2/736

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร พระจอมเกล้าลาดกระบัง

# ใบรับรองปัญหาพิเศษ

T096515

เรื่อง

ผลของสารสกัดโหระพาต่อการเจริญของแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับการหมักแหนม (ในหลอดทดลอง)

(Effect of Sweet Basil Extract on Grow of Bacteria During Nham Fermentation (An-In-Vitro))

จัดทำโดย

นางสาว ธนพร สุกิจวรรณี รหัสนักศึกษา 46040177

นาย วิชัย แซ่ฮึง รหัสนักศึกษา 46040247

วพ.
ส 151 ผ
2549

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 96515
วัน.เดือน.ปี 3 JUN 2003

.....

( รศ.ดร.อดิศร เสวตวิวัฒน์ )

อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

วัน เดือน ปี

b.....
i.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นางสาวธนพร สุกิจวรรณี นายวิชัย แซ่ฮึง. ผลของสารสกัดโหระพาต่อการเจริญของแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับการหมักแหนม (ในหลอดทดลอง) (Effect of Sweet Basil Extract on Growth of Bacteria During Nham Fermentation (An-In-Vitro) ) สาขาวิชาอุตสาหกรรมเกษตร โครงการจัดตั้งคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าจ้าคุณทหารลาดกระบัง
อาจารย์ที่ปรึกษา : รศ.ดร. อดิศร เสวตวิวัฒน์ ,
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผศ.ดร. ประภาพร ขอไพบูลย์

# บทคัดย่อ

จากการศึกษาผลของสารสกัดโหระพาที่ระดับความเข้มข้นที่0%, 1%, 3%, 5%ต่อการเจริญของแบคทีเรียแลคติกทั้ง3สายพันธุ์คือ*L. pantarum, P. acidilactici*และ*P. pentosaceus* โดยมีจำนวนแบคทีเรียเริ่มต้นเท่ากับ$10^5$-$10^6$เซลล์ต่อมิลลิลิตรจากนั้นบ่ม ที่อุณหภูมิ35องศาเซลเซียสนาน48ชั่วโมง โดยทำการตรวจนับแบคทีเรียแลคติกและปริมาณกรดของแบคทีเรียแลคติกที่เวลา0, 12, 24, 36, 48ชั่วโมงในอาหารเหลวพบว่า สารสกัดโหระพาที่ระดับความเข้มข้น5% สามารถกระตุ้นการเจริญและการผลิตกรดได้ดีที่สุด

สำหรับการศึกษาผลของโหระพาต่อการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษบางชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus* และ *Salmonalla* Anatum โดยมีจำนวนแบคทีเรียเริ่มต้น เท่ากับ $10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตรจากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสนาน 18 ชั่วโมง โดยทำการตรวจนับแบคทีเรีย อาหารเป็นพิษ ที่เวลา 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 ชั่วโมง ในอาหารเหลวพบว่าจำนวนแบคทีเรียอาหารเป็นพิษน้อยกว่าแบบไม่ใส่สารสกัดโดยที่ระดับความเข้มข้นที่ 5% มีการเพิ่มขึ้นของแบคทีเรียอาหารเป็นพิษน้อยที่สุดดังนั้นแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากโหระพาสามารถยับยั้ง การเติบโตของแบคทีเรียอาหารเป็นพิษบางชนิดได้

จากผลดังกล่าว ดังนั้นโหระพาจึงอาจเป็นอีกหนึ่งทางเลือกในการนำไปเป็นส่วนผสมในผลิตแหนม และ สารสกัดจากโหระพายังมีผลในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษบางชนิดซึ่งจะเป็นผลในการเพิ่มความปลอดภัยของผู้บริโภค จากจากแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษบางชนิดได้อีกด้วย

ธนพร สุกิจวรรณี
วิชัย แซ่ฮึง
ลายมือชื่อนักศึกษา

.....
ลายมืออาจารย์ที่ปรึกษา

๒๖/๓๘/๕๙
วัน เดือน ปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# กิตติกรรมประกาศ

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร ปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาอุตสาหกรรมเกษตร โครงการจัดตั้งคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าจ้าคุณทหารลาดกระบัง โดยมีรศ.ดร. อดิศร เสวตวิวัฒน์ เป็นอาจารย์ที่ปรึกษา

ปัญหาพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ดีข้าพเจ้าขอกราบขอบคุณ รศ.ดร. อดิศร เสวตวิวัฒน์ อาจารย์ที่ปรึกษา และ ผศ.ดร. ประภาพร ขอไพบูลย์ กณะกรรมการปัญหาพิเศษ ที่กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำในการแก้ไขปัญหาพิเศษให้สมบูรณ์แบบ และขอขอบคุณอาจารย์ทุกท่านที่ให้ความกรุณาช่วยประสิทธิ์ประสาทความรู้แก่ข้าพเจ้า

ขอขอบคุณ พี่จุล, พี่นุ่น, พี่โอ นักศึกษาปริญญาโท ที่ช่วยให้ คำปรึกษา รวมถึงอุปกรณ์ต่างๆ ขอบคุณเพื่อนๆทุกคนที่ช่วยให้กำลังใจ

ขอขอบพระคุณ ท่านผู้ปกครอง ที่ช่วยสนับสนุนกำลังทรัพย์และให้กำลังใจ สุดท้ายนี้ขอขอบคุณตัวเองที่สามารถทำงานปัญหาพิเศษให้ลุล่วงไปได้ด้วยดี

คณะผู้จัดทำ
นางสาวธนพร สุกิจวรรณี
นาย วิชัย แซ่ฮึง
12 กุมภาพันธ์ 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ.....ก
กิตติกรรมประกาศ.....ข
สารบัญ.....ค
สารบัญตาราง.....จ
สารบัญตารางภาคผนวก.....ฉ
สารบัญภาพ.....ช
บทที่ 1 บทนำ.....1
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ.....3
2.1 โหระพา.....3
2.2 แบคทีเรียแลคติก.....4
2.3 แบคทีเรียแลคติกในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก.....7
2.4 แบคทีเรียแลคติกในการหมักแหนม.....14
2.5 แบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมอาหาร และแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับอาหารหมัก.....17
2.5.1 เชื้อ *Staphylococcus aureus*.....17
2.5.2 เชื้อ *Salmonella* Anatum.....23
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีทดลอง.....28
3.1 อุปกรณ์.....28
3.2 วัตถุดิบ.....28
3.3 เชื้อจุลินทรีย์.....28
3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ.....29
3.5 สารเคมี.....29
3.6 ขั้นตอนและวิธีทดลอง.....29
3.6.1 ศึกษาผลของสารสกัดโหระพาที่ระดับความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญและการผลิตกรดแลคติกของแบคทีเรียแลคติกในอาหารเหลวในหลอดทดลอง.....29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.6.2 ศึกษาผลของสารโหระพาต่อการเจริญของแบคทีเรียอาหารเป็นพิษบางชนิด ในอาหารเหลวในหลอดทดลอง.....30
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์.....31
4.1 ผลของสารสกัดโหระพา ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญและการผลิตกรดแลคติกของแบคทีเรียแลคติกในอาหารเหลวในหลอดทดลอง.....31
4.2 ผลของสารสกัดโหระพาต่อการเจริญของแบคทีเรียอาหารเป็นพิษบางชนิดในอาหารเหลวในหลอดทดลอง.....35
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง.....39
บรรณานุกรม.....40
ภาคผนวก.....48
ภาคผนวก ก การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของตัวอย่าง.....49
ภาคผนวก ข การวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์.....50
ภาคผนวก ค การวิเคราะห์ทางเคมี.....52
ภาคผนวก ง อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์.....54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

ตารางที่ 2.1 : ผลิตภัณฑ์เนื้อสดและผลิตภัณฑ์เนื้อหมักซึ่งใส่กล้าเชื้อแบคทีเรีย 12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 1
# บทนำ

ในปัจจุบันได้มีผู้ให้ความสนใจกับเครื่องเทศจำนวนมากขึ้น โดยมักนิยมนำมาทำยาและประกอบอาหาร ในเครื่องเทศนั้นจะมีน้ำมันหอมระเหยซึ่งแตกต่างกันออกไปตามชนิดของเครื่องเทศ โดยจะนำมาใช้ในการเพิ่มกลิ่นและรสชาติของอาหารรวมทั้งยังช่วยในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคบางชนิดได้อีกด้วย ได้มีผู้ทำการศึกษาเกี่ยวกับเครื่องเทศที่มีผลต่อจุลินทรีย์ไว้มากมาย Ellgayyar และคณะ (2001) ได้ทำการศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหย จากพืชทั้งหมด 12 ชนิดที่มีต่อการยับยั้งแบคทีเรีย 6 ชนิด เชื้อรา 2 ชนิด และยีสต์ 1 ชนิด พบว่าน้ำมันหอมระเหยจาก โอริการ์โนร์ (Oregano) รวมทั้งพืชประเภทโหระพาและกระเพรา (Basil) ก็มีผลในการยับยั้งจุลินทรีย์สูงเช่นกันโดยให้ผลในการยับยั้ง *E. coli* 0157 : H7, *S.* Typhimurium และจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ Lacchowicz และคณะ (1998) ได้ศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยของพืชประเภทโหระพาและกะเพรา จำนวน 5 ชนิด ต่อการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก และแบคทีเรียแกรมลบ ยีสต์ และ รา พบว่าน้ำมันหอมระเหยทั้งหมดที่นำมาทดสอบมีผลต่อการยับยั้งแบคทีเรียส่วนใหญ่ที่นำมาทดสอบ และ อดิศร ( 2542) ได้ศึกษาพบว่าน้ำสกัดกระเทียมที่ระดับความเข้มข้นเพียง 1% มีประสิทธิภาพในการทำลายและลดปริมาณของ *Salmonella* Anatum และ *Staphylococcus aureus* ในอาหารTSBได้ โดยถ้าน้ำสกัดกระเทียมมีความเข้มข้นมากขึ้นในอาหารTSB ก็จะสามารถลดปริมาณของเชื้อทั้ง 2 ตัวนี้ได้ดียิ่งขึ้น

แหนมก็จัดเป็นอาหารหมักอีกประเภทที่ใช้เครื่องเทศเป็นส่วนประกอบ เพื่อเพิ่มกลิ่นรสและยังช่วยในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคบางชนิดอีกด้วยรสเปรี้ยวในแหนมเกิดจากการผลิตกรดโดยแบคทีเรียแลคติก ซึ่งได้แก่ *Lactobacillus* sp. และ *Pediococcus* sp. อรนุช (2530) ได้รายงานว่ากรดและสารยับยั้งที่เชื้อแบคทีเรียแลคติกทั้ง 2 ชนิดนี้ผลิตขึ้น สามารถยับยั้งการเจริญของ *Salmonella* sp. ได้ เราจะพบได้บ่อยครั้งว่ามีการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษซึ่งมักเกี่ยวข้องกับแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ประเภทเนื้อหมัก โดยเฉพาะแหนมดังนั้นจึงเป็นที่น่าสนใจที่จะแก้ปัญหานี้เพื่อเพิ่มความปลอดภัยให้กับผู้บริโภคมากยิ่งขึ้น โดยการนำเครื่องเทศที่มีประสิทธิภาพต่อการยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคมาใช้เป็นส่วนผสมร่วมในการผลิตแหนม ซึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โหระพาก็เป็นเครื่องเทศอีกชนิดหนึ่งที่น่าสนใจในการนำมาใช้เป็นส่วนผสม ในการผลิตแหนม เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยจากโหระพามีสาร linalool และ methylchavicol ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้ง การเจริญของแบคทีเรีย (Lachowicz และคณะ , 1998) นอกจากนี้สาร linalool และ α-pinene ในน้ำมันหอมระเหยจากโหระพายังช่วยกระตุ้นการเจริญของแบคทีเรียแลคติก ( Lawrence, 1971) ดังนั้นการเติมโหระพาอาจทำให้ปริมาณแบคทีเรียแลคติกเพิ่มขึ้น และทำให้ค่าพีเอชลดลงจากกรดที่แบคทีเรียแลคติกผลิตขึ้น และสารสกัดจากโหระพาอาจช่วยในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษบางชนิด ด้วยเหตุนี้จึงได้ทำการศึกษาผลของสารสกัดโหระพาต่อการเจริญของแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องในการหมักแหนม เพื่อเป็นแนวทางในการผลิตแหนม

**วัตถุประสงค์**

1. เพื่อศึกษาผลของสารสกัดโหระพาที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญของแบคทีเรียแลคติกในอาหารเหลวในหลอดทดลอง
2. เพื่อศึกษาผลของสารสกัดโหระพาต่อการเจริญของแบคทีเรียอาหารเป็นพิษบางชนิดในอาหารเหลวในหลอดทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่2
# ทฤษฎีและหลักการ

เครื่องเทศและพืชสมุนไพรมีคำจำกัดความดังนี้ พืชสมุนไพร หมายถึงส่วนยอดของลำต้น พืชที่นำมาใช้ในแง่ของการให้กลิ่นกับอาหาร ซึ่งอาจใช้เป็นพืชสดหรือแห้งก็ตาม สำหรับเครื่องเทศ นั้นหมายถึง ส่วนต่างๆของพืชที่ไม่ใช่ส่วนยอด ซึ่งอาจจะเป็นเปลือก ราก ดอก เมล็ด ผล เป็นต้น (ธนพันธุ์ , 2537) อีกความหมายหนึ่งคือเป็นของหอมฉุนและเผ็ดร้อนที่ได้มาจากต้นไม้ใช้ทำยาไทย และปรุงอาหาร (รุ่งรัตน์, 2540 ) เครื่องเทศมีคุณค่าทางอาหารน้อยมากแต่ มีประโยชน์ในการช่วยให้กลิ่นและรสของอาหารดีขึ้นช่วยกระตุ้นน้ำย่อย ในบางครั้งเครื่องเทศและสมุนไพรก็เป็นของอย่างเดียวกันขึ้นอยู่กับโอกาสที่นำไปใช้

## 2.1 โหระพา

โหระพามีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Ocimum basilicum* Linn. มีชื่ออื่นๆที่นิยมเรียกอีกได้แก่ ห่อกวยซวย ห่อวอซู อิ่มคิมขาว Basil, Common basil, Sweet basil โหระพาเป็นไม้ล้มลุก สูงถึง 1 เมตร ทุกส่วนมีกลิ่นหอมเฉพาะตัว ใบเรียว เรียงตรงข้าม รูปไข่ รูปวงรีหรือรูปไข่แกมวงรี กว้าง2-3 ซม. ปลายใบแหลม โคนโบสอบ ขอบใบเรียบหรือหยักฟันเลื่อยห่างๆ ผิวใบเกลี้ยงหรือมีขน ก้านใบยาว 1-3 ซม. ดอกช่อฉัตรออกที่ปลายยอด ยาว 5-25 ซม. กลีบเลี้ยงเชื่อมติดกันเป็นรูประฆัง ปลายแยกเป็นสองปาก ปากบนมี 4 กลีบ ปากล่างมี 1 กลีบ ยาวกว่าปากบน มีขนสีขาว ผลรูปวงรีหรือขอบขนาน แกมวงรี ยาวประมาณ 1.5 มม. (นันทวัน บุญยะประภัศร และ อรนุช โชคชัยเจริญพร, 2547 )

มีงานการวิจัยที่ศึกษาทางด้านองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย ที่ได้จาก *O.basilicum*L. มากมายในหลายประเทศทั่วโลก ซึ่งพบว่ามีความผันแปรขององค์ประกอบน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากโหระพา ทั้งนี้เป็นผลมาจากความแตกต่างทางลักษณะและสายพันธุ์ จากรายงานของ Lawrence และคณะ (1972) พบว่าองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย จาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

*O. basilicum* L. ที่ได้จากประเทศไทย มีองค์ประกอบทางเคมีมากกว่า 75 ชนิด Simon และ คณะ (1990) ได้ทำการวิจัยโดยศึกษาเปรียบเทียบสายพันธุ์ *Ocimum* spp. ที่ปลูกเชิงการค้าใน อเมริกาเหนือจำนวน42สายพันธุ์ โดยศึกษาถึงองค์ประกอบลักษณะทางพฤษศาสตร์ของแต่ละสายพันธุ์ รวมถึงร้อยละผลผลิตของน้ำมันหอมระเหยที่ได้และองค์ประกอบของสารที่ให้กลิ่นหลักพบว่าสายพันธุ์ Camphor (*O. kilimandscharicum*) จะให้น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้มากที่สุดถึงร้อยละ 5.22 ในขณะที่สายพันธุ์ไทยจะให้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยร้อยละ0.75 สารให้กลิ่นหลักที่สำคัญ ที่เป็นองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยจากใบโหระพา ได้แก่ linalool, eugenol, methyl chavicol, methyl eugenol, methyl cinnamate และ geraniol ( Marotti et al., 1996; Ravid et al.,1997)

## 2.2 แบคทีเรียแลคติก

ความหมายของแบคทีเรียแลคติกหมายถึง กลุ่มของแบคทีเรียที่สามารถผลิตกรดแลคติกและมีความสามารถในการหมักนมให้เกิดตะกอนได้ นอกจากนี้ยังรวมถึงแบคทีเรียแกรมลบกลุ่มโคลิฟอร์มด้วยต่อมาได้พบว่าแบคทีเรียแลคติกมีเพียงแบคทีเรียแกรมบวกเท่านั้น จึงได้มีการแยกกลุ่มแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มออก จากนั้น Orla และ Jensen (1919) ได้ให้ความหมายของแบคทีเรียแลคติกว่าต้องเป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่มีลักษณะสำคัญคือ ไม่มีการเคลื่อนที่ ไม่มีการสร้างสปอร์ มีความสามารถในการหมักคาร์โบไฮเดรตให้เป็นกรดแลคติก มีรูปร่างเป็นทรงกลม (cocci) และแท่ง (rod)

แบคทีเรียแลคติกเป็นแบคทีเรียที่มีรูปร่างแท่งยาว บางครั้งพบเป็นแท่งโค้งถ้าเป็นแท่งสั้นมักเป็น corynefrom coccobacilli บางทีต่อกันเป็นสายโซ่ บางครั้งเคลื่อนที่ได้โดย peritrichous flagella ไม่สร้างสปอร์สามารถย้อมติดสีแกรมบวกเป็นพวกเฟอร์เมนเททีฟแบคทีเรีย (Fermentative bacteria) ที่หมักน้ำตาลกลูโคสแล้วผลิตกรดแลคติก แต่ไม่สามารถหมักแลคเตสได้แต่จะมีผลพลอยได้จากการหมักคือ แอซิเตต (acetate) เอทานอล (ethanol) คาร์บอนไดออกไซด์ (carbondioxide) ฟอร์เมต (formate) หรือซัคซิเนต(succinate) แบคทีเรียแลคติกเป็นจุลินทรีย์ที่เจริญได้ดีที่สภาพที่มีอากาศเล็กน้อย ไม่มีการรีดิวซ์ไนเตรต ไม่สลายเจลาตินและเคซีน ไม่สร้างอินโดล และไฮโดรเจนซัลไฟด์ รวมทั้งไม่สร้างเอนไซม์คะตาเลส แต่จะมีบางสายพันธุ์ที่สามารถสลายเปอร์ออกไซด์ (peroxide) ได้ด้วยเอนไซม์ซูโดคะตาเลส (pseudocatalase enzyme) และปฏิกิริยาต่อเบนซิดีน (benzidine) นั้นจะให้ผลลบ บางเชื้อสามารถสร้างรงควัตถุสีเหลือง ส้ม สนิมเหล็ก หรือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แคงอิฐ เป็นพวกที่ต้องการอาหารซับซ้อนทั้งกรดอะมิโน เปปไตด์ อนุพันธ์กรดนิวคลีอิค วิตามิน เกลือแร่ กรดไขมันหรือเอสเตอร์ของกรดไขมัน และคาร์โบไฮเดรต โดยเชื้อแต่ละสายพันธุ์ จะมีความจำเพาะต่อความต้องการอาหารที่แตกต่างกัน สามารถเจริญได้ที่ช่วงอุณหภูมิ 2 – 53 องศาเซียส แต่เจริญเติบโตได้ดีและเหมาะสมที่อุณหภูมิ 30-40 องศาเซลเซียส พีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญประมาณ 5.5-6.2 แต่เชื้อสามารถเจริญได้ที่ พีเอชประมาณ 5.0 หรือต่ำกว่านี้ได้ อัตราการเจริญจะลดลงที่สภาวะเป็นกลางหรือเป็นด่างโมลร้อยละของ G+C ของ DNA อยู่ในช่วง 32-53 (Bd,Tm) (กิตติชัย โหบาง และคณะ, 2541)

ในปัจจุบันพบว่าแบคทีเรียแลคติก สามารถจำแนกได้ 12 สกุล คือ *Carumobacterium, Enterococcus, Lactobacillus, Aerococcus, Leuconostoc, Oenococcus, Peddiococcus, Weissella, Streptococcus, Tetragenococcus* และ *Vagococcus* ( Stiles และ Holzapfel, 1997)

1. *Lactobacillus* เซลล์มีรูปร่างเป็นแท่งหรือรูปทรงรี ไม่สร้างสปอร์ เป็นแบคทีเรียกลุ่มใหญ่ที่สุด มีองค์ประกอบคือ เปอร์เซนต์โมล G+C ในดีเอ็นเอเท่ากับ 33-35% ต้องการสารอาหารที่ซับซ้อนในการเจริญ พบในแหล่งต่างๆ เช่น เยื่อเมือกของมนุษย์และสัตว์ พืช น้ำเสีย และอาหารเน่าเสีย เป็นต้น แล้วยังพบว่าบางสปีชีส์เป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อในมนุษย์ ( Stiles และ Holzapfel, 1995) คือ

- กลุ่มOligately homofermentative lactobacilli หมักน้ำตาลเฮกโซส (มากกว่า 85%) เป็นกรดแลคติกโดยวิธี Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) จุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์ Fructose-1,6-bisphosphate-aldolase แต่ไม่ผลิตเอนไซม์ phosphoketolase ดังนั้นจึงสามารถหมักน้ำตาลเพนโทสและกลูโคเนตได้ แบคทีเรียแลคติกในกลุ่มประกอบด้วย 17 สปีชีส์

- กลุ่มFacultative heterofermentative lactobacilli หมักน้ำตาลเฮกโซสเป็นกรดแลคติกโดยวิธี EMP จุลินทรีย์สามารถผลิตเอนไซม์ aldolase และ phosketolase ดังนั้นจึงสามารถหมัก น้ำตาลเฮกโซสและเพนโทส (โดยทั่วไปจะเป็นกลูโคเนต) ประกอบด้วย 18 สปีชี่ส์

- กลุ่ม Oligately heterofermentative lactobacilli หมักน้ำตาลเฮกโซสเป็นเพนโทสผ่านวิถีฟอสโฟกลูโคเนตเป็นแลคเตท เอทานอล (กรดอะซิติก) และคาร์บอนไดออกไซด์แบคทีเรียแลคติกในกลุ่มนี้ประกอบด้วย 19 สปีชี่ส์

2. *Streptococcus* เซลล์มีรูปร่างกลมหรือรูปไข่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.8-1.2 ไมครอนมีการจัดตัวเป็นสายโซ่หรือเป็นคู่โดยการเกิดเป็นสายโซ่จะเกิดได้ดีที่สุด ในสภาวะที่ทำการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในอาหารเหลวและความยาวของสายโซ่ก็จะเริ่มจากไม่กี่เซลล์จนมากกว่า 50 เซลล์เป็นแบคทีเรียพวก Homofermentative ดังนั้นจึงมีการผลิตกรดแลคติกชนิด L (+) เป็นผลิตภัณฑ์หลักเท่านั้น จากการหมักกลูโคสเจริญที่อุณหภูมิ 20-42 องศาเซลเซียสในปัจจุบันประกอบด้วย 39 สปีชี่ส์

3. *Vagococcus* เป็นแบคทีเรียแลคติกที่สามารถเคลื่อนที่ได้ประกอบด้วย 2 สปีชีส์คือ *Vagococcusfluvialis* แยกได้จากอุจจาระของไก่และน้ำในแม่น้ำและ *Vagococcus salmoninarum* ซึ่งแยกได้จากปลาแซลมอนที่เป็นโรค

4. *Lactococcus* เซลล์มีรูปร่างกลมหรือรูปไข่ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 – 1 ไมครอน มีการจัดเรียงตัวเป็นเซลล์เดี่ยว คู่ หรือต่อกันเป็นสายโซ่ ผลิตกรดแลคติกชนิด L(+) จากการหมักกลูโคส ใช้เป็นกล้าเชื้อในผลิตภัณฑ์นม สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส แต่ไม่เจริญที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ปัจจุบันประกอบด้วย 5 สปีชีส์ ได้แก่ *Lactococcus garviae*, *Lactococcus lactis*, *Lactococcus plantarum*, *Lactobacillus raffinolactis* และ *Lactococcus pisdium*

5. *Enterococcus* เซลล์มีรูปร่างไข่จัดเรียงตัวเป็นเซลล์เดี่ยว คู่ หรือ เป็นสายโซ่สั้น ๆ ผลิตกรดแลคติกชนิด L(+) เป็นผลิตภัณฑ์หลักจากการหมักกลูโคส ต้องการสารอาหารที่ซับซ้อนสำหรับการเจริญ สามารถเจริญที่อุณหภูมิ 10 และ 45 องศาเซลเซียส สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ 6.5 % และที่พีเอชเท่ากับ 9.6 บางสายพันธุ์สามารถผลิตคะตะเลสเทียมได้

6. *Tetranococcus* เซลล์มีรูปร่างกลมมีการจัดจำแนกใหม่แยกจากสกุล *Pediococcus* เนื่องจากมีความสามารถในการเจริญในอาหาร ซึ่งประกอบด้วยเกลือโซเดียมคลอไรด์สูงถึง 18 %

7. *Pediococcus* เซลล์มีรูปร่างกลม มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.36 – 1.43 ไมครอน มีการแบ่งตัวในลักษณะ 2 ทิศทางบนระนาบเดียวกัน ทำให้เกิดการเรียงตัวเป็นคู่หรือสี่เซลล์ติดต้น ทุกสปีชีส์ผลิตกรดแลคติกชนิดDLยกเว้นสปีชีส์ *P. dextrinicus* ที่ผลิตกรดแลคติกชนิด L(+) จากการหมักน้ำตาลกลูโคสปัจจุบันมีทั้งหมด 6 สปีชีส์ ได้แก่ *P. acidilactici*, *P. dextrinicus*, *P. inopinatus*, *P. parvulus* และ *P. pentosaceus*

8. *Aerococcus* เซลล์มีรูป่ร่างกลม มีลักษณะแบ่งตัวเหมือน *Pediococcus* ประกอบด้วย 2 สปีชี่ส์ คือ *Aerococcus urinae* และ *A. viridans* ซึ่งเดิมเป็นสปีชีส์ในสกุล *Pediococcus* คือ *P. homari* และ *P. urinaeequi*

9. *Leuconostoc* ลักษณะของเซลล์ขึ้นกับอาหารเลี้ยงเชื้อ ในอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคสเซลล์มีลักษณะยืดออกคล้ายกลุ่ม *Lactobacillus* แต่เมื่อเจริญในน้ำนมพบว่าเซลล์มีรูปร่างกลม การจัดเรียงตัวเป็นเซลล์เดี่ยว อยู่เป็นคู่หรือเป็นสายโซ่สั้นถึงปานกลาง ผลิตกรดแลคติกชนิด D(-) เอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทานอล คาร์บอนไดออกไซด์ และสารหอมระเหยจากการหมักด้วยกลูโคส จึงช่วยสร้างกลิ่นรสในอาหารหมักดอง

10. *Oenococcus* ประกอบด้วยสปีชีส์ *Oenococcus oeni* ซึ่งเปลี่ยนมาจาก *Leuconosto conenos*ด้วยคุณสมบัติการทนต่อกรดและเอทานอลปริมาณสูง

11. *Weissella* ประกอบด้วยแบคทีเรีย 7 สปีชีส์ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับ *Leuconostoc* รูปร่างเซลล์เป็นแท่งและกลม เดิมสกุลนี้อยู่ในสกุลของ*Leuconostoc*และ*Lactobacillus*

12. *Carnobacterium* เซลล์เป็นรูปร่างท่อนตรง ขนาดสั้นถึงปานกลาง หรือเป็นท่อนเรียว มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 – 0.7 ไมครอน จัดเรียงตัวเป็นเซลล์เดี่ยวหรือเซลล์คู่ มักไม่พบการเรียงตัวเป็นสายโซ่ ผลิตกรดแลคติกชนิด L (+) คาร์บอนไดออกไซด์ แอซีเตทและเอทานอลจากการหมักน้ำตาลเฮกโซส (รดีกร. 2543)

นอกจากนี้แบคทีเรียแลคติกยังสามารถแบ่งได้เป็นกลุ่มใหญ่ ๆ 2 กลุ่มด้วยกัน (กิตติชัย และคณะ , 2541) คือ

1. กลุ่ม Homofermentaive ซึ่งเป็นพวกที่ หมักน้ำตาลกลูโคส ได้กรดแลคติก เป็นส่วนใหญ่โดยทั่วไปร้อยละ 85 หรือมากกว่า และผลพลอยได้อื่น ๆ ซึ่งพวกนี้จะหมักน้ำตาลกลูโคส 1 โมล เกิดเป็นกรดแลคติก 1.8 โมล และได้กรดแอซิติก เอทานอล และคาร์บอนไดออกไซด์เล็กน้อย ได้แก่ *L. delbrueckii, L. leichmanii, L. jensenii, L. lactis, L. bulgaricus, L. helveticus, L. acidophilus, L. salivarus, L. casei, L. xylosus, L. plantarum, L. curvatus, L. coryniformis, L. homohiochii.*

2. กลุ่ม Heterofermentative ซึ่งเป็นพวกที่หมักน้ำตาลกลูโคสให้กรดแลคติกประมาณร้อยละ50 นอกจากนั้นให้คาร์บอนไดออกไซด์ประมาณ 20 – 25 % กรดแอซิติกรวมทั้งเอทานอล 20 – 25 % (อรนุช , 2530)

## 2.3 แบคทีเรียแลคติกในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก

แบคทีเรียแลคติกเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในการผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก ในการผลิตกรดและกลิ่นรสให้อาหาร รวมทั้งมีบทบาทในผลิตภัณฑ์นมหมักหลายชนิด ทั้งนี้เพื่อยืดอายุการเก็บนมสมให้ได้นานขึ้น โดยการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์นมหมักและเพื่อปรับปรุงคุณภาพของผลิตภัณฑ์นมให้ดีขึ้น (อดิศร, 2543) นอกจากนี้ยังใช้แบคทีเรียแลคติกเป็นอาหารเสริมสำหรับสัตว์เลี้ยง เช่น สุกร แทนยาปฏิชีวนะ(วิลาวัณย์, 2524) เนื่องจากแบคทีเรียแลคติกช่วยทำให้เกิดความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สมดุลของจุลินทรีย์ normal floraในลำไส้ จึงนำมาบำบัดรักษาโรคเกี่ยวกับระบบทางเดินอาหารที่เกิดจากการติดเชื้อต่าง ๆ เช่น *E .coli, Salmonela* sp.เป็นต้น ดังนั้นอาหารเสริมสัตว์เลี้ยงและผลิตภัณฑ์นมหมักต่าง ๆ โยเกิร์ต จึงจัดว่าเป็นพวกโพรไบโอติก (probiotic) คือมีจุลินทรีย์หรือสารต่าง ๆ ที่ช่วยให้เกิดความสมดุลของ normal flora ในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์ต่าง ๆ มีผู้ตั้งข้อสังเกตว่าผลิตภัณฑ์นมและเนื้อจะมีความคล้ายคลึงกันในด้านของคุณค่าทางอาหารและการเน่าเสียอันเกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งส่วนมากเป็นจุลินทรีย์ในกลุ่ม *Pseudomonas* และ *Acromobacter* ดังนั้นการใช้แบคทีเรียแลคติกในการปรับปรุงคุณภาพเนื้อและยืดอายุการเก็บเนื้อให้ได้นานขึ้นน่าจะสามารถทำได้เช่นเดียวกันกับในผลิตภัณฑ์นม จึงมีการศึกษาผลของการใช้เชื้อแบคทีเรีย แลคติกในผลิตภัณฑ์นมและเนื้อเพื่อยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์อื่น ๆ รวมทั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้ผลิตภัณฑ์นมและเนื้อเน่าเสีย ซึ่งรวมถึงจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคด้วย สารที่แบคทีเรียแลคติกผลิตออกมาเพื่อยับยั้งจุลินทรีย์กลุ่มอื่นๆ ได้แก่ สารปฏิชีวนะ เช่น ไนซิน (nisin) และไดโพคอกซิน (diplococcin) ซึ่งผลิตโดยแบคทีเรียแลคติกสกุล *Streptococcus,* ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์, สารที่ไม่ทนความร้อนอื่น ๆ , กรดแลคติกและกรดระเหยบางชนิด ซึ่งมีผู้รายงานว่ากรดระเหยหรือระดับพีเอชเพียงอย่างใดอย่างหนึ่งไม่สามารถทำให้เกิดการยับยั้งการเจริญของเชื้ออื่น ๆ ได้ เมื่อระดับพีเอชสูงขึ้นจาก 4.0 – 5.5 จนเป็นกลางทำให้คุณสมบัติการยับยั้งการเจริญหมดไปเช่นกัน สารประเภทโปรตีน ซึ่งทนอุณหภูมิสูงได้ดี พบว่ามีสารที่ทนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที สารที่ทนอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และสารที่ทนอุณหภูมิ 121 – 125 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 – 60 นาที ซึ่งเมื่อผ่านความร้อนดังกล่าวแล้วสารพวกนี้ยังคงคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์อื่น ๆ ได้ (อรนุช, 2530)

สหรัฐอเมริกาเป็นประเทศแรกที่เริ่มใช้เชื้อแบคทีเรียในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตเนื้อในปี ค.ศ. 1955 Niven และคณะได้แนะนำการใช้ *Pediococcus cerevisiae* เป็นกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกในการหมักผลิตภัณฑ์เนื้อที่ผลิตกันมากในสหรัฐอเมริกาคือไส้กรอก ต่อมาในปี ค.ศ. 1958 American Meat Institute Foundationของสหรัฐอเมริกาได้ยอมรับและอนุญาตให้ใช้กล้าเชื้อ *Pediococcus cerevisiae*ในการหมักไส้กรอก และมีการใช้เชื้อนี้ในโรงงานผลิตเนื้ออย่างกว้างขวางมากขึ้น โดยเรียกว่า “meat starter culture” ซึ่ง Smith และ Palumbo (1981)ได้ให้คำจำกัดความว่าเป็นจุลินทรีย์ที่ยังมีชีวิตซึ่งนำไปใส่ในเนื้อเพื่อปรับปรุงคุณภาพการหมักให้ดีขึ้น และทำให้อาหารหมักที่ได้มีความปลอดภัยต่อการบริโภค Gelliland (1985) ได้รวบรวมคุณสมบัติของกล้าเชื้อที่ดีและรายงายไว้ว่าควรเป็นเชื้อที่เจริญที่ช่วงอุณหภูมิระหว่าง 26.7 -43 องศาเซลเซียส มีความสามารถ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทนเกลือไนไตรท์เข้มข้น 80 – 100 ppmและเจริญได้ดีในที่ที่มีเกลือแกง 6 % ต้องไม่เป็นเชื้อโรค หรือเป็นเชื้อที่ไม่สร้างสารพิษใด ๆ เป็นเชื้อที่ไม่สร้างกลิ่นเน่าเหม็นให้แก่ผลิตภัณฑ์อาหารหมักไม่สร้างเอนไซม์ที่ย่อยโปรตีนและไขมัน ในกรณีที่เป็นแบคทีเรียแลคติกจะต้องเป็นเชื้อชนิด homofermentative ซึ่งจะผลิตกรดแลคติกเป็นส่วนใหญ่จากการใช้น้ำตาลกลูโคส เนื่องจากแบคทีเรียแลคติกกลุ่ม heterofermentative สามารถใช้น้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลที่มีคาร์บอน 6 อะตอมแล้วผลิตสารอื่น ๆ รวมทั้งคาบอนไดออกไซด์ ซึ่งแก๊สดังกล่าวจะไปทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารหมักเกิดการระเบิดและมีกลิ่นรสเปลี่ยนไปจากเดิม จุดประสงค์สำคัญ 2 ประการในการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกในอาหารประเภทเนื้อถือ เพื่อลดระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก และเพื่อยืดอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์เนื้อสดในอุณหภูมิตู้เย็น (RaccachและBaker, 1978)ประโยชน์อื่น ๆ ของการใช้กล้าเชื้อประเภทนี้คือ ทำให้อาหารหมักที่ได้ปลอดภัยจากสารพิษต่าง ๆ เช่น ฮีสตามีน (histamine) ไนโตรซามีน (nitrosamie) และโบทูลินัม (botulinum) ต้น

Hugas และคณะ (1993) ทำการแยกเชื้อแบคทีเรียแลคติกจาก ไส้กรอกหมักแบบแห้ง ของสเปนจากผู้ผลิตทั้งหมด 15 รายได้ทั้งหมด 254 สายพันธุ์พบเชื้อ *L. Sakei* 55%, L .*curvatus* 26%, *L.bavaricus* 11% และ *L. plantarum* 8%พบว่าเชื้อ *L. Sakei* และ*L . curvatus* เป็นเชื้อที่เด่นที่พบในไส้กรอกซาลามีของกรีก Hammes และคณะ (1990) กล่าวว่าเชื้อทั้งสองชนิด เหมาะสำหรับใช้เป็นเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นในการผลิตไส้กรอกหมักแบบแห้ง เพราะมีความสามารถในการแข่งขันสูงระหว่างการหมักโดย *L. Sakei* นั้น สามารถสร้างสารแบคเทอริโอซิน (Schillinger และ Lucke, 1989) ซึ่งสารนี้มีประสิทธิภาพในการป้องกันการเสื่อมเสียในผลิตภัณฑ์เนื้อได้ (Stiles และ Hasting, 1991 ) ต่อมา Garrigaและคณะ (1996) ได้ทำการผลิตไส้กรอกหมักโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นได้แก่ *L. Sakei* 5 สายพันธุ์, *L .curvatus* 4 สายพันธุ์, *L. bavaricus* 2 สายพันธุ์ และ *L. plantarum*1 สายพันธุ์ พบว่า *L. curvatus* CTC435T ทำให้ไส้กรอก มีค่าพีเอชต่ำที่สุด ส่วน *L. plantarum* CTC305 สามารถสร้าง D-lactic acid สูงที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับการทดสอบทางประสาทสัมผัส ที่พบว่ามีกลิ่นกรดแรงที่สุด และจากการเปรียบเทียบระหว่างสายพันธุ์ของเชื้อ *L. curvatus* พบว่า *L. curvatus* CTC371 จะให้กลิ่นหมักและกลิ่นโดยรวมที่ดีและ ไม่มีกลิ่นที่ผิดปกติ Gilliland(1985) ได้รายงานว่า แบคทีเรียแลคติก จะช่วยป้องกันการสะสมของฮีสตามีน (histamine) ในอาหารหมักซึ่งแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษจะเป็นตัวการผลิตสารนี้ โดยเกิดจากดีคาร์บอกซิเลท (decarboxylate) ของสารฮีสติดีน (histidine) ซึ่งมักพบฮีสตามีน (histamine) ในอาหารหมักต่าง ๆ เช่น เนยแข็ง ไวน์ และกะหล่ำปลีหมัก เป็นต้น นอกจากนี้ยังมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาพบว่า อาหารที่หมัก โดยใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก จะปลอดภัยต่อการบริโภคอันเนื่องมาจากสารพิษ เช่น ไนโตรซามีน เนื่องจากแบคทีเรียแลคติกที่มีปริมาณมาก จะผลิตกรดอย่างรวดเร็ว เป็นผลให้ระดับพีเอชของอาหารลดลงอย่างรวดเร็วเช่นกัน ซึ่งจะไปเร่งให้กากไนไตรท์ (residualnitrite) ที่ได้จากการใส่ดินประสิวในอาหารหมักถูกสลายเป็น ไปตรัสออกไซด์ จึงทำให้การสะสมของกากไนไตรท์ลดลง ซึ่งเป็นสาเหตุให้การสะสมไนไตรซามีน ลดลงเช่นกัน นอกจากนี้จากการศึกษาของ Tanaka และคณะ (1980) พบว่า *L. plantarum* สามารถยับยั้งการเจริญของ *C. botulinum* ในเบคอนที่ใส่น้ำตาลซูโครสมากกว่า 0.5 % จึงทำให้สามารถลดปริมาณทอกซินของ *C. botulinum* ในเบคอนได้ และการศึกษาของ Burrowes และคณะ (1986) พบว่าในไส้กรอกที่หมักด้วย *L. plantarum* เพียงชนิดเดียวจะตรวจพบแอซิทอลดีไฮด์ (acetaldehyde) ในขณะที่เมื่อหมักไส้กรอกโดยใช้เชื้อผสมระหว่าง *L. Plantarum* กับ *Leuconostoc* ในอัตราส่วน1 ต่อ 1 จะตรวจพบเอทธานอล

ในระยะเวลาที่ผ่านมาได้มีรายงานถึงการใช้แบคทีเรียแลคติกในผลิตภัณฑ์เนื้อชนิดต่าง ๆ เป็นจำนวนมาก (ตารางที่2.1) และรายงานการศึกษาถึงผลของการใช้เชื้อแบคทีเรียแลคติกในผลิตภัณฑ์เนื้อ ซึ่งส่วนมากจะศึกษาในด้านการปรับปรุงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ให้มีรูปลักษณะที่ดี มีกลิ่น รส และคุณภาพสม่ำเสมอ การลดระยะเวลาในการผลิต การยับยั้งหรือทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้ผลิตภัณฑ์เนื้อนั้นเสีย รวมถึงการยับยั้งและทำลายแบคทีเรียที่เป็นเหตุของโรคอาหารเป็นพิษ (อดิศร, 2533)

Duboisและคณะ(1979) ได้ศึกษาผลของการใช้เชื้อแบคทีเรียแลคติก ในกลุ่มของ *Pediococcus* sp. , *Lactobacillus* sp. และ *Streptococcus* sp.ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 103 ชนิดที่จำแนกได้จากเชื้อโคชำแหละ พบว่าแบคทีเรียที่ถูกยับยั้งโดยเชื้อแบคทีเรียแลคติกส่วนมากจะเป็นกลุ่มแบคทีเรียแรมลบ ส่วนกลุ่มแบคทีเรียแลคติกที่ให้ผลในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆ ได้ดี ได้แก่ กลุ่มของเชื้อ *Streptococcus* sp. โดยเฉพาะ *S. .lactis* จะให้ผลในการยับยั้งเชื้อต่าง ๆ ได้ดีที่สุด

ในปี ค.ศ. 1980 Barthholomew และ Blumer ได้ศึกษาผลของ *L. Plantarum* และ *P. cerevisiae* ในการยับยั้งการเจริญของ*Staphylococcus epidermidis* ที่แยกได้จากแฮม นั้นเกิดพบว่าการเติมเชื้อ*S. epidermidis*ลงในแฮมที่มีกล้าเชื้อ *L. plantarum* จะให้ปริมาณกรดแลคติกที่สูงกว่าและยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. epidermidis* ได้ดีกว่าแฮมที่เติมกล้าเชื้อ *P. Cerevisiae* จึงสรุปว่ากรดที่แบคทีเรียแลคติกทั้งสองชนิดผลิตขึ้น มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. epidermidis* Goepfert และ Chung (1970)ได้ศึกษาถึงผลของการใช้กล้าเชื้อ *P. cerevisiae* หรือ *Lactobacillus* sp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการหมักไส้กรอกพบว่ากล้าเชื้อแบคทีเรีย ที่ใช้สามารถลดค่าพีเอชของไส้กรอกลงอย่างรวดเร็ว ค่าพีเอชที่ต่ำและปริมาณเกลือที่เติมลงไปในไส้กรอกขณะหมักเป็นองค์ประกอบที่สำคัญ ในการยับยั้งหรือทำลาย *S.* Typhimurium ที่เติมลงไปในไส้กรอกก่อนทำการหมัก เช่นเดียวกับการทดลองของ Smithและคณะและคณะ(1975)ซึ่งใช้ *P. Cerevisiae* ผสมกับ *L. plantarum* ในการหมักไส้กรอก Lebanon bologna สามารถทำลายเชื้อ *S.* Dublin หรือ *S.* Typhimurium ได้หมดหลังจากที่หมักไส้กรอกด้วยแบคทีเรียแลคติกผสม ดังกล่าวได้ 4 วัน

ในปีเดียวกัน Smith และคณะ (1975) ได้รายงานถึงผลของ *P. cerevisiae* และ *L. plantarum* ต่อ *S.* Typhimurium ในการหมัก pepperoni โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 แบบคือ 1) หมักโดยใช้แบคทีเรียแลคติกผสม *P. Cerevisiae* และ *L. plantarum*2)หมักด้วยเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่มีอยู่ในธรรม ชาติในเนื้อหมู และ 3) ไส้กรอกที่ไม่มีการหมักโดยเติมเชื้อ *S.* Typhimurium ลงในไส้กรอกให้มีเชื้อเริ่มต้นก่อนทำการทดลอง 10 เซลล์ต่อกรัม พบว่าไส้กรอกที่มีการเติมแบคทีเรียแลคติกผสมสามารถทำลายเชื้อ *S.* Typhimurium ให้ลดลงอย่างช้าๆ ในระหว่างการหมัก เมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักซึ่งเป็นช่วงเวลาที่ทำให้ผลิตภัณฑ์อยู่ในรูปแห้ง ไม่สามารถตรวจพบเชื้อ *S.* Typhimurium ในไส้กรอกที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรียแลคติกผสม ส่วนไส้กรอกที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่มีอยู่ตามธรรมชาติในเนื้อหมูและไส้กรอกที่ไม่ผ่านการหมักนั้นสามารถตรวจพบเชื้อ *S. Typhimurium* อยู่เมื่อสิ้นกระบวนการหมัก โดยที่ค่าพีเอชสุดท้ายของไส้กรอกทั้ง 3 แบบคือ 4.6 5.0 และ 5.7 ตามลำดับ นอกจากนี้ Masters และคณะ (1981) ได้รายงานว่าการใช้*L.plantarum*ปริมาณเริ่มต้น 10 เซลล์ต่อกรัมใน summer sausage พบปัจจัยที่มีผลต่อการลดลงของเชื้อ *Salmonalla* คือจำนวนเชื้อ *Salmonalla* เริ่มต้น ซีโรไทป์ของ *Salmonalla* ที่ปนเปื้อน อัตราเร็วของการหมัก และอุณหภูมิระหว่างการผลิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 2.1 : ผลิตภัณฑ์เนื้อสดและผลิตภัณฑ์เนื้อหมักซึ่งใส่กล้าเชื้อแบคทีเรีย**

| จุลินทรีย์ | ผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก |
|---|---|
| *Pediococcus cereviae* | A. Semi-dry fermented sausages<br>b. summer sausage<br>c. cervelat<br>d. pock roll<br>e. summer style turkey sausage<br>B. Dry Fermented sausages<br>a. dry sausage<br>b. dry turkey sausage<br>c. salami<br>d. pepperoni<br>e. hot bar sausage<br>C. Processed<br>a. country-style ham<br>b. pepperoni<br>c. Genoa |
| *Lactobacillus Brevis* | A. Fresh meat<br>a. minced meat |
| *Lactobacillus plantarum* | A. Semi-dry fermented sausage<br>a. summer sausage<br>B. Dry- fermented sausage<br>a. salami<br>b. European-type dry sausage |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 2.1** : (ต่อ)

| จุลินทรีย์ | ผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก |
|---|---|
| *Lactobacillus plantarum* | C. Processed meat |
| | a. bacon |
| | b. contry-style ham |
| Mixture of *P. cerevisiae* and *L. plantarum* | A. Semi-dry fermented sausage |
| | a. Labanon bologna |
| | b. summer sausage |
| | c. cervelat |
| | B. Dry fermented sausage |
| | a. pepperoni |
| | b. dry tukey sausage |
| | C. Fresh meat |
| | a. mechanically deboned poultry meat |
| | b. ground poultry breast meat |

ที่มา : Smith และ Palumbo (1981)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.4 แบคทีเรียแลคติกในการหมักแหนม

แหนมหรือหมูส้ม เป็นอาหารหมักพื้นบ้านประเภทเนื้อชนิดหนึ่งของไทย ซึ่งนิยมรับประทานกันแทบทุกภาคของประเทศไทย แหล่งผลิตแหนมส่วนใหญ่อยู่ในภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ส่วนประกอบเครื่องปรุงที่ใช้ในการหมักแหนมจะแตกต่างกันไปตามแหล่งผลิตแต่ละแห่ง โดยทั่วไปแล้วจะประกอบด้วยหมูเนื้อแดงสับละเอียด ข้าวเหนียวหรือข้าวเจ้าสุก เกลือป่น ดินประสิว พริกขี้หนู ผงชูรส หนังหมู เครื่องเทศ และเครื่องปรุงรสต่าง ๆ ส่วนในกรรมวิธีการหมักนั้นจะมีลักษณะคล้ายคลึงกัน นิยมทิ้งไว้ 3 – 5 วัน และมักนำมาบริโภคโดยไม่ผ่านการทำให้สุก โดยทั่วไปเครื่องเทศที่เติมลงไปในแหนมมีวัตถุประสงค์อยู่ 2 ประการคือ ประการแรกช่วยให้ผลิตภัณฑ์มีกลิ่นดีขึ้น และประการที่สองเป็นการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์บางชนิด มักนิยมใช้พริกไทยและกระเทียม โดยในกระเทียมมีสาร mustard oil , cinnamic aldehyde และ allicinพริกไทยมีสาร piperidin และ piperine สารเคมีเหล่านี้สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ และพบว่าการใช้กระเทียมในแหนมให้ผลิตภัณฑ์ที่มีปริมาณกรดสูงกว่าแหนมที่ไม่ใช้กระเทียม (ณรงค์ และ ทัศนีย์ , 2527) อย่างไรก็ตามPrice และ Schweigert (1971) กล่าวว่าการใช้กระเทียมเพียง 5 % และพริกไทยเพียง 0.2 % ไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์มากนักอรนุช (2530) และสมบุญ (2518) ได้ทดลองหมักแหนมโดยใช้เกลือ 2, 3, 4 และ 5 % พบว่าแหนมที่ใช้เกลือ 3 % มีผู้นิยมบริโภคมากที่สุด เนื่องจากให้กลิ่นรสที่ดีและมีทั้งรสเปรี้ยวและรสเค็มเหมาะสม จุลินทรีย์ที่พบในชั่วโมงแรก ๆ มักเป็นจุลินทรีย์ที่ติดมากับเนื้อหมู ซึ่งได้แก่ แบคทีเรียที่มีรูปร่างเป็นแท่งและรูปร่างกลม แกรมบวกและแกรมลบ ซึ่งพบทั้งพวกที่สามารถสร้างกรดได้ และพวกที่ทำให้เกิดการเน่าเสียได้

ในการผลิตแหนมตามปกติการคัดเลือกจุลินทรีย์จากธรรมชาติขึ้นกับความเข้มข้นของเกลือ การบรรจุในสภาพที่ปราศจากอากาศ โดยเฉพาะจุลินทรีย์ประเภทแบคทีเรียแลคติกที่เป็นแกรมบวก(จรูญ, 2509 และ สมบุญ, 2518) ซึ่งการผลิตแหนมในประเทศไทย ส่วนใหญ่ยังคงอาศัยแบคทีเรียแลคติกที่มีอยู่ในวัตถุดิบตามธรรมชาติ เช่น เนื้อหมู หนังหมู เครื่องเทศ เครื่องมือ และสภาพแวดล้อมของกระบวนการผลิต ทำให้ไม่สามารถควบคุมชนิดและปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการหมักที่มีคุณภาพดีได้ จึงมักประสบปัญหาต่าง ๆ ในการผลิต เช่น แหนมที่ผลิตแต่ละครั้งมีคุณภาพไม่สม่ำเสมอ คุณภาพและกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์มีความผันแปร ไม่สามารถควบคุมเวลาที่ใช้ในการผลิตให้สม่ำเสมอ รวมทั้งคุณภาพและกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ก็มีความผันแปรไม่สามารถควบคุมเวลาที่ใช้ในการผลิตให้สม่ำเสมอได้ และมีการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกิดโทษค่อนข้างสูง ทั้งนี้เนื่องมาจากการผลิตยังไม่มีการควบคุมที่ดีพอ รวมทั้งสุขลักษณะของการผลิตยังไม่ดีเท่าที่ควร (เปรมศิริ, 2545)

จากการศึกษาของ สมบุญ (2518) พบว่า แบคทีเรียแลคติกมีบทบาทในการหมักแหนม ซึ่งได้แก่ แบคทีเรียสกุล *Pediococcus* และ *Lactobacillus* พบว่าในระยะ 4 วันแรกของการหมักแหนมจะมีเปอร์เซนต์กรดเพิ่มสูงขึ้นซึ่งสัมพันธ์กับการทดลองของพีเอช หลังจากระยะดังกล่าวค่าพีเอชจะคงที่โดยที่จะยังมีการสร้างกรดเพิ่มขึ้น ซึ่งการเพิ่มปริมาณกรดนี้นอกจากจะสัมพันธ์กับค่าพีเอชแล้วยังมีความสัมพันธ์กับจำนวนและชนิดจุลินทรีย์ต่างๆ ในระหว่างการหมักด้วย กล่าวคือ หลังจากหมักได้ประมาณ 24 ชั่วโมง จุลินทรีย์สที่พบในระยะแรกบางชนิดจะเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะพวกที่สามารถสร้างกรดได้ดีและเจริญได้ในที่มีอากาศน้อย ได้แก่ พวก heterofermentative lactobacilli โดยจะเจริญไปพร้อม ๆ กับพวก homofermentative cocci ซึ่งจากการจำแนกพบว่าได้แก่ *P.cerevisiae* และ *Pediococcus* sp. การเจริญของ *Pediococcus* sp. จะเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วในระยะ 3 วันแรก หลังจาก 72 ชั่วโมง ไปแล้วจะพบ homofermentative lactobacilli คือ *L. plantarum* เจริญและสร้างกรด ในขณะที่ยังเหลือ *Pediococcus* sp. อยู่เล็กน้อย จากการศึกษาพบว่าในแหนมวันที่สามารถรับประทานได้คือ วันที่ 4 มีค่าพีเอชต่ำกว่า 4.5 และกรดแลคติกสูงกว่า 0.5 % ซึ่งค่าพีเอชที่ต่ำและเปอร์เซ็นต์กรดสที่สูงจะทำให้จุลินทรีย์บางชนิด รวมทั้งแบคทีเรียโคลิฟอร์มและซาลโมเนลลา (*salmonella* sp.) ไม่สามารถเจริญได้ (สมบุญ, 2518; สุขใจ, 2525) ในขณะที่ *L. plantarum* เจริญและสร้างกรดนั้นตรวจพบ *L. brevis* ซึ่งเป็น heterofermentative rod เจริญไปพร้อม ๆ กัน แต่พบในปริมาณที่น้อยกว่า *L.plantarum*

Tanasupawat และ Daengsubha (1983) ได้แยกเชื้อแกรมบวกที่มีลักษณะเป็นทรงกลมจากแหนมแลจำแนกชนิดโดยอาศัยสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ พบเชื้อ *Pediococcus acidilactici* และ *Pediococcus pentosaceus* ต่อมาได้แยกเชื้อแกรมบวกรูปแท่งจากแหนม และจำแนกชนิดชนิดได้เป็น *Lactobacillus pentosus* และ *L. plantarum* เมื่อเปรียบเทียบการเจริญพบว่า Lactobacillus sp. เจริญได้ในพีเอช 3.5 ในขณะที่ Pediococcus sp. เจริญได้ในพีเอชที่สูงกว่าคือ 4.5 แสดงว่า Lactobacillus sp.ทนกรดมากกว่า ดังนั้นจึงสามารถตรวจพบในแหนมที่ผ่านการหมักแล้วหลายวัน (เรณู, 2539).

H-kittikun และคณะ (1988) ได้เริ่มนำเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นมาเป็นหัวเชื้อในการผลิตแหนม โดยใช้เชื้อแบคทีเรียแลคติกสายพันธุ์เดี่ยว 2 สายพันธุ์ ของ *L. plantarum* ที่แยกได้จากแหนมที่จำหน่ายในตลาดจังหวัดเชียงใหม่ ถึงแม้ว่าการเติมหัวเชื้อบริสุทธิ์จะมีผลในการยับยั้งการเจริญของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

*E. coli* และ *Salmonella* sp. แต่ไม่พบความแตกต่างในการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส เมื่อเปรียบเทียบกับแหนมที่หมักโดยใช้วิธีธรรมชาติ

ในการหมักแหนมที่ทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้องมากกว่า 1 สัปดาห์ จะมีความเปรี้ยวเพิ่มขึ้นมาก และเนื้อสัมผัสของแหนมจะเปลี่ยนไป โดยมีความเหนียวน้อยลง ซึ่งเป็นผลมากจากปฏิกิริยาของเอนไซม์บางชนิดซึ่งเกิดขึ้นในแหนมและกรดที่ผลิตออกมามาก ทำให้เนื้อหมูมีลักษณะยุ่ย ดังนั้นจึงควรเก็บแหนมที่หมักแล้ว 4 – 5 วัน ในที่ที่มีอุณหภูมิต่ำ เพื่อให้เก็บแหนมได้นานมากขึ้น (สมบุญ , 2518) ในการหมักโดยใช้แหนมเก่ามาเป็นกล้าเชื้อ พบว่าเมื่อหมักไปเพียง 24 – 36 ชั่วโมง จะมีกรดเพิ่มขึ้นพอ ๆ กับแหนมซึ่งหมักแบบธรรมชาติโดยไม่เติมแหนมเก่าที่ใช้เวลาหมักถึง 96 ชั่วโมง อย่างไรก็ตามเนื้อสัมผัสของแหนมที่หมักโดยใช้กล้าเชื้อนี้จะไม่มีความเหนียว ซึ่งสมบุญ (2518) ได้อธิบายว่าเป็นผลมาจากการหมักที่เกิดขึ้นในระยะเวลาอันรวดเร็ว รวมทั้งอุณหภูมิที่ใช้ในการหมัก

จากการศึกษาของ Srisomwong (1985) พบว่า การเพิ่มอุณหภูมิทำให้ระยะเวลาในการหมักแหนมลดลง โดยพบแบคทีเรียแลคติกปริมาณมากที่สุดในแหนมที่หมักโดยไม่ใช้กล้าเชื้อ เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งเป็นเวลาเดียวกันกับที่พบในแหนมซึ่งหมักโดยใช้กล้าเชื้อ ส่วนปริมาณสูงสุดของแบคทีเรียแลคติกในแหนมที่ซื้อจากตลาดจะพบหลังจากบ่มได้ 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง โดยตลอดระยะเวลาในการหมัก แหนมที่ใช้กล้าเชื้อจะมีปริมาณแบคทีเรียแลคติกมากกว่าแหนมที่ไม่ใช้กล้าเชื้อไม่มากนัก แต่อย่างไรก็ตามปริมาณกรดแลคติกและค่าพีเอชในแหนม 2 ชนิดก็ยังมีค่าใกล้เคียงกัน

จากการศึกษาของ Inoue และคณะ (1980) โดยทำการแยกเชื้อแบคทีเรียแลคติกจากแหนม พบว่ามีบางสายพันธุ์ที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus*, *Cl. Sporogenes*, *E. coli* ได้ชนิดใดชนิดหนึ่ง ในขณะที่บางสายพันธุ์จะมีผลต่อจุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด ซึ่งพบว่าแบคทีเรียแลคติกจะยับยั้งเชื้อดังกล่าว ได้ดีเมื่อไม่มีแคลเซียมคาร์บอเนตในอาหารเลี้ยงเชื้อ หรือการยับยั้งจะผลดีเมื่อค่าพีเอชของเชื้อน้อยกว่า 6 นอกจากนี้ยังคงพบว่าเมื่อปรับพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียแลคติกให้เป็นกลางจะไม่สามารถยับยั้ง *E. coli* ได้ และจากการศึกษาพบว่า *Lactobacillus* sp. 105 และ *Pediococcus* sp. PC-1 เป็นเชื้อที่มีประสิทธิภาพที่ดีที่สุด คือ สามารถยับยั้งได้ทั้ง *S. aureus*, *Cl. sporogenes* และ *E. coli* แม้จะมีแคลเซียมคาร์บอเนตอยู่ด้วย หรือแม้แต่ในที่ที่มีการควบคุมระดับพีเอชให้อยู่ระหว่าง 6 – 7 ก็ยังพบว่าแบคทีเรียแลคติกทั้ง 2 ชนิด นี้สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อโรคดังกล่าวได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร พระจอมเกล้าลาดกระบัง

## 2.5 แบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมอาหารและแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับเอาหารหมัก

### 2.5.1 เชื้อ*Staphylococcus aureus*

เชื้อ *Staphylococcus* จัดอยู่ใน Family Micrococcaceae เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มักเรียงตัวเป็นกลุ่ม ส่วนใหญ่เป็น Aerobes หรือ Facultative anaerobes เป็นแบคทีเรียที่ให้ผลตรวจ Catalase ออกมาเป็นบวก ติดสีน้ำเงินเมื่อย้อมด้วยสีแกรม และมีผนังเซลล์ประกอบด้วย L-Lysin (จันทร์พร เจริญเกียรติ , 2536)

การแบ่งตัวได้ทั้งตามยาวและตามขวาง เรียงตัวจับเป็นคู่สอง หรือเป็นคู่สี่ บางทีก็อยู่เป็นกลุ่มเรียกว่า Staphyle (ในภาษากรีก แปลว่าพวงองุ่น) ถ้าเพาะเลี้ยงเชื้อนาน ๆ การย้อมสีแกรมอาจเปลี่ยนไป เพราะแบคทีเรียเริ่มขาดคุณสมบัติในการเก็บ Crystal Violet ไว้ในผนังเซลล์ได้ ดังนั้นจึงควรย้อมสีแกรม ขณะที่เพาะเลี้ยงใหม่ ๆ

แบคทีเรียสกุล *Staphylococcus* ประกอบด้วยแบคทีเรีย 20 ชนิด พบว่าที่เกี่ยวข้องกับมนุษย์มี 12 ชนิด แต่ไม่ก่อให้เกิดโรคติดเชื้อได้ทั้งหมดที่เหลืออีก 8 ชนิด พบอยู่ร่วมกับสัตว์และผลผลิตจากสัตว์ โดยปกติ Staphylococci มักเป็น Normal Flora อยู่ที่ผิวของสัตว์ ทั้งชั้นต่ำและชั้นสูง แต่จุลินทรีย์เหล่านี้มักฉวยโอกาส ทำให้เกิดการติดเชื้อ ได้ในสภาวะที่ Host อ่อนแอ (นันทนา อรุณฤกษ์, 2537)

*Staphylococcus* เจริญได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อธรรมดาทุกชนิดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พีเอช 4.8 – 7.4 เชื้อสร้างรงควัตถุได้ดีที่อุณหภูมิประมาณ 20 องศาเซลเซียส ในบรรยากาศที่มีคาร์บอนไดออกไซด์สูงกว่าปกติ แต่ไม่สร้างรงควัตถุในสภาวะที่ไร้ออกซิเจนหรือในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว หากเจริญบนอาหารวุ้นแข็ง โคโลนีจะมีลักษณะกลมนูน ขนาด 1 – 2 มิลลิเมตร

โดยทั่วไป Staphylococci ทนทานต่อสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ ได้ดี เช่น สามารถทนต่อความร้อน 60 องศาเซลเซียส ได้เป็นเวลา 30 นาที และมีชีวิตอยู่ในที่เย็น (4 องศาเซลเซียส) ได้เป็นเวลานานหลายเดือน นอกจากนี้ยังทนต่อฟีนอลและเมอคูริคคลอไรด์มากกว่าแบคทีเรียอื่น ๆ นอกจากนี้ *Staphylococcus* บางสายพันธ์ สามารถสร้างเอนไซม์ Penicililinase (Beta Lactamase) ซึ่งทำให้ดื้อต่อยาเพนิซิลลิน ได้ *Staphylococcus* สามารถหมักย่อยน้ำตาลได้หลายชนิดเกิดเป็นกรดแลกติก แต่ไม่เกิดก๊าซ เชื้อที่สามารถหมักย่อยน้ำตาลแมนนิทอล และเกิดกรด ได้แก่ *Staphylococcus* aureus และ *Staphylococcus* มักพบบริเวณผิวหนังและเยื่อบุเมือก หรือบริเวณลำคอส่วน Oropharynx และ Nasopharynx (นันทนา อรุณฤกษ์, 2537)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

96515

***Staphylococcus aureus***

*Staphylococcus aureus* อยู่ในGenus *Staphylococcus* ค้นพบโดย Kock ในปี 1878 เป็น Gram บวก รูปกลม เป็นแบบทั้งเดี่ยวและคู่ เกาะเป็นสายหรือกลุ่มคล้ายพวงองุ่น เป็นสาเหตุทำให้เกิดฝี หนอง เป็นพวก nonmotile ไม่สร้างสปอร์ เป็นพวก Facultative anaerobes Cell Wall ประกอบด้วย Peptidoglycom and teichoic acid ส่วนใหญ่พบตามผิวหนังหรือเยื่อบุต่าง ๆ เชื้อทนต่ออุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที แต่ถูกทำลายภายใน 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิเดียวกัน (Suwanparadom, 1995)

*Staphylococcus aureus* มีอุณหภูมิในการเติบโต 4 – 46 องศาเซลเซียส ขึ้นกับชนิดของอาหารอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเติบโตคือ 35 – 40 องศาเซลเซียส พีเอชที่เหมาะสมในการเติบโต 7.0 – 7.5 ช่วงพีเอช ในการเติบโต 4.2 – 9.3 พีเอชต่ำสุดในการเติบโตในสภาพมีออกซิเจน 4.8 ในสภาพที่ไม่มีออกซิเจน 5.5 ส่วนใหญ่ในที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ 15 เปอร์เซ็นต์ หรือน้ำดี 40 เปอร์เซ็นต์ $A_w$ ต่ำสุดสำหรับการเติบโตในสภาพมีออกซิเจนประมาณ 0.86 สภาพไม่มีออกซิเจนประมาณ 0.90 ในอาหารสด (นันทนา อรุณฤกษ์, 2537)

*Staphylococcus aureus* สามารถสร้างเอนไซม์ Coagulase ซึ่งสามารถก่อให้เกิดการติดเชื้อกับทุก ๆ บริเวณของร่างกาย การติดเชื้อที่ผิวหนัง อาจทำให้เกิดการติดเชื้ออย่างอ่อนถึงขั้นรุนแรง รวมทั้งการเกิดหนอง และการติดเชื้อในกระแสเลือดรุนแรง การติดเชื้อในกลุ่ม Staphylococci เรียกว่า Scalded-skin Syndrome นอกจากนี้ *Staphylococcus aureus* อาจพบจากการติดเชื้อไวรัส เช่น ไวรัสไข้หวัดใหญ่ และสามารถก่อให้เกิดการติดเชื้อ ในคนที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่องได้ การติดเชื้อในกระแสเลือด (bacteremia) จากเชื้อนี้มักพบอยู่เสมอ และอาจก่อให้เกิดอาการของโรคต่าง ๆ มากมาย เช่น ลิ้นหัวใจอักเสบ ปอดอักเสบ และเป็นหนองเป็นต้น *Staphylococcus aureus* บางสายพันธ์อาจก่อให้เกิดอาหารเป็นพิษ (Food Poisoning) ซึ่งเป็นผลจากการสร้างเอนเทอโรทอกซินได้

นอกจาก *Staphylococcus aureus* ที่ให้เอนไซม์ Coagulase แล้วยังมี *Staph. intermedium* และ *Staph. hyicus* ที่สร้างเอนไซม์ Coagulase ด้วยเหมือนกัน แต่ยังไม่มีรายงานการทำให้เกิดโรคในคน (นันทนา อรุณฤกษ์, 2537)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ถิ่นกำเนิดและแหล่งที่อยู่อาศัยของเชื้อตามธรรมชาติ**

เชื้อ *Staphylococcus aureus* พบทั่วไปในธรรมชาติ แต่ที่เป็นปัญหาก่อให้เกิดการระบาดขึ้นบ่อย ๆ พบว่ามากจากคน แบคทีเรียในกลุ่ม Staphylococci พบตามส่วนต่าง ๆ ของร่างกายมนุษย์และสัตว์ เช่น ในโพรงจมูกของคนปกติ เชื้อ *Staphylococcus* มากกว่าร้อยละ 60 พบในลำคอ ตามผิวหนัง โดยเฉพาะมือ ผม ขน ในอุจจาระ และในคนหรือสัตว์ที่มีบาดแผลหรือมีการอักเสบของอวัยวะ ในวัวพบมากในแม่โคที่เป็นโรคเต้านมอักเสบ (Mastitis) (สุมณฑา วัฒนสินธุ์ , 2543)

**การทำให้เกิดโรค** (นันทนา อรุณฤกษ์, 2537)

เชื้อนี้ทำให้เกิดโรคโดยการบุกรุก แพร่กระจายเข้าไปในเนื้อเยื่อของร่างกาย และมีความสามารถสร้างสารพิษ และเอนไซม์ต่างๆ ที่เป็นอันตรายต่อร่างกายได้แก่

1. Hemolysins ที่เรียก Staphylolysins เป็นสารประกอบที่เชื้อปล่อยออกมาภายนอกเซลล์ สามารถถูกทำลายด้วยความร้อน ออกฤทธิ์ที่เยื่อหุ้มเซลล์ และมีคุณสมบัติเป็นแอนติเจน

Alpha-hemolysin เป็นโปรตีนน้ำหนักโมเลกุล 3x10 มีคุณสมบัติทำลายเม็ดเลือดแดงกระต่ายและทำลายเกร็ดเลือด (Platelets) ได้ เมื่อนำไปฉีดเข้าใต้ผิวหนังกระต่าย ทำให้เกิดการอักเสบอย่างรุนแรง และทำให้เนื้อเยื่อส่วนนั้นเน่าตาย หากฉีดเข้ากระแสเลือด ทำให้สัตว์ทดลองนั้นตายได้

Beta-hemolysin สามารถทำลายเม็ดเลือดแดงแกะแต่ ไม่สามารถทำลายเม็ดเลือดแดงของกระต่าย จะเห็นคุณสมบัตินี้เมื่อเลี้ยงบน Blood agar

Delta-hemolysin เป็นพวก phospholipids มีความเป็นพิษต่อเม็ดเลือดขาว และต่อเนื้อเยื่ออื่นหลายชนิด

Gamma- hemolysin มีฤทธิ์ น้อยกว่าชนิดอื่น ไม่ค่อยมีความสำคัญในการทำให้เกิดโรค

Epsilon-hemolysin พบใน *Staph. epidermidis*

2. Leukocidin (Panton-Valentine Leukocidin) ออกฤทธิ์ทำลายเม็ดเลือดขาวของสัตว์หลายชนิดละลายน้ำได้มีคุณสมบัติเป็นแอนติเจน ถูกทำลายด้วยความร้อนง่ายกว่า Exotoxin ส่วนบทบาทในการทำให้เกิดโรคยังไม่ทราบแน่ชัด

3. Enterotoxin เชื้อ *Staphylococcus aureus* บางสายพันธุ์ สามารถสร้าง Enterotoxin ซึ่งเป็นสารที่ละลายน้ำได้ เชื้อสร้างสารดังกล่าวได้ เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกึ่งแข็งกึ่งเหลวในบรรยากาศที่มีคาร์บอนไดออกไซด์สูงประมาณ 30% Enterotoxin เป็นโปรตีนที่สามารถทนต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความร้อน 100 องศาเซลเซียส ได้นานประมาณ 30 นาที ทนต่อเอนไซม์ในกระเพาะอาหาร สารนี้เป็นสาเหตุของอาการอาหารเป็นพิษในคน

4. Coagulase เชื้อ *Staphylococcus* ที่ทำให้เกิดโรคในคนส่วนมาก สร้างเอนไซม์ Coagulase ซึ่งทำให้พลาสมา แข็งตัวได้ 2 ชนิด คือ

Bound Coagulase (comping Factor) เชื่อว่าเป็น Receptor ที่จะมีปฏิกิริยากับ Fibrinoge ในพลาสมาทำให้เลือดแข็งตัว

Free Coagulase เอนไซม์นี้จะทำให้พลาสมาแข็งตัว ทำให้ร่างกายของไม่สามารถกำจัดเชื้อด้วยเม็ดเลือดขาวได้ โดยที่เอนไซม์ จะไปจับกับ Coagulase Reacting Factor (CRF) ในพาสมา ทำให้โปรทรอมบิน(Prothrombin) เปลี่ยนไปเป็นทรอมบิน (Trombin) และไฟบริโนเจน (Fibrinogen) เปลี่ยนไปเป็น ไฟบริน (Fibrin) ทำให้เลือดแข็งตัว ทำให้เม็ดเลือดขาวไม่สามารถจับทำลายเชื้อได้

5. Hyaluronidase เป็นเอนไซม์ที่ช่วยในการบุกรุกเนื้อเยื่อได้ดี (Spreading Factor) เนื่องจากเอนไซม์นี้จะไปทำลายHyaluronic acidซึ่งเป็นสารเชื่อมเซลล์ ให้ติดต่อกันเป็นเนื้อเยื่อ

6. Exfoliatin (Epidermolysin) เป็นสารพิษที่พบมาเมื่อไม่นานนี้ โดยส่วนใหญ่สร้างโดย *Staph. aureus* Phase type 2 สารพิษดังกล่าวทำให้เกิดอาการหลุดลอกของหนังกำพร้าทั่วร่างกาย (Scalded Skin Syndrome) โรคนี้มักพบในเด็ก และผู้ใหญ่ที่มีภูมิต้านทานต่ำ

7. Penicillinase(Bata-Lactamase) เป็นเอนไซม์ ที่ทำให้เชื้อดื้อยากลุ่มเพนนิซิลลิน โดยที่เอนไซม์นี้จะทำลายBata-Lactam ring

**สารพิษจากเชื้อ*Staphylococcus aureus* (Staphylcoccal Intoxication)**

จันทร์พร เจริญเกียรติ (2536) รายงานว่า *Staphylococcus aureus* เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ เกิดจากการรับประทานอาหารที่มีสารพิษ (Enterotoxin) ซึ่งสร้างขึ้นโดยเชื้อนี้ ผู้ป่วยจะมีอาการคลื่นไส้ ต่อมน้ำลายขับหลั่งน้ำลายออกมาในช่องปากมากกว่าปกติ ขณะเดียวกันก็มีอาการอาเจียน ปวดเกร็งหน้าท้อง และท้องเสีย มักถ่ายอุจจาระมากกว่า 3 ครั้ง ลักษณะอุจจาระเป็นน้ำ ปนมูก (Mucoid Water Faeces) อาจมีเลือดปน ในกรณีถ่ายออกมาก ส่วนมากไม่มีไข้ ในรายที่รุนแรง จะมีอาการหนาว ตัวเย็น เหงื่อออกมาก ปากแห้ง ผิวแห้ง อ่อนเพลีย เป็นตะคริวตามกล้ามเนื้อ โดยเฉพาะกล้ามเนื้อขา อาการของโรคอาหารเป็นพิษจากเชื้อ *Staphylococcus aureus* ตามปกติเกิดขึ้นในเวลาอันสั้น เพียง 30 นาที ถึง 8 ชั่วโมง ภายหลังบริโภคอาหารที่มีสารพิษของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

*Staphylococcus aureus* เข้าไป ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปริมาณสารพาที่คนบริโภคเข้าไป ในรายที่รุนแรง อาการอาจคงอยู่ถึง 48 ชั่วโมงได้ อัตราตายจากโรคนี้ค่อนข้างต่ำ แต่ก็ยังมีบันทึกรายงานการเสียชีวิตจากโรคนี้หลายครั้ง ปริมาณสารพิษที่ทำให้เกิดอาการของโรคอาหารเป็นพิษ จากเชื้อนี้อาจมีปริมาณน้อยกว่า 1 ไมโครกรัม และจากการตรวจสอบอาหารซึ่งเป็นสาเหตุของโรคนี้ พบว่าปริมาณสารพิษในอาหาร มีตั้งแต่ 0.01 ถึง 0.9 ไมโครกรัม ดังนั้นสารพิษจากเชื้อนี้ นอกจากจะทนต่อความร้อนสูงแล้ว ยังมีความรุนแรง สามารถก่อโรคได้แม้จะมีปริมาณน้อยมาก

สุมณฑา วัฒนสินธุ์ (2543) กล่าวว่า อาหารเป็นพิษจากเชื้อ *Staphylococcus aureus* เกิดขึ้นได้บ่อยครั้งในสหรัฐฯ ระหว่างปี ค.ศ. 1972 – 1978 พบว่าร้อยละ 25.8 ของการระบาดจากเชื้อโรคอาหารเป็นพิษที่เกิดในสหรัฐฯ มีสาเหตุมาจากเชื้อ *Staphylococcus* และจนทุกวันนี้เชื้อนี้ก็ยังเป็นปัญหาในอุตสาหกรรมการผลิตและจัดการบริการอาหาร

เชื้อ *Staphylococcus* aureus หลายสายพันธุ์ทำให้เกิดการอักเสบขึ้นตามผิวหนังและร่างกายของมนุษย์และสัตว์ ส่วนโรคอาหารเป็นพิษเกิดจากการบริโภคสารพิษ (Enterotoxin) ที่เชื้อ *Staphylococcus aureus* สร้างขึ้นสารพิษนี้จำแนกออกได้หลายชนิด แต่ละชนิดมีความรุนแรงแตกต่างกัน

นอกจากนี้เชื้อนี้ยังสามารถสร้างเอนไซม์พวก Lipase และ Protinase ทำให้การแพร่กระจายของโรคมากขึ้นได้อีกด้วย (นันทนา อรุณฤกษ์ , 2537)

**อาหารที่เกี่ยวข้อง** (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2543)

เชื้อ *Staphylococcus aureus* สามารถเจริญได้ดีในอาหารหลายชนิดโดยเฉพาะอาหารที่มีโปรตีนหรืออาหารที่ประกอบด้วยส่วนผสมหลายชนิด และมีช่วงพีเอชที่เหมาะสม อาหารที่ใช้มือในการสัมผัสโดยตรง เป็นอาหารที่เสี่ยงต่อการเกิดโรคอาหารเป็นพิษจาก *Staphyiococcus aureus* แบคทีเรียชนิดนี้สามารถเจริญเติบโตบนอาหารที่มีเกลือแกง และ/หรือมีน้ำตาลสูง เชื้อนี้เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 35 – 37 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ยังสามารถเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิที่กว้างมาก คือ 6 – 48 องศาเซลเซียส ในธรรมชาติเชื้อ *Staphylococcus aureus* เจริญแข่งขันกับเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ได้ไม่ดี แต่ในอาหารที่มีเกลือแกงสูงกว่าปกติ (ร้อยละ 10) ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์ส่วนมากไม่สามารถเจริญได้แต่เชื้อ *Staphylococcus aureus* กลับเจริญได้ดี ทั้งนี้เพราะเชื้อนี้ทนเกลือได้ดี กว่าอาหารที่เคยพบ ว่าเป็นสาเหตุทำให้เกิดการระบาดของเชื้อ *Staph. aureus* คือ

- เนื้อคล้ายแฮม คอนบีฟ ไส้กรอกซาลามี เบคอน หมู และไก่บาร์บิคิว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- สลัดต่าง ๆ
- ผลิตภัณฑ์ขนมอบ เช่น เอแคลร์ โดนัท และพาย
- อาหารประเภทเนื้อและนมหมัก (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2543)
- แหนม (ควงดาว วงศ์สามาตร์ และคณะ, 2537)

การป้องกัน

เนื่องจากเชื้อ *Staphylococcus aureus* มาจากผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ และจากคนที่ทำหน้าที่จัดบริการอาหาร จึงเป็นการยากที่จะกำจัดเชื้อนี้ออกไปอย่างสิ้นเชิง จากห่วงโซ่อาหาร สารพิษที่เชื้อสร้างขึ้นทนต่อความร้อน ความร้อนที่ใช้หุงต้มอาหารหรือความร้อนที่ใช้พาสเจอร์ไรซ์อาหารนั้นไม่เพียงพอที่จะทำลายสารพิษนี้ การป้องกันที่ดีที่สุดคือป้องกันมิให้เชื้อ *Staphylococcus aureus* เจริญ จนสร้างสารพิษขึ้นมามากในอาหาร หรือควบคุมปัจจัยต่าง ๆ ที่เอื้อต่อการสร้างสารพิษของ *Staphylococcus aureus* นั่นเอง (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2543)

นอกจากนี้แล้ว อาการลำไส้อักเสบ (Gastroenteritis) ก็เป็นโรคในทางเดินอาหารที่เกิดจาก *Staphylococcus aureus* มักเกิดในผู้ป่วย ซึ่งใช้ยาปฏิชีวนะนานๆ หรืออยู่ในภาวะที่ทำให้เชื้อจุลชีพประจำถิ่นถูกทำลาย ทำให้เชื้อนี้กลายเป็นกลุ่มแบคทีเรียส่วนมากของทางเดินอาหาร ซึ่งอาการมักจะรุนแรงกว่า อาการของโรคอาหารเป็นพิษมาก ได้แก่ อาการท้องร่วงอย่างรุนแรง อ่อนเพลียมาก หอบ มีไข้ คลื่นไส้ อาเจียน ท้องอืดมาก และอาจมีอาการช็อคร่วมด้วย ซึ่งโรคนี้มักทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิตอย่างรวดเร็ว ส่วนรายงานการเกิดโรคอาหารเป็นพิษ พบว่า อาหารที่มักเป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษ จากเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้แก่ เนื้อ หมู ปลา ขนมหวาน ส้มตำ และอาหารหมักหลายชนิด เช่น ขนมจีน ปลาจ่อม และแหนม เป็นต้น (จันทร์พร เจริญเกียรติ, 2536)

*Staphylococcus aureus* สามารถทนต่อยาปฏิชีวนะ จำพวก Penicillin และ Amoxicillin ผสมกับ Clavulanic (Acco *et al.*, 2003)

หากมีปริมาณเชื้อ *Staphylococcus aureus* มากถึง 10 เซลล์ เชื้อจะสร้างสารพิษที่ทนความร้อนได้สูงมาก แม้จะผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิสูง อย่างเช่น หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ อาหารกระป๋อง ซึ่งทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้ แต่ไม่สามารถทำลายสารพิษนี้ได้ (สุวิมล กีรติพิบูลย์,2543)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**2.5.2 เชื้อ *Salmonella* Anatum**

นันทนา อรุณฤกษ์ (2537) รายงานว่า *Salmonella* เป็นแบคทีเรียสกุลใหญ่ สามารถจำแนกเชื้อโดยการใช้คุณสมบัติ แอนติเจน และแบคเทอริโอฟาจ ได้กว่า 1,900 ชนิด และสามารถแบ่งเชื้อได้เป็น 41 กลุ่ม จาก A-Z และ 51 – 56 โดยO-Ag,Viแบ่งได้เป็น ซีโรไทป์ต่างๆ กว่า 2,200 ชนิด เนื่องจากมีการให้ชื่อมากมายนับพันชื่อ ปัจจุบัน Center for Disease Control (CDC) ได้ปรับปรุงรายงานเป็นSerotypeมากกว่า บอกชื่อ spicies แต่จะต้องใช้ Antisera เป็นจำนวนมากและยุ่งยาก Clinical Lab ต่าง ๆ จึงไม่อาจแยกแยะ *Salmonella* จนถึง Specific Serotypeได้หมด อย่างไรก็ดี มีผู้เสนอว่าสมควรจัด *Salmonella* เป็น spicie เดียวเท่านั้น แต่เมื่อคำนึงถึงคุณสมบัติทางพันธุกรรม แบ่งเป็น 5 Subspicies แต่อย่างไรก็ตาม จนถึงบัดนี้ การให้ชื่อและการจัดแบ่งกลุ่ม spicie ก็ยังไม่ยุติ เพื่อหาสิ่งที่เหมาะสมและถูกต้องที่สุด

สุมณฑา วัฒนสินธุ์ (2543) รายงานว่า ซัลโมเนลโลซิส (Salmonellosis) เป็นอาการป่วยที่เกิดจากเชื้อ *Salmonella* ชนิดใดชนิดหนึ่งหรือหลายชนิดร่วมกัน ตามสถิติของศูนย์ควบคุมโรคของสหรัฐ (Center for Disease-CDC) แสดงให้เห็นว่า เชื้อ *Salmonella* เป็นสาเหตุทำให้เกิดการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษในสหรัฐฯ ระหว่างปี ค.ศ. 1972 – 1978 สูงเป็นอันดับหนึ่ง คือ ร้อยละ 40.1

เชื้อสกุล *Salmonella* ส่วนใหญ่เคลื่อนที่ได้ บางชนิดมีแคปซูลบางชนิดมีชีวิตอยู่ในอาหารแห้ง ได้นาน เช่น ในนมผง มะพร้าวแห้ง ไข่ เชื้อถูกทำลายเมื่อต้มที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที (นันทนา อรุณฤกษ์, 2537)

Lake และคณะ (2002) กล่าวว่า ที่ 30 องศาเซลเซียส *Salmonella* spp. มีGeneration time 0.74 ชั่วโมง หรือ 44 นาที

*Salmonella* จัดอยู่ในกลุ่ม Non Typhoidal *Salmonella* (อรุณ บ่างตระกูลนนท์ และคณะ, 2546) จากการสำรวจเชื้อ *Salmonella* โดยการตรวจ Rectal Swab ของผู้ประกอบอาหารผู้สัมผัสอาหารในจังหวัดตรัง ระหว่างเดือนตุลาคม 2542 ถึง 2544 พบ *Salmonella* group E,C,B,D และ O คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ คือ 48.15, 33.33, 7.41 และ 3.71 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ทิพวรรณ กังเฮง และสุภาภรณ์ นิยมแก้ว, 2545)

*Salmonella* ที่พบในม้า คือ *S.* Typhimorium, *S.* Newport, *S.* Anatum, *S.* Agona , *S.* Oranienburg (housse *et al.*, 1998)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

*Salmonella* พบได้ทั่ว ๆ ไป เช่นในไก่ โรงฆ่าสัตว์ต่าง ๆ เช่น โค กระบือ อูฐ และจากการรายงานของ Molla และคณะ (2003) พบว่า ในประเทศเอธิโอเปีย ระหว่างปี 1997 – 2000 พบ *Salmonella* Anatumในเนื้อไก่มากที่สุด

Gay (1999)ได้รายงานว่าปริมาณเชื้อ ต่ำสุดที่ได้รับทางปากที่มีผลต่อสุขภาพคือ 10 เซลล์ ซึ่งสนับสนุนการรายงานของ ปรียา วิบูลเสรษฐ์ (2539) ส่วน Tuitemwong และคณะ (2004) กล่าวว่า *Salmonella* ที่ทำให้เกิดการเจ็บป่วย คือประมาณ 10 – 10 เซลล์

**ถิ่นกำเนิดหรือแหล่งที่อยู่อาศัยของเชื้อตามธรรมชาติ** (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2543)

แหล่งที่อยู่อาศัยของเชื้อ *Salmonella* อยู่ในลำไส้ หรือทางเดินอาหารของคนและสัตว์ ด้วยเหตุนี้การล้างมือและฆ่าเชื้อโรค ก่อนปฏิบัติงานที่ต้องมีการสัมผัสอาหารจึงเป็นสิ่งจำเป็น เพื่อลดโอกาสการแพร่เชื้อ อาหารที่ได้จากสัตว์โดยเฉพาะสัตว์ปีก คือ เป็ด ไก่ ไก่งวง เป็นแหล่งที่อยู่อาศัยที่สำคัญของเชื้อ *Salmonella* การปรุงอาหารที่มีส่วนประกอบของสัตว์ปีก จึงต้องทำให้สุกเป็นอย่างดี เพื่อให้เชื้อ *Salmonella* ตายเสียก่อน เป็นการลดความเสี่ยงจากการได้รับ อันตรายจากเชื้อ *Salmonella*

อาหารสัตว์เป็นแหล่งที่อยู่อาศัยของเชื้อ *Salmonella* ที่สำคัญอีกแหล่งหนึ่ง การผลิตอาหารสัตว์ จึงต้องผลิตอย่างถูกสุขลักษณะตามกรรมวิธีการผลิตที่ดี เพื่อลดโอกาสที่เชื้อ *Salmonella* จะปนเปื้อนในอาหาร

**อาหารที่เกี่ยวข้อง** (วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล , 2539)

เชื้อ *Salmonella* แพร่ไปได้ง่ายกับน้ำ อาหาร และสิ่งแวดล้อม เชื้อนี้จึงเป็นปัญหากับอาหารหลายชนิด ซึ่งทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ อาหารที่มักจะพบเชื้อนี้ได้แก่อาหาร ประเภทเนื้อ เช่น พายเนื้อ ไส้กรอก แฮม เบคอน แซนวิช และมักเป็นอาหารที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง นอกจากนี้พบในไก่ ไข่ นม ผลิตภัณฑ์นม ปลา และอาหารทะเล การที่จะเกิดเป็นพิษเนื่องจากอาหารนั้นต้องปนเปื้อนด้วย*Salmonella*และแบคทีเรียนี้เพิ่มจำนวนในอาหาร การเป็นพิษที่เกิดจากแบคทีเรียพวกนี้เรียก ซาโมเนลโลซิส (salmonellosis) ซึ่งมี 3 กลุ่ม คือ ไข้ไทฟอยด์ ซึ่งเกิดจาก *S.* Typhi เป็นชนิดที่ทำให้เกิดความรุนแรงมากที่สุด กลุ่มที่สอง คือไข้ไทฟอยด์ ซึ่งเกิดจาก *S.* Ententidis, *S.* Paratyphi, *S.* Sandai กลุ่มที่สาม คือ ซาลโมแนลโลซิสที่เกิดจาก *S.*Infantis, *S.* Derby เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**อาการของโรค** (สุมณฑา วัฒนสินธุ์ , 2543)

ผู้ได้รับเชื้อโรคอาหารเป็นพิษจากเชื้อ *Salmonella* ตามปกติ จะแสดงอาการป่วยภายหลังจากได้รับเชื้อ 6 – 72 ชั่วโมง แต่โดยทั่วไปอาการจะปรากฏขึ้นภายใน 12 – 36 ชั่วโมง หลังจากได้รับเชื้อ โดยเกิดความผิดปกติในระบบทางเดินอาหาร (Gastroenteritis) อาการทั่วไปคือ ปวดท้อง คลื่นไส้ อาเจียน ท้องร่วง อาจมีไข้และหนาว

นอกจากนี้ยังมีอาการปวดศีรษะ รู้สึกขาดน้ำ อ่อนเพลีย อาการดังกล่าว อาจเป็นอยู่นาน2 – 6 วัน โดยทั่วไปอาการไม่รุนแรงถึงตาย นอกจากจะเกิดกับเด็ก คนชรา หรือคนป่วย ซึ่งไม่แข็งแรงอยู่ก่อนแล้ว

เชื้อ *Salmonella* อาจแพร่ได้หลายทาง เหตุที่เชื้อนี้อาศัยอยู่ในทางเดินอาหารของคนและสัตว์ จึงออกจากร่างกายของคนและสัตว์ทางอุจจาระ และปนเปื้อนกลับเข้ามาอีก ทางสิ่งแวดล้อม ตามปกติเชื้อโรคจะแพร่จากสัตว์ไปสู่คนโดยการบริโภคอาหารที่ทำมาจากสัตว์ที่มีเชื้อ *Salmonella* เชื้อนี้สามารถแพร่จากบุคคลหนึ่งไปยังอีกคนหนึ่งได้และแพร่จากสัตว์ไปสู่คนได้ ซึ่งเป็นลักษณะของโรคติดต่อ ผู้มีเชื้อนี้อยู่ในร่างกายอาจมีอาการปกติเรียกว่าเป็น พาหะ (camer) จะมีความเสี่ยงสูง ถ้าหากบุคคลผู้นี้มีโอกาส เข้ามาทำหน้าที่ผลิตหรือ จัดบริการอาหาร ด้วยเหตุนี้ การผลิตอาหารจึงต้องผลิตตามกรรมวิธีการผลิตที่ดี และต้องมีการดูแลสุขภาพอนามัยของบุคลากรด้วย

***Salmonella* Anatum**

แบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อน ไม่สร้างสปอร์ขนาด 0.7 – 1.5 ยาว 2.0 – 5.0 ไมครอน เป็นพวก Facultative anaerobe โดยมากไม่สร้างแคปซูล (ยกเว้น *S.* Typhi, *S.* Paratyphi) เคลื่อนที่ด้วย Perichous Flagella (ยกเว้น *S.* Pollorum, *S.* Gellinarum) สร้างไฮโดรเจนซัลไฟด์ เป็นจำนวนมากในอาหารที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ (ยกเว้น *S.* Enteritidis, *S.* Parratyphi A, *S.* Choleraesuis ) เชื้อนี้เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 – 43 องศาเซลเซียสและเจริญได้ดีที่สุดที่ 42 องศาเซลเซียส $A_w$ ต่ำสุดสำหรับการเติบโต ประมาณ 0.93 -0.95 สามารถเจริญที่พีเอช 4.5 – 9.0 ดีที่สุดที่ 6.5 – 7.5 เชื้อถูกทำลายที่ 55 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง หรือ 60 องศาเซลเซียส 15 – 20 นาที

**การปนเปื้อนลงสู่อาหาร**

- จากวัตถุดิบที่ปฏิบัติไม่ถูกสุขลักษณะ
- ขั้นตอนในการแปรรูปอาหารไม่เหมาะสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- จากโรงงานที่มีการสุขาภิบาลไม่ดี
- จากพนักงานที่มีสุขลักษณะส่วนบุคคลไม่ดี
- มีสัตว์พาหะ หรือพนักงานที่สัมผัสอาหารที่เป็นพาหะของเชื้อ

*Salmonella* Anatum จัดอยู่ใน Serogroup E1ปริมาณของ *Salmonella* Anatum ที่สามารถเป็นอันตรายเมื่อได้รับโดยทางปากคือมากกว่า 10 เซลล์ (Angulo *et. al.* 1999)

เชื้อ *Salmonella* Anatum เป็นแบคทีเรียที่ก่อโรคในลำไส้มีการตรวจพบเชื้อนี้ในเป็ด (บัญญัติ สุขศรีงาม, 2534) และยังทำให้เกิดโรคทางเดินอาหารเป็นพิษ ในลูกวัวจำนวน 2.2 เปอร์เซ็นต์ จาก 253 ตัวอย่าง พบในช่วงเดือนมิถุนายน 2001 ถึงเดือน มิถุนายน 2002 จากฟาร์ม Giza,Kafr E1-Sheikh และ ฟาร์ม Dakahlea ในประเทศอียิปต์ (Seleim *et al.*, 2002)

จากการเฝ้าระวังความไม่ปลอดภัยในการบริโภคอาหารซึ่งจำหน่ายจากโรงเรียนต่าง ๆ ในกรุงเทพมหานครในระดับมัธยมศึกษาจำนวน 30 แห่งตั้งแต่ปี พ.ศ. 2538 ของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ พบว่าจุลินทรีย์ ที่มีปัญหาในอันดับต้นๆ ได้แก่ ยีสต์, รา, *E. coli*, *Staph. aureus* *C. perfringens*, *Salmonellae*, *B. cereus* และ *V. Parahaemolyticus* ซึ่ง *Salmonella* ที่พบ เป็นเชื้อ *Salmonella* Anatum มากที่สุด และชนิดของอาหารที่พบได้แก่ เย็นตาโฟ ปอเปี๊ยะ บะหมี่แห้ง และยำปลาหมึก เป็นต้น (จุไรรัตน์ รุ่งโรจนารักษ์ และคณะ, 2541) รวมถึงผลิตภัณฑ์แหนม ซึ่งเป็นเนื้อหมักของไทย มีรายงานการตรวจพบเชื้อซาลโมเนลลา สายพันธุ์ดังกล่าวมากในผลิตภัณฑ์ที่วางขายในท้องตลาด(อดิศร เสวตวิวัฒน์ และอรุณ บ่างตระกูลนนท์, 2539), (Swetwiwathana *et al.*, 1994)( ดวงดาว วงศ์สมมาตร์ และคณะ, 2537)

การสำรวจหาแหล่งที่มาของเชื้อก่อโรคอุจจาระร่วงในอาหาร น้ำ ภาชนะ และอุปกรณ์สัมผัสอาหารจากร้านจำหน่ายอาหารในเขตเสี่ยงของเทศบาลนครขอนแก่นที่พบในการระบาดของโรคอุจจาระร่วงอย่างแรงตั้งแต่ปี พ.ศ. 2537 – 2542 โดยเก็บตัวอย่างอาหารจำนวน 124 ตัวอย่าง น้ำดื่มและเครื่องดื่มจำนวน 55 ตัวอย่าง ภาชนะและอุปกรณ์สัมผัสอาหารจำนวน 70 ตัวอย่างรวมทั้งสิ้น 249 ตัวอย่าง จากร้านอาหารและแผงลอยในชุมชนเสี่ยง 5 แห่งของเทศบาลนครขอนแก่น ระหว่างเดือน เมษายน 2543 ถึงเดือน กันยายน 2543 และตรวจวิเคราะห์หาเชื้อแบคทีเรียก่อโรคอุจจาระร่วง ได้แก่ *V. cholerae, V. parahaemolyticus, Salmonella* spp., *Staph. aureus* และ *C. perfringens* โดยวิธีมาตรฐาน ผลการตรวจพบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อโรคอุจจาระร่วง 66 ตัวอย่าง (ร้อยละ 26.5) โดยพบจากอาหาร 31 ตัวอย่าง น้ำดื่มและเครื่องดื่มพบ 9 ตัวอย่าง ภาชนะและอุปกรณ์สัมผัสอาหารพบ 26 ตัวอย่าง เชื้อที่ตรวจพบได้แก่*Salmonella* spp., *C. perfringens* และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

*Staph. aureus* ซึ่งเชื้อ *Salmonella* spp. ที่ตรวจพบ พบว่ามี group E มากที่สุด รองลงมาคือ group C, B และ D ตามลำดับ และเมื่อนำมาศึกษาถึงระดับซีโรวาร์ พบว่ามีทั้งหมด 15 ซีโรวาร์ 42 สายพันธุ์ โดยวีวาร์ที่พบมากที่สุดคือ *Salmonella* Anatum (น้อย ทองสกุลพานิชย์ และสุภาพร เวทีวุฒาจารย์, 2545)

แหล่งของเชื้อ *Salmonella* ส่วนใหญ่จะมาจากสัตว์ที่นำมาเป็นอาหาร ซึ่งทำให้มีผู้ป่วยในประเทศไทย จากการประมาณสูงถึง 630,000 รายต่อปี ซึ่งจากการตรวจตัวอย่างอุจจาระสุกร ของเกษตรกรรายย่อยที่เลี้ยงแบบหลังบ้านในชนบท (อุจจาระสุกรชนบท) จำนวน 114 ตัวอย่าง ตัวอย่างอุจจาระสุกรฟาร์มที่เลี้ยงในระบบอุตสาหกรรม (อุจจาระสุกรฟาร์ม) จำนวน 772 ตัวอย่าง ตัวอย่างเนื้อสุกรจากซุปเปอร์มาเก็ต (เนื้อสุกรธรรมดา) จำนวน 154 ตัวอย่าง และตัวอย่างเนื้อสุกรที่ได้จากการเลี้ยงในโรงเรือนปลอดเชื้อและจำหน่ายในซุปเปอร์มาเก็ต (เนื้อสุกรอนามัย) จำนวน 39 ตัวอย่าง พบเชื้อซัลโมเนลล่า 6.1, 3.1, 77.9 และ 82.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แสดงว่าน่าจะมีการปนเปื้อนเชื้อซัลโมเนลล่า สูงมากบนเนื้อสุกรในขั้นตอน การฆ่า การขนส่ง และ/หรือ การตัดแต่งเนื้อ (ธงชัย เฉลิมชัยกิจ, 2543)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 3
# อุปกรณ์และวิธีทดลอง

## 3.1 อุปกรณ์

3.1.1 ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)

3.1.2 เครื่องกรองจุลชีพ (Millipore filter)

3.1.3 เครื่องปั่น (Bander)

3.1.4 วอร์เทกซ์ มิกเซอร์ (Vortex mixer)

3.1.5 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)

3.1.6 ตู้อบเครื่องแก้ว (Hot air oven)

3.1.7 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)

3.1.8 หม้อนึ่งเชื้อ (autoclave)

3.1.9 เครื่องดูดอากาศ (Bushner vacuum filter)

## 3.2 วัตถุดิบ

3.2.1 ใบโหระพา

## 3.3 เชื้อจุลินทรีย์

3.3.1 *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536

3.3.2 *Pediococcus acidilactici* JCM 5885

3.3.3 *Lactobacilus plantarum* 8014

3.3.4 *Lactobacillus sakei*

3.3.5 *Salmonella* Anatum

3.3.6 *Staphylococcus aureus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.4.1 Man Rogosa Sharpe (MRS)

3.4.2 Trypticase Soy Broth Yeast extract (TSBYE)

## 3.5 สารเคมี

3.5.1 สารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 0.1

3.5.2 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 1

3.5.3 สารละลาย $KH_2PO_4$ pH7.2

3.5.4 ฟีนอฟธาลีนอินดิเคเตอร์

## 3.6 ขั้นตอนและวิธีทดลอง

**3.6.1 ศึกษาผลของสารสกัดโหระพาที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญและการผลิตกรดแลคติกของแบคทีเรียแลคติกในอาหารเหลวในหลอดทดลอง**

3.6.1.1 เตรียมสารสกัดโหระพา ดัดแปลงจากวิธีของ อดิศร (2542) โดยมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

3.6.1.1.1 นำใบโหระพามาล้างน้ำสะอาดแล้วผึ่งให้แห้ง

3.6.1.1.2 บดปั่นให้ระเอียดในBlanderโดยใช้อัตราส่วนใบโหระพาต่อน้ำกลั่นเป็น1 : 2

3.6.1.1.3 กรองผ่านเครื่องดูดสุญญากาศใช้กระดาษกรอง What man No. 1

3.6.1.1.4 ปั่นเหวี่ยงโดยใช้เครื่องปั่นเหวี่ยง Centrifuge โดยมีความเร็วรอบ 5000รอบ/นาทีทำเช่นนี้1ครั้ง15นาที

3.6.1.1.5 กรองโดยใช้เครื่องกรองจุลชีพโดยใช้ Millipore filter 0.45 μm

3.6.1.2 ส่วนใสนำใส่ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ MRS broth โดยเติมสารสกัดโหระพาที่มีความเข้มข้นต่างๆคือ 0%, 1%, 3%, 5% หลังจากนั้นเติมเชื้อเริ่มต้นลงไป 0.1 มิลลิลิตรเขย่าให้เข้าทำการบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสทำการตรวจผลที่เวลา 0, 12, 24, 36, 48 ชั่วโมงทำการนับปริมาณแบคทีเรียแลคติกโดยวิธีการ Pore plate ในอาหาร MRS agar และไปบ่มที่ candle jar ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.6.1.1.6 ตรวจสอบปริมาณกรดของแบคทีเรียแลคติกที่ถูกผลิต โดยคำนวณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในรูปของกรดแลคติก(ตามภาคผนวก ก ) และหาค่าพีเอชโดยใช้เครื่อง pH meter ทำการตรวจ ผลที่เวลา 0, 12, 24, 36, 48 ชั่วโมง

**3.6.2 ศึกษาผลของสารสกัดโหระพาต่อการเจริญของแบคทีเรียอาหารเป็นพิษบางชนิด ในอาหารเหลวในหลอดทดลอง**

3.6.2.1 นำส่วนใสที่ได้จากการสกัดในข้อ 3.6.1.1 นำใส่ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ TSBYEโดยเติมสารสกัดจากโหระพาที่ระดับความเข้มข้น 0% และ 5% หลังจากนั้นเติมเชื้อเริ่มต้นลงไป0.1มิลลิลิตรเขย่าให้เข้ากันทำการบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ทำการตรวจผลที่เวลา 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 ชั่วโมง ทำการนับปริมาณแบคทีเรียอาหารเป็นพิษโดยวิธีการPore plate ในอาหาร TSBYE broth บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 4
# ผลการทดลองและวิจารณ์

**4.1 ผลของสารสกัดโหระพา ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญ และการผลิตกรดแลคติกของแบคทีเรียแลคติกในอาหารเหลวในหลอดทดลอง**

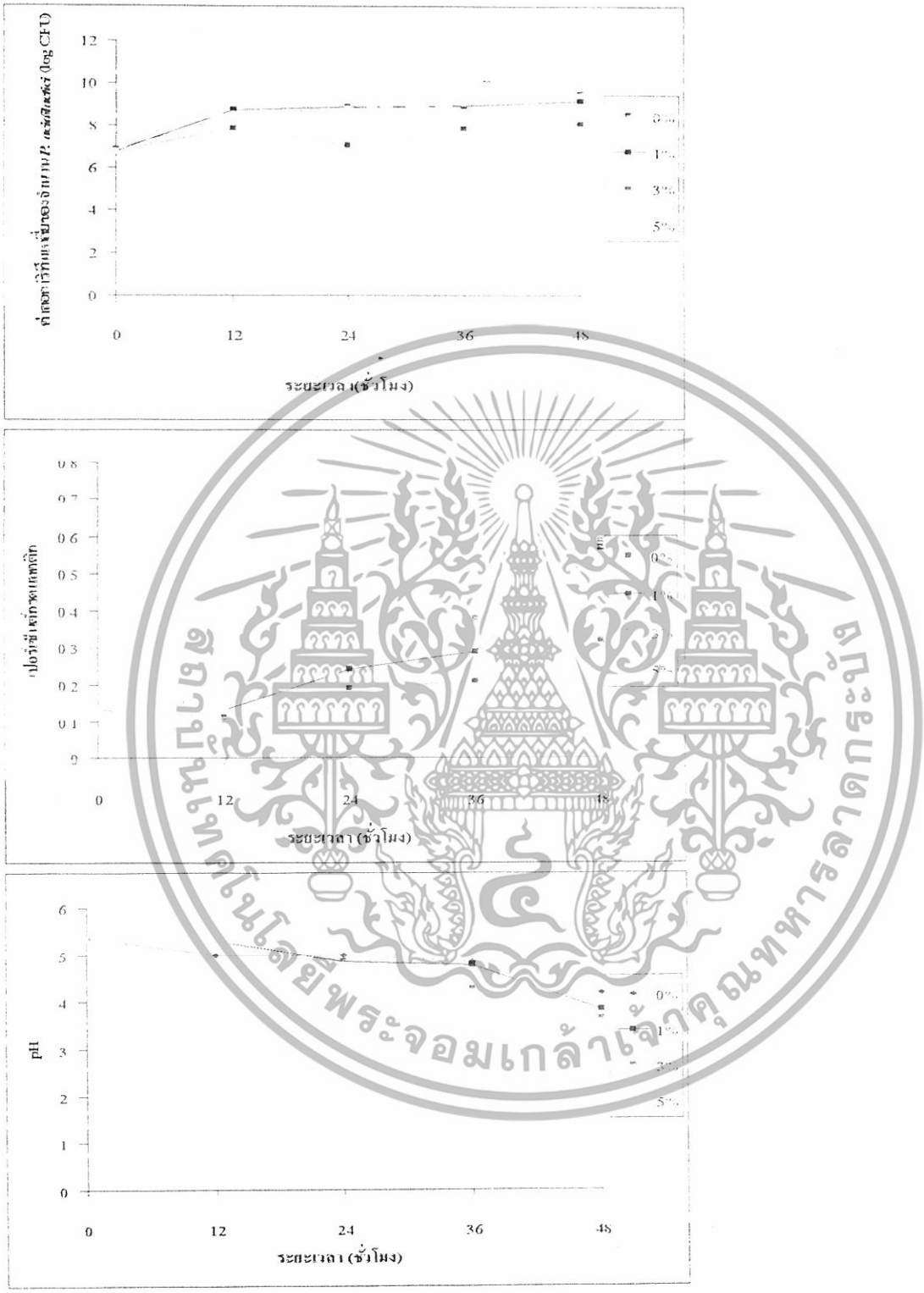
ในการทดลองเติมสารสกัดโหระพาที่ระดับความเข้มข้น 0 %, 1 %, 3 %, 5 % ลงในอาหารเหลว MRS ที่มีการใส่แบคทีเรียแลคติก 3 ชนิด คือ *L. plantarum*, *P. acidilactici* และ *P. pentosaceus* โดยมีจำนวนแบคทีเรียเริ่มต้นเท่ากับ $10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสนาน 48 ชั่วโมง โดยทำการตรวจนับแบคทีเรียแลคติกและปริมาณกรดของ แบคทีเรียแลคติก ที่เวลา 0, 12, 24, 36, 48 ชั่วโมงผลแสดง ดังภาพที่ 4.1-4.3 จะเห็นว่าปริมาณแบคทีเรียแลคติกทุกชนิดเพิ่มขึ้นสูงสุดถึง $10^8$ - $10^{10}$ เซลล์ต่อมิลลิลิตรหลังจากทำการบ่มนาน 48 ชั่วโมง และ ยังพบว่าปริมาณเซลล์ของแบคทีเรียแลคติกในอาหารเหลวที่มีการเติมสารสกัดโหระพามีปริมาณมากกว่าในอาหารเหลวที่ไม่มีการเติมสารสกัด และยังเห็นได้อีกว่าที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดโหระพาที่ 5 % นั้นทำให้ปริมาณเซลล์ของแบคทีเรียแลคติกในอาหารเหลวเพิ่มจำนวนมากขึ้นที่สุด

เมื่อทำการพิจารณาภาพที่ 4.1-4.3 พบว่าอาหารเหลวที่มีการเติมสารสกัดโหระพา มีผลต่อการผลิตกรดของแบคทีเรียแลคติกทั้ง 3 ชนิด เนื่องจากปริมาณกรดในอาหารเหลวที่มีการเติมสารสกัดโหระพาลงไปนั้นมีปริมาณมากกว่าในอาหารเหลวที่ไม่มีการเติมสารสกัด และค่าทำให้ค่า pH ลดลงและยัง เห็นได้อีกว่า ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดโหระพาที่ 5% นั้นทำให้ปริมาณ กรดแลคติก ในอาหารเหลวเพิ่มจำนวนมากขึ้นที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

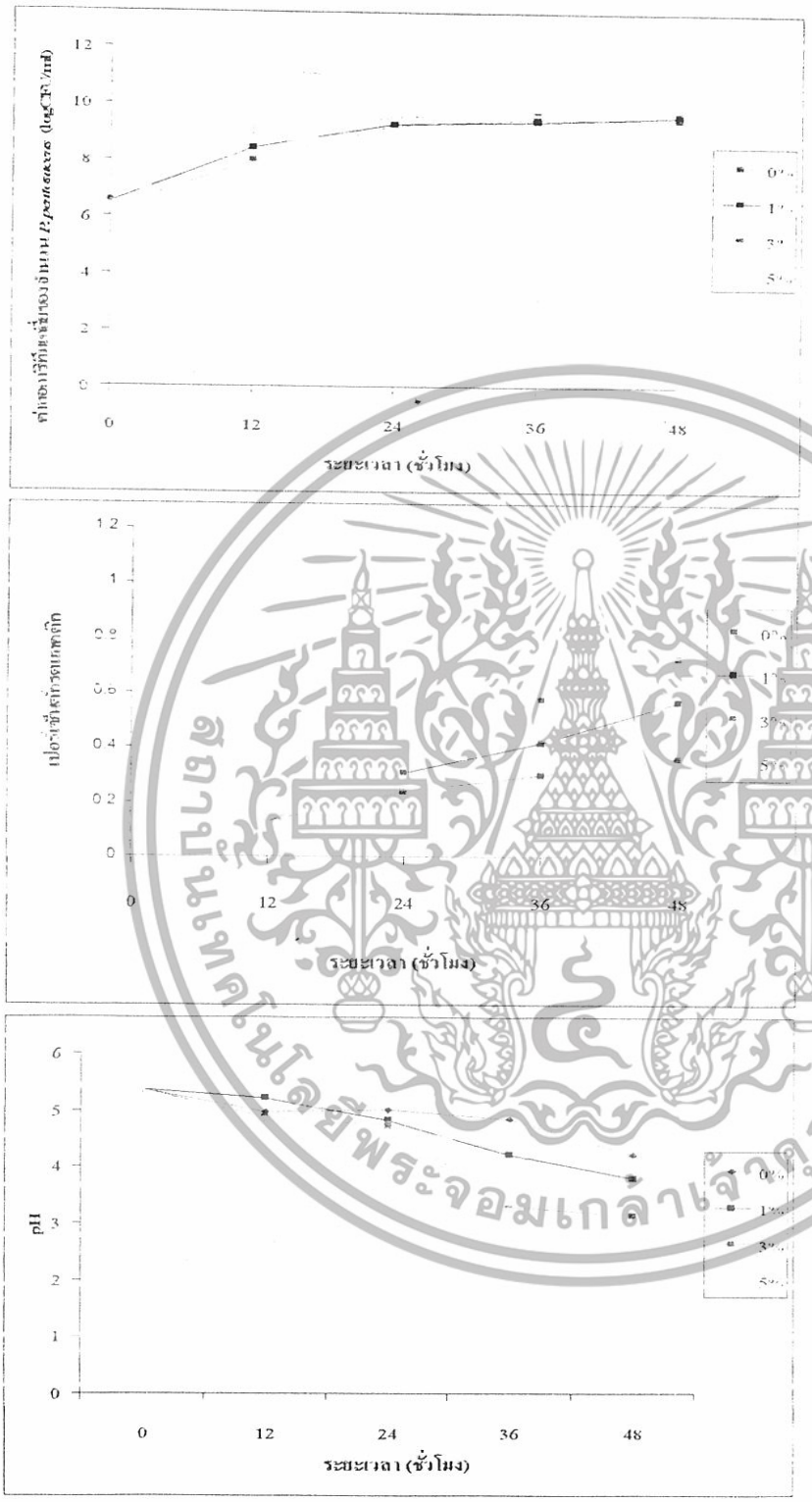
**ภาพที่ 4. 1** : ผลของสารสกัดโหระพาที่ระดับความเข้มข้น 0%, 1%, 3% และ 5% ต่อการเจริญของ *L. plantarum* log CFU / ml (ก.) และต่อการสร้างกรดแลคติก (ข.) รวมถึงผลของ pH (ค.) ใน อาหารเหลว MRS broth

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**ภาพที่ 4. 2** : ผลของสารสกัดโหระพาที่ระดับความเข้มข้น 0%, 1%, 3% และ 5% ต่อการเจริญของ *P. acidilactici* log CFU / ml (ก.) และต่อการสร้างกรดแลคติก (ข.) รวมถึงผลของ pH (ค.) ใน อาหารเหลว MRS broth

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**ภาพที่ 4. 3** : ผลของสารสกัดโหระพาที่ระดับความเข้มข้น 0%, 1%, 3% และ 5% ต่อการเจริญของ *P. pentosaceus* log CFU / ml (ก.) และต่อการสร้างกรดแลคติก (ข.) รวมถึงผลของ pH (ค.) ใน อาหารเหลว MRS broth

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

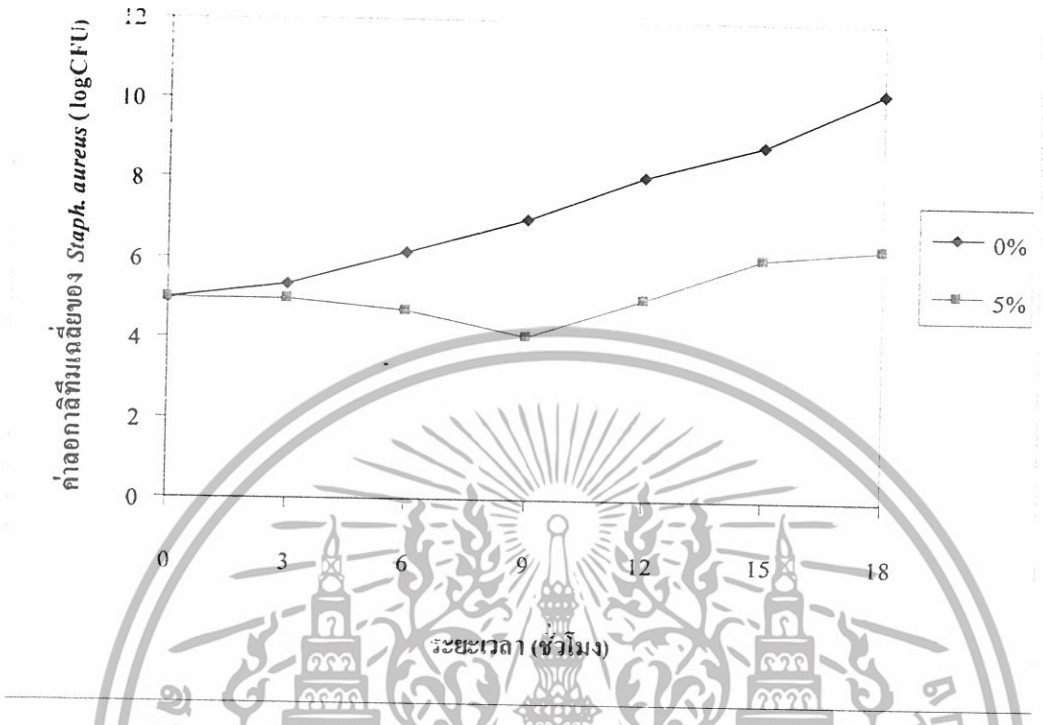
จากการทดลองนี้พบว่าสารสกัดโหระพามีผลต่อการกระตุ้นเจริญ และการผลิตกรดของแบคทีเรียแลคติกทั้ง 3 ชนิดที่ทำการทดลองในอาหารเหลว MRS ได้มีผู้รายงานว่าเครื่องเทศส่วนใหญ่มีผลต่อการกระตุ้นการผลิตกรดโดยแบคทีเรีย Zaika และ Kissinger (1979)ได้พบว่า ขิง พริกแดง มัสตาร์ด ดอกจันทร์ อบเชย และกานพลู มีผลต่อการเจริญและการผลิตกรดของแบคทีเรียแลคติกซึ่งประกอบด้วย *L. plantarum* และ *P. cerevisiae* ในอาหารเหลวนอกจากนี้ (อดิศร, 2542) ได้พบว่าการเติมกระเทียมมีส่วนในการเร่งกระบวนการหมักของเชื้อแบคทีเรียแลคติกในผลิตภัณฑ์เนื้อ โดยไปเร่งการผลิตกรดแลคติกในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักชนิดแห้งรวมทั้งแหนมด้วยการที่โหระพา มีผลในการกระตุ้นการเจริญของแบคทีเรียแลคติก อาจเป็นเพราะในใบโหระพามีสารที่มีประสิทธิ ภาพ ต่อการเจริญของแบคทีเรียแลคติกคือ α-pinene และ linalool (Lawrenceและคณะ, 1971)

## 4.2 ผลของสารสกัดโหระพาต่อการเจริญของแบคทีเรียอาหารเป็นพิษบางชนิดในอาหารเหลวในหลอดทดลอง

จากผลการทดลองที่ 4.1 ในการศึกษาถึงผลของสารสกัดโหระพาที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการเจริญ และ การผลิตกรดแลคติก ของแบคทีเรียแลคติกในอาหารเหลวในหลอดทดลองนั้นแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากโหระพานั้นสามารถกระตุ้นการเจริญ และ การผลิตกรด ของแบคทีเรียแลคติกได้ดังนั้นในการทดลองที่ 4.2 จึงมีการนำสารสกัดโหระพาในระดับความเข้มข้น ที่เหมาะสมซึ่งได้แก่ความเข้มข้นที่ 0% และ 5% (ทำให้ปริมาณกรดแลคติกในอาหารเหลวเพิ่มจำนวนมากขึ้นที่สุด) มาทำการทดสอบต่อการเจริญของแบคทีเรียอาหารเป็นพิษบางชนิด

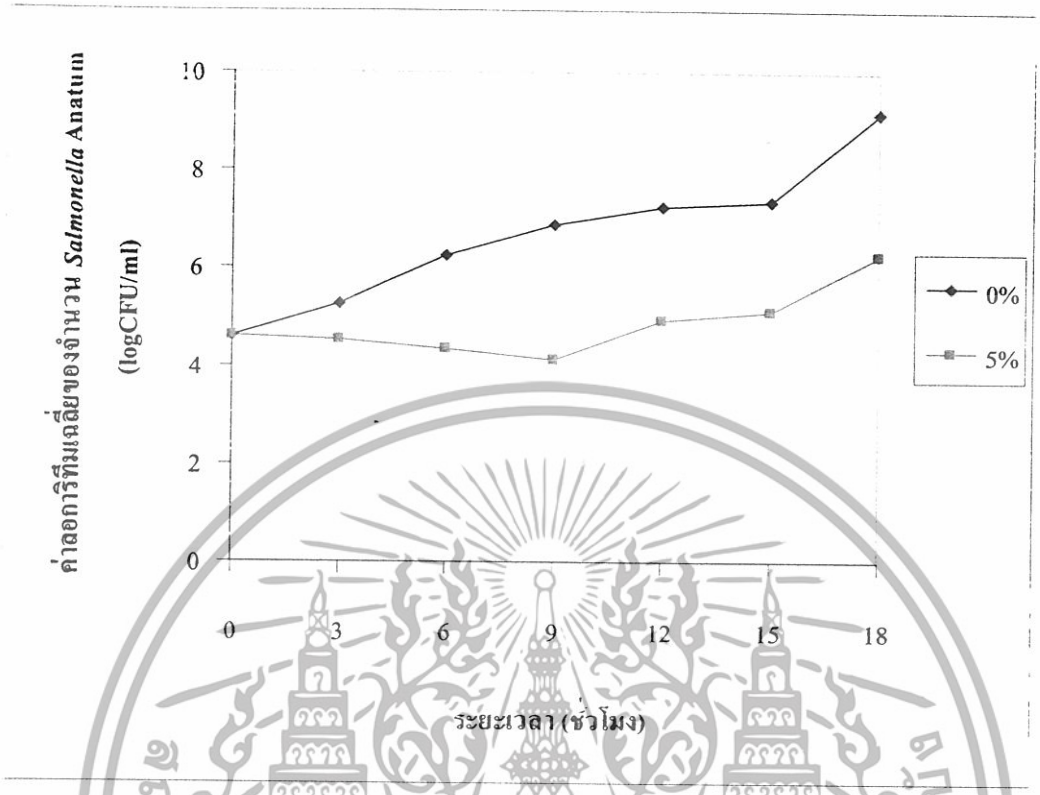
จากการทดลองนำสารสกัดโหระพาที่ระดับความเข้มข้น 0% และ 5% ใส่ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ TSBYE ที่มีแบคทีเรียอาหารเป็นพิษอยู่ ได้แก่ *Staphylococcus aureus* และ *Salmonalla* Anatum โดยมีจำนวนแบคทีเรียเริ่มต้นเท่ากับ $10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 18 ชั่วโมง โดยทำการตรวจนับแบคทีเรียอาหารเป็นพิษที่เวลา 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 ชั่วโมงโดยผลแสดงว่าในอาหารเหลวที่มีการใส่สารสกัดโหระพามีจำนวนแบคทีเรียอาหารเป็นพิษน้อยกว่าแบบไม่ใส่สารสกัดผลแสดงดังภาพที่ 4.4-4.5 โดยที่ระดับความเข้มข้นที่ 5% มีการเพิ่มขึ้นของ แบคทีเรียอาหารเป็นพิษน้อยที่สุด ดังนั้นแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากโหระพาสามารถยับยั้งการเติบโตของแบคทีเรียอาหารเป็นพิษบางชนิดได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




ภาพที่ 4.4 ผลของสารสกัดโหระพาต่อการเจริญของ *Staph. aureus* โดยแสดงผลในรูปของค่าลอการิทึมเฉลี่ยของจำนวนเชื้อ (log CFU / ml)ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดโหระพา 0%, 5%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




ภาพที่ 4.5 ผลของสารสกัดโหระพาต่อการเจริญของ *Salmonalla* Anatum โดยแสดงผลในรูปของค่าลอการิทึมเฉลี่ยของจำนวนเชื้อ (log CFU / ml)ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดโหระพา 0%, 5%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากภาพที่ 4.4-4.5 จะเห็นได้ว่าผลของสารสกัดโหระพาต่อการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษบางชนิดได้แก่ *Staph. aureus* และ เชื้อ *Salmonalla* Anatum ที่แสดงผลในรูปของค่าลอการิทึมเฉลี่ยของจำนวนเชื้อ (log CFU / ml)ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดโหระพา 5% นั้นในชั่วโมงที่ 0, 3, 6, 9 มีจำนวนเซลล์ลดลงและหลังจากนั้น(ชั่วโมงที่12, 15, 18) จำนวนเซลล์ของ มีจำนวนเพิ่มขึ้น อาจเป็นผลเนื่องมาจากเมื่อถึงจุดหนึ่งที่แบคทีเรียเริ่มปรับตัวได้จึงทำให้เซลล์ของแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษบางชนิดเจริญเติบโตขึ้น

จากการทดลองนี้พบว่าสารสกัดโหระพามีผลต่อการยับยั้งการเจริญ ของแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษทั้ง 2 ชนิดที่ทำการทดลองในอาหารเหลว TSBYE ได้มีผู้รายงานว่า กิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยของพืชในตระกูล *Ocimum* นั้นเกี่ยวข้องกับส่วนประกอบสำคัญในน้ำมันหอมระเหยซึ่งได้แก่ linalool และ methychavicol ( Simon และคณะ, 1990)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 5
# สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาผลของสารสกัดโหระพาที่ระดับความเข้มข้นที่0%, 1%, 3%, 5%ต่อการเจริญของแบคทีเรียแลคติกทั้ง3สายพันธุ์คือ*L. pantarum, P. acidilactici*และ*P. pentosaceus* โดยมีจำนวนแบคทีเรียเริ่มต้นเท่ากับ$10^5$-$10^6$เซลล์ต่อมิลลิลิตรจากนั้นบ่ม ที่อุณหภูมิ35องศาเซลเซียสนาน48ชั่วโมง โดยทำการตรวจนับแบคทีเรียแลคติกและปริมาณกรดของแบคทีเรียแลคติกที่เวลา0, 12, 24, 36, 48ชั่วโมงในอาหารเหลวพบว่า สารสกัดโหระพาที่ระดับความเข้มข้น5% สามารถกระตุ้นการเจริญและการผลิตกรดได้ดีที่สุด

สำหรับการศึกษาผลของโหระพาต่อการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษบางชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus* และ *Salmonalla* Anatum โดยมีจำนวนแบคทีเรียเริ่มต้น เท่ากับ $10^4$ เซลล์ต่อมิลลิลิตรจากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสนาน 18 ชั่วโมง โดยทำการตรวจนับแบคทีเรีย อาหารเป็นพิษ ที่เวลา 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 ชั่วโมง ในอาหารเหลวพบว่าจำนวนแบคทีเรียอาหารเป็นพิษน้อยกว่าแบบไม่ใส่สารสกัดโดยที่ระดับความเข้มข้นที่ 5% มีการเพิ่มขึ้นของแบคทีเรียอาหารเป็นพิษน้อยที่สุดดังนั้นแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากโหระพาสามารถยับยั้ง การเติบโตของแบคทีเรียอาหารเป็นพิษบางชนิดได้

จากผลดังกล่าวทำให้สามารถสรุปได้ว่าสารสกัดจากโหระพาที่ระดับความเข้มข้น 5% มีผลต่อการเจริญและการผลิตกรดของแบคทีเรียแลคติกได้ดีที่สุด และยังมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษบางชนิดได้ ดังนั้นโหระพาจึงอาจเป็นอีกหนึ่งทางเลือกในการนำไปเป็นส่วนผสมในผลิตแหนมและผลิตภัณฑ์อาหารประเภทเนื้อหมัก ซึ่งจะเป็นการช่วยเพิ่มกลิ่นและรสชาติที่แปลกใหม่ให้แก่ผู้บริโภคและ สารสกัดจากโหระพายังมีผลในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษบางชนิดซึ่งจะเป็นผลในการเพิ่มความปลอดภัยของผู้บริโภค จากจากแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษบางชนิดได้อีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บรรณานุกรม

กิตติชัย โหบาง, ทัศนา แก้วทองมา และ ปฏิมา ติชิตธรรมนิตย์. 2541. การแยกและคัดเลือกแบคทีเรียแลคติกที่ผลิตสารยับยั้งจุลชีพ. โครงงานพิเศษปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขา เทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

จรูญ คำนวณตา. 2509. การค้นคว้าเรื่องแหนมไทยตอนที่หนึ่งว่าด้วยจุลินทรีย์ที่เป็นตัวการในแหนม. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จุไรรัตน์ รุ่งโรจนารักษ์, มัณฑนา พันธ์บัวหลวง และ สมภพ วัฒนมณี. 2541. สุขลักษณะความปลอดภัยของอาหารพร้อมบริโภคจากโรงเรียนในกรุงเทพมหานคร. วารสารส่งเสริมสุขภาพและอนามัยสิ่งแวดล้อม. ปีที่ 21 ฉบับที่ 1 มกราคม- มีนาคม 2541.

จันทร์พร เจริญเกียรติ. 2536. การศึกษาชนิดของฟาร์กและสภาวะการเจริญของ *Staph. aureus* ที่ได้จากการแยกปลาร้าและกะปิในความเข้มข้นของเกลือ และ ความเป็นกรดระดับต่างๆ. ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต(สาขาวิชาสาธารณสุขศาสตร์) สาขาวิชาเอกโรคติดเชื้อ. บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยมหิดล.

ดวงดาว วงศ์สมมาตร, นงคราญ เรืองประพันธ์, จุรีภรณ์ บุญวงศ์วิโรจน์, น้อย ทองสกุลพานิชย์ และ จุไรรัตน์ รุ่งโรจนารักษ์. 2537. พยาธิและเชื้อโรคอาหารเป็นพิษในแหนม. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 36(3): 163-167.

ทิพวรรณ กังแฮ และ สุภาภรณ์ นิยมแก้ว. 2543. การเฝ้าระวังโรคอุจจาระร่วง ในผู้สัมผัสอาหารในเทศการกินเจของจังหวัดตรังระหว่างปี พ. ศ. 2542-2544. วารสารวิชาการสาธารณสุขปีที่ 11 ฉบับที่4 กรกฎาคม- สิงหาคม.

ธงชัย เฉลิมชัยกิจ. 2543. อุบัติการณ์และการดื้อยาของเชื้อ แซลโมเนลลา ที่ปนเปื้อนในเนื้อไก่ และเนื้อสุกร. ศูนย์ติดตามการดื้อยาของเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ (โดยความร่วมมือขององค์การอนามัยโลก. คณะเภสัชศาสตร์. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ธนพันธุ์ เมธาพิทักษ์. 2537. เครื่องเทศ ชุดสมุนไพร. กรุงเทพ. หอสมุดกลาง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 09.

ณรงค์ นิยมวิทย์ และทัศนีย์ โรจนไพบูลย์. 2527. การผลิตแหนมไส้กรอกอีสาน และปลาส้มแห้ง. โครงการวิจัยที่ คช. 126 ภาควิชาคหกรรมศาสตร์ คณะเกษตรมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

นันทนา อรุณฤกษ์. 2537. การจำแนกแบคทีเรียกลุ่มแอโรปส์. ภาควิชาจุลชีววิทยา. คณะวิทยาศาสตร์ . มหาวิทยาลัยบูรพา.

นันทวัน บุญยะประภัศร และ อรนุช โชคชัยเจริญพร. 2547. สมุนไพรไม้พื้นบ้าน. คณะ เภสัชศาสตร์. มหาวิทยาลัย มหิดล.

น้อย ทองสกุลพานิชย์ และ สุภาพร เวทีวุฒาจารย์. 2545. การปนเปื้อนของเชื้ออุจจาระร่วง ในอาหาร น้ำ ภาชนะ และอุปกรณ์สัมผัสอาหารจากร้านขายอาหารในเขตเสี่ยงของเทศบาลนครขอนแก่น. วารสารสำนักงานควบคุมโรคติดต่อเขต 6 ขอนแก่น. ปีที่ 9. ฉบับที่ 4 กรกฎาคม-กันยายน หน้า 25- 32.

บัญญัติ สุขศรีงาม. 2534. จุลชีววิทยาทั่วไป. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา. พิมพ์ครั้งที่ 3 โอ. เอส. พริ้นติ้งเฮ้าส์. กรุงเทพมหานคร.

ปรียา วิบูลเศรษฐ์. 2539. การเน่าเสียของอาหาร. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะ อุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. พิมพ์ครั้งที่ 1.

เปรมศิริ โรจน์สัจจะกุล. 2545. ผลของปริมาณโซเดียมไนไตรท์และเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น *Latobacillus curvatus* ต่อการเกิดสารระเหยในแหนม. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

รดีกร ฉัตรทอง. 2543 การศึกษาแบคทีเรียแลคติกจากไซเลดที่แสดงกิจกรรม B-Galactosidase และลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ. 2540. พืชเครื่องเทศและสมุนไพร. กรุงเทพ. โอเอส. พรินท์ติ้งเฮาส์.

เรณู ทวิปชาติวิทยานุกูล. 2539. ผลของเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นผสมในการหมักแหนมต่อการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* Typhimurium และ *Salmonella* Anatum. วิทยาศาสตร์ปริญญาวิทยาศาสตร์ มหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล. 2539. จุลินทรีย์ที่มีความสำคัญด้านอาหาร. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. พิมพ์ครั้งที่ 1. โอ. เอส. พริ้นติ้งเฮ้าส์. กรุงเทพมหานคร.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

สุขใจ โสมะจิติ. 2525. การสำรวจโรคลำไส้บางชนิด. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2543. ความปลอดภัยของอาหาร(การใช้ระบบ HACCP). สมาคมส่งเสริมเทคโนโลยี(ไทย-ญี่ปุ่น). พิมพ์ครั้งที่ 2 . (ปรับปรุงครั้งที่ 1.). กรุงเทพมหานคร.

สุวิมล กีรติพิบูรณ์. 2543. GMP ระบบการจัดการและควบคุมการผลิตอาหารให้ปลอดภัย. ภาควิชา เทคโนโลยีทางอาหาร. คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. พิมพ์ครั้งที่1. สำนักพิมพ์ ส. ส.ท. กรุงเทพมหานคร.

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

สิริลักษณ์ สำราญบำรุง. 2548. ผลของสารสกัดบัวบกต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella Anatum* และเชื้อแบคทีเรียแลคติกบางชนิด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

อรุณ บ่างตระกูลนนท์, ศรีรัตน์ พรเรืองวงศ์, นพรัตน์ หมานริม และชัยวัฒน์ พูลศรีคาญจน์. 2546. การดื้อยาของเชื้อ Non Typhoidal *Salmonellla* จากผู้ป่วยและผู้ป่วยที่เป็นพาหะในประเทศไทย ระหว่างปี 2000 – 2002. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์ กระทรวงสาธารณสุข. กรุงเทพมหานคร.

อรนุช อุตรภิชาติ. 2530. การคัดเลือกแบคทีเรียแลคติกที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแซลโมเนลลาและการผลิตกล้าเชื้อผงที่ใช้ในการหมักแหนม. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์กรุงเทพมหานคร.

อดิศร เสวตวิวัฒน์. 2533. ผลของการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียต่อซาลโมเนลลาในการหมักแหนม. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทายาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อดิศร เสวตวิวัฒน์ และอรุณ บ่างตระกูลนนท์. 2539. ประสิทธิภาพของ Salmosyst และอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ Rambach agar ต่อการตรวจหาซาลโมแนลลาในแหนม. การประชุมวิชาการครั้งที่ 34. สาขาสัตวแพทย์ศาสตร์ มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์. หน้า 272-279

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

Acco, M., Ferreira, F.S., Henriques, J.A.P. and Tondo, E.C. 2003."Identification of Multiple Strains of *Staphylococus aureus* Colonizing Nasal Mucoza of Food Handlers". Food MIcrobiol. 20: 483-493.

Angulo, F. j., Tauxe, R.V. and Cohen, M. L. 1999. "Significance and Sources of Antimicrobial – Resistant Nontyphodial *Salmonella* Infection in Human in the United states : The Need for Prudent Use of Antimicrobial Agents, Including Restricted Use of Fluoroguinalones, in Food Animals"Foodborne and diarrheal Diseases Branch/Nation Center for infectious diseases, Center for Disease Control and Prevention.

Bartholomew D. T. and Blumer, T. N. 1980. Inhibition of Starphylococcus by Latic Acid Bacteria in country style ham. J.Food Sci. 45: 420-430.

Burrowes, O.J., Schmidt, F. H., Smith K. L. and Chambers, J.V. 1986. Evaluation of summer sausage manufactured using mixd *Lactobacillus* and *Leuconostoc* starter culture. J.Food Prot. 49(4): 280-281

Dobois, G. H., Beaumier and Charbonneau, R. 1979. Inhibition of bacteria isolated on ground Meat by Streptococcaceae and Lactobacillaceae. J. Food Sci. 44: 1649-1652.

Ellgayyar. M., Draughon, F. A., Golden, D. A. and and Mount, J. F. 2001. Antimicrobial Activity of Essential oils From Plants against Selected Pathogenic and Saprophylic Microorganisms. J. Food Prot. 64(7): 1019-1024.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Garriga, M., Hugas, M., Gou, P., Aymerich, M. T., Amau, J. and Monfort, J.M. 1996. Technological and sensorial evaluation of Lactobacillus strains as starte cultures in Fermented sausages. J. Food Microbiol. 32: 173-183.

Gay, J. M. 1999. *Salmoneela* Dt 104 and Dairy Farms : Lessons from an Emerging Pathogen. Washington State University.

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

Goepfert, S. E. and Chung, G.T. 1970. Growth of *salmonella* at low pH. J. Food Sci. 35: 326-328

Hammes, W.P., Bantleon, A. and Min, S. 1990. Lactic acid bacteria in meat fermentation. FEMS Microbiol. Rev. 87: 165-174. Cited Samelis, J., Maurogenakis, F. and Metaxopoulus, J. Characterization of lactic acid bacteria isolated from naturally fermented Greek dry salami. J. Food Microbiol. 23: 179-196.

H-kittikun, A., Wiriyacharee, P. and Rujannakraikarn, L. 1988. Nham (thai fermented pork) making with stater cultures. Symposium on Proceedings 34th International Congress of Meat Science and Technology. Australia: Brisbane.

Hugas, M., Garriga, M., Aymerich, T. and Monfort, J.M. 1933. Biochemical characterization of Lactobacilli isolated from dry sausage. J. Food Microbiol. 18: 107-113.

House, J. K., Mainar, R.C., Smith, B.P., House, A.M. and kamiya, Y.d. 1998. Risk Factors for Nosocomial *Salmonella* Infections in Hospitalized horses. Department of Medicine and Epidemiology Scool of Veterinary Medicine University of California Davis USA.

Inoue, Y., Takano, M. and Shibasaki, I. 1980. Antagonistic action of lactic acid bacteria from Nahm toward food-deteriorating bacteria. Microbial Utilization of Renewable Resources. 1:108-115.

Lachowicz, K. J., Jones, G. P., Briggs, D. R., Bienvenu, F. E., Wan, J., Wilcock, A. and Conventry, M. J. 1998. Thesynergistic preservative effects of essential oil of sweet basil (*Ocimum basilicum* ) againt acid-tolerant food microflora. Letter in Appl Micro.26:209-216.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lake, R., Hudson, A. and Cressey P. 2002. Risk profile *Salmonella* (Non Typhoid) in Poultry(Whole and Pieces) Institute of Environmental Science & Research Limited.Christchurch New Zealland.

Lawrence, B. M., Hoggo, J.W., Terhune, S.J., and Pichitakul, N. 1971. The chemical composition of *Ocimum basilicum* and *Ocimum Santum*. Bangkok: ASRCT.

Lawrence, B. M., Terhune, J.W., and Pichitakul, N. 1972. Essential oils and their constituents. IX. The oils from *Ocimum basilicum* from Thailane. Flavour Lnd.

Marotti, M., Piccaglia, R. and Giovanelli, E. (1996). Differences in essential oil composition of basil (*Ocimum basilicum* L.) Italian cultivars related to morphological characteristic. *J. Agric. Food Chem.*

Masters, B. A., Oblinger, J. I., Goodfllow, S. J., Bacus, J. N. and Brown, W. L.1981. Fate of *Samonella* Newport and *Salmonella* Typhimurium inocubate into summer sausage. J. Food Port. 44 (7): 527-530.

Molla,B., Alemayehu, D. and Salah, W. 2003a. Sources and Distribution of *Salmonella* serotypes Isolate form Food Animals, Slaughterhouse Personnel and Vetail Meat Product in Ethopia : 1997 -2002. Department of Veterinary Medicine, Addis Ababa University, Debre Zeit, Ethiopia.

Orla-Jessen. 1919. The lacticAcid Bacteria. Copehegen : Fred host and San.

Price, J. F. and Schweigert, B. S. 1971. The science of meat products. San Francisco: W. H. Freeman and Company.

Raccach, M. and Baker, R. C. 1989. Lactic acid bacteria as an antispoilage and safety factor in cooked, mechanically deboned poultry meat. J. Food Prot. 40:549-551.

Ravid, U., Putievevsky, E., Katzir, L. and Lewinsohn, E. (1997). Enantioneric composition of linalool in the essential oils of *Ocimum* species and in commercial basil oils. *Flavour Fragrance J.*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Schillinger, U. and Lucke, F. K. 1989. Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolate from meat Appl. Environ. Microbiol. 55:1901-1906. Cited Samelis, J., Maurogcnakis, F. and Metaxopoulus, J. Characterization of lactic acid bacteria isolate from naturally fermented Greek dry salami. J. Food Microbial. 23 : 179-196.

Seleim, R.s., Mohamed, S.R., Hafez, N.M. and Gobran R.A. 2002. Bacteriology Department Animal Health Research Institute Doki Cairo, Egypt.

Simon, J.E., Quinn. J. and Murray, R.G. 1990. Basil : a source of essential oils. In: Advances in New Crops, pp. 484-489. Janik, J. and simon, J. E eds. Portland Oregon: Timber press.

Smith, J. L., Palumbo, S. a., Kissinger, J.C. and Huhtanen, C.W. 1975. Survival of *Salmonela* during Peperoni manufacture. J. Microbial. 30 (5): 759-763.

Smith, J. L., Plum bo, S.A. 1981. Microorganisms as food additives. J. Food Prot. 44: 936-937

Srisomwong, P. 1985. The Study of lactic acid bacteria in nham. A project Rp. Submittd in partial Fulfillmnt of th requirements of the Award of M. Appl. Sci. Univ. New south wale. Australia.

Stile, M. E. and Hasting, J. W. 1991. Bacteriocin production by lactic acid bacteria: potential for use inmeat preservation. Trands Food Sci. Technol. 1: 247-251. Cited Samelis, J., Maugcnakis, F. and Metaxopoulus, J. Charaterization of lactic acid bacteria isolate from naturally fermented Greek dry salami. J. Food Microbiol. 23: 179-196.

Stile, M. E. and Holzapfel, W. H. 1997. Lactic Acid Becteria of food and their current taxonomy. J. Food Microbial. 36: 1-29.

Suwanparadon, P. 1995 ."Antibiogram and Plasmid DNA Anlysis to Charaterze *Staphylococus aureus* Strains". Master of Science (public Health) Major in Infection Diseases Faculty of Graduate Studies, Mahidol University.

Swetwiwathana, A., Chungsamanukoll, P., Wongsommart, D., Bangtrakulnonth, A. and Pornruawong, S. 1994. Comprirson of Salmosyst Enrichment of *Salmonellae* in Food. In : Rapid methods in Microbiology and Biotechnology. UNESCO Southeast Asia Regional Training Workshop Proceeding. 19 – 28 October.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

Tanasupawat, S. and Daengsubha, W. 1983. *Pediococcus* species and relate bacterial found in fermented foods and related materials in Thailand. J. Gen. Appl. Microbiol. 29: 487-506.

Wood, B. J. B. and Holzapfel W. H. 1995. The Genera of Lactic Acid Bacteria Blackie. Glasgow : Academic and Professional.

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก ก

## การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของตัวอย่าง

### 1. การวิเคราะห์หาปริมาณกรดแลคติก (อรนุช, 2530)

1.1 สารเคมี

- น้ำปลอดคาร์บอนไดออกไซด์เตรียมโดยนำน้ำกลั่นมาต้มให้เดือด 20 นาที
- สารละลายมาตรฐาน 0.1N NaOH เตรียมจากกก NaOH 4 กรัมเติมน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตรเก็บในขวดพลาสติกก่อนนำมาใช้หาความเข้มข้นมาตรฐานก่อน

การหาความเข้มข้นมาตรฐานของ 0.1N NaOH โดยชั่ง Acid potassium phthalate (อบ2ชั่วโมงที่120 องศาเซลเซียสแล้วทำให้เย็นในโถอบแห้ง) อย่างละเอียดประมาณ 0.3กรัม เติมลงในฟลาสก์ขนาด 250มิลลิลิตรเติมน้ำปลอดคาร์บอนไดออกไซด์ 50 มิลลิลิตรเมื่อ Acid potassium phthalateละลายจึงเติมฟีนอฟทาลีน3หยด แล้วไตเตรทด้วยสารละลาย 0.1NaOHความเข้มข้นมาตรฐานคำนวนได้จากสูตร

$$\text{ความเข้มข้นมาตรฐาน (N)} = \frac{\text{กรัม} KHC_8H4O_4 (g) \times 1000}{\text{ปริมาตรของ NaOH (ml)} \times 204.229}$$

- สารละลายฟีนอฟธาลีน (Phenolphthalein) ชั่ง 1 กรัมฟีนอฟธาลีนละลายในเอธานอล95% ปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร

1.2 วิธีวิเคราะห์

นำตัวอย่าง1มิลลิลิตรมาเจือจางด้วยน้ำปลอดคาร์บอนไดออกไซด์เติมฟีนอฟทาลีน3หยดแล้วไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐาน 0.1N NaOH จนถึง end point สีชมพู

ปริมาณกรดคำนวนเป็นกรดแลคติกตามสูตร

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

กำหนดให้ N = ความเข้มข้นมาตรฐาน 0.1NaOH (นอร์มอล)

V = จำนวนมิลลิลิตรของสารละลายมาตรฐาน 0.1N NaOH (มิลลิลิตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก ข

## การวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์

**ตารางภาคผนวกที่ ข. 1**: ผลการตรวจนับเชื้อแบคทีเรียแลคติกในระหว่างการบ่มในอาหารเหลว

| ชนิดของแบคทีเรียแลคติก | ความเข้มข้นของสารสกัดโหระพา(%) | ปริมาณแบคทีเรียแลคติก (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ชั่วโมงที่ 0 | ชั่วโมงที่12 | ชั่วโมงที่ 24 | ชั่วโมงที่36 | ชั่วโมงที่48 |
| *L. plantarum* | 0 | $6.3 \times 10^6$ | $9.7 \times 10^7$ | $5.6 \times 10^8$ | $6.8 \times 10^8$ | $9.7 \times 10^8$ |
| | 1 | $9.8 \times 10^6$ | $7.6 \times 10^8$ | $2.8 \times 10^9$ | $3.9 \times 10^9$ | $4.1 \times 10^9$ |
| | 3 | $6.2 \times 10^6$ | $4.5 \times 10^8$ | $8.2 \times 10^8$ | $9.4 \times 10^8$ | $2.4 \times 10^9$ |
| | 5 | $7.3 \times 10^6$ | $8.4 \times 10^8$ | $3.5 \times 10^9$ | $4.2 \times 10^9$ | $5.5 \times 10^9$ |
| *P. acidilactici* | 0 | $6.4 \times 10^6$ | $7.3 \times 10^6$ | $1.2 \times 10^7$ | $7.3 \times 10^7$ | $1.2 \times 10^8$ |
| | 1 | $6.2 \times 10^6$ | $5.3 \times 10^8$ | $7.8 \times 10^8$ | $8.9 \times 10^8$ | $1.4 \times 10^9$ |
| | 3 | $7.5 \times 10^6$ | $2.9 \times 10^8$ | $6.7 \times 10^8$ | $9.6 \times 10^8$ | $4.3 \times 10^9$ |
| | 5 | $6.2 \times 10^6$ | $3.8 \times 10^8$ | $7.2 \times 10^8$ | $1.2 \times 10^9$ | $6.1 \times 10^9$ |
| *P. pentosaceus* | 0 | $1.8 \times 10^6$ | $9.6 \times 10^7$ | $1.8 \times 10^9$ | $3.0 \times 10^9$ | $3.1 \times 10^9$ |
| | 1 | $3.2 \times 10^6$ | $2.7 \times 10^8$ | $2.0 \times 10^9$ | $2.7 \times 10^9$ | $4.0 \times 10^9$ |
| | 3 | $3.7 \times 10^6$ | $6.4 \times 10^8$ | $3.4 \times 10^9$ | $5.6 \times 10^9$ | $7.4 \times 10^9$ |
| | 5 | $2.1 \times 10^6$ | $9.7 \times 10^8$ | $3.6 \times 10^9$ | $8.1 \times 10^9$ | $1.1 \times 10^{10}$ |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางภาคผนวกที่ ข. 2:** ผลการตรวจนับเชื้อโรคอาหารเป็นพิษในระหว่างการบ่มในอาหารเหลว

| ชนิดของแบคทีเรียอาหาร | ความเข้มข้นของสารสกัดโหระพา (%) | ปริมาณแบคทีเรียอาหารเป็นพิษ(เซลล์ต่อมิลลิลิตร) | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ชั่วโมงที่ 0 | ชั่วโมงที่ 3 | ชั่วโมงที่ 6 | ชั่วโมงที่ 9 | ชั่วโมงที่ 12 | ชั่วโมงที่ 15 | ชั่วโมงที่ 18 |
| *Salmonella* Anatum | 0 | $4.1x10^4$ | $1.9x10^5$ | $1.8x10^6$ | $8.2x10^6$ | $1.9x10^7$ | $2.3x10^7$ | $1.6x10^9$ |
| | 5 | $4.2x10^4$ | $3.5x10^4$ | $9.3x10^4$ | $1.4x10^4$ | $8.6x10^4$ | $1.4x10^5$ | $1.8x10^6$ |
| *Staph. aureus* | 0 | $9.5x10^4$ | $2.3x10^5$ | $1.5x10^6$ | $1.1x10^7$ | $1.3x10^8$ | $8.6x10^8$ | $2.1x10^{10}$ |
| | 5 | $9.6x10^4$ | $9.1x10^4$ | $5.1x10^4$ | $1.2x10^4$ | $1.1x10^5$ | $1.2x10^6$ | $2.2x10^6$ |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก ค

## การวิเคราะห์ทางเคมี

**ตารางภาคผนวกที่ ค. 1**: ผลการตรวจนับเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกในระหว่างการบ่มในอาหารเหลว

| ชนิดของแบคทีเรียแลคติก | ความเข้มข้นของสารสกัดโหระพา(%) | เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ชั่วโมงที่ 0 | ชั่วโมงที่12 | ชั่วโมงที่ 24 | ชั่วโมงที่36 | ชั่วโมงที่48 |
| *L. plantarum* | 0 | 0.13 | 0.13 | 0.23 | 0.27 | 0.59 |
| | 1 | 0.13 | 0.13 | 0.32 | 0.39 | 0.59 |
| | 3 | 0.13 | 0.15 | 0.33 | 0.40 | 0.64 |
| | 5 | 0.13 | 0.13 | 0.33 | 0.62 | 0.73 |
| *P. acidilactici* | 0 | 0.13 | 0.11 | 0.19 | 0.21 | 0.32 |
| | 1 | 0.13 | 0.13 | 0.24 | 0.29 | 0.57 |
| | 3 | 0.13 | 0.13 | 0.27 | 0.38 | 0.49 |
| | 5 | 0.13 | 0.13 | 0.27 | 0.49 | 0.67 |
| *P. pentosaceus* | 0 | 0.13 | 0.13 | 0.24 | 0.30 | 0.36 |
| | 1 | 0.13 | 0.13 | 0.31 | 0.42 | 0.57 |
| | 3 | 0.13 | 0.13 | 0.31 | 0.58 | 0.73 |
| | 5 | 0.13 | 0.13 | 0.34 | 0.75 | 0.99 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางภาคผนวกที่ ค. 2**: ผลการตรวจนับค่า pH ในระหว่างการบ่มในอาหารเหลว

| ชนิดของแบคทีเรียแลคติก | ความเข้มข้นของสารสกัดโหระพา(%) | เปอร์เซ็นต์การตกตะกอน | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ชั่วโมงที่ 0 | ชั่วโมงที่12 | ชั่วโมงที่ 24 | ชั่วโมงที่36 | ชั่วโมงที่48 |
| *L. plantarum* | 0 | 5.37 | 5.30 | 5.10 | 4.92 | 3.30 |
| | 1 | 5.37 | 4.87 | 4.87 | 4.15 | 3.31 |
| | 3 | 5.37 | 4.87 | 4.83 | 4.21 | 3.29 |
| | 5 | 5.37 | 4.84 | 4.70 | 3.30 | 3.26 |
| *P. acidilactici* | 0 | 5.37 | 5.00 | 5.00 | 4.87 | 4.20 |
| | 1 | 5.37 | 5.30 | 4.87 | 4.80 | 3.84 |
| | 3 | 5.37 | 5.30 | 4.86 | 4.32 | 3.65 |
| | 5 | 5.37 | 5.30 | 4.80 | 4.11 | 3.38 |
| *P. pentosaceus* | 0 | 5.37 | 4.97 | 5.01 | 4.85 | 4.22 |
| | 1 | 5.37 | 5.22 | 4.83 | 4.22 | 3.81 |
| | 3 | 5.37 | 4.87 | 4.76 | 3.30 | 3.15 |
| | 5 | 5.37 | 4.84 | 4.63 | 3.25 | 3.04 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก ง
## อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

### 1. MRS Agar

| | |
|---|---|
| proteose peptone | 10.0 g. |
| beef extract | 10.0 g. |
| yeast extract | 5.0 g. |
| dextrose | 20.0 g. |
| sorbitan monooleate complex | 1.0 g. |
| ammonium citrate | 2.0 g. |
| sodium acetate | 5.0 g. |
| magnesium sulfate | 0.1 g. |
| manganese sulfate | 0.05 g. |
| disodium phosphate | 2.0 g. |
| agar | 15 g. |
| น้ำกลั่น | 1000 ml. |

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น ต้มให้เดือด นึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**2. MRS Broth**

| | |
|---|---|
| proteose peptone | 10.0 g. |
| beef extract | 10.0 g. |
| yeast extract | 5.0 g. |
| dextrose | 20.0 g. |
| sorbitan monooleate complex | 1.0 g. |
| ammonium citrate | 2.0 g. |
| sodium acetate | 5.0 g. |
| magnesium sulfate | 0.1 g. |
| manganese sulfate | 0.05 g. |
| disodium phosphate | 2.0 g. |
| น้ำกลั่น | 1000 ml. |

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น ต้มให้เดือด นึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**3. TSBYE Agar**

| | |
|---|---|
| casein hydrolysate | 17.0 g. |
| di-Potassium hydrogen phosphate | 2.5 g |
| soy peptone | 3.0 g. |
| sodium chloride | 5.0 g. |
| D- Glucose | 2.5 g. |
| yeast extract | 6.0 g. |
| Agar | 12.0 g. |
| น้ำกลั่น | 1000 ml. |

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น ต้มให้เดือด นึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**4. TSBYE Broth**

| | |
|---|---|
| casein hydrolysate | 17.0 g. |
| di-Potassium hydrogen phosphate | 2.5 g |
| soy peptone | 3.0 g. |
| sodium chloride | 5.0 g. |
| D- Glucose | 2.5 g. |
| yeast extract | 6.0 g. |
| น้ำกลั่น | 1000 ml. |

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น ต้มให้เดือด นึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้