สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การคัดแยกแบคทีเรียแลกติกที่ผลิตกรดต่ำสำหรับเป็นกล้าเชื้อในการหมักไส้กรอกอีสาน

(Isolation of low lactic acid producing lactic acid bacteria as starters f ion)

นาร
นาร
นาย

รศ.ดร. อดิศร เสวตวิวัฒน์

ศพ.
ย.2767
2550

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 85384
วัน,เดือน,ปี 11 พ.ย. 2551

b 12010A2X
i.....

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อ

ผู้จัดทำ-เรียบเรียง นฤมล กล่ำนาด รติกร รสฟุ้ง ธนารักษ์ จันทร์ประกอบ

ปัญหาพิเศษเรื่อง การคัดแยกแบคทีเรียแลกติกที่ผลิตกรดต่ำสำหรับเป็นกล้าเชื้อในการหมักไส้กรอกอีสาน

อาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดร. อดิศร เสวตวิวัฒน์

สาขาวิชา เทคโนโลยีการหมัก

คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

จากการคัดเลื ละน้อยจากไส้กรอกอีสาน โดยเริ่ม RS agar ที่มีส่วนผสมของ 0.5% ca มเจือจางต่าง ๆ ทำการสุ่มเลือกโคโลนี แกณฑ์กำหนด คือ โคโลนีที่มีรัศมีของ และรัศมีของโซนใสมากกว่า 0.3 เซ deep tube ลง ในหลอดทดลองที่มีอ ัวโมง จากนั้นนำมาทำการย้อมแกรม ูปร่าง คือ แบบแท่ง และแบบคอคไค ได้ โดยทำการวิเคราะห์ค่าความเป็นก , 8, 16 และ 24 ตามลำดับ ทำการคัดเลื การสร้างกรดน้อยที่สุดมาทำการตร 50 CH) ซึ่งผลการตรวจสอบพบว่าเป็นแบคทีเรียแลกติกกลุ่ม *Lactococcus lactis*

นฤมล กล่ำนาด		
รติกร รสฟุ้ง	.....	
ธนารักษ์ จันทร์ประกอบ	(รศ. ดร. อดิศร เสวตวิวัฒน์)	31 ม.ค. 51
นักศึกษา	อาจารย์ที่ปรึกษา	วัน/เดือน/ปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การนำเสนอโครงงานปัญหาพิเศษ เรื่อง การคัดแยกแบคทีเรียแลกติกที่ผลิตกรดต่ำสำหรับเป็นกล้าเชื้อในการหมักไส้กรอกอีสานนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี ผู้จัดทำขอขอบพระคุณ รศ.ดร.อดิศร เสวต-วิวัฒน์ ซึ่งให้เกียรติเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานปัญหาพิเศษของกลุ่มข้าพเจ้า ที่กรุณาสละเวลาอันมีค่ามาคอยแนะนำให้คำปรึกษาและดูแลเอาใจใส่เป็นอย่างมาก รวมทั้งแนะนำแก้ไขรายงานฉบับนี้ให้มีความถูกต้องและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ซึ่งช่วยให้การจัดทำโครงงานปัญหาพิเศษครั้งนี้ของกลุ่มข้าพเจ้าสำเร็จลงได้ด้วยดี กลุ่มข้าพเจ้าจักขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้ด้วย

ขอขอบพระคุ ายงาน รวมถึง

ให้คำแนะนำต่างๆเวล ศึกษามาตลอด

และขอบคุณเพื่อน ๆ ทุ านาค

ปุง

ทร์ประกอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

แบคทีเรียแลกติกตามธรรมชาติพบได้ในอาหารหมักหลายชนิด ซึ่งส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียแลกติกที่ปนเปื้อนมาจากผลิตผลทางการเกษตร และเครื่องมือที่เกี่ยวข้องกับการแปรรูปผลิตผลทางการเกษตรปัจจุบันได้มีการพัฒนาถึงการใช้ประโยชน์ของแบคทีเรียกลุ่มนี้เพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อในกระบวนการผลิตอาหารหมักหลายชนิด เช่น ไส้กรอกหมัก ผลิตภัณฑ์นมหมัก จากเทคนิคการผลิตกล้าเชื้อจุลินทรีย์ มีผลทำให้เกิดการพัฒนากระบวนการหมักและผลิตภัณฑ์ชนิดต่าง ๆ โดยการเพาะเลี้ยงกล้าเชื้อให้มีลักษณะที่ดี

จากการใช้ประ ...สาหกรรมการหมักมากขึ้นจึงได้มีข้อ ...อต้องเป็นสายพันธุ์ที่ไม่มีความเป็นที ... หรือสารเคมีปนเปื้อนที่อาจทำให้เกิ ... กิจกรรมการสร้างกรด ซึ่งมีผลต่อก ... สมบัติที่ทนต่อฟาจก์ (phage-resistant) ... ปัญหาพิเศษนี้จึงได้สนใจทำการทด ... นกล้าเชื้อที่จะสามารถผลิตผลิตภัณฑ์ ... ารเก็บรักษาให้ยาวนานขึ้นด้วย

นางสาวนฤมล กล่ำนาค
นางสาวรติกร รสฟุ้ง
นายธนารักษ์ จันทร์ประกอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	I
กิตติกรรมประกาศ	II
คำนำ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	VI
สารบัญภาพ	VII
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาของปัญห	1
1.2 วัตถุประสงค์	1
บทที่ 2 วารสารปริทัศ	2
2.1 ไส้กรอกอีสาน	2
2.2 แบคทีเรียแลก	
2.2.1 ลักษณะ	3
2.2.2 แบคทีเรี	3
2.2.3 สารยับยั้	5
2.2.4 ประสิท	7
2.2.5 จุลินทรี	8
2.2.6 การแบ่งกลุมแบคทเรียแลกตกตามการ เชอาหารและการสรางอาหาร	9
2.2.7 สกุลของแบคทีเรียแลกติก	9
2.2.8 ผลิตภัณฑ์ที่ใช้แบคทีเรียแลกติก	10
2.2.9 ประโยชน์ของแบคทีเรียแลกติกที่มีต่ออาหารหมัก	13
2.2.10 ปัจจัยที่มีผลต่อการหมัก	17
บทที่ 3 อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง	19
3.1 สถานที่ทำการทดลอง	19
3.2 อุปกรณ์ และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง	19
3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ และสารเคมี	21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 ขั้นตอน และวิธีการทดลอง 21
บทที่ 4 ผลการทดลอง 24
4.1 ปริมาณของแบคทีเรียแลกติกที่ชั่วโมงต่าง ๆ 24
4.2 คัดเลือกแบคทีเรียแลกติกที่ผลิตกรดมากและน้อย 25
4.3 การย้อมสีแบบแกรมเพื่อตรวจสอบรูปร่าง ลักษณะ และการติดสี 25
4.4 การเจริญของเชื้อแบคทีเรียแลกติกที่คัดเลือก 27
4.5 การตรวจด้วยวิธี API 50 CH 37
บทที่ 6 สรุปผลการทดลอง 42
บรรณานุกรม 43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1 อาหารหมักชนิดต่าง ๆ วัตถุดิบ และกล้าเชื้อที่ใช้	4
ตารางที่ 2.2 ปริมาณโปรตีนในส่วนผสมของถั่ว และธัญพืช	14
ตารางที่ 2.3 สารยับยั้งที่ผลิตจากแบคทีเรียแลกติก	15
ตารางที่ 2.4 อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแต่ละสกุล	17
ตารางที่ 4.1 ปริมาณของแบคทีเรียแลกติกของไส้กรอกอีสานที่ชั่วโมงต่าง ๆ	25
ตารางที่ 4.2 ปริมาณแบ	28
ตารางที่ 4.3 ปริมาณกร	29
ตารางที่ 4.4 ค่าความเป็ 1)	30
ตารางที่ 4.5 ปริมาณแบ	33
ตารางที่ 4.6 ปริมาณกร	34
ตารางที่ 4.7 ค่าความเป็ 2)	35
ตารางที่ 4.8 ผลการตร	38
ตารางที่ 4.9 ผลการตร	40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 2.1 โครงสร้างของไดอะซิทิล	6
ภาพที่ 2.2 โครงสร้างของอะซีทัลดีไฮด์	6
ภาพที่ 2.3 แนวทางการใช้ประโยชน์จากแบคทีเรียแลกติกในการผลิตอาหารหมักชนิดต่าง ๆ	11
ภาพที่ 4.1 ลักษณะของแบคทีเรียแลกติกที่มีรูปร่างแบบกลม	26
ภาพที่ 4.2 ลักษณะของแบคทีเรียแลกติกที่มีรปร่างแบบแท่ง	26
ภาพที่ 4.3 กราฟแสดงก	31
ภาพที่ 4.4 กราฟแสดงก	31
ภาพที่ 4.5 กราฟแสดงก 1)	32
ภาพที่ 4.6 กราฟแสดงก	36
ภาพที่ 4.7 กราฟแสดงก	36
ภาพที่ 4.8 กราฟแสดงก 2)	37
ภาพที่ 4.9 ผลการตรวจ	39
ภาพที่ 4.10 ผลการตรว	41

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาของปัญหา

แบคทีเรียแลกติกตามธรรมชาติพบได้ในอาหารหมักหลายชนิด ซึ่งส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียแลกติกที่ปนเปื้อนมาจากผลิตผลทางการเกษตร และเครื่องมือที่เกี่ยวข้องกับการแปรรูปผลิตผลทางการเกษตร ปัจจุบันได้มีการพัฒนาถึงการใช้ประโยชน์ของแบคทีเรียกลุ่มนี้เพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อในกระบวนการผลิตอาหา ดการผลิตกล้าเชื้อจุลินทรีย์ มีผลทำใ การเพาะเลี้ยงกล้าเชื้อให้มีลักษณะที่

จากการใช้ประ สาหกรรมการหมักมากขึ้นจึงได้มีข้อ อต้องเป็นสายพันธุ์ที่ไม่มีความเป็นพ หรือสารเคมีปนเปื้อนที่อาจทำให้เ นกิจกรรมการสร้างกรด ซึ่งมีผลต่อก สมบัติที่ทนต่อฟาจก์ (phage-resistant ปัญหาพิเศษนี้จึงได้สนใจทำการทดล ะสามารถผลิตผลิตภัณฑ์ไส้กรอกให้

1.2 วัตถุประสงค์

1. ทำการคัดเลือกแบคทีเรียแลกติกในไส้กรอกอีสานของบริษัทสุทธิลักษณ์อินโนฟู้ด จำกัด เพื่อคัดแยกหาแบคทีเรียแลกติก กลุ่มที่สร้างกรดมากและกรดน้อย โดยดูโซนการผลิตกรดแลกติกในอาหาร MRS ที่ผสม calcium carbonate เป็นเกณฑ์ในการคัดแยก

2. ยืนยันการผลิตกรดแลกติกใน MRS broth ของจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ในขั้นต้น ว่าจะสร้างกรดน้อยกรดมากได้ตรงตามเกณฑ์ของเชื้อที่ขึ้นใน MRS ที่ผสม calcium carbonate จริงหรือไม่

3. นำเชื้อที่สร้างกรดน้อยอย่างน้อย 2 สายพันธุ์มาทดสอบหาชนิดสายพันธุ์ โดยใช้ Carbohydrate Fermentation Kit Test (API 50 CH)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์ และ วิธีการทดลอง

3.1 สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สาขาเทคโนโลยีการหมัก สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.2 อุปกรณ์และเครื่องมื

3.2.1 อุปกรณ์

- หม้อสแตนเล
- ถุงร้อน
- หนังยาง
- ช้อนตักสาร
- ที่ใส่หลอดทด
- ตะเกียงแอลก
- ขวดน้ำกลั่น
- เข็มเขี่ยเชื้อ (n
- ลวดเขี่ยเชื้อ (
- Eppendrof
- Tip เหลือง
- Tip ฟ้า
- Foggy
- ไฟแช็ค
- Auto pipette
- Stand
- กล้องจุลทรรศน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.2 เครื่องแก้ว

- หลอดทดลอง (test tubes) ขนาด 16×150 พร้อมฝา
- Flask ขนาด 125 มิลลิลิตร
- กระบอกตวงขนาด 100 มิลลิลิตร
- กระบอกตวงขนาด 1000 มิลลิลิตร
- จานเพาะเชื้อ (plate)
- แท่งแก้วคนสาร (stirring rod)
- แท่งแก้วรูปตัวแอล
- แผ่น Slide
- ขวดใส่อาหาร
- บิวเรต

3.2.3 เครื่องมือ

- เครื่องชั่งน้ำห
- Autoclave
- Water Bath
- pH – meter
- Stomacher
- Candle jar
- เครื่องปั่นเหวี่
- เครื่องหมุนเห
- เตาแก๊ส
- เตาอบไมโครเวฟ
- ตู้อบลมร้อน (hot air oven)
- ตู้ปลอดเชื้อ (laminar flow)
- ตู้แช่เย็น
- ตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1. MRS Broth
2. Agar
3. $CaCo_3$
4. NaCl
5. NaOH
6. Ethanol 95%
7. Ethanol 70%
8. Phenolphth
9. สี crystal v
10. สี safranin
11. สารละลาย

3.4. ขั้นตอนและวิธีการ

ตัวอย่างไส้กรอ ธิน แขวงสาย
ไหม เขตสายไหม กรุงเ การสุ่มนำไส้
กรอกอีสานที่ผลิตจาก ติก แล้วบรรจุ
ลงในกล่องโฟมที่บรรจุ ้นทำการหมัก
เป็นเวลา 2 วัน โดยทำ

<u>การเตรียมตัวอย่างไส้กร</u>

1. ใช้ปากคีบจุ่มแอลกอฮอล์แล้วลนไฟฆ่าเชื้อคีบตัวอย่างแล้วใช้กรรไกรที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้วตัดตัวอย่างเป็นชิ้นเล็ก ๆ โดยสุ่มตัดตัวอย่างที่ตำแหน่งต่าง ๆ ให้ทั่งถึง
2. ชั่งตัวอย่างอาหารใส่ถุงพลาสติกที่ปราศจากเชื้อ 25 กรัม
3. ใส่น้ำยาสำหรับเจือจาง 225 มิลลิลิตร แล้วนำไปเข้าเครื่อง stomacher นาน 30 วินาทีจะได้ตัวอย่างที่มีระดับการเจือจางเป็น 1:10 หรือ 10^{-1}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอนที่ 1 หาปริมาณของแบคทีเรียแลกติกในซั่วโมงที่แตกต่างกัน

1.1 ทำตามวิธีเตรียมตัวอย่างไส้กรอกเพื่อนำมาเจือจางเริ่มต้นแล้วทำการเจือจางเป็นลำดับ โดยเจือจางตัวอย่างไส้กรอก **วันที่ 0** ที่ระดับการเจือจาง 10^{-2} และ 10^{-3}, **วันที่ 1 และ 2** ที่ระดับการเจือจาง 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5} และ 10^{-6}

1.2 ใช้ Auto pipette ดูดไส้กรอกที่เจือจางแล้วแต่ละระดับความเจือจางใส่ลงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร MRS agar ที่มี 0.5% calcium carbonate จานละ 100 µl โดย**วันที่ 0** ระดับความเจือจางละ 2 จาน **วันที่ 1 และ 2** ที่ระดับการเจือจาง 10^{-1}, 10^{-2} และ 10^{-3} ระดับความเจือจางละ 1 จาน และ ที่ระดับการเจือจาง 10^{-4}, 10^{-5} และ 10^{-6} ระดับความเจือจางละ 2 จาน

1.3 ใช้แท่งแก้ว ...ห้กระจายทั่ว

1.4 นำจานเพาะ ...ว้โมง แล้ว

นับจำนวนโคโลนีที่เกิด...

ขั้นตอนที่ 2 คัดเลือกแบ...

2.1 เมื่อทำการ... ...งแบคทีเรีย

แลกติกที่สามารถผลิตป... ...เของโซนใส

รอบโคโลนี 0.1 – 0.2 เซ... ...สมากกว่า 0.3

เซนติเมตรขึ้นไป เป็นแ...

2.2 สุ่มโคโลนี... ...โลนีของแต่

วัน มาทำการ deep tube... ...ate หลอดละ

1 โคโลนี

2.3 บ่มที่อุณหภ... ...เอนต่อไป

ขั้นตอนที่ 3 การย้อมสีแบบแกรมเพื่อตรวจสอบรูปร่าง ลักษณะ และสีโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียแลกติกที่คัดเลือก

นำแบคทีเรียแลกติกจากขั้นตอนที่ 2 มาทำการย้อมสีแบบแกรม ตามวิธีดังต่อไปนี้

3.1 หยดน้ำกลั่นบนแผ่น slide 1 หยด ในปริมาณพอสมควร

3.2 ใช้เข็มเขี่ยเชื้อที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว เขี่ยเชื้อเพียงเล็กน้อย แตะลงบนหยดน้ำแล้วแผ่กระจายเชื้อให้ทั่วในหยดน้ำ(smear)

3.3 ทิ้งให้รอยสเมียร์แห้งเอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 ทำการฟิกซ์ (fix) รอยสเมียร์ โดยการลนผ่านเปลวไฟอ่อน ๆ 2-3 ครั้ง

3.5 หยดสี crystal violet ลงบนรอยสเมียร์ให้ท่วม ทิ้งไว้นาน 1-2 นาที

3.6 ล้างสีออกด้วยน้ำที่ไหลเบา ๆ

3.7 เติมสารละลายไอโอดีนของแกรมให้ท่วมรอยสเมียร์

3.8 ล้างสารละลายไอโอดีนออกด้วยแอลกอฮอล์ 15-20 วินาที แล้วล้างด้วยน้ำที่ไหลเบา ๆ ทันที

3.9 ย้อมทับด้วยสี safranin นาน 1 นาที

3.10 ล้างสีออกด้วยน้ำที่ไหลเบา ๆ วางทิ้งไว้ให้แห้ง

3.11 นำไปส่อง

ขั้นตอนที่ 4 ศึกษาการผ

4.1 จากการย้อ ยบ cocci และแบบ rod ทั้งของแบ หลอด

4.2 ถ่ายเชื้อในห MRS borth 5 มิลลิลิตร เชื้อละ 1 หลอ

4.3 บ่มที่อุณหภู

4.4 ใช้ Auto pip ลี้ยงเชื้อ MRS broth 50 มิลลิลิตร เชื้อล

4.5 บ่มที่อุณหภู ปริมาณกรด และตรวจนับปริมาณแบ 4

ขั้นตอนที่ 5 การหาสายพันธุ์ของแบคทีเรียแลกติกเบื้องต้นโดยใช้ API 50 CH (bioMérieux® SA ประเทศฝรั่งเศส)

5.1 คัดเลือกแบคทีเรียแลกติกที่มีรูปร่างแบบ cocci และ rod จากขั้นตอนที่ 4 ที่สร้างกรดกรดน้อยที่สุด มาอย่างละหนึ่งหลอด

5.2 ทดสอบหาชนิดของสายพันธุ์ ด้วยวิธี Carbohydrate Fermentation Kit Test (API 50 CH)

5.3 ดูการ Fermentation carbohydrate แล้วตรวจ Database เพื่อหาสายพันธุ์ของเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
วารสารปริทัศน์

2.1 ไส้กรอกอีสานหรือไส้กรอกเปรี้ยว (Fermented pork sausage)

เป็นอาหารที่นิยมมากทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ไส้กรอกอีสานหมายถึงผลิตภัณฑ์ที่ทำจากเนื้อหมู มันหมู ข้าวสุก เครื่องปรุงแต่งกลิ่นและรส บรรจุในไส้หมูหรือไส้ชนิดอื่นที่บริโภคได้และต้องทำให้สุกก่อนรับประทาน (มอก.1266-2537)ในระยะแรกของการหมักพบ *Pediococcus cerevisiae* ที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 นื่องจากอยู่ในสภาพปราศจากอากาศ กี่ชนิด เมื่อนำตัวอย่างมาตรวจสอบพ ว่านี้ ความชื้นเฉลี่ยร้อยละ 51-74 ไส้ เคดทิ้งไว้เพียง 1-2 วันเท่านั้น จึงมีรสเ ยได้ เนื่องจากไส้กรอกอีสานต้องนำ

ส่วนประกอบ นี้คือ

1. เนื้อที่ใช้ไม่จำ ถ้าใช้ไขมันต่ำราคาจะสูงขึ้น มูสามชั้นผสมหนังหมูต้มบด ้ได้
2. ข้าวที่ผสม ใ สม ล้างน้ำให้แยกตัวจากกัน เพื่อให้การกระจายตัวดีขึ้น และเพิ่มความชื้น อาจผสมในปริมาณสูงถึงร้อยละ 20-50 ตามเหตุผลที่กล่าวแล้ว
3. สารปรุงรสอื่น ๆ ได้แก่ ไนไตรท์ หรือสารผสม เกลือ น้ำตาล ผงชูรส กระเทียมพริกไทย อาจผสมลูกผักชีป่นด้วยเพื่อให้มีกลิ่นหอม
4. ไส้ที่ใช้บรรจุ นิยมใช้ไส้เล็กของหมู ขูดเมือก ล้างสิ่งสกปรก หมักเกลือหรือกำจัดกลิ่น ล้างน้ำจนกว่าจะหมดกลิ่นเหม็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 แบคทีเรียแลกติก

2.2.1 ลักษณะของแบคทีเรียแลกติก

แบคทีเรียแลกติกเป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างเอนไซม์คะตาเลส ไม่ต้องการอากาศ ลักษณะสัณฐานวิทยา พบว่า มีทั้งรูปร่างแท่งและรูปร่างกลม การจัดเรียงกลุ่มแบคทีเรียแลกติกในสกุลต่างๆ ขึ้นอยู่กับรูปร่างลักษณะรูปแบบของการหมักน้ำตาลกลูโคส การใช้น้ำตาลชนิดต่าง ๆ และการเจริญที่อุณหภูมิต่าง ๆ การผลิตกรดแลกติก เจริญในที่มีเกลือความเข้มข้นสูง และการทนต่อกรดหรือด่าง ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของแบคทีเรียกลุ่มนี้ได้จากการใช้น้ำตาลกลูโคสแ[illegible] แลคติกได้แก่ Lactobacillus, Pediococ[illegible]

2.2.2 แบคทีเรียแล[illegible]ented Food Products)

แบคทีเรียแลก[illegible]เป็นแบคทีเรียแลกติกที่ปนเปื้อนมาจ[illegible]ปผลิตผลทางการเกษตร ปัจจุบันได[illegible]นกล้าเชื้อในกระบวนการผลิตอาหา[illegible]การผลิตกล้าเชื้อจุลินทรีย์ มีผลทำให้[illegible]เพาะเลี้ยงกล้าเชื้อให้มีลักษณะที่ดี ตัว[illegible]ก ดังแสดงในตารางที่ 2.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 อาหารหมักชนิดต่าง ๆ วัตถุดิบ และกล้าเชื้อที่ใช้

Products	**Raw materials**	**Starter cultures**
Beer	Cereals	Yeast
Wine	Grape juice	Yeast
Bread	Grains	Yeast, lactic acid bacteria
Soy sauce	Soybean	Mould (*Aspergillus*)
		Lactic acid bacteria
Sauerkraut, Kim chi		
Fermented sausage		
Pickled vegetable		
Fermented milk		
Cheese		

ที่มา : Hansen (2002)

จากตารางจะเห็ มีบทบาทเป็น
อย่างมาก ปัจจุบันแบค โดยกิจกรรม
หลักของแบคทีเรียแลก อาหารให้เป็น
ผลิตภัณฑ์ชนิดต่าง ๆ ไ ซึ่งสารเหล่านี้
ทำให้ผลิตภัณฑ์มีกลิ่น นสารต่อต้าน
จุลินทรีย์ชนิดอื่น เช่น แบคเทอริโอซิน

จากการใช้ประโยชน์ของกล้าเชื้อจุลินทรีย์ในหลายด้าน ทำให้มีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมการหมักมากขึ้นจึงได้มีข้อกำหนดสำหรับกล้าเชื้อที่เป็นมาตรฐาน ซึ่งประกอบด้วย กล้าเชื้อต้องเป็นสายพันธุ์ที่ไม่มีความเป็นพิษและไม่ทำให้เกิดโรค เป็นเชื้อบริสุทธิ์ที่ไม่มีจุลินทรีย์ชนิดอื่น หรือสารเคมีปนเปื้อนที่อาจทำให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพ กล้าเชื้อที่ดีต้องมีกิจกรรมการหมักที่ดี เช่นกิจกรรมการสร้างกรด ซึ่งมีผลต่อกลิ่นรส มีผลต่อสีตามต้องการ มีความคงตัวของผลิตภัณฑ์สูง มีคุณสมบัติที่ทนต่อฟาจก์ (phage-resistant) กล้าเชื้อที่ดีไม่ควรสร้างสารที่มีผลในการยับยั้งกิจกรรมการหมัก (Hammers,1987)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3 สารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่สร้างโดยแบคทีเรียแลกติก

2.2.3.1 กรดอินทรีย์

กรดอินทรีย์ชนิดที่มีความสำคัญ ได้แก่ กรดแลกติกเป็นผลผลิตที่เกิดขึ้นในกระบวนการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรต เกิดจากการเปลี่ยนไพรูเวตไปเป็นกรดแลกติก โดยใช้เอนไซม์ lactic dehydrogenase ซึ่งกรดที่เกิดขึ้นเมื่อมีการสะสมมากขึ้นจะทำให้ค่าความเป็นกรดด่างในบริเวณนั้นลดลง ส่งผลให้เกิดการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวก และแกรมลบ โดยพบว่ากรดแลกติกจะสามารถแทรกผ่านเข้าไปภายในเซลล์จุลินทรีย์ได้ และเมื่อสภาพภายในเซลล์มีค่าความเป็นกรดด่างสูงกว่าภายนอกเซลล์ กรดแลกติกจะเกิดการแตกตัวได้เป็น ไฮโดรเจนไอออน ซึ่งจะไปมีผลต่อกระบวนการ metabolis

2.2.3.2 ไฮโดร

แบคทีเรียแล จนในระหว่าง
กระบวนการถ่ายเทอิเล็ ันที่อยู่ในเยื่อ
หุ้มเซลล์ ทำให้เซลล์ไ ยังมีผลในการ
ทำลายโครงสร้างของ โครเจนเปอร์
ออกไซด์สามารถรวม ด้อีกด้วย เช่น
ในน้ำนมดิบ ไฮโดรเจน กโตเปอร์ออก
ซิเดส (lactoperoxidase) บรักษาน้ำนม
ดิบ

2.2.3.3 คาร์บอ

ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นผลผลิตส่วนใหญ่ที่เกิดจากกระบวนการการหมักน้ำตาลแบบ Heterofermentative โดยแบคทีเรียแลกติก ซึ่งคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นนี้จะไปแทนที่ก๊าซออกซิเจนในสภาวะแวดล้อมรอบ ๆ ทำให้เกิดสภาวะ anaerobe ซึ่งไม่เหมาะสมสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจน โดยเฉพาะในกลุ่มของเชื้อรา นอกจากนี้ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ยังจะทำให้ค่าความเป็นกรดด่างภายในเซลล์ และรอบ ๆ เซลล์ลดลง มีผลทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ถูกทำลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3.4 ไดอะซิทิล

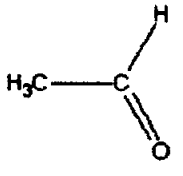
ไดอะซิทิล หรือ 2 ,3 butanedione เป็นผลผลิตจากกระบวนการ metabolism ของไพรูเวต โดยแบคทีเรียแลกติกในสภาวะที่มี หรือ ไม่มีออกซิเจน ซึ่งพบว่าเมื่อแบคทีเรียแลกติกเจริญในสภาวะที่มีซิเตรตอยู่ด้วย จะสร้างไพรูเวตออกมาในปริมาณมาก ซึ่งสารนี้จะถูกเปลี่ยนต่อไปเป็น diacetyl และ acetone โดย diacetyl สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค และที่ทำให้อาหารเกิดการเน่าเสียได้ ซึ่งผลในการยับยั้งของสารกลุ่มนี้จะมีผลต่อแบคทีเรียแกรมลบ ยีสต์ และรา มากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก เนื่องจาก diacetyl จะ ไปขัดขวางการใช้อาร์จินีนของแบคทีเรียแกรมลบ โดยไปแทนที่อาร์จินีนในการ:

ภาพที่ 2.1 โครงสร้างข

ที่มา : www.answers.cc

2.2.3.5 อะซีทั

สารดังกล่า ไฮเตรตแบบ Heterofermentation ขอ ทำให้เกิดการสร้างและขับ acetaldel งๆนั้นยังไม่มีการรายงานการศึกษาวิจัยมากนัก เพียงแต่มีการรายงานว่า acetaldehyde ที่มีความเข้มข้นระหว่าง10-100 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคในอาหาร เช่น *E. coli* , *S. aureus* และ *Salmonella typhimurium* ได้



ภาพที่ 2.2 โครงสร้างของอะซีทัลดีไฮด์

ที่มา : www.chemistrydaily.com

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3.6 แบคเทอริโอซิน

แบคเทอริโอซินเป็นสารประกอบอินทรีย์ประเภทพอลีเปปไทด์ โครงสร้างทางเคมี เกิดจากการเรียงตัวของกรดอะมิโนเป็นสายยาว โดยแบคเทอริโอซินแต่ละชนิดจะมีจำนวนและชนิดของกรดอะมิโนภายในโมเลกุลที่แตกต่างกัน มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียในกลุ่มที่ใกล้เคียงกัน โดยแบคทีเรียแลกติกแต่ละสายพันธุ์จะให้คุณสมบัติของแบคเทอริโอซินที่แตกต่างกันไป ทั้งคุณสมบัติการยับยั้งแบคทีเรียชนิดอื่น น้ำหนักโมเลกุล โครงสร้างโมเลกุล สมบัติทางพันธุกรรมและคุณสมบัติทางชีวเคมี (Klaenhammer, 1988; Hiller and Davision, 1991; Stiles and Hastings, 1991) นอกจากนี้แบคเทอริโอซินยังถูกทำลายได้ด้วยเอนไซม์ย่อยสลายโปรตีน เช่น โปรติเอส, ทริปซิน เป็นต้น

2.2.4 ประสิทธิภาพ

แบคทีเรียแลกติ ทำให้เกิดการเน่าเสีย และทำให้เกิดโ ลต มาทดสอบความสามารถในการยับ *ccus aureus*, *Listeria innoca*, *Pseuc* บว่าส่วนใหญ่ยับยั้งการเจริญเติบโตข การเจริญของแบคทีเรียอินดิเคเตอร์ไ 280 สายพันธุ์ พบว่ามีเพียง 16 สายพัน ุ์ *L. lactis* ssp. *lactis* var. diacetylactis *cremoris* ผลิตได้ร้อยละ 5 และสายพ ผลิตได้จะถูกยับยั้งกิจกรรมโดยเอนไ อาหารและใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตขนมหวาน เนยแข็ง นม โยเกิร์ต เครื่องดื่ม ผลิตภัณฑ์เนื้อต่าง ๆ รวมถึงผักผลไม้ ซึ่งไนซินสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคได้ โดยเฉพาะ *Clostridium botulinum*, *Clostridium tyrobutyricum* และ *Bacillus* sp. แยกเชื้อจากแป้งหมัก (sour dough)ได้ 335 ไอโซเลต พบว่า มีเพียง 145 ไอโซเลต มีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียชนิดอื่น และ 18 ไอโซเลต ที่ผลิตสารประกอบโปรตีนที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียซึ่งมีทั้ง 18 ไอโซเลต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.5 จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับอาหารหมักดอง

จุลินทรีย์ที่มีบทบาทในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารหมัก มีทั้งแบคทีเรีย ยีสต์และรา แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับอาหารหมักมากที่สุด คือ แบคทีเรียแลกติก ซึ่งมีบทบาทสำคัญในอาหารหมักมากมายหลายประเภท เช่น ผลิตภัณฑ์ นมหมัก เนย ผักดอง ไส้กรอก อาหารหมักพื้นเมือง เช่น น้ำปลา บูดู ปลาร้า แหนม เป็นต้น แบคทีเรียที่จัดในกลุ่มนี้ได้แก่ Lactobacillus, Pediococcus, Leuconostoc และ Streptococcus

แบคทีเรียแลกติก (Lactic acid bacteria, LAB) ถูกใช้ในการเตรียมและถนอมอาหารประเภทเนื้อ นม และผัก มาเป็น ly recognized as safe; GPAS) ซึ่งแบ or compound และสารที่สามารถยับ ที่รู้จักดีก็คือ แบคเทอริโอซิน (bacte ang และคณะ (1997) พบว่า Lactoba ารยับยั้ง เป็น 2-pyrrodone-5-carboxy ลายชนิด เช่น *Enterobactor cloaoae* การยับยั้งของ PCA ไม่เปลี่ยนแปลงเ ydroxide และ PCA จะมีผลการยับยั้ง

แบคทีเรียแลก ุขภาพอนามัย ซึ่งพบได้ทั้งในอาหารห ว์ เช่น ปลา กุ้ง เนื้อ การหมักด้วยแบค นี้เพื่อบริโภค อาจผ่านความร้อนเล็กน้อยหรือไม่ก็ได้ถือเป็นการประหยัดพลังงาน และมีข้อดี สามารถยับยั้งเชื้อที่ทำให้อาหารเน่าเสีย หรือสร้างสารพิษได้ การสร้างกรดยังทำให้อาหารรสชาติที่จำเพาะและเพิ่มคุณค่าทางอาหารอีกด้วย อาหารหมักที่มีแบคทีเรียแลกติกเกี่ยวข้องจึงเป็นอาหารของประชากรโลกที่พบในทุก ๆ ทวีป

แบคทีเรียแลกติก เป็นแบคทีเรียชนิดที่เติบโตในอาหารสังเคราะห์ที่มีสารอาหารมาก แต่ก็สามารถเติบโตได้ในแหล่งอาหารทั่ว ๆไป และจะทำให้ pH ของอาหารต่ำลงอย่างรวดเร็วจนถึงจุดที่ทำให้จุลินทรีย์ชนิดอื่นไม่สามารถเติบโตได้ พบว่า Leuconostoc และ Streptococcus ที่สร้างกรดแลกติกจะทำให้ pH ต่ำสุดที่ 4-4.5 ส่วน Lactobacillus และ Pediococcus บางสายพันธุ์ จะทำให้ pH ต่ำประมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5 ก่อนจะมีการยับยั้งการเติบโตของตัวเองได้ทำการแยกเชื้อแบคทีเรียแลกติกจากกะหล่ำปลี และผักกาดดอง แล้วคัดเลือกเชื้อจำนวน 6 สายพันธุ์ ตามลักษณะการหมักแบบ Homo- และ Hetero-fermentative การทนเกลือ อัตราการสร้างกรดและใช้เชื้อทั้ง 6 สายพันธุ์เป็นเชื้อตั้งต้นในการดองผักต่าง ๆ พบว่า น้ำดองผักมีความเป็นกรดสูงร้อยละ 0.6-0.7 เมื่อดองผักได้ 4 วัน ที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส และเมื่อดองผักด้วยแบคทีเรียแลกติกดังกล่าว โดยใส่เกลือร้อยละ 4 , $CaCl_2$ ร้อยละ0.1 และกรดซอร์บิก ร้อยละ 0.1 พบว่าหลังดองผักไว้ 2 เดือน ที่อุณหภูมิ 28- 30 องศาเซลเซียส ผักที่ดองก็ไม่มีการเน่าเสีย ยังคงสีสดเหมือนธรรมชาติและมีรสชาติเป็นที่ถูกปากอีกด้วย

2.2.6 แบคทีเรียแลกติกสามารถแบ่งตามการใช้อาหารและการสร้างอาหารได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่

2.2.6.1 โฮโมเ

เป็นแบคทีเรี จากการหมัก
คาร์โบไฮเดรต โดยไม่ หรือ 15 องศา
เซลเซียส สร้างเอนไซ *bacillus sake*,
L. acidilactici, *L. casei*

2.2.6.2 เฮทเท

เป็นแบคทีเรียที่ เดรต ต้องการ
ใช้ไธมีนในการเจริญเ ไซม์อัลโดเลส
ได้แก่ *Lactobacillus pl* ler และ Weiss,
1989)

2.2.7 การผลิตกรดแลกติกสามารถแบ่งออกเป็น 4 สกุล

2.2.7.1 สกุล Streptococcus จัดอยู่ในกลุ่มโฮโมเฟอร์เมนเตทีฟ (homofermentative) รูปร่างกลมจับกันเป็นคู่หรือต่อเป็นโซ่

2.2.7.2 สกุล Leuconostoc จัดอยู่ในกลุ่มเฮทเทอโรเฟอร์เมนเตทีฟ (hetrofermentative) รูปร่างกลมจับกันเป็นคู่หรือต่อเป็นโซ่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.7.3 สกุล Pediococcus จัดอยู่ในกลุ่มโฮโมเฟอร์เมนเตทีฟ (homofermentative) มีรูปร่างเป็นเม็ดกลม เซลล์จับอยู่เป็นคู่มี 2 ระนาบ

2.2.7.4 สกุล Lactobacillus จัดอยู่ในกลุ่มโฮโมเฟอร์เมนเตทีฟ (homofermentative) หรือเฮทเทอโรเฟอร์เมนเตทีฟ (hetrofermentative)

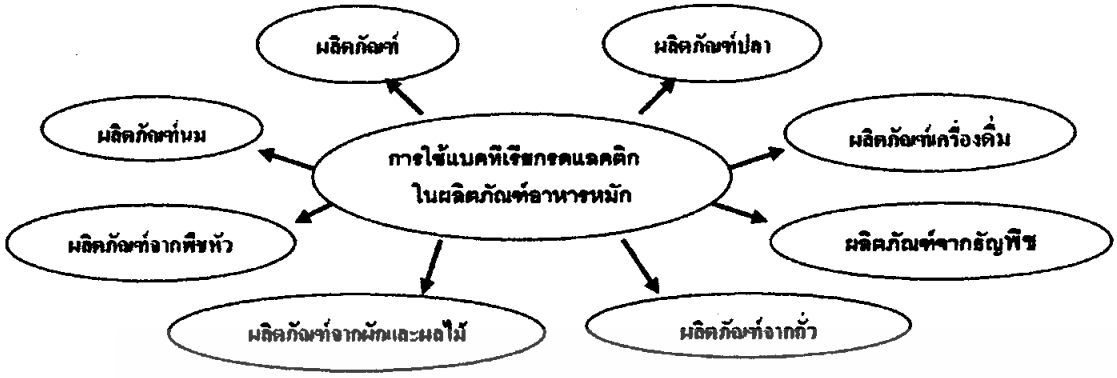
2.2.7.5 สกุล Streptococcus ที่เกี่ยวข้องกับอาหารหมักคือ กลุ่มที่สร้างกรดแลกติกเท่านั้นซึ่งต่อมาได้เปลี่ยนเป็นสกุล Lactococcus โดยยังคงชนิดและสับสปีชีส์ไว้ตามเดิม

ในปัจจุบันมีกา :illus ออกจาก
Streptococcus และ Tet งแลกติกรวม 7
สกุล คือ Enterococcus, tococcus และ
Tetragenococcus และ m (Axelsson,
1993; Kandler และ We

2.2.8 ผลิตภัณฑ์ที่

แบคทีเรียแลก เตรหลายชนิด
ได้แก่ ผลิตภัณฑ์นม (d เอง เช่น กิมจิ
ผักกาดดอง ใช้ในผลิต ช่น แหนม ไส้
กรอกเปรี้ยว นอกจาก น การทำหญ้า
หมัก ซึ่งเชื่อว่าได้หญ้า งอย่างของการ
ใช้แบคทีเรียแลกติกใน ..... ที่ 2.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.3 แนวทางการใช้ประโยชน์จากแบคทีเรียแลกติกในการผลิตอาหารหมักชนิดต่าง ๆ
ที่มา : ขวัญเมือง (2004)

2.2.8.1 ผลิตภัณ

ผลิตภัณฑ์นมม งหรือนมข้นก็ ได้ นำมาผ่านการโฮโม เตอริไลซ์แล้ว หมักต่อด้วยจุลินทรีย์ที่ งชนิดร่วมกัน ในการหมักนมเกิดได้ 2 การหมักที่ให้ กรด ก๊าซและแอลกอฮอ ์คือ การสร้าง กรดแลกติกในการหมัก เป็น curd คือ ทำให้รสชาติของผลิตภั ที่เกี่ยวข้องกับ การผลิตโยเกิร์ต ได้แก่ *us delbrueckii* subsp. *bulgaricus* การ ูอย่างรวดเร็ว เมื่อค่าพีเอชลดลงจาก 6 illi จะเจริญขึ้น เมื่อสิ้นสุดการหมัก ความเป็นกรดของผลิตภัณฑ์และจำนวนเชื้อของแบคทีเรียแลกติกทั้งสองชนิดนี้มี ประมาณ 0.90-0.95 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังมีการหมักที่ทำให้มีรสเปรี้ยวเล็กน้อย คือ นมหมักที่ เรียกว่า คีโตเฟอร์ ซึ่งเกิดจากการหมักนมกับหัวเชื้อจุลินทรีย์ ในการหมักครั้งนี้จะประกอบด้วย แบคทีเรียแลกติกและยีสต์ที่ยึดเกาะกันเป็นสารที่มีลักษณะเป็นเมือกเหนียว การอยู่ร่วมกันของกล้า เชื้อคีเฟอร์เป็นแบบ symbiotic ถ้าหากเชื้อคีเฟอร์อยู่ในน้ำนมสามารถที่จะเพิ่มจำนวนได้ การหมัก คีเฟอร์ที่เกิดจากยีสต์และแบคทีเรียแลกติกจะทำหน้าที่ในการหมักนมให้เป็นสารประกอบหลายอย่าง ได้แก่ กรดแลกติก คาร์บอนไดออกไซด์และเอทานอลเล็กน้อย และนอกจากนี้ยังจะได้สารที่มีกลิ่นหอม กลิ่นรสของคีเฟอร์จากนมหลายชนิดจะมีกลิ่นที่แตกต่างกัน ซึ่งจะขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชนิดของนมที่จะใช้ในการหมัก องค์ประกอบของไขมันในนม องค์ประกอบของกล้าเชื้อในดีเฟอร์ ตลอดจนการใช้เทคโนโลยีในการผลิตในแต่ละครั้ง ซึ่งจะเกิดประโยชน์ที่ได้จากการหมักนมที่เป็นเครื่องดื่มต่อสุขภาพและยังรักษาความผิดปกติของเมแทบอลิซึม และรักษาโรคภูมิแพ้ และยังมีประโยชน์ในการลดการเจริญเติบโตของมะเร็ง ใช้เป็นอาหารของทารกได้และยังมีผลกระตุ้นภูมิคุ้มกันให้แก่ร่างกาย (Guzel-seydim และคณะ, 2001; Beshkova และคณะ, 2002)

2.2.8.2 ผลิตภัณฑ์ผักดองเปรี้ยว (Fermented vegetable products)

การทำผักดอง เป็นการทำให้ผักสามารถเก็บไว้ให้บริโภคได้นาน โดยการนำมาแปรรูปและยัง
ร่วมไปถึงการนำผลไม้ ยแลกติก ผักที่
นิยมมาดองส่วนมากจะ ใช้ในการดอง
ได้แก่ มะขาม มะม่วง เ เป็นที่รู้จักของ
คนทั่วไป (Steinkraus,

2.2.8.3 ผลิตภั

เป็นการหมักเ หมักที่แตกต่าง
จากผลิตภัณฑ์อื่น เนื่อง ไม่มีการทำให้
แห้ง ผลิตจากเนื้อหมู เข้ากันแล้วใส่
ถุงพลาสติก ในปัจจุบั นระหว่างการ
หมักมีกรดแลกติกเกิด

นอกจากนี้ยังท ที่ก่อให้เกิดโรค
ลดลงด้วย ซึ่งผลการยั ที่พบในแหนม
เช่นในกลุ่มแบคเทอริโอซินโดยจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นหัวเชื้อนี้จะทำให้มีความปลอดภัยต่อการบริโภคและเก็บไว้ได้นานขึ้น

แบคทีเรียแลกติกที่เกี่ยวข้องกับการหมักแหนมที่พบ *Lactobacillus* sp. และ *Pediococcus* sp. เป็นเชื้อที่ใช้ในทางการค้าของผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก นอกจากนี้บางผลิตภัณฑ์ยังใช้ Micrococcus ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่รีดิวซ์ไนเทรต ซึ่งมีผลทำให้สีของผลิตภัณฑ์มีความคงทนอย่างขึ้น (Swetwiwathana และคณะ, 2003)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.8.4 ผลิตภัณฑ์ปลาหมัก (Fermented fish products)

การหมักปลาเป็นการหมักที่เกี่ยวข้องกับแบคทีเรียแลกติก ได้แก่ปลาร้า ปลาส้ม หลักในการหมักจะประกอบด้วย ปลา เกลือ เช่นในการผลิตน้ำปลาจะประกอบด้วยปลาและเกลือเท่ากับ 3:1 ผสมให้เข้ากันแล้วบรรจุใส่ในโอ่งแล้วปล่อยให้เกิดการหมัก18 เดือน ในระหว่างที่ทีการหมักปลา ปลาจะมีการสลายตัวเอง โดยกิจกรรมของเอนไซม์ในตัวปลาได้ผลผลิตเป็นของเหลวสีน้ำตาลออกมา ซึ่งของเหลวที่ออกมานี้จะประกอบไปด้วยกรดอะมิโน โปรตีนและนิวคลีโอไทด์ ที่จะทำให้น้ำปลามีคุณค่าและคุณภาพทางโภชนาการมากขึ้นและยังนิยมใช้เป็นเครื่องปรุงในการประกอบและถนอมอาหารหลายประเภท แบคทีเรียที่พบในอาหารหมักของปลา *Lactobacillus farcimnis, L. pentosus, L. plantarum, Lactobacillus* sp. และ [illegible] ดีและเจริญได้เล็กน้อยในระหว่างก[illegible] (Tanasupawat และคณะ, 1998)

2.2.8.5 การหม[illegible]

เป็นการหมักที่[illegible] อีกกลุ่มหนึ่งที่ได้ศึกษาการหมัก เชื้อร[illegible] ยีสต์ รา และแบคทีเรีย ได้แก่ ซีอิ๊ว [illegible] เชื้อจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการหมักไ[illegible] ารหมักชนิดนี้ใช้เป็นเครื่องปรุงรสใน[illegible] ใช้ถั่วเหลืองทั้งเมล็ดและใช้แป้งข้าวสา[illegible] *Pediococcus*

เต้าเจี้ยว เป็น[illegible] เหารประเภท semi-solid ที่นิยมบริโภ[illegible]

2.2.9 ประโยชน์ของแบคทีเรียแลกติกที่มีต่ออาหารหมัก

2.2.9.1 เพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ จากการศึกษาถึงข้อมูลในกลุ่มของธัญพืช พบว่าคุณค่าทางอาหารของผลิตภัณฑ์ที่เพิ่มขึ้นมาจากกิจกรรมการหมักที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการผลิตโดยเฉพาะการเพิ่มองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่จำเป็น นอกจากนั้นคุณค่าทางด้านโปรตีนในอาหารที่มีส่วนของธัญพืชและถั่วยังเพิ่มขึ้นอีกด้วย (ตารางที่ 2.2) องค์ประกอบของวิตามินบางชนิดยังพบได้ในระหว่างการหมัก เพราะมีจุลินทรีย์บางชนิดสังเคราะห์วิตามินที่จำเป็นต่อการเจริญ จึงทำให้องค์ประกอบของวิตามินในอาหารที่ผ่านการหมักสูงกว่าอาหารที่ไม่ผ่านกระบวนการหมัก เช่น ในเทมเป้จากข้าวสาลี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พบว่าปริมาณของไนอะซิน ไรโบฟลาวิน และไทอะมินก่อนการหมักเท่ากับ 46.0, 0.4 และ 3.2 ไมโครกรัม/กรัม เพิ่มเป็น135, 3.2 และ 3.2 ไมโครกรัม/กรัม ภายหลังการหมัก โดยส่วนใหญ่แล้วปริมาณของวิตามินมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามที่แสดงในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ปริมาณโปรตีนในส่วนผสมของถั่วและธัญพืช

Protein source diet (%)		Protein efficient ratio
Cereal	Legume	
100 rice	0 black bean	2.38
0 rice		
90 rice		
100 corn		
90 corn		
100 sorghun		
90 sorghun		
100 wheat		
0 wheat		
50 wheat		

ที่มา : Wang และ Hesse

2.2.9.2 การยั **เ**ารหมักพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ทำให้ผลิตภัณฑ์มีความปลอดภัยสูงขึ้นตลอดจนเก็บรักษาได้นานขึ้น โดยปัจจัยหลักที่เกี่ยวข้องกับการยับยั้งคือ การสร้างกรดและการลดลงของค่าพีเอช กรดอินทรีย์ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของแบคทีเรียทั้งกรดแลกติก และกรดอะซิติก นอกจากนั้นยังมีสารประกอบอินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ที่เกิดขึ้นและมีผลในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดอื่น เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ แบคเทอริโอซิน ซึ่งเป็นสารอินทรีย์ประเภทโพลีเปปไทด์ โครงสร้างทางเคมีเกิดจากการเรียงตัวของกรดอะมิโนเป็นสายยาว มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียกลุ่มที่ใกล้เคียงกัน แบคเทอริโอซินส่วนใหญ่ผลิตจากแบคทีเรียแลกติก โดยแบคทีเรียแลกติกแต่ละสายพันธุ์จะให้คุณสมบัติของแบคเทอริโอซินที่แตกต่างกันไป ทั้งคุณสมบัติในการยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบคทีเรียชนิดอื่น น้ำหนักโมเลกุล โครงสร้างโมเลกุล สมบัติทางพันธุกรรมและสมบัติทางชีวเคมี (Klaenhammer, 1988; Hiller และ Davision, 1991; Stiles และ Hastings, 1991) ตัวอย่างสารที่ผลิตจากแบคทีเรียแลกติกบางสายพันธุ์ ดังแสดงในตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 สารยับยั้งที่ผลิตจากแบคทีเรียแลกติก

Inhibitor substance	**Strain of lactic acid bacteria**
Hydrogen peroxide	*Lactobacillus* sp., *Pediococcus* sp.
Nisin and diplococcin	*Streptococcus* sp.
Lactocin and lactobaci	
Lactobrevin	
Bulgarican	
Acidophilin, lactocidir	
Acidolin, lactolin	

ที่มา : De Vuyst และ Va

2.2.9.3 แบคทีเ อด มีรายงาน
โดย Adam และ Moss (เสเทอรอลได้
นอกจากนั้นยังมีผลในก ะต้องบริโภค
ผลิตภัณฑ์พร้อมกับการ อบของสารที่
ยับยั้งการสังเคราะห์ค *Lactobacillus*
acidophilus จะช่วยให้คอเลสเทอรอลในเลือดลดลงกว่าการบริโภคนมที่ไม่มีเชื้อดังกล่าว (Marvin, 1981) การบริโภคดีเฟอร์ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์นมหมักประเภทหนึ่งมีผลดีต่อสุขภาพหลายประการ เพราะมีคุณค่าทางโภชนาการหลายประการ และยังส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกันให้กับร่างกาย ช่วยให้ระบบการย่อยอาหารดีขึ้นโดยเฉพาะการย่อยแลคโทส (Hertzler และ Clancy, 2003)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.9.4 กิจกรรมในการป้องกันมะเร็ง แบคทีเรียแลกติกโดยเฉพาะ *Lactobacillus acidophilus* เป็นแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับมะเร็งในลำไส้ใหญ่ การศึกษาถึงการบริโภคอาหารประเภทเนื้อแดง พบว่าทำให้ระดับของเอนไซม์ β-lucuronidase, azoreductase และเอนไซม์ introreductase เพิ่มสูงขึ้นกว่าการบริโภคอาหารประเภทผัก และเอนไซม์เหล่านี้ยังความเกี่ยวข้องกับการเพิ่มความเปลี่ยนแปลงของ procacinogen ไปเป็น carcinogen ในส่วนปลายของลำไส้ ผลของ *L. acidophillus* สามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์เหล่านี้ได้ ทำให้โอกาสเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งของผู้บริโภคลดลง (Adam และ Moss, 1995; Marvin, 1981)

2.2.9.5 ช่วยกร ...ตุ้นภูมิคุ้มกัน
โดยมีความไวต่อ micr... gA) และผลิต
gamma interferon ซึ่งผ... ...งมีคุณสมบัติ
เป็น antitumor โดยเฉพ...

การถนอมอาห... ...ารพัฒนาของ
มนุษยชาติ แต่ระยะนั้น... ...ปัจจุบันในโลก
ของจุลินทรีย์โดยเฉพา... ...ขึ้น แบคทีเรีย
แลกติกได้ถูกนำมาใช้เ... ...ผลิตภัณฑ์นม
หมัก ผลิตภัณฑ์เนื้อหมั... ...ติกในแหนม
บางยี่ห้อ เช่น แหนมไบ... ...กผลิตผลทาง
การเกษตรหลายชนิดที่... ...กับแบคทีเรีย
แลกติกทั้งสิ้น เช่น การ... ...ส่วนการผลิต
ซีอิ๊วซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ถั่วหมักอีกชนิดหนึ่งก็ยังเกี่ยวข้องกับแบคทีเรียแลกติก แต่เป็นแบคทีเรียแลกติกที่เจริญได้ในสภาวะที่มีความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์สูง (มากกว่า 18 %)

แบคทีเรียแลกติกที่เกิดขึ้นในอาหารหมักมีประโยชน์หลายประการ เช่น กระบวนการสร้างกรดที่เกิดขึ้นมีผลทำให้ค่าพีเอชของผลิตภัณฑ์ลดลง และมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคหลายชนิด นอกจากกรดแลกติกแล้วยังมีสารประกอบอีกหลายชนิดที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการหมัก เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ไดอะซิทิล (มีผลต่อกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์) และสารที่สำคัญอีกกลุ่มหนึ่งคือแบคเทอริโอซิน คุณสมบัติอีกประการหนึ่งของแบคทีเรียกลุ่มนี้ คือ จัดเป็นโพรไบโอติก (probiotics) ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ ช่วยปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ช่วยย่อยกากอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บางส่วนที่ระบบของมนุษย์ไม่สามารถย่อยได้ให้เป็นสารที่ร่างกายดูดซึมเอาไปใช้ประโยชน์ได้ และยังมีผลต่อการลดระดับคอเลสเทอรอล และสร้างภูมิคุ้มกันให้กับร่างกาย ดังนั้นผู้ที่บริโภคอาหารที่มีโพรไบโอติกเป็นประจำจึงมีสุขภาพแข็งแรง

2.2.10 ปัจจัยที่มีผลต่อการหมัก

2.2.10.1 สับสเตรท

สับเตรทที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดแลกติก ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต เช่น แป้งข้าวโพด แป้งมันฝรั่ง กากน้ำตาล และน้ำทิ้งจากผลิตภัณฑ์นม (whey) เป็นต้น สำหรับสับสเตรทพวกแป้งนั้นจะต้องผ่านกระบวนการการย่ นการเลือกใช้สับสเตรทนั้นต้องมีปริ ื่อปรับสภาพสับสเตรทและค่าใช้จ่าย

2.2.10.2 อุณหภ

การเลี้ยงเชื้อจุ มอุณหภูมิให้เหมาะสมกับเชื้อนั้น สำ ในแต่ละสกุลดังแสดงในตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 อุณหภูมิที่เ

Lactobacillus spp.	
Thermobacterium	37-45
Atreptobacterium	28-32
Betabacterium	28-40
Pediococcus spp.	25-33
Streptococcus spp.	30-37
Leuconostoc spp.	20-25

ที่มา : ภูริวัฒน์, 2539

85384

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.10.3 ระดับ pH

ถึงแม้แบคทีเรียแลกติกจะเจริญได้ที่ระดับ pH ในช่วงกว้าง 4-7.5 แต่ค่า pH ที่เหมาะสมโดยทั่ว ๆ ไปอยู่ในช่วงประมาณ 6-6.5 และเนื่องจากแบคทีเรียกลุ่มนี้จะเมทาบอไลท์ น้ำตาลเป็นกรดแลกติก ทำให้ pH ของอาหารลดลงอย่างรวดเร็ว จึงทำให้จะต้องคอยปรับค่า pH ให้สูงขึ้น การเลี้ยงเชื้อในสภาวะที่เป็นกรดนั้น นอกจากการเจริญจะช้าลงแล้วยังมีผลต่อการอยู่รอดของเชื้อในขณะเก็บ เมื่ออยู่ในสภาวะที่มีกรดมาก ๆ เซลล์บางส่วนจะบาดเจ็บ และไม่สามารถดำเนินการหมักได้ทันที

การปรับค่า pH ในระหว่างการเลี้ยงเชื้อจำเป็นต้องทราบชนิดของด่างให้เหมาะสมซึ่งมีรายงานว่าการเลี้ยง *Streptococcus* spp. นั้นการปรับค่า pH ด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์แต่กล้าเชื้อที่ผลิตได้จะดำเนินกิจกรรมการหมั ไซด์ เนื่องจากเชื้อมีประสิทธิภาพของ ชื้อชนิดที่ต้องนำไปเพิ่มจำนวนก่อนใ ร้างโปรตีเอสได้ตามเดิม อย่างไรก็ตา อดอยู่ในขณะแช่เย็น นานกว่ากล้าที่ไ ไซด์ สำหรับการเลี้ยง *Lactobacill* รอกไซด์ผสมแคลเซียมคาร์บอเนต เพื่ อย่างช้าๆ ซึ่งก๊าซนี้จะทำให้เกิดบรร

2.2.10.4 ออกซิ

แบคทีเรียแลก rophile) ซึ่งเมตาบอไลท์สารอาหาร การเพาะเลี้ยงจึงไม่ต้องพ่นอากาศ แ เป็นต้องมีการรบกวนซึ่งมีผลทำให้อากาศลงไปในอาหารได้ และทำให้เกิดการสะสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ในสภาวะเช่นนี้เชื้อจะเจริญช้าลง ซึ่งการแก้ไขปัญหาอาจทำให้เกิดการเติมเอนไซม์คะตะเลส หรือสารรีดิวซ์ตัวอื่น ๆ เช่นพวกไพรูเวทหรือเฟอรัสซัลเฟต นอกจากการเติมสารดังกล่าวแล้ว การพ่นก๊าซคาร์บอไดออกไซด์ลงในถังเลี้ยงเชื้อ เป็นอีกวิธีหนึ่งที่ขจัดปัญหาการเกิดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลอง

<u>ขั้นตอนที่ 1 การหาปริมาณของแบคทีเรียแลกติกในชั่วโมงที่แตกต่างกัน</u>

ไส้กรอกอีสานเป็นผลิตภัณฑ์อาหารหมักพื้นบ้านที่นิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลายในประเทศไทย ซึ่งกระบวนการหมักที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่เกิดจากแบคทีเรียแลกติกที่มีอยู่ในธรรมชาติที่ปนเปื้อนมาจากเนื้อสัตว์และเครื่องป[illegible] [illegible]างกว้างขวาง โดยกิจกรรมหลักของแ[illegible]ส่วนผสมของอาหารให้เป็นผลิตภัณฑ์[illegible]กไซด์ ซึ่งสารเหล่านี้ทำให้ผลิตภัณฑ์มี[illegible]

การศึกษาครั้งนี้[illegible]ตามลำดับ ทำการเตรียมตัวอย่างไส้กร[illegible]ย่างไส้กรอก**ชั่วโมงที่ 0** ที่ระดับการเ[illegible]10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5} และ 10^{-6} ใช้ Auto p[illegible]จานเพาะเชื้อที่มี MRS agar ที่มี 0.5% c[illegible]ใน candle jar ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา[illegible]

จากการทดลอง[illegible]ที่เรียแลกติกมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นเห็น[illegible]รางที่ 4.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 ปริมาณแบคทีเรียแลกติกของไส้กรอกอีสานในชั่วโมงที่ 0, 24 และ 48

เวลา	จำนวนโคโลนีที่นับได้ ระดับความเจือจาง						ผลการตรวจนับ (cfu/g)
	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	
วันที่ 0 (ชั่วโมงที่ 0)	> 300	265	47.5	-	-	-	3.7×10^{4}
วันที่ 1 (ชั่วโมงที่ 24)	> 300	> 300	> 300	216	90	18	2.2×10^{6}
วันที่ 2 (ชั่วโมงที่ 48)	> 300	> 300	> 300	296	132.5	23	3.0×10^{6}

****หมายเหตุ**** - หมา

ขั้นตอนที่ 2 คัดเลือกแบ

ทำการสุ่มเลือ ละน้อย โดย
กำหนดให้โคโลนีที่มีรัศ ติกที่ผลิตกรด
น้อย และรัศมีของโซนใ มาก คัดเลือก
โคโลนีของแบคทีเรียแล เลี้ยงเชื้อแบบ
deep tube ลงในหลอดท 1 โคโลนีบ่ม
ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา

ขั้นตอนที่ 3 การย้อมสีแ **เรียแลกติกที่**
คัดเลือก

นำแบคทีเรียแลกติกจากขั้นตอนที่ 2 มาย้อมสีแบบแกรม เพื่อทำการตรวจสอบรูปร่าง ลักษณะและการติดสีของโคโลนี พบเป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีรูปร่าง 2 แบบ คือ คอคไค (cocci) และแบบแท่ง (rod) ดังแสดงในภาพที่ 4.1 และ 4.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.1 ลักษณะของเ

ภาพที่ 4.2 ลักษณะของแบคทีเรียกรดแลกติกแบบแท่ง (rod)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอนที่ 4 ศึกษาการผลิตกรดของแบคทีเรียแลกติกที่คัดเลือก

จากการย้อมสีแบบแกรม ทำการคัดเลือกแบคทีเรียแลกติกที่มีรูปร่างเป็นแบบคอคไค (cocci) และแบบแท่ง (rod) ทั้งของแบคทีเรียแลกติกที่ผลิตกรดมากและน้อยมาอย่างละ 1 หลอดจากนั้นทำการถ่ายเชื้อที่คัดเลือกใส่ในหลอดทดลองที่มีอาหาร MRS borth 5 มิลลิลิตร เชื้อละ 1 หลอด และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-20 ชั่วโมง จากนั้นใช้ Auto pipette ดูดเชื้อในหลอดทดลองปริมาณ 100 µl ถ่ายลงในขวดอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 50 มิลลิลิตร เชื้อละ 1 ขวดอีกครั้งและนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ทำการตรวจวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด - ด่าง, ปริมาณกรด และปริมาณแบคทีเรียแลกติก ในชั่ว

จากการทดลอง มงที่ 0 ถึง
ชั่วโมงที่ 16 หลังจากนั้น ากปริมาณ
ของสารอาหารในอาหา รผลิต
ปริมาณกรดออกมามาก ที่ 4.2 และ
4.5 และภาพที่ 4.3 และ งขึ้น ดังแสดง
ในตารางที่ 4.3 และ 4.6 าความเป็น
กรด-ด่างมีค่าลดลงด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ครั้งที่ 1

ตารางที่ 4.2 ปริมาณแบคทีเรียแลกติกในชั่วโมงที่ 0, 8, 16 และ 24

หลอดที่	ปริมาณแบคทีเรียแลกติก (เซลล์/มิลลิลิตร)			
	ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 8	ชั่วโมงที่ 16	ชั่วโมงที่ 24
1	0.44×10^{6}	1.00×10^{10}	2.80×10^{10}	0.88×10^{10}
2	0.66×10^{6}	1.00×10^{10}	3.55×10^{10}	1.11×10^{10}
3	0.44×10^{6}	1.07×10^{10}	1.14×10^{10}	1.02×10^{10}
4				$.93\times10^{10}$
5				$.80\times10^{10}$
6				$.62\times10^{10}$
7				$.67\times10^{10}$
8				$.67\times10^{10}$
9				$.24\times10^{10}$
10				$.67\times10^{10}$
11				$.80\times10^{10}$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>ตารางที่ 4.3</u> ปริมาณกรดของแบคทีเรียแลกติกในชั่วโมงที่ 0, 8, 16 และ 24

หลอดที่	% acid (v/v)			
	ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 8	ชั่วโมงที่ 16	ชั่วโมงที่ 24
1	0.15	0.90	1.20	1.50
2	0.15	1.20	1.20	1.50
3	0.15	0.90	1.20	1.20
4	0.15	0.60	0.60	0.90
5				1.20
6				1.20
7				1.50
8				1.20
9				1.20
10				0.90
11				0.90

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>ตารางที่ 4.4</u> ค่าความเป็นกรด – ด่างของแบคทีเรียแลกติกในชั่วโมงที่ 0, 8, 16 และ 24

หลอดที่	pH			
	ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 8	ชั่วโมงที่ 16	ชั่วโมงที่ 24
1	6.49	4.52	4.28	4.14
2	6.54	4.48	4.26	4.19
3	6.35	4.64	4.21	4.13
4	6.44	4.53	4.45	4.66
5				4.25
6				4.25
7				4.15
8				4.15
9				4.38
10				4.75
11				4.83

<u>หมายเหตุ**</u>**

หลอดที่ 1 รัศมีของส่วน

หลอดที่ 2 รัศมีของส่วน

หลอดที่ 3 รัศมีของส่วน

หลอดที่ 4 รัศมีของส่วน

หลอดที่ 5 รัศมีของส่วนใสรอบ ๆ โคโลนี 0.3 cm มีรูปร่างเป็นแบบกลม

หลอดที่ 6 รัศมีของส่วนใสรอบ ๆ โคโลนี 0.3 cm มีรูปร่างเป็นแบบแท่ง

หลอดที่ 7 รัศมีของส่วนใสรอบ ๆ โคโลนี 0.4 cm มีรูปร่างเป็นแบบแท่ง

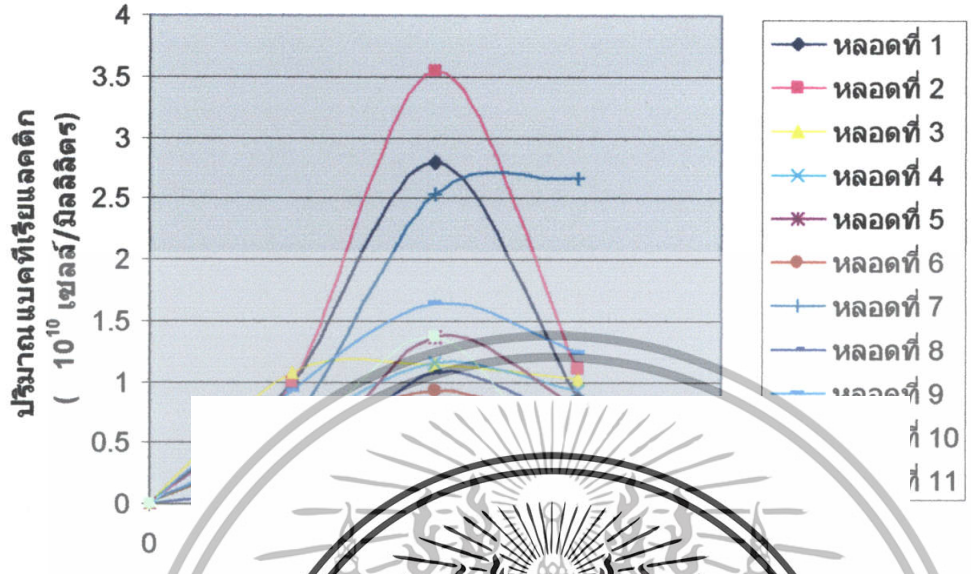
หลอดที่ 8 รัศมีของส่วนใสรอบ ๆ โคโลนี 0.3 cm มีรูปร่างเป็นแบบกลม

หลอดที่ 9 รัศมีของส่วนใสรอบ ๆ โคโลนี 0.1 cm มีรูปร่างเป็นแบบกลม

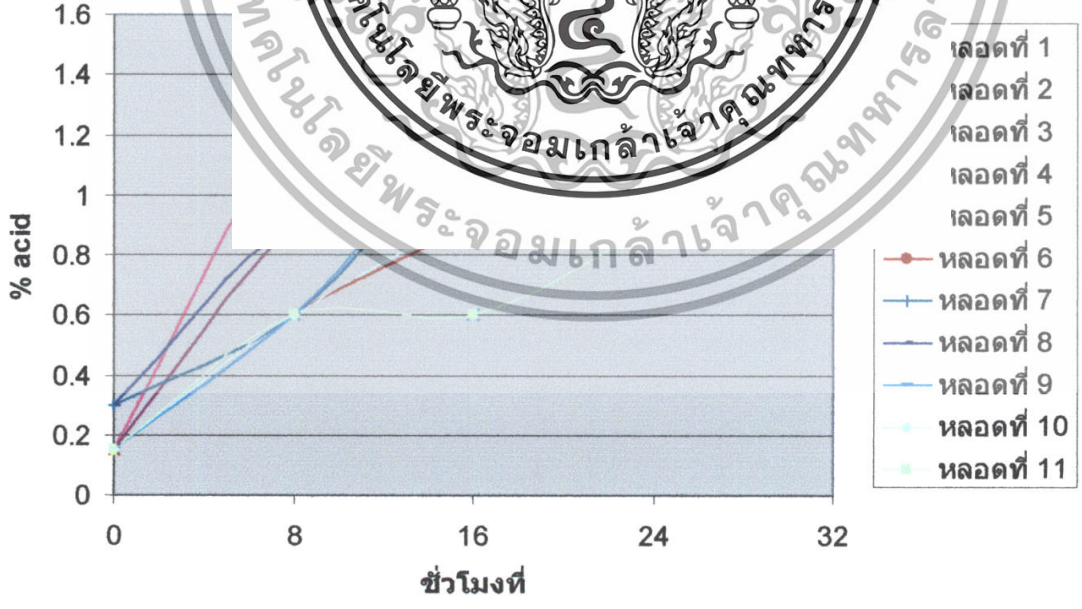
หลอดที่ 10 รัศมีของส่วนใสรอบ ๆ โคโลนี 0.05 cm มีรูปร่างเป็นแบบแท่ง

หลอดที่ 11 รัศมีของส่วนใสรอบ ๆ โคโลนี 0.05 cm มีรูปร่างเป็นแบบแท่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

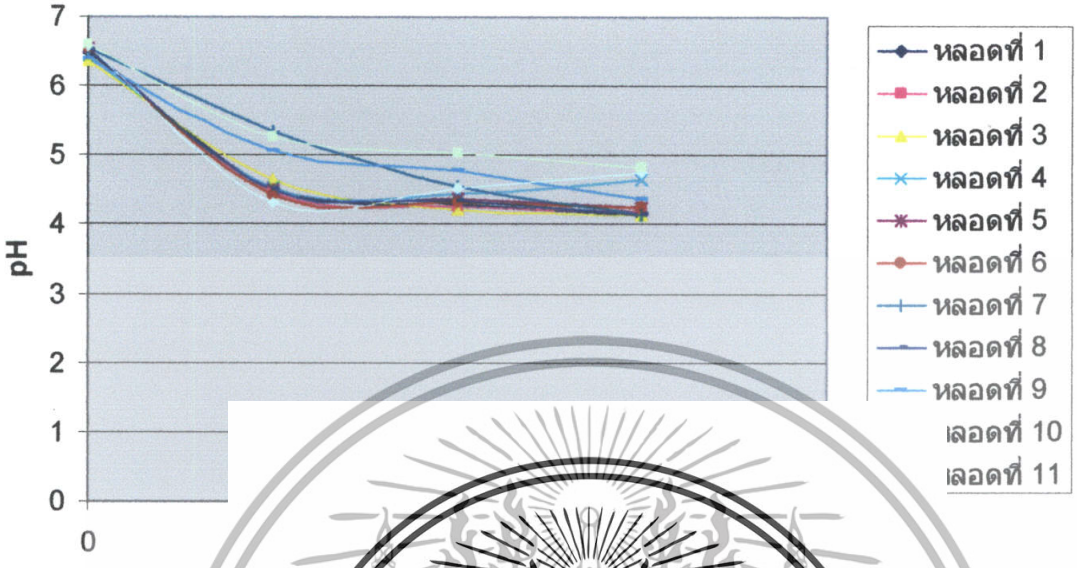


ภาพที่ 4.3 ปริมาณแบคท



ภาพที่ 4.4 ปริมาณกรดของแบคทีเรียแลกติกในชั่วโมงที่ 0, 8, 16 และ 24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.5 ค่าความเป็นก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ครั้งที่ 2

ตารางที่ 4.5 ปริมาณแบคทีเรียแลกติกในชั่วโมงที่ 0, 8, 16 และ 24

หลอดที่	ปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลกติก (เซลล์/มิลลิลิตร)			
	ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 8	ชั่วโมงที่ 16	ชั่วโมงที่ 24
1	0.44×10^{6}	0.13×10^{10}	0.49×10^{10}	2.62×10^{10}
2	0.22×10^{6}	0.28×10^{10}	0.25×10^{10}	0.97×10^{10}
3	0.88×10^{6}	0.57×10^{10}	1.95×10^{10}	2.48×10^{10}
4				$.48\times10^{10}$
5				$.51\times10^{10}$
6				$.97\times10^{10}$
7				$.31\times10^{10}$
8				$.44\times10^{10}$
9				$.20\times10^{10}$
10				$.62\times10^{10}$
11				$.44\times10^{10}$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>ตารางที่ 4.6</u> ปริมาณกรดของแบคทีเรียแลกติกในชั่วโมงที่ 0, 8, 16 และ 24

หลอดที่	% acid (v/v)			
	ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 8	ชั่วโมงที่ 16	ชั่วโมงที่ 24
1	0.30	0.60	0.90	0.90
2	0.30	0.60	0.90	0.90
3	0.30	0.90	1.20	1.80
4	0.30	0.30	0.60	1.50
5				1.20
6				0.90
7				1.20
8				0.90
9				1.50
10				1.50
11				1.20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 ค่าความเป็นกรด - ด่างของแบคทีเรียแลกติกในชั่วโมงที่ 0, 8, 16 และ 24

หลอดที่	pH			
	ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 8	ชั่วโมงที่ 16	ชั่วโมงที่ 24
1	6.19	4.93	4.55	4.42
2	6.19	5.21	4.82	4.64
3	6.19	4.43	4.39	4.14
4	6.16	6.06	4.98	4.28
5				4.20
6				4.83
7				4.25
8				4.51
9				4.19
10				4.19
11				4.31

****หมายเหตุ****

หลอดที่ 1 รัศมีของส่วน

หลอดที่ 2 รัศมีของส่วน

หลอดที่ 3 รัศมีของส่วน

หลอดที่ 4 รัศมีของส่วนใสรอบ ๆ โคโลนี 0.4 cm มีรูปร่างเป็นแบบกลม

หลอดที่ 5 รัศมีของส่วนใสรอบ ๆ โคโลนี 0.05 cm มีรูปร่างเป็นแบบแท่ง

หลอดที่ 6 รัศมีของส่วนใสรอบ ๆ โคโลนี 0.1 cm มีรูปร่างเป็นแบบกลม

หลอดที่ 7 รัศมีของส่วนใสรอบ ๆ โคโลนี 0.1 cm มีรูปร่างเป็นแบบกลม

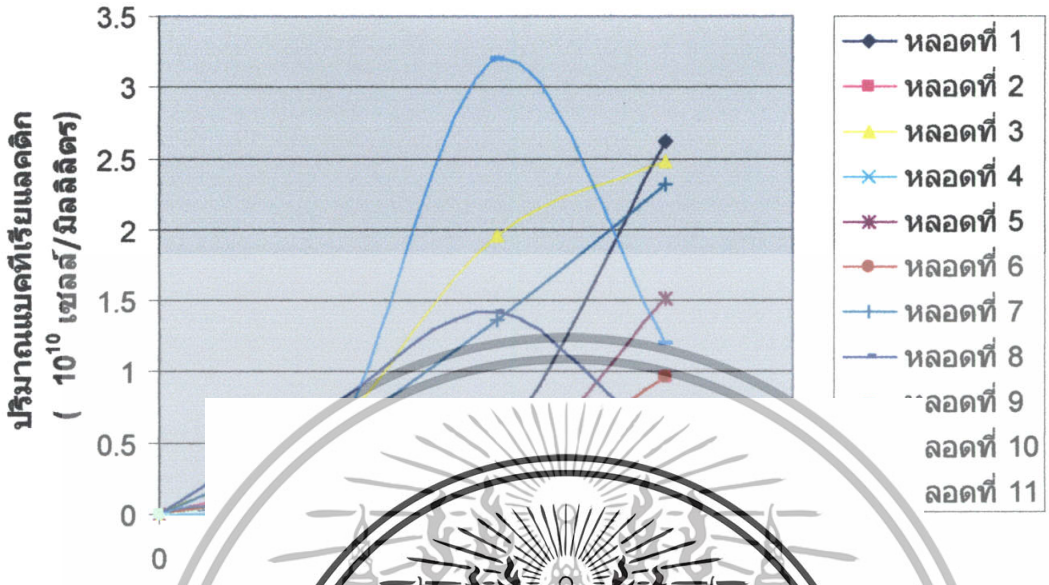
หลอดที่ 8 รัศมีของส่วนใสรอบ ๆ โคโลนี 0.05 cm มีรูปร่างเป็นแบบแท่ง

หลอดที่ 9 รัศมีของส่วนใสรอบ ๆ โคโลนี 0.4 cm มีรูปร่างเป็นแบบแท่ง

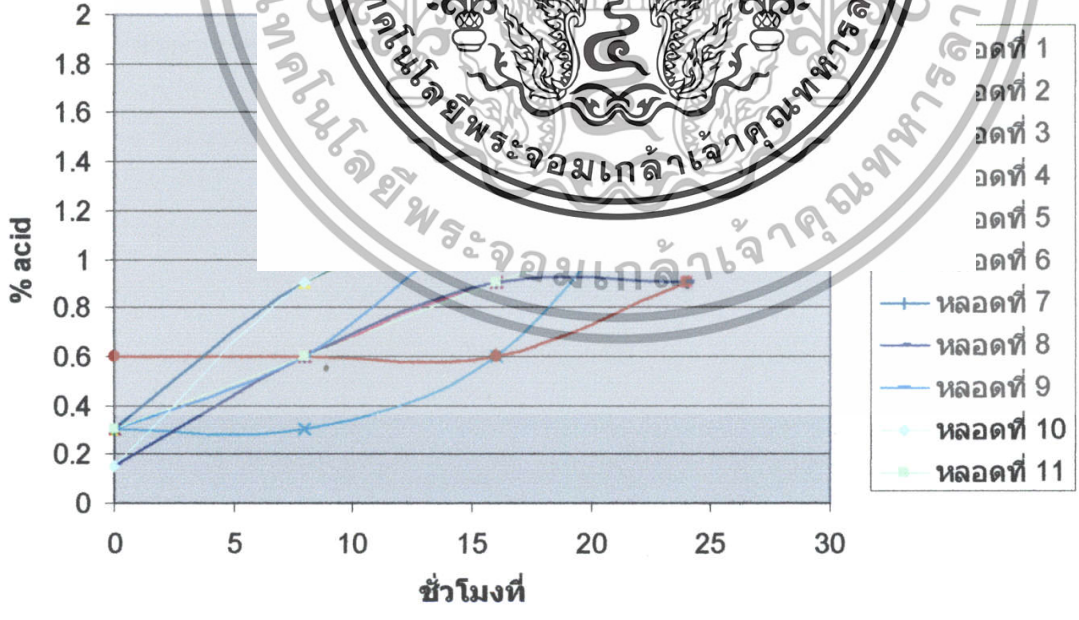
หลอดที่ 10 รัศมีของส่วนใสรอบ ๆ โคโลนี 0.4 cm มีรูปร่างเป็นแบบแท่ง

หลอดที่ 11 รัศมีของส่วนใสรอบ ๆ โคโลนี 0.1 cm มีรูปร่างเป็นแบบแท่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

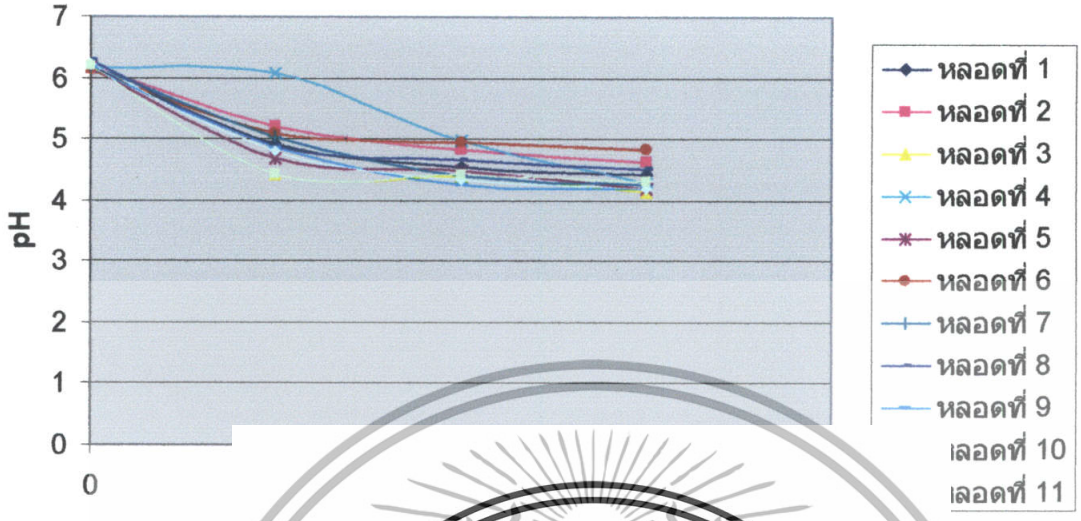


ภาพที่ 4.6 ปริมาณแบคที



ภาพที่ 4.7 ปริมาณกรดของแบคทีเรียแลกติกในชั่วโมงที่ 0, 8, 16 และ 24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.8 ค่าความเป็นก

ขั้นตอนที่ 5 การหาสายพ **ieux® SA**
ประเทศฝรั่งเศส)

ทำการคัดเลือก เที่ทำการ
เลือกรูปร่างแบบคอค ได สายพันธุ์
โดยใช้ Carbohydrate Fe
จากการทำการ ผลตรวจการ
เปลี่ยนแปลงของสีออกม ว่าสายพันธุ์
ที่ตรวจพบเป็นแบคทีเรียแลกติกกลุ่ม *Lactococcus lactis*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

API 50 CH Medium

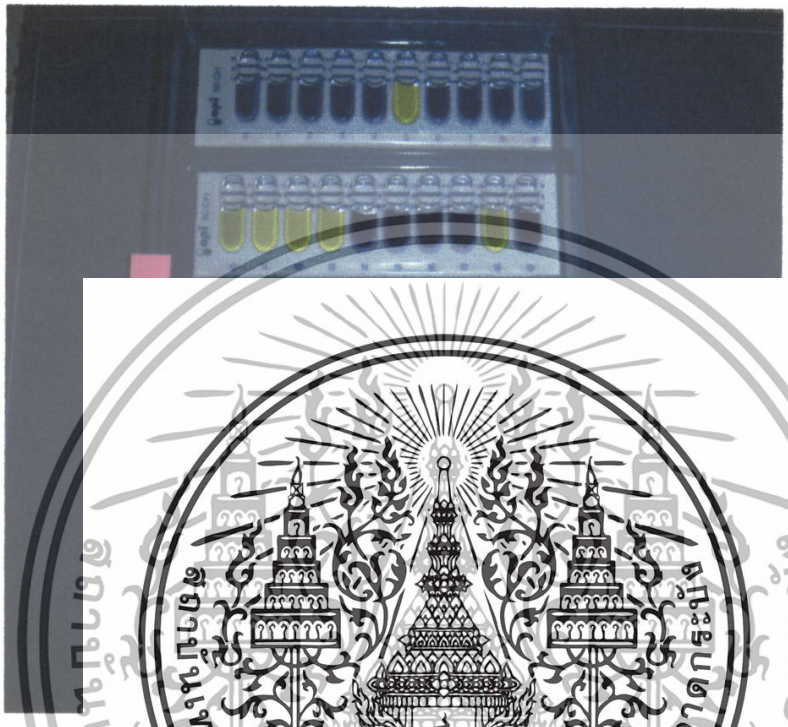
ตารางที่ 4.8 ผลการตรวจ API 50 CH Medium หลอดหมายเลข 1 (ครั้งที่ 2)

	0 CTRL	1 GLY	2 ERY	3 DARA	4 LARA	5 RIB	6 DXYL	7 LXYL	8 ADO	9 MDX
24	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
48	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
	10 GAL	11 GLU	12	13	14	15	16	17	18	19 SOR
24	+/-	+								-
48	+	+								-
	20 MDM	21 MDG								29 LAC
24	-	-								-
48	-	-								-
	30 MEL	31 SAC								39 GEN
24	-	-								+
48	-	-								+
	40 TUR	41 LYX	1AG	DFUC	LFUC	DARL	LARL	GNT	2KG	49 5KG
24	-	-	-	-	-	-	-	+/-	-	-
48	-	-	-	-	-	-	-	+/-	-	-

****หมายเหตุ****

+	หมายถึง	มีการเปลี่ยนเป็นสีเหลือง
+/-	หมายถึง	มีการเปลี่ยนเป็นสีเขียว
-	หมายถึง	ไม่มีการเปลี่ยนแปลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.9 ผลการตรวจค
ของหลอดที่ 1 (ครั้งที่ 2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

API 50 CH Medium

ตารางที่ 4.9 ผลการตรวจ API 50 CH Medium หลอดหมายเลข 6 (ครั้งที่ 2)

	0 CTRL	1 GLY	2 ERY	3 DARA	4 LARA	5 RIB	6 DXYL	7 LXYL	8 ADO	9 MDX
24	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
48	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
	10 GAL	11 GLU	12	13	14	15	16	17	18	19 SOR
24	+/-	+								-
48	+/-	+								-
	20 MDM	21 MDG								29 LAC
24	-	-								-
48	-	-								-
	30 MEL	31 SAC								39 GEN
24	-	-								+
48	-	-								+
	40 TUR	41 LYX	TAG	DFUC	LFUC	DARL	LARL	GNT	2KG	49 5KG
24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
48	-	-	+/-	-	-	-	-	+/-	-	-

****หมายเหตุ****

+	หมายถึง	มีการเปลี่ยนเป็นสีเหลือง
+/-	หมายถึง	มีการเปลี่ยนเป็นสีเขียว
-	หมายถึง	ไม่มีการเปลี่ยนแปลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.10 แสดงผลการ
ของหลอดที่ 6 (ครั้งที่ 2)

****หมายเหตุ****

0 ConTRoL	10 (			JRanose
1 GLYcerol	11 (			YXose
2 ERYthritol	12			AGatose
3 D ARAbinose	13			JCose
4 L ARAbinose	14 SorBosE	22 N Acetyl	34 MeLeZitose	44 L FUCose
5 RIBose	15 RHAmnose	Glucosamine	35 RAFfinose	45 D ARabitoL
6 D XYLose	16 DULcitol	23 AMYgdalin	36 Starch	46 L ARabitoL
7 L XYLose	17 INOsitol	24 ARButin	37 GLycoGen	47 GlucoNaTe
8 ADOnitol	18 MANnitol	25 ESCulin	38 XyLiTol	48 2 Keto
9 β Methyl-D	19 SORbitol	26 SALicin	39 GENtiobiose	Gluconate
XYloside		27 CELlobiose		49 5 Keto
		28 MALtose		Gluconate
		29 LACtose		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 6

สรุปผลการทดลอง

จากการคัดเลือกแบคทีเรียแลกติกที่สามารถผลิตกรดแลกติกได้ปริมาณมากและน้อยจากไส้กรอกอีสาน โดยเริ่มจากการคัดเลือกแบคทีเรียกรดแลกติกที่เพาะเลี้ยงในอาหาร MRS agar ที่มี 0.5% calcium carbonate ในชั่วโมงที่ 0, 24 และ 48 ตามลำดับ ทำการสุ่มเลือกโคโลนีของแบคทีเรียแลกติกจากการวัดรัศมีข ไซนใส 0.1-0.2 เซนติเมตร เป็นแบค เมตรขึ้นไป เป็นแบคทีเรียแลกติกที่ค อาหาร MRS agar ที่มี 1% calcium ca งจสอบรูปร่างลักษณะ และการติดสีข ง (rod) จากนั้นทำการคัดเลือกแ วิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง, ปริ 4 ตามลำดับ พบว่าปริมาณแบคทีเรีย 5 หลังจากนั้นปริมาณแบคทีเรียแลกติ งเชื้อ MRS broth มีปริมาณลดลง ร นการรอดชีวิตของแบคทีเรียแลกติ ๆ จากการที่ปริมาณกรดเพิ่มขึ้นนี้จะ าด้วย

ขั้นสุดท้ายจะทำ ลกติกที่มีการสร้างกรดน้อยที่สุด นำมาตรวจสอบสายพันธุ์ด้วยวิธี Carbohydrate Fermentation Kit Test (API 50 CH) พบว่าเป็นแบคทีเรียแลคติกกลุ่ม *Lactococcus lactis*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

การทำไส้กรอกอีสาน. [online]. เข้าถึงได้จาก : coursewares.mju.ac.th/ft470/Lab/chapterp07.doc

โครงสร้างของไดอะซิทิล. [online]. เข้าถึงได้จาก : www.answers.com

โครงสร้างของอะซิทิลดีไฮด์. [online]. เข้าถึงได้จาก : www.chemistrydaily.com

แบคทีเรียกรดแลกติกในผลิตภัณฑ์อาหารหมักดอง. [online]. เข้าถึงได้จาก :
http://plasom.com/general_2.htm.

ปิ่นมณี ขวัญเมือง,ดร.2546 แบคทีเรียกรดแลกติกในผลิตภัณฑ์อาหารหมักดอง (Lactic Acid
Bacteria in Fer อนตุลาคม
2546 – มีนาคม

ภูริวัฒน์ ศรีปัญญาวิญญู แกษตร
คณะเทคโนโลยี ะบัง. 6-10

Adam, M. R. and Moss, istry.
Cambridge : pj

Axelsson, Lot. 1993. La
Bacteria (Salmi
York

Beshkova, D. M., Simo re
culture for making

De Vuyst, L. and Vand logy,
Genetics and Application. Blackie Academic & Professional, New York.

Guzel-seydim, Z.B., Seydim, A.C., greene, A.K. and Bodin, A.B. 2000. Determination of organic acid and volatile flavor substances in kefir during fermentation . J. Food Composition and Analysis. 13:35-43.

Hammers, W. P. 1987. Proceeding from Food Ingredients European Conference on Ingredients and Additive. Wiesbaden. p.. 22.

Hansen, B. E. 2002. Commercial bacterial starter culture for fermented food of the future. Int. J. Food Microbial. 78: 119-131.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Hertzler, S.R. and Clancy, S.M. 2003. Kefir improves lactose digestion and tolerance in adults with lactose maldigestion. Research. 103 (5) : 582-586

Hiller, A.J. and Davision, B.E. 1991. Bacteriocin as food preservatives. Food Res.Qoart. 51:60-64.

Kandler, O. and Weiss, N. 1986. Regular, Non-Sporing Gram Positive Rods. In Bergeys Manual of Systematic Bacteriology Vol.2 (Sneath,P.H..,Mair,N.S., Sharpe,M.E.and Holt,J.G.eds.). P 1208-1234.William and Wilkins Co. Baltimore.

Klaenhammer, T. R. 1988. Bacteriocin of lactic acid bacteria. Biochimic. 70:337-349

Marvin, L. S. 1981. Use of microbial culture : Dairy products. Food Technol. 35 (1) : 79-83.

Steinkrus, K. 1995. Har SA.p.135.

Stiles, M.E. and Hastin tential for use in meat pre

Swetwiwathana, A., Ze International C 24

Tanasupawat, S., Sane fermented fish

Wang, H. L. and Hesse oducts. Food Technol.

Wood, B.J.B. and Holz bacteria. Blackie Acade

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้