21702

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง
ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร พระจอมเกล้าลาดกระบัง

# ปัญหาพิเศษ
# เรื่อง

# เปรียบเทียบการยอมรับของแหนมเนื้อโคที่หมักโดยการเติมและไม่เติมกล้าเชื้อ *Pedicoccus pentosaceus* TISTR 536

# (Comparison for the acceptance of Nham (from beef) fermented with and without starter culture *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536)

T096496

จัดทำโดย

นางสาวกนิษฐา วิสุทธิแพทย์ รหัสนักศึกษา 46040178
นางสาวปิยาพัชร อาจหาญณรงค์ รหัสนักศึกษา 46040220
นางสาวเสาวนีย์ เลิศโวหาร รหัสนักศึกษา 46040266

TX
T198 ว1
ก2549

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 96496
วัน,เดือน,ปี.....

.b 11778282
.i.....

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร
โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2549

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

**เปรียบเทียบการยอมรับของแหนมเนื้อโคที่หมักโดยการเติมและไม่เติมกล้าเชื้อ *Pedicoccus pentosaceus* TISTR 536**

**(Comparison for the acceptance of Nham (from beef) fermented with and without starter culture *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536)**

จัดทำโดย

**นางสาวกนิษฐา วิสุทธิแพทย์ รหัสนักศึกษา 46040178**

**นางสาวปิยาพัชร อาจหาญณรงค์ รหัสนักศึกษา 46040220**

**นางสาวเสาวนีย์ เลิศโวหาร รหัสนักศึกษา 46040266**

**ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก**

..... ...../...../.....

**อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ (อาจารย์อ้อพัชชา จินดาประเสริฐ)**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นางสาวกนิษฐา วิสุทธิแพทย์ นางสาวปิยาพัชร อาจหาญณรงค์ และนางสาวเสาวนีย์ เลิศโวหาร. 2549. เปรียบเทียบการยอมรับของแหนมเนื้อโคที่หมักโดยการเติมและไม่เติมกล้าเชื้อ *Pedicoccus pentosaceus* TISTR 536 (Comparison for the acceptance of Nham (from beef) fermented with and without starter culture *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536) ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์อัชชา จินดาประเสริฐ

---

## บทคัดย่อ

การศึกษาการผลิตแหนมจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มันและพันธุ์พื้นเมืองที่ผ่านการเก็บรักษาโดยวิธีการแช่เย็นและการแช่แข็งที่มีการหมักแบบธรรมชาติ (ไม่เติมกล้าเชื้อ) และการหมักแบบเติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* โดยนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน ทำการตรวจสอบความเป็นกรด - ด่าง เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก จำนวนเชื้อ lactic acid bacteria และตรวจเชื้อซาลโมเนลลา พบว่าจำนวนเชื้อ lactic acid bacteria มีการเจริญและเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว เมื่อทำการหมักแหนมเป็นเวลา 1 ถึง 2 วัน จากนั้นเชื้อ lactic acid bacteria มีจำนวนลดลงเล็กน้อย เมื่อกระบวนการหมักเข้าสู่วันที่ 3 การเพิ่มจำนวนเชื้อ lactic acid bacteria ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์แหนมที่มีเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกสูงขึ้นและมีค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงอย่างรวดเร็ว ทำให้เกิดการยับยั้งการเจริญของเชื้อซาลโมเนลลาได้ โดยพบว่าแหนมที่มีการเติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 มีโอกาสในการตรวจพบเชื้อซาลโมเนลลาน้อยกว่าแหนมที่หมักแบบไม่เติมกล้าเชื้อ

จากการศึกษาการยอมรับของผู้บริโภค พบว่าผู้บริโภคให้การยอมรับแหนมเนื้อโคพันธุ์บราห์มันที่ผ่านการแช่เย็นและแช่แข็งซึ่งหมักแบบเติมกล้าเชื้อและไม่เติมกล้าเชื้อทั้งในด้าน สี กลิ่น รส เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมมากกว่าแหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์พื้นเมืองทุกสูตร จากการทดลองด้านทางประสาทสัมผัสของแหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มัน พบว่าแหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มันที่ผ่านการเก็บรักษาแบบแช่แข็งและหมักแบบธรรมชาติได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคมากที่สุด

| | | |
|---|---|---|
| กนิษฐา วิสุทธิแพทย์ | | |
| ปิยาพัชร อาจหาญณรงค์ | | |
| เสาวนีย์ เลิศโวหาร | ..... | 19 / มี.ค. / 2550 |
| ลายมือชื่อนักศึกษา | ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา | วัน เดือน ปี |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# กิตติกรรมประกาศ

ในการเสนอปัญหาพิเศษเรื่องเปรียบเทียบการยอมรับของแหนมเนื้อโคที่หมักโดยการเติมและไม่เติมกล้าเชื้อ *Pedicoccus pentosaceus* TISTR 536 นี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิตของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ซึ่งในการจัดทำครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับเกียรติจาก อาจารย์อัชชา จินดาประเสริฐ มาเป็นที่ปรึกษา และได้กรุณาสละเวลาอันมีค่าในการให้คำแนะนำ คำปรึกษา และการดูแลเอาใจใส่เป็นอย่างดี รวมถึงการแก้ไขในส่วนที่ยังมีข้อบกพร่องอยู่ ทำให้รายงานและการปัญหาพิเศษครั้งนี้สมบูรณ์มากยิ่งขึ้น และขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร. อดิศร เสวตวิวัฒน์ ที่เป็นคณะกรรมการที่ปรึกษาในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้ด้วย

นอกจากนี้ขอขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ ที่ให้การสนับสนุนและเป็นกำลังใจ ช่วยให้การทำปัญหาพิเศษครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ขอขอบคุณ คุณสิริพร พงษ์วุฒิประพันธ์ คุณธนชัย เชื้อพาณิชย์ และเพื่อนๆ พี่ๆ ที่ช่วยให้คำแนะนำจนรายงานฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ ข้าพเจ้าจึงขอขอบพระคุณทุก ๆ ท่าน ที่ทำให้ปัญหาพิเศษเล่มนี้เป็นมากกว่ารายงาน

คณะผู้จัดทำ

12 กุมภาพันธ์ 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ.....ก
กิตติกรรมประกาศ.....ข
สารบัญ.....ค
สารบัญตาราง.....ง
สารบัญภาพ.....จ
บทที่
1. บทนำ.....1
2. วารสารปริทัศน์.....2
2.1 แหนม.....2
2.2 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับแหนม.....4
2.3 เชื้อแบคทีเรียแลคติก (lactic acid bacteria ; LAB).....6
2.4 เชื้อซาลโมเนลลา (*Salmonella*).....13
2.5 ปัญหาของผลิตภัณฑ์แหนม.....15
3. อุปกรณ์และวิธีการทดลอง.....17
3.1 วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิต.....17
3.2 เชื้อจุลินทรีย์.....17
3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อและส่วนประกอบที่ใช้ในการวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์.....17
3.4 สารเคมี.....18
3.5 อุปกรณ์และเครื่องมือ.....18
3.6 สถานที่ทำการทดลอง.....19
3.7 ระยะเวลาที่ทำการทดลอง.....19
3.8 วิธีการทดลอง.....19
4. ผลการทดลองและวิจารณ์.....25
5. สรุปผลการทดลอง.....40
เอกสารอ้างอิง.....41
ภาคผนวก.....44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

3.1 ส่วนผสมของแหนมเนื้อโค.....20
3.2 ผลของปฏิกิริยาทางชีวเคมีในหลอด TSI agar และ LIM medium ของเชื้อซาลโมเนลลา.....23
4.1 ผลการเจริญเติบโตของเชื้อ lactic acid bacteria (LAB) ในผลิตภัณฑ์แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์พื้นเมือง.....29
4.2 ผลการเจริญเติบโตของเชื้อ lactic acid bacteria (LAB) ในผลิตภัณฑ์แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มัน.....30
4.3 ผลการตรวจหาเชื้อซาลโมเนลลาในผลิตภัณฑ์แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์พื้นเมืองและพันธุ์บราห์มัน.....34
4.4 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของแหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์พื้นเมือง.....35
4.5 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของแหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มัน.....36
4.6 ผลค่าเฉลี่ยคะแนนรวมของแหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มัน.....39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญภาพ

**ภาพที่**

**หน้า**

3.1 ขั้นตอนการวิเคราะห์หาเชื้อซาลโมเนลลา (*Salmonella*) โดยวิธี Salmosyst.....22
4.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติกของผลิตภัณฑ์แหนมจากเนื้อโคพันธุ์พื้นเมือง.....26
4.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติกของผลิตภัณฑ์แหนมจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มัน.....26
4.3 ผลการวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด – ด่างของผลิตภัณฑ์แหนมจากเนื้อโคพันธุ์พื้นเมือง.....27
4.4 ผลการวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด – ด่างของผลิตภัณฑ์แหนมจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มัน.....27
4.5 โคโลนีสีขาวและมีลักษณะใสรอบโคโลนี (clear zone) ของเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่เจริญในอาหาร MRS agar .....28
4.6 ผลการวิเคราะห์จำนวนเชื้อ lactic acid bacteria ของผลิตภัณฑ์แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์พื้นเมือง เมื่อทำการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน.....29
4.7 ผลการวิเคราะห์จำนวนเชื้อ lactic acid bacteria ของผลิตภัณฑ์แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มัน เมื่อทำการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน.....30
4.8 ลักษณะโคโลนีสีชมพูใสและมีจุดสีดำของเชื้อซาลโมเนลลาเมื่อทำการเลี้ยงบนอาหารแข็ง XLD ที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง.....31
4.9 ลักษณะการเจริญแนวการเคลื่อนที่ของเชื้อซาลโมเนลลาเมื่อทำการเลี้ยงบนอาหาร MSRV medium ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง.....32
4.10 ลักษณะการเจริญของเชื้อซาลโมเนลลาเมื่อทำการเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSI และ LIM ที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง.....32
4.11 ลักษณะการเจริญของเชื้อซาลโมเนลลาเมื่อทำการเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง.....33
4.12 คะแนนความชอบโดยรวมของแหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์พื้นเมืองและพันธุ์บราห์มัน.....37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 1
## บทนำ

ปัจจุบันเนื้อโคมีอัตราการบริโภคที่ต่ำกว่าเนื้อชนิดอื่น ๆ เนื้อที่ผลิตมาจึงมักจะเกินความต้องการของตลาด ทำให้ผู้ผลิตประสบปัญหาในการจำหน่ายเนื้อโคไม่หมด และเน่าเสียไปซึ่งสูญเสียต้นทุนและวัตถุดิบโดยสูญเปล่า ผู้ผลิตจึงได้นำเนื้อโคมาถนอมรักษาโดยการแช่เย็นและแช่แข็ง เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาให้นานขึ้น คณะผู้จัดทำจึงมีแนวคิดที่จะนำเนื้อที่ผ่านการเก็บรักษาด้วยวิธีดังกล่าวมาผลิตเป็นแหนมเพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าของเนื้อโค ซึ่งได้มีผู้ศึกษาการเติมกล้าเชื้อในแหนมทำให้แหนมมีคุณภาพดีขึ้นทั้งทางด้านสี กลิ่น รส และเนื้อสัมผัส และมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคมากกว่าการหมักแหนมแบบไม่เติมกล้าเชื้อ ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ใหม่และสามารถส่งออกเป็นอาหารฮาลาลได้

**วัตถุประสงค์**

1. เปรียบเทียบการยอมรับชนิดของเนื้อที่นำมาผลิตแหนมจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่เย็นกับการแช่แข็ง

2. เปรียบเทียบการยอมรับของแหนมทางด้านเคมี จุลชีววิทยา ตลอดจนเนื้อสัมผัสของแหนมที่หมักแบบธรรมชาติ และหมักด้วยกล้าเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 2
# วารสารปริทัศน์

## 2.1 แหนม

แหนมเป็นผลิตภัณฑ์อาหารหมักพื้นบ้านของประเทศไทย ในปัจจุบันนิยมบริโภคกันมาก โดยเฉพาะทางภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนได้ให้นิยามของแหนมว่าเป็นผลิตภัณฑ์ที่ทำจากเนื้อหมูส่วนสะโพกที่แยกไขมัน และเอ็นออกแล้วผสมกับหนังหมู อาจผสมหูหมูหรือจมูกหมูที่ต้มสุกแล้วและหั่นเป็นเส้นแล้ว เติมเกลือ ข้าวสุก กระเทียมบด น้ำตาลทราย ผสมให้เข้ากันอาจเติมพริกสดด้วยก็ได้ ห่อเป็นมัดหรือบรรจุในภาชนะบรรจุลักษณะอื่น ๆ หมักจนมีรสเปรี้ยว (มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน, 2546) สำหรับคุณลักษณะของแหนมนั้นต้องมีการกระจายตัวของส่วนประกอบที่ใช้ทำผสมกันอย่างทั่วถึง เนื้อแน่น ไม่มีโพรงอากาศ และมีน้ำจากการหมักได้เล็กน้อย มีสีชมพูตามธรรมชาติของแหนม มีกลิ่นรสที่ดีตามธรรมชาติที่เกิดจากการหมัก มีรสเปรี้ยวที่พอเหมาะซึ่งรสเปรี้ยวที่เกิดขึ้นมาจากกระบวนการหมักที่มีจุลินทรีย์เข้าเกี่ยวข้อง โดยเฉพาะจุลินทรีย์ที่สร้างกรดแลกติกในระยะแรกของการหมัก มักพบจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับเนื้อหมู ได้แก่ แบคทีเรียรูปท่อนและรูปกลมติดสีแกรมบวกและแกรมลบ มีทั้งพวกที่สร้างกรดได้และทำให้อาหารเน่าเสียหลังการหมักประมาณ 24 ชั่วโมง จุลินทรีย์ที่พบในระยะแรกจะเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะพวกที่สร้างกรดได้ดีและเติบโตในที่ที่มีอากาศน้อย คือ เชื้อในกลุ่ม homofermentative cocci เช่น *P. cerevisiae, P. pentosaceus* และ *P. acidilactici* ที่เติบโตจำนวนมาก เชื้อชนิดนี้จะใช้น้ำตาลกลูโคสและสร้างเป็นกรดแลกติกออกมาเป็นส่วนใหญ่ทำให้ค่าพีเอชของแหนมลดลง ซึ่งค่าพีเอชของแหนมในวันที่ 4 ควรมีค่าต่ำกว่า 4.5 และมีปริมาณกรดแลกติกสูงกว่า 0.5 เปอร์เซ็นต์ ค่าพีเอชที่ต่ำและปริมาณกรดที่สูงนี้ทำให้จุลินทรีย์ก่อโรคอย่างซาลโมเนลลา (*Salmonella*) ลดจำนวนลงด้วย (บุษกร, 2545)

ตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบันมีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับแหนมในด้านต่าง ๆ มากมาย ซึ่งส่วนมากจะเน้นถึงการวิจัยในด้านการใช้กล้าเชื้อเพื่อความปลอดภัยในการผลิตแหนมรวมถึงคุณภาพที่ดีของแหนมเมื่อใช้กล้าเชื้อในการผลิตเพื่อปรับปรุงคุณภาพทั้งในแง่ของกระบวนการผลิตและความปลอดภัยต่อผู้บริโภค ดังเช่นงานวิจัยต่อไปนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อรนุช (2530) ได้คัดเลือก และศึกษาวิธีการผลิตเชื้อผงแบคทีเรียแลคติก ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของซาลโมเนลลา พบว่าจากแบคทีเรียแลคติกจำนวน 112 ไอโซเลท (isolate) ได้แก่ *Pediococcus* spp. 78 isolates *Lactobacillus* spp. 34 isolate เชื้อแต่ละไอโซเลทให้ผลต่างกันในการยับยั้งการเจริญของซาลโมเนลลาทั้ง 8 ไอโซเลท ได้แก่ *S. anatum* , *S. bovis – morbificans* , *S. derby* , *S. krefeld* , *S. lexington* , *S. london* , *S. weltevreden* และ *S. newport* และพิจารณาความสามารถในการยับยั้งการเจริญของซาลโมเนลลาได้สูง การผลิตกรดได้ดี และการมีค่าความขุ่นของการเจริญต่าง ๆ กัน สามารถคัดเลือกแบคทีเรียได้ทั้งสิ้น 8 ไอโซเลท *Pediococcus* spp. รหัส $P_9$, $P_{18}$, $P_{33}$, $P_{39}$, $P_{42}$, และ TISTR 536 *Lactobacillus* ssp. รหัส $L_{23}$ และ TISTR 536 งานวิจัยของอดิศร (2533) ศึกษาการใช้ผลของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก *Pediococcus* spp. รหัส $P_{55}$ และกล้าเชื่อผสมระหว่างรหัส $P_{55}$ และ *Pediococcus* ssp. รหัส $L_1$ ในการหมักให้ผลในการยับยั้ง และทำลายเชื้อซาลโมเนลลาในขณะหมักได้ดีที่สุด และได้พบว่าการหมักแหนมโดยมีการเติมกล้าเชื้อจะได้ผลิตภัณฑ์ที่ปราศจากเชื้อซาลโมเนลลา เมื่อใช้เวลาในการหมัก 5 วัน ขณะที่การหมักโดยธรรมชาติต้องใช้ระยะเวลา 6 วัน เมื่อทำการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสของผู้บริโภค โดยใช้แหนมที่มีแบคทีเรียแลคติกเป็นกล้าเชื้อผสมระหว่างเชื้อรหัส $L_1$ และเชื้อรหัส $P_{55}$ มากที่สุด และ Swetwiwathana และคณะ (1999) ได้ทำการทดลองในทำนองเดียวกันโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น *L. curvatus* , *L. sakei* และ *Pediococcus* spp. ร่วมกับ nitrate, nitrite และกระเทียม ในการควบคุมการเจริญของเชื้อ *S. anatum* ในแหนม พบว่าเมื่อใช้ sodium nitrite 125 ppm, กระเทียมสด 5 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ starter culture ให้ผลในการยับยั้งการเจริญของ *S. anatum* ได้ แต่ใช้ร่วมกับ *L. sakei* ให้ผลในการยับยั้งดีที่สุด

งานวิจัยของ Noonpakdee และคณะ (2003) ได้ทำการแยกเชื้อ lactic acid ที่มีอยู่ในแหนมสามารถแยกเชื้อได้ทั้งหมด 14,020 ชนิด พบว่า หนึ่งในนั้น คือ *L. lactic* สายพันธุ์ WNC20 ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของ pathogen ที่ทำให้เกิดโรคทางเดินอาหารประกอบด้วย *Listeria monocytogenes* , *Clostridium perfrigens* , *Bacillus cereus* และ *Staph. aureus* ได้ด้วย ความสามารถของ *L. lactic* WNC20 ในการผลิตแบคเทอริโอซิน (bacteriocin) ซึ่งน่าจะมีประโยชน์ในการปรับปรุงเรื่องความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์อาหารหมัก Swetwiwathana และคณะ (2003) ได้ศึกษาการสร้าง bacteriocin ของแบคทีเรียแลคติกในแหนม พบว่ามี bacteriocin ที่ถูกสร้าง 14 strain และใน 6 strain คือ N10 , N39 , N60 , N100 , N190 และ N190 และ TISTR 536 เป็นสารที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียเป็น indicator ได้มากกว่า 5 ชนิด โดยเฉพาะ N100 และ N190 จะให้ผลการยับยั้งพวกแกรมบวกที่เป็น pathogen ในอาหาร เช่น *L. monocytogens* , *Staph. canosus* ซึ่ง *Staph. carnosus* มักนิยมใช้เป็นกล้าเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นในไส้กรอกหมักหลายชนิดของชาวยุโรป เนื่องจากจะช่วยเพิ่มเรื่องของกลิ่น และสีในผลิตภัณฑ์ ต่อมา Swetwiwathana และคณะ (2004) ศึกษาถึงผล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของกระเทียม และไนไตรท์ที่มีผลต่อการผลิต Pediocin PA-1 ของ *P. pentosaceus* TISTR 536 และการเจริญของ *S. anatum* ในสภาวะการหมักแหนมจำลอง พบว่ากระเทียมสด 5 เปอร์เซ็นต์ จะช่วยให้ *P. pentosaceus* TISTR 536 เจริญได้ดีทั้งในที่มีไนไตรท์ และไม่มี เมื่อเทียบกับที่ไม่ได้ใส่กระเทียม และเมื่อใช้กระเทียมสด 5 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับไนไตรท์ 125 ppm และ *P.pentosaceus* TISTR 536 และสามารถลดจำนวนของ *S. anatum* ได้ภายใน 30 ชั่วโมง

Petchsing และ Woodburn (1990) ได้ศึกษาถึง *Staph. aureus* และ *E. coli* ในแหนม พบว่าแหนมที่ไม่เติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นมีจำนวน *E. coli* เปลี่ยนแปลงเล็กน้อย แต่ *Staph. aureus* มีการเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างช้า ๆ เมื่อเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นลงไป 0.75 เปอร์เซ็นต์จะไม่พบเชื้อ *Staph. aureus* หลังการหมักผ่านไป 48 ชั่วโมง และ *E. coli* จะลดจำนวนลง 1 log หลังจาก 96 ชั่วโมง และเมื่อเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ลงไป 1.5 เปอร์เซ็นต์จะไม่พบเชื้อ *Staph. aureus* และ *E. coli* หลังจากการหมัก 36 และ 96 ชั่วโมงตามลำดับ

**2.1.1 การผลิตผลิตภัณฑ์แหนม**

การผลิตแหนมนั้น จะใช้เนื้อหมู หนังหมู ข้าวเจ้า หรือข้าวเหนียวหุงสุก กระเทียม และโซเดียมไนเตรทหรือโซเดียมไนไตรท์ เนื้อหมูไม่ต้องล้างน้ำเนื่องจากเนื้อจะดูดซึมน้ำทำให้มีความชื้นสูง และอาจเน่าเสียได้ง่ายในระหว่างการหมัก นำเนื้อมาหั่นและบดให้ละเอียด ผสมเครื่องปรุง คือ เกลือ โซเดียมไนเตรทหรือโซเดียมไนไตรท์ กระเทียม และข้าวเหนียว นวดจนกระทั่งเนื้อเหนียวเป็นก้อนไม่ติดมือ เติมหนังหมูและนวดต่อให้เข้ากัน ใส่พริกขี้หนูเพื่อให้มีรสเผ็ด จากนั้นห่อด้วยใบตองหรือถุงพลาสติก มัดให้แน่นเพื่อไล่อากาศภายใน การหมักในช่วง 1-2 วันแรกพบ *Pediococcus cerevisiae* และ *L. plantarum* ส่วนในช่วงหลังของการหมักจะพบ *L. bravis* เจริญต่อจากแบคทีเรียกลุ่มแรก แหนมที่หมักได้จะมีพีเอชประมาณ 4.45-4.55 และพบว่ามีวิตามินบี 1 และ บี 2 อยู่สูง แขวนหมักไว้ 2-3 วันก็รับประทานได้ (พรพรรณ, 2544)

**2.1.2 วัตถุเจือปนที่ใช้เติมลงในการผลิตแหนม**

ในการผลิตแหนม ผู้ประกอบการจะมีการเติมสารประกอบประเภทไนเตรท ไนไตรท์ และเกลือของกรดแอสคอเบทในการผลิต ซึ่งนำมาทำเป็นผลิตภัณฑ์แล้ว ความเป็นกรดของแหนมจะทำให้สารประกอบดังกล่าวสลายตัวไป ดังนั้นจึงควรบริโภคแหนมเมื่อเปรี้ยวเท่านั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**2.1.2.1 เกลือไนเตรทและไนไตรท์ (nitrate and nitrite)**

เกลือไนเตรทและไนไตรท์นิยมใช้ในรูปของเกลือโซเดียมหรือโซเดียม การเติมเกลือไนเตรทและไนไตรท์ลงในผลิตภัณฑ์แหนม มีวัตถุประสงค์ดังนี้

ก. ทำให้เกิดสีแดง และรักษาสีแดงในผลิตภัณฑ์

ข. ช่วยเพิ่มรสชาติ และกลิ่นรสให้กับผลิตภัณฑ์ ซึ่งเป็นกลิ่นรสเฉพาะตัวในผลิตภัณฑ์แหนม

ค. ช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และป้องกันการเจริญของแบคทีเรียที่ไม่ต้องการอากาศ โดยเฉพาะพวก *Clostridium botulinum*

ง. ช่วยยับยั้งการหืนของไขมันในผลิตภัณฑ์ โดยไปยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาการเติมออกซิเจนของไขมัน

การใช้สารประเภทนี้จำเป็นต้องใช้ในประมาณจำกัด เพื่อให้เหลือตกค้างในผลิตภัณฑ์น้อยที่สุด และไม่ก่อให้เกิดสารไนโตรซามีนที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพผู้บริโภค เกลือไนเตรทและไนไตรท์ที่ใช้ในทางการค้าจะผสมกันออกมาเพื่อสะดวกในการใช้ มีชื่อทางการค้าว่า ผงเพรค (praque powder)

ปัจจุบันให้ใช้ไนไตรท์ได้เพียงอย่างเดียวในการหมักเนื้อ และให้ใช้ได้ในปริมาณสูงสุดเพียง 156 ppm (ในรูปของเกลือไนไตรท์) แต่ในทางปฏิบัติจะใช้เพียง 120 ppm หรือน้อยกว่านี้ แต่จะใช้ร่วมกับสารรีดิวส์ตัวอื่น เช่น โซเดียมแอสคอร์เบท 500-550 ppm

**2.1.2.2 เกลือของกรดแอสคอร์เบท (ascorbate)**

เกลือของกรดแอสคอร์เบท นิยมใช้ในรูปของเกลือโซเดียม สารตัวนี้มีคุณสมบัติเป็นสารรีดิวส์ (reducing agent) ที่เติมลงในผลิตภัณฑ์แหนมเพื่อวัตถุประสงค์ต่าง ๆ ดังนี้ คือ

ก. ช่วยเร่งการเกิดสีและทำให้สีคงตัวโดยเร่งปฏิกิริยาการเกิดไนตริกออกไซด์ให้เร็วขึ้น จึงช่วยเร่งอัตราการหมักและลดปริมาณการตกค้างของไนไตรท์ให้น้อยลง

ข. ช่วยลดการเกิดสารไนโตรซามีนซึ่งอาจทำให้เกิดโรคมะเร็ง

ค. ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Clostridium botulinum*

ง. มีสมบัติเป็นสารกันหืน ช่วยให้ผลิตภัณฑ์มีกลิ่นรสคงตัว

การใช้สารประเภทนี้ในผลิตภัณฑ์ อนุญาตให้ใช้เติมใส่ในส่วนผสมของเนื้อได้ไม่เกิน 8.75 กรัมต่อกิโลกรัมของเนื้อสัตว์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**2.1.3 คุณลักษณะที่ดีของแหนม**

คุณลักษณะที่ดีของแหนม ต้องมีเนื้อแน่น คงรูป ส่วนประกอบต่าง ๆ ต้องผสมรวมกันอยู่อย่างทั่วถึง มีสีชมพูแดงตามธรรมชาติของแหนมที่พร้อมจะบริโภค อาจสังเกตจากสีของพริกหรือสีของแหนม ถ้าแหนมที่ผลิตเสร็จใหม่จะมีสีแดงเหมือนหมูสด ซึ่งลักษณะดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าแหนมยังไม่เกิดการหมักและยังจะไม่มีรสเปรี้ยว ถ้าสีของหมูเปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อนและพริกมีสีซีดลงนั้น แสดงว่าเกิดการหมักและมีรสเปรี้ยวแล้ว แต่ถ้าแหนมมีการเปลี่ยนแปลงเป็นสีน้ำตาลอ่อนหรือเริ่มเขียว แสดงว่าแหนมเริ่มหมดอายุแล้ว กลิ่นรสที่ดีของแหนมต้องเปรี้ยว ปราศจากกลิ่นแปลกปลอม เช่น กลิ่นเหม็นอับ กลิ่นสาบของเนื้อหมู กลิ่นเพศ (sex oder) และต้องปราศจากสิ่งแปลกปลอมอื่น ๆ เช่น ผม ขน กระดูก ยกเว้นขนที่อยู่ในหนังหมูและกระดูกอ่อนของใบหู แหนมควรมีโปรตีนไม่น้อยกว่าร้อยละ 22 และไขมันไม่เกินร้อยละ 8

**2.2 เชื้อแบคทีเรียแลคติก (Lactic acid bacteria ; LAB)**

เชื้อแบคทีเรียแลคติกจัดอยู่ใน family Lactobacillaceae มีลักษณะที่เป็นท่อนยาว ท่อนสั้น หรือท่อนกลม แกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ ในการเจริญเติบโตส่วนใหญ่ต้องการอากาศเพียงเล็กน้อย (microaerophillic) บางชนิดเป็นพวกที่ไม่ต้องการอากาศเลย (strictly anaerobe) เป็นแบคทีเรียที่ได้พลังงานจากการหมักน้ำตาลโดยไม่ต้องใช้ออกซิเจน ไม่มี cytochrome และ porphyrin ซึ่งเป็นผลเมื่อทดสอบ catalase และ oxidase ให้ผลเป็นลบ แบคทีเรียแลคติกบางพวกใช้ออกซิเจนได้โดยการใช้เอนไซม์ flavoprotein oxidase ซึ่งให้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ หรือออกซิไดซ์ NADH ที่ได้จากกระบวนการ dehydrogenation ของน้ำตาล โดยทั่วไปจะไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ ไม่สามารถสร้างสปอร์ และไม่ส่งผลต่อปฏิกิริยาของเอนไซม์คะตะเลส คุณลักษณะที่สำคัญอย่างหนึ่งของแบคทีเรีย คือ ทนกรด และไม่ต้องการอากาศในการเจริญเติบโต อย่างไรก็ตาม แบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถเจริญเติบโตในสภาวะที่มีออกซิเจนได้ดีเท่า ๆ กับสภาวะไร้อากาศและทนต่อออกซิเจน (Frazier และ Westhoff, 1988)

แบคทีเรียแลคติกมีบทบาทสำคัญในอาหารแปรรูปหลายชนิด เช่น นมเปรี้ยว ผักและผลไม้ดอง ผลิตภัณฑ์เนื้อต่าง ๆ เช่น แหนม ไส้กรอกเปรี้ยว ปลาร้า เป็นต้น ลักษณะที่สำคัญของแบคทีเรียพวกนี้ คือ ความสามารถในการสลายน้ำตาลให้เป็นกรดแลคติก ซึ่งแบคทีเรียพวกนี้ส่วนมากจะเจริญในสภาวะที่ไม่มีอากาศ แต่ในสภาวะที่มีอากาศก็ไม่ตาย และจากสิ่งที่สร้างได้จากการหมักของแบคทีเรียประเภทนี้ ทำให้สามารถแบ่งย่อยแบคทีเรียพวกนี้ได้เป็นสองกลุ่ม คือ กลุ่มที่เน้นสร้างแลคเตท (homofermentative) และกลุ่มที่สร้างแลคเตทร่วมกับสารอื่น (heterofermentative) โดยเชื้อในกลุ่ม homofermentative นั้น หมักย่อยน้ำตาลกลูโคสแล้วจะสร้างกรดแลคติก 95 เปอร์เซ็นต์ อีก 5 เปอร์เซ็นต์เป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ส่วนในกลุ่มของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

heterofermentative จะหมักย่อยน้ำตาลกลูโคสแล้วจะสร้างกรดแลคติก 50 เปอร์เซ็นต์ อีก 25 เปอร์เซ็นต์สร้างกรดอื่น ๆ เช่น กรดอะซิติก (acetic acid) กรดฟอร์มิก (formic acid) เป็นต้น และอีก 25 เปอร์เซ็นต์เป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ เชื้อในกลุ่มที่สร้างกรดแลคติกนี้เมื่อก่อนมีเพียง 4 สกุลเท่านั้น ได้แก่ *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* และ *Lactobacillus* (Frazier และ Westhoff, 1988) แต่ปัจจุบันเมื่อใช้ความรู้ทางด้านชีวโมเลกุล (molecular biology) ได้จัดแบ่งแบคทีเรียแลคติกออกเป็นสกุลต่าง ๆ เพิ่มขึ้นได้แก่ *Aerococcus*, *Alloiococcus*, *Bifidobacterium*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* และ *Weisella* (บุษกร, 2545)

**- Pediococci**

จัดเป็น homofermentative มีรูปร่างค่อนข้างกลม จัดเรียงตัวแบบกลุ่ม กลุ่มละ 4 (tetrads) แบ่งเป็น 2 ระนาบ บางครั้งอาจพบเซลล์เดี่ยว เซลล์เรียงกันเป็นคู่ ๆ หรือเป็นสายสั้น ๆ จัดเป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศปริมาณเล็กน้อยในการเจริญเติบโต (microaerophillic bacteria) สามารถเจริญที่อุณหภูมิประมาณ 7-45 องศาเซลเซียส แต่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25-32 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ยังเจริญได้ในน้ำเกลือซึ่งเข้มข้นไม่เกิน 5.5 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่สามารถเจริญได้ในน้ำเกลือที่มีความเข้มข้น 6-10 เปอร์เซ็นต์

*Pediococcus* มักพบในอาหารประเภทผักผลไม้ หรือในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ เช่น เป็นกล้าเชื้อในการผลิตไส้กรอกเปรี้ยว

**- Streptococci**

จัดเป็น homofermentative รูปร่างกลมจัดเรียงเป็นคู่ หรือเรียงต่อกันเป็นสาย เจริญได้ทั้งสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) *Streptococcus* บางชนิดก่อให้เกิดโทษกับมนุษย์และสัตว์ (pathogenic bacteria) แบคทีเรียในสกุล *Streptococcus* มีบทบาทสำคัญในการผลิตเนยแข็ง เนยบางชนิด และผลิตภัณฑ์อาหารหมักอื่น ๆ ได้แก่ *S. thermophillus*, *S. diacetlactic*, *S. lactis* และ *S. cremoris* เป็นต้น

***- Leuconostoc***

แบคทีเรียกลุ่มนี้มีรูปร่างค่อนข้างกลม จัดเรียงตัวเป็นคู่ หรือต่อกันเป็นสาย มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาคล้ายคลึงกับ *Streptococcus* แต่จัดเป็น heterofermentative สามารถทนต่อความเข้มข้นของเกลือและน้ำตาล เช่น *L. mesenteroides* สามารถเจริญที่ความเข้มข้นของน้ำตาล 55-60 เปอร์เซ็นต์ แบคทีเรียชนิดนี้สามารถผลิตสารที่ให้กลิ่นรส ซึ่งประกอบไปด้วยไดอะซิทิลและอะซิโตอิน ทำให้ปริมาณกรดในผลิตภัณฑ์เพียงพอที่จะยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อื่น ๆ ได้อย่างรวดเร็วกว่าแบคทีเรียแลคติก หรือแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องชนิดอื่น ๆ แบคทีเรียในจีนัสนี้ไม่ก่อให้เกิดโรค (nonphatogenic bacteria) พบตามบริเวณพื้นผิวของพืช

เชื้อ *Leuconostoc* spp. เชื้อ *L. mesenteroides* มีความสำคัญต่อผลิตภัณฑ์กระหล่ำปลีดองและแตงกวาดอง นอกจากนี้ยังร่วมกับแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ ในการสร้างกลิ่นรสที่ดีในผลิตภัณฑ์นมหมักอีกด้วย

**- Lactobacilli**

แบคทีเรียกลุ่มนี้มีรูปร่างค่อนข้างกลม เรียงต่อกันเป็นสายเกือบทุกสายพันธุ์ ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโตปริมาณน้อยมาก (microaerophillic bacteria) หรือบางชนิดไม่ต้องการออกซิเจนเลย (strict anaerobe) เนื่องจากแบคทีเรียในสกุล *Lactobacillus* มีองค์ประกอบของดีเอ็นเอแตกต่างกันมาก แต่ละสายพันธุ์จึงมีคุณสมบัติแตกต่างกันไป บางชนิดจัดเป็น homofermentative และบางชนิดจัดเป็น heterofermentative lactobacillus สามารถทนต่อสภาวะกรดได้ดีกว่าแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ สามารถเจริญที่พีเอชประมาณ 5 ดังนั้นโดยทั่วไปในการหมักแลคติกตามธรรมชาติ Lactobacilli สามารถดำเนินปฏิกิริยาการหมักต่อไป เมื่อค่าพีเอชลดลงเกินกว่าที่แบคทีเรียแลคติกชนิดอื่น ๆ จะเจริญได้ แบคทีเรียในจีนัสนี้ไม่ก่อให้เกิดโรค พบอยู่ตามพื้นผิวของพืช ปุ๋ยจากมูลสัตว์และน้ำนม

Lactobacilli ที่มีความสำคัญมากในอุตสาหกรรมการหมัก ได้แก่ *L. bugaricus, L. acidophilus* และ *L. brevis* เป็นต้น

**- *Cambacterium***

จัดอยู่ในกลุ่ม heterofermentative แยกมาจาก Lactobacilli เช่น *C. divergens, C. mobile*

**- *Vagococcus***

จัดอยู่ในกลุ่ม heterofermentative แยกมาจากกลุ่มของ Streptococci เช่น *V. luvialis* และ *V. salmoninarm*

**- *Lactococcus***

จัดอยู่ในกลุ่ม heterofermentative แยกมาจากกลุ่มของ Streptococci

**- *Enterococcus***

แยกมาจากกลุ่มของ Streptococci

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**2.2.1 หลักการผลิตกรดแลคติกจาก lactic acid bacteria**

Lactic acid bacteria มีความสามารถในการเปลี่ยนแปลงน้ำตาลเป็นกรดแลคติกในสภาพที่มีอากาศเพียงเล็กน้อย ในขณะที่ lactic acid bacteria เปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นกรดแลคติกเพิ่มสูงขึ้น จะทำให้พีเอชของอาหารหมักดองลดลง พร้อมกับรสเปรี้ยวของกรดจะสูงขึ้น ในสภาวะเช่นนี้จะมีผลช่วยยับยั้งแบคทีเรียที่ปนเปื้อนและก่อโรคได้

**2.2.1.1 การหมักแบบโฮโมเฟอร์เมนเททีฟ (homofermentative)**

เป็นการหมักที่ได้แลคเตทอย่างเดียวเป็นผลผลิตสำคัญ ขั้นตอนการสร้างแลคติกเริ่มจากน้ำตาลแลคโตสจะผ่านเข้าสู่เซลล์ของแบคทีเรีย โดยอาศัยเอนไซม์ที่มีอยู่ในบริเวณเยื่อหุ้มไซโทพลาสซึม ที่เรียกว่า phosphoenolpyruvate-dependent phosphotransferase system (PEP-PTS) ทำให้แลคโตสเกิดปฏิกิริยาเติมหมู่ฟอสเฟต (phosphorylation) อยู่ในรูป lactose-6-phosphate จากนั้นถูกเอนไซม์ phosphor-ß-galactosidase ไฮโดรไลซ์ได้เป็น galactose-6-phosphate กับ glucose ซึ่งกลูโคสจะผ่านเข้าสู่กระบวนการต่าง ๆ ของ Emden-Meyerhof-Parnas glycolytic pathway หรือ EMP pathway จนได้เป็นแลคเตทในขั้นตอนสุดท้ายซึ่งเปลี่ยนมาจากไพรูเวทโดยเอนไซม์ lactase dehydrogenase ส่วน galactose-6-phosphate เข้าสู่กระบวนการต่าง ๆ ใน D-tagatose-6-phosphate pathway ได้เป็น tagatose-1,6-diphosphate และเปลี่ยนไปเป็น dihydroxyacetone phosphate และถูกเปลี่ยนไปเป็น glyceraldehyde-3-phosphate โดยเอนไซม์ triosephosphate isomerase ซึ่ง glyceraldehydes-3-phosphate เป็นสารตัวกลางในกระบวนการ EMP pathway และเปลี่ยนไปเป็นแลคเตทในที่สุด (Vuyst และ Vandamme, 1994)

**2.2.1.2 การหมักแบบเฮทเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ (heterofermentative)**

เป็นการหมักที่ได้แลคเตท เอทธานอล หรืออะซิเตท และคาร์บอนไดออกไซด์จากกลูโคส เนื่องจากแบคทีเรียขาดเอนไซม์อัลโดเลส จึงเปลี่ยนรูปจากกลูโคสที่มีคาร์บอน 6 อะตอมไปเป็นเพนโตส (ไรโบส) ซึ่งมีคาร์บอน 5 อะตอม โดยการจัดโครงสร้างภายในโมเลกุลที่มีการออกซิเดชันและดีคาร์บอกซิเลชันร่วมด้วยน้ำตาลที่มี 5 อะตอมนี้จะถูกทำให้แตกออกเป็นกลีเซอรอลดีไฮด์ฟอสเฟต (ซึ่งเป็นสารประกอบฟอสเฟตที่มีคาร์บอน 3 อะตอม) และอะเซทติลฟอสเฟตโดยเอนไซม์ฟอสโฟคีโตเลส (phosphoketolase) กลีเซอรอลดีไฮด์ฟอสเฟตจะเปลี่ยนไปเป็นแลคเตทเช่นเดียวกับการเกิดไกลโคไลซีสในการหมักแบบโฮโมเฟอร์เมนเททีฟ (แต่เนื่องจากการหมักแบบเฮทเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ มีกลีเซอรอลดีไฮด์ฟอสเฟตเพียง 1 โมเลกุล จึงเกิด ATP เพียง 1 โมเลกุล) ส่วนอะเซทติลฟอสเฟตนั้นขึ้นกับมีสารที่ทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอนอยู่หรือไม่ในสภาวะที่ขาดตัวรับอิเล็กตรอน อะเซทติลฟอสเฟตจะทำหน้าที่ดังกล่าว ทำให้ถูกรีดิวส์เป็นเอทธานอล และได้ $2\ NAD^+$ ขึ้นมาใหม่ 2 โมเลกุลจากเอนไซม์ NADH แต่ในสภาวะที่มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ออกซิเจน $NAD^+$ สามารถสร้างขึ้นมาใหม่จากเอนไซม์ NADH oxidase และ peroxidase ปล่อยให้อะเซทติลฟอสเฟตมีมากพอสำหรับการเปลี่ยนไปเป็นอะเซทติล จึงเท่ากับเป็นการเติมฟอสเฟตให้กับสับสเตรตอีกทางหนึ่ง เป็นผลให้ได้ ATP เพิ่มขึ้นมาอีก 1 โมเลกุล เป็น 2 โมเลกุลจากกลูโคส 1 โมเลกุล เช่นเดียวกับการหมักโฮโมเฟอร์เมนเททีฟ ในกรณีที่มีการเพิ่มของ ATP สะท้อนให้เห็นได้จากอัตราการเจริญของแบคทีเรียที่เป็นไปอย่างรวดเร็ว ผลเช่นเดียวกันนี้สามารถเกิดขึ้นได้กับตัวรับออกซิเจนตัวอื่น ๆ ด้วย เช่น ฟรุกโตส ซึ่งจะถูกรีดิวส์ไปเป็นแมนนิตอล (สุมณฑา, 2545)

### 2.2.2 สารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ผลิตโดย lactic acid bacteria

#### 2.2.2.1 Organic acids

สาร organic acids หลายชนิดถูกนำมาใช้เติมในอาหารแต่ไม่ได้มีความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ทั้งหมด ซึ่งสาร organic acids ส่วนใหญ่ที่มีความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบได้แก่ acetic, lactic, propionic, sorbic และ benzoic acid ส่วน citric, caprylic, fumalic และ organic acids อื่น ๆ มีความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ในขอบเขตที่จำกัด แต่ถูกนำมาใช้ในแง่ของรสชาติมากกว่า ความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ของ organic acids ขึ้นอยู่กับพีเอช โดยจะมีความสัมพันธ์กับพีเอช ซึ่งกรดที่มีความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์จะอยู่ในรูป undissociated ดังนั้นการเลือกใช้ organic acids ในการถนอมอาหารต้องพิจารณาถึงค่าพีเอช และ pKa ของกรดชนิดนั้น ๆ ซึ่งโดยปกติ organic acids ส่วนใหญ่ที่นำมาใช้ในอาหารจะมีพีเอชต่ำกว่า 5.5 และมีค่า pKa ส่วนใหญ่อยู่ในช่วง 3.0 ถึง 5.0 สำหรับกลไกการยับยั้งจุลินทรีย์นั้น organic acids ที่อยู่ในรูป undissociated จะสามารถผ่านเข้าสู่ cell membrane และ lipid bilayer ได้ง่ายขึ้น โดยปกติสภาพภายในเซลล์ กรดจะอยู่ในรูป associated เนื่องจากภายในเซลล์มีค่าพีเอชสูงกว่าภายนอกเซลล์ แบคทีเรียจึงพยายามรักษาพีเอชภายในเซลล์ให้มีค่าใกล้เคียงความเป็นกลาง เพื่อป้องกันการเปลี่ยนรูปของโปรตีน เอนไซม์ กรดนิวคลีอิก และ phospholipids โปรตอนจาก organic acids จะทำให้ความเป็นกรดภายใน cytoplasms เพิ่มสูงขึ้น จึงต้องมีการกำจัดกรดที่มากเกินไปออกสู่ภายนอกเซลล์ โปรตอนถูกขับออกภายนอกเซลล์ผ่านทาง membrane โดยอาศัยความต่างศักย์ไฟฟ้า เรียกว่า proton motive force (PMF)

การขับโปรตอนภายในเซลล์ซึ่งเกิดจาก organic acids ออกสู่ภายนอกเซลล์จำเป็นต้องใช้พลังงานในรูป ATP ดังนั้นการไหลเข้าสู่เซลล์อย่างต่อเนื่องของโปรตอน ทำให้พลังงานภายในเซลล์ถูกนำมาใช้ในการกำจัดโปรตอนจนหมด ขณะเดียวกันก็เกิดการรบกวนการผ่านเข้าออกของสารใน membrane ทำให้แบคทีเรียขาดพลังงานและตายในที่สุด (Doyle และคณะ, 1997)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**2.2.2.1.1 Lactic acid**

Lactic acid มีค่า pKa เท่ากับ 3.79 เป็นผลิตภัณฑ์หลักที่ได้จากการหมักอาหารโดย lactic acid bacteria ซึ่ง lactic acid สามารถยับยั้งแบคทีเรียกลุ่มที่สร้างสปอร์ และ *S. aureus* ซึ่งมีความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ของกรดแลคติกขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารและจุลินทรีย์เป้าหมาย ซึ่งมีรายงานเพียงไม่กี่ฉบับที่รายงานเกี่ยวกับกลไกที่จำเพาะต่อการยับยั้งเชื้อก่อโรคในอาหารของ lactic acid ซึ่งกลไกเหมือนกับ organic acid ทั่วไปคือ มีผลต่อการขนส่งของโปรตอนผ่าน cytoplasmic membrane (Doyle และคณะ, 1997)

**2.2.2.1.2 Acetic และ Propionic acid**

Lactic acid bacteria หลายสายพันธุ์สามารถสร้าง acetic และ propionic acid ได้ในปริมาณน้อย acetic และ propionic acid มีค่า pKa สูงกว่า lactic acid จึงมีความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดีกว่า lactic acid กลไกการยับยั้งจุลินทรีย์ของ acetic และ propionic acid จะเหมือนกับ lactic acid คือรบกวนการทำงานของ cell membrane โดยจะไปทำให้ electrochemical potential เป็นกลาง นอกจากนี้ acetic acid ยังเป็นสาเหตุที่ทำให้โปรตีนเสียสภาพ ทำให้พีเอชภายในเซลล์ลดลง และยับยั้งการขนส่งของกรดอะมิโนได้ด้วย (Wood, 1992)

**2.2.2.2 Hydrogen peroxide ($H_2O_2$)**

Hydrogen peroxide ($H_2O_2$) จะถูกสร้างขึ้นโดย lactic acid bacteria กลุ่มที่ไม่สร้างเอนไซม์ catalase แต่มีการสร้าง flavoprotein oxidese สาร hydrogen peroxide ได้รับอนุญาตโดย FDA ให้ใช้เป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์ในน้ำนมดิบที่จะใช้ผลิตเนยแข็ง โดยใช้ความเข้มข้นไม่เกิน 0.05 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเติมลงในไข่ขาว hydrogen peroxide จะมีความสามารถในการทำลายเชื้อซาลโมเนลลาได้ สำหรับการใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพื่อยืดอายุการเก็บน้ำนมดิบนั้นอาศัยระบบแลคโตเปอร์ออกซิเดส (lactoperoxidase system) ซึ่งขบวนการยับยั้งจุลินทรีย์ที่พบตามธรรมชาติในน้ำนมดิบโดยมีกลไกคือ thiocyanate จะถูกออกซิไดซ์ด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ทำให้ได้สารยับยั้งจุลินทรีย์ 2 ชนิด คือ hypothiocyanate radical และ thiocyanous acid ซึ่งประสิทธิภาพของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ จำนวนประชากรของจุลินทรีย์ อุณหภูมิ พีเอช inorganic ions ระยะเวลาในการสัมผัส และปัจจัยร่วมอื่น ๆ ที่มีผลต่อจุลินทรีย์ เช่น ความร้อน รังสี หรือสารกันเสียอื่น ๆ (Wood, 1992)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**2.2.2.3 Bacteriocins**

Bacteriocins คือสารประกอบประเภทโปรตีนที่ผลิตโดยแบคทีเรียชนิดหนึ่งแล้วสามารถยับยั้งแบคทีเรียชนิดอื่นที่มีความไวต่อแบคเทอริโอซิน ทั้งในรูปยับยั้งการเจริญและการทำลาย ปัจจุบันแบคเทอริโอซินกำลังได้รับความสนใจซึ่งมีแบคทีเรียหลายสายพันธุ์ที่สามารถผลิตแบคเทอริโอซินได้ เช่น *L. fementum*, *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *P. acidilactici* และ *P. pentosaceus* แบคเทอริโอซินจากแบคทีเรียต่างชนิดจะมีคุณสมบัติทางเคมีต่างกัน แบคเทอริโอซินมีความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์หลายชนิดรวมถึงเชื้อก่อโรคในอาหาร เช่น *L. monocytogenes* ทำให้แบคเทอริโอซินมีความสามารถในการเป็นสารถนอมอาหารได้

ในปัจจุบันสารกลุ่มนี้เป็นสารที่นักวิทยาศาสตร์ให้ความสนใจอยู่ เนื่องจากเป็นสารที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติโดยจุลินทรีย์ จึงมีความปลอดภัยมากกว่าสารเคมีสังเคราะห์ที่นำมาใช้เป็นยาปฏิชีวนะ ตัวที่เป็นที่รู้จักกันดี เช่น ไนซิน (nisin) (สุมณฑา, 2545) ซึ่งตอนนี้ในประเทศไทยก็มีผู้สนใจศึกษาเกี่ยวกับสารชนิดนี้อยู่หลายท่าน เช่น Swetwiwathana และคณะ (1999) ได้คัดเลือกเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่สร้างสารแบคเทอริโอซินจากแหนม มี 3 สายพันธุ์ที่มาจาก *Pediococcus* spp. คือ TISTR 419, 530, 536 และสายพันธุ์จาก *Lactobacillus* spp. คือ TISTR 543 พบว่าสายพันธุ์ที่มาจาก *Pediococcus* spp. เท่านั้นที่มีผลในการยับยั้ง *L. innocua* ที่ใช้เป็นเชื้อ indicator ในการทดลอง และในปี 2004 Swetwiwathana และคณะ พบว่าแบคทีเรียแลคติกสายพันธุ์ *P. pentosaceus* TISTR 536 สามารถสร้างสารแบคเทอริโอซิน Pediocin PA-1 ซึ่งเป็นสายพันธุ์แรกที่ผลิตสาร Pediocin PA-1 ที่แยกได้จากแหนม

ในปี 1990 Scharner ได้ทดลองใส่เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น Reodema SSHK 76 ลงในไส้กรอกหมัก "Hausschiachtene Knackwurst" ที่มีการปนเปื้อนของ *S. Dublin* ซึ่งให้ผลว่าภายในระยะเวลา 7 วัน จำนวนของเชื้อซาลโมเนลลาจะลดลง 1-3 ส่วนจาก 10 ส่วน ปี 1995 Hugas และคณะ ได้นำเชื้อแบคทีเรียแลคติก *L. sake* CTC 494 ที่แยกได้จากไส้กรอกหมักแบบธรรมชาติมาใส่ในไส้หรอกหมักแบบแห้ง พบว่าสามารถหยุดการเจริญเติบโตของ *Listeria* และลดจำนวนเซลล์ลงได้ 1.25 $\log_{10}$ cfu/กรัม จากการวิเคราะห์เชื้อแลคติกชนิดนี้สามารถสร้างสารแบคเทอริโอซินได้ ที่เรียกว่า "sakacin K." ต่อมา Savic และคณะ (2001) ได้ทำการทดลองโดยเติมและไม่เติมเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์เริ่มต้นลงไป จะทำให้ค่าพีเอชและ $A_w$ ของไส้กรอกแห้งลดลงอย่างรวดเร็วในวันแรกของการหมัก ทำให้ค่าพีเอชและ $A_w$ ในวันสุดท้ายของการหมักต่ำกว่าที่ไม่เติมเชื้อแบคทีเรียแลคติกเริ่มต้น และการใช้เชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์เริ่มต้นจะทำให้ได้ไส้กรอกที่มีสี และความแน่นเนื้อสม่ำเสมอ โดยใช้เวลาสั้นกว่าที่ไม่เติมเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์เริ่มต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**2.2.2.4 Diacetyl**

Diacetyl (2, 3 – butanedione) เป็นสารตัวกลางในการสังเคราะห์ pyruvate diacetyl เป็นสารที่ทำให้เนยมีกลิ่นหอม นอกจากนี้ยังมีความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ด้วยความเข้มข้นที่ 200 μg/ml สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกกลุ่มที่ไม่ใช่แบคทีเรียแลคติก ส่วนแบคทีเรียแลคติกนั้นจะไม่ถูกยับยั้งที่ความเข้มข้นต่ำกว่า 350 μg/ml

## 2.3 เชื้อซาลโมเนลลา (*Salmonella*)

### 2.3.1 ลักษณะทั่วไปของเชื้อซาลโมเนลลา (แดนสวรรค์ และ พวงเพ็ญ, 2545)

เชื้อซาลโมเนลลาจัดอยู่ใน family Enterbacterlaceae มีรูปร่างเป็นท่อน ย้อมสีติดแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ เคลื่อนที่ได้โดยมี peritrichous flagella (ยกเว้น *Salmonella pullrum* และ *Salmonella gallinarum*) สามารถย่อยสลายกลูโคสได้กรดกับก๊าซ แต่ไม่ย่อยสลายแลกโตสหรือซูโครส การแยกชนิดโดยการใช้วิธีการทาง serology เพราะเชื้อมีคุณสมบัติเป็นแอนติเจน เชื้อซาลโมเนลลาจะเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิ 5-47 องศาเซลเซียส $A_w$ ขั้นต่ำประมาณ 0.93-0.95 การทนความร้อนและผลกระทบที่มีปัจจัยต่าง ๆ ของสิ่งแวดล้อมในการเจริญจะแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์และชนิดของอาหาร เชื้อซาลโมเนลลามีค่า D 60 องศาเซลเซียส อยู่ในช่วง 0.06-11.3 นาที โดยทั่วไปเชื้อซาลโมเนลลาจะถูกทำลายที่อุณหภูมิ 66 องศาเซลเซียสนานอย่างน้อย 12 นาที

แบคทีเรียในกลุ่มนี้ประกอบด้วยเชื้อหลายสปีชีส์ สามารถทำให้เกิดโรคได้ทั้งคนและสัตว์ เชื้อซาลโมเนลลาที่ทำให้เกิดโรคได้แก่ *S. typhi, S. paratyphi, S. enteritidis* เป็นต้น ซึ่งทำให้เกิดโรคทางเดินอาหารที่เรียกว่าโรคซาลโมเนลโลซิส (Salmonellosis) เนื่องจากการบริโภคอาหารหรือน้ำที่มีการปนเปื้อนของเชื้อเข้าไป ผ่านทางเดินอาหาร โดยความรุนแรงของอาการจะแตกต่างกันไปตามปริมาณของเชื้อ สายพันธุ์ ความต้านทานของผู้บริโภค ขึ้นอยู่กับความต้านทานของผู้บริโภค ความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อ โรคของเชื้อและจำนวนเชื้อที่ผู้บริโภคได้รับ ระยะฟักตัวของโรคนี้ประมาณ 12-36 ชั่วโมง อาการที่สำคัญคือ คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง และท้องเสีย เช่น *S. pullorum* จะต้องบริโภคเข้าไป 100 ล้านถึงล้านล้านเซลล์ จึงจะทำให้เกิดโรคเมื่อเทียบกับ *S. enteritidis* ที่ถูกบริโภคเข้าไปเพียงล้านเซลล์ก็ทำให้เกิดโรคได้แล้ว แต่ถ้าผู้ป่วยได้รับเชื้อสายพันธุ์ *S. thypi* และ *S. parathypi* ซึ่งเป็นชนิดที่ทำให้เกิดโรคไทฟอยด์และไข้รากสาดน้อย การเจริญของเชื้อซาลโมเนลลาในอาหารมักทำให้เกิดลักษณะของอาหารเปลี่ยนแปลงไม่ว่าจะเป็นกลิ่นหรือรส ดังนั้นถ้ามีเชื้อนี้อยู่ในอาหารมากเท่าใดก็จะทำให้ผู้บริโภคเกิดโรคติดเชื้อได้มากขึ้นและมีระยะฟักตัวเร็วขึ้นโดยที่ผู้บริโภคไม่สามารถทราบได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อซาลโมเนลลามีความทนต่อสภาวะที่แช่แข็งและทนต่อสารเคมี เช่น brilliant green, sodium tetrathionate และ sodium deoxycholate ซึ่งสารเคมีเหล่านี้สามารถยับยั้งการเจริญของ coliform bacilli

การจำแนกสปีชีส์ของเชื้อซาลโมเนลลา ใช้ในการทดสอบปฏิกิริยาชีวเคมีและการทดสอบทาง antigen ของเซลล์สำหรับการแยก strain ต่าง ๆ ในแต่ละสปีชีส์อาจใช้วิธี Phage typhiing โดยใช้ specific bacteriophage ทำปฏิกิริยากับเซลล์ถ้า specific กันจะทำให้เซลล์แตกสลายในที่สุด

**2.3.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการปนเปื้อนของเชื้อซาลโมเนลลาในเนื้อโคสด (สุมาลี และคณะ, 2540)**

**2.3.2.1 ลักษณะของเนื้อ**

เนื้อที่ลักษณะเป็นก้อนจะเกิดการปนเปื้อนได้น้อยกว่าเนื้อบดและเนื้อเป็นแผ่น ทั้งนี้เพราะเนื้อบดและเนื้อเป็นแผ่น เชื้อจุลินทรีย์ที่ผิวจะกระจายไปทั่วก้อนเนื้อ ส่วนเนื้อเป็นก้อนจุลินทรีย์มักติดอยู่เฉพาะภายนอกก้อนเนื้อ เนื้อเยื่อภายในปกติจะไม่มีเชื้อจุลินทรีย์อยู่ ไขมันที่หุ้มเนื้อสัตว์จะช่วยป้องกันไม่ให้เนื้อข้างในมีจุลินทรีย์ปนเปื้อน

**2.3.2.2 ความชื้น**

ความชื้นที่อยู่บนเนื้อสัตว์มีผลต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ เนื้อสัตว์ที่มีผิวภายนอกแห้งอยู่เสมอจะมีการปนเปื้อนได้น้อย เพราะจุลินทรีย์อาจเจริญไม่ได้ แต่ถ้ามีความชื้นมากจะทำให้เกิดการปนเปื้อน

**2.3.2.3 พีเอช**

ลักษณะทางสรีระวิทยาของเนื้อสัตว์ก่อนถูกฆ่ามีผลต่อพีเอชของเนื้อสัตว์ปกติ เนื้อสัตว์ที่มีชีวิตพีเอชประมาณ 7.4 เมื่อสัตว์ตายแล้วเซลล์ของสัตว์ยังคงทำหน้าที่ต่อไปอีก ทำให้ไกลโคเจนในเซลล์ถูกเปลี่ยนไปเป็นกรดแลกติกและคาร์บอนไดออกไซด์เรื่อย ๆ กรดและก๊าซที่เกิดขึ้นจะไม่ถูกกำจัดออกไปจากซาก ดังนั้นจึงคั่งไปกับเนื้อ กรดที่คั่งนี้ทำให้เนื้อมีพีเอชลดลงเหลือประมาณ 5.5-5.7 แต่ถ้าก่อนทำการฆ่าสัตว์ตื่นเต้น เมื่อยล้า เป็นไข้ หรือตกใจ ไกลโคเจนในเนื้อจะถูกใช้ไปทำให้ไกลโคเจนในเนื้อสัตว์ที่ตายแล้วน้อยกว่าปกติ กรดแลกติกก็น้อยทำให้พีเอชของเนื้อสัตว์ไม่ลดลงเท่าที่ควร กล่าวคืออาจมีพีเอชประมาณ 6.6-7.4 การที่เนื้อสัตว์มีพีเอชสูงจุลินทรีย์จะเจริญได้ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**2.3.2.4 อุณหภูมิ**

อุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บเนื้อสัตว์มีผลต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งปกติเนื้อสัตว์ที่จำหน่ายในตลาดสดส่วนใหญ่จะวางจำหน่ายที่อุณหภูมิสภาพปกติคือ 37 องศาเซลเซียสไม่ได้มีการวางจำหน่ายที่อุณหภูมิต่ำ ซึ่งทำให้เชื้อจุลินทรีย์สามารถเจริญได้ดี

## 2.4 ปัญหาของผลิตภัณฑ์แหนม (สุธีรพรรณ, 2547)

### 2.4.1 คุณภาพของผลิตภัณฑ์ไม่สม่ำเสมอ

คุณภาพของผลิตภัณฑ์มีความผันแปรจากชุดหนึ่งไปยังชุดหนึ่ง และระยะเวลาที่ใช้ในการหมักไม่สามารถคาดคะเนได้เพราะการหมักของแหนมขึ้นอยู่กับเชื้อที่มีอยู่ในธรรมชาติ โดยเฉพาะแบคทีเรียแลคติกในวัตถุดิบแต่ละแห่งมีปริมาณเชื้อที่แตกต่างกันทั้งชนิด และปริมาณ นอกจากนี้อาจมีจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการปนเปื้อนมาซึ่งล้วนแต่มีผลต่อคุณภาพของแหนม แบคทีเรียแลคติกบางสายพันธุ์มีคุณสมบัติโดดเด่นในการผลิตกรด บางสายพันธุ์ให้กลิ่นรส ซึ่งความแตกต่างกันของเชื้อจะทำให้แหนมมีความแตกต่างกันด้านคุณภาพ ดังนั้นผู้ประกอบการอุตสาหกรรมการผลิตแหนมจึงมีความเสี่ยงต่อการผลิต และอาจไม่ได้ผลิตภัณฑ์ตามคุณภาพต้องการในแต่ละรุ่นที่ผลิต

### 2.4.2 ความปลอดภัยของผู้บริโภคในการบริโภคผลิตภัณฑ์แหนม

ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นในการหมักแหนมตามธรรมชาติอาจไม่เพียงพอที่จะทำให้การหมักเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ ซึ่งอาจทำให้เชื้อโรคสามารถเจริญเติบโตและสร้างสารพิษได้ก่อนที่แบคทีเรียแลคติกจะเจริญเติบโตขึ้นมาภายหลัง และสร้างแบคเทอริโอซิน อีกทั้งส่วนใหญ่การบริโภคแหนมโดยไม่ผ่านความร้อนในการทำให้สุก ดังนั้นการควบคุมคุณภาพของแหนมให้มีความปลอดภัยสูงจึงเป็นสิ่งจำเป็นต่อผู้บริโภคแหนมในลักษณะดังกล่าว

**2.4.2.1 แหล่งของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมาในผลิตภัณฑ์แหนม**

ก. วัตถุดิบ จุลินทรีย์ที่ติดมากับวัตถุดิบมีทั้งจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์และเป็นโทษ ขึ้นอยู่กับว่าจะได้เชื้อจุลินทรีย์ชนิดใดมา และมีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์มากน้อยเพียงใด เช่น เนื้อหมูมีการปนเปื้อนแบคทีเรียที่สามารถสร้างสารพิษได้ คือ เชื้อซาลโมเนลลา เป็นต้น

ข. ภาชนะเครื่องมือเครื่องใช้ อากาศ และการผลิตแหนมในสภาพที่ไม่ถูกสุขาภิบาลอาหาร

ค. ปริมาณเชื้อเริ่มต้นในการหมักแหนมตามธรรมชาติอาจไม่เพียงพอที่จะทำให้เกิดการหมักได้อย่างสมบูรณ์ ซึ่งทำให้ได้แบคทีเรียชนิดที่สร้างสารพิษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปนเปื้อนมากับวัตถุดิบนั้นสามารถเจริญเติบโตและสร้างสารพิษก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษได้

ง. พนักงานที่ทำการผลิต

จ. พฤติกรรมการบริโภคแหนม ถ้านิยมบริโภคแหนมในรูปแหนมดิบที่ไม่ผ่านการทำให้สุกด้วยความร้อน จะทำให้ไม่สามารถทำลายหรือลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ชนิดที่เป็นพิษที่ปนเปื้อนมาในแหนมได้

**2.4.2.2 จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษในการบริโภคผลิตภัณฑ์แหนม**

อดิศร (2533) ตรวจหาเชื้อซาลโมเนลลา (*Salmonella*) ที่ปนเปื้อนในตัวอย่างแหนมตามธรรมชาติที่ทำการหมักโดยการเติมและไม่เติมกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกผสม (LP) พบว่าแหนมที่ไม่เติมกล้าเชื้อก่อนทำการหมักจะตรวจไม่พบเชื้อซาลโมเนลลา ในวันที่ 6 ของการหมัก ส่วนแหนมที่เติมกล้าเชื้อผสม LP จะตรวจไม่พบเชื้อซาลโมเนลลา ในวันที่ 5 ของการหมัก แสดงว่าแหนมที่หมักโดยการเติมกล้าเชื้อจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งและทำลายเชื้อซาลโมเนลลาได้ดีกว่าแหนมที่ไม่เติมกล้าเชื้อ นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อซาลโมเนลลาที่ตรวจพบในวันที่ 4 และ 5 ของการหมักจะเป็น *S. anatum* ซึ่งทนต่อการทำลายของสารยับยั้งต่าง ๆ ที่ผลิตโดยแบคทีเรียแลคติกได้ดีในขณะเกิดกระบวนการหมัก และจากการทดลองตรวจหาเชื้อซาลโมเนลลาตามธรรมชาติในตัวอย่างแหนม พบว่าตรวจเชื้อซาลโมเนลลาได้ถึง 16 เซโรไทป์ โดยที่ *S. derby* เป็นเซโรไทป์ที่ตรวจพบมากที่สุด รองลงมาคือ *S. anatum* และ *S. krefeld* ตามลำดับ

**2.4.3 อายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์แหนม**

ผลิตภัณฑ์แหนมมีอายุการเก็บรักษาค่อนข้างสั้นประมาณ 1 สัปดาห์ที่อุณหภูมิห้อง เพราะมีความเหมาะสมต่อการเกิดกระบวนการหมัก ถ้าหากเก็บไว้นานกว่านี้โดยไม่นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ จะเกิดรสเปรี้ยวเกินไป สีเปลี่ยนและเกิดกลิ่นไม่ดี ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ปกติผลิตภัณฑ์แหนมมักจะเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ดังนั้นตลาดของผลิตภัณฑ์แหนมต้องการให้มีอายุการเก็บรักษาที่นานขึ้น

**2.4.4 กระบวนการหมักผลิตภัณฑ์แหนมไม่สามารถควบคุมได้**

เนื่องจากผู้ประกอบการยังขาดความรู้ความเข้าใจและเทคโนโลยีที่เกี่ยวข้องกับการหมัก ดังนั้นจึงควรจะมีการศึกษาและปรับปรุงวิธีการควบคุมกระบวนการหมัก เพื่อให้แหนมมีค่าความเป็นกรดด่างที่เหมาะสม สามารถบริโภคได้และมีคุณภาพสม่ำเสมอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 3
# อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

## 3.1 วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิต

3.1.1 เนื้อโคพันธุ์พื้นเมืองและพันธุ์บราห์มัน

3.1.2 ข้าวสุก (ข้าวเสาไห้ ตราเกษตร)

3.1.3 กระเทียม

3.1.4 เกลือ

3.1.5 น้ำตาล

## 3.2 เชื้อจุลินทรีย์

*Pediococcus pentosaceas* TISTR 536 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่คัดแยกได้จากแหนมและได้รับการยืนยันว่าผลิต Pediocin PA-1 (Swetwiwathana, 2004) บ่มเพาะเลี้ยงเชื้อก่อนใช้เป็นกล้าเชื้อบริสุทธิ์ในอาหารเหลว MRS broth (Merck) เป็นเวลา 20-24 ชั่วโมงและใช้ MRS agar ที่มีการเติม $CaCO_3$ 1.0 เปอร์เซ็นต์ เป็นอาหารแข็งสำหรับเก็บเชื้อแบบ deep tube

## 3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อและส่วนประกอบที่ใช้ในการวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์

3.3.1 MRS broth (Merck, USA)

3.3.2 MRS agar (Merck, USA)

3.3.3 Salmosyst broth base, SB (Merck, USA)

3.3.4 Salmosyst selective supplement tablet , SBST (Merck, USA)

3.3.5 Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) agar (Scharlau, Spain)

3.3.6 Triple Sugar Iron (TSI) agar slant (Merck, USA)

3.3.7 Lysine Indole Motility (LIM) medium (Difco, USA)

3.3.8 Trypticase soy agar (TSA) slant, plate (Merck, USA)

3.3.9 Agglutinating antiserum (polyvalent) A-67 (S&A Reagent Lab, Thailand)

3.3.10 KOVAC (Merck, USA)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

96496

3.3.11 Peptone water

**3.4 สารเคมี**

3.4.1 โซเดียมคลอไรด์ (Merck, USA)

3.4.2 โซเดียมไนไตรท์ (Merck, USA)

3.4.3 โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต (Carlo Erba Reagent, Italy)

3.4.5 โซเดียมแอสคอเบท (Fluka, switzerland)

3.4.6 ฟีนอฟทาลีน (Carlo Erba Reagent, Italy)

3.4.7 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Merck, USA)

3.4.8 แอลกอฮอล์ร้อยละ 95 (องค์การสุรากรมสรรพสามิต, ประเทศไทย)

**3.5 อุปกรณ์และเครื่องมือ**

3.5.1 ตู้บ่มเชื้อ Hemmert 30 และ 37 องศาเซลเซียส, Germany

3.5.2 อ่างควบคุมอุณหภูมิ (water bath) Hemmert 42 องศาเซลเซียส, Germany

3.5.3 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ Tomy SS-245, Japan

3.5.4 เครื่องวัดค่าพีเอช inolab pH Level I, Germany

3.5.5 ตู้อบลมร้อน Hot air oven (Heraeus), Germany

3.5.6 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง พิกัดชั่ง 3100 กรัม Dragon 3002

3.5.7 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

3.5.8 เครื่องผสมสารละลายในหลอดทดลอง Vortex genie G-560E, USA

3.5.9 เตาไฟฟ้า Lucky Flame, Thailand

3.5.10 เครื่องปั่นผสมอาหาร Masticator Basic, Spain

3.5.11 ไมโครเวฟ SHARP microwave oven R-351, Thailand

3.5.12 กล้องจุลทรรศน์

3.5.13 เครื่องเตรียมน้ำยาเจือจาง Dispensctte Easy Calibration ขนาด 1-10 ml., Germany

3.5.14 เครื่องบดเนื้อ

3.5.15 เครื่องผนึกปากถุง Hand Processing destop Sealer รุ่น PFS-200, Thailand

3.5.16 เครื่องกรอง suction WJ-20, Japan

3.5.17 เครื่องตรวจนับโคโลนี Funke Gerber รุ่น colony- star, Germany

3.5.18 ตู้ฆ่าเชื้อด้วยรังสีเหนือม่วง Clean Air รุ่น CLF 460EC, Belgium

3.5.19 ตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

3.5.20 ห้องแช่เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.21 เครื่องตีปั่นอาหาร (Stomacher)

3.5.22 เครื่องแก้วพร้อมอุปกรณ์อื่น ๆ ที่จำเป็น

**3.6 สถานที่ทำการทดลอง**

ห้องปฏิบัติการ คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

**3.7 ระยะเวลาที่ทำการทดลอง**

ตุลาคม 2549- กุมภาพันธ์ 2550

**3.8 วิธีการทดลอง**

**3.8.1 เปรียบเทียบการยอมรับชนิดของเนื้อที่นำมาผลิตแหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่เย็นกับการแช่แข็งและหมักแบบเติมและไม่เติมกล้าเชื้อ**

3.8.1.1 เตรียมเชื้อแบคทีเรียแลกติก *P. pentosaceus* TISTR 536 โดยถ่ายเชื้อบริสุทธิ์ลงใน MRS broth นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

3.8.1.2 ผลิตแหนมโดยนำเนื้อโคพันธุ์พื้นเมืองและเนื้อโคพันธุ์บราห์มันมาทำการเก็บรักษาโดยวิธีการแช่เย็นและแช่แข็ง เตรียมส่วนผสมตามปริมาณที่แสดงในตารางที่ 3.1 นวดผสมจนเข้ากัน จากนั้นจึงนำส่วนผสมที่ได้มาแบ่งเป็นส่วนที่เติมและไม่เติมกล้าเชื้อ โดยเติมเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 เป็นปริมาณ 1 ไมโครลิตรต่อเนื้อโค 1 กรัม แล้วนำไปบรรจุโดยมัดเป็นตุ้ม ให้แต่ละตุ้มมีน้ำหนักประมาณ 25 กรัม จากนั้นรีดเอาอากาศออกมัดให้แน่น นำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน แล้วจึงนำมาประเมินทางประสาทสัมผัสโดยวิธี Hedunic scale และ Paired comparison method

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 3.1** ส่วนผสมของแหนมเนื้อโค

| ส่วนผสม | ปริมาณ (กรัม) |
|---|---|
| เนื้อโค | 1,000 |
| ข้าวสุก | 60 |
| กระเทียม | 50 |
| เกลือ | 25 |
| น้ำตาล | 5 |
| โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต | 3 |
| โซเดียมแอสคอเบส | 0.5 |
| โซเดียมไนไตรต์ | 0.100 |

**ที่มา :** Swetwiwathana และคณะ (1999)

**3.8.2 เปรียบเทียบการยอมรับของแหนมทางด้านเคมี จุลชีววิทยา ตลอดจนเนื้อสัมผัสของแหนมที่หมักแบบธรรมชาติ และหมักด้วยกล้าเชื้อ**

**3.8.2.1 การวิเคราะห์ทางด้านเคมี**

3.8.2.1.1 วิเคราะห์หาปริมาณกรดแลคติก (ดัดแปลงจาก AOAC, 1984 โดย นภา, 2529) ชั่งตัวอย่างแหนม 3 กรัม บดให้ละเอียดเติมน้ำกลั่นที่ต้มไล่คาร์บอนไดออกไซด์ ($CO_2$) 50 มิลลิลิตร กรองด้วยกระดาษกรอง นำน้ำใสที่ได้เติมสารละลายฟีนอฟทาลีน 2-3 หยด ไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐาน 0.1 N โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) จนกระทั่งถึงจุด end point เกิดสีชมพูคำนวณหาปริมาณกรดแลคติกตามสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก} = \frac{\text{N x V x 90.01 x 100}}{\text{1,000 x กรัมของตัวอย่าง}}$$

N = ความแข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน 0.1 N NaOH

V = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน 0.1 N NaOH ที่ใช้ในการไตเตรท

3.8.2.1.2 การวัดค่าพีเอช (ดัดแปลงจาก AOAC, 1984 โดย นภา, 2529) นำตัวอย่างแหนม 20 กรัม มาบดให้ละเอียด เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันวัดด้วยเครื่อง pH meter

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**3.8.2.2 การวิเคราะห์ทางด้านจุลชีววิทยา**

1) ตรวจหาเชื้อซาลโมเนลลาที่มีอยู่ในตัวอย่างแหนม โดยใช้วิธี Salmosyst (Weber, 1988 ; Ossmer, 1992 ; อดิศร และอรุณ, 2539) โดยนำตัวอย่างแหนม 25 กรัม ใส่ลงใน salmosyst broth base (SB) 225 มิลลิลิตร นำไปบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6-8 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อจาก SB 10 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลองที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เติม salmosyst selective supplement tablet (SBST) 1 เม็ด เขย่าให้เม็ด SBST ละลายใน SB จนหมด บ่มหลอดที่มี SBST ผสมกับ SB ที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง แล้วนำไปเขี่ยเพาะเชื้อลงบนอาหารแข็งโดยใช้ xylose lysine deoxycholate (XLD) และ Modified Semi-Solid Rappaport Vassiliadis (MSRV) บ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง นำโคโลนีที่สงสัยว่าเป็นเชื้อซาลโมเนลลามาทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีและคุณสมบัติทางเซโรโลยี จากนั้นนำตัวอย่างส่งกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข เพื่อตรวจหาเซโรไทป์ของเชื้อซาลโมเนลลา ดังแสดงในภาพที่ 3.1 และคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อซาลโมเนลลา แสดงในตารางที่ 3.2

2) การวิเคราะห์เชื้อ lactic acid Bacteria (LAB) ชั่งตัวอย่างแหนม 25 กรัม นำไปใส่ใน peptone water ปริมาตร 225 มิลลิลิตร ในถุงสเตอร์ไรด์ นำไปตีด้วยเครื่อง Stomacher ซึ่งขั้นตอนดังกล่าวจะได้สารละลายตัวอย่าง 1:10 จากนั้นทำการเจือจางต่อแบบ 10 fold dilution จนได้ความเจือจาง $1:10^2$ จนถึง $1:10^7$ โดยดูดสารละลายจากถุงสเตอร์ไรด์มา 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มี peptone water อยู่ 9 มิลลิลิตร ทำการเจือจางต่อจนได้ความเจือจางในระดับ $1:10^7$ ใช้ปิเปตดูดสารจาก ทุกระดับความเจือจางมา 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงใน plate ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar ที่มีการเติม $CaCO_3$ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ทำการ spread plate นำ plate ที่ทำการ spread plate แล้วไปบ่มใน Candle jar เก็บในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมานับเชื้อโดยตรวจนับโคโลนีที่มีโซนใสรอบโคโลนี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ภาพที่ 3.1** ขั้นตอนการวิเคราะห์หาเชื้อซาลโมเนลลา (*Salmonella*) โดยวิธี Salmosyst

**ที่มา :** Weber, 1988 ; Ossmer, 1992 ; อดิศร และอรุณ, 2539

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 3.2** ผลของปฏิกิริยาทางชีวเคมีในหลอด TSI agar และ LIM medium ของเชื้อซาลโมเนลลา

| TSI | | | | LIM | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Slant | Butt | $H_2S$ | gas | lysine | Indole | motile |
| K | A | +/- | +/- | + | - | +/- |

K = alkaline ปลายหลอด (slant) ของ TSI จะมีสีแดง (ชมพูบานเย็น)

A = acid ก้นหลอด (butt) ของ TSI จะมีสีเหลือง

$H_2S$(+) = ในหลอด TSI จะเกิดตะกอนสีดำของไฮโดรเจนซัลไฟด์ ซึ่งซาลโมเนลลาส่วนใหญ่จะให้ผล +

$H_2S$(-) = ไม่มีตะกอนสีดำในหลอด TSI ทั้งนี้เนื่องจากไม่มีไฮโดรเจนซัลไฟด์

Gas(+) = มีฟองอากาศดันวุ้นของ TSI เนื่องจากซาลโมเนลลาส่วนใหญ่สามารถหมักย่อยน้ำตาลกลูโคสแล้วได้กรด และก๊าซเพียงเล็กน้อย

Gas(-) = ไม่มีฟองอากาศให้เห็นในหลอด TSI ซึ่งมีบางเซโรวาร์ให้ผล –

Lysine(+) = จะมีสีม่วงทั้งหลอดเนื่องจากเชื้อซาลโมเนลลามีเอนไซม์ lysine decarboxylase ไปย่อย lysine ทำให้อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อดังกล่าวมีความเป็นด่างมากขึ้น มีผลทำให้ brom cresol purple ซึ่งใช้เป็น indicator ในอาหารดังกล่าวและมีสีม่วงที่ทีเอนทีเป็นกลางมีสีม่วงเข้มมากยิ่งขึ้น ซึ่งซาลโมเนลลาส่วนมากจะมีเอนไซม์ดังกล่าวนี้

Lysine(-) = หลอดอาหารจะมีสีเหลือง เนื่องจากเชื้อที่ไม่มีเอนไซม์ lysine decarboxylase แต่มีเอนไซม์ lysine deaminase ซึ่งจะไปย่อย lysine ทำให้พีเอชของอาหารต่ำลง มีผลทำให้สีม่วงของ brom cresol purple เปลี่ยนเป็นสีเหลือง

Indole(+) = จะมีสีแดงบนหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อหลังจากหยดน้ำยา KOVAC

Indole(+) = เกิดสีแดงหลังจากหยดน้ำยา KOVAC ซึ่งซาลโมเนลลาจะไม่มีเอนไซม์ trytophanase จึงไม่เกิดปฏิกิริยากับ KOVAC

Motile(+) = หลอดอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ LIM จะขุ่นทั้งหมด ทั้งนี้เนื่องจากซาลโมเนลลาส่วนมากจะมีแฟลกเจลลาใช้ในการเคลื่อนที่ ดังนั้นเมื่อทำการ stab เชื้อลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ LIM แล้วบ่มเพาะเชื้อซาลโมเนลลาจะเจริญเคลื่อนที่ออกจากรอย stab ไปทุกทิศทุกทาง จึงทำให้หลอดขุ่น

Motile(-) = หลอดอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อจะมีเชื้อบริเวณรอย stab เท่านั้น ส่วนบริเวณอาหารรอบรอย stab จะใสทั้งนี้เนื่องจากเชื้อไม่มีแฟลกเจลลาใช้ในการเคลื่อนที่จึงเจริญอยู่เฉพาะบริเวณรอย stab

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**3.8.2.3 การวิเคราะห์การยอมรับของผู้บริโภคทางด้านประสาทสัมผัส**

ใช้ผู้ทดสอบจำนวน 20 คน ดำเนินการทดสอบโดยใช้การทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD)

1. การทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยวิธี Paired comparison method ให้ผู้ชิมเปรียบเทียบว่า ตัวอย่าง 2 ตัวอย่างแตกต่างกันหรือไม่

2. การทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยวิธี Hedonic Scale

ผู้ชิมประเมินผลในด้าน สี กลิ่นรส เนื้อสัมผัส และการยอมรับโดยรวม ซึ่งแบ่งออกเป็น 7 ระดับ 7 = ชอบมากที่สุด และ 1 = ไม่ชอบมากที่สุด (7-point hedonic scale) นำคะแนนที่ได้มาวิเคราะห์โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ (SPSS version 11)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 4

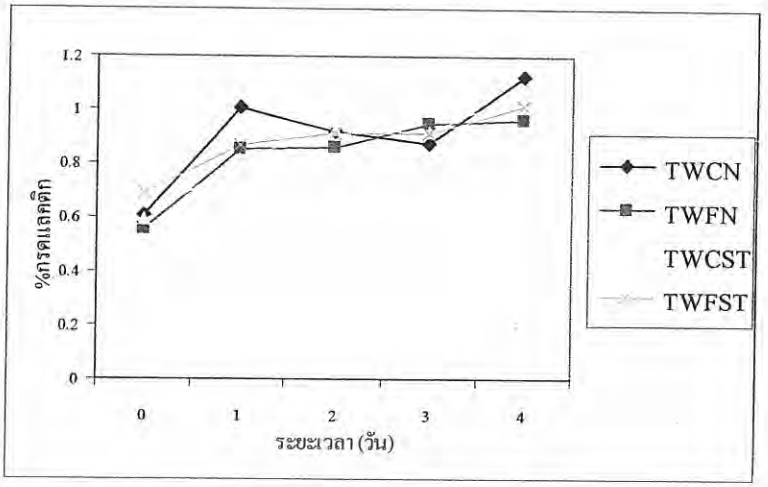
## ผลการทดลองและวิจารณ์

### 4.1 ผลของการเติมเชื้อแลคติกบริสุทธิ์เริ่มต้นในการผลิตแหนม

#### 4.1.1 ค่าพีเอชและเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกของผลิตภัณฑ์แหนม

กระบวนการหมักแหนมตามธรรมชาตินั้นมักเกิดจากจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับวัตถุดิบ ซึ่งมักจะมีทั้งที่สร้างกรดได้และทำให้อาหารเน่าเสีย จุลินทรีย์ที่สร้างกรดได้ดีและพบในระยะแรกของการหมักมักเป็นพวก homofermentative cocci เช่น *P. cerevisiae*, *P. pentosaceus* และ *P. acidilactici* ซึ่งเชื้อประเภทนี้จะใช้น้ำตาลกลูโคสแล้วสร้างเป็นกรดแลคติกออกมาเป็นส่วนใหญ่ ทำให้ค่าพีเอชของแหนมลดลง (บุษกร, 2545) จากการทดลองผลิตแหนม โดยใช้เนื้อโค 2 สายพันธุ์ คือ เนื้อโคสายพันธุ์พื้นเมืองและสายพันธุ์บราห์มัน ซึ่งทำการเก็บรักษาเนื้อโค 2 ลักษณะ คือ การเก็บรักษาโดยการแช่เย็นและการแช่แข็ง นำเนื้อโคมาทำการหมักโดยเติมและไม่เติมกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก *P. pentosaceus* TISTR 536 เป็นปริมาณ $10^6$ เซลล์ต่อกรัม บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน พบว่าค่าพีเอชและเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกของแหนมแต่ละสูตรมีความแตกต่างกัน ดังแสดงในภาพที่ 4.1, 4.2, 4.3 และ 4.4 ตามลำดับ กล่าวคือ ในวันที่ 0 ของการหมักค่าพีเอชและเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกไม่มีความแตกต่างกันมากนัก เนื่องจากกระบวนการหมักยังไม่เกิดขึ้น แต่หลังจากที่ทำการหมักแหนมได้ 1 – 3 วัน พบว่าการหมักแหนมที่มีการเติมกล้าเชื้อจะทำให้เปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเพิ่มสูงขึ้นซึ่งแตกต่างจากการหมักแหนมที่ไม่ได้เติมกล้าเชื้อเพียงเล็กน้อย และมีค่าพีเอชลดลงต่ำกว่าแหนมที่หมักโดยไม่ได้เติมกล้าเชื้อเพียงเล็กน้อยเช่นกัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากว่าแหนมที่หมักโดยเติมกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกลงไป ทำให้จำนวนของแบคทีเรียแลคติกมีการเพิ่มจำนวนมากขึ้น สามารถเปลี่ยนแหล่งพลังงานจากคาร์โบไฮเดรตไปเป็นกรดแลคติกได้ในจำนวนมากกว่า เมื่อการหมักใช้ระยะเวลานานขึ้น กรดแลคติกที่ถูกสร้างขึ้นและทำให้ค่าพีเอชลงลด ทำให้การเจริญเติบโตของแบคทีเรียแลคติกช้าลงด้วย จึงทำให้การหมักในระยะหลังมีการเปลี่ยนแปลงค่าเปอร์เซ็นต์กรด และค่าพีเอชน้อยกว่าในช่วงระยะเวลาในตอนแรก เมื่อพิจารณาผลของการที่เติมและไม่เติมกล้าเชื้อให้ผลเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกและค่าพีเอชในลักษณะเดียวกัน กล่าวคือในการผลิตแหนมที่มีการเติมกล้าเชื้อมีแนวโน้มของเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกที่สูงกว่าและค่าพีเอชที่ต่ำกว่าแหนมที่ผลิตโดยไม่เติมกล้าเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**ภาพที่ 4.1** : ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติกของผลิตภัณฑ์แหนมจากเนื้อโคพันธุ์พื้นเมือง

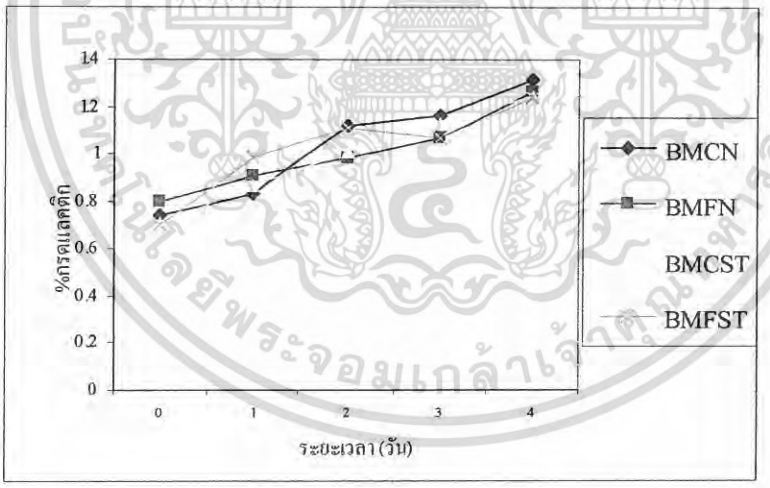
**หมายเหตุ** : TW หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์พื้นเมือง

CN หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่เย็นและหมักแบบธรรมชาติ

FN หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่แข็งและหมักแบบธรรมชาติ

CST หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่เย็นและหมักแบบเติมกล้าเชื้อ

FST หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่แข็งและหมักแบบเติมกล้าเชื้อ




**ภาพที่ 4.2** : ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติกของผลิตภัณฑ์แหนมจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มัน

**หมายเหตุ** : BM หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มัน

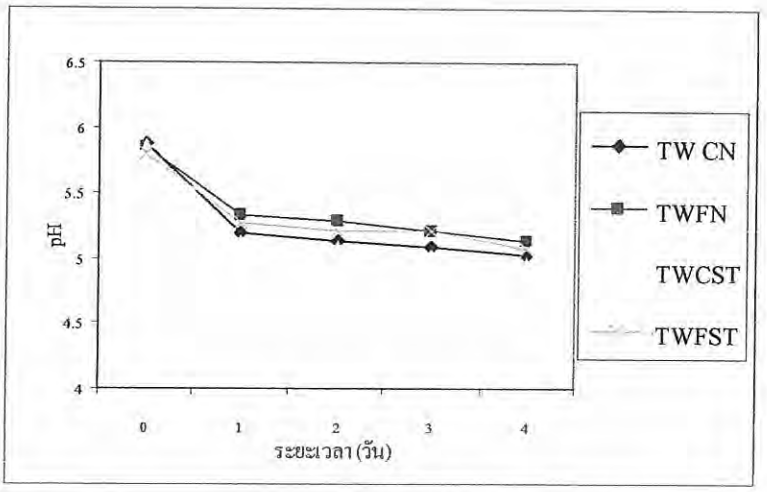
CN หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่เย็นและหมักแบบธรรมชาติ

FN หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่แข็งและหมักแบบธรรมชาติ

CST หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่เย็นและหมักแบบเติมกล้าเชื้อ

FST หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่แข็งและหมักแบบเติมกล้าเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**ภาพที่ 4.3** : ผลการวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด – ด่างของผลิตภัณฑ์แหนมจากเนื้อโคพันธุ์พื้นเมือง

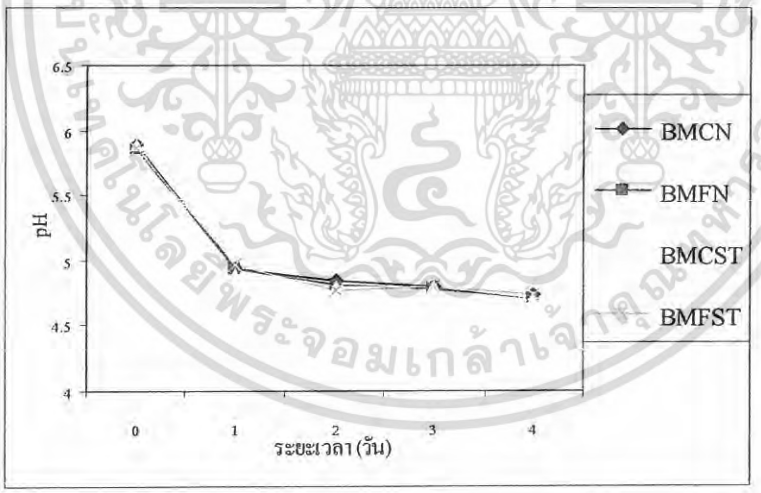
**หมายเหตุ** : TW หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์พื้นเมือง

CN หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่เย็นและหมักแบบธรรมชาติ

FN หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่แข็งและหมักแบบธรรมชาติ

CST หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่เย็นและหมักแบบเติมกล้าเชื้อ

FST หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่แข็งและหมักแบบเติมกล้าเชื้อ




**ภาพที่ 4.4** : ผลการวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด – ด่างของผลิตภัณฑ์แหนมจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มัน

**หมายเหตุ** : BM หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มัน

CN หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่เย็นและหมักแบบธรรมชาติ

FN หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่แข็งและหมักแบบธรรมชาติ

CST หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่เย็นและหมักแบบเติมกล้าเชื้อ

FST หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่แข็งและหมักแบบเติมกล้าเชื้อ

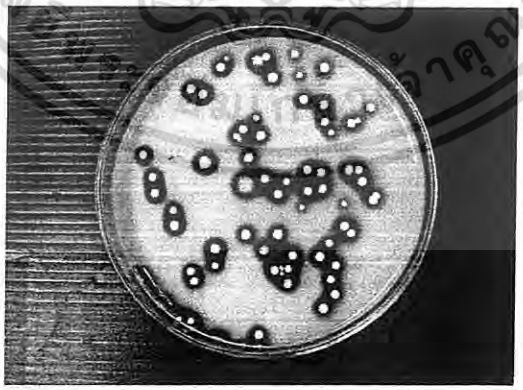
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**4.1.2 การเจริญเติบโตของเชื้อ lactic acid bacteria (LAB) ในผลิตภัณฑ์แหนม**

ผลจากการตรวจเชื้อ lactic acid bacteria โดยการนับจำนวนโคโลนีของเชื้อ lactic acid bacteria ที่มีลักษณะเป็นโคโลนีสีขาวและมี clear zone ใสรอบๆ โคโลนีดังแสดงในภาพที่ 4.5 จากตารางที่ 4.1 และภาพที่ 4.6 พบว่าผลิตภัณฑ์แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์พื้นเมืองส่วนใหญ่มีแนวโน้มการเจริญเติบโตของเชื้อ lactic acid bacteria เพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการหมักเพิ่มขึ้น โดยจำนวนเชื้อ lactic acid bacteria มีการเพิ่มจำนวนมากที่สุดเมื่อทำการหมักแหนมเป็นเวลา 2 วัน จากนั้นเชื้อ lactic acid bacteria มีจำนวนลดลงเล็กน้อยเมื่อทำการหมักแหนมเป็นเวลา 3 วัน เมื่อทำการเปรียบเทียบแหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์พื้นเมืองที่ผ่านการเก็บรักษาโดยการแช่เย็นหรือแช่แข็งทำการหมักแบบธรรมชาติ (ไม่เติมกล้าเชื้อ) และเติมกล้าเชื้อ พบว่าการเติมกล้าเชื้อไม่มีผลต่อการเพิ่มจำนวน lactic acid bacteria

ส่วนผลิตภัณฑ์แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มันทุกสูตร มีแนวโน้มการเจริญเติบโตของเชื้อ lactic acid bacteria เพิ่มสูงขึ้น โดยเพิ่มจำนวนมากที่สุดเมื่อทำการหมักแหนมเป็นเวลา 1 วัน จากนั้นเชื้อ lactic acid bacteria มีจำนวนลดลงเล็กน้อยเมื่อทำการหมักแหนมเป็นเวลา 2 วัน ดังแสดงในตารางที่ 4.2 และภาพที่ 4.7

จากการตรวจเชื้อ lactic acid bacteria ของผลิตภัณฑ์แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคทั้งสองสายพันธุ์ พบว่าการเจริญเติบโตของเชื้อ lactic acid bacteria มีความสัมพันธ์กับปริมาณกรดแลกติคและค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยเมื่อเชื้อ lactic acid bacteria มีอัตราการเจริญเติบโตสูงที่สุดเมื่อทำการหมักแหนมเป็นเวลา 1 วัน ทำให้ปริมาณกรดแลคติกและค่าความเป็นกรด-ด่างของผลิตภัณฑ์แหนมที่มีอัตราการเพิ่มปริมาณกรดแลกติคสูงที่สุดและค่าความเป็นกรดลดลงต่ำสุด เมื่อทำการหมักแหนมเป็นเวลา 1 วันเช่นกัน



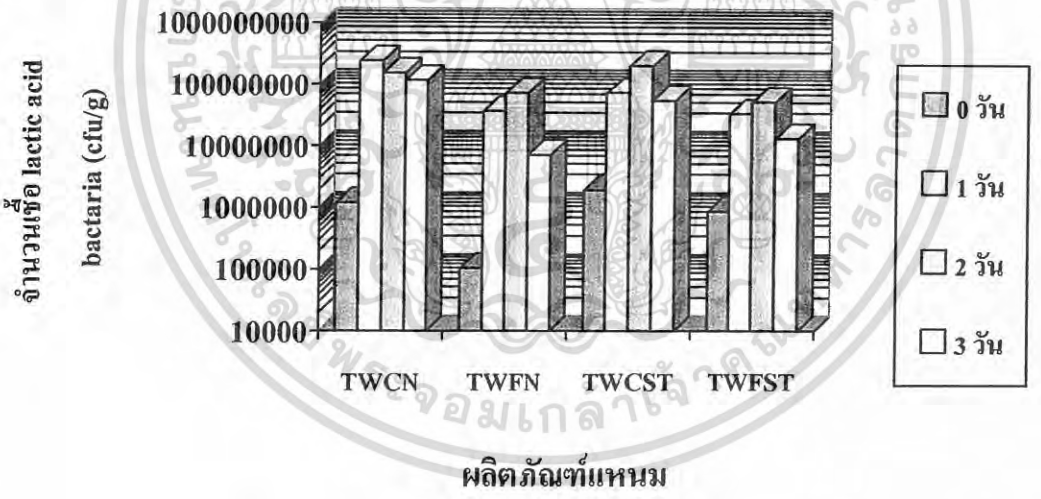
**ภาพที่ 4.5** โคโลนีสีขาวและมีลักษณะใสรอบโคโลนี (clear zone) ของเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่เจริญในอาหาร MRS agar

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.1** ผลการเจริญเติบโตของเชื้อ lactic acid bacteria (LAB) ในผลิตภัณฑ์แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์พื้นเมือง

| ระยะเวลาในการหมักแหนม(วัน) | จำนวนเชื้อ lactic acid bacteria (cfu/g) ในผลิตภัณฑ์แหนม | | | |
|---|---|---|---|---|
| | TWCN | TWFN | TWCST | TWFST |
| 0 | $1.19\times10^{6}$ | $1.03\times10^{5}$ | $1.92\times10^{6}$ | $8.6\times10^{5}$ |
| 1 | $2.48\times10^{8}$ | $3.7\times10^{7}$ | $7.4\times10^{7}$ | $3.4\times10^{7}$ |
| 2 | $1.56\times10^{8}$ | $7.3\times10^{7}$ | $2.08\times10^{8}$ | $5.3\times10^{7}$ |
| 3 | $1.18\times10^{8}$ | $7.2\times10^{6}$ | $5.6\times10^{7}$ | $1.35\times10^{7}$ |

**หมายเหตุ** : TW หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์พื้นเมือง
CN หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่เย็นและหมักแบบธรรมชาติ
FN หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่แข็งและหมักแบบธรรมชาติ
CST หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่เย็นและหมักแบบเติมกล้าเชื้อ
FST หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่แข็งและหมักแบบเติมกล้าเชื้อ




**ภาพที่ 4.6** : ผลการวิเคราะห์จำนวนเชื้อ lactic acid bacteria ของผลิตภัณฑ์แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์พื้นเมือง เมื่อทำการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน

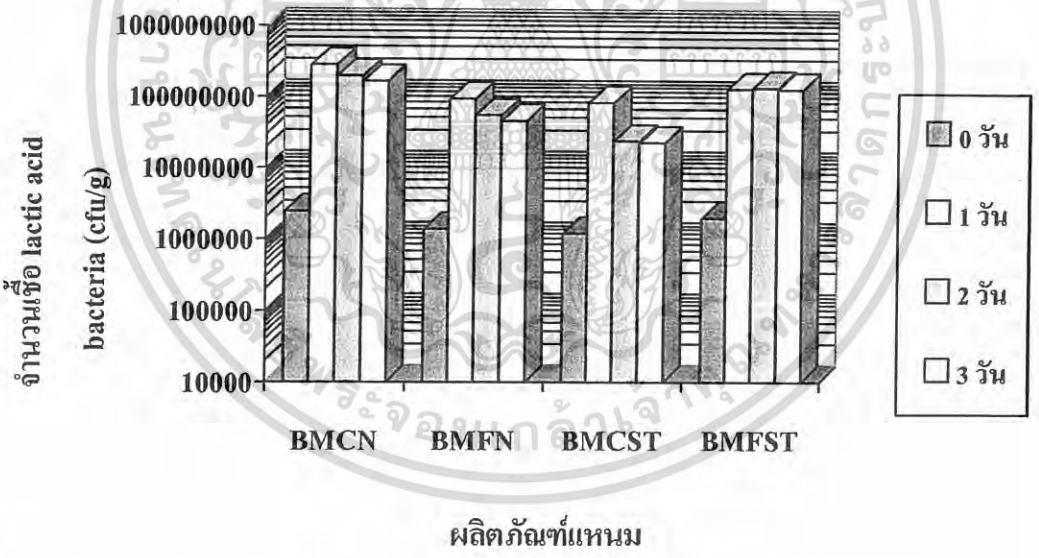
**หมายเหตุ** : TW หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์พื้นเมือง
CN หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่เย็นและหมักแบบธรรมชาติ
FN หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่แข็งและหมักแบบธรรมชาติ
CST หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่เย็นและหมักแบบเติมกล้าเชื้อ
FST หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่แข็งและหมักแบบเติมกล้าเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.2** ผลการเจริญเติบโตของเชื้อ lactic acid bacteria (LAB) ในผลิตภัณฑ์แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มัน

| ระยะเวลาในการหมักแหนม(วัน) | จำนวนเชื้อ lactic acid bacteria (cfu/g) ในผลิตภัณฑ์แหนม | | | |
|---|---|---|---|---|
| | BMCN | BMFN | BMCST | BMFST |
| 0 | $2.45\times10^{6}$ | $1.37\times10^{6}$ | $1.20\times10^{6}$ | $1.98\times10^{6}$ |
| 1 | $2.81\times10^{8}$ | $9.5\times10^{7}$ | $8.4\times10^{7}$ | $1.33\times10^{8}$ |
| 2 | $1.96\times10^{8}$ | $5.5\times10^{7}$ | $2.41\times10^{7}$ | $1.39\times10^{8}$ |
| 3 | $1.65\times10^{8}$ | $4.6\times10^{7}$ | $2.3\times10^{7}$ | $1.32\times10^{8}$ |

**หมายเหตุ** : BM หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มัน
CN หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่เย็นและหมักแบบธรรมชาติ
FN หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่แข็งและหมักแบบธรรมชาติ
CST หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่เย็นและหมักแบบเติมกล้าเชื้อ
FST หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่แข็งและหมักแบบเติมกล้าเชื้อ




**ภาพที่ 4.7** : ผลการวิเคราะห์จำนวนเชื้อ lactic acid bacteria ของผลิตภัณฑ์แหนมที่ผลิตจากพันธุ์บราห์มันเมื่อทำการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน

**หมายเหตุ** : BM หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มัน
CN หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่เย็นและหมักแบบธรรมชาติ
FN หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่แข็งและหมักแบบธรรมชาติ
CST หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่เย็นและหมักแบบเติมกล้าเชื้อ
FST หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่แข็งและหมักแบบเติมกล้าเชื้อ

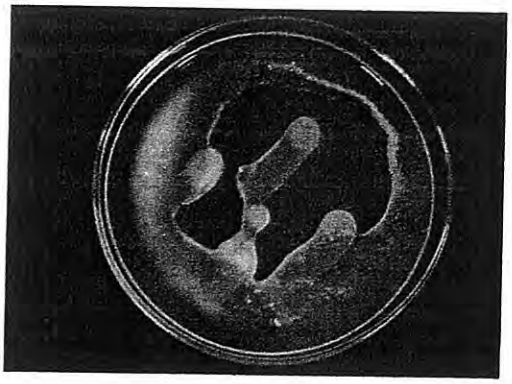
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**4.1.3 การตรวจหาเชื้อซาลโมเนลลา**

ในการทดลองผู้ทดลองได้ทำการตรวจหาเชื้อซาลโมเนลลาโดยใช้วิธี Salmosyst (ภาพที่ 3.1) โดยนำแหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์พื้นเมืองและพันธุ์บราห์มันทุกสูตรที่เลี้ยงใน salmosyst broth base (SB) และถ่ายเชื้อจาก SB 10 มิลลิลิตร นำมาเติม Salmosyst selective supplement table (SBST) แล้วทำการเลี้ยงเชื้อไว้ 18-24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาทำการเลี้ยงบนอาหารแข็ง xylose lysine deoxycholate (XLD) และ Modified Semi-Solid Rappaport Vassiliadis (MSRV) คัดเลือกโคโลนีที่มีลักษณะเป็นสีชมพูใสและมีจุดสีดำอยู่ตรงกลางบนอาหาร XLD ดังแสดงในภาพที่ 4.8 และคัดเลือกเชื้อที่มีการเคลื่อนที่ไกลที่สุดบนอาหาร MSRV ดังแสดงในภาพที่ 4.9 จากนั้นนำเชื้อซาลโมเนลลาที่คัดเลือกได้มาทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี มาทำการเพาะเลี้ยงในหลอด Triple Sugar Iron (TSI) agar slant และ Lysine Indole Motility (LIM) medium แล้วคัดเลือกหลอดที่มีคุณสมบัติของเชื้อซาลโมเนลลาดังแสดงในตารางที่ 3.2 และภาพที่ 4.10 จากนั้นนำตัวอย่างเชื้อมาเลี้ยงในอาหาร TSA ดังแสดงในภาพที่ 4.11 และส่งกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข เพื่อตรวจหาเซโรไทป์ของเชื้อซาลโมเนลลาต่อไป

**ภาพที่ 4.8 :** ลักษณะโคโลนีสีชมพูใสและมีจุดสีดำของเชื้อซาลโมเนลลาเมื่อทำการเลี้ยงบนอาหารแข็ง XLD ที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

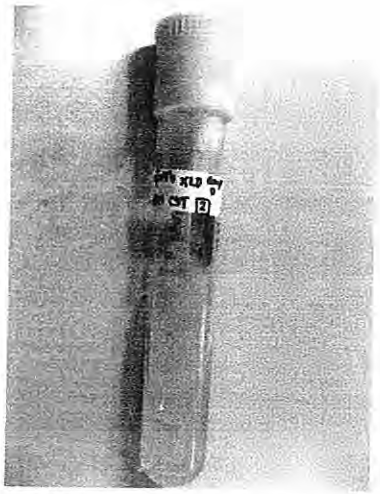
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



**ภาพที่ 4.9 :** ลักษณะการเจริญแนวการเคลื่อนที่ของเชื้อซาลโมเนลลาเมื่อทำการเลี้ยงบนอาหาร MSRV medium ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

**ภาพที่ 4.10 :** ลักษณะการเจริญของเชื้อซาลโมเนลลาเมื่อทำการเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSI และ LIM ที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



**ภาพที่ 4.11 :** ลักษณะการเจริญของเชื้อซาลโมเนลลาเมื่อทำการเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

จากผลการตรวจหาเชื้อซาลโมเนลลาในผลิตภัณฑ์แหนมก่อนการหมัก (0 วัน) และหลังจากการหมักเป็นเวลา 3 วัน บนอาหาร XLD และ MSRV พบว่าในวันที่ 0 มีการตรวจพบเชื้อซาลโมเนลลา ในผลิตภัณฑ์แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์พื้นเมืองที่ผ่านการแช่เย็นโดยหมักแบบธรรมชาติและแบบเติมกล้าเชื้อ แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มันที่ผ่านการแช่เย็นโดยหมักแบบธรรมชาติและหมักแบบเติมกล้าเชื้อ และเมื่อทำการหมักแหนมเป็นเวลา 3 วันตรวจพบเชื้อซาลโมเนลลา ในผลิตภัณฑ์แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มันที่ผ่านการแช่เย็นและแช่แข็งโดยหมักแบบธรรมชาติ ในขณะที่แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์พื้นเมืองทุกสูตรและพันธุ์บราห์มันที่หมักแบบเติมกล้าเชื้อตรวจไม่พบเชื้อซาลโมเนลลาดังแสดงในตารางที่ 4.3 ซึ่งพบเชื้อซาลโมเนลลาในแหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มันที่ผ่านการแช่เย็นโดยหมักแบบธรรมชาติมากที่สุด

ผลการทดลองที่ได้จะเห็นได้ว่าในการหมักแหนมเป็นเวลา 3 วันตรวจพบเชื้อซาโมเนลลาในผลิตภัณฑ์แหนมสูตรต่างๆ น้อยกว่าการตรวจพบเชื้อซาลโมเนลลาในผลิตภัณฑ์แหนมก่อนการหมัก ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก lactic acid bacteria ทำการเปลี่ยนแปลงน้ำตาลไปเป็นกรดแลคติกในสภาพที่มีอากาศเพียงเล็กน้อย ทำให้ปริมาณกรดแลคติกเพิ่มสูงขึ้นและค่าความเป็นกรด-ด่างของแหนมลดลง ซึ่งในสภาวะนี้มีผลทำให้ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ปนเปื้อนและทำให้เกิดโรคได้ นอกจากนี้พบว่ามีการตรวจพบเชื้อซาลโมเนลลาในผลิตภัณฑ์แหนมที่หมักแบบธรรมชาติมากกว่าผลิตภัณฑ์แหนมที่หมักแบบเติมกล้าเชื้อ

การตรวจพบเชื้อซาลโมเนลลาในผลิตภัณฑ์แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคทั้งสองสายพันธุ์ อาจขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ เช่น วิธีการสุขาภิบาลในการฆ่า การเก็บรักษา ขั้นตอนในการผลิตแหนม เป็นต้น ซึ่งถ้ามีวิธีการจัดการไม่ดีพออาจทำให้มีการปนเปื้อนของเชื้อซาลโมเนลลาได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.3** ผลการตรวจหาเชื้อซาลโมเนลลาในผลิตภัณฑ์แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์พื้นเมือง และพันธุ์บราห์มัน

| ระยะเวลาในการหมักแหนม (วัน) | ผลิตภัณฑ์แหนม | การตรวจพบเชื้อซาลโมเนลลาบนอาหาร XLD | | | การตรวจพบเชื้อซาลโมเนลลาบนอาหาร MSRV | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | I | II | III | I | II | III |
| 0 | TWCN | / | - | - | / | / | - |
| | TWFN | - | - | - | - | - | - |
| | TWCST | - | - | - | / | / | / |
| | TWFST | - | - | - | - | - | - |
| | BMCN | / | / | / | - | - | - |
| | BMFN | - | - | - | - | - | - |
| | BMCST | / | / | - | / | / | / |
| | BMFST | - | - | - | - | - | - |
| 3 | TWCN | - | - | - | - | - | - |
| | TWFN | - | - | - | - | - | - |
| | TWCST | - | - | - | - | - | - |
| | TWFST | - | - | - | - | - | - |
| | BMCN | - | - | - | / | / | / |
| | BMFN | / | / | / | / | / | / |
| | BMCST | - | - | - | - | - | - |
| | BMFST | - | - | - | - | - | - |

**หมายเหตุ** : TW หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์พื้นเมือง
CN หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่เย็นและหมักแบบธรรมชาติ
FN หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่แข็งและหมักแบบธรรมชาติ
CST หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่เย็นและหมักแบบเติมกล้าเชื้อ
FST หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่แข็งและหมักแบบเติมกล้าเชื้อ
BM หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มัน
CN หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่เย็นและหมักแบบธรรมชาติ
FN หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่แข็งและหมักแบบธรรมชาติ
CST หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่เย็นและหมักแบบเติมกล้าเชื้อ
FST หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่แข็งและหมักแบบเติมกล้าเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**4.2 คุณสมบัติทางประสาทสัมผัสของแหนมที่มีการเติมและไม่เติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์**

นำแหนมที่ผลิตได้จากเนื้อโคพันธุ์พื้นเมืองและพันธุ์บราห์มันทุกสูตรมาทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยวิธี Hedonic scale ใช้ผู้ทดสอบจำนวน 20 คน ให้คะแนนความชอบ 7 ระดับ ทำการเปรียบเทียบคุณสมบัติทางประสาทสัมผัสในด้านสี กลิ่น รส เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมของแหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์ทั้งสองสายพันธุ์ ดังแสดงในตารางที่ 4.4, 4.5 และภาพที่ 4.12 พบว่าแหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มันมีคะแนนในด้านสี กลิ่น รส เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมมากกว่าแหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์พื้นเมือง และเมื่อนำไปวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าแหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์พื้นเมืองและพันธุ์บราห์มันที่ควบคุมปัจจัยในการเก็บรักษาและกระบวนการหมักมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P< 0.05$)

**ตารางที่ 4.4** ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของแหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์พื้นเมือง

| ชนิด | สี | กลิ่น | รสชาติ | เนื้อสัมผัส | ความชอบโดยรวม |
|---|---|---|---|---|---|
| TW CN | 2.15±2.13 | 2.85±2.43 | 3.45±2.25 | 3.95±1.75 | 3.05±2.25 |
| TW FN | 5.00±1.20 | 4.05±2.75 | 4.05±2.25 | 4.15±1.43 | 4.40±1.54 |
| TW CST | 3.35±2.23 | 3.20±1.86 | 4.00±1.70 | 4.00±1.30 | 3.85±2.63 |
| TW FST | 5.30±1.11 | 3.65±2.83 | 3.95±1.45 | 4.55±1.85 | 4.40±1.04 |

**หมายเหตุ** : TW หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์พื้นเมือง

CN หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่เย็นและหมักแบบธรรมชาติ

FN หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่แข็งและหมักแบบธรรมชาติ

CST หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่เย็นและหมักแบบเติมกล้าเชื้อ

FST หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่แข็งและหมักแบบเติมกล้าเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.5** ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของแหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มัน

| ชนิด | สี | กลิ่น | รสชาติ | เนื้อสัมผัส | ความชอบโดยรวม |
|---|---|---|---|---|---|
| **BM CN** | 4.35±1.43 | 4.35±1.43 | 4.45±1.35 | 4.35±1.43 | 4.55±1.35 |
| **BM FN** | 4.90±1.89 | 4.45±1.65 | 4.95±2.25 | 4.70±1.41 | 5.20±1.76 |
| **BM CST** | 4.10±1.39 | 3.85±1.33 | 4.25±1.99 | 4.15±1.73 | 4.25±1.29 |
| **BM FST** | 4.95±2.45 | 4.30±3.11 | 4.90±1.39 | 4.35±1.73 | 5.40±1.34 |

**หมายเหตุ** : BM หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มัน

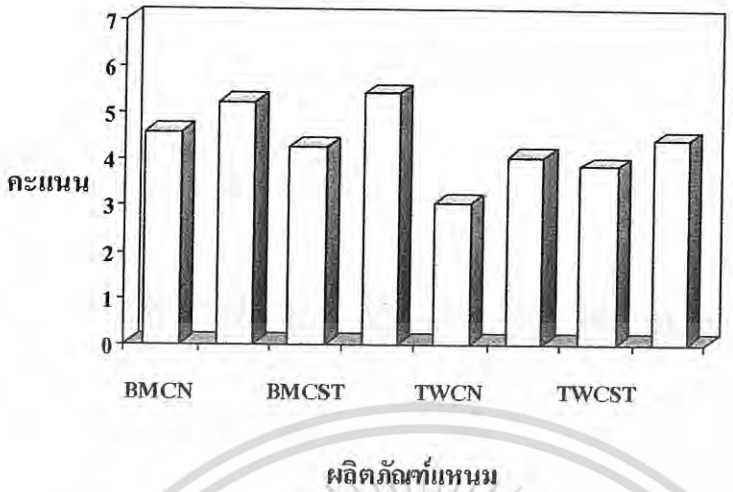
CN หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่เย็นและหมักแบบธรรมชาติ

FN หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่แข็งและหมักแบบธรรมชาติ

CST หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่เย็นและหมักแบบเติมกล้าเชื้อ

FST หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่แข็งและหมักแบบเติมกล้าเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**ภาพที่ 4.12 :** คะแนนความชอบโดยรวมของแหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์พื้นเมืองและพันธุ์บราห์มัน

**หมายเหตุ** : BM หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มัน
CN หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่เย็นและหมักแบบธรรมชาติ
FN หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่แข็งและหมักแบบธรรมชาติ
CST หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่เย็นและหมักแบบเติมกล้า
FST หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่แข็งและหมักแบบเติมกล้าเชื้อ
TW หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์พื้นเมือง
CN หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่เย็นและหมักแบบธรรมชาติ
FN หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่แข็งและหมักแบบธรรมชาติ
CST หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่เย็นและหมักแบบเติมกล้าเชื้อ
FST หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่แข็งและหมักแบบเติมกล้าเชื้อ

จากตารางที่ 4.6 เมื่อเปรียบเทียบคะแนนความชอบโดยรวมของแหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มัน ด้วยวิธี Hedonic scale พบว่า

คะแนนความชอบในด้านสี แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มันที่ผ่านการเก็บรักษาแบบแช่แข็งซึ่งหมักแบบธรรมชาติ มีคะแนนความชอบในด้านสีมากที่สุด (4.85±2.09) ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$) กับแหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มันที่ผ่านการเก็บรักษาแบบแช่เย็นซึ่งหมักแบบธรรมชาติและแหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มันที่ผ่านการเก็บ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รักษาแบบแช่เย็นซึ่งหมักแบบเติมกล้าเชื้อ แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$) กับแหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มันที่ผ่านการเก็บรักษาแบบแช่แข็งซึ่งหมักแบบเติมกล้าเชื้อ

คะแนนความชอบในด้านกลิ่น แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มันที่ผ่านการเก็บรักษาแบบแช่แข็งซึ่งหมักแบบเติมกล้าเชื้อ มีคะแนนความชอบในด้านกลิ่นมากที่สุด (4.70±1.99) ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$) กับแหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มันที่ผ่านการเก็บรักษาแบบแช่เย็นซึ่งหมักแบบเติมกล้าเชื้อและแหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มันที่ผ่านการเก็บรักษาแบบแช่แข็งซึ่งหมักแบบธรรมชาติ แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$) กับแหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มันที่ผ่านการเก็บรักษาแบบแช่เย็นซึ่งหมักแบบธรรมชาติ

คะแนนความชอบในด้านรสชาติ แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มันที่ผ่านการเก็บรักษาแบบแช่แข็งซึ่งหมักแบบธรรมชาติ มีคะแนนความชอบในด้านรสชาติมากที่สุด (4.85±1.01) ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$) กับแหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มันที่ผ่านการเก็บรักษาแบบแช่เย็นซึ่งหมักแบบเติมและไม่เติมกล้าเชื้อ และแหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มันที่ผ่านการเก็บรักษาแบบแช่แข็งซึ่งหมักแบบเติมกล้าเชื้อ

คะแนนความชอบในด้านเนื้อสัมผัส แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มันที่ผ่านการเก็บรักษาแบบแช่แข็งซึ่งหมักแบบธรรมชาติ มีคะแนนความชอบในด้านเนื้อสัมผัสมากที่สุด (5.00±1.56) ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$) กับแหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มันที่ผ่านการเก็บรักษาแบบแช่เย็นซึ่งหมักแบบเติมกล้าเชื้อ และแหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มันที่ผ่านการเก็บรักษาแบบแช่แข็งซึ่งหมักแบบเติมกล้าเชื้อ แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$) กับแหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มันที่ผ่านการเก็บรักษาแบบแช่เย็นซึ่งหมักแบบธรรมชาติ

คะแนนความชอบโดยรวม แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มันที่ผ่านการเก็บรักษาแบบแช่แข็งซึ่งหมักแบบธรรมชาติ มีคะแนนความชอบโดยรวมมากที่สุด (5.05±0.89) ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$) กับแหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มันที่ผ่านการเก็บรักษาแบบแช่เย็นซึ่งหมักแบบเติมกล้าเชื้อ และแหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มันที่ผ่านการเก็บรักษาแบบแช่เย็นซึ่งหมักแบบธรรมชาติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.6** ผลค่าเฉลี่ยคะแนนรวมของแหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มัน

| ชนิด | สี | กลิ่น | รสชาติ | เนื้อสัมผัส | ความชอบโดยรวม |
|---|---|---|---|---|---|
| BMCN | 3.85±2.05$^{aa}$ | 3.85±1.60$^{a}$ | 4.30±2.41$^{a}$ | 4.30±2.29$^{a}$ | 4.05±1.71$^{a}$ |
| BMFN | 4.85±2.09$^{c}$ | 4.55±1.70$^{b}$ | 4.85±1.01$^{a}$ | 5.00±1.56$^{b}$ | 5.05±0.89$^{b}$ |
| BMCST | 4.30±1.36$^{ab}$ | 4.15±1.93$^{ab}$ | 4.40±2.05$^{a}$ | 4.50±2.25$^{ab}$ | 4.63±1.90$^{ab}$ |
| BMFST | 4.40±1.49$^{bc}$ | 4.70±1.99$^{b}$ | 4.75±1.99$^{a}$ | 4.80±2.99$^{ab}$ | 4.88±2.43$^{b}$ |

**หมายเหตุ** : BM หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มัน

CN หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่เย็นและหมักแบบธรรมชาติ

FN หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่แข็งและหมักแบบธรรมชาติ

CST หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่เย็นและหมักแบบเติมกล้าเชื้อ

FST หมายถึง แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคที่ผ่านการแช่แข็งและหมักแบบเติมกล้าเชื้อ

ตัวอักษรอังกฤษในแนวนอน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P< 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# เอกสารอ้างอิง

แดนสวรรค์ พึ่งเจริญ และ พวงเพ็ญ พานิชรักษาวงศ์. 2545. **ผลของค่าพีเอชและปริมาณกรดแลคติกต่อการตรวจพบเชื้อซาลโมเนลลาในแหนมที่จำหน่ายในตลาดหัวตะเข้.** ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

นภา โล่ห์ทอง. 2529. **ปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางอาหาร.** ภาควิชาจุลชีววิทยาและวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

บุษกร อุตรภิชาติ. 2545. **จุลชีววิทยาทางอาหาร.** การผลิตเอกสารและตำรา มหาวิทยาลัยทักษิณ. สงขลา. 425 หน้า.

พรพรรณ เลิศทวีสินธุ์. 2544. **การใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ในอุตสาหกรรมอาหาร.** พิมพ์ครั้งที่ 1. คุรุสภาลาดพร้าว กรุงเทพมหานคร. 50 หน้า.

มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน. 2546. **แหนม มผช.** 145/2546. 7 หน้า.

สุธีรพรรณ กองร้อย. 2547. **การผลิตสารแบคเทอริโอซินจาก *Pediococcus pentosaceus* รหัส TISTR 536 และ *Lactococcus lactis* รหัส N 190 ในระหว่างการหมักแหนม.** ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2545. **จุลชีววิทยา.** โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์. กรุงเทพฯ. 470 หน้า.

อดิศร เสวตวิวัฒน์. 2533. **ผลของการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกต่อซาลโมเนลลาในการหมักแหนม.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อดิศร เสวตวิวัฒน์ และ อรุณ บ่างตระกูลนนท์. 2539. ประสิทธิภาพของ Salmosyst กับอาหารเลี้ยงเชื้อ Rambach agar ต่อการตรวจหาซาลโมเนลลาในแหนม. **การประชุมทางวิชาการครั้งที่ 34 ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.** หน้า 272-279.

อดิศร เสวตวิวัฒน์, บุญเทียม พันธุ์เพ็ง และ สร้อยสุดา พรภักดีวัฒนา. 2548. **ปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางอาหาร.** โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

อรนุช อุตรภิชาติ. 2530. **การคัดเลือกแบคทีเรียแลคติกซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อซัลโมเนลลา และการผลิตกล้าเชื้อผงเพื่อใช้ในการหมักแหนม.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Doyle, M. P., Beuchat, L. R., and Montville, T. J. 1997. **Food microbiology : Fundamentals and frontiers**. Washington D. C. : American society for microbiology.

Frazier, W. C.,and Westhoff, D. C. 1988. **Food Microbiology**. 4th ed. Singapore : McGraw-Hill Co. 539 pp.

Hugas, M., Garriga, M., Aymerich, M. T., and Monfort, J. M. 1995. Inhibition of *Listeria* in dry fermented sausages by the bacteriocinogenic *Lactobacillus sake* CTC 494. **J. Appl. Bacteriology**. 79(3) : 322-330.

Noonpakdee, W., Santivarangkna, C., Jumriangrit, P., Sonomoto, K., and Panyim, S. 2003. Isolation of nisin-producing *Lactobacillus lactic* WNC 20 strain from nham, a traditional thai fermented sausage. **Int. J. Food Microbiology**. 81(2) : 137-145.

Ossmer, R. 1992. **Salmosyst and RAMBACH Agar, A rapid alternative for the detection of Salmonella**. Congress-Poster-Salmonella and Salmonellosis-Ploufragan/Saint-Brieux-France.

Petchsing, U., and Woodburn, M. J. 1990. *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in nham ZThai-style fermented pork sausage). **Int. J. Food Microbiology**. 10(3-4) : 183-192.

Savic, S., Buncic, O., Uzelac, B., and Tripkovic, J. 2001. Microflora of "Sremska salami" produced with and without starter culture. **Tehnologija-Mesa**. 42(1-2) : 71-74.

Scharner, E. 1990. The suppression of Salmonella by starter cultures in dry sausage. **Fleischwirtschaft**. 70(10) : 1183-1186.

Swetwiwathana, A., Lotong, N., Nakayama, J., and Sonomoto, K. 2004. Effect of garlic and nitrite on Pediocin PA-1 production of *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 and on the growth of *Salmonella* Anatum in stimulated nham fermentation. **Proceedings of the 1st KMITL International Conference on Integration of Science & Technology for Sustainable Development**. August 25-26 2004. Bangkok, Thailand.

Swetwiwathana, A., Leutz, U., Lotong, N., and Fischer, A. 1999. Controlling the growth of *Salmonella anatum* in nham. Effect of meat starter culture, nitrate, nitrite and garlic. **Fleischwirtschaft**. 79(9) : 124-128.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Swetwiwathana, A., Zendo, T., Lotong, N., Nakayama, J., and Sonomoto, K. 2003. "Screening of bacteriocin-producing bacteria associated in nham (Traditional Thai fermented meat)." **49th International Congress of Meat Science and Technology. 2nd Brazillian Congress of Meat Science and Technology.**

Vyust, L. DE., and Vandammne, E.J. 1994. **Antimicrobial Potential of Lactic Acid Bacteria.** In : Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria Microbiology, Genetics and Applications. Blackie Academic and Professional. New York. 91-142.

Weber, A. 1988. **Uber die brauchbarkeit von salmosyst zur anreicherung von salmonellen aua kotproben von tieren. Berl.** Munch. Tierarztl. Wschr. 101 : 57-59.

Wood, B. J. B. 1992. **The lactic acid bacteria.** London. Blsvier applied science.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**1. ตัวอย่างแบบรายงานการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส**

## แบบรายงานการทดสอบ

ชื่อ.....วันที่ .....

ผลิตภัณฑ์.....แหนมเนื้อวัว.....

กรุณาทดสอบตัวอย่างจากซ้ายไปขวา และให้คะแนนความชอบตามสเกลที่ให้มาให้ตรงกับรหัสตัวอย่าง **กรุณาบ้วนปากระหว่างชิม**

1 = ไม่ชอบมากที่สุด
2 = ไม่ค่อยชอบ
3 = ไม่ค่อยชอบเล็กน้อย
4 = เฉยๆ
5 = ชอบเล็กน้อย
6 = ชอบมาก
7 = ชอบมากที่สุด

| รหัสตัวอย่าง | สี | กลิ่น | รสชาติ | เนื้อสัมผัส |
|---|---|---|---|---|
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |

ระหว่าง 2 ตัวอย่างที่เสนอให้ท่านมีความรู้สึกชอบแตกต่างต่างกันหรือไม่

รหัสตัวอย่าง.....และ..... ☐ แตกต่างกัน ☐ ไม่แตกต่างกัน

รหัสตัวอย่าง.....และ..... ☐ แตกต่างกัน ☐ ไม่แตกต่างกัน

เรียงลำดับความชอบของตัวอย่างจากมากไปน้อย

1)..... 2)..... 3)..... 4).....

.....ขอขอบคุณสำหรับความร่วมมือ.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# แบบรายงานการทดสอบ

ชื่อ.....วันที่ .....

ผลิตภัณฑ์.....แหนมเนื้อวัว.....

กรุณาทดสอบตัวอย่างจากซ้ายไปขวา และให้คะแนนความชอบตามสเกลที่ให้มาให้ตรงกับรหัสตัวอย่าง

**กรุณาบ้วนปากระหว่างชิม**

1 = ไม่ชอบมากที่สุด
2 = ไม่ค่อยชอบ
3 = ไม่ค่อยชอบเล็กน้อย
4 = เฉยๆ
5 = ชอบเล็กน้อย
6 = ชอบมาก
7 = ชอบมากที่สุด

| รหัสตัวอย่าง | สี | กลิ่น | รสชาติ | เนื้อสัมผัส | ความชอบโดยรวม |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |

เรียงลำดับความชอบของตัวอย่างจากมากไปน้อย

1)..... 2)..... 3).....4).....

**กรุณาวงกลมล้อมรอบตัวอย่างที่ท่านรู้สึกชอบมากกว่า**

..... เทียบกับ .....
..... เทียบกับ .....
..... เทียบกับ .....
..... เทียบกับ .....

.....ขอขอบคุณทุกท่านสำหรับความร่วมมือ.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# แบบรายงานการทดสอบ

ชื่อ.....วันที่ .....

ผลิตภัณฑ์.....แหนมเนื้อวัว.....

กรุณาทดสอบตัวอย่างจากซ้ายไปขวา และให้คะแนนความชอบตามสเกลที่ให้มาให้ตรงกับรหัสตัวอย่าง

**กรุณาบ้วนปากระหว่างชิม**

1 = ไม่ชอบมากที่สุด
2 = ไม่ค่อยชอบ
3 = ไม่ค่อยชอบเล็กน้อย
4 = เฉยๆ
5 = ชอบเล็กน้อย
6 = ชอบมาก
7 = ชอบมากที่สุด

| รหัสตัวอย่าง | สี | กลิ่น | รสชาติ | เนื้อสัมผัส | ความชอบโดยรวม |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |

เรียงลำดับความชอบของตัวอย่างจากมากไปน้อย

1).....2)..... 3).....

4).....5).....6).....

.....ขอขอบคุณทุกท่านสำหรับความร่วมมือ.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**2. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน 0.1 N NaOH**

2.1 อุปกรณ์และสารเคมี

- Volumetric flask 1000 ml
- Erlenmeyer flask 250 ml
- Burette 50 ml
- Watch glass
- Sodium Hydroxide
- Potassium Phthalate
- Phenolpthalein 1% (เตรียมได้จากละลายสาร 1 กรัมใน neutral 95% alcohol จนละลายหมดจึงเติมน้ำจนปริมาตรเป็น 100 ml)

2.2 วิธีการ

- เตรียมสารละลาย NaOH 0.1 N (โดยประมาณ) ชั่ง sodium hydroxide 50 กรัมใน watch glass ละลายสารด้วยน้ำกลั่น 50 ml ในบีกเกอร์ขนาด 50 ml ตั้งทิ้งไว้ให้สารละลายใส พร้อมกับปิดปากบีกเกอร์ด้วยกระจกนาฬิกา (watch glass)
- ดูดสารละลายส่วนที่ใสในบีกเกอร์ประมาณ 5.5 มิลลิลิตรลงในขวด Vol. flask ขนาด 1 ลิตร เติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร ปิดจุกเขย่าให้สารละลายผสมกันด้วยดี
- ชั่ง potassium phthalate ที่อบแห้งที่ 120 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง และทำให้เย็นใน dessicator ด้วยเครื่องชั่งละเอียด 0.6000-0.7000 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นที่ต้มไล่ $CO_2$ 50 มิลลิลิตร
- หยดสารละลาย phenolphthalein 1% ในสารละลาย potassium phthalate จำนวน 2-3 หยด
- นำสารละลาย potassium phthalate ไปไตเตรทกับสารละลายด่างที่บรรจุอยู่ใน burette จนสารละลาย potassium phthalate เปลี่ยนจากไม่มีสีเป็นสีชมพูอ่อน และมีสีชมพูยังอยู่อยู่ไม่จางหายไปภายในเวลา 1 นาที (หากสีชมพูเปลี่ยนเป็นไม่มีสีให้หยดสารละลายด่างลงไปอีกจนได้สีชมพูอ่อน)
- ทำการทดลองซ้ำโดยใช้สารละลายด่างในขวดที่เตรียมไว้อีก 2 ครั้ง บันทึกปริมาตร (มิลลิลิตร) ของสารละลายด่างที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา

$$\text{Normolity NaOH} = \frac{\text{น้ำหนัก (กรัม) } KHC_8H_4O_4}{\text{มิลลิลิตร NaOH} \times 204.229} \times 1000$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**3. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและการตรวจเชื้อที่ใช้ในการทดลอง (อดิศร และคณะ, 2548)**

**3.1 การตรวจเชื้อซาลโมเนลลา**

ขั้นตอนที่ 1 Preliminary Enrichment

Salmosyst Broth Base

| | |
|---|---|
| - peptone from casein | 5.0 กรัม |
| - peptone from meat | 5.0 กรัม |
| - sodium chloride | 5.0 กรัม |
| - calcium carbonate | 10.0 กรัม |
| - น้ำกลั่น | 1000 มิลลิลิตร |

สารละลายประกอบโดยรวม 25 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร นึ่งฆ่าเชื้อ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

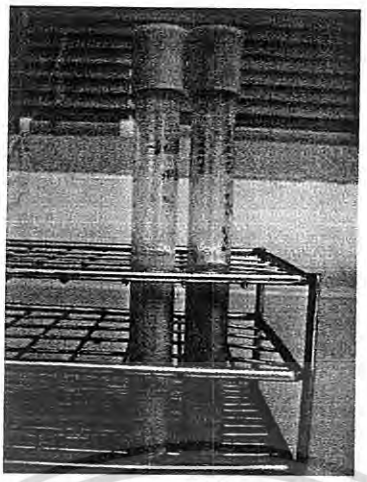
**ภาพที่ 1 :** Salmosyst Broth Base

นำตัวอย่าง 25 กรัม ใส่ในอาหาร Salmosyst Broth Base ที่เตรียมไว้ 225 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 6-8 ชั่วโมง

ขั้นตอนที่ 2 Selective Enrichment

ดูดสารละลาย Preliminary Enrichment มา 10 มิลลิลิตรเติม Salmosyst Selective Supplement Tablet 1 เม็ดเขย่าจนละลายหมด นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 18-24 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



**ภาพที่ 2 :** Salmosyst Broth Base ที่มีการเติม Salmosyst Selective Supplement Tablet

ขั้นตอนที่ 3 Selective Plating

Xylose Lysine Deoxychlolate (XLD) agar

| | |
|---|---|
| - yeast extract | 3.0 กรัม |
| - sodium chloride | 5.0 กรัม |
| - D (+) xylose | 3.5 กรัม |
| - lactose | 7.5 กรัม |
| - sucrose | 7.5 กรัม |
| - lysine | 5.0 กรัม |
| - sodium deoxychlolate | 2.5 กรัม |
| - sodium thiosulfate | 6.8 กรัม |
| - ammonium iron (III) citrate | 0.8 กรัม |
| - phenol red | 0.08 กรัม |
| - agar-agar | 13.5 กรัม |
| - น้ำกลั่น | 1000 มิลลิลิตร |

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นโดยการต้มให้เดือด ปรับ pH 7.4 ± 0.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Modified Semi-Solid Rappapost Vassiliadis (MSRV) medium

| | |
|---|---|
| - tryptose | 4.59 กรัม |
| - casein hydrolysate | 4.59 กรัม |
| - sodium chloride | 7.34 กรัม |
| - potassium dihydrogen phosphate | 1.47 กรัม |
| - magnesium chloride anhydrous | 10.93 กรัม |
| - malachite green | 0.037 กรัม |
| - agar-agar | 2.7 กรัม |
| - น้ำกลั่น | 1000 มิลลิลิตร |

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นโดยการต้มให้เดือด

ขั้นตอนที่ 4 Biochemical screening test

Triple Sugar Iron (TSI) agar slant

| | |
|---|---|
| - peptone from casein | 15.0 กรัม |
| - peptone from meat | 5.0 กรัม |
| - meat extract | 3.0 กรัม |
| - yeast extract | 3.0 กรัม |
| - sodium chloride | 5.0 กรัม |
| - lactose | 10.0 กรัม |
| - sucrose | 10.0 กรัม |
| - D (+) glucose | 1.0 กรัม |
| - ammonium iron (III) citrate | 0.5 กรัม |
| - sodium thiosulfate | 0.5 กรัม |
| - phenol red | 0.024 กรัม |
| - agar-agar | 12.0 กรัม |
| - น้ำกลั่น | 1000 มิลลิลิตร |

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นโดยการต้มให้เดือด นึ่งฆ่าเชื้อ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lysine Indole Motility (LIM) medium

| | |
|---|---|
| - peptone from meat | 5.0 กรัม |
| - yeast extract | 3.0 กรัม |
| - D (+) glucose | 1.0 กรัม |
| - L-lysine monohydrochloride | 10.0 กรัม |
| - sodium thiosulfate | 0.04 กรัม |
| - ammonium iron (III) citrate | 0.5 กรัม |
| - bromocresol purple | 0.02 กรัม |
| - agar-agar | 12.5 กรัม |
| - น้ำกลั่น | 1000 มิลลิลิตร |

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นโดยการต้มให้เดือด นึ่งฆ่าเชื้อ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

ขั้นตอนที่ 5 Serotyping

Trypticase soy agar (TSA)

| | |
|---|---|
| - peptone from casein | 15.0 กรัม |
| - peptone from soymeal | 5.0 กรัม |
| - sodium chloride | 5.0 กรัม |
| - agar-agar | 15.0 กรัม |
| - น้ำกลั่น | 1000 มิลลิลิตร |

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นโดยการต้มให้เดือด นึ่งฆ่าเชื้อ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

**3.2 อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียแลคติก**

MRS Agar

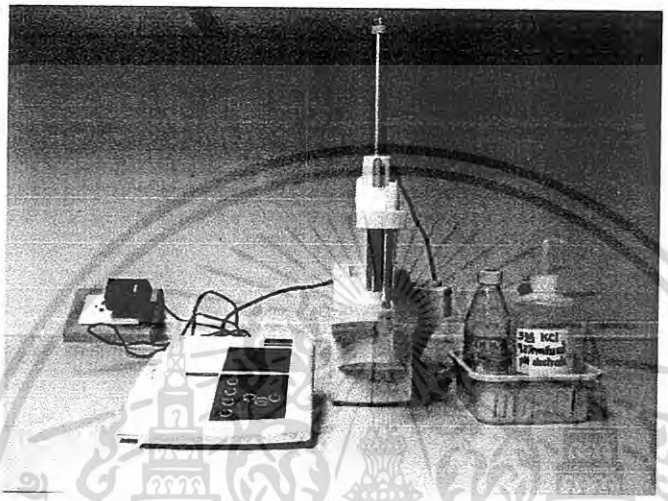
| | |
|---|---|
| - proteose peptone | 10.0 กรัม |
| - beef extract | 10.0 กรัม |
| - yeast extract | 5.0 กรัม |
| - dextrose | 20.0 กรัม |
| - sorbitian monooleate complex | 1.0 กรัม |
| - ammonium citrate | 2.0 กรัม |
| - sodium acetate | 5.0 กรัม |
| - magnesium sulfate | 0.1 กรัม |
| - manganese sulfate | 0.05 กรัม |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- disodium phosphate 2.0 กรัม
- agar 15 กรัม
- น้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร

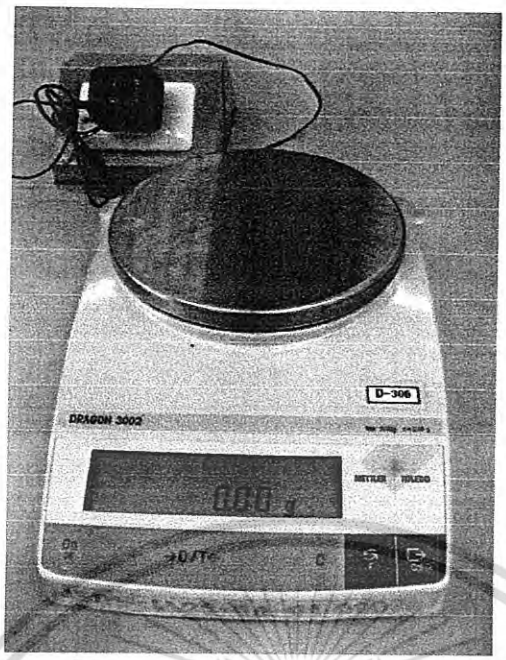
ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นโดยการต้มให้เดือด นึ่งฆ่าเชื้อ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

**4. ภาพเครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง**

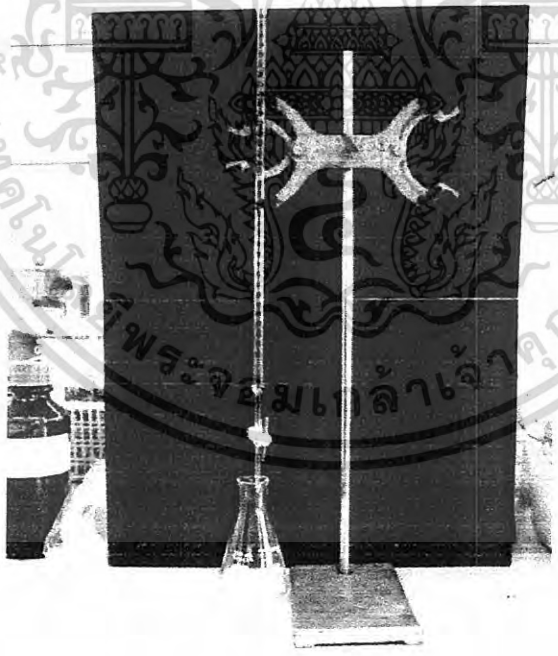


**ภาพที่ 3 :** เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

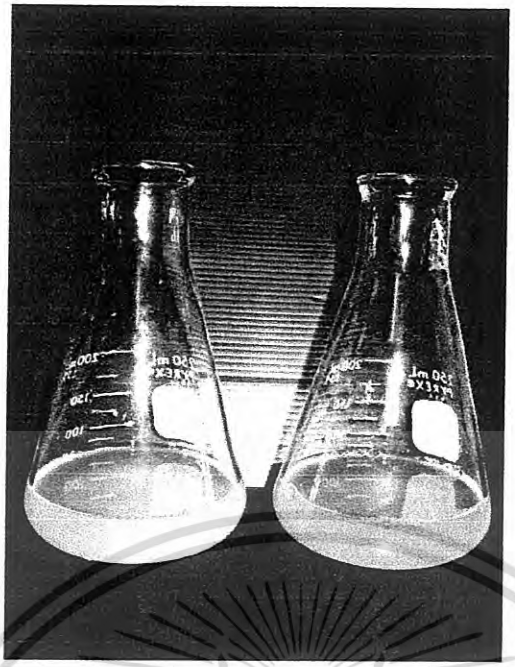



**ภาพที่ 4 :** เครื่องชั่งอิเล็กทรอนิกส์ทศนิยม 2 ตำแหน่ง



**ภาพที่ 5 :** อุปกรณ์การไทเทรตหาเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



**ภาพที่ 6 :** การเปลี่ยนสีของตัวอย่างน้ำสกัดจากแหนมก่อนและหลังการไทเทรต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. ตารางแสดงผลการวิเคราะห์ทางด้านผลทางประสาทสัมผัสด้วยโปรแกรม SPSS

การยอมรับด้านสี

# Univariate Analysis of Variance

**Between-Subjects Factors**

| | | Value Label | N |
|---|---|---|---|
| TREAT | 1 | FST | 20 |
| | 2 | FNA | 20 |
| | 3 | CST | 20 |
| | 4 | CNA | 20 |
| COLOR | 1 | | 4 |
| | 2 | | 4 |
| | 3 | | 4 |
| | 4 | | 4 |
| | 5 | | 4 |
| | 6 | | 4 |
| | 7 | | 4 |
| | 8 | | 4 |
| | 9 | | 4 |
| | 10 | | 4 |
| | 11 | | 4 |
| | 12 | | 4 |
| | 13 | | 4 |
| | 14 | | 4 |
| | 15 | | 4 |
| | 16 | | 4 |
| | 17 | | 4 |
| | 18 | | 4 |
| | 19 | | 4 |
| | 20 | | 4 |

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: SCORE

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Corrected Model | 45.800[a] | 22 | 2.082 | 3.450 | .000 |
| Intercept | 1513.800 | 1 | 1513.800 | 2508.331 | .000 |
| TREAT | 10.100 | 3 | 3.367 | 5.578 | .002 |
| COLOR | 35.700 | 19 | 1.879 | 3.113 | .000 |
| Error | 34.400 | 57 | .604 | | |
| Total | 1594.000 | 80 | | | |
| Corrected Total | 80.200 | 79 | | | |

a. R Squared = .571 (Adjusted R Squared = .406)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# Estimated Marginal Means

### 1. TREAT

Dependent Variable: SCORE

| TREAT | Mean | Std. Error | 95% Confidence Interval | |
|---|---|---|---|---|
| | | | Lower Bound | Upper Bound |
| FST | 4.400 | .174 | 4.052 | 4.748 |
| FNA | 4.850 | .174 | 4.502 | 5.198 |
| CST | 4.300 | .174 | 3.952 | 4.648 |
| CNA | 3.850 | .174 | 3.502 | 4.198 |

### 2. COLOR

Dependent Variable: SCORE

| COLOR | Mean | Std. Error | 95% Confidence Interval | |
|---|---|---|---|---|
| | | | Lower Bound | Upper Bound |
| 1 | 5.000 | .388 | 4.222 | 5.778 |
| 2 | 4.500 | .388 | 3.722 | 5.278 |
| 3 | 3.250 | .388 | 2.472 | 4.028 |
| 4 | 3.750 | .388 | 2.972 | 4.528 |
| 5 | 5.250 | .388 | 4.472 | 6.028 |
| 6 | 4.500 | .388 | 3.722 | 5.278 |
| 7 | 4.500 | .388 | 3.722 | 5.278 |
| 8 | 4.500 | .388 | 3.722 | 5.278 |
| 9 | 4.250 | .388 | 3.472 | 5.028 |
| 10 | 4.000 | .388 | 3.222 | 4.778 |
| 11 | 4.500 | .388 | 3.722 | 5.278 |
| 12 | 5.000 | .388 | 4.222 | 5.778 |
| 13 | 5.000 | .388 | 4.222 | 5.778 |
| 14 | 4.000 | .388 | 3.222 | 4.778 |
| 15 | 6.000 | .388 | 5.222 | 6.778 |
| 16 | 3.750 | .388 | 2.972 | 4.528 |
| 17 | 3.750 | .388 | 2.972 | 4.528 |
| 18 | 3.500 | .388 | 2.722 | 4.278 |
| 19 | 3.500 | .388 | 2.722 | 4.278 |
| 20 | 4.500 | .388 | 3.722 | 5.278 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# TREAT

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: SCORE

| | (I) TREAT | (J) TREAT | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| LSD | FST | FNA | -.450 | .2457 | .072 | -.942 | .042 |
| | | CST | .100 | .2457 | .685 | -.392 | .592 |
| | | CNA | .550* | .2457 | .029 | .058 | 1.042 |
| | FNA | FST | .450 | .2457 | .072 | -.042 | .942 |
| | | CST | .550* | .2457 | .029 | .058 | 1.042 |
| | | CNA | 1.000* | .2457 | .000 | .508 | 1.492 |
| | CST | FST | -.100 | .2457 | .685 | -.592 | .392 |
| | | FNA | -.550* | .2457 | .029 | -1.042 | -.058 |
| | | CNA | .450 | .2457 | .072 | -.042 | .942 |
| | CNA | FST | -.550* | .2457 | .029 | -1.042 | -.058 |
| | | FNA | -1.000* | .2457 | .000 | -1.492 | -.508 |
| | | CST | -.450 | .2457 | .072 | -.942 | .042 |

Based on observed means.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

# Homogeneous Subsets

**SCORE**

| | TREAT | N | Subset 1 | 2 | 3 |
|---|---|---|---|---|---|
| Duncan[a,b] | CNA | 20 | 3.850 | | |
| | CST | 20 | 4.300 | 4.300 | |
| | FST | 20 | | 4.400 | 4.400 |
| | FNA | 20 | | | 4.850 |
| | Sig. | | .072 | .685 | .072 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares
The error term is Mean Square(Error) = .604.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 20.000.

b. Alpha = .05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การยอมรับด้านกลิ่น

# Univariate Analysis of Variance

**Between-Subjects Factors**

| | | Value Label | N |
|---|---|---|---|
| TREAT | 1 | FST | 20 |
| | 2 | FNA | 20 |
| | 3 | CST | 20 |
| | 4 | CNA | 20 |
| ORDER | 1 | | 4 |
| | 2 | | 4 |
| | 3 | | 4 |
| | 4 | | 4 |
| | 5 | | 4 |
| | 6 | | 4 |
| | 7 | | 4 |
| | 8 | | 4 |
| | 9 | | 4 |
| | 10 | | 4 |
| | 11 | | 4 |
| | 12 | | 4 |
| | 13 | | 4 |
| | 14 | | 4 |
| | 15 | | 4 |
| | 16 | | 4 |
| | 17 | | 4 |
| | 18 | | 4 |
| | 19 | | 4 |
| | 20 | | 4 |

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: SCORE

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Corrected Model | 44.875[a] | 22 | 2.040 | 2.223 | .008 |
| Intercept | 1487.812 | 1 | 1487.812 | 1621.129 | .000 |
| TREAT | 8.937 | 3 | 2.979 | 3.246 | .028 |
| ORDER | 35.938 | 19 | 1.891 | 2.061 | .019 |
| Error | 52.312 | 57 | .918 | | |
| Total | 1585.000 | 80 | | | |
| Corrected Total | 97.188 | 79 | | | |

a. R Squared = .462 (Adjusted R Squared = .254)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# Estimated Marginal Means

### 1. TREAT

Dependent Variable: SCORE

| TREAT | Mean | Std. Error | 95% Confidence Interval | |
|---|---|---|---|---|
| | | | Lower Bound | Upper Bound |
| FST | 4.700 | .214 | 4.271 | 5.129 |
| FNA | 4.550 | .214 | 4.121 | 4.979 |
| CST | 4.150 | .214 | 3.721 | 4.579 |
| CNA | 3.850 | .214 | 3.421 | 4.279 |

### 2. ORDER

Dependent Variable: SCORE

| ORDER | Mean | Std. Error | 95% Confidence Interval | |
|---|---|---|---|---|
| | | | Lower Bound | Upper Bound |
| 1 | 4.500 | .479 | 3.541 | 5.459 |
| 2 | 4.000 | .479 | 3.041 | 4.959 |
| 3 | 3.500 | .479 | 2.541 | 4.459 |
| 4 | 3.750 | .479 | 2.791 | 4.709 |
| 5 | 4.500 | .479 | 3.541 | 5.459 |
| 6 | 6.000 | .479 | 5.041 | 6.959 |
| 7 | 3.750 | .479 | 2.791 | 4.709 |
| 8 | 4.750 | .479 | 3.791 | 5.709 |
| 9 | 5.000 | .479 | 4.041 | 5.959 |
| 10 | 3.750 | .479 | 2.791 | 4.709 |
| 11 | 4.000 | .479 | 3.041 | 4.959 |
| 12 | 4.750 | .479 | 3.791 | 5.709 |
| 13 | 4.000 | .479 | 3.041 | 4.959 |
| 14 | 5.250 | .479 | 4.291 | 6.209 |
| 15 | 4.500 | .479 | 3.541 | 5.459 |
| 16 | 5.000 | .479 | 4.041 | 5.959 |
| 17 | 3.250 | .479 | 2.291 | 4.209 |
| 18 | 4.000 | .479 | 3.041 | 4.959 |
| 19 | 3.500 | .479 | 2.541 | 4.459 |
| 20 | 4.500 | .479 | 3.541 | 5.459 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# TREAT

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: SCORE

| | (I) TREAT | (J) TREAT | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| LSD | FST | FNA | .150 | .3029 | .622 | -.457 | .757 |
| | | CST | .550 | .3029 | .075 | -.057 | 1.157 |
| | | CNA | .850* | .3029 | .007 | .243 | 1.457 |
| | FNA | FST | -.150 | .3029 | .622 | -.757 | .457 |
| | | CST | .400 | .3029 | .192 | -.207 | 1.007 |
| | | CNA | .700* | .3029 | .024 | .093 | 1.307 |
| | CST | FST | -.550 | .3029 | .075 | -1.157 | .057 |
| | | FNA | -.400 | .3029 | .192 | -1.007 | .207 |
| | | CNA | .300 | .3029 | .326 | -.307 | .907 |
| | CNA | FST | -.850* | .3029 | .007 | -1.457 | -.243 |
| | | FNA | -.700* | .3029 | .024 | -1.307 | -.093 |
| | | CST | -.300 | .3029 | .326 | -.907 | .307 |

Based on observed means.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

# Homogeneous Subsets

**SCORE**

| | TREAT | N | Subset 1 | Subset 2 |
|---|---|---|---|---|
| Duncan[a,b] | CNA | 20 | 3.850 | |
| | CST | 20 | 4.150 | 4.150 |
| | FNA | 20 | | 4.550 |
| | FST | 20 | | 4.700 |
| | Sig. | | .326 | .091 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares
The error term is Mean Square(Error) = .918.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 20.000.

b. Alpha = .05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การยอมรับด้านรสชาติ

# Univariate Analysis of Variance

**Between-Subjects Factors**

| | | Value Label | N |
|---|---|---|---|
| TREAT | 1 | FST | 20 |
| | 2 | FNA | 20 |
| | 3 | CST | 20 |
| | 4 | CNA | 20 |
| FLAVOUR | 1 | | 4 |
| | 2 | | 4 |
| | 3 | | 4 |
| | 4 | | 4 |
| | 5 | | 4 |
| | 6 | | 4 |
| | 7 | | 4 |
| | 8 | | 4 |
| | 9 | | 4 |
| | 10 | | 4 |
| | 11 | | 4 |
| | 12 | | 4 |
| | 13 | | 4 |
| | 14 | | 4 |
| | 15 | | 4 |
| | 16 | | 4 |
| | 17 | | 4 |
| | 18 | | 4 |
| | 19 | | 4 |
| | 20 | | 4 |

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: SCORE

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Corrected Model | 93.875[a] | 22 | 4.267 | 3.286 | .000 |
| Intercept | 1647.112 | 1 | 1647.112 | 1268.508 | .000 |
| TREAT | 6.237 | 3 | 2.079 | 1.601 | .199 |
| FLAVOUR | 87.637 | 19 | 4.612 | 3.552 | .000 |
| Error | 74.012 | 57 | 1.298 | | |
| Total | 1815.000 | 80 | | | |
| Corrected Total | 167.888 | 79 | | | |

a. R Squared = .559 (Adjusted R Squared = .389)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# Estimated Marginal Means

### 1. TREAT

Dependent Variable: SCORE

| TREAT | Mean | Std. Error | 95% Confidence Interval | |
|---|---|---|---|---|
| | | | Lower Bound | Upper Bound |
| FST | 4.750 | .255 | 4.240 | 5.260 |
| FNA | 4.850 | .255 | 4.340 | 5.360 |
| CST | 4.400 | .255 | 3.890 | 4.910 |
| CNA | 4.150 | .255 | 3.640 | 4.660 |

### 2. FLAVOUR

Dependent Variable: SCORE

| FLAVOUR | Mean | Std. Error | 95% Confidence Interval | |
|---|---|---|---|---|
| | | | Lower Bound | Upper Bound |
| 1 | 5.750 | .570 | 4.609 | 6.891 |
| 2 | 4.500 | .570 | 3.359 | 5.641 |
| 3 | 3.750 | .570 | 2.609 | 4.891 |
| 4 | 4.500 | .570 | 3.359 | 5.641 |
| 5 | 4.500 | .570 | 3.359 | 5.641 |
| 6 | 4.250 | .570 | 3.109 | 5.391 |
| 7 | 2.000 | .570 | .859 | 3.141 |
| 8 | 4.000 | .570 | 2.859 | 5.141 |
| 9 | 4.750 | .570 | 3.609 | 5.891 |
| 10 | 5.500 | .570 | 4.359 | 6.641 |
| 11 | 5.500 | .570 | 4.359 | 6.641 |
| 12 | 6.250 | .570 | 5.109 | 7.391 |
| 13 | 4.750 | .570 | 3.609 | 5.891 |
| 14 | 5.250 | .570 | 4.109 | 6.391 |
| 15 | 5.750 | .570 | 4.609 | 6.891 |
| 16 | 5.000 | .570 | 3.859 | 6.141 |
| 17 | 4.500 | .570 | 3.359 | 5.641 |
| 18 | 4.250 | .570 | 3.109 | 5.391 |
| 19 | 2.250 | .570 | 1.109 | 3.391 |
| 20 | 3.750 | .570 | 2.609 | 4.891 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# TREAT

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: SCORE

| | (I) TREAT | (J) TREAT | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| LSD | FST | FNA | -.100 | .3603 | .782 | -.822 | .622 |
| | | CST | .350 | .3603 | .336 | -.372 | 1.072 |
| | | CNA | .600 | .3603 | .101 | -.122 | 1.322 |
| | FNA | FST | .100 | .3603 | .782 | -.622 | .822 |
| | | CST | .450 | .3603 | .217 | -.272 | 1.172 |
| | | CNA | .700 | .3603 | .057 | -.022 | 1.422 |
| | CST | FST | -.350 | .3603 | .336 | -1.072 | .372 |
| | | FNA | -.450 | .3603 | .217 | -1.172 | .272 |
| | | CNA | .250 | .3603 | .491 | -.472 | .972 |
| | CNA | FST | -.600 | .3603 | .101 | -1.322 | .122 |
| | | FNA | -.700 | .3603 | .057 | -1.422 | .022 |
| | | CST | -.250 | .3603 | .491 | -.972 | .472 |

Based on observed means.

# Homogeneous Subsets

**SCORE**

| | TREAT | N | Subset 1 |
|---|---|---|---|
| Duncan[a,t] | CNA | 20 | 4.150 |
| | CST | 20 | 4.400 |
| | FST | 20 | 4.750 |
| | FNA | 20 | 4.850 |
| | Sig. | | .080 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares
The error term is Mean Square(Error) = 1.298.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 20.000.

b. Alpha = .05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การยอมรับด้านเนื้อสัมผัส

# Univariate Analysis of Variance

**Between-Subjects Factors**

| | | Value Label | N |
|---|---|---|---|
| TREAT | 1 | FST | 20 |
| | 2 | FNA | 20 |
| | 3 | CST | 20 |
| | 4 | CNA | 20 |
| TEXTURE | 1 | | 4 |
| | 2 | | 4 |
| | 3 | | 4 |
| | 4 | | 4 |
| | 5 | | 4 |
| | 6 | | 4 |
| | 7 | | 4 |
| | 8 | | 4 |
| | 9 | | 4 |
| | 10 | | 4 |
| | 11 | | 4 |
| | 12 | | 4 |
| | 13 | | 4 |
| | 14 | | 4 |
| | 15 | | 4 |
| | 16 | | 4 |
| | 17 | | 4 |
| | 18 | | 4 |
| | 19 | | 4 |
| | 20 | | 4 |

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: SCORE

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Corrected Model | 57.500[a] | 22 | 2.614 | 3.059 | .000 |
| Intercept | 1729.800 | 1 | 1729.800 | 2024.612 | .000 |
| TEXTURE | 51.700 | 19 | 2.721 | 3.185 | .000 |
| TREAT | 5.800 | 3 | 1.933 | 2.263 | .091 |
| Error | 48.700 | 57 | .854 | | |
| Total | 1836.000 | 80 | | | |
| Corrected Total | 106.200 | 79 | | | |

a. R Squared = .541 (Adjusted R Squared = .364)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# Estimated Marginal Means

### 1. TEXTURE

Dependent Variable: SCORE

| TEXTURE | Mean | Std. Error | 95% Confidence Interval | |
|---|---|---|---|---|
| | | | Lower Bound | Upper Bound |
| 1 | 5.000 | .462 | 4.075 | 5.925 |
| 2 | 2.500 | .462 | 1.575 | 3.425 |
| 3 | 4.500 | .462 | 3.575 | 5.425 |
| 4 | 4.250 | .462 | 3.325 | 5.175 |
| 5 | 4.750 | .462 | 3.825 | 5.675 |
| 6 | 5.250 | .462 | 4.325 | 6.175 |
| 7 | 5.000 | .462 | 4.075 | 5.925 |
| 8 | 4.500 | .462 | 3.575 | 5.425 |
| 9 | 6.000 | .462 | 5.075 | 6.925 |
| 10 | 4.500 | .462 | 3.575 | 5.425 |
| 11 | 5.500 | .462 | 4.575 | 6.425 |
| 12 | 3.500 | .462 | 2.575 | 4.425 |
| 13 | 4.500 | .462 | 3.575 | 5.425 |
| 14 | 3.500 | .462 | 2.575 | 4.425 |
| 15 | 4.250 | .462 | 3.325 | 5.175 |
| 16 | 4.500 | .462 | 3.575 | 5.425 |
| 17 | 5.000 | .462 | 4.075 | 5.925 |
| 18 | 4.750 | .462 | 3.825 | 5.675 |
| 19 | 5.500 | .462 | 4.575 | 6.425 |
| 20 | 5.750 | .462 | 4.825 | 6.675 |

### 2. TREAT

Dependent Variable: SCORE

| TREAT | Mean | Std. Error | 95% Confidence Interval | |
|---|---|---|---|---|
| | | | Lower Bound | Upper Bound |
| FST | 4.800 | .207 | 4.386 | 5.214 |
| FNA | 5.000 | .207 | 4.586 | 5.414 |
| CST | 4.500 | .207 | 4.086 | 4.914 |
| CNA | 4.300 | .207 | 3.886 | 4.714 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# TREAT

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: SCORE

| | (I) TREAT | (J) TREAT | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| LSD | FST | FNA | -.200 | .2923 | .497 | -.785 | .385 |
| | | CST | .300 | .2923 | .309 | -.285 | .885 |
| | | CNA | .500 | .2923 | .093 | -.085 | 1.085 |
| | FNA | FST | .200 | .2923 | .497 | -.385 | .785 |
| | | CST | .500 | .2923 | .093 | -.085 | 1.085 |
| | | CNA | .700* | .2923 | .020 | .115 | 1.285 |
| | CST | FST | -.300 | .2923 | .309 | -.885 | .285 |
| | | FNA | -.500 | .2923 | .093 | -1.085 | .085 |
| | | CNA | .200 | .2923 | .497 | -.385 | .785 |
| | CNA | FST | -.500 | .2923 | .093 | -1.085 | .085 |
| | | FNA | -.700* | .2923 | .020 | -1.285 | -.115 |
| | | CST | -.200 | .2923 | .497 | -.785 | .385 |

Based on observed means.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

# Homogeneous Subsets

**SCORE**

| | TREAT | N | Subset 1 | Subset 2 |
|---|---|---|---|---|
| Duncan[a,b] | CNA | 20 | 4.300 | |
| | CST | 20 | 4.500 | 4.500 |
| | FST | 20 | 4.800 | 4.800 |
| | FNA | 20 | | 5.000 |
| | Sig. | | .111 | .111 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares
The error term is Mean Square(Error) = .854.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 20.000.

b. Alpha = .05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การยอมรับด้านความชอบโดยรวม

# Univariate Analysis of Variance

**Between-Subjects Factors**

| | | Value Label | N |
|---|---|---|---|
| PEOPLE | 1 | | 4 |
| | 2 | | 4 |
| | 3 | | 4 |
| | 4 | | 4 |
| | 5 | | 4 |
| | 6 | | 4 |
| | 7 | | 4 |
| | 8 | | 4 |
| | 9 | | 4 |
| | 10 | | 4 |
| | 11 | | 4 |
| | 12 | | 4 |
| | 13 | | 4 |
| | 14 | | 4 |
| | 15 | | 4 |
| | 16 | | 4 |
| | 17 | | 4 |
| | 18 | | 4 |
| | 19 | | 4 |
| | 20 | | 4 |
| TREAT | 1 | FST | 20 |
| | 2 | FNA | 20 |
| | 3 | CST | 20 |
| | 4 | CNA | 20 |

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: SCORE

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Corrected Model | 42.625[a] | 22 | 1.938 | 2.162 | .010 |
| Intercept | 1729.800 | 1 | 1729.800 | 1930.467 | .000 |
| PEOPLE | 31.200 | 19 | 1.642 | 1.833 | .041 |
| TREAT | 11.425 | 3 | 3.808 | 4.250 | .009 |
| Error | 51.075 | 57 | .896 | | |
| Total | 1823.500 | 80 | | | |
| Corrected Total | 93.700 | 79 | | | |

a. R Squared = .455 (Adjusted R Squared = .245)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# Estimated Marginal Means

### 1. PEOPLE

Dependent Variable: SCORE

| PEOPLE | Mean | Std. Error | 95% Confidence Interval | |
|---|---|---|---|---|
| | | | Lower Bound | Upper Bound |
| 1 | 5.500 | .473 | 4.552 | 6.448 |
| 2 | 5.250 | .473 | 4.302 | 6.198 |
| 3 | 4.500 | .473 | 3.552 | 5.448 |
| 4 | 4.000 | .473 | 3.052 | 4.948 |
| 5 | 4.000 | .473 | 3.052 | 4.948 |
| 6 | 3.750 | .473 | 2.802 | 4.698 |
| 7 | 4.250 | .473 | 3.302 | 5.198 |
| 8 | 4.500 | .473 | 3.552 | 5.448 |
| 9 | 5.000 | .473 | 4.052 | 5.948 |
| 10 | 5.000 | .473 | 4.052 | 5.948 |
| 11 | 5.500 | .473 | 4.552 | 6.448 |
| 12 | 5.000 | .473 | 4.052 | 5.948 |
| 13 | 5.250 | .473 | 4.302 | 6.198 |
| 14 | 5.000 | .473 | 4.052 | 5.948 |
| 15 | 5.250 | .473 | 4.302 | 6.198 |
| 16 | 4.750 | .473 | 3.802 | 5.698 |
| 17 | 3.750 | .473 | 2.802 | 4.698 |
| 18 | 3.250 | .473 | 2.302 | 4.198 |
| 19 | 5.000 | .473 | 4.052 | 5.948 |
| 20 | 4.500 | .473 | 3.552 | 5.448 |

### 2. TREAT

Dependent Variable: SCORE

| TREAT | Mean | Std. Error | 95% Confidence Interval | |
|---|---|---|---|---|
| | | | Lower Bound | Upper Bound |
| FST | 4.875 | .212 | 4.451 | 5.299 |
| FNA | 5.050 | .212 | 4.626 | 5.474 |
| CST | 4.625 | .212 | 4.201 | 5.049 |
| CNA | 4.050 | .212 | 3.626 | 4.474 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# TREAT

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: SCORE

| | (I) TREAT | (J) TREAT | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| LSD | FST | FNA | -.175 | .2993 | .561 | -.774 | .424 |
| | | CST | .250 | .2993 | .407 | -.349 | .849 |
| | | CNA | .825* | .2993 | .008 | .226 | 1.424 |
| | FNA | FST | .175 | .2993 | .561 | -.424 | .774 |
| | | CST | .425 | .2993 | .161 | -.174 | 1.024 |
| | | CNA | 1.000* | .2993 | .001 | .401 | 1.599 |
| | CST | FST | -.250 | .2993 | .407 | -.849 | .349 |
| | | FNA | -.425 | .2993 | .161 | -1.024 | .174 |
| | | CNA | .575 | .2993 | .060 | -.024 | 1.174 |
| | CNA | FST | -.825* | .2993 | .008 | -1.424 | -.226 |
| | | FNA | -1.000* | .2993 | .001 | -1.599 | -.401 |
| | | CST | -.575 | .2993 | .060 | -1.174 | .024 |

Based on observed means.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

# Homogeneous Subsets

**SCORE**

| | TREAT | N | Subset 1 | Subset 2 |
|---|---|---|---|---|
| Duncan[a,b] | CNA | 20 | 4.050 | |
| | CST | 20 | 4.625 | 4.625 |
| | FST | 20 | | 4.875 |
| | FNA | 20 | | 5.050 |
| | Sig. | | .060 | .186 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares
The error term is Mean Square(Error) = .896.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 20.000.

b. Alpha = .05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การยอมรับด้านการยอมรับโดยรวม

# Univariate Analysis of Variance

**Between-Subjects Factors**

| | | Value Label | N |
|---|---|---|---|
| TREAT | 1 | FST | 4 |
| | 2 | FNA | 4 |
| | 3 | CST | 4 |
| | 4 | CNA | 4 |
| LIKE | 1 | | 4 |
| | 2 | | 4 |
| | 3 | | 4 |
| | 4 | | 4 |

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: SCORE

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Corrected Model | .875[a] | 6 | .146 | .018 | 1.000 |
| Intercept | 390.063 | 1 | 390.063 | 47.400 | .000 |
| TREAT | .187 | 3 | 6.250E-02 | .008 | .999 |
| LIKE | .687 | 3 | .229 | .028 | .993 |
| Error | 74.063 | 9 | 8.229 | | |
| Total | 465.000 | 16 | | | |
| Corrected Total | 74.938 | 15 | | | |

a. R Squared = .012 (Adjusted R Squared = -.647)

# Estimated Marginal Means

**1. TREAT**

Dependent Variable: SCORE

| TREAT | Mean | Std. Error | 95% Confidence Interval | |
|---|---|---|---|---|
| | | | Lower Bound | Upper Bound |
| FST | 4.750 | 1.434 | 1.505 | 7.995 |
| FNA | 5.000 | 1.434 | 1.755 | 8.245 |
| CST | 5.000 | 1.434 | 1.755 | 8.245 |
| CNA | 5.000 | 1.434 | 1.755 | 8.245 |

**2. LIKE**

Dependent Variable: SCORE

| LIKE | Mean | Std. Error | 95% Confidence Interval | |
|---|---|---|---|---|
| | | | Lower Bound | Upper Bound |
| 1 | 5.000 | 1.434 | 1.755 | 8.245 |
| 2 | 4.750 | 1.434 | 1.505 | 7.995 |
| 3 | 5.250 | 1.434 | 2.005 | 8.495 |
| 4 | 4.750 | 1.434 | 1.505 | 7.995 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# Post Hoc Tests
# TREAT

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: SCORE

| | (I) TREAT | (J) TREAT | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| LSD | FST | FNA | -.250 | 2.0284 | .905 | -4.839 | 4.339 |
| | | CST | -.250 | 2.0284 | .905 | -4.839 | 4.339 |
| | | CNA | -.250 | 2.0284 | .905 | -4.839 | 4.339 |
| | FNA | FST | .250 | 2.0284 | .905 | -4.339 | 4.839 |
| | | CST | .000 | 2.0284 | 1.000 | -4.589 | 4.589 |
| | | CNA | .000 | 2.0284 | 1.000 | -4.589 | 4.589 |
| | CST | FST | .250 | 2.0284 | .905 | -4.339 | 4.839 |
| | | FNA | .000 | 2.0284 | 1.000 | -4.589 | 4.589 |
| | | CNA | .000 | 2.0284 | 1.000 | -4.589 | 4.589 |
| | CNA | FST | .250 | 2.0284 | .905 | -4.339 | 4.839 |
| | | FNA | .000 | 2.0284 | 1.000 | -4.589 | 4.589 |
| | | CST | .000 | 2.0284 | 1.000 | -4.589 | 4.589 |

Based on observed means.

# Homogeneous Subsets

**SCORE**

| | TREAT | N | Subset 1 |
|---|---|---|---|
| Duncan[a,b] | FST | 4 | 4.750 |
| | FNA | 4 | 5.000 |
| | CST | 4 | 5.000 |
| | CNA | 4 | 5.000 |
| | Sig. | | .910 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares
The error term is Mean Square(Error) = 8.229.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

b. Alpha = .05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# LIKE

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: SCORE

| | (I) LIKE | (J) LIKE | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| LSD | 1 | 2 | .250 | 2.0284 | .905 | -4.339 | 4.839 |
| | | 3 | -.250 | 2.0284 | .905 | -4.839 | 4.339 |
| | | 4 | .250 | 2.0284 | .905 | -4.339 | 4.839 |
| | 2 | 1 | -.250 | 2.0284 | .905 | -4.839 | 4.339 |
| | | 3 | -.500 | 2.0284 | .811 | -5.089 | 4.089 |
| | | 4 | .000 | 2.0284 | 1.000 | -4.589 | 4.589 |
| | 3 | 1 | .250 | 2.0284 | .905 | -4.339 | 4.839 |
| | | 2 | .500 | 2.0284 | .811 | -4.089 | 5.089 |
| | | 4 | .500 | 2.0284 | .811 | -4.089 | 5.089 |
| | 4 | 1 | -.250 | 2.0284 | .905 | -4.839 | 4.339 |
| | | 2 | .000 | 2.0284 | 1.000 | -4.589 | 4.589 |
| | | 3 | -.500 | 2.0284 | .811 | -5.089 | 4.089 |

Based on observed means.

# Homogeneous Subsets

**SCORE**

| | LIKE | N | Subset 1 |
|---|---|---|---|
| Duncan[a,b] | 2 | 4 | 4.750 |
| | 4 | 4 | 4.750 |
| | 1 | 4 | 5.000 |
| | 3 | 4 | 5.250 |
| | Sig. | | .822 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares
The error term is Mean Square(Error) = 8.229.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

b. Alpha = .05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ประวัติผู้เขียน

นางสาวกนิษฐา วิสุทธิแพทย์

- เกิดวันที่ 25 ตุลาคม พ.ศ.2527
- สำเร็จการศึกษาชั้นประถมศึกษาจากโรงเรียนอนุบาลตราด พ.ศ.2539
- สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนต้นและตอนปลายจากโรงเรียนสตรีประเสริฐศิลป์ พ.ศ.2545
- จบการศึกษาวิทยาศาสตร์บัณฑิต (วท.บ ) ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง พ.ศ.2549

นางสาวปิยาพัชร อาจหาญณรงค์

- เกิดวันที่ 30 กันยายน พ.ศ.2527
- สำเร็จการศึกษาชั้นประถมศึกษาจากโรงเรียนบ้านนิคมสร้างตนเองธารโต พ.ศ.2539
- สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนต้นและตอนปลายจากโรงเรียนคณะราษฎร์บำรุง จังหวัดยะลา พ.ศ.2545
- จบการศึกษาวิทยาศาสตร์บัณฑิต (วท.บ ) ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง พ.ศ.2549

นางสาวเสาวนีย์ เลิศโวหาร

- เกิดวันที่ 21 มกราคม พ.ศ.2527
- สำเร็จการศึกษาชั้นประถมศึกษาจากโรงเรียนสายน้ำทิพย์ พ.ศ.2538
- สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนต้นและตอนปลายจากโรงเรียนเตรียมอุดมศึกษาพัฒนาการ พ.ศ.2544
- จบการศึกษาวิทยาศาสตร์บัณฑิต (วท.บ ) ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง พ.ศ.2549

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 5
# สรุปผลการทดลอง

ในการหมักแหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์พื้นเมืองและพันธุ์บราห์มันที่มีการเติมและไม่เติมกล้าเชื้อ *Pediococcus pentosaceas* TISTR 536 พบเชื้อ lactic acid bacteria มีการเจริญและเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อทำการหมักแหนมเป็นเวลา 1 ถึง 2 วัน จากนั้นเชื้อ lactic acid bacteria มีจำนวนลดลงเล็กน้อยเมื่อกระบวนการหมักเข้าสู่วันที่ 3 การเพิ่มจำนวนเชื้อ lactic acid bacteria ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์แหนมที่มีเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกสูงขึ้น และมีค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงอย่างรวดเร็ว ทำให้เกิดการยับยั้งการเจริญของเชื้อซาลโมเนลลาได้ โดยพบว่าตัวอย่างแหนมที่มีการเติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceas* TISTR 536 จะมีโอกาสในการตรวจพบเชื้อซาลโมเนลลาน้อยกว่าแหนมที่หมักแบบไม่เติมกล้าเชื้อ

จากการศึกษาการยอมรับของผู้บริโภค พบว่าผู้บริโภคให้การยอมรับแหนมเนื้อโคพันธุ์บราห์มันที่ผ่านการแช่เย็นและแช่แข็งซึ่งหมักแบบเติมกล้าเชื้อและไม่เติมกล้าเชื้อทั้งในด้าน สี กลิ่น รส เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมมากกว่าแหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์พื้นเมืองทุกสูตร จากการทดลองด้านทางประสาทสัมผัสของแหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มัน พบว่าแหนมที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มันที่ผ่านการเก็บรักษาแบบแช่แข็งและหมักแบบธรรมชาติได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคมากที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้