ผลของน้ำมันหอมระเหยร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella* Rissen ที่บาดเจ็บจากการแช่แข็งในระหว่างการหมักแหนม

นางสาวจิราวรรณ ยี่สิบแสน
นางสาวฉัตรแก้ว ช่วยเกิด

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2547

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Effect of Thai Spice Essential Oils in Combination with Sodium Lactate on Growth Inhibition of Freezed-injured *Salmonella* Rissen During Nham Fermentation

Miss Jirawan Yeesibsan

Miss Chatkeaw Chouykert

Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement for the Degree of

Bachelor of Science

Department of Applied Biology

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Academic Year 2004

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษเรื่อง	ผลของน้ำมันหอมระเหยร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella* Rissen ที่บาดเจ็บจากการแช่แข็งในระหว่างการหมักแหนม
โดย	นางสาวจิราวรรณ ยี่สิบแสน
	นางสาวฉัตรแก้ว ช่วยเกิด
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์
สาขาวิชา	จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังอนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการตรวจสอบ		ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ	รศ.ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง	
กรรมการ	ผศ.ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ	
กรรมการ	ผศ. ลินจง สุขลำภู	

.....

(รศ.ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง)

หัวหน้าภาควิชา

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษเรื่อง	ผลของน้ำมันหอมระเหยร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella* Rissen ที่บาดเจ็บจากการแช่แข็งในระหว่างการหมักแหนม
นักศึกษา	นางสาวจิราวรรณ ยี่สิบแสน นางสาวฉัตรแก้ว ช่วยเกิด
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์
สาขาวิชา	จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม
ปีการศึกษา	2547
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ

บทคัดย่อ

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ตรวจสอบผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศ (กระเทียมร้อยละ 0.468, กานพลูร้อยละ 0.012 และดอกจันทน์ร้อยละ 0.015 โดยน้ำหนัก) ร่วมกับโซเดียมแลคเตท (ร้อยละ 2.5) ในการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* Rissen ในอาหารเหลว Nham Model Broth ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส น้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทมีผลในการลดจำนวนเซลล์ของ *S.* Rissen ที่มีชีวิตลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 4 ของการบ่มระยะเวลา 4 ชั่วโมง จึงเป็นช่วงเวลาที่เหมาะสมในการสัมผัสกันของสารยับยั้งกับเชื้อ *S.* Rissen

การศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศ โซเดียมแลคเตท (ร้อยละ 1 และร้อยละ 2) และน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตท (ร้อยละ 1 และร้อยละ 2) ต่อการยับยั้งการเจริญของ *S.* Rissen ที่ผ่านการแช่แข็งและที่ไม่ผ่านการแช่แข็งในระหว่างการหมักแหนมที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยเปรียบเทียบจำนวนการอยู่รอดของเชื้อ *S.* Rissen ทั้งสองชนิดในแหนมแต่ละทรีทเมนต์ หลังจากการหมัก 1 วัน จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตของ *S.* Rissen ในแหนมที่เติมน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 หรือ ร้อยละ 2 ได้ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยลดลงเหลือน้อยกว่า 10 CFUต่อกรัม เมื่อเปรียบเทียบกับแหนมที่เติมน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศหรือโซเดียมแลคเตทเพียงชนิดใดชนิดหนึ่ง แต่ไม่พบความแตกต่างของจำนวน *S.* Rissen ในแหนมที่เติมน้ำมันหอมระเหยผสมร่วมกับโซเดียมแลคเตทที่ความเข้มข้นต่างกัน *S.* Rissen ที่ผ่านการแช่แข็งมีจำนวนการอยู่รอดน้อยกว่า *S.* Rissen ที่ไม่ผ่านการแช่แข็ง ปริมาณกรดทั้งหมดและจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตของแบคทีเรียแลคติกในแหนมทุกทรีทเมนต์ เพิ่มขึ้นเมื่อเวลาในการหมักเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ค่า Water Activity (a_w) ของแหนมทุกทรีทเมนต์ก็เพิ่มขึ้นด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title Effect of Thai Spice Essential Oils in Combination with Sodium Lactate on Growth Inhibition of Freezed-injured *Salmonella* Rissen During Nham Fermentation

Name Miss Jirawan Yeesibsan

Miss Chatkaew Chouykert

Department Applied Biology

Program Industrial Microbiology

Academic Year 2004

Special Project Advisor Assist. Prof. Dr. Suree Nanasombat

Abstract

In this study, the effect of mixed essential oils of spices (0.468% garlic oil, 0.012% clove oil and 0.015% mace oil (w/w)) in combination with 2.5% Sodium lactate (SDL) on inhibition of *Salmonella* Rissen in Nham Model Broth (NMB) at 4 °C was investigated. Mixed essential oils in combination with SDL affected significantly reduction of viable *S.* Rissen cells at hour 4 of incubation ($P < 0.05$). Therefore, four-hour incubation period was the suitable contact time of *S.* Rissen and those two preservatives in NMB.

The effect of mixed essential oils of spices, SDL (1% or 2 %) and mixed essential oils in combination with SDL (1% or 2%) on growth inhibition of freezed and non-freezed *S.* Rissen during Nham fermentation at 30°C was studied. The survival of both types of *S.* Rissen cells in each Nham treatment was compared. After one day of fermentation, there was a significant reduction of *S.* Rissen viable cells to less than 10 CFU/g in Nham added with mixed essential oils of spices and 1% or 2% SDL, compared to those in Nham added with either only mixed essential oils or SDL. No significant difference in *S.* Rissen population was observed in Nham added with mixed essential oils and SDL at different concentration . In all treatments, the viable populations of freezed cells were less than non-freezed cells. The total acidity and viable counts of lactic acid bacteria in Nham increased as the time of fermentation increased. In addition, the water activity in all treatments also increased.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ ผศ. ลินจง สุขลำภู และ รศ.ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง อาจารย์ผู้ให้คำปรึกษาชี้แนะแนวทาง รวมทั้งแก้ไขปัญหาและเอาใจใส่คณะผู้จัดทำมาตลอดการดำเนินงานโครงงานพิเศษ

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ ที่ให้ความกรุณาช่วยถ่ายทอดความรู้และประสบการณ์ต่างๆ ทั้งในและนอกวิชาเรียนแก่ลูกศิษย์ รวมทั้งคุณพยอม เกียรติกำจร และคุณประเสริฐวิทย์ แพงคำ นักวิทยาศาสตร์ที่ให้คำปรึกษาและอำนวยความสะดวกในด้านเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง พี่ธีรพันธ์และพี่พนม ที่ให้คำแนะนำในการทำโครงงานพิเศษนี้

ท้ายสุดนี้ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ของคณะผู้จัดทำ ที่ให้การสนับสนุนอย่างเต็มที่ทั้งกำลังกาย กำลังใจ และกำลังทรัพย์มาโดยตลอด ขอบคุณ น.ส. เสาวลักษณ์ ศรีภักดี และ น.ส. ณัษฐภรณ์ ไม่อ่อนมือ รวมทั้งเพื่อนๆทุกคนที่มีส่วนร่วมให้โครงงานพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

นางสาวจิราวรรณ ยี่สิบแสน
นางสาวฉัตรแก้ว ช่วยเกิด
มีนาคม 2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ช
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาของโครงงานพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์	3
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	3
1.4 ขั้นตอนของการวิจัยและวิธีการดำเนินงาน	3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ	4
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	30
บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล	34
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ	47
เอกสารอ้างอิง	49
ภาคผนวก ก	57
ภาคผนวก ข	59
ภาคผนวก ค	68

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. ผลิตภัณฑ์เนื้อสด และผลิตภัณฑ์เนื้อหมักซึ่งใส่กล้าเชื้อแบคทีเรีย	15
2. ผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการอยู่รอดของเชื้อ *S.* Rissen ที่ไม่ผ่านการแช่แข็งและผ่านการแช่แข็งในระหว่างการหมักแหนม	38
3. ผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการเจริญของแบคทีเรียแลคติก ในระหว่างการหมักแหนมชุดที่มีเชื้อ *S.* Rissen ที่ไม่ผ่านการแช่แข็งและผ่านการแช่แข็ง	41
4. ผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของกรดแลคติกในระหว่างการหมักแหนม	42
5. ผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชในระหว่างการหมักแหนม	43
6. ผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการเปลี่ยนแปลงของค่า Water Activity (a_w)ในระหว่างการหมักแหนม	44
7. จำนวนการอยู่รอดของเชื้อ *S.* Rissen ในอาหารเหลว NMB (ซ้ำที่ 1)	59
8. จำนวนการอยู่รอดของเชื้อ *S.* Rissen ในอาหารเหลว NMB (ซ้ำที่ 2)	60
9. จำนวนการอยู่รอดของเชื้อ *S.* Rissen ในอาหารเหลว NMB (ซ้ำที่ 3)	61
10. ผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการอยู่รอดของเชื้อ *S.* Rissen ที่ไม่ผ่านการแช่แข็งและผ่านการแช่แข็งในระหว่างการหมักแหนม (ซ้ำที่ 1)	62
11. ผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการอยู่รอดของเชื้อ *S.* Rissen ที่ไม่ผ่านการแช่แข็งและผ่านการแช่แข็งในระหว่างการหมักแหนม (ซ้ำที่ 2)	63
12. ผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการอยู่รอดของเชื้อ *S.* Rissen ที่ไม่ผ่านการแช่แข็งและผ่านการแช่แข็งในระหว่างการหมักแหนม (ซ้ำที่ 3)	64

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ หน้า

13. ผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการเจริญของแบคทีเรียแลคติก ในระหว่างการหมักแหนมชุดที่มีเชื้อ *S.* Rissen ที่ไม่ผ่านการแช่เข็งและผ่านการแช่เข็ง (ซ้ำที่ 1) 65
14. ผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการเจริญของแบคทีเรียแลคติก ในระหว่างการหมักแหนมชุดที่มีเชื้อ *S.* Rissen ที่ไม่ผ่านการแช่เข็งและผ่านการแช่เข็ง (ซ้ำที่ 2) 66
15. ผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการเจริญของแบคทีเรียแลคติก ในระหว่างการหมักแหนมชุดที่มีเชื้อ *S.* Rissen ที่ไม่ผ่านการแช่เข็งและผ่านการแช่เข็ง (ซ้ำที่ 3) 67
16. ผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของกรดทั้งหมดในระหว่างการหมักแหนม (ซ้ำที่ 1) 68
17. ผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของกรดทั้งหมดในระหว่างการหมักแหนม (ซ้ำที่ 2) 69
18. ผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของกรดทั้งหมดในระหว่างการหมักแหนม (ซ้ำที่ 3) 70
19. ผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชในระหว่างการหมักแหนม (ซ้ำที่ 1) 71
20. ผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชในระหว่างการหมักแหนม (ซ้ำที่ 2) 72
21. ผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชในระหว่างการหมักแหนม (ซ้ำที่ 3) 73
22. ผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการเปลี่ยนแปลงของค่า Water Activity (a_w)ในระหว่างการหมักแหนม (ซ้ำที่ 1) 74
23. ผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการเปลี่ยนแปลงของค่า Water Activity (a_w)ในระหว่างการหมักแหนม (ซ้ำที่ 2) 75
24. ผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการเปลี่ยนแปลงของค่า Water Activity (a_w)ในระหว่างการหมักแหนม (ซ้ำที่ 3) 76

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1. กรรมวิธีหมักแหนม	7
2. ลักษณะของ *Lactobacillus plantarum*	10
3. โครงสร้างของ allicin	22
4. กานพลู	24
5. บริเวณที่เกิดกลไกการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียบนผนังเซลล์ โดยใช้น้ำมันหอมระเหยจากกานพลู	25
6. ปฏิกิริยาทางเคมีที่ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของสีในเนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อ	28
7. ผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศและโซเดียมแลคเตทต่อการอยู่รอดของเชื้อ *S.* Rissen ในอาหาร NMB	35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาของโครงงานพิเศษ

เชื้อ *Salmonella* เป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษที่มีความรุนแรง มีรายงานว่าเชื้อชนิดนี้ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษระบาดครั้งแรกในปี ค.ศ. 1888 ต่อมาถูกระบุเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษสูงเป็นอันดับหนึ่งในหลายประเทศแถบยุโรป (Bell และ Kyriakides, 2002) จากสถิติกองระบาดวิทยา กระทรวงสาธารณสุข ปี พ.ศ. 2543 พบผู้ป่วยที่ติดเชื้อจาก *Salmonella* คิดเป็นอัตราป่วย 18.41 คนต่อประชากรแสนคน อัตราป่วยตายร้อยละ 0.03 การเกิดโรคอาหารเป็นพิษสืบเนื่องจากการบริโภคอาหารหรือน้ำดื่ม ที่มีการปนเปื้อนจากเชื้อ *Salmonella* ซึ่งความรุนแรงของโรคขึ้นอยู่กับซีโรวาร์ของเชื้อที่ได้รับเข้าสู่ร่างกาย อาหารที่เป็นพาหะในการแพร่กระจายของเชื้อ *Salmonella* ได้แก่ เนื้อ นม ไข่ โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์เนื้อ

แหนม เป็นผลิตภัณฑ์เนื้อหมักของประเทศไทยซึ่งมีโอกาสปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* มาก ได้มีรายงานการพบเชื้อ *Salmonella* จากการสุ่มตัวอย่างอาหารตามบาทวิถีในกรุงเทพฯทั้งหมด 412 ตัวอย่าง ตั้งแต่เดือนสิงหาคมถึงกันยายน พ.ศ. 2539 พบเชื้อ *Salmonella* ในอาหารทั้งหมด 48 ตัวอย่าง (ร้อยละ 11.7) อาหารที่พบเชื้อ *Salmonella* มากที่สุดคือ แหนม (ร้อยละ 38.5) ประเภทยำ (ร้อยละ 26.1) และขนมจีน (ร้อยละ 18.8) เชื้อ *Salmonella* ที่พบในอาหารชนิดต่างๆ นั้นมีทั้งหมด 12 ซีโรวาร์ ซีโรวาร์ที่พบมากที่สุดคือ *S.* Anatum (สุรีย์, 2539) นอกจากนั้นยังตรวจพบจุลินทรีย์ดังกล่าวในผลิตภัณฑ์เนื้อชนิดอื่น ๆ (อาภรณ์, 2525; Ewen, 1987; Phan-Urai, 1978) สำหรับแหนมนั้นได้มีรายงานพบเชื้อ *Salmonella* spp. หลายรายงานด้วยกัน (สุขใจ, 2525) และเชื้อ *Salmonell*a ยังเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (อดิศร, 2533; อดิศร และ อรุณ, 2539; Lotong และ Svetvivadhana, 1990; Swetwiwathana และคณะ, 1989) ถึงแม้ว่าเชื้อ *Salmonella* จะถูกทำลายด้วยความร้อน แต่คนไทยส่วนใหญ่นิยมรับประทานแหนมที่ไม่ผ่านความร้อน ผู้บริโภคจึงมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคอาหารเป็นพิษจากเชื้อ *Salmonella* ดังนั้นจึงควรที่ทดลองเพื่อหาวิธีควบคุมเชื้อ *Salmonella* ในแหนม และเพื่อเพิ่มความปลอดภัยให้แก่ผู้บริโภค

การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella* สามารถทำได้หลายวิธี เช่น การใช้น้ำมันหอมระเหยจากเครื่องเทศ ซึ่งปัจจุบันได้มีผู้ทำการทดลองไว้ ดังเช่นการรายงานของ Nanasombat และ Lohasupthawee (2005) ได้ทำการทดลองใช้สารสกัดจากเครื่องเทศไทย 14 ชนิดในการยับยั้งการเจริญของ *Salmonella* 20 ซีโรวาร์ พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากกานพลูสามารถยับยั้งการเจริญของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้นำไฟล์ไปเผยแพร่ต่อ ไม่ว่าจะเป็นการให้ยืม

S. Typhimuriumได้ดีที่สุด นอกจากนี้ อดิศร (2533) ได้ศึกษาพบว่า น้ำสกัดกระเทียมที่ระดับความเข้มข้นเพียงร้อยละ 1 มีประสิทธิภาพในการทำลายและลดปริมาณของ *S.* Anatum และ *Staphylococcus aureus* ในอาหาร TSB ได้ โดยถ้าน้ำสกัดกระเทียมมีความเข้มข้นมากขึ้นในอาหาร TSB ก็จะสามารถลดปริมาณของเชื้อทั้ง 2 ตัวนี้ได้ดียิ่งขึ้น Katayama และคณะ (1959) พบว่า สารเคมีที่สกัดได้จากดอกจันทน์สามารถยับยั้งการเจริญของ *Bacillus subtilis, Escherichia coli, S.* Enteritidis และ *Staphylococcus aureus* นอกจากนี้ Kosker และคณะ (1949) ได้รายงานการใช้น้ำมันหอมระเหยจากเครื่องเทศ เช่น กระเทียม กานพลู ไทม์ และอบเชย ปริมาณ 11-22 ppm ในการยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ประเภทเนื้อ แต่การใช้น้ำมันหอมระเหยจากเครื่องเทศในผลิตภัณฑ์อาหารมีข้อจำกัดคือ จะต้องใช้ในปริมาณมากจึงจะให้ผลดีในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค แต่มีข้อเสียคือ ผู้บริโภคจะไม่สามารถยอมรับกลิ่นรสที่ฉุนของเครื่องเทศบางชนิดได้ ดังนั้นจึงต้องใช้ร่วมกับสารอื่น เช่น กรดอินทรีย์ร่วมกับน้ำมันหอมระเหยจากเครื่องเทศ หรืออาจใช้กรดอินทรีย์ร่วมกับเกลือของกรด ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคในผลิตภัณฑ์อาหารประเภทเนื้อ (Calicioglu และคณะ, 2003)

การเสริมฤทธิ์กันของสารยับยั้งจะทำให้ประสิทธิภาพการยับยั้งของสารบางชนิดดีขึ้น ดังการรายงานของ Yuste และ Fung (2004) พบว่าการใช้ไนซินร่วมกับอบเชยสามารถยับยั้งการเจริญของ *S.* Typhimurium และ *E. coli* O157:H7 การเติมสารยับยั้งที่เป็นกรดอินทรีย์ร่วมกับเกลือของกรดนอกจากจะช่วยในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์แล้ว ยังช่วยในการเพิ่มรสชาติของผลิตภัณฑ์ ดังการทดลองของ Schlyter และคณะ (1983) โดยพบว่าการใช้โซเดียมแลคเตทความเข้มข้นร้อยละ 2.5 กับโซเดียมไดอะซิเตทร้อยละ 0.1 สามารถลดปริมาณเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในผลิตภัณฑ์จากไก่งวง นอกจากนี้ยัง ทำให้เนื้อสัมผัส และรสชาติของอาหารดีขึ้นด้วย Murphy และคณะ (2004) พบว่า การใช้โซเดียมแลคเตทร้อยละ 2.5 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดีที่สุดจากการทดลองในอาหารเหลว ส่วนปริมาณที่เติมในผลิตภัณฑ์อาหารนั้นจะต้องขึ้นอยู่กับกฎหมายของแต่ละประเทศที่กำหนดไว้

นอกจากการเติมสารยับยั้งดังกล่าวแล้ว การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella* ยังสามารถทำได้โดยใช้วิธีทางกายภาพ เช่น การแช่แข็ง การพาสเจอร์ไรส์ และการปรับพีเอช เป็นต้น Ellajosyula และคณะ (1997) รายงานว่า การเก็บเลบานอน บาโลน่า ที่อุณหภูมิต่ำ สามารถลดปริมาณ *E. coli* O157:H7 และ *S.* Typhimurium ที่ปนเปื้อนได้ เช่นเดียวกับการทดลองของ Chikthimmah และ Knabel (2001) ซึ่งพบว่า การเก็บเลบานอน บาโลน่าที่อุณหภูมิต่ำกว่า 3.6 องศาเซลเซียส สามารถลดจำนวนเชื้อ *E. coli* O157:H7 และ *S.* Typhimurium ได้มากกว่าการเก็บที่อุณหภูมิสูงกว่า 13 องศาเซลเซียส การใช้อุณหภูมิต่ำหรืออุณหภูมิแช่แข็ง อาจเป็นวิธีหนึ่งที่ทำให้เซลล์จุลินทรีย์เกิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการใช้

การบาดเจ็บ ดังนั้นถ้าหากสามารถนำน้ำมันหอมระเหยจากเครื่องเทศและโซเดียมแลคเตท มาใช้ในการยับยั้ง *Salmonella* ที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักประเภทแหนมร่วมกับการแช่แข็ง ก็อาจช่วยลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* ในแหนม ซึ่งเป็นการช่วยเพิ่มความปลอดภัยให้กับผู้บริโภคจากการเกิดโรคอาหารเป็นพิษ

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1.2.1 เพื่อศึกษาผลของการใช้น้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการอยู่รอดของเชื้อ *Salmonella* ในอาหารเหลว

1.2.2 เพื่อควบคุมเชื้อ *Salmonella* ในระหว่างการหมักแหนมโดยใช้น้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตท

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

ศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการควบคุมการเจริญของเชื้อ *Salmonella* ในอาหารเหลวในแต่ละช่วงเวลา และทำการควบคุมเชื้อ *Salmonella* ในระหว่างการหมักแหนม

1.4 ขั้นตอนในการดำเนินงาน

1.4.1 ทำการศึกษาผลของการใช้น้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการอยู่รอดของเชื้อ *Salmonella* ในอาหารเหลว

1.4.2 ทำการควบคุมเชื้อ *Salmonella* ในระหว่างการหมักแหนมโดยใช้น้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตท

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella* ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักประเภทแหนม โดยใช้เครื่องเทศซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพเข้าสู่มาตรฐานระดับสากลได้ รวมถึงความปลอดภัยของผู้บริโภคที่มีมากขึ้น เนื่องจากการลดปริมาณไนเตรทและไนไตรต์ที่เติมลงในแหนม ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดการสะสมของสารตกค้างและก่อให้เกิดโรคมะเร็ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและหลักการ

2.1 ผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก

การถนอมอาหารประเภทที่มีโปรตีนสูง เช่น เนื้อปลา กุ้ง หมู และไก่ มีหลายวิธี การหมัก (fermentation) เป็นวิธีหนึ่งในการถนอมอาหารเหล่านี้ เพื่อช่วยรักษาคุณค่าทางโภชนาการของอาหาร ป้องกันการเน่าเสียซึ่งมักจะเกิดจากการกระทำของจุลินทรีย์บางชนิดและทำให้กลิ่นรสของอาหารชวนรับประทานยิ่งขึ้น ในประเทศไทยมีอาหารหมักที่ทำจากอาหารที่มีโปรตีนสูงหลายชนิด ได้แก่ ปลาร้า ส้มฟัก กุ้งส้ม กะปิ น้ำปลา ไส้กรอก และแหนม

แหนมเป็นอาหารหมักที่มีรสเปรี้ยว ทั้งนี้เนื่องจากมีจุลินทรีย์บางชนิดเข้าไปเกี่ยวข้องในการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมัก จุลินทรีย์ที่พบเป็นพวกแบคทีเรียแลคติก (จรูญ, 2509) ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้สามารถใช้อาหารและเปลี่ยนแปลงไปเป็นกรดแลคติก ทำให้เกิดรสเปรี้ยวในแหนม เช่นเดียวกับอาหารหมักดองอื่นๆ อัจฉรา (2507) ได้ทำการวิเคราะห์แหนมจากตลาดพบว่า แหนมหนัก 100 กรัม ให้พลังงาน 147.50 แคลอรี มีความชื้น 65.00 กรัม โปรตีน 23.00 กรัม ไขมัน 5.1 กรัม คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด 2.30 กรัม เถ้า 450.00 กรัม ฟอสฟอรัส 179.20 มิลลิกรัม เหล็ก 9.14 มิลลิกรัม วิตามินบี 1 468.00 มิลลิกรัม วิตามินบี 2 11.40 มิลลิกรัม

เนื่องจากการผลิตแหนมในประเทศไทยยังเป็นอุตสาหกรรมในครัวเรือน ส่วนใหญ่ยังใช้แรงคนผลิต มีเฉพาะผู้ผลิตรายใหญ่ ๆ เท่านั้นที่มีเครื่องจักรในการบดเนื้อ ผสมเนื้อและอัดเนื้อหมูเป็นท่อน ซึ่งกรรมวิธีในการผลิตของผู้ผลิตแต่ละรายก็อาจไม่ดีพอ อีกประการหนึ่งคือในการบริโภคแหนมนั้นคนทั่วไปนิยมบริโภคแหนมดิบไม่ได้นำไปผ่านความร้อนแต่อย่างใด ดังนั้นจุลินทรีย์ต่างๆ หรือพยาธิบางชนิดที่อาจปนเปื้อนมากับเนื้อหมู เนื้อวัว และวัตถุดิบอื่นๆ หรือจากตัวผู้ทำแหนมเอง ไม่ได้ถูกทำลายไป ถ้าเป็นจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับขบวนการหมักก็ไม่เป็นปัญหาอะไรเพราะจุลินทรีย์เหล่านั้นไม่ได้ก่อให้เกิดโทษกับผู้บริโภค แต่ถ้ามีจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคบางอย่างปนเปื้อนอยู่ในแหนมนั้น โดยเฉพาะจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคเกี่ยวกับระบบทางเดินอาหารด้วยแล้ว ก็จะเป็นปัญหาสำคัญต่อสุขภาพของผู้บริโภคเป็นอย่างยิ่ง นอกจากนี้ ยังมีรายงานว่า สารไนไตรต์และไนเตรทที่นิยมเติมลงในไปในอาหารหมักเพื่อป้องกันจุลินทรีย์ ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *Salmonella* spp., *Clostridium botulinum* และ *Staphylococcus aureus* ในบางสภาวะ (Lucke, 1985)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนประกอบเครื่องปรุงที่ใช้ในการหมักแหนมจะแตกต่างกันไป ตามแหล่งผลิตแต่ละแหล่ง โดยทั่วๆ ไปแล้วจะประกอบด้วย หมูเนื้อแดงสับละเอียด ข้าวเหนียวหรือข้าวเจ้าสุก เกลือป่น ดินประสิว พริกขี้หนู ผงชูรส และหนังหมู ส่วนกรรมวิธีการหมักนั้นจะคล้ายคลึงกัน สมบุญ (2518) ได้ทดลองหมักแหนมโดยใช้เกลือร้อยละ 2, 3, 4 และ 5 พบว่าแหนมที่ใช้เกลือในการหมักร้อยละ 3 มีผู้นิยมบริโภคมากที่สุด เนื่องจากให้กลิ่นรสที่ดี คือ มีทั้งรสเปรี้ยวและรสเค็มพอเหมาะ ซึ่งสอดคล้องกับการวิจัยของ พวงเพ็ญ (2527)

2.1.1วัตถุดิบที่ใช้ในการหมักแหนม

- เนื้อหมูและหนังหมู

เนื้อหมูเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีปริมาณสารอาหารสูง และมีสภาวะที่เหมาะสมแก่การเจริญของพวกแบคทีเรียมาก คือ มีค่า a_w (water activity)ประมาณ 0.99 และมีพีเอชเท่ากับ 7.0 ในระหว่างการหมัก จุลินทรีย์พวกแบคทีเรียแลคติกจะใช้เนื้อหมูเป็นสับสเตรทในการหมัก เนื่องจากเนื้อหมูมีปริมาณสารอาหารสมบูรณ์มาก ดังนั้นจุลินทรีย์ชนิดอื่นก็สามารถเจริญได้เช่นเดียวกับจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมัก การปนเปื้อนจุลินทรีย์ในเนื้อหมูอาจเกิดขึ้นระหว่างการฆ่าหรือการขนย้าย ซึ่งการปนเปื้อนจะขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมในขณะนั้น

จุลินทรีย์ที่พบว่ามีการปนเปื้อนในเนื้อหมู ได้แก่ จุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย และจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค จุลินทรีย์เหล่านี้จะปนเปื้อนที่บริเวณผิวของเนื้อหมู เนื้อหมูที่ใช้ในการผลิตแหนมจะใช้เฉพาะเนื้อแดงเท่านั้น และควรเป็นเนื้อแดงที่สด ส่วนหนังหมูจะใช้เพื่อเพิ่มรสชาติ และจะใช้หนังหมูที่ต้มสุกและหั่นเป็นชิ้นบางๆ

- ข้าวเหนียว

จุลินทรีย์จะใช้ข้าวเป็นแหล่งพลังงานและแหล่งคาร์บอนในการสร้างพลังงานและเซลล์ ข้าวเป็นคาร์โบไฮเดรตที่ย่อยสลายแล้วได้น้ำตาลกลูโคส ซึ่งเป็นน้ำตาลที่สามารถดึงไปใช้ในกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ได้ทันที ดังนั้นปริมาณกลูโคสจึงมีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ ผลิตภัณฑ์เนื้อหมักส่วนใหญ่จะเติมกลูโคสประมาณร้อยละ 0.1-0.2 จึงจะเพียงพอต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการหมัก (แบคทีเรียแลคติก) แต่ถ้ามีปริมาณมากเกินไปอาจทำให้เกิดสารยับยั้งจากกระบวนการหมัก และส่งผลต่อการเจริญของแบคทีเรียแลคติก นอกจากนี้ยังมีน้ำตาลชนิดอื่นที่สามารถนำมาใช้ในการหมักได้ เช่น น้ำตาลซูโครส และน้ำตาลแลคโตส แต่ถึงอย่างไร *Lactobacillus* และ *Pediococcus* ที่ใช้เป็นกล้าเชื้อในการหมัก จะผลิตกรดแลคติกได้ในปริมาณมากเมื่อใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งพลังงาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- เกลือ กระเทียม พริกไทย พริกขี้หนู

ส่วนประกอบเหล่านี้ช่วยเพิ่มรสชาติของแหนม และยังช่วยในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ เนื่องจากการเติมส่วนผสมเหล่านี้จะเพิ่มสภาพเครียดในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ Roca และ Kalman(1989) พบว่า พริกไทยที่เติมลงในอาหารหมักจะช่วยยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสีย และแบคทีเรียโคลิฟอร์ม เช่น *E. coli* นอกจากนี้กระเทียมยังมีส่วนช่วยในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S.* Anatum และ *Staphylococcus aureus* เนื่องจากสาร allicin ที่มีในกระเทียมเข้าไปยับยั้งการสร้างไขมันที่เยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย แต่แบคทีเรียแลคติกที่ใช้เป็นกล้าเชื้อ (*Lactobacillus* และ *Pediococcus*) ในการผลิตสามารถทนต่อการทำลายของสาร allicin สามารถมีชีวิตอยู่ได้ โดยลดปริมาณเชื้อเพียงเล็กน้อย (อดิศร, 2533)

- ไนเตรท

การยืดอายุการเก็บผลิตภัณฑ์อาหารหมักประเภทเนื้อ นิยมเติมสารไนไตรต์และไนเตรท เพื่อยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ และช่วยเพิ่มสีแดงสดเพื่อให้แหนมดูน่ารับประทาน นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มรสชาติของแหนมอีกด้วย สำหรับปริมาณไนไตรต์และไนเตรทที่อนุญาตให้เติมลงในอาหารคือ ไม่เกิน 200 ppm อุษณีย์ และคณะ (2533) ได้ศึกษาปริมาณไนไตรต์และไนเตรทในแหนมซึ่งผลิตที่จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 10 แหล่งด้วยกัน พบว่ามีปริมาณตั้งแต่ 0.34 ถึง 107.72 ppm ซึ่งเป็นปริมาณที่ต่ำกว่ามาตรฐานการควบคุม แต่จากการศึกษาไนโตรซามีนในอาหาร ซึ่งวิเคราะห์โดยกองวิเคราะห์อาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุขในปี พ.ศ. 2545 พบสารนี้ในปริมาณสูงในตัวอย่างแหนมที่ศึกษา

ส่วนประกอบเครื่องปรุงที่ใช้ในการหมักแหนมจะแตกต่างกันไปตามแหล่งผลิตแต่ละแหล่ง โดยทั่วๆ ไปแล้วจะประกอบด้วย หมูเนื้อแดงสับละเอียด ข้าวเหนียวหรือข้าวเจ้าสุก เกลือป่น ดินประสิว พริกขี้หนู ผงชูรส และหนังหมู ส่วนกรรมวิธีการหมักนั้นจะคล้ายคลึงกัน สมบุญ (2518) ได้ทดลองหมักแหนมโดยใช้เกลือร้อยละ 2, 3, 4 และ 5 พบว่าแหนมที่ใช้เกลือในการหมักร้อยละ 3 มีผู้นิยมบริโภคมากที่สุด เนื่องจากให้กลิ่นรสที่ดี คือ มีทั้งรสเปรี้ยวและรสเค็มพอเหมาะ ซึ่งสอดคล้องกับการวิจัยของ พวงเพ็ญ (2527)

วิธีการหมักแหนมสามารถทำได้โดย การนำหมูเนื้อแดงมาสับหรือบดให้ละเอียด เติมเกลือและโปแตสเซียมไนเตรทบดละเอียดลงในหมู เคล้าให้เข้ากัน เติมพริกไทยป่น กระเทียมสับละเอียด ข้าวเหนียวนึ่งบดละเอียด ลงไปคลุกเคล้าให้เข้ากันดี ใส่หนังหมูต้มหั่นละเอียดลงไป นวดให้เหนียว บรรจุใส่ใบตองหรือถุงพลาสติก เติมพริกขี้หนูสด ห่อละ 1-2 เม็ด อัดให้แน่นที่สุด หมักไว้ที่อุณหภูมิห้อง 3-5 วัน แหนมที่รับประทานได้มีพีเอชประมาณ 4.5 มีปริมาณกรดประมาณร้อยละ 2 ขั้นตอนการหมักแหนมโดยย่อแสดงไว้ ดังภาพที่ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 1 กรรมวิธีการหมักแหนม

ที่มา : อนงค์ (2524)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.2 คุณลักษณะทางจุลินทรีย์ของแหนม

- *Salmonella* ต้องไม่พบในตัวอย่าง 25 กรัม
- *S. aureus* ต้องไม่พบในตัวอย่าง 0.1 กรัม
- *C. perfringens* ต้องไม่พบในตัวอย่าง 0.1 กรัม
- *E. coli* หาโดยวิธีเอ็มพีเอ็น ต้องน้อยกว่า 3 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม
- ยีสต์และรา ต้องน้อยกว่า 10 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม

2.1.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการหมักแหนม

- อุณหภูมิที่ใช้ในการหมักแหนม ควรอยู่ในช่วง 20-40 องศาเซลซียส การหมัก 2-4 วัน ควรใช้อุณหภูมิ 30 องศาเซลซียส เพื่อสนับสนุนการทำงานของแบคทีเรียแลคติกในการผลิตกรดแลคติกให้ได้ปริมาณมากที่สุด
- ค่า a_w ที่เหมาะสมแก่การทำงานของแบคทีเรียแลคติกคือ 0.91-0.94
- ค่าพีเอช มีผลต่อการผลิตกรดแลคติก จากการทดลองของ Borch และ Molin (1989) พบว่าในการหมักระบบปิด แบคทีเรียพวก homofermentative จะมีการผลิตกรดมากที่พีเอช 6.0 ในการหมักที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส แหล่งคาร์บอนที่ใช้ มีผลต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ ซึ่งน้ำตาลกลูโคสจะเป็นแหล่งคาร์บอนที่ดีที่สุด เนื่องจากเป็นน้ำตาลที่สามารถดึงเอาคาร์บอนไปใช้ได้ทันทีซึ่งแตกต่างจากน้ำตาลชนิดอื่นๆ ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหมาะสมต่อกระบวนการหมักคือ ร้อยละ 0.1-0.2

2.2 แบคทีเรียแลคติก

แบคทีเรียแลคติกจัดอยู่ใน Family Lactobacillaceae ซึ่งมีอยู่ 2 กลุ่มใหญ่ คือกลุ่ม homofermentative และกลุ่ม heterofermentative โดยกลุ่มแรกสามารถสร้างกรดแลคติกจากน้ำตาลกลูโคส หรือน้ำตาลที่มีคาร์บอน 6 ตัวอื่นๆ ให้ได้กรดแลคติกประมาณร้อยละ95 ที่เหลือจะเปลี่ยนไปเป็นกรดอะซิติก และคาร์บอนไดออกไซด์อีกเล็กน้อย ส่วนแบคทีเรียกลุ่มหลังสามารถผลิตกรดแลคติกจากน้ำตาลกลูโคส หรือน้ำตาลที่มีคาร์บอน 6 ตัว ได้กรดแลคติกประมาณร้อยละ 50 ได้กรดอะซิติครวมทั้งเอทานอลร้อยละ 20 - 25 แบคทีเรียแลคติกนี้มีอยู่ด้วยกัน 4 สกุล ได้แก่ *Pediococcus, Streptococcus, Leuconostoc* และ *Lactobacillus* แหล่งที่พบแบคทีเรียแลคติก ได้แก่ เนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อ ผลิตภัณฑ์นม อาหารหมักดองต่างๆ เป็นต้น แบคทีเรียแลคติกส่วนใหญ่ต้องการอากาศเพียงเล็กน้อย (microaerophile) บางชนิดเป็นพวกไม่ต้องการอากาศเลย (strickly anaerobe) เนื่องจากเป็นแบคทีเรียที่ได้พลังงานจากการหมักน้ำตาลโดยไม่ใช้ออกซิเจน มีความต้องการอาหารค่อนข้างสลับซับซ้อนและอุดมสมบูรณ์ (Prescott และ Dunn, 1959)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใช้กรดอะมิโนเป็นแหล่งไนโตรเจน เชื้อจะเจริญได้ในอาหารที่มี growth factor และวิตามินหลายชนิด เช่น ไบโอติน (biotin) ริโบฟลาวิน (riboflavin)และส่วนใหญ่ต้องการสารอนินทรีย์ในปริมาณค่อนข้างสูง เช่น แมงกานีส แมกนีเซียม ฟอสฟอรัส เป็นต้น

ในระยะสิบกว่าปีที่ผ่านมาได้มีรายงานจำนวนมากกล่าวถึงความสามารถของแบคทีเรียแลคติกในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์อื่นๆ เช่น *Bacillus subtilis, Micrococccus pyogenes, Escherichia coli, Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* และ *Pseudomonas* spp. เป็นต้น (วิลาวัณย์, 2524)

ในปัจจุบันพบว่าแบคทีเรียแลคติกสามารถจำแนกได้ 12 สกุล คือ *Lactobacillus, Streptococcus, Vagococcus, Lactococcus, Enterococcus, Tetranococcus, Pediococcus, Aerococcus, Leuconostoc, Oenococcus, Weissella* และ *Carnobacterium* (Stiles และ Holzapfel, 1997)

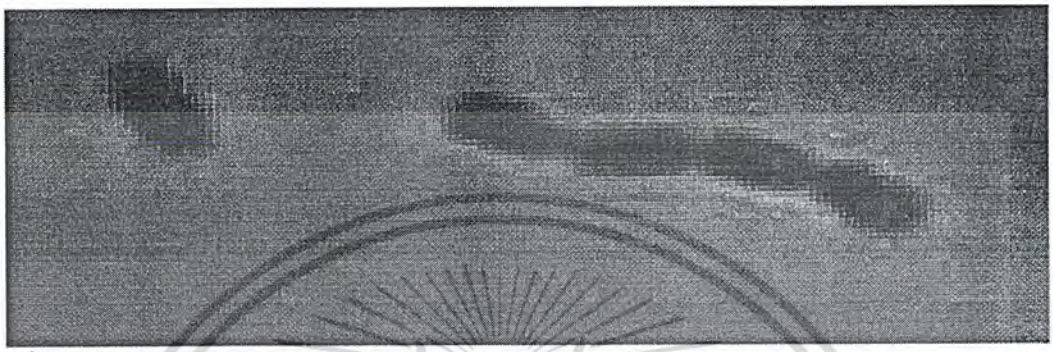
- *Lactobacillus* เซลล์รูปท่อนยาว ท่อนสั้น คอคโคแบซิลไล มักเรียงเป็นสาย โดยทั่วไปไม่เคลื่อนที่ ถ้าพบการเคลื่อนที่ใช้แฟลเจลลารอบเซลล์ ไม่สร้างสปอร์ ติดสีแกรมบวก และจะติดสีแกรมลบเมื่ออายุมากขึ้นและในสภาพเป็นกรด ช่วงอุณหภูมิในการเจริญเติบโต คือ 2-53 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเติบโตอยู่ระหว่าง 30-40 องศาเซลเซียส เป็นพวกทนกรด พีเอชที่เหมาะสมในการเติบโตโดยปกติ 5.5-6.2 หรือต่ำกว่า อัตราการเติบโตจะลดลงเมื่ออยู่ในสภาพเป็นกลางหรือค่อนไปเป็นด่าง เป็นพวกไมโครแอโรฟิลิกต้องการสารอาหารที่ซับซ้อนเพื่อการเจริญเติบโต คาตาเลสให้ผลลบ การสร้างสารสีพบได้น้อยมาก ถ้าพบมีสีเหลือง ส้ม จนถึงสีสนิมหรือสีแดงอิฐ มักพบในผลิตภัณฑ์นม ผลิตภัณฑ์ธัญพืช ผลิตภัณฑ์เนื้อและปลา ไวน์ เบียร์ ผลไม้ น้ำผลไม้และผักดอง แบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม (วิลาวัณย์, 2524) คือ

(1) กลุ่ม homofermentative ซึ่งหมักน้ำตาลกลูโคสให้กรดแลคติกร้อยละ 80-90 มี 2 พวก คือ *Streptobacterium* เป็นพวกเติบโตได้ที่ 15 องศาเซลเซียส ได้แก่ *L. casei, L. plantarum* และพวกที่เติบโตที่ 45 องศาเซลเซียส แต่ไม่เติบโตที่ 15 องศาเซลเซียส ได้แก่ *L. bulgaricus, L. lactis, L. acidophilus* และ *L. delbrueckii* เป็นต้น

(2) กลุ่ม heterofermentative ซึ่งหมักน้ำตาลกลูโคสให้กรดแลคติกร้อยละ 50 กรดอะซิติก และเอทานอลร้อยละ 20-25 คาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 20-25 ได้แก่ *L. fermentum, L. buchneri* และ *L. brevis* เป็นต้น ชนิดที่มีความสำคัญด้านอาหารหมัก ได้แก่ *L. plantarum* เซลล์รูปร่างท่อนตรง ขนาด 0.9-1.2 × 3-8 ไมโครเมตร อาจอยู่เดี่ยวๆ เรียงตัวเป็น คู่หรือสายสั้น เจริญได้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ไม่สามารถเจริญที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตโดยทั่วไปที่อุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส ต้องการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้นำไปใช้

แคลเซียม เฟนโททิเนตและไนอะซินในการเจริญ แยกได้จากผลิตภัณฑ์นม ผักดอง ผลิตภัณฑ์มะเขือเทศเน่าเสีย ปาก ลำไส้ และอุจจาระของคน



ภาพที่ 2 ลักษณะของ *L. plantarum*
ที่มา : วิลาวัณย์ (2524)

- *Streptococcus* เซลล์มีรูปร่างกลมหรือรูปไข่ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.8 - 1.2 ไมโครเมตร มีการจัดเรียงตัวเป็นคู่หรือเป็นสายโซ่ โดยการเกิดเป็นสายโซ่จะเกิดได้ดีที่สุด ในสภาวะที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว และความยาวของสายโซ่ก็จะเริ่มจากเพียงไม่กี่เซลล์จนมากกว่า 50 เซลล์ เป็นแบคทีเรียพวก homofermentative ดังนั้นจึงมีการผลิตกรดแลคติกชนิด L(+) เป็นผลิตภัณฑ์หลักเท่านั้นจากการหมักกลูโคส เจริญที่อุณหภูมิ 20-42 องศาเซลเซียส ปัจจุบันประกอบด้วย 39 สปีชีส์

- *Vagococcus* เป็นแบคทีเรียแลคติกที่สามารถเคลื่อนที่ได้ ประกอบด้วย 2 สปีชีส์ คือ *V. fluvialis* แยกได้จากอุจจาระของไก่และน้ำในแม่น้ำ และ*V. salmoninarum* ซึ่งแยกได้จากปลาแซลมอลที่เป็นโรค

- *Lactococcus* เซลล์มีรูปร่างกลมหรือไข่ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5-1 ไมครอน มีการจัดเรียงตัวเป็นเซลล์เดี่ยว คู่หรือต่อกันเป็นสายโซ่ ผลิตกรดแลคติกชนิด L(+) จากการหมักกลูโคส ใช้เป็นกล้าเชื้อในผลิตภัณฑ์นม สามารถเจริญที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส แต่ไม่เจริญที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ปัจจุบันประกอบด้วย 5 สปีชีส์ ได้แก่ *L. garviae, L. lactis, L. plantarum, L. raffinolactis* และ *L. pisdium*

- *Enterococcus* เซลล์มีรูปร่างไข่ จัดเรียงตัวเป็นเซลล์เดี่ยว คู่ หรือเป็นสายโซ่สั้นๆ ผลิตกรดแลคติกชนิด L(+) เป็นผลิตภัณฑ์หลักจากการหมักกลูโคส ต้องการสารอาหารซับซ้อนสำหรับการเจริญสามารถเจริญที่อุณหภูมิ 10 และ 45 องศาเซลเซียส สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 6.5 และที่พีเอชเท่ากับ 9.6 บางสายพันธุ์สามารถผลิตคาตาเลสเทียมได้

- *Tetranococcus* เซลล์มีรูปร่างกลม มีการจัดจำแนกใหม่แยกจากสกุล *Pediococcus* สามารถ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการใช้

เจริญได้ในอาหารซึ่งประกอบด้วยเกลือโซเดียมคลอไรด์สูงถึงร้อยละ 18

- *Pediococcus* เซลล์รูปกลม เรียงตัวเป็นคู่หรือสี่เซลล์ เซลล์เดี่ยวๆพบยากมาก ไม่พบการเรียงตัวเป็นสาย ติดสีแกรมบวก ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ เป็นพวก facultative anaerobe มีความทนทานต่อออกซิเจนแตกต่างกันในแต่ละชนิด อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญอยู่ในช่วงอุณหภูมิ 25-40 องศาเซลเซียส เป็นพวกเคโมออร์แกโนโทรฟ ต้องการกรดอะมิโนและสารเร่งการเติบโตทุกชนิดต้องการกรดนิโคตินิก กรดเพนโทนินิก และไบโอติน แต่ไม่ต้องการไทอะมีน กรดพาราอะมิโนเบโซอิก หรือโคบาลามีน หมักน้ำตาลกลูโคสให้กรดแลคติกไม่ให้แก๊ส คาตาเลสให้ผลลบ ไม่ทำให้เกิดโรคในพืชและสัตว์ มักพบในอาหารหมัก ไม่ค่อยพบในนมและผลิตภัณฑ์นม ชนิดที่มีความสำคัญด้านอาหารหมัก ได้แก่ *P. acidilactici* เซลล์รูปกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.6-1.0 ไมโครเมตร ต้องการกรดอะมิโนและสารเร่งการเจริญเติบโต เช่น ไรโบฟลาวิน ไพริดอกซินและกรดเพนโททินิกในการเติบโต อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเติบโต คือ 40 องศาเซลเซียส อุณหภูมิสูงสุดที่สามารถเจริญได้ 52 องศาเซลเซียส เซลล์ถูกทำลายที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 10 นาที พบในอาหารหมัก เช่น กระหล่ำปลีดอง (วิลาวัณย์, 2524)

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

- *Leuconostoc* ลักษณะของเซลล์ขึ้นอยู่กับอาหารเลี้ยงเชื้อ ในอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส เซลล์มีลักษณะยืดออกคล้ายกลุ่ม *Lactobacillus* แต่เมื่อเจริญในน้ำนมพบว่าเซลล์มีรูปร่างกลม การจัดเรียงตัวเป็นเซลล์เดี่ยว อยู่เป็นคู่หรือเป็นสายโซ่สั้นถึงปานกลาง ผลิตกรดแลคติกชนิด D(-) เอทานอล คาร์บอนไดออกไซด์ และสารหอมระเหยจากการหมักด้วยกลูโคส จึงช่วยสร้างกลิ่นรสในอาหารหมักดอง

- *Oenococcus* ประกอบด้วยสปีชีส์ *O. oeni* ซึ่งเปลี่ยนมาจาก *Leuconostoc onenos* ด้วยคุณสมบัติการทนต่อกรดและเอทานอลปริมาณสูง

- *Weissella* ประกอบด้วยแบคทีเรีย 7 สปีชีส์ ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับ *Leuconostoc* รูปร่างเซลล์เป็นแท่งและกลม เดิมสกุลนี้อยู่ในสกุลของ *Leuconostoc* และ *Lactobacillus*

- *Carnobacterium* เซลล์เป็นรูปร่างท่อนตรง ขนาดสั้นถึงปานกลาง หรือเป็นท่อนเรียว มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5-0.7 ไมครอนและยาว 1.1-3.0 ไมครอน จัดเรียงตัวเป็นเซลล์เดี่ยวหรือเซลล์คู่ มักไม่พบการเรียงตัวเป็นสายโซ่ ผลิตกรดแลคติกชนิด L(+) คาร์บอนไดออกไซด์ แอซิเตท และเอทานอลจากการหมักน้ำตาลเฮกโซส (รดีกร, 2543)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบคทีเรียแลคติกมีบทบาทในการผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก ในด้านการผลิตกรดและกลิ่นรส และยังช่วยปรับปรุงคุณภาพเนื้อและยืดอายุการเก็บเนื้อให้ได้นานขึ้น เนื่องจากการใช้เชื้อแบคทีเรียแลคติกในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ ช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์อื่น ๆ รวมทั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์เน่าเสีย และจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค สารที่แบคทีเรียแลคติกผลิตออกมาเพื่อยับยั้งจุลินทรีย์กลุ่มอื่นๆ ได้แก่ สารปฏิชีวนะ เช่น ไนซิน(nisin) และไดโพคอกซิน(diplococcin) ซึ่งผลิตโดยแบคทีเรียแลคติกสกุล *Streptococcus* ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ สารที่ไม่ทนความร้อนอื่นๆ กรดแลคติกและกรดระเหยบางชนิด ซึ่งมีผู้รายงานว่ากรดระเหยหรือระดับพีเอชเพียงอย่างใดอย่างหนึ่ง ไม่สามารถทำให้เกิดการยับยั้งการเจริญของเชื้ออื่นๆได้ เมื่อระดับพีเอชสูงขึ้นจาก 4.0-5.5 จนเป็นกลางจะทำให้คุณสมบัติการยับยั้งการเจริญหมดไปเช่นกัน สารประเภทโปรตีนซึ่งทนอุณหภูมิสูงได้ดี พบว่ามีสารที่ทนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที สารที่ทนอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และสารที่ทนอุณหภูมิ121-125 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20-60 นาที ซึ่งเมื่อผ่านความร้อนดังกล่าวแล้วสารพวกนี้ยังคงคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์อื่นๆได้ (อรนุช, 2530)

กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่ใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก อาจใช้เชื้อเพียงชนิดเดียวหรือใช้เชื้อหลายชนิดร่วมกัน ซึ่งแล้วแต่ชนิดของผลิตภัณฑ์นั้นๆ กล้าเชื้อชนิดแรกสำหรับหมักอาหารประเภทเนื้อ ซึ่งมีจำหน่ายในท้องตลาด ได้แก่ *P. cerevisiae* (Gilliland,1985) ซึ่ง Diebel และคณะ (1961) เป็นบุคคลกลุ่มแรกซึ่งนำเชื้อชนิดนี้ไปใช้ในการหมักไส้กรอก โดยเรียกว่า "meat starter culture" Smith และ Palumbo (1981) ได้ให้คำจำกัดความของคำ "meat starter culture" ว่าหมายถึงจุลินทรีย์ที่ยังมีชีวิตซึ่งนำไปใส่ในเนื้อเพื่อปรับปรุงคุณภาพการหมักให้ดีขึ้น และทำให้อาหารหมักที่ได้มีความปลอดภัยต่อการบริโภค Gilliland (1985) ได้รายงานว่าคุณสมบัติของกล้าเชื้อที่ดี ควรเป็นเชื้อที่เจริญที่อุณหภูมิระหว่าง 26.7-43 องศาเซลเซียส มีความสามารถทนเกลือไนไตรต์เข้มข้น 80-100 ppm และเจริญได้ดีในที่ที่มีเกลือร้อยละ 6 ต้องไม่เป็นเชื้อโรคหรือเป็นเชื้อที่ไม่สร้างสารพิษใดๆ เป็นเชื้อที่ไม่สร้างกลิ่นเน่าเหม็นให้แก่ผลิตภัณฑ์อาหารหมัก ไม่สร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน และเอนไซม์ย่อยไขมัน ในกรณีที่เป็นแบคทีเรียแลคติกจะต้องเป็นเชื้อชนิด homofermentative ซึ่งจะผลิตกรดแลคติกเป็นส่วนใหญ่จากการใช้น้ำตาลกลูโคส เนื่องจากแบคทีเรียแลคติกกลุ่ม heterofermentative สามารถใช้น้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลที่มีคาร์บอน 6 ตัว แล้วผลิตสารอื่นๆ รวมทั้งคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งแก๊สดังกล่าวจะไปทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารหมักเกิดการระเบิดและมีกลิ่นรสเปลี่ยนไปจากเดิม จุดประสงค์ที่สำคัญ 2 ประการ ในการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกใส่ในอาหารประเภทเนื้อ คือ เพื่อลดระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก และเพื่อยืดอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์เนื้อสดในอุณหภูมิตู้เย็น (Raccach และ Baker, 1978) ประโยชน์อื่นๆ ของการใช้กล้าเชื้อประเภทนี้ คือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำให้อาหารหมักที่ได้ปลอดภัยจากสารพิษต่างๆ เช่น ฮีสตามีน(histamine) ไนโตรซามีน (nitrosamine) และโบทูลินัม (botulinum) เป็นต้น

Gilliland (1985) รายงานว่า แบคทีเรียแลคติกจะช่วยป้องกันการสะสมของ histamine ในอาหารหมัก และพบว่าแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเป็นพิษจะเป็นตัวการผลิตสารนี้ โดยเกิดจากการ decarboxylate ของสาร histidine มักพบ histamine ในอาหารหมักต่างๆ เช่น เนยแข็ง ไวน์ และกะหล่ำปลีหมัก เป็นต้น อาหารหมักโดยใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกจะปลอดภัยต่อการบริโภคอันเนื่องจากสารพิษ เช่น ทอกซินของ *C. botulinum* และ ไนโตรซามีน เนื่องจากแบคทีเรียแลคติกที่มีปริมาณมากจะผลิตกรดอย่างรวดเร็วเป็นผลให้ระดับพีเอชของอาหารลดลงอย่างรวดเร็วเช่นกัน ซึ่งจะไปเร่งให้ไนไตรต์ที่ตกค้าง (residual nitrite) ถูกสลายเป็นไนตรัสออกไซด์ จึงทำให้การสะสมของไนไตรต์ในอาหารหมักลดลง และเป็นเหตุให้การสะสมไนโตรซามีนลดลงเช่นกัน

Tanaka และคณะ (1980) รายงานว่า *L. plantarum* สามารถยับยั้งการเจริญของ *C. botulinum* ในเบคอนที่ใส่น้ำตาลซูโครสมากกว่าร้อยละ 0.5 จึงทำให้สามารถลดปริมาณไนไตรท์ในเบคอนได้ หรือไม่จำเป็นต้องใช้สารนี้เลย

Dubois และคณะ (1979) ได้ศึกษาผลของการใช้เชื้อแบคทีเรียแลคติกในกลุ่มของ *Pediococcus* sp., *Lactobacillus* sp.และ *Streptococcus* sp. ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 103 ชนิดที่จำแนกได้จากเนื้อโคชำแหละ พบว่าแบคทีเรียที่ถูกยับยั้งโดยเชื้อแบคทีเรียแลคติกส่วนมากจะเป็นกลุ่มแบคทีเรียแกรมลบ ส่วนกลุ่มแบคทีเรียแลคติกที่ให้ผลในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆได้ดี ได้แก่ กลุ่มของเชื้อ *Streptococcus* sp. โดยเฉพาะ *S. lactis* จะให้ผลในการยับยั้งเชื้อต่างๆได้ดีที่สุด

ในปี ค.ศ. 1980 Barthlomew และ Blumer ได้ศึกษาผลของ *L. plantarum* และ *P. cerevisiae* ในการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus epidermidis* ที่แยกได้จากแฮม พบว่าการเติมเชื้อ *L. plantarum*ลงในแฮมจะให้ปริมาณกรดแลคติกที่สูงกว่าและยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. epidermidis* ได้ดีกว่าแฮมที่เติมกล้าเชื้อ *P. cerevisiae* จึงสรุปว่ากรดที่แบคทีเรียแลคติกทั้งสองชนิดผลิตขึ้นมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. epidermidis* นอกจากนี้ Goepfer และ Chung (1970) ได้ศึกษาถึงผลของการใช้กล้าเชื้อ *P. cerevisiae* หรือ *Lactobacillus* sp. ในการหมักไส้กรอกพบว่า กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่ใช้สามารถลดค่าพีเอชของไส้กรอกลงอย่างรวดเร็ว ค่าพีเอชที่ต่ำและปริมาณเกลือที่เติมลงในไส้กรอกขณะหมักเป็นสาเหตุสำคัญในการยับยั้งหรือทำลาย *S.* Typhimurium ที่เติมลงในไส้กรอกก่อนทำการหมัก เช่นเดียวกับการทดลองของ Smith และคณะ (1975) ซึ่งใช้ *P. cerevisiae* ผสมกับ *L. plantarum* ในการหมักไส้กรอกเลบานอน บาโลน่า พบว่าเชื้อ *S. dublin* หรือ *S.* Typhimurium ได้ลดจำนวนลงจนหมดหลังจากที่หมักไส้กรอกด้วยแบคทีเรียแลคติกผสมดังกล่าวนาน 4 วัน

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ห้ามนำไปใช้ในการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรายงานของ Smith และคณะ (1975) ได้ศึกษาผลของ *P. cerevisiae* และ *L. plantarum* ต่อ *S.* Typhimurium ในการหมัก pepperoni โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 แบบ คือ 1) หมักโดยใช้แบคทีเรียแลคติกผสม *P. cerevisiae* และ *L. plantarum* 2) หมักด้วยเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่มีอยู่ในธรรมชาติในเนื้อหมูและ 3) ไส้กรอกที่ไม่มีการหมัก โดยเติมเชื้อ *S.* Typhimurium ลงในไส้กรอกให้มีเชื้อเริ่มต้นก่อนทำการทดลอง 10^4 เซลล์ต่อกรัม พบว่าไส้กรอกที่มีการเติมแบคทีเรียแลคติกผสมสามารถทำลายเชื้อ *S.* Typhimurium ให้ลดลงอย่างช้าๆ ในระหว่างการหมัก เมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักซึ่งเป็นช่วงเวลาที่ทำให้ผลิตภัณฑ์อยู่ในรูปแห้ง ตรวจไม่พบเชื้อ *S.* Typhimurium ในไส้กรอกที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรียแลคติกผสม ส่วนไส้กรอกที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่มีอยู่ตามธรรมชาติในเนื้อหมูและไส้กรอกที่ไม่ผ่านการหมักนั้น สามารถตรวจพบเชื้อ *S.* Typhimurium อยู่เมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักโดยที่ค่าพีเอชสุดท้ายของไส้กรอกทั้ง 3 แบบ คือ 4.6, 5.0 และ 5.7 ตามลำดับ นอกจากนี้ Masters และคณะ (1981) ได้ศึกษาว่าการใช้ *L. plantarum* ปริมาณเริ่มต้น 10^6 เซลล์ต่อกรัมใน summer sausage พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อการลดลงของเชื้อ *Salmonella* คือจำนวนเชื้อ *Salmonella* เริ่มต้น ซีโรวาร์ของเชื้อ *Salmonella* ที่ปนเปื้อน อัตราเร็วของการหมัก และอุณหภูมิระหว่างการผลิต

Smith และ Palumbo (1981) ได้รวบรวมรายงานการใส่กล้าเชื้อในอาหารเพื่อช่วยเร่งกระบวนการหมัก (ตารางที่ 1) และในระยะเวลาที่ผ่านมาได้มีรายงานการศึกษาถึงผลของการใช้แบคทีเรียแลคติกในผลิตภัณฑ์เนื้อ ซึ่งส่วนมากจะศึกษาในด้านการปรับปรุงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ให้มีรูปลักษณะที่ดี มีกลิ่นรสและคุณภาพสม่ำเสมอ การลดระยะเวลาในการผลิต การยับยั้งหรือทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้ผลิตภัณฑ์เนื้อนั้นเสีย รวมถึงการยับยั้งและทำลายแบคทีเรียที่เป็นเหตุของโรคอาหารเป็นพิษ (อดิศร, 2533)

ในปัจจุบันพบว่า กล้าเชื้อซึ่งใช้ในการหมักอาหารมากที่สุดในสหรัฐอเมริกา ได้แก่ *P. acidilactici* และ *P. pentosaceus* โดยที่ *P. pentosaceus* เป็นเชื้อซึ่งเริ่มนำมาใช้ในระยะ 2-3 ปีที่ผ่านมา เนื่องจากเป็นเชื้อซึ่งเจริญในที่อุณหภูมิต่ำ ผลิตกรดได้มากและเร็วกว่า *P. acidilactici* จึงทำให้การหมักอาหารด้วยเชื้อ *P. pentosaceus* สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายน้อยลง เนื่องจากไม่ต้องใช้พลังงานในการเพิ่มอุณหภูมิของตู้บ่ม อีกทั้งจะได้ผลิตภัณฑ์ในเวลาเร็วขึ้น (Smith และ Palumbo, 1981)

นาถสุดา (2522) รายงานว่า เชื้อบริสุทธิ์ *P. cerevisiae* ทำให้ระดับพีเอชและปริมาณของกรดของปลาเจ่าที่หมักในเวลา 5 วัน ใกล้เคียงกับปลาเจ่าซึ่งหมักโดยวิธีธรรมชาติเป็นเวลา 10 วัน และได้มีการเปรียบเทียบการหมัก 2 วิธีดังกล่าวในปลาส้มและส้มฟัก ซึ่งพบว่าปลาส้มซึ่งหมักโดยใส่เชื้อ *P. cerevisiae* No. 4 และส้มฟักซึ่งหมักโดยใส่เชื้อ *L. brevis* ใช้เวลาในการหมักเร็วกว่าการหมักปลาส้มหรือส้มฟักโดยไม่ใส่เชื้อแบคทีเรียแลคติก

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 ผลิตภัณฑ์เนื้อสด และผลิตภัณฑ์เนื้อหมักซึ่งใส่กล้าเชื้อแบคทีเรีย

ชนิดของจุลินทรีย์	ผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก
Pediococcus cerevisiae	A. Semi-dry fermented sausage
	a. summer sausage
	b. cervelat
	c. thuringer
	B. Dry fermented sausage
	a. dry sausage
	b. dry turkey sausage
	c. salami
	C. Processed meat
	a. country-style ham
Pediococcus pentosaceus	A. Semi-dry fermented sausage
	a. summer sausage
	B. Dry fermented sausage
	a. pepperoni
	b. Genoa
Lactobacillus plantarum	A. Semi-dry fermented sausage
	a. summer sausage
	B. Dry fermented sausage
	a. salami
	b. European-type dry sausage
	C. Processed meat
	a. bacon
	b. country-style ham
Lactobacillus brevis	A. Fresh meat
	a. minced meat

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 (ต่อ) ผลิตภัณฑ์เนื้อสด และผลิตภัณฑ์เนื้อหมักซึ่งใส่กล้าเชื้อแบคทีเรีย

ชนิดของจุลินทรีย์	ผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก
เชื้อผสมของ *P. cerevisiae* and *L. plantarum*	A. Semi-dry fermented sausage
	a. Lebanon bologna
	b. Summer sausage
	c. cervelate
	B. Dry fermented sausage
	a. pepperoni
	b. dry turkey sausage
	C. Processed meat
	a. cooked, mechanically deboned poultry meat
	D. Fresh meat
	a. mechaically deboned poultry meat
	b. ground poultry breast meat

ที่มา : Smith และ Palumbo (1981)

จินดารัตน์ (2522) รายงานว่าการใช้เชื้อบริสุทธิ์ *P. halophilus* ทำให้การหมักไตปลาเป็นไปอย่างรวดเร็ว โดยที่ระดับพีเอชและปริมาณกรดในระยะเวลาหมัก 6-8 วัน ใกล้เคียงกับไตปลาซึ่งหมักโดยวิธีธรรมชาติเป็นเวลา 12-13 วัน และจากรายงานของ สุภาพ (2522) มีการใช้เชื้อ *P. halophilus* ในการหมักกุ้งจ่อมและหอยแมลงภู่ พบว่าแบคทีเรียแลคติกทำให้ระยะเวลาในการหมักอาหารทั้ง 2 ชนิดลดลง และจะได้อาหารหมักที่มีกลิ่นและรสคล้ายคลึงกับการหมักโดยวิธีธรรมชาติ

แบคทีเรียแลคติกที่มีบทบาทในการหมักแหนม ซึ่งได้แก่ แบคทีเรียสกุล *Pediococcus* และ *Lactobacillus* จุลินทรีย์ที่พบในชั่วโมงแรกๆ ในการหมักแหนมมักเป็นจุลินทรีย์ที่ติดมากับเนื้อหมู ซึ่งได้แก่ จุลินทรีย์ซึ่งมีรูปร่างเป็นแท่งและรูปร่างกลม แกรมบวกและแกรมลบ ซึ่งพบทั้งพวกที่สามารถสร้างกรดได้ และพวกที่ทำให้เกิดการเน่าเสียแบบต่างๆได้ ในระยะแรกของการหมักแหนม

เอกสารนี้ใช้สำหรับการศึกษาเพื่อประโยชน์ทางการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะมีจุลินทรีย์พวก *Pediococcus* spp. เจริญขึ้นมาก ทำให้ปริมาณกรดสูงขึ้น พีเอชลดลง และ *Lactobacillus* sp. เจริญต่อมา หลังจากการเจริญของจุลินทรีย์พวกแรกได้ลดน้อยลง ทำให้แหนมมีพีเอชลดลงยิ่งขึ้นและปริมาณกรดสูงขึ้นไปอีก ในระยะ 4 วันแรกของการหมักแหนมจะมีปริมาณร้อยละของกรดสูงขึ้นและสัมพันธ์กับการลดลงของค่าพีเอช หลังจากระยะดังกล่าวค่าพีเอชจะคงที่ โดยที่จะยังมีการสร้างกรดเพิ่มขึ้น ซึ่งการเพิ่มปริมาณกรดนี้นอกจากจะสัมพันธ์กับค่าพีเอชแล้ว ยังมีความสัมพันธ์กับจำนวนและชนิดจุลินทรีย์ต่างๆในระหว่างการหมักด้วย กล่าวคือ หลังจากการหมักประมาณ 24 ชั่วโมง จุลินทรีย์ที่พบในระยะแรกบางชนิดจะเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะพวกที่สามารถสร้างกรดได้ดีและเจริญได้ในที่ที่มีอากาศน้อย ได้แก่ heterofermentative lactobacilli โดยจะเจริญไปพร้อมๆกับ homofermentative cocci ซึ่งจากการจำแนกพบว่า ได้แก่ *P. cerevisiae* และ *Pediococcus* spp. อื่นๆ (จรูญ, 2509; สมบุญ, 2518; Srisomwong, 1985)

TanasupawatและDaengsubha (1983) ได้แยกแบคทีเรียแลคติกรูปกลมจากแหนมและจำแนกชนิด ซึ่งได้แก่ *P. pentosaceus* และ *P. acidilactici* และการเจริญของ *Pediococcus* spp. เหล่านี้จะเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วในระยะ 3 วันแรก หลังจาก 72 ชั่วโมงไปแล้วจะพบ homofermentative lactobacilli คือ *L. plantarum* เจริญและสร้างกรด ในขณะที่ยังเหลือ *Pediococcus* และ heterofermentative lactobacilli อยู่บ้าง จากรายงานพบว่าในแหนมวันที่รับประทานได้ คือ วันที่ 4 มีค่าพีเอชต่ำกว่า 4.5 และกรดแลคติกสูงกว่าร้อยละ 0.5 ซึ่งค่าพีเอชที่ต่ำและปริมาณกรดที่สูงจะมีผลยับยั้งการเจริญและทำลายแบคทีเรียโคลิฟอร์ม และ *Salmonella* sp. ซึ่งจากการศึกษาพบว่าในการทำลายเชื้อดังกล่าวได้หมดจำเป็นจะต้องหมักแหนมถึง 5 วัน (สมบุญ, 2518; สุขใจ, 2525) ซึ่งในระยะนั้นแหนมจะมีรสเปรี้ยวมากซึ่งจะไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ในขณะที่ *L. plantarum* เจริญและสร้างกรดนั้น ตรวจพบ *L. brevis* ซึ่งเป็น heterofermentative rod เจริญไปพร้อมๆกัน แต่พบในปริมาณที่น้อยกว่า *L. plantarum*

สมบุญ (2518) พบว่าในแหนมที่ทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้องมากกว่า 1 สัปดาห์ จะมีความเปรี้ยวเพิ่มขึ้นมาก และเนื้อสัมผัส(texture) ของแหนมจะเปลี่ยนไปโดยมีความเหนียวน้อยลง ซึ่งอธิบายได้ว่าเป็นผลจากปฏิกิริยาของเอนไซม์บางชนิดซึ่งเกิดขึ้นในแหนมและกรดที่ผลิตออกมามาก ทำให้เนื้อหมูมีลักษณะยุ่ย ผู้วิจัยได้เสนอแนะให้เก็บแหนมที่หมักแล้ว 4-5 วัน ในที่ที่มีอุณหภูมิต่ำ เช่น ในตู้เย็นจะทำให้เก็บแหนมที่หมักแล้ว 4-5 วัน ในที่ที่มีอุณหภูมิต่ำ เช่น ในตู้เย็นจะทำให้เก็บแหนมได้นานขึ้น สำหรับการหมักโดยใช้แหนมเก่าเป็นกล้าเชื้อ พบว่าเมื่อหมักไปเพียง 24-36 ชั่วโมง จะมีกรดเพิ่มขึ้นพอๆ กับแหนมซึ่งหมักแบบธรรมชาติโดยไม่เติมแหนมเก่า ที่ใช้เวลาหมักถึง 96 ชั่วโมง อย่างไรก็ตาม เนื้อสัมผัสของแหนมที่หมักโดยใช้กล้าเชื้อนี้จะไม่มีความเหนียว ซึ่งเป็นผลมาจากการหมักที่เกิดขึ้นในเวลารวดเร็วและอุณหภูมิที่ใช้ในการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือแสวงหาผลประโยชน์ทางการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น โดยไม่ได้รับอนุญาตจากผู้เขียนเอกสาร ขอสงวนสิทธิ์ในการฟ้องร้องทางกฎหมายกับผู้ที่นำไปใช้โดยไม่ได้รับอนุญาต

Inoue และคณะ (1980) ได้ทำการแยกเชื้อแบคทีเรียแลคติกจากแหนม พบว่า แบคทีเรียแลคติกสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus, C. sporogenes* และ *E. coli* ได้ดีเมื่อไม่มีแคลเซียมคาร์บอเนตในอาหารเลี้ยงเชื้อ หรือการยับยั้งจะได้ผลดีเมื่อค่าพีเอชของเชื้อน้อยกว่า 6 นอกจากนี้ยังคงพบว่าเมื่อปรับพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียแลคติกให้เป็นกลางจะไม่สามารถยับยั้ง *E. coli* ได้ และจากการศึกษาได้พบว่า *Lactobacillus* sp. 105 และ *Pediococcus* sp. PC-1 เป็นเชื้อที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดคือ สามารถยับยั้งได้ทั้ง *S. aureus, C. sporogenes* และ *E. coli* แม้จะมีแคลเซียมคาร์บอเนตอยู่ด้วย หรือแม้แต่ในที่ที่มีการควบคุมระดับพีเอชให้อยู่ระหว่าง 6-7 ก็ยังพบว่าแบคทีเรียแลคติกทั้ง 2 ชนิดนี้สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อโรคดังกล่าวได้

2.3 จุลินทรีย์ก่อโรคในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก

การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเกิดจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆที่ติดมากับเนื้อสัตว์ดิบซึ่งมีสารอาหารที่ดีในการเจริญของจุลินทรีย์ รวมทั้งเครื่องปรุงต่างๆและภาชนะเครื่องใช้ในการผลิต ซึ่งไม่สามารถควบคุมชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ได้ นอกจากนี้ยังมีปัญหาทางด้านความปลอดภัยของการรับประทาน กล่าวคือ ในขั้นตอนต่างๆ ในการผลิต ถ้าไม่มีการควบคุมรักษาความสะอาดของโรงงาน อุปกรณ์ที่ใช้การผลิต วัตถุดิบ และส่วนผสมให้มีคุณภาพดีอาจทำให้มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคได้ แหล่งสำคัญที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษมาจากผู้สัมผัสอาหารหรือคนงาน โดยเฉพาะในโรงงานขนาดเล็กที่อาศัยแรงงานคนเป็นส่วนใหญ่ ดังนั้นสุขลักษณะของคนงาน จึงมีส่วนสำคัญมากและในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักหลายชนิดมีสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค เช่น *Salmonella* และ *Listeria* (Johnson และคณะ, 1989) เชื้อ *Salmonella* sp. และ *S. aureus* เป็นจุลินทรีย์ที่มักติดมากับคนและถ่ายทอดไปสู่อาหารทำให้อาหารปนเปื้อนเชื้อเป็นพิษได้

จุลินทรีย์ก่อโรคที่พบในไส้กรอกหมักแห้งและกึ่งแห้ง ได้แก่ *S. aureus, Salmonella* sp., *L. monocytogenes,* และ *C. botulinum* การป้องกันจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคเหล่านี้ ทำได้โดย ใช้การแข่งขันของจุลินทรีย์ท้องถิ่น(กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก) ซึ่งทำให้ค่า redox potential และ ค่า water activity มีค่าต่ำ และการผลิตสารไนไตรต์และกรดในระหว่างการหมักร่วมกับการควบคุมการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคในเนื้อสัตว์ดิบและส่วนผสมต่างๆ การควบคุมด้วยวิธีการเหล่านี้ จะช่วยป้องกันจุลินทรีย์ก่อโรคในระหว่างกระบวนการผลิต (Barber และ Deibel, 1972; Daly และคณะ, 1973; Hammes, 1990; Meisel และคณะ, 1989) จุลินทรีย์ที่ก่อโรคชนิดที่มีความสำคัญในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก ได้แก่

เอกสารนี้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- *Salmonella* sp. แบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อน ไม่สร้างสปอร์ facultative anaerobe เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส สามารถสร้างเอนโดทอกซิน ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ มีอาการท้องร่วง ปวดท้อง มีไข้ 6-8 ชั่วโมง เชื้อนี้เกิดจากการปนเปื้อนจากลำไส้ของสัตว์และคน แพร่กระจายในสภาพแวดล้อมทั่วไป ในผลิตภัณฑ์อาหารหมักมักจะปนเปื้อนมากับวัตถุดิบ เช่น เนื้อหมู เนื้อไก่ การปนเปื้อนในไส้กรอกหมักทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษระบาด ซึ่งโดยทั่วไปแล้ว *Salmonella* sp. จะเจริญได้ไม่ดีในระหว่างการหมักที่มีกรดเกิดขึ้น แต่ปริมาณกรดที่เกิดขึ้นช้าจะทำให้เชื้อนี้สามารถอยู่รอดได้และสามารถลดจำนวนของเชื้อนี้ได้โดยใช้เกลือและแบคทีเรียแลคติก ซึ่งทำให้พีเอชมีค่าต่ำในระหว่างกระบวนการหมัก นอกจากนี้ในกระบวนการทำไส้กรอกแห้งพบว่าเชื้อ *Salmonella* sp. ไม่สามารถเจริญได้ในสภาวะนี้ แต่มีความเป็นไปได้ที่เชื้อจะสามารถปรับตัวต่อกรดและเกลือโดยใช้กระบวนการเมทาบอลิกจึงสามารถอยู่รอดและเจริญได้ในไส้กรอกแห้ง (Goepfert และ Chung, 1970; Masters และคณะ, 1981; Smith และคณะ, 1975)

- *Staphylococcus aureus* แบคทีเรียแกรมบวก มีลักษณะกลมคล้ายพวงองุ่น facultative anaerobe เชื้อนี้จะสะสมอยู่ที่จมูกและผิวของคนและสัตว์ สามารถสร้างเอนเทอโรทอกซินที่ทนความร้อนในอาหาร ทำให้เกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปัจจัยในการเพิ่มจำนวนของเชื้อ *S. aureus* ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักขึ้นอยู่กับความสามารถในการแข่งขันของจุลินทรีย์ท้องถิ่น การเข้าทำลายของแบคเทอริโอซินและการยับยั้งทางเคมีของกล้าเชื้อแลคติก โดยทั่วไปแล้ว *S. aureus* เจริญเติบโตได้น้อยกว่าแบคทีเรียแลคติกในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก แต่เมื่อกรดที่แบคทีเรียแลคติกสร้างขึ้นมีปริมาณต่ำ *S. aureus* จะเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนจนสามารถผลิตเอนเทอโรทอกซินได้ เชื้อ *S. aureus* สามารถเจริญได้ที่ค่า water activity ต่ำๆจึงสามารถเจริญได้ในไส้กรอกแห้ง ซึ่งค่า water activity ต่ำสุดที่เชื้อสามารถเจริญได้ในสภาพที่ไม่มีอากาศ คือ 0.90 และในสภาพที่มีอากาศ คือ 0.83-0.86 เชื้อ *S. aureus* สามารถพบได้ในไส้กรอกหมัก เชื้อนี้จะผลิตเอนเทอโรทอกซินในช่วงแรกของการหมักทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษระบาด นอกจากนี้ยังสามารถตรวจพบ *S. aureus* มากกว่าร้อยละ 50 ในไส้กรอกหมูสดที่ขายปลีก และร้อยละ 95 ในไส้กรอกหมูที่ทำการสุ่มตัวอย่างมีจำนวน 2.4-2.7 CFUต่อกรัม (Genigeorgis, 1976) Barber และ Deibel (1972) รายงานว่า *S. aureus* สามารถเจริญได้ในบริเวณพื้นผิวของไส้กรอกที่มีการสัมผัสกับอากาศ ซึ่งการป้องกัน *S. aureus* ทำได้โดยใช้ กลูโคโนเดลต้าแลคโตนร้อยละ 1.5 หรือใช้ร่วมกับแบคทีเรียแลคติก (Genigeorgis, 1989)

- *Listeria monocytogenes* แบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างท่อน ไม่สร้างสปอร์ facultative anaerobe แพร่กระจายอยู่ในสิ่งแวดล้อมและอาหารทำให้เกิดโรค Listeriosis อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโต คือ 30-35 องศาเซลเซียส ค่า water activity ต่ำสุดที่สามารถเจริญได้ คือ 0.93 ทนต่อเกลือและกรด พบบ่อยครั้งในเนื้อสดและผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก *L. monocytogenes* สามารถอยู่รอดแต่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไม่สามารถเจริญได้ในระหว่างการหมักไส้กรอก และจำนวนเซลล์จะลดลงในช่วงการทำแห้ง(Farber และคณะ, 1988) จากการศึกษาของ Johnson และคณะ(1989) ในระหว่างการเตรียมซาลามี่พบว่า *L. monocytogenes* จะลดลงประมาณ 1 Log CFUต่อกรัม ในช่วงระหว่างการหมักและเมื่อหมักเป็นเวลา 9 วัน เชื้อนี้จะลดลงเช่นเดียวกัน แสดงว่าเชื้อ *L. monocytogenes* สามารถอยู่รอดได้แต่ไม่เพิ่มจำนวน นอกจากนี้พบว่า *L. monocytogenes* สามารถอยู่รอดได้ในซาลามี่เป็นเวลา 12 สัปดาห์ และสามารถกำจัดเชื้อนี้ได้โดยใช้แบคทีเรียแลคติกซึ่งจะผลิตแบคเทอริโอซินทำให้ *L. monocytogenes* ไม่สามารถอยู่รอดได้ (Leistner, 1990)

- *Clostridium botulinum* แบคทีเรียแกรมบวก เคลื่อนที่ได้ สร้างสปอร์รูปไข่ เจริญได้ในสภาพที่ไม่มีอากาศ แพร่กระจายอยู่ตามธรรมชาติ สร้างสารพิษเอกโซทอกซินในอาหารจะมีผลต่อระบบประสาท ทำให้มีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดศีรษะ เจริญที่อุณหภูมิ 12.5-50 องศาเซลเซียส ค่า water activity ต่ำสุดที่สามารถเจริญได้ คือ 0.94 ทำให้เกิดอันตรายในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก ซึ่งพบว่าในการผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อหมักในยุโรป มีการเพิ่มจำนวนสปอร์ของหมูดิบที่นำมาใช้เป็นวัตถุดิบ เชื้อนี้สามารถยับยั้งได้โดยการเติมเกลือ กรด หรือไนไตรต์ (Rhodehamel, 1992)

- เชื้อรา พบในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกแห้งในระหว่างกระบวนการหมัก สามารถเจริญได้ในบริเวณผิวของไส้กรอกแห้ง นอกจากนี้การเก็บซาลามี่ และไส้กรอกเป็นเวลานาน มีความเป็นไปได้ที่เกิดการปนเปื้อนจาก aflatoxins, ochratoxin A, patulin, penicillin acid, sterigmatocystin และ penitrem (Bullerman, 1986) การป้องกันเชื้อราทำได้โดยใช้พิมาริซิน และซอร์เบท (Leistner, 1990)

- ไวรัส ผลิตภัณฑ์เนื้อหมักมีโอกาสเกิดเชื้อไวรัสได้น้อย เชื้อไวรัสนี้มีโอกาสอยู่รอดได้ 15 วัน ในระหว่างการหมักเปปเปอร์โรนีแห้งและซาลามี่ นอกจากนี้พบว่าสามารถใช้กรดในการควบคุมไวรัสได้ (Blackwell และคณะ, 1985)

อรนุช (2530) ได้สำรวจการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในแหนม จำนวน 64 ตัวอย่าง พบว่าปี 2533 แหนมมีการปนเปื้อนของเชื้อ *C. perfringens*ร้อยละ 13.7 และ *S. aureus*ร้อยละ 6.9 แต่ในปี 2534 พบการปนเปื้อนค่อนข้างสูงด้วย *E. coli, S. aureus, C. perfringens* และ *Salmonella* sp. ในจำนวนร้อยละ 71.4 , 22.8, 17.1 และ 2.8 ตามลำดับ

ในปี 1972 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้มีการตรวจเชื้อ *Salmonella* ในอาหารหมักของไทย โดยได้ทำการตรวจเชื้อ *Salmonella* ในตัวอย่างแหนม 217 ตัวอย่าง พบ *Salmonella* 27 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 12.4 ซีโรวาร์ที่พบคือ *S.* Derby, *S.* Anatum, *S. bovis-morbificans, S. lexington, S. newport, S. montevideo* และ *S. wandswort* (Phan-Urai, 1978)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรายงานของสมหญิง (2520) ในการสำรวจไส้กรอกชนิดต่างๆในเขตกรุงเทพมหานคร จำนวน 317 ตัวอย่าง พบเชื้อ *Salmonella* จาก 44 ตัวอย่างเป็นไส้กรอกเวียนนา 15 ตัวอย่างจากตัวอย่างวิเคราะห์ 100 ตัวอย่าง ไส้กรอกโบลอคนา 7 ตัวอย่าง จากตัวอย่างที่วิเคราะห์ 100 ตัวอย่าง ตรวจพบในไส้กรอกไก่ 21 ตัวอย่างจากตัวอย่างที่วิเคราะห์ 100 ตัวอย่าง และพบไส้กรอกตับบด 1 ตัวอย่างจากการวิเคราะห์ 17 ตัวอย่าง จำแนกเป็นซีโรวาร์ ได้รวมทั้งสิ้น 9 ซีโรวาร์ซึ่งเรียงลำดับจากเชื้อที่พบมากไปน้อย ดังนี้ *S.* Derby, *S.* Agona, S. Anatum, *S. bovis-morbifican, S. london, S. heidenberg, S. java, S. krefeld, S. lexington, S. senftenberg, S.* Typhimurium, *S. virchow* และ*S. weltevreden* และจากรายงานของอาภรณ์ (2525) ได้ตรวจ *Salmonella* ในไส้กรอกเวียนนาและไส้กรอกโบลอคนา จำนวนทั้งสิ้น 120 ตัวอย่าง และพบเชื้อนี้คิดเป็นร้อยละ 5 ของตัวอย่างทั้งหมด ซึ่งจำแนกได้เป็น 4 ซีโรวาร์ คือ *S. london, S.* Derby, *S. weltevreden* และ *S. bovis-morbificans*

จากรายงานของสุขใจ (2525) ในการตรวจพบเชื้อ *Salmonella* ในตัวอย่างแหนมซึ่งผลิตในเขตกรุงเทพมหานคร 9 แห่ง จำนวน 450 ตัวอย่าง พบเชื้อ *Salmonella* ในแหนมก่อนหมักจนถึงเมื่อหมักได้ 3 วัน และตรวจไม่พบเชื้อในตัวอย่างแหนมที่มีอายุการผลิต 5 วัน ซึ่งมีค่าพีเอชเฉลี่ยประมาณ 4.25 จากตัวอย่างแหนมจำนวนตัวอย่าง 450 ตัวอย่างพบเชื้อ *Salmonella* ในตัวอย่างแหนม 56 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 12.44 ของตัวอย่างทั้งหมด ซึ่งจำแนกออกเป็น 13 ซีโรวาร์ได้แก่ *S.* Derby, *S.* Agona, *S.* Anatum, *S. bovis-morbifican, S. london, S. heidenberg, S. java, S. krefeld, S. lexington, S. senftenberg, S.* Typhimurium, *S. virchow* และ *S. weltevreden* นอกจากนี้ยังได้ตรวจเชื้อ *Salmonella* ในตัวอย่างแหนมซึ่งผลิตในจังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 16 ตัวอย่าง พบ *Salmonella* 4 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 25 ของตัวอย่างที่วิเคราะห์ ซึ่งจำแนกได้ 3 ซีโรวาร์ คือ *S.* Derby, *S. london* และ *S. krefeld* สำหรับตัวอย่างแหนมที่ผลิตในจังหวัดเชียงราย จำนวน 12 ตัวอย่าง พบ *Salmonella* 5 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 41.67 ของตัวอย่างทั้งหมด จำแนกได้ 1 ซีโรวาร์ คือ *S. krefeld* ซึ่ง *S.* Derby เป็นซีโรวาร์ที่พบมากที่สุดในตัวอย่างแหนมทั้งหมดที่ผลิตในเขตกรุงเทพมหานคร

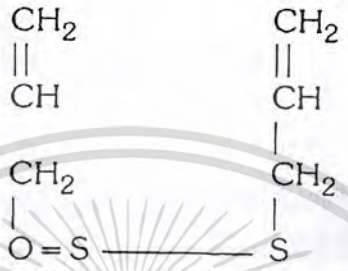
ในปี 1995 ประเทศอังกฤษรายงานการเกิดโรค Salmonellosis ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก พบการระบาดของโรคนี้ 26 ครั้ง โดย*S.* Typhimurium เกิดการปนเปื้อนใน เลบานอน โบลอคนา และไส้กรอกหมักกึ่งแห้ง (Sauer และคณะ, 1997)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 การควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก

2.4.1 ผลของน้ำมันหอมระเหยจากเครื่องเทศต่อการเจริญของจุลินทรีย์

- กระเทียม



ภาพที่ 3 โครงสร้างของ allicin

ที่มา : นิจศิริ (2542)

กระเทียมมีชื่อวิทยาศาสตร์ Allium sativum Linn. วงศ์ Alliaceae ชื่อ อังกฤษ Common garlic กระเทียมสดมีน้ำมัน (Garlic oil) อยู่ประมาณร้อยละ 0.1-0.36 สารอินทรีย์กำมะถันหลายชนิด คือ alliin (S-allyl-l-cysteine sulfoxide) และ S-metyl-l-cysteine sulfoxide น้ำย่อย (enzymes) หลายชนิดคือalliinase, peroxidase และ myrosinase โปรตีน แร่ธาตุ ไวตามินหลายชนิด เช่น ไวตามินB_1 ไวตามิน B_2และ niacin นอกจากนี้ยังมีไขมัน กรดอะมิโนและสารอื่นๆอีก น้ำมันกระเทียมประกอบด้วย allicin, allylpropyl disulfide, diallyl trisulfide เป็นสารหลัก และมี dimethyl sulfide, dimethyl disulfide, dimethyl trisulfide, allylmethyl sulfide, 2,3, 4-trithiapentane และสารประกอบพวกกำมะถันชนิดอื่นๆ อีกเป็นส่วนน้อย สารที่ระเหยได้ชนิดอื่นๆ ที่พบมี citral, geraniol, linalool, α และ β-phellandrene การที่กระเทียมมีกลิ่นนั้นเนื่องจากฤทธิ์ของน้ำย่อย alliinase ที่มีต่อ alliin ทำให้เกิดเป็นสาร allicin สารนี้ทำให้กระเทียมมีกลิ่น alliin จะถูกทำลายโดยความร้อนและด่าง แต่ไม่ถูกทำลายโดยกรดเจือจาง กระเทียมดองในน้ำส้มก็ยังมีกลิ่นอยู่ สารที่พบในกระเทียมที่สำคัญคือ allicin จะกระตุ้นการหลั่งของเอนไซม์จากกระเพาะอาหาร กระตุ้นการหดและบีบตัวของลำไส้ ทำให้การย่อยอาหารและการขับถ่ายเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ allicin สามารถรวมตัวกับไวตามิน B1 และโปรตีนได้ จึงช่วยในการดูดซึมอาหารที่ลำไส้ และยังเกี่ยวข้องกับการลดระดับ cholesterol ในเลือดอีกด้วย allicin เป็นน้ำมันซึ่งไม่มีสี ละลายน้ำ และผสมเป็นเนื้อเดียวกับ alcohol, benzene และ ether ถ้ากลั่นโดยใช้ความร้อนโดยตรงจะถูกทำลาย ไม่คงตัวในด่าง จะคงตัวได้ในเลือดและน้ำย่อยในกระเพาะ allicin ได้มาจากสาร alliin เมื่อถูกย่อยโดยเอนไซม์อัลลิเนส ซึ่งมีอยู่ในกระเทียม เกิดเมื่อกระเทียมถูกบดหรือหั่น ดังนั้นการใช้กระเทียมเพื่อเป็นประโยชน์ในด้านต่างๆ ควรใช้กระเทียมสดๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอนไซม์อัลลิเนสในกระเทียมจะไม่คงตัว เมื่ออยู่ในสภาพที่เป็นกรด ดังนั้นเมื่อรับประทานกระเทียมเข้าไป เมื่อกระเทียมอยู่ในกระเพาะอาหาร เอนไซม์อัลลิเนสในกระเทียมจะถูกทำลายทำให้สารอัลลิเนสเกิดขึ้นได้น้อยทำให้ได้ประสิทธิภาพต่ำ (ราชบัณฑิตยสถาน, 2525)

การที่ allicin สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ต่างๆ ได้ดีนั้นเนื่องจากไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ต่างๆ โดยที่เอนไซม์เหล่านี้เกี่ยวข้องกับกระบวนการหายใจหรือการเจริญของเซลล์เป็นผลให้จุลินทรีย์ถูกทำลาย มีรายงานว่า allicin สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ succinic dehydrogenase และ triose phose dehydrogenase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวกับกระบวนการหายใจแบบใช้ออกซิเจนมากกว่าจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้ออกซิเจน สำหรับเอนไซม์ที่ถูกทำลายโดย allicin ดังกล่าวแล้วนี้ ส่วนมากจะมีหมู่ SH อยู่ด้วย หมู่ SH นี้สามารถรวมอยู่กับหมู่ –SO-S- ในโครงสร้างของ allicin ได้อย่างรวดเร็ว จึงเป็นผลให้กิจกรรมอันเกิดโดยเอนไซม์นี้ถูกทำลาย หมู่ SHมีความสำคัญต่อเซลล์เป็นอย่างมาก เนื่องจากเป็นตัวกระตุ้นที่เฉพาะเจาะจงในการทวีจำนวนของเซลล์ และยังมีความจำเป็นสำหรับการเจริญของเซลล์อีกด้วย ดังนั้นการที่ allicin ไปรวมกับหมู่ SH ภายในเซลล์จึงขัดขวางการเจริญ และเสถียร ในโครงสร้างจะมีหมู่ sulphenic ต่อกับอะตอมของกำมะถันอีกหนึ่งอะตอม ทำให้ออกซิเจนในหมู่ sulphenic ไม่คงตัวเป็นผลให้ allicin มีคุณสมบัติเป็นตัวออกซิไดซ์ อีกด้วย จึงทำลายจุลินทรีย์ต่างๆ ได้เช่นเดียวกับ hydrogen peroxideนอกจากกระเทียมจะมีฤทธิ์ฆ่าจุลินทรีย์ได้อย่างกว้างขวาง ทั้งรา และ แบคทีเรีย แล้วกระเทียมยังมีฤทธิ์ขับลม ฆ่าแมลง ไล่แมลง ลดอาการอักเสบและลดการจับตัวของเกร็ดเลือด

- กานพลู

กานพลูมีชื่ออังกฤษว่า Clove หรือ Cloves มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Eugenia caryophyllus* ชื่อพ้อง *E. caryophyllata* Thunberg; *Syzygium aromaticum* วงศ์ Myrtaceae ส่วนประกอบของกานพลู ประกอบด้วยน้ำมันระเหยร้อยละ 14 ถึง 20 , gallotannic acidร้อยละ 10 ถึง 13 สารที่พบในปริมาณต่ำ คือ triterpene acid และ ester คือ oleanolic acid, vanillin สารจำพวก chromone คือ eugenin, glycosides ของ sitosterol คือ stigmasterol และ campestrol น้ำมันกานพลู เป็นน้ำมันซึ่งได้จากการนำดอกกานพลูแห้งมากลั่นด้วยไอน้ำ น้ำมันกานพลูมีสารจำพวก phenolic ไม่น้อยกว่าร้อยละ 85 สารประกอบฟีนอล ส่วนใหญ่เป็น eugenol น้ำมันกานพลูเมื่อกลั่นมาใหม่ๆ จะไม่มีสีหรือเป็นสีนวล กลิ่นหอมและรสเผ็ด ถ้าทิ้งไว้สีจะเข้มขึ้น

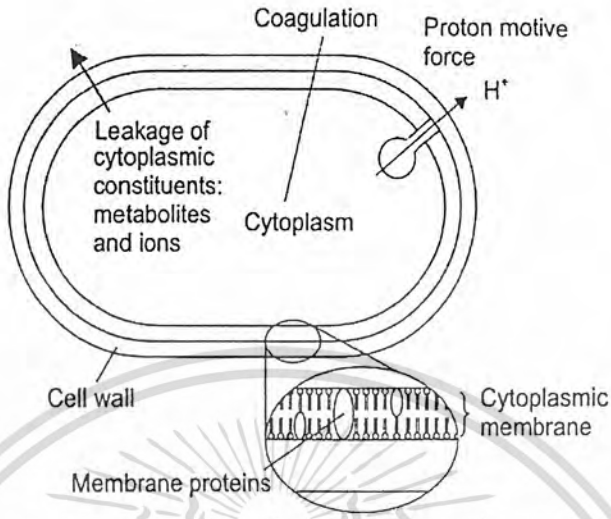
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4 กานพลู
ที่มา : นิจศิริ (2542)

น้ำมันกานพลูส่วนใหญ่ประกอบด้วย eugenol, eugenol acetate และ caryophyllene รวมกันเป็นร้อยละ 99 ในบรรดาสารทั้งสามชนิดนี้เป็น eugenol อยู่ร้อยละ 70-90 สารที่พบปริมาณน้อยในน้ำมันกานพลูคือ methyl-n-amylketone สารนี้ทำให้น้ำมันมีกลิ่นซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของน้ำมันกานพลู สารปริมาณน้อยนอกจากที่กล่าวแล้วก็ยังมี methyl salicylate, methyl benzoate, methyl alcohol, benzyl alcohol, furfuryl alcohol, furfural, ∝-methyl furfural, dimethyl furfural, β- pinene, carbinol และ vanillin น้ำมันที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายจะไม่มี caryophyllene แต่จะมี epoxydihydrocaryophyllene แทน เนื่องจาก eugenol เป็นสารประกอบที่เป็นอนุพันธ์ของ phenol สารประกอบประเภทนี้จะไปขัดขวางกระบวนการละลายของไขมันที่เยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ เป็นผลให้บทบาททางด้าน osmotic barrier ลดลงขัดขวางการทำงานของเอนไซม์โดยทำให้เอนไซม์และโปรตีนอื่นๆ เสียสภาพไป เซลล์จึงถูกทำลาย

น้ำมันดอกกานพลูมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียได้หลายชนิด เช่น แบคทีเรียในลำไส้ (*E. coli*) แบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคไทฟอยด์ *(S. typhosa)* แบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคบิดชนิดไม่มีตัว (*Shigella paradysenteriae*) แบคทีเรียที่ทำให้เป็นหนอง (*S. aureus, Pseudomonas aerugenosa*) น้ำมันกานพลูสามารถฆ่าพยาธิ *Trichomonas vaginalis* ซึ่งเป็นสาเหตุของการตกขาว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 5 บริเวณที่เกิดกลไกการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียบนผนังเซลล์โดยใช้น้ำมันหอมระเหยจากกานพลู

ที่มา : นิจศิริ (2542)

- ดอกจันทน์

ดอกจันทน์มีชื่อทางการค้าว่า East Indian nutmegs และมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Myristica Fragrans Houtt* วงศ์ Myristicaceae ชื่ออังกฤษ Macis หรือ Maceน้ำมันจันทน์เทศ เป็นน้ำมันที่ได้จากการนำเมล็ดในมากลั่นด้วยไอน้ำ นิยมใช้เมล็ดที่มีตัวแมลงมากินเพราะเชื่อว่าแมลงจะช่วยกินแป้งที่มีอยู่ในเมล็ด ทำให้ได้ปริมาณของน้ำมันหอมระเหยสูง ดอกจันทน์มีน้ำมันหอมระเหยอยู่ประมาณร้อยละ 2-6 น้ำมันหอมระเหยยากมีอยู่ประมาณร้อยละ 25-40 น้ำประกอบด้วย myristic acid และ triglyceride ของกรด lauric, tridecanoic, palmitic, stearic และ myristic นอกจากนี้ก็มีแป้ง โปรตีน และ oleanolic acidน้ำมันระเหยส่วนใหญ่ประกอบด้วย monoterpene hydrocarbons ซึ่งมี camphene และ pinene เป็นสารหลัก dipentene, sabinene, cymene, ∝- thujene และ γ- terpinene เป็นส่วนน้อย สารประเภท monoterpene alcohol ที่พบมี geraniol, d-borneol, linalool, terpineol ฯลฯ myristicin ร้อยละ 4-8, safrole และ elemicin ในปริมาณที่น้อยมาก น้ำมันหอมระเหยใช้เป็นส่วนผสมของขี้ผึ้งที่ใช้ทาระงับความปวดและใช้แต่งกลิ่นยาเตรียมหลายชนิด ใช้แต่งกลิ่นสบู่ ครีม ยาทาผิว และยาชะล้าง ใช้เป็นเครื่องเทศแต่งกลิ่นอาหารได้หลายชนิดรวมทั้งแต่งกลิ่นเครื่องดื่มชนิดที่มีและไม่มีแอลกอฮอล์ แต่งกลิ่นอาหารจำพวกเนื้อ ซุป ขนมหวานและอาหารว่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.2 ผลของเกลือของกรดอินทรีย์ต่อการเจริญของจุลินทรีย์

โซเดียมแลคเตทเป็นเกลือของกรดอ่อนที่ชอบไขมัน จึงสามารถแพร่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ในรูปของกรดที่ไม่แตกตัว ซึ่งกรดที่แพร่เข้าเซลล์นี้จะไปแตกตัวภายในเซลล์ในรูปของโปรตอนโดยอาศัยตัวพาและคุณสมบัติของเยื่อหุ้มเซลล์ในการนำพากรดเข้าไปภายในเซลล์ ถ้าพีเอชภายนอกเซลล์มีค่าต่ำกว่าภายในเซลล์ กรดจะสามารถแตกตัวปล่อยโปรตอนเข้าไปยังไซโทร-พลาซึม โดยทั่วไปเซลล์ของจุลินทรีย์จะพยายามทำให้พีเอชภายในเซลล์คงที่โดยการขจัดโปรตอนออกไป ซึ่งจะต้องอาศัยพลังงานมากในการทำให้พีเอชคงที่ จึงมีผลทำให้อัตราการเจริญของจุลินทรีย์ลดลง โดยโปรตอนที่แพร่กระจายเข้ามาในเซลล์จะรบกวนหน้าที่การทำงานของเซลล์ เช่น การขนส่งกรดอะมิโน (Shelef, 1994) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Mbandi และ Shelef (2001) ซึ่งได้ทำการทดลองพบว่า โซเดียมแลคเตทร้อยละ 1.8 สามารถลดอัตราการเจริญของ *L. monocytogenes* และ*S.* Enteritidis นอกจากนี้ Schlyter และคณะ (1983) รายงานว่า การใช้โซเดียมแลคเตทความเข้มข้นร้อยละ 2.5 ร่วมกับโซเดียมไดอะซิเตทร้อยละ 0.1 จะสามารถลดปริมาณเชื้อ *L. monocytogenes* ในอาหารที่ผลิตจากเนื้อไก่งวง เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 42 วัน ซึ่งโซเดียมแลคเตทนิยมใช้ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *L. monocytogenes* นอกจากนี้ Murphy (2004) ได้ศึกษาการเจริญเติบโตของ *L. monocytogenes* ในอาหาร meat model ที่มีความเข้มข้นของโซเดียมแลคเตทแตกต่างกัน โดยทดลองใช้โซเดียมแลคเตทในปริมาณร้อยละ 2-4.8 ซึ่งตามกฎหมายกำหนดให้ใช้ได้ในปริมาณไม่เกินร้อยละ 4.8 แต่จากการทดลองพบว่าโซเดียมแลคเตทปริมาณร้อยละ 2.5 จะมีประสิทธิภาพมากที่สุด เนื่องจากการใช้โซเดียมแลคเตทในปริมาณมากกว่าร้อยละ 2.5 จะทำให้ปริมาณเกลือลดลงซึ่งจะส่งผลให้เชื้อ *L. monocytogenes* ทนความเค็มได้มากขึ้น แต่การใช้โซเดียมแลคเตทในปริมาณที่ต่ำกว่าร้อยละ 2 จะไม่ส่งผลกระทบต่อเชื้อ *L. monocytogenes* นอกจากนี้ยังพบว่าโซเดียมแลคเตทไม่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ แต่จะช่วยลดอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ โดยจะเพิ่มระยะเวลาในช่วง lag phase ของเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งในช่วงระยะ lag phase ที่ยาวนานของจุลินทรีย์อาจส่งผลให้จุลินทรีย์หยุดการเจริญเติบโตอย่างสมบูรณ์

2.4.3 การใช้สารประกอบไนไตรต์และไนเตรทถนอมผลิตภัณฑ์อาหาร

สำหรับการใช้วัตถุกันเสียในผลิตภัณฑ์เนื้อและผลิตภัณฑ์สัตว์ปีกนั้น ที่มีการใช้กันมากที่สุด คือ สารประกอบไนไตรต์และไนเตรท ซึ่งแต่ละประเทศจะมีการอนุญาตให้ใช้แตกต่างกันไป ขึ้นกับกฎหมายอาหารของแต่ละประเทศว่าจะมีการอนุญาตให้ใช้สารประกอบไนไตรต์และไนเตรทในปริมาณเท่าใด

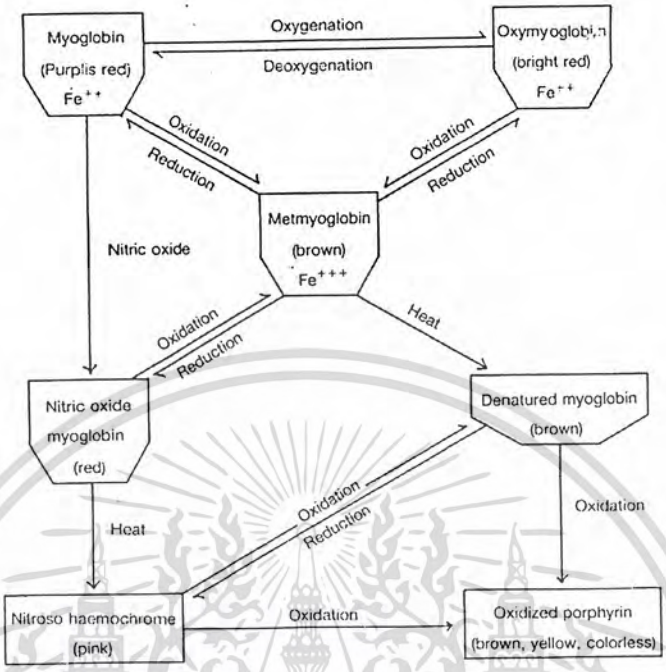
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารประกอบไนไตรต์และไนเตรทนั้น พบว่านอกจากจะช่วยยืดอายุการเก็บแล้วยังมีส่วนช่วยให้สีของผลิตภัณฑ์สวยขึ้นด้วย กลไกของการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์จะเป็นดังนี้ ไนไตรต์จะทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโน ซึ่งมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงขึ้นที่ผนังเซลล์และเอนไซม์ดีไฮโดรจิเนส (dehydrogenase) ของจุลินทรีย์ การทำงานของระบบไซโตโครม (cytochrome system) จะผิดปกติไปด้วย เนื่องจากปฏิกิริยาของไนไตรต์กับรงควัตถุในฮีม (heme pigment) และประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์จะดีขึ้นที่ความเป็นกรด-ด่าง (Gray และ Randall, 1979) สารประกอบไนไตรต์นั้นนอกจากจะสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์อื่นๆ ได้แล้ว ยังสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *C. botulinum* ได้ด้วย ส่วนการศึกษาของ Mac -Dougall และคณะ (1980 a, b) ที่ใช้สารประกอบไนไตรต์ร่วมกับความเย็นในการยืดอายุการเก็บแฮมนั้น พบว่าอายุการเก็บจะดีกว่าแฮมที่เก็บที่อุณหภูมิปกติ รวมทั้งกลิ่นรสของแฮมที่มีการใช้สารประกอบไนไตรต์จะมีการเปลี่ยนแปลงน้อยกว่าแฮมที่ไม่ใช้สารประกอบไนไตรต์อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Cho และ Bratzler (1970) Eackes และ Blumer (1975) ที่พบว่า สีและกลิ่นรสของแฮมจะดีขึ้นเมื่อมีการใช้สารประกอบไนไตรต์

Price และ Schweigert (1971) ได้รายงานเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงของสีในผลิตภัณฑ์เนื้อ ที่เกิดขึ้นเนื่องจากการใช้สารประกอบไนไตรต์และไนเตรทไว้ดังนี้คือ ตามธรรมชาติในเนื้อสัตว์จะมีไมโอโกลบิน (myoglobin) ซึ่งเป็นเม็ดสีที่มีสีม่วงแดง (purple red) การใช้สารประกอบไนไตรต์และไนเตรทนั้น เมื่อสารดังกล่าวถูกรีดิวส์จะให้ไนไตรต์และไนตริกออกไซด์ตามลำดับ ซึ่งไนตริกออกไซด์ที่เกิดขึ้นจะเข้าทำปฏิกิริยากับไมโอโกลบินเกิดเป็นไนตริกออกไซด์ไมโอโกลบินสีแดง และเมื่อได้รับความร้อนในระหว่างการแปรรูป ไนตริกออกไซด์ไมโอโกลบินจะเปลี่ยนเป็นไนโตรโซฮีโมโครมที่สีชมพู ซึ่งสีที่กล่าวนี้จะค่อนข้างคงตัวต่อปฏิกิริยารีดักชันหรือออกซิเดชันแต่จะซีดจางลงถ้าหากกระทบกับแสงมากๆ ปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงสีของผลิตภัณฑ์เนื้อแสดงดังภาพที่ 6

การใช้สารประกอบไนไตรต์และไนเตรทในผลิตภัณฑ์เนื้อและสัตว์ปีกจะต้องคำนึงถึงปริมาณอนุมูลไนไตรต์ที่จะตกค้างอยู่ในผลิตภัณฑ์ด้วย เนื่องจากไนไตรต์ที่กล่าวจะสามารถรวมตัวกับอะมีน (amine) เกิดเป็นสารประกอบไนโตรซามีน (nitrosamine) ได้ ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งในสัตว์และมนุษย์ สารประกอบไนไตรต์และไนเตรทนั้น ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 84 ได้อนุญาตให้ใช้สารประกอบไนไตรต์ในผลิตภัณฑ์เนื้อได้ไม่เกิน 200 ส่วนในล้านส่วน โดยคำนวณในรูปของโซเดียมไนเตรท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 6 ปฏิกริยาทางเคมีที่ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของสีในเนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อ
ที่มา : Price and Schweigert (1971)

2.4.4 การบาดเจ็บจากการแช่แข็งของแบคทีเรีย

เมื่อจุลินทรีย์อยู่ในสภาพแวดล้อมที่เป็นอันตราย เซลล์อาจถูกทำลายจนทำให้ปฏิกิริยาต่างๆ และการปฏิบัติหน้าที่ของส่วนประกอบของเซลล์ตามปกติไม่อาจเกิดขึ้นได้ เซลล์เหล่านั้นอาจสูญเสียความต้านทานต่อสารยับยั้งไป และอาจมีความต้องการสารอาหารเฉพาะที่จำเป็นต่อการซ่อมแซมส่วนประกอบของเซลล์ที่เสียหาย โดยทั่วไป ถ้านำเซลล์บาดเจ็บใส่ในสภาพที่เหมาะสม เซลล์มักจะมีการซ่อมแซมการบาดเจ็บนั้นได้ และเริ่มที่จะเจริญต่อไป แต่ถ้าอาการบาดเจ็บนั้นรุนแรงเกินไป การซ่อมแซมอาจไม่เกิดขึ้นในสภาพปกติ เซลล์บาดเจ็บที่สามารถกลับคืนสภาพเป็นเซลล์ที่แข็งแรง เชื้อเหล่านี้จะไม่สามารถเจริญขึ้นได้เมื่อทำการวิเคราะห์ด้วยวิธีปกติทั่วไป ทำให้ตรวจสอบไม่ได้ว่ามีจุลินทรีย์นี้อยู่ และจุลินทรีย์นี้ก็จะเจริญในอาหารต่อไป หรือมีชีวิตรอดในทางเดินอาหารของคน เมื่อจุลินทรีย์เหล่านั้นมีการซ่อมแซมและคืนสภาพเป็นเซลล์ปกติก็จะเจริญขึ้นและมีความรุนแรงของเชื้อตามปกติ จากการศึกษาพบว่ากระบวนการแช่แข็งสามารถทำให้จุลินทรีย์บาดเจ็บแต่ไม่ตาย ซึ่งอุณหภูมิแช่แข็งมีอิทธิพลต่อการเจริญของแบคทีเรียมาก โดยแบคทีเรียส่วนใหญ่ถูกทำลายเมื่ออยู่ในสภาพที่มีอุณหภูมิต่ำมาก อุณหภูมิแช่แข็งมีผลต่อจุลินทรีย์ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ผลที่เกิดขึ้นในระยะแรก

จุลินทรีย์ส่วนใหญ่ไม่สามารถเจริญเติบโตที่อุณหภูมิสูงกว่าจุดเยือกแข็งของอาหารเลี้ยงเชื้อ แต่มีจุลินทรีย์บางชนิดที่ยังคงเจริญได้ และจะหยุดเจริญเติบโตทันทีเมื่ออาหารแข็ง การแช่แข็งมีอิทธิพลต่างๆ ต่อจุลินทรีย์ คือ จุลินทรีย์บางชนิดสามารถอยู่รอดได้อย่างดี บางชนิดทนต่อการเยือกแข็งได้แต่ไม่ทนในช่วงเก็บรักษาหรือช่วงที่ให้น้ำแข็งละลาย แต่จุลินทรีย์บางชนิดมีความไวต่อความเย็นไม่สามารถอยู่รอดได้ในช่วงเก็บรักษาและในช่วงที่ให้น้ำแข็งละลาย

- เซลล์ผิดปกติของจุลินทรีย์เกิดจากการแช่แข็ง

การแช่แข็งมีอิทธิพลทำให้จุลินทรีย์ตายหรือกลายเป็นเซลล์ผิดปกติ เซลล์ผิดปกติที่เกิดขึ้นนี้มีความสำคัญมากในทางด้านสุขภาพอนามัยของผู้บริโภค เนื่องจากเซลล์ผิดปกติหรือเซลล์ไม่สมบูรณ์ที่มีอยู่ในอาหารแช่แข็งนั้นทำการวิเคราะห์ได้ยาก คือ เซลล์ไม่สามารถเจริญในอาหารเฉพาะสำหรับเลี้ยงเชื้อ แต่หลังจากที่อาหารแช่แข็งละลายแล้ว เซลล์ที่ไม่สมบูรณ์ดังกล่าวจะปรับตัวและเจริญเติบโตจนกระทั่งสร้างสารพิษได้

- การอยู่รอดของเซลล์หลังจากผ่านการแช่แข็ง

ในช่วงเก็บรักษาอาหารที่อุณหภูมิแช่แข็ง แบคทีเรียที่ยังคงเหลืออยู่ในอาหารนั้นจะถูกทำลายต่อไปเรื่อยๆ จุลินทรีย์ที่มีบทบาทต่อคุณภาพอาหารเยือกแข็ง ได้แก่ แบคทีเรียแกรมบวก เช่น *Bacillus, Clostridium, Staphylococcus* และ *Streptococcus* มีความสามารถทนต่อการแช่แข็งและการเก็บรักษาเป็นอย่างดีและแบคทีเรียแกรมลบ เช่น *Escherichia, Pseudomonas, Alcaligenes, Vibrio* และ *Salmonella* ซึ่งมีความต้านทานต่อการแช่แข็งได้น้อยกว่าแบคทีเรียแกรมบวก

- การเจริญของจุลินทรีย์หลังจากอาหารแช่แข็งละลาย

การเจริญของจุลินทรีย์หลังจากอาหารแช่แข็งละลายขึ้นอยู่กับจำนวนและชนิดของจุลินทรีย์ที่มีเหลืออยู่ในอาหาร รวมทั้งคุณสมบัติของอาหารด้วย ชนิดจุลินทรีย์ในอาหารแช่แข็งที่ละลายแล้วนั้นมีความสัมพันธ์กับชนิดจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในอาหารก่อนที่จะนำไปแช่แข็ง แต่ชนิดของจุลินทรีย์ก็มีเปลี่ยนไปบ้างหลังจากแช่แข็ง เนื่องจากความเย็นสามารถทำลายแบคทีเรียแกรมลบได้ดี ปัจจัยที่สำคัญที่มีผลต่อจำนวนการอยู่รอดและจำนวนผิดปกติของเซลล์ คือ สภาวะของการแช่แข็ง อุณหภูมิและเวลาในช่วงเก็บรักษาอาหาร แบคทีเรียผิดปกติต้องการเวลาในการปรับตัวให้คืนสู่สภาพปกติเพื่อที่จะได้เจริญต่อไปได้ (ปรียา, 2528)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์

3.1.1วัตถุดิบที่ใช้ในการหมักแหนม ได้แก่ กระเทียม กานพลู ดอกจันทน์ เนื้อหมู หนังหมู ผงชูรส และเกลือ ได้มาจากตลาดกรุงเทพมหานคร

3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ *Salmonella* Rissen DMST 7097 ได้มาจากศูนย์เก็บรักษาและรวบรวมสายพันธุ์จุลินทรีย์ทางการแพทย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข *Salmonella* Rissen SAP 08946/02 แยกได้จากแหนม *Lactobacillus plantarum* TISTR 050 และ *Pediococcus acidilactici* TISTR 051 ได้มาจากศูนย์จุลินทรีย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ ได้แก่ MacConkey Agar (pH 7.1 ± 0.2, Difco Laboratories), deMan Rogosa and Sharpe (MRS, pH 6.5 ± 0.2, Difco), Tryptic Soy Broth/ Tryptic Soy Agar (TSB/TSA, pH 7.3 ± 0.2, Difco), Lactose Broth (LB, pH 6.9 ± 0.2, Scharlau), Tetrathionate (TT, pH 6.4 ± 0.2, Scharlau), Xylose Lysine Deoxycholate Agar (XLD, pH 7.4 ± 0.2, Difco), Rappaport – Vassiliadis medium (RV, pH 5.1 ± 0.2, Difco) และ Nham Model Broth (NMB) ซึ่งประกอบด้วย เนื้อสกัด 10 กรัม เปปโตน 10 กรัม กลูโคส 10 กรัม โซเดียมคลอไรด์ 25 กรัม กรดแอสคอร์บิก 0.5 กรัม โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 3 กรัม โซเดียมไนไตรต์ 125 ppm โซเดียมไนเตรท 500 ppm กระเทียมสับ 50 กรัม และน้ำกลั่น 1 ลิตร ปรับพีเอช เป็น 3.8

3.1.4 สารเคมีที่ใช้ ได้แก่ โซเดียมแลคเตท ได้มาจาก บริษัท วิสกี้คอนโซลิเดท โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต เดกซ์โตส แลคโตส ซูโครส ผงเพรค โซเดียมคลอไรด์ และเปปโตน

3.1.5 เครื่องมือที่ใช้ ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อ ตู้บ่มเชื้อ วอร์เทกซ์ มิกเซอร์ เครื่องปั่นเหวี่ยง ตู้อบเครื่องแก้ว เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ ชุดเครื่องกลั่นน้ำมันหอมระเหย (Clevenger apparatus) เครื่องวัด water activity (Novasina Thermoconstanter TH 200)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การศึกษาผลของการใช้น้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศผสมร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการอยู่รอดของเชื้อ *S.* Rissen ในอาหารเหลว

3.2.1.1 การเตรียมเซลล์ของ *S.* Rissen

เขี่ยเชื้อ *S.* Rissen ลากลงในอาหาร TSA slant บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการถ่ายเชื้ออีก 2 ครั้ง เขี่ยเชื้อที่ได้ลงบนผิวของอาหาร TSA ในจานเพาะเชื้อด้วยเทคนิคการแยกเชื้อบริสุทธิ์ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เขี่ยเชื้อ *S.* Rissen จำนวน 5 โคโลนี ลงในอาหาร TSB 9 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงทำการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 15 นาทีเพื่อแยกเซลล์ แล้วทำการล้างเซลล์ 2 ครั้ง ด้วยสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 จากนั้นจึงทำให้เป็นสารแขวนลอยของเซลล์ด้วยสารละลายเปปโตนร้อยละ 0.1 ปรับความขุ่นให้เท่ากับความขุ่นของ McFarland Standard เบอร์ 5 จะได้เชื้อเริ่มต้นที่มีความเข้มข้นของเซลล์ประมาณ $10^5 - 10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร

3.2.1.2 การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากเครื่องเทศ

นำเครื่องเทศที่ต้องการสกัดน้ำมันหอมระเหย ซึ่งได้แก่ กานพลู ดอกจันทน์ และกระเทียมที่ปอกเปลือกแล้วมาสับให้ละเอียด จากนั้นนำไปผสมกับน้ำในอัตราส่วนของเครื่องเทศแต่ละชนิด (กระเทียม กานพลูและดอกจันทน์) ต่อน้ำเท่ากับ 1 : 2 , 1 : 10 และ 1 : 8 ตามลำดับ โดยใช้ปริมาตรทั้งหมด 2.031 มิลลิลิตร แล้วนำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นให้ละเอียด ประมาณ 5 นาที นำของผสมของเครื่องเทศที่ได้แต่ละชนิดใส่ในขวดก้นกลมของชุดเครื่องกลั่นน้ำมันหอมระเหยด้วยไอน้ำ ทำการกลั่นน้ำมันหอมระเหยเป็นเวลา 5 ชั่วโมง เก็บส่วนของน้ำมันหอมระเหยบริสุทธิ์ (100%) ใส่ในภาชนะป้องกันแสง เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.2.1.3 การอยู่รอดของ *S.* Rissen ในอาหารเหลว

ทำการเติมเชื้อ *S.* Rissen DMST 7097 ที่เตรียมไว้ตามวิธีการในข้อ 3.2.1.1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเหลว NMB ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ที่เติมสารต่างๆ กันทั้งหมด 4 ชุด ดังนี้ ชุดที่ 1) NMB ที่เติมน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศ (กระเทียมร้อยละ 0.468 กานพลูร้อยละ 0.012 และ ดอกจันทน์ร้อยละ 0.015 น้ำหนักโดยน้ำหนัก) ชุดที่ 2) NMB ที่เติมสารละลายโซเดียมแลคเตทร้อยละ 2.5 ชุดที่ 3) NMB ที่เติมน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศ (สูตรเดียวกับชุดที่ 2) และโซเดียมแลคเตทร้อยละ 2.5 และชุดที่ 4) NMB ที่ไม่ได้เติมทั้งน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศและโซเดียมแลคเตท (ชุดควบคุม) เขย่าให้เข้ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทำการเก็บตัวอย่างที่เวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง โดยตรวจนับจำนวนเซลล์ของ *S.* Rissen ที่มีชีวิตด้วยเทคนิค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา

spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MacConkey Agar นำผลการทดลองมาคำนวนหาจำนวนการอยู่รอดของเชื้อ *S.* Rissen และคัดเลือกช่วงเวลาที่เหมาะสมของการสัมผัสกันระหว่างเซลล์และสารยับยั้งที่ทำให้จำนวนเซลล์ของ *S.* Rissen ลดลง ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

3.2.2 การศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการยับยั้งการเจริญของ *S.* Rissen ในระหว่างการหมักแหนม

3.2.2.1 การเตรียมเชื้อผสมของ *S.* Rissen ปกติ และเชื้อผสมที่ผ่านการแช่แข็ง

ทำการเตรียมเซลล์ของเชื้อ *S.* Rissen DMST 7097 และ *S.* Rissen SAP 08946/02 ตามวิธีการในข้อ 3.2.1.1 จนกระทั่งได้สารแขวนลอยของเซลล์แต่ละสายพันธุ์ที่มีความขุ่นเท่ากัน ปิเปตมาสายพันธุ์ละ 5 มิลลิลิตร ผสมกันในหลอดทดลองที่ปราศจากเชื้อ ทำทั้งหมด 2 หลอด โดยนำเชื้อผสมหลอดที่ 1 ไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นเอาออกมาทำให้ละลายจะได้เซลล์ที่ผ่านการแช่แข็ง และเชื้อผสมหลอดที่ 2 เป็นเชื้อผสมปกติที่ไม่ได้ผ่านการแช่แข็ง ซึ่งจะนำไปใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

3.2.2.2 การเตรียมกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก

เขี่ยเชื้อแบคทีเรียแลคติก *Lactobacillus plantarum* TISTR 050 และ *Pediococcus acidilactici* TISTR 051 แต่ละชนิด ลากบนผิวอาหารแข็ง MRS ในจานเพาะเชื้อด้วยเทคนิคการแยกเชื้อบริสุทธิ์ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในสภาพไร้อากาศ เขี่ยเชื้อแบคทีเรียแลคติกแต่ละชนิดมา 1 ลูป ใส่ในอาหารเหลว MRS บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เพื่อทำการแยกเซลล์ และล้างเซลล์ 2 ครั้ง ด้วยสารละลายเปปโตน ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 จากนั้นจึงทำให้เป็นสารแขวนลอยของเซลล์ด้วยสารละลายเปปโตนร้อยละ 0.1 ปรับความขุ่นของเชื้อแบคทีเรียแลคติกทั้ง 2 ชนิดให้เท่ากันโดยใช้ McFarland Standard เบอร์ 5 จะได้เชื้อเริ่มต้นที่มีความเข้มข้นของเซลล์ ประมาณ $10^5 - 10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ซึ่งนำไปใช้ในขั้นต่อไป

ทำการเตรียมแป้งข้าวเจ้าที่ปราศจากเชื้อ ปริมาณ 40 กรัม ปิเปตเชื้อแบคทีเรียแลคติกทั้ง 2 ชนิด ที่เตรียมไว้ข้างต้น ชนิดละ 3 มิลลิลิตร นำมาใส่ในแป้งข้าวเจ้าปราศจากเชื้อดังกล่าว ใช้ยางรัดปากถุงหลวมๆ ผสมเชื้อและแป้งข้าวเจ้าให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกัน และนำไปเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อนำไปใช้ในขั้นตอนการทำแหนมต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.2.3 การยับยั้งการเจริญของ *S.* Rissen ในระหว่างการหมักแหนมโดยใช้น้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตท

ทำการผลิตแหนมที่มีส่วนผสมดังนี้ เนื้อหมู (ผ่านการแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง) ร้อยละ 67.14 หนังหมูร้อยละ 91.44 ผงกระเทียมร้อยละ 4.4 เกลือร้อยละ 2.02 โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตร้อยละ 0.2 ผงชูรสร้อยละ 0.17 ผงเพรคร้อยละ 0.14 เดกซ์โตสร้อยละ 3.09 ซูโครสร้อยละ 0.34 แลคโตสร้อยละ 2 และกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่ได้จากการเตรียมในข้อ 3.2.2.2 ร้อยละ 0.18 การทดลองนี้แบ่งออกเป็น 6 ชุด คือ ชุดที่ 1) แหนมชุดควบคุม(ไม่เติมน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศและโซเดียมแลคเตท)ชุดที่ 2) แหนมที่เติมน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศ (อัตราส่วนดังข้อ 3.2.1.3) ชุดที่ 3) แหนมที่เติมโซเดียมแลคเตทร้อยละ 1 ชุดที่ 4) แหนมที่เติมโซเดียมแลคเตทร้อยละ 2 ชุดที่ 5) แหนมที่เติมน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศ (สูตรเดียวกับชุดที่ 2) และโซเดียมแลคเตทร้อยละ 1 ชุดที่ 6) แหนมที่เติมน้ำมันเครื่องเทศผสม (สูตรเดียวกับชุดที่ 2) และโซเดียมแลคเตทร้อยละ 2

จากนั้นทำการแบ่งแหนมในแต่ละชุดเป็น 2 ส่วน โดยแหนมส่วนที่ 1 ของทุกชุด นำมาเติมสารแขวนลอยของเซลล์ที่ผ่านการแช่แข็งของ *S.* Rissen ผสม ที่เตรียมไว้ในข้อ 3.2.2.1 และส่วนที่ 2 ของทุกชุด นำมาเติมเซลล์ปกติ (เซลล์ของ *S.* Rissen ผสมที่ไม่ผ่านการแช่แข็ง) ซึ่งเตรียมไว้ในข้อ 3.2.2.1 ตามวิธีการของ Jung และ Beuchat (1999) นำตัวอย่างแหนมทั้งหมดไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำการวัดค่าพีเอชและค่า a_w ของแหนม วิเคราะห์หาปริมาณกรดทั้งหมด ตามวิธีการ AOAC (2000) ตรวจนับจำนวนเซลล์ของ *S.* Rissen ที่มีชีวิตด้วยเทคนิค spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MacConkey Agar และตรวจนับจำนวนเซลล์ของแบคทีเรียแลคติก ด้วยเทคนิค pour plate ในอาหาร MRS ในวันที่ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ของการหมัก ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

3.2.3 การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ

การทดลองในข้อ 3.2.1.3 และข้อ 3.2.2.3 วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) และนำผลการทดลองทั้ง 3 ซ้ำ มาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้วิธี Duncan Multiple Range Test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและอภิปรายผล

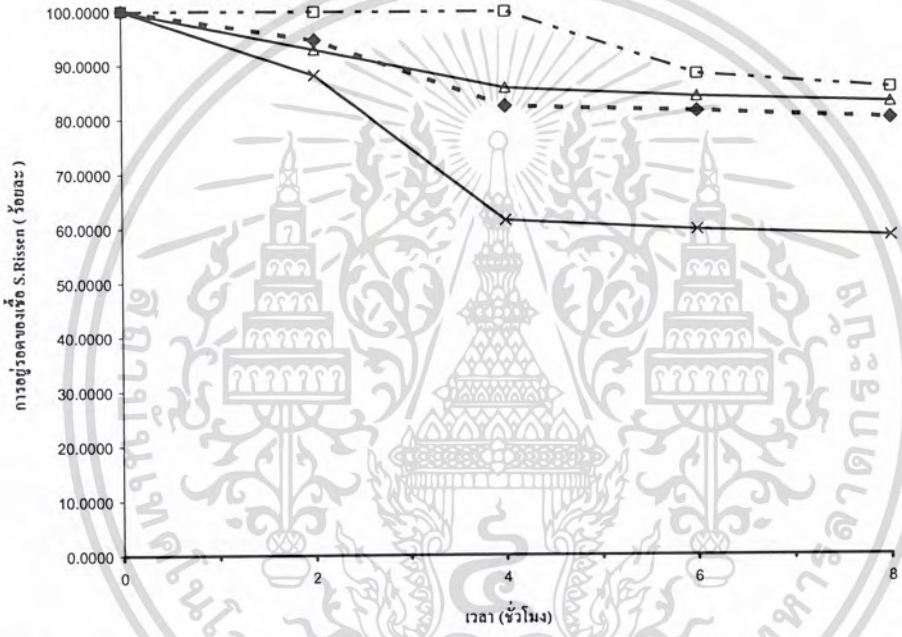
4.1 ผลของการใช้น้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการอยู่รอดของเชื้อ *S.* Rissen ในอาหารเหลว

จากการทดลองเปรียบเทียบการอยู่รอดของเชื้อ *S.* Rissen ในอาหาร NMB ที่เติมสารยับยั้งต่างกัน (ภาพที่ 7) พบว่าหลังจากการบ่ม 2 ชั่วโมง จำนวนเชื้อ *S.* Rissen ในอาหาร NMB ชุดที่ 1 ที่มีน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศ (กระเทียมร้อยละ 0.468 กานพลูร้อยละ 0.012 และดอกจันทน์ร้อยละ 0.015 โดยน้ำหนัก) ชุดที่ 2 (มีสารละลายโซเดียมแลคเตทร้อยละ 2.5) ชุดที่ 3 (มีสารละลายโซเดียมแลคเตทร้อยละ 2.5 และน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศตามสูตรเดียวกับชุดที่ 2) และชุดที่ 4 (ชุดควบคุม)มีจำนวนการอยู่รอดลดลงเพียงเล็กน้อย เมื่อทำการบ่มจนถึงชั่วโมงที่ 4 มีจำนวนการอยู่รอดของ *S.* Rissen ในอาหารชุดที่ 3 ลดลงมากที่สุดโดยลดลงมากกว่าชุดที่ 1 ชุดที่ 2 และชุดที่ 4 คิดเป็นร้อยละ 38.4 , 24.3 และ 21.0 ตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) จากนั้นเมื่อบ่มต่อไปจนครบ 8 ชั่วโมงจำนวนการอยู่รอดของ *S.* Rissen ในชุดที่ 1, 2, 3 และ 4 จะมีค่าลดลงเล็กน้อย โดยมีจำนวนการอยู่รอดเป็นร้อยละ 85.7, 83.1, 58.5 และ 80.1 ตามลำดับ แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)ระหว่างจำนวนการอยู่รอดของ *S.* Rissen ในชุดที่ 1, 2 และ 4 แต่ในชุดที่ 3 ยังคงมีจำนวนการอยู่รอดของ *S.* Rissen ต่ำที่สุด โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองอีกทั้ง 3 ชุด ดังนั้นระยะเวลา 4 ชั่วโมงจึงเป็นช่วงเวลาที่เหมาะสมในการสัมผัสกันของสารยับยั้งกับเชื้อ *Salmonella*

จากการที่อาหาร NMBที่เติมโซเดียมแลคเตทมีผลทำให้ *S.* Rissen ลดลงมากกว่าชุดควบคุม อาจเนื่องมาจากโซเดียมแลคเตทเป็นกรดอ่อนที่ชอบไขมัน จึงสามารถแพร่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ในรูปของกรดที่ไม่แตกตัว ซึ่งกรดที่แพร่เข้าเซลล์นี้จะไปแตกตัวภายในเซลล์ในรูปของโปรตอนโดยอาศัยตัวพาและคุณสมบัติของเยื่อหุ้มเซลล์ในการนำพากรดเข้าไปภายในเซลล์ ถ้าพีเอชภายนอกเซลล์มีค่าต่ำกว่าภายในเซลล์ กรดจะสามารถแตกตัวปล่อยโปรตอนเข้าไปยังไซโทรพลาซึมโดยทั่วไปเซลล์ของจุลินทรีย์จะพยายามทำให้พีเอชภายในเซลล์คงที่โดยการขจัดโปรตอนออกไป ซึ่งจะต้องอาศัยพลังงานมากในการทำให้พีเอชคงที่ จึงมีผลทำให้อัตราการเจริญของจุลินทรีย์ลดลง โดยโปรตอนที่แพร่กระจายเข้ามาในเซลล์จะรบกวนหน้าที่การทำงานของเซลล์ เช่น การขนส่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรดอะมิโน (Shelef, 1994) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Mbandi และ Shelef (2001) ซึ่งได้ทำการทดลองพบว่า โซเดียมแลคเตทร้อยละ 1.8 สามารถลดอัตราการเจริญของ *L. monocytogenes* และ *S.* Enteritidis นอกจากนี้ Schlyter และคณะ (1983) รายงานว่า การใช้โซเดียมแลคเตทความเข้มข้นร้อยละ 2.5 ร่วมกับโซเดียมไดอะซิเตทร้อยละ 0.1 จะสามารถลดปริมาณเชื้อ *L. monocytogenes* ในอาหารที่ผลิตจากเนื้อไก่งวง เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 42 วัน



ภาพที่ 7 ผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศและโซเดียมแลคเตทต่อการอยู่รอดของเชื้อ *S.* Rissen ในอาหาร NMB ชุดที่ 1 (□) ที่มีน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศ, ชุดที่ 2 (Δ) ที่มีโซเดียมแลคเตทร้อยละ 2.5, ชุดที่ 3 (×) ที่มีน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศและโซเดียมแลคเตทร้อยละ 2.5 และชุดที่ 4 (◆) เป็นชุดควบคุมซึ่งไม่มีการเติมสารใดๆ นอกจากสูตรของอาหาร

จากการที่นำน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียม กานพลูและดอกจันทน์มาทดลองใช้ยับยั้ง *S.* Rissen ก็เนื่องมาจากมีรายงานว่า ในน้ำมันหอมระเหยของกระเทียมประกอบด้วยสารที่มีบทบาทสำคัญในการยับยั้งจุลินทรีย์ ได้แก่ allicin เนื่องจากสารนี้สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จุลินทรีย์ผลิตขึ้นมาได้ เอนไซม์เหล่านี้เกี่ยวข้องกับขบวนการหายใจหรือการเจริญของเซลล์ เป็นผลให้จุลินทรีย์ถูกทำลาย(บัญญัติ, 2527) Ceylan และคณะ (1989) พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมสามารถลดจำนวนของ *E. coli* 0157:H7 ในผลิตภัณฑ์เนื้อบด

นอกจากนี้น้ำมันหอมระเหยของกานพลู ประกอบด้วยสารที่มีบทบาทสำคัญในการยับยั้งจุลินทรีย์ ได้แก่ eugenol ในดอกกานพลูมีน้ำมันหอมระเหยร้อยละ17 ซึ่งประกอบด้วย eugenol ร้อยละ 93-95 ซึ่ง eugenol เป็นสารประกอบที่เป็นอนุพันธุ์ของฟีนอล สารประกอบประเภทนี้จะไปขัดขวางกระบวนการสร้างไขมันที่เยื่อหุ้มเซลล์ มีผลทำให้เกิดความไม่สมดุลภายในและภายนอกเซลล์ ทำให้เซลล์แตก ทั้งนี้ยังขัดขวางการทำงานของเอนไซม์โดยทำให้โปรตีนอื่นๆเสียสภาพไป เซลล์จึงถูกทำลาย (บัญญัติ, 2527) Martiez และคณะ (1974) ได้ศึกษาการใช้ใบกระวานและกานพลูในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ พบว่าน้ำมันหอมระเหยของใบกระวานและกานพลูสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวก แกรมลบและเชื้อรา นอกจากนี้ในน้ำมันหอมระเหยของดอกจันทน์ประกอบด้วยสารเคมีที่มีบทบาทสำคัญในการยับยั้งจุลินทรีย์ ได้แก่ α- pinene, α- terpineol, geraniol และ linalool เนื่องจากสารนี้สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่จุลินทรีย์ผลิตขึ้นมาได้จึงเป็นผลให้จุลินทรีย์ถูกทำลาย (บัญญัติ, 2527) Katayama และคณะ (1959) ได้นำสารเคมีจากดอกจันทน์มาทดสอบคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์เหล่านี้ได้ คือ *B. subtilis, E. coli, Proteus morganii, S.* Enteritidis และ *S. aureus*

4.2 ผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการยับยั้งการเจริญของ *S.* Rissen ในระหว่างการหมักแหนม

4.2.1 การเปลี่ยนแปลงของ *S.* Rissen ในระหว่างการหมักแหนม

จากการทดลองเปรียบเทียบการอยู่รอดของเชื้อ *S.* Rissen ในระหว่างการหมักแหนม (ตารางที่ 2) พบว่าจำนวนการอยู่รอดของ *S.* Rissen ที่ไม่ผ่านการแช่แข็งในแหนมชุดที่ 5 (เติมน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศและโซเดียมแลคเตทร้อยละ 1) และชุดที่ 6 (เติมน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศและโซเดียมแลคเตทร้อยละ 2) ลดลงเหลือน้อยกว่าร้อยละ 0.01 หลังจากการบ่ม 1 วัน โดยพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับแหนมชุดอื่นๆ ซึ่งจำนวนการอยู่รอดของเชื้อในแหนมชุดที่ 4 (เติมโซเดียมแลคเตท) มีค่าน้อยที่สุด คือ ร้อยละ 17.28 หรือ มีจำนวนเซลล์ลดลง คิดเป็น 0.8 log cycle และพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$) กับแหนมชุดที่ 1 (ชุดควบคุม) ชุดที่ 2 (เติมน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศ) และชุดที่ 3 (เติมโซเดียมแลคเตทร้อยละ 1) ซึ่งมีจำนวนการอยู่รอดของเชื้อ คือ ร้อยละ 34.15, 44.83 และ 29.24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตามลำดับ หรือมีจำนวนเซลล์ลดลง 0.70, 0.60 และ 0.70 log cycle ตามลำดับ โดยไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) จากนั้นเมื่อทำการบ่มจนถึงวันที่ 2 จำนวนการอยู่รอดของ *S.* Rissen ที่ไม่ผ่านการแช่แข็งในแหนมชุดที่ 4 ยังคงมีค่าน้อยที่สุด คือ ร้อยละ 0.5 หรือมีจำนวนเซลล์ลดลง 0.99 log cycle และพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับแหนมชุด 1, 2 และ 3 ซึ่งมีจำนวนการอยู่รอดของเซลล์ใกล้เคียงกัน คือ ร้อยละ1.67, 1.69 และ 1.62 ตามลำดับ หรือมีจำนวนเซลล์ลดลง 0.97 log cycle ในแหนมแต่ละชุด และไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) จำนวนการอยู่รอดของ *S.* Rissen ในแหนมชุดที่ 2, 3 และ 4 ลดลงเหลือน้อยกว่าร้อยละ 0.01 ในการบ่มวันที่ 3 ในขณะที่แหนมชุดที่ 1 ซึ่งเป็นชุดควบคุม ยังคงมีจำนวนการอยู่รอดของเชื้ออยู่เล็กน้อย คือ ร้อยละ1.24 และพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) การลดลงของเชื้อ *S.* Rissenในแหนมชุดที่ 1 เหลือน้อยกว่าร้อยละ 0.01 หลังจากทำการบ่ม 4 วัน ส่วนจำนวนการอยู่รอดของ *S.* Rissen ที่ผ่านการแช่แข็งในแหนมชุดที่ 3, 4, 5 และ 6 เหลือน้อยกว่าร้อยละ 0.01 หลังจากทำการบ่ม 1 วัน และไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) จำนวนการอยู่รอดของเชื้อในแหนมชุดที่ 1 และ 2 คือ ร้อยละ 13.44 และ 22.06 หรือ มีจำนวนเซลล์ลดลง 0.84 log cycle และ 0.78 log cycle ตามลำดับ โดยพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) หลังจากทำการบ่ม 2 วันจำนวนการอยู่รอดของ เชื้อในแหนมชุดที่ 1 มีค่าน้อยที่สุด คือ ร้อยละ 0.93 หรือ มีจำนวนเซลล์ลดลง 0.99 log cycle โดยพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทางสถิติ ($P < 0.05$) กับแหนมชุดที่ 2 ซึ่งมีจำนวนการอยู่รอดของเชื้อร้อยละ 1.26 หรือมีจำนวนเซลล์ลดลง 0.98 log cycle จากการทดลองจะเห็นได้ว่า การอยู่รอดของเชื้อ *S.* Rissen ที่ผ่านการแช่แข็งและไม่ผ่านการแช่แข็งในแหนมชุดที่ 5 และ6 ที่มีความเข้มข้นของโซเดียมแลคเตทแตกต่างกัน คือ ร้อยละ 1 และร้อยละ 2 ตามลำดับ ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ระหว่างแหนมทั้ง 2 ชุด

จากการเปรียบเทียบจำนวนการอยู่รอดของเชื้อ *S.* Rissen ที่ผ่านการแช่แข็งและไม่ผ่านการแช่แข็งในระหว่างการหมักแหนม พบว่าการอยู่รอดของ *S.* Rissen ที่ไม่ผ่านการแช่แข็งมีความแตกต่างกับการอยู่รอดของ *S.* Rissen ที่ผ่านการแช่แข็งในแหนมชุดที่ 1, 2, 3 และ 4 เมื่อหมักนาน 1, 2 และ 3 วัน *S.* Rissen ในแหนมแต่ละชุดที่ผ่านการแช่แข็งมีจำนวนการอยู่รอดน้อยกว่า *S.* Rissen ที่ไม่ผ่านการแช่แข็ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 ผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการอยู่รอดของเชื้อ *S.* Rissen ที่ไม่ผ่านการแช่แข็งและผ่านการแช่แข็งในระหว่างการหมักแหนม

เวลา (วัน)	จำนวนการอยู่รอด (ร้อยละ ± SD) [a]					
	ชุดที่ 1[b]	ชุดที่ 2[c]	ชุดที่ 3[d]	ชุดที่ 4[e]	ชุดที่ 5[f]	ชุดที่ 6[g]
เซลล์ที่ไม่ผ่านการแช่แข็ง						
0	100.00±0.00A	100.00±0.00A	100.00±0.00A	100.00±0.00A	100.00±0.00A	100.00±0.00A
1	34.16±9.25A	44.83±6.97A	29.25±6.69AB	17.18±2.63B	<0.01±0.0C[h]	<0.01±0.0C
2	1.67±0.92A	1.69±0.34A	1.63±0.33A	0.55±0.95B	<0.01±0.0B	<0.01±0.0B
3	1.24±1.24A	<0.01±0.0B	<0.01±0.0B	<0.01±0.0B	<0.01±0.0B	<0.01±0.0B
4	<0.01±0.0A	<0.01±0.0A	<0.01±0.0A	<0.01±0.0A	<0.01±0.0A	<0.01±0.0A
5	<0.01±0.0A	<0.01±0.0A	<0.01±0.0A	<0.01±0.0A	<0.01±0.0A	<0.01±0.0A
เซลล์ที่ผ่านการแช่แข็ง						
0	100.00±0.00A	100.00±0.00A	100.00±0.00A	100.00±0.00A	100.00±0.00A	100.00±0.00A
1	31.44±9.23A	22.06±1.04B	<0.01±0.0C	<0.01±0.0C	<0.01±0.0C	<0.01±0.0C
2	0.93±0.19A	1.26±0.22B	<0.01±0.0C	<0.01±0.0C	<0.01±0.0C	<0.01±0.0C
3	<0.01±0.7A	<0.01±0.0A	<0.01±0.0A	<0.01±0.0A	<0.01±0.0A	<0.01±0.0A
4	<0.01±0.0A	<0.01±0.0A	<0.01±0.0A	<0.01±0.0A	<0.01±0.0A	<0.01±0.0A
5	<0.01±0.0A	<0.01±0.0A	<0.01±0.0A	<0.01±0.0A	<0.01±0.0A	<0.01±0.0A

[a] ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการอยู่รอดของเชื้อ *S.* Rissen

[b] แหนมที่ไม่เติมส่วนผสมอื่นๆ นอกเหนือจากการหมักแหนม

[c] แหนมที่เติมน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศ

[d] แหนมที่เติมโซเดียมแลคเตทร้อยละ 1

[e] แหนมที่เติมโซเดียมแลคเตทร้อยละ 2

[f] แหนมที่เติมน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศและโซเดียมแลคเตทร้อยละ 1

[g] แหนมที่เติมน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศและโซเดียมแลคเตทร้อยละ 2

[h] ตรวจไม่พบการอยู่รอดของเชื้อ *S.* Rissen

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 การเปลี่ยนแปลงจำนวนแบคทีเรีย ปริมาณกรดทั้งหมด พีเอชและค่า water activity (a_w) ในระหว่างการหมักแหนม

ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงจำนวนแบคทีเรียแลคติกในแหนมที่มีเชื้อ *S.* Rissen ที่ไม่ ผ่านการแช่แข็งและผ่านการแช่แข็ง (ตารางที่ 3) พบว่าจำนวนแบคทีเรียแลคติกในแหนมที่มีเชื้อ *S.* Rissen ที่ไม่ผ่านการแช่แข็งทั้ง 6 ชุดมีค่าใกล้เคียงกัน ในช่วงเวลาเริ่มต้นมีจำนวนแบคทีเรียแลคติก อยู่ในช่วง 6.72-6.76 Log CFUต่อกรัม และเพิ่มขึ้นเล็กน้อยหลังหมัก 1 วันและจำนวนแบคทีเรียแลคติกทั้ง 6 ชุด มีค่าเพิ่มขึ้นประมาณ 1 Log cycle เมื่อหมักเป็นเวลา 3 วันซึ่งจำนวนแบคทีเรียแลคติกมีค่าใกล้เคียงกันอยู่ในช่วง 7.72-7.76 Log CFUต่อกรัม จากนั้นจำนวนแบคทีเรียแลคติกเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในวันที่ 4 ของการหมักโดยเพิ่มขึ้นจากวันที่ 3 ระหว่าง 1.28-1.31 Log cycle โดยพบว่าในชุดที่ 6 ซึ่งเติมน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศและโซเดียมแลคเตทร้อยละ 1 มีจำนวนแบคทีเรียแลคติกเพิ่มขึ้นสูงสุดประมาณ 1.31 Log cycle และเมื่อหมักครบ 5 วันจำนวนแบคทีเรียแลคติกทั้ง 6 ชุด เพิ่มขึ้นเล็กน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับวันที่ 4 อย่างไรก็ตามจำนวนแบคทีเรียแลคติกแต่ละชุดของแต่ละช่วงการหมัก ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) สำหรับจำนวนแบคทีเรียแลคติกในแหนมที่มีเชื้อ *S.* Rissen ที่ผ่านการแช่แข็งมีค่าใกล้เคียงกัน พบว่ารูปแบบการเจริญของแบคทีเรียแลคติกในแหนมที่มีเชื้อ *S.* Rissen ที่ผ่านการแช่แข็งคล้ายกับที่ไม่ผ่านการแช่แข็ง พบว่าในช่วงเวลาเริ่มต้นมีจำนวนแบคทีเรียแลคติกอยู่ในช่วง 6.72-6.81 Log CFU ต่อกรัม และเพิ่มขึ้นเป็น9.04-9.07 Log CFUต่อกรัม หลังหมักครบ 5 วัน อย่างไรก็ตาม จำนวนแบคทีเรียแลคติกแต่ละชุดของแต่ละช่วงการหมักส่วนใหญ่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($P > 0.05$) เช่นเดียวกับจำนวนแบคทีเรียแลคติกในแหนมที่มีเชื้อ *S.* Rissen ที่ไม่ผ่านการแช่แข็ง

ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดและค่าพีเอช ในแหนมที่หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 4 และ ตารางที่ 5 ตามลำดับ) พบว่าในแหนมทุกชุดมีปริมาณกรดเพิ่มขึ้นและค่าพีเอชลดลง เมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้น โดยปริมาณกรดและค่าพีเอชในทุกช่วงเวลาที่ตรวจสอบของแหนมทุกชุด ส่วนใหญ่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อหมักจนครบ 5 วัน ปริมาณกรดในแหนมทุกชุดเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 0.19 – 0.24 เป็นร้อยละ 0.82 – 0.91 ค่าพีเอชลดลงจาก 6.74 – 7.19 เป็น 4.32 – 4.45 โดยเฉพาะในแหนมชุดที่ 1 ซึ่งเป็นชุดควบคุมมีปริมาณกรดร้อยละ 0.91 สูงกว่าแหนมชุดอื่นๆ และค่าพีเอชมีค่าต่ำสุด (4.32)

ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของค่าa_w (ตารางที่ 6) พบว่าในแหนมทุกชุดมีค่า a_w เพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้น ซึ่งค่า a_w ที่ได้ของแหนมทุกชุดที่วัดในช่วงเวลาต่างๆ ส่วนใหญ่มีค่าใกล้เคียงกันและไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P> 0.05$) ยกเว้นที่เวลา 4 วัน เมื่อหมักครบ 5 วันค่า a_wของแหนมทุกชุด เพิ่มขึ้นจาก 0.91–0.92 เป็น 0.97–0.98 จากการทดลองพบว่าค่า a_w

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น

เพิ่มขึ้นเมื่อหมักเป็นระยะเวลานานขึ้นเป็นผลจากผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมักซึ่งทำให้เกิดปริมาณน้ำและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มขึ้น

จากผลการศึกษาพบว่าจำนวนแบคทีเรียแลคติก ปริมาณกรดและพีเอชมีความสัมพันธ์กันเมื่อหมักระยะเวลานานขึ้น เนื่องจากเมื่อจำนวนแบคทีเรียแลคติกเพิ่มจำนวนมากขึ้น ปริมาณกรดก็เพิ่มมากขึ้นด้วยและพีเอชมีค่าลดลง การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้มีผลมาจากปฏิกิริยาการหมักที่เกิดขึ้นโดยแบคทีเรียแลคติกที่เติมลงไป Genigeorgis (1976) ได้กล่าวว่า กรดแลคติกเป็นผลิตภัณฑ์หลักที่ได้จากแบคทีเรียแลคติกในระหว่างการหมัก ซึ่งมีความสำคัญในการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชและสามารถต่อต้านจุลินทรีย์หลายชนิด

สารยับยั้งของโซเดียมแลคเตทและน้ำมันหอมระเหยอาจมีผลต่อปฏิกิริยาของเอนไซม์และการสังเคราะห์โปรตีนภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ นอกจากนี้สารยับยั้งดังกล่าวอาจเข้าไปกระทำต่อผนังเซลล์และเยื่อหุ้มเซลล์ โดยอาจทำให้โครงสร้างของผนังเซลล์และเยื่อหุ้มเซลล์เปลี่ยนแปลงไป ทั้งนี้อาจทำให้การขนส่งสารต่างๆภายในเซลล์ เช่น สารอาหารและกรดอะมิโนเปลี่ยนแปลงไปด้วย (Luck และ Jager, 1997)

การที่น้ำมันหอมระเหยจากกานพลู ดอกจันทน์ และกระเทียม ประกอบด้วยสารต้านจุลินทรีย์ดังกล่าว จึงได้มีผู้นำน้ำมันหอมระเหยจากเครื่องเทศมาใช้ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหาร ซึ่งได้เคยมีผู้ทดลองไว้ ดังเช่น รายงานของ Skandamis และ Nychas (2001) ได้ใช้น้ำมันหอมระเหยจากกานพลู ออริกาโน่ และไทม์ ในปริมาณ 5-20 µl ต่อกรัม สำหรับยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* และแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสีย ซึ่งปนเปื้อนบนผิวของผลิตภัณฑ์ประเภทเนื้อ นอกจากนี้ Kosker และคณะ (1949) ได้รายงานการใช้น้ำมันหอมระเหยจากเครื่องเทศ เช่น กระเทียม กานพลู ไทม์ และอบเชย ปริมาณ 11-22 ppm ในการยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ประเภทเนื้อ Nanasombat และ Lohasupthawee (2005) ได้ทำการทดลองใช้เครื่องเทศไทย 14 ชนิด ในการยับยั้งการเจริญของ *Salmonella* 20 ซีโรวาร์ พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากกานพลูสามารถยับยั้งการเจริญของ *S.* Typhimurium ได้ดีที่สุด ในขณะที่ *S.* Derby และ *S.* Rissen สามารถต่อต้านฤทธิ์ยับยั้งของสารสกัดได้ดีที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 ผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการเจริญของแบคทีเรียแลคติก ในระหว่างการหมักแหนมชุดที่มีเชื้อ *S.* Rissen ที่ไม่ผ่านการแช่เย็งและผ่านการแช่เย็ง

เวลา (วัน)	จำนวนแบคทีเรียแลคติก (log CFU/g ± SD) [a]					
	ชุดที่ 1[b]	ชุดที่ 2[c]	ชุดที่ 3[d]	ชุดที่ 4[e]	ชุดที่ 5[f]	ชุดที่ 6[g]
<u>เซลล์ที่ไม่ผ่านการแช่เย็ง</u>						
0	6.74±0.04A	6.72±0.05A	6.74±0.05A	6.73±0.02A	6.76±0.01A	6.75±0.03A
1	7.34±0.09A	7.36±0.05A	7.36±0.05A	7.23±0.07A	7.34±0.09A	7.32±0.11A
2	7.64±0.10A	7.59±0.11A	7.62±0.10A	7.61±0.11A	7.61±0.09A	7.58±0.10A
3	7.72±0.10A	7.76±0.08A	7.72±0.10A	7.72±0.15A	7.72±0.11A	7.73±0.12A
4	9.00±0.03A	9.04±0.08A	8.98±0.02A	9.00±0.06A	9.00±0.06A	9.04±0.12A
5	9.04±0.10A	9.04±0.08A	9.04±0.10A	9.04±0.12A	9.04±0.10A	9.07±0.09A
<u>เซลล์ที่ผ่านการแช่เย็ง</u>						
0	6.75±0.04A	6.72±0.05A	6.81±0.11A	6.74±0.01A	6.77±0.02A	6.73±0.03A
1	7.38±0.06A	7.32±0.08A	7.40±0.08A	7.38±0.10A	7.36±0.10A	7.38±0.13A
2	7.61±0.10AB	7.62±0.09A	7.64±0.09A	7.58±0.12B	7.62±0.08A	7.61±0.09AB
3	7.76±0.13A	7.73±0.19A	7.73±0.07A	7.73±0.12A	7.75±0.09A	7.74±0.12A
4	9.00±0.06A	9.00±0.06A	8.99±0.02A	9.00±0.03A	9.04±0.09A	9.04±0.10A
5	9.07±0.12A	9.04±0.07A	9.04±0.10A	9.07±0.11A	9.04±0.10A	9.04±0.09A

[a] ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของจำนวนแบคทีเรียแลคติก

[b] แหนมที่ไม่เติมส่วนผสมอื่นๆ นอกเหนือจากการหมักแหนม

[c] แหนมที่เติมน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศ

[d] แหนมที่เติมโซเดียมแลคเตทร้อยละ 1

[e] แหนมที่เติมโซเดียมแลคเตทร้อยละ 2

[f] แหนมที่เติมน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศและโซเดียมแลคเตทร้อยละ 1

[g] แหนมที่เติมน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศและโซเดียมแลคเตทร้อยละ 2

[h] ตรวจไม่พบการอยู่รอดของเชื้อ *S.* Rissen

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 ผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของกรดแลคติกในระหว่างการหมักแหนม

เวลา (วัน)	ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละ ± SD)[a]					
	ชุดที่ 1[b]	ชุดที่ 2[c]	ชุดที่ 3[d]	ชุดที่ 4[e]	ชุดที่ 5[f]	ชุดที่ 6[g]
0	0.20±0.01A	0.24±0.01B	0.19±0.01C	0.20±0.00D	0.19±0.00E	0.19±0.02F
1	0.31±0.00B	0.36±0.02A	0.33±0.00AB	0.31±0.00B	0.31±0.01B	0.33±0.00AB
2	0.56±0.00A	0.56±0.00B	0.50±0.00C	0.51±0.01D	0.54±0.00E	0.53±0.00F
3	0.72±0.04A	0.68±0.04A	0.67±0.11A	0.61±0.10A	0.61±0.12A	0.62±0.15A
4	0.86±0.01A	0.74±0.04A	0.82±0.03A	0.87±0.04A	0.83±0.06A	0.82±0.05A
5	0.91±0.10A	0.87±0.10AB	0.82±0.02B	0.88±0.12AB	0.88±0.10AB	0.88±0.10AB

[a] ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของปริมาณกรดแลคติก

[b] แหนมที่ไม่เติมส่วนผสมอื่นๆ นอกเหนือจากการหมักแหนม

[c] แหนมที่เติมน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศ

[d] แหนมที่เติมโซเดียมแลคเตทร้อยละ 1

[e] แหนมที่เติมโซเดียมแลคเตทร้อยละ 2

[f] แหนมที่เติมน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศและโซเดียมแลคเตทร้อยละ 1

[g] แหนมที่เติมน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศและโซเดียมแลคเตทร้อยละ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 ผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชในระหว่างการหมักแหนม

เวลา (วัน)	ค่าพีเอช (± SD)[a]					
	ชุดที่ 1[b]	ชุดที่ 2[c]	ชุดที่ 3[d]	ชุดที่ 4[e]	ชุดที่ 5[f]	ชุดที่ 6[g]
0	7.04±0.08A	7.19±0.19A	6.99±0.03A	7.01±0.11A	7.03±0.23A	6.74±0.60A
1	5.80±0.52A	5.86±0.48A	6.14±0.18A	6.21±0.18A	6.06±0.08A	5.87±0.29A
2	4.96±0.10A	5.03±0.07A	5.25±0.24A	5.00±0.11A	5.25±0.44A	5.08±0.60A
3	4.63±0.11B	4.64±0.08B	4.85±0.25A	4.67±0.13AB	4.83±0.28AB	4.79±0.23AB
4	4.48±0.09B	4.44±0.13B	4.62±0.15AB	4.53±0.11AB	4.63±0.14A	4.54±0.17AB
5	4.32±0.09A	4.43±0.12A	4.45±0.12A	4.42±0.16A	4.43±0.17A	4.40±0.19A

[a] ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของพีเอช

[b] แหนมที่ไม่เติมส่วนผสมอื่นๆ นอกเหนือจากการหมักแหนม

[c] แหนมที่เติมน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศ

[d] แหนมที่เติมโซเดียมแลคเตทร้อยละ 1

[e] แหนมที่เติมโซเดียมแลคเตทร้อยละ 2

[f] แหนมที่เติมน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศและโซเดียมแลคเตทร้อยละ 1

[g] แหนมที่เติมน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศและโซเดียมแลคเตทร้อยละ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 ผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการเปลี่ยนแปลงของค่า Water Activity (a_w)ในระหว่างการหมักแหนม

เวลา (วัน)	a_w (± SD)[a]					
	ชุดที่ 1[b]	ชุดที่ 2[c]	ชุดที่ 3[d]	ชุดที่ 4[e]	ชุดที่ 5[f]	ชุดที่ 6[g]
0	0.92±0.00A	0.91±0.00A	0.92±0.00A	0.91±0.01A	0.92±0.01A	0.91±0.00A
1	0.93±0.00A	0.92±0.00A	0.92±0.00A	0.92±0.01A	0.93±0.00A	0.92±0.00A
2	0.93±0.00A	0.93±0.01A	0.93±0.00A	0.93±0.01A	0.94±0.01A	0.93±0.00A
3	0.94±0.00A	0.94±0.01A	0.94±0.00A	0.94±0.01A	0.94±0.00A	0.94±0.00A
4	0.96±0.01A	0.96±0.01A	0.96±0.00B	0.96±0.01B	0.96±0.01AB	0.97±0.01A
5	0.97±0.01A	0.97±0.00A	0.98±0.01A	0.98±0.01A	0.97±0.01A	0.98±0.01A

[a] ค่าเฉลี่ยของ a_w

[b] แหนมที่ไม่เติมส่วนผสมอื่นๆ นอกเหนือจากการหมักแหนม

[c] แหนมที่เติมน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศ

[d] แหนมที่เติมโซเดียมแลคเตทร้อยละ 1

[e] แหนมที่เติมโซเดียมแลคเตทร้อยละ 2

[f] แหนมที่เติมน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศและโซเดียมแลคเตทร้อยละ 1

[g] แหนมที่เติมน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศและโซเดียมแลคเตทร้อยละ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การที่แหนมที่เติมน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตท มีผลทำให้จำนวนเชื้อ *S.* Rissen ลดลงมากกว่าแหนมที่เติมน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศหรือโซเดียมแลคเตทเพียงอย่างใดอย่างหนึ่ง อาจเนื่องมาจากผลของการเสริมฤทธิ์กันของสารยับยั้งทั้ง 2 ชนิด การเสริมฤทธิ์กันของสารยับยั้งในการทำให้จำนวนจุลินทรีย์ลดลงได้มีผู้รายงานไว้ คือ Sabah และคณะ (2004) ได้ทดลองใช้กรดอินทรีย์ร่วมกับเครื่องเทศ เช่น พริก กระเทียม ออริกาโน่ และกานพลู ในการยับยั้ง *C. perfringens* ในเนื้อวัวบดสุก ผลการทดลองพบว่าจำนวนสปอร์ที่มีชีวิตมีน้อยกว่า 1 log spore ต่อกรัม จากปริมาณเริ่มต้น 2 log spore ต่อกรัม ในขณะที่การยับยั้งโดยใช้สารตัวใดตัวหนึ่งจะมีจำนวนสปอร์ที่มีชีวิต 1.4 log spore ต่อกรัม นอกจากนี้ Yuste และ Fung (2004) พบว่าการใช้ไนซินร่วมกับอบเชย สามารถยับยั้งการเจริญของ *S.* Typhimurium และ *E. coli* 0157 : H7 ในการเก็บรักษาน้ำแอ๊ปเปิ้ลที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียสโดยสารทั้งสองชนิดช่วยให้เซลล์ที่บาดเจ็บจากกรดในน้ำผลไม้ไม่สามารถฟื้นตัวได้และเป็นตัวเร่งการตายของเซลล์ นอกจากนี้ Mbandi และ Shelef (2001) พบว่า การใช้โซเดียมแลคเตทร้อยละ 2.5ร่วมกับโซเดียมไดอะซิเตทร้อยละ 0.2 สามารถยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* และ *S.* Enteritidis หลังจากการเก็บที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20วัน

อย่างไรก็ตามสาเหตุของการลดจำนวนลงของ *S.* Rissenในแหนมที่ผลิตขึ้นในการทดลองอาจไม่ใช่ผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศเพียงสองชนิดและโซเดียมแลคเตทเท่านั้นแต่อาจเป็นผลของสารต่างๆ เช่น โซเดียมไนไตรต์ โซเดียมไนเตรท และโซเดียมคลอไรด์ ซึ่งใช้เป็นส่วนผสมในการหมักแหนม นอกจากนี้ยังรวมถึงผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักโดยแบคทีเรียแลคติก *L. plantarum* และ *P. acidilactici* ได้แก่ กรดแลคติก ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ แบคเทอริโอซิน กรดอินทรีย์ รวมทั้งสารยับยั้งชนิดอื่นๆ (Krockel, 1995)

ในการทดลองนี้ได้เปรียบเทียบการอยู่รอดของ *S.* Rissen ที่ผ่านการแช่แข็งและไม่ผ่านการแช่แข็งในระหว่างการหมักแหนมที่เติมสารยับยั้ง ได้แก่ น้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศและโซเดียมแลคเตท การที่ *S.* Rissenที่ผ่านการแช่แข็งอยู่รอดได้น้อยกว่า *S.* Rissenที่ไม่ผ่านการแช่แข็งในระหว่างการหมักอาจเนื่องมาจากเซลล์ที่ผ่านการแช่แข็งเกิดการบาดเจ็บและไม่สามารถอยู่รอดได้เมื่อเผชิญกับสภาพที่มีสารยับยั้งในระหว่างการหมัก ซึ่งมีผู้รายงานว่าการแช่แข็งและทำให้ละลายสามารถทำให้จุลินทรีย์หลายชนิด เช่น *E. coli, S.* Anatum, *S. lactis, Shigella sonnei, S. faecalis* และ *Pseudomonas fluorescens* เกิดการบาดเจ็บได้ (Busta, 1976)

จากการที่ *Salmonella* ส่วนใหญ่มักปนเปื้อนมากับเนื้อหมูสด ดังรายงานของ สุรีย์และคณะ (2545) ซึ่งได้ตรวจพบเชื้อ *Salmonella* ในเนื้อหมูทุกตัวอย่างที่นำมาตรวจสอบ โดยพบ *Salmonella* ทั้งหมด 18 ซีโรวาร์ และตรวจพบ *S.* Anatum มากที่สุดจากตัวอย่างอาหารที่สุ่มตรวจ นอกจากนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Escartin และคณะ (2000) ยังทำการแยกเชื้อ *Salmonella* ซึ่งปนเปื้อนมากับเนื้อหมูที่ใช้ในการทดลอง โดยพบว่าเชื้อ *Salmonella* จำนวน 10, 14 และ 29 ซีโรวาร์ ในเนื้อหมูที่นำมาทดลองในชุดที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ และพบ *S.* Agona มากที่สุด ทั้งนี้ยังได้ทำการสำรวจการอยู่รอดของเชื้อ *Salmonella* ที่ปนเปื้อนในเนื้อหมูแช่แข็งที่สุ่มตรวจจากซุปเปอร์มาร์เก็ตใน Guadalajara ประเทศเม็กซิโก พบว่าระหว่างการเก็บเนื้อหมูโดยการแช่แข็งในการทดลองที่ 1, 2 และ 3 จำนวนเชื้อ *Salmonella* ลดลงจาก 7.11 เป็น 1.6 MPNต่อกรัม 1500-9000 เป็น 2.5 MPNต่อกรัม และจาก 2000-20000 เป็น 20 MPNต่อกรัม หลังจากการเก็บเนื้อหมูแช่แข็งเป็นเวลา 22, 42 และ 78 สัปดาห์ ตามลำดับ ดังนั้นการนำเนื้อหมูสดที่มีเชื้อ *Salmonella* ปนเปื้อนอยู่มาแช่แข็งก่อนที่จะนำไปผลิตแหนมก็เป็นวิธีหนึ่งที่ช่วยลดจำนวนเชื้อ *Salmonella* เริ่มต้นลงได้

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาการอยู่รอดของ *S.* Rissen ในอาหาร NMB ที่เติมสารยับยั้งต่างๆกัน และบ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง จำนวนการอยู่รอดของเชื้อ *S.* Rissen จะลดลงเล็กน้อยในช่วงแรกจนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 4 จำนวนเชื้อ *S.* Rissenในอาหาร NMB ทุกชุดจะเริ่มลดลงมากขึ้น โดยจำนวนเชื้อ *S.* Rissen ในอาหาร NMBชุดที่ 3 (เติมน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศและโซเดียมแลคเตทร้อยละ 2.5) ลดลงมากที่สุดคิดเป็นร้อยละ 38.6 และเมื่อบ่มครบ 8 ชั่วโมง จำนวนเชื้อ *S.* Rissenในอาหาร NMB ทุกชุดมีจำนวนการอยู่รอดของเชื้อลดลงเล็กน้อย โดยในอาหารชุดที่ 3 ลดลงจากชั่วโมงที่ 4 คิดเป็นร้อยละ 3 ดังนั้นระยะเวลา 4 ชั่วโมงเป็นระยะเวลาที่เหมาะสมในการสัมผัสกันของสารยับยั้งและเชื้อ *S.* Rissen ในส่วนผสมที่ใช้หมักแหนม

การศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการยับยั้งการเจริญของ *S.* Rissen ในระหว่างการหมักแหนมได้เปรียบเทียบจำนวนการอยู่รอดของ *S.* Rissen ที่ไม่ผ่านการแช่แข็งและผ่านการแช่แข็งในแหนมที่มีสารยับยั้งต่างๆกัน พบว่าในแหนมชุดที่ 5 และ 6 ที่เติมน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทร้อยละ1และ 2 ตามลำดับ สามารถยับยั้งการเจริญของ *S.* Rissen ที่ไม่ผ่านการแช่แข็งและผ่านการแช่แข็งได้ดีที่สุด โดยไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)ระหว่างแหนมทั้งสองชุด ดังนั้นในการหมักแหนมควรจะใช้น้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทร้อยละ 1 เป็นสารยับยั้งการการเจริญของ *S.* Rissen ซึ่งมีปริมาณโซเดียมแลคเตทน้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *S.* Rissen ในระหว่างการหมักแหนมได้ดีที่สุดและการนำเนื้อหมูสดมาแช่แข็งก่อนการผลิต อาจช่วยลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* เริ่มต้นที่ปนเปื้อนในเนื้อหมูก่อนการหมักได้

นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณเชื้อ *S.* Rissen ที่ลดลงจะส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของจำนวนแบคทีเรียแลคติก ปริมาณกรดทั้งหมด พีเอชและค่า water activity ในระหว่างการหมักแหนมพบว่าเมื่อเชื้อ *S.* Rissen ลดลง จะทำให้เกิดการแข่งขันของจุลินทรีย์น้อยลง ทำให้แบคทีเรียแลคติกเพิ่มจำนวนมากขึ้น ปริมาณกรดก็เพิ่มมากขึ้นด้วยและพีเอชมีค่าลดลง ค่า water activity จะมีค่าเพิ่มมากขึ้น เมื่อหมักเป็นระยะเวลานานขึ้นพบว่า แหนมชุดที่ 1 ซึ่งเป็นชุดควบคุมจะมีปริมาณกรดสูงสุดและพีเอชต่ำสุด มีค่า 0.91และ4.32 ตามลำดับ แสดงว่าแบคทีเรียแลคติกสามารถเจริญและผลิตกรดเนื่องจากไม่มีสารยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อย่างไรก็ตามในการศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการยับยั้งการเจริญของ *S.* Rissen ในระหว่างการหมักแหนมโดยใช้เวลาในการหมัก 5 วัน พบว่าจำนวนเชื้อที่ไม่ผ่านการแช่แข็งและผ่านการแช่แข็งจะไม่สามารถอยู่รอดได้ เมื่อหมักเป็นเวลา 2 วัน ในขั้นต่อไป หากจะทำการวิจัยเพื่อพัฒนาการผลิตในระดับอุตสาหกรรม ควรจะตรวจสอบเชื้อถี่ขึ้นในช่วงแรกของการหมักแหนม เพื่อที่จะได้ข้อมูลที่เหมาะสมในการหาจำนวนการอยู่รอดของเชื้อ *S.* Rissen ในระหว่างการหมักแหนม

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

จรูญ คำนวณตา. 2509. **การค้นคว้าเรื่องแหนมไทยตอนที่หนึ่งว่าด้วยจุลินทรีย์ที่เป็นตัวการในแหนม.** วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จินดารัตน์ นีติวัฒนพงษ์. 2522. **การศึกษาจุลชีววิทยาของอาหารพื้นเมือง ไตปลาและปลาแป้งแดง.** วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นิจศิริ เรืองรังษี. 2542. **เครื่องเทศ.** พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

นาถสุดา วิศววงศ์. 2522. **การศึกษาจุลชีววิทยาของอาหารพื้นเมือง ปลาเจ่า ปลาส้ม และส้มฟัก.** วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

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

ปรียา วิบูลย์เศรษฐ์. 2528. **จุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์อาหาร เล่ม 1.** พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พวงเพ็ญ สุยะนันท์. 2527. **เอกสารประกอบการฝึกอบรมวิชาชีพภาคฤดูร้อน.** ภาควิชาจุลชีววิทยา. คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

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

ราชบัณฑิตยสถาน. 2525. **พจนานุกรมฉบับราชบัณฑิตยสถาน.** พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ: อักษรเจริญทัศน์.

วิลาวัณย์ อัจจิมากุล. 2524. **การคัดเลือกสายพันธุ์ *Lactobacillus* spp. ที่เหมาะสมต่อการใช้ทดลองเสริมอาหารสุกรในเชื้อแห้ง.** วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2518. **การศึกษาจุลินทรีย์ที่เป็นตัวการในระหว่างทำแหนม.** วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สมหญิง จุ้ยใจตรง. 2520. **การสำรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาในไส้กรอกในเขตกรุงเทพมหานคร.** วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุขใจ โสมะฐิติ. 2525. **การสำรวจเชื้อโรคลำไส้บางชนิด.** วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุภาพ อัจฉริยศรีพงศ์. 2522. **การศึกษาจุลชีววิทยาของอาหารพื้นเมือง: กุ้งจ่อมและหอยแมลงภู่ดอง.** วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุรีย์ นานาสมบัติ. 2539. **การเปรียบเทียบอาหารเลี้ยงเชื้อ RWambach agar และ MSRV กับ differential medium ชนิดอื่นๆ สำหรับตรวจหา *Salmonella* ในอาหารที่มี a_w ต่ำ.** รายงานการวิจัยประจำปี ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ.

สุรีย์ นานาสมบัติ; วาริพินทุ ประเสริฐศิลป์; กฤษณา ไกรสินธุ์; Hla Shain และ ดุษณี ธนะบริพัฒน์. 2545. **ประสิทธิภาพของ Enzyme-Linked Immunosorbent Assay ชนิดใหม่สำหรับตรวจหา *Salmonella* อย่างรวดเร็วในอาหาร.** รายงานการวิจัยและพัฒนาองค์การเภสัชกรรม. กรุงเทพฯ.

อนงค์ ชัยเนตร. 2524. **ตำราอาหารชาวเหนือ.** พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: ศักดิ์โสภาการพิมพ์.

อรนุช อุตรภิชาติ. 2530. **การคัดเลือกแบคทีเรียแลคติกซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อซัลโมเนลลาและการผลิตกล้าเชื้อผงเพื่อใช้หมักแหนม.** วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อาภรณ์ คงสวี. 2525. **การศึกษาปริมาณและชนิดของแบคทีเรียในไส้กรอกเวียนนาและโบลอคนา.** วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อุษณีย์ วินิจเขตคำนวณ; พูลศักดิ์ สัมภวะผล และ ไมตรี สุทธจิตร์. 2533. **การหาปริมาณไนไตรต์ในแหนมที่ผลิตใน จ. เชียงใหม่.** โภชนาสาร 14(2): 71-78.

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อดิศร เสวตวิวัฒน์. 2533. ผลของน้ำสกัดกระเทียมต่อการเจริญของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก สำหรับผลิตภัณฑ์เนื้อและเชื้อโรคอาหารเป็นพิษที่พบมากในแหนม (ในหลอดทดลอง). **วารสารอาหาร ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.** 29: 107-115.

อดิศร เสวตวิวัฒน์. 2533. **ผลของการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกต่อซัลโมเนลลาในการหมักแหนม.** วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อดิศร เสวตวิวัฒน์ และ อรุณ บ่างตระกูลนนท์. 2539. **ประสิทธิภาพของ salmosyst และอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ Rambach agar ต่อการตรวจหาซัลโมเนลลาในแหนม.** ใน การประชุมวิชาการ ครั้งที่ 34 สาขาแพทย์ศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Bartholomew, D. T. and Blumer, T. N. 1980. Inhibition of *Staphylococcus* by lactic acid bacteria in country style ham. **Journal of Food Science**. 45: 420-430.

Barber, L. E. and Deibel, R. H. 1972. Effect of pH and oxygen tension on *staphylococcus* growth and enterotoxin formation in fermented sausage. **Applied Microbiology**. 24: 891-898.

Bell, C. and Kyriakides, A. 2002. *Salmonella* : practical approach to the organism and its control in foods. **Blackwell Science**. London.

Blackwell, J. H.; Cliver, D. O.; Callis, J. J.; Heiaelbaugh, N. D.; Larkin, E. P.; Mckercher, P. D. and Thayer, D. W. 1985. Foodborne viruses: their importance and need for research. **Journal of Food Protection.** 48: 717-723.

Borch, E. and Molin, G. 1989. The aerobic growth and product formation of *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Brochothrix* and *Carnobacterium* in batch cultures. **Applied Microbiology and Biotechnology.** 30: 81-88.

Bullerman, L. B. 1986. Mycotoxins and food safety: A scientific status summary by the Institute of food technologest's export panel on food safety and nutrition. **Institute of Food Technologists.** Chicago: Illinois.

Busta, F. F. 1976. Practical implications of injured microorganisms in food. **Journal of Milk and Food Technology**. 39: 138-145.

Calicioglu, M. S. and Kendall, A. 2003. Influence of marinades on survival during storage of acid-adapted and nonadapted *Listeria monocytogenes* inoculated post-drying on beef jerky. **International journal of Food Microbiology.** 86: 283-292.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Ceylan, E., Kang, D.E. and Fung, D.Y. C. 1989 . Reduction *Escherichia coli* O157: H7 in ground meat Presented at Ann. Mtg, **Institutue Of Food Technologists.** Atlanta.

Chikthimmah, N. and Knabel, S. J. 2001. Survival of *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella* Typhimurium and *Listeria monocytogenes* in and on vacuum packaged Lebanon Bologna stored at 3.6 and 13.0 ° c. **Journal of Food Protection.** 64: 958-963.

Cho, I. C. and Bratzler, L. J. 1970. Effect of sodium nitrite on flavor of cured pork. **Journal of Food Science**. 35: 668.

Daly, C., Chance, M. L., Sandine, W. E. and Elliker, P. R. 1973. Control of *Staphylococcus aureus* in sausage by starter by starter cultures and chemical acidulation. **Journal of Food Science**. 38: 426-430.

Diebel, R. H.; Wilson, G. D.and Niven, C. F. 1961. Microbiology of meat curing. IV: A lyophilized *Pediococcus cerevisiae* starter culture for fermented sausage. **Applied Microbiology**. 9: 239-243.

Dubois, G. H., Beaumier, C. R. 1979. Inhibition of bacteria isolated on ground meat by Steptococcaceae and Lactobacillaceae. **Journal of Food Science**. 44: 1649-1652.

Eackes, B. D. and Blumer, T. N. 1975. Effect of various levels of potassium nitrate on colour and flavour of cured ioins and country style hams. **Journal of Food Science.** 40: 997.

Ellajosyula, K. R.; Doores, S.; Mills, W.; Wilson, R. A. and Knabel, S. J. 1997. Destruction of *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella* Typhimurium in Lebanon Bologna by interaction of fermentation pH, heating, temperature and time. **Journal of Food Protection**. 61: 152-157.

Escartin, E. F.; Lozano, S.; Garcfa, J. and Rodriguez, O. 2000. Quantitative survival of native *Salmonella* serovars during storage of frozen raw pork. **Journal of Food Microbiology**. 54: 19-25.

Ewen, C. D. 1987. Food-borne disease in six countries: A comparison. **Journal of Food Protection.** 41: 559-565.

Farber, J. M.; Tittiger, F. and Gour, L. 1988. Surveillance of raw-fermented (dry-cured) sausages for the presence of *Listeria* spp. **Journal of Food Science**. 21: 430-434.

Genigeorgis, C. A. 1976. Quality control for fermented meats. **Journal of the American Veterinary Medical Association.** 169: 1220-1228.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Genigeorgis, C. A. 1989. Present state of knowledge on *staphylococcal* intoxication. **International Journal of Food Microbiology.** 9: 327-360.

Gilliland, S. E. 1985. **Bacterial Starter Culture for Foods.** Florida: CRC. Press Inc.

Goepfert, J. M. and Chung, G. T. 1970. Growth of *Salmonella* at low pH. **Journal of Food Science.** 35: 326-328.

Gray, J. I. and Randall, C. J. 1979. The nitrite N-nitrosamine problem in meat an update. **Journal of Food Protection.** 42 (2): 168.

Hammes, W. P.; Bantleon, A. and Min, S. 1990. Lactic acid bacteria in meat fermentation. **FIMS Microbiology.** 87: 165-174.

Inoue, Y.; Takano, M. and Shibasaki, I. 1980. Antagonistic action of lactic acid bacteria from Nham toward food-deterirorating bacteria. **Mirobial Utilization of Renewable Resources.** 1: 108-115.

Johnson, E. A. and Pariza, M. W. 1989. Microbiological principles for the safety of foods. In: **International Food Regalation Handbook**, pp. 135-174. Middlekauff, R. D. and Shubik, P., eds. New York: Marcel Dekker.

Jung, Y. S. and Beuchat, L. R. 1999. Survival of multidrung-resistant *Salmonella* Typhimurium DT 104 in egg powders as affected by water activity and temperature. **Journal of Food Microbiology.** 49: 1-8.

Katayama, T. I. 1959. Chemical Significance of the volatile component of spices in food preservative view pt. 3 antibacteria activity of volatile component of Nutmeg. **Journal of Faculty Fish and Animal Housbandary Hiroshima University.** 2: 344-353.

Kosker, O.; Fellers, C. R. and Esselen, W. B. 1949. Mustard as apreservative for fruit juices. **Glass Packer.** 28: 818-823.

Krockel, L. 1995. Bacterial fermentation of meat. In: **Fermented Meats,** pp. 69-102. Campbell, G. and Cook, G. P., eds. New York: Blackie Academic and Professional.

Leistner, L. 1990. Mould-fermented foods: recent developments. **Food Biotchnology.** 4: 433-441.

Lotong, N. and Svetvivadhana, A. 1990. Microbial quality and safety of the traditional fermented pork: Production of *salmonella*-free nham using starter culture. **Thailand ASEAN Food Technology Research and Development Project.** Annual Report.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lucke, F. K. 1985. Fermented sausages. In: **Microbiology of Fermented Foods**, pp. 41-83. Wood, B. J. B., eds. London: Elsevier Applied Science.

Lucke, E. and Jager, M. 1997. **Antimicrobial Food Additives**, pp. 37-39. Germany: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

Mac, D. B. and Gray, J. I. 1980a. Role of nitrite in cured meat flavor antioxidant role of nitrite. **Journal of Food Science**. 45: 893.

Mac, D. B.; Gray, J. I.; Stanley , D. W. and Usborne, W. R. 1980b. Role of nitrite in cured meat flavor: sensory analysis. **Journal of Food Science**. 45: 885.

Martiez, E. M. and Christensen, C. M. 1974. Fungus flora of black and while pepper (Pepper nigruh) **Food Science and Technology.** September: p. 97-111.

Masters, B. A.; Oblinger, J. L.; Goodellow, S. J.; Bacus, J. N. and Brown , W. L. 1981. Fate of *Salmonella* Newport and *Salmonella* Typhimurium inoculated into summer sausage. **Journal of Food Protection**. 44: 527-530.

Mbandi, E. and Shelef, L. A. 2001. Enhanced Inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* Enteritidis in meat by combinations of sodium lactate and diacetate. **Journal of Food Protection**. 64: 640-644.

Meisel, C.; Gehlen, K. H.; Fischer, A. and Hammes, W. P. 1989. Inhibition of the growth of *Staphylococcus aureus* in dry sausage by *Lactobacillus curvatus, Micrococcus varians,* and *Debaryomyces hansenii*. **Food Biotechnology**. 3: 145-168.

Murphy, R. Y.; Osaili, T.; Duncan, L. K and Marcy, J. A. 2004. Effect of sodium lactate on thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* and *Salmonell*a in ground chicken thigh and leg meat. **Journal of Food Protection**. 67: 1403-1407.

Nanasombat, S. and Lohasupthawee, P. 2005. Antibacterial activity of crude ethanolic extracts and essential oils of Thai spices against *Salmonella* and Other Enterobacteria. **International Journal of Food Microbiology (In press).**

Phan-Uri, R. 1978. Occurrence of *Salmonella* in common food stuffs in Bangkok. **Gastrointestinal Infection in Southeast Asia.** 3: 59-63.

Prescott, S. C. and Dunn, C. G. 1959. **Industrial Microbiology**. Tokyo: Kogakushi.

Price, J. F. and Schweigert, B. S. 1971. **The Science of Meat and Meat Products.** San Francisco: Freeman, W. H. and Company.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Raccach, M. and Baker, R. C. 1978. Lactic acid bacteria as an antispoilage and safety factor in cooked, mechamically deboned poultry meat. **Journal of Food Protection.** 40: 549-551.

Rhodehamel, E. J.; Reddy, N. and Pierson, M. D. 1992. Botulism: the causative agent and its control in food. **Journal of Food Control.** 3:125-143.

Roca, M. and Kalman, I. 1989. Antagonistic effect of some starter cultures on Enterobacteriaceae (*E.coli*). **Meat Science.** 25: 123-132.

Sabah, J. R.; Juneja, V. K. and Fun, D. Y. C. 2004. Effect of spices and organic acids on the growth of *Clostridium perfringens* during cooling of cooked ground beef. **Journal of Food Protection.** 67: 1840-1847.

Sauer, C. J.; Majkowski, J. and Green, S. 1997. Foodborne illness outbreak associated with a semi-dry fermented sausage product. **Journal of Food Protection.** 60: 1612-1617.

Schlyter, J. H.; Glass, K. A.; Loeffelholz, J. D.; Alan, J.; Luchansky, J. and Luchansky, B. 1983. The effects of diacetate with nitrite lactate or pediocin on the viability of *L.monocytogenes* in turkey slurries. **International Journal of Food Microbiology.** 19: 271-281.

Shelef, L. A. 1994. Antimicrobial effects of lactates: A Review. **Journal of Food Protection.** 57: 445-450.

Skandamis, P. N. and Nychas, G. J. E. 2001. Effect of oregano essential oil on microbiological and physico-chemical attributes of minced meat stored in air and modified atmospheres. **Journal Applied Microbiology.** 91: 1011-1022.

Smith, J. L.; Palumbo, S. A.; Kissinger, J. C. and Huhtanen, C. W. 1975. Survival of *Salmonella* during pepperoni manufacture. **Journal Applied Microbiology.** 30: 759-763.

Smith, J. L.; Palumbo, S. A.; Kissinger, J. C. and Huhtanen, C. W. 1975. Survival of *Salmonella* Dublin and *Salmonella* Typhimurium in Lebanon Bologna. **Journal of Milk and Food Technology.** 38: 150-154.

Smith, J. L. and Palumbo, S. A. 1981. Microorganisms as food additives. **Journal of Food Protection.** 44: 936-937.

Stile, M. E. and Wilhelm, H. H. 1997. Lactic acid bacteria of food and their current taxonomy. **Journal of Food Microbiology.** 36: 1-29.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Srisomwong, P. 1985. The study of lactic acid bacteria in Nham. **A Project Rp. Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements of the Award.** Australia: New south Wales.

Swetwiwathana, A.; Leutz, U. and Lotong, N. F. 1989. Controling the growth of *Salmonella* Anatum in Nham. **Fleischwirtshaft.** 9: 124-128.

Tanaka, N.; Traisman, E.; Lee, M. H.; Cassens, R. G. and Foster, E. M. 1980. Inhibition of botulinum toxin formation in bacon by acid development. **Journal of Food Protection.** 43: 450-452.

Tanasupawat, S. and Daengsubha, W. 1983. *Pediococcus* species and related bacterial found in fermented foods and related materials in Thailand. **Journal of General and Applied Microbiology**. 29: 487-506.

Yuste, J. and Fung, D. Y. C. 2004. Inactivation of *Salmonella* Typhimurium and *Escherichia coli* O157: H7 in apple juice by a combination of nisin and cinnamon. **Journal of Food Protection**. 67: 371-377.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

วิธีวิเคราะห์ลักษณะทางเคมีของแหนม

1. การวิเคราะห์หาปริมาณกรดทั้งหมด (Total Titratable Acidity) วิเคราะห์ตาม AOAC (2000)

1.1 สารเคมี

- สารละลายฟีนอล์ฟทาลีน เตรียมโดยละลายฟีนอล์ฟทาลีน 1 กรัมในเอทิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 95 จำนวน 100 มิลลิลิตร เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 นอร์มัล ทีละหยดจนหยดแรกให้สีชมพู เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 200 มิลลิลิตร

- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 นอร์มัล เตรียมโดยละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์กับน้ำในปริมาณเท่า ๆ กัน ใส่ขวดพลาสติกทิ้งไว้เป็นเวลา 3-4 วัน เพื่อให้โซเดียมไฮดรอกไซด์ส่วนที่ไม่ละลายตกตะกอน นำสารละลายส่วนใสมา 8 มิลลิลิตร มาปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น ไทเทรตในสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต (potassium hydrogen phthalate)

1.2 วิธีวิเคราะห์

ชั่งน้ำหนักตัวอย่างจำนวน 10 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นที่ต้มไล่คาร์บอนไดออกไซด์แล้วจำนวน 30 มิลลิลิตร หยดสารละลายฟีนอล์ฟทาลีนประมาณ 3 หยด เขย่าให้เข้ากัน นำไปไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 นอร์มัล จนกระทั่งถึงจุดยุติได้เป็นสารละลายสีชมพูอ่อน คำนวณตามสูตร

$$\text{ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละ)} = \frac{N \times V_1 \times 90.08 \times 100}{1000 \times V_2}$$

โดย N คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ (นอร์มัล)

V_1 คือ ปริมาณของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ (มิลลิลิตร)

V_2 คือ ปริมาณของตัวอย่างที่ใช้ทดสอบ (กรัม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การวัดค่าพีเอช

2.1 เทน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร ใส่ในถุงพลาสติกที่มีแหนมตัวอย่าง 5 กรัม จากนั้น นำไปตีป่นด้วยเครื่อง Stomacher แล้วเทใส่ในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร

2.2 นำสารละลายที่อยู่ในบีกเกอร์ไปวัดค่าพีเอช โดยใช้เครื่องวัดพีเอช (pH meter) ซึ่งจะต้องทำการล้างโพรบ (probe) ด้วยน้ำกลั่นก่อน แล้วใช้กระดาษทิชชูซับน้ำออกโดยไม่ต้องเช็ดน้ำ

2.3 จุ่มโพรบลงในสารละลาย จากนั้นทำการอ่านค่าพีเอชที่วัดได้จากตัวเครื่อง

3. การวัดค่า Water activity (a_w)

3.1 เปิดเครื่องวัด Thermoconstanter ประมาณ 15 นาที เพื่อทำการอุ่นเครื่อง

3.2 หมุนปุ่มสีเหลืองของเครื่อง Thermoconstanter

3.3 นำตลับพลาสติก (Sample Cup) มาใส่แหนมตัวอย่างให้ได้ปริมาตรประมาณร้อยละ 80 - 90

3.4 นำตลับตัวอย่างมาใส่ไว้ใน Measuring Chamber แล้วปิดฝาให้เรียบร้อย

3.5 ทำการปรับอุณหภูมิให้ได้ตามต้องการ คือ 25 องศาเซลเซียส จากนั้นรอจนกระทั่งอ่านอุณหภูมิได้ตามที่ตั้งไว้ และ Relative Humidity ของอากาศที่วัดได้อยู่ในสภาวะที่สมดุลย์ (Equilibrium) กับตัวอย่าง สภาวะนี้เราเรียกว่า Equilibrium Relative Humidity (ERH) เมื่อหารด้วย 100 ก็จะได้ค่า a_w

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์

ตารางที่ 7 จำนวนการอยู่รอดของเชื้อ *S.* Rissen ในอาหารเหลว NMB (ซ้ำที่ 1)

เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนการอยู่รอดของ *S.* Rissen							
	ชุดที่ 1		ชุดที่ 2		ชุดที่ 3		ชุดที่ 4	
	จำนวนเซลล์ (CFU/g)	การอยู่รอด (ร้อยละ)	จำนวนเซลล์ (CFU/g)	การอยู่รอด (ร้อยละ)	จำนวนเซลล์ (CFU/g)	การอยู่รอด (ร้อยละ)	จำนวนเซลล์ (CFU/g)	การอยู่รอด (ร้อยละ)
0	6.2×10^6	100.00	5.8×10^6	100.00	5.5×10^6	100.00	5.7×10^6	100.00
2	6.2×10^6	99.80	5.5×10^6	94.15	4.8×10^6	87.96	5.3×10^6	92.43
4	6.2×10^6	99.77	5.2×10^6	89.04	3.6×10^6	65.75	4.8×10^6	83.46
6	5.4×10^6	87.49	5.1×10^6	87.24	3.5×10^6	63.89	4.6×10^6	81.35
8	5.3×10^6	84.96	5.1×10^6	87.22	3.4×10^6	62.48	4.6×10^6	80.99

ตารางที่ 8 จำนวนการอยู่รอดของเชื้อ *S.* Rissen ในอาหารเหลว NMB (ซ้ำที่ 2)

เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนการอยู่รอดของ *S.* Rissen							
	ชุดที่ 1		ชุดที่ 2		ชุดที่ 3		ชุดที่ 4	
	จำนวนเซลล์ (CFU/g)	การอยู่รอด (ร้อยละ)	จำนวนเซลล์ (CFU/g)	การอยู่รอด (ร้อยละ)	จำนวนเซลล์ (CFU/g)	การอยู่รอด (ร้อยละ)	จำนวนเซลล์ (CFU/g)	การอยู่รอด (ร้อยละ)
0	6.5×10^6	100.00	6.3×10^6	100.00	5.6×10^6	100.00	5.9×10^6	100.00
2	6.5×10^6	99.95	5.7×10^6	91.00	4.8×10^6	85.23	5.8×10^6	97.59
4	6.5×10^6	99.90	5.0×10^6	80.11	2.4×10^6	52.15	5.0×10^6	85.14
6	5.8×10^6	89.86	5.0×10^6	78.99	2.9×10^6	52.09	5.0×10^6	85.05
8	5.8×10^6	88.86	4.4×10^6	77.10	2.9×10^6	51.33	5.0×10^6	84.32

ตารางที่ 9 จำนวนการอยู่รอดของเชื้อ *S.* Rissen ในอาหารเหลว NMB (ซ้ำที่ 3)

เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนการอยู่รอดของ *S.* Rissen							
	ชุดที่ 1		ชุดที่ 2		ชุดที่ 3		ชุดที่ 4	
	จำนวนเซลล์ (CFU/g)	การอยู่รอด (ร้อยละ)	จำนวนเซลล์ (CFU/g)	การอยู่รอด (ร้อยละ)	จำนวนเซลล์ (CFU/g)	การอยู่รอด (ร้อยละ)	จำนวนเซลล์ (CFU/g)	การอยู่รอด (ร้อยละ)
0	6.6×10^6	100.00	6.5×10^6	100.00	5.4×10^6	100.00	5.7×10^6	100.00
2	6.6×10^6	99.72	6.1×10^6	93.44	4.4×10^6	91.21	5.3×10^6	93.74
4	6.6×10^6	99.64	5.7×10^6	87.49	3.6×10^6	66.33	4.5×10^6	78.45
6	5.8×10^6	87.37	5.6×10^6	86.12	3.4×10^6	62.97	4.4×10^6	77.95
8	5.5×10^6	83.33	5.5×10^6	84.99	3.3×10^6	61.54	4.3×10^6	75.00

ตารางที่ 10 ผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการอยู่รอดของเชื้อ *S.* Rissen ที่ไม่ผ่านการแช่แข็งและผ่านการแช่แข็งในระหว่างการหมักแหนม (ซ้ำที่ 1)

เวลา (วัน)	จำนวนการอยู่รอดของเชื้อ *S.* Rissen											
	ชุดที่ 1		ชุดที่ 2		ชุดที่ 3		ชุดที่ 4		ชุดที่ 5		ชุดที่ 6	
	จำนวนเซลล์ (CFU/g)	การอยู่รอด (ร้อยละ)	จำนวนเซลล์ (CFU/g)	การอยู่รอด (ร้อยละ)	จำนวนเซลล์ (CFU/g)	การอยู่รอด (ร้อยละ)	จำนวนเซลล์ (CFU/g)	การอยู่รอด (ร้อยละ)	จำนวนเซลล์ (CFU/g)	การอยู่รอด (ร้อยละ)	จำนวนเซลล์ (CFU/g)	การอยู่รอด (ร้อยละ)
<u>เซลล์ที่ไม่ผ่านการแช่แข็ง</u>												
0	1.8×10^5	100.00	1.2×10^5	100.00	1.3×10^5	100.00	1.4×10^5	100.00	1.5×10^5	100.00	1.3×10^5	100.00
1	4.9×10^4	27.22	7.5×10^4	62.50	3.4×10^4	26.15	2.0×10^4	14.29	$<10^a$	<0.01	<10	<0.01
2	2.0×10^3	1.11	2.1×10^3	1.75	2.2×10^4	1.69	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01
3	1.0×10^3	0.56	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01
4	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01
5	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01
<u>เซลล์ที่ผ่านการแช่แข็ง</u>												
0	1.5×10^5	100.00	9.5×10^4	100.00	8.3×10^4	100.00	1.2×10^5	100.00	1.1×10^5	100.00	9.7×10^4	100.00
1	4.9×10^4	32.67	2.1×10^4	22.11	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01
2	1.5×10^3	1.00	1.3×10^3	1.37	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01
3	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01
4	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01
5	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01

ตารางที่ 11 ผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการอยู่รอดของเชื้อ *S.* Rissen ที่ไม่ผ่านการแช่แข็งและผ่านการแช่แข็งในระหว่างการหมักแหนม (ซ้ำที่ 2)

เวลา (วัน)	จำนวนการอยู่รอดของเชื้อ *S.* Rissen											
	ชุดที่ 1		ชุดที่ 2		ชุดที่ 3		ชุดที่ 4		ชุดที่ 5		ชุดที่ 6	
	จำนวนเซลล์ (CFU/g)	การอยู่รอด (ร้อยละ)	จำนวนเซลล์ (CFU/g)	การอยู่รอด (ร้อยละ)	จำนวนเซลล์ (CFU/g)	การอยู่รอด (ร้อยละ)	จำนวนเซลล์ (CFU/g)	การอยู่รอด (ร้อยละ)	จำนวนเซลล์ (CFU/g)	การอยู่รอด (ร้อยละ)	จำนวนเซลล์ (CFU/g)	การอยู่รอด (ร้อยละ)
<u>เซลล์ที่ไม่ผ่านการแช่แข็ง</u>												
0	1.7×10^5	100.00	1.5×10^5	100.00	1.5×10^5	100.00	1.4×10^5	100.00	1.4×10^5	100.00	1.3×10^5	100.00
1	5.2×10^4	30.54	4.3×10^4	28.67	3.7×10^4	24.67	2.0×10^4	17.86	<10	<0.1	<10	<0.1
2	2.0×10^3	1.18	2.0×10^3	1.33	1.9×10^4	1.27	<10	<0.1	<10	<0.1	<10	<0.1
3	2.0×10^3	1.18	<10	<0.1	<10	<0.1	<10	<0.1	<10	<0.1	<10	<0.1
4	<10	<0.1	<10	<0.1	<10	<0.1	<10	<0.1	<10	<0.1	<10	<0.1
5	<10	<0.1	<10	<0.1	<10	<0.1	<10	<0.1	<10	<0.1	<10	<0.1
<u>เซลล์ที่ผ่านการแช่แข็ง</u>												
0	1.4×10^5	100.00	1.3×10^4	100.00	1.0×10^5	100.00	1.1×10^5	100.00	9.7×10^4	100.00	9.8×10^4	100.00
1	5.6×10^4	40.00	3.0×10^4	23.08	<10	<0.1	<10	<0.1	<10	<0.1	<10	<0.1
2	1.0×10^3	0.71	1.3×10^3	1.00	<10	<0.1	<10	<0.1	<10	<0.1	<10	<0.1
3	<10	<0.1	<10	<0.1	<10	<0.1	<10	<0.1	<10	<0.1	<10	<0.1
4	<10	<0.1	<10	<0.1	<10	<0.1	<10	<0.1	<10	<0.1	<10	<0.1
5	<10	<0.1	<10	<0.1	<10	<0.1	<10	<0.1	<10	<0.1	<10	<0.1

ตารางที่ 12 ผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการอยู่รอดของเชื้อ *S.* Rissen ที่ไม่ผ่านการแช่เข็งและผ่านการแช่เข็งในระหว่างการหมักแหนม (ซ้ำที่ 3)

เวลา (วัน)	จำนวนการอยู่รอดของเชื้อ *S.* Rissen											
	ชุดที่ 1		ชุดที่ 2		ชุดที่ 3		ชุดที่ 4		ชุดที่ 5		ชุดที่ 6	
	จำนวนเซลล์ (CFU/g)	การอยู่รอด (ร้อยละ)	จำนวนเซลล์ (CFU/g)	การอยู่รอด (ร้อยละ)	จำนวนเซลล์ (CFU/g)	การอยู่รอด (ร้อยละ)	จำนวนเซลล์ (CFU/g)	การอยู่รอด (ร้อยละ)	จำนวนเซลล์ (CFU/g)	การอยู่รอด (ร้อยละ)	จำนวนเซลล์ (CFU/g)	การอยู่รอด (ร้อยละ)
<u>เซลล์ที่ไม่ผ่านการแช่แข็ง</u>												
0	1.5×10^5	100.00	1.5×10^5	100.00	1.3×10^5	100.00	1.7×10^5	100.00	1.5×10^5	100.00	1.3×10^5	100.00
1	6.7×10^4	44.67	1.5×10^4	43.33	4.0×10^4	36.92	3.3×10^4	19.41	<10	<0.01	<10	<0.01
2	4.1×10^2	2.73	3.0×10^3	2.00	2.5×10^4	1.92	2.8×10^3	1.65	<10	<0.01	<10	<0.01
3	3.0×10^3	2.00	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01
4	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01
5	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01
<u>เซลล์ที่ผ่านการแช่แข็ง</u>												
0	1.2×10^5	100.00	1.0×10^5	100.00	1.0×10^5	100.00	1.3×10^5	100.00	1.2×10^5	100.00	1.0×10^5	100.00
1	2.6×10^4	21.67	2.1×10^4	21.00	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01
2	1.3×10^3	1.08	1.4×10^3	1.40	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01
3	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01
4	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01
5	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01	<10	<0.01

ตารางที่ 13 ผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการเจริญของแบคทีเรียแลคติก ในระหว่างการหมักแหนมชุดที่มีเชื้อ *S.* Rissen ที่ไม่ผ่านการแช่แข็งและผ่านการแช่แข็ง (ซ้ำที่ 1)

เวลา (วัน)	จำนวนแบคทีเรียแลคติก (CFU/g)					
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดที่ 4	ชุดที่ 5	ชุดที่ 6
<u>เซลล์ที่ไม่ผ่านการแช่แข็ง</u>						
0	5.2×10^6	4.9×10^6	5.0×10^6	5.3×10^6	6.0×10^6	5.3×10^6
1	2.1×10^7	2.4×10^7	2.6×10^7	2.8×10^7	2.4×10^7	2.2×10^7
2	4.5×10^7	3.1×10^7	4.4×10^7	4.2×10^7	4.1×10^7	3.3×10^7
3	5.3×10^7	5.9×10^7	5.2×10^7	5.9×10^7	5.7×10^7	6.0×10^7
4	1.1×10^9	1.3×10^9	1.0×10^9	1.2×10^9	1.2×10^9	1.5×10^9
5	1.0×10^9	1.1×10^9	1.0×10^9	1.0×10^9	1.1×10^9	1.3×10^9
<u>เซลล์ที่ผ่านการแช่แข็ง</u>						
0	5.2×10^6	4.7×10^6	8.6×10^6	5.5×10^6	6.1×10^6	5.0×10^6
1	2.4×10^7	2.2×10^7	2.6×10^7	2.6×10^7	2.5×10^7	3.0×10^7
2	4.0×10^7	4.3×10^7	4.4×10^7	3.4×10^7	4.1×10^7	4.1×10^7
3	6.4×10^7	5.8×10^7	5.1×10^7	5.8×10^7	6.2×10^7	6.1×10^7
4	1.2×10^9	1.2×10^9	1.0×10^9	1.1×10^9	1.3×10^9	1.4×10^9
5	1.3×10^9	1.1×10^9	9.5×10^8	1.1×10^9	1.0×10^9	1.2×10^9

ตารางที่ 14 ผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการเจริญของแบคทีเรียแลคติก ในระหว่างการหมักแหนมชุดที่มีเชื้อ *S.* Rissen ที่ไม่ผ่านการแช่แข็งและผ่านการแช่แข็ง (ซ้ำที่ 2)

เวลา (วัน)	จำนวนแบคทีเรียแลคติก (CFU/g)					
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดที่ 4	ชุดที่ 5	ชุดที่ 6
<u>เซลล์ที่ไม่ผ่านการแช่แข็ง</u>						
0	5.3×10^6	5.0×10^6	5.4×10^6	5.2×10^6	5.7×10^6	5.8×10^6
1	1.8×10^7	2.0×10^7	2.0×10^7	2.0×10^7	1.8×10^7	1.5×10^7
2	3.4×10^7	3.5×10^7	3.3×10^7	3.0×10^7	3.3×10^7	3.3×10^7
3	4.2×10^7	4.7×10^7	4.2×10^7	3.5×10^7	3.9×10^7	3.8×10^7
4	9.5×10^8	9.3×10^8	9.2×10^8	9.3×10^8	9.4×10^8	9.4×10^8
5	9.0×10^8	9.1×10^8	9.2×10^8	9.2×10^8	9.2×10^8	9.4×10^8
<u>เซลล์ที่ผ่านการแช่แข็ง</u>						
0	5.8×10^6	5.0×10^6	5.0×10^6	5.3×10^6	5.8×10^6	5.5×10^6
1	2.0×10^7	1.7×10^7	2.0×10^7	1.8×10^7	1.7×10^7	1.7×10^7
2	3.3×10^7	3.3×10^7	3.5×10^7	3.0×10^7	3.5×10^7	3.3×10^7
3	4.0×10^7	3.8×10^7	4.7×10^7	3.9×10^7	4.4×10^7	3.9×10^7
4	9.5×10^8	9.5×10^8	9.4×10^8	9.5×10^8	9.0×10^8	9.1×10^8
5	9.0×10^8	9.5×10^8	9.4×10^8	9.4×10^8	8.1×10^8	9.6×10^8

ตารางที่ 15 ผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการเจริญของแบคทีเรียแลคติก ในระหว่างการหมักแหนมชุดที่มีเชื้อ *S.* Rissen ที่ไม่ผ่านการแช่แข็งและผ่านการแช่แข็ง (ซ้ำที่ 3)

เวลา (วัน)	จำนวนแบคทีเรียแลคติก (CFU/g)					
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดที่ 4	ชุดที่ 5	ชุดที่ 6
<u>เซลล์ที่ไม่ผ่านการแช่แข็ง</u>						
0	6.1×10^6	6.0×10^6	6.1×10^6	5.8×10^6	5.8×10^6	5.9×10^6
1	2.6×10^7	2.5×10^7	2.4×10^7	2.4×10^7	2.5×10^7	2.6×10^7
2	5.2×10^7	5.1×10^7	5.0×10^7	5.0×10^7	4.8×10^7	4.9×10^7
3	6.5×10^7	6.6×10^7	6.6×10^7	6.5×10^7	6.4×10^7	6.4×10^7
4	9.7×10^8	9.6×10^8	9.7×10^8	9.7×10^8	9.8×10^8	9.6×10^8
5	1.4×10^9	1.3×10^9	1.4×10^9	1.5×10^9	1.4×10^9	1.4×10^9
<u>เซลล์ที่ผ่านการแช่แข็ง</u>						
0	6.2×10^6	5.9×10^6	5.9×10^6	5.8×10^6	5.9×10^6	5.7×10^6
1	2.8×10^7	2.4×10^7	2.8×10^7	2.7×10^7	2.7×10^7	2.7×10^7
2	5.1×10^7	5.1×10^7	5.2×10^7	5.1×10^7	5.1×10^7	4.8×10^7
3	6.7×10^7	6.7×10^7	6.5×10^7	6.6×10^7	6.5×10^7	6.4×10^7
4	9.8×10^8	9.5×10^8	9.8×10^8	9.8×10^8	9.6×10^8	9.6×10^8
5	1.5×10^9	1.3×10^9	1.4×10^8	1.5×10^9	1.3×10^9	1.4×10^8

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์ผลทางเคมี

ตารางที่ 16 ผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของกรดทั้งหมดในระหว่างการหมักแหนม (ซ้ำที่ 1)

เวลา (วัน)	ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละ)					
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดที่ 4	ชุดที่ 5	ชุดที่ 6
0	0.20	0.29	0.19	0.20	0.19	0.19
1	0.31	0.36	0.33	0.31	0.31	0.33
2	0.56	0.56	0.50	0.51	0.54	0.53
3	0.69	0.70	0.69	0.67	0.65	0.68
4	0.87	0.77	0.83	0.84	0.83	0.85
5	0.85	0.81	0.81	0.82	0.85	0.85

ตารางที่ 17 ผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของกรดทั้งหมดในระหว่างการหมักแหนม (ซ้ำที่ 2)

เวลา (วัน)	ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละ)					
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดที่ 4	ชุดที่ 5	ชุดที่ 6
0	0.20	0.29	0.19	0.20	0.19	0.19
1	0.31	0.36	0.33	0.31	0.31	0.33
2	0.56	0.56	0.50	0.51	0.54	0.53
3	0.70	0.75	0.77	0.74	0.70	0.72
4	0.85	0.82	0.79	0.93	0.90	0.85
5	1.03	1.00	0.85	1.03	1.00	1.00

ตารางที่ 18 ผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของกรดทั้งหมดในระหว่างการหมักแหนม (ซ้ำที่ 3)

เวลา (วัน)	ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละ)					
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดที่ 4	ชุดที่ 5	ชุดที่ 6
0	0.20	0.24	0.19	0.20	0.19	0.19
1	0.31	0.36	0.33	0.31	0.31	0.33
2	0.56	0.56	0.50	0.51	0.54	0.53
3	0.77	0.59	0.54	0.43	0.47	0.45
4	0.85	0.77	0.85	0.85	0.77	0.77
5	0.85	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80

ตารางที่ 19 ผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชในระหว่างการหมักแหนม (ซ้ำที่ 1)

เวลา (วัน)	ค่าพีเอช					
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดที่ 4	ชุดที่ 5	ชุดที่ 6
0	6.97	6.98	7.03	7.05	7.12	7.06
1	5.22	5.31	6.07	6.00	5.99	5.54
2	4.84	4.94	5.00	4.89	4.90	4.89
3	4.51	4.55	4.57	4.52	4.56	4.58
4	4.46	4.48	4.46	4.44	4.45	4.45
5	4.33	4.49	4.32	4.39	4.38	4.38

ตารางที่ 20 ผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชในระหว่างการหมักแหนม (ซ้ำที่ 2)

เวลา (วัน)	ค่าพีเอช					
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดที่ 4	ชุดที่ 5	ชุดที่ 6
0	7.12	7.36	6.98	7.04	7.21	7.12
1	6.22	6.21	6.00	6.34	6.05	6.08
2	5.03	5.00	5.28	5.10	5.12	5.17
3	4.70	4.70	4.92	4.76	4.81	4.75
4	4.41	4.36	4.63	4.50	4.60	4.44
5	4.23	4.23	4.49	4.27	4.28	4.23

ตารางที่ 21 ผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชในระหว่างการหมักแหนม (ซ้ำที่ 3)

เวลา (วัน)	ค่าพีเอช					
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดที่ 4	ชุดที่ 5	ชุดที่ 6
0	7.03	7.23	6.47	6.88	6.77	6.05
1	5.95	6.07	6.34	6.28	6.15	5.99
2	5.01	5.11	5.48	5.00	5.74	5.18
3	4.69	4.68	5.05	4.73	5.12	5.03
4	4.58	4.62	4.76	4.65	4.83	4.74
5	4.41	4.57	4.55	4.59	4.62	4.60

ตารางที่ 22 ผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการเปลี่ยนแปลงของค่า Water Activity (a_w) ในระหว่างการหมักแหนม (ซ้ำที่ 1)

เวลา (วัน)	ค่า a_w					
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดที่ 4	ชุดที่ 5	ชุดที่ 6
0	0.92	0.92	0.91	0.92	0.93	0.92
1	0.92	0.93	0.92	0.94	0.93	0.92
2	0.93	0.94	0.94	0.93	0.93	0.93
3	0.94	0.95	0.94	0.94	0.94	0.94
4	0.96	0.97	0.95	0.95	0.96	0.97
5	0.97	0.98	0.98	0.98	0.97	0.97

ตารางที่ 23 ผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการเปลี่ยนแปลงของค่า Water Activity (a_w) ในระหว่างการหมักแหนม (ซ้ำที่ 2)

เวลา (วัน)	ค่า a_w					
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดที่ 4	ชุดที่ 5	ชุดที่ 6
0	0.92	0.91	0.92	0.90	0.93	0.92
1	0.93	0.92	0.92	0.92	0.93	0.92
2	0.93	0.92	0.93	0.93	0.93	0.93
3	0.94	0.93	0.95	0.94	0.94	0.95
4	0.95	0.96	0.95	0.95	0.96	0.96
5	0.96	0.97	0.97	0.97	0.96	0.97

ตารางที่ 24 ผลของน้ำมันหอมระเหยผสมจากเครื่องเทศร่วมกับโซเดียมแลคเตทต่อการเปลี่ยนแปลงของค่า Water Activity (a_w) ในระหว่างการหมักแหนม (ซ้ำที่ 3)

เวลา (วัน)	ค่า a_w					
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดที่ 4	ชุดที่ 5	ชุดที่ 6
0	0.91	0.91	0.91	0.92	0.92	0.91
1	0.93	0.92	0.92	0.93	0.92	0.92
2	0.93	0.93	0.93	0.94	0.95	0.93
3	0.94	0.95	0.95	0.95	0.95	0.94
4	0.96	0.97	0.97	0.97	0.97	0.98
5	0.97	0.97	0.98	0.98	0.99	0.99