



ใบรับรองปัญหาพิเศษปริญญาตรี
ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์

B

เรื่อง

การตรวจนับเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียในลูกไก่คัดทิ้งหมักกรด

โพรพิโอนิก และ กรดฟอร์มิก เป็นเวลา 6 สัปดาห์

Lactic Acid Bacteria Count in Culling Chick Fermented by Propionic Acid and Formic
Acid for 6 Weeks Period

โดย

นายปกิจ แจ่มแจ้ง

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษา.....

(1/๒๕)

(อาจารย์อนุชา แสงโสภณ)

ภาควิชารับรองแล้ว

(รศ.ดร.รณชัย สิทธีไกรพงษ์)

หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์

วันที่ 30 5 พ.ศ. ๕5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การตรวจนับเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียในลูกไก่คัดทิ้งหมักกรด
โพรพิโอนิก และ กรดฟอร์มิก เป็นเวลา 6 สัปดาห์

Lactic Acid Bacteria Count in Culling Chick Fermented by Propionic Acid and Formic
Acid for 6 Weeks Period



T100699

โดย

นายปกิจ แจ่มแจ้ง

เสนอ

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า

เจ้าคุณทหารลาดกระบัง

กรุงเทพมหานคร

พ.ศ.2544

9/ก.
21/19ก
๒๕44.

สงขหนุ.....

เลขทะเบียน 100699

วันเดือนปี 24 JUN 2003

เอกสารนี้เป็นทรัพย์สินของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ไม่สามารถนำออกนอกสถาบันเพื่อใช้ในการเรียนการสอนได้ เว้นแต่จะได้รับอนุญาตจากอธิการบดี
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทความฉบับพิเศษ

เรื่อง

การตรวจนับเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียในลูกไก่คัดทิ้งหมักกรด โพรพิโอนิก และ กรดฟอร์มิก เป็นเวลา 6 สัปดาห์

Lactic Acid Bacteria Count in Culling Chick Fermented by Propionic Acid and Formic Acid for 6 Weeks Period

ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียในลูกไก่คัดทิ้งหมักด้วยกรด โดยทำการหมักเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ซึ่งมีการวางแผนการทดลองแบบ factorial on CRD โดยในการทดลองนี้มี ปัจจัย 2 ชนิด คือ ระยะเวลาในการหมัก 6 สัปดาห์ และ กรดที่ใช้ในการหมัก มี 3 ชนิด คือ กรดโพรพิโอนิก กรดฟอร์มิก และ กรดโพรพิโอนิกร่วมกับกรดฟอร์มิก จากการตรวจนับเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียเมื่อเริ่มทำการหมักพบว่า ค่าเฉลี่ยโดยทำเป็นค่า log ของจำนวนเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย ในลูกไก่คัดทิ้งหมักที่ไม่ได้ใส่กรด (กลุ่มควบคุม) กรดโพรพิโอนิก กรดฟอร์มิก และกรดโพรพิโอนิกร่วมกับกรดฟอร์มิก เท่ากับ 7.0×10^{10} , 7.8×10^{10} , 6.6×10^{10} 9.5×10^{10} ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งยวดทางสถิติ ($P < 0.001$) และ เมื่อทำการหมักเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า ค่าเฉลี่ยโดยทำเป็นค่า log ของจำนวนเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย ในกรดโพรพิโอนิก กรดฟอร์มิก และกรดโพรพิโอนิกร่วมกับกรดฟอร์มิก เท่ากับ 5.5×10^{10} , 6.8×10^{10} , 2.1×10^{10} ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งยวดทางสถิติ ($P < 0.001$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ในการจัดทำปัญหาพิเศษครั้งนี้ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์อนุชา แสงโสภณ และ อาจารย์กนกวรรณ ศรีกิจเกษมวัฒน์ ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษา ที่กรุณาแนะนำ ตรวจสอบและแก้ไขสิ่งบกพร่องต่างๆ และ ให้ความช่วยเหลือ ในการทำปัญหาพิเศษ จนปัญหาพิเศษฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์รวมทั้ง อาจารย์คมแห พิลาสสมบัติ และ ผู้ดูแลห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่อำนวยความสะดวกและให้ความช่วยเหลือเป็นอย่างดี และขอขอบพระคุณโรงฟักไข่หนองจอก ที่ให้ความอนุเคราะห์ลูกไก่คัดทั้งในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้ ขอขอบคุณ พี่นันทิยา แซ่เตียว ที่ช่วยวิเคราะห์ผลการทดลอง พี่ ๆ ที่ สอน และ ให้คำแนะนำที่มีประโยชน์มาก และขอขอบคุณ เพื่อน ๆ ที่ให้คำปรึกษา และ น้อง ๆ ที่ให้ความช่วยเหลือในการล้างอุปกรณ์ปัญหาพิเศษครั้งนี้

นายปกิจ

แจ่มแจ้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
ตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	15
ผลการทดลอง	
การตรวจนับเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดต่างชนิดกัน	19
การวัดค่าความเป็นกรด – ด่าง ในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดต่างชนิดกัน	20
การวิเคราะห์ผลทางสถิติของจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่พบในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรด	22
การวิเคราะห์ผลทางสถิติของค่าความเป็นกรด-ด่างในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรด	25
สรุปผลการทดลอง	30
เอกสารอ้างอิง	31
ภาคผนวก	36

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1	20
เปรียบเทียบจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรีย ในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดชนิดต่าง ๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์	
ตารางที่ 2	21
เปรียบเทียบค่าความเป็นกรด-ด่างในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดชนิดต่าง ๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์	
ตารางที่ 3	22
เปรียบเทียบค่า log ของจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่พบในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดชนิดต่าง ๆ เมื่อเริ่มต้นการหมัก (สัปดาห์ที่ 0)	
ตารางที่ 4	22
เปรียบเทียบค่า log ของจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่พบในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดชนิดต่าง ๆ เป็นสัปดาห์ที่ 6	
ตารางที่ 5	24
เปรียบเทียบค่า log ของจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่พบในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดในสัปดาห์ต่าง ๆ	
ตารางที่ 6	25
เปรียบเทียบค่า log ของจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่พบในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดแต่ละชนิดในแต่ละสัปดาห์	
ตารางที่ 7	26
เปรียบเทียบค่าความเป็นกรด - ด่างของลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดชนิดต่าง ๆ เมื่อเริ่มต้นหมัก	
ตารางที่ 8	26
เปรียบเทียบค่าความเป็นกรด - ด่างของลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดชนิดต่าง ๆ ในสัปดาห์ที่ 6	
ตารางที่ 9	27
เปรียบเทียบค่าความเป็นกรด - ด่างของลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดชนิดต่าง ๆ ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 0 ถึง สัปดาห์ที่ 6	
ตารางที่ 10	28
เปรียบเทียบค่าความเป็นกรด - ด่างของลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดชนิดต่าง ๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์	

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 แสดงค่า \log ของจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่พบในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดชนิดต่าง ๆ เริ่มต้นการหมัก	23
ภาพที่ 2 แสดงค่า \log ของจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่พบในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดชนิดต่าง ๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์	23
ภาพที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ยของค่าความเป็นกรด-ด่างของลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดตั้งแต่สัปดาห์ที่ 0 ถึง สัปดาห์ที่ 6	27



การตรวจนับแลคติกแอซิดแบคทีเรียในลูกไก่คั้ดทิ้งหมักกรด

โพรพิโอนิก และ กรดฟอร์มิก เป็นเวลา 6 สัปดาห์

Lactic Acid Bacteria Count in Culling Chick Fermented by Propionic Acid and Formic Acid for 6 Weeks Period

คำนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม ประชากรส่วนใหญ่ในประเทศประกอบอาชีพเกี่ยวเนื่องกับการเกษตร เพื่อการตอบสนองความต้องการบริโภคของประชากรภายในประเทศซึ่งเพิ่มขึ้นทุกปี และส่งเป็นสินค้าออกทำรายได้เข้าสู่ประเทศ อาชีพทางเกษตรกรรม เช่น การเลี้ยงสัตว์ ซึ่งเป็นอาชีพที่กระจายอยู่ทั่วประเทศส่งผลให้มีของเสียต่าง ๆ ที่ได้จากสัตว์ ปริมาณมากในแต่ละปี เช่น โรงฟักไข่ มีอัตราการฟักออกประมาณ 86 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณไข่ที่เข้าฟักทั้งหมด (อนุวัฒน์, 2534) ซึ่งของเสียส่วนใหญ่อยู่ในภาคเกิดลูกไก่ เช่น ลูกไก่คั้ดทิ้ง ไข่ตายโคม เป็นต้น ของเสียเหล่านี้ มีธาตุอาหารที่เหมาะสมสำหรับไก่ ซึ่งประกอบไปด้วยสารอาหารต่าง ๆ เช่น โปรตีน 22.2 – 26.0 เปอร์เซ็นต์ และไขมัน 11.4 – 18.0 เปอร์เซ็นต์ มีพลังงานใช้ประโยชน์ 7.09 – 11.30 MJ / kg และมีแคลเซียมในระดับสูงถึง 17.2 – 24.6 เปอร์เซ็นต์ พร้อมทั้งกรดอะมิโนที่จำเป็น (essential amino acid) ต่าง ๆ เช่น เมทไทโอนีน (methionine) 0.5 – 3.0 เปอร์เซ็นต์ และ ไลซีน (lysine) 1.1 – 7.5 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามการเก็บรวบรวมของเสียจากโรงฟัก ให้ได้ปริมาณมากเพียงพอที่จะนำมาแปรรูปเป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์นั้น จะต้องใช้ระยะเวลาพอสมควร เพื่อให้ได้ปริมาณเพียงพอคุ้มค่าต่อการลงทุน ดังนั้นกระบวนการหมักจึงเข้ามามีส่วนในการเก็บรักษา วัตถุดิบอาหารสัตว์ชนิดนี้ เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ทางเลือกต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของกรดโพธิอินิก กรดฟอร์มิก ที่ใช้ในการหมักลูกไก่คั้ดทิ้ง
2. เพื่อศึกษาระยะเวลาที่ใช้ในการเก็บรักษาลูกไก่คั้ดทิ้งที่หมักด้วยกรด

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทำให้ทราบถึงผลของการหมักลูกไก่คั้ดทิ้งด้วยกรดอินทรีย์บางชนิด
2. สามารถยืดระยะเวลาการเก็บรักษาลูกไก่คั้ดทิ้ง ซึ่งเป็นของเสียจากโรงพักได้นานขึ้น
3. สามารถนำลูกไก่คั้ดทิ้งที่หมักนั้น ไปใช้ประโยชน์ทางด้านแหล่งอาหารสัตว์ เพื่อทดแทนวัตถุดิบอาหารสัตว์บางชนิดได้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

จุลินทรีย์ที่มีอยู่ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม ซึ่งความสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์พืช และสัตว์ เป็นวัฏจักรธรรมชาติที่เกิดขึ้นเสมอในธรรมชาติ แบคทีเรียจะออกซิไดส์ คาร์บอน ไนโตรเจน และ ซัลเฟอร์ ที่มีอยู่ในซากพืช และ สัตว์ ให้อยู่ในรูปสารออกซิไดส์ที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ เพื่อการเจริญงอกงาม และกลายเป็นอาหารสัตว์และมนุษย์ ซึ่งมนุษย์ใช้พืช และ สัตว์เป็นอาหาร จึงหลีกเลี่ยงไม่ได้ที่อาหารจะต้องมีจุลินทรีย์อยู่ด้วยเสมอ

จุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย เป็นจุลินทรีย์พวกที่ไม่ต้องการอากาศ ซึ่งจุลินทรีย์ดังกล่าวนี้จะย่อยโปรตีนในสภาวะที่ไม่มีอากาศให้ได้เป็นสารประกอบที่มีกลิ่นเหม็นเน่าหลายชนิด เช่น ไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) , indole , skatol และ mercaptans เป็นต้น ดังนั้นจึงทำให้เนื้อที่มีกลิ่นเหม็นเน่าไปด้วย (บัญญัติ,2522) ลักษณะทางธรรมชาติของสารที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในอาหาร และระหว่างกรรมวิธีการผลิต ตลอดจนการเก็บรักษา หรือ การถนอมอาหารเป็นผลให้มีจุลินทรีย์ปนเปื้อนอยู่ในอาหารแตกต่างกันไป สภาพดังกล่าวทำให้เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์เฉพาะกลุ่มเท่านั้นเป็นการสร้างสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์บางชนิด

เนื้อสัตว์ที่ผ่านกระบวนการหั่นสับบด ให้มีขนาดเล็กลงจะตรวจพบจุลินทรีย์ที่พบในเนื้อสัตว์ได้แก่ แบคทีเรียในกลุ่ม phychrotrophic แกรมลบ เช่น *Pseudomonas sp.* , *Acinetobacter sp.* และ *Alcaligenes sp.* จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคที่มักพบปนเปื้อนในเนื้อสดได้แก่ *Staphylococcus aureus* , *Salmonella spp.* , *Clostridium botulinum* และ *Listeria monocytogenes* (Bacus และ Brown 1981) ในซากสุกรพบว่ามี การตรวจพบเชื้อ *Salmonella spp.* และ *Campyrobacter spp.* อยู่ทั่วไป Epling และคณะ (1992)

เนื่องจากการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย มีอันตรายต่อผู้บริโภคจึงได้มีการกำหนดมาตรฐานการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย โดยมาตรฐานการส่งออกเนื้อสัตว์ของกรมปศุสัตว์ปี 2535 ได้กำหนดไว้ดังนี้ Total Plate Count ให้มีจำนวนจุลินทรีย์น้อยกว่า 500,000 โคโลนี หรือ เซลล์ / กรัม , Faecal Steptococi ให้มีค่าเท่ากับ 1,000 โคโลนี หรือเซลล์ / กรัม , MPN coliform ให้มีเท่ากับ 5,000 โคโลนี หรือ เซลล์ / กรัม , เชื้อ *Staphylococcus aureus* ให้พบน้อยกว่า 100 โคโลนี หรือเซลล์/กรัม และ ห้ามมิให้มีการตรวจพบเชื้อ *Sallmonella* ในเนื้อสัตว์ที่จะส่งออก (กองสัตว์แพทย์สาธารณสุข , 2535)

จุลินทรีย์ใช้สารอาหารในอาหารเพื่อการเจริญเติบโตและกิจกรรมต่าง ซึ่งทำให้อาหารเกิดการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ บางครั้งเกิดการเปลี่ยนแปลงในทางที่ไม่ต้องการ เช่น เกิดกลิ่นอันไม่พึงประสงค์ เนื้อเป็นตัวกลาง(media)ที่เหมาะสมต่อการเจริญของราหลายชนิด ทั้งนี้เนื่องจากเนื้อเป็นอาหารอันอุดมสมบูรณ์เหมาะสำหรับเชื้อรา การเจริญเติบโตของเชื้อราขึ้นกับปัจจัยต่าง ๆ มากมาย ไม่ว่าจะเป็นอุณหภูมิ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความชื้น สารอาหารมาก มี growth factors และ fermentable carbohydrate เช่น glycogen นอกจากนี้ เหนื่อยยังมีค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่เหมาะสมแก่การเจริญเติบโตของเชื้อ (สัญชัย,2543)

ในการหมักเนื้อสัตว์พื้นบ้านของไทยเช่น แหนม ไส้กรอกเปรี้ยว กลิ่นและรสชาติจะเปลี่ยนแปลงตามสภาพวัตถุดิบ สภาพแวดล้อม รวมทั้งปัจจัยอื่น ๆ ซึ่งมีผลต่อผู้บริโภคดังนั้นการ พัฒนาผลิตภัณฑ์ให้มีให้มีคุณภาพคงที่ และเกิดประโยชน์ทางโภชนาการต่อผู้บริโภคมากที่สุด จึงควรมีการปรุงการใช้เกลือแบคทีเรียแลคติก ในกระบวนการผลิตแทนการใช้แบคทีเรียแลคติกที่มี อยู่ในวัตถุดิบ หรือองค์ประกอบอื่น ๆ ในธรรมชาติ ปกติแล้วการหมักตามธรรมชาติจะตรวจพบแบคทีเรียแลคติกในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก เช่น *Pediococcus cerevisiae* , *Lactobacillus plantarum* , *Lactobacillus brevis* *Lactobacillus leichanii* (Bacus และ Brown 1981)

เนื้อไก่ที่มีกลิ่นผิดปกติจะมีปริมาณเชื้อแบคทีเรีย 2.5×10^6 ถึง 1×10^8 ต่อตารางเซนติเมตร เมื่อมีเมือกปรากฏจะมีปริมาณแบคทีเรีย 1×10^7 ถึง 6×10^7 ต่อตารางเซนติเมตร (อโณทัย,2535)

สารที่จุลินทรีย์สร้างขึ้นระหว่างการหมัก เช่น แอลกอฮอล์ กรดแลคติก กรดอะซีติก และ ยาปฏิชีวนะ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ตัวอื่น ในอาหารได้ทำให้อาหารหมักเป็นอาหารที่มีอายุการเก็บรักษานานกว่าอาหารสด ดังนั้น การหมักจึงจัดว่าเป็นการถนอมอาหารวิธีหนึ่ง (วราวุฒิ,2538)

จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการถนอมอาหาร และ อาหารหมักการถนอมอาหารเป็นวิธีที่ช่วยยืดอายุการเก็บรักษาอาหาร ทำให้อาหารไม่เกิดการเน่าเสียได้ง่าย ทั้งนี้วิธีการถนอมอาหารเป็นวิธีการที่จะยับยั้ง ทำลายลดปริมาณเชื้อในอาหาร และ ป้องกันการปนเปื้อนของจุลินทรีย์โดยวิธีการต่าง ๆ อาทิเช่นการใช้สารเคมีต่าง ๆ เช่น กรดอินทรีย์ ค่าความเป็นกรด-ด่างที่แตกต่างกัน อายุการเก็บรักษาก็จะแตกต่างกันด้วย เพราะความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมมีส่วนช่วยป้องกันการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และการงอกของสปอร์ ช่วยเสริมประสิทธิภาพของวัตถุกันเสีย และ วัตถุกันเหินเป็นต้น โดยทั่วไปการทำลายจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ นั้น ในสภาวะที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างที่ต่ำจะทำลายได้ง่าย (ศิวาพร,2529)

ปัจจัยที่มีความสำคัญและเหมาะสมต่อการเจริญเติบโต หรือปัจจัยที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย เช่น ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียคือ ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เป็น กลาง (ประมาณ 6.5 - 7.5) แบคทีเรียบางประเภทสามารถเจริญได้ดีที่ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เป็น ต่าง เช่น พวกย่อยสลายโปรตีน และแบคทีเรียบางประเภทสามารถเจริญได้ดีที่ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เป็น กรด โดยทั่วไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ดีในค่าความเป็นกรด-ด่างที่เป็น กรดนั้นส่วนใหญ่จะเป็นแบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดได้ เช่น แบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติก (Lactic acid bacteria) ซึ่งแบคทีเรียประเภทนี้จะทำให้อาหารมีรสเปรี้ยว จุลินทรีย์ที่พบในสภาวะที่เป็นกรด คือ แบคทีเรียสร้างกรดแลคติก (Lactic acid bacteria) ซึ่งจัดอยู่ตระกูล Lactobacillaceae ซึ่งแบ่งได้เป็น 4 สกุล คือ Streptococcus , Leuconostoc , Pediococcus และ Lactobacillus (Frazier และ Weshoff , 1988) สามารถจำแนกแบคทีเรียแลคติกตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้ 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีรูปร่างกลม (cocci) และกลุ่มที่มีรูปร่างเป็นแท่ง (rods) หรืออาจจำแนกตามลักษณะการหมักได้เป็นกลุ่ม Homofermentation ซึ่งสามารถหมักน้ำตาลให้ผลิตภัณฑ์โดยส่วนใหญ่เป็นกรดแลคติกมากกว่า 85 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่ม Heterofermentation ซึ่งสามารถหมักให้ผลิตภัณฑ์อื่นนอกจากกรดแลคติกด้วย ได้แก่ กรดอะซิติก ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และเอทานอล (Brock และคณะ , 1984 ; Dunn และ Prescott,1959) พบอยู่ทั่วไป มีความสามารถเจริญได้ในสภาวะที่เป็นกรด สภาวะที่มีอากาศ และสภาวะที่ไม่มีอากาศ เนื่องจากแบคทีเรียแลคติกมีลักษณะกลม ไม่มีเอนไซม์แคทาเลส ต้องการสารอาหารในการเจริญเติบโต เช่น วิตามิน บี และ กรดอะมิโน ต้องการอาหารที่มีแป้ง ชนิดที่ใช้หมักได้โคโลนีมีขนาดเล็ก สามารถทนกรดได้ดี แบคทีเรียแลคติก สามารถเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นกรดอินทรีย์ต่าง ๆ เช่น กรดแลคติก , กรดอะซิติกมีผลทำให้ค่าความเป็นกรด - ด่างนั้นลดลงหรือ กล่าวคือ สามารถใช้คาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งพลังงานของแบคทีเรีย (Gilliland,1985)

Lactobacillus brevis สามารถเจริญได้ดีในอาหารที่มีเกลือตั้งแต่ 0.5-15 เปอร์เซ็นต์ แต่จะเจริญได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้นของเกลือ 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งใกล้เคียงกับปริมาณเกลือที่มีอยู่ในส้มพิก (นาดสุดา,2522) แบคทีเรียแลคติกสามารถสร้างสารที่ทำให้สารถให้กลิ่นรส และเนื้อสัมผัสเฉพาะกับอาหารหมัก เช่น โดอะเซพิลลอสเซพทาติไฮด์ 2,3 บิวเทนไดออล ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ใหม่ที่มีลักษณะเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค แบคทีเรียแลคติกสามารถสร้างกรดอินทรีย์ เช่น กรดแลคติก กรดอะซิติก และ สารประกอบจากกระบวนการเมตาบอไลต์ เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ที่ทำให้เกิดโรค และจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย ในผลิตภัณฑ์อาหารหมัก

แบคทีเรียแลคติกสามารถสร้างสารแบคทีริโอซินที่มีสารประกอบเปปไทด์ เช่น ไนซิน ริวทรีน ไดโพลคอคซิน เป็นต้น ซึ่งมีผลในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการได้ และสามารถใช้แทนยาปฏิชีวนะที่ใช้กับมนุษย์ จึงทำให้เชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคไม่เกิดการดื้อยา นอกจากนั้นสารเหล่านี้สามารถย่อยสลายโดยเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายโปรตีน เช่น ทริปซิน เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอนไซม์จากน้ำลายและ กระเพาะอาหารจึงไม่เกิดการอาการดื้อยาในมนุษย์และสัตว์เลี้ยง

แบคทีเรียแลคติกสามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์อื่นหลายชนิด นอกเหนือจากสารประกอบเมตาบอไลต์แล้ว ได้มีการรายงานผลการยับยั้งได้มีการรายงานผลการยับยั้งของสารประกอบกลุ่มโปรตีนจากแบคทีเรียแลคติกที่เรียกว่าแบคทีริโอซิน (Bacteriocin) โดยพบการสร้างครั้งแรกใน *Lactobacillus fermentum* ซึ่งมีผลในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่กลุ่มใกล้เคียงกันและมีกลไกในการทำปฏิกิริยาบริเวณ Lipochabohydrate (De Klerk และ Smit , 1967)

แบคทีริโอซินเป็นสารโพลีเปปไทด์ ที่สร้างได้จากแบคทีเรียแลคติกหลายชนิด ได้แก่ *Lactobacillus sp.* , *Pediococcus sp.* , *Streptococcus thermophilus* , *Leuconostoc sp.* และ *Lactococcus sp.* โดยส่วนใหญ่แบคทีริโอซินจะมีผลในการยับยั้งการเจริญและกิจกรรมของแบคทีเรียในกลุ่มที่ใกล้เคียงกัน และ มีลักษณะทางชีวเคมี รวมทั้งลักษณะทางพันธุศาสตร์ที่คล้ายคลึงกัน แบคทีเรียแลคติกสามารถส่งเสริมคุณค่าทางโภชนาการ และ สุขภาพของผู้บริโภคอาหารหมัก กล่าวคือ แบคทีเรียแลคติกจะย่อยสลายสารโมเลกุลใหญ่ หรือโพลีเมอร์ให้เป็นสารโมเลกุลเล็ก ทำให้ผู้บริโภคได้รับสารอาหารมากขึ้นนอกจากนี้ ยังสร้างสารที่ช่วยลดระดับสารคอเลสเตอรอลในเลือด (anticholesterol) และ สารยับยั้งการแพร่กระจายของเนื้องอก (antitumor) ได้อีกด้วย (Gilliland,1990)

กรดแลคติกเป็นกรดอินทรีย์ที่เกิดตามธรรมชาติ มีสูตรทางเคมี คือ $CH_3CHOHCOOH$ สามารถละลายน้ำได้ในอุณหภูมิปกติ นิยมใช้ในอาหารเนื่องจากไม่มีสีและกลิ่น มีการนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารหมักดอง และอาหารต่าง ๆ เช่น เบียร์ เนย ไซขาวผง เยลลี่ ลูกเกด ชุป และเครื่องดื่ม เป็นต้นเพื่อเป็นตัวให้กลิ่นรส และมีผลทางด้านโภชนาการ กรดแลคติกที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารมีทั้งแบบที่ผลิตได้จากกระบวนการหมัก และกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมี กรดแลคติกที่เกิดจากกระบวนการหมักจะอยู่ในรูป L (+) ซึ่งเป็นรูปแบบที่เกิดแล้วใช้ได้ในร่างกายมนุษย์ (เขารัตน์,2536)

กรดแลคติกเป็นกรดอินทรีย์ส่วนใหญ่ที่แบคทีเรียแลคติกสามารถสร้างขึ้นจากกระบวนการหมักน้ำตาล โดยมีไพรูเวทเป็น Intermediate ซึ่งนอกจากไพรูเวทจะถูกรีดิวซ์ไปเป็นกรดแลคติก ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมแล้ว แบคทีเรียชนิด Heterofermentation ยังสามารถใช้ไพรูเวทไปในวิถีทางอื่นๆ ทำให้เกิดเมตาบอไลต์ที่แตกต่างออกไปจากการหมักแบบ Homofermentation ภายใต้สภาวะปกติ ทั้งนี้แบคทีเรียแลคติกต่างสายพันธุ์จะใช้วิถีที่แตกต่างกันหรือไม่ขึ้นสภาวะการเจริญเติบโตและเอนไซม์ที่จุลินทรีย์สร้างขึ้น ด้วยเหตุนี้จึงทำให้แบคทีเรียแลคติกสามารถสร้างกรดอินทรีย์ชนิดอื่น เช่น กรดอะซิติก และกรดฟอรั่มิก (Kandler,1983)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรดแลคติกและกรดอะซิติก ใช้ในการถนอมอาหารอย่างแพร่หลาย กรดทั้งสองอาจเติมลงในอาหาร หรือเกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการหมักก็ได้ โดยจุลินทรีย์กลุ่มที่สร้างกรดแลคติก และจุลินทรีย์พวกอะซิโอบาคเตอร์ (Acetobacter) การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของกรดทั้งสองชนิดเกิดจากการทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างมีค่าลดลง (สาขาวิชาคหกรรมศาสตร์,2539)

กรดอินทรีย์ที่แบคทีเรียแลคติกสร้างขึ้น มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดอื่นทั้งนี้เนื่องจาก ค่าความเป็นกรด - ด่างมีผลต่อการซึมผ่านของเยื่อหุ้มเซลล์ ที่ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เป็น กรดเยื่อหุ้มเซลล์จะอิมิตัวด้วยอิออนของไฮโดรเจน ทำให้แอนไอออนที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตซึมผ่านเข้าสู่เซลล์ได้ยาก ดังนั้นการเจริญและกิจกรรมต่างๆ ภายในเซลล์จึงถูกยับยั้งนอกจากนี้โมเลกุลของกรดที่อยู่ในสภาพไม่แตกตัว (Undissolved molecules) สามารถซึมผ่านผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ และ แตกตัวภายในเซลล์ ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างในตัวลดลงต่ำ มีผลไปรบกวนกระบวนการเมตาบอลิซึมที่จำเป็นต่อการอยู่รอดของเซลล์ (วริพัทธ์,2536)

ผลของการยับยั้งจุลินทรีย์ด้วยกรดนั้น เกิดจากส่วนที่เป็น lipophilic ของกรดที่ใช้ซึ่งจะอยู่ในรูปของโมเลกุลที่ไม่แตกตัว และซึมผ่านเข้าไปใน plasma membrane ของแบคทีเรียที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่ค่อนข้างเป็นกลาง (pH 7) ซึ่งจะสูงกว่าค่าความเป็นกรด-ด่างของ cytoplasm ดังนั้นเมื่อกรดอยู่ในรูปที่ไม่แตกตัวออกไปอยู่ในรูปของ protons และ conjugated base มีผลในการทำลาย oxidative phosphorylation form ของ electron transport system รวมไปถึงยับยั้งระบบการขนถ่าย substrate molecule เข้าสู่เซลล์มีผลไปทำลายและยับยั้งการเจริญเติบโต โดยกรดอินทรีย์นี้จะขึ้นอยู่กับค่าคงที่ของการแตกตัวของกรด และ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของ medium (Adam และ Hall ,1988)

การนำเอาเชื้อ Lactobacillus และ Pediococcus มาเพื่อใช้ยืดอายุของเนื้อเป็นที่รู้จักกันมาหลายปี โดยเฉพาะอย่างยิ่งการทำผลิตภัณฑ์เนื้อ อายุของการเก็บรักษาเนื้อสัตว์จะยาวขึ้นเนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าวจะผลิตสารบางอย่าง เช่น Lactic acid ที่จะมายับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดอื่น และ นอกจากนี้ยังทำให้เกิดการแข่งขันเพื่อการอยู่รอดระหว่างเชื้อจุลินทรีย์ที่เติมเข้าไปและเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มพวก Pseudomonas (Stiles และ Hasting,1991)

Gilliland และ Speck (1972) ได้ทำการทดลองกับ *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella* พบว่าเชื้อดังกล่าวถูกยับยั้งการเจริญโดย Lactic Streptococci ในนม สามารถยับยั้ง *Salmonella* อยู่ในช่วงระหว่าง 88.2 ถึง 93.4 เปอร์เซ็นต์ส่วน *Stap. aureus* อยู่ระหว่าง

98.1 ถึง 98.9 เปอร์เซ็นต์ การยับยั้งนี้เกิดขึ้นเนื่องจากผลของการสร้างกรดอินทรีย์ และผลจากส่วนประกอบที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อยในน้ำหางนม

Hutton และคณะ (1991) ทำการศึกษาการใช้ *Pediococcus Acidilactici* ร่วมกับน้ำตาลเดกซ์โตรสในสลัดไก่ หรือเรียกกระบวนการนี้ว่า “ Wisconsin Process ” พบว่าสามารถป้องกันการสร้างสารพิษ Botulinum Toxin ในสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *Ped. acidilactici* จะหมักน้ำตาลได้เป็นกรดแลคติกมีผลทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง

Reddy และ คณะ (1969) ได้ศึกษาการเลี้ยง *Strep. lactis* ในเนื้อวัวบด (Ground beef) พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญและกิจกรรมต่าง ๆ ของแบคทีเรียที่ทนอุณหภูมิต่ำที่ทำให้ผลผลิตภัณฑ์เนื้อเกิดการเน่าเสีย ทำให้สามารถยืดระยะเวลาการเก็บรักษาเนื้อวัวบดออกไปได้ การยืดระยะเวลาการเก็บรักษาอาหารสามารถกระทำได้หลายวิธี เช่น การเติมสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ไม่ว่าจะมีอยู่ในอาหารโดยธรรมชาติ หรือ เติมนลงในอาหารและที่เกิดขึ้นในอาหารจากการเจริญของจุลินทรีย์ อาจจะสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทุกชนิดได้แต่ที่พบเสมอ คือ สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์บางชนิด ตัวอย่างของสารยับยั้งตามธรรมชาติที่มีอยู่ในอาหาร ได้แก่ แล็กทีนิน (Lactennins) และสารต่อต้านโคลิฟอร์ม (Anticoliform factor) ในน้ำนมสด ไลโซซายม์ (Lysozyme) ในไข่ขาวเป็นต้น (สุมาลี, 2541)

เชื้อจุลินทรีย์หลายชนิดเกี่ยวข้องกับการผลิตอาหารหมัก แต่ ส่วนใหญ่แล้วแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติก (Lactic acid bacteria) เป็นแบคทีเรียที่มีบทบาทอย่างกว้างขวางอย่างไรก็ตาม จุลินทรีย์กลุ่มอื่นก็มีบทบาทในการหมักหลายชนิด ความเข้มข้นของเกลือที่ใช้หมักเป็นปัจจัยหนึ่งในการถนอมอาหาร เช่น แบคทีเรียแลคติก ซึ่งใช้ในการหมักผักดอง และไส้กรอกหมักสามารถความเข้มข้นของเกลือได้ถึง 10 - 18 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในผักดอง สามารถทนกรดได้ไม่เกิน 2.5 เปอร์เซ็นต์ แต่จะไม่สามารถทนเกลือได้เลยถ้าในน้ำนั้นไม่มีทั้งกรด และเกลือ (วรวิทย์, 2538)

ระหว่างกระบวนการหมักของจุลินทรีย์เกิดการเปลี่ยนแปลงของ คาร์โบไฮเดรต และ สารประกอบที่มีคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบ ให้กลายเป็น แอลกอฮอล์ กรด และ ก๊าซ คาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งถ้ามีความเข้มข้นเพียงพอจะมีผลไปยับยั้งการทำงานของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้ สารเคมีที่เติมลงไปเพื่อป้องกันการเสียของอาหารเนื่องจากจุลินทรีย์ หรือที่เรียกกันว่าสารกันเสีย (Preservatives) สารเหล่านี้จะไปรบกวนการสร้างเยื่อหุ้มเซลล์ การทำงานของเอนไซม์ต่าง ๆ หรือ กลไกทางพันธุกรรมของจุลินทรีย์ได้แก่ กรด และ เกลือชนิดต่าง ๆ การเติมสารชนิดนี้อาจมีผลดีในแง่การถนอมอาหาร แต่ต้องคำนึงถึง ข้อจำกัด และ ปริมาณการใช้ รวมถึงการผลิตสิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าเพื่อการส่งออกควรคำนึงถึง กฎระเบียบของประเทศที่ส่งสินค้าว่า ประเทศนั้นจะอนุญาตให้ใช้หรือไม่ การเสื่อมเสียทางอาหารของการเปลี่ยนแปลงทางเคมีที่พบเสมอ คือ การเสียในรูปการเปลี่ยนสีและกลิ่น (Rancidity) สารที่เติมลงไปเพื่อป้องกันการเปลี่ยนแปลงทางเคมีได้แก่ สารกันหืน (Antioxidants) ซึ่งจะปลดปล่อยความแรงของปฏิกิริยาออกซิเดชัน ของสารที่เกิดการออกซิไดส์ตัวเอง โดยเฉพาะการยืดระยะเวลาในขั้นตอนการเริ่มก่อปฏิกิริยา (Induction period) ในการเกิดการหืน (ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร, 2521)

เนื้อไก่ที่ใช้สารปฏิชีวนะ เช่น เตตระไซคลิน (tetracycline) อาจเกิดการเสื่อมเสียได้โดยแบคทีเรียที่ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ เช่น *Pseudomonas* และ *Achrombacter* และ ยีสรา สามารถเจริญได้อีกด้วย (อโณทัย, 2535) กรดที่ใช้เติมเพื่อการถนอมอาหาร หรือ ใช้เป็นสารกันเสีย นั้น เช่น กรดอะซิติก (Acetic acid) กรดเบนโซอิก (Benzoic acid) กรดโพรพิโอนิก (Propionic acid) กรดซอร์บิก (Sorbic acid) ซึ่งกลไกการทำงานของกรดเหล่านี้ คือ เมื่อกรดรวมตัวกับโมเลกุลของน้ำเกิดการแตกตัวซึ่งอนุภาคของกรดที่ไม่แตกตัวไปซึมผ่านผนังเซลล์เข้าไปทำลายกลไกต่าง ๆ ของจุลินทรีย์โดยกรดแต่ละชนิดมีความสามารถในการแตกตัวแตกต่างกัน คุณสมบัติและวิธีการใช้แตกต่างกัน กรดแลคติกนิยมใช้กันในอุตสาหกรรมเนื้อสัตว์ปีก โดยการจุ่มเนื้อไก่ในกรดแลคติกที่ความเข้มข้น 1 หรือ 2 เปอร์เซ็นต์ ที่ค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 2.2 จะสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดจาก 5.2 เป็น 3.7 log CFU/g กรดที่มีความเข้มข้นสูงกว่าไม่สามารถยืนยันได้ว่าจะสามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ได้มากกว่า กรดที่มีความเข้มข้นต่ำกว่า (Van der Marel et. al.,1986) และ พบว่าการจุ่มเนื้อด้วยกรดรวมกับการบรรจุด้วยสุญญากาศ สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ และ ยืดอายุการเก็บรักษาได้มากกว่าการบรรจุแบบสุญญากาศเพียงอย่างเดียวการใช้กรดต่าง ๆ เช่น กรดฟอร์มิก กรดซัลฟิวริก และ กรดฟอสฟอริก ในการทำอาหารหมัก ซึ่งบางครั้งเรียกว่า AIV-Silage นั้น Dr.A.I. ชาวฮอลันดาเป็นผู้ริเริ่มขึ้น และในปัจจุบันนี้ประเทศต่าง ๆ หลายประเทศรวมทั้งญี่ปุ่นก็นิยมใช้กรดฟอร์มิก (Formic Acid) ในการทำอาหารหมัก (บุญฤๅ,2532)

การทำปลาหมัก (fish silage) เพื่อใช้ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นสามารถทำได้โดยวิธีการง่าย ๆ และราคาถูก โดยการสับหรือบดวัตถุดิบก่อนที่จะผสมกรดอินทรีย์ หรือ กรดอนินทรีย์ เป็นผลทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง ลดลง ซึ่งจะไปยังยังการเจริญเติบโตของแบคทีเรียและเพิ่มอายุการเก็บรักษาให้นานขึ้น เรียกวิธีนี้ว่า acid – silage (Winsor and Barlow, 1981)

Doores (1983) กล่าวไว้ว่า กรดอินทรีย์เช่น กรดแลคติกสามารถจุลินทรีย์บนเนื้อสัตว์ ทำให้มีอายุในการเก็บรักษานานขึ้น แต่การนำกรดมาใช้ต้องคำนึงถึง ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่กรดจะไม่ทำให้ลักษณะของเนื้อเปลี่ยนแปลง ตัวอย่างกรดอินทรีย์ที่ใช้นั้น ได้แก่ กรดฟอร์มิก (Formic acid) และ โพรพิโอนิก (Propionic acid) ซึ่งการใช้กรดอินทรีย์นั้นสามารถเก็บรักษา วัตถุประสงค์ไว้ในสภาพความเป็นกรด-ต่างสูงกว่าได้ โดยไม่จำเป็นต้องให้อยู่ในสภาพที่เป็นกลาง ก่อนนำไปใช้เลี้ยงสัตว์ (Green, 1983)

ความเข้มข้นของกรดที่เพียงพอจะมีผลต่อการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ แต่ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของกรด และชนิดของจุลินทรีย์ เช่น กรดอะซิติกที่ความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ได้ในเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ในขณะที่กรดแลคติกที่ความเข้มข้น 0.75 เปอร์เซ็นต์นั้นสามารถทำลายแบคทีเรียดังกล่าวในสภาพเดียวกัน

การหมักดองจะสามารถไปได้รวดเร็วเพียงใดนั้น ขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ ซึ่งหมายความว่าสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ต้องเหมาะสมกับจุลินทรีย์เพื่อให้จุลินทรีย์เจริญเติบโตได้อย่างเต็มที่ และผลิตเอนไซม์ในปริมาณที่เพียงพอกับการเกิดปฏิกิริยาเพื่อการเปลี่ยนแปลงสารอาหาร การหมักกรดแลคติกจัดเป็นการหมักที่สำคัญมากในอุตสาหกรรมอาหาร ทั้งนี้เนื่องจากการหมักกรดแลคติกทำหน้าที่หลักในการถนอมอาหารหลายชนิด โดยการเปลี่ยนแปลงน้ำตาลให้เป็นกรดแลคติก โดยปราศจากการสร้างผลิตภัณฑ์ผลพลอยได้ (By product) ที่ไม่มีประโยชน์ (วรวิฑูมิ, 2538)

Prasai และคณะ (1992) ได้ทำการทดลองโดยการใช้สารละลายกรดแลคติกที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ฉีดพ่นบนซากสุกรภายหลังการชำแหละ หลังเอาเครื่องในออกและฉีดพ่นทั้งสองตำแหน่ง วิเคราะห์หา aerobic plate count ภายหลังฉีดพ่นสารละลาย 0 และ 48 ชั่วโมง พบการลดลงของเชื้อจุลินทรีย์ แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ซึ่งผลภายหลังการฉีดพ่นสารละลาย 48 ชั่วโมง อาจเนื่องมาจากผิวซากแห้ง เนื่องจากการแช่เย็นหรืออุณหภูมิต่ำในห้องแช่เย็น และอาจเนื่องมาจากช่วง lag phase ของจุลินทรีย์ที่ถูกทำลายเนื่องจากกรดแลคติก ทำให้การเพิ่มจำนวนช้าลง ในกรณีที่ไม่มีการดองอยู่ในสารประกอบอาหาร จำเป็นต้องเติมกรด หรือ ให้มีการกรดจากการหมักโดยตรง ทั้งนี้ต้องที่จะเกิดการเสื่อมเสียของอาหารเนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ (วรวิฑูมิ, 2538)

จุลินทรีย์บางชนิดเท่านั้นที่สามารถทำให้เกิดการหมักดองขึ้นได้ ซึ่งแบ่งได้เป็น จุลินทรีย์ที่ย่อยสลายโปรตีน ย่อยสลายไขมัน และย่อยสลายคาร์โบไฮเดรต การย่อยสลายสารประกอบทั้งสามประการนี้ ถ้าเกิดในอัตราที่เหมาะสมแล้ว จะช่วยเพิ่มกลิ่น รส ที่ดีและแปลกใหม่แก่อาหาร Ziauddin และคณะ (1993) พบว่าการใช้สารละลายแลคติกที่ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (pH 4.5 และ 2.0 เปอร์เซ็นต์ (v/v) pH 4.0) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

aureus , *Salmonella newport* , *Streptococcus faecalis* , *Bacillus cereus* , *Pseudomonas fragai* และ *E. coli* ได้อย่างสมบูรณ์เมื่อสารละลายกรดแลคติก สัมผัสกับเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง Ziauddin และ คณะ (1993) พบว่าการใช้สารละลายแลคติก ร่วมกับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.5 เปอร์เซ็นต์ (v/v) จะเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้ง การเจริญของจุลินทรีย์เป็นอย่างดีการเพิ่มรสชาติในการหมักผลิตภัณฑ์เนื้อทำได้โดยการเติม เกลือ น้ำตาล ในเตรท ซึ่งการเติมน้ำตาลจะมีความสำคัญในแง่การเพิ่มธาตุอาหาร ให้เพียงพอต่อการ เจริญของแบคทีเรียแลคติก ส่วนการเติม เกลือ และ ในเตรท เป็นการปรับสภาวะและยับยั้งการ เจริญของแบคทีเรีย นอกจากนี้ในเตรทยังช่วยรีดิวซ์ เป็นไนไตรท์ แล้วเปลี่ยนเป็นไนตริกออกไซด์ ซึ่งจะรวมตัวกับไมโอโกลบิน (myoglobin) เปลี่ยนเป็น nitrosomyoglobin และ nitrosohemochrome ในการรักษาสีในเนื้อสัตว์ (Dryden และ Bridsall , 1980) กรดอินทรีย์ที่ใช้ในการหมัก ได้แก่ กรดฟอร์มิก (formic acid) และ กรดโพรพิโอนิก (propionic acid) ในประเทศแคนาดา tatterson (1976) ได้ใช้กรดฟอร์มิก 3.5 เปอร์เซ็นต์โดย น้ำหนักที่ความเข้มข้น 85 เปอร์เซ็นต์ในการทำปลาหมัก ทำให้มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 4.0 ซึ่งสามารถป้องกันการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย (Spoilage Bacteria) เชื้อรา (Mold) และจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค (Pathogenic) Matin (1994) ใช้กรดซัลฟิวริกและ กรดฟอร์มิกในอัตรา 3:1 ทำให้มีประสิทธิภาพในการป้องกันการเจริญเติบโตของราได้มากยิ่งขึ้น และมีต้นทุนการผลิตที่ไม่สูง หรือใช้ 1.5 เปอร์เซ็นต์ ของกรดฟอร์มิกร่วมกับกรดโพรพิโอนิก ในอัตรา ส่วน 1: 1 จะมีราคาถูกกว่าการใช้กรดฟอร์มิกเพียงอย่างเดียว

Swedish tidbits เป็นอาหารปลาหมักดองของประเทศสวีเดน โดยการนำปลาใส่ เกลือ ขอส และน้ำตาล แล้วพบจุลินทรีย์พวก *Micrococci* , *Pediococcus halophilus* , *P. cerevisiae* และ ยีสต์ เข้าไปเกี่ยวข้องกับกระบวนการหมัก ใน Herring marinades พบเชื้อ *Micrococcus* และ *Staphylococcus* ในระยะแรกต่อมา 2 – 3 สัปดาห์ จะพบว่า *Leuconostoc* และในระยะหลัง ที่เริ่มมีการเสื่อมเสียจะพบแบคทีเรียพวก *Lactobacillus* และ *Leuconostoc* ส่วนในเนื้อหมักที่ใส่ เกลือ น้ำตาลซูโครส โซเดียม หรือ โปตัสเซียมในเตรท และ โซเดียมหรือโพตัสเซียมไนไตรท์ พบ แบคทีเรีย *Lactobacillus plantarum* , *L. casei* , *Micrococci* และ ยีสต์ (Blood,1975)

ปลาดอง Blood (1975) ศึกษา lactic acid bacteria ในปลาดอง พบว่าแบคทีเรีย ส่วนใหญ่เป็นพวก *Lactobacillus* และมี *Pediococcus cerevisiae* บ้างเล็กน้อยส่วน Dussalt (1958) พบว่าแบคทีเรียที่มีบทบาทสำคัญที่พบในปลาดองแล้วนำไปตากแห้งซึ่งมีปริมาณเกลือ 18 เปอร์เซ็นต์ คือ พวก *Micrococcus Grakikoski* และคณะ (1971) ปลา cod ดอง ประกอบด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Micrococci 90 เปอร์เซ็นต์ที่เหลือเป็นพวก *Flavobacterium* , *Achromobacter* , *Pseudomonas* , *Bacillus* และ *Sarcina*

I-sushi เป็นอาหารหมักของญี่ปุ่น ซึ่งทำจาก cured fish ผสมกับข้าวต้มและผักหมักไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน ถึง 2 เดือน พบว่าเชื้อ *Lactobacillus* เป็นตัวการสำคัญในขบวนการหมัก (Grakikoski , 1971)

การผลิตกรดแลคติกในอุตสาหกรรม จุลินทรีย์ในการผลิตกรดแลคติกหลายชนิด ขึ้นอยู่กับวัตถุดิบที่ใช้หมัก เชื้อที่เคยใช้มากในอดีต คือ *Lactobacillus delbrueckii* โดยวัตถุดิบจาก แล็กโตส กาลูโคส และซูโครสได้แก่ เชื้อ *Bacillus coagulan* , *Lactobacillus bulgaricus* (บุญฤๅ,2532) โดยแบคทีเรียแต่ละชนิดจะต้องใช้ วัตถุดิบ และ อยู่ในปัจจัยต่าง ๆ ต่างชนิดกัน แลคติกแอซิคแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกในอาหาร ให้ประโยชน์ทางด้านสาธารณสุขด้วย คือ กรดที่แบคทีเรียสร้างขึ้นทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของอาหารลดต่ำลง ช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดอื่น (ปรียา,2525)

นอกจากนี้เกลือแบคทีเรียแลคติกยังมีผลต่อการสลายตัวของไนเตรท ที่เติมลงในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก ทำให้การการสะสมของ nitrosamine ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งลดลง ทั้งนี้เนื่องจากผลิตภัณฑ์ที่มีการเติมเกลือแบคทีเรียแลคติกในปริมาณมากจะสามารถสร้างกรดได้อย่างรวดเร็ว ซึ่งจะไปเร่งให้ส่วนของที่เหลือของไนไตรท์ (residual nitrite) สลายเป็นไนตรัสออกไซด์ (N_2O) ทำให้ปริมาณไนไตรท์ ลดลง การสะสมของ nitrosamine จึงลดลงด้วยเช่นกัน (Andres , 1979 ; Zaika และ คณะ , 1976)

กรดมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ถึงแม้ว่าจะเป็นกรดที่ถูกเติมลงในอาหารหรือกรดที่เป็นส่วนประกอบของอาหาร หรือกรดที่ถูกสร้างมาจากกระบวนการหมักก็ตาม ถ้าความเข้มข้นของกรดเพียงพอจะมีผลต่อการทำลายจุลินทรีย์ แต่ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของกรด และชนิดของจุลินทรีย์ ทั้งนี้มีงานวิจัยจากต่างประเทศ พบว่าผลของการทำลายแบคทีเรียของกรดอะซิติกที่ความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์สามารถทำลายแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* , *Esherichia coli* *Pseudomonas aeruginosa* *Salmonella typhosa* ได้ภายใน 15 นาที ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ในขณะที่กรดแลคติก ความเข้มข้นเพียง 0.75 เปอร์เซ็นต์ สามารถทำลายได้ในสภาพเดียวกัน (วราวุฒิ,2538)

การจุ่มเนื้อลงในกรดแลคติก มีผลทำให้จุลินทรีย์ลดลงเพราะ กรดแลคติกสามารถยับยั้งและทำลายเชื้อโรคได้ และ ยังขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของกรดจากการทดลองกรดแลคติกที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร มีผลในการยับยั้งหรือขลอการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จำนวนจุลินทรีย์ลดลงภายหลังการใช้ระยะเวลาหนึ่ง ส่วนกรดแลคติกที่ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร มีผลในการยับยั้งและทำลายเชื้อจุลินทรีย์ จำนวนจุลินทรีย์ลดลงทันทีภายหลังการใช้ผลจากการใช้กรดแลคติกในการลดเชื้อจุลินทรีย์ สามารถยืดระยะเวลาการเก็บรักษาเนื้อสัตว์ให้นานขึ้น นอกจากนี้ยังเป็นการเพิ่มคุณภาพให้เนื้อสัตว์อีกด้วย ผลเสียของการจุ่มเนื้อสัตว์ลงในกรดแลคติก ก็คือ ทำให้เนื้อสัตว์สีซีดจางลงเล็กน้อยเมื่อใช้กรดแลคติกในความเข้มข้นที่ต่ำ เมื่อเนื้อที่ถูกเก็บรักษาไว้ประมาณ 1 วัน สีของเนื้อจะกลับเป็นปกติเหมือนเดิม (จุทาทิพย์, 2533)

Isabel Guerrero และ คณะ ได้ทดลองใช้เชื้อ *Latobacillus Bulgaricus* และ *Pediococcus pentosaceus* เติมลงในเนื้อสุกรและเนื้อโค โดยเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์พวก *Pseudomonas* ได้อย่างมีประสิทธิภาพใน 3 วันแรก และการที่เชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่พึงประสงค์ลดลง เนื่องมาจากการแข่งขันกัน ระหว่าง เชื้อจุลินทรีย์กันเองมากกว่า ที่เป็นผลเนื่องมาจากกรด lactic ที่เชื้อ *Lactobacillus* สร้างขึ้น

Kim และ คณะ รายงานว่า การนำเนื้อปลาจุ่มลงในสารละลายกรดแลคติกที่ความเข้มข้นที่ 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ร่วมกับเชื้อแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติกเข้มข้น 2.5 เปอร์เซ็นต์ เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบการลดลงของเชื้อจุลินทรีย์แกรมลบอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ และพบว่าสามารถเก็บเนื้อปลาได้ถึงวันที่ 9 นอกจากนี้ยังสรุปได้อีกว่าเนื้อปลาที่จุ่มสารละลายกรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติก จะให้ผลในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบได้ดีกว่าการใช้กรดแลคติกเพียงอย่างเดียว และเขายังกล่าวอีกว่า เชื้อแบคทีเรียแกรมลบมีความสามารถในการทนต่อค่าความเป็นกรด-ด่างที่ต่ำ ได้น้อยกว่าแบคทีเรียแกรมบวก ซึ่งสารละลายกรดแลคติก มีความเหมาะสมต่อการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมเนื้อสัตว์ และรับรองว่าปลอดภัย ในการใช้เป็นสารปรุงแต่งรสชาติในอาหาร ในประเทศสหรัฐอเมริกา (FAO/WHO,1974)

ค่าความเข้มข้นที่เหมาะสมคือ 1.25 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ซึ่งพบการลดลงของเชื้อจุลินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญ สีและรสชาติเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค นอกจากนี้ยังพบว่า กรดแลคติกที่ค่าความเข้มข้นระดับสูงทำให้จุดเดือดที่เกิดขึ้นหายไป Woolthius และ คณะ (1985) การใช้ตัวจุ่มในสารละลายกรดแลคติก ที่ค่าความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ (v/v) นาน 5 นาที และบรรจุโดยวิธีสูญญากาศ (vacuum) เก็บที่อุณหภูมิ 3 ± 1 องศาเซลเซียส ทำการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เมื่อเก็บไว้ได้นาน 1 และ 5 วัน พบการลดลงของ Enterobacteriaceae และ Lactobacillaecae อย่างมีนัยสำคัญ และ อรณูช (2530) ทำการศึกษาวิจัยถึงผลของการใช้กรดแลคติกในการควบคุมปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์ โดยนำหมูมาจุ่มกรดแลคติกที่ค่าความเข้มข้น

ชั้นที่ 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง , 3 วัน และ 5 วัน แล้วทำการตรวจนับปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ พบว่ากรดแลคติกที่ค่าความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ สามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้ทันที และมีประสิทธิภาพดีกว่ากรดแลคติกที่ค่าความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ และมีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้นาน 5 วัน ในขณะที่กรดแลคติกที่ค่าความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งได้นาน 3 วัน และมีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้เพียงเล็กน้อย แต่กรดแลคติกที่ค่าความเข้มข้นที่ 2 เปอร์เซ็นต์ มีผลเสีย คือ ทำให้สีของเนื้อลดลงเพียงเล็กน้อย แต่เมื่อเก็บไว้นาน 1 วัน สีของเนื้อจะกลับเป็นปกติ

Labot et. al. (1983) รายงานว่ากรดแลคติกที่ค่าความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ไม่มีผลต่อสีของเนื้อ นอกจากนี้ Alves et. al. (1995) การฉีดสารละลายกรดแลคติกผสมกรดแลคติกนั้นสามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ได้เป็นอย่างมาก เมื่อมีกรดแลคติกเกิดขึ้นจากการกระทำของแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (Lactic acid bacteria) ซึ่งผลิตกรดเพียงเล็กน้อยก็ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง ในผักลดลงทันที ดังนั้นกรดแลคติกที่เกิดขึ้นจึงสามารถไปยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ เช่น จุลินทรีย์ที่ย่อยสลายเพคติน (สุมาลี, 2541)

วิธีการตรวจนับเชื้อจุลินทรีย์มีหลาย วิธีการตรวจนับเชื้อจุลินทรีย์โดยทำให้เจือจาง และวิธี Plate count เป็นวิธีที่นำมาใช้อย่างแพร่หลาย โดยอาศัยหลักการพื้นฐานที่ว่าเมื่อแบคทีเรียตกลงไปในอาหารแข็งที่เหมาะสมก็จะเพิ่มจำนวนสร้างเป็นโคโลนี เพราะฉะนั้นจำนวนโคโลนีที่ตรวจนับได้ก็ถือเป็นจุลินทรีย์ที่อยู่ในอาหารนั่นเอง ควรตระหนักอย่างยิ่งว่าไม่มีอาหารเลี้ยงเชื้อใด ๆ ที่ทำให้สามารถสร้างจำนวนโคโลนีที่ถูกต้อง โดยแท้ของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีลักษณะทางสรีระที่แตกต่างกันไปได้ เพราะไม่มีอาหารชนิดใดและการปนชนิดใด ที่เหมาะสมกับจุลินทรีย์ทุกชนิดที่มีอยู่ได้

การตรวจนับเชื้อจุลินทรีย์จะมีผลดีเพียงใด ต้องขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น การเก็บรักษาวัสดุ ประเภทของจุลินทรีย์ที่ต้องการตรวจนับ อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ อุณหภูมิ ระยะเวลาในการบ่มเชื้อ จำนวนซ้ำการทดลอง ปัจจัยแวดล้อมต่าง ๆ และความละเอียดรอบคอบของผู้ปฏิบัติงาน

การนับแบบ dilution หรือ plate count การเขียนกราฟแสดงจำนวนของแบคทีเรียใช้วิธี Logarithms เข้ามาช่วยในการ plot เส้น เพื่อให้เห็นการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจน และง่ายต่อการนำค่าไปใช้ เพราะค่าที่ได้เป็นจำนวนเต็ม โดยการนำจำนวนจุลินทรีย์ที่ตรวจนับได้เปลี่ยนเป็นค่า log (ดีพร้อม และ วิวัฒน์ , 2527)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อโรคโดยใช้ความดัน (autoclave) ยี่ห้อ ALL AMERICAN model no.1941 X และ model NO.25 X
2. เครื่องอบฆ่าเชื้อโรคโดยใช้ไอร้อน (hot air oven) ยี่ห้อ Memmert
3. เครื่องบดเนื้อแบบใช้มอเตอร์ไฟฟ้า
4. เครื่องชั่งยี่ห้อ Santorius Basic รุ่น BA 610 มีความละเอียด ทศนิยม 2 ตำแหน่ง
5. หลอดแก้ว (test tube) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 15 มิลลิเมตร ยาว 150 มิลลิเมตร
6. Flask ขนาด 250 มิลลิเมตร
7. เครื่องเขย่า (VORTEX)
8. ไปเปต (pipette) ขนาด 1 มิลลิเมตร 2 มิลลิเมตร 5 มิลลิเมตร พร้อมลูกยาง
9. กระบอกตวง (cylinder) ขนาด 1000 มิลลิเมตร
10. จานป่นเชื้อ (plate)
11. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)
12. เครื่องนับจำนวนโคโลนี (colony counter)
13. ตะเกียงแอลกอฮอล์
14. เครื่องต้มอาหาร (hot plate)
15. ปีกเกอร์
16. ถังพลาสติกใส
17. แท่งแก้ว
18. แท่งแม่เหล็ก
19. เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)
20. ขวดหมัก

สารเคมี

1. Peptone water
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ PCA และ MRS-broth (in deMan , Rogosa and Sparpe)
3. แอลกอฮอล์ 70 %
4. แคลเซียมคาบอเนต (Caco₂)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการ

1. การเตรียมลูกไก่คั้ดทิ้งเพื่อใช้ในการหมัก

ลูกไก่คั้ดทิ้งได้รับความอนุเคราะห์ จากโรงพักหนองจอก ซึ่งก่อนทำการหมักต้อง บดลูกไก่คั้ดทิ้ง โดยใช้เครื่องบดเนื้อจนละเอียดพอประมาณ หลังจากนั้นจึงนำลูกไก่คั้ดทิ้งที่บด แล้วไปทำการหมักด้วยกรดในขวดหมัก ที่มีฝาปิดมิดชิด โดยสภาวะที่ใช้ในการหมักแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม

กลุ่มที่ 1 (T1) หมักด้วยสารละลายกรดโพรพิโอนิก (propionic acid) 85% ในปริมาณ 3.5 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักลูกไก่คั้ดทิ้ง

กลุ่มที่ 2 (T2) หมักด้วยสารละลายกรดฟอร์มิก (formic acid) 85% ในปริมาณ 3.5 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักลูกไก่คั้ดทิ้ง

กลุ่มที่ 3 (T3) หมักด้วยสารละลายกรดโพรพิโอนิก (propionic acid) 85% ร่วมกับ กรดฟอร์มิก 85 % (formic acid) ในปริมาณ 3.5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนัก ลูกไก่คั้ดทิ้ง

กลุ่มที่ 4 (T4) กลุ่มควบคุมไม่ได้เติมกรด

2. การเจือจางตัวอย่าง

2.1 สุ่มตัวอย่างลูกไก่คั้ดทิ้งที่หมักด้วยกรด 25 กรัม ใส่ในถุงที่มี Peptone water อยู่ 225 มิลลิลิตร (ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว) ภายใต้เทคนิคการปลอดเชื้อ ขยำให้เข้ากัน ประมาณ 3 นาที จะได้ระดับความเจือจางที่ 1 : 10

2.2 ใช้ pipette ดูดตัวอย่าง จากข้อ 2.1 มา 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดที่มี peptone water อยู่ 9 มิลลิลิตร จะได้ตัวอย่างที่ระดับความเจือจางที่ 1 : 100

2.3 เตรียมตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง 1 : 1000 , 1 : 10000 ไปเรื่อย ๆ จนได้ระดับความเจือจางที่ต้องการ

2.4 ได้ระดับความเจือจางที่ต้องการแล้ว ใช้ pipette ดูดใส่ในจานเลี้ยงเชื้อ มิลลิลิตร จำนวน 2 จาน ต่อ หนึ่งระดับความเจือจาง

3. การทดสอบการเลี้ยงเชื้อที่กำหนดลงจานเพาะเชื้อ

อาหารเลี้ยงเชื้อที่นำมาใช้ต้องอยู่ในสภาพที่ปราศจากเชื้อ เทอาหารลงในจานเพาะเชื้อที่มีตัวอย่างอาหารเจือจางอยู่แล้วประมาณ 12 – 15 มิลลิลิตร (หลังการใส่ตัวอย่างเจือจาง ไม่เกิน 20 นาที) อุณหภูมิของอาหารเลี้ยงเชื้อขณะเทลงจานเพาะเชื้อไม่ควรสูงกว่า 46 องศาเซลเซียส ขั้นตอนนี้เป็นเทคนิคปราศจากเชื้อ ทดสอบโดยการทำงานควบคุมซึ่งไม่ได้ใส่ตัวอย่างอาหาร เมื่อเทอาหารเลี้ยงเชื้อลงในจานแล้วปิดฝา หมุนจานเพาะเชื้อไปทางซ้าย 5 – 10 ครั้ง และ ขวา 5 – 10 ครั้ง ให้ตัวอย่างอาหาร และ อาหารเลี้ยงเชื้อรวมเป็นเนื้อเดียวกัน ประมาณ นาที อาหารเลี้ยงเชื้อเริ่มแข็งตัว จดหมายเลข ค่าความเจือจาง วันที่ และ ชนิดของกรดที่ใช้

4. สภาพการบ่มเชื้อ

จานเพาะเชื้อที่เตรียมเสร็จแล้ว ควรจะวางก่อนเข้าบ่มเชื้อ ป้องกันการหยดของหยดน้ำซึ่งอาจเกิดขึ้นที่ฝาของจานเพาะเชื้อ ทำการบ่มในภาชนะที่มีอากาศในปริมาณต่ำที่อุณหภูมิห้อง (27-30 องศาเซลเซียส) 2-3 วัน

5. การคัดเลือกและการนับจำนวนโคโลนี

เลือกนับจานเพาะเชื้อที่เกิดโคโลนีแพร่กระจายอย่างสม่ำเสมอ โดยมีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 25-250 โคโลนี ต่อ จานเลี้ยงเชื้อ โดยเลือกมากลุ่มละ 3 จาน และทำ 2 ซ้ำ ในแต่ละความเจือจาง โดยใช้เครื่องตรวจนับเชื้อ (Colony counter) แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย จากนั้นนำไปหาจำนวนโคโลนีต่อกรัม (CFU / g)

6. การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ 3 x 7 Factorial Experiment on CRD (อารูช , 2524) ซึ่งประกอบ 2 ปัจจัย คือ

- 1) ชนิดของกรดที่ใช้หมัก
- 2) ระยะเวลาของกรดที่ใช้ในการหมัก

โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม (Treatment) แต่ละกลุ่มมี 4 ซ้ำ (Replication)

7. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้จากผลการทดลองทั้งหมดจะถูกนำมาวิเคราะห์ หาค่าความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) และ เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่ม โดยวิธี P - value difference (PDIFF) (อารุณ, 2524)

8. สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร

9. ระยะเวลาทำการทดลอง

ใช้ระยะเวลาทำการทดลองทั้งสิ้น 7 สัปดาห์ โดยเริ่มทำการทดลองหมักลูกไก่คัดทิ้ง ตั้งแต่ วันที่ 29 พฤษภาคม พ.ศ. 2544 จนถึงสิ้นสุดการทดลอง วันที่ 13 กรกฎาคม พ.ศ. 2544



ผลการทดลอง

การตรวจนับเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดชนิดต่างกันเป็นเวลา 6 สัปดาห์

เมื่อเริ่มทำการหมัก (ชั่วโมงที่ 0) จำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่นับได้จากการหมักด้วยสารละลายกรดไพโรฟิโอนิก กรดฟอร์มิก และ กรดไพโรฟิโอนิกร่วมกับกรดฟอร์มิก มีค่าเฉลี่ย 7.8×10^{10} , 6.6×10^{10} , 9.5×10^{10} โคโลนี ตามลำดับ และกลุ่มควบคุมมีจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียเฉลี่ย 7.0×10^{10} โคโลนี ดังแสดงในตารางที่ 1

สัปดาห์ที่ 1 จำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรีย ที่นับได้จากลูกไก่คัดทิ้งหมักด้วยกรดไพโรฟิโอนิก กรดฟอร์มิก มีปริมาณที่เพิ่มขึ้น เท่ากับ 8.1×10^{10} , 7.4×10^{10} โคโลนี ตามลำดับ และ กรดไพโรฟิโอนิก ร่วมกับ กรดฟอร์มิก พบว่ามีปริมาณที่ลดลงเท่ากับ 3.2×10^{10} โคโลนี

สัปดาห์ที่ 2 จำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่นับได้จากกรดไพโรฟิโอนิก มีปริมาณที่ลดลง คือ 6.9×10^{10} โคโลนี ส่วนกรดฟอร์มิก และ กรดไพโรฟิโอนิก ร่วมกับ กรดฟอร์มิก มีปริมาณแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่เพิ่มขึ้น คือ 8.0×10^{10} , 7.8×10^{10} โคโลนี

สัปดาห์ที่ 3 จำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่นับได้จากกรดไพโรฟิโอนิกมีปริมาณที่เพิ่มขึ้น คือ 8.8×10^{10} โคโลนี ส่วนกรดฟอร์มิก และ กรดไพโรฟิโอนิก.ร่วมกับ กรดฟอร์มิกมีปริมาณที่ลดลง คือ 5.3×10^{10} , 5.0×10^{10} โคโลนีตามลำดับ

สัปดาห์ที่ 4 จำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่นับได้จากกรดไพโรฟิโอนิกมีปริมาณที่ลดลง เท่ากับ 6.8×10^{10} โคโลนี ส่วนกรดฟอร์มิก และ กรดไพโรฟิโอนิก ร่วมกับ กรดฟอร์มิก มีปริมาณที่เพิ่มขึ้น คือ 7.7×10^{10} , 7.5×10^{10} โคโลนี ตามลำดับ

สัปดาห์ที่ 5 จำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่นับได้จากกรดไพโรฟิโอนิก กรดฟอร์มิก และกรดไพโรฟิโอนิกร่วมกับกรดฟอร์มิกมีปริมาณที่ลดลงเท่ากับ 6.6×10^{10} , 5.3×10^{10} , 6.2×10^{10} โคโลนี ตามลำดับ

สัปดาห์ที่ 6 จำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่นับได้จากกรดไพโรฟิโอนิกและ กรดไพโรฟิโอนิก ร่วมกับ กรดฟอร์มิก มีปริมาณที่ลดลง เท่ากับ 5.5×10^{10} , 2.1×10^{10} โคโลนี ตามลำดับ กรดฟอร์มิก มีปริมาณที่เพิ่มขึ้น เท่ากับ 6.8×10^{10} โคโลนี

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดชนิดต่าง ๆ เวลา 6 สัปดาห์

สัปดาห์	จำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (โคโลนี)			
	กรดไพโรฟิโอนิก	กรดฟอร์มิก	กรดไพโรฟิโอนิกร่วมกับกรดฟอร์มิก	กลุ่มควบคุม
0	7.8×10^{10}	6.6×10^{10}	9.5×10^{10}	7.0×10^{10}
1	8.1×10^{10}	7.4×10^{10}	3.2×10^{10}	—
2	6.9×10^{10}	8.0×10^{10}	7.8×10^{10}	—
3	8.8×10^{10}	5.3×10^{10}	5.0×10^{10}	—
4	6.8×10^{10}	7.7×10^{10}	7.5×10^{10}	—
5	6.6×10^{10}	5.3×10^{10}	6.2×10^{10}	—
6	5.5×10^{10}	6.8×10^{10}	2.1×10^{10}	—

หมายเหตุ — หมายถึง ทำการตรวจนับไม่ได้

การวัดค่าความเป็นกรด - ต่างในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดต่างชนิดกัน

เมื่อเริ่มหมัก (ชั่วโมงที่ 0) ค่าความเป็นกรด - ต่าง ในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยสารละลายกรดไพโรฟิโอนิก กรดฟอร์มิก และ กรดไพโรฟิโอนิก ร่วมกับ กรดฟอร์มิก เท่ากับ 5.27 , 4.37 , 4.53 ตามลำดับ โดยกลุ่มควบคุมวัดค่าความเป็นกรด-ต่างได้ 6.8 ดังแสดงในตารางที่ 2

สัปดาห์ที่ 1 ค่าความเป็นกรด-ต่าง ที่วัดได้จาก กรดไพโรฟิโอนิก กรดฟอร์มิก และกรด ไพโรฟิโอนิก ร่วมกับ กรดฟอร์มิก มีแนวโน้มที่สูงขึ้น คือ 5.43 , 4.8 , 5.13 ตามลำดับ พบว่า ค่าความเป็นกรด-ต่าง ของกลุ่มที่หมักด้วยกรดไพโรฟิโอนิกมากที่สุด รองลงมาคือ กลุ่มที่หมักด้วยกรดไพโรฟิโอนิก ร่วมกับกรดฟอร์มิก และ ที่น้อยที่สุดคือ กลุ่มที่หมักด้วยกรด ฟอร์มิก

สัปดาห์ที่ 2 ค่าความเป็นกรด-ต่าง ที่วัดได้จาก กรดไพโรฟิโอนิก กรดฟอร์มิก และกรด ไพโรฟิโอนิก ร่วมกับ กรดฟอร์มิก มีแนวโน้มที่สูงขึ้น คือ 6.07 , 5.23 , 5.57 ตามลำดับ พบว่า ค่าความเป็นกรด-ต่าง ของกลุ่มที่หมักด้วยกรดไพโรฟิโอนิก มากที่สุด รองลงมาคือ กลุ่มที่หมักด้วยกรดไพโรฟิโอนิก ร่วมกับกรดฟอร์มิก และที่น้อยที่สุดคือ กลุ่มที่หมักด้วยกรด ฟอร์มิก

สัปดาห์ที่ 3 ค่าความเป็นกรด-ต่าง ที่วัดได้จาก กรดไพโรฟิโอนิก กรดฟอร์มิก และกรด ไพโรฟิโอนิก ร่วมกับ กรดฟอร์มิก มีแนวโน้มที่สูงขึ้น คือ 6.37 , 5.73 , 6.1 ตามลำดับ

พบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของกลุ่มที่หมักด้วยกรดโพธิ์โอนิก มากที่สุด รองลงมาคือ กลุ่มที่หมักด้วยกรดโพธิ์โอนิก ร่วมกับกรดฟอร์มิค และที่น้อยที่สุดคือ กลุ่มที่หมักด้วยกรด ฟอร์มิค

สัปดาห์ที่ 4 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่วัดได้จาก กรดโพธิ์โอนิก กรดฟอร์มิค และกรด โพธิ์โอนิก ร่วมกับ กรดฟอร์มิค มีแนวโน้มที่ลดลง คือ 6.0 , 5.67 , 5.73 ตามลำดับ พบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของกลุ่มที่หมักด้วยกรดโพธิ์โอนิก มากที่สุด รองลงมาคือ กลุ่มที่หมักด้วยกรดโพธิ์โอนิก ร่วมกับกรดฟอร์มิค และที่น้อยที่สุดคือ กลุ่มที่หมักด้วยกรด ฟอร์มิค

สัปดาห์ที่ 5 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่วัดได้จาก กรดโพธิ์โอนิก กรดฟอร์มิค และกรด โพธิ์โอนิก ร่วมกับ กรดฟอร์มิค มีแนวโน้มที่ลดลง คือ 5.97 , 5.33 , 5.5 ตามลำดับ พบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของกลุ่มที่หมักด้วยกรดโพธิ์โอนิก มากที่สุด รองลงมาคือ กลุ่มที่หมักด้วยกรดโพธิ์โอนิก ร่วมกับกรดฟอร์มิค และที่น้อยที่สุดคือ กลุ่มที่หมักด้วยกรด ฟอร์มิค

สัปดาห์ที่ 6 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่วัดได้จาก กรดโพธิ์โอนิก กรดฟอร์มิค มีแนวโน้มที่ลดลง คือ 5.73 และ 5.1 ตามลำดับ พบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของกลุ่มที่หมักด้วยกรดโพธิ์โอนิก ร่วมกับ กรดฟอร์มิค มีแนวโน้มที่สูงขึ้น คือ 5.53 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของกลุ่มที่หมักด้วยกรดโพธิ์โอนิก มากที่สุด รองลงมาคือ กลุ่มที่หมักด้วยกรดโพธิ์โอนิก ร่วมกับกรดฟอร์มิค และที่น้อยที่สุดคือ กลุ่มที่หมักด้วยกรด ฟอร์มิค

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบค่าความเป็นกรด - ด่างในลูกไก่คัดทิ้งหมักด้วยกรดชนิดต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

สัปดาห์	ค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH)			
	กรดโพธิ์โอนิก	กรดฟอร์มิค	กรดโพธิ์โอนิกร่วมกับกรดฟอร์มิค	กลุ่มควบคุม
0	5.27	4.37	4.53	6.8
1	5.47	4.8	5.13	--
2	6.07	5.23	5.57	--
3	6.37	5.73	6.1	--
4	6.00	5.67	5.73	--
5	5.97	5.33	5.5	--
6	5.73	5.1	5.53	--

หมายเหตุ -- ไม่ได้นำมาวัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การวิเคราะห์ผลทางสถิติของจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่พบในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดชนิดต่าง ๆ

เมื่อนำผลการนับเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักกรดทั้ง 3 ชนิดในเวลาเริ่มหมัก (สัปดาห์ที่ 0) จากตารางที่ 1 มาทำเป็นค่า log และวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วย กรดโพรพิโอนิกร่วมกับกรดฟอร์มิก กรดโพรพิโอนิก และ กรดฟอร์มิก มีจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยมีค่าเฉลี่ย 10.904 , 10.888 , 10.816 และ 10.289 ตามลำดับดังที่แสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบค่า log ของจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่พบในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดชนิดต่าง ๆ เมื่อเริ่มต้นการหมัก (สัปดาห์ที่ 0)

ชนิดของกรดที่ใช้หมัก	ค่าเฉลี่ย (log)
กรดโพรพิโอนิก	$10.888 \pm 0.058^{\text{ก}}$
กรดฟอร์มิก	$10.816 \pm 0.034^{\text{ก}}$
กรดโพรพิโอนิกร่วมกับกรดฟอร์มิก	$10.904 \pm 0.114^{\text{ก}}$
กลุ่มควบคุม	$10.289 \pm 0.022^{\text{ข}}$

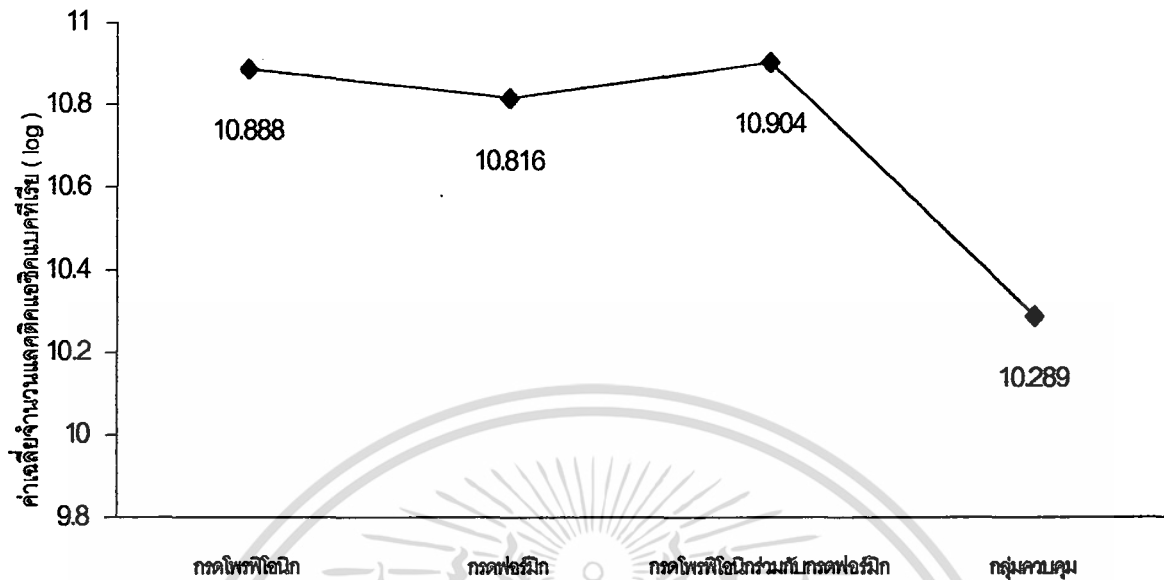
ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$)

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบค่า log ของจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่พบในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดชนิดต่าง ๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์

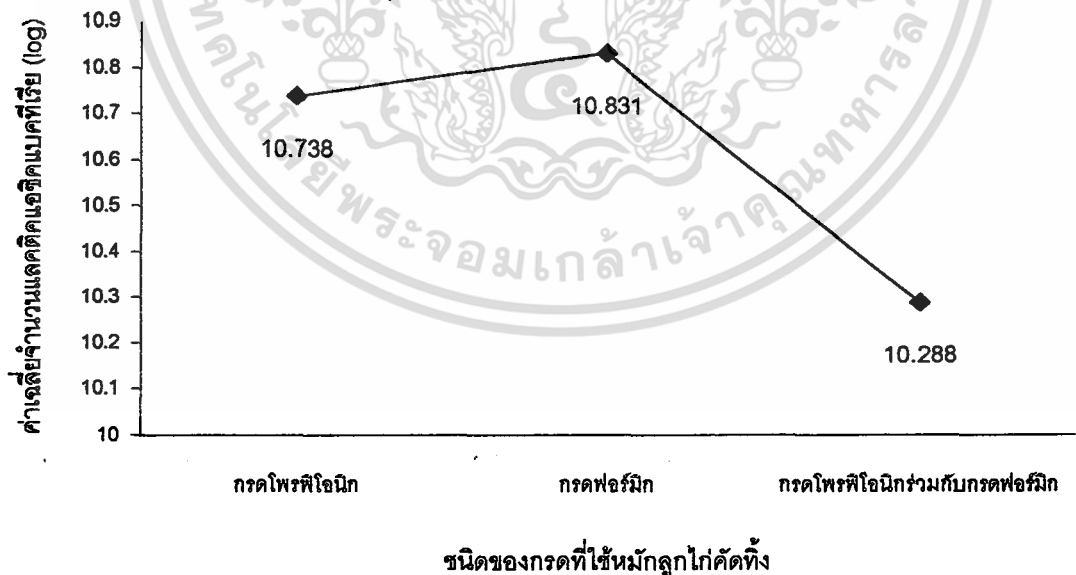
ชนิดของกรดที่ใช้หมัก	ค่าเฉลี่ย
กรดโพรพิโอนิก	$10.738 \pm 0.049^{\text{ข}}$
กรดฟอร์มิก	$10.831 \pm 0.036^{\text{ก}}$
กรดโพรพิโอนิกร่วมกับกรดฟอร์มิก	$10.288 \pm 0.012^{\text{ก}}$

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 1 แสดงค่า log ของจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรีย ที่พบในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดชนิดต่าง ๆ เริ่มต้นการหมัก



ภาพที่ 2 แสดงค่า log ของจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรีย ที่พบในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดชนิดต่าง ๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สัปดาห์ที่ 6 ในตารางที่ 1 มาทำเป็นค่า log วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนดังตารางในภาคผนวกที่ 2 พบว่า กรดแต่ละชนิดที่ใช้หมักมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยการใช้กรดฟอร์มิกในการหมักพบเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย มากที่สุด รองลงมาคือ กรดโพรพิโอนิก และ กรดโพรพิโอนิกร่วมกับกรดฟอร์มิก คือ 10.831 , 10.738 , 10.288 ตามลำดับ

เมื่อทำการเปรียบเทียบระยะเวลาในการหมักพบว่า ระยะเวลาที่ใช้ในการหมักมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียมีจำนวนลดลงใน... สัปดาห์ที่ 1 และเพิ่มขึ้นมากที่สุดในสัปดาห์ที่ 2 และ มีแนวโน้มที่ลดลง แต่ยังคงไม่แตกต่างทางสถิติในสัปดาห์ที่ 4 จากนั้นเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียมีจำนวนที่ลดลงเรื่อย ๆ จนถึง สัปดาห์ที่ 6 ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบค่า log ของจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่พบในลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดในสัปดาห์ต่าง ๆ

สัปดาห์ที่	ค่าเฉลี่ย (log)
0	10.870 ± 0.079 ⁿ
1	10.726 ± 0.261 ^ข
2	10.877 ± 0.031 ⁿ
3	10.788 ± 0.031 ^ข
4	10.863 ± 0.116 ⁿ
5	10.776 ± 0.027 ^{ขค}
6	10.619 ± 0.249 ^ง

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P < 0.01)

ชนิดของกรด และ ระยะเวลาที่ใช้หมัก มีผลต่อค่าเฉลี่ยจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ การใช้กรดโพรพิโอนิกหมักลูกไก่คัดทิ้ง มีจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียมากที่สุดเมื่อหมักเป็นเวลา 3 สัปดาห์ การใช้กรดฟอร์มิกในการหมักลูกไก่คัดทิ้งนั้นพบว่า ในสัปดาห์ที่ 2 ตรวจพบแลคติกแอซิดแบคทีเรียมากที่สุด และการใช้กรดโพรพิโอนิกเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ร่วมกับ กรดฟอร์มิกในการหมักลูกไก่คั้ดทั้งนั้น จำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่มากที่สุด คือ สัปดาห์ที่ 0 แต่ ยังคงมีจำนวนที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติในสัปดาห์ที่ 2

ปริมาณแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่พบในลูกไก่คั้ดทั้งที่หมักด้วยกรดทั้ง 3 ชนิดมีแนวโน้มที่ ลดลง เรื่อย ๆ ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 มาลดลงในปริมาณที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 6 เปรียบเทียบค่า (log) ของแลคติกแอซิดแบคทีเรียในลูกไก่คั้ดทั้งที่หมักด้วยกรด แต่ละชนิดในแต่ละสัปดาห์

สัปดาห์ที่	กรดโพธิโอนิก	กรดฟอร์มิก	กรดโพธิโอนิกร่วมกับกรดฟอร์มิก
0	10.889 ^{กขคจ}	10.816 ^{งจทรน}	10.904 ^{กขค}
1	10.908 ^{กขค}	10.868 ^{กขคจข}	10.402 ^ม
2	10.837 ^{ขจข}	10.902 ^{กขช}	10.892 ^{กขค}
3	10.944 ^ก	10.724 ^{ผฝพ}	10.698 ^{ผภ}
4	10.832 ^{คขคตถ}	10.883 ^{กขชจ}	10.874 ^{กขค}
5	10.815 ^{งจคป}	10.721 ^{ผฝ}	10.791 ^{ชชคทนปผ}
6	10.738 ^{ธบผ}	10.831 ^{ขคท}	10.289 ^ย

ในแนวตั้งอักษรกำกับที่แตกต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P < 0.01)

4. การวิเคราะห์ผลทางสถิติของค่าความเป็นกรด -ด่าง ในลูกไก่คั้ดทั้งที่หมักด้วยกรดชนิดต่าง ๆ

เมื่อนำผลการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ของลูกไก่คั้ดทั้งที่หมักด้วยกรดต่างชนิดกันในเวลาที่ เริ่มหมัก (สัปดาห์ที่ 0) ในตารางที่ 2 วิเคราะห์ค่าความแปรปรวน ดังตารางภาคผนวกที่ 3 พบว่าชนิดของกรดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย โดยใช้ PDIFF ดังตารางที่ 7 พบว่าในเวลาเริ่มหมักลูกไก่คั้ดทั้งที่หมักด้วยกรดมีค่าความเป็นกรด-ด่าง น้อยกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่ได้เติมกรด อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของ ลูกไก่คั้ดทั้งที่หมักด้วยกรดโพธิโอนิก กรดฟอร์มิก และ กรดโพธิโอนิกร่วมกับกรดฟอร์มิก เท่ากับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.266 , 4.366 , 4.533 ตามลำดับ กลุ่มควบคุมที่ไม่ได้เติมกรด มีค่าความเป็นกรด - ต่าง เท่ากับ 6.8 เมื่อนำลูกไก่คัดทิ้งหมักด้วยกรดโพธิ์อินิก กรดฟอร์มิค และ กรดโพธิ์อินิกร่วมกับกรดฟอร์มิคเป็นเวลา 6 สัปดาห์ ในตารางที่ 2 ไปวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนดังตารางภาคผนวกที่ 4 พบว่า ชนิดของกรดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ระยะเวลาที่ใช้หมัก และ อิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัยทั้งสองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ PDIFF ดังตารางที่ 8 ค่าความเป็นกรด - ต่าง ของลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดโพธิ์อินิก กรดฟอร์มิค และกรดโพธิ์อินิกร่วมกับกรดฟอร์มิค เท่ากับ 5.831 , 5.172 และ 5.4492 ตามลำดับ ระยะเวลาที่ใช้หมักมีผลต่อค่าความเป็นกรด-ต่าง ของลูกไก่คัดทิ้งอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติดังแสดงในตารางที่ 9

ตารางที่ 7 เปรียบเทียบค่าความเป็นกรด - ต่างของลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดชนิดต่าง ๆ เมื่อเริ่มต้นหมัก

ชนิดของกรดที่ใช้หมัก	ค่าเฉลี่ยความเป็นกรด-ต่าง
กรดโพธิ์อินิก	5.266 ± 0.057 ^ข
กรดฟอร์มิค	4.366 ± 0.057 ^ง
กรดโพธิ์อินิกร่วมกับกรดฟอร์มิค	4.533 ± 0.057 ^ค
กลุ่มควบคุม	6.800 ± 0.000 ^ก

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P < 0.01)

ตารางที่ 8 เปรียบเทียบค่าความเป็นกรด - ต่างของลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดชนิดต่าง ๆ ในสัปดาห์ที่ 6

ชนิดของกรดที่ใช้หมัก	ค่าเฉลี่ยความเป็นกรด-ต่าง
กรดโพธิ์อินิก	5.838 ± 0.299 ^ก
กรดฟอร์มิค	5.176 ± 0.351 ^ค
กรดโพธิ์อินิกร่วมกับกรดฟอร์มิค	5.449 ± 0.321 ^ข

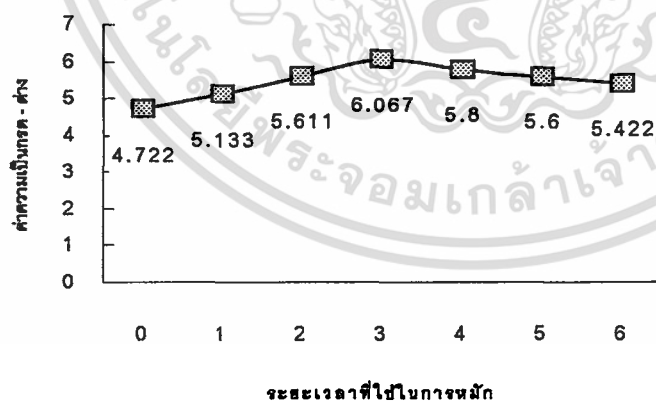
ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P < 0.01)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 9 เปรียบเทียบค่าความเป็นกรด - ต่าง ของลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดชนิดต่าง ๆ ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 0 ถึง สัปดาห์ที่ 6

สัปดาห์ที่	ค่าเฉลี่ยความเป็นกรด-ต่าง
0	4.772 ± 0.417 ^ฉ
1	5.133 ± 0.304 ^ฉ
2	5.622 ± 0.372 ^ค
3	6.066 ± 0.291 ^ก
4	5.800 ± 0.165 ^ข
5	5.600 ± 0.291 ^ค
6	5.455 ± 0.292 ^ง

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกันมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P < 0.01)



ภาพที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ยของค่าความเป็นกรด - ต่าง ของลูกไก่คัดทิ้งที่หมักด้วยกรดตั้งแต่สัปดาห์ที่ 0 ถึง สัปดาห์ที่ 6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อพิจารณาถึงอิทธิพลของปัจจัยทั้งสองร่วมกัน คือ ชนิดของกรดและระยะเวลาที่ใช้หมัก พบว่า มีผลต่อค่าความเป็นกรด - ต่าง อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยการใช้กรดโพธิ์อินิก กรดฟอร์มิค และ กรดโพธิ์อินิกร่วมกับกรดฟอร์มิค หมักลูกไก่คั้ดทั้ง นาน 6 สัปดาห์ เมื่อทำการ วัดค่าความเป็น กรด-ต่าง พบว่า ค่าความเป็นกรด - ต่าง ลดลงทุกสัปดาห์ อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ทางสถิติดังแสดงในตารางที่ 10

ลูกไก่คั้ดทั้งที่หมักด้วยกรดโพธิ์อินิก มีค่าความเป็นกรด - ต่าง สูงสุด เมื่อสัปดาห์ที่ 3 ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ต่อทุกสัปดาห์ที่ทำการหมัก และ ลดลงเมื่อสัปดาห์ที่ 4 , 5 และ 6 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ลูกไก่คั้ดทั้งที่หมักด้วยกรดฟอร์มิค มีค่าความเป็นกรด - ต่าง สูงสุดในสัปดาห์ที่ 3 และ ลดลงอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติในสัปดาห์ที่ 4

ลูกไก่คั้ดทั้งที่หมักด้วยกรดโพธิ์อินิก ร่วมกับ กรดฟอร์มิค มีค่าความเป็นกรด - ต่าง สูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในสัปดาห์ที่ 3 ตารางที่ 10 เปรียบเทียบค่าความเป็นกรด - ต่าง ของลูกไก่คั้ดทั้งที่หมักด้วยกรดชนิดต่าง ๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์

สัปดาห์	กรดโพธิ์อินิก	กรดฟอร์มิค	กรดโพธิ์อินิกร่วมกับกรดฟอร์มิค
0	5.266 ^{จข}	4.366 ^ญ	4.533 ^ฌ
1	5.466 ^จ	4.800 ^ข	5.133 ^{จข}
2	6.066 ^ข	5.233 ^{จข}	5.566 ^{คจ}
3	6.366 ^ก	5.733 ^{คจ}	6.100 ^ข
4	6.000 ^ข	5.666 ^{คจ}	5.733 ^{คจ}
5	5.966 ^ข	5.333 ^{จจข}	5.500 ^จ
6	5.733 ^{คจ}	5.100 ^{จข}	5.533 ^{งจ}

อักษรที่ต่างกัน คือ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

ในการทำการทดลองครั้งนี้ อุปกรณ์บางชนิดค่อนข้างไม่พร้อม เช่น การหมักเนื่องจากเชื้อแลคติกแอซิคแบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตได้ดีในสภาพไร้อากาศ หรือ มีอากาศในปริมาณน้อย อุปกรณ์ที่ใช้เป็นภาชนะสำหรับหมักอาจมีการผ่านเข้าของอากาศได้ ทำให้มีเชื้ออื่นปลอมปน หรือ การเจริญของเชื้อแลคติกแอซิคแบคทีเรียอาจมีประสิทธิภาพที่ไม่สมบูรณ์ จึงอาจส่งผลกระทบต่อผลการทดลองได้ เป็นต้น



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลอง

จากผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเชื้อแลคติกแอซิคแบคทีเรียในลูกไก่คัดทิ้งหมักด้วยกรดเมื่อทำการหมักเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า การหมักลูกไก่คัดทิ้งด้วยกรดฟอร์มิกมีจำนวนแลคติกแอซิคแบคทีเรียมากที่สุด (ตารางที่ 4 และภาพที่ 2) รองลงมาคือ การหมักลูกไก่คัดทิ้งด้วยกรดโพธิโอนิก แสดงว่า แลคติกแอซิคแบคทีเรียสามารถเจริญได้ดีใน กรดฟอร์มิก และทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง ต่ำที่สุด (ตารางที่ 8) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Klely-P (1993) ซึ่งทำการทดสอบโดยใช้กรดอินทรีย์หมักหญ้าโดยใช้ กรดฟอร์มิก 3 มิลลิลิตร ต่อ กิโลกรัม , แอมโมเนียเฮกซะโพรพาโนเอต 6 กรัม ต่อ กิโลกรัม กรดออกตาโนอิก 20 กรัม ต่อ กิโลกรัม และ ไม่เติมกรด พบว่า เมื่อทำการหมักมากกว่า 100 วัน พบว่าการใช้กรดฟอร์มิกหมักหญ้ามียุ่ค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำสุดคือ 4.4 ส่วนการใช้แอมโมเนียเฮกซะโพรพาโนเอต มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.0

การศึกษานิติพลร่วมระหว่าง ชนิดของกรด และ ระยะเวลาที่ใช้หมักมีผลต่อจำนวนแลคติกแอซิคแบคทีเรีย กล่าวคือ การหมักลูกไก่คัดทิ้งด้วยกรดโพธิโอนิก เป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบว่ามีปริมาณแลคติกแอซิคแบคทีเรียมากที่สุด กล่าวคือ การหมักลูกไก่คัดทิ้งเพื่อใช้ประโยชน์จากแลคติกแอซิคแบคทีเรีย ควรทำการหมักเป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ ส่วนการใช้กรดฟอร์มิกในการหมักลูกไก่คัดทิ้งนั้น ระยะเวลาที่ตรวจนับเชื้อแลคติกแอซิคแบคทีเรียมากที่สุด คือ สัปดาห์ที่ 2 และ การใช้กรดโพธิโอนิกร่วมกับกรดฟอร์มิกนั้น ระยะเวลาที่ตรวจนับจำนวนแลคติกแอซิคแบคทีเรียมากที่สุดคือ ในสัปดาห์ที่ 0 และ ลดจำนวนต่ำลงเรื่อย ๆ

เอกสารอ้างอิง

- กองสัตวแพทย์สาธารณสุข . 2535 . มาตรฐานการตรวจเนื้อ . กรมปศุสัตว์ . กรุงเทพมหานคร : 91-92 น.
- จุฑาทิพย์ ตีร์รัตนพันธ์ . 2533 . การศึกษาผลของกรดแลคติกในการควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อ
กรุงเทพฯ : ปัญหาพิเศษระดับปริญญาตรี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณ
ทหารลาดกระบัง
- ชัยณรงค์ คันธพนิต . 2529 . วิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์ . โรงพิมพ์ไทยวัฒนาพานิช กรุงเทพฯ .
145-155 น.
- ดีพร้อม ไชยวงศ์เกียรติ และ จิวัฒน์ แดงสุภา . 2517 . จุลชีววิทยาทั่วไป . ภาควิชาชีววิทยา
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ . บางเขน . กรุงเทพมหานคร . 516 น.
- นาถสุดา วิศวงค์ 2522 . การศึกษาจุลชีววิทยาของอาหารหมักพื้นเมือง : ปลาแจ่ว, ปลาส้ม,
ส้มผัก . วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร 216 น.
ประเสริฐ สายสิทธิ์ . 2514 . ผลิตภัณฑ์และหลักการถนอมอาหาร โรงพิมพ์ครุสภา
กรุงเทพฯ 348 น.
- บุญญา วิไลพร . 2532 . พืชอาหารสัตว์เขตร้อนและการจัดการ . ภาควิชาสัตวศาสตร์ .
มหาวิทยาลัยขอนแก่น . กรุงเทพมหานคร 294 น.
- บัญญัติ สุขศรีงาม . 2522 . จุลชีววิทยา . สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์ , กรุงเทพมหานคร . 443 น.
- ปรียา วิบูลย์เศรษฐ์ . 2524 . จุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์เกษตร . ภาควิชาวิทยาศาสตร์และ
เทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตร . 282 น.
- ประเสริฐ สายสิทธิ์ . 2514 . ผลิตภัณฑ์ประมงและหลักการถนอม คณะเกษตร มหาวิทยาลัย
เกษตรศาสตร์, 348 น.
- ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร . 2521 . วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร . ภาควิชา
วิทยาศาสตร์การอาหาร . มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ . 245 น.
- เยาวลักษณ์ สุรพันธ์พิศิษฐ์ . 2536 . เทคโนโลยีเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ . พิมพ์ครั้งที่ 2.
โรงพิมพ์สหมิตรออฟเซต . กรุงเทพมหานคร . 135 น.
- วรวุฒิ ครูสง . 2538 . จุลชีววิทยาในกระบวนการแปรรูปอาหาร โรงพิมพ์โอเดียนสโตร์,
กรุงเทพฯ . 210 น.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- วราวุฒิ คุรุสง . 2532 . เทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม โรงพิมพ์โอเดียนสโตร์
กรุงเทพมหานคร 209 น.
- วริพัทธ์ อารีกุล. 2536. การศึกษาคุณสมบัติพลาสติกของแบคทีเรียแลคติกในผลิตภัณฑ์นมหมัก.
วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัย
เกษตรศาสตร์
- ศิวาพร ศิวเวช .2529 . วัตถุประสงค์อาหาร . พิมพ์ครั้งที่ 4 . ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
การอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 328 น.
- สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์ . 2518 . การศึกษาจุลินทรีย์ที่เป็นตัวกลางในระหว่างการทำแหมม.
วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ . กรุงเทพมหานคร.126 น.
- สัญญาชัย จตุรสิทธิ์ . 2543 . เทคโนโลยีเนื้อสัตว์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่. 244 น.
สาขาวิชาคหกรรมศาสตร์. 2539.เคมีและจุลชีววิทยาของอาหาร. มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช.
กรุงเทพมหานคร. 236 น.
- สิทธิพันธุ์ ไชยพันธ์ . 2521 . การศึกษาเปรียบเทียบคุณสมบัติบางประการของเชื้อแบคทีเรียที่
แยกได้จากน้ำปลาไทยซึ่งผลิตจากปลาน้ำจืดและปลาน้ำเค็ม . วิทยานิพนธ์ปริญญาโท
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร.
- สุมาลี เหลืองสกุล . 2541 . จุลชีววิทยาทางอาหาร. ครั้งที่ 4 , โรงพิมพ์ชัยเจริญ. กรุงเทพมหานคร
248 น.
- อโณทัย คมเสวต. 2535 . ตำราจุลชีววิทยาทางอาหาร: ทอ. 310. พิมพ์ครั้งที่ 2 . สถาบัน
เทคโนโลยีการเกษตรแม่โจ้, 319 หน้า
- อรนุช อุตรักษาติ. 2530. การคัดเลือกแบคทีเรียซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อซาลโมเนลลา
และ การผลิตเชื้อผงเพื่อใช้หมักแหมม . วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัย
เกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร. 124 น.
- อาวูร ดันโซ .2542 . การวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS. ภาควิชาเทคโนโลยีการ
ผลิตสัตว์ , คณะเทคโนโลยีการเกษตร , สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร
ลาดกระบัง, กรุงเทพมหานคร 129 น.
- Adam , M.R. and Hall , C.A. 1988. Growth inhibition of food-born pathogens
by lactic acid and acetic acid and their mixture. J. Food Sci. Technol.
23(3):257-292

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Andres ,C. 1979 . Stater culture reduces residual nitrite In bacon. Food Processing. 40(5) : 56-58 .
- Alvse ,L ., D . Brito and M. Oliveira . 1995 . Meat decontamination with organic acids II-Vaccuum packed meat Veterinary Tecnica . 5 : 22-26.
- Bacus , J.N., and Brown, W.L. 1981. Use of microbial culture : meat products . Food tecknol . 35(1) : 74-83.
- Blood , R.M. 1975. Lactic acid bacteria in marinated herring. p. 195-208. In Carr , J. G. ; C.V. Cutting and G.C. Whittin g. Lactic Acid Bacteria in Beverage and Food. Academic Press. New York.
- Brock , T.D ., Smith , D.W ., and Madigan, M.T. 1984. Biology of Microorganisms. 4th ed. New Jersey : Prentice-Hall , Inc. 847 pp.
- DE Klerk , H.C ., and Smit , J .A. 1967 . Properties of a Lactobacillus fermentibacteriocin. J. Gen. Microbiol. 48 : 309.
- Doores , S . 1983 . Organic acid. In : Antimicrobials in foods , A.L. Branen and P.M. Division . (Ed.) .p. 75-108 Marcel Dekker, Inc ., New york.
- Dryden , F.D., and Bridesall , J.J. 1980 Why nitrite dose not impart color. Food Technol . 34(7) : 29-42.
- Dunn, C.G ., and prescott , S.C. 1959 . Industrial Microbiology . 3rd ed. New York : MmcGraw-Hill Book Company, Inc. 945 pp.
- Epling , L. K., J. A. Carpenter and L. C. Biankenschap. 1992 . Prevalence of *Campyrobacter spp* . and *salmonella spp* . On pork carcasses and reduction effected by spraying with lactic acid. J. Food Prot. 56 (6) : 536-537.
- FAO/WHO Toxicology eveluation of some food additive. 1974. The 17th report of the joint FAO/WHO expert committee on food additive. FAO nutrition meeting eport series no. 53 Rome. WHO technical report series Geneva. 539 : 461-465.
- Frazier , W. C ., and Westhoff, D.C. 1988. Food Microbiology. 4th ed. Singpore : McGraw- Hill Co. 539 pp.

- Green , S.,J. Wiseman and D. J. A. Cole. 1983. Fish silage in pig diets . Pig News Info.4(3):269-273.
- Gilliland , S.E ., and Speck, M. L. 1972. Interactions of food starter cultures and food-borne pathogens : lactic streptococci versus staphylococci and salmonellae. J. Food Technol. 53 : 772-776.
- Gilliland ,S.E. 1985. Role of starter culture bacteria in food preservation. In S.E. Gilliland (ed.) , Bacterial Starter Cultures for Food. Pp. 175. Boca Raton, FL : CRC Press.
- Gilliland , S.E. 1990. Health and Nutritional Benefits from Lactic Acid Bacteria. FEMS Microbiol . Rev. 87 : 188
- Hutton , M.T ., Chehak , P.A ., and Hanlin , J.H. 1991 . Inhibition of botulinum toxin Production by *Pediococcus acidilactici* in temperature abused refrigerated foods . J. Food Safty . 11 : 255-267.
- Kandler , O . 1983 . Carbohydrate metabolism in Lactic acid bacteria . Antonie van Leeuwenhoek . 49 : 209-224
- Kiely-P . 1993 . Influence of a partially neutralised blend of aliphatic organic acids on fermentation , effluent production and aerobic stability of autumn grass silage. CAB ABSTRACT 1991 – 1994
- Labots , H ., H. Longtenberg .F.K. Stekelenerg and J.M.A. Snijders. 1983. Study in to the possibilities to reduce the salmonella colony count of pig carresses under practical conditions. Central Institute for Nutrition and Food Reseach TNO. Zeist . The Netherlands Report P 83-183 / 110264 (In Dutch)
- Matin , A.M. 1994 . Fisheries Processing : Biotechnology applications . Chapman &Hall, London
- Prasri, R.K ., G.H ., Acuff , L.M. Lucia, J.B. Morgan, S.G. May and J.W. Savel. 1992. Microbiological effect of acid decontamination of pork carcasses at various location in processing. Meat Sci. 32 : 413-423

- Reddy , M.S ., Vedaanuthu , E.R., Washam, C.J. and Reinbold, G.W. 1969. Differential Agar Medium for Separation Streptococcus lactic and Streptococcus cremoris. J. Appl. Microbial. 18 : 755-759.
- Stiles , M.E. and Hustings , J.W. . 1991 . Trends in food Science and Technology . London : Elsevier Science Publisher Ltd . P 247
- Smulders , F.J.M ., P. Barendsen, J.G. Van Logtestijn, D. A.A. Mossel and G.M. Van der Marel. 1986. Review : lactic acid considerations in flavour of its acceptance as a meat decontaminant. J. Food Technol . 21 : 419-436.
- Tatterson, I.N. 1976 . The preparation and storage of fish silage. Pep. Torry res . Stn. Synp. On Fish Silage . Aberdeen ; 27 May 1976.
- Winsor , M and S. Barlow . 1 981 . Introduction to fishery by products . pp 84-100 Fishing News Book Ltd.
- Woolthuis , C.H.J. and F.J.M. Smulders. "Microbial decontamination of calf carcasses by lactic acid sprays." J. Food Prot. 48 (10,1985) : 832-837.
- Zaika, L.L ., Zell , T.E. ., Smith , J.L. , Palumbo , S.A. , Kissinger , J. C. 1976 The role of nutrite in Lebanon balogna , a fermented sausage. J. Food sci. 41: 1457-1460.
- Ziauddin , K.S ., D.N. ROA and B.L. AmLA. 1993. In vitro study on the effect of lactic acid and sodium cholride on spoilage and bacteria of meat. J. FoodSci. Technol. 30(3) : 204-207



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

ก.อาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS – Broth สำเร็จรูป ของ MERCK (in deMAN , Rogosa and Sharpe)

(ต่อ ปริมาตร 1 ลิตร)

Peptone from Casein	10.0	กรัม
Meat Extract	10.0	กรัม
Yeast Extract	4.0	กรัม
Glucose (Dextrose)	20.0	กรัม
Tween 80	1.0	กรัม
ไดแอมโมเนียมซิเตรต ($(\text{NH}_4)_2\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_7$)	2.0	กรัม
โซเดียมอะซิเตรต (CH_3COONa)	5.0	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ($\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	0.1	กรัม
แมงกานีสซัลเฟต ($\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	0.05	กรัม
ไดโพแทสเซียม ฟอสเฟต (K_2HPO_4)	2.0	กรัม
ปรับ ค่าความเป็นกรด – ด่าง ที่ 5.7 ± 0.2 ที่ 25° องศาเซลเซียส		

ข. การเตรียมสารละลายเชื้อจาง

สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง ทุกชนิดต้องเป็นชนิดที่ใช้ในการวิเคราะห์ทางด้านจุลชีววิทยา และน้ำที่ใช้ในการทดลองต้องเป็นน้ำกลั่น (distill หรือ eliminated water) ที่ปราศจากสารเชื้อปนที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

สารละลายสำหรับเชื้อจางตัวอย่าง คือ Peptone water ซึ่งมีส่วนผสมต่างๆ ดังนี้

-Peptone from meat 1 กรัม

-NaCl 8.5 กรัม

-น้ำกลั่น 1000 กรัม

วิธีการเตรียมคือ นำส่วนผสมทั้งหมดมาละลายในน้ำกลั่นให้เข้ากัน แล้วนำ Peptone water ที่เตรียมไว้มาแบ่งใส่ถุงพลาสติกกึ่ง 250 มิลลิเมตร และแบ่งใส่หลอดทดลองหลอดละ 9.3 มิลลิเมตร เป็นจำนวนหลอดที่ต้องการแล้วนำไปทำให้ปลอดเชื้อ ในตู้นิ่งฆ่าเชื้อโรคโดยใช้ความ

ต้นไอน้ำ โดยใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

ค.การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้สำหรับการทดลองครั้งนี้คือ MRS-broth มีขั้นตอนและวิธีการเตรียมดังนี้

MRS-broth (in deMan , Rogosa and Sparpe)

- 1 ตวงน้ำ 1000 มิลลิลิตร ใส่ในเบีกเกอร์ ขนาด 1000 มิลลิลิตร
- 2 ชั่ง MRS-broth 52.2 กรัม Agar - Agar 15 กรัม และ แคลเซียมคาร์บอเนต 1 กรัม ตามลำดับ นำไปต้ม โดยใช้แท่งแม่เหล็กคนตลอดเวลา เพื่อป้องกันไม่ให้อาหารเลี้ยงเชื้อไหม้และติดกันขวด
- 3 ต้มจนกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อจะใสแล้วยกลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่พบใน
ลูกไก่คัดทิ้งหมักด้วยกรดโพธิ์โอนิก กรดฟอร์มิก และกรดโพธิ์โอนิก
ร่วมกับกรดฟอร์มิก เมื่อเริ่มหมัก

SOV	DF	SS	MS	F
Treatment	3	1.02826669	0.34275556	76.40**
Error	12	0.05383775	0.00448648	
Total	15	1.08210444		

** ความแตกต่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่พบใน
ลูกไก่คัดทิ้งหมักด้วยกรดโพธิ์โอนิก กรดฟอร์มิก และกรดโพธิ์โอนิก
ร่วมกับกรดฟอร์มิก เป็นเวลา 6 สัปดาห์

SOV	DF	SS	MS	F
Treatment	20	2.13581202	0.10679060	31.30**
A	2	0.39708020	0.19854010	58.19**
B	6	0.63186646	0.10531108	30.87**
A x B	12	1.10686536	0.09223878	27.03**
Error	63	0.21495418	0.00341197	
Total	83	2.35076620		

A ชนิดกรดที่ใช้หมัก

B ระยะเวลาที่ใช้หมัก

** ความแตกต่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความเป็นกรด - ด่าง ในลูกไก่คัดทิ้ง
หมักด้วยกรดโพรพิโอนิก กรดฟอร์มิก และ กรดโพรพิโอนิกร่วมกับ
กรดฟอร์มิก เมื่อเริ่มหมัก

SOV	DF	SS	MS	F
Treatment	3	11.08916667	3.69638889	1478.56**
Error	8	0.02	0.0025	
Total	11	11.10916667		

** ความแตกต่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความเป็นกรด - ด่าง ในลูกไก่คัดทิ้ง
หมักด้วยกรดโพรพิโอนิก กรดฟอร์มิก และ กรดโพรพิโอนิกร่วมกับ
กรดฟอร์มิก เป็นเวลา 6 สัปดาห์

SOV	DF	SS	MS	F
Treatment	20	15.75047619	0.78752381	101.25**
A	2	4.65809524	2.32904762	299.45**
B	6	10.58380952	1.76396825	226.80**
A x B	12	0.50857143	0.04238095	5.45**
Error	42	0.32666667	0.00777778	
Total	62	2.35076620		

A ชนิดกรดที่ใช้หมัก

B ระยะเวลาที่ใช้หมัก

** ความแตกต่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้