รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

ผลของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกต่อการควบคุมการเจริญของเชื้อซัลโมเนลลา ในระหว่างการหมักหมำ

Effect of lactic acid bacteria starter on growth of *Salmonella* spp. during Mum fermentation

ผศ. ดร. อพัชชา จินดาประเสริฐ

นางสาวทัศนีย์ อินทร์วิมล

รศ. ดร. อดิศร เสวตวิวัฒน์

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2555

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

ผลของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกต่อการควบคุมการเจริญของเชื้อซัลโมเนลลา ในระหว่างการหมักหม่ำ

Effect of lactic acid bacteria starter on growth of *Salmonella* spp. during Mum fermentation

ผศ. ดร. อพัชชา จินดาประเสริฐ

นางสาวทัศนีย์ อินทร์วิมล

รศ. ดร. อดิศร เสวตวิวัฒน์

b00268525

RC00134

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2555

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อโครงการ	ผลของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกต่อการควบคุมการเจริญของเชื้อซัลโมเนลลาในระหว่างการหมักหม้ำ
แหล่งทุน	งบประมาณเงินรายได้ คณะอุตสาหกรรมเกษตร
ประจำปีงบประมาณ	2555 จำนวนเงินที่ได้รับการสบับสนุน 73,000 บาท
ระยะเวลาทำการวิจัย	1 ปี ตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2554 ถึง 30 กันยายน 2555
ผู้รับผิดชอบโครงการวิจัย	ผศ. ดร. อพัชชา จินดาประเสริฐ หัวหน้าโครงการวิจัย
	ทัศนีย์ อินทร์วิมล และ รศ. ดร. อดิศร เสวตวิวัฒน์ ผู้ร่วมโครงการวิจัย
	คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทคัดย่อ

การศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อซัลโมเนลลาในผลิตภัณฑ์หม้ำจากแหล่งผลิต 50 แหล่งในจังหวัดชัยภูมิ พบการปนเปื้อนจำนวน 15 แหล่งการผลิต โดยพบซีโรวาร์ที่พบมากที่สุด คือ *S.* Weltevreden พบถึง 5 แหล่งผลิต รองลงมา 3 ลำดับ ได้แก่ *S.* Rissen, *S.* Stanley และ *S.* Anatum นำเชื้อ *S.* Weltevreden ที่แยกได้ มาทำการศึกษาผลของการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก *Pediococcus pentosaceus* M13 ต่อการควบคุมการเจริญของเชื้อ *S.* Weltevreden จากการตรวจยืนยันการเจริญ การผลิตกรดแลคติกและแบคเทอริโอซินของกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* M13 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth รวมถึงการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดด่างและค่าการดูดกลืนแสง (optical density, OD) โดยการตรวจสอบเชื้อทุก 4 ชั่วโมง จนครบ 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่าเชื้อ *P. pentosaceus* M13 เจริญอย่างรวดเร็วในช่วง 4 ชั่วโมง ได้มากถึง 6.72 log cfu/ml จนถึง 10.48 log cfu/ml ในเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งค่าการเจริญของเชื้อสัมพันธ์กับค่า OD โดยเพิ่มขึ้นจาก 0.349 นาโนเมตร เมื่อเวลา 0 ชั่วโมง เป็น 3.122 นาโนเมตร เมื่อเวลา 24 ชั่วโมง และจากการเจริญของเชื้อมีผลทำให้ผลิตกรดมากขึ้น ในชั่วโมงที่ 0 ที่เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก 0.35 จนถึงเมื่อเวลา 24 ชั่วโมง มีค่าเพิ่มขึ้นถึง 1.78 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้ค่าความเป็นกรดด่างของ MRS broth ลดลงจาก 6.77 ในชั่วโมงที่ 0 จนถึง 3.98 ในชั่วโมงที่ 24 การผลิตแบคเทอริโอซิน พบว่า *P. pentosaceus* M13 สามารถผลิตแบคเทอริโอซินที่มีผลต่อการยับยั้ง *Lb. sakei* subsp. *sakei* JCM 1157 ได้ ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 4 ผลิตได้ 400 AU/ml และผลิตได้สูงสุดในชั่วโมงที่ 12 สูงถึง 12,800 AU/ml และคงผลิตได้ในปริมาณดังกล่าวนานถึงชั่วโมงที่ 24 เมื่อนำ *P. pentosaceus* M13 เป็นกล้าเชื้อในรูปแบบการจำลองหมักหม้ำ (Mum model broth, MMB) เพื่อทดสอบการยับยั้งเชื้อ *S.* Weltevreden เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^4cfu/ml แบคเทอริโอซินที่ผลิตได้จากกล้า เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^7cfu/ml โดยปรับสภาวะให้ค่าความเป็นกรดด่างเป็น 4.5, 5.0 และ 5.5 ด้วยกรดแลคติก 90 เปอร์เซ็นต์ แบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อและกลุ่มที่ไม่เติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* M13 พบว่า ที่ค่าความเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรดด่าง 4.5 มีการบาดเจ็บของเชื้อ *S.* Weltevreden ได้เกือบ 100 เปอร์เซ็นต์ ตลอดระยะเวลาการหมัก ส่วนค่าความเป็นกรดด่างที่ 5.0 และ 5.5 ที่เติมกล้าเชื้อและไม่เติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* M13 ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *S.* Weltevreden ได้ ซึ่งในระหว่างการหมักมีค่าความเป็นกรดด่างลดลงและมีการเพิ่มขึ้นของกรดแลคติกในระหว่างการหมักได้อย่างชัดเจน จากการศึกษาการผลิตแบคเทอริโอซินที่ผลิตได้จากกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* M13 ระหว่างการหมักใน MMB ที่ปรับความเป็นกรดด่าง 4.5, 5.0 และ 5.5 ในการยับยั้งเชื้อ *S.* Weltevreden พบว่า กล้าเชื้อ *P. pentosaceus* M13 มีการผลิตแบคเทอริโอซินใน MMB สภาวะที่ค่าความเป็นกรดด่าง 4.5 ชั่วโมงที่ 6 ผลิตแบคเทอริโอซินได้ 400 AU/ml และมีการเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องมากที่สุด ในชั่วโมงที่ 30 เท่ากับ 3200 AU/ml จากนั้นทำการศึกษาในหม้ำ โดยแบ่งหม้ำ เป็น 4 สูตร ดังนี้ หม้ำที่ทำการหมักตามธรรมชาติ (สูตรที่ 1) หม้ำที่เติมเชื้อ *P. pentosaceus* M13 เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^6 cfu/g (สูตรที่ 2) หม้ำที่เติมเชื้อ *S.* Weltevreden เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^3cfu/g (สูตรที่ 3) และหม้ำที่เติมเชื้อ *P. pentosaceus* M13 เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^6cfu/g และเชื้อ *S.* Weltevreden เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^3cfu/g (สูตรที่ 4) ใช้ระยะเวลาการหมักหม้ำ 5 วัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำการตรวจสอบคุณภาพทางด้านจุลชีววิทยา โดยหาปริมาณเชื้อ *Escherichia coli*, total plate count (TPC), แบคทีเรียแลคติก (lactic acid bacteria, LAB) และเชื้อซัลโมเนลลา พบว่าในวันที่ 0 ของการหมักหม้ำทั้ง 4 สูตร เชื้อ *E.coli* มีค่าอยู่ในช่วง 240-462 MPN/g ตั้งแต่วันที่ 1 จนถึงวันที่ 5 พบว่าเชื้อ *E. coli* มีค่า <3.0 MPN/g ส่วนเชื้อ LAB มีปริมาณเพิ่มขึ้นมากกว่า 2 log cfu/g มีปริมาณใกล้เคียงกันตลอดระยะเวลาการหมักทั้ง 5 วัน เชื้อ TPC ทั้ง 4 สูตร เมื่อวันที่ 0 เชื้ออยู่ที่ประมาณ 6 log cfu/g เมื่อหมักในวันที่ 1 มีการ เชื้อแบคทีเรียเพิ่มปริมาณขึ้นทั้ง 4 สูตร ที่ประมาณ 9 log cfu/g และเมื่อทำการหมักหม้ำในวันที่ 2-5 เชื้ออยู่ที่ประมาณ 8 log cfu/g ทั้ง 4 สูตร และตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลาตั้งแต่วันที่ 0 ถึงวันที่ 5 ของการหมักหม้ำ ทั้ง 4 สูตร เมื่อทำการตรวจสอบคุณภาพทางด้านเคมีและทางด้านกายภาพในผลิตภัณฑ์หม้ำ พบว่าหม้ำสูตรที่ 1 ในวันที่ 0 ที่เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก 0.61 จนถึงวันที่ 5 ค่าเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเพิ่มขึ้น 1.49 ในสูตรที่ 2 การเจริญของเชื้อมีผลทำให้การผลิตกรดมากขึ้นในวันที่ 0 ที่เปอร์เซ็นต์กรด แลคติก 0.61 จนถึงวันที่ 5 ค่าเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเพิ่มขึ้น 2.60 ส่งผลให้ค่าความเป็นกรดด่างลดลงในสูตรที่ 1 วันที่ 0 ลดลงจาก 6.84 จนถึง 5.43 วันที่ 5 ส่วนในสูตรที่ 2 ค่าความเป็นกรดด่างค่อยๆ ลดลงจากวันที่ 0 6.83 จนถึง 4.64 ผลการศึกษาค่าวอเตอร์แอคทีวิตี้ (water activity) ในกระบวนการหมักผลิตภัณฑ์หม้ำซึ่งพบว่าทั้ง 2 สูตร ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทำการวัดค่าสีของหม้ำในวันที่ 4 ของการทดลองสูตรที่ 1 และในวันที่ 5 ของการทดลองสูตรที่ 2 พบว่าในสูตรที่ 1 และ สูตรที่ 2 มีค่าสี L* a* และค่า b* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* M13 ที่ใส่ลงไปในสูตร 2 มีผลทำให้ค่าความสว่างและค่าความเป็นสีแดงของหม้ำมากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมในสูตรที่ 1

คำสำคัญ : ซัลโมเนลลา กล้าเชื้อ *P. pentosaceus* M13 หม้ำ ไส้กรอกหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Research Title: Effect of lactic acid bacteria starter on growth of *Salmonella* spp. during Mum fermentation

Researcher: Assist. Prof. Dr. Aphacha Jindaprasert

Co-researcher: Miss. Thatsanee Inwimol

Assoc.Prof. Dr. Adisorn Swetwiwathana

Faculty of Agro-Industry, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

ABSTRACT

The study of *Salmonella* in Mum from 50 production plants in Chaiyaphum Province revealed that there were 15 samples contaminated with this pathogen and the most common *Salmonella* serovar belonged to *S.* Weltevreden, *S.* Rissen, *S.* Stanley and *S.* Anatum respectively. Effect of lactic acid bacteria starter, *Pediococcus pentosaceus* M13, on growth of isolated *S.* Weltevreden from Mum were investigated. The growth, lactic acid and bacteriocin production of *P. pentosaceus* M13, including the change in pH, were confirmed in MRS broth by gradually investigated every 4 h from 0 - 24 h at 30°C. The results revealed that *P. pentosaceus* M13 was rapidly grown in the first 4 hours and reached to stationary phase after 8 - 24 h of incubation. Lactic acid production revealed to increase from 0.35% at 0 h to 1.78% after 24 h of incubation. According to the bacteriocin production of this strain, it was implied that this bacterial strain could gradually produce bacteriocin exhibit an antagonistic effect on *Lactobacillus sakei* subsp. *sakei* JCM 1157 from 400 Au/ml after 4 h to the highest amount of 12,800 Au/ml after 24 h of incubation period. By the speedy growth and lactic acid production of this bacteriocin-producing strain led the pH of MRS broth rapidly reduced from 6.77 at 0 h to 3.98 after 24 h of incubation. Synergistic effect of *P. pentosaceus* M13 with lactic acid at pH 4.5, 5.0 and 5.5 in Mum model broth (MMB) on 10^4 cfu/ml of *S.* Weltevreden was studied. It was observed that MMB at pH 4.5 with 10^7 cfu/ml of *P. pentosaceus* M13 injured the cells of *S.* Weltevreden nearly 100 percent at all studied incubation period, while those samples of MMB with pH 5.0 and 5.5 exhibited less injured cells of *S.* Weltevreden. The bacteriocin production of this Pediococcus strain revealed to produce in MMB pH 4.5 from 400 AU/ml at 4 h of incubation up to 3,200 AU/ml after 30 h of incubation. The effect of using *P. pentosaceus* M13 as starter culture on *S.* Weltevreden in Mum production was conducted under 4 recipe-trials: Natural fermented Mum without starter (recipe 1), Mum fermented with 10^6 cfu/g of *P. pentosaceus* M13 (recipe 2), Naturally fermented Mum without starter culture and inoculated with 10^3cfu/g of *S.* Weltevreden (recipe 3), and Mum fermented with 10^6 cfu/g of

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

P. pentosaceus M13 and inoculated with 10^3cfu/g of *S.* Weltevreden (recipe 4). All samples were left to ferment for 5 days at 30°C and gradually investigated for microbiological and chemical quality every day. The results of microbiological quality revealed that *Escherichia coli* was detected on the 0 day of Mum before reaching to fermentation stage (240-462 MPN/g) and was reduced to <3.0 MPN/g after the 1-5 days of fermentation, while lactic acid bacteria count showed 2 log cycle number raising up from the first day of fermentation, and Salmonella detection from the products was found in every day of the fermentation period (from day 0 – day 5). According to the chemical and physical properties of Mum products when compared to the natural fermented Mum product (control samples, recipe 1) and Mum fermented with *P. pentosaceus* M13 (recipe 2), the results revealed that Mum with starter culture exhibited a higher lactic acid production (from 0.61 % of lactic acid on 0 day to 2.60 % on 5 day, while control samples raised up from 0.61 on 0 day to 2.60 on 5 day), which led the pH of product lower from 6.83 on 0 day to 4.64 on 5 day (pH of control samples were lower from 6.84 on 0 day to 5.43 on 5 day). No significantly difference was shown for water activity between two samples. The color property between 2 products of the natural fermented Mum product (control samples) and Mum fermented with *P. pentosaceus* M13 as starter culture implied that the samples with starter culture showed a better significantly difference in L * a * b * value that those control samples (higher value for brightness and red color) after 5 days of fermentation.

Keywords : *Salmonella, P. pentosaceus* M13 starter, Mum, Fermented sausage

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง จากงบประมาณเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2555

ขอขอบพระคุณ นายธีรธร ลิ้มสมบูรณ์ ที่ได้ทำการเก็บตัวอย่างหมึกจากชัยภูมิ เพื่อใช้ในการทำวิจัยในครั้งนี้

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณกำลังใจจากครอบครัวคุณพ่อ คุณแม่ น้องสาว ผศ. กรรณ จินดาประเสริฐ และเด็กชายกัณต์ณภัค จินดาประเสริฐ ที่ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

อพัชชา จินดาประเสริฐ
ทัศนีย์ อินทร์วิมล
อดิศร เสวตวิวัฒน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ค

กิตติกรรมประกาศ ..... จ

สารบัญ ..... ฉ

สารบัญตาราง ..... ซ

สารบัญภาพ ..... ฌ

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย 2

1.3 ขอบเขตของการวิจัย 3

1.4 วิธีดำเนินการวิจัย 3

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3

บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 4

2.1 หม่ำ 4

2.2 คุณสมบัติของส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์หม่ำ 4

2.3 แบคทีเรียแลคติก 12

2.4 เชื้อซัลโมเนลลา 18

2.5 *Pediococcus* 22

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 25

3.1 วัตถุดิบ 25

3.2 เชื้อจุลินทรีย์ 25

3.3 อุปกรณ์และเครื่องมือ 25

3.4 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ 26

3.5 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง 27

บทที่ 4 ผลการวิจัย 34

4.1 เชื้อซัลโมเนลลาที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์หม่ำ 34

4.2 ผลการเจริญการผลิตกรดแลคติกและแบคเทอริโอซินของเชื้อ *P. pentosaceus* M13 ใน MRS broth ระหว่างการบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.3 ผลของกรดแลกติคร่วมกับแบคเทอริโอซินที่ผลิตได้จาก *P. pentosaceus* M13 มีผลต่อ *S.* Weltevreden ในรูปแบบจำลองหม้ำ (Mum model broth, MMB) 39
4.4 ผลการศึกษาการผลิตแบคเทอริโอซินที่ผลิตได้จากเชื้อ *P. pentosaceus* M13 ระหว่างการหมักในแบบจำลองการหมักหม้ำในการยับยั้งเชื้อ *S.* Weltevreden 45
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 54
5.1 สรุปผลการวิจัย 54
5.2 ข้อเสนอแนะ 55
บทที่ 6 สรุปผลผลิตที่ได้จากงานวิจัย 57
เอกสารอ้างอิง 58
ภาคผนวก 63
ภาคผนวก ก การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ 64
ภาคผนวก ข การตรวจวิเคราะห์ทางเคมีตัวอย่างหม้ำ 65
ภาคผนวก ข การตรวจวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยาตัวอย่างหม้ำ 66
ภาคผนวก ง สรุปค่าใช้จ่ายการดำเนินโครงการวิจัย 71
ประวัตินักวิจัย 72

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	แสดงส่วนประกอบการผลิตของหม้ำ	11
2.2	ชนิดของแบคเทอริโอซินที่ผลิตจากแบคทีเรียแลคติก	17
2.3	สัดส่วน (เปอร์เซ็นต์) ที่พบในประเทศไทยตั้งแต่ปี พ.ศ. 2537-2546	22
3.1	รูปแบบการจำลองการหมักหม้ำ (MUM model broth, MUM) ต่อ 1 ลิตร	31
3.2	ส่วนผสมของหม้ำจากกลุ่มวิสาหกิจชุมชนช่อระกาการพัฒนาอาชีพ จังหวัดชัยภูมิ	32
4.1	ผลการวิเคราะห์เชื้อซัลโมเนลลาของแหล่งผลิตหม้ำในจังหวัดชัยภูมิ	35
4.2	การเจริญของเชื้อแบคเทอริโอซินจากเชื้อ *P. pentosaceus* M13 ในอาหาร MRS ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง	38
4.3	เปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของเชื้อ *S.* Weltevreden ที่เติมและไม่เติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* M13 และการผลิตแบคเทอริโอซินของเชื้อ *P. pentosaceus* M13 ในรูปแบบจำลองหม้ำ (Mum model broth, MMB) ที่ปรับค่าความเป็นกรดด่าง 4.5, 5.0 และ 5.5 ในการยับยั้งเชื้อ *S.* Weltevreden	41
4.4	ค่าวอเตอร์แอคทีวิตี้ (A_w) ในกระบวนการหมักผลิตภัณฑ์หม้ำ	48
4.5	การเปรียบเทียบค่าสีของหม้ำธรรมชาติและค่าสีของหม้ำเติมเชื้อ *P. pentosaceus* M13 เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^6 cfu/g	50
4.6	ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในผลิตภัณฑ์หม้ำ	52

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	แสดงกระบวนการผลิตของหม้ำ	6
2.2	โครงสร้างสารประกอบอัลลิซิน	10
2.3	วิถีการหมักกลูโคสแบบ homofermentative และ heterofermentative ของแบคทีเรียแลคติก	14
4.1	การเจริญของเชื้อ *P. pentosaceus* M13 ในอาหาร MRS broth	37
4.2	การวัดค่าเจริญของเชื้อ *P. pentosaceus* M13 ในอาหาร MRS broth	37
4.3	ระดับความเข้มข้นของสารแบคเทอริโอซินของเชื้อ *P. pentosaceus* M13 ในการยับยั้งเชื้อ *Lb. sakei* ในชั่วโมงที่ 24 ที่ความเข้มข้น 12,800 AU/ml	39
4.4	ค่าความเป็นกรดด่าง 4.5, 5.0 และ 5.5 และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกในแบบจำลองการหมักหม้ำ (Mum model broth, MMB) ที่เติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* M13 และไม่เติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* M13	44
4.5	ปริมาณแบคทีเรียแลคติกในกระบวนการหมักหม้ำ	46
4.6	การเปลี่ยนแปลงความเป็นกรดด่างและเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกในกระบวนการหมักผลิตภัณฑ์หม้ำ	47

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

หม้ำ เป็นผลิตภัณฑ์อาหารเนื้อหมักพื้นบ้านของภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ทำจากเนื้อวัวหรือเนื้อควายผสมกับตับและม้าม มีรสชาติเปรี้ยว เนื่องจากเกิดการหมักของจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในเนื้อตามธรรมชาติต่อน้ำตาล ข้าว และโปรตีนในส่วนผสมของเนื้อ (เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์, 2536) การหมักหม้ำเป็นกระบวนการช่วยเก็บถนอมอาหารวิธีหนึ่งและเป็นการช่วยรักษาคุณค่าทางโภชนาการของอาหาร ความเปรี้ยวตลอดจนกลิ่นรสของหม้ำเกิดขึ้นเนื่องจากแบคทีเรียกลุ่มแลคติกเข้าไปมีส่วนเกี่ยวข้องในระหว่างกระบวนการหมักและเครื่องปรุงต่าง ๆ ที่จะทำให้เกิดกลิ่นรสเฉพาะของหม้ำ ซึ่งการหมักที่อาศัยเพียงแบคทีเรียแลคติกที่ปนเปื้อนมาจากเนื้อสัตว์และที่มีอยู่ในธรรมชาตินั้นอาจทำให้ผลิตภัณฑ์หลังหมักที่ได้ไม่สม่ำเสมอ โดยในระหว่างการหมักเมื่อผ่านไประยะเวลาต่าง ๆ กัน อาหารจะถูกแปรสภาพ เกิดการเปลี่ยนแปลงทางด้านเนื้อสัมผัส ลักษณะปรากฏและกลิ่นรสที่เป็นเอกลักษณ์ของผลิตภัณฑ์แต่ละชนิด ซึ่งการเปลี่ยนแปลงนี้เกิดจากเอนไซม์ที่มาจากแบคทีเรียที่ผสมอยู่ในวัตถุดิบก่อนการหมักในกลุ่ม normal flora และเอนไซม์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติในอาหาร เกิดการเปลี่ยนแปลงของสารคาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน สารอินทรีย์อื่น ๆ ไปเป็นกรดและสารประกอบอินทรีย์อื่น ๆ เช่น กรดแลคติก กรดอะซิติก แอลกอฮอล์ เป็นต้น ทำให้จุลินทรีย์กลุ่มที่เป็นสาเหตุการเสื่อมเสียของอาหารไม่สามารถเจริญและทนในสภาพการหมักนี้ได้ จึงสามารถเก็บอาหารหมักเหล่านี้ได้เป็นเวลานาน

การศึกษาวิจัยเชื้อในกลุ่มแบคทีเรียในระหว่างการหมักหม้ำ พบว่า เชื้อแบคทีเรียที่พบในหม้ำเป็นกลุ่มแบคทีเรียแลคติก ได้แก่ *Lactobacillus* sp., *Canobacterium* sp., *Leuconostoc* sp. และ *Pediococcus* sp. (สุกานดา วิชิตพันธุ์ และคณะ, 2551) ได้แก่ *Lactobacillus plantarum, Lb. casei, Lb. brevis, Leuconostoc mesenteroides, Pediococcus cerevisiae* และ *P. homari* ในพบระหว่างการหมักหม้ำ (สุขใจ โสมะฐิติ และ เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์, 2530) แต่เนื่องจากอาหารประเภทหมักดองพื้นเมืองของไทยกลุ่มที่ใช้เนื้อสัตว์เป็นแหล่งวัตถุดิบในการผลิต มักมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสีย รวมถึงจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในปริมาณมาก อีกทั้งขั้นตอนการผลิตโดยมากเป็นการผลิตแบบดั่งเดิม ขั้นตอนการผลิตส่วนมากไม่ได้มาตรฐาน จึงทำให้ตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์เหล่านี้ที่จำหน่ายในท้องตลาดมาก เช่น ปลาร้า ปลาจ่อม กุ้งจอม ปูดอง (เสาวนิต ทองพิมพ์ และคณะ, 2525; อรุณ บ่างตระกูลนนท์ และคณะ, 2547) แหนม (อดิศร เสวตวิวัฒน์ และอรุณ บ่างตระกูลนนท์, 2539; Swetwiwathana et al., 1994) เป็นต้น ต่อมาจึง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้เริ่มมีการศึกษาคัดเลือกหาแบคทีเรียแลคติกที่สามารถผลิตแบคเทอริโอซินจากกลุ่มอาหารหมักประเภทเนื้อต่าง ๆ เพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อในการควบคุมคุณภาพอาหารหมักเหล่านี้ให้มีคุณภาพและความปลอดภัยต่อการบริโภค โดย Swetwiwathana et al. (2004) ได้พบแบคทีเรียแลคติกที่สามารถผลิตแบคเทอริโอซินที่คัดแยกได้จากแหนมในกลุ่ม pediocin PA-1 จากเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR536 และ กลุ่ม nisin Z จาก *Lc. lactis* N100 และ N190 และยังได้ทดลองใช้เชื้อดังกล่าว ในการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* Anatum ที่เป็นเชื้อก่อโรคที่พบมากในแหนม โดยนำไปใช้เป็นกล้าเชื้อในการหมักแหนมเทียบกับตัวอย่างแหนมที่หมักตามธรรมชาติโดยไม่ใช้กล้าเชื้อและแหนมที่ใช้กล้าเชื้อ *P. pentosaceus* JCM 5890 ที่ไม่ผลิตแบคเทอริโอซินในระหว่างการหมักแหนม ซึ่งพบว่าเชื้อที่สามารถผลิต pediocin PA-1 เมื่อใช้เป็นกล้าเชื้อสามารถลดปริมาณเชื้อก่อโรค S. Anatum ได้เร็วกว่าการใช้กล้าเชื้อสายพันธุ์เดียวกันที่ไม่ผลิตแบคเทอริโอซิน และแหนมที่หมักตามธรรมชาติโดยไม่เติมกล้าเชื้อ ตามลำดับ (Swetwiwathana et al., 2007) และต่อมา Piayura et al. (2006) ได้คัดแยกสายพันธุ์แบคทีเรียแลคติกที่สามารถผลิตแบคเทอริโอซินในกลุ่ม pediocin PA-1 ด้วยเช่นกัน จำนวน 1 สายพันธุ์ จากตัวอย่างหม้ำที่ผลิตในภาคอีสานของไทย คือ *P. pentosaceus* M13

เชื้อซัลโมเนลลา (*Salmonella* spp.) พบได้ทั่วไปทั้งในสัตว์ปีก สัตว์เลื้อยคลาน สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมรวมทั้งมนุษย์ เชื้อนี้ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษที่มีความรุนแรง นอกจากเป็นสาเหตุให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษที่มีประวัติการระบาดสูงเป็นอันดับหนึ่งในสหรัฐอเมริกา อังกฤษ และในอีกหลายๆ ประเทศแล้ว ยังทำให้ประชากรเสียชีวิตสูงสุด แหล่งที่อยู่อาศัยระดับปฐมภูมิของเชื้อซัลโมเนลลา คือทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์ จึงคาดว่าอุจจาระของมนุษย์และสัตว์อาจมีเชื้อซัลโมเนลลาด้วย แต่ในอุจจาระของสัตว์มีโอกาสพบเชื้อซัลโมเนลลาได้มากกว่าอุจจาระของมนุษย์เพราะสัตว์กินอาหารไม่เลือก อีกทั้งอาหารสัตว์ก็มีโอกาสปนเปื้อนได้มากกว่าอาหารมนุษย์ แหล่งสำคัญที่ทำให้เกิดการแพร่เชื้อซัลโมเนลลาไปยังเนื้อสัตว์ชำแหละคือ สัตว์ที่เป็นพาหะและอาหารสัตว์ (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2549) ดังนั้นหม้ำซึ่งมีส่วนผสมของเนื้อสัตว์ ตับและม้าม จึงมีโอกาสปนเปื้อนของเชื้อซัลโมเนลลาที่มาจากวัตถุดิบ กระบวนการชำแหละ รวมทั้งผู้ปฏิบัติงานที่สัมผัสกับอาหารเป็นพาหะของเชื้อซัลโมเนลลาในระหว่างกระบวนการผลิตได้ ดังนั้นเพื่อควบคุมเชื้อ ซัลโมเนลลาในระหว่างกระบวนการผลิตหม้ำ จึงสนใจศึกษาการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก *P. pentosaceus* M13 ที่มีคุณสมบัติของแบคทีเรียแลคติกที่สามารถผลิตสารแบคเทอริโอซินในกลุ่ม pediocin PA-1 ที่คัดแยกได้จากหม้ำ (สุเมธ เพียยุระ, 2550) เพื่อควบคุมคุณภาพการหมักหม้ำให้สม่ำเสมอ และช่วยในการลดเชื้อซัลโมเนลลาที่แยกและพบในหม้ำ เพื่อความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์หม้ำให้เป็นที่ยอมรับในอนาคตให้กับผู้บริโภค

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อคัดแยกชนิดและสายพันธุ์ของเชื้อซัลโมเนลลาที่พบปนเปื้อนในหม้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2.2 เพื่อศึกษาความสามารถในการอยู่รอดของเชื้อซัลโมเนลลาที่พบในหม้ำในแบบจำลองการหมัก

1.2.3 เพื่อศึกษาผลของเชื้อแบคทีเรียแลคติก *P. pentosaceus* M13 ที่สามารถสร้างแบคเทอริโอซิน pediocin PA-1 ต่อการยับยั้งเชื้อซัลโมเนลลาที่พบในหม้ำ

1.2.4 เพื่อศึกษาถึงผลของกรดแลคติกและแบคเทอริโอซิน pediocin PA-1 ต่อการยับยั้งเชื้อซัลโลเนลลาในผลิตภัณฑ์หม้ำ

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

งานวิจัยนี้ทำการคัดแยกชนิดและสายพันธุ์ของเชื้อซัลโมเนลลาที่พบปนเปื้อนในหม้ำจากแหล่งผลิตในจังหวัดชัยภูมิ นำเชื้อซัลโมเนลลาที่จำแนกสายพันธุ์ และซีโรวาร์ที่พบในหม้ำมากที่สุดมาศึกษาความสามารถในการอยู่รอดของเชื้อซัลโมเนลลาที่พบในในหม้ำในแบบจำลองการหมัก จากนั้นศึกษาผลของการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก *P. pentosaceus* M13 ที่สามารถสร้างแบคเทอริโอซินต่อการยับยั้งเชื้อซัลโมเนลลาที่พบในหม้ำ รวมทั้งศึกษาถึงผลของกรดแลคติกและแบคเทอริโอซินต่อการยับยั้งเชื้อซัลโมเนลลาในผลิตภัณฑ์หม้ำ

1.4 วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยประกอบด้วย 4 ขั้นตอน ดังนี้

1.4.1 การคัดแยกและจำแนกเชื้อซัลโมเนลลาที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์หม้ำ

1.4.2 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

1.4.3 การศึกษาการผลิตแบคเทอริโอซินของเชื้อ *P.pentosaceus* M13

1.4.4 การศึกษาผลของการผลิตกรดและแบคเทอริโอซิน pediocin PA-1 ที่มีผลต่อซัลโมเนลลาที่แยกได้จากหม้ำในแบบจำลองการหมัก

1.4.5 การศึกษาการใช้แบคทีเรียแลคติกที่ผลิตแบคเทริโอซิน pediocin PA-1 ในการยับยั้งเชื้อซัลโมเนลลาในผลิตภัณฑ์หม้ำ

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบชนิดและสายพันธุ์ของเชื้อซัลโมเนลลาที่ปนเปื้อนในหม้ำ ทราบการเจริญและรอดชีวิตของเชื้อซัลโมเนลลาที่พบในหม้ำ และทราบสมบัติของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก *P. pentosaceus* M13 ที่มีผลต่อเชื้อซัลโมเนลลาในระหว่างการหมักหม้ำ เพื่อลดอัตราความเสี่ยงของการปนเปื้อนเชื้อซัลโมเนลลาในผลิตภัณฑ์หม้ำ และเป็นการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารหมักพื้นบ้านของไทยให้มีคุณภาพ ปลอดภัย และเป็นที่ยอมรับทั้งในประเทศและต่างประเทศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 หม้ำ

หม้ำหรือที่เรียกกันว่า "หม่ำ" หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ทำจากส่วนที่เป็นเนื้อของวัว ควาย หรือหมู เป็นส่วนประกอบหลัก ผสมกับตับและม้ามของสัตว์นั้นๆ แล้วเติมเครื่องปรุง เช่น เกลือ ข้าวคั่ว ข้าวสุก กระเทียม บดนวดให้เข้ากัน บรรจุลงไส้หรือกระเพาะปัสสาวะสัตว์ที่สะอาด หรือบรรจุในไส้อื่นที่บริโภคได้แล้วผูกปลายหรือมัดเป็นท่อนๆ ผึ่งไว้ในร่ม 2 วันถึง 3 วัน จนมีรสเปรี้ยว หม้ำแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือหม้ำเนื้อและหม้ำหมู (มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน 146/2546) การหมักหม้ำเป็นกระบวนการช่วยเก็บถนอมอาหารวิธีหนึ่งและเป็นการช่วยรักษาคุณค่าทางโภชนาการของอาหาร ความเปรี้ยวตลอดจนกลิ่นรสของหม้ำเกิดขึ้นเนื่องจากแบคทีเรียกลุ่มแลคติกเข้าไปมีส่วนเกี่ยวข้องในระหว่างกระบวนการหมักและเครื่องปรุงต่าง ๆ ที่จะทำให้เกิดกลิ่นรสเฉพาะของหม้ำ ซึ่งการหมักที่อาศัยเพียงแบคทีเรียแลคติกที่ปนเปื้อนมาจากเนื้อสัตว์และที่มีอยู่ในธรรมชาตินั้นอาจทำให้ผลิตภัณฑ์หลังหมักที่ได้ไม่สม่ำเสมอ โดยในระหว่างการหมักเมื่อผ่านไประยะเวลาต่าง ๆ กัน อาหารจะถูกแปรสภาพ เกิดการเปลี่ยนแปลงทางด้านเนื้อสัมผัส ลักษณะปรากฏและกลิ่นรสรสที่เป็นเอกลักษณ์ของผลิตภัณฑ์แต่ละชนิด ซึ่งการเปลี่ยนแปลงนี้เกิดจากเอนไซม์ที่มาจากแบคทีเรียที่ผสมอยู่ในวัตถุดิบก่อนการหมักในกลุ่ม normal flora และเอนไซม์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติในอาหาร เกิดการเปลี่ยนแปลงของสารคาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน สารอินทรีย์อื่นๆ ไปเป็นกรดและสารประกอบอินทรีย์อื่น ๆ เช่น กรดแลคติก กรดอะซิติก แอลกอฮอล์ เป็นต้น ทำให้จุลินทรีย์กลุ่มที่เป็นสาเหตุการเสื่อมเสียของอาหารไม่สามารถเจริญและทนในสภาพการหมักนี้ได้ จึงสามารถเก็บอาหารหมักเหล่านี้ได้เป็นเวลานาน การรับประทานหม้ำ หม้ำทุกชนิดเมื่อนำมารับประทานต้องทำให้สุกก่อน โดยวิธีการปิ้ง ย่าง อบ นึ่ง ทอด หรือนำไปลวก

2.1.1 คุณลักษณะที่ต้องการของหม้ำ (มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน 146/2546)

2.1.1.1 ลักษณะทั่วไป ต้องมีการกระจายตัวของส่วนประกอบที่ใช้ผสมกันอย่างทั่วถึง

2.1.1.2 สี ต้องมีสีที่ดีตามธรรมชาติของส่วนประกอบที่ใช้

2.1.1.3 กลิ่นรส ต้องมีกลิ่นรสที่ดีตามธรรมชาติที่เกิดจากการหมักของส่วนประกอบที่ใช้ มีรสเปรี้ยวพอเหมาะ และปราศจากกลิ่นอื่นที่ไม่พึงประสงค์ เช่น กลิ่นอับ กลิ่นเหม็น

2.1.1.4 ลักษณะเนื้อสัมผัส ต้องมีเนื้อนุ่ม แห้ง ไม่ร่วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.1.5 สิ่งแปลกปลอม ต้องไม่พบสิ่งแปลกปลอมที่ไม่ใช่ส่วนประกอบที่ใช้ เช่น เส้นผม ขนสัตว์ ดิน ทราย กรวด ชิ้นส่วนหรือสิ่งปฏิกูลจากสัตว์

2.1.1.6 วัตถุเจือปนอาหาร ห้ามใช้สีผสมอาหารทุกชนิด

2.1.1.7 ความเป็นกรดด่าง ต้องไม่เกิน 4.6

2.1.1.8 โปรตีน ต้องไม่น้อยกว่าร้อยละ 17 โดยน้ำหนัก

2.1.1.9 ไขมัน

1) หม้ำเนื้อต้องไม่เกินร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก

2) หม้ำหมูต้องไม่เกินร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก

2.1.1.10 จุลินทรีย์

1) *Salmonella* ต้องไม่พบในตัวอย่าง 25 กรัม

2) *Staphylococcus aureus* ต้องไม่พบในตัวอย่าง 0.1 กรัม

3) *Clostridium perfringens* ต้องไม่พบในตัวอย่าง 0.1 กรัม

4) *Escherichia coli* โดยวิธีเอ็มพีเอ็น ต้องน้อยกว่า 3 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม

5) ยีสต์และรา ต้องไม่เกิน 100 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม

2.1.2 ชนิดของหม้ำ

2.1.2.1 หม้ำแบ่งตามภาชนะบรรจุที่ใส่ได้เป็น 3 ชนิด (เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์, 2536)

1) หม้ำข้อ บรรจุในไส้หมูสด หรือไส้วัวสดที่ล้างสะอาดแล้วผูกมัดเป็นปล้อง ขนาด 4-5 นิ้ว ผึ่งแดดร่ำไรชายบ้านให้ผิวนอกของไส้แห้ง แขวนรายผึ่งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1-2 วัน รับประทานอาหารได้ หม้ำข้อที่แห้งดีสามารถเก็บไว้รับประทานได้นานเป็นเดือน

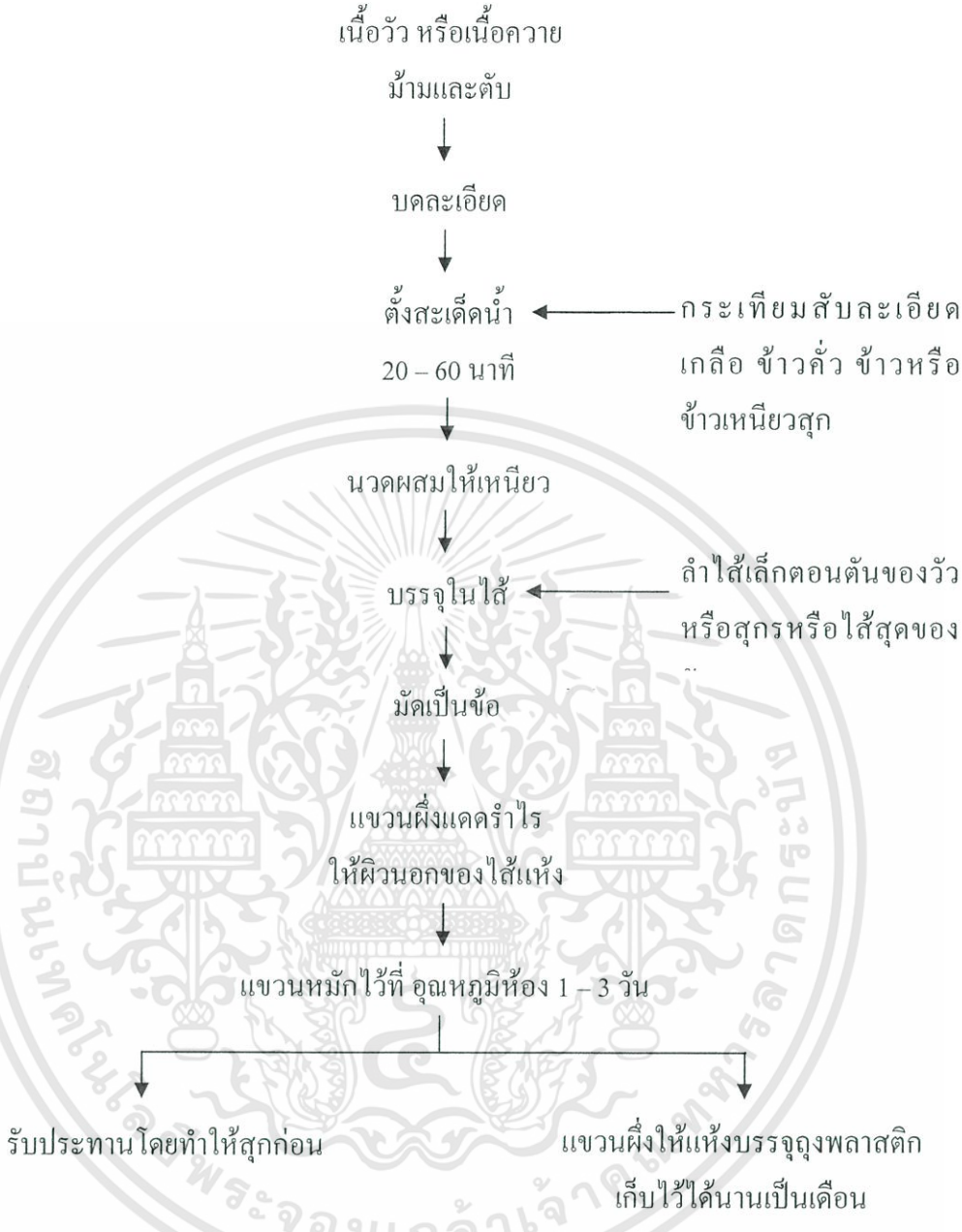
2) หม้ำพก บรรจุไส้สุดหรือไส้ติ่งของวัว มีขนาดใหญ่ น้ำหนัก 1-4 กิโลกรัม ต่อพก แขวน ผึ่งไว้ลมไว้ หม้ำจะเกิดการหมักให้รสเปรี้ยวภายใน 2-3 วัน และหม้ำจะแห้งน้ำหนักจะลดลงไปเรื่อยๆ หม้ำพกที่แห้งได้ที่เหมาะสม สามารถเก็บไว้รับประทานได้นาน 1-3 เดือน โดยไม่เน่าเสียและความเปรี้ยวไม่เพิ่มมากขึ้น ความชื้นสุดท้ายประมาณ 30-40 เปอร์เซ็นต์

3) หม้ำหม้อ บรรจุในหม้อเพื่อรับประทานสด หม้ำหม้อมีราคาถูกที่สุด เนื่องจากมีการเติมปอดผสมรวมกับเนื้อ ม้าม และตับ บรรจุในหม้ออัดให้แน่น ตั้งหมักไว้ 1-2 วัน จึงตักแบ่งจำหน่าย

2.1.3 ขั้นตอนการผลิตหม้ำ

เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์ (2536) กล่าวถึงกระบวนการผลิตของหม้ำ ดังภาพที่ 2.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.1 แสดงกระบวนการผลิตของหม้ำ

ที่มา : เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์ (2536)

2.1.3.1 การเตรียมวัตถุดิบ ใช้เนื้อวัวสดส่วนต้นขาไม่ต้องล้างน้ำ นำมาหั่นและบดให้ละเอียดใส่ในกระจาดหรือภาชนะที่มีรูที่ก้น ให้น้ำเนื้อตกออกมานาน 20-60 นาที ตับและม้ามนำมาบดเช่นกันและตั้งให้น้ำตกออกมาจนสะเด็ดแห้งดี นำเนื้อ ตับ ม้าม มานวดรวมกับเครื่องปรุงดังนี้ (ตารางที่ 2.1)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 แสดงส่วนประกอบการผลิตของหม้ำ

ส่วนประกอบ	ปริมาณ	
เนื้อวัว	10	กิโลกรัม
ตับ	1	กิโลกรัม
ม้าม	0.5	กิโลกรัม
ข้าวเหนียวสุก	0.5	กิโลกรัม
เกลือป่น	0.3	กิโลกรัม
กระเทียม	1	กิโลกรัม
ข้าวคั่ว	0.5	กิโลกรัม

ที่มา : เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์ (2536)

2.1.3.2 การนวดผสม นำส่วนผสมทั้งหมดมานวดรวมกันจนได้เนื้อที่เหนียวเป็นก้อนหนืด

2.1.3.3 การบรรจุนำส่วนผสมใส่ลงในเครื่องบรรจุไส้ บรรจุหม้ำในไส้หมูสด เพื่อทำหม้ำข้อหรือบรรจุในไส้สุดหรือไส้ติ่งของวัวเพื่อทำหม้ำพก มัดปลายให้แน่นแขวนราวไว้พึ่งให้แห้ง

2.1.3.4 การหมัก แขวนหม้ำที่ได้ที่อุณหภูมิห้องนาน 1-2 วัน หม้ำจะมีรสเปรี้ยวและแห้งลงสามารถเก็บไว้รับประทานได้นาน

2.1.3.5 การบริโภค หม้ำที่เปรี้ยวได้ที่เมื่อจะนำมารับประทาน สำหรับหม้ำข้อตัดมาเป็นข้อนำมาปิ้ง ย่าง ให้สุก ถ้าหม้ำแห้งมากควรนึ่งหรือลวกน้ำร้อนเพื่อช่วยให้เนื้อไม่แห้ง และน่ารับประทานเพิ่มขึ้น ส่วนหม้ำพกเปิดด้านบนของไส้และใช้ช้อนตักเป็นก้อนๆออกมา หม้ำพกที่นึ่งไว้นานเนื้อจะแห้งและร่วน ไม่เกาะกันนำมานึ่งให้ร้อนและใช้ยำหรือจิ้มข้าวเหนียว หรือผัดกับผักแทนเนื้อสดในการทำกับข้าว

2.2 คุณสมบัติของส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์หม้ำ

2.2.1 เนื้อสัตว์

เนื้อสัตว์เป็นอาหารที่เน่าเสียได้ง่าย เนื่องจากสมบัติของอาหารนั้นเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ เช่น วอเตอร์แอคทีวิตี้ (Aw) สูงถึง 0.97- 0.98 ความเป็นกรดด่าง = 5.6 และส่วนประกอบของธาตุอาหารต่างๆ ดังนั้นจึงได้มีการถนอมอาหาร โดยวิธีการต่างๆ เช่น การตากแห้ง การดองเค็ม และที่น่าสนใจ คือ การหมัก (วิเชียร ลีลาวัชรมาศ, 2534)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.2 ส่วนประกอบของเนื้อสัตว์ (อรอนงค์ ทองมี, 2551)

2.2.2.1 น้ำเป็นส่วนประกอบมากของเนื้อ มีประมาณ 75 เปอร์เซ็นต์ จึงทำให้เนื้อมีการหดตัวมากเมื่อสุก เพราะมีการสูญเสียความชื้น

2.2.2.2 โปรตีนเป็นส่วนสำคัญทำให้เนื้อสัตว์มีคุณค่าทางโภชนาการอาหาร และเป็นส่วนของโครงสร้างโปรตีนมาประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ โดยโปรตีนจะแข็งตัว (coagulate) เมื่อได้รับความร้อน ขณะที่เนื้อได้รับความร้อนมากขึ้น เนื้อจะหดตัวแข้งขึ้น และสูญเสียความชื้น แต่ถ้าได้รับความร้อนมากเกินไปเนื้อจะเหนียวและแห้ง

2.2.2.3 ไขมันในเนื้อสัตว์มีประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาณไขมันในเนื้อสัตว์แต่ละชนิดแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิด พันธ์อาหาร และอายุของสัตว์

ไขมันในเนื้อมีคุณสมบัติ 3 ประการ ดังนี้

1) ความฉ่ำน้ำ (Juiciness) เนื้อที่มีไขมัน (marbling) แทรกในเนื้อมากและมีความฉ่ำน้ำมาก โดยไขมันที่หุ้มชิ้นเนื้อจะไม่ช่วยให้เนื้อแห้งมากเกินไป ขณะประกอบอาหารและในระหว่างการเก็บ

2) ความนุ่ม (Tenderness) เนื้อมีไขมันแทรกระหว่างเซลล์กล้ามเนื้อจะช่วยทำให้เคี้ยวง่ายขึ้น

3) กลิ่นและรสชาติ (Flavor) ไขมันทำให้เนื้อมีกลิ่นและรสชาติดี โดยเนื้อที่มีคุณภาพดีเยี่ยม (prime) จะมีกลิ่นรสของเนื้อมากกว่าเนื้อคุณภาพรองลงไป

2.2.2.4 คาร์โบไฮเดรต เนื้อส่วนใหญ่มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตน้อยมาก ยกเว้นในตับซึ่งมีคาร์โบไฮเดรตอยู่ในรูปของไกลโคเจน

2.2.2.5 เกลือแร่ เนื้อสัตว์มีเกลือแร่หลายชนิด ได้แก่ เหล็ก ฟอสฟอรัส มีในตับ ไตม้ามมากกว่าในกล้ามเนื้อถึงสองเท่า ส่วนเกลือแร่ชนิดอื่นพบในเนื้อสัตว์และเครื่องในสัตว์ในปริมาณเล็กน้อย ได้แก่ แมงกานีส อะลูมินัม ทองแดง สังกะสี และโคบอลท์

2.2.2.6 วิตามิน พบในเนื้อสัตว์และเครื่องในสัตว์ โดยวิตามินบีรวม คือ วิตามินบี 1 ที่อยู่ในเนื้อสัตว์สูงมาก วิตามินบี 2 และไนอาซิน ส่วนวิตามินซีน้อยมาก และส่วนใหญ่สูญเสียไประหว่างการเตรียมและการประกอบอาหาร นอกจากนี้วิตามินที่ละลายในไขมัน คือ วิตามินเอ ดี อี และ เค ซึ่งมีปริมาณต่ำมากยกเว้นในตับปลามีวิตามินเอและดีสูง

อาหารหมักจากเนื้อสัตว์ ตัวอย่าง เช่น ไส้กรอกหมักและแหนม ในอาหารหมัก ใส่เกลือ เครื่องเทศ น้ำตาล และสารกันเสีย (chemical preservative) ซึ่งผลจากการถนอมอาหารของสารเหล่านี้จะร่วมกับกรดที่เกิดขึ้นระหว่างการหมัก ซึ่งทำให้อาหารหมักมีระยะเวลาการเก็บที่ยาวนานขึ้น (วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล, 2536)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3 กระเทียม (Garlic)

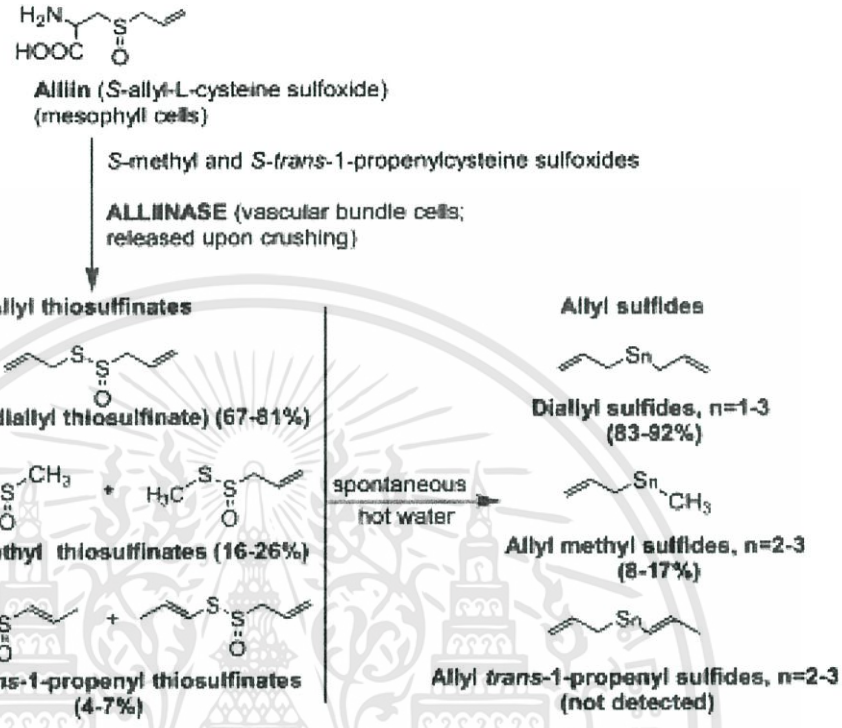
ลักษณะทั่วไปของกระเทียม เป็นไม้ล้มลุก มีกลิ่นแรง มีหัวใต้ดิน ลักษณะกลมแป้น ใบเดี่ยวขึ้นมาจากดิน เรียงซ้อนสลับ แบนเป็นแถบแคบ ช่อดอกแบบช่อซี่ร่ม ประกอบด้วยตะเกียง รูปไข่เล็กๆ จำนวนมากอยู่ปะปนกับดอกขนาดเล็กซึ่งมีจำนวนน้อย มีใบประดับใหญ่ 1 ใบ ลักษณะบางใส แห้ง เป็นจะงอยแหลมหุ้มช่อดอกขณะ ที่ยังตูมอยู่ ก้านช่อดอกเป็นก้านโดด เรียบ รูปทรงกระบอกตัน ดอกสมบูรณ์เพศ กลีบรวม 6 กลีบ สีขาวหรือขาวอมชมพู ผลเล็กเป็นกระเปาะสั้นๆ รูปไข่ หรือค่อนข้างกลม มี 3 พู เมล็ดเล็ก สีดำ เนื้อในกระเทียมเมื่อปอกหรือตัดให้ขาดจะมองเห็นเนื้อในสีขาวนวล มีกลิ่นหอมฉุน มีรสเผ็ด กระเทียมเป็นสมุนไพรที่มีประวัติคู่ครัวไทยมาตลอด คนไทยคุ้นเคยกับกระเทียมเป็นอย่างดี ซึ่งสามารถนำกระเทียมมาเป็นส่วนผสมของอาหารในทุกครัวเรือน นอกจากนี้กระเทียมยังมีสารอาหารประกอบด้วยกำมะถันต่างๆ ที่มีสรรพคุณในการป้องกันและรักษาโรคได้หลายชนิดสามารถใช้เป็นยาภายนอกรักษาแผลสดแผลเป็นหนองรักษากลากเกลื้อนและโรคผิวหนังที่เกิดจากเชื้อราได้ผลเป็นอย่างดี ส่วนที่ใช้เป็นยาภายในคือใช้เป็นยาระบายขับลม แก้จุกเสียดแน่นเฟ้อ ขับเสมหะ แก้ไข้ แก้ริดสีดวง บำรุงธาตุ ขับโลหิต ระดู รักษาโรคลำไส้อักเสบ กระเพาะปัสสาวะอักเสบ แก้บิด ทำลายพยาธิเส้นด้ายในลำไส้ รักษาโรคความดันโลหิตสูง โรคเบาหวานและโรคอ้วน (สมพร ภูติยานันท์, 2542)

สารยับยั้งจุลินทรีย์ในกระเทียม กระเทียมมีสารอัลลิซิน (allicin) สารอัลลิซินเป็นสารให้กลิ่นนั้นเกิดจากปฏิกิริยาของเอนไซม์อัลลิเนส (allinase) เปลี่ยนอัลลิอิน (alliin) ให้เป็นอัลลิซิน (allicin) ดังภาพที่ 2.2 สารดังกล่าวจะถูกทำลายได้โดยความร้อนและด่าง แต่จะไม่ถูกทำลายในกรด ซึ่งสารดังกล่าวสามารถยังยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ต่างๆ ได้ดี โดยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการหายใจ เช่น อัลคาไลน์ฟอสฟาเทส (alkaline phophatase) ยูรีเอส (urease) ซัลซินิคดีไฮโดรจีเนส (succinic dehydrogenase) โคลีนเอสเทอเรส (cholinesterase) โคลีนออกซิเดส (choline oxidase) ไกลออกซอเลส (lyoxylase) โดยเอนไซม์เหล่านี้เกี่ยวข้องกับกระบวนการหายใจของเชื้อจุลินทรีย์หรือการเจริญเติบโตของเชื้อ เป็นผลทำให้หยุดการเจริญและถูกทำลาย สำหรับเอนไซม์ที่ถูกทำลายโดย อัลลิซินส่วนมากจะมี หมู่ซัลฟ์ไฮดริล (sulfhydryl group,-SH) อยู่ด้วย หมู่ SH นี่จะสามารถรวมกับ S-O-S- ในโครงสร้างของอัลลิซิน ได้อย่างรวดเร็ว จึงมีผลให้เกิดปฏิกิริยาที่โดยเอนไซม์ถูกทำลาย โดยหมู่ SH มีผลต่อจุลินทรีย์อย่างมาก เพราะเป็นตัวกระตุ้นจำเพาะต่อการเจริญและเพิ่มจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ (Talia et al., 2001)

Swetwiwathana et al. (2004) ได้ศึกษาถึงผลของกระเทียมและไนไตรท์ที่มีต่อการผลิต Pediocin PA-1 ของ *P. pentosaceus* TISTR 536 และการเจริญของ *S.* Anatum ในสภาวะการหมักแหนมจำลอง พบว่าการเติมกระเทียมสด 5 เปอร์เซ็นต์ ช่วยให้ *P. pentosaceus* TISTR 536 เจริญได้ดีทั้งที่มีและไม่มีไนไตรท์ เมื่อเทียบกับที่ไม่ได้เติมกระเทียมและเมื่อใช้กระเทียมสด 5 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ร่วมกับไนไตรท์ 125 ppm และเติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 สามารถลดจำนวนของ *S.* Anatum ได้ภายใน 30 ชั่วโมง



ภาพที่ 2.2 โครงสร้างสารประกอบอัลลิซิน

ที่มา: Lawson and Gardner (2005)

2.2.4 เกลือแกง (Salt)

เกลือที่ใช้ในการแปรรูปเนื้อสัตว์ อยู่ในรูปของเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) หรือทราบกันในชื่อของเกลือแกง แต่เดิมมนุษย์ใช้เกลือเพื่อเป็นตัวป้องกันการเน่าเสีย เนื่องจากจุลินทรีย์ของ เนื้อสัตว์ในสภาพห้องธรรมดา ปริมาณการใช้เกลือในการหมักเนื้อจะใช้ที่มีความเข้มข้นสูง โดยปกติต้องให้มีเกลือในผลิตภัณฑ์ประมาณ 6 เปอร์เซ็นต์ ทำให้เนื้อมีรสชาติเค็มจัด และลักษณะของผลิตภัณฑ์แห้ง มีผิวหน้าเหี่ยวย่นมองดูไม่น่ารับประทาน แต่ปัจจุบันความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีต่างๆเข้ามามีบทบาทต่อการถนอมรักษาเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ ทำให้สามารถเก็บไว้ได้ที่อุณหภูมิต่ำ ดังนั้นปริมาณการใช้เกลือจึงลดลงเพื่อให้รสชาติดีขึ้น ดังนั้น เช่นปริมาณเกลือที่เป็นที่ยอมรับในกลุ่มผู้บริโภค จะเติมเกลือแกงเป็นส่วนผสม 2.4-3 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจะมีผลในการยับยั้งจุลินทรีย์ ที่ไม่ต้องการและเอื้อต่อการเจริญของแบคทีเรียแลคติก เกลือแกงยังทำปฏิกิริยากับโครงสร้างเส้นใยกล้ามเนื้อและทำให้โปรตีนละลาย เกิดชั้นบางๆเคลือบผิวหน้าของเนื้อ และมีผลทำให้ผลิตภัณฑ์มีกลิ่นรสที่ดีด้วย (เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์, 2536)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.5 โซเดียมไนเตรท และโซเดียมไนไตรท์

2.2.5.1 โซเดียมไนเตรท (Sodium nitrate) เป็นสารช่วยตรึงสีแดงของเนื้อโดยทางอ้อมและสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย โดยเฉพาะแบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต นอกจากนี้โซเดียมไนเตรทจะเป็นแหล่งให้สารไนไตรท์ ในกรณีที่มีการหมักบ่มเป็นเวลานาน (บุษกร อุตรภิชาติ, 2552)

2.2.5.2 โซเดียมไนไตรท์ (Sodium nitrite) เป็นแหล่งของสารไนตริกออกไซด์ (nitric oxide) และโซเดียมไนไตรท์ ยังช่วยยับยั้งการเติบโตของแบคทีเรียอีกด้วย (บุษกร อุตรภิชาติ, 2552)

หน้าที่ของโซเดียมไนไตรท์และโซเดียมไนเตรท เมื่อใช้กับผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ คือ (เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์, 2536)

1) ทำให้ผลิตภัณฑ์เนื้อมีสีแดง และรักษาสีแดงของผลิตภัณฑ์ ทำให้มีความน่ารับประทานเพิ่มขึ้น

2) ช่วยเพิ่มรสชาติ (taste) และกลิ่นรส (flavor) แก่ผลิตภัณฑ์ ทำให้มีกลิ่นเฉพาะตัวเป็นที่ยอมรับสำหรับผู้บริโภคมากกว่าใช้เกลือในการหมักเนื้ออย่างเดียว

3) ช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ป้องกันการงอกของสปอร์แบคทีเรียที่ไม่ต้องการอากาศ โดยเฉพาะพวก *Cl. botulinum*

4) ช่วยยับยั้งการหืนของไขมันในผลิตภัณฑ์เนื้อ โดยจะไปยับยั้งปฏิกิริยาการเติมออกซิเจนของไขมัน (oxidative rancidity)

Swetwiwathana et al. (1999) ได้ทำการทดลองโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น *Lb. curvatus, Lb. sakei* และ *Pediococcus* spp. ร่วมกับ ไนเตรท ไนไตรท์ และกระเทียมในการควบคุมการเจริญของเชื้อ *S.* Anatum ในแหนม พบว่าเมื่อใช้โซเดียมไนเตรท 125 ppm กระเทียมสด 5 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ starter culture จะให้ผลในการยับยั้งการเจริญของ *S.* Anatum ได้ แต่ใช้ร่วมกับ *Lb. sakei* จะให้ผลในการยับยั้งดีที่สุด

2.2.6 ไส้ (Casing)

ไส้ที่ใช้ในการบรรจุไส้กรอกนั้นมี 2 ชนิด ดังนี้ (เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์, 2536)

2.2.6.1 ไส้เทียม (Artificial casing) นิยมมากในโรงงานผลิตไส้กรอก เนื่องจากผลิตได้ปริมาณมาก ราคาถูก มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางให้เลือกได้ตามความต้องการ ขนาดสม่ำเสมอ และเก็บรักษาได้ง่าย

2.2.6.2 ไส้ธรรมชาติ (Natural casing) ได้จากไส้หมู ไส้แกะ ไส้วัว หลอดคอวัว กระเพาะหมู ไส้ติ่งวัว มีขนาดไม่สม่ำเสมอ เปื่อยง่าย ฉีกขาดง่าย เก็บรักษายาก ราคาแพง เมื่อบรรจุ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไส้กรอกจะมีรสชาติอร่อย กรอบ และเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการอาหาร ไส้กรอกที่ใช้ไส้ธรรมชาติบรรจุ ได้แก่ ซัมเมอร์ซอสเซ็ต ใช้บรรจุในไส้ส่วนปลายของลำไส้ใหญ่ (bung) ไส้กรอกประเภทซาลามิบรรจุในลำไส้ใหญ่ ส่วนที่ถัดจากปลายลำไส้ใหญ่ (second end) ไส้กรอกหมูอิตาเลียน และกุนเชียงบรรจุในลำไส้ส่วนลำไส้เล็ก (small intestine) ไส้กรอกแห้งใช้บรรจุในกระเพาะ (stomach) ของหมู หม้ำพกบรรจุในไส้ส่วนไส้ติ่งของวัว

2.2.7 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ (บุษกร อุตรภิชาติ, 2552)

2.2.7.1 ชนิดและจำนวนจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับเนื้อหรือผลิตภัณฑ์เนื้อ ตัวอย่างเช่น เนื้อที่เก็บแบบแช่เย็น (chilling) จะมีการเสียเร็วขึ้นถ้าหากมีแบคทีเรีย เช่น *Pseudomonas* หรือ *Achromobacter* ปนเปื้อน

2.2.7.2 คุณสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ของเนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อ ปกติเนื้อจะเป็นอาหารที่ดีของจุลินทรีย์ เนื่องจากมีคุณค่าทางอาหารต่างๆครบถ้วน ความชื้นในอาหารจะเป็นตัวกำหนดชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ด้วย เช่น บริเวณผิวด้านนอกชิ้นเนื้อค่อนข้างแห้ง อาจพบเชื้อราเติบโต ส่วนเนื้อบริเวณที่อยู่ลึกเข้าไปภายในชิ้นเนื้อ พบว่ามีความชื้นมากขึ้นแบคทีเรียเติบโต ดังนั้นการควบคุมความชื้นภายในห้องเก็บเนื้อ จึงมีความสำคัญมาก

2.2.7.3 ปริมาณออกซิเจน จุลินทรีย์ประเภทยีสต์ เชื้อรา และ แบคทีเรียที่ต้องการอากาศในการดำรงชีวิต สามารถเติบโตได้ดีในเนื้อสัตว์บริเวณผิวด้านนอก และหากพื้นที่ผิวเพิ่มขึ้นจะพบ จุลินทรีย์นั้นเพิ่มขึ้นด้วย ตัวอย่างเช่น บริเวณพื้นผิวเนื้อบดจะพบจุลินทรีย์ปริมาณสูงกว่าบริเวณพื้นผิวของชิ้นเนื้อทั้งก้อน

2.2.7.4 อุณหภูมิ อุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บเนื้อไม่ควรจะเป็นอุณหภูมิที่สูงกว่าจุดเยือกแข็งมากนัก เพราะจะทำให้จุลินทรีย์ที่เติบโตได้ดี ในอุณหภูมิต่ำเติบโตได้ปกติอยู่แล้ว อุณหภูมิจึงมีส่วนสำคัญในการกำหนดชนิดของจุลินทรีย์ที่พบได้ในเนื้อ

2.3 แบคทีเรียแลคติก

แบคทีเรียแลคติก (Lactic acid bacteria, LAB) มีบทบาทในการหมักอาหารหลายชนิด เช่น นมเปรี้ยว เนยชนิดต่างๆ ผักผลไม้ดอง ไส้กรอกและผลิตภัณฑ์เนื้อหมักชนิดอื่นๆ นอกจากนี้ยังมีกิจกรรมร่วมกับยีสต์ในการหมักเต้าเจี้ยว ซีอิ๊ว สุราและผลิตภัณฑ์แป้งหมักได้ ดังนั้นบทบาทที่สำคัญในการหมักอาหารของแบคทีเรียจึงได้แก่ การผลิตกรด ทำให้เกิดกรด ทำให้เกิดรสเปรี้ยวและมีกลิ่นหอมของสารต่างๆ และยังมีประโยชน์ในด้านอื่นๆที่แตกต่างกันออกไปตามประเภทของผลิตภัณฑ์ (นภา โล่ทอง, 2537)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.1 ลักษณะทั่วไปของแบคทีเรียแลคติก

แบคทีเรียแลคติกเป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีรูปร่างเป็นท่อนหรือกลม ไม่สร้างสปอร์ (non-spore forming) ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างเอนไซม์คะตาเลส (catalase negative) ไม่ต้องการอากาศ การจัดเรียงกลุ่มแบคทีเรียกรดแลคติกในสกุลต่างๆ ขึ้นอยู่กับรูปร่างลักษณะรูปแบบของการหมักน้ำตาลกลูโคส การใช้น้ำตาลชนิดต่างๆ และการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ แบคทีเรียกรดแลคติกสามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีเกลือความเข้มข้นสูง และทนต่อกรดหรือด่าง ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากกระบวนการเมทาบอลิซึมของแบคทีเรียกลุ่มนี้ได้จากการใช้น้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลแลคโตสเป็นแหล่งคาร์บอนได้เป็นกรดแลคติกเป็นส่วนใหญ่ จะเกิดขึ้นในกระบวนการไกลโคไลซีสของแบคทีเรียแลคติก (Erkkila, 2001)

2.3.2 การแบ่งกลุ่มของแบคทีเรียแลคติก

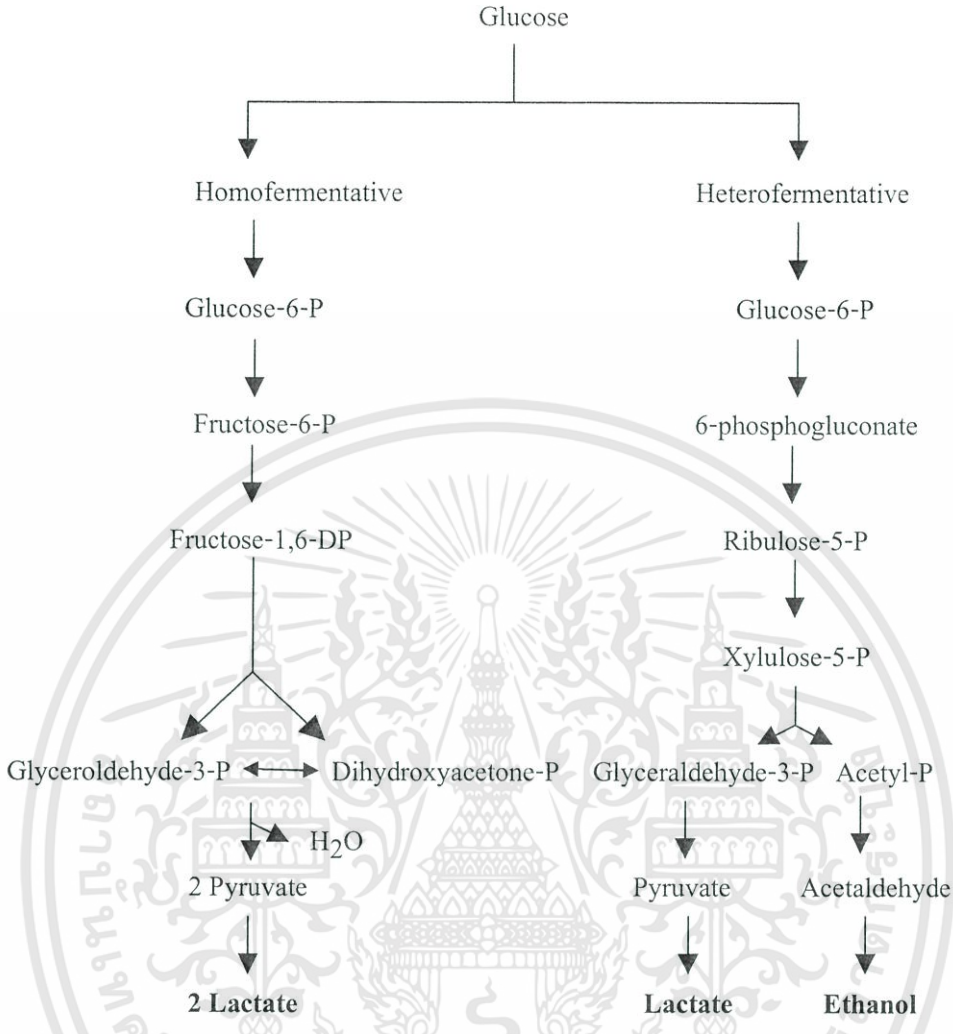
แบคทีเรียแลคติกสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม ตามกระบวนการและผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมัก คือ (อัจฉรา เพิ่ม, 2549)

2.3.2.1 Homofermentative เป็นแบคทีเรียกลุ่มที่หมักน้ำตาลกลูโคส โดยการเปลี่ยนกลูโคสเป็นไพรูเวต และอาศัยเอนไซม์อัลโดเลส (aldolase) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาแล้วให้กรดแลคติกมากกว่าหรือเท่ากับ 80 เปอร์เซ็นต์ โดยผ่าน glycolysis (Embden-Meyerhof Parnas pathway : EMP) ได้แก่ แบคทีเรียในสกุล *Pediococcus*, *Streptococcus* และ *Lactobacillus* บางชนิด เช่น *Lactobacillus acidophilus* และ *Lb. delrueckii*

กระบวนการหมักเริ่มจากกลูโคส 6 อะตอม ถูกเติมฟอสฟอรัส และเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างขึ้นก่อนที่เอนไซม์อัลโดเลส (aldolase) จะเข้าทำปฏิริยา เป็นผลให้โมเลกุลกลูโคสแตกออกเป็นกลีเซอรัล-3-ฟอสเฟต (glyceroldehydl-3-p) (ซึ่งมีคาร์บอน 3 อะตอม) 2 โมเลกุล จากนั้นจะเปลี่ยนเป็นไพรูเวท (pyruvate) โดยเกิด ATP ขึ้น 2 โมเลกุลจากการหมักน้ำตาลกลูโคส 1 โมเลกุล เนื่องจากมีการเติมฟอสฟอรัสให้แก่สารตั้งต้น 2 แห่ง ในขั้นสุดท้ายเป็นการรีดิวซ์ไพรูเวทเป็นแลคเตท ในขั้นตอนนี้ต้องใช้ NADH ได้ NAD^+ ถูกใช้ไปในการออกซิเดชั่นกลีเซอรัลดีไฮด์-3-ฟอตเฟต (ภาพที่ 2.3)

2.3.2.2 Heterofermentative เป็นแบคทีเรียกลุ่มที่หมักน้ำตาลกลูโคส แล้วให้คาร์บอนไดออกไซด์ 20-25 เปอร์เซ็นต์ กรดแลคติก 50 เปอร์เซ็นต์ กรดอะซิติกและเอทานอล 20-25 เปอร์เซ็นต์ โดยผ่าน phosphoketolase pathway ได้แก่ แบคทีเรียในสกุล *Lauconostoc* และ *Lactobacillus* บางชนิด เช่น *Lb. plantarum, Lb. casei* และ *Lb. brevis*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.3 วิถีการหมักกลูโคสแบบ homofermentative และ heterofermentative ของแบคทีเรียแลคติก

ที่มา : อัจฉรา เพิ่ม (2549)

กระบวนการหมักกลูโคสซึ่งให้ผลผลิตหลายชนิด คือ เอทิลแอลกอฮอล์ กรดอะซิติก กรดแลคติก และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ โดย ผ่าน phosphoglyconate หรือ phosphoketolase pathway กระบวนการหมักเริ่มจากกลูโคสที่มีคาร์บอน 6 อะตอ มเปลี่ยนเป็นเพนโทส (ไรโบส) ซึ่งมีคาร์บอน 5 อะตอม โดยการจัดโครงสร้างภายในโมเลกุลที่มีการออกซิเดชั่น (oxidation) และดีคาร์บอกซิลเลชั่น (decarboxylation) ร่วมด้วยน้ำตาลที่มีคาร์บอน 5 อะตอม ถูกทำให้แตกออกเป็นกลีเซอรัลดีไฮด์ฟอตเฟต ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีคาร์บอน 3 อะตอม และอะซิทิลฟอตเฟต (acetyl phosphate) โดยเอนไซม์ฟอสโฟคีโตเลส (phophoketolase enzyme) กลีเซอรัลดีไฮด์ ฟอตเฟต (glyceroldehyde phosphate) จะเปลี่ยนไปเป็นแลคเตท (lactate) เช่นเดียวกับการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกิดไลโคไลซิสในการหมักแบบ homofermentative แต่เนื่องจากการหมักแบบ heterofermentative มีกลีเซอรัลดีไฮด์ฟอสเฟตเพียง 1 โมเลกุล จึงเกิด ATP 1 โมเลกุล (ภาพที่ 2.3)

2.3.3 ชนิดของสารยับยั้งที่สร้างโดยแบคทีเรียแลคติก (Antimicrobial substance)

นอกจากผลิตกรดแลคติกแล้วยังสามารถผลิตสารอื่นขึ้นมาได้แต่ผลิตได้ในปริมาณน้อย เช่น กรดอินทรีย์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) คาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) แบคเทอริโอซิน (bacteriocin) ไดอะซิติล (diacetyl) และริวเทอรีน

2.3.3.1 กรดอินทรีย์ (organic acid)

กรดอินทรีย์ที่สำคัญที่สร้างจากแบคทีเรียกรดแลคติก ได้แก่ กรดแลคติก ซึ่งเป็นผลผลิตที่เกิดขึ้นในกระบวนการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรต เกิดการเปลี่ยนไพรูเวตไปเป็นกรดแลคติกโดยเอนไซม์แลคแตสดีไฮโดรจีเนส (lactate dehydrogenase) และเมื่อมีการสะสมมากขึ้นจะทำให้ค่าความเป็นกรดด่างลดลง จึงมีสภาพเป็นกรดมากเกินไปไม่เหมาะสมกับการเจริญของแบคทีเรียชนิดอื่น ส่งผลให้สามารถยับยั้งหรือทำลายแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคและทำให้อาหารเน่าเสีย พบว่ากรดแลคติกจะทำให้เยื่อหุ้มเซลล์แตกออกและเอนไซม์ถูกปลดปล่อยออกมาจากเซลล์ หรือกรดแลคติกอาจแทรกผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียได้โดยตรง และเข้าไปอยู่ในส่วนของไซโตรพลาสซึม (cytoplasm) ที่มีค่าความเป็นกรดด่างสูงกว่า ดังนั้นจึงเกิดการปลดปล่อยโปรตอนออกมานอกเซลล์เพื่อรักษาสมดุลของความเป็นกรดด่าง จึงทำให้เกิดการทำลายแรงขับเคลื่อนโปรตอน และทำลายกระบวนการเคลื่อนย้ายสารอาหารต่างๆ ส่งผลให้เกิดการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (De Vuyst and Vandamme, 1994)

2.3.3.2 ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide)

ความเป็นพิษของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์อาจเป็นผลมาจากการเกิดออกซิเดชันที่เยื่อหุ้มเซลล์ไขมันซึ่งจะแทรกซึมผ่านผนังเซลล์ได้เพิ่มมากขึ้น มีผลในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ โดยมีการจับออกซิเจนไว้ทำให้จุลินทรีย์เป้าหมายอยู่ในสภาวะไร้อากาศจึงไม่สามารถมีชีวิตอยู่ได้และยังทำลายโครงสร้างโมเลกุลของกรดนิวคลีอิกและเซลล์โปรตีน (De Vuyst and Vandamme, 1994)

2.3.3.3 คาร์บอนไดออกไซด์ (Carbon dioxide)

Caplice and Fitzgerald (1999) รายงานว่า คาร์บอนไดออกไซด์เกิดขึ้นจากกระบวนการหมักน้ำตาลเฮกโซสให้เป็นกรดแลคติกแบบ heterofermentative ได้โดยตรงในสภาวะที่ไร้ออกซิเจนและเป็นพิษต่อจุลินทรีย์อื่นที่ใช้ออกซิเจน คาร์บอนไดออกไซด์สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์อื่นได้ด้วยกลไกการแทนที่โมเลกุลของออกซิเจน ทำให้เกิดสภาพไร้ออกซิเจน ส่งผลให้ความเป็นกรดด่างทั้งภายในและภายนอกเซลล์จึงทำให้เกิดการเสื่อมสภาพของเยื่อหุ้มเซลล์ และทำให้เซลล์ตายในที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.3.4 แบคเทอริโอซิน (Bacteriocin)

อรอนงค์ พริ้งศุลกะ (2550) กล่าวว่า แบคเทอริโอซินหมายถึง สารที่เป็นพันธะเปปไทด์หรือโปรตีนที่สังเคราะห์จากไรโบโซมและมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบบางชนิด และแบคทีเรียแลคติก ซึ่งมีความแตกต่างจากสารปฏิชีวนะจำพวกเปปไทด์อื่น คือ สร้างมาจากไรโบโซม (ribosomally synthesized) และจัดเป็นเมแทบอไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolites)

สำหรับกลไกการยับยั้งจุลินทรีย์ทั้งในสภาพเซลล์ปกติและสปอร์ โดยจะเข้าไปมีผลต่อผนังเซลล์ของแบคทีเรีย แบคเทอริโอซินจะถูกดูดซึมเข้าไปทางผนังเซลล์และมีผลทำให้มีการสูญเสียองค์ประกอบที่สำคัญจำพวก ATP จากเซลล์ทำให้เซลล์ถูกย่อยสลายไป ส่งผลให้มีการเคลื่อนย้ายอิออนอย่างอิสระและสูญเสียแรงเคลื่อนของโปรตอน (proton motive force; PMF) จึงทำให้ความต่างศักย์ลดลงและไม่มีการสร้างพลังงานเกิดขึ้น ดังนั้นเมื่อเซลล์ไม่สามารถนำสารอาหารขนาดใหญ่เข้าสู่เซลล์ได้ แต่น้ำสามารถไหลเข้าพร้อมกับการไหลออกของสารโมเลกุลขนาดเล็ก จึงทำให้เซลล์เกิดการแตกจากแรงดันออสโมติก (Sahl et al., 1995) นอกจากนี้ยังไปมีผลยับยั้งการทำงานของหมู่ sulphydryl group บนโปรตีนใน cytoplasmic membrane ทำให้เซลล์แบคทีเรียไม่สามารถเจริญได้ สำหรับการยับยั้งสปอร์ โดยจะมีผลไปยับยั้งสปอร์ในกระบวนการงอกของสปอร์ ส่งผลให้สปอร์ไม่มีผนังเซลล์ห่อหุ้มทำให้มันกลายสภาพไปเป็นเซลล์ปกติ ซึ่งสามารถยับยั้งสปอร์ของ *Cl. botulinum* และ *Bacillus cereus* (ศิพัตม์ รักษ์เผ่า, 2539)

แบคเทอริโอซินที่ผลิตได้จากแบคทีเรียแลคติกสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียชนิดอื่นๆ ได้ ซึ่งแบคทีเรียกรดแลคติกแต่ละสายพันธุ์มีการผลิตแบคเทอริโอซินแตกต่างกันไป ดังตารางที่ 2.2 เทคโนโลยีใหม่ที่ใช้ในการเพิ่มความปลอดภัยของอาหารโดยการพัฒนานำแบคเทอริโอซินเพื่อตัวควบคุมการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค เช่น ไนซิน (nisin) เป็นแบคเทอริโอซินที่ผลิตได้จากแบคทีเรียกรดแลคติกสายพันธุ์ *Lc. lactis* subsp. *lactis* ซึ่งมีผลในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกโดยเฉพาะอย่างยิ่ง *L. monocytogenes* ฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์ของไนซิน ขึ้นอยู่กับ receptor ที่ผนังเซลล์ของจุลินทรีย์เป้าหมาย ปัจจุบันแบคเทอริโอซินได้รับอนุญาตให้มีการใช้ในอาหารในหลายประเทศ ซึ่งใช้เป็นสารเพื่อป้องกันการเน่าเสียในผลิตภัณฑ์นมและเนื้อสัตว์ (Hampikyan and Ugur, 2007)

2.3.3.5 ไดอะซิทิล (Diacetyl)

ไดอะซิทิล เป็นผลผลิตสุดท้ายที่ได้จากกระบวนการเมทาบอลิซึมของแบคทีเรียกรดแลคติกซึ่งสังเคราะห์ขึ้นจากไพรูเวตที่เป็นสารตัวกลาง (intermediate) แบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* และ *Streptococcus* สามารถสังเคราะห์ไดอะซิทิลได้ ซึ่งเป็นสารที่ให้กลิ่นเฉพาะในผลิตภัณฑ์นมหมัก และมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ด้วย โดยจะมีการสร้างสารไดอะซิทิลขึ้นในระหว่างการใช้น้ำตาลเฮกโซส (hexose) และบางครั้งอาจเกิดขึ้นจากการใช้ซิเตรท (citrate) โดยซิเตรตจะถูกเปลี่ยน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 ชนิดของแบคเทอริโอซินที่ผลิตจากแบคทีเรียแลคติก

สายพันธุ์ของแบคทีเรียแลคติก	ชนิดของแบคเทอริโอซิน
Lactococcus (*Lc.*)	
Lc. lactis subsp. *lactis*	
e.a. ATCC 11454	ไนซิน (nisin) A
e.a. NIZO 22186	ไนซิน (nisin) Z
CNRZ 481	lacticin 481
Lc. lactis subsp. cremoris	
e.a. 346	Diplococcin
LMG 2130	lactococcin A
Lactobacillus (*Lb.*)	
Lb. acidophilus	
2181	Acidolin
TK 8912	acidocin 8912
N 2	lactacin B
Lb. sake	
Lb 706	sakacin A
L 45	lactocin S
Pediococcus (*P.*)	
P. pentosaceus	
e.a. FBB-61, L-7230	pediocin A
N5p	pediocin N5p

ที่มา : ดัดแปลงจาก De Vuyst and Vandamme (1994)

ผ่านไพรูเวตไปเป็นสารไดอะซิทิล และอาจอยู่ในรูปรีดิวซ์ คือ อะซิโตอิน (acetoin) (Caplice and Fitzgerald, 1999)

2.3.3.6 ริวเทอรีน (Reuterine)

ริวเทอรีน ผลิตได้ในระหว่างระยะ stationary phase โดยแบคทีเรียชนิด *Lb. reuteri* ที่มีการเจริญแบบไม่ต้องการออกซิเจน สร้างจากกลูโคสและกลีเซอรอล หรือกลีเซอรอลดีไฮด์ สามารถยับยั้งกิจกรรมไรโบนิวคลีโอไทด์รีดักเตส (ribonucleotide reductase) เป็นสายพันธุ์ที่มีความสามารถในการต่อต้านไวรัส ราและโปรโตซัว (Caplice and Fitzgerald, 1999)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 เชื้อซัลโมเนลลา (*Salmonella* spp.)

เชื้อซัลโมเนลลาเป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อน เคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลกเจลลาที่อยู่รอบซลล์ ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตอยู่ที่ 37 องศาเซลเซียส ระดับความเป็นกรดด่าง ที่เชื้อเติบโตได้อยู่ระหว่าง 4.1-9.0 มีปริมาณเบสกัวนีนและไซโทซีน ที่เป็นองค์ประกอบของดีเอ็นเอ (DNA) อยู่ระหว่าง 50-53 เปอร์เซ็นต์โมล ซึ่งใกล้เคียงกับ *E. coli* แหล่งที่พบเชื้อซัลโมเนลลา คือ อาหารประเภท ไข่ เนื้อ นม โดยเป็นเชื้อสาเหตุของโรคทางเดินอาหารในมนุษย์และในสัตว์ (บุษกร อุตรภิชาติ, 2552) พบได้ทั่วไปทั้งในสัตว์ปีก สัตว์เลื้อยคลาน สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมรวมทั้งมนุษย์ เชื้อนี้ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษที่มีความรุนแรง นอกจากเป็นสาเหตุให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษที่มีประวัติการระบาดสูงเป็นอันดับหนึ่งในสหรัฐอเมริกา อังกฤษ และในอีกหลายๆประเทศแล้ว ยังทำให้ประชากรเสียชีวิตสูงสุด แหล่งที่อยู่อาศัยระดับปฐมภูมิของเชื้อซัลโมเนลลา คือ ทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์ จึงคาดว่าอุจจาระของมนุษย์และสัตว์อาจมีเชื้อซัลโมเนลลาด้วย แต่ในอุจจาระของสัตว์มีโอกาสพบเชื้อซัลโมเนลลาได้มากกว่าอุจจาระของมนุษย์เพราะสัตว์กินอาหารไม่เลือก อีกทั้งอาหารสัตว์ก็มีโอกาสปนเปื้อนได้มากกว่าอาหารมนุษย์ แหล่งสำคัญที่ทำให้เกิดการแพร่เชื้อซัลโมเนลลาไปยังเนื้อสัตว์ชำแหละคือสัตว์ที่เป็นพาหะและอาหารสัตว์ (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2549)

2.4.1 แหล่งของเชื้อซัลโมเนลลา

มนุษย์และสัตว์เป็นแหล่งให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อซัลโมเนลลาในอาหารได้ทั้งนั้น ไม่ว่าเป็นทั้งทางตรงและทางอ้อม โดยเชื้ออาจแพร่มาจากพาหะของโรค เชื้อที่พบบ่อยที่สุดจากการจำแนกทาง ซีโรวาร์ (serovars) เช่น *S.* Typhimurium และเชื้ออื่นๆ เป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อในกระเพาะอาหารและลำไส้ เชื้อนี้ยังอาจมาจาก แมว สุนัข หมู หรือวัว ควาย แต่แหล่งที่สำคัญของเชื้อที่พบในอาหาร คือสัตว์ปีก ไข่ และสัตว์ฟันแทะ ซึ่งมีการติดเชื้อจากมูลและขนของมัน โดยพบว่า 1 ใน 3 ของผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวข้องกับการระบาดของโรคเป็นอาหารพวกเนื้อสัตว์และสัตว์ปีก และแหล่งของเชื้อซัลโมเนลลาที่มีความสำคัญและได้รับความสนใจอย่างมาก คือเปลือกไข่ ไปจนถึงไข่เหลวไข่แช่แข็ง และไข่ผง จะมีเชื้อซัลโมเนลลา ปนเปื้อนอยู่ นอกจากนั้นพวกสัตว์ฟันแทะหรือหนูที่ติดเชื้อก็เป็นสาเหตุให้เชื้อปนเปื้อนและแพร่กระจายได้จากมูลของมัน รวมทั้งแมลงวันและแมลงสาบซึ่งมีบทบาทสำคัญในการแพร่กระจายของเชื้อซัลโมเนลลาด้วยเช่นกัน

อรุณ บ่างตระกูลนนท์ และคณะ (2545) กล่าวถึงการเลือกพาหะนำโรคของเชื้อซัลโมเนลลาไว้ดังนี้

1) เชื้อซัลโมเนลลาที่อาศัยคนเป็นโฮสต์ เชื้อซัลโมเนลลาในกลุ่มนี้เป็นโรคติดต่อในคนเท่านั้นได้แก่ *S.* Typhi ทำให้เกิดโรคไทฟอยด์ (Typhoid fever) เป็นสปีชีที่มีอันตราย รุนแรงมากที่สุด ส่วน *S.* Paratyphi A, *S.* Paratyphi B และ *S.* Paratyphi C ทำให้เกิดโรคไข้ รากสาดน้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(paratyphoid fever) ซึ่งมีอาการคล้ายกับอาการของไข้ไทฟอยด์ แต่รุนแรง น้อยกว่าไข้รากสาดน้อย เป็นโรคติดต่อในคนเช่นเดียวกับอาการของไข้ไทฟอยด์ มีระยะเวลา ฟักตัวนาน ผู้ป่วยมีอุณหภูมิของร่างกายสูงมาก มีผลทำให้อัตราการตายสูง และอาจตรวจ พบเชื้อ *S.* Typhi ในเลือด ในอุจจาระ และในปัสสาวะของผู้ป่วยด้วย

2) เชื้อซัลโมเนลลาที่ปรับตัวตามโฮสต์ เชื้อซัลโมเนลลาในกลุ่มนี้เป็นเชื้อที่แพร่จากสัตว์ที่เป็นโรคหรือเป็นพาหะมาสู่คน เนื่องจากอาศัยอยู่ในสัตว์ เมื่อนำสัตว์มาใช้เป็นอาหารก็จะแพร่มาสู่คน และทำ ให้คนเป็นโรคได้ ตัวอย่างเช่น *S.* Gallinarum และ *S.* Pullorum ซึ่งอาศัยเป็ดไก่เป็นโฮสต์ *S.* Dublin อาศัยวัวเป็นโฮสต์ *S.* Abortus-equi อาศัยม้าเป็นโฮสต์ *S.* Abortus-ovis อาศัยแกะเป็นโฮสต์ *S.* Choleraesuis อาศัยสุกรเป็นโฮสต์ และ *S.* Enteritidis พบมากในไข่และในสัตว์ปีกที่มีชีวิต เป็นต้น

3) เชื้อซัลโมเนลลาที่ไม่เลือกโฮสต์ เป็นเชื้อซัลโมเนลลานอกเหนือจาก 2 กลุ่มที่กล่าวมาแล้ว สามารถแพร่จากคนและสัตว์เป็นโรค รวมทั้งอาหาร น้ำ ดิน และสิ่งแวดล้อมได้แก่ เชื้อซัลโมเนลลาส่วนใหญ่ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ นับเป็นซัลโมเนลลาที่มีความสำคัญ และจะต้องควบคุมผ่านกิจกรรมการจัดการสุขาภิบาลอาหารที่ดี เพื่อตัดวงจรการแพร่กระจายของโรค เชื้อในกลุ่มนี้เรียกว่า non typhoidal salmonellosis ทำให้เกิดโรคซัลโมเนลโลซิส (Salmonellosis) ซึ่งส่วนใหญ่จะทำให้เกิดอาการทางลำไส้และบางซีโรวาร์เท่านั้นที่บุกรุกเข้ากระแสโลหิตและทำให้เกิดการติดเชื้อในระบบอื่นๆ ซัลโมเนลโลซิสมิใช่โรคติดเชื้อร้ายแรงที่ส่วนใหญ่ต้องรับการรักษาโดยปัจจุบันทันด่วน ผู้ที่ได้รับเชื้ออาจมีอาการไม่มากแต่ก็มีผลกระทบต่อสุขภาพโดยทั่วไปและต่อประสิทธิภาพของการทำงาน ซึ่งมิสามารถคำนวณออกมาเป็นค่าของการสูญเสียที่ชัดเจน สถานการณ์ปัจจุบันในประเทศไทยที่ยังขาดการบริการ ทางห้องปฏิบัติการที่จะช่วยให้สามารถวินิจฉัยโรคซัลโมเนลโลซิส ได้ถูกต้องสวนทางกับการเจริญเติบโตของอุตสาหกรรมผลิตเนื้อสัตว์และอาหารสำเร็จรูปที่เห็นความสำคัญของการควบคุมคุณภาพด้านจุลินทรีย์มากน้อยต่างกัน ตลอดจนการเคลื่อนตัวของประชากรเข้าสู่เมืองใหญ่ๆ และการเกิดธุรกิจการจำหน่ายอาหารที่ไม่ถูกสุขลักษณะซึ่งปรากฏให้เห็นอยู่โดยทั่วไป เหล่านี้เป็นสิ่งที่ควรจะคาดคะเนได้ว่าหากยังไม่สามารถลดการปนเปื้อนของซัลโมเนลลาในเครื่องอุปโภคของคนแล้วการติดเชื้อจากซัลโมเนลลาจะมีแต่การเพิ่มขึ้น

2.4.2 การทำให้เกิดโรค

อังกูร เกิดพาณิช (2549) กล่าวว่าโรคจากเชื้อซัลโมเนลลา มีสาเหตุจากสารพิษ 2 ชนิด ที่สร้างโดยแบคทีเรีย คือ เอนเทอโรทอกซิน (enterotoxin) และไซโตทอกซิน (cytotoxin) โดยที่เอนเทอโรทอกซินจะมีผลต่อ adenylate cyclase system ทำให้ปริมาณ cAMP ในลำไส้เพิ่มขึ้นและชักนำให้เกิดการสะสมของของเหลวภายในเซลล์ของลำไส้ ส่วนไซโตทอกซินจะไปทำลายเซลล์บุผนัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลำไส้ทำให้เชื้ออื่นๆ เข้าทำลายเยื่อบุผนังลำไส้ได้ง่าย ทำให้ลำไส้อักเสบ เยื่อบุผนังลำไส้ถูกทำลายเพิ่มมากขึ้น การได้รับเชื้อซัลโมเนลลา เป็นสาเหตุของการเกิดโรคซัลโมเนลโลซิสซึ่งทำให้เกิดอาการของกลุ่มโรคได้ 3 ลักษณะ คือ

2.4.2.1 ไข้เอนเทอริก (Enteric fever)

ไข้ไทฟอยด์และไข้พาราไทฟอยด์เกิดจากเชื้อ *S.* Typhi และ *S.* Paratyphi A, B และ C ตามลำดับ มีอาการคล้ายกัน แต่อาการไข้พาราไทฟอยด์มีอาการอ่อนกว่าไข้ไทฟอยด์ เชื้อ *S.* Typhi ที่ปนเปื้อนกับอาหารเข้าไปจะผ่านลำไส้เล็กแล้วเข้าสู่กระแสเลือดเกิดอาการโลหิตเป็นพิษและกระจายเข้าสู่อวัยวะต่างๆ เกิดการติดเชื้อทั่วร่างกาย ผู้ป่วยจะมีอาการอ่อนเพลีย ปวดศีรษะ มีอาการไข้สูงหลายวัน ไอ เบื่ออาหาร ท้องผูกหรือท้องเดิน ปวดท้อง ตับและม้ามโต คลื่นไส้ อาเจียน มีเลือดกาเดาไหล เลือดออกเป็นจุดๆ ใต้ผิวหนัง บริเวณหน้าอกและลำตัว เหงื่อออกมาก รู้สึกหนาว ตัวสั่น มึนงง และถ้าอาการรุนแรงจะถ่ายเป็นเลือด หัวใจเต้นช้ากว่าปกติ ปวดกล้ามเนื้อ ไข้จะขึ้นสูงตลอด (39.5-40 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 7-10 วัน แล้วลดลงในสัปดาห์ที่ 3 หรือ 4 ระยะฟักตัวของเชื้อประมาณ 2 สัปดาห์ หรือ 7-28 วันหลังจากได้รับเชื้อ ปริมาณเชื้อที่ได้รับจะต้องมากกว่า 10 เซลล์ต่อกรัม จึงจะทำให้เกิดโรคได้ จากสถิติทั่วโลกในปี พ.ศ. 2543 มีคนเป็นไข้ไทฟอยด์ถึง 21 ล้าน คนและมีคนตายมากถึง 216,500 คน (มากกว่า 100 คนต่อประชากร 100,000 คน) ส่วนพาราไทฟอยด์พบ เพียง 5.4 ล้านคนเท่านั้นในพื้นที่ที่มีโรคนี้เป็นปัญหาอยู่มักพบในเด็กอายุ 5-19 ปี และส่วนใหญ่จะอยู่ในประเทศกำลังพัฒนาและ ระบบสาธารณสุขยังไม่ดีพอ ส่วนในกรณีของประเทศที่ระบบสาธารณสุขดีจะไม่เป็นปัญหา ในประเทศไทยจะพบในช่วงอายุ 1-5 ปี เป็นส่วนใหญ่ในเช่นเดียวกับ บังคลาเทศ เวียดนาม และอินโดนีเซีย

2.4.2.2 กระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบ (Gastroenteritis)

เป็นอาการของโรคที่พบได้บ่อยที่สุด ส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อ nontyphoidal Salmonella หลังจากรับประทานอาหารหรือน้ำดื่มที่มีการปนเปื้อนของเชื้อซัลโมเนลลา เข้าไปจะเริ่มมีอาการให้เห็นได้เร็วที่สุด ประมาณ 6-72 ชั่วโมง อาการเฉพาะที่ เช่น ปวดท้อง บางครั้งอาจจะรุนแรงมาก จนคิดว่าเป็นไส้ติ่งอักเสบได้ นอกจากนี้จะมีอาการท้องเสีย คลื่นไส้ อาเจียน มีไข้ อ่อนเพลีย ปวดศีรษะหรือปวดเมื่อยตามตัว อาการเหล่านี้หายเองได้ภาย ใน 1 สัปดาห์ แม้จะไม่ได้รับยาปฏิชีวนะ ผู้ใหญ่อาการท้องเสีย เป็นอยู่นานไม่เกิน 3 -7 วัน และหายเองได้ ถ้ามีไข้ร่วมด้วยไข้ จะหายไปภายใน 48-72 ชั่วโมง ถ้ามีอาการท้องเสียนานกว่า 10 วันให้ คิดถึงสาเหตุอื่นเพราะไม่น่าจะใช่จากเชื้อซัลโมเนลลา ยกเว้นในรายที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง

2.4.2.3 โลหิตเป็นพิษ (Septicemia)

เชื้อซัลโมเนลลา เช่น *S.* Typhi, *S.* Choleraesuis, *S.* Paratyphi, *S.* Typhimurium, *S.* Dubin, *S.* Enteritidis, *S.* Heidelberg และ *S.* Newport พบว่าเมื่อมีการติดเชื้อเกิดขึ้นแล้วมักจะมีการรุกล้ำเข้าไปในกระแสโลหิต (bacteremia) ทำให้มีไข้อาจมีอาการหนาวสั่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปวดเมื่อยตามตัว เบื่ออาหาร น้ำหนักลด ร่วมด้วยอาการเหล่านี้ อาจเป็นอยู่ได้นานหลายวันหรือหลายสัปดาห์ ส่วนอาการท้องเสียที่เกิดขึ้นนั้น ไม่จำเป็นว่าต้องมีมาก่อนที่จะมีอาการไข้ และในบางครั้งการตรวจเพาะเชื้อจากอุจจาระ อาจจะตรวจไม่พบเชื้อได้ คนปกติทั่วไปที่มีอาการท้องเสียจากเชื้อซัลโมเนลลา สามารถตรวจพบเชื้อในกระแสโลหิตได้ เช่น ในเด็กทารกและคนแก่ แต่ตัวเลขอัตราการเกิดที่แท้จริงในเด็กทารกแรกเกิดอาจจะพบการติดเชื้อในกระแสโลหิตได้สูง ในเด็กบางครั้งอาจจะมีอาการท้องเสีย โดยที่ไม่มีไข้ แต่ตรวจพบว่ามีการติดเชื้อในกระแสโลหิตร่วมด้วย เด็กอาจตรวจพบเชื้ออยู่ในกระแสโลหิตได้นานหลายวัน โดยที่เชื้อไม่รุกล้ำไปยังอวัยวะอื่นซึ่งต่างจากผู้ใหญ่เมื่อมีการติดเชื้อในกระแสโลหิต แล้วมักจะมีการติดเชื้อไปที่อวัยวะ อื่นๆร่วมด้วย และอัตราการตายจะสูงกว่าในเด็กมาก

2.4.3 การปนเปื้อนของซัลโมเนลลาในอาหาร

การปนเปื้อนของเชื้อซัลโมเนลลาในอาหารส่วนใหญ่เกิดจากการควบคุมสุขาภิบาลทั้งในส่วนบุคคลและในระหว่างการผลิตที่ไม่ดี และในปี พ.ศ. 2537-2546 มีการรายงานถึงการพบเชื้อซัลโมเนลลาในผลิตภัณฑ์อาหารชนิดต่างๆ (ตารางที่ 2.3) พบว่าสายพันธุ์ที่พบมากที่สุดในประเทศไทย คือ *S.* Weltevreden, *S.* Entrritidis และ *S.* Anatum จำนวน 12.5, 11.4 และ 7.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากรายงานผลดังกล่าว แสดงให้เห็นว่าที่เชื้อซัลโมเนลลาสามารถมีโอกาสปนเปื้อนในอาหารชนิดต่างๆ เช่น ในอาหารทะเลแช่แข็ง ไก่แช่แข็ง อาหารอื่นๆ และน้ำ (Bangtrakulnonth et al. 2004)

อดิศร เสวตวิวัฒน์ (2533) รายงานการตรวจพบการปนเปื้อนเชื้อซัลโมเนลลาในแหนม 56 ตัวอย่าง พบเชื้อซัลโมเนลลา ทั้งหมด 16 เซโรไทป์ โดยเซโรไทป์ที่พบมากที่สุดได้แก่ *S.* Derby และ *S.* Anatum พบถึง 20.50 และ 14.72 เปอร์เซ็นต์ ของตัวอย่างที่ตรวจ และพบว่า *S.* Anatum เป็นเชื้อที่ทนต่อการถูกทำลายในขณะหมักแหนมได้ดีที่สุด

อดิศร ดวงอ่อนนาม (2554) การศึกษาความชุกและซีโรวาร์ของเชื้อซัลโมเนลลา ในเนื้อโคที่จำหน่าย ข้างถนนในจังหวัดร้อยเอ็ด โดยศึกษาขั้นตอนการตัดแต่งซากในโรงฆ่าสัตว์ จากการขนส่งซาก และจากร้านจำหน่ายข้างถนน เริ่มเก็บตัวอย่างในเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2552 ถึงเดือนเมษายน พ.ศ. 2553 รวมทั้งหมด 360 ตัวอย่าง จากการศึกษาพบความชุกของเชื้อซัลโมเนลลาในเนื้อโคจากขั้นตอนการตัดแต่งซาก 12.5 เปอร์เซ็นต์ (15/120) แยกเป็นจากโรงฆ่าสัตว์ 11.67 เปอร์เซ็นต์ (7/60) สถานที่ฆ่าสัตว์ชั่วคราว 13.33 เปอร์เซ็นต์ (8/60) ในภาชนะขนส่งซาก 6.67 เปอร์เซ็นต์ (8/120)ในเนื้อโคจากร้านจำหน่ายข้างถนน 14.17 เปอร์เซ็นต์ (17/120) ซีโรวาร์ของซัลโมเนลลาที่พบ 14 ซีโรวาร์ พบมากที่สุด *คือ S.* Weltevreden จำนวน 13 ตัวอย่าง 32.5 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ *S.* Hvittingfoss พบ 6 ตัวอย่าง 15 เปอร์เซ็นต์ โดยความชุกของเชื้อซัลโมเนลลาในเนื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โคจำหน่ายข้างถนนที่ผลิตมาจากโรงฆ่าสัตว์กับเนื้อโคที่ผลิตมาจากสถานที่ฆ่าสัตว์ชั่วคราวไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 2.3 สัดส่วน (เปอร์เซ็นต์) ที่พบในประเทศไทยตั้งแต่ปี พ.ศ. 2537-2546

ที่มา	ผู้ป่วย	ไก่แช่แข็ง	อาหารทะเลแช่แข็ง	อาหารอื่นๆ	น้ำ
จำนวน	44087	14559	1007	6928	984
	(100 เปอร์เซ็นต์)	(100 เปอร์เซ็นต์)	(100 เปอร์เซ็นต์)	(100 เปอร์เซ็นต์)	(100 เปอร์เซ็นต์)
S. Weltevreden	12.5	-	26.3	6.6	14.5
S. Entrritidis	11.4	19.9	1.4	4.5	2.2
S. Anatum	7.4	-	2.0	17.0	11.5
S. Derby	6.6	-	2.0	5.3	7.2
S. typhimurium	5.3	-	1.2	2.9	-
S. Rissen	5.3	-	2.1	10.3	9.5
S. Stanley	3.8	-	2.0	-	-
S. Panama	3.3	-	-	3.7	4.8
S. Agona	2.7	3.1	-	3.9	4.0
S. Hardar	-	9.3	2.1	6.3	2.7
S. Virchow	-	5.9	-	3.6	-

ที่มา : Bangtrakulnonth et al. (2004)

2.5 *Pediococcus*

เป็นแบคทีเรียแลคติก แกรมบวก มีรูปกลม เรียงตัวเป็นคู่หรือสี่เซลล์ติดกัน (tetrad) เคยมีการเข้าใจว่า มีการแบ่งระนาบเดียวให้เซลล์เป็นโซ่ยาวแล้วเรียงตัวใหม่เป็นสี่เซลล์ ไม่สามารถเคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์และ ไม่ส้รางแคปซูล โคโลนีมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 1-3 มิลลิเมตร ขอบเรียบ กลม สีไม่แตกต่างกันเป็นพวกที่สามารถเติบโตได้ทั้งบริเวณที่มีออกซิเจน (aerobe) และบริเวณที่มีหรือไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) ทำให้เกิดการหมักน้ำตาลกลูโคสให้กรดแลคติกที่ไม่ให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ เมื่อเลี้ยงในอาหารจะเจริญตาม รอยแทง (stab) และเติบโตบริเวณผิวอาหารเล็กน้อย ในอาหารเหลวเติบโตสม่ำเสมอทั่วหลอด ไม่ทำให้เกิดโรค ในพืชหรือสัตว์ มักพบในอาหารหมัก ไม่ค่อยพบในนม และผลิตภัณฑ์นม (วิลาวัลย์ เจริญจิระตระกูล, 2536)

Pediococcus pentosaceus เซลล์เป็นรูปกลมหรือรีมีขนาด 0.8 -1.0 ไมโครเมตร เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีรูปกลมหรืออยู่เป็นคู่ หรือเรียงตัวเป็นสีเซลล์เนื่องจากมีการแบ่งตัวสองระนาบ ไม่สามารถเคลื่อนที่และไม่สร้างสปอร์ มีการดำรงชีวิต แบบเคโมออร์แกนโนโทรฟ จัดเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบคทีเรียแลคติกที่มีการหมักน้ำตาลแบบฮอมอเฟอร์เมนเททีฟ (homofermentative) เป็นเชื้อที่มีบทบาทในการหมักอาหาร เช่น ผักดอง แหนม เป็นต้น (บุษกร อุตรภิชาติ, 2552)

อดิศร เสวตวิวัฒน์ (2533) ศึกษาการใช้ผลของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก *Pediococcus* spp. รหัส P_{55} และกล้าเชื้อผสมระหว่างรหัส P_{55} และ *Pediococcus* ssp. รหัส L_1 ในการหมัก จะให้ผลในการยับยั้งและทำลายเชื้อซัลโมเนลลาในขณะหมักได้ดีที่สุดและได้พบว่าการหมักแหนมโดยมีการเติมกล้าเชื้อจะได้ผลิตภัณฑ์ที่ปราศจากเชื้อ เมื่อใช้เวลาในการหมัก 5 วัน ขณะที่การหมักโดยธรรมชาติต้องใช้ระยะเวลา 6 วัน เมื่อทำการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสของผู้บริโภค โดยใช้แหนมที่มีแบคทีเรียแลกติกเป็นกล้าเชื้อผสมระหว่างเชื้อรหัส L_1 และเชื้อรหัส P_{55} ผู้บริโภคพอใจมากที่สุด

สุเมธ เพียยุระ (2550) ได้ทำการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่แยกได้จากหม้ำทั้งหมด 8 ตัวอย่าง จำนวน 80 สายพันธุ์ พบว่ามี 14 สายพันธุ์ที่สามารถผลิตสารยับยั้งแบคทีเรียที่ใช้เป็นอินดิเคเตอร์ได้ดีจากนั้นคัดเลือกสายพันธุ์ที่ดีที่สุดมา 5 สายพันธุ์ พบว่า สายพันธุ์ที่มีความสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียอินดิเคเตอร์ได้ดีที่สุด คือ *P. pentosaceus* M13 ที่มีความเข้มข้นของสารแบคเทอริโอซินในการยับยั้งเชื้อ *Lb. plantarum* ATCC 8014 ที่ 409,600 AU/ml และสามารถยับยั้งเชื้ออินดิเคเตอร์ได้ถึง 20 สายพันธุ์

พรพิมล เทียนทอง (2554) ผลของการหมักแหนมในรูปแบบการจำลองการหมักแหนมในหลอดทดลอง (Nham model broth, NMB) มีค่าวอเตอร์แอคติวีตี้ 0.97 เช่นเดียวกับแหนม เพื่อยืนยันผลของกระเทียมไนไตร์ทและกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 พบว่า ในรูปแบบการจำลองการหมักแหนมในหลอดทดลองเมื่อเติมกระเทียม 5 เปอร์เซ็นต์ ไนไตร์ท 100 ppm และกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 ปริมาณเริ่มต้น 1.8×10^6 cfu/ml สามารถลดจำนวนเชื้อ *S.* Anatum ปริมาณเริ่มต้น 2.3×10^4 cfu/ml ได้ดีที่สุด เมื่อเทียบกับรูปแบบการจำลองการหมักแหนมในหลอดทดลองที่มีการเตรียมกระเทียมหรือกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 เพียงอย่างเดียว โดยใช้ระยะเวลา 48 ชั่วโมง

Nassu et al. (2002) ได้ทำการศึกษาไส้กรอกหมักที่มีการใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นที่ต่างชนิดกัน คือ (1) *Staph. xylosus* และ *P. pentosaceus* (2) เชื้อผสมของ *Pediococcus* 2 สายพันธุ์ ในอัตราส่วน 50:50 (3) *Lb. farciminis, Staph. aureus* และ *S. carnosus* ในระหว่างการหมักเพื่อดูความแตกต่างของผลิตภัณฑ์ที่ได้ พบว่าไส้กรอกที่ใช้เชื้อกลุ่มที่ 1 มีค่าความเป็นกรดด่างและค่าวอเตอร์แอคทีวิตี้ลดลงช้ากว่าและมีปริมาณกรดแลคติกน้อยกว่ากลุ่มอื่น เมื่อพิจารณาทางด้านจุลินทรีย์พบว่าเชื้อทั้งสองกลุ่มสามารถลดปริมาณของ *Staph. aureus* ได้ จึงสามารถนำไปใช้เป็นกล้าเชื้อในการทำผลิตภัณฑ์เนื้อหมักได้

Swetwiwathana et al. (2007) ได้รายงานถึงประสิทธิภาพของ pediocin PA-1 ที่ผลิตจาก *P. pentosaceus* TISTR 536 เป็นกล้าเชื้อในการหมักแหนม เพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S.* Anatum

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยแบ่งแหนมออกเป็น 3 กลุ่ม พบว่าการใช้เชื้อที่ผลิต pediocin PA-1 เป็นกล้าเชื้อสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S.* Anatum ได้ดีที่สุด โดยเชื้อที่เติมไป ถ้าเชื้อมีปริมาณน้อย (8-10 cfu/g) สามารถยับยั้งเชื้อได้ในวันที่ 4 ถ้าปริมาณเชื้อมาก (80-100 cfu/g) ใช้เวลา 5 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 วัตถุดิบ

3.1.1 ตัวอย่างหม้ำ เก็บมาจากสถานประกอบการผลิตหม้ำต่างๆ ในจังหวัดชัยภูมิ

3.1.2 เนื้อวัวบดแช่แข็ง (เนื้อโคขุน เกรด A แมคโคร สาขาจรัญสนิทวงศ์ กรุงเทพมหานคร)

3.1.3 ถุงพลาสติก Polypropylene ขนาด 5×8 นิ้ว (นกนางแอ่นคู่ ตรีทศเทพวิจิตร อุตสาหกรรม กรุงเทพมหานคร)

3.1.4 ตับ (ตลาดเทเวศน์ กรุงเทพมหานคร)

3.1.5 ม้าม (ตลาดเทเวศน์ กรุงเทพมหานคร)

3.1.6 ข้าวเหนียว (ตลาดเทเวศน์ กรุงเทพมหานคร)

3.1.7 เกลือ (ปรุงทิพย์ อุตสาหกรรมเกลือบริสุทธิ์ นครราชสีมา)

3.1.8 กระเทียมกลีบเล็ก (มายช้อยส์กระเทียมไทย ตะวันพืชผล สมุทรปราการ)

3.2 เชื้อจุลินทรีย์

3.2.1 เชื้อ *Pediococcus pentosaceus* M13 จากคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.2.2 เชื้อ *Lactobacillus sakei* subsp. *sakei* (JCM 1157^T) จากคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.3 อุปกรณ์และเครื่องมือ

- เครื่องชั่งละเอียด 2 ตำแหน่ง	Sartorius, BP3100S	เยอรมนี
- เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง	Denver, SI-234	เยอรมนี
- เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง	Eutech CyberScan pH 510	สิงคโปร์
- เครื่องวัดการดูดกลืนแสง	Shimudzu, UV – 1601	ญี่ปุ่น
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ	Memmert	เยอรมนี
- เครื่องหมุนเหวี่ยง	ThermoFisher,Legend Mach 1.6 R	เยอรมนี
- เครื่องตีป่นไฟฟ้า	BagMixer, 400 interscience	ฝรั่งเศส
- เครื่องผสมสารละลาย	Scientific Industries, Genie 2	อเมริกา
- ตู้บ่มเพาะเชื้อ	Kendro, Heraeus	เยอรมนี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- หม้อนึ่งความดันไอ	Tomy, ES - 315	ญี่ปุ่น
- ตู้อบลมร้อนแบบไฟฟ้า	Memmert, UM400	เยอรมนี
- ตู้เขี่ยเชื้อ	Boss tech	อเมริกา
- เครื่องวัดวอเตอร์แอคทีวิตี้	Novasina, MSI-Aw	สวิตเซอร์แลนด์
- เครื่องวัดสี	AMT500 Colorimeter	จีน
- เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง	Cyberscan 510	สิงคโปร์
- ไมโครเวฟ	Samsung	เกาหลี
- ไมโครปิเปต	Gilson, Classic	ฝรั่งเศส
- เครื่องแก้วพร้อมอุปกรณ์อื่นๆ ที่จำเป็นเพื่อใช้ในการวิเคราะห์จุลินทรีย์		

3.4 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

- กรดแลคติก	Carlo Erba	อิตาลี
- กลีเซอรอล	Carlo Erba	อิตาลี
- แคลเซียมคาร์บอเนต	Merck	เยอรมนี
- ฟีนอลทาลีน	Carlo Erba	อิตาลี
- ฟอสเฟตบัฟเฟอร์	Merck	เยอรมนี
- โซเดียมคลอไรด์	RCI Labscan	ไทย
- โซเดียมไฮดรอกไซด์	Merck	เยอรมนี
- โซเดียมไนเตรท	Merck	เยอรมนี
- โซเดียมไนไตร์ท	Merck	เยอรมนี
- โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต	Carlo Erba	อิตาลี
- โซเดียมแอสคอร์เบต	Fluka	สวิตเซอร์แลนด์
- น้ำมันพาราฟิน	Metha Group Trading	ไทย
- เอธิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์	องค์การสุรา กรมสรรพสามิต	ไทย
- Agar powder	SP Scientific	ไทย
- Agglutinating antiserum (polyvalent) A-67, AI	S.A.P. Reagent Lab	ไทย
- Antisera O group B, C, D, E	S.A.P. Reagent Lab	ไทย
- Bismuth Sulfier Agar	Difco	อเมริกา
- Beef extract	Difco	อเมริกา
- Desoxycholate hydrogesulfide lactose (DHL) agar	Merck	อเมริกา
- Glucose	SP Scientific	ไทย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Lysine indole motility (LIM)	Difco	อเมริกา
- Nutrient agar (NA)	Merck	เยอรมนี
- Nutrient broth (NB)	Merck	เยอรมนี
- MRS broth	Difco	อเมริกา
- MRS agar	Difco	อเมริกา
- Peptone	Hardy Diagnostics	อเมริกา
- Salmosyst selective tablet (SST)	Merck	เยอรมนี
- Triple sugar iron (TSI) agar slant	Difco	อเมริกา
- Trypticase peptone (Tryptone)	Hardy Diagnostics	อเมริกา
- Trypticase soy agar (TSA)	Difco	อเมริกา
- Trypticase soy broth (TSB)	Difco	อเมริกา
- Xylose lysine desoxycholate (XLD)	Difco	อเมริกา

3.5 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

3.5.1 การคัดแยกและจำแนกเชื้อซัลโมเนลลาที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์หมำ้

3.5.3.1 การเก็บตัวอย่างหมำ้

การเก็บตัวอย่างหมำ้จากสถานประกอบการที่ผลิตหมำ้ในจังหวัดชัยภูมิ จำนวน 50 แหล่งผลิต ทำการเก็บตัวอย่างในช่วงเวลา 8.30 – 16.00 น. น้ำหนักประมาณ 500 กรัม นำมาบรรจุในถุงพลาสติกที่ปิดสนิท รักษาสภาพของตัวอย่างที่อุณหภูมิต่ำ (ประมาณ 10 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 10-12 ชั่วโมง โดยเก็บไว้ในกระติกที่มีน้ำแข็ง รักษาความเย็นตลอดเวลา ก่อนการวิเคราะห์

3.5.3.2 การวิเคราะห์เชื้อซัลโมเนลลาในผลิตภัณฑ์หมำ้

วิเคราะห์หาปริมาณเชื้อซัลโมเนลลาในผลิตภัณฑ์หมำ้ ตามวิธีของ DMSc-ACFS (2003) โดยสุ่มตัวอย่างหมำ้ให้ทั่วทั้งก้อนของผลิตภัณฑ์ (หัว-กลาง-ท้าย) จำนวน 25 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกปลอดเชื้อ ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อลงในอาหารเหลว Tryptic soy broth (TSB) 225 มิลลิลิตร บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ถ่ายเชื้อจาก TSB 10 มิลลิลิตร ลงในหลอดปลอดเชื้อ จากนั้นเติม Salmosyst selective tablet (SST) 1 เม็ด เขย่าจน tablet ละลายจนหมด บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20-24 ชั่วโมง ถ่ายเชื้อจากหลอด SST 1 ลูบลงบนอาหารแข็งเพาะเลี้ยงเชื้อ Xylose lysine dextrose (XLD) agar และอีก 1 ลูป ลงบน Desoxycholate hydrogensulfide lactose (DHL) agar บ่มเพาะเชื้ออาหารแข็งทั้งสองที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20-24 ชั่วโมง สุ่มโคโลนีที่สงสัยว่าเป็นเชื้อซัลโมเนลลาที่พบบนอาหารแข็งทั้งสอง 1-3 โคโลนีต่ออาหารแข็งเพาะเลี้ยงเชื้อเพื่อทำการตรวจสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหาร Triple sugar iron (TSI) slant agar และ Lysine indole motility (LIM) medium บ่มเพาะเชื้ออาหารทั้งสองที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20-24 ชั่วโมง อ่านผลปฏิกิริยาชีวเคมีตามแนะนำของ DMSc-ACFS (2003) ยืนยันผลหลอดเชื้อที่มีคุณสมบัติทางเคมีที่สงสัยว่าเป็นเชื้อซัลโมเนลลาด้วย Salmonella polyvalent O antiserum group A-67 ทำการถ่ายเชื้อจากหลอด TSI slant agar ที่ให้ผลบวกกับ polyvalent O antiserum group ลงในหลอดอาหาร Trypticase soy agar (TSA) บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20-24 ชั่วโมง ส่งวิเคราะห์หาสายพันธุ์เชื้อซัลโมเนลลาที่บริษัท เอส.เอ.พี. แล็บบอราตอรี่

3.5.2 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

3.5.2.1 การเตรียมเชื้อ *Salmonella* Weltevreden

นำเชื้อ *S.* Weltevreden จากหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (NA) โดยนำมาลงใน Trypticase soy broth (TSB) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-20 ชั่วโมง

3.5.2.2 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียแลคติก

การเตรียมเชื้อแบคทีเรียแลคติก ได้แก่ *P. pentosaceus* M13 ตามวิธีการของ (Swetwiwathana et al., 2002)

นำเชื้อแบคทีเรียแลคติกจากหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar + แคลเซียมคาร์บอเนต 1 เปอร์เซ็นต์ (stock culture) เขี่ยเชื้อ *P. pentosaceus* M13 1 ลูป ถ่ายเชื้อลงอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในสภาพไร้ออกซิเจน จากนั้นนำเชื้อ *P. pentosaceus* M13 จากอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth จำนวน 1 ลูป ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ปริมาตร 5 มิลลิลิตร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในสภาพไร้ออกซิเจน เพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อ (inoculum)

3.5.2.3 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียแลคติกทดสอบ *Lb. sakei* subsp. *sakei* (JCM 1157^T)

เขี่ยเชื้อ *Lb. sakei* subsp. *sakei* (JCM 1157^T) จากหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar + แคลเซียมคาร์บอเนต 1 เปอร์เซ็นต์ (stock culture) 1 ลูป ถ่ายเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20-22 ชั่วโมง ในสภาพไร้ออกซิเจน จากนั้นนำเชื้อ *Lb. sakei* subsp. *sakei* (JCM 1157^T) จากอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth จำนวน 1 ลูป ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในสภาพไร้ออกซิเจน เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อใช้เป็นแบคทีเรียทดสอบ

3.5.3 การศึกษาการผลิตแบคเทอริโอซินของเชื้อ *P.pentosaceus* M13

3.5.3.1 ศึกษาการเจริญของเชื้อ *P. pentosaceus* M13 ในอาหาร MRS broth

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำเชื้อ *P. pentosaceus* M13 จากข้อ 3.5.2.2 มา 2 มิลลิลิตร ใส่ลงในอาหาร MRS broth ปริมาตร198 มิลลิลิตร ติดตามการเจริญของเชื้อทุกๆ 4 ชั่วโมง จนครบ 24 ชั่วโมง โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง และ pour plate ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar + แคลเซียมคาร์บอเนต 0.5 เปอร์เซ็นต์ นำไปเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จนครบ 24 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีและรายงานผล

3.5.3.2 ตรวจสอบการผลิตกรดแลคติกของเชื้อ *P. pentosaceus* M13 ในระหว่างการเจริญใน MRS broth

เก็บตัวอย่าง MRS broth ในข้อ 3.5.3.1 ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และจากบ่มเพาะเลี้ยงเชื้อทุกๆ 4 ชั่วโมงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปริมาตร 5 มิลลิลิตรใส่ในฟลาสก์รูปชมพู่ขนาดขนาด 125 มิลลิลิตร หยดฟีนอล์ฟทาลีน 2-3 หยด แล้วทำการไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล จนถึงจุดยุติ ซึ่งให้สีชมพูคงอยู่ประมาณเวลา 30 วินาที บันทึกผลที่ได้

การวิเคราะห์หาปริมาณกรดแลคติก (AOAC, 1984) โดยคำนวณหาปริมาณกรดแลคติกตามสูตร

$$\text{กรดแลคติก (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{N \times V \times 90.01 \times 100}{1000 \times \text{มิลลิลิตรของตัวอย่าง}}$$

เมื่อ N = ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล

V = ปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัลที่ใช้ในการไตเตรท

3.5.3.3 ตรวจสอบการลดลงของค่าความเป็นกรดด่าง ใน MRS broth

เก็บตัวอย่าง MRS broth ในข้อ 3.5.3.1 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร มาวัดค่าความเป็นกรดด่าง ด้วยเครื่องวัดความเป็นกรดด่าง ทุกๆ 4 ชั่วโมง จนครบ 24 ชั่วโมง บันทึกผล

3.5.3.4 ตรวจสอบหาความเข้มข้นของแบคเทอริโอซิน pediocin PA-1

ตรวจสอบหาความเข้มข้นของแบคเทอริโอซิน pediocin PA-1 จากตัวอย่าง MRS broth ในข้อ 3.5.3.1 โดยทดสอบหาความเข้มข้น ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และหลังบ่มเพาะเชื้อ ทุก 4 ชั่วโมง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากแบคทีเรียแลคติกสายพันธุ์ *P. pentosaceus* M13 และใช้แบคทีเรียอินดิเคเตอร์ คือ *Lb. sakei* โดยทำการทดสอบดังนี้

1) การเตรียมแบคเทอริโอซิน pediocin PA-1 (Parente et al.,1995)

ทำการเลี้ยงเชื้อ *P. pentosaceus* M13 จากหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar + แคลเซียมคาร์บอเนต 1 เปอร์เซ็นต์ โดยเขี่ยเชื้อ *P. pentosaceus* M13 1 ลูป ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากนั้นนำของเหลวในหลอดทดลองซึ่งมีสารแบคเทอริโอซิน มาปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่ความเร็วรอบ 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ดูดส่วนใส (supernatant) ของอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วทำให้ปลอดเชื้อโดยการกรองผ่านแผ่นกรองปลอดเชื้อ ขนาด 0.2 ไมโครเมตร แล้วจึงนำแบคเทอริโอซิน pediocin PA-1 ที่เตรียมได้ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ มาเติมลงในแบบจำลองหมู่ ติดตามผลโดยนำแบคเทอริโอซิน pediocin PA-1 ที่เตรียมไว้มาทำการทดสอบหาความเข้มข้นของแบคเทอริโอซิน pediocin PA-1

2) การทดสอบหาความเข้มข้นของแบคเทอริโอซิน pediocin PA-1

เลี้ยงเชื้อ *Lb. sakei* subsp. *sakei* (JCM 1157^{T}) จากหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar + แคลเซียมคาร์บอเนต 1 เปอร์เซ็นต์ (stock culture) โดยเขี่ยเชื้อ 1 ลูป ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20-22 ชั่วโมงในสภาพไร้ออกซิเจน ถ่ายเชื้อปริมาตร 10 ไมโครลิตร (0.01 มิลลิลิตร) ใส่ลงใน MRS soft agar ที่มีปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้วนำมาเทลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (NA)

นำสารแบคเทอริโอซินที่ได้จากข้อ 1) มาทำการเจือจางแบคเทอริโอซิน โดยเริ่มต้นแบบ 2 fold titer dilution ในอัตราส่วน 1:0, 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64 และ 1:128 ด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นหยดสารละลายแบคเทอริโอซินที่เตรียมได้ปริมาตร 10 ไมโครลิตรลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้ทำการแบ่งช่องไว้ โดยไล่ตามลำดับการเจือจางความเข้มข้นจากมากไปหาน้อย แล้วทำการเพาะเชื้อในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน โดยใช้ candle jar ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อวิเคราะห์หาความเข้มข้นที่แน่นอนของแบคเทอริโอซิน pediocin PA-1 ติดตามผลการเกิดโซนใสรอบโคโลนี (clear zone) แล้ว นำค่าความเข้มข้นสุดท้ายที่เกิดโซนใสรอบโคโลนี (clear zone) มาคำนวณหาค่ากิจกรรมของแบคเทอริโอซิน (AU/ml) (Parente et al.,1995)

คำนวณค่ากิจกรรมของแบคเทอริโอซินได้จากสมการ

ค่ากิจกรรมของแบคเทอริโอซิน = (1000/10)D

เมื่อ D = ค่าความเจือจางสูงสุดของอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่เป็นส่วนใส

3.5.4 การศึกษาผลของการผลิตกรดและแบคเทอริโอซิน pediocin PA-1 ที่มีผลต่อ *S.* Weltevreden ที่แยกได้จากหมู่ในแบบจำลองการหมัก

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแบบจำลองการหมัก ตามสูตรที่แสดงในตารางที่ 3.1 ปริมาณ 200 มิลลิลิตร ในขวดทนความร้อนฝาเกลียว นำไปปรับค่าความเป็นกรดด้วยกรดแลคติกความเข้มข้น 90 เปอร์เซ็นต์ ให้ได้ค่าความเป็นกรดด่าง เป็น 4.5, 5.0 และ 5.5 และฆ่าเชื้อด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 รูปแบบการจำลองการหมักหม้ำ (MUM Model Broth, MUM) ต่อ 1 ลิตร

วัตถุดิบ	ปริมาณ	
Beef extract	10	กรัม
Tryptone	10	กรัม
Ascorbic acid	0.5	กรัม
Glucose	10	กรัม
Sodium tripolyphosphate	3	กรัม
NaCl	25	กรัม
Sodium Nitrite	0.1	กรัม
Glycerol	40	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

แบ่งกลุ่มการศึกษารูปแบบจำลองการหมักหม้ำเป็น 6 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 รูปแบบจำลองการหมักหม้ำ ความเป็นกรดด่าง = 4.5 + *S.* Weltevreden (เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^4 cfu/ml) + *P. pentosaceus* M13 (เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^7 cfu/ml)

กลุ่มที่ 2 รูปแบบจำลองการหมักหม้ำ ความเป็นกรดด่าง = 4.5 + *S.* Weltevreden (เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^4 cfu/ml)

กลุ่มที่ 3 รูปแบบจำลองการหมักหม้ำ ความเป็นกรดด่าง = 5.0 + *S.* Weltevreden (เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^4 cfu/ml) + *P. pentosaceus* M13 (เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^7 cfu/ml)

กลุ่มที่ 4 รูปแบบจำลองการหมักหม้ำ ความเป็นกรดด่าง = 5.0 + *S.* Weltevreden (เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^4 cfu/ml)

กลุ่มที่ 5 รูปแบบจำลองการหมักหม้ำ ความเป็นกรดด่าง = 5.5 + *S.* Weltevreden (เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^4 cfu/ml) + *P. pentosaceus* M13 (เชื้อเริ่มต้น ประมาณ 10^7 cfu/ml)

กลุ่มที่ 6 รูปแบบจำลองการหมักหม้ำ ความเป็นกรดด่าง = 5.5 + *S.* Weltevreden (เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^4 cfu/ml)

นำแบบจำลองการหมักหม้ำทั้ง 6 กลุ่ม มาศึกษาค่าต่างๆ ดังนี้

1) ตรวจนับเชื้อ *S.* Weltevreden โดยทำการตรวจนับเชื้อด้วยวิธี pour plate ทุกๆ 6 ชั่วโมง เป็นเวลา 30 ชั่วโมง ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA และ XLD แล้วบ่มในตู้บ่มเชื้อจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการนับเชื้อหลังจากบ่มจนครบเวลาและคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของเชื้อซัลโมเนลลา (Swetwiwathana et al., 2007)

การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของเชื้อซัลโมเนลลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การบาดเจ็บของเชื้อ (เปอร์เซ็นต์)

$$= \frac{\text{จำนวนโคโลนีบนอาหาร TSA} - \text{จำนวนโคโลนีบนอาหาร XLD}}{\text{จำนวนโคโลนีของเชื้อที่ขึ้นบนอาหาร TSA}} \times 100$$

2) วัดค่าความเป็นกรดด่าง โดยเก็บตัวอย่างปริมาตร 5 มิลลิลิตรใส่ในฟลาสก์รูปชมพู่ขนาดขนาด 125 มิลลิลิตร (ภาคผนวก ข)

3) วิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก โดยการไตเตรทกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล (ภาคผนวก ข)

4) ทดสอบความเข้มข้นของแบคเทอริโอซิน โดยการเก็บตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อ ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ทุกๆ 6 ชั่วโมง ใส่ในหลอด (eppendorf) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จำนวน 2 หลอด หลอดละ 1 มิลลิลิตร นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -4 องศาเซลเซียส แล้วทดสอบความเข้มข้นแบคเทอริโอซิน (ภาคผนวก ค)

3.5.5 การศึกษาการใช้แบคทีเรียแลคติกที่ผลิตแบคเทริโอซิน pediocin PA-1 ในการยับยั้งเชื้อ *S.* Weltevreden ในผลิตภัณฑ์หม้ำ

ทำการผลิตหม้ำ ตามสูตรในตารางที่ 3.2 โดยเตรียมส่วนผสมหม้ำบรรจุถุงขนาดถุงละ 25 กรัม มัดเป็นตุ้ม รัดยางให้แน่น แบ่งกลุ่มตัวอย่างที่จะทดลองตามรายละเอียดกลุ่มต่างๆ ดังนี้

ตารางที่ 3.2 ส่วนผสมของหม้ำจากกลุ่มวิสาหกิจชุมชนช่อระกาการพัฒนาอาชีพ จังหวัดชัยภูมิ

วัตถุดิบ	ปริมาณ	
เนื้อวัวสันนอก	900	กรัม
ตับ	50	กรัม
ม้าม	50	กรัม
เกลือ	15	กรัม
ข้าวเหนียว	20	กรัม
กระเทียมกลีบเล็ก	100	กรัม
โซเดียมไนไตร์ท	0.1	กรัม

กลุ่มที่ 1 หม้ำชุดควบคุม (control)

กลุ่มที่ 2 หม้ำ + *S.* Weltevreden เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^3 cfu/g

กลุ่มที่ 3 หม้ำ + *P. pentosaceus* M13 เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^6 cfu/g

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลุ่มที่ 4 หม้ำ + *S.* Weltevreden เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^3 cfu/g + *P. pentosaceus* M13 เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^6 cfu/g

ทำการเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน โดยเก็บตัวอย่างหม้ำทุกวัน

3.5.5.1 การวิเคราะห์สมบัติด้านเคมีของหม้ำ ดังนี้

1) การวิเคราะห์ค่าวอเตอร์แอคทีวิตี้ (water activity, Aw) ทำการตรวจวัดค่าโดยใช้วิธีการตามคู่มือการใช้งานของเครื่อง Water Activity (Novasina รุ่น MS1-Aw Switzerland) (ภาคผนวก ข)

2) วิเคราะห์ค่าความเป็นกรดด่าง (ภาคผนวก ข)

3) วัดค่าสี ทำการตรวจวัดค่าโดยใช้วิธีการตามคู่มือการใช้งานของเครื่องวัดสี AMT500 Colorimeter (ภาคผนวก ข)

4) วิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก โดยการไตเตรทกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล (ภาคผนวก ข)

3.5.5.2 การตรวจหาเชื้อจุลินทรีย์ ดังนี้

1) วิเคราะห์ปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติก (ภาคผนวก ค)

2) วิเคราะห์ปริมาณเชื้อ Total Plate Count (TPC) (ภาคผนวก ค)

3) วิเคราะห์ปริมาณเชื้อซัลโมเนลลา (ภาคผนวก ค)

4) วิเคราะห์ปริมาณเชื้อ *E. coli* (ภาคผนวก ค)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติสำหรับการประเมินผลทางการวัดค่าสีและค่าวอเตอร์แอคทีวิตี้ โดยวิธี t-test เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่าง ตัวอย่างหม้ำชุดควบคุม (control) และตัวอย่างหม้ำใส่กล้าเชื้อ *P. pentosaceus* M13 เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^6 cfu/ml ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ โดยมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัย

4.1 เชื้อซัลโมเนลลาที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์หมำ้

ผลการคัดแยกและจำแนกเชื้อซัลโมเนลลาในผลิตภัณฑ์หมำ้ที่ผลิตจากจังหวัดชัยภูมิ โดยสุ่มแหล่งผลิตทั้ง 50 แหล่ง พบว่ามีการปนเปื้อนเชื้อซัลโมเนลลา 15 แหล่ง ซึ่งมีซีโรวาร์ที่ได้รับการยืนยันจาก บริษัท เอส.เอ.พี แล็บบอราตอรี่ ได้แก่ *S.* Rissen, *S.* Agona, *S.* Weltevreden, *S.* Give, *S.* Anatum, *S.* Hvittingfoss, *S.* Stanley, *S.* Aberdeeen, *S.* Kedougou, *S.* Bovismorbificans และ *S.* Typhimurium ดังตารางที่ 4.1 ซึ่งบางแหล่งผลิตพบมากถึง 4 ซีโรวาร์ โดยซีโรวาร์ที่พบมากที่สุด คือ *S.* Weltevreden พบถึง 5 แหล่งผลิต รองลงมา 3 ลำดับแรก ได้แก่ *S.* Rissen, *S.* Stanley และ *S.* Anatum ผลิตภัณฑ์หมำ้เป็นผลิตภัณฑ์ที่ไม่ผ่านความร้อน ซึ่งประกอบไปด้วยวัตถุดิบหลักเป็นเนื้อ ทำให้มีโอกาสและความเสี่ยงสูงในการเกิดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ที่มาจากวัตถุดิบที่เป็นเนื้อวัว สอดคล้องกับงานวิจัยของ อดิศร ดวงอ่อนนาม และคมกริช พิมพ์ภักดี (2554) ได้ทำการการศึกษาความชุกและซีโรวาร์ของเชื้อซัลโมเนลลาในเนื้อโคที่จำหน่ายข้างถนนในจังหวัดร้อยเอ็ด พบการปนเปื้อนของเชื้อในขั้นตอนการตัดแต่งซาก (15/120 ตัวอย่าง) 12.5 เปอร์เซ็นต์ และในเนื้อโคจากร้านที่จำหน่ายข้างถนน (17/120 ตัวอย่าง) 14.17 เปอร์เซ็นต์ และยังพบซีโรวาร์ของเชื้อซัลโมเนลลา 14 ซีโรวาร์ พบมากที่สุด คือ *S.* Weltevreden รองลงมาคือ *S.* Hvittingfoss อีกทั้งยังกล่าวอีกว่าการเลือกซื้อเนื้อโคที่มีกระบวนการฆ่าที่ไม่สะอาด อาจทำให้เกิดโอกาสเสี่ยงในการปนเปื้อนได้ เช่นเดียวกับกับงานวิจัยของ สรรเพชญ อังกิติตระกูล และคณะ (2554) ได้ทำการศึกษาพบว่าซีโรวาร์ของเชื้อซัลโมเนลลาที่พบในเนื้อวัวจากตลาดสดคือ *S.* Rissen, *S.* Anatum, *S.* Weltevreden และ *S.* Hvittingfoss ส่วนตัวอย่างจากเขียงพบซีโรวาร์ *S.* Rissen, *S.* Anatum, *S.* Lexington, *S.* Weltevreden, *S.* Kedougou และ *S.* Hvittingfoss และงานวิจัยของ อรุณ บ่างตระกูลนนท์ และคณะ (2542) ได้ทำการศึกษาการสำรวจหาเชื้อเชื้อซัลโมเนลลาในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ชนิดต่างๆ ที่จำหน่ายในตลาดสดและซุปเปอร์มาร์เก็ต พบว่ามีการปนเปื้อนเชื้อซัลโมเนลลาในลูกชิ้นเนื้อ 54.56 เปอร์เซ็นต์ และยังพบว่าไม่มีความแตกต่างของการปนเปื้อนเชื้อในผลิตภัณฑ์เนื้อระหว่างตลาดสดและซุปเปอร์มาร์เก็ต และงานวิจัย เชิดชัย อริยานุชิตกุล และคณะ (2553) ได้ทำการทดลองเพื่อสำรวจความชุกของเชื้อซัลโมเนลลาผลการทดลองพบว่ามีการปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์หมำ้วัวเป็น 51.2 เปอร์เซ็นต์ (22/43 ตัวอย่าง) โดยพบว่ามีซีโรวาร์ ได้แก่ *S.* Anatum, *S.* Rissen, *S.* Derby,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 ผลการวิเคราะห์เชื้อซัลโมเนลลาของแหล่งผลิตหมู่ในจังหวัดชัยภูมิ

แหล่งผลิตที่	การตรวจสอบ	ผลการส่งตรวจเพื่อยืนยัน	
		สายพันธุ์	กลุ่ม
15	Group E	*Salmonella* Weltevreden	Group E
23	Group C	*Salmonella* Rissen	Group C
24	Group C	*Salmonella* Rissen	Group C
27	Group B	*Salmonella* Agona	Group B
29	Group E	*Salmonella* Weltevreden	Group E
	Group I	*Salmonella* Hvittingfoss	Group I
32	Group E	*Salmonella* Give	Group E
33	Group B	*Salmonella* Stanley	Group B
	Group E	*Salmonella* Weltevreden	Group E
	Group B	*Salmonella* Typhimurium	Group B
	Group B	*Salmonella* I 4,5,12 : -	Group B
36	Group E	*Salmonella* Anatum	Group E
	Group B	*Salmonella* Stanley	Group B
37	Group E	*Salmonella* Weltevreden	Group E
40	Group B	*Salmonella* Stanley	Group B
42	Group I	*Salmonella* Hvittingfoss	Group I
45	Group E	*Salmonella* Weltevreden	Group E
	Group G	*Salmonella* Kedougou	Group G
47	Group E	*Salmonella* Anatum	Group E
48	Group C	*Salmonella* Bovismorbificans	Group C
50	Group F	*Salmonella* Aberdeeen	Group F

S. Brunei และ *S.* Panama และยังได้กล่าวเพิ่มเติมว่าปัจจัยที่สำคัญในการปนเปื้อนของเชื้อซัลโมลเนลลาในการผลิตหมู่ ได้แก่ วัตถุดิบโดยเฉพาะเนื้อสัตว์และกระบวนการผลิต ดังนั้นการคัดเลือกวัตถุดิบต่าง ๆ ที่จะนำมาใช้ในการผลิตหมู่ จะส่งผลต่อผลิตภัณฑ์ ผู้ผลิตหมู่จึงควรเลือกวัตถุดิบที่จะนำมาใช้ให้เหมาะสม เช่น การเลือกใช้วัตถุดิบเนื้อสัตว์ ควรเลือกเนื้อสัตว์ที่มาจากฟาร์มและโรงฆ่าที่ได้มาตรฐาน ซึ่งจะปลอดภัยหรือมีปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่น้อยเมื่อเทียบกับฟาร์มหรือโรงฆ่าที่ไม่ได้มาตรฐาน การขนส่งผลิตภัณฑ์ของวัตถุดิบไม่ว่าจะเป็นส่วนของเนื้อสัตว์หรือวัตถุดิบอื่นๆ ต้องมีความระมัดระวังต่อการปนเปื้อนหรือการเพิ่มจำนวนของปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ เนื่องจากสภาวะการขนส่งไม่เหมาะสมในเรื่องของอุณหภูมิ วิธีการบรรจุ และระยะเวลาที่ใช้ในการขนส่งอาจทำให้ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เพิ่มจำนวนในระหว่างการขนส่ง ส่งผลให้วัตถุดิบเมื่อถึงผู้ผลิตมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

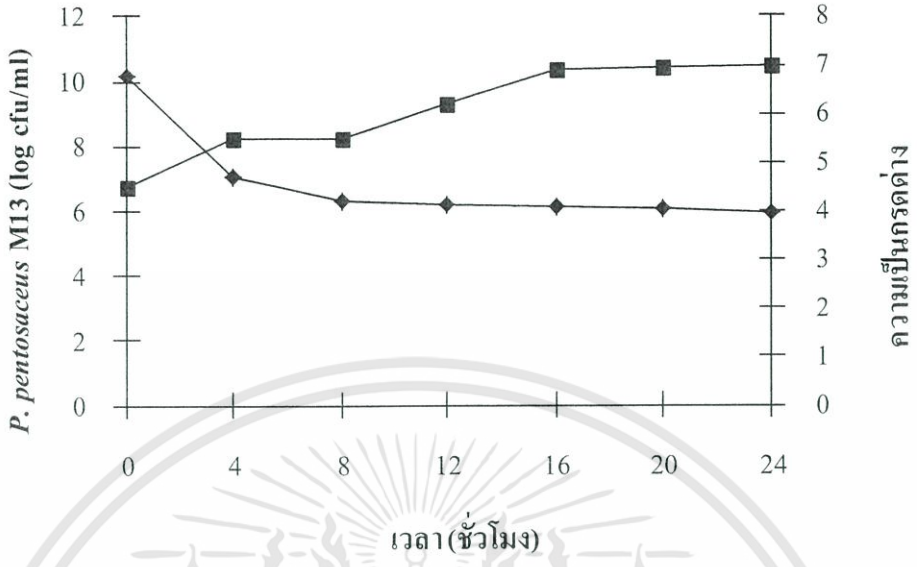
เชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นในปริมาณสูง การเก็บวัตถุดิบภายหลังจากที่เข้ามาถึงสถานที่ผลิตจะต้องควบคุมความสะอาด และการควบคุมอุณหภูมิของตู้เย็นให้อุณหภูมิเหมาะสม รวมถึงสุขลักษณะส่วนบุคคลที่ดีในระหว่างการปฏิบัติงาน ควรปฏิบัติให้ถูกต้องเหมาะสม เพื่อให้ลดระยะเวลาในกระบวนการผลิต ทำให้ผลิตภัณฑ์มีความปลอดภัย และลดความเสี่ยงต่อผู้บริโภค

4.2 ผลการเจริญการผลิตกรดแลคติกและแบคเทอริโอซินของเชื้อ *P. pentosaceus* M13 ใน MRS broth ระหว่างการบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

4.2.1 ผลการเจริญและการผลิตกรดแลคติกที่ได้ของเชื้อ *P. pentosaceus* M13 ต่อการลดลงของค่าความเป็นกรดด่าง

ผลการศึกษาการเจริญของเชื้อ *P. pentosaceus* M13 ในอาหาร MRS broth โดยศึกษาการเจริญของเชื้อทุก 4 ชั่วโมง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ด้วยวิธีการ pour plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar + แคลเซียมคาร์บอเนต 0.5 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 4.1) วัดค่าความเป็นกรดด่าง ค่าความยาวคลื่น (OD) 600 นาโนเมตร วัดเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก (ภาพที่ 4.2) และทดสอบความเข้มข้นของแบคเทอริโอซิน pediocin PA-1 (ตารางที่ 4.2 และภาพที่ 4.3) จากภาพที่ 4.1 แสดงการเจริญของเชื้อ *P. pentosaceus* M13 โดยดูการเจริญของเชื้อทุก 4 ชั่วโมง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะเห็นได้ว่าปริมาณเชื้อ *P. pentosaceus* M13 ในอาหาร MRS broth บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เชื้อจะเจริญอย่างรวดเร็วในช่วง 4 ชั่วโมง ได้มากถึง 6.72 log cfu/ml เชื้อจะค่อย ๆ เจริญอย่างช้า ๆ จนกระทั่งมากถึง 10.48 log cfu/ml ในเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งค่าการเจริญของเชื้อ สัมพันธ์กับค่า OD (ภาพที่ 4.2) โดยเพิ่มขึ้นจาก 0.349 นาโนเมตร เมื่อเวลา 0 ชั่วโมง จนถึง เมื่อเวลา 24 ชั่วโมง ค่าที่ได้เพิ่มขึ้นเป็น 3.122 นาโนเมตร และจากการเจริญของเชื้อมีผลทำให้เชื้อผลิตกรดมากขึ้น (ภาพที่ 4.2) ในชั่วโมงที่ 0 ที่เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก 0.35 จนถึงเมื่อเวลา 24 ชั่วโมง ค่าเปอร์เซ็นต์กรดที่ได้เพิ่มขึ้นถึง 1.78 ซึ่งการผลิตกรดที่มากขึ้นนี้ ส่งผลให้ค่าความเป็นกรดด่างของ MRS broth ค่อย ๆ ลดลงจาก 6.77 ในชั่วโมงที่ 0 จนถึง 3.98 ในชั่วโมงที่ 24 (ภาพที่ 4.1) โดยที่การสร้างกรดของเชื้อในกลุ่มแบคทีเรียแลคติกนั้น มีผลมาจากเชื้อจะเปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตไปเป็นน้ำตาลและสร้างกรดแลคติก กรดอะซิติก อะซิโตอิน กรดไพรูวิก เอทธานอล และคาร์บอนไดออกไซด์ ในสภาวะที่เหมาะสม จุลินทรีย์ส่งผลให้ค่าความเป็นกรดด่างในอาหารค่อย ๆ ลดลง (Visessanguan et al., 2006)

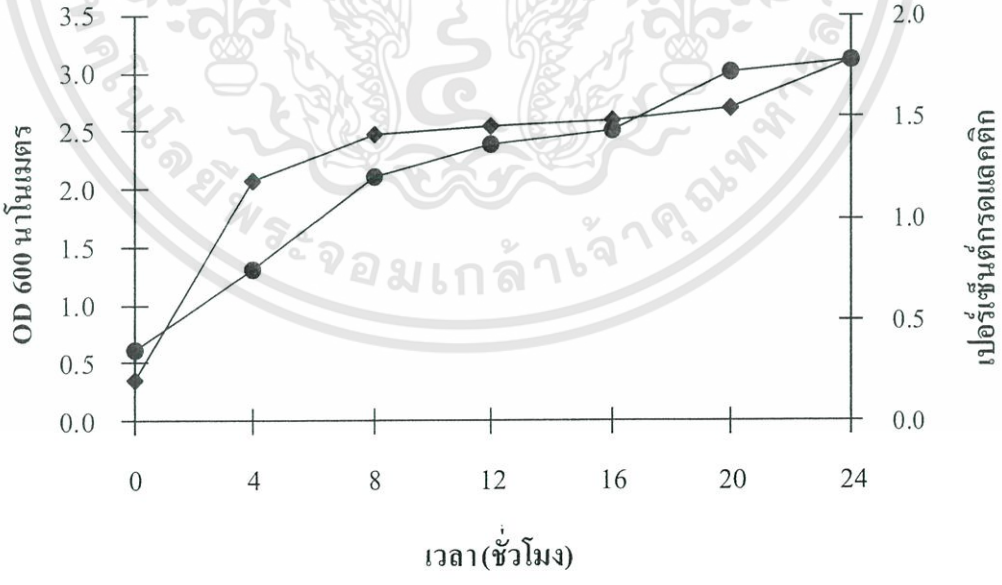
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.1 การเจริญของเชื้อ *P. pentosaceus* M13 ในอาหาร MRS broth

■ = การเจริญของเชื้อ *P. pentosaceus* M13 (log cfu/ml)

◆ = ค่าความเป็นกรดด่างของอาหาร MRS broth ที่เพาะเลี้ยงเชื้อ *P. pentosaceus* M13



ภาพที่ 4.2 การวัดค่าเจริญของเชื้อ *P. pentosaceus* M13 ในอาหาร MRS broth

◆ = ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร

● = เปอร์เซ็นต์กรดแลคติกของเชื้อ *P. pentosaceus* M13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 การทดสอบหาความเข้มข้นของแบคเทอริโอซิน pediocin PA-1

จากการตรวจสอบหาความเข้มข้นของแบคเทอริโอซิน pediocin PA-1 โดยทดสอบหาความเข้มข้นทุก 4 ชั่วโมง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากแบคทีเรียแลคติก *P. pentosaceus* M13 และใช้แบคทีเรียอินดิเคเตอร์ คือ *Lb. sakei* พบว่า แบคเทอริโอซินมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Lb. sakei* ได้ ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 4 โดยเชื้อจะผลิตแบคเทอริโอซินได้ 400 AU/ml และผลิตได้สูงสุดในชั่วโมงที่ 12 คือผลิตได้สูงถึง 12,800 AU/ml และคงผลิตได้ในปริมาณดังกล่าวได้นานถึงชั่วโมงที่ 24 ของการศึกษา (ตารางที่ 4.2 และ ภาพที่ 4.3) สรุปได้ว่าแบคเทอริโอซินที่ผลิตได้จาก *P. pentosaceus* M13 สามารถผลิตแบคเทอริโอซินได้ดีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการหมักอาหารหมักประเภทเนื้อของไทยหลายชนิด โดยเฉพาะหม้ำ ผลการทดลองนี้พิสูจน์ได้ว่า เชื้อดังกล่าวสามารถนำไปใช้ผลิตเป็นกล้าเชื้อในการผลิตหม้ำได้

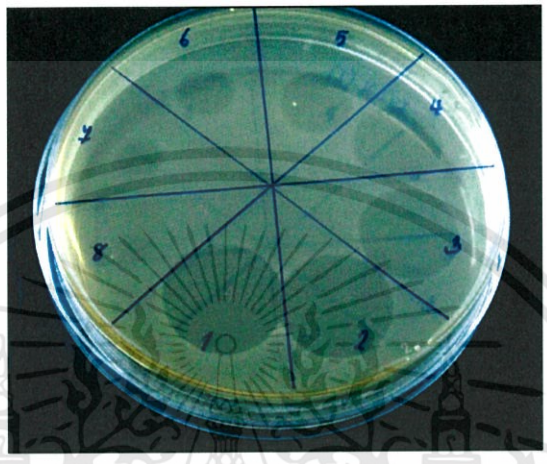
ตารางที่ 4.2 การเจริญของเชื้อแบคเทอริโอซินจากเชื้อ *P. pentosaceus* M13 ในอาหาร MRS ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (โดยทดสอบหาความเข้มข้นทุก 4 ชั่วโมง)

เวลา (ชั่วโมง)	แบคเทอริโอซิน แอคติวิตี้ (AU/ml)
0	-
4	400
8	800
12	12,800
16	12,800
20	12,800
24	12,800

บทบาทของแบคทีเรียแลคติก สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ทำให้ผลิตภัณฑ์มีความปลอดภัยสูง และสามารถเร่งให้กระบวนการหมักเกิดขึ้นได้เร็วขึ้น โดยปัจจัยหลักที่เกี่ยวข้องกับการยับยั้ง คือ การสร้างกรด และการลดลงของค่าความเป็นกรดด่าง นอกจากนั้นยังมีสารประกอบอื่นๆ ที่เกิดขึ้น และมีการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ เช่น แบคเทอริโอซิน จากการทดลองพบว่าแบคทีเรียแลคติกสายพันธุ์ *P. pentosaceus* M13 สามารถเจริญใน MRS broth ได้ดี โดยสร้างกรดเพิ่มขึ้นจาก 0.35 เปอร์เซ็นต์ ในชั่วโมงที่ 0 เพิ่มขึ้นเป็น 1.78 เปอร์เซ็นต์ ในชั่วโมงที่ 24 และส่งผลให้ค่าความเป็นกรดด่างของ MRS broth ลดลงอย่างรวดเร็ว จาก 6.77 ในชั่วโมงที่ 0 ลดลงถึงความเป็นกรดด่าง 3.98 ในชั่วโมงที่ 24 สำหรับการผลิตแบคเทอริโอซินนั้น พบว่า เชื้อดังกล่าวสามารถผลิตแบคเทอริโอซินยับยั้ง *Lb. sakei* subsp. *sakei*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

JCM 1157 ได้ โดยในชั่วโมงที่ 4 เชื้อพบสารแบคเทอริโอซินใน MRS broth 400 AU/ml และผลิตได้สูงสุดที่ 12,800 AU/ml เมื่อเพาะเชื้อนาน 24 ชั่วโมง จากการศึกษาในครั้งนี้สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาผลของการผลิตแบคเทอริโอซินจากเชื้อดังกล่าวที่เหมาะสมต่ออาหารหมักของประเทศไทย เช่น ไส้กรอกเปรี้ยว หม้า ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 4.3 ระดับความเข้มข้นของสารแบคเทอริโอซินของเชื้อ *P. pentosaceus* M13 ในการยับยั้งเชื้อ *Lb. sakei* ในชั่วโมงที่ 24 ที่ความเข้มข้น 12,800 AU/ml

4.3 ผลของกรดแลกติคร่วมกับแบคเทอริโอซินที่ผลิตได้จาก *P. pentosaceus* M13 มีผลต่อ *S.* Weltevreden ในรูปแบบจำลองหม้า (Mum Model Broth, MMB)

นำเชื้อซัลโมเนลลาซีโรวาร์ที่พบมากที่สุดในหม้า คือ *S.* Weltevreden จากข้อ 4.1 มาศึกษาผลของกรดแลกติคร่วมกับแบคเทอริโอซินที่ผลิตได้จาก *P. pentosaceus* M13 ต่อการยับยั้งเชื้อในรูปแบบจำลองหม้า จากการทดลองการยับยั้งเชื้อ *S.* Weltevreden เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^4cfu/ml แบคเทอริโอซินที่ผลิตได้จากกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* M13 เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^7cfu/ml ในรูปแบบจำลองหม้า โดยปรับค่าความเป็นกรดด่าง ของรูปแบบจำลองหม้าด้วยกรดแลคติก 90 เปอร์เซ็นต์ โดยปรับสภาวะให้ค่าความเป็นกรดด่างเป็น 4.5, 5.0 และ 5.5 แบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* M13 และ กลุ่มที่ไม่เติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* M13 ทำการเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส แล้ววัดค่าความเป็นกรดด่าง เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก ทดสอบแบคเทอริโอซิน และตรวจนับเชื้อ *S.* Weltevreden ด้วยวิธี pour plate ทุกๆ 6 ชั่วโมง เป็นเวลา 30 ชั่วโมง ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA และ XLD แล้วเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการนับเชื้อและคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของเชื้อซัลโมเนลลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1 ผลการเหลือรอดชีวิตของเชื้อ *S.* Weltevreden ในรูปแบบจำลองหม้ำ

จากตารางที่ 4.3 พบว่าการเติมสารละลายกรดแลคติก 90 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* M13 ที่ผลิตแบคเทอริโอซิน ในรูปแบบจำลองหม้ำ ทำให้เชื้อ *S.* Weltevreden มีเปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บมากกว่าเติมสารละลายกรดแลคติก 90 เปอร์เซ็นต์อย่างเดียว สำหรับรูปแบบจำลองหม้ำที่เติมกล้าเชื้อ พบว่า ที่ความเป็นกรดด่าง 4.5 ที่เติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* M13 มีเปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บมากที่สุด เนื่องจากแบคเทอริโอซินที่ผลิตได้จากกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* M13 ออกฤทธิ์ ทำให้เกิดรูที่เยื่อหุ้มเซลล์ (อรอนงค์ พริ้งศุลกะ, 2550) จึงเป็นการรบกวนสมดุล ทำให้เกิดการรั่วไหลของไอออนจากนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์ได้ง่ายกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่เติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* M13 ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6 เปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของเชื้อ *S.* Weltevreden 99.95 เปอร์เซ็นต์ จนถึงชั่วโมงที่ 30 เปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของเชื้อ 99.96 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมากกว่าความเป็นกรดด่าง 4.5 ที่ไม่กล้าเชื้อ *P. pentosaceus* M13 ชั่วโมงที่ 6 เปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของเชื้อ *S.* Weltevreden 82.26 เปอร์เซ็นต์ จนถึงชั่วโมงที่ 30 เปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของเชื้อ 97.73 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเป็นกรดด่าง 5.0 ที่เติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* M13 มีเปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บมากที่สุด ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6 เปอร์เซ็นต์ การบาดเจ็บของเชื้อ *S.* Weltevreden 99.93 เปอร์เซ็นต์ จนถึงชั่วโมงที่ 30 เปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของเชื้อ 37.10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมากกว่าความเป็นกรดด่าง 5.0 ที่ไม่เติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* M13 ชั่วโมงที่ 6 เปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของเชื้อ *S.* Weltevreden 77.61 เปอร์เซ็นต์ จนถึงชั่วโมงที่ 30 เปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของเชื้อ 56.35 เปอร์เซ็นต์ จะเห็นได้ว่าเปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของเชื้อที่เติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* M13 ที่ความเป็นกรดด่าง 5.0 และความเป็นกรดด่าง 5.5 มีเปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บมากที่สุด ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6 เปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของเชื้อ *S.* Weltevreden 99.77 เปอร์เซ็นต์ จนถึงชั่วโมงที่ 24 เปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของเชื้อ 35.90 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งในชั่วโมงที่ 30 พบว่าเชื้อ *S.* Weltevreden สามารถเจริญได้ ส่วนความเป็นกรดด่างที่ 5.5 ที่ไม่เติมที่เติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* M13 ชั่วโมงที่ 6 เปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของเชื้อ *S.* Weltevreden 56.35 เปอร์เซ็นต์ จนถึงชั่วโมงที่ 12 เปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของเชื้อลดลงเป็น 30.02 เปอร์เซ็นต์ ในชั่วโมงที่ 18-30 ที่ไม่เติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* M13 พบว่าเชื้อ *S.* Weltevreden สามารถเจริญได้ดี แต่เมื่อเติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* M13 เชื้อดังกล่าวมีเปอร์เซ็นต์บาดเจ็บจนถึงชั่วโมงที่ 24 พอครบชั่วโมงที่ 30 ไม่พบการบาดเจ็บของเชื้อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่เติมแบคเทอริโอซิน เนื่องจากเชื้อซัลโมเนลลานั้นไว (sensitive) ต่อกรดเมื่อเติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* M13 เข้าไปในชั่วโมงที่ 6 ถึง ชั่วโมงที่ 12 นั้น แบคทีเรียแลคติกสามารถปรับตัวกับอาหารในรูปแบบจำลองหม้ำเพื่อการเจริญเติบโต แต่เมื่อทำการหมักไปในชั่วโมงที่ 18 นั้นอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อลดลงเมื่ออยู่ในสภาพที่เป็นกลางหรือด่าง (Salminen and Wright, 1993)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 เปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของเชื้อ *S.* Weltevreden ที่เติมและไม่เติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* M13 และการผลิตแบคเทอริโอซินของเชื้อ *P. pentosaceus* M13 ในรูปแบบจำลองหมัก (Mum Model Broth, MMB) ที่ปรับค่าความเป็นกรดด่าง 4.5, 5.0 และ 5.5 ในการยับยั้งเชื้อ *S.* Weltevreden

ค่าความเป็นกรดด่างใน MMB	ชั่วโมงในการเพาะเชื้อ	เปอร์เซ็นต์บาดเจ็บของเชื้อ *S.* Weltevreden ในแบบจำลองการหมักหมัก (Mum Model Broth, MMB)		
		ไม่เติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* M13	ที่เติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* M13	ความเข้มข้นของแบคเทอริโอซิน (AU/ml)
4.5	0	0.00	0.00	0
	6	82.26	99.95	400
	12	85.78	99.93	400
	18	95.05	99.95	800
	24	97.77	99.94	1600
	30	97.73	99.96	3200
5.0	0	0.00	0.00	0
	6	77.61	99.93	400
	12	87.30	99.94	400
	18	75.78	73.08	800
	24	74.68	72.06	1600
	30	56.35	37.10	800
5.5	0	0.00	0.00	0
	6	56.35	99.77	400
	12	30.02	99.89	400
	18	0.00	76.58	400
	24	0.00	35.90	800
	30	0.00	0.00	800

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อย่างไรก็ดีเปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของเชื้อ *S.* Weltevreden ในรูปแบบจำลองหม้ำที่ความเป็นกรดด่าง 4.5 ที่มีการเติมแบคเทอริโอซิน ส่งผลให้มีเปอร์เซ็นต์บาดเจ็บสูงเกือบ 100 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่ากรดแลคติกและแบคเทอริโอซินออกฤทธิ์เสริมกัน การเติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* M13 ร่วมกับการเติมกรดแลคติกมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S.* Weltevreden ได้สูงสุดที่ความเป็นกรดด่างน้อยกว่า 5 ซึ่งสอดคล้องกับมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน 146/2546 ที่ระบุคุณลักษณะที่ต้องการของหม้ำ เรื่องความเป็นกรด-ด่าง ต้องไม่เกิน 4.6 สอดคล้องกับงานวิจัยของ Swetwiwathana et al. (2007) พบว่า จากการทดลองการยับยั้งเชื้อ *S.* Anatum ด้วยกรดแลคติกร่วมกับแบคเทอริโอซิน pediocin PA-1 ที่มีค่าความเข้มข้น 6400 (AU/ml) ผลิตโดย *P. pentosaceus* TISTR536 ในแบบจำลองการหมักแหนมที่ค่าความเป็นกรดด่างต่างๆ พบว่าที่ค่าความเป็นกรดด่าง 4.5 ร่วมกับแบคเทอริโอซินในชั่วโมงที่ 24 ไม่สามารถตรวจพบเชื้อดังกล่าว แต่เมื่อเทียบกับ กรณีการปรับค่าความเป็นกรดด่าง 4.5 อย่างเดียวพบว่า ไม่สามารถตรวจพบเชื้อได้ในชั่วโมงที่ 30 นอกจากนี้ยังพบว่า รูปแบบจำลองการหมักที่มีค่าความเป็นกรดด่าง 5.0 และ 5.5 ที่เติมแบคเทอริโอซินและไม่เติมแบคเทอริโอซิน ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *S.* Anatum ได้ โดยในกลุ่มที่เติมแบคเทอริโอซินมีการเพิ่มขึ้นของเชื้อ *S.* Anatum ช้ากว่าที่ไม่เติมแบคเทอริโอซินเล็กน้อย ดังนั้นสรุปได้ว่า การปรับค่าความเป็นกรดด่างด้วยกรดแลคติกที่ความเป็นกรดด่าง 4.5 มีผลต่อการยับยั้งเชื้อ *S.* Anatum และการใช้ร่วมกับการเติมแบคเทอริโอซินจะมีผลต่อการบาดเจ็บของเชื้อซัลโมเนลลา ได้ดีกว่าการไม่เติมแบคเทอริโอซิน

4.3.2 ผลการศึกษาการผลิตแบคเทอริโอซินที่ผลิตได้จากเชื้อ *P. pentosaceus* M13 ระหว่างการหมักในแบบจำลองการหมักหม้ำในการยับยั้งเชื้อ *S.* Weltevreden

จากการนำรูปแบบจำลองการหมักหม้ำ ที่ปรับค่าความเป็นกรดด่าง 4.5, 5.0 และ 5.5 ที่มีการศึกษาเชื้อ *S.* Weltevreden เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^4 cfu/ml แบคเทอริโอซินที่ผลิตได้จากเชื้อ *P. pentosaceus* M13 เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^7 cfu/ml มาทำการทดสอบการผลิตสารแบคเทอริโอซินทุก ๆ 6 ชั่วโมง เป็นเวลา 30 ชั่วโมงของการหมักรูปแบบจำลองหมักหม้ำตรวจสอบความเข้มข้นของแบคเทอริโอซิน พบว่า เชื้อ *P. pentosaceus* M13 มีการผลิตแบคเทอริโอซินในรูปแบบแบบจำลองการหมักหม้ำ ในชั่วโมงที่ 6 ที่มีการปรับค่าความเป็นกรดด่าง 4.5, 5.0 และ 5.5 เท่ากับ 400 AU/ml โดยในชั่วโมงที่ 12 แบบจำลองการหมักหม้ำที่มีการปรับค่าความเป็นกรดด่าง 4.5 และ 5.0 มีการเพิ่มขึ้นของแบคเทอริโอซินในช่วงค่าความเป็นกรดด่าง 4.5 เท่ากับ 800 AU/ml ค่าความเป็นกรดด่าง 5.0 เท่ากับ 800 AU/ml ส่วนความเป็นกรดด่างที่ 5.5 มีการเพิ่มขึ้นที่ 800 AU/ml ในชั่วโมงที่ 24 และ ชั่วโมงที่ 30 แบบจำลองการหมักหม้ำที่มีการปรับค่าความเป็นกรดด่าง 4.5 มีการเพิ่มขึ้นของแบคเทอริโอซินอย่างต่อเนื่องมากที่สุด ในชั่วโมงที่ 30 เท่ากับ 3200 AU/ml (ตารางที่ 4.3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

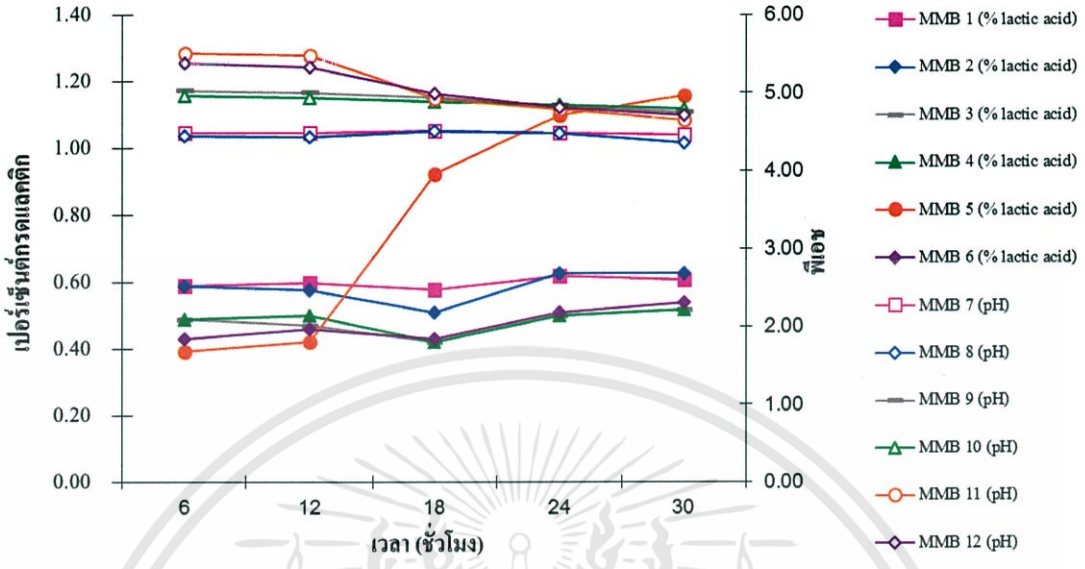
จะเห็นได้ว่า บทบาทของแบคทีเรียแลคติกสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพและความปลอดภัยสูง ช่วยให้กระบวนการหมักเกิดได้เร็วขึ้น โดยปัจจัยหลักที่เกี่ยวข้องกับการยับยั้งเชื้อ คือ สภาวะที่แบคทีเรียแลคติกเจริญและสร้างกรดแลคติก ซึ่งสอดคล้องกับค่าความเป็นกรดด่างที่ลดต่ำลงประกอบกับแบคทีเรียแลคติกดังกล่าวมีความสามารถในการสร้างแบคเทอริโอซินซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคทั้งชนิดแกรมบวก และแกรมลบ เช่น *Staph. aureus, L. monocytogenes, E. coli, Campylobacter* และ *Salmonella* แต่ฤทธิ์ของแบคเทอริโอซินไม่สามารถทำลายผนังเซลล์ของกลุ่มแกรมลบได้อย่างสมบูรณ์ จึงต้องใช้ร่วมกับกรรมวิธีอื่น เช่น กรดแลคติกที่มีความเข้มข้นสูง จะช่วยทำลายเชื้อในกลุ่มแกรมลบ เช่น *S.* Anatum ที่พบมากในแหนม ถูกทำลายเร็วขึ้น (Swetwiwathana et al., 2007)

4.3.3 ผลการเจริญและการผลิตกรดแลคติกที่ได้ของเชื้อ *P. pentosaceus* M13 ต่อการลดลงของค่าความเป็นกรดด่างและเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกในแบบจำลองการหมักหม้ำ

จากการทดลองทำในแบบจำลองการหมักหม้ำ ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ปรับค่าความเป็นกรดด่างด้วยกรดแลคติกความเข้มข้น 90 เปอร์เซ็นต์ ให้ได้ค่าความเป็นกรดด่าง 4.5, 5.0 และ 5.5 ทำการเติมเชื้อ *P. pentosaceus* M13 เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^7 cfu/ml พบว่าที่ค่าความเป็นกรดด่าง 4.5 และ 5.0 ค่าความเป็นกรดด่างลดลงเพียงเล็กน้อยทั้งที่มีการเติมและไม่เติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* M13 และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกมีการเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย ส่วนที่ค่าความเป็นกรดด่าง 5.5 ค่าความเป็นกรดด่าง ลดลงมากที่สุดในชั่วโมงที่ 30 ลดลงเหลือ 4.71 และ 4.65 (ที่เติมและไม่เติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* M13) และที่ความเป็นกรดด่างเดียวกันเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเพิ่มขึ้นมากที่สุดถึง 1.16 ในชั่วโมงที่ 30 ที่ไม่เติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* M13 แต่ที่มีการเติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* M13 พบว่าเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเพิ่มขึ้นอยู่ในช่วง 0.43-0.54 เปอร์เซ็นต์

การใช้แบคเทอริโอซินร่วมกับกรดแลคติกในแบบจำลองการหมักหม้ำยังไม่พบการเปลี่ยนแปลงของความเป็นกรดด่างและเปอร์เซ็นต์กรดมากนักอาจเนื่องมาจากเวลาที่ใช้ในการทดลองน้อยเกินไป แต่อย่างไรก็ตามการลดลงของค่าความเป็นกรดด่าง สอดคล้องกับเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกที่เพิ่มขึ้น ส่งผลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค และยังบ่งบอกถึงความปลอดภัยของผู้บริโภคด้วย จากการทดลองของ Ziauddin et al. (1993) พบว่ากรดแลคติกมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญต่อแบคทีเรียก่อโรค พบว่า กรดแลคติกความเข้มข้น 1.5-2.5 เปอร์เซ็นต์ จะสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียต่างๆ เช่น Bacillus, *E.coli*, *Salmonella*, Staphylococcus และ Streptococcus ได้อย่างสมบูรณ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.4 ค่าความเป็นกรดด่าง 4.5, 5.0 และ 5.5 และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกในแบบจำลองการหมักหม้ำ (Mum Model Broth, MMB) ที่เติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* M13 และไม่เติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* M13

หมายเหตุ : MMB 1 และ 7 คือ รูปแบบจำลองการหมักหม้ำ ค่าความเป็นกรดด่าง = 4.5 + *S.* Weltevreden เชื้อเริ่มต้น 10^4 cfu/ml

MMB 2 และ 8 คือ รูปแบบจำลองการหมักหม้ำ ค่าความเป็นกรดด่าง = 4.5 + *S.* Weltevreden เชื้อเริ่มต้น 10^4 cfu/ml + *P. pentosaceus* M13 เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^7 cfu/ml

MMB 3 และ 9 คือ รูปแบบจำลองการหมักหม้ำ ค่าความเป็นกรดด่าง = 5.0 + *S.* Weltevreden เชื้อเริ่มต้น 10^4 cfu/ml

MMB 4 และ 10 คือ รูปแบบจำลองการหมักหม้ำ ค่าความเป็นกรดด่าง = 5.0 + *S.* Weltevreden เชื้อเริ่มต้น 10^4 cfu/ml + *P. pentosaceus* M13 เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^7 cfu/ml

MMB 5 และ 11 คือ รูปแบบจำลองการหมักหม้ำ ค่าความเป็นกรดด่าง = 5.5 + *S.* Weltevreden เชื้อเริ่มต้น 10^4 cfu/ml

MMB 6 และ 12 คือ รูปแบบจำลองการหมักหม้ำ ค่าความเป็นกรดด่าง = 5.5 + *S.* Weltevreden เชื้อเริ่มต้น 10^4 cfu/ml + *P. pentosaceus* M13 เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^7 cfu/ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

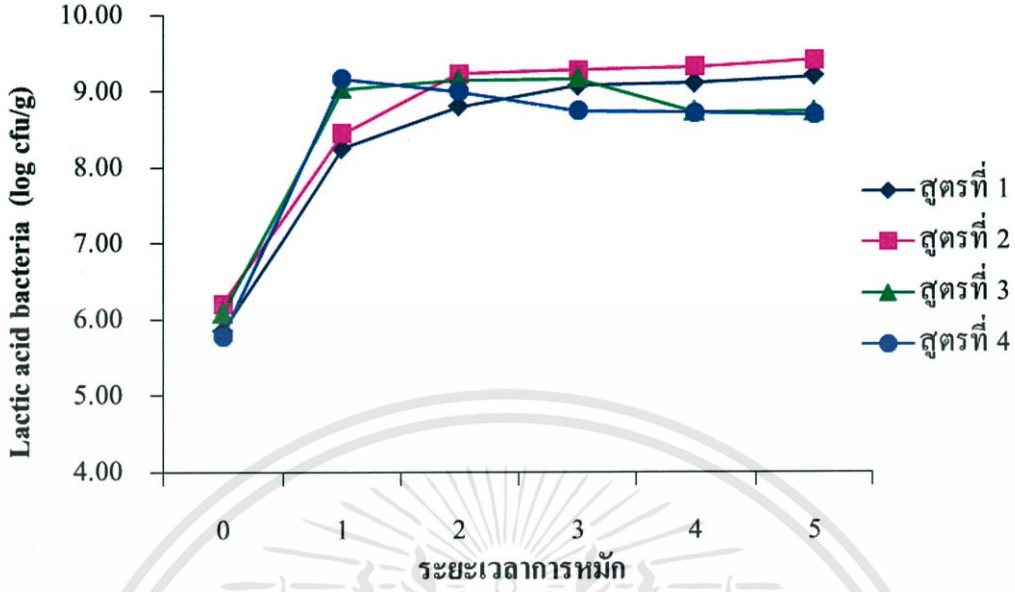
4.4 ผลการศึกษาการผลิตแบคเทอริโอซินที่ผลิตได้จากเชื้อ *P. pentosaceus* M13 ในการยับยั้ง *S.* Welterveden ในผลิตภัณฑ์หม้ำ

จากการเก็บตัวอย่างหม้ำ ทั้ง 4 สูตรการทดลอง คือ สูตรที่ 1 หม้ำที่ทำการหมักตามธรรมชาติ (control) สูตรที่ 2 หม้ำที่เติมเชื้อ *P. pentosaceus* M13 เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^6 cfu/g สูตรที่ 3 หม้ำที่เติมเชื้อ *S.* Weltevreden เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^3cfu/g สูตรที่ 4 หม้ำที่เติมเชื้อ *P. pentosaceus* M13 เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^6 cfu/g และเชื้อ *S.* Weltevreden เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^3cfu/g เมื่อทำการตรวจหาเชื้อแบคทีเรียแลคติก, Total Plate Count (TPC), *E. coli* และเชื้อซัลโมเนลลา ความสามารถในการผลิตกรดแลคติก ค่าความเป็นกรดด่าง ค่าวอเตอร์แอคทีวิตี้ และค่าสีหม้ำของการหมักหม้ำในวันที่ 0-5 ของการหมักได้ผล ดังนี้

4.4.1 ผลการศึกษาปริมาณการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแลคติกในผลิตภัณฑ์หม้ำ

จากการนำหม้ำทั้ง 4 สูตร มาตรวจหาปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติกบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar + แคลเซียมคาร์บอเนต 0.5 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้วิธี pour plate ทำการบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในสภาพไร้ออกซิเจน เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จากนั้นทำการนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติกตามระยะเวลาการหมัก ตั้งแต่วันที่ 0 ถึง วันที่ 5 จากภาพที่ 4.5 พบว่า หม้ำสูตรที่ 1 และ สูตรที่ 2 มีการเพิ่มขึ้นของเชื้อแบคทีเรียแลคติกอย่างสม่ำเสมอ จากวันที่เริ่มต้นทำการหมักวันที่ 0 หม้ำ สูตรที่ 1 มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติกเริ่มต้น 5.85 log cfu/g และหม้ำ สูตรที่ 2 มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติกเริ่มต้น 6.20 log cfu/g เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาในการหมักวันที่ 5 พบว่า เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาในการหมักวันที่ 5 พบว่า หม้ำสูตรที่ 1 มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติกเพิ่มขึ้น 9.20 log cfu/g และหม้ำ สูตรที่ 2 มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติกเพิ่มขึ้น 9.40 log cfu/g เนื่องจากแบคทีเรียแลคติกมีส่วนร่วมในกระบวนการหมักอาหารประเภทเนื้อสัตว์ ทำให้เกิดเป็นอาหารหมักมีผลทำให้ผลิตกรดแลคติก และจากสูตรที่ 2 มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติกมากกว่า สูตรที่ 1 เนื่องจากกล้าเชื้อของ *P. pentosaceus* M13 ที่เติมลงไปในผลิตภัณฑ์หม้ำ ทำให้การหมักมีการเพิ่มขึ้นของแบคทีเรียแลคติกอย่างสม่ำเสมอ ส่วนหม้ำสูตรที่ 3 และสูตรที่ 4 จากวันที่เริ่มต้นทำการหมักวันที่ 0 หม้ำ สูตรที่ 3 มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติกเริ่มต้น 6.08 log cfu/g และหม้ำ สูตรที่ 4 มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติกเริ่มต้น 5.78 log cfu/g สูตรที่ 3 เมื่อเข้าสู่วันที่ 3 มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติกลดลง เนื่องจากในสภาวะที่มีการเติมเชื้อ *S.* Weltevreden ลงไปทำให้แบคทีเรียแลคติกเจริญได้ช้า เช่นกันกับในสูตรที่ 4 ที่มีการเติมเชื้อ *P. pentosaceus* และ *S.* Weltevreden ลงไปทำให้ในชั่วโมงที่ 12 แบคทีเรียแลคติกมีจำนวนลดลงเรื่อยๆ อาจจะเกิดจากปัจจัยหลายประการด้วยกัน เช่น ปริมาณการสร้างกรดจากกล้าเชื้อแบคทีเรียที่เติมลงไป หรือ อาจจะเกิดจากเชื้อ *S.* Weltevreden ที่เติมเข้าไปในหม้ำ จึงทำให้แบคทีเรียแลคติกมีประสิทธิภาพที่ได้น้อยลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



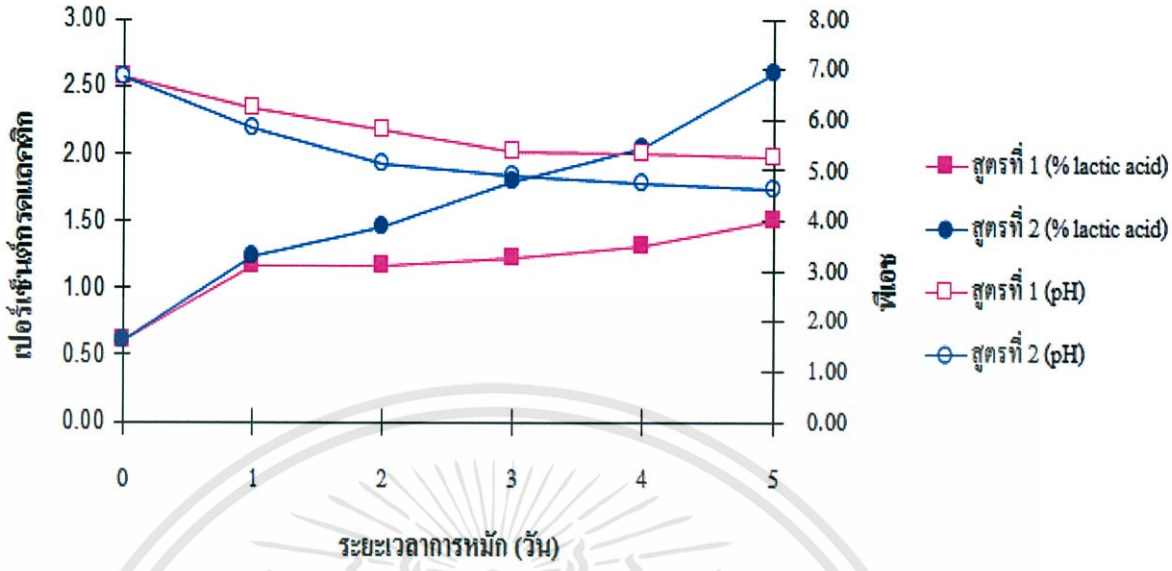
ภาพที่ 4.5 ปริมาณแบคทีเรียแลคติกในกระบวนการหมักหม้ำ

หมายเหตุ : สูตรที่ 1 หม้ำที่ทำการหมักตามธรรมชาติ
สูตรที่ 2 หม้ำที่เติมเชื้อ *P. pentosaceus* M13 เชื้อเริ่มต้น 10^6 cfu/g
สูตรที่ 3 หม้ำที่เติมเชื้อ *S.* Weltevreden เชื้อเริ่มต้น 10^3 cfu/g
สูตรที่ 4 หม้ำที่เติมเชื้อ *P. pentosaceus* M13 เชื้อเริ่มต้น 10^6 cfu/g และเชื้อ *S.* Weltevreden เชื้อเริ่มต้น 10^3 cfu/g

4.4.2 ผลการศึกษาเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกและความเป็นกรดด่างในกระบวนการหมักในผลิตภัณฑ์หม้ำ

จากการศึกษาเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกและความเป็นกรดด่างในกระบวนการหมักในผลิตภัณฑ์หม้ำ พบว่าหม้ำ ทั้ง 2 สูตร คือ สูตรที่ 1 หม้ำที่ทำการหมักตามธรรมชาติ (control) และสูตรที่ 2 หม้ำที่เติมเชื้อ *P. pentosaceus* M13 เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^6 cfu/g โดยดูการเจริญของเชื้อเป็นเวลา 5 วัน จะเห็นได้ว่า ในสูตรที่ 1 ในวันที่ 0 ที่เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก 0.61 จนถึงวันที่ 5 ค่าเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเพิ่มขึ้น 1.49 ในสูตรที่ 2 จากการเจริญของเชื้อมีผลทำให้มีการผลิตกรดมากขึ้นในวันที่ 0 ที่เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก 0.61 จนถึงวันที่ 5 ค่าเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเพิ่มขึ้น 2.60 ซึ่งการผลิตกรดที่มากขึ้นส่งผลให้ค่าความเป็นกรดด่างลดลงในสูตรที่ 1 วันที่ 0 ความเป็นกรดด่างค่อยๆลดลงจาก 6.84 จนถึง 5.43 วันที่ 5 ส่วนในสูตรที่ 2 ค่าความเป็นกรดด่างค่อยๆ ลดลงจากวันที่ 0 6.83 จนถึง 4.64 ดังภาพที่ 4.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.6 การเปลี่ยนแปลงความเป็นกรดด่างและเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกในกระบวนการหมักผลิตภัณฑ์หม้ำ

หมายเหตุ : สูตรที่ 1 หม้ำที่ทำการหมักตามธรรมชาติ
สูตรที่ 2 หม้ำที่เติมเชื้อ *P. pentosaceus* M13 เชื้อเริ่มต้น 10^6 cfu/g

4.4.3 ผลการศึกษาค่าวอเตอร์แอคทีวิตี้ (A_w) ในกระบวนการหมักผลิตภัณฑ์หม้ำ

จากการศึกษาค่าวอเตอร์แอคทีวิตี้ ของหม้ำทั้ง 2 สูตรการทดลอง คือ สูตรที่ 1 หม้ำที่ทำการหมักตามธรรมชาติ (control) และ สูตรที่ 2 หม้ำที่เติมเชื้อ *P. pentosaceus* M13 เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^6 cfu/g (ตารางที่ 4.4) จากการเริ่มทำการทดลองวันที่ 0 พบว่า ตัวอย่างหม้ำทั้ง 2 สูตร มีค่าวอเตอร์แอคทีวิตี้ ลดลง สูตรที่ 1 ค่าเริ่มต้นอยู่ที่ 0.974 เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาในการหมักวันที่ 5 พบว่าลดลงอยู่ที่ 0.965 สูตรที่ 2 ค่าเริ่มต้นอยู่ที่ 0.977 เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาในการหมักวันที่ 5 พบว่าลดลงอยู่ที่ 0.959 ซึ่งพบว่าทั้ง 2 สูตรการทดลอง วันที่ 0-5 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 ค่าวอเตอร์แอคทีวิตี้ (A_w) ในกระบวนการหมักผลิตภัณฑ์หม้า

ตัวอย่าง หม้า	ค่า A_w ns
วันที่ 0	
สูตรที่ 1	0.974
สูตรที่ 2	0.977
วันที่ 1	
สูตรที่ 1	0.973
สูตรที่ 2	0.968
วันที่ 2	
สูตรที่ 1	0.970
สูตรที่ 2	0.964
วันที่ 3	
สูตรที่ 1	0.968
สูตรที่ 2	0.959
วันที่ 4	
สูตรที่ 1	0.965
สูตรที่ 2	0.959
วันที่ 5	
สูตรที่ 1	0.965
สูตรที่ 2	0.959

หมายเหตุ : สูตรที่ 1 หม้าที่ทำการหมักตามธรรมชาติ

สูตรที่ 2 หม้าที่เติมเชื้อ *P. pentosaceus* M13 เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^6 cfu/g

ตัวอักษร ns ที่เหมือนกันตามแนวตั้งของในแต่ละวันของการวัดค่าสี หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.4 ผลการศึกษาสมบัติทางกายภาพในกระบวนการหมักผลิตภัณฑ์หม้ำ

จากการศึกษาสมบัติทางกายภาพโดยการวัดค่าสีของหม้ำหมักตามธรรมชาติ ไม่เติมกล้าเชื้อ (สูตรที่ 1) และค่าสีของหม้ำ เติมเชื้อ *P. pentosaceus* M13 เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^6 cfu/g (สูตรที่ 2) จากการหมักทั้ง 5 วัน เก็บรักษาที่ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จากตารางที่ 4.5 พบว่าทั้ง 2 สูตรการทดลองในวันที่ 0-3 สำหรับค่า L* a* และค่า b* ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 4 ของการทดลอง พบว่า ในสูตรที่ 1 และสูตรที่ 2 มีค่าสี L* a* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และในวันที่ 5 ของการทดลอง พบว่าในสูตร ที่ 1 และ สูตรที่ 2 มีค่าสี L* a* และค่า b* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้เนื่องมากจากในระหว่างการหมักพบว่ากลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* M13 เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^6 cfu/g มีแบคทีเรียกรดแลคติกเพิ่มจำนวนมากขึ้นเกิดการสร้างกรดจึงทำให้มีค่าความเป็นกรดด่างลดลง และมีปริมาณเปอร์เซ็นต์กรดสูงขึ้นมีผลทำให้ค่าความสว่างและค่าความเป็นสีแดง ค่าความเป็นสีเหลืองของหม้ำมากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

4.4.5 ผลการตรวจเชื้อจุลินทรีย์ในส่วนผสมของหม้ำ

หลังจากทำการเก็บตัวอย่างหม้ำทั้ง 4 สูตร ที่หมักในวันที่ 0-5 พบว่า ทั้ง 4 สูตรการทดลอง พบการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย ในวันที่ 0 ของการหมักหม้ำทั้ง 4 สูตร เชื้อ *E. coli* มีค่าอยู่ในช่วง 215-462 MPN/g ตั้งแต่วันที่ 1 จนถึงวันที่ 5 พบว่าเชื้อ *E. coli* มีค่า <3.0 MPN/g แสดงว่าปริมาณเชื้อลดลงอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน ส่วนเชื้อ total plate count (TPC) มีปริมาณเพิ่มขึ้นมากกว่า 2 log cfu/g ในวันที่ 1 ถึงวันที่ 5 ของการหมักหม้ำ ตลอดระยะเวลาการหมัก ทั้ง 5 วัน และในการทดลองทั้ง 4 สูตร พบเชื้อซัลโมเนลลา (*Salmonella* spp.) ตั้งแต่วันที่ 0 ถึงวันที่ 5 ของการหมักหม้ำ สาเหตุการพบเชื้อดังกล่าวอาจเกิดจากปัจจัยหลายอย่าง เช่น วัตถุดิบที่นำมาผลิตหม้ำ เนื่องจากได้ทำการตรวจสอบเชื้อเริ่มต้นของตับกับเนื้อ พบว่า ประมาณเชื้อเริ่มต้นอยู่ที่ 10^6 cfu/g และ ม้ามพบว่า ประมาณเชื้อเริ่มต้นอยู่ที่ 10^7 cfu/g และเมื่อนำมาตรวจเชื้อซัลโมเนลลา พบว่าทั้ง 3 วัตถุดิบ ตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 การเปรียบเทียบค่าสีของหม้ำธรรมชาติและค่าสีของหม้ำเติมเชื้อ *P. pentosaceus* M13 เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^6 cfu/g

ตัวอย่าง หม้ำ	ค่าสี		
	L*	a*	b*
วันที่ 0			
สูตรที่ 1	32.87±2.68^{ns}	11.44±1.20^{ns}	9.01±0.68^{ns}
สูตรที่ 2	32.41±1.86^{ns}	11.46±0.79^{ns}	9.07±0.90^{ns}
วันที่ 1			
สูตรที่ 1	32.16±2.02^{ns}	8.41±1.20^{ns}	8.14±1.11^{ns}
สูตรที่ 2	32.22±2.88^{ns}	10.42±1.29^{ns}	10.06±0.88^{ns}
วันที่ 2			
สูตรที่ 1	30.19±1.38^{ns}	5.95±2.05^{ns}	8.15±1.87^{ns}
สูตรที่ 2	31.37±1.08^{ns}	8.93±0.87^{ns}	9.34±0.82^{ns}
วันที่ 3			
สูตรที่ 1	30.31±1.42^{ns}	6.44±1.78^{ns}	7.34±1.64^{ns}
สูตรที่ 2	30.94±1.50^{ns}	8.60±1.11^{ns}	9.06±0.80^{ns}
วันที่ 4			
สูตรที่ 1	35.59±1.17^{a}	5.77±0.66^{b}	7.36±1.03^{ns}
สูตรที่ 2	30.28±1.53^{b}	8.35±0.63^{a}	8.75±0.69^{ns}
วันที่ 5			
สูตรที่ 1	37.25±1.71^{a}	4.31±1.10^{b}	6.11±0.55^{b}
สูตรที่ 2	30.60±2.03^{b}	8.46±0.90^{a}	8.21±1.09^{a}

หมายเหตุ : สูตรที่ 1 หม้ำที่ทำการหมักตามธรรมชาติ

สูตรที่ 2 หม้ำที่เติมเชื้อ *P. pentosaceus* M13 เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^6 cfu/g

ตัวอักษร a, b, c, ที่แตกต่างกันตามแนวตั้งของในแต่ละวันของการวัดค่าสี หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตัวอักษร ns ที่เหมือนกันตามแนวตั้งของในแต่ละวันของการวัดค่าสี หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความ เชื่อมั่น 95%

ค่าสี L* คือ ค่าความสว่าง ; a* คือ ค่าความเป็นสีแดง-สีเขียว ; b* คือ ค่าความเป็นสีเหลือง-น้ำเงิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 4.6 พบว่า ทั้ง 4 สูตรในหม้า คือ หม้ำที่หมักตามธรรมชาติไม่เติมกล้าเชื้อ (สูตรที่ 1) และ หม้ำที่เติมเชื้อ *P. pentosaceus* M13 เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^6 cfu/g (สูตรที่ 2) หม้ำที่เติมเชื้อ *S.* Weltevreden เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^3cfu/g (สูตรที่ 3) และ หม้ำที่เติมเชื้อ *P. pentosaceus* M13 เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^6 cfu/ml (สูตรที่ 4) เชื้อ *E. coli* ตามเกณฑ์มาตรฐาน มผช. (146-2546) ระบุว่า ต้องน้อยกว่า 3 ตัวอย่าง ต่อ1 กรัม ซึ่งวันที่ 0 ของการทดลอง พบว่าเชื้อ *E. coli* มีค่า >3.0 MPN/g ซึ่งเกินมาตรฐานเนื่องจากวันที่ 0 ยังไม่มีกระบวนการ หมักเข้ามาเกี่ยวข้อง และเชื้อ *E. coli* นั้นอาจมาจากวัตถุดิบที่นำมาใช้ในการทำหม้ำ เมื่อเริ่มทำการ หมักหม้ำในวันที่ 1-5 พบว่าทั้ง 4 สูตรการทดลอง พบเชื้อ *E. coli* ลดลงมีค่า <3.0 MPN/g อาจเกิดจากมีการเติมเกลือและโซเดียมไนไตรท์ ช่วยในการถนอมรักษา (preservation) ช่วยในการสกัดโปรตีนให้ละลายออกมา และรวมตัว กับส่วนผสมอื่นๆ การใช้โซเดียมไนไตรท์ เพื่อเป็นสารป้องกัน การหืน (antioxidant) และยังยับยั้งการเจริญเติบโตของ จุลินทรีย์โดยเฉพาะ *Cl. botulinum* และช่วยให้ผลิตภัณฑ์มีเนื้อที่สีชมพูอมแดงด้วย (Francis, 2000) และแบคทีเรียแลคติกที่เกิดจากระหว่างในกระบวนการหมักหม้ำ ซึ่งเชื้อแบคทีเรียแลคติกในผลิตภัณฑ์หม้ำจากวันที่ 0 อยู่ที่ 5-6 log cfu/g ในวันที่ 1 ทั้ง 4 สูตรการทดลอง เพิ่มขึ้นเป็น 8-9 log cfu/g (อรัญญา สังขศรี, 2541) รายงานว่าเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ *Lb. plantarum* ที่แยกได้จากอาหารหมักของไทย สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้ดี เนื่องจากแบคทีเรียแลคติกที่เจริญในการหมักสามารถผลิตไดอะซิติลและอะซิทัลดีไฮด์ที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบได้ ซึ่งปริมาณเชื้อแบคทีเรียรวม ทั้ง 4 สูตรการทดลอง เมื่อวันที่ 0 เชื้ออยู่ที่ประมาณ 6 log cfu/g เมื่อหมักไปได้ในวันที่ 1 มีการเพิ่มปริมาณเชื้อแบคทีเรียรวม ทั้ง 4 สูตรการทดลอง เชื้ออยู่ที่ประมาณ 9 log cfu/g ซึ่งเป็น ระยะ log phase (ระยะแบ่งตัวทวีคูณ)เป็นระยะที่แบคทีเรียมีการเพิ่มจำนวนมากที่สุด มีอัตราการแบ่งตัวคงที่ แต่เมื่อวันที่ 2-5 ของการหมักหม้ำแบคทีเรียแลคติกเข้าสู่กระบวนการหมักเริ่มมีการผลิตกรดแลคติก ทำให้ความเป็นกรดด่างของอาหารลดลง มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ จึงทำให้แบคทีเรียรวมมีปริมาณเชื้อที่ลดลง ส่วนเชื้อซัลโมเนลลาทั้ง 4 สูตร การทดลอง ตั้งแต่วันที่ 0 ถึงวันที่ 5 ของการหมักหม้ำ ซึ่งในตัวอย่างเนื้อสัตว์และเครื่องในสด มีรายงานการตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลาสูง จึงเป็นไปได้ที่ว่าเชื้อซัลโมเนลลาที่ตรวจพบในทุกวันจนถึง 5 วัน ของการหมัก อาจเป็นสายพันธุ์อื่นที่ไม่ใช่สายพันธุ์ *S.* Weltevreden ที่เติมเข้าไป ซึ่งกระบวนการเลือกซื้อ การผสม การบรรจุ การหมัก ควรมีการควบคุมกระบวนการให้มีความปลอดภัยทุกขั้นตอน จากการศึกษาของอดิศร ดวงอ่อนนาม (2554) พบความชุกของเชื้อซัลโมเนลลาสายพันธุ์ต่างๆ ที่ตรวจพบในเนื้อโคในจังหวัดร้อยเอ็ด พบว่าจากขั้นตอนการตัดแต่งซาก 12.5 เปอร์เซ็นต์ แยกเป็นจากโรงฆ่าสัตว์ 11.67 เปอร์เซ็นต์ สถานที่ฆ่าสัตว์ชั่วคราว 13.33 เปอร์เซ็นต์ ในภาชนะ ขนส่งซาก 6.67 เปอร์เซ็นต์ ในเนื้อโคจากร้านจำหน่ายข้างถนน 14.17 เปอร์เซ็นต์ ซีโรวาร์ของเชื้อซัลโมเนลลาที่พบ 14 ซีโรวาร์พบมากที่สุด คือ S. .Weltevreden จำนวน 13 ตัวอย่าง 32.5 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ *S.* Hvittingfoss พบ 6 ตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในผลิตภัณฑ์หม้ำ

ตัวอย่าง	วันที่	ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์		
		Total Plate Count (log cfu/g)	Sallmonella / 25g	MPN *E. coli* / g
สูตรที่ 1	0	6.43	พบ	215
	1	9.11	พบ	< 3
	2	9.08	พบ	< 3
	3	9.18	พบ	< 3
	4	8.83	พบ	< 3
	5	8.74	พบ	< 3
สูตรที่ 2	0	6.46	พบ	462
	1	9.00	พบ	< 3
	2	8.93	พบ	< 3
	3	8.81	พบ	< 3
	4	8.74	พบ	< 3
	5	8.57	พบ	< 3
สูตรที่ 3	0	6.51	พบ	462
	1	9.18	พบ	< 3
	2	8.98	พบ	< 3
	3	8.98	พบ	< 3
	4	8.83	พบ	< 3
	5	8.81	พบ	< 3
สูตรที่ 4	0	6.48	พบ	240
	1	9.04	พบ	< 3
	2	8.76	พบ	< 3
	3	8.67	พบ	< 3
	4	8.63	พบ	< 3
	5	8.11	พบ	< 3

หมายเหตุ : สูตรที่ 1 หม้ำที่ทำการหมักตามธรรมชาติ

สูตรที่ 2 หม้ำที่เติมเชื้อ *P. pentosaceus* M13 เชื้อเริ่มต้น 10^6 cfu/g

สูตรที่ 3 หม้ำที่เติมเชื้อ *S.* Weltevreden เชื้อเริ่มต้น 10^3cfu/g

สูตรที่ 4 หม้ำที่เติมเชื้อ *P. pentosaceus* M13 เชื้อเริ่มต้น 10^6 cfu/g และ เชื้อ *S.* Weltevreden เชื้อเริ่มต้น 10^3cfu/ g

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

15 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับค่าวอเตอร์แอคทีวิตี้ จากตารางที่ 4.3 ในตัวอย่างหม้ำ พบว่า หม้ำที่หมักตามธรรมชาติไม่เติมกล้าเชื้อ (สูตรที่ 1) และ หม้ำที่เติมเชื้อ *P. pentosaceus* M13 เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^6 cfu/g (สูตรที่ 2) มีค่าวอเตอร์แอคทีวิตี้ อยู่ที่ 0.974 และ 0.977 เมื่อทำการหมักครบทั้ง 5 วัน ค่าวอเตอร์แอคทีวิตี้ อยู่ที่ 0.965 และ 0.959 ทั้ง 2 สูตรการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเกิดจากระหว่างการหมักหม้ำในครั้งนี้เป็นการผลิตในรูปแบบที่คล้ายแหนมตุ้ม มากกว่าการผลิตหม้ำจริงที่ต้องตากแห้ง จึงทำให้ให้ค่าวอเตอร์แอคทีวิตี้ สูง ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง ประมาณ 0.93-0.99 ซึ่งเป็นค่าที่เหมาะสมในการเจริญของเชื้อซัลโมเนลลา ดังนั้น การหมักเพื่อลดเชื้อซัลโมเนลลาจริง ควรต้องตากแห้งให้เพื่อให้มีค่าวอเตอร์แอคทีวิตี้ต่ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

การคัดแยกและจำแนกเชื้อซัลโมเนลลาในผลิตภัณฑ์หมู่ที่ผลิตจากจังหวัดชัยภูมิ โดยสุ่มแหล่งผลิตทั้ง 50 แหล่ง พบว่ามีการปนเปื้อนเชื้อซัลโมเนลลา 15 แหล่ง ได้แก่ *S.* Rissen, *S.* Agona, *S.* Weltevreden, *S.* Give, *S.* Anatum, *S.* Hvittingfoss, *S.* Stanley, *S.* Aberdeeen, *S.* Kedougou, *S.* Bovismorbificans และ *S.* Typhimurium โดยซีโรวาร์ที่พบมากที่สุด คือ *S.* Weltevreden พบถึง 5 แหล่งผลิต รองลงมา 3 ลำดับแรก ได้แก่ *S.* Rissen, *S.* Stanley และ *S.* Anatum

จากการศึกษาการเจริญ การผลิตกรดแลคติกและแบคเทอริโอซินของเชื้อ *P. pentosaceus* M13 ใน MRS broth ระหว่างการบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่าแบคทีเรียแลคติกสายพันธุ์ *P. pentosaceus* M13 สามารถเจริญใน MRS broth ได้ดี เชื้อจะเจริญอย่างรวดเร็วในช่วง 4 ชั่วโมง ได้มากถึง 6.72 log cfu/ml หลังจากนั้นเชื้อจะเจริญอย่างช้าๆ จนกระทั่งมากถึง 10.48 log cfu/ml ในเวลา 24 ชั่วโมง จากการเจริญของเชื้อมีผลทำให้เชื้อผลิตกรดแลคติกมากขึ้นซึ่งส่งผลให้เปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเพิ่มขึ้นจาก 0.35 เปอร์เซ็นต์ ในชั่วโมงที่ 0 เพิ่มขึ้นเป็น 1.78 เปอร์เซ็นต์ ใน ชั่วโมงที่ 24 และทำให้ค่าความเป็นกรดด่างของ MRS broth ลดลงอย่างรวดเร็ว จาก 6.77 ในชั่วโมงที่ 0 เป็น 3.98 ในชั่วโมงที่ 24 สำหรับการผลิตแบคเทอริโอซินนั้น พบว่า เชื้อดังกล่าวสามารถผลิตแบคเทอริโอซินยับยั้ง *Lb. sakei* subsp. *sakei* JCM 1157 ได้โดยในชั่วโมงที่ 4 เชื้อผลิตสารแบคเทอริโอซิน ใน MRS broth 400 AU/ml และผลิตได้สูงสุดที่ 12,800 AU/ml เมื่อเพาะเชื้อนาน 24 ชั่วโมง

การหมักในรูปแบบการจำลองการหมักหมู่ ที่ค่าความเป็นกรดด่าง 4.5, 5.0 และ 5.5 พบว่าค่าความเป็นกรดด่างที่ 4.5 ร่วมกับแบคทีเรียแลคติกเป็นปัจจัยสำคัญที่ช่วยยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S.* Weltevreden ได้ เพราะเมื่อเติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* M13 เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^7cfu/ml ลงไปทำให้เปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของเชื้อ *S.* Weltevreden ได้เกือบ 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งในระหว่างการหมักมีค่าความเป็นกรดด่างที่ลดลงและมีการเพิ่มขึ้นของกรดแลคติกในระหว่างการหมักได้อย่างชัดเจน

การผลิตแบคเทอริโอซินที่ผลิตได้จากเชื้อ *P. pentosaceus* M13 ระหว่างการหมักในแบบจำลองการหมักหมู่ที่ปรับค่าความเป็นกรดด่าง 4.5, 5.0 และ 5.5 ในการยับยั้งเชื้อ *S.* Weltevreden นั้นพบว่าเชื้อ *P. pentosaceus* M13 มีการผลิตแบคเทอริโอซินในรูปแบบแบบจำลองการหมักหมู่ ในชั่วโมงที่ 6 ที่มีการปรับค่าความเป็นกรดด่าง 4.5, 5.0 และ 5.5 เท่ากับ 400 AU/ml โดยในชั่วโมงที่ 12 แบบจำลองการหมักหมู่ที่มีการปรับค่าความเป็นกรดด่าง 4.5 และ 5.0 มีการเพิ่มขึ้นของแบคเทอริโอซิน เท่ากับ 800 AU/ml ส่วนความเป็นกรดด่างที่ 5.5 มีการเพิ่มขึ้นสูงสุดที่ 800 AU/ml ในชั่วโมงที่ 30 ส่วนค่าความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นกรดด่าง 4.5 มีการเพิ่มขึ้นของ แบคเทอริโอซินอย่างต่อเนื่องมากที่สุด ในชั่วโมงที่ 30 เท่ากับ 3200 AU/ml

ผลของการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกต่อคุณภาพทางด้านเคมีและทางด้านกายภาพของหม้ำ โดยทำการผลิตหม้ำที่ หมักตามธรรมชาติ ไม่เติมกล้าเชื้อ (สูตรที่ 1) และ หม้ำที่เติมเชื้อ *P. pentosaceus* M13 เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^6 cfu/g (สูตรที่ 2) พบว่าการเจริญของเชื้อมีผลทำให้มีการผลิตกรดแลคติกมากขึ้น ในวันที่ 0 ที่เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก 0.61 จนถึงวันที่ 5 ค่าเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเพิ่มขึ้น 2.60 การผลิตกรดที่มากขึ้นนี้ส่งผลให้ค่าความเป็นกรดด่างค่อยๆลดลงจากวันที่ 0 6.83 จนถึง 4.64 เมื่อทำการวัดค่าสีพบว่าสูตรที่ 1 และ สูตรที่ 2 ในวันที่ 4 มีค่าสี L* a* ที่แตกต่างกัน และในวันที่ 5 ของการหมักพบว่าในสูตร ที่ 1 และสูตรที่ 2 มีค่าสี L* a* และค่า b* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า สูตรที่ 2 ยังมีสีของเนื้อที่มีสีแดงอยู่ ซึ่งเชื้อที่ใส่ไปส่งผลต่อการหมักและวอเตอร์แอคทีวิตี้ ในตัวอย่างหม้ำ พบว่าสูตรที่ 1 และ สูตรที่ 2 มีวอเตอร์แอคทีวิตี้ อยู่ที่ 0.974 และ 0.977 เมื่อทำการหมักครบทั้ง 5 วันวอเตอร์แอคทีวิตี้ อยู่ที่ 0.965 และ 0.959 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลของการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกต่อคุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์หม้ำ โดยทำการผลิตหม้ำ 4 สูตรการทดลอง คือ หม้ำที่หมักหมักตามธรรมชาติ ไม่เติมกล้าเชื้อ (สูตรที่ 1) และหม้ำที่เติมเชื้อ *P. pentosaceus* M13 เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^6 cfu/g (สูตรที่ 2) หม้ำที่เติมเชื้อ *S.* Weltevreden เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^3cfu/g (สูตรที่ 3) และ หม้ำที่เติมเชื้อ *P. pentosaceus* M13 เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^6 cfu/g (สูตรที่ 4) พบว่า การเจริญของเชื้อแบคทีเรียแลคติกสูงที่สุดในสูตรที่ 2 ซึ่งเป็นสูตรที่มีการเติมเชื้อ *P. pentosaceus* M13 เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^6 cfu/g นั้น แบคทีเรียแลคติกเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในวันที่ 1 ของการหมักจากนั้นมีการเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ จนถึง 9.40 log cfu/g ในวันที่ 5 ซึ่งทั้ง 4 สูตรการทดลองพบ เชื้อ *E. coli* ในวันที่ 0 มีค่าอยู่ในช่วง 215-462 MPN/g ตั้งแต่วันที่ 1 จนถึงวันที่ 5 กลับพบว่าเชื้อ *E. coli* มีค่า <3.0 MPN/g ส่วนเชื้อ Total Plate Count มีปริมาณเพิ่มขึ้นมากกว่า 2 log cfu/g และพบเชื้อซัลโมเนลลาตั้งแต่วันที่ 0 ถึงวันที่ 5 ของการหมักหม้ำ ซึ่งการหมักหม้ำในลักษณะที่ไม่แห้งในถุงพลาสติกแบบแหนมนี้การใช้แบคทีเรียแลคติกที่ผลิตแบคเทอริโอซิน ไม่สามารถลดจำนวนเชื้อซัลโมเนลลาให้หมดไปในช่วงการหมัก 5 วันได้ ถึงแม้ว่าเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่ศึกษาจะมีการสร้างกรดได้มากจนผลิตภัณฑ์มีความเป็นกรดด่างต่ำ และสามารถผลิตแบคเทอริโอซินได้ แต่ปริมาณแบคเทอริโอซินอาจยังไม่มากเพียงพอที่จะกำจัดเชื้อซัลโมเนลลาที่เติมเข้าไปและอาจปนเปื้อนในธรรมชาติจากเครื่องในสดที่เป็นองค์ประกอบสำคัญในการผลิตหม้ำได้

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 หม้ำเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของเนื้อสัตว์และเครื่องในสัตว์ดิบเป็นส่วนประกอบ จึงมีการปนเปื้อนของเชื้อซัลโมเนลลาค่อนข้างสูง ซึ่งกระบวนการเลือกซื้อ การผสม การบรรจุ การหมัก ควร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีการควบคุมกระบวนการให้มีความปลอดภัยทุกขั้นตอน แต่การที่จะให้มีความปลอดภัยมากขึ้นนั้นควรเติมกล้าเชื้อที่มีความสามารถในการผลิตแบคเทอริโอซินลงไปด้วยควบคู่กับการหมัก ซึ่งจะเพิ่มประสิทธิภาพในทำลายเชื้อโรค ช่วยยืดอายุการเก็บรักษาทำให้ กลิ่น และสี ยังคงความสดอยู่ สำหรับผู้บริโภคที่เลือกรับประทานนั้น ควรเลือกบริโภคหม้ำที่ผ่านการหมักอย่างน้อย 3 วัน และควรเก็บภายใต้อุณหภูมิต่ำเพื่อชะลอการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้ เสื่อมเสีย และควรทำให้สุกก่อนรับประทานเพื่อทำลายเชื้อโรคได้

5.2.2 การศึกษาผลของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่ผลิตแบคเทอริโอซินต่อเชื้อซัลโมเนลลาในระหว่างการหมักหม้ำในครั้งนี้ เป็นการผลิตในรูปแบบที่คล้ายแหนมมากกว่าการผลิตหม้ำจริงที่ต้องตากแห้งให้ค่าวอเตอร์แอคทีวิตี้ต่ำเพื่อลดเชื้อซัลโมเนลลา ในการศึกษาจึงยังไม่ใช่รูปแบบการหมักหม้ำจริง จำเป็นต้องศึกษาถึงผลของการลดวอเตอร์แอคทีวิตี้ ร่วมกับการใช้กล้าเชื้อ และปัจจัยการลดเชื้อในระหว่างการหมักอื่น ๆ เช่น ปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้น ค่าความเป็นกรดด่างที่ต่ำลง เป็นต้น

5.2.3 การศึกษาในช่วงการตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาในผลิตภัณฑ์หม้ำที่หมักโดยใช้กล้าเชื้อที่ผลิต แบคเทอริโอซินในการศึกษานี้เทียบกับการผลิตที่ไม่เติมกล้าเชื้อ เป็นผลการตรวจว่าพบหรือไม่พบเชื้อซัลโมเนลลา องค์ประกอบของการผลิตเพื่อใช้ในการหมักเป็นตัวอย่างสดที่ไม่ได้ทำให้ปราศจากเชื้อ จึงมีการตรวจพบการปนเปื้อนของเชื้อซัลโมเนลลาในตัวอย่างที่เป็นตัวอย่างควบคุมที่ไม่ได้ใช้กล้าเชื้อและเติมเชื้อ *S.* Weltevreden ซึ่งในตัวอย่างเนื้อสัตว์และเครื่องในสด มีรายงานการตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลาสูง จึงเป็นไปได้ที่ว่าเชื้อซัลโมเนลลา ที่ตรวจพบในทุกวันจนถึง 5 วันของการหมัก อาจเป็นสายพันธุ์อื่นที่ไม่ใช่สายพันธุ์ที่เติมเข้าไป ดังนั้นอาจต้องทำการตรวจยืนยันสายพันธุ์ของเชื้อ หรือลดการปนเปื้อนของเชื้อจากวัตถุดิบที่ใช้ศึกษา เช่น เนื้อสด และเครื่องในก่อนทำการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 6
สรุปผลผลิตที่ได้จากงานวิจัย

6.1 การเผยแพร่ผลงานทางวิชาการ Publications)

ระดับชาติ

- การประชุม / สัมมนา ระดับชาติ (National Conference)
  - ทัศนีย์ อินทร์วิมล อพัชชา จินดาประเสริฐ และ อดิศร เสวตวิวัฒน์. 2555. การศึกษาการเจริญ การผลิตกรดแลคติกและแบคเทอริโอซินของ *Pediococcus pentosaceus* M13. อุตสาหกรรมเกษตรไทยเทิดไท้องค์ราชัน. การประชุมวิชาการอุตสาหกรรมเกษตร สจล. ครั้งที่ 1, 7 กันยายน 2555 ณ โรงแรมดิเอมเมอรัลด์ รัชดาภิเษก ดินแดง กรุงเทพฯ. หน้า 467-473.

6.2 การผลิตบัณฑิต

- ผลิตบัณฑิตศึกษา 1 คน
  - นางสาวทัศนีย์ อินทร์วิมล หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตรการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง สำเร็จการศึกษาในปี พ.ศ. 2558

6.3 การนำไปใช้หรือต่อยอดในเชิงพาณิชย์

- การประยุกต์ใช้แบคทีเรียแลกติก *Pediococcus pentosaceus* M13 เป็นกล้าเชื้อในการผลิตหม้ำที่มีคุณภาพและความปลอดภัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

จินตนา ต๊ะย่วน. 2533. การศึกษาการยับยั้งจุลินทรีย์และการสร้างแบคเทอริโอซิน ของแบคทีเรียกรดแลคติก. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ, สกลนคร

เชิดชัย อริยานุชิตกุล, สรรเพชญ อังกิติตระกูล, อรุณ บุตรตาลี และน้อย ทองสกุลพานิชย์. 2553. ความชุกและการดื้อต่อสารต้านจุลชีพของเชื้อ *Salmonella* ที่แยกจากหม้ำดิบในอำเภอพล จังหวัดขอนแก่น. วารสารอาหารและยา 17 : 46 – 51.

นภา โล่ทอง. 2537. กล้าเชื้ออาหารหมักและเทคโนโลยีการผลิต.พิมพ์ครั้งที่ 3. พันนี่ พับลิชชิ่ง, กรุงเทพฯ.

บุษกร อุตรภิชาติ. 2552. จุลชีววิทยาทางอาหาร. โรงพิมพ์นำศิลป์โฆษณา, สงขลา

พรพิมล เทียนทอง. 2548. ผลของการใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ต่อเชื้อซัลโมเนลลาในระหว่างการผลิตแหนมแบบดั้งเดิมและการผลิตแหนมกึ่งแห้ง สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ

เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์. 2536. เทคโนโลยีเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

วิเชียร ลีลาวัชรมาศ. 2534. การผลิตอาหารหมักจากแลคติคแอสิคแบคทีเรีย. โปรซีดดิงส์แลคติค. แลคติกแอสิคแบคทีเรียในอุตสาหกรรมอาหารไทยครั้งที่ 1 28-29 ตุลาคม 2534. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน, กรุงเทพฯ.

วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล. 2536. ผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากจุลินทรีย์. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. สงขลา

ศิพัตม์ รักษ์เผ่า. 2539. ผลของเชื้อเริ่มต้นผสมในการหมักแหนมต่อการลดปริมาณ *Staphylococcus aureus*. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

สมพร ภูติยานันต์. 2542. ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับการแพทย์แผนไทย ว่าด้วยสมุนไพรกับการแพทย์แผนไทย. โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก, กรุงเทพฯ.

สรรเพชญ อังกิติตระกูล, ประสาน ตังควัฒนา, อรุณี พลภักดี และเดชา สิทธิกล. 2554. ความชุก และการดื้อต่อสารต้านจุลชีพของเชื้อ *Salmonella* ที่แยกได้จากเนื้อวัวในเขตเทศบาลนครขอนแก่น. วารสาร KKU Research journal มหาวิทยาลัยขอนแก่น 16(2) : 105-111.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2546. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม “หม้ำ” (มผช. 146/2546). กระทรวงอุตสาหกรรม, กรุงเทพฯ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สุกานดา วิชิตพันธุ์, กรกช ฮามสุโพธิ์ และคณิต วิชิตพันธุ์. 2551. การคัดเลือกเชื้อที่มีประสิทธิภาพในการผลิตหม่ำและไส้กรอกอีสาน. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สุขใจ โสมะจิตติ และ เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์. 2550. ชนิดและปริมาณแบคทีเรียที่แยกได้ในระหว่างการหมักหม้ำ. วารสารวิทยาศาสตร์ ม.ก. 6 : 2-9.

สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2549. ตำราจุลชีววิทยาทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 2. โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์, กรุงเทพฯ

สุเมธ เพียยุระ. 2550. การคัดเลือกแบคทีเรียแลคติก ที่สามารถผลิตแบคเทอริโอซิน เพื่อใช้เป็น กล้าเชื้อในการหมักหม้ำ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ

เสาวนิต ทองพิมพ์, สิรินทรเทพ เต้าประยูร และ สุธา ภู่สิทธิศักดิ์. 2525. การสำรวจหาเชื้อซาลโมเนลลาในปลาร้าในจังหวัดขอนแก่นและตรวจสอบความไวของเชื้อต่อสารปฏิชีวนะและซัลฟาบางชนิด. เอกสารรายงานการวิจัยลำดับที่ วท. 4/2525 คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 17 หน้า.

อรอนงค์ ทองมี. 2551. ความรู้เกี่ยวกับเนื้อสัตว์ สัตว์ปีก สัตว์น้ำและการปรุง. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต, กรุงเทพฯ

อรอนงค์ พริ้งศุลกะ. 2550. แบคทีริโอซินที่สร้างจากแบคทีเรียแลคติก. วารสารวิทยาศาสตร์มศว. 23(2) : 145-160.

อรัญญา สังขศรี. 2541. การยับยั้งแบคทีเรียในทางเดินอาหารโดย *Lactobacillus* spp. ที่แยกจากอาหารหมักพื้นเมืองของไทย. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา

อดิศร ดวงอ่อนนาม. 2554. ความชุกและซีโรวาร์ของซัลโมเนลลาในเนื้อโคที่จำหน่ายข้างถนนจากขั้นตอนการตัดแต่งซากในโรงฆ่าสัตว์ การขนส่งซาก และร้านจำหน่ายในจังหวัดร้อยเอ็ด. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยขอนแก่น

อดิศร เสวตวิวัฒน์ . 2533. ผลการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกต่อซัลโมเนลลาในการหมักแหนม. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ

อดิศร ดวงอ่อนนาม และคมกริช พิมพ์ภักดี. 2554. ความชุกและซีโรวาร์ของซัลโมเนลลาในเนื้อโคที่จำหน่ายข้างถนนจากขั้นตอนการตัดแต่งซากในโรงฆ่าสัตว์ การขนส่งซาก และร้านจำหน่ายในจังหวัดร้อยเอ็ด. การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัย ระดับบัณฑิตศึกษา ครั้งที่ 12. 28 มกราคม 2554. มหาวิทยาลัยขอนแก่น. หน้า 1105-1115.

อดิศร เสวตวิวัฒน์ และ อรุณ บ่างตระกูลนนท์. 2539. ประสิทธิภาพของ Salmosyst และอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ Rambach agar ต่อการตรวจหาซาลโมเนลลาในแหนม. ในการประชุมวิชาการครั้งที่ 34 สาขาสัตว์แพทย์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 272-279.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อรุณ บ่างตระกูลนนท์, ศรีรัตน์ พรเรืองวงศ์, นพรัตน์ หมานริม, วรชาติ เทียนชัยทัศน์ และสุมาลี บุญมา. 2542. การศึกษาการสำรวจหาเชื้อซัลโมเนลล่าในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ชนิดต่างๆ ที่จำหน่ายในตลาดสดและซุปเปอร์มาร์เก็ต. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 37 สาขาสัตว์ สาขาสัตวแพทยศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 3-5 กุมภาพันธ์ 2542. หน้า 412-419.

อรุณ บ่างตระกูลนนท์, นพรัตน์ หมานริม, ชัยวัฒน์ พูลศรีกาญจน์, ปฐม สวรรค์ปัญญาเลิศ และ อดิศร เสวตวิวัฒน์. 2547. เชื้อโรคอาหารเป็นพิษในอาหารหมักดองพื้นบ้านพร้อมบริโภค (กุ้งจ่อม ปลาจ่อม ปลาร้า ปูดอง). อาหาร. 34(1) : 90-99.

อังกูร เกิดพาณิช. 2549. บทความ ฟื้น วิชา Salmonella Infections. เวชสารแพทย์ทหารบก. 59 (4) ตุลาคม-ธันวาคม: 231-245.

อัจฉรา เพิ่ม. 2549. แบคทีเรียแลคติก. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา. หจก. ภาพพิมพ์, กรุงเทพฯ.

Adams, M.R. and C.J. Hall. 1988. Growth inhibition of food borne pathogens by lactic and acetic acids and their mixtures. Journal of Food Science Technology 23 : 287-292.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC) .1984. Official Methods of Analysis 14thed. Association of official analytical chemists. Arlington, Virginia, USA.

Bangtrakulnonth, A., S. Pornreongwong, C. Pulsrikarn, P. Sawanpanyalert, R. S. Hendriksen., D. M. A. L. F. Wong and F. M. Aarestrup. 2004. *Salmonella* serovars from humans and other sources in Thailand, 1993–2002. Emerging Infectious Diseases. 10 (1) : 131-136.

Caplice, E. and G. F. Fitzgerald. 1999. Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. International Journal of Food Microbiology 50 : 131 – 149.

De Vuyst, L. and E.J Vandamme. 1994. Antimicrobial potential of lactic acid bacteria. *In* De Vuyst, L. and E.J. Vandamme. (eds.). Bacteriocins of lactic acid bacteria - Microbiology, Genetics and Applications. Chapter and Hall, New York.

DMSc-ACFS. 2003. Compendium of Methods for Food Analysis. 1st Edition. Department of Medical Sciences (DMSc) and National Bureua of Agricultural Commodity and Food Standards (ACFS).

Erkkilä, S., M.L. Suihko, S. Earola, E. Petäjä and T. Mattila-Sandholm. 2001. Dry sausage fermented by *Lactobacillus rhamnosus* strains. International Journal of Food Microbiology. 64: 205-210.

Francis. F. J. 2000. Encyclopedia of Food Science and Technology. 2nd ed. Vol. 3. John Wiley & Sons, New York.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lawson, L. D. and C. D. Gardner. 2005. Composition, stability and bioavailability of garlic product used in clinical trial. Journal of Agricultural and Food Chemistry 53 (6): 6254-6261.

Nassu, R.T., L.A.G. Goncalves and F.J. Beserra. 2002. Use of different starter culture in processing of goat meat fermented sausages. Ciencia-Rural. Santa Maria. 32(6): 1051-1055.

Parente, E., C. Brienza, M. Moles and A. Ricciardi. 1995. A comparison of methods for the measurement of bacteriocin activity. Journal of Microbiology Methods. 22 (1): 95-108.

Piayura, S., P. Pinsirodom, Y. Surapanthapisit and A. Swetwiwathana 2006. Screening of bacteriocin-producing bacteria associated in traditional Thai fermentation beef (MUM). 52nd International Congress of Meat Science and Technology: Harnessing and Exploiting Global Opportunities. Edited by Troy et al. Wageningen Academic Publishers. The Netherlands. pp 329-330.

Sahl, H.G., R.W. Jack and G. Bierbaum. 1995. Biosynthesis and biological activities of lantibiotics with unique post-translational modification. European Journal of Biochemistry. 230(3): 827-853.

Salminen, S and A.V.W. Wrigth. 1993. Lactic Acid Bacteria. Marcel Dekker. New York.

Talia M, I. Shin, G. Feigenblat, L. Weiner, D. Mirelman, M. Wilchek, and A. Rabinkov. 2001. A spectrophotometric a say for allincin, alliin, and alliinase (alliin lyase) with a chromogenicthiol: reaction of 4-mercaptopyridine with thiosulfinates. Analytical Biochemistry. 307: 76–83.

Swetwiwathana, A. 1999. Bacteriostatic effects of garlic extract on meat lactic acid starter cultures and mostly found pathogens in Nham (an in *vitro* study). Food Journal. 29 : 107-108.

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

Swetwiwathana, A. and N. Lotong. 1999. Selection of bacteriocin producing lactic acid bacteria from nham (Thai fermented meat). Proceeding of International Conferences on ASIAN Network on Microbial Researchers. November 29 – December 1, 1999. Chiang Mai, Thailand. PIII/16:543-548.

Swetwiwathana, A., N. Lotong and A. Fischer. 2002. Use of pediocin PA-1 Producer (*Pediococcus pentosaceus* TISTR 536) to control *Salmonella* Anatum in nham (Thai fermented meat). The 48th International Congress of Meat Science and Technology (ICOMST) Proceeding. Volume II. August 25-30, 2002. Rome, Italy. pp 966-967.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Swetwiwathana, A., N. Lotong, J. Nakayama and K. Sonomoto. 2004. Effect of garlic and nitrite on pediocin PA-1 production of *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 and the growth of *Salmonella anatum* in simulated Nham fermentation. Proceeding of the 1th KMITL International Conference on Integration of Science and Techlogy for Sustainable Development. August 25-26, 2004. Bangkok, Thailand. pp. 363–366.

Swetwiwathana, A., N. Lotong, J. Nakayama, and K. Sonomoto. 2007. Maturation of Nham – a Thai fermented meat product : Effect of pediocin PA-1 producer (*Pediococcus pentosaceus* TISTR 536) as starter culture, nitrite and garlic on *Salmonella* Anatum during Nham fermentation. Fleischwirtschaft International. 22(3): 46-49.

Visessanguan, W., S. Benjakul, T. Smitinonta, C. Kittikuna, P. Thepkasikula. and A. Panya. 2006. Changes in microbiological, biochemical and physico-chemical properties of Nham inoculated with different inoculum levels of *Lactobacillus curvatus*. LWT - Food Science and Technology. 39 : 814-826.

Ziauddin, K. S., D. N. Rao and B. L. Amla. 1993. In *vitro* study on the effect of lactic acid and sodium choride on spoilage and pathogenic bacteria of meat. Journal Food Science and Technology (India). 33 (3): 204-207.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

ก1. การเตรียมแบบจำลองการหมักหม้ำ (ดัดแปลงจาก Nham Model Broth, NMB)

(Swetwiwathana et.al., 1999)

Beef extract	10.0	g
Tryptone	10.0	g
Ascorbic acid	0.5	g
Glucose	10.0	g
Sodium tripolyphosphate	3.0	g
NaCl	25.0	g
Sodium nitrite	0.1	g
Glycerol	40.0	ml
D.W.	1.0	L

หมายเหตุ : ใช้กรดแลคติก 90 เปอร์เซ็นต์ ในการปรับค่าความเป็นกรดด่างให้มีค่าเท่ากับ 4.5, 5.0 และ 5.5 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
การตรวจวิเคราะห์ทางเคมีตัวอย่างหมำ

ข1. การวิเคราะห์หาปริมาณกรดแลคติก (ดัดแปลงจาก AOAC,1984)

ชั่งตัวอย่างหมำ 5 กรัม บดให้ละเอียดเติมน้ำกลั่นที่ผ่านการต้มไล่แก๊ซคาร์บอนไดออกไซด์ 45 มิลลิลิตร เติมสารละลายฟีนอลทาลีน 2-3 หยด ไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 N จนกระทั่งถึงจุดยุติ เกิดสีชมพู คำนวณหาเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก ตามสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก} = \frac{N \times V \times 90.01 \times 100}{1000 \times \text{น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)}}$$

N = ความเข้มข้นของสารละลายมมาตราฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 N

V = ปริมาตรของสารละลายมมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 N ที่ใช้ไตเตรท (มิลลิลิตร)

ข2. การวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (ดัดแปลงจาก AOAC,1984)

นำตัวอย่างหมำ 5 กรัม มาบดให้ละเอียด เติมน้ำกลั่น 45 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันด้วยเครื่องวัดความเป็นกรดด่าง รุ่น cyberscan 510 singapore

ข3. การวิเคราะห์ค่าวอเตอร์แอคทีวิตี้ (Aw) (Novasina รุ่น MS1-Aw Switzerland)

ทำการตรวจวิเคราะห์ค่าวอเตอร์แอคทีวิตี้ โดย นำตัวอย่างหมำ บดให้ละเอียด บรรจุลงในตลับสำหรับวัดค่า แล้วนำตลับที่ใส่ตัวอย่างไปเข้าเครื่องตรวจวิเคราะห์ค่าวอเตอร์แอคทีวิตี้ รุ่น MS1-Aw Switzerland ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

ข4. การวัดค่าสี (เครื่องวัดสี AMT500 Colorimeter)

ทำการตรวจวิเคราะห์ค่าสี โดย นำตัวอย่างหมำ มาบี้ใส่ในจานเพาะเชื้อให้ทั่วไม่ให้มีแสงผ่านทำการวัดโดยวัดสี 10 ซ้ำ บันทึกค่า สี L*, a*, b* นำมาหาค่าเฉลี่ย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
การวิเคราะห์ทางชีวภาพตัวอย่างหมั้า

ค1. การวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติกในผลิตภัณฑ์หมั้า

1) เตรียมตัวอย่างหมั้า 25 กรัม ลงในถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ

2) เทน้ำยาเจือจางจาง Buffered Peptone Water 225 มิลลิลิตร ตีปั่นให้เข้ากันด้วยเครื่อง Stomacher

3) ทำการเจือจางตัวอย่าง 7 ระดับการเจือจางตามความเหมาะสมด้วยน้ำยาเจือจางปริมาตร 9 มิลลิลิตร

4) ดูดตัวอย่างแต่ละเจือจางหยดลงบน MRS agar + แคลเซียมคาร์บอเนต 0.5 เปอร์เซ็นต์ ความเจือจางละ 2 จานเพาะเชื้อ จานละ 1 มิลลิลิตร

5) pour plate ให้ครบทุกระดับการเจือจาง

6) บ่มเพาะเชื้อทั้งหมดใน candle jar ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

7) ตรวจนับโคโลนีที่มีวงใส (clear zone) จากความเจือจางที่เหมาะสม

ค2. การวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อแบคทีเรียรวมในผลิตภัณฑ์หมั้า

1) เตรียมตัวอย่างหมั้า 25 กรัม ลงในถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ

2) เทน้ำยาเจือจางจาง Buffered Peptone Water 225 มิลลิลิตร ตีปั่นให้เข้ากันด้วยเครื่อง Stomacher

3) ทำการเจือจางตัวอย่าง 7 ระดับการเจือจางตามความเหมาะสมด้วยน้ำยาเจือจางปริมาตร 9 มิลลิลิตร

4) ดูดตัวอย่างแต่ละเจือจางหยดลงบน TSA agar ความเจือจางละ 2 จานเพาะเชื้อ จานละ 1 มิลลิลิตร

5) pour plate ให้ครบทุกระดับการเจือจาง

6) บ่มเพาะเชื้อทั้งหมด ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

7) ตรวจนับโคโลนี จากความเจือจางที่เหมาะสม

ค3. วิธีการตรวจวิเคราะห์เชื้อซัลโมเนลลาอาจปนเปื้อนในหมั้า

นำตัวอย่างหมั้า มาตรวจวิเคราะห์เชื้อซัลโมเนลลาที่อาจพบการปนเปื้อนได้ในผลิตภัณฑ์ตามแผนผังแสดงวิธีการ ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่งตัวอย่างหมั้าแบบวิธีการ aseptic technique 25 กรัม ลงในถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ เติมอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ปริมาณ 225 มิลลิลิตร

↓

ตีปั่นด้วย stomacher ให้ส่วนผสมเข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

↓

ถ่ายสารละลายเชื้อ 10 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองปราศจากเชื้อ และเติม Salmosyst tablet จำนวน 1 เม็ด เขย่าส่วนผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสารละลาย บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

↓

เขี่ยเชื้อจากหลอดตัวอย่างเชื้อ 1 ลูป (streak) ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD และ BS บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

↓

สุ่มโคโลนีที่สงสัยว่าเป็นเชื้อซัลโมเนลลาจากอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD และ BS อย่างละ 3 โคโลนี

↓

เพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร Triple sugar iron (TSI) slant agar และ Lysine indole motility (LIM) medium บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

↓

หยดสารละลายโคแวค (KOVAC's indole reagent) ลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ LIM และตรวจสอบผลเชื้อซัลโมเนลลา ตามตารางที่ ค1.

ตารางที่ ค1. ตารางเทียบผลการตรวจวิเคราะห์เชื้อซัลโมเนลลา

TSI				LIM		
Slant	butt	H_2S	gas	lysine	indole	motile
K	A	+/-	+/-	+	-	+/-

ตรวจสอบจากอาหารเลี้ยงเชื้อ TSI

K = alkaline ปลายหลอด (slant) ของ TSI จะมีสีแดงหรือสีชมพูบานเย็น

A = acid ก้นหลอด (butt) ของ TSI จะมีสีเหลือง

H_2S+ = ในหลอด TSI จะเกิดตะกอนสีดำของก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟต์ ซึ่งเชื้อซัลโมเนลลาส่วนใหญ่จะต้องให้ผล +

H_2S- = ในหลอด TSI จะไม่เกิดตะกอนสีดำของก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

gas + = มีฟองอากาศดันวุ้นของ TSI เนื่องจากเชื้อซัลโมเนลลาส่วนใหญ่สามารถหมักย่อยน้ำตาลกลูโคสแล้วได้กรดและก๊าซเพียงเล็กน้อย

gas - = ไม่พบฟองอากาศในหลอด TSI (มีบางเซโรวาร์ให้ผล -)

ตรวจสอบจากอาหารเลี้ยงเชื้อ LIM

lysine + = หลอดอาหารจะมีสีม่วงทั้งหลอด เนื่องจากเชื้อซัลโมเนลลา มีเอนไซม์ lysine decarboxylase ไปย่อย lysine ส่งผลให้อาหารเลี้ยงเชื้อ lysine มีความเป็นด่างมากขึ้นมีผลทำให้ bromcresol purple ซึ่งใช้เป็นอินดิเคเตอร์ ในอาหารดังกล่าวและมีสีม่วงซึ่งมี pH เป็นกลางเปลี่ยนเป็นมีสีม่วงมากขึ้น ซึ่งเชื้อซัลโมเนลลาส่วนใหญ่จะมีเอนไซม์ตัวนี้

lysine - = หลอดอาหารจะมีสีเหลือง เนื่องจากเชื้อที่ทำการทดสอบไม่มีเอนไซม์ lysine decarboxylase แต่มีเอนไซม์ lysine deaminase ซึ่งจะไปย่อย lysine ทำให้ pH ของอาหารต่ำลงมีผลทำให้ bromcresol purple เปลี่ยนเป็นสีเหลือง

indole + = จะมีสีแดงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ หลังจากหยดน้ำยาโคแวค

indole - = ไม่เกิดสีแดงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ หลังจากหยดน้ำยาโคแวค ซึ่งเชื้อซัลโมเนลลาจะไม่มีเอนไซม์ tryptophanase จึงไม่เกิดปฏิกิริยากับน้ำยาโคแวค

motile + = หลอดอาหาร LIM จะขุ่นทั้งหลอด เนื่องจากเชื้อซัลโมเนลลาส่วนใหญ่จะมีแฟลกเจลลาใช้ในการเคลื่อนที่ ดังนั้นเมื่อทำการ stab เชื้อลงในอาหาร LIM แล้วบ่มเพาะเชื้อโดยเชื้อซัลโมเนลลาที่เจริญจะเคลื่อนที่ออกจากรอย stab ไปทุกทิศทุกทาง

ค4. การหาค่าปริมาณ *Escherichia coli* (3M petriflim)

1) เตรียมตัวอย่างหมู 25 กรัม ลงในถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ

2) เทน้ำยาเจือจางจาง Buffered Peptone Water ตีปั่นให้เข้ากันด้วยเครื่อง Stomacher

3) ทำการเจือจางตัวอย่าง 7 ระดับการเจือจางตามความเหมาะสมด้วยน้ำยาเจือจาง ปริมาตร 9 มิลลิลิตร

4) ทำการเพาะเลี้ยงลงใน *Escherichia coli* (3M petriflim) ระดับความเจือจางละ 2 แผ่น แผ่นละ 1 มิลลิลิตร บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

5) ตรวจนับโคโลนี จากความเจือจางที่เหมาะสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค5. วิธีการวิเคราะห์หาความเข้มข้นของแบคเทอริโอซินโดยวิธี Spot on-lawn

1) นำตัวอย่างแบคทีเรียแลคติก *P. pentosaceus* M13 มาเพาะลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 9 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 18-24 ชั่วโมง

2) นำเชื้อแบคทีเรียแลคติก *P. pentosaceus* M13 ที่ได้ทำการบ่มในข้อที่ 1 มาเหวี่ยงเซลล์ที่ความเร็วรอบ 5,500 rpm เป็นเวลา 15 นาที

3) ดูดส่วนใสที่ได้โดยใช้หลอดฉีดยา sterilize กรองด้วยชุดกรองเมมเบรนขนาด 0.2 µm ลงในหลอดที่ปราศจากเชื้อ

4) นำของเหลวที่ผ่านการกรองลงในหลอด eppendorf ที่ปราศจากเชื้อแล้วทำการเจือจางสารละลายที่ผ่านการกรองแบบ 2 fold dilution (Crude pediocin PA-1)

5) นำเชื้ออินดิเคเตอร์ *Lb. sakei* subsp. *sakei* (JCM 1157^{T}) 10 µl ลงใน MRS soft agar ส่วนผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสารละลายเททับลงบนอาหาร Nutrient agar ทิ้งไว้ให้อาหารแข็งตัว

6) เมื่อเพลทแห้งแบ่งจานเพาะเชื้อออกเป็นช่องๆจำนวนแปดช่องที่เพลท หยด pediocin PA-1 ลงบนผิวหน้าอาหารในแต่ระดับความเจือจาง 1:0 – 1:128 ลงในช่อง ช่องละ 10 µl นำไปบ่มใน candle jar ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

7) ตรวจดูการเกิดโซนใส (clear zone) และคำนวณหาความเข้มข้นของสารยับยั้งที่แบคทีเรียแลคติกผลิตได้เป็นค่า Arbitary Unit (AU)/ml

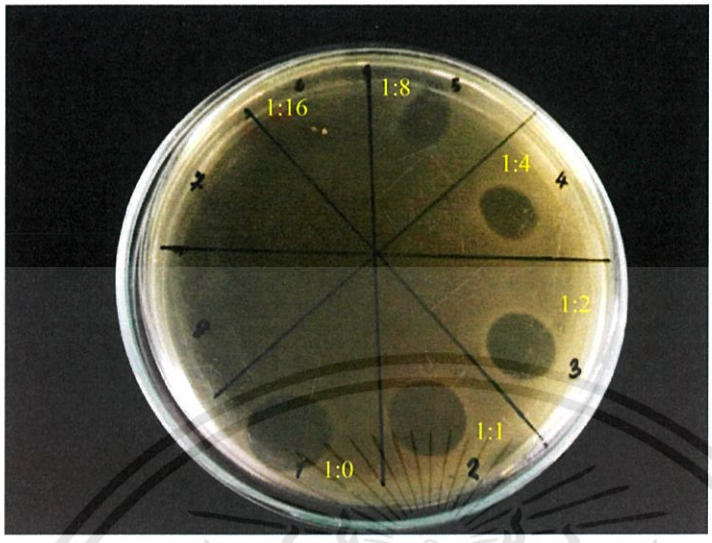
ค6. วิธีคำนวณระดับความเข้มข้นของแบคเทอริโอซิน (หน่วยเป็น AU/ml)

ค่ากิจกรรมของแบคเทอริโอซิน เท่ากับ ค่าความเจือจางสูงสุดของอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่เป็นส่วนใส (clear zone) ที่เกิดจากการถูกยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ โดยคำนวณจากส่วนกลับของค่าความเจือจางสูงสุดของเหลวที่เป็นส่วนใส (Parente et al., 1995)

ตัวอย่าง

แบคทีเรียแลคติกสายพันธุ์ *P. pentosaceus* M13 ผลิตสารแบคเทอริโอซินที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *Lb.sakei* subsp. *sakei* (JCM 1157^{T}) ที่ระดับความเจือจางสุดท้าย 1:16 สามารถคำนวณระดับความเข้มข้นของแบคเทอริโอซิน (หน่วยเป็น AU/ml) ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพผนวกที่ ค1 แสดงค่าการยับยั้งแบคทีเรียแลคติกสายพันธุ์ *P. pentosaceus* M13 โดยใช้เชื้อ *Lb. sakei* subsp. *sakei* (JCM 1157^{T}) เป็นเชื้อแบคทีเรียทดสอบ

โดยนำระดับความเจือจางสุดท้ายของแบคเทอริโอซินไปคำนวณ โดยใช้สูตรดังนี้

ค่ากิจกรรมของแบคเทอริโอซิน (AU/ml) = ระดับการเจือจางสุดท้ายที่แสดงบริเวณใส×1000 / ปริมาตรแบคเทอริโอซิน (10 ไมโครลิตร)

= 16×1000 / 10

= 1,600 AU/ml

ดังนั้น แบคเทอริโอซินที่ผลิตจาก แบคทีเรียแลคติกสายพันธุ์ *P. pentosaceus* M13 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Lb. sakei* subsp. *sakei* (JCM 1157^{T}) ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 1,600 AU/ml

ค7. การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การบาดเจ็บของเชื้อซัลโมเนลลา

= (จำนวนโคโลนีของเชื้อที่ขึ้นบนอาหาร TSA − จำนวนโคโลนีของเชื้อที่ขึ้นบนอาหาร XLD) × 100 / จำนวนโคโลนีของเชื้อที่ขึ้นบนอาหาร TSA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

สรุปค่าใช้จ่ายการดำเนินโครงการวิจัย

รหัสโครงการ/รหัสสัญญา.....

แบบรายงานการใช้จ่ายเงินโครงการวิจัย
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
รายงานความก้าวหน้า ครั้งที่ - รอบ - เดือน ประจำปีงบประมาณ 2555

☐ แหล่งงบประมาณแผนดิน (แบบปกติ) ☑ แหล่งเงินรายได้

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) ผลของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกต่อการควบคุมการเจริญของเชื้อซัลโมเนลลาในระหว่างการหมักหน้ำ

(ภาษาอังกฤษ) Effect of lactic acid bacteria starter on growth of *Salmonella* spp. during Mum fermentation

ชื่อ-สกุลหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน/ผู้วิจัย ผศ.ดร. อพัชชา จินดาประเสริฐ และ รศ. ดร. อดิศร เสวตวิวัฒน์

ระยะเวลาดำเนินการ 1 ปี เดือน ตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม 2554 ถึงวันที่ 30 กันยายน 2555

ข้อมูลการรายงานค่าใช้จ่ายงบประมาณโครงการวิจัย

1. การเบิกจ่ายงบประมาณ

งวดที่ 1 73,000 บาท 100 % วันที่ได้รับอนุมัติให้เบิกจ่ายเงิน -

2. สรุปค่าใช้จ่ายการดำเนินการวิจัย

หมวดค่าใช้จ่าย	ค่าใช้จ่าย (บาท)
งบบุคลากร :ค่าจ้างชั่วคราว	-
งบดำเนินงาน	
ค่าตอบแทน	18,000.00
ค่าใช้สอย	10,000.00
ค่าวัสดุ	45,000.00
ค่าสาธารณูปโภค	-
งบลงทุน: ค่าครุภัณฑ์	-
รวม	73,000.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัตินักวิจัย

1. ดร. อพัชชา จินดาประเสริฐ

เพศ ☐ ชาย √ หญิง

สถานภาพ ☐ โสด √ สมรส

ตำแหน่งปัจจุบัน

อาจารย์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ถนนฉลองกรุง เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

ประวัติการศึกษา

ชื่อปริญญา	สาขา	สถาบันที่จบ	ปีที่จบ
วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต	เภสัชเคมีและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2551
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต	เทคโนโลยีทางชีวภาพ	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2537
วิทยาศาสตรบัณฑิต	เทคโนโลยีชีวภาพ	มหาวิทยาลัยขอนแก่น	2534

สาขาวิจัยที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา)

- เทคโนโลยีชีวภาพผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ
- จุลชีววิทยาและความปลอดภัยทางอาหาร
- การประยุกต์ใช้เทคนิคพีซีอาร์ในการตรวจสอบเชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร

ผลงานวิจัยและการเสนอผลงานวิชาการ

1. ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการ

- Jindaprasert, A., Tomanit, S., Swetwiwathana, A. and Chuen-Im Ahmed, S. 2011. Effect of probiotic and temperature on survival of *Escherichia coli* 0157:H7 during storage of probiotic set yoghurt. King Mongkuts Agricultural Journal. 29 (3-1): 67-75. (in Thai)
- Jindaprasert, A., Samappito, S., Springob, K., Schmidt, J., Gulder, T., De-Eknamkul, W., Bringman, G. and Kutchan, T.M. 2010. *In vitro* plants, callus and root cultures of *Plumbago indica* and their biosynthetic potential for plumbagin. King Mongkut's Agro-Industry Journal. 2 (1): 53-65.
- Rinthong, P., Jindaprasert, A. and De-Eknamkul, W. 2009. Simple Densitometric TLC Analysis of Plaunotol for Screening of High-Plaunotol-Containing Plants of *Croton stellatopilosus* Ohba. Journal of Planar Chromatography 22 (1): 55-58.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Jindaprasert, A., Springob, K., Schmidt, J., De-Eknamkul, W. and Kutchan, T.M. 2008. Pyrone polyketides synthesized by a type III polyketide synthase from *Drosophyllum lusitanicum*. Phytochemistry 69: 3043–3053.

- Springob, K., Samappito, S., Jindaprasert, A., Schmidt, J., Page, J.E., De-Eknamkul, W. and Kutchan, T.M., 2007. A polyketide synthase of *Plumbago indica* that catalyzes the formation of hexaketide pyrones. FEBS Journal. 274 : 406-417.

- Jindaprasert, A. 2000. Plaun-Noi: Thai medicinal plant for peptic ulcer treatment. King Mongkut's Agricultural Journal. 18 (3): 69-72. (in Thai)

- Vongcharoensathit, A. and De-Eknamkul, W. 1998. Rapid TLC-densitometric analysis of plaunotol from *Croton sublyratus* leaves. Planta Medica. 64 (3): 279-280.

2. ผลงานที่ได้รับการนำเสนอผลงานในที่ประชุม :

- Jindaprasert, A., Jirajaroenrat, K. and Swetwiwathana, A. 2012. Microbial community during Thai traditional fermented sausage (Isan sausage) fermentation. The 24th Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology, November 29-30th, 2012, Sunee Grand Hotel and Convention Center, Ubon Ratchatani, Thailand. pp. 549-551.

- Morklang, M. and Jindaprasert, A. 2012. Effects of distilled vinegar, potassium permanganate and sodium bicarbonate on reduction of *Salmonella* Typhimurium *in vitro*. The Proceeding of 1st KMITL Agro-Industry Conference, September 7th, 2012. The Emerald Hotel, Bangkok, Thailand. pp. 89-93 (in Thai).

- Inwimol, T., Jindaprasert, A. and Swetwiwathana, A. 2012. The study of growth, lactic acid and bacteriocin production of *Pediococcus pentosaceus* M13 in MRS broth. The Proceeding of 1st KMITL Agro-Industry Conference, September 7th, 2012. The Emerald Hotel, Bangkok, Thailand. pp. 467-473 (in Thai).

- Limsombun, T., Nakrin, C., Banjong, K., Jindaprasert, A. and Swetwiwathana. A. 2012. Hygienic situation of mum processing plants in Chaiyaphum province under Thai GMP. Proceedings of 50th Kasetsart University Annual Conference: Agro-Industry. January 31st -February 2nd, 2012, Kasetsart University, Bangkok, Thailand. pp 287-294 (in Thai).

- Jindaprasert, A., Jirajaroenrat, K. and Swetwiwathana, A. 2011. Characterization of lactic acid bacteria in Thai traditional fermented sausage during fermentation and storage. The 4th International Conference on Fermentation Technology for Value Added Agricultural Products, August 29th -31st, 2011, Kosa Hotel, Khon Kaen, Thailand. Fer1 P9, 7 pages.

- Booppata, M., Jindaprasert, A., Jirajaroenrat, K. and Srikijkasemwat, K. 2011. Selection of cellulose and xylanase producing bacteria from buffalo rumen. The 4th International Conference on Fermentation Technology for Value Added Agricultural Products, August 29th -31st, 2011, Kosa Hotel, Khon Kaen, Thailand. Fer4 P34, 7 pages.

- Thaenkudrun, P., Jindaprasert, A. and Jirajaroenrat, K. 2011. Cloning of a cellulase gene from *Bacillus* sp. and expression in *Escherichia coli*. The 4th International Conference on Fermentation Technology for Value Added Agricultural Products, August 29th -31st, 2011, Kosa Hotel, Khon Kaen, Thailand. Fer4 P15, 6 pages.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Siraprapapat, P., Jindaprasert, A. and Jirajaroenrat, K. 2011. Expression and secretion of heterologous alpha-amylase in yeast *Kluyveromyces lactis*. The 4th International Conference on Fermentation Technology for Value Added Agricultural Products, August 29th -31st, 2011, Kosa Hotel, Khon Kaen, Thailand. Fer4 P33, 6 pages.

- Srichareon, D., Jindaprasert, A., Swetwiwathana, A. and Banjong, K. 2011. Study on mold contamination in a pasteurized milk filling process. Burapha University National Conference 2011, July 6-7th, 2011. Burapha University, Chonburi, Thailand. 10 pages (in Thai).

- Chantanayingyong, K., Jindaprasert, A., Banjong, K., Swetwiwathana, A. and Krusong, W. 2011. Effects of distilled vinegar on *Salmonella* Bangkok, *Salmonella* Ratchaburi and *Salmonella* Lamphun reduction *in vitro*. STDC 2011, June 30th – July 1st, 2011, Faculty of Science and Technology, Thammasart University (Rangsit Campus). pp 248-255 (in Thai).

- Veerawatanayotin, S., Jindaprasert, A., Pilasombut, K., Sethakul, J. and Swetwiwathana, A. 2010. Effect of pediocin PA-1, pH and nitrite on *Salmonella* Anatum and S. Ratchaburi in simulated Nham (traditional Thai fermented meat sausage) model broth. Proceeding 56th International Congress of Meat Science and Technology (ICOMST 2010), August 15-20th, 2010, Jeju, Korea. 4 pages.

- Pawkratok, N., Jindaprasert, A., Pilasombut, K., Sethakul, J. and Swetwiwathana, A. 2010. Effect of bacteriocin-producing *Weissella cibaria* SI21 and *Lactobacillus plantarum* RS49 on *Staphylococcus aureus* in Isan sausage (traditional Thai fermented mea-rice sausage) model broth. Proceeding 56th International Congress of Meat Science and Technology (ICOMST 2010), August 15-20th, 2010, Jeju, Korea. 4 pages.

- Saisawart, P., Jindaprasert, A., Krusong, W. and Swetwiwathana, A. 2010. Effect of chitosan on associated bacterial pathogen in Nham (traditional Thai fermented meat sausage) model broth. Proceeding 56th International Congress of Meat Science and Technology (ICOMST 2010), August 15-20th, 2010, Jeju, Korea. 3 pages.

- Tomanit, S., Jindaprasert, A., Swetwiwathana, A., Chuen-Im Ahmed, S. 2010. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in the production and storage of probiotic set yoghurt. STDC 2010, March, 19th, 2010, Faculty of Science and Technology, Thammasart University (Rangsit Campus). 6 pages (in Thai).

- Namwong, C., Jindaprasert, A., Swetwiwathana, A. and Chuen-Im Ahmed, S. Factors affecting microbial contamination in the production of set-type yoghurt. The 11th Graduate Research Conference Khon Kaen University. February 12th, 2010, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand. pp 898-906 (in Thai).

- Intree, S., Jindaprasert, A., Nitisinprasert, S. and Swetwiwathana, A. 2010. Identification of wild yeast contaminants in lager brewing process. Proceedings of 48th Kasetsart University Annual Conference: Agro-Industry. February 3rd -5th, 2010, Kasetsart University, Bangkok, Thailand. pp 287-294 (in Thai).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. นางสาวทัศนีย์ อินทร์วิมล

เพศ	☐ ชาย √ หญิง
สถานภาพ	√ โสด ☐ สมรส
วัน เดือน ปี เกิด	วันที่ 12 มิถุนายน พ.ศ. 2528
ที่อยู่	169/1 หมู่ 3 ต.งิ้วราย อ.นครชัยศรี จ.นครปฐม 73120
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต ปีการศึกษา พ.ศ. 2550 และศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ปีการศึกษา พ.ศ. 2553 และสำเร็จการศึกษาในปี พ.ศ. 2558
ประวัติการทำงาน	ปี พ.ศ. 2550 - ปัจจุบัน เจ้าหน้าที่งานอนามัยและสุขาภิบาล มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต
การนำเสนอผลงาน	ทัศนีย์ อินทร์วิมล อพัชชา จินดาประเสริฐ และ อดิศร เสวตวิวัฒน์. 2555. การศึกษาการเจริญ การผลิตกรดแลคติกและแบคเทอริโอซินของ *Pediococcus pentosaceus* M13. อุตสาหกรรมเกษตรไทยเทิดไท้องค์ราชัน. การประชุมวิชาการอุตสาหกรรมเกษตร สจล. ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ดร. อดิศร เสวตวิวัฒน์

เพศ √ ชาย ☐ หญิง

สถานภาพ โสด √ สมรส

ตำแหน่งปัจจุบัน

รองศาสตราจารย์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ถนนฉลองกรุง เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

ประวัติการศึกษา

ชื่อปริญญา	สาขา	สถาบันที่จบ	ปีที่จบ
Ph.D.	Agricultural Science	Kyushu University, Japan	2548
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต	จุลชีววิทยา	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	2533
วิทยาศาสตรบัณฑิต	ชีววิทยา	มหาวิทยาลัยรามคำแหง	2529

สาขาวิจัยที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา)

จุลชีววิทยาอาหารและอาหารหมักพื้นบ้าน การจัดการด้านสุขาภิบาลโรงงานอาหาร การควบคุมคุณภาพโรงงานอาหารโดยใช้ระบบ GMP, HACCP

ผลงานวิจัย

1. ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสารระดับระดับชาติและนานาชาติ

1. ประสงค์สม ปุณยอุปพัทธ์ วราวุฒิ ครูส่ง และ อดิศร เสวตวิวัฒน์. 2545. หลักการปฏิบัติที่ดีในการผลิตอาหารหมักพื้นบ้านของไทย. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 20(3) : 74 – 87.

2. อรุณ บ่างตระกูลนนท์ นพรัตน์ หมานริม ชัยวัฒน์ พูลศรีกาญจน์ ปฐม สวรรค์ปัญญา เลิศ และ อดิศร เสวตวิวัฒน์. 2547. เชื้อโรคอาหารเป็นพิษในอาหารหมักดองพื้นบ้านพร้อมบริโภค (กุ้งจ่อม ปลาจ่อม ปลาร้า ปูดอง). อาหาร. 34 (1) : 90 – 99.

3. อดิศร เสวตวิวัฒน์ วราวุฒิ ครูส่ง ศรีรัตน์ พรเรืองวงศ์ และ อรุณ บ่างตระกูลนนท์.2548. เปรียบเทียบอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อในขั้นตอน selective enrichment และ isolation ในการตรวจหาเชื้อซาลโมเนลลาในเนื้อหมูสดจำหน่ายปลีก. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 23(1) : 1 – 13.

4. ศศิวิมล ชื่นอิ่ม อาเหม็ด และ อดิศร เสวตวิวัฒน์. 2548. การใช้ประโยชน์และการตรวจหาแบคทีเรียแลกติกในอาหาร. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 23(1) : 88 – 101.

5. สมัญญา สุขพหล อรุณ บ่างตระกูลนนท์ เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์ ประภาพร ขอไพบูลย์ และ อดิศร เสวตวิวัฒน์. 2549. การเปรียบเทียบอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อในขั้นตอน Selective enrichment และ selective plating ในการตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาในเนื้อโคชำแหละจำหน่ายปลีก. การประชุมสัมมนาวิชาการอุตสาหกรรมเกษตร ครั้งที่ 8. 15-16 มิถุนายน 2549. ศูนย์ประชุมนานาชาติไบเทค บางนา กรุงเทพ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. Swetwiwathana, A., Lotong, N., Fischer, A., and Sonomoto, K. 2001. Potential for Use of Isolated Bacteriocin-producing *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 from Nham (Thai Fermented Meat) to Control the Growth of *Salmonella anatum* [An In-vitro Study]. The 47th International Congress of Meat Science and Technology (ICoMST) Proceedings. Volumn II : P : 18-19. August 26-31, 2001. Krakow, Poland.

7. Pilasombut, K., Waljjwalku, W., Nitisinprasert, S., Swetwiwathana, A. and Sakpuaram, T. 2002. Isolation of lactic acid bacteria and its characterization of bacteriocin-like activity from chicken intestine. The 14 th Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology. November 12-15. Khon Kaen, Thailand.

8. Swetwiwathana, A., Lotong, N., Fischer, A. 2002. Use of Pediocin PA-1 Producer (*Pediococcus pentosaceus* TISTR 536) to Control *Salmonella anatum* in Nham (Thai Fermented Meat). The 48th International Congress of Meat Science and Technology (ICoMST) Proceedings. Volumn II : P : 966-967.August 25-30, 2002. Rome, Italy.

9. Swetwiwathana, A., Zendo, T., Lotong, N., Nakayama, J., and Sonomoto, K. 2003. Screening of Bacteriocin-producing Bacteria Associated in Nham (Traditional Thai Fermented Meat). The 49th International Congress of Meat Science and Technology (ICoMST) Proceedings. P. 322 - 324. August 31 – September 5, 2003. Sao Paulo, Brazil.

10. Swetwiwathana, A., Zendo, T., Lotong, N., Nakayama, J., and Sonomoto, K. 2004. Identification of Pediocin PA-1 Producing *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 Isolated from Nham (Thai Fermented Meat). The 50th International Congress of Meat Science and Technolo-gy (ICoMST) Proceeding. August 8-13, 2004. Helsinki, Finland.

11. Swetwiwathana, A., Lotong, N., Nakayama, J., and Sonomoto, K. 2004. Effect of Garlic and nitrite on Pediocin PA-1 production of *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 and the Growth of *Salmonella anatum* in Simulated Nham Fermentation. Proceeding of the 1th KMITL International Conference on Integration of Science and Technology for Sustainable Development Bangkok, Thailand. August 25-26, 2004 pp. 363–366.

12. Angsujinda, S., Swetwiwathana, A., Suraphantaphisit, Y., and Pinsirodom, P. 2005. Antimicrobial Effect of Roselle (*Hibicus sabdariffa* Linn.) Extract against Bacterial Pathogens Associated in Thai Fermented Meat (Nham). The 51st International Congress of Meat Science and Technology (ICoMST) Proceeding (in CD). August 7-12, 2005, Baltimore, USA.

13. Pilasombat, K., Wajjwalku, W., Nitisinprasert, S., Swetwiwathana, A., Zendo, T., Nakayama, J., Sonomoto, K., and Sakpuarum, T. 2005. Screening and Characterization of Bacteriocin Producing Lactic Bacteria Isolated from Chicken Intestine. Kasetsart J. (Nat. Sci.) 39 (4) : 612-621.

14. Piayura, S., Pinsirodom, P., Surapanthapisit, Y., and Swetwiwathana, A. 2006. Screening of Bacteriocin-producing Bacteria Associated in Traditional Thai Fermented Beef (Mum). 52nd International Congress of Meat Science and Technology : Harnessing and Exploiting Global Opportunities. Edited by Troy et al. Wageningen Academic Publishers. The Netherlands. p. 329-330.

15. Swetwiwathana, A., Lotong, N., Nakayama, J., and Sonomoto, K. 2006. Effect of Garlic on Lactic Acid and Bacteriocins Production of Bacteriocin Producing Lactic Acid Bacteria Associated in Nham (Thai Fermented

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Meat) during Fermentation. 52nd International Congress of Meat Science and Technology : Harnessing and Exploiting Global Opportunities. Edited by Troy et al. Wageningen Academic Publishers. The Netherlands. p. 443-444.

16. Pilasombut, K., Sakpuaram, T., Wajjwalku, W., Nitisinprasert, S., Swetwiwathana, A., Zendo, T.,Fujita, K., Nakayama, J. and Sonomoto, K. 2006. Purification and amino acid sequence of a bacteriocin produced by *Lactobacillus salivarius* K7 isolated from chicken intestine. J. Sci. and Technol. Vol. 28 (Suppl. 1): 121-132.

17. Swetwiwathana, A., Lotong, N., Nakayama, J., and Sonomoto, K. 2007. Application of Bacteriocin-producing Lactic Acid Bacteria Associated in Nham as Starter Cultures for Microbiological Quality Improvement during Nham Fermentation. International Conference on Integration of Science and Technology for Sustainable Development. King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL), Bangkok, Thailand. 26-27 April 2007. p. 182-190.

18. Swetwiwathana, A., Lotong, N., Nakayama, J., and Sonomoto, K. 2007. Maturation of Nham – a Thai Fermented Meat Product : Effect of Pediocin PA-1 Producer (*Pediococcus pentosaceus* TISTR 536) as Starter Culture, Nitrite and Garlic on *Salmonella anatum* during Nham Fermentation. Fleischwirtschaft International. 22(3) : 46 – 49.

19. Swetwiwathana, A., Zendo, T., Nakayama, J., and Sonomoto, K. 2007. Screening of Bacteriocin-producing Lactic Bacteria Associated with Thai Fermented Meat – rice Sausage. Proceedings of 53rd International Congress of Meat Science and Technology. Edited by Zhou and Zhang. China Agricultural University Press. p. 59-60.

20. Swetwiwathana, A., Zendo, T., Nakayama, J., and Sonomoto, K. 2007. Identification and Partial Characterization of Pediocin PA-1 Producing *Pediococcus pentosaceus* Associated in Traditional Thai Fermented Beef (Mum). Proceedings of 53rd International Congress of Meat Science and Technology. Edited by Zhou and Zhang. China Agricultural University Press. p. 61-62.

21. Swetwiwathana, A., Sawa, N., Zendo, T., Nakayama, J., and Sonomoto, K. 2008. A Newly Discovered Bacteriocin from *Weissella cibaria* KMITL-QU 21 Associated in Traditional Thai Fermented Meat-rice Sausage (Sai-krog Isan). The 54th International Congress of Meat Science and Technolo-gy (ICoMST) Proceedings (in CD). August 10-15, 2008 Capetown, South Africa.

22. Swetwiwathana, A., Sawa, N., Zendo, T., Nakayama, J., and Sonomoto, K. 2008. A Novel Pediocin-like Produced by *Lactobacillus plantarum* KMITL-QU 54 from Traditional Thai Fermented Meat-rice Sausage (Sai-krog Isan). The 54th International Congress of Meat Science and Technolo-gy (ICoMST) Proceedings (in CD). August 10-15, 2008 Capetown, South Africa.

23. Swetwiwathana, A., Sawa, N., Zendo, T., Nakayama, J., and Sonomoto, K. 2009. Identification of Nisin Z Producing *Lactococcus lactis* N12 Associated with Traditional Thai Fermented Rice Noodle (Kanom Jien). Asian J. of Food & Agro-Industry. 2(2) : 116-125.

24. Swetwiwathana, A., Sawa, N., Zendo, T., Nakayama, J., and Sonomoto, K. 2009. A Novel Bacteriocin from 2 Peptides Bacteriocin-producing *Weissella cibaria* KMITL-QU 21 Associated in Traditional Thai Fermented Meat-rice Sausage (Sai-krog Isan). Abstract Proceedings of The 5th Asian Conference on Lactic Acid Bacteria : Microbes in Disease Prevention & Treatment 1st – 3rd July 2009. Singapore. S6 : p 97 (Oral presentation).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

25. Swetwiwathana, A., Pilasombut, K., and Sethakul, J. 2009. An In-vitro Screening of Isolated Bacteriocin-producing Lactic Acid Bacteria from Thai Fermented Meat for Probiotic Prospect. The 55th International Congress of Meat Science and Technolo-gy (ICoMST) Proceedings. PE 9.24 : 1541-1544. (in CD). August 16-21, 2009. Copenha-gen, Denmark.

26. Pilasombut, K., Swetwiwathana, A., Sitthigripong, R., and Sethakul, J. 2009. Screening of Bacteriocin-like Inhibitory Substances from Lactic Acid Bacteria for Fermented Meat Starter Cultures. The 55th International Congress of Meat Science and Technolo-gy (ICoMST) Proceedings. PE 9.24 : 1325-1329. (in CD). August 16-21, 2009. Copenha-gen, Denmark.

27. Bangtrakulnonth, A., Pornruangwong, S., Pulsrikarn, C., and Swetwiwathana, A. 2009. Surveillance of Bacterial Contamination on Used Dish Washing Up Sponges and Scrub Sheets. King Mongkut's Agricultural Journal. 27(2) : 22-29. (Thai)

28. Boonprasit, K., and Swetwiwathana, A. 2009. Contamination of *Listeria monocytogenes* in Chicken Slaughterhouse. King Mongkut's Agro-Industry Journal. 1(1) : 61-69. (Thai)

- งานวิจัยที่นำไปใช้ประโยชน์ได้

การนำเชื้อแบคทีเรียกรดแลกติกที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติกและสร้างสารแบคเทอริโอซินได้มาใช้เป็นกล้าเชื้อเพื่อลดซัลโมเนลลาในผลิตภัณฑ์แหนม

จัดทำระบบ GMP และ HACCP ให้กับโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร

- สาขาวิจัยที่เชี่ยวชาญ

1. เทคโนโลยีชีวภาพทางด้านจุลินทรีย์
2. จุลชีววิทยาอาหาร – การยับยั้งและทำลายแบคทีเรียก่อโรคในอาหาร
   – แบคเทอริโอซินที่ผลิตจากเชื้อแบคทีเรียแลกติกในอาหารหมัก
   – การสำรวจแบคทีเรียที่เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงสุขลักษณะและความปลอดภัยในอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้