ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ผลของกระเทียมต่อการเจริญของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกสายพันธุ์ *Lactobacillus lactis* N190 , *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ในอาหารเหลวที่จำลองสภาพเหมือนการหมักแหนม

(Effect of garlic on growth and production of lactic acid bacteria *Lactobacillus lactis* N190 , *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 in Nham Model Broth)

จัดทำโดย

นางสาวศิริโสภา มณีธรรมศิริเพ็ญ รหัสนักศึกษา 44040773

นางสาวไอริณ ธีรวัฒนอมร รหัสนักศึกษา 44040782

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

.... 5 / ท / 2547 **อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ**

(จดิศร เสวตจิรัฒน์)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

20314

ผลของกระเทียมต่อการเจริญของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกสายพันธุ์ *Lactobacillus lactis* N190, *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ในอาหารเหลวที่จำลองสภาพเหมือนการหมักแหนม

Effect of garlic on growth and production of lactic acid bacteria *Lactobacillus lactis* N190, *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 in Nham Model Broth

T096978

นางสาวศิริโสภา มณีธรรมศิริเพ็ญ รหัสนักศึกษา 44040773
นางสาวไอริณ ธีรวัฒนอมร รหัสนักศึกษา 44040782

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต
ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ.2547

ปพ.
ศ๘๙๒ผ
2547
เลขหมู่.......
เลขทะเบียน 96978
วัน เดือน ปี - 5 JUN 2003

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นางสาวศิริโสภา มณีธรรมศิริเพ็ญและนางสาวไอริณ ธีรวัฒนอมร : ผลของกระเทียมต่อการเจริญของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกสายพันธุ์ *Lactobacillus lactis* N190 , *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ในอาหารเหลวที่จำลองสภาพเหมือนการหมักแหนม (Effect of garlic on growth and production of lactic acid bacteria *Lactobacillus lactis* N190 , *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 in Nham Model Broth). ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
อาจารย์ที่ปรึกษา : ผศ. อดิศร เสวตวิวัฒน์.

บทคัดย่อ

จากการทดลอง ทำการศึกษาผลของกระเทียมต่อการเจริญของเชื้อและการสร้างกรดแลคติก โดยทำการศึกษาจากอาหารเหลวที่จำลองสภาวะเหมือนการหมักแหนม (Nham model broth : NMB) แบ่งเป็นขวดที่ทำการเติมกระเทียมและไม่ได้เติมกระเทียม ตรวจสอบผลที่ชั่วโมงต่างๆ คือ 0,6,12,18,24,30,36,42,48 ชั่วโมง การตรวจสอบผลการทดลองมีดังนี้คือ ปริมาณเชื้อทั้งหมด, pH, เปอร์เซนต์กรดแลคติก ผลที่ได้คือเมื่อใส่กระเทียมจะทำให้เชื้อเจริญได้รวดเร็วกว่าที่ไม่เติมกระเทียม เมื่อเปรียบ เทียบในเวลาที่เท่ากัน ในช่วงแรกของการหมัก ชั่วโมงที่ 6 และ 12 ของเชื้อแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์ จากปริมาณของเชื้อที่เพิ่มจำนวนขึ้นนั้นจะสัมพันธ์กับการสร้างกรดแลคติก คือเมื่อมีการเจริญของเชื้ออย่างรวดเร็วจะทำให้มีการสร้างกรดแลคติกในปริมาณที่สูงกว่าโดยพิจารณาจากผลการทดลองของเชื้อ N190 ในชั่วโมงที่ 12 และ 18 เมื่อเติมกระเทียมค่าที่ได้คือ 0.235 และ 0.326 ตามลำดับ และไม่เติมกระเทียมค่าที่ได้คือ 0.244 และ 0.267 ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาจากเชื้อ 536 ก็มีแนวโน้มเช่นเดียวกัน จากค่าที่ได้นี้ทำให้ทราบว่ากระเทียมมีผลต่อเชื้อคือ ช่วยเสริมการเจริญเติบโตและช่วยในการสร้างกรดแลคติก จากกรดแลคติกที่สูงขึ้นทำให้มีค่า pH ที่ต่ำ จึงส่งผลให้ยับยั้งเชื้อในกลุ่มที่ไม่ต้องการและยังช่วยยับยั้งเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคได้อีกด้วย ดังนั้นการเติมกระเทียมลงในผลิตภัณฑ์แหนมส่งผลให้เชื้อแบคทีเรียแลคติคเจริญได้ดี ทำให้ช่วยลดระยะเวลาการหมักให้น้อยลง และยังอาจจะช่วยยับยั้งจุลินทรีย์ในกลุ่มที่ไม่ต้องการและกลุ่มที่ก่อให้เกิดโรค จึงทำให้ผลิตภัณฑ์มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคเพิ่มมากขึ้น

ไอริณ ธีรวัฒนอมร ศิริโสภา มณีธรรมศิริเพ็ญ	(ลายมือชื่อ)	5/11/2547
ลายมือชื่อนักศึกษา	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา	วัน เดือน ปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

รายงานโปรเจคฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี และที่ขาดไม่ได้เลยทั้งนี้ต้องขอกราบขอบพ ระคุณ ผศ. อดิศร เสวตวิวัฒน์ ที่กรุณาให้เกียรติเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาตั้งแต่การออกแบบการทดลองที่แปลกใหม่ พร้อมทั้งให้คำแนะนำ ช่วยแก้ไขรายงานฉบับนี้ให้เสร็จสมบูรณ์ รวมไปถึงข้อเสนอแนะที่ดีเสมอมา และขอบพระคุณ ดร.ศศิวิมล ชื่นอิ่ม อาเหม็ดที่เป็นคณะกรรมการ ที่ให้คำแนะนำ และข้อเสนอแนะต่างๆ ที่ควรเพิ่มเติมในรายงานให้สำเร็จ

นอกจากนี้ต้องขอขอบคุณห้องสมุดภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร ห้องสมุดของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ห้องสมุดโครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เป็นแหล่งค้นคว้าข้อมูลต่างๆมากมาย พี่ที่มาช่วยทำงานวิจัยและคอยให้กำลังใจที่ดีในการทำงานทำให้สำเร็จลุล่วง และเพื่อนๆทุกคนที่ให้ยืมเครื่องคอมพิวเตอร์ ที่ให้ความช่วยเหลือโดยช่วยพิมพ์งานและอื่นๆ โดยเสมอมา

ศิริโสภา มณีธรรมศิริเพ็ญ
ไอริณ ธีรวัฒนอมร

27 ตุลาคม 2547

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

เนื้อเรื่อง	หน้า
บทคัดย่อ	ก
กิตติกรรมประกาศ	ข
สารบัญ	ค
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ฉ
บทที่ 1	
1.1 บทนำ	1
1.2 ขอบเขตของการทดลอง	2
1.3 วัตถุประสงค์การทดลอง	2
บทที่ 2 วารสารปริทัศน์	2
2.1 กระเทียม	3
2.2 แบคทีเรียแลคติก	8
2.3 การจัดหมวดหมู่ของ *Lactobacillus*	9
2.4 ประโยชน์ของ *Lactobacillus*	16
2.5 การจำแนกพวกแลคติกแอซิดแบคทีเรีย	17
2.6 การจำแนกบักเตรีในสกุล *Pediococcus*	18
2.7 อาหารและสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของบักเตรีในสกุล *Pediococcus*	20
2.8 สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของบักเตรี *Pediococcus*	22
2.9 สภาพของการหมักใน Nham model broth เปรียบเทียบการหมักแหนม	23
2.10 Model broth	24
2.11 ผลของกระเทียมต่อการเจริญของแบคทีเรียแลคติค	25
2.12 รายงานการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติคในการควบคุมคุณภาพของการหมักแหนม	26
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	30
3.1 วัตถุดิบ	30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

3.2 อุปกรณ์	30
3.3 สารเคมี	30
3.4 เชื้อจุลินทรีย์	31
3.5 การทดลอง	31
3.5.1 การเตรียมกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก	31
3.5.2 การเตรียมแบบจำลอง Nham model broth	31
3.5.2.1 การเตรียมกระเทียมปลอดเชื้อ	31
3.5.2.2 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Nham Model Broth (NMB)	32
3.5.2.3 การใส่กระเทียมและเพาะเลี้ยงเชื้อ	33
3.6 การศึกษาผลของกระเทียมต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแลคติกทั้ง 2 สายพันธุ์	34
3.6.1 การตรวจนับปริมาณเชื้อโดยใช้วิธี Plate count	34
3.6.2 การวัดค่า pH	35
3.6.3 การหาเปอร์เซนต์กรดแลคติก	35
บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	36
4.1 ผลการศึกษาผลของกระเทียมต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแลคติคสายพันธุ์ N 190 และ TISTR 536 ในอาหารเหลวที่จำลองสภาวะการหมักแหนม	36
4.2 ผลการศึกษาผลของกระเทียมต่อ % lactic acid ของเชื้อแบคทีเรียแลคติคสายพันธุ์ N 190 และ TISTR 536 ในอาหารเหลวที่จำลองสภาวะการหมักแหนม	38
4.3 ผลการศึกษาผลของกระเทียมต่อค่า pH ของเชื้อแบคทีเรียแลคติคสายพันธุ์ N 190 และ TISTR 536 ในอาหารเหลวที่จำลองสภาวะการหมักแหนม	41
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	43
5.1 สรุปผลการทดลอง	43
5.2 ข้อเสนอแนะ	44
เอกสารอ้างอิง	45

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

ภาคผนวก	47
ภาคผนวก ก	47
ภาคผนวก ข	48
ภาคผนวก ค	50
ภาคผนวก ง	52
ภาคผนวก จ	54
ภาคผนวก ฉ	56
ประวัติผู้เขียน	59

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1 แสดงแหล่งที่พบของจีนัส *Lactobacillus* 12

2 แสดงการแบ่งกลุ่มจีนัส *Lactobacillus* โดยอาศัยลักษณะการแสดงออก 15

3 แสดงค่าเฉลี่ยของ %lactic acid ในตัวอย่างที่มีกระเทียมและไม่มีกระเทียม ของเชื้อ TISTR 536 38

4 แสดงค่าเฉลี่ยของ %lactic acid ในตัวอย่างที่มีกระเทียมและไม่มีกระเทียม ของเชื้อ N 190 39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

ภาพที่		หน้า
1	แสดงวิธีการเตรียม NMB	25
2	แสดงขั้นตอนการเตรียมกล้าเชื้อ	31
3	แสดงขั้นตอนการเตรียมกระเทียมปลอดเชื้อ	32
4	แผนภูมิแสดงขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเชื้อใน NMB	33
5	แสดงขั้นตอนการตรวจนับเชื้อโดยวิธี plate count	34
6	แสดงขั้นตอนการไทเทรตหาเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก	35
7	แสดงปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติกของเชื้อ N190 ในอาหารเหลวที่จำลองสภาวะการหมักแหนมที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ	37
8	แสดงปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติกของเชื้อ TISTR 536 ในอาหารเหลวที่จำลองสภาวะการหมักแหนมที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ	37
9	แสดงค่า pH ของเชื้อแบคทีเรียแลคติกของเชื้อ TISTR 536 ในอาหารเหลวที่จำลองสภาวะการหมักแหนมที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ	39
10	แสดงค่า pH ของเชื้อแบคทีเรียแลคติกของเชื้อ N 190 ในอาหารเหลวที่จำลองสภาวะการหมักแหนมที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ	40
11	แสดงค่า %lactic acid ของเชื้อแบคทีเรียแลคติกของเชื้อ TISTR 536 ในอาหารเหลวที่จำลองสภาวะการหมักแหนมที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ	41
12	แสดงค่า %lactic acid ของเชื้อแบคทีเรียแลคติกของเชื้อ N 190 ในอาหารเหลวที่จำลองสภาวะการหมักแหนมที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ	42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

1.1 บทนำ

ปัจจุบันมีผู้หันมาให้ความสนใจเกี่ยวกับเครื่องเทศกันเป็นจำนวนมาก โดยนิยมนำมาทำยาและปรุงอาหาร ในพืชเครื่องเทศนั้นจะมีน้ำมันหอมระเหยซึ่งแตกต่างกันไปตามชนิดของเครื่องเทศ โดยจะนำมาใช้ในการเพิ่มกลิ่นและรสชาติของอาหารรวมทั้งยังช่วยในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคบางชนิดได้ด้วย มีผู้ศึกษาถึงเครื่องเทศที่มีผลต่อจุลินทรีย์ไว้มากมาย รวมทั้งกระเทียมก็ให้ผลในการยับยั้งจุลินทรีย์สูงเช่นกัน

แหนมเป็นผลิตภัณฑ์อาหารหมักที่นิยมใช้เครื่องเทศเป็นส่วนประกอบ เพื่อเพิ่มกลิ่นรสและยังช่วยในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคบางชนิด รสเปรี้ยวที่เกิดขึ้นในแหนมเกิดจากการผลิตกรดโดยแบคทีเรียแลคติก ซึ่งได้แก่ *Lactobacillus* sp. และ *Pediococcus* sp. อรนุช (2530) ได้รายงานว่ากรดและสารยับยั้งที่เชื้อแบคทีเรียแลคติกทั้ง 2 ชนิดนี้ ผลิตขึ้นสามารถยับยั้งการเจริญของ *Salmonella* sp. ได้ อย่างไรก็ตามแม้ว่าในแหนมและผลิตภัณฑ์เนื้อหมักชนิดอื่นๆจะมีแบคทีเรียแลค ติกที่ช่วยผลิตกรดและสารยับยั้งอื่นๆ ที่ให้ผลในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค

ดังนั้นจึงเป็นที่น่าสนใจที่จะแก้ปัญหานี้เพื่อเพิ่มความปลอดภัยให้กับผู้บริโภคมากยิ่งขึ้น โดยการนำเครื่องเทศที่มีประสิทธิภาพต่อการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคมาใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตแหนม ซึ่งกระเทียมก็เป็นเครื่องเทศชนิดหนึ่งที่น่าจะนำมาใช้เติมลงในแหนมได้ เนื่องจากจะทำให้ผลิตภัณฑ์มีกลิ่นรสเป็นที่ยอมรับ โดยที่กระเทียมจะสร้างสารยับยั้งที่เรียกว่า allicin (2-propenyl-2-sulfinate) ที่เพิ่มปริมาณมากขึ้นหลังจากกระบวนการไฮโดรไลซิสของสาร allicin (S-allyl-L-cysteine-S-oxide) ที่มีอยู่ในกระเทียม ซึ่งกระบวนการไฮโดรไลซิสของสาร allicin นี้ที่มีอยู่ในกระเทียม นอกจากนี้ การศึกษาดังกล่าวยังได้ทำการศึกษาถึงผลของกระเทียมต่อการเจริญของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่ใช้มากในผลิตภัณฑ์เนื้อของยุโรปที่ได้ลองนำมาใช้หมักผลิตภัณฑ์แหนม (Swetwiwathana et al., 1999) โดยใช้ MRS broth medium เป็นอาหารเหลวเพาะเลี้ยงเชื้ออีกด้วย

ทั้งนี้เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับผู้ผลิตอาหารหมักได้ทราบถึงผลของกระเทียมต่อเชื้อที่เกี่ยวข้องในขณะหมักอีกทั้งจะเป็นประโยชน์สำหรับอาหารหมักอื่นๆ ที่มีจุลินทรีย์ในกลุ่มดังกล่าวเกี่ยวข้องอยู่ด้วย รวมทั้งอาหารประเภทอื่นที่มีจุลินทรีย์ในกลุ่ม ดังกล่าวเกี่ยวข้องได้นำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 ขอบเขตของการทดลอง

ทำการทดลองเปรียบเทียบระหว่างอาหารจำลองที่มีสภาพเหลวที่ใส่กระเทียมและไม่ใส่กระเทียม เพื่อดูผลของการเพิ่มจำนวนของเชื้อแบคทีเรียแลคติกและการสร้างกรดของเชื้อ 2 สายพันธุ์ที่สามารถสร้าง bacteriocin ได้

1.3 วัตถุประสงค์การทดลอง

1. เพื่อศึกษาผลของกระเทียมที่มีผลต่อการเจริญของแบคทีเรียแลคติก *Lactobacillus lactis* N190 และ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ในอาหารจำลองที่มีสภาพเหลว (Nham model broth)
2. เพื่อศึกษาการผลิตกรดของแบคทีเรียแลคติกในอาหารจำลองที่มีสภาพเหลว (Nham model broth)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
วารสารปริทัศน์

2.1 กระเทียม

กระเทียม (garlic) มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Allium sativum* Linn. วงศ์ Alliaceae กระเทียมสดมีน้ำมัน (Garlic oil) อยู่ประมาณร้อยละ 0.1-0.36 สารอินทรีย์กำมะถันหลายชนิดคือ Alliin (S-allyl-l-cysteine sulfoxide) และ S-methyl-l-cysteine sulfoxide น้ำย่อย (enzymes) หลายชนิดคือ Allinase, Peroxidase และ Myrosinase โปรตีน แร่ธาตุ ไวตามินหลายชนิด เช่น ไวตา มิน B_1 , ไวตามิน B_2 , Niacin ฯลฯ นอกจากนี้ยังมีไขมัน กรดอะมิโนและสารอื่นๆอีก

กระเทียมเป็นพืชล้มลุกที่มีหัว อยู่ใต้ดิน หัวมีลักษณะเป็นกลีบหลายๆกลีบเกาะติดกันคล้ายกลีบส้ม ออกดอกเป็นช่อเล็กๆสีขาวเกาะเป็นกระจุกอยู่ปลายก้านแข็ง ซึ่งแทงมาจากหัวกระเทียมใช้เป็นอาหารได้ทุกส่วน รสชาติของกระเทียมค่อนข้างเผ็ดร้อน ในกระเทียมมีสารเสริมภูมิต้านทานของร่างกาย โดยเสริมการทำงานของเซลล์ macrophage เซลล์ที-ลิมโฟซัย (T-lymphocyte) และการเสริมสร้างแอนติบอดี้มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อไวรัส แบคทีเรียและรา (โชติมา, 2546) ซึ่งในกระเทียมสดจะมีน้ำมันหอมระเหยประมาณร้อยละ 0.1-0.36 ของน้ำหนัก มีสารสำคัญหลายชนิด เช่น อัลลิซิน (allicin), อัลลิลโพรพิลไดซัลไฟด์ (allylpropyl disulfide), ไดอัลลิลไตรซัลไฟด์ (diallyl trisulfide) และน้ำย่อยหลายชนิด เช่น อัลลิเนส (allinase) , เปอร์ออกซิเดส (peroxidase) อินเวอร์เทส (invertase) และ ไทโรซิเดส (tyroxidase) (กระเทียมยอดสมุนไพร, 2538)

อัลลิซิน เป็นน้ำมันซึ่งไม่มีสี ละลายได้ในน้ำ แอลกอฮอล์ เบนซีน และอีเทอร์ ถ้ากลั่นโดยใช้ความร้อนโดยตรงจะถูกทำลาย ไม่คงตัวในด่าง แต่จะคงตัวในน้ำเลือดและน้ำย่อยในกระเพาะ ในเซลล์ของกลีบกระเทียมจะมีทั้งอัลลิซินและอัลลิเนสอยู่ด้วยกัน แต่แยกกันอยู่คนละช่อง เมื่อใดที่กระเทียมถูกตัด ถูกทุบหรือรอยช้ำ สารทั้งสองนี้ก็จะผสมกัน ทำให้เกิดปฏิกิริยาทางเคมีกลายเป็นสารอัลลิซิน ซึ่งเป็นสารที่ทำให้กระเทียมมีกลิ่น (ปาริชาติ, 2543) โดยสารต่างๆที่มีอยู่ในน้ำมันกระเทียมมีคุณสมบัติเป็นยาสมุนไพรรักษาโรคต่างๆ ดังนี้

1. ช่วยลดไขมันและสารคอเลสเตอรอลในร่างกาย และถ้ารับประทานประจำจะช่วยรักษาระดับคอเลสเตอรอลในอยู่ในระดับปกติได้ ป้องกันการแข็งตัวของเส้นเลือดสาเหตุของเส้นเลือดอุดตันในสมองและหัวใจได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ลดความดันโลหิต แก้อาการวิงเวียนศีรษะ ปวดศีรษะ เจ็บหน้าอกและปวดหลัง

3. สารอัลลิซิน ช่วยลดน้ำตาลในเลือดกระตุ้นการหลั่งเอนไซม์ของกระเพาะอาหาร กระตุ้นการบีบและหดตัวของลำไส้ ทำให้การย่อยอาหารและการขับถ่ายมีประสิทธิภาพดีขึ้น

4. สารอัลลิซินมีฤทธิ์เป็นยาปฏิชีวนะ ทำลายแบคทีเรียและไวรัสบางชนิดได้ กระเทียมจึงเป็นยารักษาโรคต่างๆ ได้ เช่น อหิวาตกโรค ไทฟอยด์ บิด กลาก เกลื้อน โรคผิวหนังและไข้หวัด

5. กระเทียมมีสารชักนำวิตามินบี1 เข้าสู่ร่างกายได้เท่าตัวโดยรวมกันเป็นสารอัลลิไทอะมีน ทำให้วิตามินบี1 ออกฤทธิ์ได้ดีถึง 20 เท่าในปี 2524 นักวิทยาศาสตร์ชาวญี่ปุ่นค้นพบ สารสคอร์ดินิน ในกระเทียม ซึ่งไม่มีกลิ่นแต่มีประโยชน์ต่อร่างกายหลายประการ คือช่วยให้เนื้อเยื่อเจริญเติบโต และลดไขมันในร่างกาย นอกจากนี้ในกระเทียมยังมีวิตามินและแร่ธาตุต่างๆ หลายชนิดที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย ทำให้กระเทียมนิยมใช้เป็นอาหารเสริมสุขภาพกันมาก

สารอัลลิซิน (Diallyl disulfide oxide) ซึ่งเป็นสารประกอบพวก sulfur ซึ่งเดิม cavallito ให้สูตรว่า Diallyl thiosulfinate ต่อมาได้พิสูจน์ว่าเป็น Diallyl disulfide oxide

Allicin (S-allyl-l-cystein sulphoxide) เป็นน้ำมันซึ่งไม่มีสี ละลายน้ำ และผสมกันเป็นเนื้อเดียวกับ alcohol , benzene และ ether ถ้ากลั่นโดยใช้ความร้อนโดยตรงจะถูกทำลาย ไม่คงตัวในด่าง แต่จะคงตัวได้ในเลือดและน้ำย่อยในกระเพาะ Allicin ได้มาจากสาร Alliin เมื่อถูกย่อยโดยเอนไซม์อัลลิเนส ซึ่งมีอยู่ในกระเทียม จะเกิดเมื่อกระเทียมถูกบดหรือหั่น ดังนั้นการใช้กระเทียมเพื่อเป็นประโยชน์ในการรักษาโรคติดเชื้อต่างๆ ควรใช้กระเทียมสด ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียจะลดลงเมื่อกระเทียมถูกเก็บไว้นานซึ่งพบว่าหลังจากเก็บกระเทียมไว้ 6 เดือน ฤทธิ์อัลลิซินในกระเทียมจะลดลง

เอมไซม์อัลลิเนสในกระเทียมจะไม่คงตัว เมื่ออยู่ในสภาพที่เป็นกรด ดังนั้นเมื่อรับประทานกระเทียมเข้าไป เมื่อกระเทียมอยู่ในกระเพาะอาหาร เอนไซม์อัลลิเนสในกระเทียมจะถูกทำลาย ทำให้สารอัลลิซินเกิดขึ้นได้น้อยทำให้ผลการรักษาต่ำ (ส่วนการวิจัยเกษตรกรรม ฝ่ายวิชาการ ธนาคารกสิกรไทย, 2533)

นอกจากกระเทียมจะมีคุณค่าทางอาหารแล้ว กระเทียมยังมีคุณค่าทางยา ซึ่งสารประกอบพวกซัลเฟอร์ที่มีมากในกระเทียม เป็นสารเคมีที่มีความสำคัญเป็นอย่างมาก โดยสารเคมีที่สำคัญได้แก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.กลุ่มอัลลิอิน- อัลลิเนส – อัลลิซิน และเอโจเน (Alliin – Allinase - Allicin – Ajone)

เป็นสารเคมีที่ส่วนประกอบเป็นสารระเหยของกระเทียมซึ่งทำให้กระเทียมมีกลิ่น โดยปกติแล้วกระเทียมเมื่อแรกเก็บแล้วจะไม่มีกลิ่น กลิ่นกระเทียมจะเกิดขึ้นทีหลัง เมื่อเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ในกลีบกระเทียม ซึ่งเกิดขึ้นโดยสารอัลลิอินในกระเทียมซึ่งเป็นสารที่เสถียรภาพ ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น และละลายน้ำได้ดี ถูกทำลายได้ง่ายโดยความร้อนและด่างแต่ไม่ถูกทำลายโดยการเจือจาง จะถูกเอนไซม์อัลลิเนสเปลี่ยนให้เป็นอัลลิซิน ที่มีลักษณะเป็นน้ำมันเหลว มีกลิ่นฉุนแต่ไม่คงตัว สลายได้ง่ายเมื่อถูกความร้อน ในเซลล์ของกลีบกระเทียมตามปกตินั้นมีทั้งอัลลิซินและอัลลิเนสอยู่ด้วยกันแต่อยู่ด้วยกันคนละช่อง เมื่อใดที่กระเทียมถูกตัดหรือทำให้ช้ำ สารทั้งสองนี้จะผสมกันเกิดเป็นสารเคมี ทำให้เกิดอัลลิซินและอัลลิซินนี้เองที่มีบทบาทในการรักษาโรคอย่างกว้างขวาง เช่น อหิวาตกโรค บิด กลากเกลื้อน ลดน้ำตาลในเลือด รวมทั้งเป็นยาปฏิชีวนะที่สามารถฆ่าเชื้อโรคได้ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ

$$\text{อัลลิอิน} \xrightarrow{\text{อัลลิเนส}} \text{อัลลิซิน + ไพรูเวท + แอมโมเนีย}$$

หากทิ้งอัลลิซินไว้เฉยๆ มันก็จะกลายเป็นสารอีกชนิดหนึ่ง คือ เอโจเน ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารบำรุงเลือด นอกจากสารอัลลิซินยังเปลี่ยนเป็นสารเอโจเนได้ตามธรรมชาติแล้ว หากใส่อัลลิซินสังเคราะห์ลงในน้ำที่มีตัวทำละลายอย่างอ่อนแล้วให้ความร้อนลงไป กระบวนการที่อัลลิซินจะกลายเป็นเอโจเนจะรวดเร็วมากขึ้น

2. อัลลิไทอามีน หรือวิตามินบีหนึ่งชนิดพิเศษ (Allithiamine)

เป็นวิตามินบีหนึ่งที่มีอยู่ในกระเทียม เรียกว่า อัลลิไทอามีน มีคุณสมบัติทำให้การชักนำวิตามินบีหนึ่งเข้าสู่ร่างกายได้ดีขึ้นถึงเท่าตัว และทำให้วิตามินบีหนึ่งออกฤทธิ์และทำงานได้ดีขึ้นอีก 20 เท่าตัว

หน้าที่หลักของอัลลิไทอามีน ก็คือช่วยให้ร่างกายแยกส่วนของคาร์โบไฮเดรตออกเป็นพลังงาน ซึ่งถ้าหากขาดวิตามินบีหนึ่งชนิดนี้แล้วกระบวนการย่อยอาหารของร่างกายจะไม่สมบูรณ์ ทำให้ร่างกายขาดกลูโคส และคาร์โบไฮเดรตจะถูกเปลี่ยนเป็นไขมัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.เซเรเนียม (Selenium)

ในกระทียมมีเซเรเนียมมากกว่าพืชผักชนิดอื่นๆ เซเรเนียมเป็นแร่ธาตุที่ร่างกายต้องการในปริมาณเพียงเล็กน้อย เพื่อใช้ในกระบวนการเมตาโบลิซึม แต่ละวันเราต้องการในปริมาณที่น้อยมากคิดเป็นไมโครกรัมเท่านั้น เพราะเป็นสารอาหารที่ร่างกายขาดไม่ได้เลย เซเรเนียมมีหน้าที่คล้ายวิตามินอีเป็นตัวต้านไม่ให้ออกซิเจนหลุดไปกับเม็ดเลือดแดง ทำให้เลือดของเราบริสุทธิ์และเชื่อกันว่า เซเรเนียมสามารถป้องกันการสะสมของโลหะหนักบางอย่างที่เป็นพิษต่อร่างกาย เช่น ตะกั่ว ปรอท เป็นต้น

4.สคอร์ดินีน (Scordinine)

เป็นสารในกระเทียมไม่มีกลิ่น แต่มีประโยชน์ต่อร่างกายหลายอย่าง รวมทั้งให้เนื้อเยื่อเจริญเติบโต และช่วยลดไขมันในร่างกาย ในญี่ปุ่นจึงมีการเติมสคอร์ดินีนลงไปในอาหารเสริมสำหรับบำรุงร่างกาย และพบว่าสารสคอร์ดินีน เป็นสารบำรุงตัวเดียวที่พบในโสม มีคุณสมบัติอีกอย่าง คือ ทำหน้าที่คล้ายฮอร์โมนทั้งเพศหญิง และเพศชาย ซึ่งเป็นตัวควบคุมและปรับการทำงานของร่างกายให้เป็นปกติ และนอกจากนี้ยังยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียอีกด้วย

5.เยอมันเนียม (Germanium)

เป็นธาตุที่พบว่ามีอยู่ในกระเทียมค่อนข้างสูง มีคุณสมบัติป้องกันและยับยั้งการเกิดมะเร็ง โรคหืด โรคไต โรคตับอ่อน และอาการท้องผูก

นอกจากสารอาหารและสารเคมีในกระเทียมที่ได้ยกตัวอย่างมาในข้างต้น ในกระเทียมยังมีสารอาหารและสารเคมีอื่นๆ อีกมากที่ไม่สามารถแยกแต่ละตัวออกมาเป็นตัวเดี่ยว เพื่อนำมาทำการพิสูจน์ได้ว่ามีคุณสมบัติอย่างไร เช่นเดียวกับสิ่งที่ได้ตามธรรมชาติโดยทั่วไปประโยชน์ที่ได้รับนั้นเกิดจากสารหลายๆ ตัวผสมรวมกันอยู่

น้ำมันกระเทียมประกอบด้วย Allicin, Allylpropyl disulfide, Diallyl trisulfide เป็นสารหลักและมี Dimethyl sulfide, Dimethyl disulfide, Dimethyl trisulfide, Allylmethyl sulfide, 2,3,4-Trithiapentane และสารประกอบพวกกำมะถันชนิดอื่นๆ อีกเป็นส่วนน้อย สารที่ระเหยได้ชนิดอื่นๆ ที่พบมี Citral, Geraniol, Linalool, α และ β-Phellandrene

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การที่กระเทียมมีกลิ่นนั้นเนื่องจากฤทธิ์ของน้ำย่อย Allinase ที่มีต่อ Alliin ทำให้เกิดเป็นสาร Allicin สารนี้ทำให้กระเทียมมีกลิ่น Alliin จะถูกทำลายโดยความร้อนและด่าง แต่ไม่ถูกทำลายโดยกรดเจือจาง กระเทียมดองในน้ำส้มก็ยังมีกลิ่นอยู่

สารที่พบในกระเทียมที่สำคัญคือ allicin จะกระตุ้นการหลั่งของเอนไซม์จากกระเพาะอาหาร กระตุ้นการหดและบีบตัวของลำไส้ ทำให้การย่อยอาหารและการขับถ่ายเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ allicin สามารถรวมตัวกับไวตามิน B_1 และโปรตีนได้ จึงช่วยในการดูดซึมอาหารที่ลำไส้ และยังเกี่ยวข้องกับการลดระดับโคเลสเตอรอลในเลือดอีกด้วย

Allicin เป็นน้ำมันซึ่งไม่มีสี ละลายน้ำ และผสมเป็นเนื้อเดียวกับ alcohol , benzene และ ether ถ้ากลั่นโดยใช้ความร้อนโดยตรงจะถูกทำลาย ไม่คงตัวในด่าง จะคงตัวได้ในเลือดและน้ำย่อยในกระเพาะ allicin ได้มาจากสาร Alliin เมื่อถูกย่อยโดยเอนไซม์อัลลิเนส ซึ่งมีอยู่ในกระเทียม เกิดเมื่อกระเทียมถูกบดหรือหั่น ดังนั้นการใช้กระเทียม เพื่อเป็นประโยชน์ในด้านต่างๆ ควรใช้กระเทียมสดๆ เอนไซม์อัลลิเนสในกระเทียมจะไม่คงตัว เมื่ออยู่ในสภาพที่เป็นกรด ดังนั้นเมื่อรับประทานกระเทียมเข้าไป เมื่อกระเทียมอยู่ในกระเพาะอาหาร เอนไซม์อัลลิเนสในกระเทียมจะถูกทำลายทำให้สารอัลลิเนสเกิดขึ้นได้น้อยทำให้ได้ประสิทธิภาพต่ำ (ส่วนวิจัยเกษตรกรรม ฝ่ายวิชาการ ธนาคารกสิกรไทย,2533)

การที่ allicin สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ต่างๆ ได้ดีนั้นเนื่องจากไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ต่างๆ โดยที่เอนไซม์เหล่านี้เกี่ยวข้องกับ กระบวนการหายใจหรือการเจริญของเซลล์ เป็นผลให้จุลินทรีย์ถูกทำลาย มีรายงานว่า allicin สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ succinic dehydrogenase และ triose phose dehydrogenase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวกับกระบวนการหายใจแบบใช้ออกซิเจนมากกว่าจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้ออกซิเจน สำหรับเอนไซม์ที่ถูกทำลายโดย allicin ดังกล่าวแล้วนี้ ส่วนมากจะมีหมู่ SH อยู่ด้วย หมู่ SH นี้สามารถรวมอยู่กับหมู่ –SO-S- ในโครงสร้างของ allicin ได้อย่างรวดเร็ว จึงเป็นผลให้กิจกรรมอันเกิดโดยเอนไซม์นี้ถูกทำลายหมู่ SH มีความ สำคัญต่อเซลล์เป็นอย่างมาก เนื่องจากเป็นตัวกระตุ้นที่เฉพาะเจาะจงในการทวีจำนวนของเซลล์ และยังมีความจำเป็นสำหรับการเจริญของเซลล์อีกด้วย ดังนั้นการที่ allicin ไปรวมกับหมู่ SH ภาย ในเซลล์จึงขัดขวางการเจริญ และเสถียร ในโครงสร้างจะมีหมู่ sulphenic ต่อกับอะตอมของกำมะถันอีกหนึ่งอะตอม ทำให้ออกซิเจนในหมู่ sulphenic ไม่คงตัวเป็นผลให้ allicin มีคุณสมบัติเป็น oxidizer อีกด้วย จึงทำลายจุลินทรีย์ต่างๆ ได้เช่นเดียวกับ hydrogen peroxide

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากกระเทียมจะมีฤทธิ์ฆ่าจุลินทรีย์ได้อย่างกว้างขวางทั้งราและแบคทีเรียแล้วกระเทียมยังมีฤทธิ์ขับลม ฆ่าแมลง ไล่แมลง ลดการอักเสบ ลดการจับตัวของเกล็ดเลือด ส่วนฤทธิ์ลดไขมันในหลอดเลือดและลดความดัน

2.2 แบคทีเรียแลคติก

แบคทีเรียแลคติก หมายถึง กลุ่มของแบคทีเรียที่สามารถผลิตกรดแลคติกและมีความสามารถในการหมักนมให้เกิดตะกอนได้ นอกจากนี้ยังรวมถึงแบคทีเรียแกรมลบกลุ่ม โคลิฟอร์มด้วย ต่อมาได้พบว่าแบคทีเรียแลคติกมีเพียงแบคทีเรียแกรมบวกเท่านั้น จึงได้มีการแยกกลุ่มแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มออก จากนั้น Orla และ Jensen (1919) ได้ให้ ความหมาย ของ แบคทีเรีย แลคติก ว่า ต้องเป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่มีลักษณะสำคัญคือ ไม่มีการเคลื่อนที่ ไม่มีการสร้างสปอร์ มีความสามารถในการหมักคาร์โบไฮเดรตให้เป็นกรดแลคติก มีรูปร่างเป็นทรงกลม (cocci) และแท่ง (rod)

แบคทีเรียแลคติกเป็นแบคทีเรียที่มีรูปร่างแท่งยาว บางครั้งพบเป็นแท่งโค้ง ถ้าเป็นแท่งสั้นมักเป็น coryneform coccobacilli บางทีต่อกันเป็นสายโซ่ บางครั้งเคลื่อนที่ได้โดย peritrichous flagella ไม่สร้างสปอร์ สามารถย้อมติดสีแกรมบวก เป็นพวกเฟอร์เมนเททีฟแบคทีเรีย (Fermentative bacteria) ที่หมักน้ำตาลกลูโคสแล้วผลิตกรดแลคติก แต่ไม่สามารถหมักแลคโตสได้ แต่จะมีผลพลอยได้จากการหมักคือ แอซิเตต (acetate) เอทานอล (ethanol) คาร์บอนไดออกไซด์ (carbondioxide) ฟอร์เมต (formate) และซัคซิเนต (succinate) แบคทีเรียแลคติกเป็นจุลินทรีย์ที่เจริญได้ดีที่สภาพที่มีอากาศเล็กน้อย ไม่มีการรีดิวซ์ไนเตรต ไม่สลายเจลาตินและเคซีน ไม่สร้างอินโดลและไฮโดรเจนซัลไฟด์ รวมทั้งไม่สร้างเอนไซม์คะตาเลส แต่จะมีบางสายพันธุ์ที่สามารถสลายเปอร์ออกไซด์ (peroxide)ได้ด้วยเอนไซม์ซูโดคะตาเลส (pseudocatalase enzyme) และปฏิกิริยาต่อเบนซิดีน (benzidine) นั้นจะให้ผลลบ บางเชื้อสามารถสร้างรงควัตถุสีเหลือง ส้ม สนิมเหล็กหรือแดงอิฐ เป็นพวกที่ต้องการอาหารซับซ้อนทั้งกรดอะมิโน เปปไตด์ อนุพันธ์กรดนิวคลีอิค วิตามิน เกลือแร่ กรดไขมันหรือเอสเตอร์ของกรดไขมัน และคาร์โบไฮเดรต โดยเชื้อแต่ละสายพันธุ์จะมีความจำเพาะต่อความต้องการอาหารที่แตกต่างกัน สามารถเจริญได้ที่ช่วงอุณหภูมิ 2-53 องศาเซลเซียส แต่เจริญเติบโตได้ดีและเหมาะสมที่อุณหภูมิ 30-40 องศาเซลเซียส พีเอช ที่เหมาะสมต่อการเจริญประมาณ 5.5-6.2 แต่เชื้อสามารถเจริญได้ที่พีเอชประมาณ 5.0 หรือต่ำกว่านี้ได้ อัตราการเจริญจะลดลงที่ภาวะเป็นกลาง หรือเป็นด่างโมลร้อยละของ G+C ของ DNA อยู่ในช่วง 32-53 (Bd,Tm) (กิตติชัย และคณะ,2541)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

2.3 การจัดหมวดหมู่ของ *Lactobacillus*

Lactobacillus sp. จัดอยู่ใน Section 14 Group 19 ของ Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Sneath และคณะ,1994)

Group 19 :Regular Nonsporing Gram-positive Rods ซึ่งแบ่งออกเป็นจีนัสต่างๆดังต่อไปนี้

1. *Genus Brochothrix*
2. *Genus Carnobacterium*
3. *Genus Erysipelothrix*
4. *Genus Kurthia*
5. *Genus Lactobacillus*
6. *Genus Listeria*
7. *Genus Renibacterium*

Genus Lactobacillus

ลักษณะทั่วไป คือ เป็นแท่งยาวและหนา บางครั้งอาจพบว่ามีลักษณะโค้งงอ (bentrods) ไปจนกระทั่งเป็นท่อนสั้นๆ เช่น กลุ่มของ Coryneform Coccobacilli และจะต่อกันเป็นสายสั้นๆ บางสายพันธุ์มีลักษณะเป็น bipolar ไม่สร้างเอนไซม์คาตาเลส และไม่มีระบบไซโตโครมทำให้ไม่สามารถใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอนได้ แต่สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีออกซิเจนจึงจัดเป็นพวก aerotolerant anaerobe ลักษณะการเจริญจะเจริญเติบโตบนผิวหน้าของอาหารแข็ง และจะเพิ่มการเจริญเติบโตโดยการจำกัดออกซิเจน (anaerobe) หรือในสภาวะที่มีออกซิเจนลดลง (reduced oxygen) และมีคาร์บอนไดออกไซด์ 5 ถึง 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นพวกต้องการสารอาหารสมบูรณ์ (Complex nutritional requirement) คือ ต้องการกรดอะมิโน เพปไทด์บางชนิดเป็นแหล่งไนโตรเจน และต้องการวิตามิน เกลือแร่ กรดไขมันบางชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>ช่วงอุณหภูมิที่สามารถเจริญได้</u> คือ 2 ถึง 53 องศาเซลเซียส แต่ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุด คือ 30 ถึง 40 องศาเซลเซียส

<u>พีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญ</u> คือ 5.5 ถึง 6.2 เป็นพวก Aciduric จึงสามารถเจริญเติบโตที่ pH 5.0 หรือ ต่ำกว่านั้น และการเจริญจะลดลงในสภาวะที่เป็นกลาง

<u>ขนาด</u> เซลล์มีความกว้าง 0.5 ถึง 1.2 ไมโครเมตรและมีความยาว 1.0 ถึง 10.0 ไมโครเมตร และ ขนาดของโคโลนี 2 ถึง 5 มิลลิเมตร บนอาหารแข็ง

<u>การเคลื่อนที่</u> ส่วนใหญ่เคลื่อนที่ไม่ได้ (nonmotile) และ บางสายพันธุ์สามารถเคลื่อนที่โดยอาศัย peritrichous flagella

<u>เมแทบอลิซึม</u> เป็นพวก obligately saccharoclastic คือ ทำการหมัก และเปลี่ยนน้ำตาลในรูป simple carbohydrates เป็นกรดแลกติก

การจัดกลุ่มของ *Lactobacillus*

1. แบ่งตามความสามารถในการผลิตกรดแลกติก
2. แบ่งตามลักษณะการแสดงออก (Phenotypic characteristic)

Lactobacillus สามารถแบ่งตามความสามารถในการผลิตกรดแลกติก ออกเป็น 2 กลุ่ม คือ

1. Homofermentative lactic acid bacteria
2. Heterofermentative Lactic acid bacteria

Homofermentative Lactic acid bacteria

เมื่อทำการหมักน้ำตาลแล้วได้ ผลผลิตเป็นกรดแลกติกเป็นส่วนใหญ่ และมีผลผลิตอื่นๆ เช่น กรดแอซีติก คาร์บอนไดออกไซด์ และสารอื่นๆ อีกเล็กน้อย

ตัวอย่างของ Lactic acid bacteria กลุ่มนี้ได้แก่ *Lactobacillus fermenti* ซึ่งทำให้เนยแข็งเสีย, *Lactobacillus trihodes* ซึ่งทำให้ไวน์เสียเป็นต้น (พวงพร,2530)

แหล่งที่พบ คือ ในอาหารพวกผลิตภัณฑ์นม (dairy products) ผลิตภัณฑ์จากธัญพืช(grain products) ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์และปลา (meat and fish product) น้ำ sewage เบียร์ ไวน์ผลไม้ และน้ำผลไม้ ผักดองต่างๆ เช่น กะหล่ำปลีดอง (sauerkraut)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พบว่า *Lactobacillus* บางชนิดเป็น normal flora ในปาก (ทำให้เกิดฟันผุ) ช่องคลอด(vagina) และยังพบในระบบย่อยอาหาร เช่น ในลำไส้ (Stiles และHolzapfel ,1997)โดยช่วยในการย่อยอาหารของสัตว์เลือดอุ่นรวมทั้งมนุษย์

กลุ่มที่ก่อให้เกิดโรคพบได้น้อย กลุ่มนั้นคือ *Listeria monocytogenes* กลุ่มนี้จะปนเปื้อนในอาหาร โดยเฉพาะ dairy products และprocessed delitessen meats และยังสามารถเจริญเติบโตได้ในตู้เย็นได้ แต่หากเชื้อชนิดนี้ติดเชื้อ (infect) เข้าไปในหญิงที่มีครรภ์อาจทำให้ทารกพิการแต่กำเนิด หรือทำร้ายตัวอ่อน(fetus)ได้ นอกจากนี้ยังอาจพบ *Lactobacillus casei* ใน sourdough bread และ brined cheese โดยมักเป็นสาเหตุให้เกิดการเน่าเสียของเนยแข็งได้ โดยเกิดจากซิเตรต และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (Hammes และ Vogel,1995)

Lactobacillus casei subsp. *rhamnosus* (Sneath และคณะ,1994) ปัจจุบันเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า *Lactobacillus rhamnosus* (Stiles และ Holzapfel,1997)

เป็นพวก homofermentative lactobacilli เจริญได้ดีทั้งที่อุณหภูมิ 15 และ 45 องศาเซลเซียส ซึ่งโดยปกติที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส *L.casei* subspecie อื่นๆไม่สามารถเจริญเติบโตได้ยกเว้น subspecies *rhamnosus* เท่านั้น

น้ำตาลที่สามารถใช้ในการหมักเป็นกรดแลกติก ได้แก่ กลูโคส กาแล็กโทส เซลโลไบโอส ฟรักโทส แล็กโทส มอลโทส กลูโคเนต แมนนิทอล แมนโนส แรมโนส ไรโบส ซอร์บิทอล ซูโครส และ amygladin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 แสดงแหล่งที่พบของจีนัส *Lactobacillus*

มนุษย์ (Humans)
ช่องปาก(oral cavity) ระบบลำไส้(intestinal tract) ช่องคลอด(vagina)
สิ่งมีชีวิตอื่นๆ(Other habitats)
พืชและส่วนประกอบของพืช (plants and plant materials) ดิน, น้ำ, น้ำทิ้ง (sewage)และ มูลสัตว์ (manure) ผลิตภัณฑ์อาหารหมัก (นม,เนื้อสัตว์ และผัก) หญ้าหมัก (silage)
อาหารเสีย(Food spoilage)
เบียร์ ผลไม้(fruit) และเมล็ดข้าวบด(grain mashes) ปลาบด (marinated fish) Sugar Processing นม เนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อ เครื่องดื่มที่ได้จากการหมัก(fermented beverages)

ที่มา : สุมณฑา, 2545

Genus Lactobacillus (Stiles และ Holzapfel, 1997)

แบ่งกลุ่มตามลักษณะของการหมัก (fermentation characteristic)

1. Obligately homofermentative
2. Facultatively heterofermentive
3. Obligately heterofermentative

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lactobacillus ในกลุ่มที่ 1-2 และ บางส่วนใน กลุ่มที่ 3 ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร แต่ในกลุ่มที่ 3 เกี่ยวพันกับการทำให้อาหารเสีย

Lactobacillus และ *Erysipelothrix* จัดเป็นพวก Facultative anaerobe และไม่สร้างเอนไซม์คะตะเลส

Lactobacillus เป็นพวก strictly fermentative และต้องการอาหารสมบูรณ์ เจริญในแหล่งที่อยู่ต่างๆ ได้ ส่วนใหญ่จะเป็นพวกทนกรด (aciduric) หรือชอบกรด (Acidophilic) ซึ่งจะผลิตกรดทำให้อาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตเป็นส่วนประกอบ ทำให้ค่าพีเอชประมาณ 4.0 เป็นผลให้แบคทีเรียอื่นๆถูกทำลาย ซึ่งเป็นการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียชนิดอื่นๆ ไปด้วย ค่าพีเอชสูงสุดที่เชื้อ *Lactobacillus* สามารถเจริญเติบโตได้คือ 7.2

ปัจจุบัน *Lactobacillus* มากกว่า 50 สายพันธุ์ รวมถึงแบคทีเรียในกลุ่ม heterofermentative 5 สายพันธุ์ ถูกจัดอยู่ในจีนัสใหม่ ที่มีชื่อเรียกว่า Weissella (Collin และคณะ,1993)

Obligately homofermentative Lactobacilli

ในกลุ่มนี้จะใช้น้ำตาลกลูโคสในการผลิตกรดแลกติก แต่ไม่ใช่น้ำตาลเพนโทส และกลูโคเนต เช่น พวก *L.acidophilus (L.jugurti)* (Pot และคณะ,1994) , *L. delbrueckii*,และ *L. helveticus* ที่รู้จักกันดีคือ *L. farciminis* และ *L. kefiranofaciens* ถึงเป็นสายพันธุ์ใหม่ที่แยกได้มาจากเมล็ดคีเพอร์ (Takizawa และ คณะ, 1994)

เชื้อในกลุ่มนี้มีประโยชน์ในการทำอาหารหมักดอง และผลิตภัณฑ์นมหมัก ซึ่งใช้อุณหภูมิสูงในการหมัก (45 ถึง 50 องศาเซลเซียส) เช่น *L. delbruecki* subsp. *Buigaricus* ซึ่งใช้เป็นหัวเชื้อในการผลิตโยเกิร์ต

Facultatively heterofermentative

ใช้น้ำตาลเฮกโซส ในการผลิตกรดแลกติก และผลิตแก๊สจากการใช้น้ำตาลกลูโคเนต (ไม่ได้ผลิตจากน้ำตาลกลูโคส)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lactobacilli ในกลุ่มนี้สามารถใช้น้ำตาลเพนโทส โดยอาศัยเอนไซม์ฟอสโฟคีโตเลส (Phosphoketolase) ในการผลิตกรดแลกติก และกรดแอซีติก

ตัวอย่างของ *Lactobacillus* ในกลุ่มนี้คือ *L. casei, L. plantarum*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 แสดงการแบ่งกลุ่มจีนัส *Lactobacillus* โดยอาศัยลักษณะการแสดงออก (Phenotypic characteristic)

Group 1	**Group 2**	**Group 3**
Obligate Homofermenters	Facultative heterofermenters	Obligate Heterofermenters
L. acidophilus	*L. acetotolerns*	*L. brevis*
L. amylophilus	*L. agils*	*L. buchneri*
L. amylovorus	*L. alimentarius*	*L. collinoides*
L. aviarius	*L. bifermentans*	*L. fermentum*
Subsp.	*L. casei*	*L. fructivorans*
Araffinosus		
subsp. Aviarius	*L. coryniformis*	*L. fructosus*
L. crispatus	*subsp. coryniformis*	*L. hilgardii*
L. delbrueckii	*subsp. torquens*	*L. kefir*
subsp. *Bulgaricus*	*L. curvatus*	*L. malefermentans*
subsp. *Delbrueckii*	*L. graminis*	*L. oris*
subsp. *Lactis*		
L. farciminis	*L. hamsteri*	*L. panis*
L. gasseri	*L. homohiochii*	*L. parabuchneri*
L. helveticus	*L. intestinalis*	*L. parakefir*
L. jensenii	*L. murinus*	*L. pontis*
L. johnsonii	*L. paracasei*	*L. reuteri*
L. kefiranofaciens	*subsp. paracasei*	*L. sanfrancisco*
L. kefirgranum	*subsp. tolerans*	*L. suebicus*
L. mali	*L. paraplantarum*	*L. vaccinostercus*
L. ruminis	*L. pentosus*	*L. vaginalis*
L. salivarius	*L. plantarum*	
L. sharpeae	*L. rhamnosus*	
	L. sake	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ที่มา : สุมณฑา, 2545 หน้า 279

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Obligately heterofermentative

ใช้น้ำตาลเฮกโซสในการผลิตกรดแลกติก กรดแอซีติก หรือเอทานอล และคาร์บอนไดออกไซด์ โดยก๊าซที่เกิดขึ้นมาจากการใช้น้ำตาลกลูโคส

กลุ่มนี้ที่สำคัญ *คือ L.sanfrancisco* ซึ่งใช้น้ำตาลมอลโทสในการผลิตกรดแลกติกและกรดแอซิติก และทำให้เกิดสารประกอบที่มีกลิ่นใน sourdough bread

Lactobacillus ในกลุ่มนี้จะทำให้เกิดการเน่าเสียของอาหาร เช่น *L. bifermentans* เป็นสาเหตุให้เกิด cracking defect ใน Gouda และ Edam cheeses เนื่องจากก๊าซที่ผลิตขึ้น *L. brevis* ทำให้เกิดการเน่าเสียของผลไม้รสเปรี้ยว (citrus fruits) , ไวน์ และเบียร์

L. fructivorans, L. brevis และ *L. bruchneri* เป็นสาเหตุให้เกิดการเน่าเสียในมายองเนส (mayonnaise)

2.4 ประโยชน์ของ *Lactobacillus*

1. ใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหารหมักพวกผัก ผลไม้ เช่น การหมักแตงกวาดอง ขิงดอง กะหล่ำปลีดอง โดย lactic acid bacteria ที่มีบทบาทสำคัญ ในการหมัก คือ *L. fermenti, L.plantarum, L.viridescens* (วิเชียร,2537)
2. ใช้ในอุตสาหกรรมนม และ ผลิตภัณฑ์นม เช่น นมเปรี้ยว โยเกิร์ต เนยแข็ง (cheese) lactic acid bacteria ที่มีบทบาทสำคัญคือ *L.lactis, L. casei*
3. ใช้ในอุตสาหรกรรมหมัก อาหารพวกเนื้อสัตว์ (Stiles และ Holzapfel , 1997)
4. ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารหมักไส้กรอก โดย lactic acid bacteria ที่มีบทบาทสำคัญ คือ *L. lactis* และ *Pediococcus cerevisiae*
5. ใช้ในการผลิตเซลล์จุลินทรีย์ (ลัดดาวัลย์ , 2536) โดยใช้เป็นหัวเชื้อแลคติกเริ่มต้นซึ่งนิยมมากที่สุดในระดับอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น
    5.1 อุตสาหกรรมนม และผลิตภัณฑ์นมหมัก เช่น โยเกิร์ต เนยแข็ง ครีมเปรี้ยว และอื่นๆ เพื่อทำให้นมมีอายุการเก็บนานขึ้น และมีกลิ่นชวนบริโภคที่ผิดแปลกไป โดยหัวเชื้อเริ่มต้นแลกติกจะเปลี่ยนน้ำตาลแล็กโทสในนมไปเป็นกลูโคส และกาแล็กโทส ซึ่งจะถูกย่อยต่อเป็นกรดแลกติก ทำให้โปรตีนนม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตกตะกอน นอกจากนี้หัวเชื้อเริ่มต้นแลคติกที่ให้เข้าไปในนมยังทำให้เกิดเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีกลิ่นรส และเนื้อสัมผัสแตกต่างกันออกไป

5.2 หัวเชื้อเริ่มต้นแลคติกในอุตสาหกรรมไส้กรอก เพื่อเปลี่ยนเนื้อให้เป็นผลิตภัณฑ์เนื้อต่างๆ เช่น salami, bologna, peperoni, frankfurter และอื่นๆ ที่มีกลิ่นรส สี และเนื้อสัมผัสชวนรับประทานต่างๆ กันออกไป โดย lactobacillus และ streptococci จะสร้างกรดแลกติกที่เป็นวัตถุกันเสีย (preservative) ทำให้ผลผลิตที่ได้มีอายุการเก็บรักษาที่นานขึ้นขณะเดียวกัน *Micrococci* จะช่วยเปลี่ยน myoglobin ไปเป็น nitrosomyoglobin ซึ่งทำให้เนื้อมีสีแดง lactic acid bacteria ยังผลิตไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ออกมาที่ผิวหน้าของไส้กรอก ซึ่งช่วยทำให้ จุลินทรีย์อื่นที่ไม่ต้องการบางชนิดเจริญได้ ในขณะเดียวกัน *Micrococci* จะสร้างเอนไซม์คาตาเลส ที่มีประสิทธิภาพในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออก ไซด์ในยามที่ไม่ต้องการ (Creager และคณะ, 1994) นอกจากอุตสาหกรรมไส้กรอกแล้ว ในยุโรปยังมีการนำหัวเชื้อเริ่มต้นแลคติกมาใช้ในการผลิตอาหารหมักอื่นๆ อีกมากมาย

2.5 การจำแนกพวกแลคติคแอซิดแบคทีเรีย

บักเตรีที่สร้างกรดแลคติคมีความสามารถในการหมักน้ำตาลต่างชนิดกัน น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งธาตุคาร์บอนที่บักเตรีทุกชนิดในกลุ่มนี้ใช้ได้ จึงอาศัยผลจากการใช้น้ำตาลกลูโคสแบ่งบักเตรีกลุ่มนี้ออกเป็นสองพวกใหญ่ๆ ได้แก่ homofermentative species และ heterofermentative species พวก homofermentative เมื่อเฟอร์เมนต์น้ำตาลกลูโคสจะได้กรดแลคติค ระหว่าง 80 ถึง 90 เปอร์เซ็นต์กับคาร์บอนไดออกไซด์และกรดระเหยบางชนิดโดยขบวนการ Embden – Meyerhof pathway ส่วนพวก heterofermentative จะสร้างกรดจากน้ำตาลกลูโคสได้ประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ และที่เหลือเป็นกรดอาซีติคและเอทานอล ประมาณ 20 ถึง 25 เปอร์เซ็นต์ และได้คาร์บอนไดออกไซด์ประมาณ 20 ถึง 25 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนั้นเป็นสารอื่นๆ เช่น กรดฟอร์มิค กรดซัคซีนิค อีกเล็กน้อย (Tittsler et al., 1952)

เดิมได้มีผู้จัดแลคติคแอซิดบักเตรีทั้งหมดไว้ในวงศ์ (Family) *Lactobacteriaceae* เพียงวงศ์เดียว โดยแบ่งออกเป็น 2 tribes คือ *Streptococcaceae* ได้แก่ บักเตรีรูปกลมแกรมบวกกับ *tribe Lactobacilleae* ได้แก่ บักเตรีรูปแท่งแกรมบวก (Breed et al., 1984)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
96978

ต่อมา Buchanan et al.,(1974) ได้จัดแบ่งแลคติคแอซิดบักเตรีใหม่เป็น 2 วงศ์ คือ *Lactobacillaceae* ซึ่งเป็นบักเตรีรูปแท่งแกรมบวกอยู่เป็นเซลเดี่ยว หรือเป็นลูกโซ่ ส่วนมากเซลจะไม่เคลื่อนที่ (non-motile) เป็นพวก anaerobic facultative หรือ anaerobe ต้องการธาตุอาหารที่สลับซับซ้อน คาตาเลสลบ เบนซิดีนลบ มักพบในอาหารหมักประเภทพืชและสัตว์ซึ่งมีพวกคาร์โบไฮเดรตอยู่มากเกินพอ บักเตรีในวงศ์มีอยู่เพียงสกุลเดียว คือ *Lactobacillaceae* หรือ *Streptococcaceae* ซึ่งเป็นบักเตรีรูปกลม (spherical) หรือ รูปไข่ (oval) แกรมบวกเรียงตัวกันเป็นคู่ เป็นลูกโซ่ หรืออาจเรียงตัวกันเป็นสี่เซล (tetrads) โดยทั่วไปเซลจะไม่เคลื่อนที่ มีการดำรงชีวิตแบบ chemoorganotroph ไม่สร้างเอ็นโดสปอร์เฟอร์เมนต์คาร์โบไฮเดรท ได้แลคติคแอซิด อะซีติกแอซิด เอทานอลและคาร์บอนไดออกไซด์ เป็นพวก facultative anaerobe มีคาตาเลสลบ เบนซิดีนลบ แบ่งออกเป็น ๕ สกุล คือ *Streptococcus, Leuconostoc, Pediococcus, Aerococcus* และ *Gemella* สี่สกุลเป็นพวกที่หากินอิสระสกุลสุดท้ายเป็นตัวเบียสของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม

บักเตรีในสกุล *Pediococcus* เป็นบักเตรีที่มีการเรียงตัวเป็นคู่หรือเป็นสี่เซล (tetrad) เฟอร์เมนต์น้ำตาลให้ inactive lactic acid หรือบางพวกให้ doxtrorotory lactic acid เช่น *Pediococcus halophilus* และ *Pediococcus urinae-equi* (Nakagawa และ Kitahara, 1959) เป็นพวก homofermentative ไม่ย่อยเจลาติน ไม่รีดิวส์ไนเตรท ต้องการธาตุอาหารสลับซับซ้อนไม่มีเอนไซม์คาตาเลส แต่บางสายพันธุ์มีตาเลสเทียม (pseudocatalase) มักพบในอาหารหมักดอง (Buchanan et al.,1974) ซึ่งต่างจากสกุล *Leuconostoc* ที่เป็น heterofermentative ต่างจากสกุล *Streptococcus* ที่มีการเรียงตัวเป็นคู่หรือลูกโซ่ และต่างจากสกุล *Aerococcus* โดยบักเตรี *Aerococcus* มักถูกพบในอากาศ ในฝุ่นละออง และเป็นบักเตรีที่สร้างกรดได้น้อยกว่า *Pediococcus* ส่วนมากมักเรียงตัวกันเป็นคู่หรือเป็นกลุ่มที่ไม่สม่ำเสมอ (irregular cluster) จะเรียงตัวกันเป็นสี่เซลล์ ต่อเมื่อเจริญในอาหารที่เหมาะสมเท่านั้น (Williams et al., 1953)

2.6 การจำแนกบักเตรีในสกุล *Pediococcus*

Breed et al., (1948) จัด *Pediococcus* ไว้เพียงสปีชีเดียว คือ *Pediococcus cerevisiae* ต่อมา Breed et al., (1957) จัดแบ่ง *Pediococcus* ออกเป็นสองชนิด โดยอาศัยอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญและความสามารถเจริญในเบียร์ คือ *Pediococcus cerevisiae* ซึ่งเป็นเชื้อที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25 และ 32 องศาเซลเซียส มีความสามารถเจริญได้ใน wort, hopped wort และในเบียร์กับ *Pediococcus acidilactici* ซึ่งเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และมีความสามารถเจริญใน unhopped wort แต่ไม่มีความสามารถเจริญในเบียร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Yamazato (1958) และ Sakaguchi (1958) ได้ให้ชื่อ *Pediococcus soyae* สำหรับบักเตรี *Pediococcus* ที่แยกได้จากน้ำหมักซีอิ๊ว (miso) และ เป็นบักเตรีที่มีความสามารถในการทนเกลือได้สูงถึง 25 – 26 เปอร์เซ็นต์

Nakagawa และ Kitahara (1959) ได้อาศัยความแตกต่างของ pH อุณหภูมิในการเจริญการสร้างเอนไซม์คาตาเลส ความต้องการออกซิเจน ความต้องการคาร์บอนไดออกไซด์ ความทนเกลือ ความทนต่อ hop ตลอดจนความสามารถในการใช้น้ำตาลแบ่ง *Pediococcus* ออกเป็น 5 ชนิด คือ *Pediococcus cerevisiae, Pediococcus acidilactici, Pediococcus pentosaceus, Pediococcus urinae–equi* และพวกที่ทนเกลือ คือ *Pediococcus halophilus* ซึ่งรวมเอา *Pediococcus halophilus* (Mess, 1934) ซึ่งแยกจาก anchovy pickles และ *Pediococcus soyae* (Sakaguchi (1958) เข้าได้ด้วย (ตารางที่ 1)

Deibel และ Niven (1960) ได้จัด Gaffkya homari และ *Pediococcus viridans* ที่แยกได้จาก cured meat และ meat curing brine ไว้ในพวก *Pediococcus homari* ซึ่งเป็นสปีชีใหม่ โดยให้เหตุผลว่าบักเตรีทั้งสองมีลักษณะคล้ายกันมา และมีลักษณะไปทางสกุล *Pediococcus* คือเป็นพวก homofermentative ไม่สามารถใช้ในเตรท เจริญได้เล็กน้อยบนพื้นผิวของอาหารวุ้น ไม่สามารถย่อยโปรตีน ส่วนมากเรียงตัวกันเป็นสี่เซลล์ คาตาเลสลบเป็นพวก facultative หรือ microaerophile มีความสามารถทนเกลือ สร้าง dextrorotatory lactic acid

Pederson (1949), Gunther และ White (1961), Coster และ White (1964) Gibbs และ Skinner (1966) ได้อาศัยคุณสมบัติและคุณลักษณะต่าง ๆ ของ *Pediococcus* แบ่งบักเตรีนี้ออกเป็น 5 ชนิด (ตารางที่ 2)

Whittenbury (1965) อาศัยหลักการของ Nakagawa และ Kitahara (1959) จัดแบ่งบักเตรี *Pediococcus* ออกเป็น 4 ชนิด คือ *Pediococcus cerevisiae, Pediococcus acidilactici, Pediococcus pentosaceus* และ *Pediococcus halophilus* ส่วน *Pediococcus urinae – equi* จัดไว้ในพวก *Aerococcus viridans* โดยให้เหตุผลว่าบักเตรีนี้ชอบสภาพมีอากาศในการเจริญผลิตกรดได้น้อยใน glucose broth และเจริญได้ในอาหารที่ไม่มีน้ำตาล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Sakaguchi และ Mori (1969) พบว่า *Pediococcus halophilus, Pediococcus soyae* และ *Pediococcus homari* มีความคล้ายคลึงกันทางด้านสัณฐานวิทยา สรีระวิทยา และลักษณะความต้องการธาตุอาหาร ตลอดจนค่า T_m ของ DNA จึงควรจัดไว้เป็นชนิดเดียวกัน ส่วน *Pediococcus urinae – equi* นั้น มีความคล้ายคลึงกับสามสปีชีส์แรก โดยเฉพาะเรื่องความต้องการธาตุอาหาร แต่มีข้อแตกต่างในด้านการทนเกลือและจัดรวม *Aerococcus viridans* ไว้ใน *Pediococcus urinae – equi* โดยให้เหตุผลว่าบักเตรีทั้งสองชนิดนี้มีลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีระวิทยา ตลอดจนความต้องการธาตุอาหารคล้ายกัน

ต่อมา Buchanan et al., (1974) ได้อาศัยหลักการจัดแบ่งของ Nakagawa และ Kitahara (1959) จัดแบ่งบักเตรี *Pediococcus* ออกเป็น 5 ชนิด โดยแบ่งได้เป็นพวกใหญ่ ๆ 2 พวก คือ

1. พวกที่เจริญได้ที่ pH 5.0 แต่ไม่เจริญที่ pH 9.0 มีอยู่ด้วยกัน 3 ชนิด
   - ก. พวกที่ไม่เจริญที่ pH 7.0 หรืออุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ชอบลักษณะที่เป็น anaerobic condition จัดไว้ใน *Pediococcus cerevisiae*
   - ข. พวกที่สามารถเจริญได้ที่ pH 7.0 หรือที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และเป็น microaerophilic ซึ่งแบ่งออกได้เป็น 2 พวก
     1. สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จัดไว้ใน *Pediococcus acidilactici*
     2. ไม่สามารถเจริญที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จัดไว้ใน *Pediococcus pentosaceus*

2. พวกที่ไม่สามารถเจริญที่ pH 5.0 แต่สามารถเจริญที่ pH 9.0
   - ก. ชอบเกลือ (halophilic) จัดไว้ใน *Pediococcus halophilus*
   - ข. ไม่ชอบเกลือ (non halophilic) ได้แก่ *Pediococcus urinae – equi*

2.7 อาหารและสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของบักเตรีในสกุล *Pediococcus*

โดยทั่วไปบักเตรีที่ผลิตกรดและแลคติคนี้เป็นเชื้อที่เพาะเลี้ยงค่อนข้างยาก เนื่องจากมีความต้องการธาตุอาหารค่อนข้างสมบูรณ์ และสลับซับซ้อนในการเจริญ (Prescott และ Dunn, 1959 ; Tittsler et al., 1952) มีความต้องการอาหาร เกลือแร่ กรดอะมิโน และไวตามินหลายชนิด โดยเฉพาะไวตามิน B – complex นอกจากนี้ยังต้องการพวก organic growth factor เช่น adenine guanine และ uracil อีกด้วย (Tittsler et al., 1952 และ Rogosa et al., 1961)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

20374

แหล่งธาตุคาร์บอน

แหล่งธาตุคาร์บอน คือ สารประกอบที่ให้คาร์บอนไปใช้ประโยชน์ในการเสริมสร้างซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอของเซลจุลินทรีย์ได้ (Martin และ Batt, 1957) แหล่งคาร์บอนและพลังงานในอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์พวก heterotrophs ทั่ว ๆ ไปมักจะมีสารเดียวกัน (Frobisher, et al. 1974) สำหรับแหล่งพลังงานและธาตุคาร์บอนของบักเตรีแลคติคจะเป็นพวกคาร์โบไฮเดรตที่สามารถละลายน้ำได้ เช่น น้ำตาลกลูโคสแลคโตส ซูโครส เป็นต้น (Tittsler et al., 1952) Buchanan et al., (1974) รายงานว่าบักเตรี *Pediococcus* สามารถเฟอร์เมนต์น้ำตาลกลูโคส ฟรุคโตส และแมนโนส แต่ไม่สามารถใช้ซอร์บิตอลและแป้ง Dolezil และ Kirsop (1977) พบว่าบักเตรี *Pediococcus* จะใช้น้ำตาลกลูโคส ฟรุคโตส กาแลคโตส แมนโนส เซลโบไบโอส ทรีฮาโลส และ เอ็น – อะเซททีล กลูโคซาไมน์ เป็นแหล่งธาตุคาร์บอนและพลังงานได้

แหล่งธาตุไนโตรเจน

แหล่งธาตุไนโตรเจน คือ สารประกอบที่ให้ไนโตรเจนไปใช้ประโยชน์ในการเจริญและเสริมสร้างหรือซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอของเซลล์ (Date, 1971) แหล่งธาตุไนโตรเจนของบักเตรีแลคติคมักจะเป็นกรดอะมิโน ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็น essential amino acid แต่ก็มีบางชนิดสามารถใช้ peptide ได้ (Tittsler et al., 1952) ส่วนเกลือแอมโมเนียนั้น พวก *Pediococcus* ใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนไม่ได้ (Gunther และ White, 1961) แต่ก็มีพวก *Lactobacillus helveticus* ที่สามารถใช้เกลือแอมโมเนียเป็นแหล่งธาตุไนโตรเจนเพื่อนำไปสร้าง non – essential amino acid และสารประกอบไนโตรเจนที่มีอยู่ในไซโตพลาสซึม

แหล่งของ growth factor

จุลินทรีย์ต้องการ growth factor ที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิต จุลินทรีย์บางชนิดสามารถสังเคราะห์วิตามินต่าง ๆ ได้ แต่บางชนิดไม่สามารถสังเคราะห์วิตามินบางอย่างขึ้นใช้ได้ จึงจำเป็นต้องเติมไวตามินเหล่านั้นลงในอาหาร (Eddy, 1941) บักเตรีแลคติคต้องการวิตามิน และ growth factor ค่อนข้างเฉพาะลงไป แล้วแต่ชนิดของเชื้อ Jensen และ Seeley (1953) พบว่า บักเตรี *Pediococcus* มีความต้องการ citrovorum factor, niacin และ pantothenic acid ในการเจริญ ส่วน biotin และ pyridoxine นั้นเป็นเพียงตัวเร่งในการเจริญเท่านั้น นอกจากนี้เขายังได้ศึกษาถึงความต้องการธาตุอาหารของ *Pediococcus* ดังแสดงไว้ในตารางที่ 3 Nakagawa และ Kitahara (1959) พบว่า *Pediococcus* โดยทั่วไปมีความต้องการพวก niacin, pantothenic acid

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง

และ biotin หรือ tween 80 บางสายพันธุ์ต้องการ organic base riboflavin และ peptide like substance (P – factor) ในการเจริญ

เกลือแร่

บักเตรีแลคติคส่วนใหญ่ต้องการ K^{+}, Mn^{++} และ $PO_4^{=}$ ในปริมาณค่อนข้างมาก (Tittsler et al., 1952) และบางชนิดยังต้องการ Mg^{++} Sr^{++} Ca^{++} Rb^{+} ซึ่งความต้องการอนุมูลโลหะต่าง ๆ นี้จะแตกต่างกันระหว่างบักเตรีแต่ละชนิด

2.8 สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของบักเตรี *Pediococcus*

1. อิทธิพลของอุณหภูมิการเจริญของบักเตรี *Pediococcus* sp.

ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสำหรับการเจริญของจุลินทรียาจะเป็นลักษณะเฉพาะของจุลินทรีย์แต่ละชนิด (Davis, et al. 1968) Buchanan, et al. (1974) รายงานว่าอุณหภูมิที่เหมาะสำหรับการเจริญของ *Pediococcus cerevisiae* อยู่ที่ 25 องศาเซลเซียส และบักเตรีนี้ไม่เจริญที่ 35 องศาเซลเซียส *Pediococcus acidilactici* จะเจริญอยู่ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส *Pediococcus pentosaceus* จะเจริญอยู่ได้ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิสูงสุดที่เจริญได้อยู่ระหว่าง 40 – 45 องศาเซลเซียส ส่วน *Pediococcus urinae – equi* จะเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25 – 30 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิสูงสุดที่เจริญได้ คือ 42 องศาเซลเซียส สำหรับ *Pediococcus halophilus* Nakagawa และ Kitahara (1959) พบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญอยู่ที่ 25 – 30 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิสูงสุดที่เจริญได้จะอยู่ต่ำกว่า 45 องศาเซลเซียส Sakaguchi (1959) รายงานว่า *Pediococcus soyae* ซึ่งเป็นพวกเดียวกับ *Pediococcus halophilus* ที่แยกได้จากน้ำหมักซีอิ๊วญี่ปุ่นจะเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25 – 30 องศาเซลเซียส แต่จะไม่เจริญที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส Gunther และ White (1961) พบว่า *Pediococcus halophilus* สามารถเจริญที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส Coster และ White (1964) พบว่า *Pediococcus halophilus* มีช่วงอุณหภูมิในการเจริญอยู่ระหว่าง 10 – 40 องศาเซลเซียส Whittenbury (1965) พบว่า *Pediococcus halophilus* สามารถเจริญได้ที่ 40 องศาเซลเซียส แต่จะไม่เจริญที่ 45 องศาเซลเซียส Saisithi (1967) พบว่า *Pediococcus halophilus* ที่แยกได้จากน้ำปลาไทยจะเจริญดีที่สุดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และ Buchanan et al., (1974) รายงานว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของบักเตรี *Pediococcus halophilus* จะอยู่ระหว่าง 25 – 30 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิสูงสุดที่เจริญได้ คือ 40 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ผลของความเป็นกรดเป็นด่างต่อการเจริญของบักเตรี *Pediococcus* sp.

ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) มีอิทธิพลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ จุลินทรีย์แต่ละชนิดจะมีช่วง pH ที่เหมาะสมสำหรับการเจริญ ถ้าต่ำกว่านั้นหรือสูงกว่านั้นจะไม่มีการเจริญเลย หรือ เจริญก็เจริญไม่ดีเท่าในช่วง pH ที่เหมาะสม (Okinsky and Unmreit, 1959)

Buchanan et al., (1974) รายงานว่าบักเตรี *Pediococcus cerevisiae* จะเจริญได้ในช่วง pH 3.5 – 6.2 และจะเจริญได้ดีที่สุดที่ pH 5.5 Nakagawa และ Kitahara (1959) พบว่า *Pediococcus acidilactici* จะเจริญได้ดีที่ pH 6.0 ส่วน pH ต่ำสุดที่สามารถเจริญได้อยู่ระหว่าง 3.5 – 3.8 และ pH สูงสุดที่เจริญได้อยู่ที่ 8.0 ส่วน pH ที่เหมาะสมสำหรับการเจริญอขง *Pediococcus pentosaceus* อยู่ที่ pH 7.0 และ pH 8.0 เป็น pH สูงสุดที่สามารถเจริญได้ *Pediococcus urinae - equi* จะเจริญได้ที่ pH 9.0 และ pH สูงสุดที่เจริญได้ คือ 9.6 ส่วน *Pediococcus halophilus* จะเจริญได้อยู่ที่ 9.2 Sakaguchi (1959) พบว่า *Pediococcus soyae* ในน้ำหมักซีอิ้วญี่ปุ่นจะเจริญได้ในช่วง pH 5.5 – 9.0 Coster และ White (1964) พบว่า *Pediococcus halophilus* สามารถเจริญได้ที่ pH 8.6 แต่ไม่สามารถเจริญที่ pH 4.4 Whittenbury (1965) พบว่า *Pediococcus halophilus* สามารถเจริญได้ที่ pH 5.0 และ 8.0 แต่ไม่สามารถเจริญที่ pH 9.6

2.9 สภาพของการหมักใน Nham model broth เปรียบเทียบการหมักแหนม

หลังจากปิดทับอาหารเลี้ยงเชื้อด้วย paraffin oil ทำให้เหมือนสภาพการหมักแหนมจริง โดยทำให้ภายใน Nham model broth มีอากาศน้อย การกำหนดบรรยากาศเช่นนี้ทำให้จุลินทรีย์บางประเภทเท่านั้นที่สามารถเจริญเติบโตได้ นอกจากนี้ในการผลิตยังมีเกลือแกงเป็นองค์ประกอบ ซึ่งเป็นการคัดเลือก หรือกำหนดให้จุลินทรีย์บางประเภทที่ทนเกลือแกงและทนต่อสภาพไม่มีอากาศสามารถเจริญเติบโตได้ โดยเฉพาะจุลินทรีย์ประเภทแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่เป็นแกรมบวก (คำนวณตา, 2509 ; เตชะภิญญาวัฒน์, 2518) ในระหว่างการหมักช่วงแรกจุลินทรีย์ส่วนใหญ่จะมีรูปร่างเป็นแท่งและรูปทรงกลม ทั้งที่เป็นแกรมบวกและแกรมลบที่สามารถผลิตกรดได้ (เตชะ-ภิญญาวัฒน์, 2518) แหล่งคาร์โบไฮเดรตที่สามารถนำไปใช้ได้ในกระบวนการหมักจะถูกใช้โดยเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียประเภท heterofermentative lactobacilli เช่น *Lactobacillus brevis* และ ประเภท homofermentative lactobacilli เช่น *Lactobacillus plantarum* และ ประเภท homofermentative cocci เช่น *Pediococcus cerevisiae* (คำนวณตา, 2509 ; เตชะภิญญาวัฒน์, 2518 ; Srisomwong, 1985), *Pediococcus pentosaceus* และ *Pediococcus acidilactici* (Tanasupawat and Daengsubha, 1983) จุลินทรีย์ดังกล่าวข้างต้นสามารถใช้แหล่งคาร์โบไฮเดรตในการผลิตกรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งส่วนใหญ่เป็นกรดแลคติกและมีผลทางอ้อมต่อกลิ่นรสชาติ และลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ โดยผลิตภัณฑ์สุดท้ายจะมีปริมาณกรดแลคติดทั้งหมดเป็นร้อยละ 0.5-1.0 (คิดเทียบกรดแลคติก) และมีค่าความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 4.45-4.55 (คำนวณตา, 2509) โสมะฐิติ (2535) ได้รายงานว่าปริมาณ Coliforms ในแหนมช่วงต้นของการผลิตและการหมักจะมีปริมาณสูง แต่จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหลังจากผ่านการหมักไปได้ 5 วัน กระบวนการหมักแหนมแบบพื้นบ้านส่วนใหญ่ขึ้นอยู่กับจุลินทรีย์เริ่มต้นที่มีอยู่ในวัตถุดิบ เครื่องมือและสภาพสิ่งแวดล้อมของกระบวนการผลิต ซึ่งมีผลทำให้เกิดความผันแปรไม่แน่นอนในชนิดและปริมาณจุลินทรีย์ ที่มีผลกระทบต่อกระบวนการผลิตการหมักแหนม อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์แหนมสุดท้ายจะมีลักษณะของกลิ่นเหมือนไส้กรอกตะวันตกที่หมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ประเภท Pediococcus (Steinkraus และคณะ ; 1983)

ข้อดีของ NMB คือ จะสามารถควบคุมสภาพการหมักให้ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในระหว่างการหมักได้ ช่วยให้ในระหว่างการหมักใน NMB นั้นมีสภาพเป็นเนื้อเดียวกันเพื่อให้กล้าเชื้อเจริญและกระจายอย่างทั่วถึงในอาหารเหลว เมื่อเปรียบเทียบกับการหมักแหนมโดยธรรมชาติเชื้ออาจจะกระจายไม่ทั่วถึงในส่วนผสมที่ใช้ทำแหนม และยังสามารถเก็บผลการทดลองได้ง่ายและมีความแม่นยำมากกว่าการเก็บตัวอย่างที่ทดสอบจากแหนมจริง

2.10 Model broth

ส่วนผสมและสารอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อ

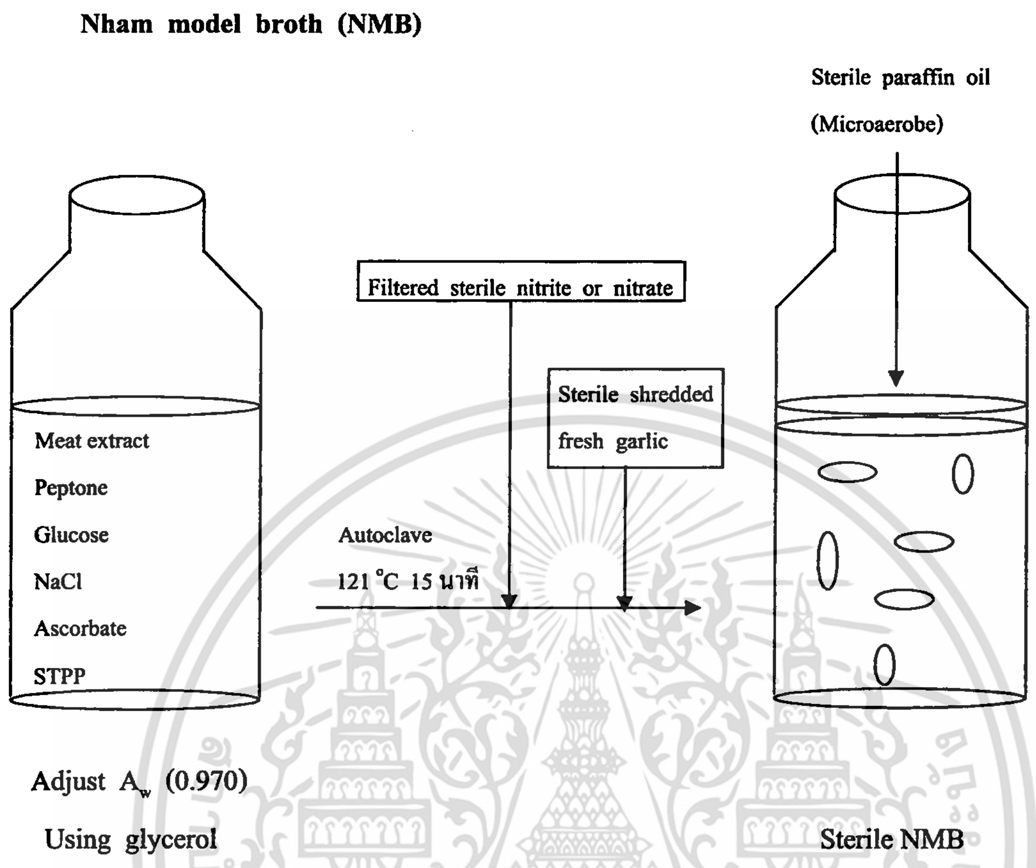
Nham ingredients		Model broth formula / L
เนื้อหมูบด 650 กรัม	→	Meat extract, peptone 10,10 กรัม
หนังหมู 350 กรัม	→	-
ข้าวสวยหุงสุก 60 กรัม	→	glucose 10 กรัม
กระเทียมสด 50 กรัม	→	กระเทียมสเตอไรซ์ 5 กรัม
เกลือ 25 กรัม	→	NaCl 25 กรัม
ไนเตรตและไนไตรท์ 125/500 ppm	→	ไนเตรตและไนไตรท์
Ascorbic acid, STPP 0.5, 3 กรัม	→	Ascorbic acid, STPP 0.5, 3 กรัม

สภาพการหมักแหนม : - Aw ที่ 0 วัน เท่ากับ 0.968-0.970 pH = 6.3-6.5

3 วัน เท่ากับ 0.967-0.969 pH = 4.5

- Microaerophilic

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 1 แสดงวิธีการเตรียม NMB

2.11 ผลของกระเทียมต่อการเจริญของแบคทีเรียแลคติค

อาหารเหลวที่จำลองสภาพการหมักแหนม (Nham Model Broth , NMB) เป็นอาหารที่ จำลองสภาพการหมักแหนมให้เหมือนกับการหมักแหนมจริง ข้อดีของการใช้ NMB จะทำให้อาหารเป็นเนื้อเดียวกันและสภาพการหมักปลอดจากเชื้อจุลินทรีย์ ช่วยให้เราสามารถศึกษาว่ากระเทียมมีผลต่อการเจริญ และการสร้างกรดแลคติคของแบคทีเรียแลคติคในระหว่างการหมักแหนม ซึ่งกรดที่สร้างขึ้นมาจากกล้าเชื้อที่ใช้ในการศึกษาไม่ได้มาจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับวัตถุดิบที่ใช้ทำแหนม เช่น โคลิฟอร์ม และยังช่วยในการติดตามผลการหมักของกล้าเชื้อที่ใช้ในการ ศึกษาได้ง่าย

จากการศึกษาพบว่ารสเผ็ดในกระเทียม จะเร่งกระบวนการหมักในผลิตภัณฑ์ แล้วยังส่งผลต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแลคติคและการผลิตกรด โดยการทำการทดลองศึกษาคุณสมบัติของกระเทียมต่ออาหารหมักประเภทเนื้อ (แหนม) โดยใช้เชื้อตั้งต้นสามชนิด คือ *Lactobacillus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

curvatus, *L.sake* และ *Pediococcus acidilactici* ทำการศึกษาจาก NMB เป็นการจำลองสภาวะจากแหนมจริงภายใต้สภาวะการปลอดเชื้อ และสภาพการหมักไร้อากาศในห้องทดลองปฏิบัติการมีการเติมเชื้อตั้งต้นดังกล่าวลงไป โดยมีปริมาณเชื้อเริ่มต้นเท่ากันมีการเติมและไม่เติมกระเทียมลงไป ผลปรากฏว่าในระยะเวลาที่เท่ากัน คือ วันแรก วันที่สอง และวันที่สาม จำนวนเชื้อที่เติมกระเทียมจะมีปริมาณสูงกว่าที่ไม่เติมกระเทียมอย่างชัดเจนและในทำนองเดียวกันเมื่อปริมาณเชื้อสูงขึ้น เชื้อจะมีการผลิตกรดแลคติคเพิ่มสูงขึ้นกว่าตัวอย่างที่ไม่เติมกระเทียมอย่างชัดเจน (Swetwiwathana et al., 1999) และเมื่อได้ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการแล้ว ได้มีการนำมาทดลองกับผลิตภัณฑ์จริงพบว่าจากแหนมที่ไม่มีการเติมกระเทียมลง จะมีปริมาณเชื้อน้อยกว่ามากเมื่อเทียบกับการเติมกระเทียม นอกจากนี้แหนมที่เติมกล้าเชื้อ *L.sake* รสชาติยังเป็นที่ยอมรับของผู้ทำการทดสอบชิมไม่แตกต่างจากแหนมทั่วๆไป

จากการศึกษาข้างต้นพบว่า กระเทียมส่งผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียแลคติค อย่างชัดเจน อันเนื่องมาจากปริมาณธาตุแมกนีเซียมที่มีในกระเทียม ดังนั้นไม่ว่าจะในห้องปฏิบัติ การหรือผลิตภัณฑ์จริง ข้อดีของการเติมกระเทียมคือช่วยย่นระยะเวลาการหมักลงมากเมื่อเทียบกับการโดยใช้วิธีทางธรรมชาติ และปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจะส่งผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อโรคอาหารเป็นพิษบางชนิดได้ ทำให้อาหารหมักมีความปลอดภัยต่อการบริโภคมากขึ้น (อดิศร ,2542)

2.12 รายงานการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติคในการควบคุมคุณภาพของการหมักแหนม

อดิศร(2533) ได้ทำการทดลองนำกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติคผสมของ *Lactobacillus* spp. (L1)และ *Pediococcus* spp. เป็นเชื้อเริ่มต้นในการหมักแหนมที่มีการเติมเชื้อในกลุ่มซาลโมเนลลา 3 สายพันธุ์ *Salmonella derby*, *S.anatum* และ *S.newport* เทียบกับแหนมที่หมักโดยธรรมชาติ ที่ไม่มีการเติมกล้าเชื้อเริ่มต้นของแบคทีเรียแลคติค แต่เติมปริมาณการปนเปื้อนของซาลโมเนลลา 3 สายพันธุ์ ดังกล่าวในปริมาณที่เท่ากัน พบว่า การใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติคผสมของ *Lactobacillus* spp. และ *Pediococcus* spp มีผลในการยับยั้งการเจริญและทำลายเชื้อซาลโมเนลลาให้หมดไปในระหว่างการหมักแหนมได้เร็วกว่าแหนมที่หมักโดยไม่เติมกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติค จากนั้น Swetwiwatha na et al.,(1999) ได้ศึกษาผลของกระเทียมในการหมักแหนมเมื่อใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติค 3 สายพันธุ์ได้แก่ *Lactobacillus curvatus*, *L.sake* และ *Pediococcus acidilactici* เป็นเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เริ่มต้นในการหมักแหนม ซึ่งกระเทียมมีส่วนในการเจริญของแบคทีเรียแลคติคและการสร้างกรดแลคติค เมื่อเปรียบเทียบกับการหมักแหนมที่หมักโดยธรรมชาติ โดยไม่มีการเติมกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติคเป็นเชื้อเริ่มต้นพบว่าการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติคและกระเทียมในการหมักแหนม จะช่วยให้ผลิตกรดแลคติคได้มากขึ้น ในขณะที่ผลิตกรดอะซิติกได้น้อยลง เป็นผลให้แหนมมีค่าพีเอชลดลงอย่างรวดเร็ว จากการศึกษาทั้งกล้าเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ พบว่า *L.sake* ผลิตกรดแลคติคได้มากที่สุด และช่วยให้แหนมที่ได้มีค่าพีเอชลดลงเร็วที่สุด ในการใช้อาหารเหลวที่จำลองสภาวะการหมักแหนม มีสภาพการหมักเหมือนกับการหมักแหนมจริง ซึ่งกล้าเชื้อแลคติคทั้ง 3 สายพันธุ์ ที่ใช้จะมีกระบวนการเมตาบอลิซึมไม่แตกต่างไปจากการหมักแหนมจริง พบว่าการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลค ติคน่าจะเป็นทางเลือกหนึ่งที่ช่วยในการพัฒนาคุณภาพของแหนม

ในช่วงทศวรรษการใช้กล้าเชื้อแลคติคได้รับความนิยมอย่างกว้างขวาง ในการทำผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเพื่อช่วยลดระยะเวลาในการหมักอีกทั้งยังเป็นที่ยอมรับในด้านรสชาติ เนื้อสัมผัส ลักษณะปรากฏ ทางด้านสีของผลิตภัณฑ์ และเป็นการพัฒนาให้ผลิตภัณฑ์มีความปลอดภัยสำหรับผู้บริโภคมากขึ้น สายพันธุ์แรกที่ใช้เป็นกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติคที่ประสบความสำเร็จได้แก่ *Lactobacillus* sp. , *Pediococcus* sp.และ *Micrococcus* sp.หรือ *Staphylococcus* sp. ซึ่ง *Lactobacillus* sp. และ *Pediococcus* sp. สามารถผลิตกรดแลคติคได้จากการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรต โดยกรดแลค ติคที่สร้างขึ้นจะช่วยให้ค่าพีเอชลดลง และช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการให้เจริญในระหว่างการหมักผลิตภัณฑ์อีกทั้งยังช่วยในด้านกลิ่นรส *Micrococcus* sp. และ *Staphylococcus* sp. จะช่วยลดปริมาณไนเตรตที่ตกค้างในผลิตภัณฑ์โดยจะเปลี่ยนไนเตรตให้เป็นไนไตรท์และช่วยให้สีของผลิตภัณฑ์มีความคงตัว นอกจากนี้ แหนมที่หมักด้วยกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติคยังมีรสชาติเป็นที่ยอมรับในด้านรสชาติ รสสัมผัส และลักษณะปรากฏ ทางด้านสีของผลิตภัณฑ์จากผู้ทดสอบอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติคในการหมักแหนม เพื่อการควบคุมคุณภาพความปลอดภัยในระหว่างการหมักจึงน่าจะมีความเป็นไปได้สูง

จากการใช้เชื้อแบคทีเรียแลคติค (*L.*curvatus, *L.sake* และ *P.acidilactici)* ในแหนมเปรียบเทียบกับการหมักแหนมตามธรรมชาติพบว่า ภายหลังการหมักแหนม 3 วัน จะมีค่าวอเตอร์แอททิวิตี้ไม่ต่างกัน แต่การหมักแหนมที่มีการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติคจะสามารถผลิตกรดแลคติคได้มากกว่า ซึ่งการผลิตกรดแลคติคที่มากกว่าจะทำให้ค่าพีเอชลดลงได้มากกว่าการหมักแหนมตามธรรมชาติ โดยการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติค ร่วมกับการใส่กระเทียม ในการหมักแหนมจะช่วยสร้างกรดแลคติคได้ในปริมาณที่สูงกว่าการหมักแหนมที่ใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติคเพียงอย่างเดียว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ไม่มีการใส่กระเทียม ซึ่งกรดแอซิติกที่ผลิตขึ้นมาจะมีปริมาณน้อยกว่า 0.10% การที่ผลิตกรดแลคติคได้ในปริมาณมาก จะส่งผลให้ค่าพีเอชลดลงอย่างรวดเร็วซึ่งจะช่วยลดระยะเวลาในการหมักลง โดยผลของการผลิตกรดแอซิติกได้น้อยลงและยังช่วยให้ผลิตภัณฑ์มีกลิ่นรสที่ดีเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค เพราะกรดแอซิติกที่ผลิตขึ้นในปริมาณมากจะทำให้ผลิตภัณฑ์มีกลิ่นรสที่ผู้บริโภคไม่ยอมรับโดย *L.sake* ผลิตกรดแลคติคได้มากที่สุด และ *P.acidilactici* ผลิตน้อยที่สุด

สำหรับการหมักแหนมนั้น Swetwiwathana และ Lotong (1999) ได้เริ่มทำการคัดแยกเชื้อในกลุ่มแบคทีเรียแลคติคที่สามารถผลิตสารแบคเทอริโอซิน เพื่อประโยชน์ในการใช้เป็นกล้าเชื้อบริสุทธิ์กลับในการหมักแหนม โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อใช้ในการยับยั้งเชื้อซาลโมเนลลาที่เป็นปัญหาสำคัญของผลิตภัณฑ์แหนมให้หมดไปอย่างรวดเร็วในระหว่างการหมัก และจากงานวิจัยได้พบว่าได้เชื้อกลุ่มที่สามารถผลิตสารยับยั้งที่ชื่อว่าแบคเทอริโอซินหลายสายพันธุ์ แต่สายพันธุ์ที่เป็นที่น่าสนใจ เป็นสายพันธุ์ที่เก็บเชื้อไว้กับสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์ที่มีรหัส TISTR536 ซึ่งสายพันธุ์ดังกล่าวได้ทำการวินิจฉัยชนิดสายพันธุ์ในภายหลัง พบว่า เป็นเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* ที่สร้างสารยับยั้งแบคเทอริโอซินที่ชื่อว่า pediocin PA-1 ซึ่งสาร pediocin PA-1 ของเชื้อนี้ไม่สามารถยับยั้งในกลุ่ม *Stqaphylococcus carnosus* ที่เป็นกล้าเชื้อบริสุทธิ์ที่สำคัญในการหมักผลิตภัณฑ์เนื้อของยุโรปหลายชนิด เช่น ซาลามี่ โดยเชื้อที่ *S. carnosus* นี้ได้มีการตรวจพบว่าเป็นตัวสำคัญที่ทำให้เกิดกลิ่นรสที่ดีในผลิตภัณฑ์เนื้อและเป็นเชื้อที่สามารถสร้างเอนไซม์คะตะเลส (catalase) ที่มีผลทางอ้อมกับการคงสีชมพูแดงของผลิตภัณฑ์เนื้อหมักที่มีการเติมไนเตรทไนไตร์ให้คงทน ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาถึงประสิทธิภาพในนำเชื้อ *P.pentosaceus* TISTR 536 ในการหมักแหนมเทียบกับแหนมที่หมักโดยธรรมชาติไม่มีการเติมกล้าเชื้อและแหนมที่หมักด้วยเชื้อ *P.pentosaceus* JCM5890 ที่ไม่สามารถผลิตสารแบคเทอริโอซิน รวมถึงศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งและทำลายเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ *S. anatum* ควบคู่ไปด้วยในการทดลอง (Swetwiwathana และ คณะ , 2001 และ 2001) ซึ่งการทดลอง พบว่าการใช้ *P.pentosaceus* TISTR536 เป็นกล้าเชื้อบริสุทธิ์ในการหมักแหนมนั้นจะทำให้แหนมที่ได้มีค่าพีเอชลดลงเร็วกว่าแหนมที่หมักแบบธรรมชาติโดยไม่เติมกล้าเชื้อเล็กน้อย แต่ค่าพีเอชเมื่อเทียบกับแหนมที่เติมเชื้อ JCM 5890 จะให้ผลไม่แตกต่างกันมาก แต่ผลในการยับยั้งการเจริญของ *S.anatum* ของแหนมที่หมักด้วย TISTR536 นั้นจะให้ผลดีกว่าแหนมที่หมักด้วย *P.pentosaceus* JCM 5890 และแหนมที่หมักแบบธรรมชาติที่ไม่เติมกล้าเชื้อ ซึ่งจากผลการทดลองดังกล่าว ทำให้ยิ่งเชื่อมั่นว่าเชื้อในกลุ่มแบคทีเรียแลคติคสายพันธุ์ *P.pentosaceus* TISTR536 น่าจะเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะใช้เป็นกล้าเชื้อบริสุทธิ์ในการหมักแหนมเพื่อช่วยในการพัฒนาคุณภาพแหนมให้คงอยู่ในด้านรสชาติและลักษณะสัมผัสของผลิตภัณฑ์ รวมถึงความเชื่อมั่นในด้านความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปลอดภัยจากแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค เช่น *S.anatum* และการศึกษาดังกล่าวน่าจะเป็นรูปแบบของการนำไปสู่การพัฒนาคุณภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก รวมถึงอาหารหมักพื้นเมืองของไทยอีกหลายชนิดในอนาคต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ

กระเทียม

3.2 อุปกรณ์

1. ขวด M
2. จานเพาะเชื้อ
3. หลอดทดลอง
4. เครื่องวัดค่า pH (pH meter)
5. Candle jar
6. Vortex mixer
7. หม้อนึ่งความดัน (autoclave)
8. Pipette
9. บิวเรตและขาตั้ง
10. ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร

3.3 สารเคมี

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ Nham Model Broth (NMB)
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth
3. อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS + 0.5%$CaCO_3$ + 1.2 % agar
4. Paraffin oil
5. สารละลาย 0.1% peptone water
6. Alcohol 95%
7. น้ำกลั่น
8. ฟีนอล์ฟทาลีน (Phenolphthalein)
9. 0.1 N NaOH

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 เชื้อจุลินทรีย์

1. *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536
2. *Lactobacillus lactis* N190

3.5 การทดลอง

3.5.1 การเตรียมกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก

กล้าเชื้อ

↓

เขี่ยเชื้อมา 1-2 ลูบแล้วนำไปใส่ใน MRS broth

↓

นำไปบ่มที่ 30 °C 18-24 ชั่วโมง

ภาพที่ 2 แสดงขั้นตอนการเตรียมกล้าเชื้อ

3.5.2 การเตรียมแบบจำลอง Nham model broth

3.5.2.1 การเตรียมกระเทียมปลอดเชื้อ

1) ปอกเปลือกกระเทียมออกโดยให้มีความบอบช้ำน้อยที่สุด แล้วนำไปชั่งให้ได้จำนวน 5 กรัม

2) แช่ในแอลกอฮอลล์ 95% เวลา 60 นาที

3) ล้างด้วยน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

4) ใช้ปากคีบที่ปลอดเชื้อ คีบกระเทียมวางลงในจานเพาะเชื้อที่ปลอดเชื้อ จากนั้นจึงใช้มีดปลอดเชื้อหั่นกระเทียมให้เป็นชิ้นเล็กๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปอกเปลือกกระเทียมออก

↓

ชั่งให้ได้น้ำหนัก 5 กรัม

↓

แช่แอลกอฮอลล์ 95% นาน 1 ชั่วโมง

↓

ล้างกระเทียมด้วยน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

↓

หั่นกระเทียมบนจานเพาะเชื้อที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ

ภาพที่ 3 แสดงขั้นตอนการเตรียมกระเทียมปลอดเชื้อ

3.5.2.2 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Nham Model Broth (NMB)

ส่วนผสมของ Nham Model Broth มีดังนี้

Meat extract	10	กรัม
Tryptone	10	กรัม
Glucose	10	กรัม
Sodium-tri-polyphosphate	3	กรัม
Sodium ascorbate	0.5	กรัม
Sodium chloride	2.5%	
Glycerol	4 %	
น้ำ	1	ลิตร

นำส่วนผสมทั้งหมดละลายในน้ำกรองให้ได้ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร หลอมอาหารบน hot plate จนละลายหมด ใส่ขวดอาหารที่ใช้ทดสอบบรรจุขวดละ 100 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C เวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.2.3 การใส่กระเทียมและเพาะเลี้ยงเชื้อ

1) นำ NMB มา 4 ขวด แบ่งเป็น

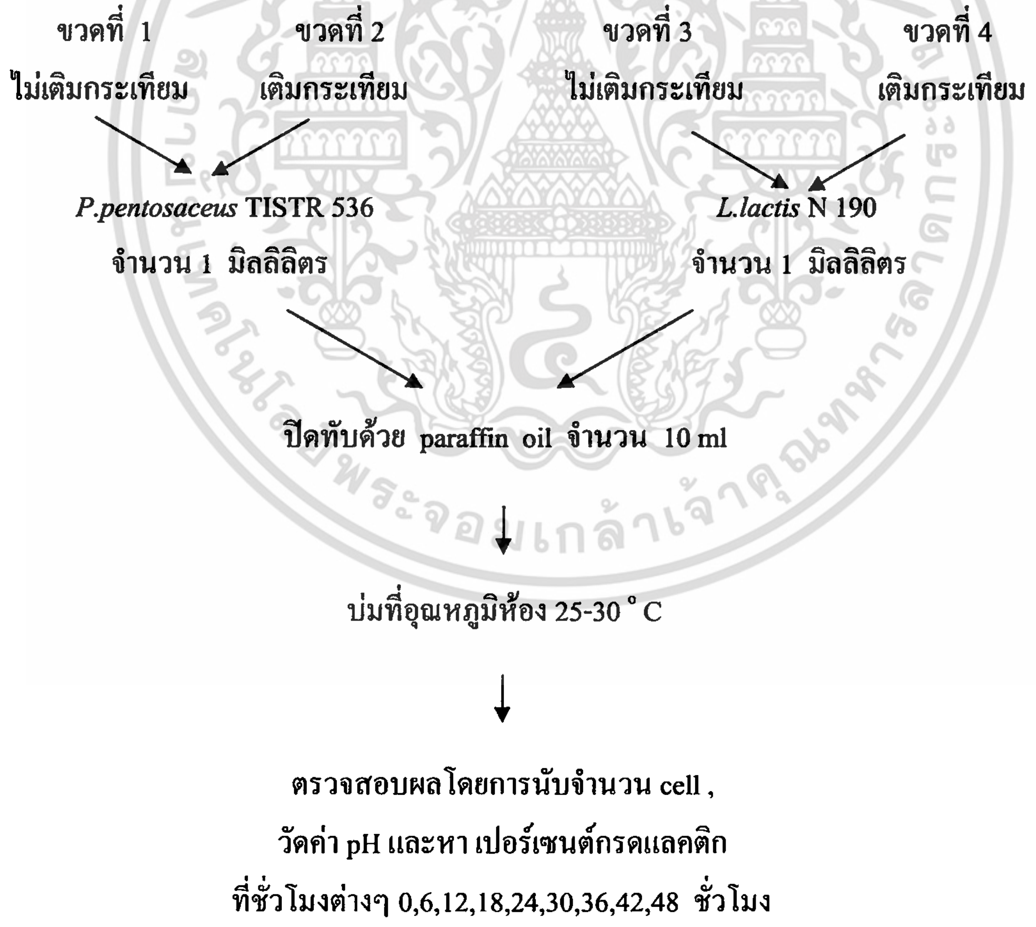
ขวดที่ 1,2 จะทำการแยกเป็นไม่เติมและเติมกระเทียมเพาะเลี้ยงโดยเชื้อ *P.pentosaceus* TISTR 536

ขวดที่ 3,4 จะทำการแยกเป็นไม่เติมและเติมกระเทียมเพาะเลี้ยงโดยเชื้อ *L.lactis* N190

2) ใส่เชื้อปริมาตร 1 มิลลิลิตรที่บ่มในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth เวลา 18-24 ชั่วโมง ตามที่ได้แยกไว้ลงในแต่ละขวด

3) ปิดทับด้วย Paraffin oil ที่ฆ่าเชื้อแล้ว เพื่อช่วยปรับสภาพการหมักโดยให้อาหารเลี้ยงเชื้อสัมผัสกับอากาศน้อยที่สุด นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25-30 °C)

4) ตรวจสอบผลที่ชั่วโมงต่างๆ ที่ 0, 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48 ชั่วโมง



ภาพที่ 4 แผนภูมิแสดงขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเชื้อใน NMB

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6 การศึกษาผลของกระเทียมต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแลคติกทั้ง 2 สายพันธุ์

3.6.1 การตรวจนับปริมาณเชื้อโดยใช้วิธี Plate count

1) ในแต่ละขวด นำปิเปตดูดตัวอย่าง 1 มิลลิลิตรเพื่อทำ ten fold dilution ใน 0.1% peptone water

2) ทำ dilution ตั้งแต่ 10^{-1} - 10^{-7}

3) ดูดตัวอย่างที่ระดับการเจือจาง ตั้งแต่ 10^{-5} - 10^{-7} มา 0.1 มิลลิลิตร แล้วใส่บนจานเพาะเชื้อ MRS + 0.5%$CaCO_3$ + 1.2% Agar ทำการ spread plate

4) ทำการบ่มใน candle jar ซึ่งเป็นสภาพที่ไร้อากาศในการบ่ม เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

5) ตรวจสอบเชื้อโดยดูจาก clear zone ใสที่เกิดขึ้นรอบโคโลนี

ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างจาก Nham model broth มา 1 ml

↓

ใส่ใน peptone water 0.1% โดยการทำ ten fold dilution ตั้งแต่ 10^{-1} - 10^{-7}

↓

ดูดตัวอย่างจำนวน 0.1 ml ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-5} - 10^{-7} ใส่ในอาหาร MRS + $CaCO_3$ + agar

↓

ทำการ spread ให้ทั่วผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อ

↓

บ่มใน candle jar เวลา 48 ชั่วโมง

↓

ตรวจนับจำนวนโคโลนีที่ทำให้เกิด
เป็น clear zone รอบโคโลนี บันทึกผล

ภาพที่ 5 แสดงขั้นตอนการตรวจนับเชื้อโดยวิธี Plate count

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.2 การวัดค่า pH

เก็บตัวอย่างที่ชั่วโมงต่างๆ แล้วนำไปวัดค่าพีเอช โดยใช้เครื่อง pH meter โดยนำ probe ของเครื่อง pH meter นั้นจุ่มลงในตัวอย่างให้ท่วม probe รอจนค่า pH ที่ได้จากเครื่องนั้นคงที่ จากนั้นบันทึกผลที่ได้

3.6.3 การหาเปอร์เซนต์กรดแลคติก

1) ดูดตัวอย่างจาก NMB มา 10 ml หยดฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์
2) ไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐาน 0.1 NaOH ไทเทรต จนเปลี่ยนเป็นสีชมพู
3) บันทึกปริมาตรที่ทำให้สารตัวอย่างเปลี่ยนสี

ดูดตัวอย่างมาจำนวน 10 ml

↓

ใส่อินดิเคเตอร์ที่เป็นฟีนอล์ฟทาลีน

↓

ไทเทรตด้วย 0.1 NaOH จนได้สารละลายเป็นสีชมพู

↓

บันทึกผลปริมาตรของ NaOH ที่ใช้ไป

ภาพที่ 6 แสดงขั้นตอนการไทเทรตหาเปอร์เซนต์กรดแลคติก

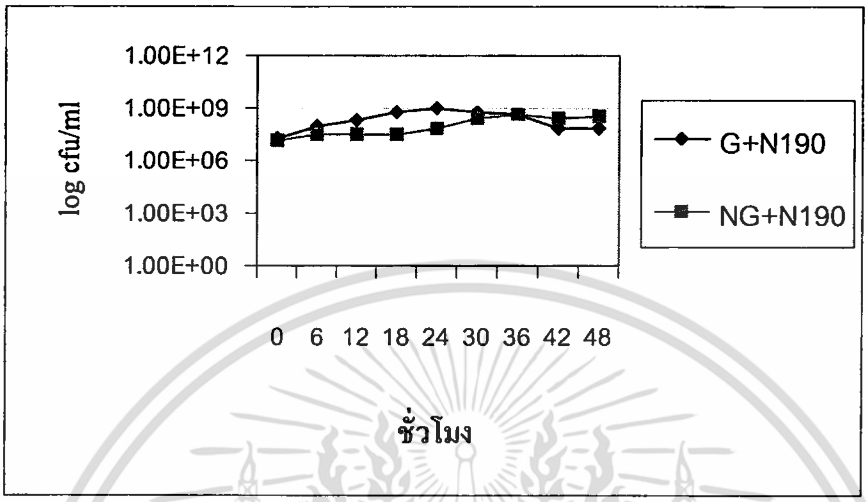
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

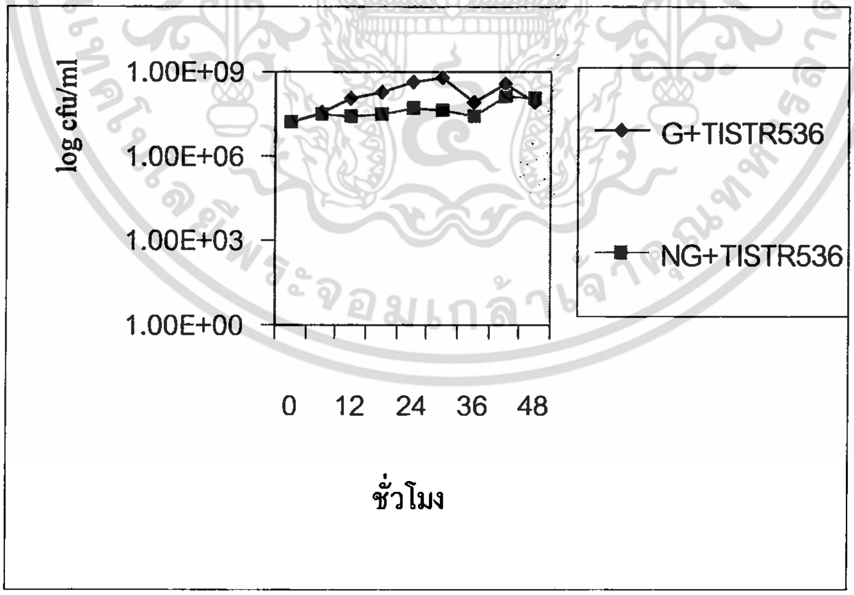
4.1 ผลการศึกษาผลของกระเทียมต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแลคติคสายพันธุ์ N 190 และ TISTR 536 ในอาหารเหลวที่จำลองสภาวะการหมักแหนม

จากการศึกษาผลของกระเทียมต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ N190 และ TISTR 536 ในอาหารเหลวที่จำลองสภาวะใน NMB เทียบกับระหว่างการหมักแหนมในธรรมชาติ โดยเปรียบเทียบระหว่างการเติมและไม่เติมกระเทียม (ภาพที่ 7 และ 8) พบว่า เชื้อทั้งสองมีแนวโน้มที่เจริญได้มากและเร็วในหลอด NMB ที่มีกระเทียมกล่าวคือ จะมีการเจริญเพิ่มมากขึ้นของเชื้อทั้งสองหลังจากหมักได้ 6 ชั่วโมง และเชื้อจะเพิ่มสูงขึ้น 1 log cycle เมื่อหมัก NMB ไปได้ 24 ชั่วโมง ขณะที่หลอด NMB ที่ไม่ได้เติมกระเทียม เชื้อทั้งสองค่อยๆเจริญและเริ่มเจริญเพิ่มขึ้นมากกว่าเชื้อตั้งต้น 1 log cycle เมื่อทำการหมัก NMB ไปได้ 36 ชั่วโมง โดยที่การเพิ่มขึ้นของเชื้อใน NMB ที่มีกระเทียมจะเจริญได้มากกว่าและเร็วกว่า NMB ที่ไม่มีกระเทียม เป็นไปได้ว่าในกระเทียมอาจมีสารที่ช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโต เช่น แมงกานีส (Mn) ซึ่งเป็นสารที่สำคัญต่อการเจริญของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก ซึ่งสารนี้นอกจากจะช่วยในการเจริญของเชื้อยังช่วยในเรื่องการสร้างกิจกรรมของเอนไซม์รวมไปถึงเอนไซม์ที่สำคัญในกระบวนการ glycolysis (KANDLER, 1982. อ้างโดย Swet wiwathana et al.,1999) ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับรายงานของ Swetwiwathana et al., (1999) ที่รายงานการเพิ่มขึ้นของแบคทีเรียแลคติกทางการค้าของเชื้อ *Lactobacillus sake, L.curvatus* และ*Pediococcus acidilactici* และการสร้างกรดแลคติกที่เพิ่มขึ้นใน NMB ที่มีกระเทียม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 7 : แสดงปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติคของเชื้อ N190 ในอาหารเหลวที่จำลองสภาวะการหมักแหนมที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ



ภาพที่ 8 แสดงปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติคเชื้อ TISTR 536 ในอาหารเหลวที่จำลองสภาวะการหมักแหนมที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลการศึกษาผลของกระเทียมต่อ % lactic acid ของเชื้อแบคทีเรียแลคติคสายพันธุ์ N 190 และ TISTR 536 ในอาหารเหลวที่จำลองสภาวะการหมักแหนม

จากการศึกษาผลของกระเทียมต่อการผลิตกรดแลคติคของแบคทีเรียแลคติคสายพันธุ์ TISTR 536 (ตารางที่ 3 และ ภาพที่ 9) และ สายพันธุ์ N190 (ตารางที่ 4 และ ภาพที่ 10) ใน NMB พบว่าจาก NMB เชื้อทั้งสองใน NMB ที่มีกระเทียมพบว่ามีการผลิตกรดแลคติคที่มากกว่า NMB ที่ไม่มีกระเทียม ทั้งนี้เนื่องจากการเจริญของแบคทีเรียแลคติคที่มากกว่า NMB ที่ไม่มีกระเทียมนั่นเอง โดยเปรียบเทียบจากผลการทดลองจะเห็นได้ว่า NMB ที่มีกระเทียมในช่วงแรกที่ทำการทดลองกรดแลคติคจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อยแต่ในชั่วโมงที่ 12 กรดแลคติคจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อเทียบกับ NMB ที่ไม่มีกระเทียม กรดแลคติคจะเพิ่มมากขึ้นแต่ค่าที่ได้ก็ยังคงน้อยกว่า NMB ที่มีกระเทียม ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับ Swetwiwathana et al., (1999) คือเมื่อเชื้อเจริญเพิ่มมากขึ้นจึงส่งผลทำให้มีการสร้างกรดแลคติคที่มากขึ้นนั่นเอง

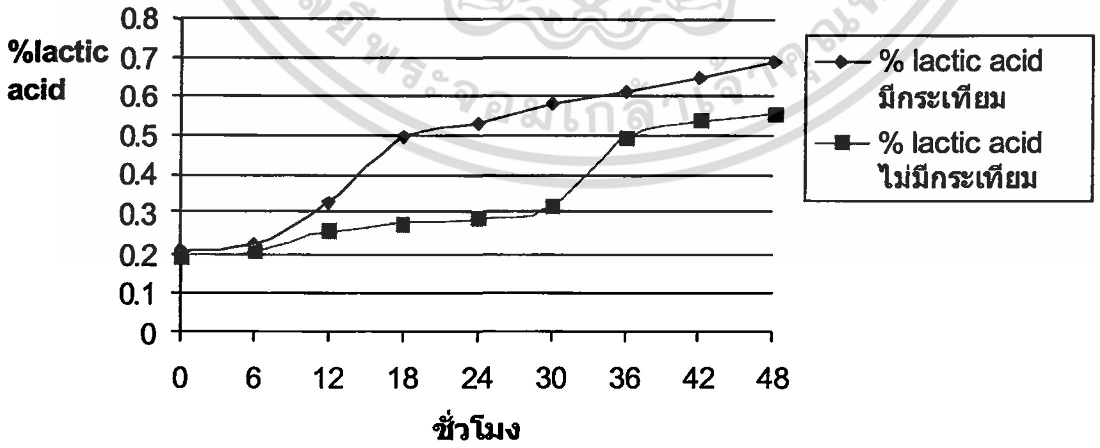
ตารางที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ยของ % lactic acid ในตัวอย่างที่มีกระเทียมและไม่มีกระเทียมของเชื้อ TISTR 536

ชั่วโมงที่	ค่าเฉลี่ยที่มีกระเทียม	ค่าเฉลี่ยที่ไม่มีกระเทียม	% lactic acid	
			มีกระเทียม	ไม่มีกระเทียม
0	2.4	2.2	0.211	0.194
6	2.57	2.33	0.226	0.205
12	3.7	2.9	0.326	0.255
18	5.6	3.1	0.493	0.273
24	6	3.23	0.528	0.284
30	6.6	3.6	0.581	0.317
36	6.93	5.6	0.609	0.493
42	7.33	6.07	0.645	0.534
48	7.83	6.33	0.689	0.557

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

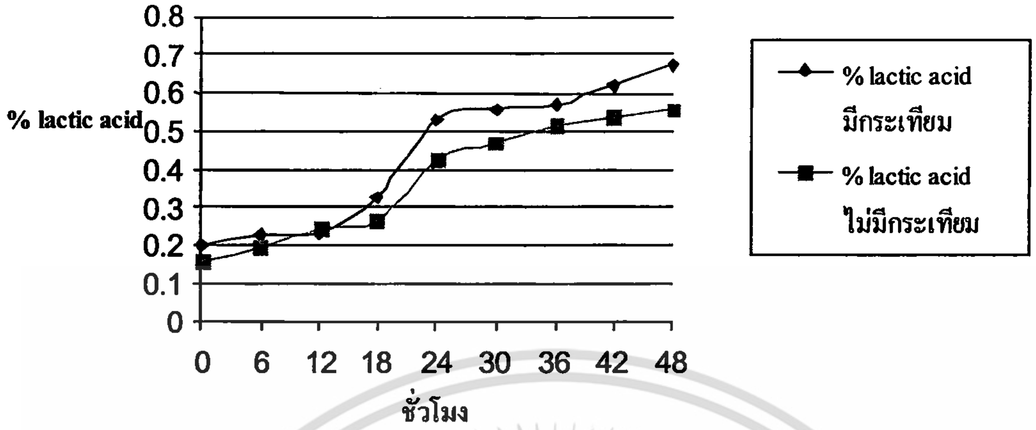
ตารางที่ 4 แสดงค่าเฉลี่ยของ % lactic acid ในตัวอย่างที่มีกระเทียมและไม่มีกระเทียมของเชื้อ N 190

ชั่วโมงที่	ค่าเฉลี่ยที่มีกระเทียม	ค่าเฉลี่ยที่ไม่มีกระเทียม	% lactic acid	
			มีกระเทียม	ไม่มีกระเทียม
0	2.27	1.83	0.199	0.161
6	2.57	2.2	0.226	0.194
12	2.67	2.77	0.235	0.244
18	3.7	3.03	0.326	0.267
24	6	4.57	0.528	0.422
30	6.3	5.37	0.554	0.473
36	6.47	5.83	0.569	0.513
42	7.17	6.07	0.621	0.534
48	7.67	6.33	0.675	0.557



ภาพที่ 9 แสดงค่า % lactic acid ของเชื้อแบคทีเรียแลคติกของเชื้อ TISTR 536 ในอาหารเหลวที่จำลองสภาวะการหมักแหนมที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

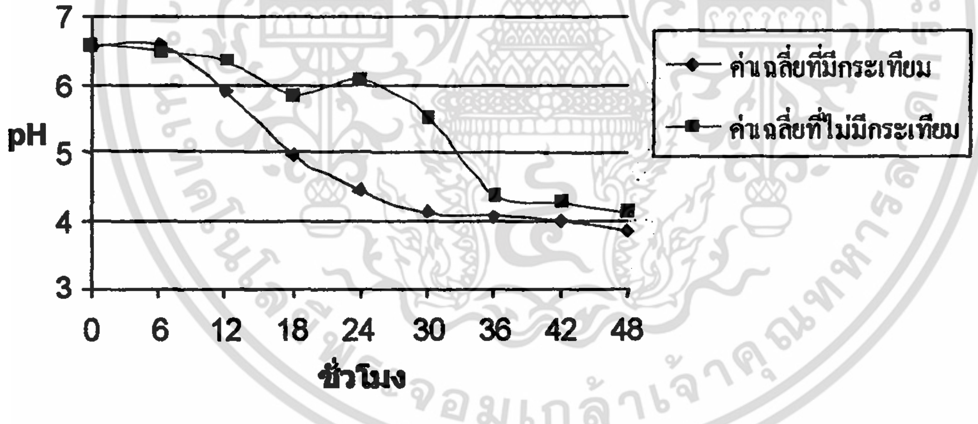


ภาพที่ 10 แสดงค่า %lactic acid ของเชื้อแบคทีเรียแลคติคของเชื้อ N 190 ในอาหารเหลวที่จำลองสภาวะการหมักแหนมที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

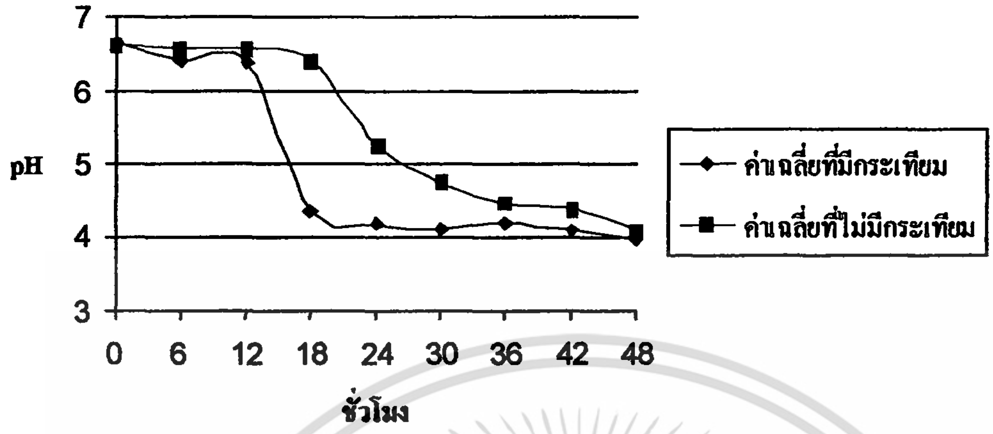
4.3 ผลการศึกษาผลของกระเทียมต่อค่า pH ของเชื้อแบคทีเรียแลคติกสายพันธุ์ N 190 และ TISTR 536 ในอาหารเหลวที่จำลองสภาวะการหมักแหนม

จากการศึกษาผลของกระเทียมต่อค่า pH ของแบคทีเรียแลคติกสายพันธุ์ TISTR 536 และสายพันธุ์ N190 (ภาพที่ 11 และ ภาพที่ 12) ใน NMB จาก NMB ทั้งสองที่มีกระเทียมพบว่าค่า pH ที่ได้จะมีค่าน้อยกว่า NMB ที่ไม่มีกระเทียม ทั้งนี้เนื่องจากการเจริญของแบคทีเรียแลคติกที่มากกว่า NMB ที่ไม่มีกระเทียมนั่นเอง ซึ่งการเจริญของแบคทีเรียแลคติกนี้จะทำให้มีการสร้างกรดแลคติคที่เพิ่มมากขึ้นจึงส่งผลไปยังค่า pH ทำให้ค่า pH ที่ได้มีค่าลดลงอย่างรวดเร็ว โดยเปรียบเทียบจากผลการทดลอง จะเห็นได้ว่า NMB ที่มีกระเทียมในช่วงแรกค่า pH ที่ทำการทดลองจะมีค่าใกล้เคียงกันแต่ NMB ที่มีกระเทียมจะทำให้ค่า pH ลดลงอย่างรวดเร็วกว่า NMB ที่ไม่มีกระเทียมเมื่อเปรียบเทียบที่เวลาเดียวกัน



ภาพที่ 11 แสดงค่า pH ของเชื้อแบคทีเรียแลคติกของเชื้อ TISTR 536 ในอาหารเหลวที่จำลองสภาวะการหมักแหนมที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 12 แสดงค่า pH ของเชื้อแบคทีเรียแลคติกของเชื้อ N 190 ในอาหารเหลวที่จำลองสภาวะการหมักแหนมที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ

จากการทดลองทั้งหมด อาจกล่าวได้ว่าเชื้อทั้งสองสามารถนำไปเป็นกล้าเชื้อตั้งต้นในการพัฒนาผลิตภัณฑ์แหนม เพื่อที่จะช่วยลดระยะเวลาการหมักให้น้อยลงแล้วเกิดเป็นผลิตภัณฑ์แหนมได้รวดเร็วยิ่งขึ้น จากค่ากรดแลคติกที่ได้เพิ่มมากขึ้นและค่า pH ที่ลดลงอย่างรวดเร็วจากการใช้กล้าเชื้อทั้งสอง ผลที่ได้คือ กล้าเชื้อในกลุ่มแบคทีเรียแลคติกยังคงสามารถเจริญได้แต่มีผลทำให้เกิดการยับยั้งและช่วยลดปริมาณของเชื้อที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ และยังรวมไปถึงเชื้อที่สามารถก่อให้เกิดโรคได้ในช่วงระหว่างการหมักผลิตภัณฑ์แหนม ดังนั้นการใช้แบคทีเรียแลคติกเป็นกล้าเชื้อตั้งต้นและการใส่กระเทียมลงไปในวัตถุดิบเพื่อให้เกิดการหมักจนกระทั่งเป็นผลิตภัณฑ์แหนม ช่วยทำให้ผลิตภัณฑ์แหนมมีกลิ่นและรสชาติเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค นอกจากนั้นยังช่วยเพิ่มความปลอดภัยในผลิตภัณฑ์ให้เพิ่มมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการทดลองเรื่องผลของกระเทียมต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแลคติคสายพันธุ์ N 190 และTISTR 536 สรุปได้ว่า กระเทียมมีผลต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแลคติคทั้ง 2 สายพันธุ์ ซึ่งเห็นได้จากตัวอย่างที่เติมที่เติมเชื้อ N190 และกระเทียมจะมีปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้นถึง 2 log cycle ในขณะที่ตัวอย่างที่ไม่เติมกระเทียมมีปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้นได้เพียง 2 log cycle และตัวอย่างที่เติมเชื้อ TISTR536 และกระเทียมจะมีปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้นถึง 2 log cycle ในขณะที่ตัวอย่างที่ไม่เติมกระเทียมมีปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้นได้เพียง 2 log cycle จากการทดลองเห็นได้ว่าเชื้อแบคทีเรียแลกติคสายพันธุ์ N190 จะมีปริมาณการเจริญของเชื้อมากกว่าเชื้อแลคติคสายพันธุ์ TISTR 536 เพียงเล็กน้อย

ในการทดลองจาก NMB เมื่อทำการเปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างที่ทำการเติมกระเทียมและไม่เติมกระเทียมนั้น จะพบว่าตัวอย่างที่ทำการเติมกระเทียมจะมีค่า pH ลดลงรวดเร็วกว่าตัวอย่างที่ไม่ได้เติมกระเทียม เมื่อเปรียบเทียบจากการหมักในช่วงระยะเวลาที่เท่ากัน จึงกล่าวได้ว่ากระเทียมส่งผลให้ค่า pH ของ NMB ลดลงอย่างรวดเร็ว ซึ่งผลการทดลองนี้มีความสัมพันธ์กับผลการทดลองที่ทำการทดลองหาปริมาณเชื้อทั้งหมดที่เกิดขึ้นในแต่ละช่วงเวลา นั่นคือ เมื่อปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติกในตัวอย่างที่ทำการเติมกระเทียมจะมีมากกว่าตัวอย่างที่ไม่ได้เติมกระเทียม เมื่อปริมาณเชื้อที่เกิดขึ้นมีมากกว่าทำให้การสร้างกรดแลคติกจึงเกิดขึ้นได้ดีกว่าและทำให้ค่า pH ของตัวอย่างที่ทำการเติมกระเทียมนั้นมีอัตราการลดลงอย่างรวดเร็วกว่าตัวอย่างที่ไม่ได้ทำการเติมกระเทียม

ดังนั้น การเติมกระเทียมลงในผลิตภัณฑ์แหนมส่งผลให้เชื้อแบคทีเรียแลคติคเจริญได้ดีทำให้ช่วยลดระยะเวลาการหมักให้น้อยลง ปริมาณเชื้อที่เกิดขึ้นนี้ถ้ายิ่งเพิ่มจำนวนเร็วจะส่งผลให้เกิดการสร้างกรดแลคติกในปริมาณที่สูงแล้วทำให้มีค่า pH ที่ลดลง pH ที่ต่ำลงอย่างรวดเร็วทำให้สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการในผลิตภัณฑ์ ซึ่งอาจมีผลในการช่วยยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคที่ปนเปื้อนในระหว่างการหมักแหนม จึงทำให้ผลิตภัณฑ์มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคเพิ่มมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ในการทดลองควรปอกกระเทียมควรปอกกระเทียมให้บอบช้ำน้อยที่สุด เพราะในการทำกระเทียมปลอดเชื้อโดยการแช่ใน 95 % alcohol อาจส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่อสารสำคัญในกระเทียมที่อาจส่งผลต่อความไม่แน่นอนของผลการทดลอง

2. ควรทำการทดลองโดยเติมกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติดและกระเทียมลงในผลิตภัณฑ์แหนมเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะทำให้ผลิตภัณฑ์มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กองวิจัยและพัฒนาสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. สมุนไพรพื้นบ้าน ฉบับรวม. 2528

โครงการศึกษาวิจัยสมุนไพร สมุนไพรการรวบรวมข้อมูลเบื้องต้นสำหรับงานวิจัย กรุงเทพฯ : สารมวลชน 2523

โชติมา ไชยสวัสดิ์.2546. กระเทียมสมุนไพรสารพัดประโยชน์. สำนักพิมพ์ธรรกมลการพิมพ์, กรุงเทพฯ. 9-11

ปาริชาติ นวรัตน์ภิรมย์ และ อารีพร คล้ายเจริญ. 2538. การพัฒนาผลิตภัณฑ์แหนมโดยเชื้อบริสุทธิ์ของ *Lactobacillus sake* และ *Staplylococcus carnosus*. ปัญหาพิเศษปริญญาตรีสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ปาริชาติ สักกะทำนุ.2543. กระเทียมสมุนไพรเสริมสุขภาพ. พิมพ์ครั้งที่ 9.สำนักพิมพ์รวมทรรศน์, กรุงเทพฯ. 95

เรณู ทวัชชาติวิทยากุล. 2539. ผลของเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นผสมในการหมักแหนมต่อการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella anatum* และ *Salmonella typhimurium*. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ศิพัฒน์ รักษ์เผ่า. 2539. ผลของเชื้อเริ่มต้นผสมในการหมักแหนมต่อการลดปริมาณ *Staphylococcus aureus*. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุพจน์ อัศวพันธุ์ธนกุล ภ.บ. กระเทียมยอดสมุนไพรในครัวเรือน โครงการสมุนไพรพึ่งตนเอง จุลสารอันดับ 6 มีนาคม. หน้า 1-3

สุมาลี เหลืองสกุล. 2539. สกุลของแบคทีเรียที่มีความสำคัญทางอาหาร. จุลชีววิทยาทางอาหาร : 44-50

อดิศร เสวตวิวัฒน์. 2547. เอกสารประกอบการสอนวิชาอาหารหมักพื้นบ้าน. สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมัก โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

Juven,B.J.,Kanner,J.,Schved,F. and Weisslowicz, H. 1994. Factors that interact with the antimicrobial action of thyme essential oil and its active constituents. *Journal of Applied Bacteriology* 76:626-631

Kurita, N. and Koike, S. 1982. Synergistic antimicrobial effect of sodium chloride and essential oil components. *Agricultural Biological Chemistry* 46:159-165

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Swetwiwathana, A., Leutz, U., and Fischer, A. 1999 . Role of garlic on growth and lactic acid production of starter cultures. *Fleischwirtschaft International.* 1/99 : 26-29

Swetwiwathana, A., Lotong, N., Fischer,A., and Somonoto, K. 2001. Potential of using pediocin PA-1 producer strain of *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 to control the growth of *Salmonella anatum* in Nham (An in-vitro study). *Proceeding of the 47th International Congress of Meat Science and Technology*. Krakrow,Poland. September.2000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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 phathalate (อบ 2 ชั่วโมง ที่ 120 °C แล้วทำให้เย็นในโถอบแห้ง) อย่างละเอียดประมาณ 0.3 กรัม เติมลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำปลอดคาร์บอนไดออกไซด์ 50 มิลลิลิตร เมื่อ Acid potassium phthalate ($KHC_8H_4O_4$) ละลายจึงเติมฟีนอล์ฟธาลีน 3 หยดแล้วไทเทรตด้วยสารละลาย 0.1N NaOH ความเข้มข้นมาตรฐานคำนวณได้จากสูตร

$$\text{ความเข้มข้นมาตรฐาน (N)} = \frac{\text{กรัม } KHC_8H_4O_4 \text{ (g)} \times 1000}{\text{ปริมาตรของ NaOH (ml)} \times 204.229}$$

- สารละลายฟีนอล์ฟธาลีน (Phenolphthalein) ชั่ง 1 กรัม ฟีนอล์ฟธาลีนละลายในเอธานอล 95 % ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

1.2 วิธีวิเคราะห์

นำตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร มาเจือจางด้วยน้ำปลอดคาร์บอนไดออกไซด์ เติมฟีนอล์ฟธาลีน 3 หยด แล้วไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐาน 0.1 N NaOH จนถึง end point สีชมพู ปริมาณกรดคำนวณเป็นกรดแลคติกตามสูตร

$$\text{เปอร์เซนต์กรดแลคติก (\%)} = \frac{N \times V \times 90.01 \times 100}{1000 \times 10}$$

กำหนดให้ N = ความเข้มข้นมาตรฐาน 0.1 N NaOH (นอร์มอล)

V = จำนวนมิลลิลิตรของสารละลายมาตรฐาน 0.1 N NaOH (มิลลิลิตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

ขั้นตอนการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS+0.5%$CaCO_3$ +1.2%Agar

MRS	52	กรัม
$CaCO_3$	5	กรัม
Agar	12	กรัม
น้ำ	1000	มิลลิลิตร

ผสมส่วนผสมทั้งหมด แล้วนำไปหลอมอาหารโดยใช้ hot plate จนอาหารละลายหมด แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 1000 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่ 121°C 15 นาที เทใส่จานเพาะเชื้อที่อบฆ่าเชื้อแล้ว

2. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth

MRS	52	กรัม
น้ำ	1000	มิลลิลิตร

ผสมส่วนผสมทั้งหมด แล้วนำไปหลอมอาหารโดยใช้ hot plate จนอาหารละลายหมด แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 1000 มิลลิลิตร เทใส่หลอดทดลองปริมาตร 5 ml นำไปฆ่าเชื้อใน Autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C เวลา 15 นาที

3 . การเตรียมสารละลาย Peptone water สำหรับเจือจางตัวอย่าง

peptone	0.1	กรัม
น้ำ	1000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมเข้าด้วยกันแล้วปรับให้ได้ปริมาตร 1000 ml จากนั้นจึงเทใส่หลอดทดลองหลอดละ 9 ml นำไปฆ่าเชื้อใน Autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C เวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. การเตรียมน้ำปราศจากเชื้อ

ใช้น้ำกรองเทใส่หลอดทดลองหลอดละ 5 ml แล้วนำไปฆ่าเชื้อใน Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

ผลการทดลองการตรวจนับเชื้อ N190 และ TISTR 536 ในอาหารเหลวจำลองสภาวะการหมักแหนมที่เติมกระเทียมและที่ไม่เติมกระเทียม

ตารางภาคผนวกที่ ค.1 : ผลการทดลองครั้งที่ 1 การตรวจนับเชื้อ N190 และ TISTR 536 ในอาหารเหลวจำลองสภาวะการหมักแหนมที่เติมกระเทียมและที่ไม่เติมกระเทียมที่ระยะเวลาต่างๆ

เวลาที่ใช้หมัก / ตัวอย่าง	0 ชม.(cfu/ml)	6 ชม. (cfu/ml)	12ชม. (cfu/ml)	18ชม. (cfu/ml)	24ชม. (cfu/ml)	30ชม. (cfu/ml)	36ชม. (cfu/ml)	42ชม. (cfu/ml)	48ชม. (cfu/ml)
กระเทียม + N190	$1.58x10^7$	$9.3x10^7$	$2.01x10^8$	$4.8x10^8$	$1.05x10^9$	$5.3x10^8$	$4.3x10^8$	$6.7x10^7$	$6.0x10^7$
กระเทียม + TISTR536	$1.36x10^7$	$3.1x10^7$	$1.07x10^7$	$1.76x10^7$	$3.9 x 10^7$	$5.1 x 10^8$	$8.1 x 10^8$	$3.6 x10^8$	$7.8 x 10^8$
ไม่กระเทียม + N190	$1.63x10^7$	$3.0x10^7$	$4.5 x 10^7$	$2.8 x 10^7$	$4.7 x 10^7$	$5.3 x 10^7$	$6.3 x 10^8$	$3.8 x10^8$	$4.9 x 10^8$
ไม่กระเทียม + TISTR536	$1.59x10^7$	$3.0x10^7$	$3.0x10^8$	$3.1x10^8$	$5.8x10^9$	$5.1x10^8$	$2.8x10^8$	$1.45x10^7$	$1.61x10^7$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ค.2 : ผลการทดลองครั้งที่ 2 การตรวจนับเชื้อ N190 และ TISTR 536 ในอาหารเหลวจำลองสภาวะการหมักแหนมที่เติมกระเทียมและที่ไม่เติมกระเทียมที่ระยะเวลาต่าง ๆ

เวลาที่ใช้หมัก / ตัวอย่าง	0 ชม (cfu/ml)	6 ชม. (cfu/ml)	12ชม. (cfu/ml)	18ชม. (cfu/ml)	24ชม. (cfu/ml)	30ชม. (cfu/ml)	36ชม. (cfu/ml)	42ชม. (cfu/ml)	48ชม. (cfu/ml)
กระเทียม + N190	1.64x10^{7}	8.5x 10^{7}	2.11x10^{8}	5.1x10^{8}	1.19x10^{9}	6.2x10^{8}	4.7x10^{8}	6.9x10^{7}	5.9x10^{7}
กระเทียม + TISTR536	1.45x10^{7}	3.5x10^{7}	1.25x10^{7}	1.56x10^{7}	4.5x10^{7}	5.9x10^{8}	9.1x10^{8}	4.2x10^{8}	6.5x10^{8}
ไม่กระเทียม + N190	1.72x10^{7}	4.5x10^{7}	5.8x 10^{7}	5.0x 10^{7}	4.8x 10^{7}	6.2x 10^{7}	4.5x 10^{8}	6.2x10^{8}	7.8 x 10^{8}
ไม่กระเทียม + TISTR536	1.25x10^{7}	2.9x 10^{7}	3.1x10^{8}	3.0x10^{8}	7.1x10^{9}	6.5x10^{8}	3.0x10^{8}	1.24x10^{7}	1.58x10^{7}

ตารางภาคผนวกที่ ค.3 : ผลการทดลองครั้งที่ 3 การตรวจนับเชื้อ N190 และ TISTR 536 ในอาหารเหลวจำลองสภาวะการหมักแหนมที่เติมกระเทียมและที่ไม่เติมกระเทียมที่ระยะเวลาต่าง ๆ

เวลาที่ใช้หมัก / ตัวอย่าง	0 ชม (cfu/ml)	6 ชม. (cfu/ml)	12ชม. (cfu/ml)	18ชม. (cfu/ml)	24ชม. (cfu/ml)	30ชม. (cfu/ml)	36ชม. (cfu/ml)	42ชม. (cfu/ml)	48ชม. (cfu/m)
กระเทียม + N190	1.79x10^{7}	9.4 x 10^{7}	2.23x10^{8}	6.3x10^{8}	1.14x10^{9}	6.3x10^{8}	4.4x10^{8}	7.4x10^{7}	6.6x10^{7}
กระเทียม + TISTR536	1.59x10^{7}	3.5x 10^{7}	1.22x10^{8}	1.82x10^{8}	4.2x10^{8}	6.5x10^{8}	8.3x10^{7}	3.9x10^{8}	8.3x10^{7}
ไม่กระเทียม + N190	1.56x10^{7}	3.0 x 10^{7}	3.2 x 10^{7}	3.1 x 10^{7}	6.4 x 10^{7}	2.5 x 10^{8}	4.8 x 10^{8}	2.7 x10^{8}	3.3 x 10^{8}
ไม่กระเทียม+ TISTR 536	1.74x10^{7}	3.0 x10^{7}	2.7x10^{7}	3.1x10^{7}	5.1 x 10^{7}	4.7 x 10^{7}	2.8 x 10^{7}	1.34x10^{8}	1.25x10^{8}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

ผลการทดลองการวัดค่า pH ของเชื้อ N190 และ TISTR 536 ในอาหารเหลวจำลองสภาวะการหมักแหนมที่เติมกระเทียมและที่ไม่เติมกระเทียม

ตารางภาคผนวกที่ ง.1 : ผลการทดลองครั้งที่ 1 การวัดค่า pH ของเชื้อ N190 และ TISTR 536 ในอาหารเหลวจำลองสภาวะการหมักแหนมที่เติมกระเทียมและที่ไม่เติมกระเทียมที่ระยะเวลาต่าง ๆ

เวลาที่ใช้หมัก / ตัวอย่าง	0 ชม	6 ชม.	12ชม.	18ชม.	24ชม.	30ชม.	36ชม.	42ชม.	48ชม.
กระเทียม + N190	6.813	6.634	6.588	4.31	4.241	4.132	4.445	4.441	4.173
กระเทียม + TISTR536	6.584	6.371	5.909	4.943	4.468	4.211	4.123	4.074	3.911
ไม่กระเทียม + N190	6.773	6.671	6.735	6.697	4.674	4.246	4.102	4.182	4.045
ไม่กระเทียม+ TISTR 536	6.594	6.555	6.475	6.175	6.025	5.04	4.103	4.045	4.011

มหาวิทยาลัยพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ง.2 : ผลการทดลองครั้งที่ 2 การวัดค่า pH ของเชื้อ N190 และ TISTR 536 ในอาหารเหลวจำลองสภาวะการหมักแหนมที่เติมกระเทียมและที่ไม่เติมกระเทียมที่ระยะเวลาต่าง ๆ

เวลาที่ใช้หมัก / ตัวอย่าง	0 ชม	6 ชม.	12ชม.	18ชม.	24ชม.	30ชม.	36ชม.	42ชม.	48ชม.
กระเทียม + N190	6.464	6.008	6.073	4.48	4.123	4.097	4.041	4.074	4.07
กระเทียม + TISTR536	6.512	6.924	5.913	4.976	4.374	4.041	4.011	3.974	3.801
ไม่กระเทียม + N190	6.415	6.372	6.414	6.032	4.819	4.52	4.332	4.203	4.104
ไม่กระเทียม+ TISTR 536	6.561	6.438	6.344	5.714	5.61	5.256	4.601	4.511	4.279

ตารางภาคผนวกที่ ง.3 : ผลการทดลองครั้งที่ 3 การวัดค่า pH ของเชื้อ N190 และ TISTR 536 ในอาหารเหลวจำลองสภาวะการหมักแหนมที่เติมกระเทียมและที่ไม่เติมกระเทียมที่ระยะเวลาต่าง ๆ

เวลาที่ใช้หมัก / ตัวอย่าง	0 ชม	6 ชม.	12ชม.	18ชม.	24ชม.	30ชม.	36ชม.	42ชม.	48ชม.
กระเทียม + N190	6.654	6.549	6.482	4.231	4.081	4.072	4.021	3.704	3.632
กระเทียม + TISTR536	6.543	6.432	5.911	4.956	4.474	4.098	4.002	3.986	3.845
ไม่กระเทียม + N190	6.682	6.67	6.512	6.481	6.279	5.438	4.951	4.688	4.054
ไม่กระเทียม+ TISTR 536	6.589	6.483	6.247	5.641	6.61	6.275	4.432	4.233	4.068

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

ผลการทดลองการหาปริมาณ NaOH ที่ไทเทรตจากเชื้อ N190 และ TISTR 536 ในอาหารเหลวจำลองสภาวะการหมักแหนมที่เติมกระเทียมและที่ไม่เติมกระเทียม

ตารางภาคผนวกที่ จ.1 : ผลการทดลองครั้งที่ 1 ปริมาณ NaOH ที่ไทเทรตได้จากเชื้อ N190 และ TISTR 536 ในอาหารเหลวจำลองสภาวะการหมักแหนมที่เติมกระเทียมและที่ไม่เติมกระเทียมที่ระยะเวลาต่าง ๆ

เวลาที่ใช้หมัก / ตัวอย่าง	0 ชม	6 ชม.	12ชม.	18ชม.	24ชม.	30ชม.	36ชม.	42ชม.	48ชม.
กระเทียม + N190	2.1	3	2.5	2.6	5.6	5.8	5.9	6.7	7.5
กระเทียม + TISTR536	2.2	2.3	3.5	6.1	6.3	6.6	6.8	7.1	7.9
ไม่กระเทียม + N190	1.7	2	2.3	2.6	4.7	5.4	6.2	6.3	6.7
ไม่กระเทียม+ TISTR 536	2.2	2.3	3	3.1	3.2	3.4	5.8	6.2	6.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ จ.2 : ผลการทดลองครั้งที่ 2 ปริมาณ NaOH ที่ไทเทรตได้จากเชื้อ N190 และ TISTR 536 ในอาหารเหลวจำลองสภาวะการหมักแหนมที่เติมกระเทียมและที่ไม่เติมกระเทียมที่ระยะเวลาต่าง ๆ

เวลาที่ใช้หมัก / ตัวอย่าง	0 ชม	6 ชม.	12ชม.	18ชม.	24ชม.	30ชม.	36ชม.	42ชม.	48ชม.
กระเทียม + N190	2.7	2.6	3.1	5.3	6.1	6.5	6.7	7.7	8.1
กระเทียม + TISTR536	2.6	2.9	3.8	5.1	5.8	6.9	7.1	7.7	8.1
ไม่กระเทียม + N190	2	2.6	2.8	2.9	5.1	5.9	6.2	6.4	6.5
ไม่กระเทียม+ TISTR 536	2.2	2.3	2.9	3	3.1	3.6	5.4	5.9	6.2

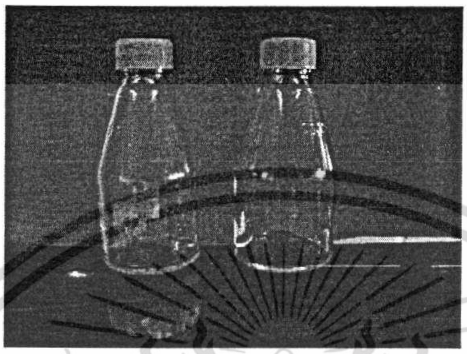
ตารางภาคผนวกที่ จ.3 : ผลการทดลองครั้งที่ 3 ปริมาณ NaOH ที่ไทเทรตได้จากเชื้อ N190 และ TISTR 536 ในอาหารเหลวจำลองสภาวะการหมักแหนมที่เติมกระเทียมและที่ไม่เติมกระเทียมที่ระยะเวลาต่าง ๆ

เวลาที่ใช้หมัก / ตัวอย่าง	0 ชม	6 ชม.	12ชม.	18ชม.	24ชม.	30ชม.	36ชม.	42ชม.	48ชม.
กระเทียม + N190	2	2.1	2.4	3.2	6.3	6.6	6.8	7.1	7.4
กระเทียม + TISTR536	2.4	2.5	3.8	5.6	5.9	6.3	6.9	7.2	7.5
ไม่กระเทียม + N190	1.8	2	3.2	3.6	3.9	4.8	5.1	5.5	5.8
ไม่กระเทียม+ TISTR 536	2.2	2.4	2.8	3.2	3.4	3.8	5.6	6.1	6.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

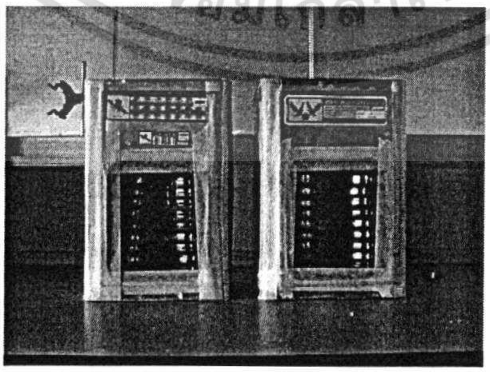
ภาคผนวก ฉ

ภาพแสดงวิธีการทดลองและภาพแสดงผลการทดลอง



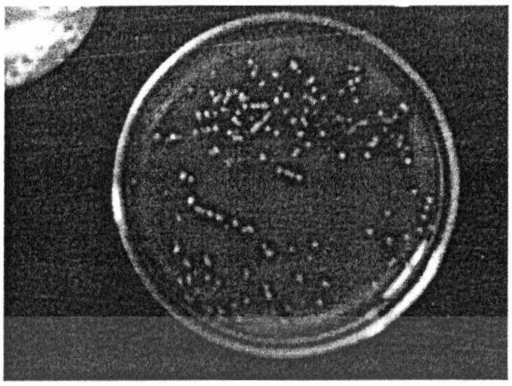
ภาพผนวกที่ ฉ 1: แสดงลักษณะของอาหารเหลวจำลองสภาพการหมักแหนม หรือ Nham Model Broth

ภาพผนวกที่ ฉ 2 : แสดงการทำกระเทียมปลอดเชื้อ

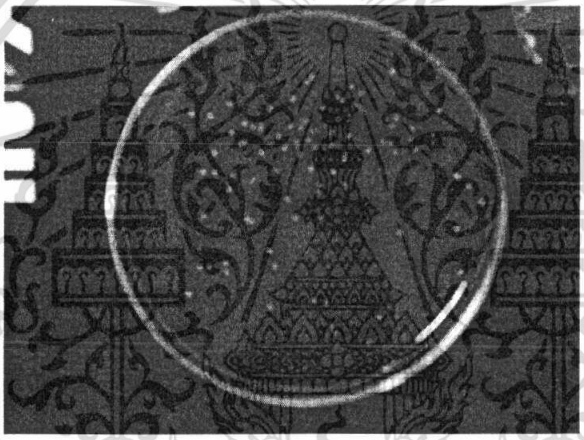


ภาพผนวกที่ ฉ 3 : แสดงลักษณะการบ่มเชื้อที่ spread plate ใน candle jar

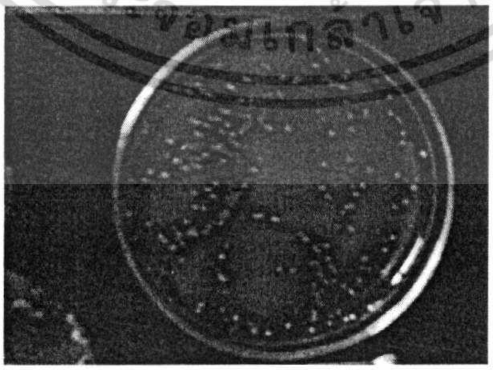
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพผนวกที่ ฉ 4 : แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียแลคติคสายพันธุ์N 190 ในตัวอย่างที่เติม กระเทียม ที่เวลาการหมัก 48 ชั่วโมง

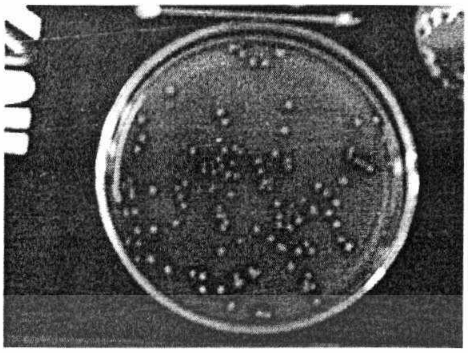


ภาพผนวกที่ ฉ 5 : แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียแลคติคสายพันธุ์ N 190 ในตัวอย่างที่ไม่เติม กระเทียม ที่เวลาการหมัก 48 ชั่วโมง



ภาพผนวกที่ ฉ 6 : แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียแลคติคสายพันธุ์ TISTR 536ในตัวอย่างที่เติม กระเทียม ที่เวลาการหมัก 48 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพผนวกที่ ฉ 7 : แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียแลคติคสายพันธุ์ TISTR 536ในตัวอย่างที่ไม่เติม กระเทียม ที่เวลาการหมัก 48 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

นางสาวศิริโสภา มณีธรรมศิริเพ็ญ เกิดเมื่อวันที่ 3 กรกฎาคม 2525 จังหวัดพะเยา สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย จังหวัดเชียงราย เมื่อปีการศึกษา 2543 และปีการศึกษา 2547 จบการศึกษาระดับปริญญาตรี หลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต

นางสาวไอริณ ธีรวัฒนอมร เกิดเมื่อวันที่ 26 กรกฎาคม 2527 จังหวัดกรุงเทพฯ สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย จังหวัดนนทบุรี เมื่อปีการศึกษา 2543 และปีการศึกษา 2547 จบการศึกษาระดับปริญญาตรีหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้