

ผลร่วมของส่วนผสมบางชนิดในหนามต่อการยับยั้งการเจริญของ
Streptococcus suis ในสภาวะจำลองการหมักหนาม
ANTAGONISTIC EFFECT OF SOME INGREDIENTS IN NHAM
PRODUCT ON *Streptococcus suis* IN NHAM MODEL BROTH



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาการจัดการความปลอดภัยอาหาร

คณะอุตสาหกรรมอาหาร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2564

KMITL-2021-FI-M-054-386

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ANTAGONISTIC EFFECT OF SOME INGREDIENTS IN NHAM
PRODUCT ON *Streptococcus suis* IN NHAM MODEL BROTH**

NARINKARN PHOKRANG

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN FOOD SAFETY MANAGEMENT
SCHOOL OF FOOD INDUSTRY**

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2021

KMITL-2021-FI-M-054-386

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2021

SCHOOL OF FOOD INDUSTRY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลร่วมของส่วนผสมบางชนิดในแฮมต่อการยับยั้งการเจริญของ <i>Streptococcus suis</i> ในสภาวะจำลองการหมักแฮม
นักศึกษา	นรินทร์กานต์ โพธิ์กร่าง
รหัสประจำตัว	58608019
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	การจัดการความปลอดภัยอาหาร
พ.ศ.	2564
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ.ดร.อดิสร เสวตวิวัฒน์

บทคัดย่อ

จากการศึกษาผลขององค์ประกอบในการหมักแฮมที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อ *Streptococcus suis* โดยมีการศึกษาผลขององค์ประกอบที่เป็นวัตถุดิบอาหารที่มักจะมีการใช้ในแฮมและส่วนประกอบของการหมักแฮม คือ โซเดียมไนไตรท์ โซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต โซเดียมคลอไรด์ โซเดียมแอสคอเบส และกระเทียม โดยใช้อาหารเหลวแบบจำลองการหมักแฮม (Nham model broth, NMB) พบว่า NMB ที่มีโซเดียมไนไตรท์ 80 ppm และ โซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต 3 g/l สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Strep.suis* ที่มีเชื้อเริ่มต้น 6 log cfu/ml ใน NMB ได้ โดยตรวจไม่พบเชื้อใน NMB ในชั่วโมงที่ 12 และใน NMB ที่มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ 25g/l สามารถลดจำนวน *Strep. suis* ได้ในชั่วโมงที่ 6-12 ปริมาณเชื้ออยู่ที่ 4 log cfu/ml และในชั่วโมงที่ 18 เชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นเป็น 5 log cfu/ml จากการศึกษาผลร่วมระหว่างวัตถุดิบอาหาร 2 ชนิด ใน NMB ต่อการเจริญของเชื้อ *Strep.suis* พบว่าใน NMB ที่มีส่วนผสมของโซเดียมไนไตรท์ 80 ppm ร่วมกับ โซเดียมไตร โพลิฟอสเฟต 3 g/l NMB ที่มีส่วนผสมของโซเดียมไนไตรท์ 80 ppm กับ โซเดียมคลอไรด์ 25g/l NMB ที่มีส่วนผสมของโซเดียมไนไตรท์ 80 ppm ร่วมกับโซเดียมแอสคอเบส 0.5 g/l และ NMB ที่มีส่วนผสมของโซเดียมไตร โพลิฟอสเฟต 3 g/l ผสมกับโซเดียมคลอไรด์ 25g/l สามารถลดปริมาณเชื้อ *Strep.suis* 6 log cfu/ml ได้โดยในชั่วโมงที่ 24 ปริมาณเชื้อลดลงเหลือเพียง 1 log cfu/ml มีเพียง NMB ที่มีส่วนผสมของโซเดียมคลอไรด์ 25g/l ร่วมกับโซเดียมแอสคอเบส 0.5 g/l สามารถลดปริมาณเชื้อ *Strep.suis* ได้เหลือ 2 log cfu/ml ในชั่วโมงที่ NMB ที่มีส่วนผสมของกระเทียม สามารถลดจำนวนเชื้อได้เล็กน้อยโดยในชั่วโมงที่ 24 ปริมาณเชื้ออยู่ที่ 5 log cfu/ml และใน NMB ที่มีการใส่ส่วนประกอบทั้งหมดในการหมักแฮมพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้งหมดได้ในชั่วโมงที่ 18 นอกจากนี้ยังได้มีการศึกษาผลของ pH จากกรดแลคติกที่มีต่อเชื้อ *Strep.suis* ใน NMB พบว่า ในอาหารเหลวจำลองการหมักแฮมที่ปรับค่า pH ให้อยู่ที่ pH 4.5 ตรวจไม่พบเชื้อเมื่อเวลาผ่านไป 12 ชั่วโมง และที่อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการปรับค่า pH ให้เท่ากับ 5 ตรวจไม่พบเชื้อ

พบเชื้อที่ ชั่วโมงที่ 18 จากการศึกษาองค์ประกอบในการหมักแหมนใน NMB สรุปได้ว่า องค์ประกอบที่อยู่ในแหมนมีแนวโน้มช่วยในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Strep.suis* ในระหว่างการหมักแหมนได้ นอกจากนี้ ในกระบวนการหมักมีแบคทีเรียแลคติกที่ผลิตกรดแลคติกทำให้ค่า pH ของแหมนลดลงจะเป็นอีกหนึ่งปัจจัยในการลดการเจริญและร่วมในการทำลาย *Strep.suis* ที่อาจปนเปื้อนในเนื้อหมูที่นำมาผลิตแหมนได้ ผลที่ได้จากการศึกษานี้จัดเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการยืนยันว่า องค์ประกอบในการผลิตแหมน มีส่วนช่วยในการยับยั้ง *Strep.suis* ในระหว่างการหมักแหมนได้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis	Antagonistic effect of some ingredients in Nham product on <i>Streptococcus suis</i> in Nham model broth
Student	Ms. Narinkarn Phokrang
Student ID.	58608019
Degree	Master of Science
Program	Food Safety Management
Year	2021
Thesis Advisor	Assoc.Prof Dr. Adisorn Swetwathana

ABSTRACT

This study was aimed to investigate the effect of some ingredients in Thai fermented pork (nham) on the growth of *Streptococcus suis* (6 log cfu/ml) using nham model broth (NMB). The ingredients were comprised of mostly food additives such as sodium nitrite, sodium tripolyphosphate, sodium chloride, sodium ascorbate and garlic. The results revealed that sodium nitrite at 80 ppm and sodium tripolyphosphate at 3 g/l were exerted the highest possibility to diminish *Strep.suis* in NMB within 12 hours, while NMB with sodium chloride at 25 g/l could slowly reduce the amount of *Strep. suis* to be at 4 log cfu/ml after 6 to 12 hours and then slowly increased to 5 log cfu/ml after 18 hours in NMB. When the effect of two food additives on *Strep. suis* in NMB was set for further study, the results informed that the mixture between sodium nitrite at 80 ppm and sodium tripolyphosphate at 3 g/l, sodium nitrite at 80 ppm and sodium chloride at 25 g/l, sodium nitrite at 80 ppm and sodium ascorbate at 0.5 g/l, follow by sodium tripolyphosphate at 3 g/l and sodium chloride at 25 g/l, all mixture in NMB samples were capable to minimize 6 log cfu/ml of *Strep.suis* to 1 log cfu/ml within 24 hours. Only the mixture of 25 g/l of sodium chloride and 0.5 g/l of sodium ascorbate in NMB could reduce *Strep. suis* number to 2 log cfu/ml after 24 hours. Fresh garlic in NMB showed slightly inhibitory effect on *Strep. suis* in NMB and 5 log cfu/ml of *Strep.suis* could still be detected in NMB after 24 hours of incubation. The best antagonistic effect on *Strep. suis* in NMB was shown when the same amount of all studied additive ingredients were added in NMB. The results informed that NMB with all studied additive in NMB could rapidly reduce the cell number of *Strep. suis* after 6 – 12 hours and *Strep. suis* was totally diminished after 18 hours. In additional study of the antagonistic effect of various pH (using lactic acid as a pH adjustment for pH) on *Strep. suis* in NMB, the results implied that NMB at pH 4.5 and

5.0 exerted the best inhibitory effect on *Strep. suis* by showing the diminishment of *Strep. suis* in NMB within 12 and 18 hours, respectively. Thus, it is concluded that the additive components using in the production of Nham are the main factors to exert the effect on *Strep. suis*. Moreover, the reduction of pH during the fermentation of Nham is also one of the main factor in effectively control this pathogenic microorganism during the production of Nham.



กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ผู้จัดทำวิทยานิพนธ์ขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร. อติสร เสวตวิวัฒน์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้ความรู้ แนวคิด คำปรึกษา และ ข้อเสนอแนะในการดำเนินงานวิจัย ตลอดจนการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร. อพัชชา จินดาประเสริฐ และ ดร. กิตติชัย บรรจง อาจารย์คณะ อุตสาหกรรมอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และ รศ.ดร.ประภา พร ขอไพบูลย์ ที่ได้ให้เกียรติเป็นกรรมการสอบปกป้องวิทยานิพนธ์ และได้กรุณาให้คำแนะนำ เพิ่มเติมที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่ง ตลอดจนตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้มีความถูกต้องยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณบริษัทไทยอินโนฟู้ด จำกัด ที่ให้การสนับสนุนทุนในการทำวิจัย

ขอขอบคุณงานทุนการศึกษา สำนักทะเบียนและประมวลผล สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้การสนับสนุนทุนในการนำเสนอผลงานทางวิชาการ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ เจ้าหน้าที่ธุรการทุกท่าน รวมถึง พี่ๆ น้องๆ นักศึกษา คณะอุตสาหกรรมอาหารทุกท่านที่คอยให้ความช่วยเหลือ ให้คำแนะนำ ในการทำวิจัย และให้กำลังใจในการทำวิจัยนี้ตลอดมา

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อและแม่ของข้าพเจ้าที่สนับสนุนและช่วยเหลือ ทางด้านการศึกษาและเป็นกำลังใจอยู่เสมอ ทำให้ข้าพเจ้าทำงานวิจัยนี้จนสำเร็จ ประโยชน์อันใดที่ได้จากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ย่อมเป็นผลมาจากความกรุณาของทุกท่านดังกล่าวข้างต้น ผู้วิจัยจึงใคร่ ขอขอบพระคุณทุกท่านไว้ ณ โอกาสนี้

นรินทร์กานต์ โพธิ์กร่าง

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	III
กิตติกรรมประกาศ.....	V
สารบัญ.....	VI
สารบัญตาราง.....	VIII
สารบัญภาพ.....	IX
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	4
บทที่ 2 ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....	5
2.1 เชื้อจุลินทรีย์สเตรปโตค็อกคัส ซูอิส.....	5
2.2 แหนม.....	6
2.3 แบบจำลองการหมักแหนม Nham Model broth (NMB).....	11
2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	12
บทที่ 3 เครื่องมือ อุปกรณ์ และวิธีการดำเนินการวิจัย.....	15
3.1 วัสดุดิบ.....	15
3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียและสารเคมี.....	15
3.3 เครื่องมือและอุปกรณ์.....	15
3.4 วิธีการทดลอง.....	16
3.5 การวางแผนการทดลองและการวิเคราะห์ข้อมูล.....	21
บทที่ 4 ผลการทดลอง และวิจารณ์.....	22
4.1 ผลของการตรวจสอบยืนยันเชื้อ <i>Strep.suis</i> ที่ใช้ในการทดลองโดยวิธีการวิเคราะห์ 16S-rRNA	22
4.2 ผลของวัตถุดิบอาหารที่มีการใช้ในแหนมที่ส่งผลต่อการเจริญของเชื้อ <i>Strep. suis</i> ในอาหารเหลวจำลองการหมักแหนม (Nham model broth, NMB).....	23

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.3 ผลการรอดชีวิตของเชื้อ <i>Strep. suis</i> ในอาหารเหลวจำลองการหมักแหนม (Nham model broth, NMB) ที่มีการเติมวัตถุเจือปนอาหาร 2 ชนิด.....	26
4.4 ผลของกระเทียมต่อการรอดชีวิตของเชื้อ <i>Strep. suis</i> ในอาหารเหลวจำลองการหมักแหนม (Nham model broth, NMB).....	30
4.5 ผลของวัตถุเจือปนอาหารในอาหารเหลวจำลองการหมักแหนมร่วมกับกระเทียมต่อการรอดชีวิตของเชื้อ <i>Strep. suis</i> ในแบบจำลองการหมักแหนม(Nham model broth, NMB).....	34
4.6 ผลของปัจจัยของพีเอชที่ส่งผลต่อการเจริญของเชื้อ <i>Strep. suis</i> ในอาหารเหลวจำลองการหมักแหนม (Nham model broth, NMB).....	37
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	41
บรรณานุกรม.....	43
ภาคผนวก.....	49
ภาคผนวก ก.....	50
ภาคผนวก ข.....	52
ภาคผนวก ค.....	53
ผลงานที่ได้นำเสนอในช่วงที่ศึกษาวิจัย.....	55
ประวัติผู้เขียน.....	63

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 แบบจำลองการหมักเหนม Nham Model broth (NMB) 1 ลิตร.....	11
4.1 ปริมาณเชื้อ <i>Strep.suis</i> ของอาหารเหลวจำลองการหมักเหนมที่มีการเติม กระเทียมปูดเชื้อลงในอาหารจำลองการหมักเหนม.....	32



สารบัญภาพ

รูปที่	หน้า
4.1 ลักษณะของเชื้อ <i>Strep. suis</i> เมื่อเจริญในอาหารเพาะเชื้อ Sheep Blood Agar โดยมีการย่อยสลายเม็ดเลือดแดงแบบไม่สมบูรณ์ (alpha hemolysis).....	22
4.2 การเปรียบเทียบ phylogenetic จาก Genbank ของเชื้อ <i>Strep. suis</i> ที่ใช้ในการทดลอง.....	23
4.3 ผลของวัตถุเจือปนอาหารในอาหารจำลองสภาวะการหมักเหนม ที่มีต่อการเจริญของเชื้อ <i>Strep. suis</i>	24
4.4 ค่า pH ในอาหารจำลองสภาวะการหมักเหนมที่มีการเติมวัตถุเจือปนอาหาร เมื่อมีการเจริญของเชื้อ <i>Strep. suis</i>	26
4.5 ผลร่วมของวัตถุเจือปนอาหาร 2 ชนิดในอาหารจำลองสภาวะการหมักเหนม ที่มีต่อการเจริญของเชื้อ <i>Strep. suis</i>	27
4.6 ค่า pH ของอาหารจำลองสภาวะการหมักเหนมที่มีการเติม วัตถุเจือปนอาหาร 2 ชนิดในที่มีการเจริญของเชื้อ <i>Strep. suis</i>	29
4.7 ผลของกระเทียมในอาหารจำลองสภาวะการหมักเหนมที่มีต่อการเจริญของเชื้อ <i>Strep. suis</i> ...	30
4.8 ค่า pH อาหารจำลองสภาวะการหมักเหนมที่มีการเติมกระเทียมสับปอดเชื้อ เมื่อมีการเจริญของเชื้อ <i>Strep. suis</i>	33
4.9 ผลของโซเดียมไนไตรต์ โซเดียมคลอไรด์ โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต โซเดียมแอสคอเบส และกระเทียมในแบบจำลองการหมักเหนมที่มีร่วมกันต่อการรอดชีวิตของเชื้อ <i>Strep. suis</i>	35
4.10 ค่า pH ของแบบจำลองการหมักเหนมที่มีโซเดียมไนไตรต์ โซเดียมคลอไรด์ โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต โซเดียมแอสคอเบส และกระเทียมในแบบจำลองการหมักเหนมมีการเจริญของเชื้อ <i>Strep. suis</i>	36
4.11 ผลของ pH ในอาหารจำลองสภาวะการหมักเหนมที่มีการปรับค่าด้วยกรดแลคติกต่อการเจริญของเชื้อ <i>Strep. suis</i>	38
4.12 ค่า pH ในอาหารจำลองสภาวะการหมักเหนมที่มีการปรับค่าด้วยกรดแลคติกเมื่อมีการเจริญของเชื้อ <i>Strep. suis</i>	39
ค-1 ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของเชื้อ <i>Strep. suis</i> ย้อมติดสีแกรมบวก.....	54

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมา และความสำคัญของปัญหา

เชื้อสเตรปโตค็อกคัส ซูอิส (*Streptococcus suis*) เป็นเชื้อที่ก่อโรคที่อยู่ในสุกร โดยเชื้อจะอยู่บริเวณต่อมทอนซิล และเยื่อโพรงจมูกของสุกร ซึ่งสามารถติดต่อมายังมนุษย์ได้โดยการสัมผัสกับสุกรที่เป็นโรค หรือ บริโภคเนื้อสุกรดิบ หรือปรุงกึ่งสุกกึ่งดิบที่มีเชื้อนี้เป็นเพื่อนอยู่ โดย *Strep. suis* เป็นเชื้อที่ทำให้เกิดอาการสมองอักเสบ ข้ออักเสบ ภาวะโลหิตเป็นพิษ โรคปอดบวมและโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ (Guillaume et al., 2014) โดย *Strep. suis* มีทั้งหมด 35 ซีโรไทป์ (serotype) โดย ซีโรไทป์ที่มีความรุนแรงสูงและมีรายงานการก่อโรคในมนุษย์มากที่สุดคือ ซีโรไทป์ 2 และ ซีโรไทป์ 1 (Arai et al. 2015) โดยพบการระบาดของเชื้อชนิดนี้ในหลายประเทศ โดยในประเทศไทยที่มีการบริโภคอาหารที่ทำมาจากเนื้อสัตว์ดิบ โดยส่วนมากเป็นอาหารท้องถิ่นของทางภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือซึ่งมีเมนูอาหารที่ทำจากเนื้อสัตว์ดิบเช่น เมนูลาบ หรือถู (วรรณโชค ไชยสะอาด, 2558) ซึ่งการบริโภคนี้อาจมีโอกาสดังกล่าวมีโอกาสเสี่ยงต่อการเกิดโรคติดเชื้อ *Strep. suis* จากบริโภคเนื้อหมูหรือเนื้อวัวดิบที่มีเชื้อ *Strep. suis* ทำให้ติดเชื้อกระแสโลหิตเข้าเยื่อหุ้มสมองแล้วทำให้หูหนวกถาวร หรือบางรายเสียชีวิต (สำนักโรคติดต่ออุบัติใหม่ กรมควบคุมโรค, 2554) การเกิดโรคติดเชื้อ *Strep. suis* พบในไทยครั้งแรกในปี พ.ศ. 2530 และมีการรายงานเพิ่มขึ้นเรื่อยๆร่วมกับเกิดการระบาดของโรค โดยได้เกิดการระบาดครั้งใหญ่ ซึ่งมีผู้ป่วย 33 ราย เสียชีวิต 3 ราย ที่จังหวัดพะเยา สาเหตุหลักของการระบาด มาจากการรับประทานเนื้อดิบและเลือดดิบจากสุกรที่ติดเชื้อ (Pathannasophon et al., 2016) ซึ่งข้อมูลเฝ้าระวังโรค ตั้งแต่วันที่ 1 ม.ค. – 31 ธ.ค. 2562 พบผู้ป่วย 388 ราย จาก 33 จังหวัดคิดเป็นอัตราป่วย 0.58 ต่อแสนประชากร (Bureau of Epidemiology, 2020) โดยพฤติกรรมเสี่ยงคือ การมีแผลเลือดออกที่มือ และสัมผัสเนื้อหมูดิบ การรับประทานเนื้อหมูดิบ และดื่มสุรา

ແໝ່ນເປັນຜົນຕໍ່ກັນທີ່ຜູ້ຜະລິດຈາກນ້ຳໝູ່ທີ່ມີກະບວນການຜະລິດທີ່ບໍ່ຜ່ານຄວາມຮ້ອນ ແລະ ຜູ້ບໍລິໂກດື່ມກໍ່ມີໂຣດຫຼັງການຜະລິດໂດຍບໍ່ຜ່ານຄວາມຮ້ອນ ຜົນຕໍ່ກັນແໝ່ນຈຶ່ງມີຄວາມເສຍໃຈໃນການເກີດໂຣດຈາກເຊື້ອດັ່ງກ່າວເກີດຂຶ້ນມີການປ່ຽນເປັນເຊື້ອ ແຕ່ໃນແໝ່ນມີອົງປະກອບຂອງວັດຖຸເຊື້ອປະສານທີ່ໃຊ້ ໃນການຜະລິດ ຄື ໂຊເຊີມຄລອໄຣດ ເຊິ່ງມີການລະບາດປະລິມານເຊື້ອ *Escherichia coli*, *Salmonella* Typhimurium, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* ໃນຜົນຕໍ່ກັນໄດ້ແກະໝັກເກືອໃນເວລາ 30 ວັນ (Wijnker et al., 2016) ໂຊເຊີມໃນໄຟຟ້າ/ໄຟຟ້າ ມີການລະບາດປະລິມານເຊື້ອ *Salmonella* ແລະ *L. monocytogenes* ເຊິ່ງເປັນຈຸລິນທຣີຍ໌ກໍ່ໂຣດທີ່ພົບມາໃນຜົນຕໍ່ກັນນ້ຳໝູ່ ໄດ້ກ່າວເຖິງແກ້ແກ້ແກ້ແກ້ (Souad et al., 2018) ໂຟຣົນ ວິຣະຈາຣີ ແລະຄະ

(2538) ได้รายงานว่าการใช้โซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต ทำให้พบเชื้อ *Enterobacteriaceae* ที่น้อยกว่า การใช้สารประกอบฟอสเฟตเลย รวมทั้งตรวจพบไม่เชื้อ *Staph. aureus* ในแฮม โซเดียมแอล แอสคอเบส ซึ่งเป็นเกลือของวิตามิน C มีการรายงานว่าการใช้สารละลายผสมระหว่างกรด แอสคอร์บิกกับกรดกลูโคโนสามารถลดจำนวนเชื้อ *E. coli* และ *S. Derby* ในเนื้อสุกรได้ (จุฑารัตน์ เลียนกัฒนา, 2545) สำหรับกระเทียม มีการศึกษาผลของกระเทียมต่อการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค โดยในกระเทียมมีสารที่เรียกว่า allicin ที่สามารถทำลายเชื้อ *S. Anatum* และ *Staph. aureus* ที่เป็นเชื้อก่อโรคในแฮมได้โดยขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของกระเทียม (อดิสร เสวตวิวัฒน์, 2542) นอกจากองค์ประกอบของแฮมเหล่านี้ที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคได้หลายชนิดแล้ว ในกระบวนการหมักแฮมยังมีจุลินทรีย์ในกลุ่มแลคติกที่เกี่ยวข้องในระหว่างการหมักที่มีผลในการเปลี่ยนแปลงน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบของผลิตภัณฑ์ไปเป็นกรดแลคติกมีผลยับยั้ง และทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการได้ นอกจากนั้นจุลินทรีย์แลคติกบางตัวสามารถสร้างแบคทีเรียโอซิน แบคทีเรียแลคติกในกลุ่มของ *Lactobacillus plantarum* SS7 ที่แยกได้จากไส้กรอกอีสาน (Swetwathana et al., 2016) และมีความสามารถในการผลิตสารแบคทีเรียโอซิน ชนิด Plantaricin W (Holo et al., 2001; Swetwathana et al., 2016; Barbosa et al., 2016) นั้นมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียชนิดอื่นในผลิตภัณฑ์อาหารนั้นๆ ได้ (Klaenhammer, 1993; Ennahar et al., 2000)

จากรายงานต่าง ๆ ของสารที่ใช้ในการผลิตแฮมต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียหลายชนิด แต่ยัง ไม่พบถึงการรายงานการยับยั้ง *Strep. suis* โดยเฉพาะการยับยั้งเชื้อก่อโรคที่สำคัญนี้ในระหว่างการผลิตแฮม ดังนั้น การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปัจจัยของสารต่าง ๆ ที่เป็นองค์ประกอบ ในการผลิตแฮมที่มีผลในการยับยั้ง *Strep. suis* ในระหว่างการหมักแฮม โดยใช้อาหารเหลว จำลองสภาพเหมือนการหมักแฮม เพื่อสร้างความมั่นใจให้ผู้บริโภคว่าการบริโภคแฮมมีความปลอดภัย เนื่องจากการรับประทานแฮมนั้นนิยมรับประทานดิบ และนอกจากนี้ยังเป็นข้อมูลเสริมให้ผู้ประกอบการมั่นใจว่ากระบวนการหมักแฮมมีปัจจัยที่สามารถยับยั้ง *Strep. suis* ได้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 ศึกษาผลของวัตถุดิบอาหารได้แก่ โซเดียมคลอไรด์ โซเดียมไนไตรท์ โซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต และโซเดียมแอลคอเบส ต่อการยับยั้งเชื้อ *Strep. suis* ในอาหารเหลวที่จำลองสภาวะเหมือนการหมักแฮม (NMB)

1.2.2 ศึกษาผลของวัตถุดิบอาหาร 2 ชนิดที่มีร่วมกัน ต่อการยับยั้งเชื้อ *Strep. suis* ในอาหารเหลวที่จำลองสภาวะเหมือนการหมักแฮม (NMB)

1.2.3 ศึกษาผลของ กระเทียม ในการยับยั้งเชื้อ *Strep. suis* ในอาหารเหลวที่จำลองสภาวะเหมือนการหมักแฮม (NMB)

1.2.4 ศึกษาผลของส่วนประกอบในการผลิตแฮมได้แก่ โซเดียมคลอไรด์ โซเดียมไนไตรท์ โซเดียมแอลแอสคอเบส โซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต และกระเทียม ที่มีร่วมกันในการยับยั้งเชื้อ *Strep. suis* ในอาหารเหลวที่จำลองสภาวะการหมักแฮม (NMB)

1.2.5 ศึกษาผลของค่าความเป็นกรด pH จากกรดแลคติก ในการยับยั้งเชื้อ *Strep. suis* ในอาหารเหลวที่จำลองสภาวะเหมือนการหมักแฮม (NMB)

1.3 ขอบเขตการวิจัย

งานวิจัยนี้ทำการศึกษาผลของวัตถุดิบอาหารได้แก่ โซเดียมคลอไรด์ โซเดียมไนไตรท์ โซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต และโซเดียมแอลแอสคอเบส ต่อการยับยั้งเชื้อ *Strep. suis* ในอาหารเหลวที่จำลองสภาวะเหมือนการหมักแฮม (NMB) โดยทำการเก็บตัวอย่างทุก 6 ชั่วโมง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อนำมานับจำนวนเชื้อด้วยการ pour plate และทำการวัดค่า pH โดยใช้ pH meter และทำการศึกษาผลของวัตถุดิบอาหาร 2 ชนิดที่มีร่วมกัน ต่อการยับยั้งเชื้อ *Strep. suis* ในอาหารเหลวที่จำลองสภาวะเหมือนการหมักแฮม (NMB) ที่มีวัตถุดิบอาหาร 2 ชนิดเป็นส่วนประกอบได้แก่ อาหารจำลองการหมักแฮมที่มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ผสมกับโซเดียมไนไตรท์ โซเดียมไนไตรท์ผสมกับโซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต โซเดียมไนไตรท์ผสมกับโซเดียมแอลแอสคอเบส โซเดียมคลอไรด์ผสมกับโซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต โซเดียมคลอไรด์ผสมกับโซเดียมแอลแอสคอเบส โซเดียมไตรโพลิฟอสเฟตผสมกับโซเดียมแอลแอสคอเบส แล้วนำมานับจำนวนเชื้อโดยการเก็บตัวอย่างทุก 6 ชั่วโมง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมา pour plate และทำการวัดค่า pH โดยใช้ pH meter ทำการศึกษาผลของกระเทียมที่เป็นส่วนประกอบในแฮมที่มีต่อการยับยั้งเชื้อ *Strep. suis* ในอาหารเหลวที่จำลองสภาวะเหมือนการหมักแฮม (NMB) ทำการศึกษาโดยมีการเติมปริมาณกระเทียม 3 เปอร์เซ็นต์ w/v และ 5 เปอร์เซ็นต์ w/v ลงในอาหารเหลวจำลองการหมักแฮม (NMB) แล้วนำมาตรวจหาการเจริญของเชื้อโดยการเก็บตัวอย่างทุก 6 ชั่วโมง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมา pour plate และทำการวัดค่า pH โดยใช้ pH meter จากนั้น ศึกษาผลของวัตถุดิบอาหารร่วมกับกระเทียมในการยับยั้งเชื้อ *Strep. suis* ในอาหารเหลวที่จำลองสภาวะเหมือนการหมักแฮม (NMB) ทำการศึกษาโดยการการศึกษาในอาหารเหลวที่จำลองสภาวะเหมือนการหมักแฮม (NMB)ที่มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมไนไตรท์ โซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต โซเดียมแอลแอสคอเบส และมีการเติมและไม่เติมกระเทียมแล้วนำมาตรวจหาการเจริญของเชื้อโดยการเก็บตัวอย่างทุก 6 ชั่วโมง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมา pour plate และทำการวัดค่า pH โดยใช้ pH meter มีการศึกษาผลของค่า

ความเป็นกรด pH จากกรดแลกติก ในการยับยั้งเชื้อ *Strep. suis* ในอาหารเหลวที่จำลองสภาวะเหมือนการหมักเนนม (NMB) โดยมีการปรับค่า pH ในอาหารเหลวที่จำลองสภาวะเหมือนการหมักเนนม (NMB) ให้มีค่า pH เริ่มต้นเป็น 6.0, 5.5, 5.0 และ 4.5 เก็บตัวอย่างทุก 6 ชั่วโมง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมา pour plate และทำการวัดค่า pH

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.4.1 ทราบถึงผลของวัตถุเจือปนอาหารที่เป็นส่วนผสมในเนนมที่มีต่อการยับยั้งเชื้อ *Strep. suis* ในอาหารเหลวจำลองการหมักเนนมได้
- 1.4.2 ทราบถึงผลร่วมของวัตถุเจือปนอาหาร 2 ชนิดที่เป็นส่วนผสมในเนนมที่มีต่อการยับยั้งเชื้อ *Strep. suis* ในอาหารเหลวจำลองการหมักเนนมได้
- 1.4.3 ทราบถึงผลของกระเทียมที่เป็นส่วนผสมในเนนมที่มีต่อการยับยั้งเชื้อ *Strep. suis* ในอาหารเหลวจำลองการหมักเนนมได้
- 1.4.4 ทราบถึงผลร่วมของวัตถุเจือปนอาหารและกระเทียมที่เป็นส่วนผสมในเนนมที่มีต่อการยับยั้งเชื้อ *Strep. suis* ในอาหารเหลวจำลองการหมักเนนมได้
- 1.4.5 ทราบถึงผลของค่าความเป็นกรด (pH) ที่ส่งผลต่อการยับยั้งเชื้อ *Strep. suis* ในอาหารเหลวจำลองการหมักเนนมได้

บทที่ 2

ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 เชื้อจุลินทรีย์สเตรปโตค็อกคัส ซูอิส

2.1.1 จุลชีววิทยาของเชื้อ *Strep. suis*

สเตรปโตค็อกคัส ซูอิส (*Strep. suis*) ในตระกูล Streptococcaeae เป็นแบคทีเรียแกรมบวก สามารถเจริญเติบโตได้ทั้งในสภาวะที่มีอากาศหรือไม่มีอากาศ รูปร่างกลมหรือไข่ เรียงตัวเป็นคู่หรือต่อกันเป็นสายสั้น สร้างแคปซูล โคโลนีมีขนาดเล็ก ประมาณ 0.5-1.0 มม. สามารถสลายเม็ดเลือดแดง ประเภทอัลฟา (คุณสมบัติ alpha-hemolysis) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ sheep blood agar เชื้อนี้แบ่งตามลักษณะของ แอนติเจนบนผิวแคปซูล (Polysaccharide capsule antigens) เป็น อย่างน้อย 34 ซีโรไทป์ (serotype) จัดอยู่ใน Lancefield กลุ่ม D streptococci ปัจจัยที่มีผลต่อความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อแต่ละ ซีโรไทป์จะแตกต่างกัน โดยขึ้นอยู่กับสาร Muramidase-Released Protein (MRP) และ Extracellular Protein (EP) ซึ่งพบว่าซีโรไทป์ ที่มีความรุนแรงสูง และพบก่อโรคน้อยที่สุดในคนคือ serotype 2 และ serotype 1 ตามลำดับ (สำนักโรคติดต่อ อุบัติใหม่ กระทรวงสาธารณสุข, 2554)

เชื้อแบคทีเรีย *Strep. suis* เป็นเชื้อที่อยู่ในโพรงจมูกและต่อมน้ำลายของสุกร เชื้อดังกล่าวพบได้ในสุกรทั่วไปเป็นเชื้อประจำถิ่น เมื่อสุกรอยู่ในภาวะเครียด เช่น อยู่ในที่แออัด อากาศชื้นหรือหนาวจากฝนตกหนัก ภูมิคุ้มกันของสุกรจะลดลง เชื้อดังกล่าวจึงฉวยโอกาสเข้าสู่กระแสเลือดทำให้สุกรป่วยหรือตาย ส่วนเชื้อดังกล่าวนี้สามารถเข้าสู่ร่างกายมนุษย์ได้ 2 วิธี คือ 1. เชื้อเข้าทางบาดแผล 2. การบริโภคเนื้อหมูหรือเลือดโดยไม่ผ่านกระบวนการปรุงสุก (สำนักควบคุม ป้องกันและบำบัดโรคสัตว์ กรมปศุสัตว์, 2558)

เชื้อ *Strep. suis* ที่ปนเปื้อนในมูลสัตว์ น้ำ ดิน สามารถทนต่ออุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที หรือที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสสามารถอยู่ได้นาน 6 สัปดาห์ (Clifton-Hadley and Enright, 1984) และที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียสในฝุ่นดินมีชีวิตได้นาน 1 เดือน ในมูลสัตว์นาน 3 เดือน และที่อุณหภูมิห้องในมูลสัตว์มีชีวิตได้นาน 8 วัน (Clifton-Hadley and Enright, 1984)

เชื้อ *Strep. suis* สามารถถูกทำลายได้ที่ pH 4.0 ภายใน 1 ชั่วโมง ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Todd-Hewitt broth (THB) ที่ใช้กรด ฟอรั่มิกเป็นตัวปรับค่า pH และที่ pH 4.3 เชื้อ *Strep. suis* ลดปริมาณลงเหลือ 10^3 cfu/ml จากปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10^8 cfu/ml และที่ pH 5.3 ปริมาณเชื้อไม่ลดลงและไม่เพิ่มขึ้นในเวลา 1 ชั่วโมง และ ในกระเพาะของสุกรที่มีค่า pH 4.7 พบว่า เชื้อ *Strep. suis* ไม่มีการเจริญ (Warneboldt et al., 2016)

2.1.2 ลักษณะทางชีวเคมี

เชื้อ *Strep. suis* ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ในน้ำเกลือ (NaCl) 9.5 % ให้ผลเป็นลบ (negative) ในการทดสอบ oxidase, catalase, L-Pyrrolidonyl Arylamidase (PYR) Test, Voges Proskauer (VP) test และ optochin แต่ให้ผลบวก(positive) ในการทดสอบ bile esculin และเกือบทุก serotype โดยเฉพาะ serotype 2 ไวต่อยาต้านจุลชีพ Penicillin (Wangkaew et al., 2006; Marie et al., 2002)

2.1.3 รายงานการก่อโรคในมนุษย์

โรคติดเชื้อ *Strep. suis* พบครั้งแรกในมนุษย์เมื่อ ปี พ.ศ. 2511 ที่ประเทศเดนมาร์ก ทำให้เชื้อหุ้มสมองอักเสบ 2 ราย และติดเชื้อในกระแสเลือด 1 ราย โดยเชื้อชนิดนี้มีรายงานการระบาดในหลายประเทศเช่นสวีเดน ไอร์แลนด์ ออสเตรีย อังกฤษ นิวซีแลนด์ อาร์เจนตินา ฮองกง โครเอเชีย ญี่ปุ่น สิงคโปร์ และไทย โดยรายงานการระบาดในประเทศไทย มีรายงานผู้ป่วยตั้งแต่ พ.ศ. 2536 (Pootong et al., 1993) ผู้ป่วยส่วนใหญ่อยู่ในจังหวัดทางภาคเหนือ เช่น ลำพูน เชียงใหม่ พะเยา พิษณุโลก กำแพงเพชร พิจิตร (สุกร และประเสริฐ, 2548) โดยมีการระบาดครั้งใหญ่ที่สุดในปี 2550 ที่จังหวัดพะเยา มีผู้ป่วยที่ได้รับ การยืนยันรวม 29 ราย สาเหตุเกิดจากการกินอาหารในงานศพที่ปรุงจากเลือดสุกรดิบ (Naretrit et al., 2008) และในปี พ.ศ. 2558 มีรายงานการติดเชื้อ *Strep. suis* ในจังหวัดนครพนม 38 ราย ซึ่งเป็นการเก็บข้อมูลของการติดเชื้อ ในระหว่างปี 2549-2555 โดยปัจจัยเสี่ยงของการติดเชื้อ คือการสัมผัสกับสุกร และหรือ บริโภคเนื้อสุกรไม่สุก และยังมีรายงานการระบาดของโรคนี้ ในคนเกือบทุกพื้นที่อย่างต่อเนื่อง

2.2 แหนม

2.2.1 ลักษณะทั่วไปของแหนม

แหนม (Nham) เป็นผลิตภัณฑ์เนื้อหมักพื้นบ้านของไทยที่นิยมบริโภคกันทั่วไปเป็นอาหารที่มีปริมาณโปรตีนสูงและมีปริมาณไขมันต่ำผลิตได้จากหมูเนื้อแดงบดละเอียดผสมกับเกลือบริโภคในเตรด และในไทรด์ ข้าวเจ้า หรือข้าวเหนียวสุก กระเทียม บางสูตรอาจมีการเติมสมุนไพรบางชนิดเพื่อเพิ่มรสชาติ และนำไปบรรจุโดยห่อด้วยพลาสติกหรือห่อทับด้วยใบตองกล้วยขนาดของการบรรจุมีน้ำหนักที่ต่างกันไป สุดท้ายนำไปหมักในสภาวะที่เหมาะสมเพื่อให้เกิดสเปรียวกการหมักแหนมทำได้สองสภาวะ คือ การหมักแหนมตามสภาพธรรมชาติ (natural fermentation) เป็นการหมักโดยอาศัยอุณหภูมิของสภาพแวดล้อมซึ่งเป็นการหมักที่เกิดขึ้นมักไม่คงที่ และการหมักด้วยกล้าเชื้อ ซึ่งในระหว่างการหมักมีการเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ของแบคทีเรียกรดแลคติก (Jay, 1996) ลงในสูตรการผลิต โดยจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นหัวเชื้อช่วยให้แหนมมีความปลอดภัยต่อการบริโภคและ

เก็บไว้ได้นานขึ้น แบคทีเรียกรดแลคติกที่เกี่ยวข้องกับการหมักแฮมที่พบ ได้แก่ *Lactobacillus* sp. และ *Pediococcus* sp. ซึ่งทั้งสองสายพันธุ์ใช้เป็นก้ำเชื้อทางการค้าในกลุ่มผลิตภัณฑ์เนื้อหมักจากต่างประเทศ การใช้ก้ำเชื้อแบคทีเรียแลคติกช่วยในการสร้างกรดซึ่งทำให้ผลิตภัณฑ์มีรสเปรี้ยว และช่วยให้ค่าพีเอชลดลงส่งผลต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ (อรนุช อุดรภิชาติ, 2530 และอดิสร เสวตวิวัฒน์, 2543) นอกจากนี้สารบางชนิดที่แบคทีเรียกรดแลคติกสร้างขึ้นยังมีคุณสมบัติเป็น biopreservative (Kelly et al., 1996) ในกระบวนการหมักนอกเหนือจากสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญของของแบคทีเรียกรดแลคติกแล้วปัจจัยที่เกี่ยวกับสภาพแวดล้อมที่สำคัญและมีผลต่อกิจกรรมของแบคทีเรียกรดแลคติกในการหมักแฮม คืออุณหภูมิ โดยอุณหภูมิเป็นตัวจำแนกกลุ่มของจุลินทรีย์ซึ่งจำแนกได้เป็น psychrotropes (มีอุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 2- ถึง 7 องศาเซลเซียส) mesophils (มีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญระหว่าง 10-40 องศาเซลเซียส) และ thermophils (มีอุณหภูมิที่เหมาะสมระหว่าง 43-66 องศาเซลเซียส) (Lawrie, 1995)

2.2.2 องค์ประกอบสำคัญในแฮม

2.2.2.1 เนื้อหมู (pork)

ใช้เป็นเนื้อแดงสด ที่ฆ่าและใหม่ ๆ มักใช้เนื้อส่วนต้นขา เนื่องจากมีไขมันแทรกน้อย เนื้อที่ใช้ทำแฮม มักไม่ล้างน้ำ หากล้างน้ำควรซับน้ำให้แห้ง เนื่องจากเนื้อมีความชื้นสูง และอาจเน่าเสียง่าย ตัดเอามันและพังพืดออกให้หมด หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ บดด้วยเครื่องบดเนื้อ หรือใช้มีดสับจนละเอียด ซึ่งเนื้อหมูที่ใช้ในการทำแฮมจะใช้เนื้อหมูดิบที่ไม่ผ่านความร้อน ซึ่งการบริโภคเนื้อหมูดิบอาจทำให้เสี่ยงเป็นโรกระบบทางเดินอาหารได้ ที่อันตรายคือ โรคพยาธิติดหมู โดยเมื่อคนกินไข่ของพยาธิติดหมูที่ปนเปื้อนเข้าไป ในกระเพาะอาหาร จะทำให้พยาธิตัวอ่อนในไข่ฟักตัวออกมาแล้วไข่เข้ากระแสเลือด ไปเติบโตเป็นถุง ตัวติด ลักษณะแบบเดียวกับเม็ดสาเกในเนื้อหมูสามารถพบตามกล้ามเนื้อทั่วร่างกาย แม้แต่กล้ามเนื้อหัวใจ รวมถึงอวัยวะอื่นๆ ของร่างกาย (คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล, 2011) และโรคติดเชื้อ *Strep. suis* ทำให้ติดเชื้อกระแสโลหิตเข้าเยื่อหุ้มสมองแล้วทำให้หูหนวกถาวร หรือบางรายเสียชีวิต (Kusolsuk et al., 2009)

2.2.2.2 กระเทียม

กระเทียมเป็นเครื่องเทศสำคัญที่ใช้ในการประกอบอาหารเป็นองค์ประกอบที่ทำให้ขาวยเพิ่มรสชาติอาหาร นอกจากนั้นกระเทียมยังมีส่วนสำคัญต่อการเจริญของก้ำเชื้อแลคติกที่ใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อ (Luecke, 1985; Kyung, et al., 1996; Swetwivatathana, et al., 1999) ได้มีรายงานว่ากระเทียมมีส่วนช่วยเร่งกระบวนการหมักของเชื้อแบคทีเรียแลคติกในผลิตภัณฑ์เนื้อโดยไปเร่งการสร้างกรดในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักชนิด Dry sausage และแฮม ที่เป็นอาหารหมักพื้นเมืองของไทย (Swetwivatathana et al., 1998) มีรายงานว่ากระเทียมมีส่วนสำคัญในการยับยั้งและทำลาย

จุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย และก่อโรคอาหารเป็นพิษ โดย (อดิสร เสวตวิวัฒน์, 2542) ได้มีการศึกษาผลของน้ำสกัดกระเทียมที่มีต่อเชื้อโรคอาหารเป็นพิษที่พบในแฮม *S. Anatum* และ *S. aureus* พบว่ากระเทียมมีสารยับยั้งที่เรียกว่า allicin สามารถลดปริมาณเชื้อ *S. Anatum* และ *Stap. aureus* ได้ โดยปริมาณของ allicin เพิ่มขึ้นหลังจากกระเทียมถูกทำให้แตก เช่นการบดหรือการสับ เป็นต้น

2.2.2.3 เกลือโซเดียมคลอไรด์

การเติมเกลือประมาณ 2 - 3 % ของน้ำหนักอาหาร จะช่วยทำหน้าที่ยับยั้งไม่ให้จุลินทรีย์อื่น ๆ เจริญได้ และช่วยดึงน้ำและน้ำตาลจากเนื้อ และยังสามารถ ทำหน้าที่เป็นสารกันบูดได้ วัตถุประสงค์ ของการใส่เกลือ ในแฮมคือ ทำให้เกิดรสเค็ม และทำให้แฮมเก็บไว้ได้นาน ปริมาณเกลือที่ใส่น้อยเกินไป จะทำให้แฮมเน่าเสียได้และถ้าใส่เกลือมากเกินไป แฮมที่ได้จะมีรสเปรี้ยว น้อยกว่ารสเค็ม Wijnker et al. (2006) ได้มีการศึกษาคุณสมบัติการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของเกลือโซเดียมคลอไรด์ในผลิตภัณฑ์ไส้ธรรมชาติหมักเกลือ พบว่าเกลือในผลิตภัณฑ์ไส้ธรรมชาติหมักเกลือ มีคุณสมบัติในการลดการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli*, *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* E. coli O157:H7. ในระยะเวลา 30 วัน

2.2.2.4 เกลือไนไตรท์/ไนเตรท

จัดเป็นวัตถุเจือปนอาหารพวกไนเตรทและไนไตรท์ ซึ่งมีกฎหมายควบคุมกำหนดปริมาณการใช้ โดยอนุญาตให้ใช้ได้ไม่เกิน 124 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ซึ่งต้องคำนวณในรูปโซเดียมไนเตรท และโซเดียมไนไตรท์ ตามลำดับ ปัจจุบันการใช้ไนเตรทและไนไตรท์ ผสมกับอาหารมีวัตถุประสงค์ 3 ประการ คือ เพื่อช่วยให้อาหารโดยเฉพาะเนื้อสัตว์มีสีแดงคงทน ไม่เสื่อมสลายไป ขณะหุงต้ม ทำให้อาหารมีรสชาติและกลิ่นเฉพาะ ทำให้อาหารเก็บไว้ได้นาน ไนเตรท ไนไตรท์ จะทำหน้าที่เป็นสารกันเสีย ป้องกันการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดยเฉพาะพวกที่ทำหน้าที่ให้เกิดการเน่าเสีย และพวกที่สร้างสารพิษ โดยสรุจน์ วีรวัฒน์โยธิน (2555) ได้ทำการศึกษาระดับยับยั้งเชื้อซัลโมเนลลา 4 สายพันธุ์ คือ *S. Anatum* ที่พบมากในแฮม *S. Ratchaburi* *S. Bangkok* และ *S. Lumphun* พบว่าโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้น 100 ppm ในแบบจำลองการหมักแฮมสามารถยับยั้งการเจริญในช่วง 12 ชั่วโมงแรกของการหมัก และเริ่มเจริญได้ถึง 10^8 cfu/ml ในชั่วโมงที่ 18 จากปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10^4 cfu/ml สารกลุ่มไนไตรท์และไนเตรทที่เป็นที่รู้จักกันมานาน และมีผู้นิยมนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูปหลากหลายชนิด ได้แก่ โปแทสเซียมไนเตรท โซเดียมไนไตรท์ และโซเดียมไนเตรท ผลิตภัณฑ์กลุ่มเนื้อหมัก เช่น ไส้กรอก แสม กุนเชียง และแฮม มีความจำเป็นต้องใส่สารประกอบไนเตรทและไนเตรท เนื่องจากมีรายงานการศึกษาว่า สารกลุ่มนี้สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ไนไตรท์และไนเตรทยังช่วยทำให้ผลิตภัณฑ์มีสี

ชมพู มีกลิ่นรส และรสชาติเฉพาะ ทั้งนี้ ในระหว่างกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูป สารไนโตรเจนและไนเตรตจะถูกเปลี่ยนให้อยู่ในรูปไนตริกออกไซด์ (nitric oxide) ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยากับเม็ดสี (pigment) ในเนื้อสัตว์ ทำให้เนื้อมีสีชมพู ตามลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์เนื้อหมักได้ นอกจากนี้ยังสามารถคงสภาพสีของเนื้อไม่ให้เปลี่ยนแปลงเมื่อระยะเวลาการเก็บเพิ่มขึ้นอีกด้วย ทั้งนี้ผลิตภัณฑ์กลุ่มเนื้อหมัก จะต้องใช้ในไตรท์และไนเตรทในปริมาณที่เหมาะสมและไม่เกินปริมาณสูงสุดที่อนุญาตตามประกาศของกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 381 (พ.ศ. 2559) ที่กำหนดปริมาณการใช้เกลือโซเดียมไนโตรเจนในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก โดยให้มีปริมาณตกค้างในผลิตภัณฑ์สุดท้ายได้ไม่เกิน 80 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักเนื้อ 1 กิโลกรัม

2.2.2.5 โซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต (STPP)

สารโซเดียมไตรโพลิฟอสเฟตจัดเป็นสารประกอบฟอสเฟตชนิดหนึ่ง (คิวพรคิวเวช., 2535) กล่าวว่าสารประกอบฟอสเฟตซึ่งเป็นวัตถุเจือปนอาหารชนิดหนึ่งที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหารมากเนื่องจากสารประกอบฟอสเฟตมีคุณสมบัติที่ช่วยปรับปรุงให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพดีขึ้นและได้มาตรฐาน การเติมสารประกอบฟอสเฟตลงในเนื้อจะช่วยปรับปรุงคุณลักษณะต่างๆของเนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อให้ดีขึ้น ดังนี้ คือช่วยให้สีของเนื้อคงตัว ช่วยทำให้เนื้อจับตัวได้ดีขึ้น เพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อ และช่วยป้องกันการเน่าเสียของผลิตภัณฑ์อันอาจเกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ โดยในประเทศไทยตามประกาศของกระทรวงสาธารณสุข 2559 นั้นได้มีการกำหนดปริมาณของสารประกอบฟอสเฟตสูงสุดที่สามารถใส่ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก เช่น ไส้กรอก กุนเชียง แฮม และขาหมูรมควันไว้ที่ 2200 มิลลิกรัม ต่อผลิตภัณฑ์ 1 กิโลกรัม โดยคำนวณเป็นปริมาณฟอสฟอรัส มีงานวิจัยของ ทิพรดี คงสุวรรณ (2547) ได้ศึกษาผลของสารไตรโซเดียมฟอสเฟต 8% ลดจำนวนเชื้อ *Escherichia coli* และ *S. Derby* ในตัวอย่างเนื้อสุกรภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 11 วัน

2.2.2.6 โซเดียมแอสคอเบส

โซเดียมแอสคอเบส เป็นสารประกอบคาร์บอนจำนวน 6 ตัว คล้ายกลูโคส มีสูตรโมเลกุลคือ $C_6H_7NaO_6$ พบได้ในพืชตระกูลส้มและผักหลายชนิด กรดแอสคอร์บิกเป็นสารอาหารสำคัญในร่างกายมนุษย์ และมีความจำเป็นในการคงรูปของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันและกระดูก ในสิ่งมีชีวิต กรดแอสคอร์บิกจะอยู่ในรูป active form หรือที่รู้จักกันในชื่อ วิตามิน ซี ทำหน้าที่เป็น reducing agent และ coenzyme ในกระบวนการเผาผลาญพลังงาน (metabolic pathway) นอกจากนี้วิตามิน ซี ยังเป็นสารต้านอนุมูลอิสระอีกด้วย โซเดียม แอสคอเบส มีลักษณะทางกายภาพเป็นผลึกขนาดเล็กหรือเป็นผงสีขาว หากเป็นสารละลายมีค่า pH ประมาณ 5.6 – 7.0 สารละลายโซเดียม แอสคอเบสเข้มข้น 10% (commercial grade) มีค่า pH ประมาณ 7.4 – 7.7 ในอุตสาหกรรมอาหารมีการใช้โซเดียมแอสคอเบสเป็นวัตถุเจือปนอาหาร โดยใช้เป็นสารต้านออกซิเดชันและสารควบคุมความ

เป็นกรด นอกจากนี้ ใช้เป็นสารต้านออกซิเดชันในน้ำมันหรือไขมัน เพื่อชะลอการเกิดกลิ่นหืน ใช้เป็นสาร Curing agent เพื่อป้องกันการเกิด nitrosamine ในกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ ใช้เป็นสารทดแทน sodium erythorbate ในการผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ เนื่องจากมีความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชันได้ดีกว่า และไม่ให้รสชาติของกรด โดยในผลิตภัณฑ์เนื้อประเภทกระเทียม สาธารณสุขไม่ได้มีการกำหนดปริมาณการใช้ นอกจากนั้นยังใช้ปรับปรุงคุณสมบัติของแป้งข้าวสาลี เพื่อคุณภาพของโดวในการอบขนมปัง ใช้ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล (enzymatic browning reaction) ในผักหรือผลไม้แปรรูป ใช้เพิ่มความใสให้กับผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ ได้แก่ เบียร์ และไวน์ นอกจากนี้ จูฮาร์ตัน เลียนักตว (2545) สารละลายกรดแอสคอบิกร่วมกับสารละลายกรด กลูโคนิกมีประสิทธิภาพในการลดจำนวนเชื้อ *E. coli* และ *S. Derby* ในตัวอย่างเนื้อสุกรที่เก็บรักษาเนื้อหมูที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสและ 15 องศาเซลเซียส

2.2.2.6 แบคทีเรียแลคติก

แบคทีเรียแลคติก (Lactic Acid Bacteria; LAB) เป็นจุลินทรีย์ที่สร้างกรดแลคติก จัดอยู่ในกลุ่มของ mesophilic bacteria แต่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 5 องศาเซลเซียส หรืออุณหภูมิสูงกว่า 45 องศาเซลเซียส เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์สร้างกรดแลคติกเป็นผลิตภัณฑ์หลักของกระบวนการหมักน้ำตาล ขาดเอนไซม์อะมิเลส ขาดไซโตโครม ต้องการสารอาหารสูงในการเจริญ เช่นคาร์โบไฮเดรต กรดอะมิโน เปปไทด์ กรดนิวคลีอิก และวิตามิน ทนต่อสภาวะมีอากาศ (aerotolerant) ทนต่อความเป็นกรดโดยสามารถเจริญได้ที่ pH 4.0-4.5 บางสายพันธุ์สามารถเจริญได้ที่ pH 3.2 และที่ pH สูงถึง 9.6 แต่สามารถสลายโปรตีนและไขมันได้เพียงเล็กน้อย แหล่งที่มักพบแบคทีเรียกรดแลคติก ได้แก่ ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์เลื้อยคลาน เช่น หนู หมู สัตว์ปีก มนุษย์ นมและผลิตภัณฑ์นม ผลิตภัณฑ์อาหารทะเล พืช และอาหารหมักดองต่าง ๆ เป็นต้น (ศิริรัตน์ ต้นไสว, 2547; อรอนงค์ พริ้งสุลกะ, 2550; อัจฉรา เพิ่ม, 2550) แบคทีเรียแลคติกจัดเป็นจุลินทรีย์ที่มีความปลอดภัย (Generally recognized as safe, GRAS) สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ โดยนำไปใช้ในการถนอมอาหาร เนื่องจากแบคทีเรียแลคติกมีคุณสมบัติที่เหมาะสมสามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคหลายชนิด เช่น แบคทีเรียโอซิน และ กรดอินทรีย์ต่างๆ นอกจากนี้ยังสามารถสร้างสารที่จำเพาะที่มีผลต่อลักษณะของกลิ่นรสของอาหาร (อรอนงค์ พริ้งสุลกะ, 2550; Swetwathana and Visessanguan, 2015) การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยแบคทีเรียแลคติกในอาหารนั้น พบว่าแบคทีเรียแลคติกสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคบางกลุ่มและทำให้ผลิตภัณฑ์มีความปลอดภัยสูงขึ้น ตลอดจนมีผลทำให้สามารถเก็บรักษาอาหารได้นานขึ้น โดยหลักที่เกี่ยวข้องกับการยับยั้งคือ การสร้างกรด การลดลงของค่า pH และกรดอินทรีย์ ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของแบคทีเรีย ทั้งกรดแลคติกและกรด อะซิติก นอกจากนี้ยังมีสารประกอบอินทรีย์ชนิดอื่นๆ ที่เกิดขึ้น มีผลในการยับยั้งการ

เจริญของ จุลินทรีย์ชนิดอื่น เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ แบคทีเรียโอซิน เป็นต้น (Ammor et al., 2005; Martin et al., 2005) แบคทีเรียแลคติกเป็นแบคทีเรียที่ปั่นโปรไบโอติก ซึ่งได้มีการพัฒนาเพื่อใช้กับผลิตภัณฑ์เนื้อเพื่อให้มีความปลอดภัยและมีประโยชน์มากยิ่งขึ้น ในแฮมซึ่งเป็นอาหารหมักพื้นบ้านของไทย ที่ทำจากเนื้อหมูโดยที่ไม่ผ่านความร้อนทำให้มีความเสี่ยงจากจุลินทรีย์ที่ไม่พึงประสงค์ที่มักพบเห็นได้บ่อย เช่น เชื้อ *Salmonella* spp. *Staphylococcus aureus* และ *Listeria monocytogenes* ซึ่งแบคทีเรียแลคติกนั้นมีส่วนช่วยในการลดเชื้อเหล่านี้ (Swetwathana and Visessanguan, 2015)

2.3 แบบจำลองการหมักแฮม Nham Model broth (NMB) (Swetwathana et al, 1999)

คือ แบบจำลองการทดลองของอาหารหมักแต่อยู่ในรูปของหลอดทดลอง เช่นการทำแฮม ซึ่งมีประโยชน์ในการศึกษาวิจัย เนื่องจากเมื่อทำการทดลองใน model broth ทำให้สามารถควบคุมสถานะได้และเกิดการปนเปื้อนจากภายนอกได้ยากมากขึ้น ซึ่งในการเตรียมแบบจำลองการทดลองของอาหารต้องทราบองค์ประกอบของอาหารหมักนั้นและหาสารอาหารอื่นมาทดแทน ให้อยู่ในรูปของหลอดทดลอง และทำการปรับสภาพให้เหมือนสถานะในการหมัก

ตารางที่ 2.1 แบบจำลองการหมักแฮม Nham Model broth (NMB) 1 ลิตร

ส่วนประกอบ	ปริมาณ	หน่วย
Beef extract	10	กรัม
Tryptone	10	กรัม
Sodium acorbate	0.5	กรัม
Glucose	10	กรัม
Sodium Tripolyphosphate	3	กรัม
Sodium chloride	25	กรัม
Sodium nitrite	0.1	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ที่มา : Swetwathana et al. 1999

โดยได้มีการใช้รูปแบบจำลองในการหมักแฮมนี้ในการศึกษาการเจริญของกล่าเชื้อแบคทีเรียแลคติกและเชื้อโรคอาหารเป็นพิษที่พบมากในแฮม

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.4.1 การยับยั้งเชื้อ *Strep. suis*

Cardoso-Toset et al. (2016) ได้มีการศึกษาการรอดชีวิตของ *Streptococcus suis*, *Streptococcus dysgalactiae* และ *Truepepella pyogenes* ในสันคอหมูและสะโพกหมูหมักเกลือแบบแห้งซึ่งสันคอหมูและสะโพกหมูหมักเกลือแบบแห้งเป็นอาหารที่ใช้เกลือในการถนอมอาหาร และมีการดองน้ำออก ซึ่งอาหารชนิดนี้เป็นอาหารพร้อมรับประทาน และถึงแม้จะทราบกันดีว่ากระบวนการนี้เป็นการถนอมอาหาร แต่ยังไม่มียารายงานว่ากระบวนการนี้สามารถกำจัด เชื้อก่อโรคในหมูทั้ง 3 ชนิด *Strep. suis*, *Strep. dysgalactiae* และ *T. pyogenes* นี้ได้ซึ่ง ผลการศึกษานี้ ทำการศึกษาในแต่ละขั้นตอนการหมักว่าในแต่ละขั้นตอนมีผลต่อการลดจำนวนจุลินทรีย์ จนในขั้นตอนสุดท้ายไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดนี้ จึงทำให้มีการสรุปว่ากระบวนการหมักเกลือแบบแห้งนี้มีความเหมาะสมในการถนอมอาหาร

Lebel et al. (2013) ได้มีการศึกษาการใช้ nisin ซึ่งเป็นแบคทีเรียโอซินที่ได้จากเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ผลิต nisin *Lactococcus lactis* ATCC11454 ว่ามีผลในการทำลาย *Strep. suis* serotype 2 นอกจากนี้ ยังได้ประเมินฤทธิ์เสริมฤทธิ์ของ nisin ร่วมกับยาปฏิชีวนะทั่วไป พบว่า nisin ที่ผลิตจาก *Lactococcus lactis* ATCC11454 สามารถยับยั้งการเติบโตของ *Strep. suis* ได้ ในการทดสอบในอาหารเหลวความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้ง (MIC) ของ nisin บริสุทธิ์อยู่ในช่วงระหว่าง 1.25 ถึง 5 g/mL ในขณะที่ความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) คือระหว่าง 5 ถึง 10 g/mL เมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนพบการสลายของเยื่อหุ้มเซลล์แสดงให้เห็นกิจกรรมการฆ่าเชื้อแบคทีเรียอย่างรวดเร็ว

2.4.2 การประยุกต์การใช้สารเคมีและกรดในการยับยั้งเชื้อก่อโรคในแฮมและผลิตภัณฑ์เนื้อ

อดิสร เสวตวิวัฒน์ (2542) ได้รายงานผลของสารสกัดกระเทียมต่อการเจริญของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก สำหรับผลิตภัณฑ์เนื้อและเชื้อโรคอาหารเป็นพิษที่พบมากในแฮม (ในหลอดทดลอง) จากการศึกษาผลของน้ำสกัดกระเทียมต่อการเจริญของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกสำหรับผลิตภัณฑ์เนื้อ (*Lactobacillus curvatus*, *L. sake* และ *P. acidilactici*) รวมถึงเชื้อโรคอาหารเป็นพิษที่พบมากในแฮม (*S. Anataum* และ *Stap. aureus*) จากการศึกษาพบว่ากล้าเชื้อที่ใช้ในการศึกษาสามารถทนการทำลายของสาร “allicin” ที่มีในน้ำสกัดกระเทียมได้ดี ในขณะที่เชื้อ *S. Anataum* และ *Stap. aureus* ทั้งสองถูกทำลายและลดจำนวนลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีน้ำสกัดกระเทียม 1% ความเข้มข้นของน้ำสกัดกระเทียมสูงขึ้นจะมีผลต่อการลดเชื้อโรคอาหารเป็นพิษที่พบ (*S. Anataum* และ *Stap. aureus*) ได้เร็วขึ้น

ไพโรจน์ วิริยะจารี และคณะ (2538) ได้นำสารประกอบฟอสเฟต 3 ชนิด คือ โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต และ โซเดียมแอซิดไพโรฟอสเฟต มาทดสอบความเหมาะสมที่จะใช้กับผลิตภัณฑ์เนรมเพื่อศึกษาผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ พบว่าการใช้โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตจะมีค่าการสูญเสียน้ำหนักเพียงร้อยละ 3.20+0.21 และตรวจพบปริมาณเชื้อ Enterobacteriaceae ที่น้อยกว่าการไม่ใช้สารประกอบฟอสเฟตเลย รวมทั้งไม่ตรวจพบเชื้อ *Staph. aureus* ในเนรมหลังจาก 24 ชั่วโมงของการหมัก อย่างไรก็ตามอาจจะเลือกใช้โซเดียมแอซิดไพโรฟอสเฟตในสูตรการผลิตก็ได้ เพราะจะทำให้การสูญเสียน้ำหนักของผลิตภัณฑ์น้อยที่สุดและมีค่าความเป็นกรดเป็นด่างต่ำที่สุด ตลอดจนสามารถลดปริมาณเชื้อ Enterobacteriaceae และ *Staph. aureus* ได้ดี

อภิญา ศรีเครือคง (2547) ได้รายงานผลการใช้น้ำร้อน อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส สารละลายผสมระหว่างไตรโซเดียมฟอสเฟตร้อยละ 8 และกรดแอสคอร์บิกร้อยละ 1 สารละลายผสมโปแตสเซียมซอร์เบตร้อยละ 5 กรดแอสคอร์บิกร้อยละ 1 ต่อการลดจำนวน *E. coli* และ *S. derby* ในตัวอย่างเนื้อสุกรที่เก็บรักษาเนื้อหมูที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 11 วัน พบว่าสารผสมระหว่างโปแตสเซียมซอร์เบตร้อยละ 5 และกรดแอสคอร์บิกร้อยละ 1 มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อได้ดีที่สุดขณะที่น้ำร้อน 80 องศาเซลเซียสไม่สามารถลดจำนวนเชื้อทั้ง 2 ชนิดได้

Arief et al. (2017) ทำการศึกษาลักษณะและคุณสมบัติของแบคทีเรียโอซินที่แยกได้จากแบคทีเรียแลคติก *Lb. plantarum* IAA-1A5 ที่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพของไส้กรอกเนื้อ โดยทำการศึกษาคูณสมบัติทางเคมี เชื้อจุลินทรีย์ และลักษณะทางประสาทสัมผัส โดยเปรียบเทียบกับตัวอย่าง 3 กลุ่ม ดังนี้ ไส้กรอกเนื้อ (control), ไส้กรอกเนื้อ + 0.3 เปอร์เซ็นต์ ไนไตรท์, ไส้กรอกเนื้อ + 0.3 เปอร์เซ็นต์ แบคทีเรียโอซินพบว่า การใช้ plantaricin IAA-1A5 ที่ผลิตโดย *Lb. plantarum* IAA-1A5 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Step. aureus* และ *E. coli* ที่พบในไส้กรอกเนื้อหลังการเก็บรักษา 6 วันได้ และสามารถนำมาใช้เป็นสารกันเสียทางธรรมชาติแทนการเติมไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์ได้อีกด้วย

จักรรัตน์ ติโลวิชัย (2555) มีการศึกษาผลของการใช้สารละลายแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอซินและกลูต้าไทโอน ต่อการยับยั้งการเจริญและการบาดเจ็บของเชื้อ *Staph. aureus*, *E. coli* และ *S. Anatum* ในหลอดทดลอง พบว่ากลุ่มที่เติมสารละลายกรดแลคติก 0.75 และ 1 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับสาร plantaricin W ความเข้มข้น 51,200 AU/ml ที่มีการเติมและไม่มีการเติมสารกลูต้าไทโอน สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ โดยใช้เวลาการยับยั้งเร็วกว่าการเติมสารละลายกรดแลคติก 0.75 และ 1 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับสาร pediocin PA-1 ความเข้มข้น 3200 AU/ml ที่มีการเติมและไม่มีการเติมกลูต้าไทโอน การใช้กรดแลคติก สาร plantaricin W และสารผสมของสารละลายดังกล่าว ต่อการยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus* และจุลินทรีย์ทั้งหมดในเนื้อโค พบว่าเนื้อโคที่สัมผัสกับกรดแลคติก 1 เปอร์เซ็นต์

ร่วมกับสาร plantaricin W ความเข้มข้น 51200 AU/ml จะให้ผลในการยับยั้งเชื้อ *Staph.aureus* และ จุลินทรีย์ทั้งหมดในเนื้อโคได้ดีที่สุดในวันที่ 7

Pohl et al. (2002) ศึกษาผลของโอโซนคลอรีนไดออกไซด์ ซิทิลไพริเดเนียมคลอไรด์ และไตรโซเดียมฟอสเฟต ต่อเชื้อ *E. coli*, *S. Typhimurium*, *Coliform* และ aerobic plate count ของเนื้อวัวพบว่าการใช้น้ำโอโซน 1 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับกรดอะซิติก 5 เปอร์เซ็นต์ และ น้ำโอโซน 1 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับซิทิลไพริเดเนียมคลอไรด์ 0.5 เปอร์เซ็นต์ สามารถจำนวนเชื้อได้ทุกชนิด ไตรโซเดียมฟอสเฟตความเข้มข้นร้อยละ 10 สามารถจำนวน *E. coli*, *Coliform* และ aerobic plate count ได้ และเนื้อที่ทดสอบด้วยไตรโซเดียมฟอสเฟต ความเข้มข้นร้อยละ 10 มีสีแดงมากกว่ากลุ่มควบคุม และไม่มี ความแตกต่างของกลิ่น กับเนื้อที่ทดสอบด้วยการใช้น้ำโอโซน 1 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับกรดอะซิติก 5 เปอร์เซ็นต์ และ น้ำโอโซน 1 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับซิทิลไพริเดเนียมคลอไรด์ 0.5 เปอร์เซ็นต์



บทที่ 3

เครื่องมือ อุปกรณ์ และวิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุดิบ

3.1.1 เชื้อจุลินทรีย์

แบคทีเรีย *Streptococcus suis* DMST 26108 ที่พบในเนื้อหมูจากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียและสารเคมี

3.2.1 สารเคมี

3.2.1.1 น้ำมันพาราฟิน	(Metha Group, Thailand)
3.2.1.2 Ethanol (C_2H_5OH) 95 เปอร์เซ็นต์	(องค์การสุราไทย, ไทย)
3.2.1.3 Iodine (I_2)	(Carlo Erba, Italy)
3.2.1.4 Sodium hydroxide (NaOH)	(Carlo Erba, Italy)
3.2.1.5 Sodium chloride (NaCl)	(Merck, Germany)
3.2.1.6 Sodium nitrite	(Merck, Germany)
3.2.1.7 Sodium tripolyphosphate	(Merck, Germany)
3.2.1.8 Sodium L-ascorbate	(Merck, Germany)

3.2.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.2.2.1 Agar	(Difco, USA)
3.2.2.2 Beef extract	(V.S. Chem house, Thailand)
3.2.2.3 Brain heart infusion broth (BHI)	(Difco, USA)
3.2.2.4 Buffered peptone water (BPW)	(Difco, USA)
3.2.2.5 Dextrose	(Merck, Germany)
3.2.2.6 Peptone	(Difco, USA)
3.2.2.7 Yeast extract	(Difco, USA)

3.3 เครื่องมือและอุปกรณ์

3.3.1 กล้องจุลทรรศน์	(Nikon ECLIPSE E200, China)
3.3.2 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง	(Oha us Corp, USA)
3.3.3 เครื่องวัดพีเอช	(Mettler Toledo, Switzerland)
3.3.4 เครื่องไมโครเซนตริฟิวส์	(Bio Lab, Thailand)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 3.3.5 เครื่องวัดค่าเวเตอร์แอกติวิตี (4TE AQUALAB, USA)
- 3.3.6 จานเพาะเชื้อพลาสติก (Kartell, Italy)
- 3.3.7 ตู้แช่แข็ง -20 และ -80 องศาเซลเซียส (Sanyo, Japan)
- 3.3.8 ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (Heraeus, Germany)
- 3.3.9 ตู้ปลอดเชื้อ (Astec Microflow, UK)
- 3.3.10 ตู้อบลมร้อน (Skadi, Netherland)
- 3.3.11 ไมโครปีเปต และทูป (Gilson, France)
- 3.3.12 ไมโครเวฟ (Hitachi, Thailand)
- 3.3.13 อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Memmert, Germany)
- 3.3.14 หม้อนิ่งฆ่าเชื้อความดันไอน้ำ (Tommy, Japan)
- 3.3.15 หลอดไมโครเซนติฟิวจ์ 1.5 มิลลิลิตร (NEST Biotechnology, China)
- 3.3.16 หลอดทดลอง ขนาด 16x150 มิลลิลิตร
- 3.3.17 กระบอกตวง ขนาด 50 100 และ 1000 มิลลิลิตร
- 3.3.18 ขวดคูแรน ขนาด 250 และ 500 มิลลิลิตร
- 3.3.19 ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร
- 3.3.20 บีกเกอร์ ขนาด 100 250 500 และ 1000 มิลลิลิตร
- 3.3.21 ปากกิบ
- 3.3.22 ปีเปต ขนาด 1, 5 และ 10 มิลลิลิตร
- 3.3.23 ตะเกียงแอลกอฮอล์

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 เชื้อจุลินทรีย์ *Strep. suis*

3.4.1.1 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ *Strep. suis*

นำเชื้อบริสุทธิ์ถ่ายลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Brain Heart Infusion broth ที่มีการเติม yeast extract 1% ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มในสภาวะไร้อากาศ เป็นเวลา 16-20 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยทำต่อเนื่องกันสองครั้ง เพื่อให้เชื้อเจริญ ให้มีปริมาณเชื้อที่ 10^8 cfu/ml โดยทำการตรวจนับเชื้อแบคทีเรียวิธี pour plate technique บนอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI agar มีการเติม yeast extract 1 เปอร์เซ็นต์ เพื่อใช้ในแบบจำลองแนวม

3.4.1.2 การตรวจสอบยืนยันเชื้อ *Strep. suis* ที่ใช้ในการทดลองโดยวิธีวิเคราะห์ 16S-rRNA

ทำการเลี้ยงเชือบน sheep blood agar ซึ่งเมื่อเชื้อมีการเจริญจะย่อยสายเม็ดเลือดแดงใน sheep blood agar แบบไม่สมบูรณ์ จากนั้นคัดเลือกโคโลนีเดี่ยว นำไปเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI ที่มีการเติม yeast extract 1 เปอร์เซ็นต์ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการเก็บเชื้อในรูปแบบ glycerol stock โดยใส่สารละลายกลีเซอรอลปลอดเชื้อและจุลินทรีย์ที่เจริญในอาหารเหลวในอัตราส่วน 1:1 โดยใช้ปริมาตรละ 0.5 มิลลิลิตร และเก็บเชื้อจุลินทรีย์ไว้โดยวิธีแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ซึ่งตัวอย่างเชื้อวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนด้วยวิธี 16S rRNA (Macrogen, South Korea) เพื่อระบุสายพันธุ์ของเชื้อ

3.4.2 ศึกษาผลของวัตถุดิบอาหารที่เป็นส่วนประกอบในการผลิตหมักต่อการเจริญของเชื้อ *Strep. suis* ในอาหารเหลวจำลองการหมักหมัก (Nham model broth, NMB)

การศึกษาผลการรอดชีวิตของเชื้อ *Strep. suis* ในแบบจำลองการหมักหมัก (Nham model broth, NMB) ที่มีการเติมโซเดียมไนไตรท์ โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต และ โซเดียมคลอไรด์ และ โซเดียมแอสคอเบส

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแบบจำลองการหมักหมัก (NMB) ตามสูตร (Swetwawatha et al., 1999) ปริมาตร 200 มิลลิลิตร โดยในแต่ละขวดมีการเติมวัตถุดิบอาหารคนละชนิดตามแบบจำลองของการทดลอง ลงในขวดทนร้อนฝาเกลียว นำอาหารเลี้ยงเชื้อไปผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทำการเติมเชื้อ *Strep. suis* โดยให้มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นในแบบจำลองที่ 10^6 cfu/ml โดยแบ่งเป็น 5 กลุ่มแบบจำลอง

แบบจำลองที่ 1 NMB+เชื้อ *Strep. suis* ที่ 10^6 cfu/ml

แบบจำลองที่ 2 NMB + โซเดียมไนไตรท์ (NaNO_2) 80 ppm + เชื้อ *Strep. suis* ที่ 10^6 cfu/ml

แบบจำลองที่ 3 NMB+ โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต (STPP) 3 g/l + เชื้อ *Strep. suis* ที่ 10^6 cfu/ml

แบบจำลองที่ 4 NMB+ โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 25 g/l + เชื้อ *Strep. suis* ที่ 10^6 cfu/ml

แบบจำลองที่ 5 NMB+ โซเดียมแอสคอเบส 0.5 g/l + เชื้อ *Strep. suis* ที่ 10^6 cfu/ml

และเทปิดทับผิวหน้าของอาหารด้วย parafilm oil เพื่อให้เป็นสภาวะไร้อากาศ จากนั้นทำการบ่มเพาะเชื้อทั้งหมดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยทำการสุ่มตัวอย่างเพื่อศึกษาการเจริญของเชื้อ *Strep. suis* และวัดค่า pH ทุก 6 ชั่วโมง โดยในการศึกษาการเจริญของเชื้อ

Strep. suis จะทำการเจือจางโดยวิธี 10-fold dilution จนได้ความเจือจางที่เหมาะสมต่อการนับจำนวน ทำการตรวจนับปริมาณเชื้อ โดยวิธี pour plate บนอาหารแข็ง BHI ที่มีการเติม 1 เปอร์เซ็นต์ ของ yeast extract นำไปบ่มเพาะเชื้อในสภาวะไร้อากาศเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงนำมานับปริมาณเชื้อและรายงานผล

3.4.3 ศึกษาผลการรอดชีวิตของเชื้อ *Strep. suis* ในอาหารเหลวจำลองการหมักແໜມ (Nham model broth, NMB) ที่มีการเติมใช้วัตถุเจือปนอาหาร 2 ชนิด ลงในแบบจำลองการหมักແໜມ

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแบบจำลองการหมักແໜມ(NMB)ตามสูตร(Swetwathana et al., 1999) ปริมาตร 200 มิลลิลิตร โดยในแต่ละขวดมีการเติมวัตถุเจือปนอาหารคนละชนิดตามแบบจำลองของการทดลอง ลงในขวดที่ร้อนฆ่าเชื้อแล้ว นำอาหารเลี้ยงเชื้อไปผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทำการเติมเชื้อ *Strep. suis* ให้มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ 10^6 cfu/ml โดยแบ่งเป็น 7 กลุ่มแบบจำลอง

แบบจำลองที่ 1 NMB+เชื้อ *Strep. suis* ที่ 10^6 cfu/ml

แบบจำลองที่ 2 NMB + โซเดียมไนไตรท์ (NaNO_2) 80 ppm+ โซเดียมไตรโพลิฟอสเฟส (STPP) 3 g/l+ เชื้อ *Strep. suis* ที่ 10^6 cfu/ml

แบบจำลองที่ 3 NMB + โซเดียมไนไตรท์ (NaNO_2) 80 ppm + โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 25 g/l + เชื้อ *Strep. suis* ที่ 10^6 cfu/ml

แบบจำลองที่ 4 NMB + โซเดียมไนไตรท์ (NaNO_2) 80 ppm + โซเดียมแอสคอเบส 0.5g/l +เชื้อ *Strep. suis* ที่ 10^6 cfu/ml

แบบจำลองที่ 5 NMB + โซเดียมไตรโพลิฟอสเฟส(STPP) 3 g/l +โซเดียมคลอไรด์ 25g/l เชื้อ *Strep. suis* ที่ 10^6 cfu/ml

แบบจำลองที่ 6 NMB + โซเดียมไตรโพลิฟอสเฟส(STPP) 3 g/l+โซเดียมแอสคอเบส 0.5 g/l + เชื้อ *Strep. suis* ที่ 10^6 cfu/ml

แบบจำลองที่ 7 NMB +โซเดียมแอสคอเบส 0.5 g/l +โซเดียมคลอไรด์ 25 g/l. + เชื้อ *Strep. suis* ที่ 10^6 cfu/ml

และเทปิดทับผิวหน้าของอาหารด้วย parafilm oil เพื่อให้เป็นสภาวะไร้อากาศ จากนั้นทำการบ่มเพาะเชื้อทั้งหมดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยทำการสุ่มตัวอย่างเพื่อศึกษาการเจริญของเชื้อ *Strep. suis* และวัดค่า pH ทุก 6 ชั่วโมง โดยในการศึกษาการเจริญของเชื้อ

Strep. suis จะทำการเจือจางโดยวิธี 10-fold dilution จนได้ความเจือจางที่เหมาะสมต่อการนับจำนวน ทำการตรวจนับปริมาณเชื้อโดยวิธี pour plate บนอาหารแข็ง BHI ที่มีกรดแลคติก 1 เปอร์เซ็นต์ของ yeast extract นำไปบ่มเพาะเชื้อในสภาวะไร้อากาศเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงนำมานับปริมาณเชื้อและรายงานผล

3.4.4 การศึกษาผลของกระเทียมต่อการรอดชีวิตของเชื้อ *Strep. suis* ในอาหารเหลวจำลอง

การหมักเหนม (Nham model broth, NMB)

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ อาหารเหลวจำลองการหมักเหนม (NMB) ตามสูตร (Swetwathana et al., 1999) ปริมาตร 200 มิลลิลิตร นำอาหารเลี้ยงเชื้อไปผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทำการเติมเชื้อ *Strep. suis* ให้ปริมาณของเชื้อเริ่มต้นอยู่ที่ 10^6 cfu/ml โดยแบ่งเป็น 3 แบบจำลอง

แบบจำลองที่ 1 NMB + เชื้อ *Strep. suis* 10^6 cfu/ml

แบบจำลองที่ 2 NMB + กระเทียมปอดเชื้อ 3%+ เชื้อ *Strep. suis* 10^6 cfu/ml

แบบจำลองที่ 3 NMB + กระเทียมสับปอดเชื้อ 5%+ เชื้อ *Strep. suis* 10^6 cfu/ml

และเทปิดทับผิวหน้าของอาหารด้วย parafilm oil เพื่อให้เป็นสภาวะไร้อากาศ จากนั้นทำการบ่มเพาะเชื้อทั้งหมดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยทำการสุ่มตัวอย่างเพื่อศึกษาการเจริญของเชื้อ *Strep. suis* และวัดค่า pH ทุก 6 ชั่วโมง โดยในการศึกษาการเจริญของเชื้อ *Strep. suis* จะทำการเจือจางโดยวิธี 10-fold dilution จนได้ความเจือจางที่เหมาะสมต่อการนับจำนวน ทำการตรวจนับปริมาณเชื้อโดยวิธี pour plate บนอาหารแข็ง BHI ที่มีกรดแลคติก 1 เปอร์เซ็นต์ของ yeast extract นำไปบ่มเพาะเชื้อในสภาวะไร้อากาศเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงนำมานับปริมาณเชื้อและรายงานผล

3.4.5 การศึกษาผลของวัตถุเจือปนอาหารในอาหารเหลวจำลองการหมักเหนมร่วมกับ

กระเทียมต่อการรอดชีวิตของเชื้อ *Strep. suis* ในแบบจำลองการหมักเหนม (Nham model broth, NMB)

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแบบจำลองการหมักเหนม (NMB) ตามสูตร (Swetwathana et al., 1999) ปริมาตร 200 มิลลิลิตร นำอาหารเลี้ยงเชื้อไปผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทำการเติมเชื้อ *Strep. suis* ให้ความเข้มข้นเริ่มของเชื้ออยู่ที่ 10^6 cfu/ml โดยแบ่งเป็น 3 แบบจำลอง

แบบจำลองที่ 1 NMB ที่มีโซเดียมไนไตรท์ 80 ppm + โซเดียมคลอไรด์ 25 g/l +
โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 3g/l+โซเดียมแอสคอเบส +เชื้อ *Strep. suis* 10⁶
cfu/ml

แบบจำลองที่ 2 NMB ที่มี NMB ที่มีโซเดียมไนไตรท์ 80 ppm + โซเดียมคลอไรด์
25 g/l + โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 3g/l+โซเดียมแอสคอเบส 0.5 g/l
+เชื้อ *Strep. suis* 10⁶cfu/ml+กระเทียมสับปลอดเชื้อ

แบบจำลองที่ 3 NMB+ เชื้อ *Strep. suis* 10⁶

และเทปิดทับผิวหน้าของอาหารด้วย parafilm oil เพื่อให้เป็นสภาวะไร้อากาศ จากนั้นทำการบ่มเพาะเชื้อทั้งหมดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยทำการสุ่มตัวอย่างเพื่อศึกษาการเจริญของเชื้อ *Strep. suis* และวัดค่า pH ทุก 6 ชั่วโมง โดยในการศึกษาการเจริญของเชื้อ *Strep. suis* จะทำการเจือจางโดยวิธี 10-fold dilution จนได้ความเจือจางที่เหมาะสมต่อการนับจำนวนทำการตรวจนับปริมาณเชื้อโดยวิธี pour plate บนอาหารแข็ง BHI ที่มีกรดแลคติก 1 เปอร์เซ็นต์ ของ yeast extract นำไปบ่มเพาะเชื้อในสภาวะไร้อากาศเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงนำมานับปริมาณเชื้อและรายงานผล

3.4.6 ศึกษาผลของปัจจัยของ pH ที่ส่งผลต่อการเจริญของเชื้อ *Strep. suis* ในอาหารเหลว จำลองการหมักแฮม (Nham model broth, NMB)

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแบบจำลองการหมักแฮม (NMB) ตามสูตร Swetwivatha et al., (1999) ปริมาตร 200 มิลลิลิตร โดยไม่เติมวัตถุดิบอาหาร นำไปปรับค่าความเข้มข้นด้วยกรดแลคติก 90 เปอร์เซ็นต์ ที่ค่า pH 6.0, 5.5, 5.0 และ 4.5 นำอาหารเลี้ยงเชื้อไปผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทำการเติมเชื้อ *Strep. suis* ให้มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นอยู่ที่ 10⁶ cfu/ml โดยแบ่งเป็น 5 กลุ่มแบบจำลอง

แบบจำลองที่ 1 NMB ไม่มีการปรับค่า pH + เชื้อ *Strep. suis* 10⁶ cfu/ml

แบบจำลองที่ 2 NMB pH 6.0 + เชื้อ *Strep. suis* 10⁶ cfu/ml

แบบจำลองที่ 3 NMB pH 5.5+ เชื้อ *Strep. suis* 10⁶ cfu/ml

แบบจำลองที่ 4 NMB pH 5.0+ เชื้อ *Strep. suis* 10⁶ cfu/ml

แบบจำลองที่ 5 NMB pH 4.5+ เชื้อ *Strep. suis* 10⁶ cfu/ml

และเทปิดทับผิวหน้าของอาหารด้วย parafilm oil เพื่อให้เป็นสภาวะไร้อากาศ จากนั้นทำการบ่มเพาะเชื้อทั้งหมดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยทำการสุ่มตัวอย่างเพื่อศึกษาการเจริญของเชื้อ *Strep.suis* และวัดค่า pH ทุก 6 ชั่วโมง โดยในการศึกษาการเจริญของเชื้อ *Strep. suis* จะทำการเจือจางโดยวิธี 10-fold dilution จนได้ความเจือจางที่เหมาะสมต่อการนับจำนวน ทำการตรวจนับปริมาณเชื้อโดยวิธี pour plate บนอาหารแข็ง BHI ที่มีการเติม 1 เปอร์เซ็นต์ของ yeast extract นำไปบ่มเพาะเชื้อในสภาวะไร้อากาศเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงนำมานับปริมาณเชื้อและรายงานผล

3.5 การวางแผนการทดลองและการวิเคราะห์ข้อมูล

จัดการสิ่งการทดลองแบบแฟกทอเรียลที่ใช้แผนการทดลองแบบชีอาร์ทดี โดยทำการศึกษาปัจจัยปริมาณของกระเทียมที่มีปริมาณต่างกัน 2 ระดับ ในอาหารจำลองการหมักแหมน ที่ระยะเวลาในการบ่มทุก 6 ชั่วโมงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดย ตัวแปรควบคุม ปัจจัยที่ 1 คือ ปัจจัยของอาหารจำลองการหมักแหมนที่มีการเติมกระเทียม 5 เปอร์เซ็นต์ และ 3 เปอร์เซ็นต์ และ สภาวะจำลองการหมักแหมนที่ไม่มีการเติมกระเทียม ตัวแปรควบคุมปัจจัยที่ 2 คือ ปัจจัยของเวลาในการบ่มอาหารจำลองการหมักแหมน ที่ทำการเก็บตัวอย่างทุก 6 ชั่วโมงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และมีผลวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา เป็นตัวแปรตาม แล้วนำมาวิเคราะห์ One-way ANOVA และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS รุ่น 16.0 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธีหาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)

บทที่ 4

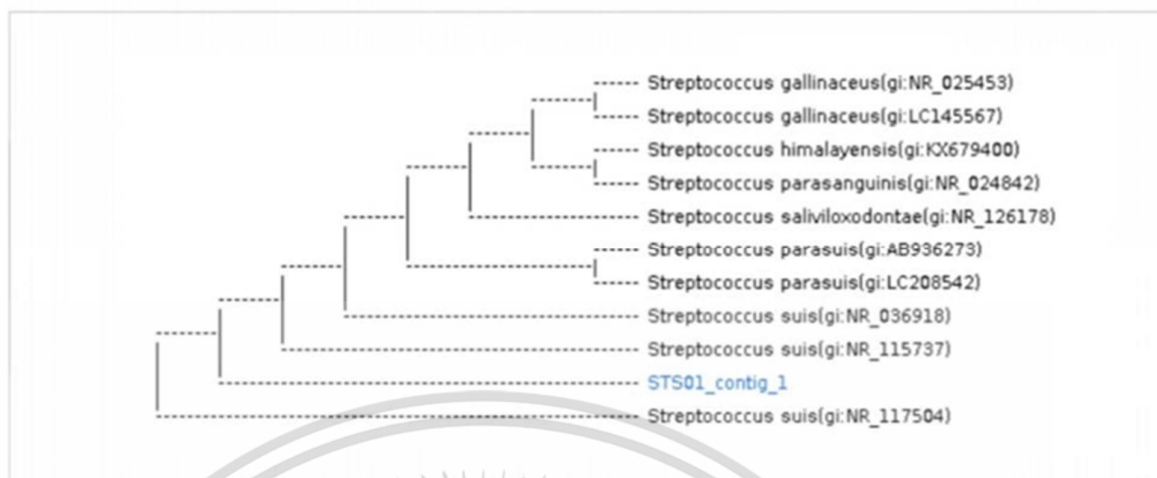
ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 ผลของการตรวจสอบยืนยันเชื้อ *Strep. suis* ที่ใช้ในการทดลองโดยวิธีวิเคราะห์ 16S-rRNA

จาก การนำสายพันธุ์ *Streptococcus suis* DMST 26108 มาตรวจสอบยืนยันความบริสุทธิ์และความถูกต้องของเชื้อ เพื่อดูว่าเชื้อที่จะนำมาศึกษาไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียอื่น บนอาหารเลี้ยงเชื้อ sheep blood agar พบว่า เชื้อ *Strep. suis* ที่นำมาใช้ในการศึกษาเป็นเชื้อบริสุทธิ์ที่ไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียอื่น โดยทุกโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ sheep blood agar ที่มีการย่อยสลายเม็ดเลือดแดงแบบไม่สมบูรณ์ (รูปที่ 4.1) จากนั้นสุ่มคัดเลือกโคโลนีเดี่ยวหนึ่งโคโลนีเพื่อเพาะเลี้ยง และสกัด DNA เพื่อส่งตรวจสอบยืนยันสายพันธุ์ของเชื้อด้วยวิธี 16S RNA โดยจากการส่งตรวจสอบยืนยันสายพันธุ์จาก Macrogen (South Korea) ยืนยันว่า โคโลนีของเชื้อดังกล่าวคือโคโลนีของเชื้อ *Strep. suis* จริง ดังแสดงในภาพที่ 4.2 จึงทำการเก็บเพาะเชื้อดังกล่าวไว้ใช้ศึกษาในขั้นตอนต่าง ๆ ต่อไป



รูปที่ 4.1 ลักษณะของเชื้อ *Strep. suis* เมื่อเจริญในอาหารเพาะเชื้อ Sheep Blood Agar โดยมีการย่อยสลายเม็ดเลือดแดงแบบไม่สมบูรณ์ (alpha hemolysis)



รูปที่ 4.2 การเปรียบเทียบ phylogenetic จาก Genbank ของเชื้อ *Strep. suis* ที่ใช้ในการทดลอง

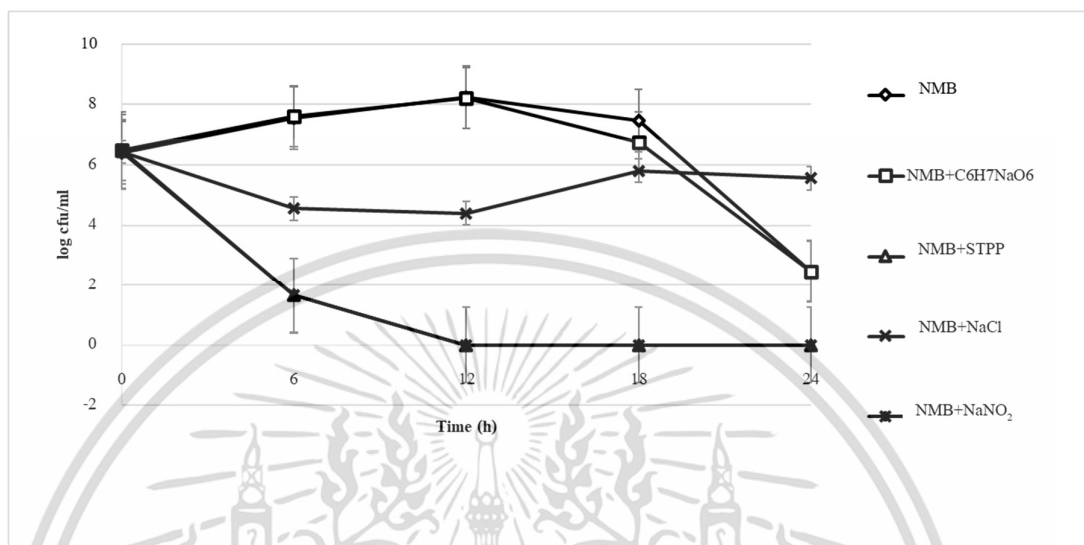
4.2 ผลของวัตถุเจือปนอาหารที่มีการใช้ในแฮมที่ส่งผลต่อการเจริญของเชื้อ *Strep. suis*

ในอาหารเหลวจำลองการหมักแฮม (Nham model broth, NMB)

ผลการทดลอง ผลของวัตถุเจือปนอาหารที่มีต่อการเจริญของเชื้อ *Strep. suis* ในอาหารจำลองสภาวะการหมักแฮม (NMB) โดยมีสภาวะการทดลองชุด คือ ในอาหารเหลวจำลองสภาวะการหมักแฮม ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ที่ไม่มีการเติม โซเดียมไนไตรท์ โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต โซเดียมคลอไรด์และโซเดียมแอสคอเบส (ชุดควบคุม) เพื่อเปรียบเทียบกับ อาหารจำลองการหมักแฮมที่มีการเติมวัตถุเจือปนอาหาร 4 ชุดคือ 1. โซเดียมไนไตรท์ 80 ppm 2. โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 3 g/1.3. โซเดียมคลอไรด์ 25 g/1 4.โซเดียมแอสคอเบส 0.5 g/1 ผลการทดลองดังรูปที่ 4.3 แสดงให้เห็นอัตราการเจริญของเชื้อในอาหารจำลองสภาวะการหมักแฮม (NMB)

อาหารจำลองสภาวะการหมักแฮม (NMB) ที่ไม่มีการเติมวัตถุเจือปนอาหารและอาหารจำลองสภาวะการหมักแฮมที่มีการเติมโซเดียมแอสคอเบสพบว่าเชื้อเจริญสูงสุดในชั่วโมงที่ 12 โดยมีปริมาณเชื้ออยู่ที่ 8 log cfu/ml และเริ่มลดปริมาณลงในชั่วโมงที่ 18 โดยที่เวลา 24 ชั่วโมง มีปริมาณเชื้ออยู่ที่ 2 log cfu/ml ในอาหารจำลองสภาวะการหมักแฮมที่มีโซเดียมไนไตรท์ 80 ppm จากรูปแสดงให้เห็นว่าปริมาณเชื้อลดลงในชั่วโมงที่ 6 โดยพบว่ามีปริมาณเชื้อที่ 2 log cfu/ml และไม่พบเชื้อในชั่วโมงที่ 12 ในอาหารจำลองสภาวะการหมักแฮมที่มีการเติมโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 3 g/1 พบว่าปริมาณเชื้อลดลงในชั่วโมงที่ 6 โดยพบว่ามีปริมาณเชื้อที่ 3 log cfu/ml และไม่พบเชื้อในชั่วโมงที่ 12 และในอาหารจำลองสภาวะการหมักแฮมที่มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ 25 g/1

พบว่าในชั่วโมงที่ 6 โดยมีปริมาณเชื้อที่ 4 log cfu/ml แต่เพิ่มขึ้นในชั่วโมงที่ 18 และ 24 โดยมีปริมาณเชื้อในชั่วโมงที่ 24 ที่ 5 log cfu/ml



รูปที่ 4.3 ผลของวัตถุเจือปนอาหารในอาหารจำลองสภาวะการหมักเหานที่มีต่อการเจริญของเชื้อ

Strep.suis (ปริมาณเชื้อ *Strep suis* เป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง)

NMB = อาหารจำลองสภาวะการหมักเหาน (ซดควบคุม) ที่ไม่มีการเติมวัตถุเจือปนอาหาร

NMB+NaNO₂ = อาหารจำลองสภาวะการหมักเหานที่มีการเติมโซเดียมไนไตรต์ 80 ppm

NMB+STPP = อาหารจำลองสภาวะการหมักเหานที่มีการเติมโซเดียมไตรฟอสเฟต 3 g/l

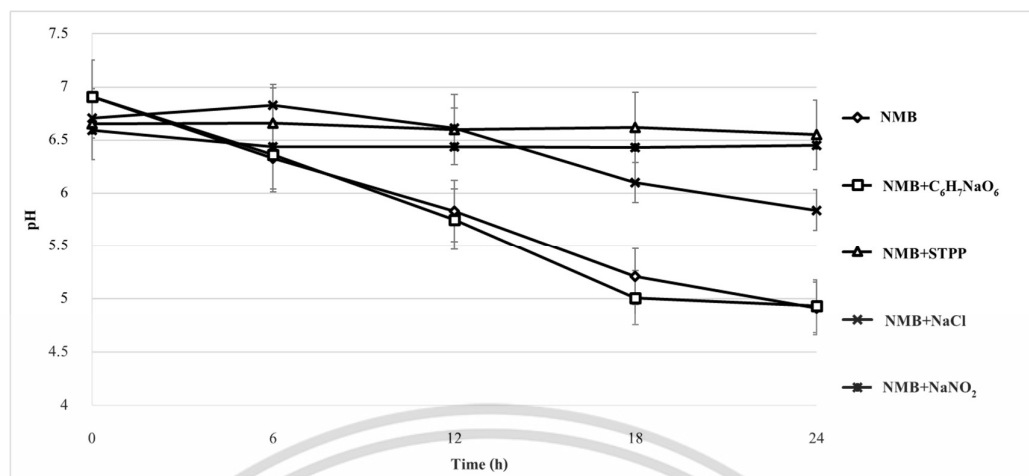
NMB+NaCl = อาหารจำลองสภาวะการหมักเหานที่มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ 25 g/l

NMB+C₆H₇NaO₆ = อาหารจำลองสภาวะการหมักเหานที่มีการเติมโซเดียมแอสโคเบส 0.5 g/l

โดยเป็นไปตามที่มีรายงานว่า วัตถุเจือปนอาหารไนไตรท์และโซเดียมคลอไรด์หรือเกลือแกงที่มีอยู่ในสูตรของการผลิต ผลิตภัณฑ์เนื้อหมักต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโทษ และรวมทั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสียโดยไนไตรท์ช่วยยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคและเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ผ่านกลไกทางจุลินทรีย์ที่สำคัญ เช่น การขัดขวางการใช้ออกซิเจน หรือการทำงานของเอนไซม์ที่สำคัญของจุลินทรีย์ หรือการสร้างกรดในตรัสหรือสารไนตริกออกไซด์ที่เป็นพิษต่อจุลินทรีย์ (กนิษฐพร วังโน และ ปฐพี เชนบุญตัน, 2564) โซเดียมคลอไรด์หรือเกลือก็มีผลทำให้อาหารมีความชื้น และ ค่าออกเตอร์แอกทีวิตีลดลง มีส่วนสำคัญที่ช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุการเสื่อมเสียของอาหาร โซเดียมไตรฟอสเฟตก็เป็นสารที่ช่วยยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์อีกตัวหนึ่ง โดยไพโจรน์ วิริยะจารี และคณะ (2538) ได้รายงานว่าการใช้โซเดียมไตรฟอสเฟตจะทำให้เหานมีการตรวจพบปริมาณเชื้อ

Enterobacteriaceae ที่น้อยกว่าการไม่ใช้สารประกอบฟอสเฟต รวมทั้งไม่ตรวจพบเชื้อ *Staph. aureus* ในแฮมหลังจาก 24 ชั่วโมงของการหมัก

ในการศึกษานี้ได้มีการวัดค่า pH ในอาหารจำลองการหมักแฮมที่มีการเติมวัตถุเจือปนอาหารทุก ชั่วโมง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (รูปที่ 4.4) ควบคู่ไปกับการวัดปริมาณเชื้อ *Strep. suis* ในรูปที่ 4.3 ข้างต้น พบว่า pH ของอาหารจำลองสภาวะการหมักแฮม ที่ไม่มีการเติมวัตถุเจือปนอาหาร ค่า pH ในอาหารลดลง โดยในชั่วโมงที่ 24 ค่า pH ในอาหารอยู่ที่ 4.9 เช่นเดียวกับอาหารจำลองสภาวะการหมักแฮมที่มีการเติมโซเดียมแอสคอเบส 0.5 g/l ส่วนในอาหารจำลองสภาวะการหมักแฮมที่มีการเติมโซเดียมไนไตรท์ 80 ppm ค่า pH ของอาหารอยู่ที่ 6.44 ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6-24 อาหารจำลองสภาวะการหมักแฮมที่มีการเติมโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 3 g/l ค่า pH ของอาหารอยู่ที่ 6.66 ในชั่วโมงที่ 6 และชั่วโมงที่ 24 ค่า pH ของอาหารอยู่ที่ 6.55 และในอาหารจำลองสภาวะการหมักแฮมที่มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ 25 g/l ค่า pH ในชั่วโมงที่ 0 อยู่ที่ 6.83 และลดลง โดยค่า pH ในชั่วโมงที่ 24 อยู่ที่ 5.84 ดังรูปที่ 4.4 เมื่อสังเกตปริมาณของเชื้อ *Strep. suis* เปรียบเทียบกับค่า pH ที่วัดจากอาหารแบบจำลองการหมักแฮม พบว่า อาหารแบบจำลองการหมักแฮมที่ไม่มีการเติมวัตถุเจือปนอาหาร (ชุดควบคุม) อาหารแบบจำลองการหมักแฮมที่มีการเติมโซเดียมแอสคอเบส 0.5 g/l มีค่า pH ลดลงแปรผกผันกับปริมาณเชื้อ *Strep. suis* ซึ่งมีจำนวนเชื้อเพิ่มมากขึ้น เช่นเดียวกับในอาหารจำลองการหมักแฮมที่มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ ที่มีค่า pH ลดลงและมี ปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้น โดยมีรายงานว่า *Strep. suis* ซึ่งเป็นแบคทีเรียในกลุ่ม *Streptococcus* แบคทีเรียในกลุ่มนี้มีเมทาบอลิซึมเป็นแบบ fermentation เกิดเป็นกรดแลคติกแบบ homofermentative บางชนิดสามารถหมักกรดอินทรีย์ เช่น มาลิก และ ซิตริก หรือ กรดอะมิโน (ดวงพร คันทิชติ, 2537) ทำให้ค่า pH ของอาหารเหลวจำลองการหมักแฮมลดลงเมื่อเชื้อมีการเจริญ เนื่องจากในอาหารเหลวจำลองการหมักแฮมมีน้ำตาลกลูโคสเป็นองค์ประกอบ ในส่วนของอาหารแบบจำลองการหมักแฮมที่มีการเติมโซเดียมไนไตรท์และอาหารแบบจำลองการหมักแฮมที่มีการเติมโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต ค่า pH ของแบบจำลองการหมักแฮม คงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6 เนื่องจากปริมาณเชื้อ *Strep. suis* ลดลงจนไม่พบเชื้อ จึงไม่มีการสร้างกรดในแบบจำลองการหมักแฮมทำให้ค่า pH อาหารแบบจำลองการหมักแฮมไม่มีการเปลี่ยนแปลง



รูปที่ 4.4 ค่า pH ในอาหารจำลองสภาวะการหมักเหวนที่มีการเติมวัตถุเจือปนอาหาร เมื่อมีการเจริญของเชื้อ *Strep.suis* (ค่า pH เป็นค่าเฉลี่ยจากการทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง)

NMB = อาหารจำลองสภาวะการหมักเหวน (ซดควม) ที่ไม่มีการเติมวัตถุเจือปนอาหาร

NMB+NaNO₂ = อาหารจำลองสภาวะการหมักเหวนที่มีการเติมโซเดียมไนไตรต์ 80 ppm

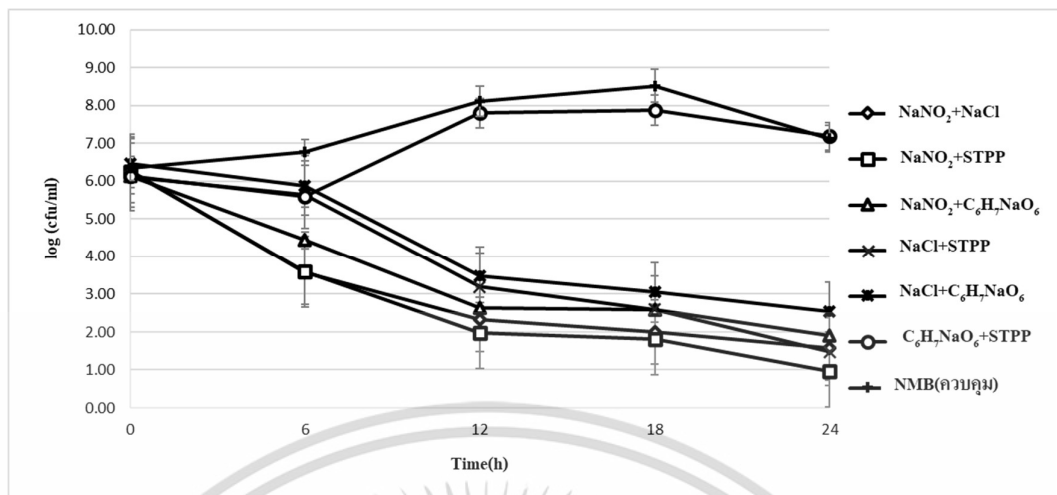
NMB+STPP = อาหารจำลองสภาวะการหมักเหวนที่มีการเติมโซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต 3 g/l

NMB+NaCl = อาหารจำลองสภาวะการหมักเหวนที่มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ 25 g/l

NMB+C₆H₇NaO₆ = อาหารจำลองสภาวะการหมักเหวนที่มีการเติมโซเดียมแอสคอเบต 0.5 g/l

4.3 ผลการรอดชีวิตของเชื้อ *Strep. suis* ในอาหารเหลวจำลองการหมักเหวน (Nham model broth, NMB) ที่มีการเติมใช้วัตถุเจือปนอาหาร 2 ชนิด

จากผลการทดลอง ผลร่วมของของวัตถุเจือปนอาหาร 2 ชนิดที่มีต่อการเจริญของเชื้อ *Strep. suis* ในอาหารจำลองสภาวะการหมักเหวน (NMB) โดยมีสภาวะการทดลอง 7 ชุด คือ อาหารเหลวจำลองสภาวะการหมักเหวน ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ที่ไม่มีการเติม โซเดียมไนไตรต์ โซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต โซเดียมคลอไรด์และโซเดียมแอสคอเบต (ซดควม) เพื่อเปรียบเทียบกับ อาหารจำลองการหมักเหวนที่มีการเติมวัตถุเจือปนอาหาร 2 ชนิด 6 ชุดคือ 1. โซเดียมไนไตรต์ 80ppm ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ 25g/l 2. โซเดียมไนไตรต์ 80ppm ร่วมกับโซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต 3g/l 3. โซเดียมไนไตรต์ 80ppm ร่วมกับ โซเดียมแอสคอเบต 0.5 g/l 4. โซเดียมคลอไรด์ 25g/l ร่วมกับโซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต 3g/l 5. โซเดียมคลอไรด์ 25g/l ร่วมกับโซเดียมแอสคอเบต 0.5 g/l และ 6. โซเดียมแอสคอเบต 0.5 g/l ร่วมกับโซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต 3g/l



รูปที่ 4.5 ผลร่วมของวัตถุเจือปนอาหาร 2 ชนิด ในอาหารจำลองสภาวะการหมักเหานม ที่มีต่อการเจริญของเชื้อ *Strep. suis* (ปริมาณเชื้อ *Strep. suis* เป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง)

NMB = อาหารจำลองสภาวะการหมักเหานม (NMB) ที่ไม่มีการเติมวัตถุเจือปนอาหาร

NaNO₂+NaCl = อาหารจำลองสภาวะการหมักเหานมที่มีการเติมโซเดียมไนไตรต์ 80ppm ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ 25g/l

NaNO₂+STPP = อาหารจำลองสภาวะการหมักเหานมที่มีการเติมโซเดียมไนไตรต์ 80ppm ร่วมกับโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 3g/l

NaNO₂+C₆H₇NaO₆ = อาหารจำลองสภาวะการหมักเหานมที่มีการเติมโซเดียมไนไตรต์ 80ppm ร่วมกับโซเดียมแอสคอเบส 0.5 g/l

NaCl+STPP = อาหารจำลองสภาวะการหมักเหานมที่มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ 25 g/l ร่วมกับโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 3g/l

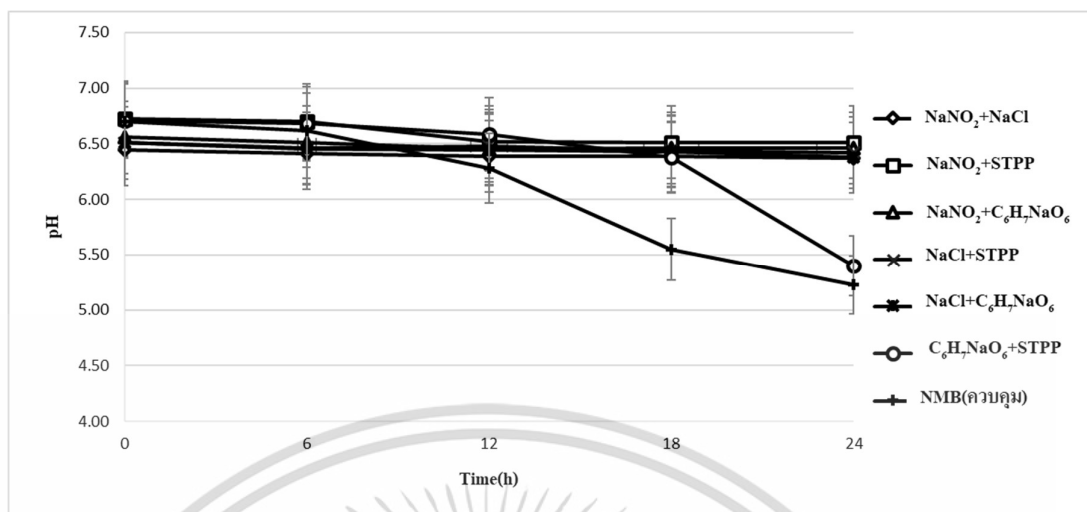
NaCl+ C₆H₇NaO₆ = อาหารจำลองสภาวะการหมักเหานมที่มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ 25 g/l ร่วมกับโซเดียมแอสคอเบส 0.5 g/l

C₆H₇NaO₆+STPP = อาหารจำลองสภาวะการหมักเหานมที่มีการเติมโซเดียมแอสคอเบส 0.5 g/l ร่วมกับโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 3 g/l

ผลการทดลองในรูปที่ 4.5 แสดงให้เห็นอัตราการเจริญของเชื้อในอาหารจำลองสภาวะการหมักเหานม (NMB) โดย อาหารจำลองสภาวะการหมักเหานม (NMB) ควบคุม เชื้อ *Strep. suis* เจริญสูงสุดในชั่วโมงที่ 18 โดยมีปริมาณเชื้ออยู่ที่ 8 log cfu/ml อาหารจำลองสภาวะการหมักเหานม (NMB) ที่มีโซเดียมไนไตรต์ 80 ppm และ โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 3 g/l ลดปริมาณเชื้อได้ดี โดยที่เวลาชั่วโมงที่ 6 ปริมาณเชื้อลดลง โดยมีปริมาณเชื้ออยู่ที่ 3 log cfu/ml จากปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ 6 log cfu/ml และชั่วโมงที่ 24 ปริมาณเชื้ออยู่ที่ 1 log cfu/ml ใกล้เคียงกับผลร่วมระหว่างโซเดียมไนไตรต์ 80 ppm กับโซเดียมคลอไรด์ 25 g/l และโซเดียมไนไตรต์ 80 ppm กับโซเดียมแอสคอเบส 0.5g/l โดยที่เวลาชั่วโมงที่ 6 ปริมาณเชื้อลดลง โดยมีปริมาณเชื้ออยู่ที่ 3 log cfu/ml จากปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ 6 log cfu/ml และชั่วโมงที่ 24 ปริมาณเชื้ออยู่ที่ 1 log cfu/ml และผลร่วมระหว่าง โซเดียมคลอไรด์

25g/l กับโซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต 3 g/l สามารถปริมาณเชื้อได้ โดยที่ ปริมาณเชื้อในชั่วโมงที่ 12 ลดลง อยู่ที่ 3 log cfu/ml และลดลงเหลือ 1 log cfu/ml ในชั่วโมงที่ 24 ในส่วนของอาหารจำลอง สถานะการหมักแห้งที่มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ 25 g/l ร่วมกับโซเดียมแอสคอเบส 0.5 g/l สามารถลดปริมาณเชื้อได้ โดยในชั่วโมงที่ 24 ปริมาณเชื้อ *Strep.suis* อยู่ที่ 2 log cfu/ml ส่วนอาหารจำลองสถานะการหมักแห้งที่มีการเติมโซเดียมแอสคอเบส 0.5 g/l ร่วมกับโซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต 3 g/l ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *Strep. suis* ได้เนื่องจากเชื้อมีปริมาณเพิ่มขึ้นในชั่วโมงที่ 12 อยู่ที่ 8 log cfu/ml และในชั่วโมงที่ 24 อยู่ที่ 7 log cfu/ml อภิษฎา ศรีเครือคง (2547) ได้มีการศึกษาสารละลายผสมระหว่างไตรโซเดียมฟอสเฟตร้อยละ 8 และกรดแอสคอร์บิกร้อยละ 1 สามารถลดจำนวน *E.coli* และ *S. Derby* ในตัวอย่างเนื้อสุกรที่เก็บรักษาเนื้อหมูที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 11 ได้ ซึ่งต่างจากในการทดลองที่มีการใช้โซเดียมแอสคอเบส 0.5 g/l ร่วมกับโซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต 3 g/l ซึ่งไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *Strep. suis* ได้ โดยวัตถุเจือปนอาหารที่ใช้ร่วมกันแล้วสามารถลดปริมาณเชื้อ *Strep. suis* ได้ดีคือโซเดียมไนไตรท์ 80 ppm ร่วมกับโซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต 3 g/l ซึ่งสารทั้ง 2 ชนิดนี้มีรายงานการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคอาหารเป็นพิษได้โดยโซเดียมไนไตรท์/ไนเตรท มีรายงานว่าช่วยควบคุมปริมาณเชื้อ *Salmonella* และ *L. monocytogenes* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ก่อโรคที่พบมากในผลิตภัณฑ์เนื้อหมู ได้กรอกหมักแห้งแบบฝรั่งเศส (Souad et al., 2018) ไพโรจน์ วิริยะจารี และคณะ (2538) ได้รายงานว่าการใช้โซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต ทำให้พบเชื้อ *Enterobacteriaceae* ที่น้อยกว่าการไม่ใช้สารประกอบฟอสเฟตเลย รวมทั้งตรวจพบไม่เชื้อ *Staph. aureus*

ในการศึกษาได้มีการวัดค่า pH ในอาหารจำลองการหมักแห้งที่มีการเติมวัตถุเจือปนอาหาร 2 ชนิดทุก 6 ชั่วโมง เป็นเวลา 24 ชั่วโมงควบคู่ไปกับการวัดปริมาณเชื้อ *Strep. suis* (รูปที่ 4.5) พบว่าค่า pH ในอาหารเหลวจำลองการหมักแห้งที่มีการเติมโซเดียมแอสคอเบส 0.5 g/l ร่วมกับโซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต 3 g/l มีค่า pH ลดลงซึ่งเป็นไปในทางเดียวกันกับอาหารเหลวจำลองการหมักแห้งควบคุมที่ไม่มีการเติมวัตถุเจือปนอาหาร ค่า pH ของอาหารเหลวจำลองการหมักแห้งที่มีการเติมโซเดียมไนไตรท์ 80 ppm ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ 25 g/l, โซเดียมไนไตรท์ 80 ppm ร่วมกับโซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต 3 g/l, โซเดียมไนไตรท์ 80 ppm ร่วมกับโซเดียมแอสคอเบส 0.5 g/l, โซเดียมคลอไรด์ 25 g/l ร่วมกับโซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต 3 g/l และ โซเดียมคลอไรด์ 25 g/l ร่วมกับโซเดียมแอสคอเบส 0.5 g/l มีค่า pH คงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6-24 ดังแสดงในรูปที่ 4.6



รูปที่ 4.6 ค่า pH ของอาหารจำลองสภาวะการหมักเหานที่มีการเติม วัตถุเจือปนอาหาร 2 ชนิดในที่มีการเจริญของเชื้อ *Strep. suis* (ค่า pH เป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง)

NMB = อาหารจำลองสภาวะการหมักเหาน (NMB) ที่ไม่มีการเติมวัตถุเจือปนอาหาร

NaNO₂+NaCl = อาหารจำลองสภาวะการหมักเหานที่มีการเติมโซเดียมไนไตรต์ 80ppm ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ 25g/l

NaNO₂+STPP = อาหารจำลองสภาวะการหมักเหานที่มีการเติมโซเดียมไนไตรต์ 80ppm ร่วมกับโซเดียมไตรโซลฟอสเฟต 3g/l

NaNO₂+C₆H₇NaO₆ = อาหารจำลองสภาวะการหมักเหานที่มีการเติมโซเดียมไนไตรต์ 80ppm ร่วมกับโซเดียมแอสคอเบส 0.5 g/l

NaCl+STPP = อาหารจำลองสภาวะการหมักเหานที่มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ 25 g/l ร่วมกับโซเดียมไตรโซลฟอสเฟต 3g/l

NaCl+ C₆H₇NaO₆ = อาหารจำลองสภาวะการหมักเหานที่มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ 25 g/l ร่วมกับโซเดียมแอสคอเบส 0.5 g/l

C₆H₇NaO₆+STPP = อาหารจำลองสภาวะการหมักเหานที่มีการเติมโซเดียมแอสคอเบส 0.5 g/l ร่วมกับโซเดียมไตรโซลฟอสเฟต 3 g/l

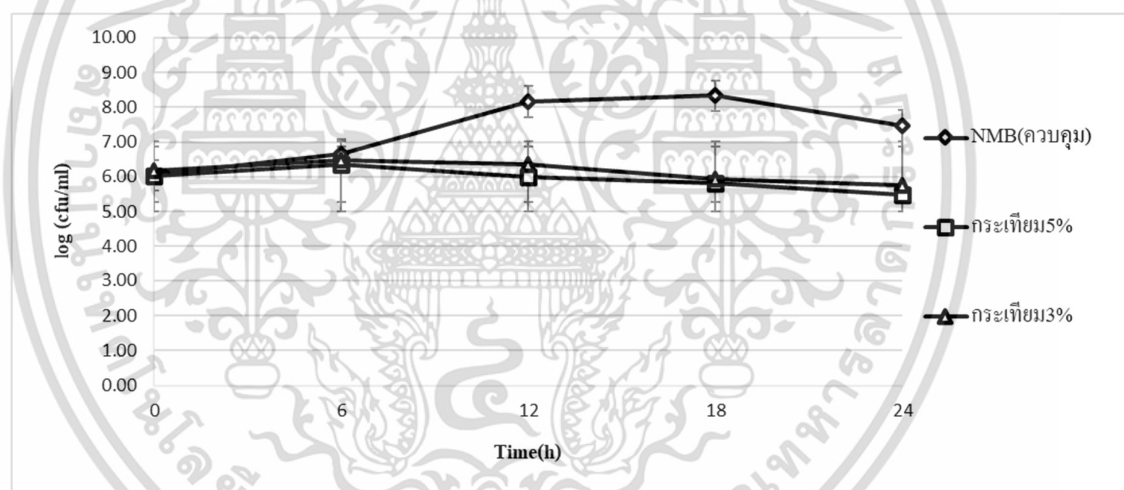
จากการเปรียบเทียบการเจริญของ *Strep. suis* (รูปที่ 4.5) และ ค่า pH ในอาหารเหลวจำลองการหมักเหาน (รูปที่ 4.6) จะพบความสัมพันธ์ของการลดลงของ pH กับการเจริญของ *Strep. suis* ในอาหารเหลวจำลองการหมักเหาน กล่าวคือ ในอาหารเหลวจำลองการหมักเหานที่มีการเติมโซเดียมแอสคอเบส 0.5 g/l ร่วมกับโซเดียมไตรโซลฟอสเฟต 3 g/l มีการเจริญของเชื้อ *Strep. suis* ค่า pH ของอาหารแบบจำลองในการหมักเหานลดลงเนื่องจาก *Strep. suis* ซึ่งเป็นแบคทีเรียในกลุ่ม *Streptococcus* แบคทีเรียในกลุ่มนี้สามารถหมักกรดอินทรีย์ เช่น มาลิก และ ซิตริก หรือ กรดอะมิโน (ดวงพร คันธโชติ, 2537) ทำให้ค่า pH ของอาหารเหลวจำลองการหมักเหานลดลงเมื่อเชื้อมีการเจริญ เนื่องจากในอาหารเหลวจำลองการหมักเหานมีน้ำตาลกลูโคสเป็นองค์ประกอบ ในขณะที่

หลอดอาหารเหลวจำลองการหมักแหมนอื่น ๆ ที่มีอัตราการลดลงของ *Strep suis* ไม่พบการลดลงของค่า pH เนื่องจากไม่มีการหมักกรดอินทรีย์จากน้ำตาลกลูโคส

4.4 ผลของกระเทียมต่อการรอดชีวิตของเชื้อ *Strep. suis* ในอาหารเหลวจำลองการหมัก

แหมน (Nham model broth, NMB)

นอกจากวัตถุดิบอาหารที่เป็นส่วนผสมในแหมนจะสามารถช่วยยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคและจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสียในแหมนแล้ว ในแหมนยังมีส่วนประกอบอื่นที่มีรายงานว่าสามารถช่วยในการยับยั้งแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษได้ คือกระเทียม จึงทำการศึกษาผลของกระเทียมที่มีต่อการยับยั้งเชื้อ *Strep. suis* ในอาหารเหลวจำลองการหมักแหมนโดยทำการศึกษาผลของการเติมกระเทียมที่ปริมาณ 3 เปอร์เซ็นต์และ 5 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารเหลวจำลองการหมักแหมน



รูปที่ 4.7 ผลของกระเทียมในอาหารจำลองสภาวะการหมักแหมนที่มีต่อการเจริญของ *Strep. suis* (ปริมาณเชื้อ *Strep. suis* เป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง)

NMB = อาหารจำลองสภาวะการหมักแหมน (NMB) ที่ไม่มีการเติมกระเทียมสับปดสดเชื้อ

กระเทียม 5% = อาหารจำลองสภาวะการหมักแหมน (NMB) มีการเติมกระเทียมสับปดสดเชื้อ 5% w/v

กระเทียม 3% = อาหารจำลองสภาวะการหมักแหมน (NMB) มีการเติมกระเทียมสับปดสดเชื้อ 3% w/v

จากการศึกษา ผลของกระเทียมในอาหารจำลองสภาวะการหมักแหมน (NMB) ที่มีต่อการเจริญของเชื้อ *Strep. suis* สภาวะการทดลอง 3 ชุดคือ ในอาหารเหลวจำลองสภาวะการหมักแหมน ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ที่ไม่มีกระเทียม(ชุดควบคุม) เพื่อเปรียบเทียบกับ อาหารจำลองการหมักแหมนที่มีกระเทียมเป็นองค์ประกอบ 2 ชุดคือ 1. อาหารจำลองการหมักแหมนที่มีกระเทียม 3

เปอร์เซ็นต์ เป็นองค์ประกอบและ 2.อาหารจำลองการหมักหมมที่มีกระเทียม 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นองค์ประกอบ จากรูปที่ 4.7 ผลของกระเทียมในอาหารจำลองสภาวะการหมักหมมที่มีต่อการเจริญของเชื้อ *Strep. suis* พบว่าอาหารจำลองการหมักหมมที่มีกระเทียมเป็นองค์ประกอบทั้งสองสภาวะมีปริมาณเชื้อ *Strep. suis* ในช่วงเวลาที่ 24 อยู่ที่ 5 log cfu/ml โดยปริมาณเชื้อเริ่มต้นอยู่ที่ 6 log cfu/ml โดยปริมาณเชื้อลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ($p \leq 0.05$) ซึ่ง Swetwaththana (2006) ได้มีการศึกษาผลของน้ำสกัดกระเทียมต่อการเจริญของกลีบเชื้อแบคทีเรียแลคติกสำหรับผลิตภัณฑ์เนื้อและเชื้อโรคอาหารเป็นพิษที่พบมากในหมม ในหลอดทดลอง พบว่า แบคทีเรียที่เป็นกลุ่มแบคทีเรียแลคติกสามารถทนการทำลายของสาร alliin ที่มีในสารสกัดกระเทียมได้โดยสามารถเจริญได้ใน MRS broth ที่มีสารสกัดกระเทียมเข้มข้น 1% และ 3% และลดปริมาณลงเล็กน้อยที่น้ำสกัดกระเทียม 5% ในส่วนของจุลินทรีย์ก่อโรค *S. Anatum* และ *Staph. aureus* สามารถถูกทำลายและลดจำนวนได้ในอาหาร TSB ที่เติมสารสกัดกระเทียม 1% เมื่ออาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ TSB มีความเข้มข้นของสารสกัดกระเทียมเพิ่มขึ้น จะมีผลต่อเชื้อให้หมดเร็วขึ้น ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาเนื่องจากปริมาณของเชื้อ *Strep.suis* ในช่วงเวลาที่ 18 และ 24 ปริมาณของเชื้อ *Strep.suis* ในอาหารเหลวจำลองการหมักหมมที่มีการเติมกระเทียมสับปอดเชื้อ 5 เปอร์เซ็นต์ และ 3 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเชื้อ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยสังเกตได้จากตารางที่ 4.1

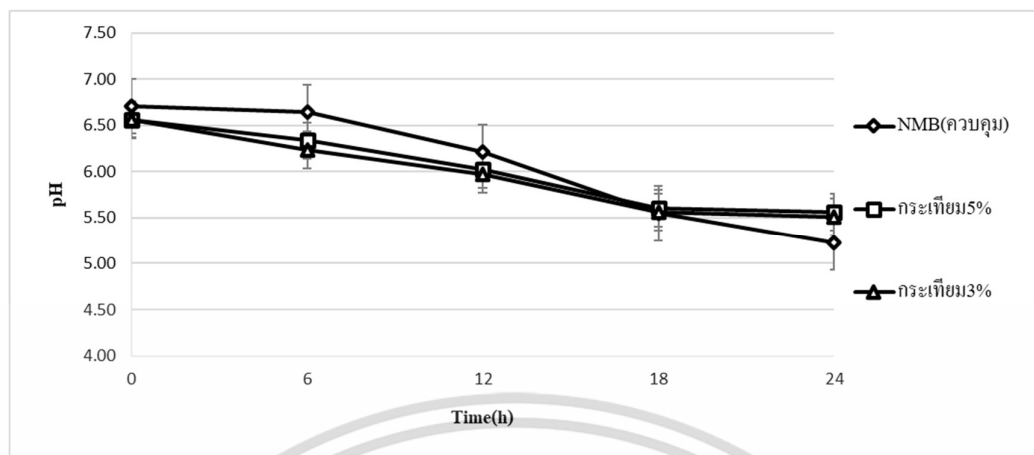
ตารางที่ 4.1 ปริมาณเชื้อ *Strep.suis* ของอาหารเหลวจำลองการหมักเหวมที่มีการเติมกระเทียม
ปลอดเชื้อลงในอาหารจำลองการหมักเหวม

ระยะเวลาในการบ่ม (ชั่วโมงที่)	ปริมาณเชื้อ <i>Strep. suis</i> (log cfu/ml)		
	สภาวะแบบจำลองการหมักเหวม		
	NMB (ควบคุม)	NMB+กระเทียม5%	NMB+กระเทียม3%
0	6.04±0.09 ^a	6.02±0.03 ^c	6.17±0.17 ^c
6	6.61±0.22 ^b	6.33±0.14 ^d	6.46±0.04 ^d
12	8.15±0.12 ^{Cd}	5.99±0.05 ^{Ac}	6.34±0.10 ^{Bd}
18	8.26±0.30 ^{Bd}	5.82±0.07 ^{Ab}	5.93±0.03 ^{Ab}
24	7.40±0.29 ^{Bc}	5.49±0.07 ^{Aa}	5.76±0.02 ^{Aa}

หมายเหตุ เป็นค่าเฉลี่ยของการทดลองการทำซ้ำ 3 ครั้ง

^{A-C} หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรต่างกันในแนวนอน หมายถึง ปริมาณค่าเฉลี่ยของเชื้อ *Strep suis* ที่เวลาเดียวกัน ที่มีปริมาณของกระเทียมในอาหารจำลองการหมักเหวมต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ($p \leq 0.05$)
ในชั่วโมงที่ 0-6 ค่าเฉลี่ยของปริมาณเชื้อ *Strep. suis* ในแนวนอนไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

^{a-d} หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรต่างกันในแนวดิ่ง หมายถึง ปริมาณค่าเฉลี่ยของเชื้อ *Strep suis* ที่เวลาต่างกันที่มี ปริมาณของกระเทียมในอาหารจำลองการหมักเหวมเหมือนกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ($p \leq 0.05$)



รูปที่ 4.8 ค่า pH อาหารจำลองสภาวะการหมักแหมนที่มีการเติมกระเทียมสับปลอดเชื้อ เมื่อมีการเจริญของ เชื้อ *Strep. suis* (ค่า pH เป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง)

NMB = อาหารจำลองสภาวะการหมักแหมน (NMB) ที่ไม่มีการเติมกระเทียมสับปลอดเชื้อ

กระเทียม 5% = อาหารจำลองสภาวะการหมักแหมน (NMB) มีการเติมกระเทียมสับปลอดเชื้อ 5% w/v

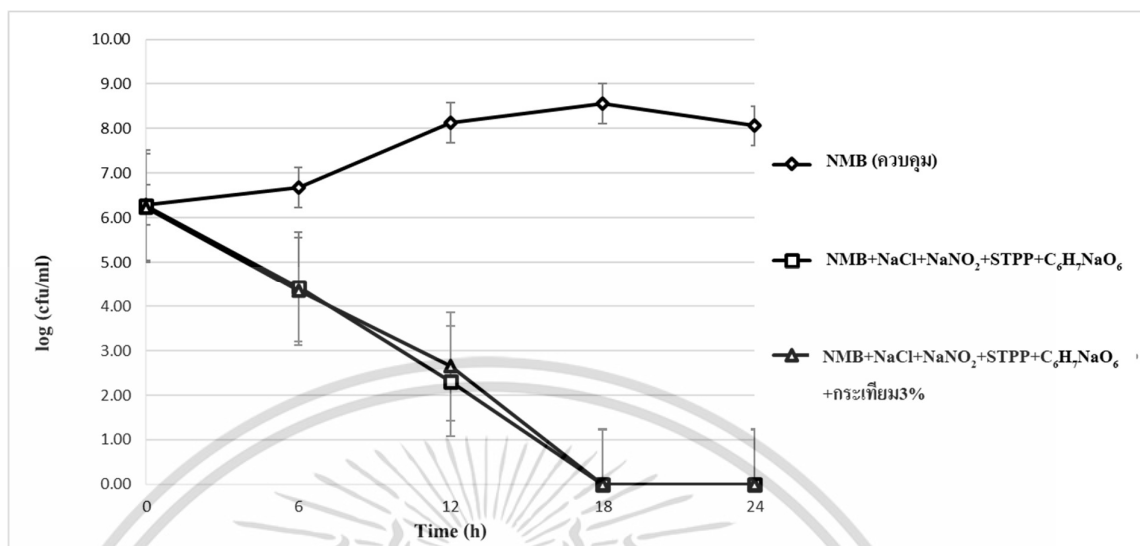
กระเทียม 3% = อาหารจำลองสภาวะการหมักแหมน (NMB) มีการเติมกระเทียมสับปลอดเชื้อ 3% w/v

ในการศึกษาได้มีการวัดค่า pH ในอาหารจำลองการหมักแหมนที่มีการเติมกระเทียมสับปลอดเชื้อ 5 เปอร์เซ็นต์ และ 3 เปอร์เซ็นต์ ทุก 6 ชั่วโมง เป็นเวลา 24 ชั่วโมงควบคู่ไปกับการวัดปริมาณเชื้อ *Strep. suis* (รูปที่ 4.7) พบว่าจากการเปรียบเทียบการเจริญของ *Strep. suis* (รูปที่ 4.7) และ ค่า pH ในอาหารเหลวจำลองการหมักแหมน (รูปที่ 4.8) จะพบความสัมพันธ์ของการลดลงของ pH กับการเจริญของ *Strep. suis* ในอาหารเหลวจำลองการหมักแหมน กล่าวคือ มีการเจริญของเชื้อ *Strep. suis* ในอาหารจำลองหมักแหมนที่มีการเติมกระเทียมปลอดเชื้อที่ปริมาณกระเทียม 5 เปอร์เซ็นต์ และ 3 เปอร์เซ็นต์ ค่า pH ของอาหารแบบจำลองการหมักแหมน ลดลง ซึ่งเป็นไปในทางเดียวกันกับการทดลองที่ผ่านมาข้างต้น นอกจากนี้ยังมีรายงานว่ากระเทียมมีส่วนในการเร่งกระบวนการหมักของเชื้อแบคทีเรียแลคติกในผลิตภัณฑ์เนื้อ โดยไปเร่งการผลิตกรดแลคติกในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมัก dry sausage รวมทั้งแหมน Swetwathana et al. (1998) ดังนั้น กระเทียมจึงอาจจะเป็นตัวช่วยเร่งการเจริญให้เชือดังกล่าว รวมถึงช่วยเร่งการผลิตกรดของ *Strep. suis* ทำให้ค่า pH ของอาหารจำลองการหมักแหมนลดลง แต่กระเทียมที่เติมทั้ง 2 ระดับมีผลในการยับยั้งเชื้อ *Strep. suis* ไม่ให้เพิ่มจำนวนเมื่อเทียบกับหลอดควบคุมที่ไม่มีกระเทียม และลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อหมักอาหารแบบจำลองการหมักแหมนไปเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

4.5 ผลของวัตถุเจือปนอาหารในอาหารเหลวจำลองการหมักแหมนร่วมกับกระเทียมต่อการรอดชีวิตของเชื้อ *Strep. suis* ในแบบจำลองการหมักแหมน (Nham model broth, NMB)

การทดลองผลของวัตถุเจือปนอาหารที่มีอยู่ในอาหารจำลองการหมักแหมนซึ่งสูตรอาหารจำลองการหมักแหมนนี้เป็นสูตรในการหมักแหมนในโรงงานแห่งหนึ่งที่มีการใส่วัตถุเจือปนอาหารตามสูตรคือโซเดียมไนไตรท์ 80 ppm โซเดียมคลอไรด์ 25g/l โซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต 3g/l โซเดียมแอสคอเบต 0.5 g/l และมีการเติมกระเทียมในการผลิตโดยในการทดลองนี้มีการเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อ *Strep. suis* ในอาหารเหลวจำลองการหมักแหมนที่มีการเติมวัตถุเจือปนอาหารตามสูตรที่ไม่มีการเติมกระเทียมและการเจริญของเชื้อ *Strep. suis* ในอาหารเหลวจำลองการหมักแหมนที่มีการเติมวัตถุเจือปนอาหารตามสูตรที่มีการเติมกระเทียม โดยปริมาณของกระเทียมที่ใช้คือ 3 เปอร์เซ็นต์ w/v ซึ่งเลือกปริมาณกระเทียมจากผลการทดลองในข้อที่ 4.4 เนื่องจากการเติมกระเทียม 3 เปอร์เซ็นต์เนื่องจาก สามารถยับยั้งเชื้อ *Strep. suis* ได้ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น ($p>5$) กับเติมกระเทียม 5 เปอร์เซ็นต์

ทำการศึกษาผลของโซเดียมไนไตรท์ โซเดียมคลอไรด์ โซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต โซเดียมแอสคอเบต และกระเทียมในแบบจำลองการหมักแหมน ในสถานะการทดลอง 3 ชุดคือ ในอาหารเหลวจำลองสถานะการหมักแหมน ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ที่ไม่มีวัตถุเจือปนอาหารและกระเทียม (ชุดควบคุม) เพื่อเปรียบเทียบกับ อาหารจำลองการหมักแหมน 2 ชุดคือ 1. อาหารจำลองการหมักแหมนที่มีโซเดียมไนไตรท์ 80 ppm โซเดียมคลอไรด์ 25g/l โซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต 3g/l โซเดียมแอสคอเบต 0.5 g/l และกระเทียมสับปอดเชื้อ 3 เปอร์เซ็นต์ในแบบจำลองการหมักแหมนและชุดที่ 2.อาหารจำลองการหมักแหมนที่มีโซเดียมไนไตรท์ 80 ppm โซเดียมคลอไรด์ 25g/l โซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต 3g/l โซเดียมแอสคอเบต 0.5 g/l จากรูปที่ 4.9 แสดงให้เห็นว่าการใช้โซเดียมไนไตรท์ โซเดียมคลอไรด์ โซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต โซเดียมแอสคอเบต และกระเทียม ซึ่งเป็นส่วนประกอบของการหมักแหมนสามารถลดจำนวนเชื้อ *Strep. suis* ได้ โดยเชื้อ *Strep. suis* จะค่อย ๆ ลดลง เกือบ 2 log cfu/ml ในทุก ๆ 6 ชั่วโมงของการหมัก จนกระทั่งในชั่วโมงที่ 18 อาหารทั้งสองสถานะที่มีการเติมวัตถุเจือปนอาหารชนิดต่าง ๆ ร่วมกัน และ อาหารที่มีการเติมกระเทียมร่วมกับวัตถุเจือปนอาหารตรวจไม่พบ การเจริญของเชื้อ *Strep. suis* ส่งผลให้ค่า pH ของอาหารแบบจำลองการหมักแหมน ไม่พบผลการเปลี่ยนแปลง (รูปที่ 4.10) ในขณะที่อาหารจำลองการหมักแหมนที่ไม่เติมวัตถุเจือปนใด ๆ และ กระเทียม เชื้อ *Strep. suis* ยังคงเจริญได้เป็นปกติส่งผลให้ค่า pH ของอาหารแบบจำลองการหมักแหมนลดลง อันเป็นผลจากการหมักน้ำตาลกลูโคสของเชื้อ

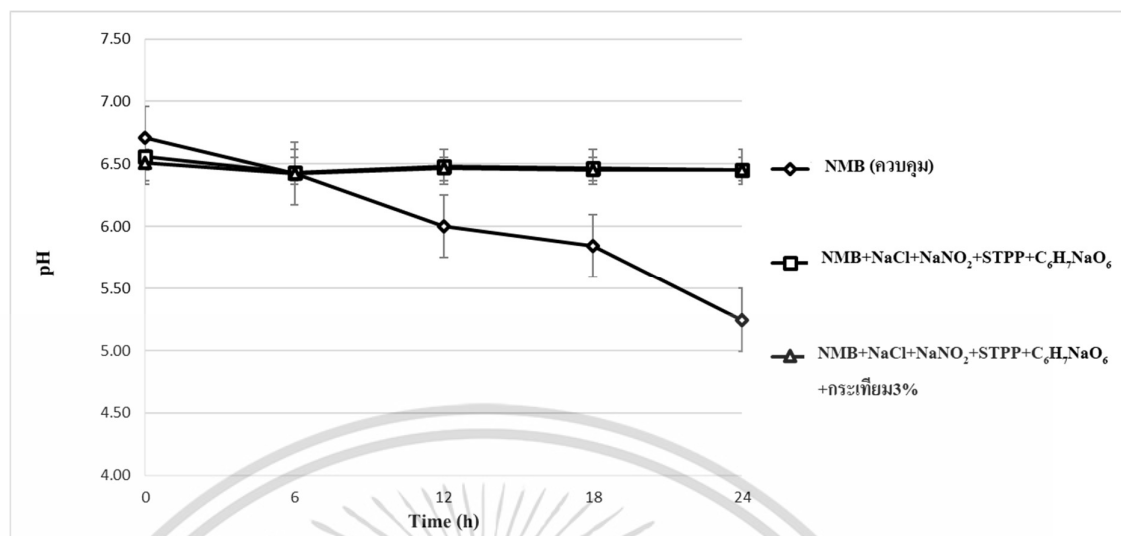


รูปที่ 4.9 ผลของโซเดียมไนไตรท์ โซเดียมคลอไรด์ โซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต โซเดียมแอสคอเบส และ กระเทียมในแบบจำลองการหมักแห้งที่มีร่วมกันต่อการรอดชีวิตของเชื้อ *Strep. suis* (ปริมาณเชื้อ *Strep. suis* เป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง)

NMB = อาหารจำลองสภาวะการหมักแห้ง (NMB) ที่ไม่มีการเติมกระเทียมสับปอดเชื้อและวัตถุเจือปนอาหาร

NMB+NaCl+NaNO₂+STPP+C₆H₇NaO₆ = อาหารจำลองสภาวะการหมักแห้ง (NMB) มีการเติมโซเดียมไนไตรท์, โซเดียมคลอไรด์, โซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต และ โซเดียมแอสคอเบส

NMB+NaCl+NaNO₂+STPP+C₆H₇NaO₆+กระเทียม 3% = อาหารจำลองสภาวะการหมักแห้ง (NMB) มีการเติมโซเดียมไนไตรท์, โซเดียมคลอไรด์, โซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต โซเดียมแอสคอเบสและกระเทียมสับปอดเชื้อ 3 เปอร์เซ็นต์



รูปที่ 4.10 ค่า pH ของแบบจำลองการหมักเหนม (Nham model broth, NMB) ที่มีส่วนประกอบของ โซเดียมไนไตรท์ โซเดียมคลอไรด์ โซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต โซเดียมแอสคอเบส และ กระเทียม ที่มีการ เจริญของเชื้อ *Strep. suis* (ค่า pH เป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง) NMB = อาหารจำลองสภาวะการหมักเหนม (NMB) ที่ไม่มีการเติมกระเทียมสับปดเชื้อและวัตถุดิบอาหาร NMB+NaCl+NaNO₂+STPP+C₆H₇NaO₆ = อาหารจำลองสภาวะการหมักเหนม (NMB) มีการเติม โซเดียมไนไตรท์ โซเดียมคลอไรด์ โซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต โซเดียมแอสคอเบส NMB+NaCl+NaNO₂+STPP+C₆H₇NaO₆+กระเทียม 3% = อาหารจำลองสภาวะการหมักเหนม (NMB) ที่มีการเติมโซเดียมไนไตรท์ โซเดียมคลอไรด์ โซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต โซเดียมแอสคอเบสและ กระเทียมสับปดเชื้อ 3 เปอร์เซ็นต์

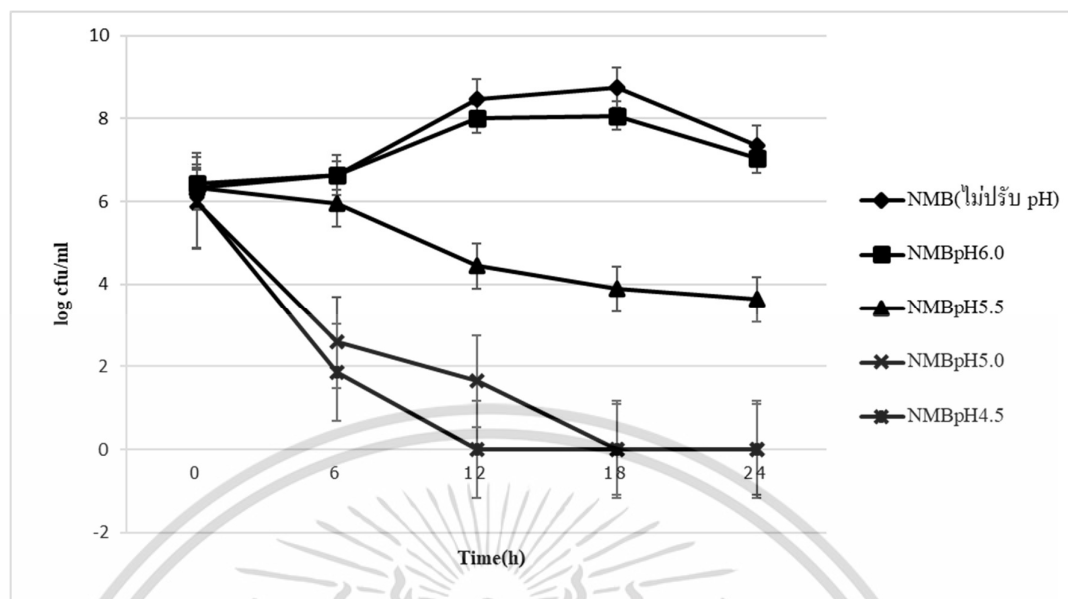
จากผลการทดลองที่กล่าวมาพบว่าปัจจัยของส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เหนมได้แก่ไนไตรท์ โซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต โซเดียมแอสคอเบส โซเดียมคลอไรด์ และ กระเทียม มีส่วนช่วยในการ ยับยั้งเชื้อ *Strep. suis* โดยเมื่อมีการใช้ส่วนผสมร่วมกันจะสามารถยับยั้งเชื้อ *Strep. suis* ได้ดีขึ้น ซึ่ง เมื่อพิจารณาจากผลการลดลงของเชื้อ *Strep. suis* ในกราฟรูป 4.9 พอสรุปได้ว่าการยับยั้งและลดลง ของเชื้อ *Strep. suis* จนตรวจไม่พบหลังจากหมักอาหารแบบจำลองการหมักเหนม เป็นผลจากวัตถุดิบอาหาร กระเทียมที่เสริมในการหมักไม่มีผลต่อการทำให้เชื้อ *Strep. suis* เจริญเพิ่มขึ้นหรือ ลดลงอย่างรวดเร็วแต่อย่างใด

4.6 ผลของปัจจัยของพีเอชที่ส่งผลต่อการเจริญของเชื้อ *Strep. suis* ในอาหารเหลว

จำลองการหมักแหนม (Nham model broth, NMB)

นอกจากองค์ประกอบในการผลิตแหนมที่ศึกษาหลายชนิด จะพบว่ามีส่วนประกอบอาหารหลายชนิด เช่น โซเดียมไนไตรท์ โซเดียมคลอไรด์ โซเดียมไดรโพลิฟอสเฟต โซเดียมแอสคอร์เบต และส่วนประกอบในแหนมเช่นกระเทียมที่สามารถช่วยยับยั้งเชื้อ *Strep. suis* แล้วในแหนมยังมีปัจจัยของค่าความเป็นกรด pH ที่มาจากแบคทีเรียแลคติกที่เป็นจุลินทรีย์ที่สำคัญในการผลิตแหนม ที่สร้างกรดแลคติกทำให้ค่า pH ในแหนมลดลงซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคได้ (Swetwathana et al., 2007) ดังนั้น ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้เพิ่มผลการศึกษาผลของ pH ต่อการลดลงของเชื้อ *Strep. suis* โดยใช้กรดแลคติกที่เป็นผลผลิตของการหมักผลิตภัณฑ์แหนม ทำการปรับอาหารเหลวจำลองสภาวะการหมักแหนมให้ได้ค่า pH ระดับ 4.5, 5.0, 5.5 และ 6.0 เทียบกับชุดควบคุมอาหารเหลวจำลองสภาวะการหมักแหนมที่ไม่ปรับ pH เป็นรูปแบบในการศึกษา

จากการศึกษาพบว่า ที่ pH 5 และ 4.5 เมื่อเวลาผ่านไป 6 ชั่วโมงปริมาณเชื้อลดลงเหลือ 2 log cfu/ml ที่อาหารจำลองการหมักแหนมที่มีค่า pH 4.5 ในชั่วโมงที่ 12 ไม่พบการเจริญของเชื้อ *Strep. suis* และ ที่อาหารเหลวจำลองการหมักแหนมที่มีการปรับค่า pH 5 ในชั่วโมงที่ 18 ไม่พบการเจริญของเชื้อ ส่วนอาหารเหลวจำลองการหมักแหนมที่มีการปรับค่า pH เป็น 6 และ 5.5 ยังมีการเจริญของเชื้อ *Strep. suis* อยู่ โดยอาหารเหลวจำลองการหมักแหนมที่มีการปรับค่า pH เป็น 6 เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง มีปริมาณของเชื้อของอยู่ที่ 7 log cfu/ml เช่นเดียวกับ อาหารเหลวจำลองการหมักแหนมที่เป็นชุดควบคุม อาหารเหลวจำลองการหมักแหนมที่มีการปรับค่า pH เป็น 5.5 มีปริมาณเชื้อในชั่วโมงที่ 24 อยู่ที่ 3 log CFU/ml ดังรูปที่ 4.11 ซึ่งได้มีงานวิจัยของ Franziskat et al., 2016 มีการศึกษาการเจริญของ *Strep. suis* ซีโรไทป์ 2 และ 9 ในกระเพาะอาหารของสุกร ได้มีการทดสอบความทนกรดของเชื้อ *Strep. suis* โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Todd-Hewitt broth (THB) ปรับ pH โดยใช้กรดฟอร์มิก ได้มีรายงานว่าที่ pH 4 เมื่อผ่านไป 1 ชั่วโมงไม่พบการเจริญของเชื้อ ที่ pH 5.3 เมื่อเวลาผ่านไป 1 ชั่วโมงปริมาณเชื้อลดลง อยู่ที่ 10^3 CFU/ml และที่ pH 5.3 ปริมาณเชื้อไม่ลดลงและไม่เพิ่มขึ้นจากปริมาณเชื้อเริ่มต้นเมื่อเวลาผ่านไป 1 ชั่วโมง โดยปริมาณเชื้อเริ่มต้นของการทดลองอยู่ที่ 10^8 CFU/ml



รูปที่ 4.11 ผลของ pH ในอาหารจำลองสภาวะการหมักเหนมที่มีการปรับค่าด้วยกรดแลคติกต่อการเจริญของเชื้อ *Strep. suis* (ปริมาณเชื้อ *Strep suis* เป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง)

NMB = อาหารจำลองสภาวะการหมักเหนม (NMB) ที่ไม่มีการปรับค่า pH

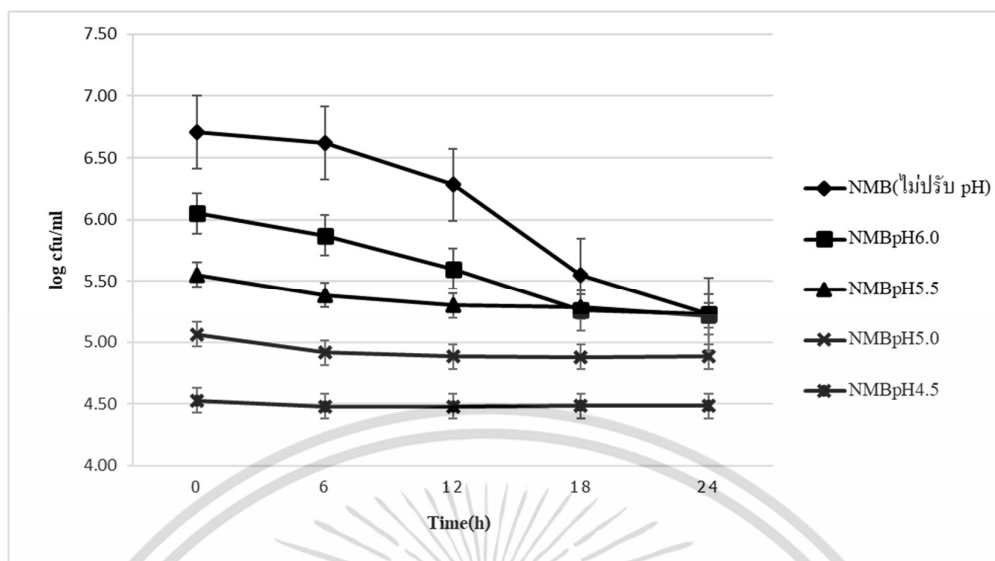
NMBpH6.0 = อาหารจำลองสภาวะการหมักเหนม (NMB) ที่มีการปรับค่า pH เป็น 6 ด้วยกรดแลคติก

NMBpH5.5 = อาหารจำลองสภาวะการหมักเหนม (NMB) ที่มีการปรับค่า pH เป็น 5.5 ด้วยกรดแลคติก

NMBpH5.0 = อาหารจำลองสภาวะการหมักเหนม (NMB) ที่มีการปรับค่า pH เป็น 5 ด้วยกรดแลคติก

NMBpH4.5 = อาหารจำลองสภาวะการหมักเหนม (NMB) ที่มีการปรับค่า pH เป็น 4.5 ด้วยกรดแลคติก

ในรูปที่ 4.12 แสดงค่า pH ของอาหารเหลวจำลองการหมักเหนมที่มีการปรับค่า pH ด้วยกรดแลคติก ให้มีค่า pH เป็น 6, 5.5 และ NMB (ควบคุม) มีการเจริญของเชื้อ *Strep. suis* ค่า pH ของอาหารจำลองการหมักเหนมลดลง โดยในชั่วโมงที่ 24 ค่า pH ของอาหารจำลองการหมักเหนมที่มีการปรับค่า pH ด้วยกรดแลคติก ให้มีค่า pH เป็น 6 อยู่ที่ 5.23 และ NMB (ควบคุม) อยู่ที่ 5.23 จากค่า pH เริ่มต้นที่ 6.7 และ อาหารเหลวจำลองการหมักเหนมที่มีการปรับค่า pH ด้วยกรดแลคติก ให้มีค่า pH เป็น 5.5 ในชั่วโมงที่ 24 ค่า pH อยู่ที่ 5.2 อาหารเหลวจำลองการหมักเหนมที่มีการปรับค่า pH ด้วยกรดแลคติก ให้มีค่า pH เป็น 5 ค่า pH จะคงที่ในชั่วโมงที่ 12-24 ซึ่งเป็นชั่วโมงที่ไม่พบการเจริญของเชื้อ *Strep. suis* และอาหารเหลวจำลองการหมักเหนมที่มีการปรับค่า pH ด้วยกรดแลคติก ให้มีค่า pH เป็น 4.5 ค่า pH จะคงที่ในชั่วโมงที่ 6-24 ซึ่งเป็นชั่วโมงที่พบเชื้อในปริมาณน้อยจนไม่พบการเจริญของเชื้อ *Strep. suis*



รูปที่ 4.12 ค่า pH ในอาหารจำลองสภาวะการหมักเห็บหมักที่มีการปรับค่าด้วยกรดแลคติกเมื่อมีการเจริญของเชื้อ *Strep. suis* (ค่า pH เป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง)

NMB = อาหารจำลองสภาวะการหมักเห็บหมัก (NMB) ที่ไม่มีการปรับค่า pH

NMBpH6.0 = อาหารจำลองสภาวะการหมักเห็บหมัก (NMB) ที่มีการปรับค่า pH เป็น 6 ด้วยกรดแลคติก

NMBpH5.5 = อาหารจำลองสภาวะการหมักเห็บหมัก (NMB) ที่มีการปรับค่า pH เป็น 5.5 ด้วยกรดแลคติก

NMBpH5.0 = อาหารจำลองสภาวะการหมักเห็บหมัก (NMB) ที่มีการปรับค่า pH เป็น 5 ด้วยกรดแลคติก

NMBpH4.5 = อาหารจำลองสภาวะการหมักเห็บหมัก (NMB) ที่มีการปรับค่า pH เป็น 4.5 ด้วยกรดแลคติก

ผลการศึกษานี้จะพบว่า นอกจากองค์ประกอบในการผลิตเห็บหมักที่ศึกษาหลายชนิด จะพบว่า มีวัตถุเจือปนอาหารหลายชนิด เช่น โซเดียมไนไตรท์ โซเดียมคลอไรด์ โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต โซเดียมแอสคอร์เบต และส่วนประกอบในเห็บหมัก เช่น กระเทียม ยังพบว่าค่า pH ในอาหาร NMB ที่ปรับด้วยกรดแลคติกให้ต่ำลงมาถึง 5 และ 4.5 จะส่งผลให้เชื้อ *Strep. suis* ลดลงจาก 6 log cfu/ml จนตรวจไม่พบในหลอด NMB เมื่อเวลา 18 และ 12 ชม. ตามลำดับแสดงว่าถ้าสามารถทำสภาวะของการหมักเห็บหมักให้ได้กรดแลคติกในปริมาณสูงเพื่อลดค่า pH ให้ต่ำในช่วงเวลาการหมักที่สั้นอย่างรวดเร็วได้ จะมีผลในการยับยั้งและทำลายให้เห็บหมักปลอดจากเชื้อ *Strep. suis* ซึ่งการทำให้เห็บหมักมีสภาพการหมักที่รวดเร็วขึ้น มีค่า pH ต่ำลงอย่างรวดเร็วนั้น ควรจะมีการใช้เทคโนโลยีการใช้กล้ำเชื้อร่วมในการผลิตเพื่อให้ค่า pH ลดลงอย่างรวดเร็วได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้กล้ำเชื้อที่สามารถผลิตแบคทีเรียโอซินที่มีผลต่อแบคทีเรียแกรมบวก จะยิ่งส่งผลต่อการยับยั้งเชื้อก่อโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังการรายงานของ Swetwathana et al. (2007) และ Swetwathana and Visessanguan (2015) ซึ่งได้รายงานถึงผลของการใช้กล้ำเชื้อแบคทีเรียแลคติกสายพันธุ์ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ซึ่งผลิตแบคทีเรียโอซินชนิด pediocin PA-1 มาใช้ควบคุมคุณภาพการหมัก

หมกเพื่อลด *S. Anatum* ซึ่งเป็นแกรมลบ โดยพบว่า pediocin PA-1 ไม่มีผลในการยับยั้งแกรมลบ แต่องค์ประกอบในการผลิตหมก เช่น ไนไตรท์ กระเทียม และการใช้ล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก *P. pentosaceus* ที่ผลิต pediocin PA-1 และกรดแลคติกที่รวดเร็วในระหว่างการหมกหมกใน NMB สามารถลดเชื้อก่อโรคลดแกรมลบ เช่น *S. Anatum* ให้หมกในระยะเวลาอันรวดเร็วได้ โดยความเป็นกรด ไนไตรท์ และสาร allicin จะทำให้เชื้อแกรมลบ เช่น *S. Anatum* เกิดการบาดเจ็บของผนังเซลล์ ทำให้ pediocin PA-1 สามารถไปทำให้ ผนังเซลล์ เกิดรูพรุน ส่งผลให้ *S. Anatum* ถูกทำลายและตายอย่างรวดเร็วได้ ซึ่งถ้าสามารถนำล้าเชื้อสายพันธุ์ดังกล่าวมาใช้ร่วมในการหมกหมก น่าจะส่งผลให้มีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *Strep. suis* เป็นไปได้มากขึ้น



บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

การศึกษาผลของ โซเดียมไนไตรท์ โซเดียมแอลแอสคอบีส โซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต ที่มีต่อการยับยั้งเชื้อ *Strep. suis* ในอาหารเหลวที่จำลองสภาวะเหมือนการหมักแฮม (NMB) พบว่าสารที่สามารถลดการเจริญของเชื้อ *Strep. suis* ได้ดีคือ โซเดียมไนไตรท์ 80 ppm และโซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต 3 g/l โดยเชื้อลดลง จนไม่พบเชื้อในชั่วโมงที่ 12 และโซเดียมคลอไรด์สามารถลดปริมาณเชื้อลงได้ในชั่วโมงที่ 6-12 เหลือ 4 log cfu/ml แต่ปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้นอีกในชั่วโมงที่ 18 อยู่ที่ 6 log cfu/ml ดังนั้นการใช้โซเดียมคลอไรด์เพียงอย่างเดียวอาจไม่เพียงพอในการยับยั้งเชื้อ *Strep. suis* ในแฮม ในส่วนโซเดียมแอลแอสคอบีส 0.5 g/l ไม่สามารถยับยั้ง *Strep. suis* ได้

การศึกษาผลร่วมของวัตถุเจือปนอาหาร 2 ชนิด ในการผลิตแฮม ได้แก่โซเดียมไนไตรท์ โซเดียมแอลแอสคอบีส โซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต โซเดียมคลอไรด์ และกระเทียม ที่มีร่วมกันในการยับยั้งเชื้อ *Strep. suis* ในอาหารเหลวที่จำลองสภาวะการหมักแฮม (NMB) พบว่าผลร่วมของสาร 2 ชนิดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Strep. suis* ได้ดีคือ การใช้ โซเดียมไนไตรท์ 80 ppm ร่วมกับโซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต 3 g/l การใช้ โซเดียมไนไตรท์ 80 ppm ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ 25 g/l และการใช้โซเดียมไนไตรท์ 80 ppm ร่วมกับโซเดียมแอลแอสคอบีส 0.5 g/l สามารถยับยั้งเชื้อ *Strep. suis* ได้ดีโดยปริมาณเชื้อชั่วโมงที่ 24 อยู่ที่ 1 log cfu/ml เช่นเดียวกับ การใช้โซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต 3 g/l ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ 25 g/l นอกจากนี้ การใช้โซเดียมคลอไรด์ 25 g/l ร่วมกับโซเดียมแอลแอสคอบีส 0.5 g/l สามารถลดปริมาณเชื้อ *Strep. suis* ได้โดยชั่วโมงที่ 24 ปริมาณเชื้ออยู่ที่ 2 log cfu/ml แต่ในส่วนของ การใช้โซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต 3 g/l ร่วมกับโซเดียมแอลแอสคอบีส 0.5 g/l ไม่สามารถลดปริมาณเชื้อ *Strep. suis* ได้ โดยในชั่วโมงที่ 24 ปริมาณเชื้ออยู่ที่ 7 log cfu/ml

ศึกษาผลของ กระเทียม ในการยับยั้งเชื้อ *Strep. suis* ในอาหารเหลวที่จำลองสภาวะเหมือนการหมักแฮม (NMB) โดยทำการผลของกระเทียมในอาหารเหลวจำลองการหมักแฮม 2 ชุดคือ 1. อาหารเหลวจำลองการหมักแฮมที่มีการเติมกระเทียมสับปลอดเชื้อ 3 % w/v และ 2. อาหารเหลวจำลองการหมักแฮมที่มีการเติมกระเทียมสับปลอดเชื้อ 5 % w/v พบว่าผลของกระเทียมที่มีต่อการเจริญของเชื้อ *Strep. suis* มีผลต่อการเจริญของเชื้อใกล้เคียงกัน โดยในชั่วโมงที่ 24 ปริมาณของเชื้ออยู่ที่ 5 log cfu/ml กระเทียมมีส่วนช่วยลดปริมาณเชื้อ *Strep. suis* เล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับชุดอาหารเหลวจำลองการหมักแฮมชุดควบคุม

การศึกษาผลขององค์ประกอบในการผลิตแฮม โซเดียมไนไตรท์ โซเดียมแอลแอสคอบีส โซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต และกระเทียม ที่มีร่วมกันในการยับยั้งเชื้อ ในอาหารเหลวที่จำลองสภาวะ

การหมักแหนม (NMB) พบว่าการส่วนประกอบในการผลิตแหนมทั้งหมดเมื่อมีการใช้ร่วมกันสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Strep. suis* ได้โดยในช่วงเวลาที่ 18 อาหารเลี้ยงเชื้อจำลองการหมักแหนมที่มีการเติมกระเทียม 3 % w/v และวัตถุเจือปนอาหารตามสูตร ตรวจไม่พบเชื้อ เช่นเดียวกับสูตรที่ไม่มีการเติมกระเทียมเติมกระเทียม 3 % w/v

เนื่องจากในแหนมมีเชื้อจุลินทรีย์ที่สำคัญในการหมักแหนมคือแบคทีเรียแลคติกซึ่งสามารถผลิตกรดแลคติกที่ทำให้แหนมมีค่า pH ลดลงทำให้เป็นการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการและทำให้แหนมมีความปลอดภัย ดังนั้นจึงมีการศึกษาผลของค่า pH จากกรดแลคติก ในการยับยั้งเชื้อ *Strep. suis* ในอาหารเหลวที่จำลองสภาวะเหมือนการหมักแหนม (NMB) โดยปรับค่า pH เริ่มต้นใน NMB ให้มีค่า pH เริ่มต้น ที่ 6.0, 5.5, 5.0, 4.5 เพื่อทดสอบว่าในการหมักแหนมเมื่อค่า pH ในแหนมลดลงจะสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Strep. suis* ได้ พบว่าอาหารเหลวจำลองการหมักแหนมที่มีการปรับค่า pH ด้วยกรดแลคติก สามารถลดการเจริญของ *Strep. suis* คืออาหารเหลวจำลองการหมักแหนมที่มีการปรับค่า pH ให้เท่ากับ 5 และ 4.5 ด้วยกรดแลคติก โดยที่ pH 4.5 ไม่พบการเจริญของเชื้อในช่วงเวลาที่ 12 และที่ pH 5 ในช่วงเวลาที่ 18

5.2 ข้อเสนอแนะ

จากผลการวิจัย พบว่าการเติมวัตถุเจือปนอาหารที่มักถูกใช้ในการหมักแหนม เช่น ไนเตรท/ไนไตรท์ วัตถุเจือปนอาหารในกลุ่มฟอสเฟต กลุ่มแอสคอเบส และเกลือ สามารถช่วยลดปริมาณเชื้อ *Strep. suis* ได้ และนอกจากนี้ในกระบวนการหมักแหนมยังมีเชื้อจุลินทรีย์แลคติกที่มีส่วนช่วยในกระบวนการหมักแหนมด้วยจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงจุลินทรีย์แลคติกที่ใช้ในกระบวนการหมักแหนมว่ามีส่วนช่วยในการยับยั้งเชื้อ *Strep. suis* เนื่องจากจุลินทรีย์แลคติกบางชนิดสามารถสร้างแบคทีเรีย โอซินมายับยั้งแบคทีเรียได้และควรศึกษาเพื่อหาความเข้มข้นของวัตถุเจือปนอาหารที่เหมาะสมที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Strep. suis* เพื่อลดปริมาณการใช้วัตถุเจือปนอาหาร และทำการศึกษาทุกองค์ประกอบในตัวอย่างแหนมจริงเพื่อยืนยันความเชื่อมั่นของผลที่ได้จากหลอดทดลองในรูปแบบจำลอง

ในกระบวนการผลิตแหนมเพื่อป้องกันการเกิดโรคติดเชื้อ *Strep. suis* ผู้ผลิตควรสวมใส่ถุงมือเมื่อทำการจับหมูดิบเนื่องจากเชื้อสามารถเข้าสู่ร่างกายผ่านการสัมผัสได้หากมือมีแผลและควรตรวจสอบความเป็นกรดหลังแหนมผ่านกระบวนการหมัก เนื่องจากความเป็นค่าความเป็นกรดมีผลต่อการเจริญของเชื้อ *Strep. suis*

บรรณานุกรม

- กนิษฐพร วังโน และ ปฐพี เช่งบุญตัน. 2564. การใช้ไนโตรเจนอย่างปลอดภัยในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูป. FOOD FOCUS THAILAND . [internet]. (เข้าถึง เมื่อ 1 เมษายน 2564) :
<https://www.swinethailand.com/17271646/>
- กลุ่มควบคุมป้องกันโรคสัตว์กระเพาะเดี่ยว สำนักควบคุม ป้องกันและ บำบัดโรคสัตว์ กรมปศุสัตว์.2558. โรคติดเชื้อ *Streptococcus suis*.
- จุฑารัตน์ เลี่ยนกั้วา. 2545. ผลของกรดกลูโคโนค กรดแอสคอร์บิก และสารไนซิน ต่อการลดจำนวนเชื้อ *Salmonella derby* และเชื้อ *E.coli* ในเนื้อสุกร .วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ.
- ดวงพร คันทโชติ.2537. อนุกรมวิธานของแบคทีเรียและปฏิบัติการ. โอเคียนส์โดร์ กรุงเทพฯ.
- ทิพรดี คงสุวรรณ. 2547. ผลของไตรโซเดียมฟอสเฟต เซททิลไพริดีนีเยมคลอไรด์ โปแตสเซียมซอเบตและการใช้สารร่วมกันต่อการลดเชื้อ *Escherichia coli* และ *Salmonella derby* บนผิวเนื้อสุกร . สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ.
- ไพโรจน์ วิริยะจาวี, ลักษณะ รุ่งนะ ไกรกานต์, วิวรรณ วรรณนัจริยา, อิศรพงษ์ พงษ์ศิริกุล และ สุทธยา บุญถนอม.2538. การพัฒนาผลิตภัณฑ์แฮมโดยใช้เทคโนโลยีเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นผสม 9. ผลของสารประกอบฟอสเฟต. วารสารเกษตร ปีที่11(2):166-185
- วรรณโชค ไชยสะอาด.2558. ความเชื่อผิด ๆ กินของดิบแข็งแรงแต่แท้จริงเสี่ยงตาย. บางกอกโพสต์. [internet]. (เข้าถึง เมื่อ 1 ตุลาคม 2560):<http://www.posttoday.com/analysis/report/396806>
- ศุภร พึ่งลัดดา และ ประเสริฐ ทองเจริญ. 2548. โรคติดเชื้อสเตริฟโตคอคคัสซูอิสในมนุษย์: ทบทวนรายงานประเทศไทยและจุลชีววิทยา. วารสารวิชาการสาธารณสุข 14(4) :581-590
- ศิริรัตน์ ดันไสว. 2547. การศึกษาคุณสมบัติของแบคทีเรียกรดแลกติกทนร้อน ที่ผลิตสารไบโอเจนิกเอมีน จากอาหารหมักไทย. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. สาขาจุลชีววิทยา. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศิวาพร ศิวเวช. 2535. **วัตถุดิบอาหารในผลิตภัณฑ์อาหาร**. พิมพ์ครั้งที่1.ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม.

สำนักโรคติดต่ออุบัติใหม่ กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. 2554. **โรคติดเชื้อสเตรปโตค็อกคัส ซูอิส** โรคติดต่ออุบัติใหม่. [internet]. (เข้าถึงเมื่อ 1 ตุลาคม 2560): URL: <https://mylibrary4u1.files.wordpress.com/2016/05/000599.pdf>

สรุจน์ วีรวัฒน์โยธิน. 2555. **การอยู่รอดของเชื้อ Salmonella Anatum S. Bangkok S. Lamphun และ S. Ratchaburi ระหว่างการหมักแหนม**. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. สาขาสุขภาพอาหาร. คณะอุตสาหกรรมเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ.

อจลรา เพิ่ม. 2550. **แบคทีเรียแลคติก**. โรงพิมพ์ภาพพิมพ์. กรุงเทพฯ.

อดิสร เสวตวิวัฒน์. 2542. **ผลของน้ำสกัดกระเทียมต่อการเจริญของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกสำหรับผลิตภัณฑ์เนื้อและเชื้อโรคอาหารเป็นพิษที่พบมาในแหนม(ในหลอดทดลอง)**. อาหารFOOD 29(2):107-115.

อดิสร เสวตวิวัฒน์. 2543. **ประโยชน์ของงานวิจัยกับการพัฒนาอุตสาหกรรมการผลิตอาหารหมักดองประเภทเนื้อของไทย**. เอกสารประกอบการประชุมระดมความคิดเรื่อง “การยกระดับคุณภาพแหนมด้วย เทคโนโลยีชีวภาพ”. สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ

อดิสร เสวตวิวัฒน์. 2546. **การศึกษาผลของพีเอชต่อการตรวจพบซาลโมเนลลาในแหนมที่จำหน่ายในท้องตลาด**. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ.

อรนุช อุดรภิชาติ .2530. **การคัดเลือกแบคทีเรียแลคติกซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของซัลโมเนลลา และการผลิตกล้าเชื้อผงเพื่อใช้หมักแหนม** . วิทยานิพนธ์ปริญญา มหาวิทยลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อรอนงค์ พริ้งสุลกะ. 2550. **แบคทีเรียโอซินที่สร้างจากแบคทีเรียแลคติก**. วารสารวิทยาศาสตร์. 23 : 145-148.

อภิษฎา ศรีเครือคง. 2547. ผลของการใช้น้ำ น้ำร้อน สารละลายผสมระหว่างสารไตรโซเดียมฟอสเฟต และกรดแอสคอร์บิก สารละลายผสมระหว่างสารโปแทสเซียม ซอร์เบต และกรดแอสคอร์บิก ต่อการลดจำนวนเชื้อ *Escherichia coli* และเชื้อ *Salmonella Derby* ในเนื้อสุกรบด . สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง/กรุงเทพฯ.

Adam, M.R. and Moss, O.M. 1995. **Food Microbiology**. The Royal Society of Chemistry, Cambridge. pp. 232-248.

Ammor, S., Rachman, C., Chaillou, S., Prevost, H., Dousset, X., and Zagorec, M. 2005. **Phenotypic and genotypic identification of lactic acid bacteria isolated from a small-scale facility producing traditional dry sausages**. Food Microbiology. 22: 373–382.

Arai, S., Yamada, M. R., Osawa, R., Nomoto, R., Kawamura, Y. and Sekizaki, T. 2015. **Development of loop-mediated isothermal amplification to detect *Streptococcus suis* and its application to retail pork meat in Japan**. International Journal of Food Microbiology 208: 35-42.

Arief, I.I., Wulandari, Z., Sinaga, E.S. and Situmorang, D.M. 2017. **Application of purified bacteriocin from *Lactobacillus plantarum* IIA-1A5 as a bio-preservative of beef sausage**. Pakistan Journal of Nutrition. 16 (6): 444-450.

Barbosa, M. S., Todorov, S. D., Ivanova V., Belguesmia, Y., Choiset, Y. Rabesona, H., Chobert, J. M., Haert, T. and Franco, B. D. G. M. 2016. **Characterization of a two-peptide plantaricin produced by *Lactobacillus plantarum* MBSa4 isolated from Brazilian salami**. Food Control 60: 103-11

Bureau of Epidemiology, Department of Disease Control [database on the Internet]. *Streptococcus suis* [cited 2020 Feb 17]. Available from: <http://www.boe.moph.go.th/boedb/surdata/disease.php?ds=82>

Cardoso-Toset, F., Luque, I., Morales-Partera, A., Galán-Relaño, A., Barrero-Domínguez B., Hernández, M. and Gómez-Laguna, J. 2017. **Survival of *Streptococcus suis*, *Streptococcus dysgalactiae* and *Trueperella pyogenes* in dry-cured Iberian pork shoulders and loins**. Food Microbiology. Volume 61: 66-71.

- Christieans, S., Picgirard, L., Parafita, E., Lebert, A. and Gregori, T. 2018. **Impact of reducing nitrate/nitrite levels on the behavior of *Salmonella Typhimurium* and *Listeria monocytogenes* in French dry fermented sausages.** Meat Science. Volume 137 :160-167
- Clifton-Hadley, F.A. and M.R. Enright. 1984. **Factors affecting the survival of *Streptococcus suis* type 2.** The Veterinary Record 114 (24):584–586.
- Ennahar, S., Sonomoto, K. and Ishizaki, A. 1999. **Class II bacteriocins from Food Preservation.** Journal of Bioscience and Bioengineering. 6: 705-716.
- Guillaume, G.D., Auger, J.P., Xu, J., Segur, M. and Gottschalk, Segur. 2014. ***Streptococcus suis*, an important pig pathogen and emerging zoonotic agent—an update on the worldwide distribution based on serotyping and sequence typing.** Emerging Microbes and Infections. Volume 3, Issue 1. 1-20.
- Holo, H., Jeknic, Z., Daeschel, M., Stevanovic, S. and Nes, I. F. 2001. **Plantaricin W from *Lactobacillus plantarum* belongs to a new family of two-peptide lantibiotics.** Microbiology. 147(3): 643–651.
- Jay, M. T. 1996. **Modern Food Microbiology.** 5th ed. International Thomson Publishing, New York. pp. 110-113.
- Kelly, W., Asmundson, J. R. and Huang, C. 1996. **Characterization of plantaricin KW30, a bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum*.** J. Appl. Microbiol. 81:657-662
- Klaenhammer, T.R. 1993. **Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria.** FEMS Microbiology Reviews. 12(3): 39-85.
- Kusolsuk, T. and Rojekkittikhun, W. 2009. **Trichinellosis in Thailand: Epidemiology, Prevention and Control.** Trop Med Parasitol., 32: 35-43
- Kyuag, K.H., Park, K.S. and KIM, Y.S. 1996. **Isolation and characterization of bacteria resistant to the antimicrobial activity of garlic.** J. of Food Sci 61(1):226-229.

- Lawrie, R. 1995. **The structure, composition and preservation of meat.** pp. 1-38. In Campcell-Platt, A. and P. E. Cook (eds). Fermentation meats. Blackie Academic & Professional, New York.
- Lebel, G., Piché, F., Frenette, M., Gottschalk, M. and Grenie, D. 2013. **Antimicrobial activity of nisin against the swine pathogen *Streptococcus suis* and its synergistic interaction with antibiotics.** Peptides. Volume 50: 19-23.
- Luecke, F.K. 1985. **Fermented sausage** In: Wood B.JB.(ed). Microbiology of Fermented foods. Volume 2. :41-83. Elsevier Spplied Science Publishers, London and New York.
- Marie, H.M., Berthelot-Herault, F., Sanders, P., Kampf, I., Gaudier-Bouchar, A.V., Jouy, E. and Kobich, M. 2002. **Antimicrobial susceptibility of *Streptococcus suis* isolate from swine in France and humans in different countries between 1996-2000.** J.Antimicrob.Chemother.50(2): 201-209
- Martín, M., Gutiérrez, J., Criado, R., Herranz, C., Cintas, L.M. and Hernández, P.E. 2007. **Chimeras of mature pediocin PA-1 fused to the signal peptide of enterocin P permits the cloning, production, and expression of pediocin PA-1 in *Lactococcus lactis*.** Journal of Food Protection. Volume 70, Issue 12: 2792-2798.
- Naretrit, K., Hannwong, T., Thammawitjaya, P., Pingsusean, D., Akkanij, B., Jaikhar, A., Paungmali, P., Yudee, P., Wongyai, S., Samerchea, S., Tipsriraj, S., Pruksakorn, S., Sutdan, D., Noimoh, T., Chalamaat, M., Samitsuwan, P., Chuxnum, T. and Areechokchai, D. 2008. **Human *Streptococcus suis* outbreak in Phayao province, Thailand 2007.** Outbreak Surveillance and Investigation Reports. 1(1):4-7.
- Pathanasophon, P., Worarach, A., Narongsak, W., Yuwapanichsampan, S., Nuangmek, A., Sakdasirisathaporn, A. and Chuxnum T. 2013, **Prevalence of *Streptococcus suis* in Tonsils of Slaughtered Pigs in Lampang and Phayao Provinces, Thailand, 2009-2010.** The journal of tropical medicine and parasitology 2013; 36(1): 8–14
- Pootong, P., Boongrid, P., and Phuaprsdit, P. 1993. ***Streptococcus suis* meningitis at Ramathibodi Hospital.** Ramathibodi. Med. J. 16: 203-7.

- Swetwathana, A., Leutz, U. and Fischer, A. 1998. **Role of garlic on growth and lactic acid product of Starter cultures.** Fleischwirtschaft.70(4):294-298, 344.
- Swetwathana, A., Fischer, A., Lotong, N. and Leutz, U. 1999. **Controlling the growth of *Salmonella* Anatum in Nham. Effect of meat starter culture, nitrate, nitrite and garlic.** Fleisch Wirtschaft International. 9: 124-128.
- Swetwathana, A., Lotong, N., Nakayama, J., and Sonomoto, K. 2007. **Maturation of Nham a Thai fermented meat product: Effect of Pediocin PA-1 producer (*Pediococcus pentosaceus* TISTR536) as starter culture, nitrite and garlic on *Salmonella* anatum during Nham fermentation.** Fleischwirtschaft International. 22(3): 46–49
- Swetwathana, A. and Visessanguan, W. 2015. **Potential of bacteriocin - producing lactic acid bacteria for safety improvements of traditional Thai fermented meat and human health.** Meat Science. 109: 101–105.
- Wangkaew, S., Chauwarith, R., Tharavichitkul, P. and Supparatpinyo, K. 2006. ***Streptococcus suis* infection: a series of 41 case from Chiang Mai University Hospital.** Journal of Infection 52(6):455-460
- Wijnker, J.J., Koop, G. and Lipman, L.J.A. 2006. **Antimicrobial properties of salt (NaCl) used for the preservation of natural casings.** Food Microbiology 23 :657–662



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

ก.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ Brain heart infusion broth,(BHI) +1%yeast extract (Difco, USA)

ละลายอาหารเลี้ยงเชื้อ 37 g พร้อมเติม yeast extract 10 g ในน้ำกลั่นพร้อมเติม 1 ลิตร มาเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ก.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ Brain heart infusion agar,(BHI) +1%yeast extract (Difco, USA)

ละลายอาหารเลี้ยงเชื้อ 37 g พร้อมเติม yeast extract 10 g และเพิ่ม agar 15 g ในน้ำกลั่นพร้อมเติม 1 ลิตร มาเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ก.3 อาหารเหลวสำหรับการหมักได้รอกอีธาน (ดัดแปลงจาก Swetwiwathana และคณะ, 1999)

Meat extracts	10.0 g	Glucose	10.0 g
Tryptone	10.0 g	Sodium chloride	25.0 g
Sodium ascobate	0.5 g	Sodium nitrite	0.08 g
Sodium-tri-polyphosphate	3.0 g		

ละลายส่วนประกอบทั้งหมดในน้ำกลั่น 1 ลิตร นำไปมาเชื้อใน Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ใช้กลีเซอรอล 4 เปอร์เซ็นต์เป็นตัวปรับค่าออกเตอร์แอกทิวิตี (a_w) ให้มีค่าเท่ากับ 0.97 ในขวดปรับปริมาตร (Swetwiwathana และคณะ, 1999)

ก.4 น้ำยาเจือจาง Buttlefield's PhosPhate Buffered (BAM R11, 2001)

ก.4.1 การเตรียมสารละลายสต็อก

ละลายโปแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) 34 กรัมในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร ปรับพีเอชให้ได้ 7.2 ด้วย สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 นอร์มัล และปรับปริมาตร เป็น 1 ลิตร แล้วนำเข้ามาเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เก็บในตู้เย็น

ก.4.2 การเตรียม Dilution blank

ตวงสารละลายสต็อก 1.25 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่นตวงใส่ขวดปริมาตร 450 มิลลิลิตร (สำหรับเจือจางตัวอย่าง 50 กรัม) หรือ ตวงใส่ขวดปริมาตร 225

มิลลิลิตร(สำหรับเจือจางตัวอย่าง 25 กรัม) และดูด 9 มิลลิลิตรใส่หลอดทดลองขนาด 16 x 150 มิลลิเมตร นำเข้ามาเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที

ก.5 การเตรียมกระเทียมปลอดเชื้อ

เลือกกระเทียมแกะเปลือกที่ไม่มีจุดและไม่มีเชื้อรา ชั่งน้ำหนักกระเทียมตามจำนวนที่ต้องการแล้วนำเข้าตู้แช่เย็นแช่น้ำมาแช่แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำมาล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ จากนั้นจึงนำมาหั่นและสับให้ได้ขนาดตามต้องการแล้วเติมลงในแบบจำลองการหมักเห็ด



ภาคผนวก ข

การตรวจวิเคราะห์ทางด้านเคมี

ข.1 การวัดค่า pH (ดัดแปลงจาก AOAC.,1984)

นำตัวอย่างซึ่งเป็นอาหารเหลว 5 มิลลิตร ใส่บีกเกอร์ 25 มิลลิตร แล้วนำมาวัดด้วยเครื่อง pH METER

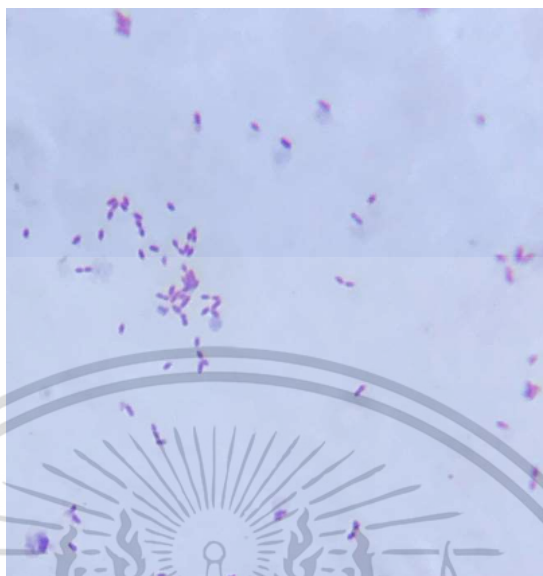


ภาคผนวก ก

การตรวจวิเคราะห์ทางด้านจุลชีววิทยาและสัณฐานวิทยาของเชื้อ

ก-1 วิธีการย้อมสีแกรม (gram staining)(WHO1980)

1. เตรียมสารละลายของเชื้อในน้ำกลั่นนิ่งมาเชื้อ นำมากระจายบนกระจกสไลด์บริเวณที่ท
เครื่องหมายไว้ ทิ้งให้แห้ง แล้วตรึงเซลล์แบคทีเรียให้ติดกับกระจกสไลด์ด้วยความร้อน โดย
ผ่านแผ่นสไลด์บนเปลวไฟ 2-3 ครั้งอย่างช้าๆ
2. ย้อมด้วยสารละลาย Crystal violet 1 นาที
3. ล้างสีอย่างเบาๆ ด้วยน้ำไหล
4. หยดสารละลายไอโอดีนและทิ้งไว้ 1 นาที
5. ล้างไอโอดีนด้วยคือน้ำซับให้แห้ง
6. ล้างสีด้วยแอลกอฮอล์หรืออะซีโตน-แอลกอฮอล์จนเหลือสีจางๆในสารละลายที่ใช้ล้าง
7. ล้างด้วยน้ำสะอาด ซับให้แห้ง
8. ย้อมทับด้วย Safranin O เป็นเวลา ½ นาที
9. ล้างด้วยน้ำสะอาด เทสีทิ้งซับให้แห้งและปล่อยให้แห้งสนิทในอากาศ
10. นำไปตรวจดูใต้กล้องจุลทรรศน์ด้วยเลนส์ออปเทคที่ฟชนิดใช้กับน้ำมัน
ชนิดของแกรม (Gram reaction) แบ่งได้เป็น แบคทีเรียชนิดแกรมบวก ติดสีน้ำเงินหรือสีม่วง
ส่วนแบคทีเรียชนิดแกรมลบ ติดสีแดงหรือชมพู



ภาพที่ ค.1 ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของเชื้อ *Strep. suis* ย้อมติดสีแกรมบวก มีการเรียงตัวเป็นสาย เซลล์คู่ หรือเซลล์เดี่ยว

ผลงานที่ได้นำเสนอในช่วงที่ศึกษาวิจัย
 ในหัวข้อผลของวัตถุดิบอาหารที่เป็นองค์ประกอบในการผลิต
 แหนมต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ สเตร็ปโตค็อกคัส ซูอิส ใน
 สภาวะจำลองการหมักแหนม

ผลของวัตถุเจือปนอาหารที่เป็นองค์ประกอบในการผลิตหมกต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ สเตรปโตค็อกคัส ซูอิส ในสภาวะจำลองการหมกหมน

นรินทร์กานต์ โพธิ์กว้าง¹ และอดิศร เสวตวิวัฒน์²

บทคัดย่อ

สเตรปโตค็อกคัส ซูอิส เป็นเชื้อที่ก่อโรคที่อยู่ในสุกร ทำให้เกิดโรคเชื้อหุ้มสมองอักเสบ ซึ่งสามารถติดต่อมายังมนุษย์ โดยการสัมผัสกับสุกรที่เป็นโรค การบริโภคเนื้อสุกรดิบหรือปรุงกึ่งสุกกึ่งดิบ หมกเป็นผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากเนื้อหมูสดที่มีกระบวนการผลิตที่ไม่ผ่านความร้อน และผู้บริโภคบริโภคสุกหลังการหมกโดยไม่ผ่านความร้อน ผลิตภัณฑ์หมกจึงมีความเสี่ยงในการเกิดโรคจากเชื้อดังกล่าวหากวัตถุดิบเริ่มต้นมีการปนเปื้อนเชื้อ แต่ในหมกยังมีองค์ประกอบของวัตถุเจือปนอาหารที่ใช้ในการผลิต คือ โซเดียมคลอไรด์ โซเดียมไนไตรต์ โซเดียมไตรฟอสเฟต ที่มีผลในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคได้หลายชนิดซึ่งการศึกษานี้ได้ทำการศึกษาการเจริญของเชื้อในอาหารจำลองสภาวะการหมกหมน สูตรของอาหาร ได้ข้อมูลจากการผลิตจากบริษัทแห่งหนึ่ง โดยในอาหารกำหนดให้มีเชื้อ *Strep. suis* เริ่มต้นที่ 10^4 cfu/ml ในอาหารจำลองที่ไม่มีวัตถุเจือปนใดๆ (ชุดควบคุม) เปรียบเทียบกับอาหารจำลองที่มี 1.โซเดียมไนไตรต์ 2.โซเดียมไตรฟอสเฟต 3.โซเดียมคลอไรด์ และ 4.สารทั้งสามสารข้างต้นรวมกัน และทำการนับจำนวนเชื้อโดยการ pour plate ทุก 6 ชั่วโมงเป็นเวลา 24 ชั่วโมงหลังจากใส่เชื้อในหลอดที่มีวัตถุเจือปนอาหารชนิดต่างๆ พบว่าในอาหารที่มีโซเดียมไนไตรต์ 100 ppm/ml ลดปริมาณเชื้อได้ดีที่สุดโดยลดลงในชั่วโมงที่ 6 มีปริมาณเชื้อที่ 10^2 cfu/ml และไม่พบเชื้อในชั่วโมงที่ 12 ในอาหารที่มีโซเดียมไตรฟอสเฟต 3 g/l ปริมาณเชื้อลดลงในชั่วโมงที่ 6 โดยมีปริมาณเชื้อที่ 10^3 cfu/ml และไม่พบเชื้อในชั่วโมงที่ 12 ส่วนในอาหารที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ 25 g/l ในชั่วโมงที่ 6 โดยมีปริมาณเชื้อที่ 10^4 cfu/ml แต่เพิ่มขึ้นในชั่วโมงที่ 18 และ 24 โดยมีปริมาณเชื้อในชั่วโมงที่ 24 ที่ 10^5 cfu/ml เมื่อทำการการเติมสารทั้ง 3 สารรวมกันการยับยั้งการเจริญของเชื้อสเตรปโตค็อกคัส ซูอิสทำได้ ปริมาณเชื้อลดลงในชั่วโมงที่ 6 โดยมีปริมาณเชื้อที่น้อยกว่า 25 cfu/ml และไม่พบเชื้อในชั่วโมงที่ 12 ซึ่งจากการศึกษาการสรุปได้ว่า สารทั้ง 3 ชนิดมีผลช่วยในการลดปริมาณเชื้อสเตรปโตค็อกคัส ซูอิส ในขณะหมกหมนได้

คำสำคัญ : สเตรปโตค็อกคัส ซูอิส, อาหารจำลองสภาวะการหมกหมน

¹ นักศึกษาชั้นบัณฑิตศึกษา สาขาการจัดการความปลอดภัยอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยี พระจอมเกล้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

² รศ.ดร., คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

¹ Master' Student of Food Safety Management Program, Faculty of Agro-Industry, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang University Bangkok 10520

² Assoc. Dr., Faculty of Agro-Industry, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang University Bangkok 10520

* Corresponding author: E-mail: adisorns@hotmail.com

EFFECT OF FOOD ADDITIVES CONCERNED IN NHAM PRODUCTION ON “*Streptococcus suis*” IN NHAM MODEL BROTH

Narinkarn Phokrang^{1*} and Adisorn Swetwathana²

Abstract

Streptococcus suis (*Strep.suis*), a pathogen presented in pigs, can lead to Streptococcal Toxic Shock Syndrome (STSS) this pathogen can finally transmit the disease to humans through the close contact with infected pigs, the raw pork or semi-cooked pork product. Nham, which is known as fermented pork sausage, has not been yet subjected through the heat production process. The consumers also tend to consume promptly after the fermentation without passing any heat procedure. The product, therefore, highly contributes the risk of transforming the infection *Strep.suis* to humans, if the raw pork materials are contaminated. In the other hand, There are many food additive components during Nham production such as Sodium Chloride (NaCl), Sodium Nitrite (NaNO_2) and Sodium Tri-polyphosphate ($\text{Na}_3\text{P}_3\text{O}_{10}$) which have been supported to exhibit the effect of inhibiting the pathogenic microorganisms. This study, thus, aims to investigate the development of *Strep.suis* in the Nham model broth (NMB) formula which has been gathered from one of the production company. Then, the available of *Strep.suis* in NMB without any additives (control) were at 10^6 cfu/ml, and counted by pouring plate in every 6 hours for 24 hours under 30°C and compared to the available of *Strep.suis* in NMB with 1. Sodium Nitrite 2. Sodium Tri-polyphosphate 3. Sodium Chloride and 4. mix three additives at the same incubated and periods. Containing 100 ppm/ml of nitrite sodium, could reduce the cells of *Strep.suis* at the greatest amount. The optimum period was reduced by the hour of 6 to 10^2 cfu/ml, and, totally diminish within 12 hours,. Moreover, NMB containing 3 g/l of sodium tri-polyphosphate showed the first of reduction of *Strep.suis* after 6 hours to 10^3 cfu/ml, and no cell was found after the 12 hour. Additionally, NMB containing 25 g / l of sodium chloride illustrates the reduction amount of cell to after 18 and 24 h, 10^4 cfu/ml in the 6th hour, while, the amount of cell had increased up to 10^5 cfu/ml. When combining all three main additives in Nham, These three additives showed the best synergistic effect on *Strep.suis* by rapidly decreasing the cell amount in 6 hours to approximately less than 25 cfu/ml, and no showed available cell within 12th hour. Consequently, these three additives have created an opportunity to reduce *Strep.suis* during the fermentation of Nham and related fermented pork products.

Keywords: *Streptococcus suis*, Nham model broth (NMB)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทนำ

เชื้อสเตรปโตค็อกคัส ซูอิส (*Strep.suis*) เป็นแบคทีเรียแกรมบวกในกลุ่ม Streptococcaceae มีรูปร่างกลม (Cocci) มักเรียงตัว เป็นคู่หรือเป็นสาย เจริญได้ดีทั้งในภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน (Facultative Anaerobe) เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเลือดเป็นองค์ประกอบ (Blood Agar) โคโลนีมีขนาดเล็ก (0.5- 1.0 มม.) ผิวหน้าเรียบ เป็นมัน และโปร่งแสง (Transparent) มีการสลายเม็ดเลือดแดงแบบไม่สมบูรณ์ (Alpha-Hemolysis) ซึ่งพบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อรอบๆ โคโลนีเปลี่ยนเป็นสีเขียวหรือสีน้ำตาล [1] *Strep.suis* เป็นเชื้อที่ก่อโรคที่อยู่ในสุกร โดยเชื้อจะอยู่บริเวณต่อมทอนซิล และเยื่อโพรงจมูก ซึ่งสามารถติดต่อมายังมนุษย์ได้โดยการสัมผัสกับสุกรที่เป็นโรค หรือ บริโภคเนื้อสุกรดิบ หรือปรุงสุกทั้งตัวที่มีเชื้อนี้ปนเปื้อนอยู่ โดย *Strep.suis* เป็นเชื้อที่ทำให้เกิดอาการเยื่อหุ้มสมองอักเสบ ข้ออักเสบ ภาวะโลหิตเป็นพิษ โรคปอดบวมและโรคเยื่อหุ้มหัวใจอักเสบ [2] โดย *Strep.suis* มีทั้งหมด 35 ซีโรไทป์ (serotype) โดย ซีโรไทป์ที่มีความรุนแรงสูงและก่อโรคบ่อยที่สุดในคนคือ ซีโรไทป์ 2 และซีโรไทป์ 1 [3] โดยพบการระบาดของเชื้อชนิดนี้ในหลายประเทศ รวมถึงประเทศไทย โดยพบผู้ที่ติดเชื้อมากที่สุด ในบริเวณภาคเหนือ โดยส่วนใหญ่เกิดจากการรับประทานอาหารลาบสุกรดิบ หัวหมูต้มไม่สุก และการประกอบอาหาร [4] โดยเชื้อ *Strep.suis* สามารถทำลายได้ง่ายเมื่อถูกความร้อนเนื่องจากเชื้อจะทนต่อความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที

แหนม (Nham) เป็นผลิตภัณฑ์เนื้อหมักพื้นบ้านของไทยที่นิยมบริโภคกันทั่วไปเป็นอาหารที่มีปริมาณโปรตีนสูงและมีปริมาณไขมันต่ำผลิตได้จากหมูเนื้อแดงบดละเอียดผสมกับเกลือบริโภคในเตรด และไนไตรต์ ข้าวเจ้า หรือข้าวเหนียวสุก กระเทียม บางสูตรอาจมีการเติมสมุนไพรบางชนิดเพื่อเพิ่มรสชาติ และนำไปบรรจุโดยห่อด้วยพลาสติกหรือห่อด้วยใบตอง ขนาดของการบรรจุมีน้ำหนักที่ต่างกันไป สุดท้ายนำไปหมักในสภาวะที่เหมาะสมเพื่อให้เกิดรสเปรี้ยว [5] การหมักแหนมทำได้สองสภาวะ คือ การหมักแหนมตามสภาพธรรมชาติ (natural fermentation) เป็นการหมักโดยอาศัยอุณหภูมิของสภาพแวดล้อมซึ่งเป็นการหมักที่เกิดขึ้นมักไม่คงที่ และการหมักด้วยกล้ำเชื้อ ซึ่งในระหว่างการหมักมีการเติมกล้ำเชื้อบริสุทธิ์ของแบคทีเรียกรดแลคติก [6] ลงในสูตรการผลิตโดยกล้ำเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่นิยมใช้เติมในสูตรการผลิตแหนม ได้แก่ *L. plantarum*, *L. curvatus*, *P. pentosaceus* และ *P. acidilactici* [7] ซึ่งเป็นแบคทีเรียกรดแลคติกที่คัดเลือกได้จากการหมักแลกรอกเปรี้ยวตามสภาพธรรมชาติแบคทีเรียกรดแลคติกที่ใช้เป็นกล้ำเชื้อพบว่า ช่วยในการสร้างกรดซึ่งทำให้ผลิตภัณฑ์มีรสเปรี้ยว และช่วยทำให้ค่าพีเอชลดลงส่งผลต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ [8] นอกจากนี้ในแหนมยังมีสารเคมีที่มักใช้ในการผลิตแหนมที่สามารถช่วยลดการเจริญของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการได้ โดยวัตถุเจือปนที่สามารถใช้ในแหนมตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมแหนม (มอก. 1219-2537) คือ 1.ฟอสเฟตในรูปของโมโน, ได- และโพสเฟสเกลือโซเดียมหรือโพแทสเซียมอย่างใดอย่างหนึ่งหรือรวมกันในผลิตภัณฑ์สำเร็จ (คำนวณจากฟอสฟอรัสทั้งหมดในรูป P_2O_5) ไม่เกิน 3000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม 2.โซเดียมไนไตรต์และโซเดียมไนเตรดโดยตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 281 (พ.ศ. 2547) ได้กำหนดปริมาณที่อนุญาตให้ใช้ในอาหารได้ไม่เกิน 125 และ 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ กรณีที่ใช้ทั้งโซเดียมไนไตรต์และโซเดียมไนเตรดให้มีปริมาณรวมกันได้ไม่เกิน 125 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

เนื่องจากในกระบวนการผลิตแหนมมีกระบวนการผลิตที่ไม่ผ่านความร้อน และผู้บริโภคมักบริโภคหลังการหมักโดยไม่นำไปผ่านความร้อน ผลิตภัณฑ์แหนมจึงมีความเสี่ยงในการเกิดโรคจากเชื้อดังกล่าวหากวัตถุดิบเริ่มต้นมีการปนเปื้อนเชื้อ แต่ในแหนมมักมีวัตถุเจือปนอาหารที่ใช้ในการผลิต คือ เกลือโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมไนไตรต์ โซเดียมไตรฟอสเฟต ที่มีผลในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคได้หลายชนิด ดังนั้นจึงทำการศึกษาวัตถุเจือปนอาหารที่เป็นองค์ประกอบในแหนมว่ามีส่วนในการช่วยยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Strep. Suis* ในอาหารเหลวที่จำลองสภาวะเหมือนการหมักแหนม (NMB) ซึ่งมีองค์ประกอบของสภาวะจำลองที่แนะนำโดย Swetwathana et al.,1999 [9] โดยสูตรของอาหารสภาวะจำลองได้มาจากสูตรในการผลิตแหนมของโรงงานแห่งหนึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการวิจัย

1. อาหารเลี้ยงเชื้อและส่วนประกอบที่ใช้ในการวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์

Brain Heart Infusion broth (BHI), Yeast extract, และ Beef extract, Tryptone, Glucose ซึ่งเป็นส่วนประกอบของ Nham model broth (Swetwathana et al.1999) [9]

2. เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการศึกษา

เชื้อ *Strep. susi* ที่พบในเนื้อหมูจากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ นำมาเพาะเลี้ยงเชื้อใน Brain Heart Infusion broth โดยเติม 1% ของ Yeast extract เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

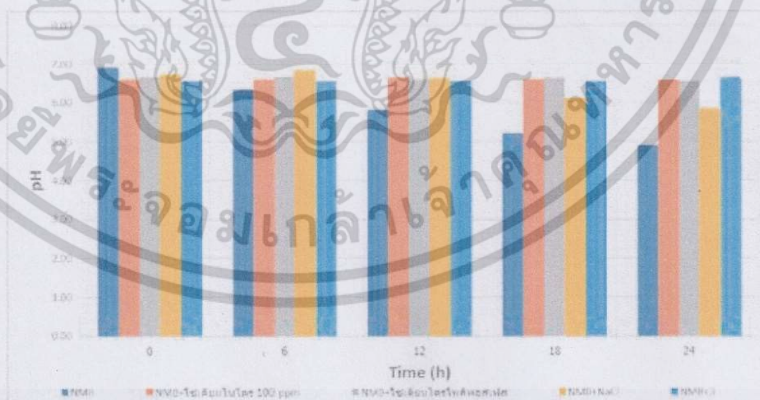
3. การเตรียมอาหารจำลองการหมักหนม (Nham model broth, NMB)

เตรียมอาหารจำลองการหมักหนม (NMB) ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ในขวดทนร้อนฝาเกลียวโดย อ้างอิงตามสูตรอาหารแบบจำลองการหมักหนม [9]

4. การศึกษาผลการรอดชีวิตของเชื้อ *Strep. susi* ในแบบจำลองการหมักหนม (Nham model broth, NMB) ที่มีการเติมโซเดียมไนไตร โซเดียมไตรฟอสเฟต และ โซเดียมคลอไรด์

ทำการเพาะเลี้ยง *Strep. susi* ในอาหารจำลองสภาวะการหมักหนม (NMB) ปริมาตร 200 มิลลิลิตร โดยไม่มีการเติม โซเดียมไนไตร โซเดียมไตรฟอสเฟต และ โซเดียมคลอไรด์ (ชุดควบคุม) เพื่อเปรียบเทียบกับ อาหารจำลองการหมักหนมที่มีการเติมวัตถุเจือปนอาหาร 4 ชุดคือ 1. โซเดียมไนไตร 100 ppm 2. โซเดียมไตรฟอสเฟต 3 g/l 3. โซเดียมคลอไรด์ 25 g/l และ อาหารจำลองการหมักหนมที่มีการเติม สารทั้ง 3 ชนิดตามปริมาณดังข้างต้น โดยให้ปริมาณของเชื้อ *Strep. susi* เริ่มต้นที่จะใช้ในการศึกษาอยู่ที่ ประมาณ 6 log cfu/ml และให้ปิดทับผิวหน้าของอาหารด้วย parafilm oil เพื่อให้เป็นสภาวะไร้อากาศ จากนั้นทำการบ่มเพาะเชื้อทั้งหมดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยทำการสุ่มตัวอย่างเพื่อศึกษาการเจริญของเชื้อ *Strep. susi* และวัดค่า pH โดยใช้เครื่อง pH meter รุ่น Mettler Toledo SevenEasy ทุก 6 ชั่วโมง โดยในการศึกษาการเจริญของเชื้อ *Strep. susi* จะทำการเจือจางโดยวิธี 10-fold dilution จนได้ความเจือจางที่เหมาะสมต่อการนับจำนวน ทำการตรวจนับปริมาณเชื้อโดยวิธี pour plate บนอาหารแข็ง BHI ที่มีการเติม 1% ของ yeast extract นำไปบ่มเพาะเชื้อในสภาวะไร้อากาศเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง แล้วจึงนำมานับปริมาณเชื้อและรายงานผล

ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย



รูปที่ 1 ค่า pH ในอาหารจำลองสภาวะการหมักหนมที่มีสารประกอบต่างกันที่มีการเติมเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Strep. susi โดย (ค่าที่ได้เป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ครั้ง)

NMB = อาหารจำลองสภาวะการหมักแหนม (NMB) ที่ไม่มีการเติมวัตถุดิบอาหาร

NMB+โซเดียมไนไตร 100 ppm= อาหารจำลองสภาวะการหมักแหนมที่มีการเติมโซเดียมไนไตร 100 ppm

NMB+โซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต= อาหารจำลองสภาวะการหมักแหนมที่มีการเติมโซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต 3 g/l

NMB+NaCl= อาหารจำลองสภาวะการหมักแหนมที่มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ 25 g/l

NMB+3= อาหารจำลองสภาวะการหมักแหนมที่มีการเติมสารประกอบ โซเดียมไนไตร โซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต และโซเดียมคลอไรด์

จากรูปที่ 1 แสดงให้เห็นค่า pH ของอาหารจำลองสภาวะการหมักแหนม โดยในอาหารจำลองสภาวะการหมักแหนมที่ไม่มีการเติมวัตถุดิบอาหารพบว่าค่า pH ในอาหารลดลง โดยในช่วงเวลาที่ 24 ค่า pH ในอาหารอยู่ที่ 4.9 ในอาหารจำลองสภาวะการหมักแหนมที่มีการเติมโซเดียมไนไตร 100 ppm ค่า pH ของอาหารอยู่ที่ 6.8-6.9 ตั้งแต่ช่วงเวลาที่ 0-24 เช่นเดียวอาหารจำลองสภาวะการหมักแหนมที่มีการเติมกับการเติมโซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต 3 g/l และพบว่าในอาหารจำลองสภาวะการหมักแหนมที่มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ 25 g/l ค่า pH ในช่วงเวลาที่ 0-12 อยู่ที่ 6.8-6.5 และลดลงในช่วงเวลาที่ 18 และ 24 โดยค่า pH ในช่วงเวลาที่ 24 อยู่ที่ 5.9 และในอาหารจำลองสภาวะการหมักแหนมที่มีการเติมสารประกอบ โซเดียมไนไตร โซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต และโซเดียมคลอไรด์ ทั้ง 3 ชนิดพบว่าค่า pH ของอาหารอยู่ที่ 6.8-6.9 ตั้งแต่ช่วงเวลาที่ 0-24 จากผลการทดลองจะเห็นว่า วัตถุดิบอาหารที่มีการเติมลงไปทั้ง 3 ชนิด ไม่ส่งผลในการทำให้ค่า pH ลง แต่ในชุดทดสอบที่ไม่มีการเติมวัตถุดิบใดลงไปมีค่า pH ที่ลดลงเนื่องจาก มีการเจริญของเชื้อ *Strep. susi* โดยดูได้จากใน รูปที่ 2. ซึ่งในการเจริญเชื้อ *Strep. susi* มีการสร้างกรดทำให้ค่า pH ลดลง ในอาหารที่มี โซเดียมคลอไรด์ ในช่วงเวลาที่ 0-12 ค่า pH คงที่ แต่พบว่าลดลงในช่วงเวลาที่ 18-24 เนื่องจากพบว่าการเจริญของเชื้อโดยสังเกตได้จากกราฟแสดงอัตราการเจริญของเชื้อ มากขึ้นในช่วงเวลาที่ 18-24 แต่ในอาหารที่มีการเติมสารประกอบโซเดียมไนไตร 100 ppm และโซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต 3 g/l และการใช้สารทั้ง 3 ชนิด ปริมาณของค่า pH คงที่เนื่องจากเชื้อไม่มีการเจริญจึงไม่มีการสร้างกรด



รูปที่ 2 อัตราการเจริญของเชื้อ *Streptococcus susi* ในอาหารจำลองสภาวะการหมักแหนมที่มีสารประกอบต่างกันโดย

NMB = อาหารจำลองสภาวะการหมักแหนม (NMB) ที่ไม่มีการเติมวัตถุดิบอาหาร

NMB+โซเดียมไนไตร 100 ppm= อาหารจำลองสภาวะการหมักแหนมที่มีการเติมโซเดียมไนไตร 100 ppm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

NMB+โซเดียมไตรโพลิฟอสเฟต= อาหารจำลองสภาวะการหมักแหมนที่มีการเติมโซเดียมไตรโพลิฟอสเฟส 3 g/l
 NMB+NaCl= อาหารจำลองสภาวะการหมักแหมนที่มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ 25 g/l
 NMB+3= อาหารจำลองสภาวะการหมักแหมนที่มีการเติมสารประกอบ โซเดียมไนไตร โซเดียมไตรโพลิฟอสเฟส และโซเดียมคลอไรด์

จากรูปที่ 2. แสดงให้เห็นอัตราการเจริญของเชื้อในอาหารจำลองสภาวะการหมักแหมน (NMB) โดย อาหารจำลองสภาวะการหมักแหมน (NMB) ที่ไม่มีการเติมวัตถุเจือปนอาหารพบว่าเชื้อเจริญสูงสุดในชั่วโมงที่ 12 โดยมีปริมาณเชื้ออยู่ที่ $8 \log \text{ cfu/ml}$ และเริ่มลดปริมาณลงในชั่วโมงที่ 18 โดยที่เวลา 24 ชั่วโมง มีปริมาณเชื้ออยู่ที่ $2 \log \text{ cfu/ml}$ ในอาหารจำลองสภาวะการหมักแหมนที่มีการเติมโซเดียมไนไตร 100 ppm จากรูปแสดงให้เห็นว่าปริมาณเชื้อลดลงในชั่วโมงที่ 6 โดยพบว่ามีปริมาณเชื้อที่ $2 \log \text{ cfu/ml}$ และไม่พบเชื้อในชั่วโมงที่ 12 ในอาหารจำลองสภาวะการหมักแหมนที่มีการเติมโซเดียมไตรโพลิฟอสเฟส 3 g/l พบว่าปริมาณเชื้อลดลงในชั่วโมงที่ 2 โดยพบว่ามีปริมาณเชื้อที่ $3 \log \text{ cfu/ml}$ และไม่พบเชื้อในชั่วโมงที่ 12 และในอาหารจำลองสภาวะการหมักแหมนที่มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ 25 g/l พบว่าในชั่วโมงที่ 6 โดยมีปริมาณเชื้อที่ $4 \log \text{ cfu/ml}$ แต่เพิ่มขึ้นในชั่วโมงที่ 18 และ 24 โดยมีปริมาณเชื้อในชั่วโมงที่ 24 ที่ $5 \log \text{ cfu/ml}$ และในอาหารจำลองสภาวะการหมักแหมนที่มีการเติมสารประกอบ โซเดียมไนไตร โซเดียมไตรโพลิฟอสเฟส และโซเดียมคลอไรด์ ทั้ง 3 ชนิดพบว่าเชื้อลดลงน้อยกว่า 2.5 cfu/ml ในชั่วโมงที่ 6 และไม่พบเชื้อในชั่วโมงที่ 12

จากผลการศึกษา พบว่าเชื้อ *Streptococcus susi* สามารถสร้างกรดได้ โดยสังเกตจากค่า pH ที่ลดลงเมื่อเชื้อมีการเจริญในอาหารจำลองสภาวะการหมักแหมนที่มีการเติมสารประกอบเคมี และเชื้อมีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาผ่านไปและลดลงเมื่อค่า pH ลด สารประกอบโซเดียมไนไตร 100 ppm และโซเดียมไตรโพลิฟอสเฟส 3 g/l สามารถยับยั้งเชื้อได้โดยสังเกตได้จากปริมาณเชื้อที่ลดลง และค่า pH ที่คงที่เมื่อเวลาผ่านไปเนื่องจากไม่มีการสร้างกรดจากเชื้อ โดยไพโรจน์ และคณะ (2538) ได้มีการศึกษาผลของสารประกอบฟอสเฟตต่อการผลิตแหมนพบว่าสารประกอบฟอสเฟตมีผลต่อการทำลายเชื้อ *S. aureus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก [10] และ โซเดียมคลอไรด์ 25 g/l สามารถลดเชื้อได้เล็กน้อยเนื่องจากในช่วงชั่วโมงที่ 0-12 และเชื้อเพิ่มขึ้นในชั่วโมงที่ 18 การใช้สารทั้ง 3 ชนิด คือสารประกอบโซเดียมไนไตร 100 ppm และโซเดียมไตรโพลิฟอสเฟส 3 g/l และโซเดียมคลอไรด์ 25 g/l สามารถเชื้อได้ดี เนื่องจากปริมาณเชื้อลดลงมากในชั่วโมงที่ 6 และค่า pH คงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0-24

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาพบว่าสารประกอบที่นิยมใช้ในการผลิตแหมน ได้แก่ โซเดียมไนไตร โซเดียมไตรโพลิฟอสเฟส และโซเดียมคลอไรด์สามารถช่วยยับยั้งเชื้อ *Streptococcus susi* โดยเห็นผลจากการยับยั้งในอาหารเหลวจะลดลงสภาวะการหมักแหมน และหากมีการใช้สารทั้ง 3 ชนิด รวมกันจะทำให้การยับยั้งมีความรวดเร็วมากขึ้น โดยในขั้นตอนต่อไปจะมีการศึกษาปริมาณของวัตถุเจือปนที่เหมาะสมในการยับยั้งเชื้อ และศึกษาการยับยั้งเชื้อในแหมนจริงเพิ่มเติม

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ บริษัทไทยอินโนฟู้ดที่สนับสนุนทุนวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. Aarestrup, F.M., S.R. Rasmussen, K. Artursson and N.E. Jensen. (1998). "Trends in the resistance to antimicrobial agents of *Streptococcus suis* isolates from Denmark and Sweden". *Vet Microbiol.* 63(1), 71-80

2. Goyette-Desjardins, G., J.P. Auger., J. Xu., M.Segura. and M.Gottschalk. (2014). "Streptococcus suis an important pig pathogen and emerging zoonotic agent-an update on the worldwide distribution based on serotyping and sequence typing". *Emerg. Microbes Infect.* <http://dx.doi.org/10.1038/emi.2014.45>.
3. Arai, S., M. Tohya, R. Yamada., R.Osawa. and R. Nomoto. (2015). "Development of loop mediated isothermal amplification to detect Streptococcus suis and its application to retail pork meat in Japan". *Int. J. Food Microbiol.* 208, 35-42.
4. อาทิตยา วงศ์คำมา, เสาวพัตร อิน้อย, ประวิทย์ ชุมเกษียร. (2556.) "สถานการณ์โรคใช้หูดับ ประเทศไทย ระหว่างปี พ.ศ. 2554 -2556". *สำนักกระบวนวิชา กรมควบคุมโรค*.
5. Adam, M. R. and O. M. Moss. (1995). "Food Microbiology". The Royal Society of Chemistry, Cambridge. pp. 232-248.
6. Jay, M. T. (1996). "Modern Food Microbiology. 5th ed." International Thomson Publishing, New York. pp. 110-113.
7. Hammes, W. P. and H. J. Knauf. (1994.) "Starter in the processing of meat products". *Meat Sci.* 36 : 155-168.
8. อติศร เสวตวิวัฒน์. (2543). "ประโยชน์ของงานวิจัยกับการพัฒนาอุตสาหกรรมการผลิตอาหารหมักดองประเภท เนื้อของไทย". เอกสารประกอบการประชุมระดมความคิดเรื่อง การยกระดับคุณภาพแทนด้วย เทคโนโลยีชีวภาพ. สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ.
9. Swetwathana, A., U. Leutz, N. Lotong., and A. Fischer. (1999). "Controlling the Growth of Salmonella anatum in Nham. Effect of Meat Starter Culture, Nitrate, Nitrite and Garlic". *Fleischwirtschaft.* 79(9): 124-128.
10. ไพโรจน์ วิริยจารี, ถักขณา รุจนะไกรกานต์, จีวรรัตน์ วรธนะจวิทยา, อีระพงษ์ พงษ์ศิริกุล, สุธยา บุญดอนออม. (2538). "การพัฒนาผลิตภัณฑ์แทนโดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพเริ่มต้นผล 9. ผลของสารประกอบฟอสเฟตต่อการผลิตแทน". *วารสารเกษตร.* 11(2) :166-185.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาว นรินทร์กานต์ โพธิ์กร่าง
วัน เดือน ปีเกิด	12 มกราคม พ.ศ. 2532
ที่อยู่	24 ม.9 ต.บางน้ำผึ้ง อ.พระประแดง จ.สมุทรปราการ 10130
E-mail	pnarinkarn@gmail.com
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2554 จบการศึกษาระดับปริญญาตรี หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต คณะจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณนริ
ประสบการณ์ทำงาน	พ.ศ.2554 พนักงานฝ่ายควบคุมคุณภาพ บริษัท เคอร์ฟลาวมิล จำกัด พ.ศ.2557 พนักงานฝ่ายประกันคุณภาพ บริษัท อิชิตัน กรุ๊ป จำกัด พ.ศ.2558 เข้าศึกษา ปริญญาโท คณะอุตสาหกรรมอาหาร สาขาการจัดการ ความปลอดภัยอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง พ.ศ.2561 ทำงานที่ ห้างหุ้นส่วนจำกัด พุนทรัพย์เอนจิเนียริง ในฝ่ายขาย (กิจการครอบครัว)
การนำเสนอผลงาน	นรินทร์กานต์ โพธิ์กร่าง และ อติสร เสวตวิวัฒน์ “ผลของสารเคมีที่เป็น องค์ประกอบในการผลิตหมักต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย สเตรปโตค็อกคัสซูอิสในสภาวะจำลองการหมักหมัก” การประชุม วิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยทักษิณ ครั้งที่ 30 ประจำปี 2563 และการ ประชุมวิชาการระดับชาติคณะ มนุษยศาสตร์และสังคมศาสตร์ ครั้งที่ 1