ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง การศึกษาชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ที่เป็นตัวการสำคัญในการหมักมั่ม

STUDY ON TYPES AND NUMBERS OF MICROORGANISM

IN THAI BEEF SAUSAGE (MUM) FERMENTATION.

ACC. NO.....
Date Received 27 ก.ค. 2531
Call No.....

โดย นาย ปรีชา หมายพึ่ง

ได้รับพิจารณาเห็นชอบจาก...

.....ปรีชา..... 8/ก.ค./31 **อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ**

(ผศ.ดร.ดวงฤทัย ...../...../.....)

..... 8/ก.ค./31 **กรรมการของภาควิชา**

(ดร.ชัยยศ ชัยยุทธ)

.....ปรีชา..... 8/ก.ค./31 **กรรมการของภาควิชา**

(ดร.ปรีชา ห้วงมีชัย)

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

.....วิมล ศรีทองวิเชียร.....

(ดร.วิมล ศรีทองวิเชียร)

หัวหน้าภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

วันที่ 25 **เดือน** กรกฎาคม **พ.ศ.** 2531

27 ก.ค. 2531

ปม.
ป 46ฑ 77
2530

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1361b

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ(45497)

เรื่อง

การศึกษาชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ที่เป็นตัวการสำคัญในการหมักมั่ม

STUDY ON TYPES AND NUMBERS OF MICROORGANISM IN THAI BEEF SAUSAGE (MUM) FERMENTATION.

T097029

โดย

นายปรีชา หมายพึ่ง

ปพ.
ป 461ก
2530

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....97029
วัน,เดือน,ปี.....

เสนอ

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต (อุตสาหกรรมเกษตร)

พ.ศ. 2530

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อ

เรื่อง

การศึกษาชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ที่เป็นตัวการสำคัญในการหมักมั่ม

Study on types and numbers of microorganism in Thai beef sausage (mum) fermentation.

มั่ม (Mum) จัดเป็นอาหารประเภทไส้กรอกหมักแห้ง(Thai beef sausage) ในปัจจุบันประชาชนนิยมบริโภคกันมากขึ้น จากการศึกษาชนิดและปริมาณแบคทีเรีย ที่แยกได้ในระหว่างการหมักมั่มจากตัวอย่าง ที่เก็บมาจากจังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ คือ ขอนแก่น นครราชสีมา ร้อยเอ็ด มหาสารคาม หนองคาย และกาฬสินธ์ รวม 8 ตัวอย่าง เชื้อที่แยกได้ทั้งหมด 204 เชื้อ ประกอบด้วยแบคทีเรีย 6 ชนิด คือ Lactobacillus plantarum., Lactobacillus casei.,Lactobacillus brevis.,Leuconostoc mesenteroides., Pediococcus cerevisiae และ Pediococcus homari . แบคทีเรียที่พบมากที่สุดคือ Pediococcus cerevisiae พบ 113 เชื้อ Lactobacillus plantarum พบ 51 เชื้อ Leueonostoc mesenteroides พบ 20 เชื้อ Lactabacillus casei พบ 9 เชื้อ Lactobacillus brevis พบ 6 เชื้อ และ Pediococcus homari พบ 5 เชื้อ

ตรวจพบปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในวันแรกของการหมักประมาณ 3.4×10^6 เซลล์ต่อกรัม วันที่ 2, 3 และ 4 ปริมาณแบคทีเรียจะเพิ่มขึ้นประมาณ 3.8×10^7, 4.0×10^6 และ 2.8×10^7 เซลล์ต่อกรัม ตามลำดับ วันที่ 5 และ 7 ปริมาณแบคทีเรียลดลงประมาณ 3.5×10^6 และ 2.9×10^5 เซลล์ต่อกรัม ตามลำดับ และในวันที่ 14 ของการหมักปริมาณแบคทีเรียเพิ่มขึ้นเป็น 3.9×10^6 เซลล์ต่อกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณแบคทีเรียแลคติกที่ตรวจพบในระหว่างการหมักอยู่ในช่วง 3.7×10^4 ถึง 4.5×10^7 เซลต่อกรัม ปริมาณแบคทีเรียแลคติกสูงสุดอยู่ในระหว่างวันที่ 2, 3 และ 4 ของการหมัก คือ ประมาณ 4.5×10^7, 2.8×10^7 และ 3.1×10^7 เซลต่อกรัม ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ปัญหาพิเศษเล่มนี้สำเร็จผลได้ด้วยดี ข้าพเจ้าขอขอบคุณอาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์ ผู้ซึ่งให้คำแนะนำ และแก้ไขปัญหาพิเศษ อาจารย์สุขใจ โสมะฐิติ อาจารย์ประจำภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์ ผู้ซึ่งให้ความช่วยเหลือ แนะนำ และแก้ไขปัญหาพิเศษให้สำเร็จสมบูรณ์

ขอขอบคุณ อาจารย์วราวุฒิ ครูส่ง ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร ที่ได้ให้ความช่วยเหลือในด้านอุปกรณ์ อาหารเลี้ยงเชื้อ และสารเคมี

ท้ายที่สุดนี้ ขอขอบคุณเป็นอย่างยิ่งสำหรับความช่วยเหลือและน้ำใจของทุกท่าน รวมทั้งเพื่อนๆ ที่รักทุกคนในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้

ปรีชา หมายพึ่ง

มกราคม 2531

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญ

	หน้า
สารบาญตาราง	ก
สารบาญภาพ	ข
คำนำ	ค
การตรวจเอกสาร	1
อุปกรณ์	9
วิธีการ	12
ผลการทดลอง	19
สรุปและวิจารณ์	37
เอกสารอ้างอิง	38
ภาคผนวก	
ก. อาหารเลี้ยงเชื้อ	41
ข. น้ำยาเคมีที่ใช้ในการทดลอง	44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในอาหาร PCA	20
2	แสดงจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในอาหาร GYP	22
3	แสดงจำนวนแบคทีเรียแลคติกทั้งหมดในอาหาร	25
4	แสดงกลุ่มแบคทีเรียแยกได้จากมัม	28
5	แสดงคุณสมบัติทางสรีรวิทยาและชีวเคมีของแบคทีเรีย กลุ่มที่ 1 (รูปร่างแท่ง)	29
6	แสดงคุณสมบัติทางสรีรวิทยาและชีวเคมีของแบคทีเรีย กลุ่มที่ 1 (รูปร่างแท่ง)	30
7	แสดงคุณสมบัติทางสรีรวิทยาและชีวเคมีของแบคทีเรีย กลุ่มที่ 2 (รูปร่างกลม)	31
8	แสดงคุณสมบัติทางสรีรวิทยาและชีวเคมีของแบคทีเรีย กลุ่มที่ 2 (รูปร่างกลม)	32
9	แสดงชนิดของแบคทีเรีย และเชื้อที่แยกได้ (รูปร่างแท่ง โฮโมเฟอร์เมนเตทีบสบีชี่)	33
10	แสดงชนิดของแบคทีเรีย และเชื้อที่แยกได้ (รูปร่างแท่ง เฮทีโรเฟอร์เมนเตทีบสบีชี่)	34
11	แสดงชนิดของแบคทีเรีย และเชื้อที่แยกได้ (รูปร่างกลม โฮโมเฟอร์เมนเตทีบสบีชี่)	35
12	แสดงชนิดของแบคทีเรีย และเชื้อที่แยกได้ (รูปร่างกลม เฮทีโรเฟอร์เมนเตทีบสบีชี่)	36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แสดงจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด ในอาหาร PCA	21
2	แสดงจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด ในอาหาร GYP	23
3	แสดงจำนวนแบคทีเรียแลคติกทั้งหมด ในอาหาร MRS	26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

มั่นเป็นผลิตภัณฑ์เนื้อประเภทไส้กรอกหมักแห้ง จัดเป็นอาหารหมักพื้นเมืองจำพวกเนื้อวัว นิยมบริโภคกันในบางท้องที่ของจังหวัดทางภาคตะวันออก-เฉียงเหนือ มั่นมีคุณค่าทางโภชนาการสูงประกอบด้วยโปรตีน ไขมัน ไวตามิน และแร่ธาตุต่าง ๆ ในการหมักมั่นจะมีจุลินทรีย์เข้ามาเกี่ยวข้อง ได้แก่ แลคติก-แอซิดแบคทีเรีย ซึ่งแบคทีเรียจำพวกนี้ทำให้อาหารเปลี่ยนแปลงไป ทั้งทางด้านเนื้อสัมผัสลักษณะที่ปรากฏเห็น และกลิ่นรส ทำให้ผลิตภัณฑ์มีลักษณะพิเศษเฉพาะตัวของผลิตภัณฑ์เอง

ในปัจจุบันการบริโภคมีทั้งการบริโภคสุกและดิบ ดังนั้นความสะอาด ความปลอดภัย และเชื้อจุลินทรีย์จึงเป็นเรื่องสำคัญมาก ซึ่งอาหารประเภทนี้ยังไม่ถูกกำหนดให้เป็นอาหารซึ่งอยู่ภายใต้พระราชบัญญัติการควบคุมคุณภาพของกระทรวงสาธารณสุข และยังไม่มีรายงานที่ยังไม่สมบูรณ์เกี่ยวกับการศึกษาชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ จึงเป็นที่น่าสนใจที่จะศึกษาเพื่อเป็นข้อมูล แนวทางที่จะพัฒนาและปรับปรุงกรรมวิธีการผลิต ผลิตภัณฑ์ประเภทนี้

กรรมวิธีในการผลิตมั่นยังเป็นแบบพื้นบ้าน ผู้ผลิตส่วนใหญ่ยังขาดหลักเกณฑ์ที่แน่นอน ซึ่งทำให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพไม่สม่ำเสมอไม่แพร่หลายในท้องตลาด โดยเฉพาะจุลินทรีย์ที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับขบวนการหมัก จึงควรมีการศึกษาเกี่ยวกับจุลินทรีย์ที่มีผลต่อการหมักโดยตรง เพื่อช่วยในการปรับปรุงขบวนการผลิตให้ดีขึ้น ทั้งทางด้านการเพิ่มประสิทธิภาพการหมัก ระยะเวลาในการหมักให้น้อยลง และช่วยลดความเสียหายอันเกิดเนื่องมาจากการหมัก เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพดีได้มาตรฐานตลอดเวลา

การพัฒนากรรมวิธีการผลิตอาหารหมักประเภทนี้ นอกจากจะส่งเสริมผู้ผลิตโดยตรงแล้ว ยังส่งผลถึงอุตสาหกรรมอื่น ๆ ด้วย เช่น การเลี้ยงสัตว์ อุตสาหกรรมอาหารสัตว์ ตลอดจนเป็นการเปิดโอกาสให้กับนักลงทุนอีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาปริมาณของจุลินทรีย์ที่เป็นตัวการสำคัญในระหว่างการหมักมั่น
2. เพื่อศึกษาชนิดของจุลินทรีย์ที่เป็นตัวการสำคัญในระหว่างการหมักมั่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทนำ

การตรวจเอกสาร

การหมัก (fermentation) เป็นวิธีถนอมอาหารที่ดีวิธีหนึ่ง ทั้งอาหารประเภทที่มีโปรตีนสูง เช่น เนื้อหมู เนื้อวัว เป็ด ไก่ และปลา และอาหารที่มีโปรตีนต่ำ เช่น พืชและผักต่าง ๆ ในประเทศทางอาเซียนมีอาหารหมักดองที่ทำจากอาหารที่มีโปรตีนอยู่หลายชนิด เช่น อาหารปลาหมัก burong dalag (ฟิลิปปินส์) phaak หรือ mamchao (เขมร) pades (ลาว) ปลาร้าและปลาส้ม (ไทย) อาหารกุ้งหมัก burong hipon (ฟิลิปปินส์) กุ้งส้มหรือกุ้งจ่อม (ไทย) อาหารเนื้อหมูหมัก แหนบ และไส้กรอก อาหารเนื้อวัวหมักมั่ม (อาภรณ์, 2525)

มั่มเป็นผลิตภัณฑ์เนื้อประเภทไส้กรอกหมักแห้ง จัดอยู่ในพวกอาหารหลักพื้นเมือง จำพวกเนื้อวัว นิยมบริโภคกันในจังหวัดทางภาคอีสานโดยเฉพาะที่จังหวัดกาฬสินธ์ ขอบแก่น อุดรธานี หนองคาย มหาสารคาม และนครราชสีมา มั่มสามารถแบ่งออกตามลักษณะการบรรจุได้ 3 ชนิด

1. มั่มข้อ บรรจุใน ไส้หมู ไส้วัว
2. มั่มพก บรรจุใน ไส้สุด (ไส้ติ่ง)
3. มั่มหม้อ บรรจุใน กะละมัง หรือหม้อ

ส่วนประกอบที่สำคัญในการผลิตมั่มมีดังนี้ เนื้อวัวแดง ตับ ม้าม กระเทียม เกลือป่น ข้าวเหนียวสุก และข้าวคั่ว การบริโภคมั่มสามารถบริโภคไก้ทั้งดิบ ๆ หรือสุก เช่น นำมาย่าง ทอด หรืออาจนำมาประกอบอาหาร เช่น ผักกับผักต่าง ๆ ได้ โดยทั่วไปแล้วนิยมรับประทานมั่มที่มีอายุการหมักได้ 2–3 วัน ขึ้นไป และผลิตภัณฑ์นี้มีลักษณะพิเศษคือ เมื่อเก็บไว้นานความเปรี้ยวจะลงที่มีกลิ่นหอม น่ารับประทาน นอกจากนี้ยังมีอายุการเก็บได้นาน 3–4 สัปดาห์ที่อุณหภูมิห้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรรมวิธีในการผลิตมั่ม

สูตรและวิธีการผลิตมั่มจะแตกต่างกันแล้วแต่ความนิยมของผู้ผลิตและผู้บริโภค สูตรและวิธีการดังกล่าวต่อไปนี้ เป็นเพียงตัวอย่างหนึ่งในการผลิตทั่ว ๆ ไป อาจมีกรรมวิธีการผลิตอื่นที่แตกต่างไปจากนี้อีกมากมายหลายวิธี ขั้นตอนการผลิตมีดังนี้คือ

ก. สูตรมั่ม จากจังหวัดขอนแก่น

เนื้อวัว	10.0	กิโลกรัม
ตับวัว	1.1	กิโลกรัม
ม้าม	0.4	กิโลกรัม
เกลือ	0.3	กิโลกรัม
กระเทียม	1.0	กิโลกรัม
ข้าวคั่ว	0.5	กิโลกรัม
ข้าวเหนียว	0.5	กิโลกรัม
ผงชูรส	0.05	กิโลกรัม
ดินประสิว	0.01	กิโลกรัม

ข. วิธีการผลิตมั่ม

- นำเนื้อวัวที่ไม่มีมันมาบดให้ละเอียดร่วมกับ ตับ และม้าม
- เนื้อที่ได้นำมาใส่ตะกร้าทิ้งไว้ให้น้ำสเด็ด เพื่อลดปริมาณความชื้นในเนื้อลง
- เติมเกลือ ผงชูรส และดินประสิว ลงในเนื้อเคล้าให้เข้ากัน
- นำกระเทียม ข้าวคั่ว และข้าวเหนียวที่บดละเอียดแล้วคลุกเข้าด้วยกันอีกครั้งหนึ่ง
- เมื่อผสมเนื้อกับส่วนผสมต่าง ๆ เรียบร้อยแล้ว นำมาบรรจุในไส้วัวหรือไส้หมู ที่ผ่านการล้างทำความสะอาดเรียบร้อยแล้ว ผูกด้วยเชือกทำให้เป็นลักษณะข้อ ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค. การหมักมั่ม

การหมักนั้นเพื่อยืดอายุการเก็บ และเป็นการเพิ่มกลิ่นรสและสีให้แก่มั่ม โดยที่หลังจากบรรจุในไส้แล้ว จะนำมาผึ่งแดดหรือลม เป็นเวลา 1 ถึง 2 วัน มั่มจะเริ่มแห้ง มีสีแดงเข้ม รสชาดเปรี้ยว มั่มที่มีอายุการหมัก 3 วันก็รับประทานได้ มั่มที่ตากแห้งแล้วสามารถที่จะเก็บไว้ได้นานเป็นเดือน

องค์ประกอบทางเคมีของมั่ม

ความชื้น	33.82 – 74.65 เปอร์เซนต์
โปรตีน	11.39 – 39.28 เปอร์เซนต์
ไขมัน	1.40 – 4.50 เปอร์เซนต์
เยื่อใย	0.10 – 1.44 เปอร์เซนต์
เถ้า	3.28 – 9.65 เปอร์เซนต์
เกลือ	2.98 – 7.04 เปอร์เซนต์
น้ำตาล	11.74 เปอร์เซนต์
กรดแลคติก	1.10 – 4.31 เปอร์เซนต์
pH	4.0 – 4.5

เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์ (2530) ได้ศึกษาเกี่ยวกับมั่ม พบว่าค่า pH ของมั่มจะอยู่ในช่วง 4.89 – 5.31 ในวันแรกค่า pH จะสูงประมาณ 5.31 วันที่ 2, 3 และ 4 ของการหมักค่า pH จะต่ำลงคือประมาณ 4.96, 4.89 และ 4.91 ตามลำดับ ในวันที่ 5 และ 7 ของการหมักค่า pH จะสูงขึ้นประมาณ 4.98 และ 4.95 ค่า pH จะสูงขึ้นเรื่อย ๆ เมื่อเก็บมั่มนานวันขึ้น ในวันที่ 14 ของการหมักค่า pH ประมาณ 5.13 ส่วนเปอร์เซนต์กรดเริ่มต้นของการหมักมีค่าประมาณ 1.083 เปอร์เซนต์ และเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ในวันหลัง ๆ ของการศึกษา มีค่าประมาณ 2.151 เปอร์เซนต์

การหมักมั่มเป็นขบวนการเก็บถนอมอาหารวิธีหนึ่ง และเป็นการช่วยรักษาคุณภาพทางโภชนาการของอาหารความเปรี้ยว กลอกจนกลิ่นรสของมั่มเกิดขึ้นเนื่องจากแบคทีเรียเข้าไปเกี่ยวข้องในระหว่างขบวนการหมัก คือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบคทีเรียพวกที่ผลิตกรดแลคติก สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์ (2518) ได้ศึกษาแหนมที่ทำเสร็จใหม่ ๆ พบว่าจะมีแบคทีเรียพวก Pediococcus sp. เจริญอย่างรวดเร็วในระยะแรกต่อมาตรวจพบ Lactobacillus sp. เจริญเมื่อ pH ลดลง

Moulton และ Lewis (1940) รายงานว่า ตรวจจุลินทรีย์ในเนื้อหมู เนื้อวัว และเนื้อแกะ จากตลาดนับจำนวนจุลินทรีย์ได้ 0.036–2.91 ล้านเซลในเนื้อที่นำมาบดให้ละเอียด (1 มิลลิกรัม) ชนิดของจุลินทรีย์ที่พบ ได้แก่ รา แบคทีเรีย พวกจีนัส Bacillus, Micrococcus, Staphylococcus, Pseudomonas, E. coli และ Araerobic bacteria อื่น ๆ

อาภรณ์ คงสวี (2525) ได้ศึกษาไส้กรอกเวียนนา และโมลือคน่า พบว่า ค่า pH ของไส้กรอกทั้งสองจะสูงกว่า 6.4 ในช่วงแรกของการศึกษา และค่า pH จะลดลงเมื่อเก็บไส้กรอกนานวันขึ้นและจะเริ่มคงที่ เมื่อ pH ลดลงถึงประมาณ 5.0–5.5 ในช่วงวันที่ 12–14 ส่วนเปอร์เซนต์กรดเริ่มต้นของตัวอย่างจะใกล้เคียงกัน คืออยู่ในช่วง 0.19–0.32 เปอร์เซนต์ และเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ ในวันหลัง ๆ ของการศึกษา จนถึงประมาณ 0.33–0.67 เปอร์เซนต์ ซึ่งไส้กรอกจะแสดงลักษณะเสียโดยสีซีด มีกลิ่นเหม็นเปรี้ยว และหลังจากนั้นจะเกิดเมือกขึ้นที่ผิว ซึ่งเมื่อไส้กรอกเริ่มมีกลิ่นเปรี้ยว จะพบแบคทีเรียแลคติกเป็นส่วนใหญ่ รองลงมาคือ ยีสต์ ซึ่งแบคทีเรียแลคติกที่พบได้แก่ Lactobacillus casei, L. plantarum, Leuconostoc mesenteroides และ L. dextranicum

Tanasupawat และ Dangsubha (1983) ได้แยกเชื้อแบคทีเรียรูปร่างกลมที่จับกลุ่มเป็นสี่เซลจากอาหารหมักพวกปลาหมัก เนื้อหมัก และผักดองต่าง ๆ ในประเทศไทย พบ Pediococcus pentosaceus, P. acidilactici, P. halophelus, Pediococcus sp. และ Tetracoccus sp.

Holzapfel and Hall (1977) รายงานว่าจุลินทรีย์ที่มักตรวจพบในไส้กรอกแห้ง ได้แก่ Lactobacillus spp., Leucorostac spp., Pediococcus spp., Staphylococcus spp., Klebsiella spp. Enterobacter spp., Pscudomonas spp., M. thermosphactum และมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดอยู่ในช่วง $6.0 \times 10^{4} - 6.9 \times 10^{-8}$ เซลต่อกรัม

การผลิตไส้กรอกหมักแบบดั้งเดิมนั้นจะได้แบคทีเรียแลคติกจากธรรมชาติที่ปนเปื้อนในส่วนผสมของไส้กรอก หรือใช้ส่วนหนึ่งของไส้กรอกจากการผลิตครั้งก่อนมาผสมเพื่อให้เชื้อที่ต้องการมีปริมาณมาก ซึ่งการผลิตแบบนี้พบข้อบกพร่องหลายประการ คือ ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพไม่สม่ำเสมอในแต่ละครั้งที่ผลิต บางครั้งได้ไส้กรอกที่มีรสดีแต่บางครั้งจะเกิดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ ทำให้การผลิตประสบความล้มเหลว ประกอบกับต้องใช้เวลาในการผลิตเป็นเวลานานถึง 150 ชั่วโมง (Everson และคณะ 1970)

Smith and Palumbo (1973) รายงานถึงการผลิตไส้กรอกตามวิธีการหมักแบบพื้นบ้าน ว่าคล้ายกับไส้กรอกหมักอื่น ๆ คือ จะต้องเติมเกลือประมาณ 3 เปอร์เซนต์ ในการหมักเนื้อวัวบดเป็นเวลาหลายวัน เพื่อให้แบคทีเรียแลคติกเจริญได้ดี จนเพิ่มจำนวนอย่างน้อยที่สุด 10^{4} เซลต่อกรัม จึงจะนับว่าหมักได้ที่และแบคทีเรียแลคติก ทำให้เกิดการหมักเนื้อ และเพิ่มกลิ่นรสเฉพาะ โดยแบคทีเรียแลคติกจะสร้างกรดจากน้ำตาลที่เติมเป็นส่วนผสมของไส้กรอก ทำให้ pH ลดลง และมีรายงานว่าแบคทีเรียแลคติกในไส้กรอกมี Lactobacillus spp., Pediococcus spp. และเขาได้ทำการตรวจนับจำนวนแบคทีเรียแลคติกใน Lebanon bologna จาก 9 บริษัท พบว่า ปริมาณแบคทีเรียแลคติก อยู่ในช่วง $< 1 \times 10^{2} - 7.5 \times 10^{8}$ เซลต่อกรัม โดยพบ Lactobacillus spp. เป็นส่วนมาก

Coretti (1978) การใช้ Starter culture จะใช้ได้ผลดีหรือไม่นั้นขึ้นกับความเข้มข้นของเชื้อที่ใช้ความเข้มข้นที่เหมาะสมเพื่อใช้ในหลังทดลอง คือ $10^{4}-10^{5}$ เซลต่อกรัม ส่วนการผลิตในระดับอุตสาหกรรมนั้นควรใช้ความเข้มข้นที่ $10^{6}-10^{7}$ เซลต่อกรัม จึงจะได้ผลดีซึ่งมักจะใช้เชื้อ P. cerevisiae, Lactobacillus spp. และ Micrococcus lactic เป็น starter culture

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Sulzbacher and Mclean (1957) รายงานว่าจุลินทรีย์ที่พบนั้นจะแตกต่างกันออกไปตามชนิดและส่วนผสมของไส้กรอก ได้แก่ ปริมาณเกลือไนเตรท เกลือไนไตรท ความเข้มข้นของเกลือแกง และเครื่องเทศ ซึ่งสารเหล่านี้จะมีผลยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ และมีจุลินทรีย์บางชนิดเท่านั้นที่สามารถเจริญในสภาวะที่มีสารดังกล่าวได้ จุลินทรีย์ที่พบในไส้กรอกอยู่เสมอๆ ได้แก่ Bacillus spp., Lactobacillus spp. Pediococcus spp., Leuconostoc spp., Staphylococcus spp. เป็นต้น

การเติมเกลือลงในอาหารหมักดองในปริมาณที่เหมาะสม นอกจากเป็นสารปรุงรสแล้วยังช่วยทำให้แลคติกแอซิดแบคทีเรียเจริญได้ดี และยังช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์บางพวกที่อาจทำให้เกิดการเน่าเสียขึ้นได้ด้วย (Prescott และ Dunn, 1959) นอกจากนี้ยังพบว่าจำนวนจุลินทรีย์ที่นับได้ทั้งหมดในอาหารหมักดองที่มีเปอร์เซนต์เกลือต่ำ จะมีจำนวนมากกว่าอาหารที่มีเกลือสูง (Gangopadhyay และ Mukherjee, 1971)

Pederson และ Albury (1958) ได้ศึกษาถึงความสัมพันธ์ของ pH เปอร์เซนต์เกลือ และเปอร์เซนต์กรดพบว่าในอาหารหมักดองที่มีเปอร์เซนต์เกลือสูงถึง 3.5 เปอร์เซนต์ pH สูงมาก และปริมาณกรดจะน้อยลงในอาหารที่หมักด้วยเกลือ 2.25 และ 1 เปอร์เซนต์

ปริมาณเกลือที่เติมในอาหารหมักดอง จะมีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่เป็นตัวการในการเปลี่ยนแปลง ขณะหมักดองโดยเฉพาะพวกแลคติก-แอซิดแบคทีเรีย ในการหมักกระหล่ำปลี ที่มีปริมาณเกลือน้อยจะพบจุลินทรีย์พวก Leuconostoc mesenteroides, Lactobacillus brevis เจริญได้ดี ถ้าหมักโดยใช้ปริมาณเกลือสูงจะพบ Pediococcus spp. และ Lactobacillus plantarum เจริญได้ดี (Gangopadhyay และ Mukherjee 1971) Etchelles et al. (1964) พบว่าอาหารหมักดองที่มีเกลือสูงจะมีจุลินทรีย์พวก Pediococcus spp. สามารถเจริญได้ แต่ปริมาณการสร้างกรดจะน้อยลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Goldman et al. (1962) ได้ศึกษาถึง Pediococcus homari และ Lactobacillus spp. จากเนื้อเค็มพบว่าในอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จุลินทรีย์พวกนี้สามารถเจริญและทนเกลือสูง ถ้าเพิ่มหรือลดอุณหภูมิการทนเกลือจะลดน้อยลง

การเติมดินประสิว (KNO_3) ในเนื้อหมู เนื้อวัว จะช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์บางชนิด และช่วยให้สภาพระหว่างการหมักดองเป็นสภาพแบบไร้อากาศ เหมาะแก่การเจริญของพวกแลคติกแอซิดแบคทีเรีย อีกทั้งดินประสิวยังมีส่วนช่วยในการ fix สีของเนื้อให้แดงชวนบริโภคยิ่งขึ้น (Jensen 1965)

จุลินทรีย์ที่สามารถใช้คาร์โบไฮเดรตและสร้างกรดได้ มีรา ยีสต์ และแบคทีเรีย แต่แบคทีเรียที่มีบทบาทสำคัญเกี่ยวกับอาหาร คือแบคทีเรียแลคติก ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญทางด้านผลิตภัณฑ์อาหาร โดยเฉพาะอย่างยิ่งอาหารหมักดอง จุลินทรีย์พวกนี้จะมีความสำคัญทั้งที่เป็นประโยชน์ช่วยในการถนอมอาหาร และพวกที่ทำให้อาหารเสีย Tittster et al. (1952) รายงานว่า Orla-Jonsen ได้จัดแลคติกแอซิดแบคทีเรีย อยู่ใน Family Lactobaciriaceae แบคทีเรียเหล่านี้มีรูปร่างลักษณะกลม (cocci) หรือแท่ง (rod) ไม่สร้างสปอร์, แกรมบวก สามารถเฟอร์เมนต์คาร์โบไฮเดรตให้กรดแลคติกอย่างเดียว หรือกรดแลคติก กรดอาซิติก แอลกอฮอล์ และคาร์บอนไดออกไซด์ จุลินทรีย์เหล่านี้ประกอบด้วย จีนัส Lactobacillus, Leuconostoc, Pediococcus และ Streptococcus เขาได้แยกแลคติกแอซิดแบคทีเรีย เป็น 2 พวกคือ Homofermentative species และ Heterofermentative species โดยอาศัยคุณสมบัติในการ ferment คาร์โบไฮเดรต พวก Homofermentative species เป็นแบคทีเรียที่เฟอร์เมนต์น้ำตาลที่มีคาร์บอน (C) 6 ตัว ให้กรดแลคติก 85–95 เปอร์เซนต์ น้ำตาลที่เหลือเปลี่ยนไปเป็นกรดอาซิติกและคาร์บอนไดออกไซด์ ส่วนพวก Heterofermentative species เป็นแบคทีเรียที่ ferment น้ำตาลที่มีคาร์บอน (C) 6 ตัวให้กรดแลคติก 50 เปอร์เซนต์ ที่เหลือคือ แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์, แอลกอฮอล์ (C_2H_5OH) และกรดอาซิติก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สมบูรณ์ (2524) รายงานว่า Pediococcus spp. เป็นแบคทีเรียรูปร่างกลมแกรมพวก เซลเรียวเป็นคู่และจับเป็นสี่เซล ไม่สร้างสปอร์ไม่เคลื่อนที่ สามารถหมักน้ำตาลกลูโคสแบบ Homofermentative ให้กรดแลคติกไม่ให้แก๊ส จุลินทรีย์เหล่านี้ประกอบด้วย จีนัส Pediococcus pentosaccus, P. cerevisiae P. acidilactici, P. halophilus แบคทีเรียรูปร่างกลมที่จับกลุ่มเป็นสี่เซลเกี่ยวข้องกับขบวนการอาหารหมักประเภทพืช การจับก้อนของโปรตีนในนม อาหารหมักประเภทปลา และเนื้อสัตว์ ปะปนในหญ้าหมักที่เก็บไว้ในการเลี้ยงสัตว์ นอกจากนี้ยังพบในเนยเหลว เนยแข็ง นอกจากนี้ยังพบว่าแบคทีเรียพวกนี้เป็นตัวการให้กลิ่นรสที่ปรารถนาในซีอิ้ว สำหรับประเทศไทยไม่เพียงแต่อุตสาหกรรมผลิตซีอิ้วเท่านั้น อุตสาหกรรมน้ำปลา และแหนม ตลอดจนอาหารพื้นเมือง ก็จะพบว่ามีแบคทีเรียรูปร่างกลมที่จับกลุ่มเป็นสี่เซลอยู่ทั้งสิ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์

1. วัตถุดิบ

– ตัวอย่างมั่น การเก็บตัวอย่างที่ใช้ศึกษาซื้อจากแหล่งผลิตมั่นโดยตรงจากจังหวัดต่าง ๆ ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 6 จังหวัด คือ ขอนแก่น 3 ตัวอย่าง ร้อยเอ็ด มหาสารคาม หนองคาย กาฬสินธ์ และนครราชสีมา จังหวัดละ 1 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นตัวอย่างมั่นที่เพิ่งทำเสร็จใหม่ ๆ และนำมาบรรจุถุงพลาสติกที่ปิดผนึก แล้วเก็บในกระติกน้ำแข็ง ตลอดเวลาจนถึงวันทดลอง การศึกษาชนิดและปริมาณแบคทีเรียในระหว่างการหมักมั่นนี้ให้ตัวอย่างนั้น ๆ มีอายุการหมัก 1, 2, 3,4, 5, 7 และ 14 วัน ณ ที่อุณหภูมิห้อง

2. อุปกรณ์

- Petridish
- Pipett
- หลอดทดลอง
- Lack
- Beaker
- ลวดเขี่ยเชื้อ (Loop)
- สไลด์
- ตะเกียงบุนเซน
- ขวดบรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ
- ถุงพลาสติก
- ปลอกพลาสติก
- สำลี

3. เครื่องมือ

- เครื่องชั่งละเอียด
- pH meter

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)
- Colony counter
- ตู้เขี่ยเชื้อ
- ตู้อบ (Oven)
- กล้องจุลทรรศน์

4. สารเคมี

- K_2HPO_4
- Na acetate. $3H_2O$
- $MgSO_4 . 7H_2O$
- $MnSO_4 . 7H_2O$
- Diammonium citrate
- NaCl
- $CaCo_3$
- $FeSO_4 . 7H_2O$
- Teepol
- Crystal violet
- Saframin O
- Iodine
- Alcohol 95 %
- Hydrogen peroxide
- Sulphanilic acid
- α- naphtylamine
- Acetic acid

5. อาหารเลี้ยงเชื้อ (ภาคผนวก ก.)

- Plate count Agar (PCA)
- GYP medium
- GYP broth

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- MRS medium
- MRS broth
- Carbohydrat fermentation medium
- Nitrate broth

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการ

การเตรียมตัวอย่างเพื่อตรวจวิเคราะห์แบคทีเรีย

ตัวอย่างมั่นที่ใช้ในการศึกษาซื้อจากผู้ผลิตโดยตรง จากจังหวัดต่างๆ ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 6 จังหวัดคือ ขอนแก่น 3 ตัวอย่าง ร้อยเอ็ด มหาสารคาม หนองคาย กาฬสินธ์ และนครราชสีมา จังหวัดละ 1 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นตัวอย่างมั่นทำเสร็จใหม่ ๆ แล้วบรรจุถุงพลาสติกปิดผนึก เก็บโดยแช่น้ำแข็งตลอดเวลาจนถึงวันทดลอง การศึกษานี้เป็นการศึกษามั่นที่มีอายุ การหมัก 1, 2, 3, 4, 5, 7 และ 14 วัน ณ ที่อุณหภูมิห้อง

1. การทำให้ตัวอย่างมั่นเจือจางระดับ 1:10

1.1 การทำให้ตัวอย่างเจือจางโดยใช้ถุงพลาสติก โดยการชั่งตัวอย่างมั่น 20 กรัม ใส่ลงในถุงพลาสติก ขนาด 18 x 25 เซนติเมตร และปากถุงมีปลอกพลาสติกสวมและรัดด้วยยางยืด เพื่อสะดวกในการใส่ตัวอย่าง และทำจุกสำลีปิดไว้ ภายในถุงบรรจุด้วยน้ำเกลือเข้มข้น 0.85 เปอร์เซนต์ ปริมาณ 180 มิลลิลิตร ซึ่งทั้งหมดได้นึ่งฆ่าเชื้อก่อนใส่ตัวอย่างและบดมั่นให้ละเอียดด้วยมือ ปล่อยให้ตกตะกอนเพื่อสะดวกต่อการดูดตัวอย่างออก

1.2 ใช้ปิเปตที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วดูดตัวอย่างที่เจือจาง 1:10 มา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดที่มีน้ำเกลือ 0.85 เปอร์เซนต์ และนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 9 มิลลิลิตร เขย่าอย่างแรงเพื่อให้ตัวอย่างเจือจาง 1:100 ทำเช่นเดียวกันจนได้ตัวอย่างมั่นเจือจางเป็นอัตราส่วน 1:1,000 1:10,000 1:100,000 และ 1:1,000,000 ตามลำดับ

2. การตรวจนับจำนวนแบคทีเรีย

2.1 การตรวจนับจำนวนแบคทีเรียตามวิธี Standard Plate Count (American Public Health Association, 1966) โดยใช้ปิเปตดูดตัวอย่างที่เจือจางในอัตราส่วน 1:10,000 1:100,000 1:1,000,000 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อัตราส่วนละ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานเลี้ยงเชื้อทำอัตราส่วนละ 4 จาน เท อาหาร Plate count agar (P.C.A.), และ GYP agar ซึ่งผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ยังหลอมเหลวและอุ่นอยู่ (ภาคผนวก ก.) อย่างละ 3 จาน ประมาณ 15 มิลลิลิตร ลงไป เขย่าจานให้ตัวอย่างมั่มและอาหารเลี้ยงเชื้อกระจายไปทั่วๆ โดยขยับจานไป-มา 5 ครั้ง แล้วขยับไปมาตั้งฉากกับแนวเดิม 5 ครั้ง ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

2.2 การตรวจนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดโดยเลือกจานที่มีจำนวนโคโลนี 30-300 โคโลนี หาผลเฉลี่ยคิดเป็นจำนวนแบคทีเรียต่อกรัมของอาหาร

3. การตรวจนับจำนวนแลคติกแบคทีเรีย

3.1 ใช้ปิเปตดูดอาหารที่เจือจางแต่ละอัตราส่วนจากข้อ 1.2 อัตราส่วนที่ 1:10,000 1:100,000 1:1,000,000 ตามลำดับ อัตราส่วนละ 1 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อทำอัตราส่วนละ 3 จาน เทอาหาร MRS ** (ภาคผนวก ก.) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วที่ยังหลอมเหลวและยังอุ่นอยู่ประมาณ 15 มิลลิลิตร ลงในแต่ละจาน เขย่าจานให้ตัวอย่างมั่มและอาหารเลี้ยงเชื้อกระจายไปทั่ว ๆ ตั้งทิ้งไว้ให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง

3.2 การนับจำนวนแลคติกแบคทีเรีย เลือกจานชุดที่มีโคโลนี 30-300 โคโลนี นับจำนวนโคโลนี ที่มี zone ใส หาค่าเฉลี่ยคิดเป็นจำนวนแลคติกแบคทีเรียต่อกรัมของอาหาร

4. การแยกเชื้อบริสุทธิ์

เลือกเขี่ยเชื้อจากโคโลนีจานเลี้ยงเชื้อ GYP agar และ MRS agar ที่ใช้นับปริมาณของเชื้อ โดยเลือกโคโลนีที่มีโซนใส และอาศัยความแตกต่างของรูปร่างลักษณะโคโลนีเป็นเกณฑ์นำไป streak บนอาหารเพาะเชื้อ GYP agar และ MRS agar บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนำไปย้อมสีแกรมเพื่อตรวจดูความบริสุทธิ์ เมื่อได้เชื้อที่บริสุทธิ์แล้วนำเชื้อมา streak

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใน MRS agar slant สำหรับเชื้อที่เพาะใน MRS agar และนำเชื้อมา streak ใน GYP agar slant สำหรับเชื้อที่เจริญใน GYP agar เก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ทำการถ่ายเชื้อทุก ๆ 15 วัน

การเตรียม GYP agar slant และ MRS agar slant ทำได้โดยการนำอาหารเลี้ยงเชื้อ GYP agar และ MRS agar ใส่ลงในหลอดทดลอง หลอดละ 5 มิลลิลิตร จุกสำลีแล้วปิดด้วยกระดาษเพื่อป้องกันสำลีเปียก นำไปอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เพื่อครบกำหนดเวลานำออกมาเอียงหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อหลอมเหลวอยู่ภายใน ประมาณ 20 องศา ตั้งทิ้งไว้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

<u>การจำแนกเชื้อแบคทีเรีย</u>

นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้บริสุทธิ์แล้วมาศึกษาทางสัญฐานวิทยา สรีรวิทยา และชีวเคมี

1. ลักษณะทางสัญฐานวิทยา เป็นการตรวจสอบการติดสีแกรม รูปราง และการจัดเรียงตัวของเซล

การย้อมสีแบบ Gram's stain

- ทำความสะอาดสไลด์ให้ปราศจากน้ำมันแล้วเช็ดให้แห้ง
- หยดน้ำลงบนสไลด์ก่อนหนึ่งหยด แล้วจึงใช้ลวดเขี่ยเชื้อเผาไฟเพื่อเป็นการฆ่าเชื้อ และเชื้อที่เจริญอยู่ใน MRS agar และ GYP agar ให้ติดลวดมาเพียงเล็กน้อยแล้วมาผสมกับหยดน้ำละเลงให้มีความชุ่มพอดีสำหรับการย้อมสี
- ปล่อยสไลด์ที่สเมียร์แล้วให้แห้งเอง fix สไลด์โดยนำสไลด์มาลนไฟโดยให้เปลวไฟผ่านใต้สไลด์ตรงรอยสเมียร์ กระทำอย่างค่อนข้างรวดเร็ว 2-3 ครั้ง
- หยดสี crystal violet ให้ท่วมรอยสเมียร์นาน 1 นาที
- เอียงสไลด์เทสีทิ้งพร้อมกับหยดสารละลายไอโอดีนใส่ออกไปและหยดให้ท่วมสเมียร์ทิ้งไว้ นาน 1 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Dccolorize ด้วย 95 เปอร์เซนต์ หรือ acetone alcohol นาน 30 วินาที
- ล้างน้ำแล้วย้อมทับด้วยสี safranin O นาน 1 นาที ล้างน้ำซับ วางไว้ให้แห้งแล้วนำไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยใช้ oil immersion objective

สังเกตุลักษณะการติดสีแกรมของแบคทีเรีย ลักษณะความแตกต่างของเซลแต่ละเซล และลักษณะการจับเรียงตัวของเซล

2. ลักษณะทางสรีรวิทยาและชีวเคมี

2.1 ทดสอบ catalase

Streak เชื้อบริสุทธิ์ลงบน MRS agar และ GYP agar บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 24 ชั่วโมง ทดสอบ catalase โดยราดน้ำยาไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (H_2O_2) (ภาคผนวก ข.) ที่มีความเข้มข้น 3 เปอร์เซนต์ลงบนโคโลนีเดี่ยว ๆ ตรวจผลการเปลี่ยนแปลงภายในเวลา 30 นาที โดยถ้ามีฟองอากาศเกิดขึ้นแสดงว่าเชื้อนั้นมีเอนไซม์ catalase และถ้าไม่มีฟองอากาศเกิดขึ้นแสดงว่าเชื้อนั้นไม่มีเอนไซม์ catalase

2.2 ทดสอบ homofermentative bacterium และ heterofermentative bacterium

ทดสอบตามวิธีการของ Dhavises (1972) โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งประกอบด้วย

- gelatin 12 เปอร์เซนต์
- glucose 5 เปอร์เซนต์
- yeast extract 0.25 เปอร์เซนต์
- น้ำมะเขือเทศ 10 เปอร์เซนต์

บรรจุลงในหลอดทดลองให้อาหารเลี้ยงเชื้อสูง 5-6 เซ็นติเมตร อบไอน้ำฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เวลาทดสอบ inoculate เชื้อที่เจริญใน MRS broth และ GYP broth(ภาคผนวก ก.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

24 ชั่วโมง ลงไป 1 Loop ปิดผิวหน้าด้วยวุ้นสูง 1 เซ็นติเมตร (ใช้วุ้น 3 เปอร์เซนต์ ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร อบไอน้ำฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที) เก็บเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง ตรวจผลระหว่าง 14 วัน พวก heterofermentative bacterium จะสร้างก๊าซโดยจะเกิดฟองขึ้นภายใต้วุ้นที่ปิดทับไว้หรือบาง strain จะดันผิวหน้าวุ้นขึ้นมา สำหรับ hemofermentative bacterium จะไม่มีฟองก๊าซใด ๆ เกิดขึ้น

2.3 ทดสอบความสามารถทน Teepol 0.4 เปอร์เซนต์

ใช้วิธีของ Gunther และ White (1961) โดยการใช้อาหาร MRS broth และ GYP broth เติม Teepol ให้มีความเข้มข้นเป็น 0.4 เปอร์เซนต์ นำไปอบไอน้ำฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ใช้เชื้อที่เจริญในอาหาร MRS broth และ GYP broth อายุ 24 ชั่วโมง inoculate ลงไป 1 loop เก็บเชื้อที่อุณหภูมิห้องตรวจผลในเวลา 3 วัน สังเกตุการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับอาหาร ถ้าเชื้อสามารถทนต่อ Teepol 0.4 เปอร์เซนต์ ได้มีการเจริญเติบโตขึ้นอาหารจะมีการเปลี่ยนแปลงขึ้น และถ้าเชื้อไม่สามารถที่จะเจริญใน Teepol 0.4 เปอร์เซนต์ได้ อาหารจะไม่มีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้น

2.4 ทดสอบความสามารถทนเกลือโซเดียมคลอไรด์ 10 เปอร์เซนต์

ตามวิธีของ Gunther และ White (1961) โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth และ GYP broth โดยอบโซเดียมคลอไรด์ที่ 110 องศาเซลเซียส นาน 1–2 ชั่วโมง เพื่อให้มีน้ำหนักที่คงที่แน่นอนนำไปเติมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth และ GYP broth ให้มีความเข้มข้นของเกลือเท่ากับ 10 เปอร์เซนต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) นำไปอบไอน้ำฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที แล้วใช้เชื้อที่เจริญใน MRS broth และ GYP broth อายุ 24 ชั่วโมง inoculate ลงไป 1 loop เก็บเชื้อที่อุณหภูมิห้องตรวจผลภายในเวลา 3 วัน สังเกตุการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับอาหาร ถ้าเชื้อสามารถเจริญได้ในเกลือโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 10 เปอร์เซนต์ อาหารจะมีความขุ่นเกิดขึ้น ถ้าเชื้อไม่สามารถทนความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ 10 เปอร์เซนต์ จะไม่มีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 ความสามารถในการสร้างกรดจากคาร์โบไฮเดรตชนิดต่าง ๆ

คาร์โบไฮเดรตที่ใช้ทดสอบการสร้างกรดของแบคทีเรีย ได้แก่

น้ำตาลกลูโคส (glucose)

น้ำตาลอะราบิโนส (arabinose)

น้ำตาลมอลโตส (moltose)

น้ำตาลซูโครส (sucrose)

น้ำตาลแลคโตส (Lactose)

น้ำตาลเมลิไบโอส (melibiose)

น้ำตาลราฟฟิโนส (raffinose)

น้ำตาลฟรุคโตส (fructose)

น้ำตาลไซโลส (xylose)

โดยใช้อาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต, yeast extract, peptone เป็นอาหารหลักและมี bromeresol purple เป็นดัชนี (ภาคผนวก ก.)

การทดสอบทำโดยใส่เชื้อที่เจริญใน MRS broth และ GYP broth อายุ 24 ชั่วโมง inoculate ลงไป 1 loop บ่มที่อุณหภูมิห้อง ตรวจผลภายในเวลา 7 วัน ถ้าแบคทีเรียสามารถ ferment คาร์โบไฮเดรตชนิดใดได้ จะสร้างกรดขึ้นมาทำให้อาหารเปลี่ยนเป็นสีเหลือง

2.6 ทดสอบความสามารถในการเจริญที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส 37 องศาเซลเซียส และ 45 องศาเซลเซียส

การทดสอบทำโดยใส่เชื้อที่เจริญใน MRS broth และ GYP broth อายุ 24 ชั่วโมง inoculate ลงไปใน MRS broth และ GYP broth 1 loop นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อ ปรับอุณหภูมิให้ได้ 15 องศาเซลเซียส 37 องศาเซลเซียส และ 45 องศาเซลเซียส ตรวจผลภายใน 48 ชั่วโมง ว่ามีการเจริญเติบโตเกิดขึ้นหรือไม่โดยสังเกตุจากการขุ่นของอาหาร

2.7 ทดสอบการรีดิวส์ไนเตรท

ตามวิธีของ Skerman (1969) ทดสอบโดยใส่เชื้อที่เจริญใน MRS broth และ GYP broth อายุ 24 ชั่วโมง ลงใน nitrate broth

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

97029

(ภาคผนวก ก.) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน หยดน้ำยาทดสอบไนเตรท (ภาคผนวก ข.) ประกอบด้วย solution A และ B ลงไปอย่างละ 2-3 หยด ตามลำดับ ถ้าอาหารเปลี่ยนเป็นสีแดง แสดงว่าไนเตรทถูกรีดิวส์ไปเป็นไนไตรท์ ผลเป็นบวก แต่ถ้าเป็นลบ จะไม่เกิดสีแดงในอาหาร

2.8 ทดสอบความสามารถในการเจริญที่ pH 8.6 และ pH 4.5

เตรียมโดยปรับอาหาร MRS broth และ GYP broth ให้มี pH 8.6 โดยใช้ glycine buffer ซึ่งเตรียมโดยใช้ 50 มิลลิลิตร 0.2 M. glucine solution (ชั่ง glycine 15.01 กรัมละลายน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร) ผสมกับ 4 มิลลิลิตร 0.2 M. NaOH นำส่วนผสมนี้ glycine solution 50 มิลลิลิตร + NaOH solution 4 มิลลิลิตร ไปทำให้เจือจาง โดยเติมน้ำกลั่นจนปริมาตรครบ 200 มิลลิลิตร นำไปใช้เป็น buffer solution เพื่อเตรียม MRS broth และ GYP broth แทนน้ำกลั่นซึ่งเติมลงไปในอาหารนี้ ใช้เครื่อง pH meter วัด pH ของอาหาร ถ้า pH ต่ำกว่า 8.6 เติม NaOH solution ถ้า pH สูงกว่า 8.6 เติม Glycine solution ปรับจน pH ของอาหารมีค่า 8.6 ตามต้องการ

การเตรียม MRS broth และ GYP broth ให้มี pH 4.5 โดยใช้ Sodium acetate acetic acid เตรียมโดยใช้ 30.5 มิลลิลิตร 0.2 M. acetic acid (ตวง acetic acid เข้มข้น 11.55 มิลลิลิตร ผสมลงในน้ำกลั่นได้ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร) ผสมกับ 19.5 มิลลิลิตร 0.2 M. Sodium acetic solution (ชั่ง $C_2H_3O_2Na$ 16.4 กรัม ละลายน้ำกลั่นได้ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร) นำส่วนผสมนี้ไปเจือจางโดยใช้น้ำกลั่นจนได้ปริมาตรครบ 100 มิลลิลิตร นำไปใช้เป็น buffer solution เพื่อเตรียม MRS broth และ GYP broth แทนน้ำกลั่นซึ่งเติมลงไปในอาหารนี้ ใช้เครื่อง pH meter วัด pH ของอาหาร ถ้า pH ของอาหารต่ำกว่า 4.5 เติม Sodium acetic solution ถ้า pH ของอาหารมีค่าสูงกว่า 4.5 เติม acetic acid solution ปรับจน pH ของอาหารมีค่า 4.5 ตามที่ต้องการ (Colowick และ Kaplan 1955) นำเชื้อที่เจริญใน MRS broth และ GYP broth inoculate ลงไป 1 loop ในอาหารเลี้ยงเชื้อนี้ บ่มในตู้บ่มอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน ตรวจผลโดยดูลักษณะความขุ่นของอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลอง

ผลการตรวจนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด จำนวนแบคทีเรียแลคติก การศึกษาทางสัญฐานวิทยา สรีรวิทยาและทางชีวเคมี ของตัวอย่างมันซึ่งเก็บตัวอย่างมาจากผู้ผลิตโดยตรง ซึ่งเป็นมันที่ทำเสร็จใหม่ ๆ มันเหล่านี้เป็นผลิตภัณฑ์ของจังหวัดต่าง ๆ ทางภาคอีสาน 6 จังหวัด คือ ขอนแก่น ร้อยเอ็ด มหาสารคาม หนองคาย กาฬสินธ์ และนครราชสีมา รวมทั้งสิ้น 8 ตัวอย่าง ซึ่งผลการทดสอบต่าง ๆ มีดังต่อไปนี้

<u>ผลการตรวจนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด</u>

การตรวจนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในอาหาร PCA และ GYP จากตัวอย่าง 8 ตัวอย่าง แต่ละตัวอย่างมีอายุการหมัก 1, 2, 3, 4, 5, 7 และ 14 วัน แบคทีเรียที่พบในมันทั้งหมดในอาหาร PCA อยู่ในช่วง $1.4 \times 10^4 - 1.8 \times 10^8$ เซลต่อกรัม และในอาหาร GYP อยู่ในช่วง $1.2 \times 10^4 - 1.3 \times 10^7$ เซลต่อกรัม การที่พบแบคทีเรียในมันอาจมีสาเหตุหลายประการ เช่น การปนเปื้อนมาจากเนื้อสด และระหว่างการผลิตมัน ขณะที่นำเนื้อมาบดให้ละเอียดผสมเครื่องเทศและเครื่องปรุงรสต่าง ๆ นอกจากนั้นทั้งเกลือและเครื่องเทศยังเป็นแหล่งของแบคทีเรีย รวมทั้งอุปกรณ์เครื่องใช้ที่ไม่สะอาด ทำให้จุลินทรีย์ปนเปื้อนในส่วนผสมของมันได้และเมื่อนำส่วนผสมเหล่านี้มาบรรจุในไส้ การปนเปื้อนก็เกิดขึ้นได้ในช่วงนี้อีก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

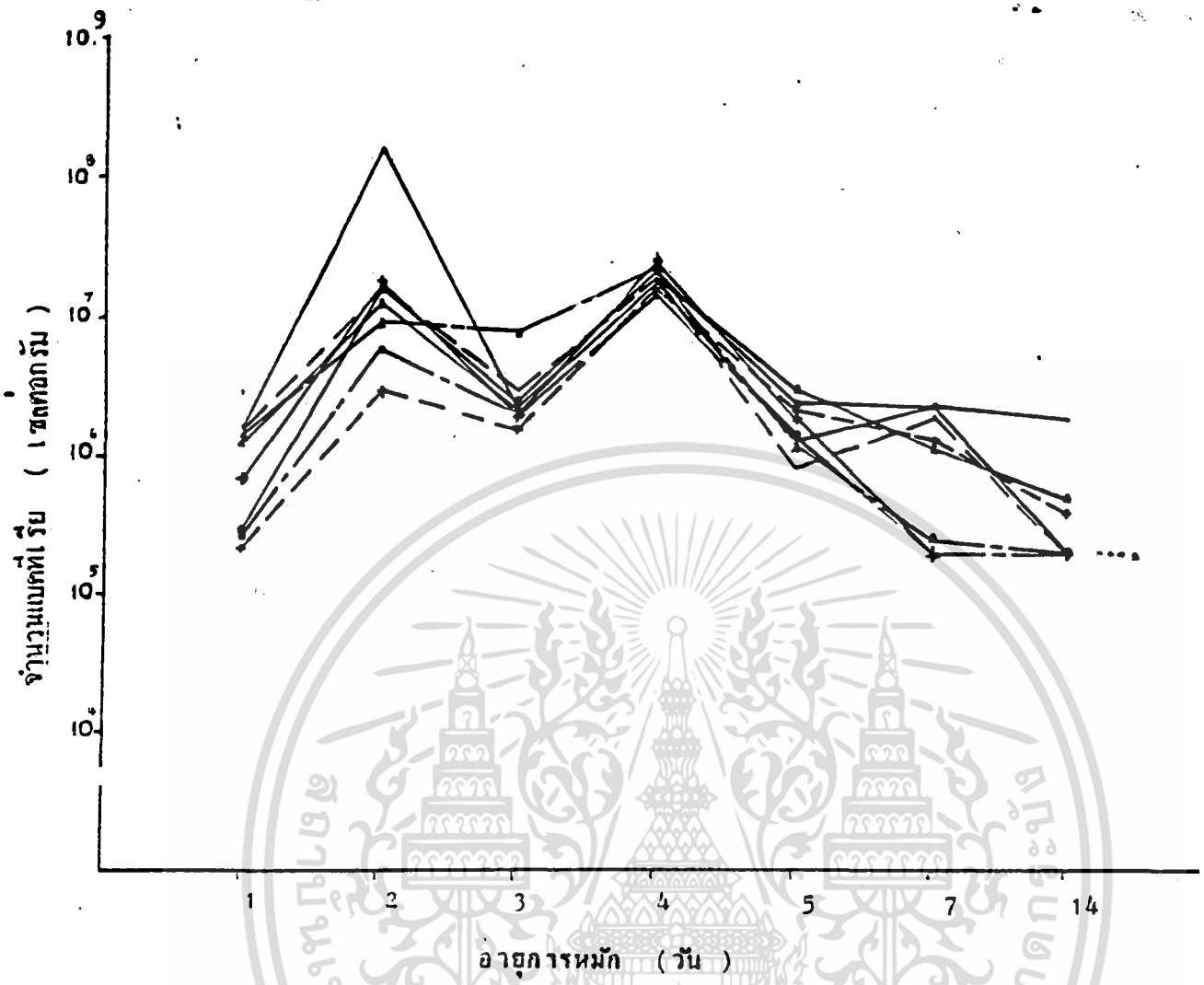
ตารางที่ 1 แสดงจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดของมันที่อายุการหมักต่างๆในอาหาร PCA

สถานที่ / ตัวอย่างที่	จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด"						
	1 วัน	2 วัน	3 วัน	4 วัน	5 วัน	7 วัน	14 วัน
จ.ขอนแก่น							
ตัวอย่างที่ 1	2.2×10^{6}	1.8×10^{4}	3.4×10^{6}	2.4×10^{7}	1.2×10^{5}	3.7×10^{6}	3.1×10^{6}
ตัวอย่างที่ 2	2.0×10^{6}	2.0×10^{7}	4.6×10^{6}	2.8×10^{7}	9.4×10^{5}	3.0×10^{6}	3.0×10^{5}
ตัวอย่างที่ 3	4.6×10^{5}	2.0×10^{7}	4.0×10^{6}	3.2×10^{7}	3.8×10^{6}	3.7×10^{6}	3.1×10^{5}
จ.นครราชสีมา							
ตัวอย่างที่ 4	4.2×10^{5}	7.8×10^{6}	3.0×10^{5}	1.6×10^{7}	1.4×10^{4}	3.0×10^{5}	3.0×10^{5}
จ.ร้อยเอ็ด							
ตัวอย่างที่ 5	3.2×10^{5}	2.1×10^{7}	3.0×10^{6}	3.8×10^{7}	2.8×10^{6}	3.0×10^{5}	3.0×10^{5}
จ.มหาสารคาม							
ตัวอย่างที่ 6	3.7×10^{5}	4.1×10^{6}	2.0×10^{5}	2.5×10^{7}	3.0×10^{6}	1.4×10^{6}	6.0×10^{5}
จ.หนองคาย							
ตัวอย่างที่ 7	1.1×10^{6}	1.7×10^{7}	3.2×10^{5}	2.8×10^{7}	4.8×10^{6}	1.8×10^{6}	7.0×10^{5}
จ.กาฬสินธุ์							
ตัวอย่างที่ 8	1.2×10^{6}	9.6×10^{6}	9.0×10^{4}	3.4×10^{7}	1.7×10^{6}	3.9×10^{5}	3.0×10^{5}

" จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดมีหน่วยเป็น เซลต่อกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

13616



ภาพที่ 1 แสดงจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดของมันที่อายุการหมักต่างๆในอาหาร PCA

ตัวอย่างที่ 1
ตัวอย่างที่ 2
ตัวอย่างที่ 3
ตัวอย่างที่ 4
ตัวอย่างที่ 5
ตัวอย่างที่ 6
ตัวอย่างที่ 7
ตัวอย่างที่ 8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

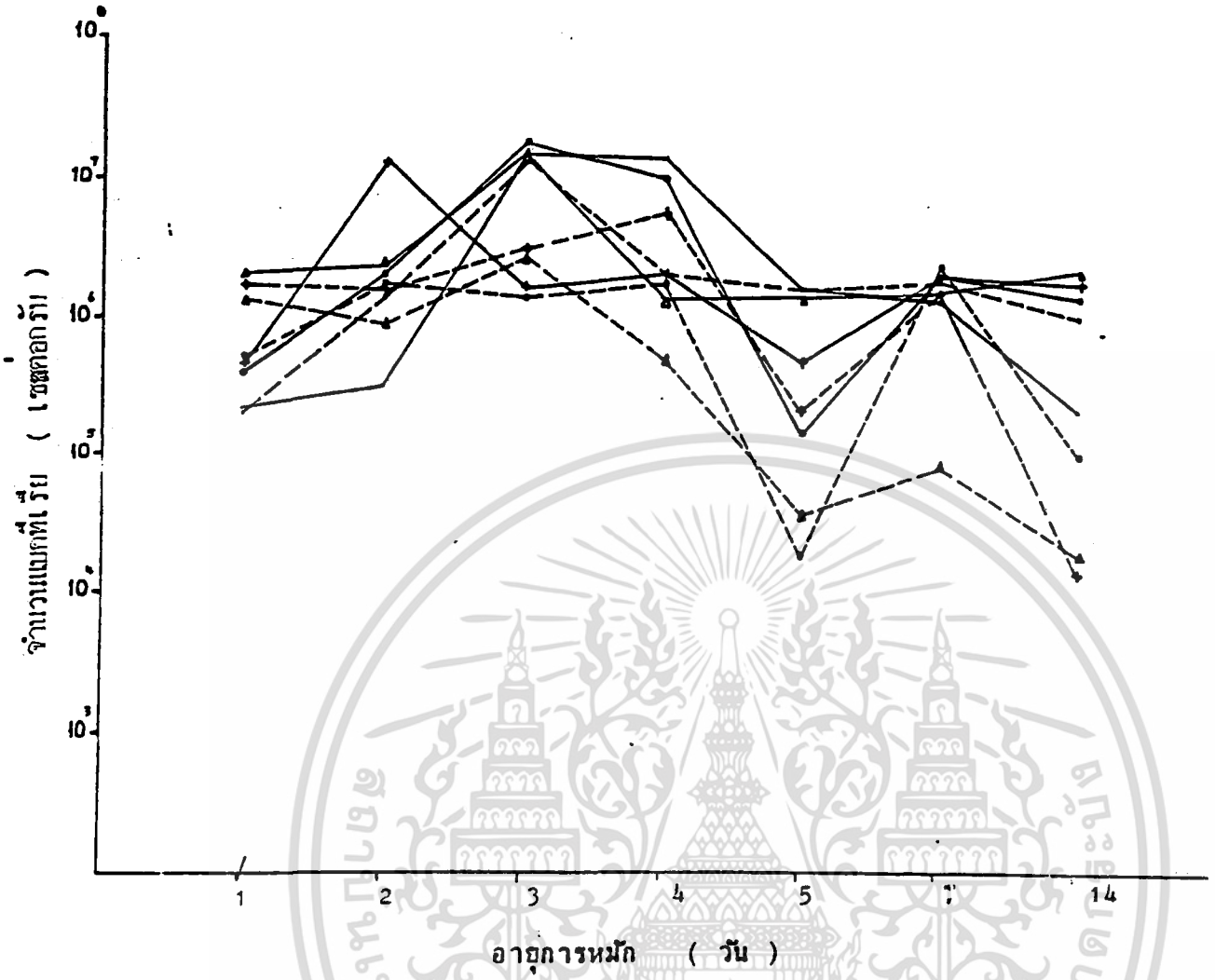
ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
วิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ตารางที่ 2 แสดงจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดของมันที่อายุการหมักต่างๆในอาหาร GYP

สถานที่	จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด*						
ตัวอย่างที่	1 วัน	2 วัน	3 วัน	4 วัน	5 วัน	7 วัน	14วัน
จ.ขอนแก่น							
ตัวอย่างที่1	3.1×10^{5}	4.8×10^{5}	1.6×10^{7}	1.3×10^{7}	1.8×10^{6}	1.1×10^{6}	3.0×10^{5}
ตัวอย่างที่2	3.0×10^{5}	1.4×10^{6}	1.2×10^{7}	3.0×10^{6}	1.8×10^{6}	2.3×10^{6}	4.9×10^{5}
ตัวอย่างที่3	5.9×10^{5}	3.0×10^{6}	2.1×10^{7}	9.8×10^{6}	1.2×10^{5}	3.0×10^{6}	1.4×10^{5}
จ.นครราชสีมา							
ตัวอย่างที่4	7.5×10^{5}	2.2×10^{6}	1.1×10^{6}	2.6×10^{6}	2.6×10^{4}	3.5×10^{6}	9.4×10^{4}
จ.ร้อยเอ็ด							
ตัวอย่างที่5	7.3×10^{5}	1.1×10^{7}	1.6×10^{6}	3.0×10^{6}	6.5×10^{5}	3.0×10^{6}	2.2×10^{6}
จ.มหาสารคาม							
ตัวอย่างที่6	2.2×10^{6}	1.5×10^{6}	4.9×10^{5}	7.4×10^{6}	2.7×10^{5}	1.4×10^{6}	1.2×10^{4}
จ.หนองคาย							
ตัวอย่างที่7	3.0×10^{6}	3.2×10^{6}	1.3×10^{7}	1.5×10^{6}	1.6×10^{6}	1.5×10^{6}	3.6×10^{6}
จ.กาฬสินธุ์							
ตัวอย่างที่8	1.2×10^{6}	9.2×10^{5}	4.6×10^{6}	6.8×10^{5}	5.4×10^{4}	8.9×10^{4}	2.5×10^{4}

* จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดมีหน่วยเป็น เซลต่อกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2 แสดงจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดของมันที่อายุการหมักต่างๆในอาหาร GYP

ตัวอย่างที่ 1
ตัวอย่างที่ 2
ตัวอย่างที่ 3
ตัวอย่างที่ 4
ตัวอย่างที่ 5
ตัวอย่างที่ 6
ตัวอย่างที่ 7
ตัวอย่างที่ 8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการตรวจแบคทีเรียแลคติก

เนื่องจากอาหาร MRS เป็นอาหารที่ใช้กับแบคทีเรียแลคติกทุกตัวได้ดี (de Man,J,C และ Sharpe 1960) จึงรายงานผลการตรวจนับจำนวนแบคทีเรียแลคติกทั้งหมดในอาหาร MRS จากตัวอย่าง 8 ตัวอย่าง แต่ละตัวอย่างมีอายุการหมัก 1, 2, 3, 4, 5, 7 และ 14 วัน ซึ่งจำนวนแบคทีเรียแลคติกที่พบอยู่ในช่วง 2.0×10^{3} – 2.9×10^{8} เซลล์ต่อกรัม สามารถแยกเป็นจำนวนแบคทีเรียที่พบในแต่ละมื้นได้ คือ ในวันแรกของการหมักพบประมาณ 1.5×10^{6} เซลล์ต่อกรัม วันที่ 2, 3, และ 4 ปริมาณแบคทีเรียจะเพิ่มขึ้น คือ ประมาณ 4.5×10^{7}, 2.8×10^{7} และ 3.1×10^{7} เซลล์ต่อกรัมตามลำดับ วันที่ 5 และ 7 ของการหมักปริมาณแบคทีเรียลดลงคือ ประมาณ 3.7×10^{4} และ 5.5×10^{5} เซลล์ต่อกรัมตามลำดับ และในวันที่ 14 ของการหมักปริมาณแบคทีเรีย เพิ่มขึ้นเป็น 3.5×10^{6} เซลล์ต่อกรัม

แบคทีเรียแลคติกที่พบในมื้นมีการปนเปื้อนมาจากเนื้อสด เครื่องเทศ เครื่องปรุงรส เครื่องมือที่ใช้ในระหว่างการผลิต และการบรรจุไส้ แบคทีเรียแลคติกสามารถเจริญและเพิ่มจำนวนในมื้นที่เก็บไว้ในอุณหภูมิปกติ ในขณะที่แบคทีเรียแลคติกทนกรดและจะเพิ่มจำนวนมากขึ้นในขณะเก็บ และอาจจะเป็นไปได้ว่าแบคทีเรียแลคติกยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียชนิดอื่นในมื้นได้ (Raccack 1978) ได้รายงานว่าการยับยั้งการเจริญนี้เนื่องมาจากปริมาณกรดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) และสารชนิดอื่นที่แบคทีเรียแลคติกสร้างขึ้น

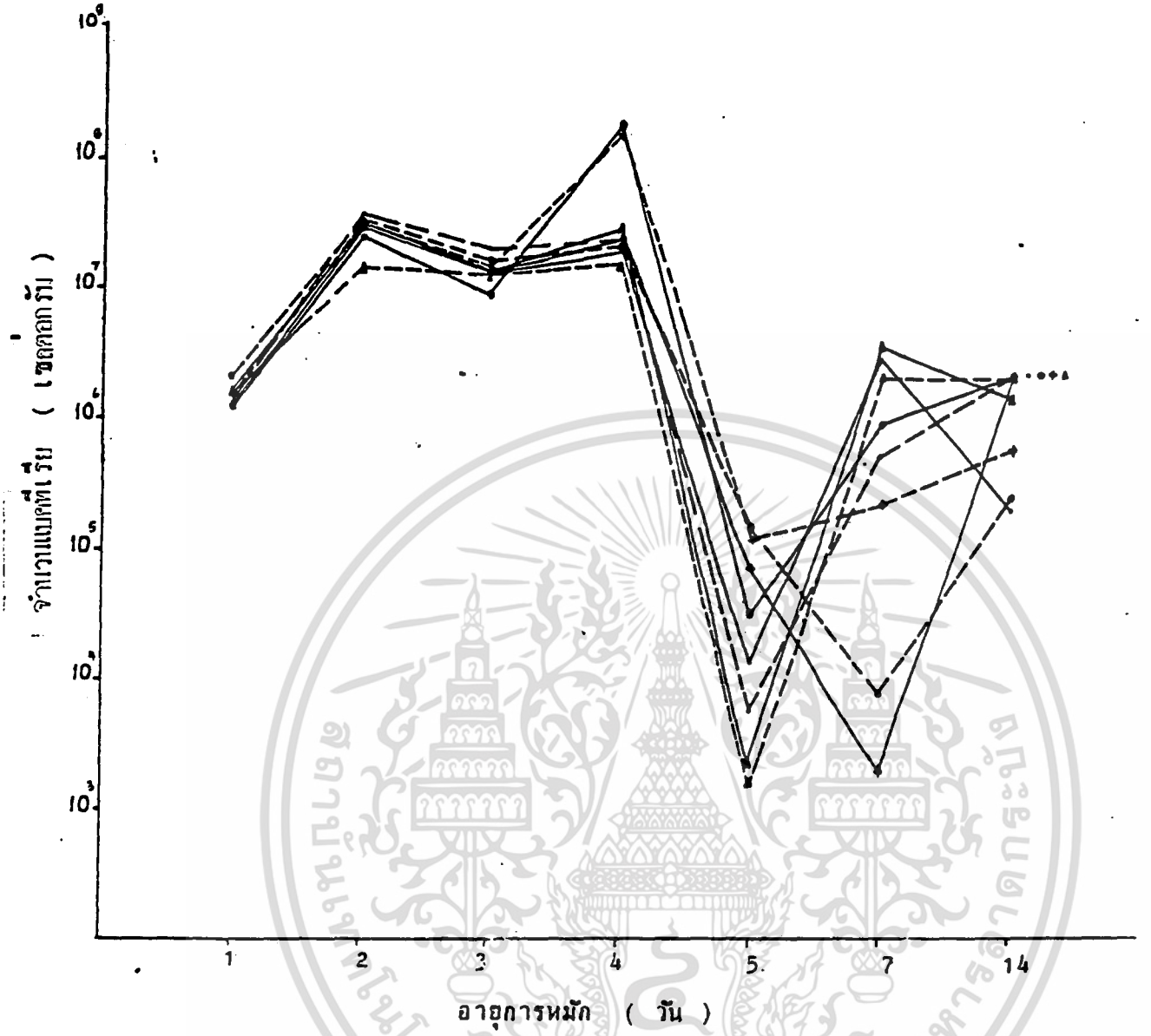
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 แสดงจำนวนแบคทีเรียแลคติกทั้งหมดของมั่นที่อายุการหมักต่างๆในอาหาร MRS

สถานที่	จำนวนแบคทีเรียแลคติกทั้งหมด*						
ตัวอย่างที่	1 วัน	2 วัน	3 วัน	4 วัน	5 วัน	7 วัน	14 วัน
จ.ขอนแก่น							
ตัวอย่างที่1	2.1×10^{6}	4.8×10^{7}	1.3×10^{7}	2.9×10^{7}	1.4×10^{4}	4.6×10^{6}	3.0×10^{5}
ตัวอย่างที่2	1.3×10^{6}	5.8×10^{7}	2.9×10^{7}	3.6×10^{7}	7.3×10^{3}	7.2×10^{5}	3.0×10^{6}
ตัวอย่างที่3	1.0×10^{6}	4.0×10^{7}	9.8×10^{6}	2.9×10^{8}	5.0×10^{4}	9.4×10^{5}	3.0×10^{6}
จ.นครราชสีมา							
ตัวอย่างที่4	2.9×10^{6}	5.3×10^{7}	2.0×10^{7}	3.0×10^{7}	1.9×10^{5}	8.9×10^{3}	3.9×10^{5}
จ.ร้อยเอ็ด							
ตัวอย่างที่5	1.1×10^{6}	5.0×10^{7}	1.3×10^{7}	3.6×10^{7}	8.4×10^{4}	2.7×10^{3}	3.0×10^{6}
จ.มหาสารคาม							
ตัวอย่างที่6	1.5×10^{6}	4.8×10^{7}	1.5×10^{7}	2.5×10^{8}	1.0×10^{5}	3.4×10^{5}	7.6×10^{5}
จ.หนองคาย							
ตัวอย่างที่7	1.0×10^{6}	5.0×10^{7}	2.3×10^{7}	4.4×10^{7}	3.3×10^{3}	5.4×10^{6}	1.5×10^{6}
จ.กาฬสินธ์							
ตัวอย่างที่8	1.4×10^{6}	1.9×10^{7}	1.4×10^{7}	2.2×10^{7}	2.0×10^{3}	3.0×10^{6}	3.0×10^{6}

* จำนวนแบคทีเรียแลคติกทั้งหมดมีหน่วยเป็น เซลล์ต่อกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3 แสดงจำนวนแบคทีเรียแลคติคทั้งหมดของน้ำที่อายุการหมักต่างๆในอาหาร MRS

ตัวอย่างที่ 1
ตัวอย่างที่ 2
ตัวอย่างที่ 3
ตัวอย่างที่ 4
ตัวอย่างที่ 5
ตัวอย่างที่ 6
ตัวอย่างที่ 7
ตัวอย่างที่ 8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการศึกษาทางสัญฐานวิทยา สรีรวิทยา และชีวเคมี

เมื่อนำเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้จากตัวอย่างมั่ม มาศึกษาทางสัญฐานวิทยา สรีรวิทยา และชีวเคมี สามารถจำแนกชนิดแบคทีเรีย เชื้อทั้งหมด 204 เชื้อ แบ่งออกเป็นกลุ่มใหญ่ ๆ ได้ 2 กลุ่ม คือ

พวกที่มีลักษณะรูปร่างเป็นแท่ง (rod) ไม่สร้างสปอร์ แกรมบวก ไม่สร้างเอนไซม์คาตาเลส 66 เชื้อ เมื่อนำมาทดสอบคุณสมบัติการเฟอร์เมนต์คาร์โบไฮเดรตแล้วสามารถแยกได้เป็นพวกโฮโมเฟอร์เมนต์เตทีบสบีซี 60 เชื้อ ซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มคือ Lactobacillus plantarum พบทั้งหมด 51 เชื้อ และ Lactobacillue casei พบทั้งหมด 9 เชื้อ แบคทีเรียทั้งสองตัวนี้สามารถเจริญเติบโตได้ดีในมั่ม ตรวจพบตลอดเวลาการหมักมั่ม ส่วนพวกเฮทีโรเฟอร์เมนต์เตทีบสบีซี่ พบ 6 เชื้อ เป็นพวก Lactobacillus brevis ตรวจพบในช่วงวันแรก ๆ ของการหมักมั่มเท่านั้น

พวกที่มีลักษณะรูปร่างกลม (coccus) ไม่สร้างสปอร์ แกรมบวก ไม่สร้างเอนไซม์คาตาเลส จำนวน 138 เชื้อ เมื่อนำมาทดสอบคุณสมบัติการเฟอร์เมนต์คาร์โบไฮเดรตแล้วสามารถแยกได้เป็นพวกโฮโมเฟอร์เมนต์เตทีบสบีซี่ 118 เชื้อ แบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มคือ Pediococcus cerevisiae พบทั้งหมด 113 เชื้อ และ Pediococcus homari พบทั้งหมด 5 เชื้อ สามารถตรวจพบตลอดเวลาการหมักมั่ม ส่วนเฮทีโรเฟอร์เมนต์เตทีบสบีซี่ พบ 20 เชื้อ เป็นพวก Leuconostoc mecentoroides ทั้งหมด ตรวจพบในช่วงแรก ๆ ของการหมักมั่มเท่านั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 แสดงกลุ่มแบคทีเรียที่แยกได้จากมั่ม

Type	จำนวนไอโซเลท		
	จำนวนไอโซเลทที่แยกได้ทั้งหมด	Fermentation	
		Homofermentative	Heterofermentative
* แบคทีเรียรูปร่างแท่ง	66	60	6
** แบคทีเรียรูปร่างกลม	138	118	20

* เป็นแบคทีเรียที่มีรูปร่างแท่ง ไม่สร้างสปอร์ แกรมบวก ไม่สร้างเอนไซม์คาตาเลส

** เป็นแบคทีเรียที่มีรูปร่างกลม ไม่สร้างสปอร์ แกรมบวก ไม่สร้างเอนไซม์คาตาเลส เซลเรียงเป็นคู่และจับเป็นสี่เซล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 แสดงคุณสมบัติทางสรีรวิทยา และชีวเคมี ของแบคทีเรียกลุ่มที่ 1 (รูปร่างแท่ง โฮโมเฟอร์เมนต์เคทีบสปีชี่ จำนวน 60 เชื้อ)

คุณสมบัติทางสรีรวิทยาและชีวเคมี	กลุ่มที่ 1	กลุ่มที่ 2
การเจริญเติบโตที่ 15 องศาเซลเซียส	+	+
การเจริญเติบโตที่ 45 องศาเซลเซียส	+	+
การเจริญเติบโตใน 0.4 % Teepol	+	–
การสร้างเอนไซม์คาตาเลส	–	–
การสร้างกรดจากคาร์โบไฮเดรต		
arabinose	+	-
lactose	+	+
melibiose	+	+
raffinose	+	-
rhamnose	+	-
sucrose	+	+
xylose	+	-

+ ผลบวก หมายถึง มีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้น

- ผลลบ หมายถึง ไม่มีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 แสดงคุณสมบัติทางสรีรวิทยาและชีวเคมี ของแบคทีเรีย กลุ่มที่ 1 (รูปร่างแท่ง เฮทที่โรเฟอร์เมนต์เคทีฟสปีชี่ จำนวน 6 เชื้อ)

คุณสมบัติทางสรีรวิทยาและชีวเคมี	Growth
การเจริญเติบโตที่ 15 องศาเซลเซียส	+
การเจริญเติบโตที่ 45 องศาเซลเซียส	-
การเจริญเติบโตใน 0.4 % Teepol	+
การสร้างเอนไซม์คาตาเลส	-
การสร้างกรดจากคาร์โบไฮเดรต	
arabinose	+
cellabiose	-
melezitose	-
melebiose	+
raffinose	-
xylose	+

+ ผลบวก หมายถึง มีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้น

- ผลลบ หมายถึง ไม่มีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 แสดงคุณสมบัติทางสรีรวิทยาและชีวเคมีของแบคทีเรีย กลุ่มที่ 2 (รูปร่างกลม โฮโมเฟอร์เมนต์เตทีบสปีชี่ จำนวน 118 เชื้อ)

คุณสมบัติทางสรีรวิทยาและชีวเคมี	กลุ่มที่ 1	กลุ่มที่ 2
การเจริญเติบโตที่ 37 องศาเซลเซียส	+	+
การเจริญเติบโตที่ 45 องศาเซลเซียส	+	-
การเจริญเติบโตที่ pH 4.5	+	-
การเจริญเติบโตที่ pH 8.6	+	+
การเจริญเติบโตที่ 10 % NaCl	-	+
การสร้างเอนไซม์คาตาเลส	-	-
การสร้างกรดจากคาร์โบไฮเดรต		
arabinosr	+	-
maltose	+	+
raffinose	-	+
sucrose	-	+
dextrin	-	-

+ ผลบวก หมายถึง มีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้น

- ผลลบ หมายถึง ไม่มีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 8 แสดงคุณสมบัติทางสรีรวิทยาและชีวเคมี ของแบคทีเรีย กลุ่มที่ 2 (รูปร่างกลม เฮทโรเฟอร์เมนเตทีฟสปีชี่ จำนวน 20 เชื้อ)

คุณสมบัติทางสรีรวิทยาและชีวเคมี	Growth
การสร้างเอนไซม์คาตาเลส	-
การรีดิวซ์ไนเตรท	-
การแก๊สจากน้ำตาลกลูโคส	+
การสร้างกรดจากคาร์โบไฮเดรต	
glucose	+
arabinose	+
cellabiose	-
lactose	+
maltose	+
sucrose	+
sorbital	-
xylose	+

+ ผลบวก หมายถึง มีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้น

- ผลลบ หมายถึง ไม่มีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 9 แสดงชนิดของแบคทีเรีย และเชื้อที่แยกได้ (รูปร่างแท่ง โฮโมเฟอร์เมนต์เดทิบสปีชี่)

อายุการหมัก	เชื้อที่(ตัวอย่าง)	แบคทีเรีย
วันที่ 1	14(1),17,21,24-34(2),91,93(3)	Lactobacillus plantarum
	75,77,79(5),96,99(8)	L. plantarum
	22,23(2)	L. casei
วันที่ 2	101,103,104(1),105,106(2),112(3)	L. plantarum
	110,113(4),135(5),115,116(6)	L. plantarum
	109(2)	L. casei
วันที่ 3	162(1),174,175(3),166,168(4)	L. plantarum
	170,171(5),172(6),173(7),176(8)	L. plantarum
	169(5)	L. casei
วันที่ 4	205(1),191,214(7),216(8)	L. casei
	206(1),198(3),209(4),210-212(5)	L. plantarum
	186(6),190,215(7),217(8)	L. plantarum
วันที่ 5	218(2)	L. plantarum
วันที่ 14	235(4)	L. plantarum
	236(4)	L. casei

จากศึกษานี้สามารถแบ่งกลุ่มของแบคทีเรียได้เป็น 2 กลุ่มคือ

กลุ่มที่ 1 Lactobacillus plantarum พบทั้งหมด 51 เชื้อ

กลุ่มที่ 2 Lactobacillus casei พบทั้งหมด 9 เชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 10 แสดงชนิดของแบคทีเรีย และเชื้อที่แยกได้ (รูปร่างแท่ง เฮทีโรเฟอร์เมนต์เตทีบสปีชี่)

อายุการหมัก	เชื้อที่ (ตัวอย่าง)	แบคทีเรีย
วันที่ 1	78(5) , 97(8)	Lactobacillus brevis
วันที่ 2	127(1) , 121(3)	L. brevis
วันที่ 3	165(2) , 167(4)	L. brevis

การศึกษาคุณสมบัติทางสรีรวิทยาและชีวเคมี ของแบคทีเรียรูปร่างแท่ง ไม่สร้างสปอร์ แกรมบวก ไม่สร้างเอนไซม์คาตาเลส และจากการทดสอบคุณสมบัติการเฟอร์เมนต์ คาร์โบไฮเดรต แยกได้เป็นพวกเฮทีโรเฟอร์เมนต์-เตทีบสปีชี่ 6 เชื้อ พบว่าทั้ง 6 เชื้อเป็น Lactabacillus brevis

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 11 แสดงชนิดของแบคทีเรียและเชื้อที่แยกได้ (รูปร่างกลม โฮโมเฟอร์เมนต์เตทีบสปีชี่)

อายุการหมัก	เชื้อที่(ตัวอย่าง)	แบคทีเรีย
วันที่ 1	1,2,4,5,7,8,12,13(1),19,20(2),36,37	Pediocuccus cerevisiae
	40,42-44,45-63(3),54,65,66,76(5),46-48,81-84(6),49-52,85-89(7),76-79,71-74(8)	P.cerevisiae
	10,11(1)	Pediocuccus homori
วันที่ 2	128(1),131(2),138-139(3),112,133-134(4)	Pediocuccus cerevisiae
	120,136(5),117-119(7)	P.cerevisiae
วันที่ 3	141,160(1),164(2),153,155(3),144(4)	P.cerevisiae
	145,147(5),160(6),156-157(8)	P.cerevisiae
วันที่ 4	177-179(1),197(3),181(4),184,211(5)	P.cerevisiae
	285(6),192,194(7),201-203(8)	P.cerevisiae
	204(1)	Pediocuccus homori
วันที่ 5	202-221,223-225(1),214(7),226(6)	Pediocuccus cerevisiae
วันที่ 7	234(3),227,229(5),228,230(6)	P.cerevisiae
	232(7)	P.cerevisiae
วันที่ 14	242-243(2),237,244,247(4)	P.cerevisiae
	245(5),239,240,246,248(6)	P.cerevisiae
	238,241(6)	Pediocuccus homori

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 12 แสดงชนิดของแบคทีเรียและเชื้อที่แยกได้ (รูปร่างกลม เฮทที่โรเฟอร์เมนต์เตทีบสปีชี่)

อายุการหมัก	เชื้อที่ (ตัวอย่าง	แบคทีเรีย
วันที่ 1	64(3), 35, 38, 41(4)	Leuconostoc mesenteriodes
	54(5), 45(6)	L.mesenteriodes
วันที่ 2	130(2), 140(3)	L.mesenteriodes
วันที่ 3	196(3), 180(4)	L.mesenteriodes
	182, 183(5), 188(6)	L.mesenteriodes
	199, 200(8)	L.mesenteriodes
วันที่ 5	222(1), 225(5)	L.mesenteriodes

การทดสอบคุณสมบัติทางสรีรวิทยาและชีวเคมี ของแบคทีเรียรูปร่างกลม ในกลุ่มของเฮทที่โรเฟอร์เมนต์เตทีบสปีชี่ จำนวน 20 เชื้อ ปรากฏว่าเป็น Leuconostoc mesenteriodes ทั้งหมด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษา การจำแนกชนิดของแบคทีเรียในระหว่างการหมักมั่ม พบแบคทีเรีย 6 ชนิดคือ Lactobacillus plantarum., Lactobacillus casei., Lactobacillus brevis., Leuconostoc mesentoroides., Pediococcus cerevisiae และ Pediococcus homari ในวันแรกของการหมักพบแบคทีเรีย Pediococcus cerevisiae และ Lactobacillus plantarum มากที่สุดคือ 55 และ 23 เชื้อตามลำดับ วันที่ 2, 3, และ 4 ของการหมักจะพบแบคทีเรียชนิดเดียวกันในปริมาณสูงใกล้เคียงกัน ซึ่ง Lactobacillus plantarum เป็นแบคทีเรียที่ใช้น้ำตาล แล้วให้กรดแลคติกทำให้มั่ม มีรสเปรี้ยว ส่วน Pediococcus cerevisiae นอกจากจะเป็นแบคทีเรียที่ใช้น้ำตาลแล้วให้กรดแลคติก ยังมีคุณสมบัติอีกอย่างหนึ่งคือ ทำให้ผลิตภัณฑ์มั่มมีกลิ่นและรสดี (Sakaguchi 1958) ส่วนในวันที่ 5, 7 และ 14 ของการหมักก็ยังคงมี Pediococcus cerevisiae มากกว่าแบคทีเรียทุกชนิดที่มีอยู่ในมั่ม ซึ่งอาจเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้มั่มยิ่งเก็บไว้นานก็ยิ่งมีกลิ่นและรสดียิ่งขึ้น

ผลการวิเคราะห์หาปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด ปริมาณแบคทีเรียแลคติกในมั่มปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในอาหาร PCA ดังตารางที่ 1 และรูปที่ 1 พบว่าปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในวันแรกของการหมักประมาณ 1.7×10^5 เซลล์ต่อกรัม วันที่ 2, 3 และ 4 ปริมาณแบคทีเรียจะเพิ่มขึ้น เนื่องจากมีกิจกรรมของแบคทีเรียมากขึ้น จึงมีผลทำให้ปริมาณเซลเพิ่มขึ้น(Orillo และ Pederson 1968) ส่วนวันที่ 5 และ 7 ปริมาณแบคทีเรียจะลดลงประมาณ 1.4×10^4 และ 3.0×10^5 เซลล์ต่อกรัม ในวันที่ 14 ของการหมักปริมาณแบคทีเรียจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณกรดที่เกิดจากการหมักเริ่มคงที่ หรือลดลงเล็กน้อยเป็นผลทำให้แบคทีเรียชนิดอื่น ๆ สามารถเจริญขึ้นได้ ส่วนปริมาณแบคทีเรียแลคติกทั้งหมดในวันแรกของการหมัก ประมาณ 1.5×10^6 เซลล์ต่อกรัม วันที่ 2, 3 และ 4 มีปริมาณเพิ่มขึ้นมาก ส่วนวันที่ 5 และ 7 ของการหมักปริมาณจะลดลง วันที่ 14 ปริมาณแบคทีเรียจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ดังตารางที่ 3 รูปที่ 3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2518. การศึกษาจุลินทรีย์ที่เป็นตัวการในระหว่างการทำแหนม. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สมบูรณ์ ชนาศุภวัฒน์. 2524. การศึกษาอนุกรมวิธานบัคเตรีรูปร่างกลมที่จับเป็นสี่เซล. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

เยาวลักษณ์ สุรพันธ์พิศิษฐ์. 2530. มั่ม. การวิจัยขั้นพื้นฐาน. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

อาภรณ์ คงสวี. 2525. การศึกษาปริมาณและชนิดของแบคทีเรียในไส้กรอกเวียนนาและโบลอคน่า. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

American Public Health Association, Subcommittee on Methods for the the Microbiologicol Examination of Food. 1985. Recomended Methods for the Microbiological Examination of Food. 16th ed. APHA. Inc, New York.

Colowiek, S.P.; and N.O. Kaplan. 1955. Method in Enzymology. New York. Academie Press Inc. Puplishes.

Coretti, K. 1978. Starter cultures in the meat industry. Micro. Abstr. 13 (5) : 24.

De Man, J.C. and M.E. Sharpe. 1956. Catalase production by Lactobacilli. Nature. 178:700.

Etchelles, J.L.; R.N. Costilow. 1964. Pure culture fermentative of brind cucumber. Appl. Microbiol. 12: 523-535.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Everson, C.W.; W.E. Danner; and P.A. Hammes. 1970. Bacterial starter culture in sausage products. J.Agri Food Chem. 18: 570-575.

Gangopadhyay, H.; and S. Muhkerjee. 1971. Effect of different salt concentrations of the microflora and physic-chemical changes in sauerkraut fermentation. J. of Food Science and Technol. Indio. 8 (3) : 127-131.

Goldman, M.; R.H. Deibel and C.F. Niven Jr. 1962. Interrelationship between temperature and sodium chloride or growth of Lactic acid bacteria isolated from meat curing brines. J. Bact. 85 : 1017-1023.

Holzapfel, W.H. and A.N. Hall. 1977. The microbiology of South African dried sausages. Bio. Abstr. 64 (8) : 4372.

Jensen, L.B. 1965. Microbiology of Mests. Champaign, Illinois : The Garrard Press.

Moulton, C.R. and W.L. Lewis. 1940. Meat Through the Microscope. Institute of Meat Packing. The university of Chicago. Chicago, Illinois.

Orillo, C.A. and C.S. Pedeson. 1968. Lactic acid bacterial fermentation of Burong Dalag. J. Appl. Microbiol. 16 (11) : 1669-1671.

Pederson, C.S. and M.N. Albury. 1954. The influence of salt and temperature on the microflora of saurhraut fermentation. Food Technol. 1 : 1 - 5.

Raccack, M; R.C. Baker; J. M. Regenstein and E.J. Mulmix. 1978. Potential application of microbial anlagonism to extended storage

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

stability of a fresh type foods. J. Food Sci. 44 : 43 - 46.

Sakaguchi, K. 1958. Study on the activities of bacteria in soy sauce brewing. Part III. Taxonomic studies on Pediococcus soyae. Nov sp. The soy sauce lactic acid bacteria. Bull. Agr. Chem. Soc. Japan.

Smith, J.L. and S.A. Palumbo. 1973. Microbiology of Lebanon bologna. Appl. Microbiol. 26 : 489-496.

Sulzbacher, A H.R. and R.A. Mclean. 1951. The bacterial flora of fresh pork sausages. Food Technol. 5 : 7-8.

Tanasupawat S. and Dangsubha. 1983. Pediococcus Species and Related Bacteria found in Fermented Food and Related Materials in Thailand. J. Gen. Appl. Microbiol. 29 : 487-506.

Tittster, R.P. and C.S. Pederson. 1952. Symposium on the Lactic acid bacterial. Bact. Rey. 16 : 227-255.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

สูตรอาหารและวิธีการเตรียมอาหาร

1. **Plate count agar (P.C.A.)**

Bacto-tryptone	5.0 gm.
Yeast extract	2.5 gm.
Bacto-delrose	1.0 gm.
Agar	15.0 gm.

ผสมน้ำกลั่น 1 ลิตร นึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำที่ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว (121 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 15 นาที

2. **MRS-medium**

Peptone	10.0 gm.
Meat extract	10.0 gm.
Yeast extract	5.0 gm.
Glucose	20.0 gm.
Tween 80	1.0 gm.
K_2HPO_4	2.0 gm.
Sodium acetate	5.0 gm.
Diammonium citrate	2.0 gm.
$MgSO_4 .7H_2O$	0.2 gm.
$MnSo_4 .7H_2O$	0.05 gm.
Agar	15.0 gm.

ผสมน้ำกลั่น 1 ลิตร นึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำที่ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว (121 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 15 นาที

3. **GYP**

Glucose	10.0 gm.
Yeast extract	10.0 gm.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Peptone	10.0 gm.
NaCl	50.0 gm.
$CaCo_3$	10.0 gm.
Agar	15.0 gm.

ผสมน้ำกลั่น 1 ลิตร นึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำที่ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว (121 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 15 นาที

4. MRS Broth medium

Peptone	10.0 gm.
Meat extract	10.0 gm.
Yeast extract	5.0 gm.
D-glucose	20.0 gm.
Tween 80	1.0 gm.
K_2HPO_4	2.0 gm.
Sodium acetate	5.0gm.
Diammonium citrate	2.0gm.
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.2gm.
$MnSO_4 \cdot 7H_2O$	0.05 gm.

ผสมน้ำกลั่น 1 ลิตร นึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำที่ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว (121 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 15 นาที

5. GYP Broth

Glucose	10.0 gm.
Yeast extract	10.0 gm.
Peptone	10.0 gm.
Na-acetate	10.0 gm.
Salf solution	5.0 ml.

ผสมน้ำกลั่น 1 ลิตร นึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำที่ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว (121 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. Salt Solution

$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	4.0gm.
$MnSO_4 \cdot 4H_2O$	0.2gm.
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	0.2gm.
NaCl	0.2gm.
น้ำกลั่น	100.0ml.

7. Carbohydrate fermentation medium

Carbohydrate	5.0	gm.
Yeast extract	4.0	gm.
Peptone	5.0	gm.
Brom cresol purple	4.0	ml.

ผสมน้ำกลั่น 1 ลิตร นึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำที่ 10 ปอนด์/ตารางนิ้ว (110 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 15นาที Carbohydrate ที่ใช้ทดสอบได้แก่ glucose, arabinose, maltose, sucrose, lactose, melibiose, raffinose, fructose, xylose

8. Nitrate Broth

Beef extract	3.0	gm.
Bacto-peptone	5.0	gm.
KNO_3	1.0	gm.

ผสมน้ำกลั่น 1 ลิตร นึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำที่ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว (121 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

น้ำยาเคมีที่ใช้ในการทดสอบ

1. 3% hydrogen peroxide solution

hydrogen peroxide	8.6 ml.
น้ำกลั่น	100.0 ml.

2. Nitrate test solution

Solution A :

Sulphanilic acid	0.8 gm.
5N acetic acid	100.0 ml.

Solution B :

α-naphtlylamine	0.5 gm.
5N acetic acid	100.0 ml.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้