลองในอาหารเหลว

หลังจากเตรียมสารสกัดกะเพราแล้วจึงนำมาใส่ในอาหารเหลวโดยเติมสารสกัดกะเพราที่ความเข้มข้นต่างๆคือ 0%, 1%, 3% และ 7% หลังจากนั้นจึงเติมเชื้อเริ่มต้นลงไป 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันนำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส ทำการตรวจผลที่เวลา 0, 1, 3, 5 และ 7 วัน โดยตรวจนับปริมาณแบคทีเรียแลคติกใช้เทคนิค Pour plate ในอาหาร MRS agar และตรวจหาปริมาณกรด

แลคติก (ตามภาคผนวก ก) โดยคำนวณในรูปของกรดแลคติก ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำและนำผลการทดลองมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้วิธี Duncan Multiple Range Test และ วิธี Analysis of variance

2. การศึกษาผลของกะเพราต่อการเจริญและการผลิตกรดโดยแบคทีเรียแลคติกในระหว่างการหมักແໜມ

2.1 การเตรียมกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก

ถ่ายเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่ได้คัดเลือกแล้ว 2 ชนิดจากข้อ 1 ซึ่งอยู่ในหลอดอาหาร MRS slant นำเชื้อแต่ละชนิดมา 1 หลบ ใส่ใน MRS broth แล้วนำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เพื่อทำการแยกเซลล์ และล้างเซลล์ด้วยสารละลายเปปโตน 0.1% 2 ครั้ง และปรับความเข้มข้นของเซลล์เช่นเดียวกับข้อ 1.2 จนได้เชื้อเริ่มต้น นำเชื้อแบคทีเรียแลคติกแต่ละชนิดที่ได้ 3 มิลลิลิตรผสมในเบ้งข้าวเจ้า 40 กรัมที่ปราศจากเชื้อ คลุกให้เข้ากัน จะได้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกเพื่อใช้ในการหมักແໜມในขั้นต่อไป (อรนุช, 2530)

2.3 การทดลองในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก

สำหรับเนื้อหมักที่ได้ผลิตเพื่อใช้ทดลองคือ แหนม ซึ่งมีส่วนผสมดังนี้ เนื้อหมู 1 กิโลกรัม หนังหมู 250 กรัม กระเทียม 50 กรัม เกลือ 20 กรัม น้ำตาล 20 กรัม และข้าวสุก 60 กรัม สำหรับการทดลองนี้จะแบ่งเป็น 4 ชุด ดังนี้

ชุดที่ 1 และ ชุดที่ 2 คือ แหนมควบคุม โดยผสมส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกัน และผสมกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก 10 กรัม คลุกให้เข้ากัน แบ่งใส่ถุงๆ ละ 25 กรัม จำนวน 6 ถุง ทำการบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส (ชุดที่ 1) และ 42 องศาเซลเซียส (ชุดที่ 2) เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ชุดที่ 3 และ ชุดที่ 4 มีการเติมกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกปริมาณ 10 กรัม และเติมใบกะเพราสดตามความเข้มข้นที่เหมาะสม ซึ่งคัดเลือกมาจากข้อ 1 (เติมในรูปใบกะเพราสด) และแบ่งใส่ถุงๆ ละ 25 กรัม จำนวน 6 ถุง ทำการบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส (ชุดที่ 3) และ 42 องศาเซลเซียส (ชุดที่ 4) เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ทำการตรวจผลที่เวลา 0, 12, 24, 36, 48 และ 72 ชั่วโมง ของการบ่ม โดยตรวจหาปริมาณแบคทีเรียแลคติกโดยใช้เทคนิค Pour plate ในอาหาร MRS agar ปริมาณกรดทั้งหมด (ตามภาค

ผนวก ก) โดยคำนวณในรูปของกรดแลคติก และค่าพีเอช นั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ และนำผลการทดลองมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้วิธี Duncan Multiple Range Test และ วิธี Analysis of variance

3. การศึกษาผลของกะเพราต่อการควบคุมเชื้อ *Salmonella Agona* ในระหว่างการหมักแหนม

3.1 การเตรียมกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก

ทำการเตรียมกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกเหมือนกับข้อ 2.1

3.2 การเตรียมเชื้อ *Salmonella*

ถ่ายเชื้อ *Salmonella Agona* จากหลอดอาหาร BHI slant มา 1 หลูป ใส่ใน BHI broth บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงทำการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เพื่อแยกเซลล์ และล้างเซลล์ด้วยสารละลายเปปโตน 0.1% แล้วจึงทำการเจือจางเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้ด้วยสารละลายเปปโตน 0.1% เปรียบเทียบกับ McFarland Standard ให้ได้เท่ากับเบอร์ 5 จะได้เชื้อเริ่มต้นที่มีความเข้มข้นของเซลล์ 10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร

3.3 การทดลองในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก

ทำการผลิตแหนมเช่นเดียวกับแหนมควบคุม ในข้อ 2.3 โดยแบ่งเป็น 2 ชุด ชุดที่ 1 ไม่เติมกะเพรา และชุดที่ 2 เติมใบกะเพราสดตามความเข้มข้นที่เหมาะสมซึ่งคัดเลือกมาจากข้อ 1 หลังจากนั้นนำแหนมแต่ละชุดมาแบ่งใส่ถุงๆละ 25 กรัม ชุดละ 6 ถุง จากนั้นทำการเติมสารแขวนลอยของเซลล์ *S. Agona* ลงในแหนมทุกถุง โดยทำการเติมเชื้อ *Salmonella* ตามวิธีของ Jung และ Beuchat (1999) ทำการบ่มที่อุณหภูมิที่เหมาะสมซึ่งคัดเลือกมาจากข้อ 2 ทำการตรวจหาปริมาณเชื้อ *S. Agona* โดยใช้เทคนิค Spread plate บนอาหาร XLD agar ที่เวลา 0, 12, 24, 36, 48 และ 72 ชั่วโมงของการบ่ม

3.4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ และนำผลการทดลองมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้วิธี Duncan Multiple Range Test และ วิธี Analysis of variance

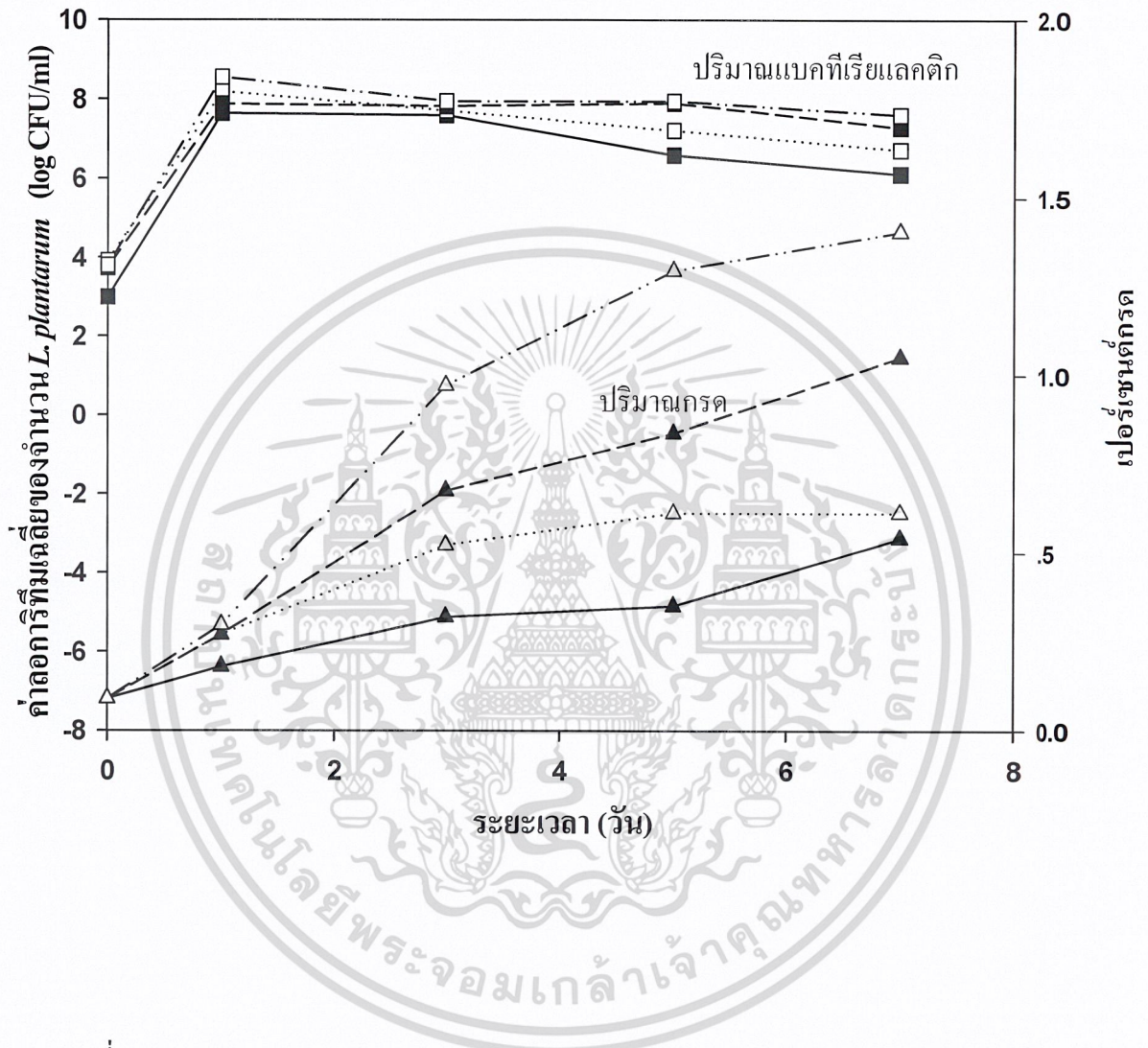
บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 ผลของสารสกัดกะเพราที่ระดับความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญและการผลิตกรดแลคติกของแบคทีเรียแลคติก

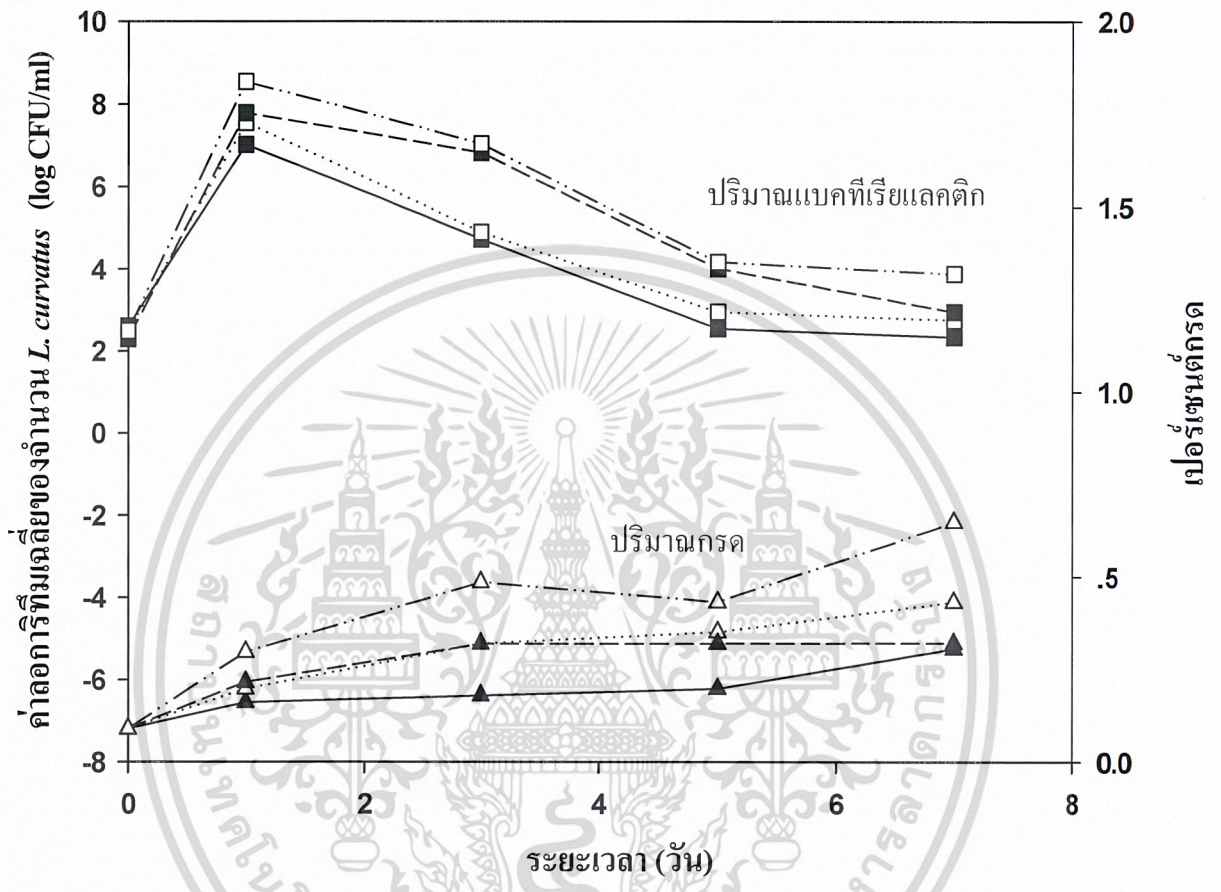
ในการทดลองเติมสารสกัดกะเพราที่ระดับความเข้มข้น 0%, 1%, 3% และ 7% ลงในอาหารเหลวที่มีแบคทีเรียแลคติก 4 ชนิด คือ *L. plantarum*, *L. curvatus*, *P. acidilactici* และ *P. pentosaceus* โดยมีจำนวนแบคทีเรียเริ่มต้นเท่ากับ 10^2 - 10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตร จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน โดยทำการตรวจวัดจำนวนแบคทีเรียแลคติกและปริมาณกรดแลคติกที่เวลา 0, 1, 3, 5 และ 7 วัน ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 2-5 จะเห็นได้ว่าปริมาณแบคทีเรียแลคติกทุกชนิดเพิ่มขึ้นสูงสุด (10^7 - 10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร) หลังจากบ่มนาน 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นพบว่า ปริมาณเซลล์แบคทีเรียแลคติกในอาหารเหลวที่เติมสารสกัดกะเพรามีปริมาณมากกว่าในอาหารเหลวที่ไม่มีการเติมสารสกัดกะเพราอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เช่น *L. plantarum* ในอาหารเหลวที่เติมสารสกัดกะเพรา 0%, 1%, 3% และ 7% มีปริมาณเซลล์เป็น 2.5×10^6 , 5.2×10^6 , 2.5×10^7 และ 4.0×10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตรตามลำดับที่ระยะเวลาการบ่ม 7 วัน ยกเว้น *P. pentosaceus* ที่มีแบคทีเรียแลคติกในอาหารเหลวที่มีการเติมและไม่เติมสารสกัดกะเพราใกล้เคียงกัน สำหรับอาหารเหลวที่มีเชื้อ *L. plantarum*, *P. acidilactici* และ *P. pentosaceus* ปริมาณเซลล์แบคทีเรียแลคติกส่วนใหญ่ก่อนข้างคองที่หลังจากระยะเวลาการบ่มเพิ่มขึ้นซึ่งแตกต่างจาก *L. curvatus* ที่มีปริมาณเซลล์แบคทีเรียแลคติกลดลง เมื่อระยะเวลาการบ่มเพิ่มขึ้น

เมื่อพิจารณาถึงปริมาณกรดทั้งหมดในภาพที่ 2-5 พบว่า อาหารเหลวที่เติมสารสกัดกะเพรามีผลต่อการผลิตกรดของแบคทีเรียแลคติกทั้ง 4 ชนิด เนื่องจากปริมาณกรดในอาหารเหลวที่เติมสารสกัดกะเพรานั้น มีปริมาณมากกว่าในอาหารเหลวที่ไม่เติมสารสกัดกะเพราอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยเฉพาะใน *L. plantarum* จะเห็นได้ว่ามีปริมาณกรดเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน โดยในอาหารเหลวที่เติมสารสกัดกะเพรา 0%, 1%, 3% และ 7% มีปริมาณกรดเป็น 0.54, 0.612, 1.05 และ 1.404 ตามลำดับที่ระยะเวลาการบ่ม 7 วัน

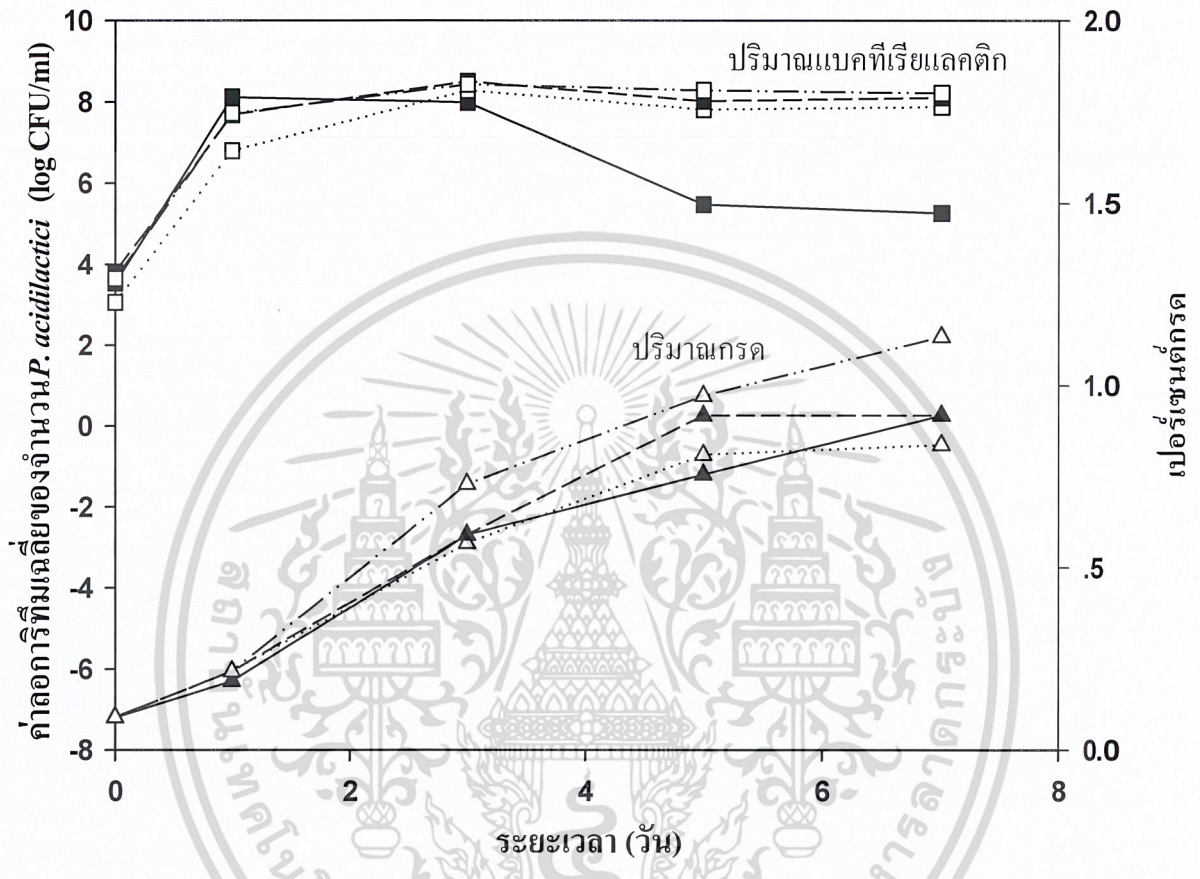


ภาพที่ 2 ผลของสารสกัดกะเพราต่อการเจริญของ *Lactobacillus plantarum* โดยแสดงผลในรูปค่าลอการิทึมเฉลี่ยของจำนวนเชื้อ (log CFU/ml) ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดกะเพรา 0% (—■—), 1% (.....□.....), 3% (---■---) และ 7% (---□---) และผลของสารสกัดกะเพราต่อการผลิตกรดของ *L. plantarum* โดยแสดงผลในรูปเปอร์เซ็นต์กรดที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดกะเพรา 0% (—▲—), 1% (.....△.....), 3% (---▲---) และ 7% (---△---)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

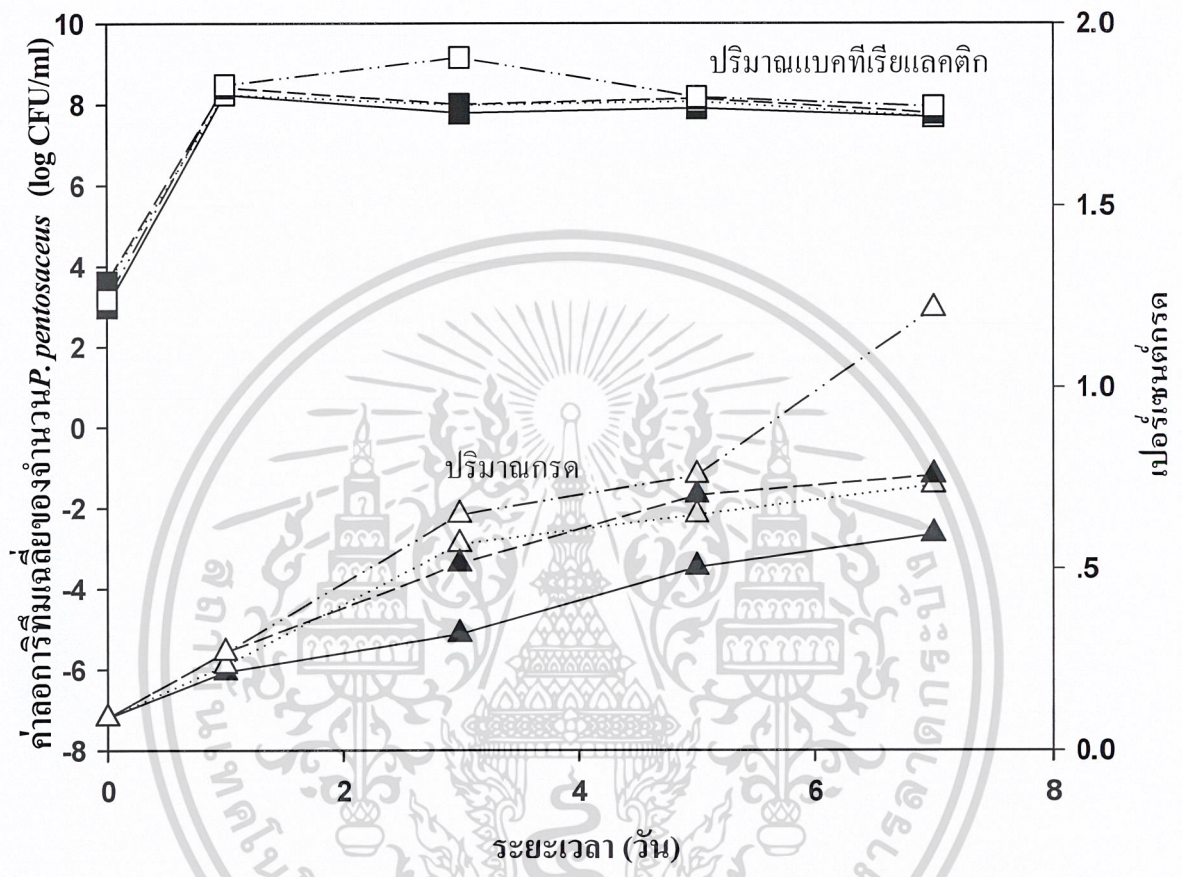


ภาพที่ 3 ผลของสารสกัดกะเพราต่อการเจริญของ *Lactobacillus curvatus* โดยแสดงผลในรูปค่าลอการิทึมเฉลี่ยของจำนวนเชื้อ (log CFU/ml) ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดกะเพรา 0% (—■—), 1% (—□—), 3% (—■—) และ 7% (—□—) และผลของสารสกัดกะเพราต่อการผลิตกรดของ *L. curvatus* โดยแสดงผลในรูปเปอร์เซ็นต์กรดที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดกะเพรา 0% (—▲—), 1% (—△—), 3% (—▲—) และ 7% (—△—)



ภาพที่ 4 ผลของสารสกัดกะเพราต่อการเจริญของ *Pediococcus acidilactici* โดยแสดงผลในรูปค่าลอการิทึมเฉลี่ยของจำนวนเชื้อ (log CFU/ml) ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดกะเพรา 0% (—■—), 1% (—□—), 3% (—■—) และ 7% (—□—) และผลของสารสกัดกะเพราต่อการผลิตกรดของ *P. acidilactici* โดยแสดงผลในรูปเปอร์เซ็นต์กรดที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดกะเพรา 0% (—▲—), 1% (—△—), 3% (—▲—) และ 7% (—△—)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 5 ผลของสารสกัดกะเพราต่อการเจริญของ *Pediococcus pentosaceus* โดยแสดงผลในรูปค่าลอการิทึมเฉลี่ยของจำนวนเชื้อ (log CFU/ml) ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดกะเพรา 0% (—■—), 1% (—□—), 3% (—■—) และ 7% (—□—) และผลของสารสกัดกะเพราต่อการผลิตกรดของ *P. pentosaceus* โดยแสดงผลในรูปเปอร์เซ็นต์กรดที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดกะเพรา 0% (—▲—), 1% (—▲—), 3% (—▲—) และ 7% (—▲—)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการวิเคราะห์หาปริมาณกรดทั้งหมดที่ *L. plantarum* และ *L. curvatus* ผลิตขึ้น พบว่า สารสกัดกะเพรา 7% มีประสิทธิภาพในการกระตุ้นการผลิตกรดของ *L. plantarum* ได้ดี (ภาพที่ 2) คือมีการผลิตกรดเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จากวันที่ 0 ที่มีปริมาณกรด 0.108% จนกระทั่งถึงการบ่มในวันที่ 7 มีปริมาณกรดเพิ่มขึ้นเป็น 1.404% ส่วนการผลิตกรดของ *L. curvatus* ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดกะเพรา 7% (ภาพที่ 3) พบว่ามีปริมาณกรดขึ้นลงไม่คงที่ โดยจากวันที่ 0 มีปริมาณกรด 0.108% เมื่อบ่มจนถึงวันที่ 7 มีการผลิตกรดเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อเทียบกับ *L. plantarum* เมื่อนำปริมาณกรดของเชื้อทั้ง 2 ชนิด มาเปรียบเทียบกัน พบว่า ที่เวลาของการบ่มนาน 7 วัน ในอาหารเหลวที่เติมสารสกัดกะเพราที่ระดับความเข้มข้น 7% สามารถผลิตกรดได้มากกว่า *L. curvatus* อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ดังนั้นในการคัดเลือกแบคทีเรียแลคติกในกลุ่ม *Lactobacillus* จึงควรเลือก *L. plantarum* เนื่องจากสารสกัดกะเพราที่ระดับความเข้มข้น 7% สามารถกระตุ้นการผลิตกรดได้ดีกว่า *L. curvatus*

ในการวิเคราะห์หาปริมาณกรดทั้งหมดที่ *P. acidilactici* และ *P. pentosaceus* ผลิตขึ้น พบว่า สารสกัดกะเพราที่ความเข้มข้น 7% มีประสิทธิภาพในการกระตุ้นการผลิตกรดของ *P. acidilactici* ได้เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ (ภาพที่ 4) จากวันที่ 0 จนถึงการบ่มในวันที่ 7 ซึ่งมีปริมาณกรด 1.13% ส่วนการผลิตกรดของ *P. pentosaceus* ที่ความเข้มข้นของสารสกัดกะเพรา 7% (ภาพที่ 5) พบว่ามีปริมาณกรดค่อยๆ เพิ่มขึ้น และเพิ่มขึ้นอย่างมากในการบ่มวันที่ 7 เมื่อนำปริมาณกรดของเชื้อทั้ง 2 ชนิดมาเปรียบเทียบกัน พบว่า ที่เวลาของการบ่มนาน 7 วัน *P. acidilactici* ในอาหารเหลวที่เติมสารสกัดกะเพราที่ระดับความเข้มข้น 7% สามารถผลิตกรดได้มากกว่า *P. pentosaceus* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังนั้นในการคัดเลือกแบคทีเรียแลคติกในกลุ่ม *Pediococcus* sp. จึงควรเลือกใช้ *P. acidilactici* เนื่องจากสารสกัดกะเพราที่ระดับความเข้มข้น 7% สามารถกระตุ้นการผลิตกรดได้ดีกว่า *P. pentosaceus*

จากการทดลองนี้ซึ่งพบว่าสารสกัดกะเพรามีผลกระตุ้นการเจริญและการผลิตกรดของแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิดที่ทดสอบในอาหารเหลว ซึ่งได้มีผู้รายงานไว้ว่า เครื่องเทศส่วนใหญ่มีผลกระตุ้นการผลิตกรดโดยแบคทีเรีย Zaika และ Kissinger (1979) ได้พบว่าขิง พริกแดง มัสตาร์ด ดอกจันทร์ อบเชย และกานพลู มีผลต่อการกระตุ้นการเจริญและการผลิตกรดของแบคทีเรียแลคติก ซึ่งประกอบด้วย *L. plantarum* และ *P. cerevisiae* ในอาหารเหลว และเช่นเดียวกับ Kissinger และ Zaika (1978) รายงานว่า เครื่องเทศผสมที่ใช้ในการผลิตไส้กรอกหมักเลบานอน โบ โลน่า มีผลกระตุ้นการผลิตกรดโดยกล้าเชื้อผสมของ *L. plantarum* และ *P. cerevisiae* ในอาหารเหลว นอกจากนี้ อติสร (2542) ได้พบว่า การเติมกระเทียมมีส่วนในการเร่งกระบวนการหมักของเชื้อแบคทีเรีย

แลคติกในผลิตภัณฑ์เนื้อ โดยไปเร่งการผลิตกรดแลคติกในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักชนิดแห้งรวมทั้ง

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เหมมด้วย การที่กะเพรามีผลกระตุ้นการเจริญของแบคทีเรียแลคติกอาจเป็นเพราะในใบกะเพรามีสารที่มีประสิทธิภาพต่อการเจริญของแบคทีเรีย คือ α -pinene และ linalool (Lawrence และคณะ, 1971)

4.2 ผลของกะเพร่าต่อการเจริญและการผลิตกรดโดยแบคทีเรียแลคติกในระหว่างการหมักเหมม

จากการทดลองผลิตเหมมทั้ง 4 ชุด โดยเปรียบเทียบการเติมและไม่เติมกะเพร่า และเปรียบเทียบผลของอุณหภูมิในการบ่ม (37 และ 42 องศาเซลเซียส) การเปลี่ยนแปลงของปริมาณแบคทีเรียแลคติกแสดงดังตารางที่ 7 พบว่าเมื่อหมักเหมมทั้ง 4 ชุด นาน 24 ชั่วโมง ปริมาณแบคทีเรียแลคติกเพิ่มขึ้นจาก 10^5 เป็น 10^8 เซลล์ต่อกรัม แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่เมื่อทำการหมักต่อไปจนถึง 72 ชั่วโมง พบว่าเหมมที่เติมกะเพร่าซึ่งบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (เหมมชุดที่ 3) มีปริมาณแบคทีเรียแลคติกสูงกว่าเหมมชุดอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยมีปริมาณแบคทีเรียแลคติกเป็น 3.8×10^{11} เซลล์ต่อกรัม และเมื่อเปรียบเทียบเหมมที่เติมและไม่เติมกะเพร่าซึ่งบ่มที่อุณหภูมิ 37 และ 42 องศาเซลเซียส นาน 36-72 ชั่วโมง ปรากฏว่าเหมมที่บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (เหมมชุดที่ 1 และ 2) มีปริมาณแบคทีเรียแลคติกสูงกว่าเหมมที่บ่มที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส (เหมมชุดที่ 2 และ 4) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) นอกจากนี้ยังสังเกตพบลักษณะปรากฏที่ไม่ดีของเหมมที่บ่มที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส คือมีลักษณะเนื้อสัมผัสที่ยุ่ย มีน้ำออกมามาก และเกิดการบวมของถุงบรรจุเหมม รวมทั้งมีกลิ่นที่ไม่ดีด้วย สำหรับเหมมที่บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสมีลักษณะปรากฏที่ดีกว่า คือมีลักษณะเนื้อสัมผัสที่แน่นกว่า มีการสร้างก๊าซและน้ำออกมามากน้อย และมีกลิ่นของเหมมที่ดีกว่า

ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดและค่าพีเอช แสดงดังตารางที่ 8 จะเห็นได้ว่าปริมาณกรดเพิ่มขึ้นและค่าพีเอชลดลงเมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้น จรูญ (2509) ได้ศึกษาเหมมจากตลาด พบว่าในระยะแรกของการหมักจะมีจุลินทรีย์พวก *Pediococcus* sp. เจริญขึ้นมาก ทำให้เปอร์เซ็นต์กรดสูงขึ้น ค่าพีเอชลดลง และต่อมา *Lactobacillus* sp. จะเจริญต่อหลังจากการเจริญของ *Pediococcus* sp. ลดลง ทำให้เหมมมีค่าพีเอชลดลงยิ่งขึ้น และเปอร์เซ็นต์กรดสูงขึ้นไปอีก สำหรับปริมาณกรดพบว่าในเหมมชุดที่ 3 ซึ่งเป็นเหมมที่เติมกะเพร่า และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส มีปริมาณกรดสูงกว่า (0.54%) เหมมชุดอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อบ่มนาน 72 ชั่วโมงเช่นเดียวกับค่าพีเอชซึ่งมีค่าต่ำที่สุด (3.03) Krockel (1995) ได้กล่าวไว้ว่า กรดแลคติกและกรดแอซิติกเป็นผลิตภัณฑ์หลักในการหมักไส้กรอก และมีผู้รายงานถึงปริมาณกรดทั้ง 2 ชนิดใน

เอกสารนี้ได้รับการสนับสนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) และสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.)

ไมโครโมลต่อกรัมของน้ำหนักไส้กรอกแห้ง (Girard และคณะ, 1989) ดังนั้นจะเห็นได้ว่าปริมาณกรดและค่าพีเอชของแฮมชนิดนี้สอดคล้องกับปริมาณแบคทีเรียแลคติก ซึ่งพบจำนวนเซลล์มากที่สุดเช่นเดียวกัน ซึ่งให้เห็นว่ากะเพราที่เติมลงไปมีผลในการกระตุ้นการเจริญของแบคทีเรียแลคติกเช่นเดียวกับการทดลองของ Zaika และคณะ (1978) พบว่าเครื่องเทศผสมที่ใช้ในการหมักไส้กรอกมีผลช่วยส่งเสริมการหมัก Lebanon Bologna

ตารางที่ 7 ผลของกะเพราต่อการเจริญของแบคทีเรียแลคติกในระหว่างการหมักแฮมที่อุณหภูมิ 37 และ 42 องศาเซลเซียส^a

ระยะเวลาของการหมัก (ชั่วโมง)	ปริมาณแบคทีเรียแลคติก (เซลล์ต่อกรัม)			
	ชุดที่ 1 ^b	ชุดที่ 2 ^c	ชุดที่ 3 ^d	ชุดที่ 4 ^e
0	1.6×10^5 A ^f	1.6×10^5 A	1.4×10^5 B	1.5×10^5 B
12	2.0×10^8 A	1.9×10^8 A	6.3×10^7 C	8.5×10^7 D
24	1.4×10^8 A	1.3×10^8 A	1.5×10^8 A	9.7×10^7 A
36	2.1×10^8 B	1.9×10^8 C	2.4×10^8 A	1.8×10^8 C
48	3.9×10^8 B	3.0×10^8 C	4.5×10^8 A	3.2×10^8 BC
72	3.0×10^{11} B	1.8×10^{11} C	3.8×10^{11} A	1.8×10^{11} C

^a ค่าเฉลี่ยของผลการทดลองทั้ง 3 ซ้ำ

^b แฮมที่ไม่เติมกะเพรา และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

^c แฮมที่ไม่เติมกะเพรา และบ่มที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส

^d แฮมที่มีการเติมกะเพรา 7% และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

^e แฮมที่มีการเติมกะเพรา 7% และบ่มที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส

^f ค่าเฉลี่ยในแต่ละคอลัมน์ (ในแต่ละช่วงเวลาของการหมัก) ที่มีตัวอักษรต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 8 ผลของกะเพราต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรด และค่าพีเอชในระหว่างการหมักเหวม^a

ระยะเวลาของ การหมัก (ชั่วโมง)	ปริมาณกรด (%)				ค่าพีเอช			
	ชุดที่ 1 ^b	ชุดที่ 2 ^c	ชุดที่ 3 ^d	ชุดที่ 4 ^e	ชุดที่ 1 ^b	ชุดที่ 2 ^c	ชุดที่ 3 ^d	ชุดที่ 4 ^e
0	0.11A ^f	0.11A	0.11A	0.11A	5.42A	5.41A	5.45A	5.41A
12	0.11A	0.11A	0.11A	0.11A	4.84A	5.63C	4.84A	5.27B
24	0.22B	0.16C	0.25A	0.22B	4.40B	4.38B	4.17A	4.13B
36	0.27A	0.27A	0.30A	0.30A	4.21C	4.25C	3.84A	4.02B
48	0.32B	0.30B	0.43A	0.39A	3.70B	3.82C	3.24A	3.70B
72	0.36C	0.34C	0.54A	0.43B	3.48B	3.63C	3.03A	3.45B

^a ค่าเฉลี่ยของผลการทดลองทั้ง 3 ซ้ำ

^b เหวมที่ไม่เติมกะเพรา และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

^c เหวมที่ไม่เติมกะเพรา และบ่มที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส

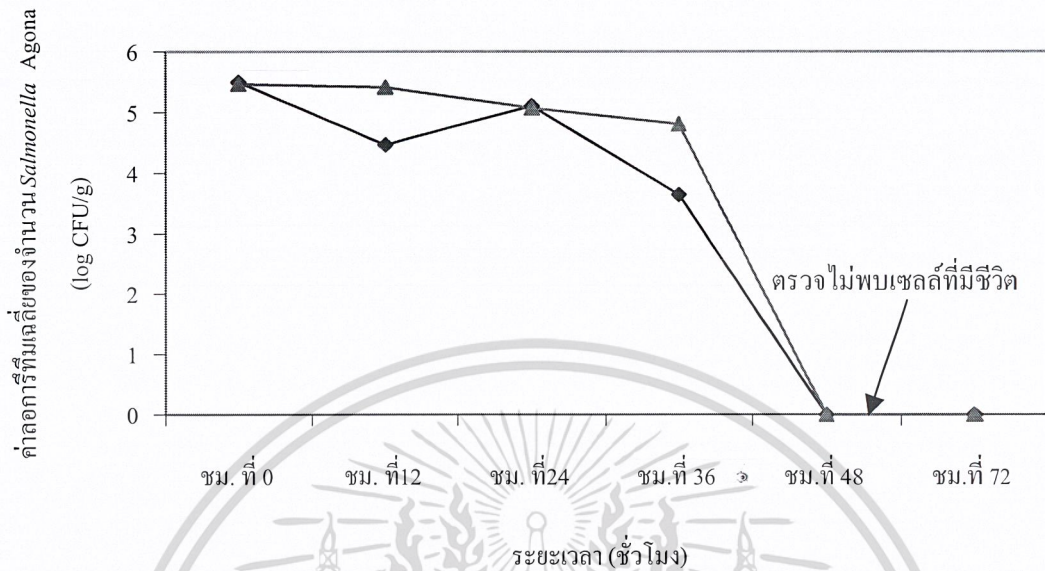
^d เหวมที่มีการเติมกะเพรา 7% และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

^e เหวมที่มีการเติมกะเพรา 7% และบ่มที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส

^f ค่าเฉลี่ยในแต่ละคอลัมน์ (ในแต่ละช่วงเวลาของการหมัก) ที่มีตัวอักษรต่างกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

4.3 ผลของกะเพราต่อการควบคุมเชื้อ *Salmonella Agona* ในระหว่างการหมักเหวม

จากการศึกษาผลของกะเพราต่อการควบคุมเชื้อ *S. Agona* ในระหว่างการหมักเหวม โดยเติมเชื้อ *S. Agona* ลงในเหวมที่ไม่เติมกะเพรา (ชุดที่ 1) และเหวมที่เติมกะเพรา (ชุดที่ 2) ทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 6 จะเห็นได้ว่า *S. Agona* ในเหวมที่เติมกะเพรามีจำนวนลดลงมากกว่าเหวมที่ไม่เติมกะเพราในระหว่างการหมักอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อหมักเหวมนาน 36 ชั่วโมงพบว่า จำนวนเซลล์ของ *S. Agona* ในเหวมที่เติมกะเพราลดลง 2 ช่วง log CFU/g. ขณะที่จำนวน *S. Agona* ในเหวมที่ไม่เติมกะเพราลดลงน้อยกว่า 1 ช่วง log CFU/g. หลังจากนั้นเมื่อหมักนาน 48 ชั่วโมง ตรวจไม่พบ *S. Agona* ในเหวมทั้ง 2 ชุด



ภาพที่ 6 ผลของใบกะเพราต่อการเจริญของ *Salmonella Agona* โดยชุดที่ 1 (◆) เติบโตกะเพราและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และชุดที่ 2 (▲) ไม่เติบโตกะเพราและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

จากภาพที่ 6 พบว่าแผนมชุดที่ 1 เป็นแผนมที่เติบโตกะเพราและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส มีปริมาณเชื้อ *S. Agona* ลดลงประมาณ 2 log cycle ในชั่วโมงที่ 36 ของการบ่ม ส่วนแผนมชุดที่ 2 ซึ่งเป็นแผนมที่ไม่เติบโตกะเพราและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ปริมาณเชื้อ *S. Agona* ลดลงเพียงประมาณ 1 log cycle ดังนั้นกะเพราจึงมีผลในการยับยั้ง *S. Agona* ในการหมักแผนม ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากในกะเพรามีน้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ Sinha และ Gulati (1990) รวมทั้ง Simon และคณะ (1990) ได้รายงานว่ กิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยจากพืชในตระกูล *Ocimum* นั้นเกี่ยวข้องกับองค์ประกอบที่สำคัญในน้ำมันหอมระเหย ซึ่งได้แก่ linalool และ methychavicol นอกจากนี้การที่จำนวนเซลล์ของ *S. Agona* ลดลง อาจเป็นผลมาจากสารยับยั้งในน้ำมันหอมระเหยของกะเพราร่วมกับสารยับยั้งชนิดอื่นๆ ได้แก่ กรดแลคติกที่แบคทีเรียแลคติกผลิตขึ้น ซึ่งเป็นผลให้ค่าพีเอชของแผนมลดลง (Juven และคณะ, 1994 ; Tassou และคณะ, 1995) รวมทั้งกรดอะซิติก เอทานอล ไดอะซีทิล (Diacetyl) แอซีโทอิน (Acetoin) คาร์บอนไดออกไซด์ และแบคทีริโอซิน (Bacteriocin) ที่แบคทีเรียแลคติก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์หรือการขังนี้เพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น มิใช่อนุญาตให้เผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สร้างขึ้น (Krockel, 1995) นอกจากนี้ยังร่วมกับผลการวิจัยโดยโซเดียมคลอไรด์ (Kurita และ Koike, 1982) และกระเทียม (อดิศร, 2542)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาผลของสารสกัดกะเพราที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ คือ 0%, 1%, 3% และ 7% ต่อแบคทีเรียแลคติกทั้ง 4 สายพันธุ์ คือ *L. plantarum*, *L. curvatus*, *P. acidilactici* และ *P. pentosaceus* ในอาหารเหลว พบว่าสารสกัดกะเพราที่ระดับความเข้มข้น 7% สามารถกระตุ้นการเจริญและการผลิตกรดได้ดีกว่าที่ระดับความเข้มข้นอื่นๆ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบการเจริญและการผลิตกรดแลคติกระหว่าง *L. plantarum* และ *L. curvatus* พบว่า *L. plantarum* สามารถเจริญและผลิตกรดได้ดีกว่า *L. curvatus* ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ส่วน *P. acidilactici* และ *P. pentosaceus* พบว่า มีการเจริญใกล้เคียงกัน แต่ *P. acidilactici* สามารถผลิตกรดได้ดีกว่า *P. pentosaceus* ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังนั้นจึงได้คัดเลือกกะเพราที่ระดับความเข้มข้น 7% และกล้ำเชื้อ *L. plantarum* และ *P. acidilactici* เพื่อทำการศึกษาในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก (แหนม) ต่อไป

สำหรับการศึกษาผลของกะเพราต่อการเจริญและการผลิตกรดโดยแบคทีเรียแลคติกในระหว่างการหมักแหนมที่อุณหภูมิ 37 และ 42 องศาเซลเซียส พบว่าแหนมชุดที่ 3 ซึ่งเป็นแหนมที่เติมกะเพรา และแบคทีเรียแลคติก ซึ่งหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส มีการเจริญของแบคทีเรียแลคติกและการผลิตกรดได้ดี รวมทั้งค่าพีเอชลดลงดีกว่าแหนมชุดอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) จึงอาจกล่าวได้ว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักแหนมคือ 37 องศาเซลเซียส ดังนั้นกะเพราจึงมีผลกระตุ้นการเจริญของแบคทีเรียแลคติกในระหว่างการหมัก สำหรับการศึกษาค้นคว้าของกะเพราต่อการควบคุมเชื้อ *S. Agona* ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสที่มีการเติมกะเพรา มีจำนวนเซลล์ของ *S. Agona* ลดลงมากกว่าแหนมที่ไม่เติมกะเพราในระหว่างการหมักอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่า กะเพรามีผลในการยับยั้งการเจริญของ *S. Agona* ในแหนม

จากผลการทดลองดังกล่าว ทำให้สามารถสรุปได้ว่ากะเพราที่ระดับความเข้มข้น 7% มีผลกระตุ้นการเจริญและการผลิตกรดโดยแบคทีเรียแลคติก ถ้าใช้กะเพราที่ระดับความเข้มข้นมากกว่านี้ในแหนม อาจกระตุ้นการเจริญและการผลิตกรดโดยแบคทีเรียแลคติกได้มากขึ้น แต่มีผลเสียคือแหนมที่ได้จะมีสีเข้ม ไม่เป็นที่นิยมของผู้บริโภค เนื่องจากกะเพราที่ใช้เติมลงไปต้องเป็นกะเพราที่นำมาหั่นละเอียดเพื่อให้สารที่มีอยู่ในกะเพราออกมา ซึ่งจะทำให้มีประสิทธิภาพในการกระตุ้นดีกว่ากะเพราที่ไม่ได้หั่น ส่วนอุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักแหนมคือ 37 องศาเซลเซียส เนื่องจากจะได้แหนมที่มีลักษณะเนื้อสัมผัสที่ดีกว่าการหมักที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส นอกจากนี้พบว่าแหนม

เอกสารนี้เป็นทรัพย์สินทางปัญญาของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ห้ามเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ใส่กะเพราจะให้กลิ่นหอมที่แตกต่างจากแหนมปกติ และยังมีผลในการยับยั้งการเจริญของ จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ดังนั้นการนำกะเพรามาประยุกต์ใช้เป็นส่วนผสมใน ผลิตภัณฑ์แหนม นอกจากจะได้แหนมที่มีกลิ่นรสแตกต่างไปจากเดิมแล้ว ยังเป็นการเพิ่มมาตรฐาน และความปลอดภัยต่อผู้บริโภคเพิ่มมากขึ้นด้วย.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กิตติชัย โหบาง, ทัศนพร แก้วทองมา และปฎิมา ลิขิตธรรมนิตย์. 2541. การแยกและคัดเลือกแบคทีเรียแลคติกที่ผลิตสารยับยั้งจุลชีพ. โครงการพิเศษปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

กรุงไกร เจนพาณิชย์. 2519. ฟิชสวนที่ใช้เป็นยา. ปีญญา 4: 19-26.

จิรยุทธ์ ลอยสมุทร. 2540. การยับยั้ง *Salmonella* sp. โดยใช้สาร Chloride Releasing Compound. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

จัญญู คำนวนตา. 2509. การค้นคว้าเรื่องแหนมไทยตอนที่หนึ่งว่าด้วยจุลินทรีย์ที่เป็นตัวการในแหนม. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ณรงค์ นิยมวิทย์ และทัศนีย์ โรจนไพบูลย์. 2527. การผลิตแหนมใส่กรอกอีสาน และปลาส้มแห้ง. โครงการวิจัยที่ คช. 126 ภาควิชาคหกรรมศาสตร์ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ชนพันธุ์ เมธาพิทักษ์. 2537. เครื่องเทศ ชูดสมุนไพร. กรุงเทพฯ หอสมุดกลางมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 09.

บัญญัติ สุขศรีงาม. 2518. ประสิทธิภาพของเครื่องเทศบางชนิดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

บัญญัติ สุขศรีงาม. 2527. เครื่องเทศที่ใช้เป็นสมุนไพร เล่ม 2. กรุงเทพฯ. อมรการพิมพ์.

เปรมศิริ โรจนสังข์จะกุล. 2545. ผลของปริมาณโซเดียมในไตรท์และเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น *Lactobacillus curvatus* ต่อการเกิดสารระเหยในแหนม. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

รดีกร นัทรทอง. 2543. การศึกษาแบคทีเรียแลคติกจากไซเลตที่แสดงกิจกรรม β -Galactosidase และลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เรณู ทวีปชาติวิทยากุล. 2539. ผลของเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นผสมในการหมักแหนมต่อการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella Typhimurium* และ *Salmonella Anatum*. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ในชื่อของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ไม่ให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาตจากมหาวิทยาลัย

รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ. 2540. ฟิชเครื่องเทศและสมุนไพร. กรุงเทพฯ. โอ.เอส. พรินท์ติ้งเฮาส์.

วิลาวณย์ อัจจิมากุล. 2524. การคัดเลือกสายพันธุ์ *Lactobacillus spp.* ที่เหมาะสมต่อการใช้ทดลอง เสริมอาหารสุกรในเชื้อแห้ง. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2518. การศึกษาจุลินทรีย์ที่เป็นตัวการในระหว่างการทำแหนม. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สมหญิง จุ้ยใจตรง. 2520. การสำรวจหาเชื้อซาลโมเนลลาในไส้กรอกในเขตกรุงเทพมหานคร. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุขใจ โสมะจิติ. 2525. การสำรวจเชื้อโรคลำไส้บางชนิด. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อรนุช อุดรภิกษาคติ. 2530. การคัดเลือกแบคทีเรียแลคติกซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อซาลโมเนลลาและการผลิตกลิ่นเหม็นเพื่อใช้หมักแหนม. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อัจฉรา มีवासนา. 2507. ตารางส่วนประกอบอาหารพื้นเมือง. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 6 (3-4): 118-119.

อดิศร เสวตวิวัฒน์. 2542. ผลของน้ำสกัดกระเทียมต่อการเจริญของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกสำหรับผลิตภัณฑ์เนื้อและเชื้อโรคอาหารเป็นพิษที่พบมากในแหนม (ในหลอดทดลอง). วารสารอาหาร ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 29:107-115.

อดิศร เสวตวิวัฒน์. 2533. ผลของการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกต่อซาลโมเนลลาในการหมักแหนม. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อรุณ บ้างตระกูล และคณะ. 2537. Genus *Salmonella*. เอกสารจาก WHO Salmonella and Shigella Center. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข.

Axon, A. T. R. and Poole, D. 1973. Salmonellosis presenting with Cholera-like Diarrhoea. Lancet. 28: 745-746

Burrowes, O. J., Schmidt, F. H., Smith K. L. and Chambers, J. V. 1986. Evaluation of summer sausage manufactured using mixed *Lactobacillus* and *Leuconostoc* starter culture.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

J. Food Prot. 49(4): 280-281

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Bartholomew D. T. and Blumer, T. N. 1980. Inhibition of *Staphylococcus* by Lactic Acid Bacteria in country style ham. *J. Food Sci.* 45: 420-430.
- Dubois, G. H., Beaumier and Charbonneau, R. 1979. Inhibition of bacteria isolated on ground meat by Streptococcaceae and Lactobacillaceae. *J. Food Sci.* 44: 1649-1652.
- Ellgayyar, M., Draughon, F. A., Golden, D. A. and Mount, J. F. 2001. Antimicrobial Activity of Essential oils From Plants against Selected Pathogenic and Saprophytic Microorganisms. *J. Food Prot.* 64(7): 1019-1024.
- Fuller, R. 1986. Probiotics. In: *Microorganisms in Agriculture*, pp. 1s-7s. Marry, B., Benham C. L. and Skinner F.A. eds. Oxford, UK: Blackwell Scientific Publication.
- Garriga, M., Hugas, M., Gou, P., Aymerich, M. T., Arnau, J. and Monfort, J.M. 1996. Technological and sensorial evaluation of *Lactobacillus* strains as starter cultures in fermented sausages. *J. Food Microbiol.* 32: 173-183.
- Gilliland, S. E. 1985. *Bacterial Starter Cultures for Foods*. Florida: CRC. Press Inc.
- Girard, J. P., Buchard, C., Berdague, J. L. and Ramihone, M. 1989. Einfluss ungesättigter Fette auf Abtrochnungs und Fermentation svorgange von Rohwurst. *Fleischwirtschaft* 69: 255-260
- Goepfert, J. M. and Chung, G. T. 1970. Growth of *Salmonella* at low pH. *J. Food Sci.* 35: 326-328.
- Hammes, W. P., Bantleon, A. and Min, S. 1990. Lactic acid bacteria in meat fermentation. *FEMS Microbiol. Rev.* 87: 165-174. Cited Samelis, J., Maurogenakis, F. and Metaxopoulos, J. Characterization of lactic acid bacteria isolated from naturally fermented Greek dry salami. *J. Food Microbiol.* 23: 179-196.
- H-kittikun, A., Wiriyaacharee, P. and Rujannakraikarn, L. 1988. Nham (Thai fermented pork) making with starter cultures. Symposium on Proceedings 34th International Congress of Meat Science and Technology. Australia: Brisbane.
- Hugas, M., Garriga, M., Aymerich, T. and Monfort, J. M. 1993. Biochemical characterization of lactobacilli isolated from dry sausage. *J. Food Microbiol.* 18: 107-113.
- Inoue, Y., Takano, M. and Shibasaki, I. 1980. Antagonistic action of lactic acid bacteria from Nham toward food-deteriorating bacteria. *Microbial Utilization of Renewable Resources.*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ 108-115.ไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Jung, Y.S., and Beuchat, L.R. 1999. Survival of multidrug-resistant *Salmonella* Typhimurium DT 104 in egg powders as affected by water activity and temperature. *Food Microbiol.* 49: 1-8
- Juven, B. J., Kanner J., Schved, F. and Weisslowicz, H. 1994. Factors that interact with the antimicrobial action thyme essential oil and its active constituents. *J. Appl Bact.* 76: 626-631.
- Kauffmann-White scheme, Popoff and Le Minor. 1997. Who Center for Reference and Research on *Salmonella*. France: Institute Pasteur.
- Krockel, L. 1995. Bacterial fermentation of meats. In: *Ferment meat*. pp. 69-109. Campbell-Platt, G. and Cook, P. E. eds. Glasgow: Blackie Academic and Professional.
- Kurita, N. and Koike, S. 1982. Synergistic antimicrobial effect of Sodium chloride and essential oil components. *J. Agr Bio Chem.* 46: 159-165.
- Lachowicz, K. J., Jones, G. P., Briggs, D. R., Bienvenu, F. E., Wan, J., Wilcock, A. and Conventry, M. J. 1998. The synergistic preservative effects of essential oil of sweet basil (*Ocimum basilicum*) against acid-tolerant food microflora. *Letter in Appl Micro.* 26: 209-216
- Laura L. Zaika, Tatiana E. Zell, Palumbo, A. and Smith J. L. 1978. USDA Eastern Region & Research Center. Philadelphia: ARS.
- Laura L. Zaika and John C. Kissinger. 1978. Effect of Major Spices in Lebanon Bologna on Acid Production by Starter Culture Organisms. *J. Food Prot.* 41(6): 429-431.
- Laura L. Zaika, John C. Kissinger and Aaron E. Wasserman. 1979. Effects of Some Spices on Acid Production by Starter Culture. *J. Food Prot.* 42(7): 572-576.
- Lawrence, Brain M., James, W. Hoggo, Stuart J. Terhune and Nitasha Pichitakul 1971. The chemical composition of *Ocimum Basilicum* and *Ocimum Sanctum*. Bangkok: ASRCT.
- Lothong, N., Sunthornandh, P., Daengsubha, W. and Utarapicchat, O. 1987. Microbial quality and Safety of traditional fermented pork: II Selection of *Salmonella* inhibiting lactic acid bacteria for Naem fermentation. Thailand-ASEAN Food Technology Research and Development project.

- Masters, B. A., Oblinger, J. L., Goodfellow, S. J., Bacus, J. N. and Brown, W.L. 1981. Fate of *Salmonella* Newport and *Salmonella* Typhimurium inoculated into summer sausage. *J. Food Prot.* 44 (7): 527-530
- Oblinger, J. L. and Kennedy, J. E., 1980. Microbiological evaluation of selected delicatessen meats from retail supermarkets. *J. Food Prot.* 43(7): 530-533
- Orla-Jessen. 1919. *The Lactic Acid Bacteria*. Copehegen: Fred Host and San.
- Phan-Uri, R. 1978. Occurrence of *Salmonella* in common food stuffs in Bangkok. *Gastrointestinal Infection in Southeast Asia.* 3: 59-63
- Price, J. F. and Schweigert, B. S. 1971. *The science of meat and meat products*. San Francisco: W. H. Freeman and Company.
- Quisumbing, Eduardo. 1951. *Medicinal Plants of The Philippines*. Manila: Bureau of Printing.
- Raccach, M. and Baker, R. C. 1978. Lactic acid bacteria as an antispoilage and safety factor in cooked, mechanically deboned poultry meat. *J. Food Prot.* 40: 549-551.
- Schillinger, U. and Lucke, F. K. 1989. Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat. *Appl. Environ. Microbiol.* 55:1901-1906. Cited Samelis, J., Maurogenakis, F. and Metaxopoulos, J. Characterization of lactic acid bacteria isolated from naturally fermented Greek dry salami. *J. Food Microbiol.* 23: 179-196.
- Smith, J. L. , Palumbo, S. A., Kissinger, J. C. and Huhtanen, C. W. 1975. Survival of *Salmonella* during Peperoni manufacture. *J. Appl Microbiol.* 30 (5): 759-763.
- Smith, J. L. , Palumbo, S. A., Kissinger, J. C. and Huhtanen, C. W. 1975. Survival of *Salmonella* Dublin and *Salmonella* Typhimurium in Lebanon Bologna. *Milk Food Technol.* 38: 150-154
- Smith, J. L. and Palumbo, S. A. 1981. Microorganisms as food additives. *J. Food Prot.* 44: 936-937
- Simon, J.E., Quinn, J. and Murray, R. G. 1990. Basil : a source of essential oils. In: *Advances in New Crops*, pp. 484-489. Janik, J. and Simon, J. E eds. Portland Oregon: Timber Press.
- Sinha, G. K. and Gulati, B. C. 1990. Antibacterial and antifungal study of some essential oils and some of their constituents. *Indian perfumer.* 34: 126-129.

- Stile, M. E. and Hasting, J. W. 1991. Bacteriocin production by lactic acid bacteria : potential for use in meat preservation. *Trands Food Sci. Technol.* 1: 247-251. Cited Samelis, J., Maurogenakis, F. and Metaxopoulus, J. Characterization of lactic acid bacteria isolated from naturally fermented Greek dry salami. *J. Food Microbiol.* 23: 179-196.
- Stile, M. E. and Wilhelm. H. Holzapfel. 1997. Lactic Acid Bacteria of food and their current taxonomy. *J. Food Microbiol.* 36: 1-29.
- Srisomwong, P. 1985. The Study of lactic acid bacteria in Nham. A Project Rp. Submittd in Partial Fulfillmnt of th requirements of the Award of M. Appl. Sci. Univ. New south Wales. Australia.
- Swetwiwathana, A., Leutz, U., Lotong, N. and Fischer. 1989. Controlling the growth of *Salmonella* Anatum in Nham. *Fleischwirtschaft.* 9: 124-128.
- Swetwiwathana, A., Chungsamankool, P., Wongsommart, D., Bangtrakulnonth, A. and Pornruangwong, S. 1994. Comparison of salmosyst enrichment and conventional methods for detection of Salmonellae in foods. In: Proceeding of UNESCO SEA Regional Training Workshop on Rapid Methods in Microbiology and Biotechnology. Bangkok: Kasetsart University.
- Swetwiwathana, A. and Bangtrakulnonth, A. 1996. Evaluation of salmonellocyst enrichment procedure plus rambach agar for detection of Salmonellae in Nham. In: The 34th Annual Conference Proceeding. Bangkok: Kasetsart University.
- Tanaka, N., Traisman, E., Lee, M.H., Cassens, R. G. and Foster, E. M. 1980. Inhibition of botulinum toxin formation in bacon by acid development. *J. Food Prot.* 43: 450-452.
- Tanasupawat, S. and Daengsubha, W. 1983. *Pediococcus* species and related bacterial found in fermented foods and related materials in Thailand. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 29: 487-506.
- Taylor, J. and McCoy, J. M. 1969. Food-Borne Infections and Intoxications. London: Academic Press.
- Tassou, C.C., Drosinos, E.H. and Nychas, G. J. E. 1995. Effect of oil from mint (*Mentha piperita*) on *Salmonella* Enteridis and *Listeria monocytogenes* in model food systems at 4 °C and 10 °C. *J. Appl Bact.* 78: 593-600.
- Wood, B. J. B. and Holzapfel W. H. 1995. The Genera of Lactic Acid Bacteria Blackie.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
Glasgow: Academic and Professional.

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Zaika, L. L., Zell, T. E., Smith, J. L., Palumbo, S. A. and Kissinger, J. C. 1976. The role of nitrite and nitrate in Lebanon bologna, a ferment sausage. *J. Food Sci.* 41: 1457-1460



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การหาปริมาณกรดแลคติก (อรนุช, 2530)

1.1 สารเคมี

- น้ำปลอดคาร์บอนไดออกไซด์ เตรียมโดยนำน้ำกลั่นมาต้มให้เดือด 20 นาที

- สารละลายมาตรฐาน 0.1 N NaOH เตรียมจาก NaOH 4 กรัม เติมน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร เก็บไว้ในขวดพลาสติก ก่อนใช้นำมาหาความเข้มข้นมาตรฐานก่อน

การหาความเข้มข้นมาตรฐานของ 0.1 N NaOH โดยชั่ง Acid potassium phthalate (อบ 2 ชั่วโมง ที่ 120 องศาเซลเซียส แล้วทำให้เย็นในโถอบแห้ง) อย่างละเอียดประมาณ 0.3 กรัม เติมน้ำลงในขวดขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำปลอดคาร์บอนไดออกไซด์ 50 มิลลิลิตร เมื่อ Acid potassium phthalate ($\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$) ละลายจึงเติมฟีนอล์ฟทาเลอิน 3 หยด แล้วไตเตรทด้วยสารละลาย 0.1 N NaOH ความเข้มข้นมาตรฐานคำนวณได้จากสูตร

$$\text{ความเข้มข้นมาตรฐาน (N)} = \frac{\text{กรัม KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4 \text{ (g.)} \times 1000}{\text{ปริมาตรของ NaOH (ml.)} \times 204.229}$$

- สารละลายฟีนอล์ฟทาเลอิน (Phenolphthalein) ชั่ง 1 กรัม ฟีนอล์ฟทาเลอินละลายในเอทานอล 95% ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

1.2 วิธีวิเคราะห์

นำตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร มาเจือจางด้วยน้ำปลอดคาร์บอนไดออกไซด์ เติมน้ำฟีนอล์ฟทาเลอิน 3 หยด แล้วไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐาน 0.1 N NaOH จนถึง end point สีชมพู ปริมาณกรดคำนวณเป็นกรดแลคติกตามสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก (\%)} = \frac{\text{N} \times \text{V} \times 90.01 \times 100}{1000 \times 1}$$

กำหนดให้ N = ความเข้มข้นมาตรฐาน 0.1 N NaOH (นอร์มอล)

V = จำนวนมิลลิลิตรของสารละลายมาตรฐาน 0.1 N NaOH (มิลลิลิตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์หรือทรัพย์สินทางปัญญา ห้ามนำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์

ตารางที่ 9 ปริมาณแบคทีเรียแลคติกระหว่างการบ่มในอาหารเหลว

ชนิดของ แบคทีเรียแลคติก	ความเข้มข้นของ สารสกัดกะเพรา (เปอร์เซ็นต์)	ปริมาณแบคทีเรียแลคติก (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				
		วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 3	วันที่ 5	วันที่ 7
<i>L. plantarum</i>	0	9.8×10^2	4.2×10^7	4.1×10^7	4.1×10^6	3.0×10^6
	1	7.9×10^3	1.5×10^8	5.1×10^7	1.6×10^7	5.6×10^6
	3	5.4×10^3	7.4×10^7	7.1×10^7	7.6×10^7	2.6×10^7
	7	6.3×10^3	3.5×10^8	9.2×10^7	8.8×10^7	3.9×10^7
<i>L. curvatus</i>	0	4.0×10^2	1.1×10^7	5.2×10^4	3.7×10^2	2.7×10^2
	1	3.1×10^2	3.5×10^7	7.4×10^4	8.8×10^2	5.3×10^2
	3	2.7×10^2	6.2×10^7	6.7×10^6	1.0×10^4	8.8×10^2
	7	3.2×10^2	3.4×10^8	9.9×10^6	1.5×10^4	6.7×10^3
<i>P. acidilactici</i>	0	3.3×10^3	1.3×10^6	1.0×10^7	3.0×10^5	3.9×10^5
	1	1.1×10^3	7.3×10^7	1.9×10^8	6.4×10^7	7.3×10^7
	3	6.1×10^3	5.2×10^7	2.8×10^8	1.0×10^8	1.2×10^8
	7	4.0×10^3	5.4×10^7	2.6×10^8	1.9×10^8	1.6×10^8
<i>P. pentasaceus</i>	0	9.7×10^2	1.8×10^8	6.2×10^7	8.1×10^7	6.4×10^7
	1	3.3×10^3	1.7×10^8	9.4×10^7	1.2×10^8	6.5×10^7
	3	3.8×10^3	2.6×10^8	2.6×10^8	1.3×10^8	6.7×10^7
	7	2.7×10^3	3.1×10^8	1.4×10^9	1.5×10^8	8.4×10^7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์

ตารางที่ 9 ปริมาณแบคทีเรียแลคติกระหว่างการบ่มในอาหารเหลว

ชนิดของ แบคทีเรียแลคติก	ความเข้มข้นของ สารสกัดกะเพรา (เปอร์เซ็นต์)	ปริมาณแบคทีเรียแลคติก (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				
		วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 3	วันที่ 5	วันที่ 7
<i>L. plantarum</i>	0	9.8×10^2	4.2×10^7	4.1×10^7	4.1×10^6	3.0×10^6
	1	7.9×10^3	1.5×10^8	5.1×10^7	1.6×10^7	5.6×10^6
	3	5.4×10^3	7.4×10^7	7.1×10^7	7.6×10^7	2.6×10^7
	7	6.3×10^3	3.5×10^8	9.2×10^7	8.8×10^7	3.9×10^7
<i>L. curvatus</i>	0	4.0×10^2	1.1×10^7	5.2×10^4	3.7×10^2	2.7×10^2
	1	3.1×10^2	3.5×10^7	7.4×10^4	8.8×10^2	5.3×10^2
	3	2.7×10^2	6.2×10^7	6.7×10^6	1.0×10^4	8.8×10^2
	7	3.2×10^2	3.4×10^8	9.9×10^6	1.5×10^4	6.7×10^3
<i>P. acidilactici</i>	0	3.3×10^3	1.3×10^6	1.0×10^7	3.0×10^5	3.9×10^5
	1	1.1×10^3	7.3×10^7	1.9×10^8	6.4×10^7	7.3×10^7
	3	6.1×10^3	5.2×10^7	2.8×10^8	1.0×10^8	1.2×10^8
	7	4.0×10^3	5.4×10^7	2.6×10^8	1.9×10^8	1.6×10^8
<i>P. pentasaceus</i>	0	9.7×10^2	1.8×10^8	6.2×10^7	8.1×10^7	6.4×10^7
	1	3.3×10^3	1.7×10^8	9.4×10^7	1.2×10^8	6.5×10^7
	3	3.8×10^3	2.6×10^8	2.6×10^8	1.3×10^8	6.7×10^7
	7	2.7×10^3	3.1×10^8	1.4×10^9	1.5×10^8	8.4×10^7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 10 ปริมาณแบคทีเรียแลคติกในระหว่างการหมักเหวม

แหนมชุดที่	ปริมาณแบคทีเรียแลคติก (เซลล์ต่อกรัม)					
	ชั่วโมงที่					
	0	12	24	36	48	72
1	1.6×10^5	2.0×10^8	1.4×10^8	2.1×10^8	3.9×10^8	3.0×10^{11}
2	1.6×10^5	1.9×10^8	1.3×10^8	1.9×10^8	3.0×10^8	1.8×10^{11}
3	1.4×10^5	6.3×10^7	1.5×10^8	2.4×10^8	4.5×10^9	3.8×10^{11}
4	1.5×10^5	8.5×10^7	9.7×10^7	1.8×10^8	3.2×10^8	1.8×10^{11}

ชุดที่ 1 คือ แหนมที่ไม่เติมกะเพราและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

ชุดที่ 2 คือ แหนมที่ไม่เติมกะเพราและบ่มที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส

ชุดที่ 3 คือ แหนมที่มีการเติมกะเพรา 7% และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

ชุดที่ 4 คือ แหนมที่มีการเติมกะเพรา 7% และบ่มที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 11 ปริมาณเชื้อ *Salmonella Agona* ในระหว่างการหมักเหวม

แหนมชุดที่	ปริมาณเชื้อ <i>S. Agona</i> (เซลล์ต่อกรัม)					
	ชั่วโมงที่					
	0	12	24	36	48	72
1	3.2×10^5	2.9×10^4	1.3×10^4	4.5×10^3	<10	<10
2	3.0×10^5	2.6×10^4	1.2×10^5	6.4×10^3	<10	<10

ชุดที่ 1 คือ แหนมที่ไม่เติมกะเพรา ใส่เชื้อ *Salmonella* และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

ชุดที่ 2 คือ แหนมที่เติมกะเพรา 7% ใส่เชื้อ *Salmonella* และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์ผลทางเคมี

ตารางที่ 12 ปริมาณกรดแลคติกระหว่างการบ่มในอาหารเหลว

ชนิดของ แบคทีเรียแลคติก	ความเข้มข้นของ สารสกัดกะเพรา (เปอร์เซ็นต์)		ปริมาณกรดแลคติก (เปอร์เซ็นต์)			
	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 3	วันที่ 5	วันที่ 7	
<i>L. plantarum</i>	0	0.11	0.20	0.32	0.35	0.54
	1	0.11	0.27	0.52	0.61	0.61
	3	0.11	0.27	0.68	0.84	1.05
	7	0.11	0.30	0.97	1.30	1.40
<i>L. curvatus</i>	0	0.11	0.16	0.18	0.22	0.27
	1	0.11	0.20	0.32	0.34	0.43
	3	0.11	0.22	0.32	0.32	0.32
	7	0.11	0.30	0.49	0.43	0.65
<i>P. acidilactici</i>	0	0.11	0.18	0.59	0.76	0.90
	1	0.11	0.22	0.57	0.78	0.84
	3	0.11	0.22	0.59	0.92	0.92
	7	0.11	0.22	0.73	0.97	1.13
<i>P. pentasaceus</i>	0	0.11	0.22	0.32	0.50	0.59
	1	0.11	0.23	0.57	0.65	0.73
	3	0.11	0.27	0.51	0.70	0.76
	7	0.11	0.27	0.65	0.76	1.22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 13 ปริมาณกรดแลกติกในระหว่างการหมักແໜມ

ແໜມສຸດທີ່	ปริมาณกรดแลกติก (เปอร์เซ็นต์)					
	ชั่วโมงที่					
	0	12	24	36	48	72
1	0.11	0.11	0.22	0.27	0.32	0.36
2	0.11	0.11	0.16	0.27	0.30	0.34
3	0.11	0.11	0.25	0.30	0.43	0.54
4	0.11	0.11	0.22	0.30	0.39	0.43

ສຸດທີ່ 1 ຄື ແໜມທີ່ບໍ່ເຕີມກະເພາແລະບໍ່ມີອຸນຫຼັງ 37 ອົງສາເສລເຊີສ

ສຸດທີ່ 2 ຄື ແໜມທີ່ບໍ່ເຕີມກະເພາແລະບໍ່ມີອຸນຫຼັງ 42 ອົງສາເສລເຊີສ

ສຸດທີ່ 3 ຄື ແໜມທີ່ມີການເຕີມກະເພາ 7% ແລະບໍ່ມີອຸນຫຼັງ 37 ອົງສາເສລເຊີສ

ສຸດທີ່ 4 ຄື ແໜມທີ່ມີການເຕີມກະເພາ 7% ແລະບໍ່ມີອຸນຫຼັງ 42 ອົງສາເສລເຊີສ

ตารางที่ 14 ค่าพีเอชในระหว่างการหมักແໜມ

ແໜມສຸດທີ່	ค่าพีเอช					
	ชั่วโมงที่					
	0	12	24	36	48	72
1	5.43	4.84	4.40	4.22	3.70	3.48
2	5.43	5.63	4.38	4.25	3.82	3.63
3	5.43	4.84	4.17	3.84	3.24	3.04
4	5.43	5.27	4.32	4.02	3.70	3.46

ສຸດທີ່ 1 ຄື ແໜມທີ່ບໍ່ເຕີມກະເພາແລະບໍ່ມີອຸນຫຼັງ 37 ອົງສາເສລເຊີສ

ສຸດທີ່ 2 ຄື ແໜມທີ່ບໍ່ເຕີມກະເພາແລະບໍ່ມີອຸນຫຼັງ 42 ອົງສາເສລເຊີສ

ສຸດທີ່ 3 ຄື ແໜມທີ່ມີການເຕີມກະເພາ 7% ແລະບໍ່ມີອຸນຫຼັງ 37 ອົງສາເສລເຊີສ

ເອກສາຍສຸດທີ່ 4 ຄື ແໜມທີ່ມີການເຕີມກະເພາ 7% ແລະບໍ່ມີອຸນຫຼັງ 42 ອົງສາເສລເຊີສ ໄປໃຊ້ປະໂຫຍດດ້ານການຄ້າ

ໄດ້ຮັບການອະນຸຍາດໃຫ້ໃຊ້ ບໍ່ວ່າຮູບແບບໃດ ທັງສິນ ອີກທັງ ຫ້າມມີໃຫ້ດັດແປງເນື້ອຫາ ແລະ ຕ້ອງອ້າງອິງເຊິ່ງເຈົ້າຂອງເອກສາຍທຸກຄັ້ງທີ່ມີການນຳໄປໃຊ້

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ตารางที่ 15 การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณเชื้อ *Lactobacillus plantarum* ในอาหารเหลวที่มีการเติมสารสกัดกะเพราที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ข้อมูล	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 3	วันที่ 5	วันที่ 7
Lp/0%	2.98 C	7.62 D	7.61 C	6.61 D	6.47 D
Lp/1%	3.90 A	8.17 B	7.69 C	7.20 C	6.74 C
Lp/3%	3.73 B	7.87 C	7.85 B	7.87 B	7.41 B
Lp/7%	3.79 B	8.53 A	8.96 A	8.95 A	7.55 A

ตารางที่ 16 การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณเชื้อ *Lactobacillus curvatus* ในอาหารเหลวที่มีการเติมสารสกัดกะเพราที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ข้อมูล	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 3	วันที่ 5	วันที่ 7
Lc/0%	2.60 A	7.02 D	4.71 D	2.56 D	2.43 D
Lc/1%	2.49 BC	7.54 C	4.87 C	2.94 C	2.73 C
Lc/3%	2.42 C	7.79 B	6.82 B	4.01 B	2.94 B
Lc/7%	2.51 B	8.54 A	6.99 A	4.18 A	3.83 A

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 17 การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณเชื้อ *Pediococcus acidilactici* ในอาหารเหลวที่มีการเติมสารสกัดกะเพราที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ข้อมูล	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 3	วันที่ 5	วันที่ 7
Pa/0%	3.51 C	8.11 A	7.99 C	5.47 D	4.59 D
Pa/1%	3.04 D	7.83 AB	8.27 B	7.79 C	7.86 C
Pa/3%	3.78 A	7.70 B	8.45 A	8.01 B	8.07 B
Pa/7%	3.60 B	7.72 B	8.42 A	8.28 A	8.20 A

ตารางที่ 18 การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณเชื้อ *Pediococcus pentasaceus* ในอาหารเหลวที่มีการเติมสารสกัดกะเพราที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ข้อมูล	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 3	วันที่ 5	วันที่ 7
Pp/0%	2.98 D	8.23 B	7.79 D	7.91 C	7.80 B
Pp/1%	3.51 B	8.23 B	7.97 C	8.03 B	7.81 AB
Pp/3%	3.58 A	8.41 A	8.41 B	8.12 A	7.83 AB
Pp/7%	3.44 C	8.50 A	9.16 A	8.19 A	7.92 A

ตารางที่ 19 การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณกรดที่ผลิตจาก *Lactobacillus plantarum* ในอาหารเหลวที่มีการเติมสารสกัดกะเพราที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ข้อมูล	วันที่ 1	วันที่ 3	วันที่ 5	วันที่ 7
Lp/0%	0.18 A	0.32 D	0.35 D	0.54 C
Lp/1%	0.27 A	0.52 C	0.61 C	0.61 C
Lp/3%	0.27 A	0.68 B	0.84 B	1.05 B
Lp/7%	0.29 A	0.97 A	1.30 A	1.40 A

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 20 การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณกรดที่ผลิตจาก *Lactobacillus curvatus* ในอาหารเหลวที่มีการเติมสารสกัดกะเพราที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ข้อมูล	วันที่ 1	วันที่ 3	วันที่ 5	วันที่ 7
Lc/0%	0.16 C	0.18 C	0.22 C	0.27 D
Lc/1%	0.20 BC	0.32 B	0.34 B	0.43 B
Lc/3%	0.22 B	0.32 B	0.32 B	0.32 C
Lc/7%	0.29 A	0.49 A	0.43 A	0.65 A

ตารางที่ 21 การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณกรดที่ผลิตจาก *Pediococcus acidilactici* ในอาหารเหลวที่มีการเติมสารสกัดกะเพราที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ข้อมูล	วันที่ 1	วันที่ 3	วันที่ 5	วันที่ 7
Pa/0%	0.18 B	0.59 B	0.76 B	0.90 B
Pa/1%	0.216 A	0.57 B	0.79 B	0.84 B
Pa/3%	0.216 A	0.59 B	0.92 AB	0.92 B
Pa/7%	0.216 A	0.73 A	0.97 A	1.13 A

ตารางที่ 22 การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณกรดที่ผลิตจาก *Pediococcus pentosaceus* ในอาหารเหลวที่มีการเติมสารสกัดกะเพราที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ข้อมูล	วันที่ 1	วันที่ 3	วันที่ 5	วันที่ 7
Pp/0%	0.22 A	0.32 C	0.50 C	0.59 B
Pp/1%	0.23 A	0.57 AB	0.65 B	0.73 B
Pp/3%	0.27 A	0.51 B	0.70 AB	0.76 B
Pp/7%	0.27 A	0.65 A	0.76 A	1.22 A

เอกสารนี้เป็น *Pp/7%* ที่สงวนไว้สำหรับใช้งานเพื่อการค้าเท่านั้น ไม่อนุยให้นำไปใช้ประโยชน์อื่นใด การค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 23 การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณเชื้อระหว่าง *Lactobacillus plantarum* และ *Lactobacillus curvatus* ในอาหารเหลวที่มีการเติมสารสกัดกะเพราที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ข้อมูล	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 3	วันที่ 5	วันที่ 7
Lp / 0%	2.98 B	7.62 B	7.60 B	6.61 B	6.46 B
Lp / 1%	3.89 A	8.17 B	7.69 B	7.20 B	6.74 B
Lp / 3%	3.72 B	7.86 B	7.84 B	7.87 B	7.41 B
Lp / 7%	3.78 B	8.53 A	8.96 A	8.94 A	7.55 A
Lc / 0%	2.60 B	7.02 B	4.71 B	2.56 B	2.43 B
Lc / 1%	2.49 BC	7.53 B	4.87 B	2.94 B	2.72 B
Lc / 3%	2.42 C	7.79 B	6.82 B	4.01 B	2.94 B
Lc / 7%	2.50 B	8.53 A	6.98 B	4.18 B	3.82 B

ตารางที่ 24 การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณกรดที่ผลิตขึ้นระหว่าง *Lactobacillus plantarum* และ *Lactobacillus curvatus* ในอาหารเหลวที่มีการเติมสารสกัดกะเพราที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DMRT ที่ระดับ ความเชื่อมั่น 95%

ข้อมูล	วันที่ 1	วันที่ 3	วันที่ 5	วันที่ 7
Lp / 0%	0.16 C	0.32 B	0.35 B	0.54 BC
Lp / 1%	0.19 BC	0.52 B	0.61 B	0.61 B
Lp / 3%	0.21 BC	0.67 B	0.83 AB	1.05 B
Lp / 7%	0.29 A	0.97 A	1.29 A	1.40 A
Lc / 0%	0.18 BC	0.18 B	0.68 B	0.27 E
Lc / 1%	0.27 AB	0.32 B	0.34 B	0.43 CD
Lc / 3%	0.27 AB	0.32 B	0.32 B	0.32 DE
Lc / 7%	0.29 A	0.48 B	0.43 B	0.64 B

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 25 การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณเชื้อระหว่าง *Pediococcus acidilactici* และ *Pediococcus pentosaceus* ในอาหารเหลวที่มีการเติมสารสกัดกะเพราที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ข้อมูล	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 3	วันที่ 5	วันที่ 7
<i>Pa</i> / 0%	3.51 B	8.10 C	7.99 B	5.47 B	4.58 C
<i>Pa</i> / 1%	3.03 B	7.83 D	8.27 B	7.79 B	7.85 BC
<i>Pa</i> / 3%	3.78 A	7.70 D	8.45 B	8.01 B	8.07 B
<i>Pa</i> / 7%	3.60 B	7.71 D	8.41 B	8.28 A	8.19 A
<i>Pp</i> / 0%	2.98 B	8.23 BC	7.79 B	7.90 B	7.80 C
<i>Pp</i> / 1%	3.50 B	8.23 BC	7.97 B	8.02 B	7.81 C
<i>Pp</i> / 3%	3.58 B	8.41 B	8.41 B	8.12 B	7.82 C
<i>Pp</i> / 7%	3.43 B	8.49 A	9.15 A	8.18 AB	7.92 B

ตารางที่ 26 การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณกรดที่ผลิตขึ้นระหว่าง *Pediococcus acidilactici* และ *Pediococcus pentosaceus* ในอาหารเหลวที่มีการเติมสารสกัดกะเพราที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ด้วยวิธี DMRT ที่ระดับ ความเชื่อมั่น 95%

ข้อมูล	วันที่ 1	วันที่ 3	วันที่ 5	วันที่ 7
<i>Pa</i> / 0%	0.18 B	0.59 BC	0.75 BC	0.89 B
<i>Pa</i> / 1%	0.21 AB	0.56 BC	0.79 B	0.83 B
<i>Pa</i> / 3%	0.21 AB	0.59 BC	0.91 A	0.91 B
<i>Pa</i> / 7%	0.21 AB	0.72 A	0.97 A	1.13 A
<i>Pp</i> / 0%	0.21 AB	0.32 C	0.50 C	0.59 C
<i>Pp</i> / 1%	0.23 AB	0.56 BC	0.64 C	0.72 BC
<i>Pp</i> / 3%	0.27 A	0.51 C	0.70 BC	0.75 BC
<i>Pp</i> / 7%	0.27 A	0.64 AB	0.75 BC	1.21 A

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 27 การเปรียบเทียบความแตกต่างของการเติมและไม่เติมกะเพราต่อการเจริญของ *Salmonella Agona* ในแฮมม โดยหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่ระดับความชื้น 95%

ข้อมูล	ชม. ที่ 0	ชม. ที่ 12	ชม. ที่ 24	ชม. ที่ 36
ชุดที่ 1	5.50A	4.46A	5.11A	3.65A
ชุดที่ 2	5.47A	5.41B	5.07A	4.80B



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้