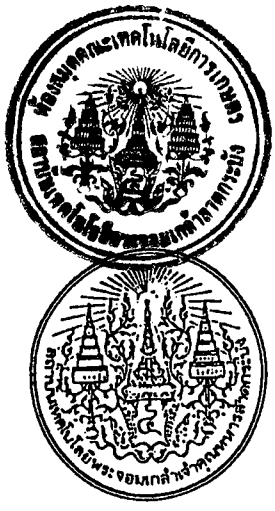
1525



ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การยืดอายุการเก็บน้ำนมดิบด้วยไนซิน

(Shelf life Extending of Raw Milk with Nisin)

โดย

นางสาวยุวดี สิริเรืองอำไพ

นางสาวสุภาภรณ์ พิศพันธ์

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก พ.ศ. 2539

..... 25/3/39 อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

( )

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

.....

( )

หัวหน้าภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

วันที่ 20 เดือน มี.ค. พ.ศ. 39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปพ.
ย 442 ก
2539

14884

การยืดอายุการเก็บน้ำนมดิบด้วยไนซิน

(Shelf life Extending of Raw Milk with Nisin)

นางสาวยุวดี สิริเรืองอำไพ

นางสาวสุภาภรณ์ พิศพันธ์

ปฬ.
ย442ก
2539
เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....97088
วัน.เดือน.ปี.....

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2539

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อ

ขวดี สิริเรืองอำไพ และ สุภาภรณ์ พิศพันธ์. 2539. : การยืดอายุการเก็บน้ำนมดิบด้วยไนซิน (Shelf life Extending of Raw Milk with Nisin). ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
อาจารย์ที่ปรึกษา : ผศ.ดร.ประภาพร ขอไพบูลย์ , 63 หน้า

ในการศึกษาปริมาณไนซินที่เหมาะสมในการใช้ยืดอายุการเก็บน้ำนมดิบ และศึกษาระยะเวลาในการเก็บน้ำนมดิบภายหลังการเติมไนซิน โดยเติมไนซินในตัวอย่างน้ำนมดิบที่ระดับความเข้มข้น 50, 100, 150, 200 และ 250 IU/ml และเก็บตัวอย่างน้ำนมดิบดังกล่าวที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 3, 5, 7 และ 9 วัน หลังจากนั้นนำมาตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total bacterial count) , เชื้อ *Staphylococcus aureus* , เชื้อ coliform และเชื้อ β-heamolysin Streptococcus จากการทดลองพบว่าตัวอย่างน้ำนมดิบที่เติมไนซินที่ความเข้มข้นต่างๆนั้น สามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ได้นาน 5 วัน ในขณะที่น้ำนมดิบที่ไม่ได้เติมไนซินสามารถเก็บไว้ได้เพียง 3 วัน และระดับความเข้มข้นของไนซินที่ 50, 100, 150, 200 และ 250 IU/ml สามารถยับยั้งการเจริญของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดได้ไม่แตกต่างกัน และความเข้มข้นของไนซินที่ 100 IU/ml ขึ้นไปสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ดี และที่ความเข้มข้น 50 IU/ml สามารถยับยั้งการเจริญของ β-heamolysin Streptococcus ได้

ขวดี สิริเรืองอำไพ สุภาภรณ์ พิศพันธ์ ....

ลายมือชื่อนักศึกษา ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา วัน/เดือน/ปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

รายงานปัญหาพิเศษฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วย ความกรุณาเป็นอย่างยิ่งจาก ผศ.ดร. ประภาพร ขอไพบูลย์ อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ ที่ได้สละเวลาให้คำปรึกษา ข้อแนะนำ และชี้แนะแนวทางในการทำปัญหาพิเศษ ตลอดจนปรับปรุงแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความเอาใจใส่อย่างดียิ่ง

ขอขอบพระคุณอาจารย์วริพัสย์ อารีกุล และ ดร. กิตติชัย บรรจง ที่กรุณาให้ข้อมูลและแนะแนวทางในการวิจัยบางส่วน รวมทั้งให้คำแนะนำการวิเคราะห์ผลทางสถิติที่เกี่ยวข้องกับการทำปัญหาพิเศษในครั้งนี้

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ ที่อำนวยความสะดวกและเอื้อเฟื้อเลือดแกะในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้ รวมทั้งขอขอบคุณเพื่อน ๆ ที่คอยช่วยเหลือในการเก็บล้างอุปกรณ์และให้กำลังใจ จนปัญหาพิเศษสำเร็จลุล่วงด้วยดี

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อและคุณแม่ที่ช่วยส่งเสริมและสนับสนุนการเรียนด้วยดีเสมอมา

นางสาวยุวดี สิริเรืองอำไพ
นางสาวสุภาภรณ์ พิศพันธ์

มีนาคม 2539

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ค
กิตติกรรมประกาศ	ง
สารบาญตาราง	ฉ
สารบาญภาพ	ฌ
บทที่	
1. บทนำ	1
2. วารสารปริทัศน์	2
2.1 จุลชีววิทยาของนม	2
2.2 ไนซิน	9
2.3 การใช้ไนซินในผลิตภัณฑ์อาหาร	22
3. อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	25
4. ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	32
4.1 ค่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด	32
4.2 จำนวน Coliform ในน้ำนมดิบ	35
4.3 จำนวน *Staphylococcus aureus* ในน้ำนมดิบ	38
4.4 จำนวน β-hemolysin Streptococcus ในน้ำนมดิบ	41
5. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	44
5.1 สรุปผลการทดลอง	44
5.2 ข้อเสนอแนะ	45
เอกสารอ้างอิง	46
ภาคผนวก	49
ประวัติผู้เขียน	63

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงปริมาณการตกค้างของไนซินในอาหารชนิดต่าง ๆ ภายหลังการแปรรูปโดยใช้ความร้อน จากการเติมไนซิน 100 IU/g	10
2	แสดงปริมาณการตกค้างของไนซินใน Skim milk (pH 6.5) ภายหลังการผ่านความร้อนที่อุณหภูมิต่าง ๆ	10
3	แสดงปริมาณการตกต้างของไนซินในถั่วลันเตากระป๋องที่ pH 6.4 และเก็บรักษาที่ 8-12 องศาเซลเซียส	11
4	แสดงประเทศที่ได้มีการอนุญาตให้ใช้ไนซินเป็นสารถนอมอาหารในผลิตภัณฑ์อาหาร	21
5	แสดงปริมาณสารไนซิน Stock II ในการเตรียมน้ำนมดิบที่มีความเข้มข้นของไนซินระดับต่าง ๆ	26
6	แสดงวิธีการตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์ต่าง ๆ ชนิดอาหารเลี้ยงเชื้อ อุณหภูมิและระยะเวลาในการบ่ม	27
7	แสดงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในน้ำนมดิบที่ความเข้มข้นที่ความเข้มข้นไนซินต่าง ๆ กัน ที่ระยะเวลาการเก็บต่างกัน	32
8	แสดงจำนวน Coliform bacteriaในน้ำนมดิบที่ความเข้มข้นที่ความเข้มข้นไนซินต่าง ๆ กัน ที่ระยะเวลาการเก็บต่างกัน	35
9	แสดงจำนวน *Staphylococcus aureus* ในน้ำนมดิบที่ความเข้มข้นที่ความเข้มข้นไนซินต่าง ๆ กัน ที่ระยะเวลาการเก็บต่างกัน	38
10	แสดงจำนวน β-hemolysin Streptococcus ในน้ำนมดิบที่ความเข้มข้นที่ความเข้มข้นไนซินต่าง ๆ กัน ที่ระยะเวลาการเก็บต่างกัน	41

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญตาราง (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่		หน้า
1	การวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในน้ำนมดิบที่ระยะเวลาการเก็บ 0 วัน	52
2	การวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในน้ำนมดิบที่ระยะเวลาการเก็บ 3 วัน	52
3	การวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในน้ำนมดิบที่ระยะเวลาการเก็บ 5 วัน	53
4	การวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในน้ำนมดิบที่ระยะเวลาการเก็บ 7 วัน	53
5	การวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในน้ำนมดิบที่ระยะเวลาการเก็บ 9 วัน	54
6	การวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับจำนวน Coliform bacteria ในน้ำนมดิบที่ระยะเวลาการเก็บ 0 วัน	55
7	การวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับจำนวน Coliform bacteria ในน้ำนมดิบที่ระยะเวลาการเก็บ 3 วัน	55
8	การวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับจำนวน Coliform bacteria ในน้ำนมดิบที่ระยะเวลาการเก็บ 5 วัน	56
9	การวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับจำนวน Coliform bacteria ในน้ำนมดิบที่ระยะเวลาการเก็บ 7 วัน	56
10	การวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับจำนวน Coliform bacteria ในน้ำนมดิบที่ระยะเวลาการเก็บ 9 วัน	56
11	การวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับจำนวน *Staphylococcus aureus* ในน้ำนมดิบที่ระยะเวลาการเก็บ 0 วัน	57
12	การวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับจำนวน *Staphylococcus aureus* ในน้ำนมดิบที่ระยะเวลาการเก็บ 3 วัน	57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

13 การวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับจำนวน *Staphylococcus aureus* ในน้ำนมดิบ ที่ระยะเวลาการเก็บ 5 วัน 58
14 การวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับจำนวน *Staphylococcus aureus* ในน้ำนมดิบ ที่ระยะเวลาการเก็บ 7 วัน 58
15 การวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับจำนวน *Staphylococcus aureus* ในน้ำนมดิบ ที่ระยะเวลาการเก็บ 9 วัน 59
16 การวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับจำนวน β-hemolysin Streptococcus ในน้ำนมดิบ ที่ระยะเวลาการเก็บ 0 วัน 60
16 การวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับจำนวน β-hemolysin Streptococcus ในน้ำนมดิบ ที่ระยะเวลาการเก็บ 3 วัน 60
16 การวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับจำนวน β-hemolysin Streptococcus ในน้ำนมดิบ ที่ระยะเวลาการเก็บ 5 วัน 60
16 การวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับจำนวน β-hemolysin Streptococcus ในน้ำนมดิบ ที่ระยะเวลาการเก็บ 7 วัน 60
16 การวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับจำนวน β-hemolysin Streptococcus ในน้ำนมดิบ ที่ระยะเวลาการเก็บ 9 วัน 60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แสดงขั้นตอนการแตกตัวของสปอร์เป็น vegetative cell และการยับยั้งโดยไนซินและสารถนอมอาหารตัวอื่น ๆ	14
2	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไนซินกับระดับความร้อนที่ใช้ในการทำลายสปอร์ของ *Bacillus stearothermophilus*	15
3	แสดง Activity ของไนซินในการทำให้ vegetative cell ของ *C.butyricum* ที่มีอายุ 6 ชั่วโมงเกิดการ lysis เมื่อ (a),(b) คือ Culture medium ที่มีการเติมไนซินและไม่มีการเติมไนซินตามลำดับ	16
4	แสดงขั้นตอนต่าง ๆ ในการ Spread plate น้ำนมดิบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ	29
5	แสดงลักษณะของเชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆในน้ำนมดิบบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่าง ๆ	31
6	กราฟแสดงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในน้ำนมดิบที่เติมไนซินที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ที่ระยะเวลาการเก็บต่าง ๆ กัน	34
7	กราฟแสดงจำนวน Coliform bacteria ในน้ำนมดิบที่เติมไนซินที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ที่ระยะเวลาการเก็บต่าง ๆ กัน	37
8	กราฟแสดงจำนวน *Staphylococcus aureus* ในน้ำนมดิบที่เติมไนซินที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ที่ระยะเวลาการเก็บต่าง ๆ กัน	40
9	กราฟแสดงจำนวน β-hemolysin Streptococcus ในน้ำนมดิบที่เติมไนซินที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ที่ระยะเวลาการเก็บต่าง ๆ กัน	43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

นมเป็นอาหารที่มีคุณค่าต่อร่างกายสูง ซึ่งประกอบด้วยโปรตีน วิตตามิน เกลือแร่ ดังนั้นองค์ประกอบของสารอาหารในน้ำนมจึงเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมของจุลินทรีย์ต่าง ๆเช่นกัน จึงทำให้เกิดปัญหาการเก็บรักษาและการขนส่ง โดยจะต้องมีการควบคุมปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในน้ำนม ได้แก่การควบคุมอุณหภูมิในการเก็บรักษา แต่กระนั้นก็ยังไม่สามารถเก็บรักษาน้ำนมดิบนาน จึงได้มีการประยุกต์ใช้ไนซินในอุตสาหกรรมการผลิตนม เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมดิบให้นานขึ้น

ไนซินเป็นโพลีเปปไทด์ที่ได้จากการหมักน้ำนมโดยแบคทีเรียพวก *Streptococcus lactis* Group N ที่ถูกนำมาใช้ในลักษณะสารกันบูดธรรมชาติและได้รับการยืนยันว่าปลอดภัย ไม่เป็นพิษ ถูกย่อยอย่างรวดเร็วในกระเพาะอาหาร ไม่สร้างความต้านทานต่อเชื้อเมื่อรับประทานเข้าไปมากๆ จึงเป็นสารที่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ยืดอายุการเก็บน้ำนมดิบ การทดลองนี้จึงเป็นการศึกษาปริมาณไนซินที่เหมาะสมที่ใช้ในการยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมดิบ และศึกษาระยะเวลาในการเก็บน้ำนมดิบภายหลังการเติมไนซิน เพื่อให้ได้น้ำนมดิบที่มีคุณภาพที่ดีเหมาะแก่การแปรรูปต่อไป

วัตถุประสงค์

1.เพื่อศึกษาปริมาณไนซินที่เหมาะสมในการใช้ยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมดิบ

2.เพื่อศึกษาระยะเวลาในการเก็บน้ำนมดิบภายหลังการเติมไนซิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
วารสารปริทัศน์

2.1 จุลชีววิทยาของนม

น้ำนมที่ได้จากวัวที่มีสุขภาพดีจะสะอาดปราศจากจุลินทรีย์และมี pH ประมาณ 6.8 เมื่อผ่านท่อน้ำนมออกสู่ภายนอกร่างกายจะมีการปนเปื้อนของแบคทีเรียเกิดขึ้น เพราะท่อน้ำนมจะมีแบคทีเรียอยู่ด้วยเสมอ อย่างไรก็ตามท่อน้ำนมมิใช่แหล่งสำคัญของแบคทีเรียในน้ำนม แบคทีเรียส่วนมากจะปนเปื้อนมาจากภาชนะ (เช่น ถังใส่น้ำนม) หรืออุปกรณ์การรีดนม ผู้รีดนม ตลอดจนการสุขาภิบาลของคอกวัว เป็นต้น แบคทีเรียในน้ำนมที่พบมากได้แก่ แบคทีเรียในกลุ่ม Lactobacillaceae และ Micrococcaceae สำหรับชนิดที่พบมากจะเป็นแบคทีเรียประจำถิ่น (normal flora) ได้แก่ *Lactobacillus casei, L.acidophilus, L.plantarum, L.brevis, Streptococcus lactis* และ *S.cremoris* แบคทีเรียเหล่านี้ไม่ทำให้เกิดโรค แต่จะทำให้เกิดการหมัก(fermentation) ของน้ำตาลแลคโตสในนมแล้วให้กรดแลคติคและกรดอื่น ๆ ทำให้ pH ในนมลดลง ซึ่งถ้า pH ลดลงถึง 4.5 จะทำให้โปรตีนเคซินในนมตกตะกอน นอกจากนี้ยังพบแบคทีเรียอื่นๆอีกเช่น *Micrococcus, Staphylococcus, Pseudomonas, Bacillus, E.coli* และโคลิฟอร์มแบคทีเรีย ดังนั้นจึงพบแบคทีเรียเป็นจำนวนมากในน้ำนม ถ้าแบคทีเรียเหล่านี้มีการเจริญอย่างรวดเร็วจะทำให้น้ำนมมีคุณภาพเปลี่ยนแปลงไป เช่น เชื้อ *S. cremoris* ทำให้น้ำนมเปรี้ยว เชื้อ *Pseudomonas syncyanea* ทำให้น้ำนมมีสีน้ำเงินและ เชื้อ *Enterobacter aerogenes* ทำให้น้ำนมเป็นเมือก ดังนั้นจึงใช้จำนวนและชนิดของแบคทีเรียในการกำหนดมาตรฐานของน้ำนม เพื่อความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

โดยปกติแล้วในน้ำนมดิบประกอบด้วยสารหลายชนิดที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ต่างๆได้ เช่น leucocyte , lactoperoxidase , agglutinin และ lactenin ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ Streptococci ที่ทำให้เกิดนมเปรี้ยว, เชื้อ *Staphylococcus aureus* ซึ่งทำให้เกิดอาหารเป็นพิษ รวมทั้งเชื้อ *Streptococcus thermophilus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ทนความร้อนได้ดีจะพบในน้ำนมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์แล้ว สำหรับประสิทธิภาพของสารเหล่านี้นั้น lactenin จะให้ผลดีกว่าสารอื่นๆ และ lactenin จะมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นเมื่ออยู่ในสภาวะที่มีออกซิเจนและออกฤทธิ์เป็น reducing agent อย่างไรก็ตามสารที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เจริญของจุลินทรีย์ดังกล่าวจะมีอยู่ในช่วงระยะเวลาสั้น ๆ และเสื่อมประสิทธิภาพไปภายหลังจากการรีดนมประมาณ 2 ชั่วโมงเท่านั้น หลังจากนี้จะไม่สามารถทำลายจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนได้จึงทำให้นมเน่าเสียได้ง่าย

2.1.1ชนิดของจุลินทรีย์ในน้ำนม

จุลินทรีย์ต่าง ๆ ในน้ำนมสามารถจำแนกตามคุณลักษณะพื้นฐานได้ 3 ประเภท คือ

1. Biochemical types
2. Temperature characteristics
3. Pathogenic types

2.1.2 BIOCHEMICAL TYPES

เนื่องจากนมประกอบด้วยน้ำตาล โปรตีนและไขมัน สารอาหารเหล่านี้จะถูกย่อยสลายจากจุลินทรีย์ได้เป็นผลผลิตต่าง ๆ ที่แตกต่างกันไปตามชนิดของจุลินทรีย์ โดยทั่วไปการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในนมมีดังนี้

1. ผลผลิตที่เป็นกรด

การเปรี้ยวของนม เกิดจากแบคทีเรียที่เจริญในน้ำนม ทำให้เกิดการหมักของน้ำตาลแลคโตสให้ผลผลิตเป็นกรดออกมาทำให้นมมีรสเปรี้ยว และถ้าหากมีตะกอนเกิดขึ้นด้วย ก็จะพิจารณาว่านมนั้นเสีย ไม่ควรนำมาใช้บริโภคอีกต่อไป

การเปรี้ยวของนมเกิดจากการหมักของ

1.1 Sterptococci เช่น *S. lactic* และ *S. cremoris*จะหมักน้ำตาลแลคโตสให้กรดแลคติก เรียกว่าเป็นพวก homofermentative ส่วน *Leuconostoc citrovorum* จะหมักน้ำตาลแลคโตสให้กรดแลคติก และผลิตภัณฑ์อื่นๆ ได้แก่ กรดอะซิติก เอธิลแอลกอฮอล์ และคาร์บอนไดออกไซด์ เรียกว่าเป็นพวก heterofermentative

1.2 Lactobacilli เช่น *L. plantarum, L. casei , L. acidophilus* และ *L. bulgaricus* จะหมักน้ำตาลแลคโตสให้กรดแลคติก เรียกว่าเป็พวก homofermentative ส่วน *L. brevis , L. buchneri* และ *L. fermenti* จะหมักน้ำตาลแลคโตสให้กรดแลคติก และผลิตภัณฑ์อื่นๆ เรียกว่าเป็นพวก heterofermantative

1.3 Mycrobacterium และ *M. lacticum* จะหมักน้ำตาลแลคโตสให้ และผลิตภัณฑ์อื่นๆทนความร้อนได้ดี เช่น ที่อุณหภูมิ 80-85 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที

1.4 Micrococci เช่น *M. luteus , M. Varians* และ *M. fredenreichii* สามารถหมักน้ำตาลแลคโตสให้กรดได้ แต่น้อยกว่าพวก lactobacilli และ streptococci แต่มี proteolytic

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

enzyme ย่อยโปรตีนในนมได้ แม้จะมีประสิทธิภาพไม่ดีนัก สามารถทนความร้อนได้พอสมควร บางสายพันธุ์ทนความร้อนที่อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที

1.5 โคลิฟอร์มแบคทีเรีย เช่น *E. coli* และ *Enterobacter aerogenes* จะหมักน้ำตาลแลคโตสให้ผลิตภัณฑ์หลายชนิด เช่น กรดต่าง ๆ ก๊าซและสารอื่น ๆ แบคทีเรียนี้ใช้เป็นดัชนีแสดงคุณภาพของนม กล่าวคือ ถ้าหากในนมมีโคลิฟอร์มแบคทีเรียปนเปื้อนอยู่ด้วย แสดงว่าการสุขาภิบาลในกรรมวิธีการผลิตยังไม่ดี

2. ผลผลิตที่เป็นก๊าซ

การสร้างก๊าซในนม จะเกิดขึ้นพร้อมกับการสร้างกรดของจุลินทรีย์ ก๊าซเหล่านี้ได้แก่ ไฮโดรเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ สำหรับโคลิฟอร์มแบคทีเรียและ Clostridium จะผลิตก๊าซได้ดีที่สุด ซึ่งเมื่อเจริญในน้ำนมจะเปลี่ยนน้ำตาลแลคโตสเป็นกรดและให้ก๊าซออกมาทั้งไฮโดรเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ ส่วนยีสต์ *Candida pseudotropicalis* และ *Torulopsis sphaerica* กับ laclic bacteria ชนิด heterofermentative จะให้เฉพาะก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เท่านั้น การเกิดก๊าซเหล่านี้จะทำให้น้ำนมเป็นฟอง ถ้าหากมีก๊าซในปริมาณมากจะดันตะกอนของนม (curd) ให้ลอยสู่ผิวหน้าและแตกกระจาย เรียกปรากฏการณ์นี้ว่า stromy fermentation เป็นผลให้ลักษณะของนมเกิดการเละและไม่น่ารับประทาน

3. การเกิดเมือกในนม

การเกิดเมือก เกิดจากแบคทีเรียสร้าง capsule หรือ slime layer ในขณะเจริญ ทำให้น้ำนมเกิดเมือกหรือยางเหนียวๆ การสร้างเมือกจะเกิดได้ดีในนมที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่ำและจะลดลงเมื่อนมมีความเป็นกรดเพิ่มขึ้น ตามปกติการสร้างเมือกเกิดได้ 2 แบบ แบบแรกเกิดเมือกเฉพาะบริเวณผิวหน้าของนมเกิดจาก *Alcaligenes viscolactis* และ *Micrococcus freudenreichii* ส่วนแบบที่สองเกิดเมืองทั่วทั้งนม เกิดจาก *Enterobacter aerogenes, E. cloacae E. coli, Streptococcus lactis var. hollandicus, S. cremoris, Lactobacillus casei, L. bulgaricus* และ *L. plantarum* อย่างไรก็ตามในนมพลาสเจอไรซ์จะปราศจากแบคทีเรียเหล่านี้ เนื่องจากอุณหภูมิและเวลาของการพลาสเจอไรซ์จะสามารถทำลายแบคทีเรียที่สร้างเมือกในนมได้ทั้งหมด

4. การย่อยสลายโปรตีนในนม

การย่อยโปรตีนในนม เกิดได้ทั้งในสภาวะที่เป็นกรดและเบส ในสภาวะที่เป็นกรดเกิดจากแบคทีเรียหลายชนิดในสกุล *Micrococcus* และ *Streptococcus faecalis var. liquefaciens* ซึ่งทำให้เกิดการย่อยโปรตีนในนมพาสเจอไรซ์ กรดจะทำให้โปรตีนตกตะกอนและต่อมาตะกอนจะถูกย่อยสลาย ทำให้น้ำนมเปลี่ยนจากขุ่นเป็นใส ส่วนในสภาวะที่เป็นเบสเกิดจากแบคทีเรียหลายชนิดในสกุล *Micrococcus, Alcaligenes , Pseudomonas , Proteus , Flavobacterium , Serratia ,*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Bacillus และ *Clostridium* แบคทีเรียบางชนิดในสกุล *Micrococcus, Pseudomonas, Alcaligenes, Bacillus* และ *Flavobacterium* สามารถเจริญได้ในที่อุณหภูมิต่ำ จึงทำให้เกิดการย่อยสลายโปรตีนในนมที่เก็บรักษาในตู้เย็น ส่วน *Bacillus cereus* ทำให้เกิด sweet curd ในนมพาสเจอไรซ์ แบคทีเรียเหล่านี้ที่กล่าวมาแล้ว จะสร้างเอนไซม์คล้ายเอนไซม์ rennin เพื่อย่อยโปรตีนในนมให้เกิด sweet curd ขึ้นมาการเปลี่ยนแปลงในลักษณะนี้ทำให้นมมีลักษณะไม่น่าบริโภค

5. การย่อยสลายลิปิดในนม

การย่อยสลายลิปิดในนมจะเกิดจากจุลินทรีย์ที่สร้างเอนไซม์ lipase จะย่อยลิปิดให้เป็นกลีเซอรอลและกรดไขมัน กรดไขมันบางชนิด โดยเฉพาะกรดไขมันไม่อิ่มตัวจะทำปฏิกิริยากับออกซิเจน ทำให้นมมีกลิ่นเหม็นหืนขึ้นได้ จุลินทรีย์เหล่านี้ได้แก่ *Pseudomonas fluorescens, P. fragi, Achromobacter lipolyticum, Candida lipolytica* และ *Penicillium spp.*

6. ทำให้นมมีกลิ่น รสและสีผิดปกติ

การเจริญของจุลินทรีย์หลายชนิดในนมจะทำให้กลิ่น รสและสีผิดปกติไป เช่น มีกลิ่นเหม็นหืน มีรสเปรี้ยว ฯลฯ ทำให้นมมีคุณสมบัติไม่เหมาะสมจะนำมาใช้บริโภค การเปลี่ยนแปลงเหล่านี้เกิดจากจุลินทรีย์ต่าง ๆ ได้แก่

6.1 การเปลี่ยนแปลงกลิ่นและรสเช่น *Streptococcus lactis* และ *S. cremoris* ทำให้เกิดกลิ่นและรสเปรี้ยว *S.lactis var. maltigenes* ทำให้เกิดกลิ่นไหม้และ Pseudomonas icthyoamia ทำให้เกิดกลิ่นคาวปลา

6.2 การเปลี่ยนแปลงสี เกิดจากจุลินทรีย์ต่าง ๆ ผลิตรงควัตถุที่ละลายน้ำออกมาในขณะที่เจริญ และรงควัตถุเหล่านี้จะปะปนในน้ำนม ทำให้มีสีต่าง ๆ เช่น *Pseudomonas syncyanea* ผลิตรงควัตถุสีน้ำเงิน ทำให้น้ำนมมีสีเทาจนถึงน้ำเงิน *P. synxantha* ทำให้น้ำนมมีสีเหลือง *Serratia marcescens* และ *Torula glutinis* ทำให้น้ำนมมีสีแดง *Micrococcus roseus* ทำให้น้ำนมเกิดตะกอนสีแดง ส่วน *Brevibacterium erythrogenes* ทำให้เกิดสีแดงที่ผิวหน้าของน้ำนม

6. การเกิดกลิ่นของนมเกิดจากการเจริญของจุลินทรีย์ในนมแล้วให้กลิ่นที่ผิดปกติไป เช่น *Pseudomonas putrefaciens* ทำให้เกิดกลิ่นเหม็นเน่าในเนย *Aeromonas hydrophila* ทำให้เกิดกลิ่นคาวปลาในเนย และ *Pseudomonas icthyoamia* ทำให้เกิดกลิ่นคาวปลาในน้ำนม เป็นต้น

บทบาทของจุลินทรีย์ในนมและผลิตภัณฑ์ของนม นับวันจะมีความสำคัญเพิ่มขึ้นทั้งนี้เพราะนม เป็นอาหารที่ให้คุณค่าทางอาหารสูงและเป็นที่นิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลายนอกจากนี้ยังนำไปใช้ทำผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เพื่อการบริโภคอีกมากมาย ในปัจจุบันการเน่าเสียของนมและผลิตภัณฑ์นมเพิ่มมากขึ้นในแต่ละปี จึงจะเกิดผลเสียทางเศรษฐกิจเป็นอย่างมาก ดังนั้นการควบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คุมหรือป้องกันการเน่าเสียของนมและผลิตภัณฑ์นมจึงยังคงมีความสำคัญและจำเป็นอย่างยิ่งเพื่อให้นมและผลิตภัณฑ์นมสามารถนำไปใช้ประโยชน์อย่างคุ้มค่ามากที่สุด อันเป็นการแก้ปัญหาการขาดแคลนอาหารได้อีกด้วย

2.1.3 TEMPERATURE CHARACTERISTICS

แบคทีเรียที่เจริญในน้ำนมจะเจริญได้ในที่อุณหภูมิเหมาะสมแตกต่างกันไป ซึ่งจำแนกได้เป็น 4 ชนิด คือ psychrophilic, mesophilic, thermophilic และ thermoduric bacteria

psychrophilic bacteria เป็นแบคทีเรียเจริญได้ดีที่อุณหภูมิต่ำ เช่น อุณหภูมิของตู้เย็น เป็นต้น ได้แก่ Pseudomonas, Achromobacter, Alcaligenes และ Flavobacterium

mesophilic bacteria เป็นแบคทีเรียที่มีอุณหภูมิเหมาะสมที่ 37 องศาเซลเซียส ได้แก่ โคลิฟอร์มแบคทีเรีย Lactobacillus , Streptococcus และแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคต่าง ๆ

thermophilic bacteria เป็นแบคทีเรียที่มีอุณหภูมิเหมาะสมในช่วงระหว่าง 50-55 องศาเซลเซียส ได้แก่ Bacillus (เช่น *B. cereus, B. subtilis*และ *B. brevis)* และClostridium ในบางชนิด เช่น *B. stearothermophillus* เจริญได้ที่อุณหภูมิสูงถึง 65 องศาเซลเซียส

thermoduric bacteria ตามปกติเป็นแบคทีเรียพวก mesophilic bacteria แต่สามารถที่จะปรับตัวให้เจริญในอุณหภูมิของการพลาสเจอร์ไรซ์ได้ แบคทีเรียเหล่านี้จะติดปะปนมากับน้ำนมดิบหรือปนเปื้อนในภายหลังการรีดนมแล้ว จึงทำให้เกิดปัญหาในอุตสาหกรรมนมและผลิตภัณฑ์นม แบคทีเรียในกลุ่มนี้ที่สำคัญมี 5 สกุล คือ Bacillus, Corynebacterium, Microbacterium, Micrococcus และ Streptococcus สำหรับชนิดของแบคทีเรียในแต่ละสกุลมีดังนี้

1. *Bacillus* ได้แก่ *B. brevis, B. cereus, B. coagulans, B .licheniformis, B.polymyxa, B. pumilus* และ *B. subtilis*

2. Corynebacterium ได้แก่ *C. bovis*

3. Microbacterium ได้แก่ *M. flavus* และ *M. lacticum*

4. Micrococcus ได้*แก่ M .caseolyticus, M. conglomeratus, M. falvus, M. freudenreichii, M. luteus* และ *M.varians*

5. Streptococcus ได้แก่ *S. bovis, S. cremoris, S. durans, S. faecalis, S. lactis, S. thermophilus* และ *S. uberis*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.4 PATHOGENIC TYPES

จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคซึ่งปนเปื้อนอยู่ในน้ำนมมีหลายชนิด จุลินทรีย์เหล่านี้อาจปนเปื้อนมาจากวัวที่เป็นโรค จากมนุษย์หรือจากกรรมวิธีการรีดนมก็ได้ จำแนกได้ 2 ประเภทคือ

1. เกิดจากวัวที่เป็นโรค จุลินทรีย์เหล่านี้สามารถปนเปื้อนในน้ำนมและแพร่ระบาดเข้าสู่มนุษย์ได้เช่น

-วัณโรคของวัว เกิดจาก *Mycobacterium tuberculosis*

-โรคแท้งติดต่อ เกิดจาก *Brucella abortus*

-โรคเต้านมอักเสบ เกิดจาก *Staphylococcus aureus,Streptococcus agalactiae*

-โรค Q-fever เกิดจาก *Coxiella burnetii*

2.เกิดจากการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่เป็นโรคที่เกิดจากมนุษย์หรือกรรมวิธีการรีดนม เช่น

-โรคไข้ดำแดง เกิดจาก *Streptococcus pyogenes*

-โรคอาหารเป็นพิษ เกิดจาก *Staphylococcus aureus*

-ไข้ไทฟอยด์ เกิดจาก *Salmonella typhosa*

-โรคคอตีบ เกิดจาก *Corynebacterium diphtheriae*

-โรค Q- fever เกิดจาก *Coxiela burnetii*

-โรคโปลิโอ เกิดจาก poliovirus

2.1.5 การเก็บรักษาน้ำนม

เนื่องจากน้ำนมเป็นอาหารที่มีคุณค่าทางอาหารสูง จึงเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์ต่าง ๆ เป็นผลให้คุณภาพของน้ำนมเปลี่ยนแปลงไป ดังนั้นการเก็บรักษาน้ำนมไว้ในอุณหภูมิต่ำจะช่วยป้องกัน หรือลดการเสื่อมเสียของน้ำนมอันเนื่องจากจุลินทรีย์ลงได้ สำหรับอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษาน้ำนมแต่ละช่วงนั้น จะพบจุลินทรีย์แต่ละชนิดที่เจริญได้ดีแตกต่างกันไป ดังนี้

ที่อุณหภูมิ 0-5 องศาเซลเซียส จะพบ *Pseudomonas spp.* จำนวนมาก

ที่อุณหภูมิ 5-10 องศาเซลเซียส พบพวก *Pseudomonas spp., Proteus vulgaris, Micrococcus sp., Alcaligenes viscolactis, Alcaligenes viscolactis* และ *A. lcaligenes marshallii*

ที่อุณหภูมิ 10-15 องศาเซลเซียส พบพวก Streptococcus หลายชนิดได้แก่ *S .lactis, S. acidominimus, S. faecalis, S. agalactiae, S. durans, S. dysagalactiae* และ *S. uberis*

ที่อุณหภูมิ 15-30 องศาเซลเซียส พบพวก *S. lactis*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่อุณหภูมิ 30-40 องศาเซลเซียส พบพวก *Aerobacter aerogenes, E. coli* และ Lactobacillus หลายชนิดได้แก่ *L. bulgaricus, L. casei, L.caucasicus, L. lacctis, L. helveticus ,L. plantarum, L. thermophilus,* และ *L. leichmannii*

ที่อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส พบพวก Lactobacillus หลายชนิดได้แก่ *L. lactis, L. fermenti, L. helveticus, L. bulgaricus, L. cancasicus, L. thermophilus* นอกจากนี้ยังพบ *S. faecalis, S. thermophillus* และยีสต์อีกด้วย

จุลินทรีย์ที่มีปะปนในนมซึ่งเจริญได้ดีในช่วงอุณหภูมิต่าง ๆ นี้ พบว่าพวก psychrophile จะถูกทำลายได้ง่ายในอุณหภูมิของการพาสเจอร์ไรซ์ แต่บางครั้งอาจมีพบปะปนในนมที่ผ่านการพาสเจอไรซ์อีกก็ได้ โดยติดไปกับเครื่องมือหรือวัสดุอุปกรณ์ต่างๆ ฯลฯ จุลินทรีย์เหล่านี้ได้แก่ Alcaligenes, Pseudomonas, Flavobacterium และ Achromobacter

2.1.6 ระดับของน้ำนม

การผลิตนมสดเพื่อการบริโภคซึ่งเริ่มตั้งแต่วิธีการรีดนมจนถึงการขนส่งไปสู่ผู้บริโภคนั้น กรรมวิธีในแต่ละขั้นตอน ทำให้น้ำนมมีโอกาสได้รับการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ต่าง ๆ ได้ ดังนั้น จึงมีการนำปริมาณของแบคทีเรียในน้ำนมแต่ละชนิดมาเป็นมาตรฐานในการกำหนดระดับของน้ำนมที่กระทรวงสาธารณสุขของสหรัฐอเมริกาได้กำหนดไว้มีดังนี้

1. certified milk เป็นนมที่มีคุณภาพดีที่สุด ในน้ำนมดิบมีแบคทีเรียไม่เกิน 5,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตรและมีโคลิฟอร์มแบคทีเรียไม่เกิน 10 เซลล์ต่อมิลลิลิตร หลังจากนำไปพาสเจอไรซ์แล้ว จะมีโคลิฟอร์มแบคทีเรียไม่เกิน 1 เซลล์ต่อมิลลิลิตร

2. นมระดับเอ (grade A) เป็นนมที่มีคุณภาพรองลงมา จำแนกได้ดังนี้

2.1 นมระดับเอสำหรับการบริโภคโดยตรงจะมีแบคทีเรียไม่เกิน 15,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และมีโคลิฟอร์มแบคทีเรียไม่เกิน 10 เซลล์ต่อมิลลิลิตร

2.2 นมระดับเอสำหรับการพาสเจอไรซ์ ในน้ำนมดิบจะมีแบคทีเรีย 20,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และมีโคลิฟอร์มแบคทีเรียไม่เกิน 10 เซลล์ต่อมิลลิลิตร

3. นมระดับบี (grade B) จะมีแบคทีเรียในน้ำนมดิบไม่เกิน 1,000,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และหลังจากการนำไปพาสเจอไรซ์จะมีแบคทีเรียไม่เกิน 50,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตรและมีโคลิฟอร์มแบคทีเรียไม่เกิน 10 เซลล์ต่อมิลลิลิตร

4. นมระดับซี (grade C) เป็นนมที่มีคุณภาพต่ำที่สุด จะพบแบคทีเรียในน้ำนมดิบหรือน้ำนมที่ผ่านการพาสเจอไรซ์ได้ไม่จำกัดจำนวน จึงไม่นำมาใช้ในการบริโภคโดยตรง แต่จะนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ของนมต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2ไนซีน (NISIN)

2.2.1 โครงสร้างและความคงตัวของไนซิน (Structure and Stability)

ไนซินประกอบด้วยกรดอะมิโน 34 ตัวต่อกันเป็น chain โดยที่ปลายด้านหนึ่งเป็นหมู่ Amines group ต่อกับ Isoleucine ส่วนปลายอีกด้านหนึ่งเป็นหมู่ Carboxyl group ซึ่งต่อกับ Lysine ภายใน chain ประกอบด้วยวงแหวน 5 วงเชื่อมต่อกันด้วย Sulphide bridge

น้ำหนักโมเลกุลของไนซินเท่ากับ 3510 Daltons นอกจากนี้ไนซินยังสามารถ form โมเลกุลเป็น dimers และ tetramers ทำให้น้ำหนักเพิ่มขึ้นเป็น 7000 และ 14000 Daltons ตามลำดับ ซึ่งโครงสร้างของไนซินทั้ง 3 แบบนี้ พบว่ามีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์และสปอร์ได้เท่ากัน (Lipinska,1977)

โดยธรรมชาติแล้วโมเลกุลของไนซินอยู่ในสภาพที่มีความเป็นกรดและมีความคงตัวภายใต้สภาพที่เป็นกรดอีกด้วย นอกจากนี้ไนซินยังมีความสามารถในการละลายได้มากขึ้นที่ pH ต่ำ Tramer (1964) ได้รายงานว่าไนซินยังคงมี activity 100 % ภายใต้สภาวะการฆ่าเชื้อ (Sterilization) ที่อุณหภูมิ 115 องศาเซลเซียส pH 2 แต่ที่ pH 5 และ 6.8 ไนซินจะสูญเสีย activity ไปประมาณ 40 % และ 90 % ตามลำดับ และถ้าไนซินอยู่ในสารประกอบที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่ ๆ เช่น นมหรือbroth จะสูญเสีย activity มากกว่าใน buffer นอกจากนี้ยังพบว่าไนซินมีการสูญเสีย activity หรือเกิดการเสื่อมสลายไปในระหว่างกระบวนการแปรรูปและการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหารที่มีการเติมไนซิน โดยที่การสูญเสีย activity ของไนซินจะเพิ่มขึ้นที่ pH และที่อุณหภูมิที่สูงขึ้นดังแสดงในตารางที่ 1 ซึ่งการเสื่อมสลายของไนซินมักถูกพบในระหว่างกระบวนการผลิต Swiss cheese, เห็ดกระป๋อง , นมปรุงแต่งรสชอคโกแลตและ Cooked ham ดังนั้นการใช้ไนซินเป็นสารถนอมอาหารในผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ต้องคำนึงถึงปริมาณของไนซินที่อาจเสื่อมสลายไป ซึ่งขึ้นอยู่กับความร้อนที่ใช้ในกระบวนการแปรรูป, pH ของอาหาร ,อุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้ในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหารเหล่านั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 แสดงปริมาณการตกค้างของไนซินอยู่ในอาหารชนิดต่าง ๆ ภายหลังการแปรรูปโดยใช้ความร้อน จากการเติมไนซิน 100 IU/g

ประเภทของผลิตภัณฑ์	pH	ขบวนการให้ความร้อน	ปริมาณการตกค้างของไนซิน (IU/g)
ถั่วลันเตา	6.4	30 min/116 °C	22.0
เห็ด	6.0	18 min/121.1 °C	32.7
มะเขือเทศ	4.5	40 min/100 °C	72.4
Processed cheese	5.8	12 min/90 °C	82.0

ที่มา : Lipinska (1977)

ตารางที่ 2 แสดงปริมาณการตกค้างของไนซินใน Skim milk (pH 6.5) ภายหลังการผ่านความร้อนที่อุณหภูมิต่าง ๆ

อุณหภูมิ °C	การตกค้างของไนซิน (%) ภายหลังการผ่านความร้อน		
	3 นาที	11 นาที	40 นาที
110	84	57	19
116	64	38	7
121.1	60	34	4

ที่มา : Lipinska (1977)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 แสดงปริมาณการตกค้างของไนซินในถั่วลันเตากระป๋องที่ (pH 6.4) และเก็บรักษาที่ 8-12 $^{\circ}$ C

ระยะเวลาการเก็บ (เดือน)	ปริมาณของไนซินที่ตกค้าง (%)	ระยะเวลาการเก็บ (เดือน)	ปริมาณไนซินที่ตกค้าง (%)
3	93	12	81
6	90	15	62
9	84	18	43

ที่มา : Lipinska (1977)

2.2.2 การสกัดไนซิน (Preparation of Nisin)

ภายหลังจากการค้นพบไนซินโดยบังเอิญ จากเชื้อ Streptococci บางสายพันธุ์ ในระหว่างกระบวนการผลิตเนยแข็งซึ่งสามารถยับยั้งและป้องกันการเกิด gas ที่สร้างโดยพวก Clostridia ที่ก่อให้เกิดการเน่าเสียของเนยแข็ง ต่อมาก็ได้ทำการสกัดไนซินออกมาจาก S.lactis ที่สามารถผลิตไนซิน โดยทำการเพาะเลี้ยงเชื้อดังกล่าวใน media ที่เหมาะสม ภายหลังจากการหมักบ่มเป็นระยะเวลาหนึ่ง แล้วนำ culture fluid มาสกัดด้วย n-propanol ที่มี NaCl หลังจากนั้นจึงนำมาตกตะกอน และทำให้บริสุทธิ์ต่อไป นอกจากนี้ยังได้สกัดไนซินโดยการนำเซลของจุลินทรีย์ที่สามารถสร้างไนซินได้นั้นมาทำให้เซลแตก (lysis) แล้วแยกสารละลายที่ประกอบด้วยไนซินออกจากเซลด้วยกรด หลังจากนั้นจึงนำไปผ่านใน resin column และทำให้ตกตะกอนด้วย acetone จากนั้นจึงนำมาทำให้บริสุทธิ์ใน chromatography cellulose columns ต่อไป

Jarvis และ Farr (1971) ได้แบ่งไนซินออกเป็น 5 ชนิด ได้แก่ ไนซิน A, B, C, D และ E ซึ่งไนซินแต่ละชนิดนี้จะมีโครงสร้างทางโมเลกุลคล้ายกันแต่มี activity ต่างกัน โดยที่ไนซิน C และ D จะมี activity เพียง 1 ใน 5 ส่วนของ Nisin A และ B เท่านั้น นอกจากนี้ไนซิน A, B ,C และ E สามารถถูกทำลายโดย Enzyme nisinase ซึ่งสร้างโดยพวก *Bacillus cereus* แต่ Enzyme ดังกล่าวไม่สามารถทำลายไนซิน D ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3 การสังเคราะห์ไนซิน

Streptococcus lactis ที่ผลิตไนซินนี้จะสามารถปล่อยไนซินออกมานอกเซลได้เพียงบางส่วนเท่านั้น ซึ่งปริมาณของไนซินที่ถูกขับออกมานอกเซลนี้ขึ้นอยู่กับ pH ของสภาวะแวดล้อมภายนอก ในการสังเคราะห์ไนซินนั้นสามารถถูกยับยั้งโดยยาปฏิชีวนะบางชนิดได้แก่ chloramphenicol , puromycin และ tetracycline นอกจากนี้ยังพบว่า แบคทีเรียนี้จะสร้างไนซินในปริมาณสูงระหว่างการเจริญเติบโตในช่วง logarithimic phase

ในอุตสาหกรรมการผลิตไนซินจะนำสายพันธุ์ *lactic streptococci* มาผ่านแสง u.v , γ หรือ X-rays เพื่อให้สายพันธุ์เหล่านั้นเกิดการ mutation และสามารถผลิตไนซินได้มากกว่าเดิมถึง 10 เท่า แต่สายพันธุ์ที่ mutant เหล่านี้มักจะถูกทำลายได้ง่ายโดย bacteriophage ดังนั้นจึงได้มีการพัฒนาโดยทำการ train เชื้อให้มีความสามารถในการผลิตไนซินในปริมาณที่สูงและมีความต้านทานต่อ bacteriophage ได้ดีขึ้น

สารอาหารที่เหมาะสำหรับการสังเคราะห์ไนซินจะเป็นสารที่มีความสำคัญต่อ metabolism ของเชื้อ *S. lactis* ซึ่งได้แก่ น้ำตาล กรดไขมัน กรดอะมิโน เปปไทด์ Yeast extract วิตามิน และเกลือแร่ต่างๆ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาถึงการใช้ wastes ต่าง ๆ ได้แก่ pancreatin-hydrolysed wsates จากการผลิต Insulin และ pepsin-hydrolyed milk cultrues ของพวก Lactic acid bacteria เพื่อให้ได้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีราคาถูก แต่มีคุณสมบัติในการกระตุ้นให้จุลินทรีย์สร้างไนซินมากขึ้น

ในปัจจุบันได้มีหลายประเทศที่ผลิตไนซินออกมาในรูปเชิงการค้า เช่น ในประเทศอังกฤษ โปแลนด์ และโซเวียต แต่พบว่าไนซินที่ผลิตจากประเทศอังกฤษโดยบริษัท Aplin & Barrett Ltd. ซึ่งมีชื่อทางการค้าว่า "Nisaplin" เป็นไนซินที่มีความคงตัวและใช้กันมากในอุตสาหกรรมอาหารต่าง ๆ โดยนำมาใช้เป็นสารถนอมอาหาร (Hurst,1981)

2.2.3 การระบุหน่วยของไนซินและวิธีการตรวจวิเคราะห์ไนซิน

(Unit of Measurement and Method of Assays)

1. การระบุหน่วยของไนซิน (Definition of Units)

หน่วยของไนซินที่ใช้กันในปัจจุบันคือ International Units (IU) ซึ่งถูกยอมรับโดย World Health Organization (WHO,1969) ซึ่งไนซินบริสุทธิ์ 1 ไมโครกรัมมีค่าเท่ากับ 40 IU

2. วิธีการตรวจสอบและวิเคราะห์ไนซิน (Assay of Nisin)

วิธีการตรวจวิเคราะห์ไนซินมีหลายวิธีได้แก่ วิธี methylene blue reduction (Hirsch,1951) เพื่อตรวจสอบ *S. lactis* ที่สามารถสร้างไนซินในน้ำนม ซึ่งถ้ามีเชื้อจุลินทรีย์ชนิดนี้อยู่มันจะสามารถ reduce สาร methylene blue ที่เติมลงไปในน้ำนมได้สารที่ไม่มีสี Chevalier

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และคณะ (1957) ก็ได้รายงานวิธีการตรวจหาเชื้อ streptococci ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นตัวผลิตไนซินในน้ำนมดิบ โดยการเติมสารอาหารที่มีคุณค่าต่อการเจริญเติบโตของ *Lactobacillus lactis* ซึ่งเจริญได้ดีที่อุณหภูมิสูง ลงไปในการทดสอบแล้วนำมาบ่มที่อุณหภูมิ 20° C เป็นเวลา 1 วัน พบว่าจุลินทรีย์ที่สร้างไนซินจะยังคงสามารถเจริญเติบโตได้ แต่ *Lacrobacillus lactis* ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อหรือในนมที่มีจุลินทรีย์ที่สร้างไนซินอยู่ หลังจากนั้นนำมาบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จะพบ clear zone อยู่รอบๆโคโลนีของจุลินทรีย์ที่สร้างไนซิน นอกจากนี้ยังมีวิธีการวัดหาความขุ่น (Berridge &Barrett,1952) , วิธีการวัด ATP ที่ปล่อยออกมาจาก *Lactobacillus casei* (Waites และ Ogden , 1987) แต่วิธีที่นิยมใช้ในการตรวจหาไนซินในอาหารต่าง ๆ ในปัจจุบันอาศัยหลักการเกิด inhibition zone บน Plate ที่มีเชื้อ *Micrococcus luteus* โดยเติม Tween 20 ปริมาณ 1 % ซึ่งเป็นสารที่ช่วยให้ไนซินกระจายสู่อาหารเลี้ยงเชื้ออย่างทั่วถึง หลังจากนั้นจึงนำมาบ่มที่อุณหภูมิ 30° C เพื่อให้จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบคือ *Micrococcus lutes* เจริญเติบโต ถ้าในอาหารนั้นมีไนซินจะเกิด clear zone ซึ่งมีขนาดเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของไนซินในอาหารนั้น ๆ นอกจากนี้ในปัจจุบันยังมีวิธีการใหม่ซึ่งให้ผลการตรวจสอบแม่นยำขึ้นคือ ELISA (Falahee และคณะ , 1990)

2.2.4 การออกฤทธิ์ของไนซิน (Mode of action)

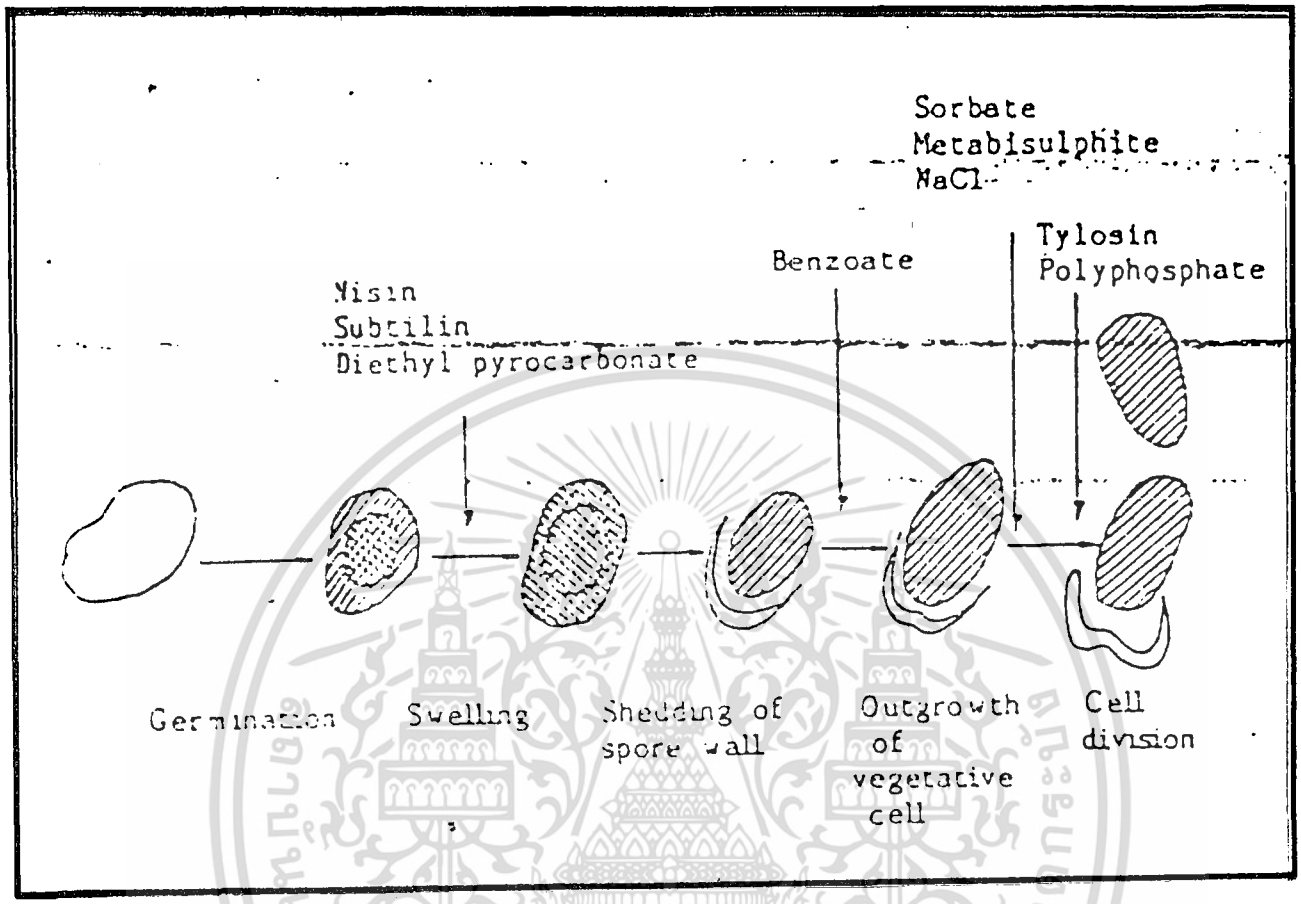
ผลของไนซินต่อสปอร์(Effect on spores)

การงอกของสปอร์ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน คือ

1. germination swelling
2. pre-emergency swelling
3. emergency and elongation

ไนซินจะออกฤทธิ์ไปป้องกันการงอกสปอร์ในขั้นตอน pre-emergency swelling ซึ่งแสดงในภาพที่ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



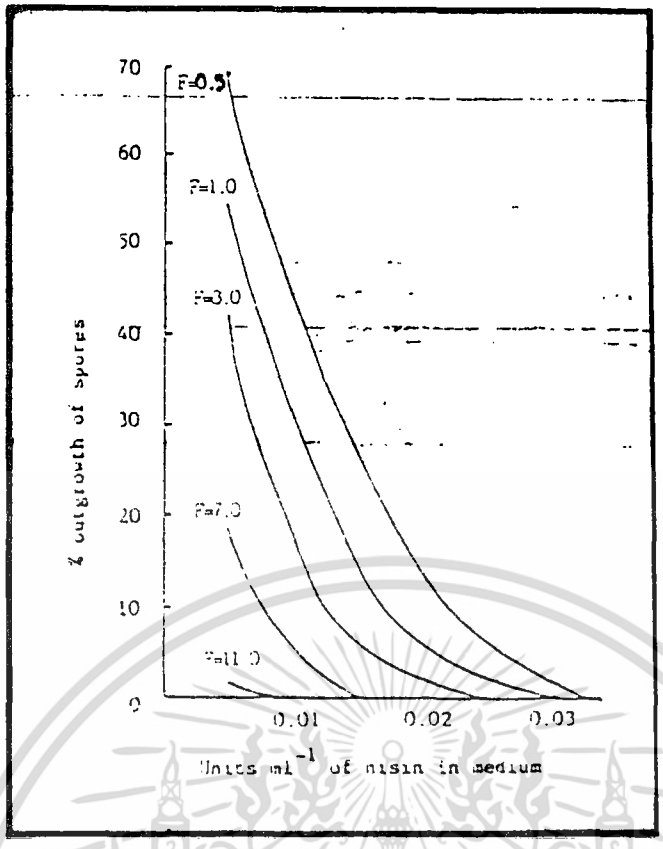
ภาพที่ 1 แสดงขั้นตอนการแตกตัวของสปอร์เป็น vegetative cell และการยับยั้งโดยไนซินและสารถนอมอาหารตัวอื่น ๆ

ที่มา : Lipinska , 1977

ลักษณะการเปิดของส่วนที่หุ้มสปอร์ (Spore-coat opening) จะเกี่ยวข้องกับความต้านทานต่อไนซิน เช่น สปอร์ของ B.subtilis ซึ่งเปิดส่วนที่หุ้มสปอร์ด้วยกลไกของความดัน Type M จะมีความไวต่อไนซินที่ปริมาณ 2-10 IU/ml ในขณะที่สปอร์ที่มีขนาดใหญ่ เช่น สปอร์ของ *B. cereus* ซึ่งเปิดspore coats โดยการแตกตัว (lysis) Type L จะมีความต้านทานต่อไนซินมากกว่า Type M ประมาณ 100 IU/ml

ไนซินจะไปลดความต้านทานความร้อนของสปอร์แบคทีเรีย ดังนั้นสปอร์ที่มีความไวต่อไนซินมากจะถูกทำลายด้วยความร้อนได้ดีขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าระดับความเข้มข้นของไนซินที่เพิ่มขึ้นมีผลทำให้สปอร์มีความต้านทานต่อความร้อนได้น้อยลง ดังแสดงในภาพที่ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไนซินกับระดับความร้อนที่ใช้ในการทำลายสปอร์ของ ***Bacillus stearothermophilus***

ที่มา : Lipinska , 1977

นอกจากนี้ยังพบว่าสารหรือวิธีการใดก็ตามที่มีผลทำให้เซลของแบคทีเรียและสปอร์ของมันบาดเจ็บและอ่อนแอลง สารนั้นจะไปเสริมฤทธิ์กับไนซินและมีผลไปเพิ่ม Activity ของไนซินในการทำลายพวกแบคทีเรียและสปอร์ได้ดีขึ้น เช่น รังสีแกรมม่า, polyphosphate ซึ่งใช้เป็น melting salt ในการทำ cheese และ NaCl (Lipinska,1977)

ในทางตรงกันข้ามไนซินจะถูกทำให้เสื่อมฤทธิ์โดยสารประกอบที่ทำให้การเจริญของสปอร์เพิ่มขึ้น ได้แก่ Mg^{+2} , Ca^{+2} และ ionmonosaccharide โดยเฉพาะกลูโคสและโพลีแซคคาไรด์ เป็นต้น

ไนซินสามารถป้องกันการเจริญเติบโตของสปอร์ของ *Clostridium botulinum* ได้ดี ซึ่งจะมีความไวต่อไนซินแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ โดย *C.botulinum* Type A จะมีความต้านทานต่อไนซินมากที่สุด รองลงมาคือ *C.botulinum* Type B และ E ตามลำดับ ซึ่งระดับต่ำสุดของที่สามารถยับยั้งการงอกสปอร์ของ *C.botulinum* ได้ 50 % บน TPYG Agar (Trypticase peptone Yeast extract Glucose Agar) Type A คือ 1000-2000 IU/ml , Type B คือ 500-1000 IU/ml ,

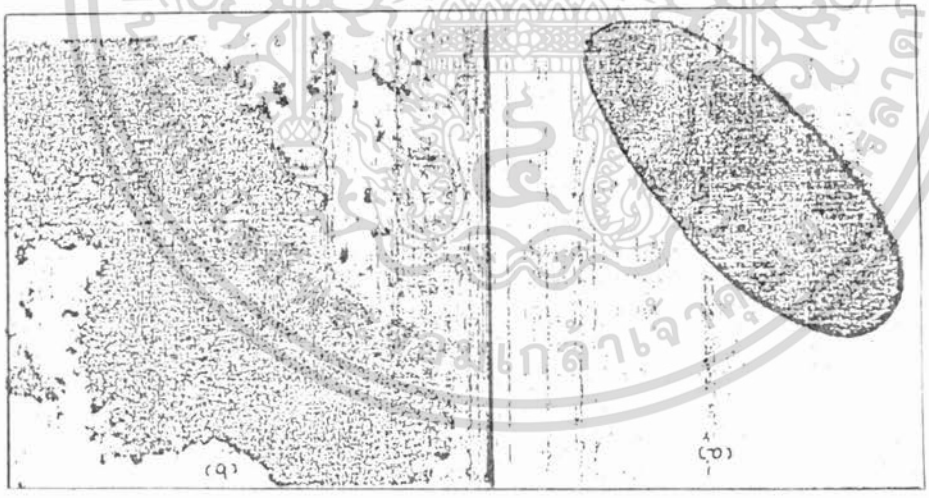
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Type E คือ 50-100 IU/ml นอกจากนี้ไนซินยังสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวได้อีกด้วย โดยปริมาณไนซินที่สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ใน Type G Broth สำหรับ Type A,B คือ500-2500 IU/ml และ Type E คือ 50-1000 IU/ml (Scott และคณะ , 1981) Denny และคณะ (1961) รายงานว่าไนซินปริมาณ 4000 IU/ml สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ *C. botulinum 62A* และ *213 B* ที่มีจำนวน 20000 สปอร์ / ml ใน Tryptose beef extract medium

จากที่กล่าวมาแล้วนั้นสรุปว่า ประสิทธิภาพในการยับยั้งสปอร์ของไนซินจะขึ้นอยู่กับชนิด สายพันธุ์ จำนวนของสปอร์ของแบคทีเรีย นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับอุณหภูมิของ Heat-Shock , pH , อุณหภูมิในการเก็บรักษา และองค์ประกอบที่มีอยู่ในอาหารหรืออาหารเลี้ยงเชื้อ

2.2.6 ผลของไนซินต่อเซลของแบคทีเรีย

Activity ของไนซินมีผลทำให้ *C. botulinum* เกิดการแตกตัว (lysis) โดยเฉพาะในช่วง logalithmic phase ซึ่งโดยไนซินจะไปมีผลต่อ cytoplasmic membrane ซึ่งเป็นส่วนที่ควบคุม Osmotic Pressure ภายในเซล หรือจะกล่าวได้ว่าออกฤทธิ์ทำลายแบคทีเรียของไนซินสามารถกระทำได้โดยไปเปลี่ยนแปลงแรงตึงผิว (surface tension) ของ cytoplasmic membrane ซึ่งจะไปมีผลต่อ permeability ของเซลทำให้เซลไม่สามารถควบคุมการเข้าออกของสารละลายหรือองค์ประกอบต่าง ๆ ทำให้เซลแลคทีเรียเกิดการ lysis ดังแสดงในภาพที่ 3



ภาพที่ 3 แสดง Activity ของไนซินในการทำให้ Vegetative cell ของ *C.butyricum* ที่มีอายุ 6 ชั่วโมง เกิดการlysis เมื่อ (a),(b) คือ Culture medium ที่มีการเติมไนซินและไม่มีการเติมไนซินตามลำดับ

ที่มา : Lipinska , 1977

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนี้ยังพบว่าไนซินมีผลไปยับยั้งการสร้าง Peptidoglycan ของแบคทีเรียบางชนิด เช่น B. sterothemophilus

2.2.7 ขอบเขตการออกฤทธิ์ยับยั้งไนซิน (Antimicrobial Properties)

ไนซินออกฤทธิ์คล้ายคลึงกับ Bacteriocin ชนิดอื่น ๆ คือ สามารถต่อต้านจุลินทรีย์เฉพาะแบคทีเรียแกรมบวกบางชนิดเท่านั้น ไนซินไม่สามารถยับยั้งพวก ยีสต์ หรือรา แต่สำหรับแบคทีเรียแกรมลบนั้น ไนซินจะสามารถยับยั้งพวกแบคทีเรียแกรมลบได้ก็ต่อเมื่อใช้ร่วมกับ Chelating agent ซึ่งได้แก่ EDTA (Ethylent diamine tetra acetic acid), Crtric acid เป็นต้น จากการทดลองพบว่า เมื่อใช้ไนซินประมาณ 50-100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ร่วมกับ EDTA หรือ Citric acid monohydrate ปริมาณ 20 mM ในสารละลาย Cell buffer สามารถยับยั้งพวกแบคทีเรียแกรมลบ ซึ่งได้แก่พวก *Salmonella spp* , *E.coli* เป็นต้น แต่ปริมาณของไนซิน 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร หรือปริมาณของ EDTA 20 mM เพียงอย่างใดอย่างหนึ่งที่เติมลงไปใน cell buffer ไม่สามารถ Inactivate แบคทีเรียแกรมลบได้ นอกจากนี้ยังพบว่าการเพิ่มอุณหภูมิมีผลทำให้แบคทีเรียแกรมลบไวต่อไนซินและ Chelator มากขึ้น การที่ Chelator มีผลทำให้ไนซินยับยั้งพวกแบคทีเรียแกรมลบได้เนื่องจากมันจะทำให้พวกแบคทีเรียแกรมลบเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างชั้นนอกของ Cell membrane และทำให้สารต่างๆภายในเซลถูกขับออกมานอกเซล ซึ่งได้แก่ lipopolysaccharides (LPS) ซึ่งพบว่าจะถูกปลดปล่อยออกมาบริเวณชั้นนอกของผนังเซลทันที 10-50 % พร้อมด้วยไขมันชนิดอื่น ๆ และโปรตีนอีกเล็กน้อย ซึ่งผลดังกล่าวทำให้ไนซินสามารถเข้าไปยับยั้งพวกแบคทีเรียแกรมลบได้ดีขึ้นส่วนพวกแบคทีเรียแกรมบวกจะมีความไวต่อฤทธิ์ของไนซินมากโดยเฉพาะพวกที่สามารถสร้างสปอร์ได้ แบคทีเรียแกรมบวกที่ไนซินออกฤทธิ์ยับยั้งได้แก่ *Staphylococcus spp., Streptococcus,Micrococcus, Lactobacillus, Corynebacterium* (Hurst,1981) , *Mycobacterium tuberculosis* และแบคทีเรียที่สามารถสร้างสปอร์ ได้แก่ Clostridium และ Bacillus ซึ่งสปอร์ของจุลินทรีย์เหล่านี้มีความไวต่อไนซินมากกว่า Vegetative cell นอกจากนี้ยังพบว่าไนซินสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในอาหารที่สำคัญคือ *Listeria monocytogenes* ซึ่งจุลินทรีย์นี้มักพบในผลิตภัณฑ์นม และยังสามารถรอดชีวิตจากกระบวนการผ่านความร้อนแบบ HTST (71.7 $^{\circ}$ C ,15 วินาที) ในการแปรรูปนม จากการทดลองได้สรุปว่าสายพันธุ์ของ Listeria ที่สามารถถูกยับยั้งโดยไนซินได้แก่สายพันธุ์ของ *L. monocytogenes, L. saligery, L. ivanovii* เป็นต้น สายพันธุ์เหล่านี้มีความไวต่อไนซินต่างกัน ระดับความเข้มข้นของไนซินต่ำสุดที่สามารถยับยั้งได้ (Minimum inhibitory concentrations, MIC) ขึ้นอยู่กับ substrate, pH , อุณหภูมิ และส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี pH ต่ำ จะทำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

97088

ให้ไนซินออกฤทธิ์ในการยับยั้ง Listeria ได้ดีกว่าที่ pH สูงและจากการทดลองพบว่า ไนซินปริมาณ 370 IU/ml สามารถยับยั้ง *Listeria monocytogenes* ได้อย่างสมบูรณ์ใน trypticasesoybroth (TSP) ที่ pH 3.5-7 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

นอกจากไนซินจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งพวกแบคทีเรียแกรมบวกดังที่กล่าวมาแล้ว ไนซินยังสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคเต้านมอักเสบในวัว ได้แก่ *Enterococcus faecalis spp. liquefacient, Staphylococcus aureus, Streptococcus agalactiae, S. equinus, S .dysgalactiae* และ *S. uberis* เป็นต้น แต่ไม่สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบพวก *E. coli* ได้

2.2.8 ประสิทธิภาพของไนซิน

1. pH ของ Substrate หรือ medium ที่ pH ต่ำ activity ของไนซินจะมากขึ้น

2. อุณหภูมิ ไนซินมีความคงตัวที่อุณหภูมิต่ำ ดังนั้นไนซินจะสามารถออกฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ต่าง ๆ ที่อุณหภูมิต่ำได้ดีกว่า

3.ชนิดและสายพันธุ์ของแบคทีเรีย เนื่องจากแบคทีเรียแต่ละชนิดจะมีความไวต่อการออกฤทธิ์ของไนซินไม่เท่ากันจึงมีผลทำให้ค่า MIC ของไนซินในแบคทีเรียแต่ละชนิดแตกต่างกันไปด้วย

4.องค์ประกอบต่างๆในอาหารเลี้ยงเชื้อ หรือในสภาพแวดล้อมที่มีไนซินอยู่ เป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อ activity ของไนซิน โดยพบว่าถ้าไนซินอยู่ในสารประกอบที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่ ๆ เช่นนม หรือ broth จะสูญเสีย activity มากกว่าใน Buffer ที่มีความเป็นกรดสูง นอกจากนี้ประสิทธิภาพของไนซินจะลดลงในอาหารที่มีไขมันสูง Jones (1974)ได้สังเกตว่าไนซินมีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *S. aureus* ใน skim milk ได้ดีกว่าใน whole milk ซึ่งกลไกที่ไขมันไปขัดขวาง activityของไนซินยังไม่เป็นที่แน่ชัด ทราบแต่เพียงว่าไขมันอาจจะไปรบกวนจุดที่ไนซินออกฤทธิ์คือที่ cytoplasmic membrane โดยปฏิกิริยาของไนซินนั้นจะมีผลต่อ Phospholipid component ใน cytoplasmic membrane ของแบคทีเรีย (Henning,1986) ดังนั้นการประยุกต์ใช้ไนซินในอาหารที่มีไขมันสูง เช่น ผลิตภัณฑ์นม จึงมีข้อจำกัดแต่ถ้าการเติม Emulsifier ลงไปจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของไนซินให้ดีขึ้น

2.2.9 ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพของไนซิน

ข้อพิจารณาที่สำคัญสำหรับการใช้ไนซินเป็นสารถนอมอาหารก็คือความสามารถในการละลาย (solubility) และความคงตัว (stability) ไนซินจะมีประสิทธิภาพมากที่สุดในสภาพที่มี pH เป็นกรด กล่าวคือไนซินจะสามารถละลายได้ดีที่สุดและมีความคงตัวมากที่สุดในสภาพที่มี pH ค่อนข้างต่ำ Hurst (1981) รายงานว่า ไนซินจะละลายได้ 12 % ที่ pH 2.5 และความสามารถในการละลายจะลดลงเมื่อ pH เพิ่มขึ้น โดยจะละลายได้เพียง 4 % ที่ pH 5.0 และเมื่อ pH เป็นกลาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไนซินจะละลายได้น้อยมาก ในทำนองเดียวกัน ไนซินจะคงตัวเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 115.6 องศาเซลเซียส ที่ pH 2 แต่จะสูญเสีย activity ไป 40% ที่ pH 5.0 และจะสูญเสีย activity เพิ่มเป็น 90% ที่ pH 6.8 เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิระดับเดียวกัน

ในการนำไนซินไปใช้เป็นสารถนอมอาหาร นอกจากจะต้องคำนึงถึงความสามารถในการละลาย และความคงตัวแล้ว สิ่งที่จะต้องคำนึงอีกประการหนึ่งก็คือ ส่วนประกอบของอาหาร ซึ่งปริมาณไขมันมีผลต่อประสิทธิภาพของไนซิน เนื่องจากในสภาพที่มีไขมันสูงจะทำให้ไนซินมี activity ลดลง Jone (1974) รายงานว่า ไนซินสามารถยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ในหางนมได้ดีกว่าในนมพร้อมมันเนย ทั้งนี้เนื่องจากในนมพร้อมมันเนยมีปริมาณไขมันสูงกว่า และเช่นเดียวกัน Jung และคณะ (1992) รายงานว่า activity ของไนซินจะลดลง 33 % เมื่อเติมไนซินลงในหางนม แต่เมื่อเติมไนซินลงในนมพร้อมมันเนยที่มีปริมาณไขมัน 12.9 % จะทำให้ activity ของไนซินลดลงมากถึง 88 % ซึ่งจะมีประสิทธิภาพต่ำมากในการยับยั้ง *Listeria monocytogenes*

ปัจจัยที่สำคัญอีกประการหนึ่ง ที่ควรคำนึงถึงเมื่อนำไนซินหรือไม่ว่าแบคเทอริโอซินชนิดใดก็ตามไปใช้กับอาหาร คือ แบคเทอริโอซิน เป็นโปรตีน ฉะนั้นจึงถูกทำลายได้โดยเอนไซม์ ฉะนั้นอาหารที่จะทำการเติมไนซินลงไปจึงไม่ควรจะมีเอนไซม์หลงเหลืออยู่ ไม่ว่าจะเป็นเอนไซม์ที่มีอยู่ในอาหารตามธรรมชาติ หรือเอนไซม์จากจุลินทรีย์ หรือเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยแบคเทอริโอซินชนิดใดชนิดหนึ่งโดยเฉพาะ เช่น เอนไซม์ nisinase ซึ่งได้จาก *Bacillus cereus* ทำหน้าที่ย่อยไนซิน นอกจากนี้ไนซินยังสามารถถูกย่อยโดยเอนไซม์ chymotrypsin ได้อีกด้วย

ส่วนข้อพิจารณาอื่น ๆ ในการนำไนซินหรือแบคเทอริโอซินชนิดอื่นไปใช้กับอาหารมีดังนี้ ประการแรก จะต้องไม่มีผลต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสของอาหาร ประการที่สองควรจะมีประสิทธิภาพแม้ว่าจะใช้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ ๆ เช่น ความเข้มข้นน้อยกว่า 0.1% ประการที่สาม ราคาแบคเทอริโอซินที่จะนำมาใช้ไม่ควรแพงเกินไป สามารถที่จะซื้อมาเติมลงในอาหารได้ และประการสุดท้ายจะต้องไม่เป็นพิษต่อคน

2.2.10 ความเป็นพิษและการนำไนซินมาใช้เป็นสารถนอมอาหาร (Toxicity and Legal Aspects rsing Nisin for food preservative)

1.ความเป็นพิษของไนซิน (Toxicity) โดยทั่วไปไนซินจะไม่ทำให้เกิดความเป็นพิษต่อร่างกายเนื่องจาก Lactic acid bacteria มีอยู่ตามธรรมชาติในนมดิบและเนยแข็ง ซึ่งมนุษย์ได้บริโภคกันมาเป็นเวลานานแล้ว จากการสำรวจนมดิบ 251 ตัวอย่าง(จาก 9 ประเทศ , 3ทวีป) พบว่า 109 ตัวอย่างมี *Lactobacillus lactis* ที่สามารถสร้างไนซินได้ แต่ก็มีรายงานในประเทศญี่ปุ่น) ซึ่งได้ทดสอบหาค่า LD_{50} (LD_{50} คือปริมาณของไนซินที่ทำให้สัตว์ทดลอง 50 ตัวใน 100 ตัว ตายลง) ของไนซินโดยทดสอบกับแมวและหนูพบว่า LD_{50} ของไนซินเท่ากับ LD_{50} ของเกลือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทั่วไป (common salt) คือเท่ากับ 7 กรัม/กิโลกรัมของน.น.ร่างกาย ดังนั้นจะเห็นได้ว่าไนซินมีความเป็นพิษต่ำหรือแทบจะไม่มีความเป็นพิษเลย

Lipinska (1977)ได้กล่าวถึงการทดสอบในประเทศรัสเซียเพื่อศึกษาความเป็นพิษของไนซินในการเป็นสารก่อมะเร็ง ผลต่อการสืบพันธุ์ ผลความเป็นพิษต่อไต เลือดและผลต่อความดันในร่างกาย ซึ่งจากการทดสอบดังกล่าวได้ยืนยันว่าไนซินไม่เป็นพิษต่อระบบต่าง ๆ ของร่างกาย นอกจากนี้ยังได้มีการศึกษาความเป็นพิษของไนซิน ณ. มหาวิทยาลัย Birmingham พบว่าไนซินไม่ทำให้เกิดความเป็นพิษใด ๆ ทั้งชนิดเฉียบพลันและเรื้อรัง แม้ว่าจะป้อนให้กับสัตว์ทดลองกินในระดับสูงถึง 100 เท่าก็ตาม

การทดลองด้านความเป็นพิษโดยการเติมไนซินที่มากเกินพอในอาหารพบว่าไนซินจะเสื่อมสลายไปอย่างรวดเร็วด้วย Enzyme ในน้ำลายและทำให้ไม่สามารถตรวจพบไนซินในน้ำลายของมนุษย์ ภายหลังการบริโภคอาหารที่ประกอบด้วยไนซินเป็นเวลา 10 นาที การศึกษาทางด้านจุลชีววิทยาก็ได้พบว่าไนซินไม่ทำให้จุลินทรีย์ที่มีอยู่ในร่างกายมนุษย์เกิดการดื้อยาปฏิชีวนะชนิดอื่น ๆ ไปด้วยเหมือนเช่นยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการบำบัดรักษาโรค

2. การอนุญาติให้ใช้ไนซินเป็นสารถนอมอาหาร (Legislation of Nisin for food Preservation)

ประเทศอังกฤษเป็นประเทศแรกที่อนุญาติให้นำไนซินมาใช้เป็นสารถนอมอาหารโดยไม่มีการจำกัดปริมาณการใช้หรือแจกแจงบนฉลาก แต่จะมีการควบคุมการใช้ไนซินในอาหารกระป๋องซึ่งผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนเพื่อทำลาย *Clostridium botylinum* เมื่อใช้ในอาหารกระป๋องจะทำให้ลดเวลาลงที่ใช้ในการฆ่าเชื้อเพื่อทำลาย ให้อยู่ในสภาพปลอดเชื้อทางการค้า จากการใช้เวลาในการฆ่าเชื้อตามปรกติที่ เหลือเพียง (คือเวลาที่ใช้ในการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ โดยทำการวัด ณ. จุดกึ่งกลางของกระป๋อง) หรือในอาหารที่มี 4.5 รวมทั้งการใช้ไนซินในการผลิตเนยแข็งและครีม

จากความร่วมมือกันระหว่าง FAOและ WHO ซึ่งได้ทดสอบความเป็นพิษของไนซินจนเป็นที่แน่ชัดแล้วว่ามีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค ดังนั้นในปี 1969 จึงได้ประกาศให้ใช้ไนซินเป็นสารถนอมอาหารได้ โดยที่ได้เสนอแนะว่าควรบริโภคไนซินในแต่ละวัน (average daily intake,ADI) ไม่เกิน 33000 IU/ก.ก.ของน.น.ร่างกาย (เมื่อไนซินบริสุทธิ์ 1 ไมโครกรัม = 40 IU) ซึ่งปริมาณของไนซินที่ใช้เป็นสารถนอมอาหารส่วนใหญ่อยู่ในช่วง 0-400 IU/กรัมของอาหาร นั้นคือปริมาณไนซินที่ใช้ในอาหาร 1 กรัม หรือ 10 ppm ดังนั้นคนที่มีน้ำหนักตัว 70 กิโลกรัม จะสามารถบริโภคไนซินได้ถึงวันละ 58 มิลลิกรัม และถ้าใช้ไนซินเป็นสารถนอมอาหารใน Process cheese (400IU/กรัมของเนยแข็ง) จะต้องรับประทาน cheese นี้ถึง 5.8 กิโลกรัมจึงจะทำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ แสวงหาผลประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ให้ได้รับในซันในปริมาณสูงสุดในแต่ละวันซึ่งไนซินที่ใช้ในอุตสาหกรรมส่วนใหญ่อยู่ในรูปของไนซินผงที่มีชื่อทางการค้าว่า "Nisaplin" ซึ่ง Nisaplin ประกอบด้วยไนซินบริสุทธิ์ 2.5 % และ Nisaplin 1 กรัมจะมีไนซินบริสุทธิ์ 1,000,000 IU

ปัจจุบันได้มีประเทศต่าง ๆ ประมาณ 47 ประเทศรวมทั้งประเทศที่สำคัญ ๆ คือ ประเทศอังกฤษ, อเมริกา, รัสเซีย รวมถึงประเทศไทยด้วยที่ยอมรับและอนุญาตให้ใช้ไนซินเป็นสารถนอมอาหารในผลิตภัณฑ์อาหารต่าง ๆ ซึ่งได้แสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงประเทศที่ได้มีการอนุญาตให้ใช้ไนซินเป็นสารถนอมอาหารในผลิตภัณฑ์อาหาร

Country	Food in which nisin is permitted	Maximum level of addition (IU nisin/g food product)	Country	Food in which nisin is permitted	Maximum level of addition (IU nisin/g food product)
Abu Dhabi	Pasteurized milk	No limit	Italy	Cheese	500
	Flavored milk			Canned vegetables	100
	Long-life milk			Confectionery creams	
	Processed cheese		Jordan	Processed cheese	500
	Cheese		Kuwait	Processed cheese	4,000
	Other dairy products		Malaysia	Canned foods & cheese	No limit
	Canned vegetables				
Argentina	Processed cheese	500	Malta	Same as United Kingdom	No limit
Australia	Cheese	No limit			
	Canned tomatoes		Mexico	Nisin is a permitted additive	500
	Canned tomato puree & paste		Netherlands	Factory cheese	500
	Canned soups			Quarg	
Bahrain	Pasteurized milk	No limit		Certain processed cheese	
	Flavored milk			Cheese powder	800
	Long-life milk		New Zealand	Processed cheese	500
	Processed cheese		Peru	Nisin is a permitted additive	No limit
	Other dairy products				
	Canned vegetables				
Belgium	Cheese	100	Philippines	Processed cheese	4,000
Bolivia	Use not prohibited in foods	No limit	Poland	Ripened natural cheese	4,000
Bulgaria	Cheese	200 mg/kg		Processed cheese	
	Ice for storing fresh fish		Portugal	Processed cheese	500
Chile	Food products	4,000	Qatar	Milk	No limit
Colombia	Processed cheese	500		Milk products	
Costa Rica	Cheese products	No limit	Saudi Arabia	Some foods & dairy products	No limit
Cyprus	Cheese	No limit			
	Clotted cream		Singapore	Cheese	No limit
	Canned vegetables			Canned foods	
Czechoslovakia	Bakery products & fillings	500	South Africa	Processed cheese products	500
	Mayonnaise			Some other cheeses	
	Processed cheese		Spain	Processed cheese	500
	Prepared foods		Sweden	Cheese & margarine cheese with fresh meat	500
	Semi-prepared foods				
	Canned vegetables			Processed cheese	
	Babyfoods—dairy & vegetable		Taiwan	Cheese	1,000
Dubai	Cheese	No limit	Thailand	Processed cheese	4,000
	Pasteurized milk		Trinidad	Canned foods	No limit
	Flavored milk			Cheese	
	Long-life milk			Clotted cream	
	Other dairy products		Turkey	Various cheeses	4,000
	Canned vegetables		United Kingdom	Cheese	No limit
Egypt	Processed cheese	500			
Eire	Processed cheese	500		Canned foods	
Finland	Processed cheese	480		Clotted cream	
France	Processed cheese	No limit	United States of America	Certain pasteurized process cheese spreads	10,000
Gibraltar	Same as United Kingdom	No limit			
Hong Kong	Same as United Kingdom	No limit	Uruguay	Processed cheese	4,000
India	Cheese	1,000	USSR	Dietetic processed cheese	8,000
	Processed cheese			Canned vegetable products	4,000

ที่มา : Anonymous (1989)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า
เจ้าคุณทหารลาดกระบัง

2.3 การใช้ไนซินในผลิตภัณฑ์อาหาร

1. เนยแข็ง ไนซินเป็นสารถนอมอาหารที่ดีในเนยแข็งแปรรูปที่ผ่านการ pasteurize แล้ว โดยปกติสปอร์ของแบคทีเรียจะอยู่ในเนยแข็งสดและสามารถทนความร้อนได้ถึง 85-100 องศาเซลเซียส ในระหว่างการทำให้ละลาย แบคทีเรียที่สร้างสปอร์และพบในเนยแข็ง ได้แก่ *Clostridium butyricum, C. tyrobutyricum* และ *C. sporogenes* นอกจากนี้ยังพบ *C. botulinum* ซึ่งสร้างสารพิษด้วยในเนยแข็งแปรรูป จากการทดลองของ Somers และ Taylor (1987) พบว่าไนซิน 500 - 10,000 IU/กรัม สามารถป้องกันการเจริญเติบโตและการผลิตสารพิษของ *C. botulinum* สายพันธุ์ A และ B ได้ ถ้าในกรณีที่ไม่สร้างสารพิษ ปริมาณไนซินที่ใช้อยู่ระหว่าง 250 - 500 IU/กรัม

2. Dairy desserts ไนซินสามารถขยายระยะเวลาการเก็บผลิตภัณฑ์ของหวานจากนมได้ (Anonymous, 1985) ซึ่งผลิตภัณฑ์ดังกล่าวไม่สามารถฆ่าเชื้อแบบ sterilization ได้ แต่ถ้าใช้แบบ pasteurization อายุการเก็บก็จะสั้น แต่ถ้าเติมไนซินด้วยจะทำให้ขยายระยะเวลาการเก็บได้ (Heineman และคณะ, 1965)

3. นม ยุโรปไม่อนุญาตให้ใช้ไนซินในนม เพราะอุณหภูมิทางยุโรปค่อนข้างต่ำ แต่อนุญาตให้ใช้ในประเทศตะวันออกกลางซึ่งอุณหภูมิค่อนข้างอบอุ่นหรือร้อน ดังนั้นไนซินสามารถช่วยยืดอายุการเก็บได้มากกว่า 2 เท่าของเวลาเดิม ปริมาณไนซินที่ใช้อยู่ระหว่าง 30 - 50 IU/กรัม (Anonymous, 1988)

นอกจากนี้ได้มีรายงานว่าไนซินสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ทนความร้อนสูงได้ (Wajid และ Kalra, 1976) และสามารถขยายอายุการเก็บของนมระเหยกระป๋องได้ดีอีกด้วย (Gregory และคณะ 1964)

4. อาหารกระป๋อง ในอาหารกระป๋องที่มีความเป็นกรด-ด่างสูงกว่า 4.5 จะต้องใช้ความร้อนในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *Clostridium botulinum* ($F_o = 3$, F_o เป็นระยะเวลา ณ อุณหภูมิ 121 ^{0}C ณ จุดกึ่งกลางกระป๋อง) แม้ว่า F_o จะมากกว่า 3 สปอร์ที่ทนความร้อนได้ เช่น *Bacillus stearothemophilus* และ*Clostridium thermosaccharolyticum* ยังคงอยู่ได้และทำให้อาหารกระป๋องเสื่อมเสียได้ โดยเฉพาะในกรณีที่เก็บ ณ อุณหภูมิค่อนข้างสูง ตัวอย่างอาหารกระป๋อง เช่น มันฝรั่งกระป๋อง , ถั่วกระป๋อง , เห็ดกระป๋อง (Heinermann และคณะ, 1965) และซุปกระป๋อง ความคงตัวและผลของไนซินจะเพิ่มขึ้น ถ้า pH ต่ำ (Scott & Taylor, 1981a, b) นอกจากในอาหารกระป๋องที่มีความเป็นกรด-ด่างสูงกว่า 4.5 แล้ว ไนซินยังสามารถใช้ได้กับอาหารกระป๋องที่มีความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่า 4.5 ได้อีกด้วย ซึ่งสามารถควบคุมแบคทีเรียแกรมบวกที่ทนกรดได้คือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Clostridiam pasteurianum และ *Bacillus marcerans* ในมะเขือเทศ ปริมาณไนซินที่เติมในอาหารกระป๋องอยู่ระหว่าง 100-200 IU/g

5. เครื่องดื่มอัลกอฮอล์ การค้นคว้าในอังกฤษและเยอรมัน พบว่าไนซินสามารถป้องกันการเสื่อมเสียของเบียร์จากแลคติกแอสิคแบคทีเรีย (Ogden และคณะ, 1988) และในไวน์ (Radler, 1990 a, b)

6. ผักดอง ปกติในการทำผักดอง ถึงแม้ว่าส่วนใหญ่จะได้ผลผลิตจากการหมักตามต้องการ แต่บางครั้งปัญหาการเจริญของแบคทีเรียชนิดที่ไม่ต้องการก็อาจเกิดขึ้นได้ จึงจำเป็นจะต้องควบคุมการหมักให้เหมาะสม (Daeschel และ Fleming, 1987) ได้กล่าวถึง การนำเชื้อ Starter ซึ่งเป็นเชื้อบริสุทธิ์ ชนิดที่สร้างแบคเทอริโอซินได้ มาใช้ในการผลิตผักดอง จากแนวความคิดนี้ทำให้ (Harris และคณะ 1992) ทดลองหมักน้ำกระหล่ำปลี โดยใช้เชื้อ 2 ชนิดร่วมกัน คือ *Lactococcus lactis* ที่สามารถผลิตไนซินได้ และ *Leuconostoc mesenteroides* ซึ่งสามารถต้านทานไนซินได้ดี ปรากฏว่าได้ผลเป็นที่น่าพอใจคือ *L.lactis* สามารถผลิตไนซินออกมาในระดับที่เพียงพอที่จะยับยั้ง *Lactobacillus planatarum* ซึ่งเป็นเชื้อที่ไม่ต้องการได้ และยังพบว่า ระดับของไนซินที่ *L. lactis* ผลิตขึ้นนี้ ไม่มีผลต่อ *L. mesenteroides* ในด้านของการเจริญ และการสร้างกรดในน้ำกระหล่ำปลีอีกด้วย

7. ผักกระป๋อง สำหรับการใช้ไนซินในผักกระป๋องนั้น ได้มีผู้ทำการทดลองในผลิตภัณฑ์ผักกระป๋องหลายชนิด และประสบความสำเร็จในการป้องกัน thermophilic spoilage โดยเชื้อต่าง ๆ เช่น *Cl. pasteurianum, Cl. butyricum, Cl. sporogenes, Cl. thermosaccharolyticum, B. stearothermophilus, B. coagulans* และ *B. subtilis* เป็นต้น ซึ่งผักกระป๋องที่ได้มีการทดลองใช้ไนซินในการยืดอายุการเก็บ ได้แก่ น้ำมะเขือเทศกระป๋อง มะเขือเทศในน้ำเกลือบรรจุกระป๋อง ถั่วลันเตากระป๋อง พริกกระป๋อง หน่อไม้ฝรั่งกระป๋อง มันฝรั่งกระป๋อง และซุปกระป๋อง เป็นต้น และสิ่งที่น่าสนใจจากผลการทดลองของหลาย ๆ ท่าน ซึ่งคล้ายคลึงกันก็คือ ระดับความเข้มข้นของไนซินที่ใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพในการยืดอายุการเก็บผักกระป๋อง จะไม่เกิน 2.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Fowler และGasson, 1991)

8. ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์และปลา ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์นั้นมีรายงานเกี่ยวกับการใช้ไนซินและการใช้ไนซินร่วมกับไนไตร์ท ซึ่งได้ผลดีในการยืดอายุการเก็บผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์หลายชนิด เช่น แฮม เบคอน ไส้กรอก และ pork slurry เป็นต้น ซึ่งไนซินสามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus, Cl. botulinum, Cl. perfringens* ได้สำเร็จ แต่ระดับของไนซินที่ใช้ได้ดีในผลิตภัณฑ์เนื้อแต่ละชนิดนั้นแตกต่างกันออกไป ขึ้นอยู่กับชนิดของแบคทีเรียที่ไปยับยั้ง และธรรมชาติของผลิตภัณฑ์เนื้อแต่ละชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับในผลิตภัณฑ์ปลากนั้น มีผู้เชี่ยวชาญหลายท่านพยายามที่จะประเมินประสิทธิภาพของไนซินในผลิตภัณฑ์ปลา ทั้งนี้อาจจะเป็นเพราะการเน่าเสียของปลาสดที่อุณหภูมิแช่เย็นนั้น มีสาเหตุมาจากแบคทีเรียแกรมบวก ฉะนั้น จึงมีผู้ทดลองใช้ปลา cod ปลา herring และปลา mackerel รมควันก่อนที่จะบรรจุในสภาพปรับบรรยากาศ สามารถชะลอการสร้างสารพิษจากแบคทีเรียในปลาได้ (Fowler และ Gasson, 1991)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ : น้ำนมดิบ จากเกษตรกรรายย่อย สหกรณ์โคนมขุมทอง หัวตะเข้

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. Hot plate
2. Hot air oven
3. Incubator
4. Autoclave
5. Auto micro pipette
6. Pipette
7. Magnetic stirrer
8. Erlenmeyer flask
9. Plate , pipette
10. Cylinder

3.3 สารเคมี

1. Nisin
2. BPB agar (Baird-Parker Agar Base)
3. PCA (Plate Count Agar)
4. BA (Blood Agar)
5. VRB (Violet Red Bile Agar)
6. EY Bactotellulite
7. เลือดแกะ

3.4 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

ตอนที่ 1 การเตรียมสารละลายไนซิน

ชั่งไนซิน 500 มิลลิกรัม เติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.02 N 50 มิลลิลิตร จะได้ระดับความเข้มข้นไนซิน 400,000 IU/ml (Stock I) จากนั้นนำสารละลายไนซิน Stock I มา 2 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นลงไป 18 มิลลิลิตรจะได้สารละลายไนซินที่มีระดับความเข้มข้น 40,000 IU/ml (Stock II) เพื่อนำมาเตรียมน้ำนมดิบที่มีระดับความเข้มข้นของไนซินต่างๆตามต้องการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตอนที่ 2 การเตรียมน้ำนมดิบที่ระดับความเข้มข้นของไนซินต่าง ๆ

นำสารละลายไนซิน Stock II มาเตรียมสารละลายไนซินที่ความเข้มข้น 50, 100, 150, 200 และ 250 IU/ml ด้วยน้ำนมดิบ ดังแสดงปริมาณในตารางที่ 5 แบ่งตัวอย่างนมเก็บใส่ขวดความเข้มข้นละ 5 ขวด

ตารางที่ 5 แสดงปริมาณสารละลายไนซิน Stock II ในการเตรียมน้ำนมดิบที่มีความเข้มข้นของไนซินระดับต่าง ๆ

อัตราส่วน	ปริมาตร Stock II (ml)	ปริมาตรนม (ml)	ปริมาตรรวม (ml)	ระดับความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml)
1:800	1.25	998.75	1000	50
1:400	2.5	997.5	1000	100
1:266.7	3.75	996.25	1000	150
1:200	5	995	1000	200
1:160	6.25	993.75	1000	250

ตอนที่ 3 การตรวจคุณภาพทางจุลินทรีย์

นำตัวอย่างนมดิบภายหลังการเก็บที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 3, 5, 7และ 9 วัน ตามลำดับ มาตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์ โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อและวิธีการดังตารางที่ 6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 แสดงวิธีการตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์ต่าง ๆ ชนิดอาหารเลี้ยงเชื้อ อุณหภูมิและระยะเวลาในการบ่ม

ชนิดของจุลินทรีย์	ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ	วิธีการ	การบ่ม	
			อุณหภูมิ (oC)	เวลา (ชั่วโมง)
Staphylococcus aureus	Baird-Parker Agar Base	Spread Plate	37	24-48
Coliform	Violet Red Bile Agar	Shake Plate	30	24-48
β-heamolysin Streptococcus	Blood Agar	Shake Plate	37	48
Total bacteria	Plate Count Agar	Spread Plate	30	48

นำค่าจุลินทรีย์ที่นับได้มาวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณไนซินที่เหมาะสม

ตอนที่ 4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

นำค่าจุลินทรีย์แต่ละชนิดที่นับได้มาวิเคราะห์หาความแตกต่างในการยับยั้งการเจริญจุลินทรีย์ (Inhibitory effect) ของไนซินแต่ละระดับความเข้มข้น โดยการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของจำนวนจุลินทรีย์ที่นับได้จากน้ำนมดิบที่มีไนซินในระดับความเข้มข้นต่าง ๆและระยะเวลาในการเก็บน้ำนมดิบต่าง ๆ กัน ตามวิธีของ Duncan ' s New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก. น้ำนมดิบที่มีความเข้มข้นไนซินที่จะต้องการทำการ Spread plate

ข. หยดน้ำนมดิบ 0.1 มิลลิลิตร ลงบนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค. ฆ่าเชื้อแท่งแก้วงอที่ใช้ในการ Spread plate

ง. ทำการ Spread น้ำนมดิบให้ทั่วผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ

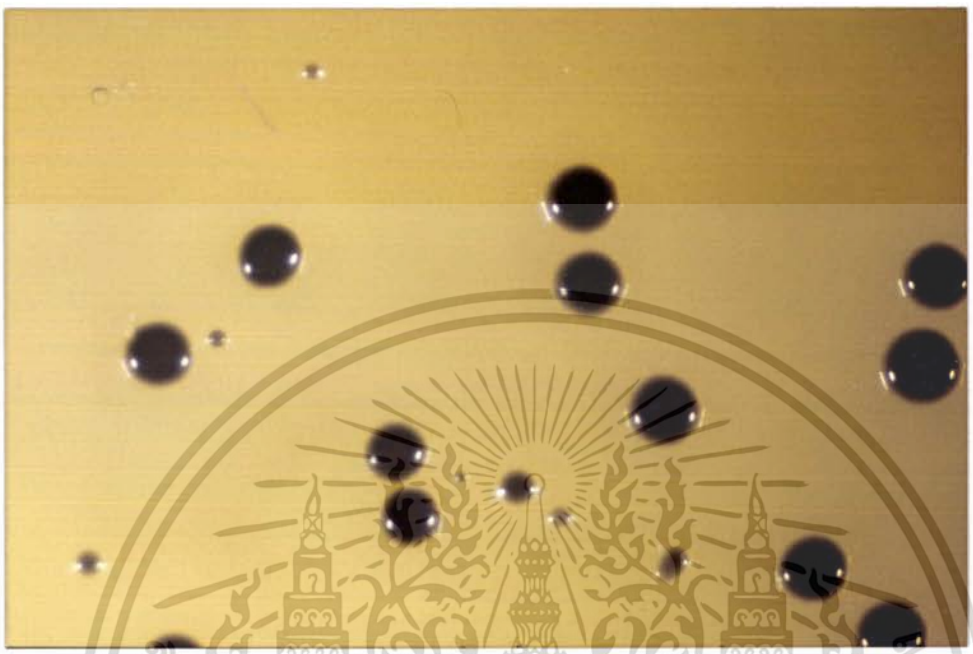
ภาพที่ 4 แสดงขั้นตอนต่าง ๆ ในการ Spread plate น้ำนมดิบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก. แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA

ข. แสดงลักษณะโคโลนีของ Coliform bacteria บนอาหารเลี้ยงเชื้อ VRBA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ค. แสดงลักษณะโคโลนีของ Staphylococcus aureus บนอาหารเลี้ยงเชื้อ BPB

ง. แสดงลักษณะโคโลนีของ β- hemolysin Streptococcus บนอาหารเลี้ยงเชื้อ BA

ภาพที่ 5 แสดงลักษณะของเชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆ ในน้ำนมดิบบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลและวิจารณ์การทดลอง

4.1 ค่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Bacterial Cout)

จากการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่พบในน้ำนมดิบที่ไม่ได้เติมไนซินและที่เติมไนซินที่ความเข้มข้น 50, 100, 150, 200 และ 250 IU/ml ภายหลังการเก็บน้ำนมดิบไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0 , 3 , 5 , 7 และ 9 วัน ค่าเฉลี่ยของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 แสดงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในน้ำนมดิบที่ความเข้มข้นไนซินต่างๆ กันที่ระยะเวลาการเก็บต่างกัน

ระยะเวลาในการเก็บ(วัน)	จำนวนจุลินทรีย์(cfu/ml)ในน้ำนมดิบที่มีไนซินในระดับความเข้มข้นต่างๆกัน(IU/ml)					
	0	50	100	150	200	250
0	$4.38x10^5$ a*	$4.26x10^5$ a	$4.31x10^5$ a	$4.67x10^5$ a	$4.0x10^5$ a	$4.13x10^5$ a
3	$1.68x10^6$ a	$1.44x10^6$ ab	$1.0x10^6$ ab	$8.5x10^4$ ab	$7.2x10^5$ b	$6.9\ x10^5$ b
5	$3.47x10^8$ a	$3.96x10^6$ b	$3.2\ x10^6$ b	$3.4x10^6$ b	$3.6x10^6$ b	$3.8x10^6$ b
7	$7.9x10^6$ a	$2.68x10^5$ b	$2.49x10^5$ b	$2\ x\ 10^5$ b	$1.9x10^5$ b	$2.1x10^5$ b
9	$1.63x10^6$ a	$4.66x10^4$ b	$3.47x10^4$ b	$3.6x10^4$ b	$3.4x10^4$ b	$4.7x10^4$ b

* อักษรที่ต่างกันของแต่ละแถวในแนวนอนแสดงว่ามีค่าที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 % ด้วยวิธี DMRT

จากตารางที่7 พบว่า ค่าเฉลี่ยของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่พบในน้ำนมที่ไม่ได้เติมไนซินและที่เติมไนซินที่ความเข้มข้นของไนซิน 50 , 100 , 150 , 200 และ 250 IU/ml ภายหลังการเก็บที่ 0 วัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

และเมื่อเก็บตัวอย่างน้ำนมดิบเป็นระยะเวลา 3 วัน พบว่าน้ำนมดิบที่ไม่ได้เติมไนซินมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดมากกว่าน้ำนมดิบที่มีไนซินที่ความเข้มข้น 200 IU/ml และ 250 IU/ml อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 99 % แต่จะไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับจำนวนจุลินทรีย์ที่พบในระดับความเข้มข้นอื่น ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

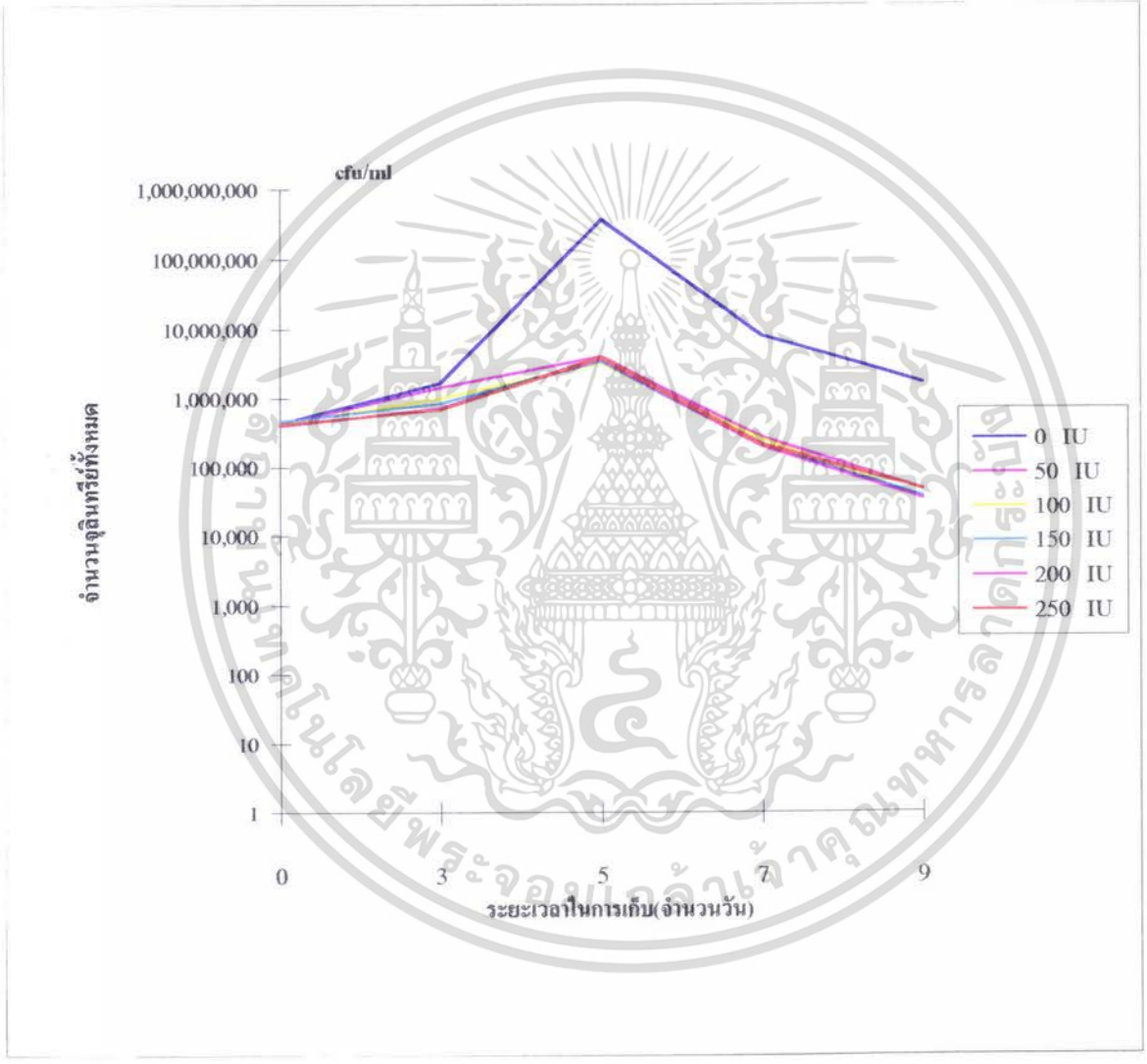
ภายหลังการเก็บน้ำนมดิบเป็นระยะเวลา 5 วัน พบว่านำ้นมที่ไม่ได้เติมไนซินมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดมากกว่าน้ำนมดิบที่เติมไนซินที่ความเข้มข้น 50 , 100 , 150, 200 และ 250 IU/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

และที่ระยะเวลา 7 วัน พบว่านำ้นมดิบทั้งหมดเริ่มเป็นลิ่มซึ่งนำ้นมที่ไม่ได้เติมไนซินมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดมากกว่าตัวอย่างน้ำนมดิบที่เติมไนซินที่ความเข้มข้น 50 ,100 , 150, 200 และ 250 IU/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระดับความเชื่อมั่น 99 %

จากผลการทดลองเมื่อเก็บตัวอย่างน้ำนมดิบเป็นระยะเวลา 9 วัน พบว่านำ้นมดิบที่ไม่ได้เติมไนซินมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดมากกว่าตัวอย่างน้ำนมดิบที่เติมไนซินที่ความเข้มข้น 50 , 100 , 150 , 200 และ 250 IU/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่พบในน้ำนมดิบตัวอย่างที่ระดับความเข้มข้นไนซินต่างๆ กัน เมื่อทำการเก็บไว้ที่ระยะเวลา 0 , 3 , 5 , 7 และ 9 วันตามลำดับ สามารถแสดงกราฟการเพิ่มและลดของจำนวนจุลินทรีย์ได้ดังภาพที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 6 กราฟแสดงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในน้ำนมดิบที่เติมไนซินที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ที่ระยะเวลาการเก็บต่าง ๆ กัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 จำนวน Coliform ในน้ำนมดิบ

จากการตรวจนับจำนวน Coliform ที่พบในน้ำนมดิบที่ไม่ได้เติมไนซินและที่เติมไนซินที่ความเข้มข้น 50 , 100 , 150 , 200 และ 250 IU/ml พบว่าภายหลังการเก็บน้ำนมดิบที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 3 , 5 , 7 และ 9 วัน มีค่าเฉลี่ยของจำนวน Coliform ดังแสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 แสดงจำนวน Coliform ในน้ำนมดิบที่ความเข้มข้นไนซินต่างๆ กันที่ระยะเวลาการเก็บต่าง ๆ กัน

ระยะเวลา	จำนวนจุลินทรีย์(cfu/ml)ในน้ำนมดิบที่เติมไนซินที่ระดับความเข้มข้น(IU/ml)					
การเก็บ(วัน)	0	50	100	150	200	250
0	71 a	73.4 a	33.6 a	38.3 a	34.3 a	46.7 a
3	147.7 a	101.7 a	75.3 a	94.3 a	78.7 a	89 a
5	24 a	20.7 a	17.7 a	18.7 a	14 a	13.3 a
7	14.7 a	9 a	10.3 a	9 a	14.3 a	9.3 a
9	7.7 a	6.3 a	4 a	5.3 a	11 a	5.3 a

* อักษรที่ต่างกันของแต่ละแถวในแนวนอนแสดงว่ามีค่าที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 % ด้วยวิธี DMRT

จากผลการทดลองพบว่าภายหลังการเก็บ 0 วัน ค่าเฉลี่ยของจำนวน Coliform ที่พบในน้ำนมดิบที่ไม่ได้เติมไนซินและที่เติมไนซินที่ความเข้มข้น 50, 100, 150, 200 และ 250 IU/ml ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

เมื่อเก็บตัวอย่างน้ำนมดิบเป็นระยะเวลา 3 วัน พบว่านมดิบที่ไม่ได้เติมไนซินมีจำนวน Coliform ที่พบไม่แตกต่างจากที่พบในตัวอย่างน้ำนมดิบที่เติมไนซินที่ความเข้มข้น 50, 100, 150, 200 และ 250 IU/ml โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

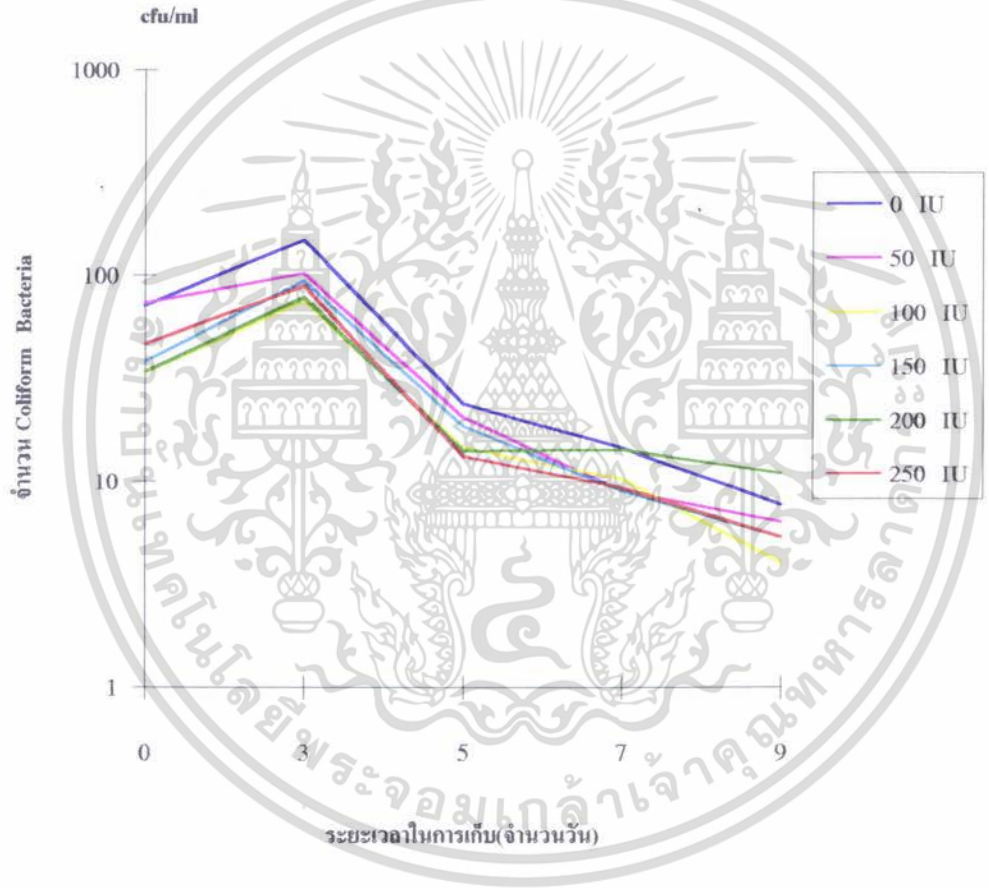
และที่ระยะเวลาการเก็บ 5 วัน พบว่าค่าเฉลี่ยของจำนวน Coliform ที่พบในน้ำนมที่ไม่ได้เติมไนซินและที่เติมไนซินที่ความเข้มข้นของไนซิน 50, 100, 150, 200 และ 250 IU/ml ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 % ซึ่งค่าเฉลี่ยของจำนวน Coliform ในน้ำนมที่ไม่ได้เติมไนซินและที่เติมไนซินที่ความเข้มข้นของไนซิน 50, 100, 150, 200 และ 250 IU/ml ภายหลังการเก็บเป็นระยะเวลา 7 วัน นั้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และภายหลังการเก็บนมดิบ 9 วัน ค่าเฉลี่ยของจำนวน Coliform ที่พบในน้ำนมดิบที่ไม่ได้เติมไนซินและที่เติมไนซินที่ความเข้มข้นของไนซิน 50 , 100 , 150 , 200 และ 250 IU/ml ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

จำนวน Coliform ทั้งหมดที่พบในน้ำนมดิบตัวอย่างที่ระดับความเข้มข้นไนซินต่างๆ กัน เมื่อทำการเก็บไว้ที่ระยะเวลา 0, 3, 5, 7 และ 9 วันตามลำดับ สามารถแสดงกราฟการเพิ่มและลดของจำนวน Coliform bacteria ได้ดังภาพที่ 5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 7 กราฟแสดงจำนวน Coliform ในน้ำนมดิบที่เติมไนซินที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ที่ระยะเวลาการเก็บต่าง ๆ กัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 จำนวน *Stapphylococcus aureus* ในน้ำนมดิบ

จากผลการตรวจนับจำนวน *Stapphylococcus aureus* ที่พบในน้ำนมดิบที่ไม่ได้เติมไนซิน และที่เติมไนซินที่ความเข้มข้น 50, 100, 150, 200 และ 250 IU/ml พบว่าภายหลังการเก็บนมดิบไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 3, 5, 7 และ 9 วัน ค่าเฉลี่ยของจำนวน *Stapphylococcus aureus* ที่พบสามารถแสดงในดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 แสดงจำนวน *Stapphylococcus aureus* ในน้ำนมดิบที่มีความเข้มข้นไนซินต่างๆ กัน ที่ระยะเวลาการเก็บต่างกัน

ระยะเวลา	จำนวนเชื้อ *S.aureus* (cfu/ml)ในน้ำนมดิบที่มีไนซินในความเข้มข้นต่างๆ(IU/ml)					
การเก็บ(วัน)	0	50	100	150	200	250
0	$7.81x10^{3}$ a	$6.06 x10^{3}$ a	$7.8x10^{3}$ a	$7.4x10^{3}$ a	$4.1x10^{3}$ a	$5.4x10^{3}$ a
3	$1.4x10^{5}$ a	$7.9x 10^{4}$ b	$7.7x 10^{4}$ b	$3.2 x10^{4}$ c	$2.3 x 10^{4}$ c	$4.2 x10^{3}$ c
5	$1.28x10^{4}$ a	$5.6 x10^{3}$ b	$2.0x10^{3}$ c	84 c	65.6 c	57 c
7	$8.6 x10^{4}$ a	$1.91x10^{4}$ b	$1.42x10^{4}$ bc	$2.65x10^{3}$ cd	$4.6x10^{3}$ cd	$5.11x10^{3}$ d
9	$1.4x10^{5}$ a	$2.1 x10^{3}$ b	$3.2x10^{3}$ b	53 b	$1.8 x10^{2}$ b	$4.96x10^{2}$ b

* อักษรที่ต่างกันของแต่ละแถวในแนวนอนแสดงว่ามีค่าที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 % ด้วยวิธี DMRT

จากการทดลองพบว่าภายหลังการเก็บน้ำนมดิบเป็นเวลา 0 วัน พบว่าค่าเฉลี่ยของจำนวน *Stapphylococcus aureus* ที่พบในน้ำนมที่ไม่ได้เติมไนซินและที่เติมไนซินที่ความเข้มข้น 50, 100, 150, 200 และ 250 IU/ml ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

และเมื่อเก็บตัวอย่างน้ำนมดิบเป็นระยะเวลา 3 วัน พบว่านำ้นมดิบที่ไม่ได้เติมไนซินมีจำนวน *Stapphylococcus aureus* มากกว่าในน้ำนมดิบที่เติมไนซินที่ความเข้มข้น 50, 100, 150, 200 และ 250 IU/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 % ในขณะที่จำนวน *Stapphylococcus aureus* ที่ระดับความเข้มข้น 50 IU/ml และ 100 IU/ml ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่จะมีความแตกต่างจากจำนวนที่พบในระดับความเข้มข้น 150, 200 และ 250 IU/ml โดยจะแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

ภายหลังการเก็บน้ำนมดิบเป็นระยะเวลา 5 วัน พบว่าน้ำนมดิบที่ไม่ได้เติมไนซินมีจำนวน *Stapphylococcus aureus* มากกว่าในน้ำนมดิบที่เติมไนซินที่ความเข้มข้น 50, 100, 200

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

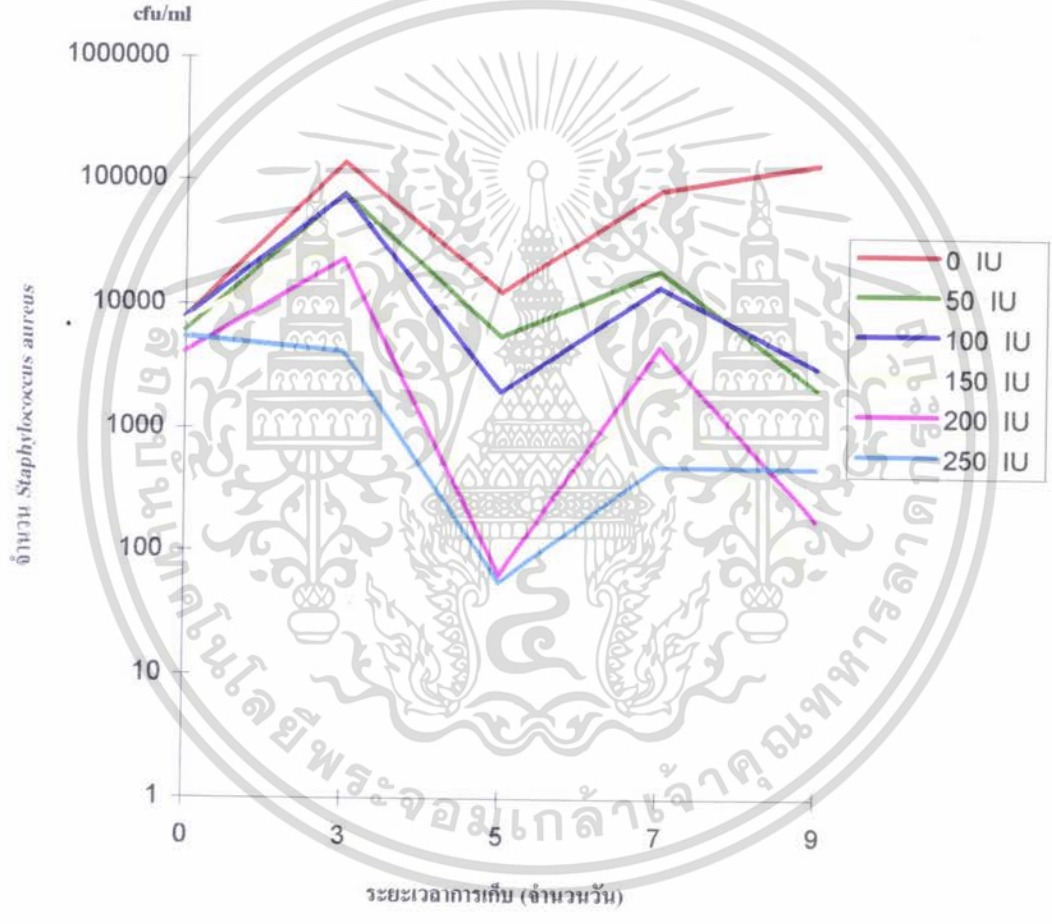
และ 250 IU/ml อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 99 % เช่นเดียวกัน และที่ความเข้มข้นของไนซินเท่ากับ 50 IU/ml จะมีจำนวนแตกต่างกับที่ความเข้มข้น 100, 150, 200 และ 250 IU/ml โดยจะแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 % ในขณะที่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างน้ำนมดิบที่เติมไนซินที่ความเข้มข้น 100, 150, 200 และ 250 IU/ml

ที่ระยะเวลาการเก็บ 7 วัน พบว่านมดิบที่ไม่ได้เติมไนซินมีจำนวน *Stapphylococcus aureus* มากกว่าน้ำนมดิบที่เติมไนซินที่ความเข้มข้น 50 , 100 , 200 และ 250 IU/ml เช่นเดียวกัน และที่ความเข้มข้นของไนซิน 50 IU/ml จะมีจำนวนแตกต่างจากที่ความเข้มข้น 150, 200 และ 250 IU/ml โดยแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 % ในน้ำนมดิบที่เติมไนซินที่ความเข้มข้นเท่ากับ 100 และ 250 IU/ml จะมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %ในขณะที่ในนมดิบที่มีความเข้มข้นของไนซินเท่ากับ 100, 150 และ 200 IU/ml ไม่มีความแตกต่างกัน และที่ความเข้มข้น 150, 200 และ 250 IU/ml ไม่มีความแตกต่างเช่นกัน

ภายหลังการเก็บน้ำนมดิบเป็นระยะเวลา 9 วัน พบว่าน้ำนมดิบที่ไม่ได้เติมไนซินมีจำนวน *Stapphylococcus aureus* ต่างจากที่พบในน้ำนมดิบที่เติมไนซินที่ความเข้มข้น 50 , 100 ,150 , 200 และ 250 IU/ml โดยมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

จำนวน *Stapphylococcus aureus* ทั้งหมดที่พบในน้ำนมดิบตัวอย่างที่ระดับความเข้มข้นไนซินต่างๆ กัน เมื่อทำการเก็บไว้ที่ระยะเวลา 0, 3, 5, 7 และ 9 วันตามลำดับ ดังได้แสดงในภาพที่ 6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 8 กราฟแสดงจำนวน Staphylococcus aureus ในน้ำนมดิบที่เติมไนซินที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ที่ระยะเวลาการเก็บต่าง ๆ กัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 จำนวน β - *hemolysin Streptococcus* ในน้ำนมดิบ

จากการตรวจนับจำนวน β -*hemolysin Streptococcus* ที่พบในน้ำนมดิบที่ไม่มีการเติมไนซินและที่เติมไนซินที่ความเข้มข้นของไนซิน 50, 100, 150, 200 และ 250 IU/ml พบว่าภายหลังการเก็บน้ำนมดิบไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 3, 5, 7 และ 9 วัน ค่าเฉลี่ยของจำนวน β - *hemolysin Streptococcus* ที่พบแสดงดังตารางที่ 10

ตารางที่ 10 แสดงจำนวน β - *hemolysin Streptococcus* ในน้ำนมดิบที่มีความเข้มข้นไนซินต่างๆ กัน ที่ระยะเวลาการเก็บต่างกัน

ระยะเวลาการเก็บ(วัน)	จำนวนเชื้อ β - *hemolysin Streptococcus* (cfu/ml) ในน้ำนมดิบที่มีไนซินที่ความเข้มข้นต่างๆ(IU/ml)					
	0	50	100	150	200	250
0	3.63×10^3 a	3.17×10^3 a	2.8×10^3 ab	2.7×10^3 ab	3.7×10^3 ab	1.9×10^3 b
3	4.3×10^3 a	3.6×10^3 b	3.1×10^3 b	3.1×10^3 b	9.0×10^2 c	6.3×10^2 c
5	3.48×10^3 a	7.0×10^2 b	5.34×10^2 b	5.5×10^2 b	65.6 b	57 b
7	2.2×10^3 a	1.08×10^3 b	4.15×10^2 c	3.45×10^2 c	1.8×10^2 c	3.75×10^2 c
9	5.07×10^2 a	3.66×10^2 b	88 b	1.4×10^2 b	62 b	1.75×10^2 b

* อักษรที่ต่างกันของแต่ละแถวในแนวนอนแสดงว่ามีค่าที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 % ด้วยวิธี DMRT

จากผลการทดลองพบว่าค่าเฉลี่ยของจำนวน β - *hemolysin Streptococcus* ที่พบในน้ำนมดิบที่ไม่ได้เติมไนซินและที่เติมไนซินความเข้มข้น 50, 100 , 150 และ 200 IU/ml ภายหลังการเก็บ 0 วัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 % แต่ในน้ำนมดิบที่ไม่ได้เติมไนซินและที่ความเข้มข้นไนซินเท่ากับ 50 และ 200 IU/ml จะมีจำนวน β - *hemolysin Streptococcus* มากกว่าที่ความเข้มข้นไนซิน 250 IU/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 % ในขณะที่จำนวน β - *hemolysin Streptococcus* ที่พบในน้ำนมที่มีความเข้มข้นไนซินเท่ากับ 100 และ 150 IU/ml จะไม่แตกต่างจากที่พบที่ความเข้มข้น 250 IU/ml

และจากผลการทดลองเมื่อเก็บตัวอย่างน้ำนมดิบเป็นระยะเวลา 3 วัน พบว่านมดิบที่ไม่ได้เติมไนซิน มีจำนวน β - *hemolysin Streptococcus* มากกว่าที่พบในน้ำนมดิบที่เติมไนซินที่ความเข้มข้น 50 ,100 ,150 , 200 และ 250 IU/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเชื่อมั่น 99 % ในขณะที่จำนวน β - *hemolysin Streptococcus* ในน้ำนมดิบที่ความเข้มข้นของไนซินเท่ากับ 50 และ 100 IU/ml จะไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่จะมีความแตกต่างจากจำนวนที่พบในนมดิบที่มีความเข้มข้นของไนซินเท่ากับ 150, 200 และ 250 IU/ml โดยจะแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

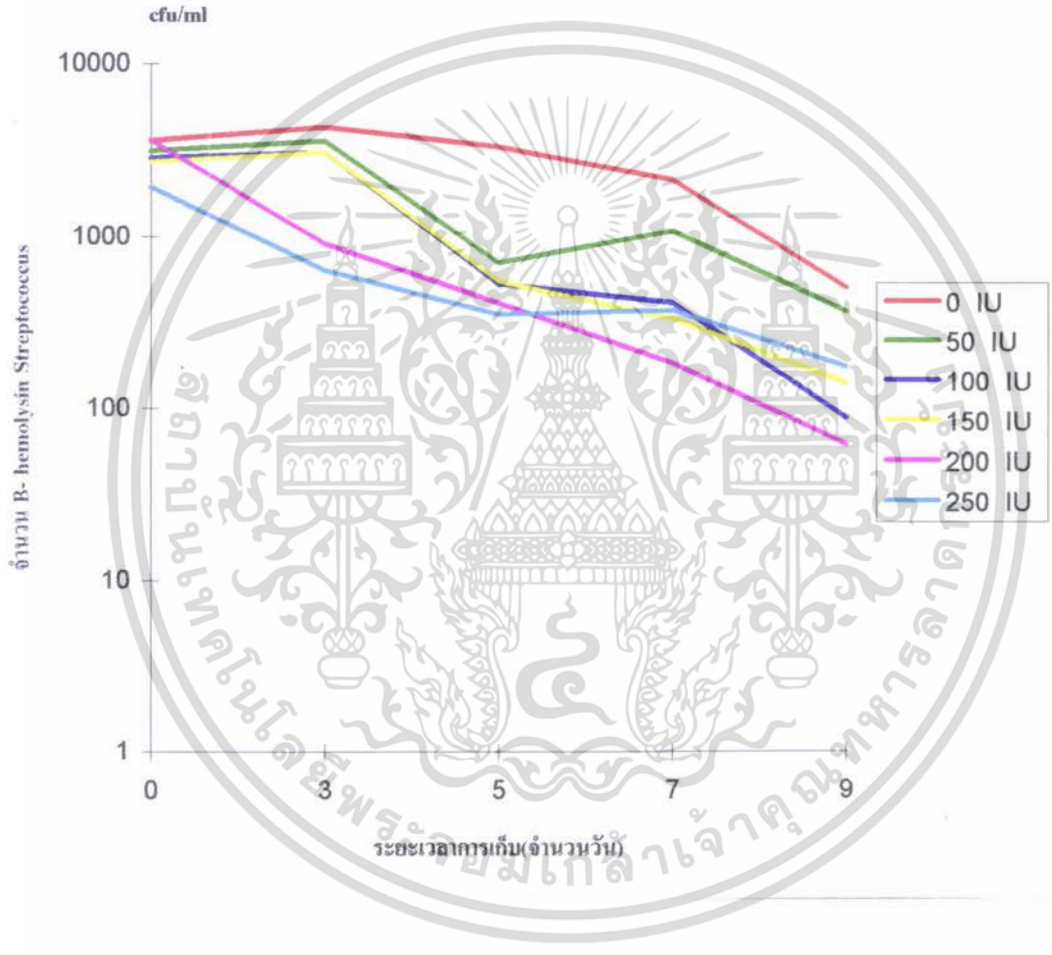
และที่ระยะเวลาการเก็บ 5 วัน พบว่านมดิบที่ไม่ได้เติมไนซินมีจำนวน β - *hemolysin Streptococcus* มากกว่าที่พบในน้ำนมดิบที่เติมไนซินเข้มข้น 50 , 100 , 150 , 200 และ 250 IU/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

ที่ระยะเวลาการเก็บ 7 วัน พบว่านมดิบที่ไม่ได้เติมไนซินมีจำนวน β - *hemolysin Streptococcus* มากกว่าที่พบในน้ำนมดิบที่เติมไนซินเข้มข้น 50 , 100 , 150 , 200 และ 250 IU/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 % และที่ความเข้มข้นไนซิน 50 IU/ml จะมีจำนวน β - *hemolysin Streptococcus* แตกต่างจากที่ความเข้มข้น 100 , 150 ,200 และ 250 IU/ml โดยแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 % ในขณะที่ความเข้มข้นของไนซินเท่ากับ 100 , 150 , 200 และ 250 IU/ml ไม่มีความแตกต่างกัน

ที่ระยะเวลาการเก็บ 9 วัน พบว่านมดิบที่ไม่ได้เติมไนซินมีจำนวน β - *hemolysin Streptococcus* มากกว่าที่พบในน้ำนมดิบที่เติมไนซินเข้มข้น 50 , 100 , 150 , 200 และ 250 IU/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 % และที่ความเข้มข้นของไนซินเท่ากับ 50 IU/ml จะมีจำนวน β - *hemolysin Streptococcus* ต่างจากที่ความเข้มข้น 100 , 150 , 200 และ 250 IU/ml โดยแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 % และนมดิบที่มีความเข้มข้นของไนซิน 200 IU/ml จะมีจำนวน β - *hemolysin Streptococcus* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 % กับนมดิบที่มีไนซินเข้มข้น 250 IU/ml ในขณะที่ไม่มีความแตกต่างกับความเข้มข้น 100 และ 150 IU/ml

จำนวน β - *hemolysin Streptococcus* ทั้งหมดที่พบในน้ำนมดิบตัวอย่างที่ระดับความเข้มข้นไนซินต่างๆ กัน เมื่อทำการเก็บไว้ที่ระยะเวลา 0 , 3 , 5 , 7 และ 9 วันตามลำดับ สามารถแสดงกราฟการเพิ่มและลดของจำนวนจุลินทรีย์ได้ดังภาพที่ 7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 9 กราฟแสดงจำนวน β - *hemolysin Streptococcus* ในน้ำนมดิบที่เติมไนซินที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ที่ระยะเวลาการเก็บต่าง ๆ กัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

ในการศึกษาจำนวนไนซินที่เหมาะสมในการยืดอายุการเก็บรักษานมดิบ พบว่าจำนวนไนซินที่เหมาะสมในการยับยั้งแบคทีเรียทั้งหมด และเชื้อ β - *hemolysin Streptococcus* คือที่ระหว่าง 50-200 IU/ml ส่วนจำนวนไนซินในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus lactis* จะอยู่ในช่วง 50-150 IU/ml โดยสามารถเก็บน้ำนมดิบไว้ได้เป็นเวลา 5 วัน ภายหลังการเติมไนซิน ส่วนเชื้อ Coliform bacteria ซึ่งเป็น Gram negative bacteria นั้นไม่สามารถถูกยับยั้งได้โดยไนซิน ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Kurdel และคณะ (1989) และเมื่อเก็บน้ำนมดิบเป็นเวลานานขึ้น จำนวนจุลินทรีย์จะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก Nisinase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สร้างโดยแบคทีเรียหลายชนิด รวมถึงพวก Lactic acid bacteria , micrococci เอนไซม์นี้เป็นตัวการสำคัญในการต้านฤทธิ์ของไนซิน ดังนั้นจะเห็นได้ว่าความสามารถของไนซินจะลดลง และจำนวนจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นอาจเป็นพวกแบคทีเรียแลคติคนั่นเอง นอกจากนี้ผลจากการวิเคราะห์ทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 % พบว่าในการยับยั้งจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และ β - *hemolysin Streptococcus* โดยใช้ความเข้มข้นของไนซินที่ 50,100, 150,200 IU/ml ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ดังนั้นความเข้มข้นของไนซินที่ควรจะเลือกความเข้มข้นของไนซินที่ 50 IU/ml สำหรับเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่ระยะเวลาการเก็บที่ 5 วัน พบว่าการใช้ความเข้มข้นของไนซินที่ 100 และ 150 IU/ml ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จึงควรเลือกใช้ความเข้มข้นของไนซินที่ 50 หรือ 100 IU/ml

จากการรายงานของ Anonymus (1989) ประเทศตะวันออกกลางซึ่งอุณหภูมิค่อนข้างอบอุ่นหรือร้อน โดยไนซินสามารถช่วยยืดอายุการเก็บได้มากกว่า 2 เท่าของเวลาเดิม ปริมาณไนซินที่ใช้อยู่ระหว่าง 30-50 IU/g และจากการทดลองของ Gregory และคณะ (1963) พบว่าการเติมไนซินในนมดิบและนำมาผ่านกระบวนการความร้อนเพื่อผลิตนมระเหยน้ำนั้นสามารถลดการสูญเสียของวิตามินต่าง ๆ ในระหว่างกระบวนการผลิตลงได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

การศึกษาเกี่ยวกับการใช้ไนซินในการยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนม ที่ควรจะดำเนินการต่อไป ได้แก่

1. ศึกษาการใช้ไนซินในการยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมดิบที่ผ่านกระบวนการแปรรูป เช่น นมพลาสเจอร์ไรซ์ เนื่องจากในโรงงานแปรรูปผลิตภัณฑ์นมในประเทศไทยจะใช้น้ำนมดิบที่ได้รับมาวันต่อวัน โดยไม่นิยมเก็บรักษาน้ำนมดิบไว้ใช้ในการแปรรูปในวันอื่น ๆ

2. ศึกษาเกี่ยวกับการใช้ไนซินในการยืดอายุการเก็บรักษาในผลิตภัณฑ์นมประเภทอื่นและประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรย์ชนิดอื่น ๆ เพื่อให้เกิดประโยชน์ในการใช้ไนซินอย่างกว้างขวาง

3. ศึกษาถึงจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นที่มีผลต่อประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์เพราะ Nisin จะไม่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ หากจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นสูงเกินไป

4. ศึกษาผลของไนซินต่อลักษณะปรากฏของนมดิบ เนื่องจากการศึกษาครั้งนี้เป็นการหาจำนวนของไนซิน และระยะเวลาการเก็บหลังการเติมไนซิน โดยยึดผลทางจุลินทรีย์เป็นหลัก ซึ่งในการนำน้ำนมดิบมาแปรรูปจำเป็นต้องคำนึงคุณภาพทางลักษณะปรากฏของน้ำนมดิบด้วย เพราะคุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่ดีย่อมมาจากคุณภาพเริ่มต้นของวัตถุดิบที่ดีนั่นเอง

5. ศึกษาจำนวนไนซินที่ตกค้างอยู่ในผลิตภัณฑ์ภายหลังการแปรรูป เพราะมีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภคด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ไปรมา ยงมานิตชัย . 2533. ไนซิน-สารกันบูดธรรมชาติ. วารสารอาหาร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 18: 37-40.

วิเชียร ลีลาวัชรมาศ. 2535. ไนซินและการใช้เป็นสารถนอมอาหาร. วารสารอุตสาหกรรมเกษตร 3: 9-12.

สุรีย์ นานาสมบัติ. 2537. บทบาทของไนซินในอุตสาหกรรมอาหาร. วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง 57: 119-130.

Anonymous. 1985. Nisin preservation of chilled desserts. Dairy Ind. Intl. 50: 41p.

Anonymous. 1988. Preservation of Milk and milk products with nisaplin Tech. Info. Leaflet No. 11/83. Aplin and Barrett Ltd.

Berridge, N.J. and J. Barrett. 1952. A rapid method for the tubidimetric assay of antibiotics. Gen Microbiol. 6: 14p.

Chevalier, R., Fournaud, J.M., Lefebre, E. and G. Mocquot. 1957. Ann. Technol. Agric. 2: 117-137.

Daeschel, M.A., Anderson, R.E. and H.P. Fleming. 1987. Microbial ecology of fermenting plant materials. FEMS Microbiol. Rev. 46: 357-367.

Denny, C.B., Sharpe,L.E. and C.W. Bohrer. 1961. Effects of tylosin and nisin on canned food spoilage bacteria. Appl. Microbiol. 9: 108p.

Falahee, M.B., Adams,M.R., Dale,J.W. and B.A. Morris. 1990. An enzyme immunoassay for nisin. Food Sci. Technol. 25: 590-595.

Fowler, G. G. and M.J. Gasson. 1991. Antibiotics-nisin, pp.135-152. *In* N. J. Russell and G.W. Gould (eds.). Food Preservatives Blackie and son Ltd., Great Britain.

Gregory, M.E., Henrry, K. and S.K. Kon. 1964. Nutritive properties of freshy prepared and stored evaporated milks manufactured by a normal commercial produce or by reduced thermal in the pressence of nisin. Dairy Res. 31(1): 113-119.

Harris, L. J., Fleming, H. P. and T. R. Klaenhammer. 1992. Characterization of two nisin producing *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* strains isolated from a commercial sauerkraut fermentation. Appl. Environ Microbiol. 58: 1477-1483.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Heineman, B., Voris, L., and C.R. Stumbo. 1965. Use of nisin in processing food products. Food Technol. 19: 592p.

Henning,S., Metz,R. and W.P.Gammes. 1986. New aspects for the application of nisin to food products bases on its mode of action. Food Microbiol. 3:135p.

Hirsch, A., Grinsted, E., Chapman, H.R. and A. T. R. Mattick. 1951. A note on the inhibition of an anaerobic sporeformer in Swiss-type cheese by a nisin producing *Streptococcus*. Dairy Res. 18: 198-204.

Hurst,A. 1981. Nisin. Advance in Applied Microbiology. 27: 85-123.

Jarvis,B. 1967. Resistance to nisin and production of nisin inactivation enzyme by several Bacillus species. Gen. Microbiol. 47:33p.

Jones,L.W. 1974. Effect of butterfat on inhibition of *Staphylococcus aureus* by nisin. Can. Microbiol. 20: 1257p.

Lipinska,E. 1977. Nsin and its applications, pp.103-130. *In* W. Woodbine (ed.). Antibiotics and Antibiosis in Agriculture. Butterworths, Lodon.

Ogden, K., Waites, M. J. and J. R. M. Hammond. 1988. Nisin and brewing. Inst. Brew. 94: 23-38.

Radler, F. 1990. Possible use of nisin in winemaking. Action of nosin against lactic acid bacteria and wine yeasts in solid and liquid media. Am. J. Emol Vitic. 41: 1-6

Scott, N. and L.Taylor. 1981. Effect of Nisin on the outgrowth of *Clostridium boutlinum* Spores. Food Sci. 46: 117-126.

Somer, E. B. and S. L. Taylor. 1987. Antibotulinal effectiveness of nisin in pasteruized process cheese spreads. Food. prot. 50(10): 842-848.

Tramer, J. 1964. The inhibitory action of nisin on *Bacillus stearothermophilus*, p25. *In* Microbial Inhibitions in Foods (ed.). N. Molin, Almqvist and Wiksell, Stockholm.

Waites, M.J. and K. Ogden. 1987. The estimation of nisin using ATP Bioluminometry. Brewing. 93: 30p.

Wajid, H.R.A. and Kalra, M.S. 1976. Nisin as an Aid for Extending Shelf Life of Sterilized Milk. Food Sci. and Tech. 1(1)3: 6-8.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

WHO. 1969. Specification for the identity and purity of food additives and their toxicological evoluation: Some antibiotics. 12th Repout of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Tech. Rept. No.430. World Health Org. Geneva,Switzerland.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.
การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

<u>การเตรียม Plate count agar</u>

ส่วนประกอบ

Bacto Tryptone	5	g
Bacto Yeast Extract	2.5	g
Bacto Dextrost (Glucose)	1	g
Bacto Agar	15	g

final pH 7.0 $\pm$O. 2 at 25^{0}C

วิธีการเตรียม

ชั่ง PCA 23.5 กรัม เติมน้ำกลั่น 1 ลิตร ทำให้ละลายบน Hot plate (ประมาณ 80 องศาเซลเซียส)จะได้ final pH 7.0 $\pm$O. 2 at 25^{0}C จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอ (autoclave) ที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว 15 นาที

<u>การเตรียม Violet Red Bile Agar (VRBA)</u>

ส่วนประกอบ

Bacto Yeast Extract	3	g
Bacto Peptone	7	g
Bacto Bile Salts No. 3	1.5	g
Bacto Lactose	10	g
Sodium Chloride	5	g
Bacto Agar	15	g
Neutral Red	0.03	g
Bacto Crystal Violet	0.002	g

final pH 7.4$\pm$0.2 at 25^{0}C

วิธีการเตรียม

ชั่ง VRBA 41.5 กรัม เติมน้ำกลั่นสเตอร์ไรซ์ 1 ลิตร ทำให้ละลายบน Hot plate (ประมาณ 80 องศาเซลเซียส) จะได้ final pH 7.4$\pm$0.2 at 25^{0}C (ห้ามนำไปเข้า Autoclave)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียม Baird-Parker Agar Base (BPB)

ส่วนประกอบ

peptone from casein	10.0	g
Meat extract	5.0	g
Yeast extract	1.0	g
Sodium pyruvate	10.0	g
Glycine	12	g
Lithium chloride	5.0	g
Agar-agar	15.0	g

final pH 6.8±0.2 at 25^{0}C

วิธีการเตรียม

ชั่ง BPB 63 กรัม เติมน้ำกลั่น 950 มิลลิลิตร นำละลายบน Hot plate (ประมาณ 80 องศาเซลเซียส) จะได้ final pH 6.8±0.2 at 25^{0}C จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอ (autoclave) ที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น ประมาณ 45 องศาเซลเซียส จากนั้นเติม EY-Bactotellurite 50 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

การเตรียม Blood Agar (BA)

ส่วนประกอบ

Beef Heart, Infusion from	500	g
Bacto Tryptose	10	g
Sodium Chloride	5	g
Bacto Agar	15	g

final pH 6.8±0.2 at25^{0}C

วิธีการเตรียม

ชั่ง BA 40 กรัม เติมในน้ำกลั่น 950 มิลลิลิตร ละลายบน Hot plate (ประมาณ 80 องศาเซลเซียส) จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอ (autoclave) ที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น ประมาณ 45 องศาเซลเซียส จากนั้นเติมเลือดแกะ 50 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ทางสถิติของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ตรวจพบในน้ำนมดิบที่ไม่ได้เติมไนซินและที่เติมไนซินที่ความเข้มข้น 50 , 100 , 150 , 200 และ 250 IU/ml ที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเป็นระยะเวลา 0 , 3 , 5 , 7 และ 9 วันโดยใช้โปรแกรม SPSS/PC^{+} ในการวิเคราะห์ความแปรปรวนและวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT เป็นดังนี้

ตารางภาคผนวกที่ 1 การวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในน้ำนมดิบที่ระยะเวลาการเก็บ 0 วัน

SOV	SS	DF	MS	F calculate	F table(0.05)
Treatment	7405611111.11	5	1481122222.2	0.309^{NS}	3.11
Error	57607333333.3	12	4800611111.1		
Total	65012944444.4	17	3824290849.7		

NS ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

เมื่อ Treatment = ระดับความเข้มข้นของไนซิน

ตารางภาคผนวกที่ 2 การวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในน้ำนมดิบที่ระยะเวลาการเก็บ 3 วัน

SOV	SS	DF	MS	F calculate	F table
Treatment	2487944000000	5	497588800000	4.342*	(0.01)5.06
Error	1375044000000	12	114587000000		(0.05)3.11
Total	3862988000000	17	227234588235		

* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

เมื่อ Treatment = ระดับความเข้มข้นของไนซิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ระดับความเข้มข้นไนซิน (IU/ml)	0	50	100	150	200	250
ค่าเฉลี่ยจำนวนจุลินทรีย์ (CFU/ml)	$1.68x10^{6}$ a	$1.44x10^{6}$ ab	$1.0x10^{6}$ ab	8.53x105ab	$7.17x10^{5}$ b	$6.89x10^{5}$ b

ตารางภาคผนวกที่ 3 การวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในน้ำนมดิบที่ระยะเวลาการเก็บ 5 วัน

SOV	SS	DF	MS	F calculate	F table(0.01)
Treatment	3.4792068E+17	5	6.958414E+16	655.091**	5.06
Error	1.2746467E+15	12	1.062206E+14		
Total	3.4919533E+17	17	2.054090E+16		

** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

เมื่อ Treatment = ระดับความเข้มข้นของไนซิน

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

ระดับความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml)	0	50	100	150	200	250
ค่าเฉลี่ยจำนวนจุลินทรีย์ (CFU/ml)	$3.76x10^{8}$ a	$3.95x10^{6}$ b	$3.22x10^{6}$ b	$3.39x10^{6}$ b	$3.61x10^{6}$ b	$3.89x10^{6}$ b

ตารางภาคผนวกที่ 4 การวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในน้ำนมดิบที่ระยะเวลาการเก็บ 7 วัน

SOV	SS	DF	MS	F calculate	F table(0.01)
Treatment	1.4728959E+14	5	2.945792E+13	1135.605*	5.06
Error	31283333333	12	25940277778		
Total	1.4760088E+14	17	8.682404E+12		

** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อ Treatment = ระดับความเข้มข้นของไนซิน

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

ระดับความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml)	0	50	100	150	200	250
ค่าเฉลี่ยจำนวนจุลินทรีย์ (CFU/ml)	$7.9x10^6$ a	$2.68x10^6$ b	$2.49x10^6$ b	$2.0x10^6$ b	$1.94x10^6$ b	$2.10x10^6$ b

ตารางภาคผนวกที่ 5 การวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในน้ำนมดิบที่ระยะเวลาการเก็บ 9 วัน

SOV	SS	DF	MS	F calculate	F table(0.01)
Treatment	6349834151111	5	1.269967E+12	43.891**	5.06
Error	347212506667	12	28934375556		
Total	6697046657778	17	393943921046		

** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

เมื่อ Treatment = ระดับความเข้มข้นของไนซิน

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

ระดับความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml)	0	50	100	150	200	250
ค่าเฉลี่ยจำนวนจุลินทรีย์ (CFU/ml)	$1.63x10^6$ a	$4.66x10^4$ b	$3.47x10^4$ b	$3.67x10^4$ b	$3.35x10^4$ b	$4.67x10^5$ b

การวิเคราะห์ทางสถิติของจำนวน Coliform bacteria ที่ตรวจพบในน้ำนมดิบที่ไม่ได้เติมไนซินและที่เติมไนซินที่ความเข้มข้น 50 , 100 , 150 , 200 และ 250 IU/ml ที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 0 , 3 , 5 , 7 และ 9 วัน โดยใช้โปรแกรม SPSS/PC$^+$ ในการวิเคราะห์ความแปรปรวน และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT เป็นดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 6 การวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับจำนวน Coliform bacteria ในน้ำนมดิบที่ระยะเวลาการเก็บ 0 วัน

SOV	SS	DF	MS	F calculate	F table(0.05)
Treatment	4961.833	5	992.367	4.201*	3.11
Error	2834.667	12	236.222		
Total	7796.500	17	458.618		

* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

เมื่อ Treatment = ระดับความเข้มข้นของไนซิน

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ระดับความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml)	0	50	100	150	200	250
ค่าเฉลี่ยจำนวนจุลินทรีย์ (CFU/ml)	71a	73.33a	33.6a	38.33a	34.0a	46.67a

ตารางภาคผนวกที่ 7 การวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับจำนวน Coliform bacteria ในน้ำนมดิบที่ระยะเวลาการเก็บ 3 วัน

SOV	SS	DF	MS	F calculate	F table(0.05)
Treatment	10385.778	5	2077.156	2.042^{NS}	3.11
Error	12207.333	12	1017.278		
Total	22593.111	17	1329.007		

NS ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

เมื่อ Treatment = ระดับความเข้มข้นของไนซิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 8 การวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับจำนวน Coliform bacteriaในน้ำนมดิบที่ระยะเวลาการเก็บ 5 วัน

SOV	SS	DF	MS	F calculate	F table(0.05)
Treatment	273.778	5	54.756	2.446^{NS}	3.11
Error	268.667	12	22.389		
Total	542.444	17	31.908		

NS ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

เมื่อ Treatment = ระดับความเข้มข้นของไนซิน

ตารางภาคผนวกที่ 9 การวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับจำนวน Coliform bacteriaในน้ำนมดิบที่ระยะเวลาการเก็บ 7 วัน

SOV	SS	DF	MS	F calculate	F table(0.05)
Treatment	107.111	5	21.422	2.323^{NS}	3.11
Error	110.667	12	9.222		
Total	217.778	17	12.810		

NS ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

เมื่อ Treatment = ระดับความเข้มข้นของไนซิน

ตารางภาคผนวกที่ 10 การวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับจำนวน Coliform bacteriaในน้ำนมดิบที่ระยะเวลาการเก็บ 9 วัน

SOV	SS	DF	MS	F calculate	F table(0.05)
Treatment	91.611	5	18.322	2.795^{NS}	3.11
Error	78.667	12	6.556		
Total	170.278	17	10.016		

NS ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

เมื่อ Treatment = ระดับความเข้มข้นของไนซิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์ทางสถิติของจำนวน *Staphylococcus aureus* ที่ตรวจพบในน้ำนมดิบที่ไม่ได้เติมไนซินและที่เติมไนซินที่ความเข้มข้น 50 , 100 , 150 , 200 และ 250 IU/ml ที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 , 3 , 5 , 7 และ 9 วันโดยใช้โปรแกรม SPSSPC ในการวิเคราะห์ความแปรปรวน และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT เป็นดังนี้

ตารางภาคผนวกที่ 11 การวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับจำนวน *Staphylococcus aureus* ในน้ำนมดิบที่ระยะเวลาการเก็บ 0 วัน

SOV	SS	DF	MS	F calculate	F table(0.01)
Treatment	34022361.111	5	6804472.222	100.807**	5.06
Error	810000.000	12	67500.000		
Total	34832361.111	17	2048962.418		

** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

เมื่อ Treatment = ระดับความเข้มข้นของไนซิน

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

ระดับความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml)	0	50	100	150	200	250
ค่าเฉลี่ยจำนวนจุลินทรีย์ (CFU/ml)	$7.81x10^3$ a	$6.06x10^3$ a	$7.8x10^3$ a	$7.4x10^3$ a	$4.1x10^3$ a	$5.4x10^3$ a

ตารางผนวกที่ 12 การวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับจำนวน *Staphylococcus aureus* ในน้ำนมดิบที่ระยะเวลาการเก็บ 3 วัน

	SS	DF	MS	F calculate	F table(0.01)
Treatment	36852155361.1	5	7370431072.2	32.373**	5.06
Error	2732079400.00	12	227673283.33		
Total	39584234761.1	17	2328484397.7		

** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อ Treatment = ระดับความเข้มข้นของไนซิน

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

ระดับความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml)	0	50	100	150	200	250
ค่าเฉลี่ยจำนวนจุลินทรีย์ (CFU/ml)	$1.4x10^5$ a	$7.9x10^4$ b	$7.7x10^4$ b	$3.2x10^4$ c	$2.3x10^4$ c	$4.2x10^3$ c

ตารางภาคผนวกที่ 13 การวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับจำนวน *Staphylococcus aureus* ในน้ำนมดิบที่ระยะเวลาการเก็บ 5 วัน

SOV	SS	DF	MS	F calculate	F table(0.01)
Treatment	389983295.778	5	77996659.156	47.285**	5.06
Error	19793864.000	12	1649488.667		
Total	409777159.778	17	24104538.810		

** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

เมื่อ Treatment = ระดับความเข้มข้นของไนซิน

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

ระดับความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml)	0	50	100	150	200	250
ค่าเฉลี่ยจำนวนจุลินทรีย์ (CFU/ml)	$1.28x10^4$ a	$5.6x10^3$ b	$2.0x10^3$ c	84c	65.6c	57c

ตารางภาคผนวกที่ 14 การวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับจำนวน *Staphylococcus aureus* ในน้ำนมดิบที่ระยะเวลาการเก็บ 7 วัน

SOV	SS	DF	MS	F calculate	F table(0.01)
Treatment	15890901866.9	5	3178180373.4	136.503**	5.06
Error	279393486.000	12	23282790.500		
Total	16170295352.9	17	951193844.29		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

เมื่อ Treatment = ระดับความเข้มข้นของไนซิน

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

ระดับความเข้มข้นไนซิน (IU/ml)	0	50	100	150	200	250
ค่าเฉลี่ยจำนวนจุลินทรีย์ (CFU/ml)	$8.6x10^{4}$ a	$1.91x10^{4}$ b	$1.42x10^{4}$ bc	$2.65x10^{3}$ cd	$4.6x10^{3}$ cd	$5.11x10^{3}$ d

ตารางภาคผนวกที่ 15 การวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับจำนวน *Staphylococcus aureus* ในน้ำนมดิบที่ระยะเวลาการเก็บ 9 วัน

SOV	SS	DF	MS	F calculate	F table(0.01)
Treatment	48751625986.9	5	9750325197.4	49.600**	5.06
Error	2358930787.33	12	196577565.61		
Total	51110556774.3	17	3006503339.7		

** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

เมื่อ Treatment = ระดับความเข้มข้นของไนซิน

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

ระดับความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml)	0	50	100	150	200	250
ค่าเฉลี่ยจำนวนจุลินทรีย์ (CFU/ml)	$1.4x10^{5}$ a	$2.1x10^{3}$ b	$3.2x10^{3}$ b	53b	$1.8x10^{2}$ b	$4.96x10^{2}$ b

การวิเคราะห์ทางสถิติของจำนวน β - hemolysin streptococcus ที่ตรวจพบในน้ำนมดิบที่ไม่ได้เติมไนซินและที่เติมไนซินที่ความเข้มข้น 50 , 100 , 150 , 200 และ 250 IU/ml โดยใช้โปรแกรม SPSSPC ในการวิเคราะห์ความแปรปรวน และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT เป็นดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 16 การวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับจำนวน β - hemolysin streptococcus ในน้ำนมดิบที่ระยะเวลาการเก็บ 0 วัน

SOV	SS	DF	MS	F calculate	F table(0.01)
Treatment	6202294.444	5	1240458.889	7.747**	5.06
Error	1921400.000	12	160116.667		
Total	8123694.444	17	477864.379		

** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

เมื่อ Treatment = ระดับความเข้มข้นของไนซิน

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

ระดับความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml)	0	50	100	150	200	250
ค่าเฉลี่ยจำนวนจุลินทรีย์ (CFU/ml)	$3.63x10^3$ a	$3.17x10^3$ a	$2.8x10^3$ ab	$2.7x10^3$ ab	$3.7x10^3$ ab	$1.9x10^3$ b

ตารางภาคผนวกที่ 17 การวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับจำนวน β - hemolysin streptococcus ในน้ำนมดิบที่ระยะเวลาการเก็บ 3 วัน

SOV	SS	DF	MS	F calculate	F table(0.01)
Treatment	34100188.278	5	6820037.656	144.960**	5.06
Error	564573.333	12	47047.778		
Total	34664761.611	17	2039103.624		

** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

เมื่อ Treatment = ระดับความเข้มข้นของไนซิน

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระดับความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml)	0	50	100	150	200	250
ค่าเฉลี่ยจำนวนจุลินทรีย์ (CFU/ml)	$4.3x10^3$ a	$3.6x10^3$ b	$3.1x10^3$ b	$3.1x10^3$ b	$9.0x10^2$ c	$6.3x10^2$ c

ตารางภาคผนวกที่ 18 การวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับจำนวน β - hemolysin streptococcus ในน้ำนมดิบที่ระยะเวลาการเก็บ 5 วัน

SOV	SS	DF	MS	F calculate	F table(0.01)
Treatment	20653619.833	5	4130723.967	81.015**	5.06
Error	611844.667	12	50987.056		
Total	21265464.500	17			

** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

เมื่อ Treatment = ระดับความเข้มข้นของไนซิน

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

ระดับความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml)	0	50	100	150	200	250
ค่าเฉลี่ยจำนวนจุลินทรีย์ (CFU/ml)	$3.48x10^3$ a	$7.0x10^2$ b	$5.34x10^2$ b	$5.5x10^2$ b	65.6b	57b

ตารางภาคผนวกที่ 19 การวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับจำนวน β - hemolysin streptococcus ในน้ำนมดิบที่ระยะเวลาการเก็บ 7 วัน

SOV	SS	DF	MS	F calculate	F table(0.01)
Treatment	8474851.778	5	1694970.356	53.346**	5.06
Error	381281.333	12	31773.444		
Total	8856133.111	17	520949.007		

** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

เมื่อ Treatment = ระดับความเข้มข้นของไนซิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

ระดับความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml)	0	50	100	150	200	250
ค่าเฉลี่ยจำนวนจุลินทรีย์ (CFU/ml)	$2.2x10^3$ a	$1.08x10^3$ b	$4.15x10^2$ c	$3.45x10^2$ c	$1.8x10^2$ c	$3.75x10^2$ c

ตารางภาคผนวกที่ 20 การวิเคราะห์ทางสถิติเกี่ยวกับจำนวน β - hemolysin streptococcus ในน้ำนมดิบที่ระยะเวลาการเก็บ 9 วัน

SOV	SS	DF	MS	F calculate	F table(0.01)
Treatment	464502.000	5	92900.400	73.449**	5.06
Error	15178.000	12	126.833		
Total	479680.000	17	28216.471		

** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

เมื่อ Treatment = ระดับความเข้มข้นของไนซิน

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

ระดับความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml)	0	50	100	150	200	250
ค่าเฉลี่ยจำนวนจุลินทรีย์ (CFU/ml)	$5.07x10^2$ a	$3.66x10^2$ b	88b	$1.4x10^2$ b	62b	$1.75x10^2$ b

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติการศึกษา

นางสาวยุวดี สิริเรืองอำไพ เกิดวันที่ 4 มีนาคม พ.ศ. 2517 จบการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนสตรีวิทยา เมื่อปี พ.ศ. 2535 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาอุตสาหกรรมเกษตร จากภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในปี พ.ศ. 2539

นางสาวสุภาภรณ์ พิศพันธ์ เกิดวันที่ 20 กันยายน 2518 จบการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนสาธิตแห่งมหาวิทยาลัยรามคำแหง เมื่อปี พ.ศ. 2535 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาอุตสาหกรรมเกษตร จากภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในปี พ.ศ. 2539

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้