

ผลของการใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น *Pediococcus pentosaceus*  
TISTR 536 ต่อเชื้อซัลโมเนลลาในระหว่างการผลิตแหนม  
แบบดั้งเดิม และการผลิตหมกแห้ง

EFFECT OF *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 AS STARTER CULTURE  
ON SALMONELLAE DURING THE PRODUCTION OF  
TRADITIONAL AND SEMI-DRIED NHAM



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของกรรณิการศึกษาคณะวิทยาศาสตร์ปริญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2548

ISBN 974-45-1759-9

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ผลของการใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น *Pediococcus pentosaceus*  
TISTR 536 ต่อเชื้อซัลโมเนลลาในระหว่างการผลิตแหนม  
แบบดั้งเดิม และการผลิตแหนมกึ่งแห้ง

EFFECT OF *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 AS STARTER CULTURE  
ON SALMONELLAE DURING THE PRODUCTION OF  
TRADITIONAL AND SEMI-DRIED NHAM



เลขหมู่.....  
เลขทะเบียน..... 60968  
วัน,เดือน,ปี..... - 7 ก.ค. 2549

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร  
บัณฑิตวิทยาลัย  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
พ.ศ. 2548

ISBN 974-15-1759-9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

.....  
.....  
.....

**EFFECT OF *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 AS STARTER CULTURE  
ON SALMONELLAE DURING THE PRODUCTION OF  
TRADITIONAL AND SEMI-DRIED NHAM**



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF  
MASTER OF SCIENCE IN FOOD SCIENCE  
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES  
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG**

**2005**

**ISBN 974-15-1759-9**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



**COPYRIGHT 2005**

**SCHOOL OF GRADUATE STUDIES**

**KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## หัวข้อวิทยานิพนธ์

ผลของการใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ต่อเชื้อซัลโมเนลลาในระหว่างการผลิตแฮมแบบดั้งเดิม และการผลิตแฮมกึ่งแห้ง

นักศึกษา

นางสาวพรพิมล เทียนทอง

รหัสประจำตัว

45067006

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา

วิทยาศาสตร์การอาหาร

พ.ศ.

2548

อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์

ผศ. ดร. อติสร เสวตวิวัฒน์

### บทคัดย่อ

การศึกษาผลของการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ที่มีต่อการเจริญของเชื้อซัลโมเนลลา ในระหว่างการหมักแฮมสูตรแห้งหมัก และแห้งหมักเส้น เทียบกับแฮมทั้งสองสูตรที่เติมกล้าเชื้อ พบว่า ในผลิตภัณฑ์แฮมที่มีการเติมกล้าเชื้อมีค่าเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกที่สูง และการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชให้ต่ำลงอย่างรวดเร็วกว่าแฮมที่ไม่มีการเติมกล้าเชื้อในทุกสูตร เมื่อดูประสิทธิภาพในการลดจำนวนของเชื้อซัลโมเนลลา พบว่าเมื่อหมักครบ 3 วัน แฮมที่ไม่มีการเติมกล้าเชื้อ ยังคงตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลาถึง 66.7 เปอร์เซ็นต์ ส่วนแฮมที่มีการเติมกล้าเชื้อ ตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลาเพียง 33.3 เปอร์เซ็นต์ โดยที่เชื้อซัลโมเนลลา 4 อันดับแรกที่พบมากที่สุด คือ *S. Panama* (24.7 เปอร์เซ็นต์) *S. Rissen* (21.7 เปอร์เซ็นต์) *S. Anatum* (21.7 เปอร์เซ็นต์) และ *S. Stanley* (18.6 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ

ผลของการหมักแฮมในรูปแบบจำลองการหมักแฮมในหลอดทดลอง (Nham Model Broth, NMB) ที่มีค่าวอเตอร์แอกติวิตี 0.97 เช่นเดียวกับแฮม เพื่อยืนยันผลของกระเทียม ในไตรท์ และกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 พบว่า ใน NMB ที่เติมกระเทียม 5 เปอร์เซ็นต์ ในไตรท์ 100 ppm และกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 ปริมาณเริ่มต้น  $1.8 \times 10^6$  cfu/ml สามารถลดจำนวนเชื้อ *S. Anatum* ปริมาณเริ่มต้น  $2.3 \times 10^4$  cfu/ml ได้ดีที่สุด เมื่อเทียบกับ NMB ที่มีการเติมกระเทียม หรือกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 เพียงอย่างเดียว โดยใช้ระยะเวลา 48 ชั่วโมง

เมื่อนำผลิตภัณฑ์แฮมที่ผลิตโดยใช้หนังหมู 2 ลักษณะคือ หนังหมักและหนังหมูเส้นหมักทั้งที่มีการเติมและไม่เติมกล้าเชื้อ เมื่อนำไปทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสของผู้บริโภค พบว่า ผู้บริโภคให้การยอมรับผลิตภัณฑ์แฮมที่ผลิตโดยใช้หนังหมักที่หมักโดยการเติมกล้าเชื้อ

มากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) รองลงมาคือแฮมหนังหมักที่หมักโดยธรรมชาติ จึงเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น เมื่อนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เลือกผลิตภัณฑ์ทั้งสองสูตรนี้มาทำการผลิตเป็นแฮมกึ่งแห้งโดยทำการอบแห้งแฮมที่หมักครบ 3 วัน ด้วยการอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ใช้ระยะเวลา 2 4 6 และ 8 ชั่วโมง และตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาในแฮมก่อนการหมัก หมักครบ 3 วัน และหลังอบแห้ง 2 4 6 และ 8 ชั่วโมง และความชอบของผู้ชอบบริโภคแฮมต่อแฮมกึ่งแห้งรูปแบบใหม่ พบว่า หลังจากการหมักแฮมหนึ่งหมุดทั้งที่มีการเติมและไม่เติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 ครบ 3 วัน ยังคงตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลาจากตัวอย่างแฮมทั้งสองรูปแบบ โดยที่ *S. Anatum* ซึ่งมีรายงานการปนเปื้อนต่างกันในระหว่างการหมักแฮม และพบมากที่สุดใ้แฮม เป็นสายพันธุ์ที่พบมากที่สุด (33.3 เปอร์เซ็นต์) รองลงมาคือ *S. Stanley* (29.2 เปอร์เซ็นต์) แต่เมื่อนำไปทำแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส พบว่า เชื้อซัลโมเนลลาที่ปนเปื้อน และเหลือรอดจากการหมักครบ 3 วัน ถูกทำลายหมด หลังการอบที่อุณหภูมิดังกล่าว 2 ชั่วโมง และจากการสังเกตลักษณะผลิตภัณฑ์หลังอบที่ 2 4 6 และ 8 ชั่วโมง พบว่าการอบผลิตภัณฑ์แฮมหมักที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ให้ค่าวอเตอร์แอกทีวิตีต่ำและรูปลักษณะไม่ต่างจากแฮมที่ผ่านการอบที่ 2 และ 4 ชั่วโมง เมื่อนำมาให้ผู้บริโภคทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส พบว่า ผู้บริโภคให้การยอมรับผลิตภัณฑ์แฮมกึ่งแห้งที่ผลิตโดยมีการเติมกล้าเชื้อในด้านลักษณะปรากฏมากกว่าแฮมกึ่งแห้งที่ผลิตโดยไม่มีการเติมกล้าเชื้อ ( $p < 0.05$ ) แต่ในลักษณะอื่น ๆ คือ สี กลิ่นรส ความเปรี้ยว เนื้อสัมผัส และการยอมรับโดยรวม พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

จึงพอสรุปได้ว่ามีความเป็นไปได้ที่จะใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกสายพันธุ์ *P. pentosaceus* TISTR 536 เป็นกล้าเชื้อในการผลิตแฮมเพื่อให้ได้แฮมที่มีความปลอดภัยต่อการบริโภค และการนำผลิตภัณฑ์ที่หมักครบ 3 วัน มาอบแห้งจะทำให้ได้เป็นผลิตภัณฑ์แฮมกึ่งแห้งแบบใหม่ที่ปลอดภัยจากเชื้อซัลโมเนลลามากยิ่งขึ้น นอกจากนี้เทคนิคการผลิตแฮมกึ่งแห้งนี้ยังเป็นวิธีที่ช่วยให้ผลิตภัณฑ์แฮมสดที่อาจมีเหลือมากหลังการผลิตให้เป็นแฮมกึ่งแห้งรูปแบบใหม่ที่มีแนวโน้มในการยอมรับของผู้บริโภค และมีอายุการเก็บนานขึ้น อีกทั้งยังเป็นแนวทางให้ผู้ผลิตแฮมสดนำไปใช้พัฒนาการแปรรูปผลิตภัณฑ์ในโอกาสต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<b>Thesis Title</b>	Effect of <i>Pediococcus pentosaceus</i> TISTR 536 as starter culture on Salmonellae during the production of traditional and semi-dried Nham
<b>Student</b>	Miss Pornpimol Thienthong
<b>Student ID.</b>	45067006
<b>Degree</b>	Master of Science
<b>Programme</b>	Food Science
<b>Year</b>	2005
<b>Thesis Advisor</b>	Asst. Prof. Dr. Adisorn Swetwivathana

### ABSTRACT

The effect of *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 as starter culture on growth of salmonellae in 2 types of Nham fermentation consisting Nham produced using shredded cooked pork skin, Nham produced using minced cooked pork skin and naturally fermented products (without using starter culture) was investigated. It was found that all Nham samples with starter cultures exerted a higher percentage of lactic acid and led to more rapid in pH reduction than those samples without starter cultures. Moreover, Nham fermented with starter culture revealed the better inhibitory effect on the naturally contaminated salmonellae during Nham fermentation than those of naturally fermented samples. The percentage of salmonellae positive samples after 3 days of Nham fermentation was 33.3 % and 66.7 %, respectively. Serovariety typing of cultures isolated from both of Nham produced with and without *P. pentosaceus* TISTR 536 as starter culture showed that they belonged to 11 serovar. There were *S. Panama* (24.7 %), *S. Rissen* (21.7 %) and *S. Anatum* (21.7 %) and *S. Stanley* (18.6 %), respectively.

In order to investigate whether the rapid reduction of salmonellae concerned to the use of starter culture or the synergistic inhibitory effect between starter culture and garlic on salmonellae during Nham fermentation, an inhibitory effect of *P. pentosaceus* TISTR 536 and 5 % of sterile fresh garlic on *S. Anatum* which is the most common contaminated and aciduric salmonellae in Nham product has been studied in the sterile condition of Nham model broth (NMB) with the same water activity value as Nham (0.97). The results confirmed that NMB fermented with 5 % fresh garlic and  $1.8 \times 10^6$  cfu/ml of *P. pentosaceus* TISTR 536 exhibited the best diminishment of

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$2.3 \times 10^4$  cfu/ml of *S. Anatum* (within 48 hrs. of fermentation) when compared to NMB with 5 % fresh garlic or fermented with  $1.8 \times 10^6$  cfu/ml of *P. pentosaceus* TISTR 536 alone.

The use of *P. pentosaceus* TISTR 536 as starter culture for the sensory properties and acceptability of Nham with shredded and minced cooked pork skin in comparison with the natural fermented Nham were later been studied. It was implied that Nham with minced cooked pork skin fermented with and without *P. pentosaceus* TISTR 536 as starter cultures was statistically most preferable to panelists ( $p \leq 0.05$ ). Hence, the production of semi-dried Nham with minced cooked pork skin after 3 days of fermentation with and without *P. pentosaceus* TISTR 536 as starter cultures under  $60^\circ$  C hot-air oven for 2, 4, 6 and 8 hrs. has been studied. In the meantime, salmonellae detection and some chemical properties consisting of pH, percentage of lactic acid and water activity of the products before fermentation, after 3 days of fermentation and during all hot-air drying periods, including organoleptically test of innovated semi-dried Nham were investigated. The results revealed that salmonellae could also be detected in all Nham samples with and without *P. pentosaceus* TISTR 536 as starter cultures after 3 days of fermentation. The most common salmonellae serovar found in these semi-dried products belonged to *S. Anatum* (33.3 %) and *S. Stanley* (29.2 %), respectively. All detected salmonellae could be diminished in the  $60^\circ$  C hot-air oven after 2 hrs. of drying process. The drying periods of the 3 days fermented Nham at  $60^\circ$  C hot-air oven for 8 hrs. revealed too dried products, while the drying periods of 2, 4 and 6 hrs. showed no different in the product appearance except water activity containing 0.956-0.958, 0.942-0.953 and 0.940-0.944, respectively. Thus, the semi-dried Nham products with and without *P. pentosaceus* TISTR 536 as starter cultures, which had been dried for 6 hrs. under  $60^\circ$  C in hot-air oven, were organoleptically investigated. The results implied that the appearance of semidried products from Nham fermented with *P. pentosaceus* TISTR 536 gave more statistically acceptance by most panelists than the semidried from natural fermented ones ( $p \leq 0.05$ ), but there were no statistically different from others organoleptic properties (color, flavour, sour, texture and overall acceptance).

Based on the results obtained in this study, it concluded that the lactic acid bacterial strain of *P. pentosaceus* TISTR 536 originally isolated from Nham could be used as the starter culture to control the growth of the most commonly found contaminant and the most acid-resistant *S. anatum* in Nham. Moreover, the use of this strain as starter cultures could produce a more preferable and safe Nham product. Drying process of 3 days fermented Nham with *P.*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ขอขึ้นชื่อของ Nham ผลิตภัณฑ์จากหมูที่หมักและตากแห้ง ซึ่งได้รับการคุ้มครองตามกฎหมายว่าด้วยทรัพย์สินทางปัญญา หากมีการนำเอกสารนี้ไปใช้โดยไม่ได้รับอนุญาตจากเจ้าของเอกสารจะถือว่าผิดกฎหมาย

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

*pentosaceus* TISTR 536 as starter at 60° C in hot-air oven for 6 hrs. could be applied to produce a more preferable and salmonellae-free innovated Nham product.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดี ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร. อติสร เสวตวิวัฒน์ ประธานกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รศ.ดร. วราวุฒิ ครูส่ง และ ผศ.เขवालักษณ์ สุรพันธ์พิศิษฐ์ กรรมการที่ปรึกษา ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ และแก้ไขวิทยานิพนธ์นี้ให้สมบูรณ์ และขอขอบพระคุณท่านอาจารย์ทุกท่านที่ช่วยประสิทธิ์ประสาทความรู้ ให้คำแนะนำต่างๆ ทำให้การศึกษาครั้งนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร. อติสร เสวตวิวัฒน์ เป็นอย่างยิ่งอีกครั้ง ที่ให้ความรู้ คำแนะนำ และให้กำลังใจขณะทำวิทยานิพนธ์ตลอดมา และขอขอบคุณ อาจารย์อรุณ บ่างตระกูลนนท์ และเจ้าหน้าที่ของ WHO Salmonella and Shogella center กองพยาธิวิทยา กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่ช่วยวินิจฉัยเชื้อโรควาร์ของเชื้อซัลโมเนลลาในการศึกษาครั้งนี้

ขอขอบคุณเพื่อน น้อง นักศึกษาปริญญาโท และปริญญาตรี รวมถึงนักวิทยาศาสตร์และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทุกท่านที่ช่วยเหลือให้คำแนะนำ และเป็นกำลังใจตลอดการศึกษานี้

คุณค้ำแห่งการศึกษาที่พึงมี ข้าพเจ้าขอบแต่บิดา มารดา พี่ชาย รวมถึงครูอาจารย์ ตลอดจนผู้มีพระคุณทุกท่านที่ทำให้ข้าพเจ้าได้มีวันนี้

พรพิมล เทียนทอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	III
กิตติกรรมประกาศ.....	VI
สารบัญ.....	VII
สารบัญตาราง.....	X
สารบัญรูป.....	XI
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์.....	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 แหนม.....	3
2.2 แบบคัพรีแกลคติก.....	6
2.3 กระเทียม.....	13
2.4 เชื้อจุลินทรีย์.....	15
2.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการเติบโตของจุลินทรีย์ในอาหาร.....	16
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ.....	23
3.1 วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตแหนม.....	23
3.2 เชื้อจุลินทรีย์.....	23
3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อและส่วนประกอบที่ใช้ในการวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์.....	23
3.4 สารเคมี.....	24
3.5 อุปกรณ์และเครื่องมือ.....	24
3.6 สถานที่ทำการทดลอง.....	25
3.7 ระยะเวลาที่ทำการทดลอง.....	25
3.8 วิธีการทดลอง.....	25
3.8.1 ศึกษาผลของการใช้เชื้อแลคติกบริสุทธิ์เริ่มต้นในการผลิตแหนม.....	25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.8.2 ศึกษาผลของการใช้กระเทียม และกล้ำเชื้อแลคติกบิริสุทรีเริ่มต้นที่มีต่อ S. Anatum ในแบบจำลองการหมักเหนม (Nham model broth).....	27
3.8.3 ศึกษาด้านคุณสมบัติทางประสาทสัมผัสของเหนมที่มีการใช้ และไม่ใช่เชื้อบิริสุทรีเริ่มต้น.....	28
3.8.4 ศึกษาผลของการใช้กล้ำเชื้อบิริสุทรีเริ่มต้น และการทำแห้งที่มีผลต่อเชื้อซัลโมเนลลา.....	28
3.8.5 ศึกษาความเป็นไปได้ของการใช้กล้ำเชื้อแลคติกบิริสุทรีเริ่มต้น และการอบแห้งเหนมต่อการยอมรับของผู้บริโภค โดยการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส.....	28
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์.....	29
4.1 ผลของการใช้เชื้อแลคติกบิริสุทรีเริ่มต้น ในการผลิตเหนม.....	29
4.2 ผลของการใช้กระเทียมและกล้ำเชื้อแลคติกบิริสุทรีเริ่มต้นที่มีต่อ S. Anatum ในแบบจำลองการหมักเหนม (Nham model broth, NMB).....	35
4.3 คุณสมบัติทางประสาทสัมผัสของเหนมที่มีการใช้ และไม่ใช่เชื้อบิริสุทรีเริ่มต้น.....	38
4.4 ผลของการใช้กล้ำเชื้อแลคติกบิริสุทรีเริ่มต้นและการทำแห้งที่มีผลต่อเชื้อซัลโมเนลลา.....	40
4.5 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์เหนมกึ่งแห้ง.....	46

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ.....	48
บรรณานุกรม.....	49
ภาคผนวก.....	53
ภาคผนวก ก.....	54
ภาคผนวก ข.....	63
ภาคผนวก ค.....	65
ภาคผนวก ง.....	68
ประวัติผู้เขียน.....	74



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ค่าพีเอชต่ำสุดที่แบคทีเรียสามารถเติบโตในอาหารได้.....	18
2.2 ค่าวอเตอร์แอกติวิตี (water activity, $A_w$ ) ที่ต่ำสุดสำหรับจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญต่อ อุตสาหกรรมอาหาร.....	19
2.3 อุณหภูมิต่าง ๆ ที่จุลินทรีย์แต่ละชนิดเติบโตได้.....	22
3.1 ส่วนผสมในการผลิตแฮม.....	26
4.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติก ของผลิตภัณฑ์แฮม.....	31
4.2 ผลการวิเคราะห์ค่าวอเตอร์แอกติวิตี และค่าความชื้น ของผลิตภัณฑ์แฮม.....	32
4.3 ผลของการใช้เกลือแบคทีเรียแลคติกต่อการลดลงของเชื้อซัลโมเนลลาระหว่างการ หมักแฮม.....	33
4.4 เชื้อซัลโมเนลลาเซโรวาร์ต่างๆที่ตรวจพบจากตัวอย่างแฮมในช่วงการหมัก 0-3 วัน.....	34
4.5 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์แฮม.....	39
4.6 ผลการวิเคราะห์ค่าวอเตอร์แอกติวิตี และค่าความชื้น ของผลิตภัณฑ์แฮมกึ่ง แห้ง.....	43
4.7 ผลของการใช้เกลือแบคทีเรียแลคติก และการอบแห้ง ที่ใช้ในกระบวนการผลิต แฮมกึ่งแห้ง ต่อการลดลงของเชื้อซัลโมเนลลา.....	45
4.8 เชื้อซัลโมเนลลาเซโรวาร์ต่างๆที่ตรวจพบจากตัวอย่างแฮมในช่วงการหมัก 0-3 วัน ก่อนผ่านกระบวนการอบแห้ง.....	45
4.9 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์แฮมกึ่งแห้ง.....	47
ก1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติก และค่าพีเอชของ Nham model broth ที่ศึกษาการ เจริญของเชื้อ <i>P. pentosaceus</i> TISTR 536.....	66
ก2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติก และค่าพีเอชของ Nham model broth ที่ศึกษาการ เจริญของเชื้อ <i>S. Anatum</i> .....	67

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 กระบวนการหมักแบบโฮโมเฟออร์เมนเททิฟ (homofermentative) และการหมักแบบเฮเทอโรเฟออร์เมนเททิฟ (heterofermentative) ของแบคทีเรียแลคติก.....	8
4.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติก และค่าความเป็นกรด-ด่าง ของผลิตภัณฑ์หมัก.....	30
4.2 แสดงการเจริญของ <i>P. pentosaceus</i> TISTR 536 ในแบบจำลองการหมักหมก ( Nham model broth).....	36
4.3 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติก และค่าความเป็นกรด-ด่าง ของแบบจำลองการหมักหมก (Nham Model Broth) ที่มีการเจริญของเชื้อ <i>P. pentosaceus</i> TISTR 536.....	36
4.4 แสดงการเจริญของ <i>S. Anatum</i> ในแบบจำลองการหมักหมก ( Nham model broth).....	37
4.5 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติก และค่าความเป็นกรด-ด่าง ของแบบจำลองการหมักหมก (Nham model broth) ที่มีการเจริญของเชื้อ <i>S. Anatum</i> .....	37
4.6 ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติก และค่าความเป็นกรด-ด่าง ของผลิตภัณฑ์หมักกึ่งแห้ง.....	41
ก1 Salmosyst Broth Base ที่มีการเติม Salmosyst Selective Supplement.....	55
ก2 อาหารเลี้ยงเชื้อ Rambach agar ก่อน และหลังมีการเจริญของเชื้อ.....	56
ก3 อาหารเลี้ยงเชื้อ XLD agar ก่อน และหลังมีการเจริญของเชื้อ.....	57
ก4 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้วิเคราะห์คุณสมบัติทางชีวเคมี ก่อนและหลังมีการเจริญของเชื้อ.....	59
ก5 ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียแลคติกที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS Agar.....	61
ก6 ลักษณะโคโลนีของเชื้อซัลโมเนลลาที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA.....	61
ง1 ผลิตภัณฑ์หมักที่หมักโดยธรรมชาติ และมีการเติมกล้าเชื้อ <i>P. pentosaceus</i> TISTR 536 $2 \times 10^6$ cfu/กรัม ที่ระยะเวลา 1 วัน.....	69
ง2 ผลิตภัณฑ์หมักที่หมักโดยธรรมชาติ และมีการเติมกล้าเชื้อ <i>P. pentosaceus</i> TISTR 536 $2 \times 10^6$ cfu/กรัม ที่ระยะเวลา 2 วัน.....	70
ง3 ผลิตภัณฑ์หมักที่หมักโดยธรรมชาติ และมีการเติมกล้าเชื้อ <i>P. pentosaceus</i> TISTR 536 $2 \times 10^6$ cfu/กรัม ที่ระยะเวลา 3 วัน.....	71
ง4 หมักที่ผ่านการอบแห้งที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง.....	72
ง5 หมักที่ผ่านการอบแห้งที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง.....	72
ง6 หมักที่ผ่านการอบแห้งที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง.....	73
ง7 หมักที่ผ่านการอบแห้งที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง.....	73

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

แหนมเป็นผลิตภัณฑ์อาหารหมักพื้นบ้านที่นิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลายในประเทศไทย ซึ่งกระบวนการหมักที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่ยังคงอาศัยแบคทีเรียแลคติกที่มีอยู่ในธรรมชาติที่ปนเปื้อนมาจากเนื้อสัตว์ และเครื่องปรุงต่างๆ ที่จะทำให้เกิดกลิ่นรสเฉพาะของแหนม ซึ่งการหมักที่อาศัยเพียงแบคทีเรียแลคติกที่มีอยู่ในธรรมชาตินั้น อาจทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีคุณภาพไม่สม่ำเสมอ ในปัจจุบันจึงมีการนำเชื้อแลคติกบริสุทธิ์มาใส่ในตอนเริ่มต้นของกระบวนการหมัก เพื่อช่วยให้ผู้ผลิตมั่นใจได้ว่าจะได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพ และยังช่วยลดระยะเวลาในการหมักให้สั้นลงด้วย และเนื่องจากพฤติกรรมในการบริโภคแหนมนั้น นิยมบริโภคโดยไม่ผ่านความร้อน จึงเป็นความเสี่ยงที่ผู้บริโภคจะได้รับอันตรายจากเชื้อที่อาจก่อโรคที่ปนเปื้อนอยู่ในแหนมได้ เช่น เชื้อซัลโมเนลลา ที่มักมีการปนเปื้อนอยู่ในเนื้อหมู ซึ่งเป็นวัตถุดิบหลักในการผลิต จึงมีการศึกษาที่จะทำให้ผลิตภัณฑ์ชนิดนี้มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคมากขึ้น และพบว่าการนำเชื้อแลคติกบริสุทธิ์มาใส่ในตอนเริ่มต้นของการหมักนั้น นอกจากจะให้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพดีสม่ำเสมอแล้ว ยังช่วยในเรื่องการลดจำนวนเชื้อที่ก่อโรคอีกด้วย ดังรายงานการวิจัยของอดิศร (2533) และเรณู (2539) ที่พบว่าเชื้อแลคติกบริสุทธิ์เริ่มต้นที่ใส่ลงไปนั้นสามารถลดจำนวนของเชื้อซัลโมเนลลาได้ และจากการศึกษาของ ศิพัตน์ (2539) และ Petchsing และ Woodburn (1990) รายงานว่าการใช้เชื้อแลคติกบริสุทธิ์เริ่มต้นนั้นสามารถลดปริมาณเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ได้ด้วย ในปัจจุบัน เนื่องจากมีผู้นิยมบริโภคแหนมกันมากขึ้น จึงมีการผลิตแหนมออกมาจำหน่ายกันมากตามท้องตลาด ซึ่งการผลิตแหนมออกมามากแล้วจำหน่ายไม่หมด และเก็บผลิตภัณฑ์ไว้นานเกิน 1 สัปดาห์ แหนมจะมีคุณภาพที่ผู้บริโภคไม่ต้องการ กล่าวคือ จะมีน้ำจากการหมักแหนมออกมามาก ผลิตภัณฑ์จะมีความเปรี้ยวมากขึ้น และเนื้อสัมผัสจะเปลี่ยนไปโดยมีความเหนียวลดลง (สมบุญ, 2518) ทำให้เกิดการสูญเสีย ต่อผู้ผลิต และสิ้นเปลืองทรัพยากรโดยเปล่าประโยชน์ ดังนั้นการพัฒนาผลิตภัณฑ์โดยเพิ่มการแปรรูปแบบกึ่งแห้ง (semi-dried) ของผลิตภัณฑ์ดังกล่าวหลังจากที่หมักได้ที่ แบบชาลามีของประเทศในแถบยุโรป จึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่จะช่วยให้ผลิตภัณฑ์มีอายุการเก็บที่ยาวนานขึ้น และผลิตภัณฑ์แหนมหมักแบบกึ่งแห้งนี้ ยังสะดวกต่อการเก็บ และพกพาไปรับประทานในที่ต่างๆ ได้สะดวกยิ่งขึ้น ด้วยเหตุนี้ ในการศึกษาจึงทำการแปรรูปผลิตภัณฑ์แหนมอีกครั้งการหมักด้วยการลดปริมาณความชื้นของผลิตภัณฑ์ โดยผ่านกระบวนการทำแห้งในตู้อบ ให้ได้ผลิตภัณฑ์แหนมกึ่งแห้ง (semi-dried Nham) ซึ่งจะทำการเปรียบเทียบการยอมรับของผลิตภัณฑ์แหนมกึ่งแห้งนี้จากเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระบวนการหมักโดยใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกเริ่มต้นสายพันธุ์ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ซึ่งได้รับการตรวจสอบว่าเป็นสายพันธุ์ที่สามารถผลิต Pediocin PA-1 ซึ่งมีผลช่วยในการยับยั้งเชื้อซัลโมเนลลาในระหว่างการหมักແນမ် (Swetwivathana และคณะ, 2004) เทียบกับແນ่มที่หมักโดยวิธีตามธรรมชาติโดยไม่ใช้กล้าเชื้อ โดยดูผลของการนำกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกเริ่มต้นมาใช้ในการผลิต และผลของการทำแห้งที่มีต่อเชื้อก่อโรค อย่างซัลโมเนลลา ทั้งนี้เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค และอาจเป็นผลิตภัณฑ์ชนิดใหม่ที่ทำขึ้น โดยมีพื้นฐานมาจากผลิตภัณฑ์พื้นบ้านของไทย

นอกจากนี้การศึกษานี้ยังได้ทำการใช้แบบจำลองการหมักແນမ် (Nham model broth, NMB) (Swetwivathana และคณะ, 1999) เพื่อตรวจสอบปัจจัยของการใช้กล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 กระเทียม และไนไตรท์ ที่มีต่อเชื้อ *Salmonella Anatum* สายพันธุ์ที่พบมากในการหมักແນမ် ในสภาพปราศจากเชื้ออื่นรบกวน เพื่อยืนยันผลของปัจจัยที่มีต่อเชื้อ *S. Anatum* และซัลโมเนลลาอื่นในระหว่างการหมักແນမ်ด้วย

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยมีดังนี้

1. ศึกษาผลของการใช้กล้าเชื้อแลคติกบริสุทธิ์เริ่มต้นในการหมักແນ่ม ที่มีต่อเชื้อซัลโมเนลลา
2. ศึกษาผลของการใช้ กระเทียม และกล้าเชื้อแลคติกบริสุทธิ์เริ่มต้นที่มีต่อ *S. Anatum* ในแบบจำลองการหมักແນ่มในหลอดทดลอง
3. ศึกษาผลของແນ่มที่ผ่านการทำแห้ง ที่มีต่อเชื้อซัลโมเนลลา
4. ศึกษาความเป็นไปได้ของการใช้กล้าเชื้อแลคติกบริสุทธิ์เริ่มต้น และการทำแห้งของແນ่มโดยใช้การทดสอบทางประสาทสัมผัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 2

# ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

### 2.1 แหนม

แหนมเป็นผลิตภัณฑ์อาหารหมักพื้นบ้านของประเทศไทย ในปัจจุบันนิยมบริโภคกันมาก โดยเฉพาะทางภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนได้ให้นิยามของแหนมว่าเป็น ผลิตภัณฑ์ที่ทำจากเนื้อหมูส่วนสะโพกที่แยกไขมัน และเอ็นออกแล้ว ผสมกับหนังหมู อาจผสมหมูหรือมุกหมูที่ดับสุก และหันเป็นเส้นแล้ว เติมเกลือ ข้าวสุก กระเทียมบด น้ำตาลทราย ผสมให้เข้ากัน อาจเติมพริกสดด้วยก็ได้ ห่อเป็นมัด หรือบรรจุในภาชนะบรรจุลักษณะอื่นๆ หมักจนมีรสเปรี้ยว (มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน, 2546) สำหรับคุณลักษณะของแหนมนั้น ต้องมีการกระจายตัวของส่วนประกอบที่ใช้ทำ ผสมกันอย่างทั่วถึง เนื้อแน่น ไม่มีโพรงอากาศ และมีน้ำจากการหมักได้เล็กน้อย มีสีชมพูตามธรรมชาติของแหนม มีกลิ่นรสที่ติดตามธรรมชาติที่เกิดจากการหมัก มีรสเปรี้ยวที่พอเหมาะซึ่งรสเปรี้ยวที่เกิดขึ้นมาจากการบวนการหมักที่มีจุลินทรีย์เข้าเกี่ยวข้อง โดยเฉพาะจุลินทรีย์พวกที่สร้างกรดแลคติก ในระยะแรกของการหมักมักพบจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับเนื้อหมู ได้แก่ แบคทีเรียรูปท่อนและรูปกลม ดิคลีสแกรมบวก และแกรมลบ มีทั้งพวกที่สร้างกรดได้ และทำให้อาหารเน่าเสีย หลังการหมักประมาณ 24 ชั่วโมง จุลินทรีย์ที่พบในระยะแรกจะเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะพวกที่สร้างกรดได้ดี และเติบโตในที่มีออกซิเจนน้อย คือ เชื้อในกลุ่ม homofermentative cocci เช่น *P. cerevisiae*, *P. penicillatus* และ *P. aciditactici* ที่เติบโตจำนวนมาก เชื้อชนิดนี้จะใช้น้ำตาลกลูโคส แล้วสร้างเป็นกรดแลคติกออกมาเป็นส่วนใหญ่ ทำให้ค่าพีเอชของแหนมลดลง ซึ่งค่าพีเอชของแหนมในวันที่ 4 ควรมีค่าต่ำกว่า 4.5 และมีปริมาณกรด แลคติกสูงกว่า 0.5 เปอร์เซ็นต์ ค่าพีเอชที่ต่ำและปริมาณกรดที่สูงนี้ ทำให้จุลินทรีย์ก่อโรคอย่างซัลโมเนลลา ลดจำนวนลงด้วย (บุษกร, 2545)

ตั้งแต่อดีตถึงปัจจุบัน มีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับแหนมในด้านต่างๆ มากมาย ซึ่งส่วนมากจะเน้นถึงงานวิจัยในด้านการใช้เกลือเพื่อความปลอดภัยในการผลิตแหนม รวมถึงคุณภาพที่ดีของแหนมเมื่อใช้เกลือในการผลิต เพื่อปรับปรุงคุณภาพทั้งในแง่ของกระบวนการผลิต และความปลอดภัยต่อผู้บริโภค ดังเช่นงานวิจัยต่อไปนี้

อรนุช (2530) ได้คัดเลือกและศึกษาวิธีการผลิตเชื้อผงแบคทีเรียแลคติก ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของซัลโมเนลลา พบว่าจากแบคทีเรียแลคติกจำนวน 112 ไอโซเลท ได้แก่ *Pediococcus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

spp. 78 ไอโซเลท *Lactobacillus* spp. 34 ไอโซเลท เชื้อแต่ละไอโซเลทให้ผลต่างกันในการยับยั้ง การเจริญของซัลโมเนลลาทั้ง 8 ไอโซเลท ได้แก่ *S. Anatum*, *S. Bovis-morbificans*, *S. Derby*, *S. Krefeld*, *S. Lexington*, *S. London*, *S. Weltevreden* และ *S. Newport* และจากการพิจารณา ความสามารถในการยับยั้งการเจริญของซัลโมเนลลาได้สูง การผลิตกรดได้ดี และการมีค่าความขุ่น ของการเจริญต่างๆกัน สามารถคัดเลือกแบคทีเรียได้ทั้งสิ้น 8 ไอโซเลท ได้แก่ *Pediococcus* spp. รหัส P<sub>9</sub>, P<sub>18</sub>, P<sub>33</sub>, P<sub>39</sub>, P<sub>42</sub> และ TISTR 536 *Lactobacillus* spp. รหัส L<sub>23</sub> และ TISTR 539 งานวิจัย ของอดิสร (2533) ศึกษาผลของการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกต่อซัลโมเนลลาในการหมักแฮม พบว่าแฮมที่ใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก *Pediococcus* spp. รหัส P<sub>55</sub> และกล้าเชื้อผสมระหว่างเชื้อ รหัส P<sub>55</sub> และ *Lactobacillus* spp. รหัส L<sub>1</sub> ในการหมัก ให้ผลในการยับยั้งและทำลายเชื้อซัลโมเนลลา ในขณะที่หมักได้ดีที่สุด และยังพบว่า การหมักแฮมโดยมีการเติมกล้าเชื้อทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่ ปราศจากเชื้อซัลโมเนลลา เมื่อใช้เวลาในการหมัก 5 วัน ขณะที่การหมักโดยธรรมชาติต้องใช้ ระยะเวลา 6 วัน เมื่อทำการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสของผู้บริโภค โดยใช้แฮมที่มีแบคทีเรีย แลคติกเป็นกล้าเชื้อในการหมักเทียบกับแฮมที่หมักโดยไม่ใช้กล้าเชื้อ พบว่าผู้บริโภคมีความชอบ ในแฮมที่หมักโดยใช้กล้าเชื้อผสมระหว่างเชื้อรหัส L<sub>1</sub> และเชื้อรหัส P<sub>55</sub> มากที่สุด และในปี 1999 Swetwivathana และคณะ ได้ทำการทดลองในทำนองเดียวกันโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น *Lb. curvatus*, *Lb. sakei* และ *P. acidilactici* ร่วมกับ ไนโตรเจน ไนไตรท์ และกระเทียม ในการควบคุมการ เจริญของเชื้อ *S. Anatum* ในแฮม พบว่า เมื่อใช้โซเดียมไนไตรท์ 125 ppm กระเทียมสด 5 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ กล้าเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น ให้ผลในการยับยั้งการเจริญของ *S. Anatum* ได้ แต่ถ้าใช้ ร่วมกับ *Lb. sakei* จะให้ผลในการยับยั้งดีที่สุด

Petchsing และ Woodburn (1990) ได้ศึกษาถึง *Staph. aureus* และ *E. coli* ในแฮม พบว่า แฮมที่ไม่ใส่กล้าเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นมีจำนวน *E. coli* เปลี่ยนแปลงเล็กน้อย แต่ *Staph. aureus* มีการเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างช้าๆ เมื่อใส่กล้าเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นลงไป 0.75 เปอร์เซ็นต์ จะไม่พบเชื้อ *Staph. aureus* หลังการหมักผ่านไป 48 ชม. และ *E. coli* จะลดจำนวนลง 1 log หลังจาก 96 ชม. และเมื่อใส่กล้าเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ จะไม่พบเชื้อ *Staph. aureus* และ *E. coli* หลังการ หมัก 36 และ 96 ชม. ตามลำดับ ในขณะที่ Wiriacharee และคณะ (1990) ได้ทดลองใช้เชื้อ บริสุทธิ์ผสมเริ่มต้นระหว่างเชื้อ *Lb. plantarum* (NHI 110), *P. cerevisiae* (NZDRI) และ *M. varians* (ATCC 15306) ในปริมาณ 10<sup>3</sup> 10<sup>6</sup> และ 10<sup>7</sup> cfu / กรัม ตามลำดับ ในขั้นตอนของการผลิต แฮม และควบคุมสภาพการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 97 พบว่า สามารถปรับปรุงคุณภาพของแฮมทำให้การผลิตกรดเป็นไปได้อย่างดี ซึ่งทำให้คุณภาพของ แฮมดีมากในแง่ของลักษณะเนื้อของแฮม และสีของแฮม ตลอดจนผลิตภัณฑ์สุดท้ายมีความ

ปลอดภัยสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เรณู (2539) ได้ทำการทดลองโดยใส่เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นผสม คือ *Micrococcus varians*, *Lb. plantarum* และ *P. cerevisiae* ในการหมักเนม พบว่าสามารถลดเชื้อ *S. Typhimurium* ปริมาณเริ่มต้น 460 และ 2400 MPN/ กรัม ได้หมดในวันที่ 3 และ 4 ของการหมัก โดยมีค่าพีเอชเท่ากับ 4.60 และ 4.45 ปริมาณกรดแลคติก 0.94 เปอร์เซ็นต์ และ 1.24 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และลดเชื้อ *S. Anatum* ปริมาณ 330 และ 2800 MPN/ กรัม หมดในวันที่ 4 และ 5 มีค่าพีเอช 4.44 และ 4.37 ปริมาณกรดแลคติก 1.12 เปอร์เซ็นต์ และ 1.39 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่ ศิพัตน์ (2539) ศึกษาถึงผลของการใช้เชื้อเริ่มต้นชนิดเดียวกับเรณู เพื่อลดปริมาณ *Staph. aureus* พบว่า *Lb. plantarum* เป็นเชื้อที่มีประสิทธิภาพในการทำลาย *Staph. aureus* ได้ดีกว่าเชื้ออีกสองชนิด แต่ถ้าใช้เชื้อทั้งสามชนิดร่วมกับ โซเดียมคลอไรด์ 3 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมไนเตรท 0.05 เปอร์เซ็นต์ และ โซเดียมไนไตรท์ 0.02 เปอร์เซ็นต์ สามารถทำลายเชื้อ *Staph. aureus* ที่มีปริมาณ 240 และ 4600 MPN / กรัม ให้หมดภายใน 120 ชั่วโมง หรือ 5 วัน มีค่าพีเอช 4.30

Noonpakdee และคณะ (2003) ทำการแยกเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่มีอยู่ในเนมเพื่อหาสายพันธุ์ที่ผลิตแบคทีเรียโอซิน โดยสามารถแยกเชื้อได้ทั้งหมด 14,020 ชนิด หนึ่งในนั้น คือ *Lb. lactis* สายพันธุ์ WNC20 ซึ่งสามารถผลิตแบคทีเรียโอซินสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแลคติกใกล้เคียงแล้ว และยับยั้งการเจริญของ pathogens ที่ทำให้เกิดโรคทางเดินอาหารที่ประกอบด้วย *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus* และ *Staph. aureus* ได้ด้วยความสามารถของ *Lb. lactis* WNC 20 ในการผลิตแบคทีเรียโอซินจึงน่าจะมีประโยชน์ในการปรับปรุงเรื่องความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์อาหารหมัก และในขณะที่ Swetwivathana และคณะ (2003) ได้ศึกษาการสร้าง แบคทีเรียโอซิน ของแบคทีเรียแลคติกในเนม พบว่ามี แบคทีเรียโอซิน ที่ถูกสร้าง 14 strains และใน 6 strains คือ N10 N3 N60 N100 N190 และ TISTR 536 เป็นสารที่สามารถฆ่าแบคทีเรียที่เป็น indicator ได้มากกว่า 5 ชนิด โดยเฉพาะ N100 และ N190 ให้ผลในการยับยั้งพวกแกรมบวกที่เป็น pathogens ในอาหาร ทั้ง *L. monocytogenes*, *Staph. aureus* และพวกแกรมลบ เช่น *E. coli* ได้ดี นอกจากนี้ยังมี TISTR 536 ที่สามารถยับยั้งพวก pathogens ในอาหาร เช่น *E. coli* และ *L. monocytogenes* ได้ แต่ไม่สามารถใช้ได้กับ *Staph. aureus* และ *Staph. carnosus* ซึ่ง *Staph. carnosus* มักนิยมใช้เป็นกล้าเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นในไส้กรอกหมักหลายชนิดของชาวยุโรป เนื่องจากช่วยเพิ่มเรื่องของกลิ่น และ สีในผลิตภัณฑ์ ต่อมาในปี 2004, Swetwivathana และคณะ ศึกษาถึงผลของกระเทียมและไนไตรท์ที่มีต่อการผลิต Pediocin PA-1 ของ *P. pentosaceus* TISTR 536 และการเจริญของ *S. Anatum* ในสภาวะการหมักเนมจำลอง พบว่ากระเทียมสด 5 เปอร์เซ็นต์ ช่วยให้ *P. pentosaceus* TISTR 536 เจริญได้ดีทั้งในที่ที่มีและไม่มีไนไตรท์ เมื่อเทียบกับที่ไม่ได้ใส่กระเทียม และเมื่อใช้กระเทียมสด 5 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับไนไตรท์ 125 ppm และ *P. pentosaceus* TISTR 536 สามารถลดจำนวนของ *S. Anatum* ได้ภายใน 30 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.2 แบคทีเรียแลคติก (Lactic acid bacteria)

แบคทีเรียแลคติกมีบทบาทสำคัญในอาหารแปรรูปหลายชนิด เช่น นมเปรี้ยว ผักและผลไม้ดอง ผลิตภัณฑ์เนื้อต่างๆ เช่น แหนม ไส้กรอกเปรี้ยว ปลาร้า เป็นต้น ลักษณะที่สำคัญของแบคทีเรียพวกนี้ คือ ความสามารถในการสลายน้ำตาลให้กลายเป็นกรดแลคติก ซึ่งแบคทีเรียพวกนี้ส่วนมากเจริญในสภาวะที่ไม่มีอากาศ แต่ในสภาวะที่มีอากาศก็ไม่ตาย และจากสิ่งที่สร้างได้จากการหมักของแบคทีเรียประเภทนี้ทำให้สามารถแบ่งย่อยแบคทีเรียพวกนี้ได้เป็นสองกลุ่ม คือ กลุ่มที่เน้นสร้างแลคเตท (homofermentative) และกลุ่มที่สร้างแลคเตทร่วมกับสารอื่น (heterofermentative) โดยเชื้อในกลุ่มที่เน้นสร้างแลคเตทนั้นหมักย่อยน้ำตาลกลูโคสแล้วจะสร้างกรดแลคติก 95 เปอร์เซ็นต์ อีก 5 เปอร์เซ็นต์เป็นแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ส่วนในกลุ่มที่สร้างแลคเตทร่วมกับสารอื่นจะหมักย่อยน้ำตาลกลูโคสแล้วสร้างกรดแลคติกออกมา 50 เปอร์เซ็นต์ อีก 25 เปอร์เซ็นต์ สร้างกรดอื่นๆ เช่น กรดอะซิติก (acetic acid) กรดฟอร์มิก (formic acid) เป็นต้น และอีก 25 เปอร์เซ็นต์ เป็นแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ เชื้อในกลุ่มที่สร้างกรดแลคติกนี้เมื่อก่อนมีเพียง 4 สกุลเท่านั้น ได้แก่ *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* และ *Lactobacillus* แต่ในปัจจุบันเมื่อใช้ความรู้ทางด้านชีวโมเลกุล (molecular biology) ได้จัดแบ่งแบคทีเรียแลคติกออกเป็นสกุลต่างๆเพิ่มขึ้น ได้แก่ *Aerococcus*, *Alloiococcus*, *Bifidobacterium*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* และ *Weisella* (บุญกร, 2545)

### 2.2.1 กระบวนการหมักที่เกิดจาก แบคทีเรียแลคติก

แบคทีเรียแลคติก มีความสามารถในการเปลี่ยนแปลงน้ำตาลเป็นกรดแลคติกในสภาพที่มีอากาศเพียงเล็กน้อย ดังแสดงในปฏิกิริยาต่อไปนี้

แบคทีเรียแลคติก



ในขณะที่ แบคทีเรียแลคติก เปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นกรดแลคติกเพิ่มสูงขึ้น ทำให้ค่าพีเอช ของอาหารหมักดองลดลง พร้อมกับรสเปรี้ยวเพิ่มขึ้น ในสภาพเช่นนี้จะมีผลช่วยยับยั้งแบคทีเรียที่ปนเปื้อนและก่อโรคได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

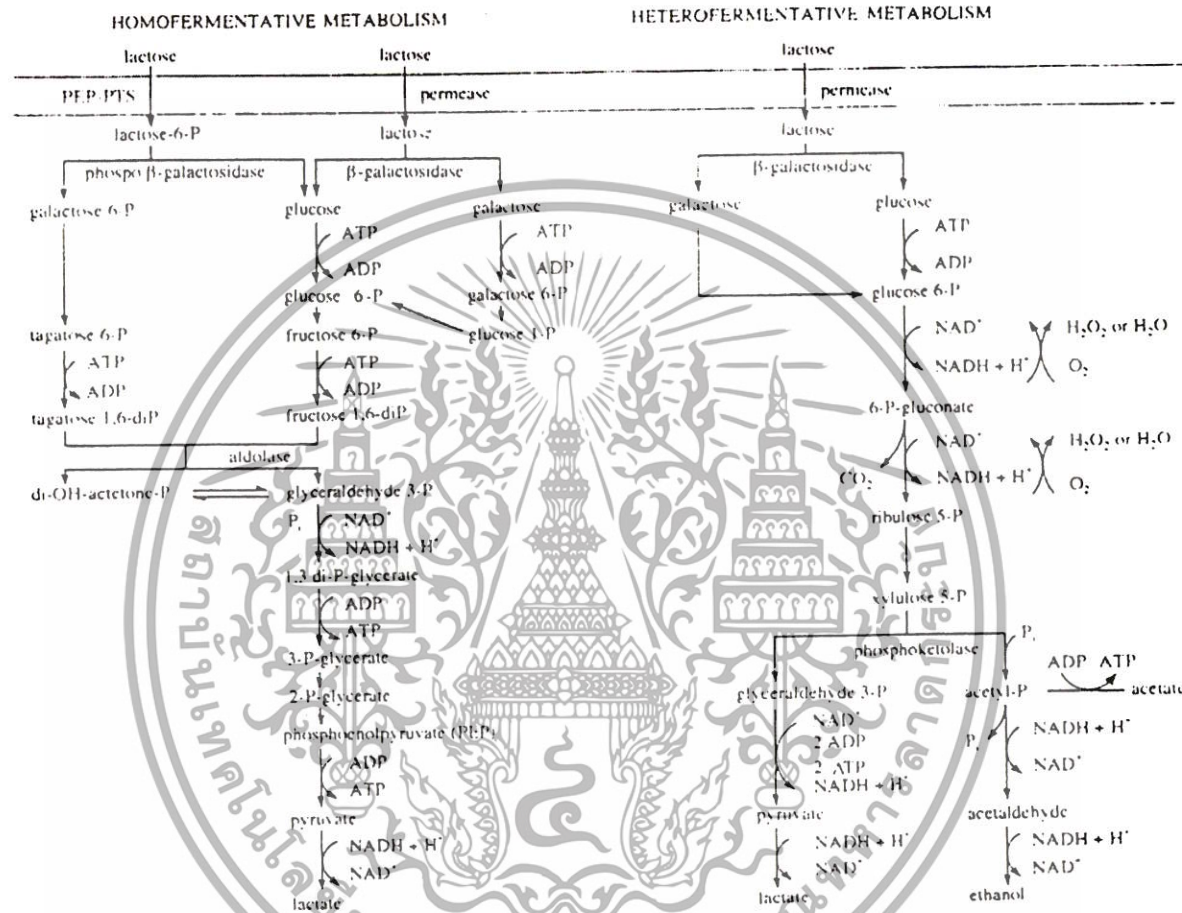
### 2.2.1.1 การหมักแบบโฮโมเฟอร์เมนเททีฟ (homofermentative)

เป็นการหมักที่ได้แลคเตทอย่างเดียวนั้นเป็นผลผลิตสำคัญ ขั้นตอนการสร้างแลคติก เริ่มจากน้ำตาลแลคโตสจะผ่านเข้าสู่เซลล์ของแบคทีเรียแลคติก โดยอาศัยเอนไซม์ที่มีอยู่ในบริเวณ เยื่อหุ้มไซโทพลาสซึม ที่เรียกว่า Phosphoenolpyruvate – dependent phosphotransferase system (PEP-PTS) ทำให้แลคโตสเกิดปฏิกิริยาเติมหมู่ฟอสเฟต (Phosphorylation) อยู่ในรูป lactose-6-phosphate จากนั้นถูกเอนไซม์ phospho- $\beta$ -galactosidase ไฮโดรไลซ์ได้เป็น galactose-6-phosphate กับ glucose ซึ่งกลูโคสจะผ่านเข้าสู่กระบวนการต่างๆของ Emden – Meyerhof – Parnas glycolytic pathway หรือ EMP pathway จนได้เป็นแลคเตทในขั้นตอนสุดท้ายซึ่งเปลี่ยนมาจากไพรูเวท โดยเอนไซม์ lactate dehydrogenase ส่วน galactose-6-phosphate เข้าสู่กระบวนการต่างๆใน D-tagatose-6-phosphate pathway ได้เป็น tagatose-1,6-diphosphate และเปลี่ยนไปเป็น dihydroxyacetone phosphate และถูกเปลี่ยนไปเป็น glyceraldehyde-3-phosphate โดยเอนไซม์ triosephosphate isomerase ซึ่ง glyceraldehyde-3-phosphate เป็นสารตัวกลางในกระบวนการ EMP pathway และเปลี่ยนไปเป็นแลคเตทในที่สุด

น้ำตาลกลูโคสจะสามารถเข้าสู่เซลล์ของแบคทีเรียแลคติก โดยเอนไซม์ PEP-PTS ทำให้กลูโคสอยู่ในรูป glucose-6-phosphate ซึ่งจะเข้าสู่ EMP pathway ได้เป็นแลคเตทในที่สุด ส่วนน้ำตาลกาแลคโตสสามารถซึมผ่านเข้าสู่เซลล์เมมเบรน ได้เลยหลังจากถูกเติมหมู่ฟอสเฟต โดยเอนไซม์ galactokinase ได้เป็น galactose-1-phosphate จากนั้นเข้าสู่ Leloir pathway จนได้เป็น glucose-1-phosphate จากนั้นถูกเอนไซม์ hexokinase phosphoglucomutase เปลี่ยนไปเป็น glucose-6-phosphate ซึ่งเป็นตัวกลางใน EMP pathway เปลี่ยนเป็นแลคเตทในที่สุด (Vuyst และ Vandamme, 1994)

### 2.2.1.2 การหมักแบบเฮเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ (heterofermentative)

เป็นการหมักที่ได้แลคเตท เอทานอล หรืออะซิเตท และคาร์บอนไดออกไซด์จากกลูโคส เนื่องจากแบคทีเรียขาดเอนไซม์อัลโดเลส จึงเปลี่ยนรูปจากกลูโคสที่มีคาร์บอน 6 อะตอมไปเป็นเพนโตส (ไรโบส) ซึ่งมีคาร์บอน 5 อะตอม โดยการจัดโครงสร้างภายในโมเลกุลที่มีการออกซิเดชันและคีคาร์บอกซิเลชันร่วมด้วยน้ำตาลที่มี 5 อะตอมนี้จะถูกทำให้แตกออกเป็นกลีเซอรอลดีไฮด์ฟอสเฟต (ซึ่งเป็นสารประกอบฟอสเฟตที่มีคาร์บอน 3 อะตอม) และอะเซทิลฟอสเฟตโดยเอนไซม์ฟอสโฟคีโตเลส (phosphoketolase) กลีเซอรอลดีไฮด์ฟอสเฟตจะเปลี่ยนไปเป็นแลคเตทเช่นเดียวกับการเกิดไกลโคไลซิสในการหมักแบบโฮโมเฟอร์เมนเททีฟ (แต่เนื่องจากการหมักแบบเฮเทอโรเฟอร์เมนเททีฟมีกลีเซอรอลดีไฮด์ฟอสเฟตเพียง 1 โมเลกุล จึงเกิด ATP เพียง 1 โมเลกุล) ส่วนอะเซทิลฟอสเฟตนั้นขึ้นกับมีสารที่ทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอนอยู่หรือไม่ ในสภาวะที่ขาดตัวรับอิเล็กตรอน อะเซทิลฟอสเฟตจะทำหน้าที่ดังกล่าว ทำให้กรดลิกซ์เป็น



รูปที่ 2.1 กระบวนการหมักแบบโฮโมเฟออร์เมนเททีฟ (homofermentative) และการหมักแบบเฮเทอโรเฟออร์เมนเททีฟ (heterofermentative) ของแบคทีเรียแลคติก  
ที่มา: Vuyst และ Vandamme (1994)

เอทานอล และได้  $2 \text{ NAD}^+$  ขึ้นมาใหม่ 2 โมเลกุล จากเอนไซม์ NADH แต่ในสภาวะที่มีออกซิเจน  $\text{NAD}^+$  สามารถสร้างขึ้นมาใหม่จากเอนไซม์ NADH oxidases และ peroxidases ปล่อยให้อะเซทิลโคสเฟอสมีนีมีมากพอสำหรับการเปลี่ยนไปเป็นอะซิเตทซึ่งเท่ากับเป็นการเติมฟอสเฟตให้กับสับสเตรตอีกทางหนึ่ง เป็นผลให้ได้ ATP เพิ่มขึ้นอีก 1 โมเลกุล เป็น 2 โมเลกุลจากกลูโคส 1 โมเลกุล เช่นเดียวกับการหมักแบบโฮโมเฟอร์เมนเททีฟ ในกรณีที่มีการเพิ่มของ ATP สะท้อนให้เห็นได้จากอัตราการเจริญของแบคทีเรียที่เป็นไปอย่างรวดเร็ว ผลเช่นเดียวกันนี้สามารถเกิดขึ้นได้กับตัวรับออกซิเจนอื่นๆ ด้วย เช่น ฟรุกโตส ซึ่งจะถูกรีดิวซ์ไปเป็นแมนนิทอล (สุมนธนา, 2545)

## 2.2.2 สารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ผลิตโดย แบคทีเรียแลคติก

### 2.2.2.1 กรดอินทรีย์

กรดอินทรีย์หลายชนิดถูกนำมาใช้เติมในอาหาร แต่ไม่ได้มีความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ทั้งหมด ซึ่งกรดอินทรีย์ส่วนใหญ่ที่มีความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบได้แก่ กรดอะซิติก กรดแลคติก กรดโพรพิโอนิก กรดซอร์บิก และกรดเบนโซอิก ส่วนกรดซิตริก แคลปโรลิก ฟูมาลิก และกรดอินทรีย์อื่น ๆ มีความสามารถในการยับยั้งในขอบเขตที่จำกัด แต่ถูกนำมาใช้ในแง่ของรสชาติมากกว่า ความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ของกรดอินทรีย์ขึ้นอยู่กับค่าพีเอช กรดที่มีความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์จะอยู่ในรูปที่ไม่มีการแตกตัว ดังนั้นการจะเลือกใช้กรดอินทรีย์ในการถนอมอาหารต้องพิจารณาถึงค่าพีเอช และ  $\text{pKa}$  ของกรดชนิดนั้น ๆ ซึ่งโดยปกติ กรดอินทรีย์ส่วนใหญ่ที่นำมาใช้ในอาหารจะมีพีเอชต่ำกว่า 5.5 และมีค่า  $\text{pKa}$  อยู่ในช่วง 3.0 ถึง 5.0 สำหรับกลไกการยับยั้งจุลินทรีย์นั้น กรดอินทรีย์ที่อยู่ในรูปที่ไม่แตกตัวจะสามารถผ่านเข้าสู่เซลล์เมมเบรน และผนังชั้นไขมัน (lipid bilayer) ได้ง่าย โดยปกติสภาพภายในเซลล์ กรดจะอยู่ในรูปที่แตกตัว เนื่องจากภายในเซลล์มีค่าพีเอชสูงกว่าภายนอกเซลล์ แบคทีเรียจึงพยายามรักษาพีเอช ภายในเซลล์ให้มีค่าใกล้เคียงความเป็นกลาง เพื่อป้องกันการเปลี่ยนรูปของโปรตีน เอนไซม์ กรดนิวคลีอิก และฟอสโฟลิปิด โดยโปรตอนจากกรดอินทรีย์จะทำให้ความเป็นกรดภายในไซโตพลาสซึมเพิ่มสูงขึ้น จึงต้องมีการกำจัดกรดที่มากเกินไปออกสู่ภายนอกเซลล์ โปรตอนถูกขับออกภายนอกเซลล์ผ่านทางเมมเบรน โดยอาศัยความต่างศักย์ไฟฟ้า เรียกว่า proton motive force (PMF)

การขับโปรตอนภายในเซลล์ออกสู่ภายนอกเซลล์จำเป็นต้องใช้พลังงานในรูป ATP ดังนั้นการไหลเข้าสู่เซลล์อย่างต่อเนื่องของโปรตอน ทำให้พลังงานภายในเซลล์ถูกนำมาใช้ในการกำจัดโปรตอนจนหมด ขณะเดียวกันก็เกิดการรบกวนการผ่านเข้า - ออกของสารในเมมเบรน ทำให้แบคทีเรียขาดพลังงานและตายในที่สุด (Doyle และคณะ, 1997)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 1) กรดแลคติก

กรดแลคติก มีค่า  $pK_a = 3.79$  เป็นผลิตภัณฑ์หลักที่ได้จากการหมักอาหาร โดยแบคทีเรียแลคติก ซึ่งกรดแลคติกสามารถยับยั้งแบคทีเรียกลุ่มที่สร้างสปอร์ และ *Staph. aureus* ซึ่งความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ของกรดแลคติก ขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารและจุลินทรีย์ เป้าหมาย ซึ่งมีเพียงบางรายงานเกี่ยวกับกลไกที่จำเพาะต่อการยับยั้งเชื้อก่อโรคในอาหารของ กรดแลคติก โดยกลไกหลักเหมือนกับกรดอินทรีย์ ทั่วไปคือ มีผลต่อการขนส่งของโปรตอนผ่านไซ- โทพลาสติกเมมเบรน (cytoplasmic membrane) (Doyle และคณะ, 1997)

### 2) กรดอะซิติก และ กรดโพรพิโอนิก

แบคทีเรียแลคติกหลายสายพันธุ์สามารถสร้างกรดอะซิติก และกรดโพรพิโอนิกได้ในปริมาณน้อย กรดอะซิติก และกรดโพรพิโอนิกมีค่า  $pK_a$  สูงกว่ากรดแลคติก จึงมีความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดีกว่ากรดแลคติก กลไกการยับยั้งจุลินทรีย์ของกรดอะซิติก และกรดโพรพิโอนิก จะเหมือนกับกรดแลคติก คือรบกวนการทำงานของเซลล์เมมเบรน โดยทำให้ความต่างศักย์ทางเคมีไฟฟ้า (electrochemical potential) เป็นกลาง นอกจากนี้กรดอะซิติกยังเป็นสาเหตุที่ทำให้โปรตีนเสียสภาพ ทำให้ค่าพีเอชภายในเซลล์ลดลง และยับยั้งการขนส่งของกรดอะมิโนได้ด้วย (Wood, 1992)

#### 2.2.2.2 ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide, $H_2O_2$ )

ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์ แบคทีเรียแลคติกสามารถสร้างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ซึ่งจะทำหน้าที่เป็นตัวรับออกซิเจน เนื่องจากแบคทีเรียแลคติกมีเอนไซม์ฟลาโวโปรตีนออกซิเดส แต่ขาดเอนไซม์คะตะเลส แบคทีเรียแลคติกจะสร้างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในสภาวะที่มีออกซิเจนเท่านั้น เหตุที่แบคทีเรียแลคติกสามารถสร้างสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้จึงทำให้แบคทีเรียแลคติกทนสารนี้ได้มากกว่าแบคทีเรียชนิดอื่นๆ และได้รับอนุญาตโดย FDA ให้ใช้เป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์ในน้ำนมดิบที่จะใช้ผลิตเนยแข็ง โดยใช้ความเข้มข้นไม่เกิน 0.05 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเติมลงในไข่ขาว ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ จะมีความสามารถในการทำลายเชื้อซัลโมเนลลาได้ สำหรับการใส่ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพื่อยืดอายุการเก็บน้ำนมดิบอาศัยระบบแลคโตเปอร์ออกซิเดส (lactoperoxidase system) ซึ่งเป็นกระบวนการยับยั้งจุลินทรีย์ที่พบตามธรรมชาติในน้ำนมดิบ โดยมีกลไกคือ ไธโอไซยาเนต (thiocyanate) ถูกออกซิไดซ์ด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ทำให้ได้สารยับยั้งจุลินทรีย์ 2 ชนิด คือ อนุมูลของไฮโปไธโอไซยาเนต (hypothiocyanate radical) และกรดไธโอไซยานัส (thiocyanous acid) ซึ่งประสิทธิภาพของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ จำนวนประชากรของจุลินทรีย์ อุณหภูมิ พีเอช ไอออนของสารอนินทรีย์ ระยะเวลาในการสัมผัส และปัจจัยร่วมอื่นๆ ที่มีผลต่อจุลินทรีย์ เช่น ความร้อน รังสี หรือ สารกันเสียอื่นๆ (Wood, 1992)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.2.2.3 แบคทีเรียโอซิน (bacteriocins)

แบคทีเรียโอซิน คือสารประกอบประเภทโปรตีน ที่สามารถซึมผ่านเยื่อของเซลล์จุลินทรีย์เป้าหมายได้ ทำให้เกิดรูรั่วของเยื่อเซลล์และเกิดการรั่วไหลขององค์ประกอบเซลล์ตามมา กลไกการทำงานของแบคทีเรียโอซิน คือสร้างภาวะที่ไม่สมดุลของไอออนให้เกิดขึ้นภายในเซลล์ของจุลินทรีย์เป้าหมาย ซึ่งทำให้เซลล์ต้องสูญเสียสมดุลศักย์ไฟฟ้าและเกรเดียนต์ความเป็นกรดค่าไป (สารโรจน์, 2547) กิจกรรมการยับยั้งของแบคทีเรียโอซินจะแตกต่างกันไปแล้วแต่สายพันธุ์ของจุลินทรีย์ ซึ่งมีแบคทีเรียหลายสายพันธุ์ที่สามารถผลิตแบคทีเรียโอซินได้ เช่น *Lb. fermentum*, *Lb. acidophilus*, *Lb. plantarum*, *P. acidilactici* และ *P. pentosaceus* แบคทีเรียโอซินจากแบคทีเรียต่างชนิดจะมีคุณสมบัติทางเคมีต่างกัน แบคทีเรียโอซินมีความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์หลายชนิด รวมถึงเชื้อก่อโรคในอาหาร เช่น *L. monocytogenes* ทำให้แบคทีเรียโอซินมีความสามารถในการเป็นสารถนอมอาหารได้

ในปัจจุบันสารกลุ่มนี้เป็นสารที่นักวิทยาศาสตร์ให้ความสนใจ เนื่องจากเป็นสารที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติโดยจุลินทรีย์ จึงมีความปลอดภัยมากกว่าสารเคมีสังเคราะห์ที่นำมาใช้เป็นสารปฏิชีวนะ เช่น นิสิน (nisin) ซึ่งตอนนี้ในประเทศไทยก็มีผู้ที่สนใจศึกษาเกี่ยวกับสารชนิดนี้อยู่หลายท่าน เช่น Swetwivathana และ Lotong (1999) ได้คัดเลือกเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่สร้างสารแบคทีเรียโอซินจากแฮม มี 3 สายพันธุ์ที่มาจาก *Pediococcus* spp. คือ TISTR 419, 530, 536 และสายพันธุ์จาก *Lactobacillus* spp. คือ TISTR 543 พบว่าสายพันธุ์ที่มาจาก *Pediococcus* spp. เท่านั้นที่มีผลในการยับยั้ง *L. innocua* ที่ใช้เป็นเชื้อ ทดสอบในการทดสอบ และในปี 2004, Swetwivathana และคณะ พบว่าแบคทีเรียแลคติกสายพันธุ์ *P. pentosaceus* TISTR 536 สามารถสร้างสารแบคทีเรียโอซิน Pediocin PA-1 ซึ่งเป็นสายพันธุ์แรกที่ผลิต Pediocin PA-1 ที่แยกได้จากแฮม

### 2.2.2.4 ไดอะซีทิล (Diacetyl)

ไดอะซีทิล หรือ 2, 3-butanedione เป็นผลผลิตจากกระบวนการสังเคราะห์ไพรูเวท โดยแบคทีเรียแลคติกในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน ซึ่งพบว่าเมื่อแบคทีเรียแลคติกเจริญในสภาวะที่มีซิเตรตอยู่ด้วยจะสร้างไพรูเวทออกมาในปริมาณมาก ซึ่งจะเปลี่ยนต่อไปเป็น diacetyl และ acetoin โดยสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อโรค และที่ทำให้อาหารเน่าเสีย และมีผลในการยับยั้งต่อแบคทีเรียแกรมลบ ยีสต์ รามากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก เนื่องจากไดอะซีทิลจะขัดขวางการใช้อาร์จินินของแบคทีเรียแกรมลบ โดยแทนที่อาร์จินินในการรวมตัวกับโปรตีน

โสกา (2541) ได้นำเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นสองชนิด คือ *Lb. plantarum* และ *P. cerevisiae* มาใช้ในการลดปริมาณของ *S. Typhimurium* และ *S. Anatum* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth จากการศึกษาพบว่า เชื้อเริ่มต้นทั้งสองชนิดมีประสิทธิภาพในการทำลาย *S. Typhimurium* และ *S. Anatum* เท่าเทียมกันโดยใช้ระยะเวลา 28 ชั่วโมง ในการทำลายเชื้อซัลโมเนลลาทั้งสองชนิด ที่มีปริมาณเริ่มต้น  $10^7$  cfu/มิลลิลิตร และใช้เวลา 32 ชั่วโมง ในการทำลายเชื้อซัลโมเนลลาที่มีปริมาณเริ่มต้น  $10^3$  cfu/ มิลลิลิตร

ในปี 1990, Scharner ได้ทดลองใส่เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น Reodema SSHK 76 ลงในไส้กรอกหมัก “Hausschiachtene Knackwurst” ที่มีการปนเปื้อนของ *S. Dublin* ซึ่งพบว่าภายในระยะเวลา 7 วัน จำนวนของเชื้อซัลโมเนลลาจะลดลง 1-3 ส่วนจาก 10 ส่วน ต่อมา Hugas และคณะ (1995) ได้นำเชื้อแบคทีเรียแลคติก *Lb. sake* CTC494 ที่แยกได้จากไส้กรอกหมักแบบธรรมชาติ มาใส่ในไส้กรอกหมักแบบแห้ง พบว่าสามารถหยุดการเจริญเติบโตของ *Listeria* และลดจำนวนเซลล์ลงได้  $1.25 \log_{10}$  cfu/ กรัม จากการวิเคราะห์เชื้อแลคติกชนิดนี้สามารถสร้างสารแบคเทอริโอซินได้ ที่เรียกว่า “sakacin K.” Savic และคณะ (2001) ได้ทำการทดลองโดยใส่ และไม่ใส่เชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์เริ่มต้นในผลิตภัณฑ์ Stemska salami พบว่า การเติมเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์เริ่มต้นจะทำให้ค่าพีเอช และค่าวอเตอร์แอกติวิตีของไส้กรอกลดลงอย่างรวดเร็วในวันแรกของการหมัก แต่ค่าพีเอช และค่าวอเตอร์แอกติวิตีในวันสุดท้ายของการหมักต่ำกว่าที่ไม่เติมเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์เริ่มต้น และการใช้เชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์เริ่มต้นจะทำให้ได้ไส้กรอกที่มีสีและความแน่นเนื้อสม่ำเสมอ โดยใช้เวลาน้อยกว่าที่ไม่ใช้เชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์เริ่มต้น Nassu และคณะ (2002) ได้ทำการผลิตไส้กรอกหมักจากเนื้อแพะ โดยใช้เชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์เริ่มต้นต่างชนิดกัน คือ (1.) *Staph. xylosus* และ *P. pentosaceus* (2.) ใช้เชื้อผสมของ *Pediococcus* spp. 2 สายพันธุ์ ในอัตราส่วน 50:50 (3.) *Lb. farciminis*, *Staph. aureus* และ *Staph. carnosus* ในระหว่างการหมัก เพื่อดูความแตกต่างของผลิตภัณฑ์ที่ได้ พบว่าไส้กรอกที่ใช้เชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์เริ่มต้นที่ต่างกันก็จะทำให้ค่าพีเอช ค่าวอเตอร์แอกติวิตีและการผลิตกรดแลคติกที่ต่างกันด้วย แต่เมื่อนำไปทดสอบทางประสาทสัมผัสพบว่าไม่แตกต่างกัน และเมื่อนำไปทดสอบในเรื่องความปลอดภัย โดยพิจารณาถึงระยะเวลาในการลดลงของเชื้อ *Staph. aureus* ผลปรากฏว่าเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์เริ่มต้นทุกชนิดสามารถลดปริมาณของ *Staph. aureus* ลงได้ จึงสามารถที่จะใช้เชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์เริ่มต้นทั้งหมดในการทำไส้กรอกหมักจากเนื้อแพะได้ ในขณะที่ Tantillo และคณะ (2002) ศึกษาถึงเชื้อแบคทีเรียแลคติกสายพันธุ์ *Lactobacillus* spp. ทั้งหมด 152 ชนิด เพื่อหาสายพันธุ์ที่ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค พบว่าเชื้อ *Lb. sakei* สามารถยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes*, *L. seeligeri*, *L. innocua*, *Lb. alimentarius* และ *Lb. bavaricus* ได้ ซึ่งเชื้อ *Lb. sakei* สามารถสร้างสารแบคเทอริโอซินได้จึงใช้เป็นเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นในไส้กรอกแบบแห้งได้ ต่อมา Mataragas และคณะ (2003) ได้นำเชื้อแลคติกบริสุทธิ์เริ่มต้นที่แยกได้จากสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากไส้กรอกหมักแบบแห้ง 2 สายพันธุ์ คือ *Leuconostoc mesenteroides* L124 และ *Lb. curvatus* L442 มาใส่ในเนื้อหมูปรุงสุก เพื่อต่อต้านเชื้อ *L. monocytogenes* พบว่าสามารถลดจำนวนประชากรของ *Listeriae* ได้  $1.5 \log_{10}$  cfu/กรัม และถ้านำเอาสารแบคทีเรียโอซินที่ได้จากเชื้อแลคติกบิริสุทธิเริ่มต้นนี้มาใส่ในตัวอย่างก็สามารถที่จะลดจำนวน *Listeriae* ได้ต่ำกว่าเกณฑ์ที่กำหนดไว้ได้ ( $10^2$  cfu/ กรัม)

### 2.3 กระเทียม (*Allium sativum* L.)

จัดอยู่ในวงศ์ Alliaceae มีถิ่นกำเนิดทางตอนใต้ของทวีปยุโรปถึงตอนกลางของทวีปเอเชีย และแพร่กระจายไปยังประเทศต่างๆ ทั่วโลก นำมาปลูกในประเทศไทยมากทางภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือเพื่อเป็นอาหารและเครื่องเทศ โดยใช้ทั้งต้นเป็นอาหาร หัวกระเทียมสดแห้ง และน้ำมันกระเทียมใช้เป็นเครื่องเทศแต่งกลิ่นอาหารหลายชนิด อาหารเสริมสุขภาพ และยาพื้นบ้านซึ่งใช้มานานหลายร้อยปี โดยใช้บำบัดอาการไอ หัววัด หลอดลมอักเสบเรื้อรัง ปวดฟัน ปวดหู ปวดท้อง อาหารไม่ย่อย โรคความดันโลหิตสูง เส้นเลือดประาะ ขี้สม ขี้เสมหะ ขี้ปัสสาวะ ขี้ประจำเดือน ขี้พยาธิ ลดอาการอักเสบวม ข่าเชื้อ แก้โรคผิวหนัง น้ำมันกระเทียมใช้ทาแก้แมลงกัดต่อย มีรายงานทางเภสัชวิทยาของกระเทียม และน้ำมันกระเทียมว่า ทำให้น้ำตาลในเลือดของกระต่ายลด ลดไขมันในกระต่ายและคน ลดความดันโลหิตในสัตว์และคน ข่าเชื้อเบคทีเรีย และเชื้อรา ข่าแมลง ขี้เสมหะ ขี้เหงื่อ ขี้ปัสสาวะ อุทรีต่างๆเหล่านี้เนื่องมาจากสาร allicin, diallyl disulphide และ diallyl trisulphide นอกจากนี้สารต่างๆดังกล่าวยังทำให้เกิดผิวหนังอักเสบ และแสบร้อนเมื่อสัมผัส ( กัลยา, 2548)

กระเทียมสดประกอบด้วยน้ำมันระเหยง่ายประมาณ 0.2 เปอร์เซ็นต์ นอกนั้นเป็น allicin, เอนไซม์ โปรตีน ไขมัน วิตามินบี 1 วิตามินบี 2 กรดอะมิโน แร่ธาตุ และสารอื่นๆอีกหลายชนิด ในน้ำมันระเหยง่ายประกอบด้วยสารเคมีประเภทสารประกอบของกำมะถันที่เป็นสารหลัก คือ allicin, diallyl disulphide, diallyl trisulphide, allylpropyl disulphide และที่พบเป็นส่วนน้อยคือ dimethyl sulphide, dimethyl disulphide, dimethyl trisulphide, diethyl disulphide, diallyl sulphide, methyl allyl trisulphide, diallyl polysulphide, methanethiol และสารประกอบอื่นๆของกำมะถันอีกหลายชนิด นอกจากนี้ยังประกอบด้วยสารระเหยได้ชนิดอื่นอีกคือ citral, geraniol, linalool และ  $\alpha$  - and  $\beta$ - phellandrene สาร allicin ซึ่งเป็นสารสำคัญที่มีกลิ่นนั้นเกิดจากปฏิกิริยาของเอนไซม์ allinase เปลี่ยน alliin ให้เป็น allicin ความร้อนและค้างทำให้ allicin เสื่อมสลายได้ แต่กรดเจือจางไม่ทำให้ allicin เปลี่ยนแปลงไป ดังนั้นกระเทียมดองในน้ำส้มจึงยังมีกลิ่นอยู่ (กัลยา, 2548)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.3.1 การยับยั้งจุลินทรีย์ของกระเทียม

สารอัลลิซินสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ต่างๆ เช่น อัลคาไลน์ฟอสฟาเทส (Alkaline phosphatase) แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส (Alcohol dehydrogenase) ยูรีเอส (Urease) ปาเปน (Papain) ซักซินิคดีไฮโดรจีเนส (Succinic dehydrogenase) ไตรโอสฟอสเฟตดีไฮโดรจีเนส (Triosephosphate dehydrogenase) เป็นต้น โดยเอนไซม์เหล่านี้เกี่ยวข้องกับกระบวนการหายใจหรือการเจริญของเซลล์ เป็นผลทำให้จุลินทรีย์ถูกทำลาย อัลลิซินสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ซักซินิคดีไฮโดรจีเนสและไตรโอสฟอสเฟตดีไฮโดรจีเนส ซึ่งเอนไซม์ทั้งสองนี้เกี่ยวข้องกับกระบวนการหายใจของเซลล์จุลินทรีย์ที่เจริญโดยใช้ออกซิเจนมากกว่าจุลินทรีย์ที่เจริญโดยไม่ใช้ออกซิเจน สำหรับเอนไซม์ที่ถูกทำลายโดยอัลลิซินส่วนมากจะมี sulfhydryl group (SH) อยู่ด้วย หมู่ SH นี้จะสามารถรวมกับหมู่ thiosulfinate ในโครงสร้างของอัลลิซินได้อย่างรวดเร็ว จึงเป็นผลให้กิจกรรมที่เกิดขึ้นโดยเอนไซม์ถูกทำลาย (Willis, 1956) โดยหมู่ SH มีความสำคัญต่อเซลล์เป็นอย่างมาก เนื่องจากเป็นตัวกระตุ้นที่จำเพาะในการเพิ่มจำนวนของเซลล์และยังมีความจำเป็นสำหรับการเจริญของเซลล์ด้วย

มีรายงานการวิจัยที่เกี่ยวกับผลของกระเทียมที่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ ดังเช่น อติสร (2542) ศึกษาผลของน้ำสกัดกระเทียมต่อการเจริญของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกทางการค้า 3 สายพันธุ์คือ *Lb. curvatus*, *Lb. sake* และ *P. acidilactici* พบว่า กล้าเชื้อทั้งสามสายพันธุ์สามารถทนต่อการทำลายของสาร allicin ที่มีในน้ำสกัดกระเทียมได้ดี สามารถเจริญได้ดีใน MRS broth ที่มีน้ำสกัดกระเทียมความเข้มข้น 1 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ที่น้ำสกัดกระเทียมความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ เชื้อลดปริมาณลงไปเพียงเล็กน้อย ในขณะที่เชื้อก่อโรคลักษณะ *S. Anatum* และ *Staph. aureus* เป็นเชื้อที่ไวต่อการถูกทำลายด้วยสาร allicin โดยเชื้อจะถูกทำลายและลดจำนวนลงที่อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีน้ำสกัดกระเทียมความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ถ้าน้ำสกัดกระเทียมมีความเข้มข้นสูงขึ้น จะมีผลในการลดปริมาณเชื้อให้หมดเร็วขึ้น Ancri และ Mirelman (1999) ศึกษาสมบัติในการเป็นสารต้านจุลินทรีย์ของ allicin จากกระเทียม พบว่า allicin เป็นสารสำคัญที่พบเมื่อกระเทียมถูกทำให้แตก สาร allicin บริสุทธิ์นี้แสดงฤทธิ์เป็นสารต้านแบคทีเรียได้ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ สามารถใช้เป็นส่วนประกอบของยาที่ใช้ต้านโรคเกี่ยวกับลำไส้ที่เกิดจากเชื้อ *E. coli* ใช้เป็นสารต้านเชื้อรา เช่น *Candida albicans* เป็นสารต้านปรสิต รวมถึงโปรโตซัวที่เป็นปรสิตในลำไส้ของมนุษย์ เช่น *Entamoeba histolytica* และ *Giardia lamblia* และพบว่ายังเป็นสารต้านไวรัสอีกด้วย สารต้านจุลินทรีย์ที่เป็นผลมาจากสาร allicin นี้ เนื่องมาจากสารนี้ทำปฏิกิริยากับกลุ่ม thiol ของเอนไซม์ต่างๆ เช่น alcohol dehydrogenase, thioredoxin reductase และ RNA polymerase ที่ส่งผลกระทบต่อกระบวนการเผาผลาญที่จำเป็นของจุลินทรีย์ Sallam และคณะ (2004) ศึกษาผลของสารต้านแบคทีเรียซึ่งเป็นผลมาจากกระเทียมในไส้กรอกไก่ โดยใช้สารต้านจุลินทรีย์ที่มาจากกระเทียมสด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(fresh garlic) กระเทียมผง (garlic powder) และน้ำมันกระเทียม (garlic oil) พบว่า เมื่อใส่กระเทียมสด 30 กรัม/กิโลกรัม หรือ กระเทียมผง 9 กรัม/กิโลกรัม สามารถลดปริมาณเชื้อที่มีปริมาณเริ่มต้นจาก  $4.41 \log_{10}$  CFU/กรัม ลงได้อย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อเติมน้ำมันกระเทียม พบว่าปริมาณเชื้อที่พบไม่มีความแตกต่าง เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม

## 2.4 เชื้อซัลโมเนลลา (*Salmonella*)

เชื้อซัลโมเนลลาจัดอยู่ในตระกูลเอนเทอโรแบคทีเรียซีอี (Family Enterobacteriaceae) เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อนสั้น ไม่สร้างสปอร์ เจริญได้ทั้งในสภาวะที่มี และไม่มีอากาศ ชอบอุณหภูมิปานกลาง โดยเฉพาะที่ 37 องศาเซลเซียส จะเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมแก่การเจริญ พืชที่เจริญได้อยู่ระหว่าง 4.0-9.0 สามารถย่อยสลายกลูโคสได้กรดกับก๊าซ แต่จะไม่ย่อยเล็กโทส หรือซูโคส มีการแยกชนิดโดยใช้วิธีทางซีโรโลยี (serology) เพราะเชื้อมีคุณสมบัติเป็น แอนติเจน (antigen)

เชื้อซัลโมเนลลาเป็นเชื้อที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษที่เรียกว่า โรคซัลโมเนลโลซิส (Salmonellosis) เนื่องจากการบริโภคอาหารหรือน้ำที่มีการปนเปื้อนของเชื้อเข้าไป ผ่านทางเดินอาหาร โดยความรุนแรงของอาการจะแตกต่างกันไปตามปริมาณของเชื้อ สายพันธุ์ และความต้านทานของผู้บริโภค ระยะฟักตัวของโรคนี้นี้ประมาณ 12-36 ชั่วโมง อาการที่สำคัญ คือ คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง และท้องเสีย แต่ถึงผู้ป่วยได้รับเชื้อสายพันธุ์ *S. Typhi* และ *S. Paratyphi* ซึ่งเป็นชนิดที่ทำให้เกิดโรคไทฟอยด์ และไข้รากสาดน้อย จัดเป็นเชื้อซัลโมเนลลาที่มีความรุนแรงมากที่สุด มีอัตราการตายสูงสุดในบรรดาเชื้อซัลโมเนลลาทั้งหลาย

ในผลิตภัณฑ์อาหารเชื้อซัลโมเนลลาแพร่กระจายในอาหารหลายชนิดที่มี เนื้อ นม ไข่ และผักเป็นส่วนประกอบในอาหาร สัตว์ปีกก็เป็นแหล่งปนเปื้อนที่สำคัญอีกหนึ่งแหล่งหนึ่ง ซึ่งในประเทศไทยเอง ก็เคยพบว่าเชื้อซัลโมเนลลาปนเปื้อนอยู่ในเนื้อไก่ที่เป็นสินค้าส่งออกของประเทศด้วย (Bangtrakulnonthและคณะ, 1993)

สำหรับรายงานการปนเปื้อนของเชื้อซัลโมเนลลาในผลิตภัณฑ์แฮม อติสร (2533) ตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อชนิดนี้ในแฮม 56 ตัวอย่าง พบเชื้อซัลโมเนลลทั้งสิ้น 16 เซโรไทป์ โดยเซโรไทป์ที่พบบ่อยได้แก่ *S. Derby* และ *S. Anatum* พบถึง 20.50 และ 14.72 เปอร์เซ็นต์ ของตัวอย่างที่ตรวจสอบลำดับ และพบว่า *S. Anatum* เป็นเชื้อที่ทนต่อการถูกทำลายในขณะหมักแฮมได้ดีที่สุด

ต่อมา อติสร และอรุณ (2539) ทำการตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาในแฮมที่จำหน่ายตามท้องตลาด และห้างสรรพสินค้าในเขตกรุงเทพฯ จำนวน 40 ตัวอย่าง พบว่ามีการปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์มากถึง 30 ตัวอย่าง (75 เปอร์เซ็นต์)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Abbar และ Tahir (1989) รายงานว่าตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลาในประเทศอิรัก จากตัวอย่างไส้กรอกเนื้อ 80 ตัวอย่าง มีการปนเปื้อนของเชื้อซัลโมเนลลา 28 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 35 เซโรวาร์ของซัลโมเนลลาที่พบได้แก่ *S. Anatum*, *S. Typhimurium* และ *S. Molade* สำหรับในเนื้อสดที่บรรจุขาย 70 ตัวอย่าง พบว่ามีการปนเปื้อนจาก *S. Anatum* 6 ตัวอย่าง คิดเป็น 8.6 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่, Schmidt (1989) รายงานว่าในตัวอย่างไส้กรอก bratwurst (frying sausage) 872 ตัวอย่าง จากร้านขายเนื้อ 6 ร้าน และในซูปเปอร์มาร์เก็ต 4 แห่ง ในเมืองบาวาเรียน ประเทศเยอรมัน ถ้านำไส้กรอกชนิดนี้ไปเก็บที่  $-20$  องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์ พบว่าซัลโมเนลลาจะลดลง 30 เปอร์เซ็นต์ แต่ถ้าเก็บไส้กรอกที่  $10$  องศาเซลเซียส เชื้อจะโตหลังจาก 24 ชั่วโมง ขณะเก็บที่  $15$  องศาเซลเซียส เชื้อจะโตหลังจาก 12 ชั่วโมง เมื่อเราทอดไส้กรอกที่  $130$  องศาเซลเซียส อุณหภูมิใจกลาง  $75$  องศาเซลเซียส นาน 6 นาที จะสามารถฆ่าเชื้อซัลโมเนลลาได้ Escartin และคณะ (1995) ได้ตรวจหาเซโรวาร์ของซัลโมเนลลาจากร้านขายเนื้อในเม็กซิโก โดยเก็บตัวอย่างเนื้อหมูดิบมา 61 ตัวอย่าง อุณหภูมิในการเก็บตัวอย่างอยู่ในช่วง  $12-16$  องศาเซลเซียส พบว่าจำนวนซัลโมเนลลาอยู่ในช่วง  $0.03-9000$  ซึ่งถ้าเฉลี่ยแล้วมีค่าประมาณ  $13$  MPN/ กรัม มีเพียง 8 เปอร์เซ็นต์ ของตัวอย่างที่มีการปนเปื้อนน้อยกว่า  $0.03$  MPN/ กรัม ในขณะที่ 28 54 และ 74 เปอร์เซ็นต์ มีค่าน้อยกว่า  $0.9$  9 และ 23 MPN/ กรัม ตามลำดับ ทั้งนี้ 10 เซโรวาร์ที่พบมาก ประกอบด้วย *S. Agona*, *S. Derby*, *S. Anatum*, *S. Meleagridis*, *S. Enteritidis*, *S. Worthington*, *S. Give*, *S. Manhattan*, *S. Typhimurium* และ *S. Brandenburg* ถ้านับจำนวนซัลโมเนลลาแบบ aerobic plate count (APC) มีค่าเฉลี่ย  $6.1 \log_{10}$  cfu/ กรัม ซึ่งมีการปนเปื้อนในระหว่างการฆ่า และการเก็บที่อุณหภูมิที่ไม่เหมาะสม

## 2.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการเติบโตของจุลินทรีย์ในอาหาร (สัปดาห์ที่ 2536)

ปัจจัยต่าง ๆ ภายในเนื้ออาหารที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ได้แก่ พีเอช (pH) ปริมาณความชื้น (moisture content) ออกซิเจน-รีดักชันโพเทนเชียล และอุณหภูมิ เป็นต้น ปัจจัยแต่ละชนิดมีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ดังนี้

### 2.5.1 พีเอช (pH)

พีเอชของอาหารมีผลต่ออัตราการเจริญและอัตราการอยู่รอดของจุลินทรีย์ โดยทั่วไปยีสต์และราจะทนกรดได้ดีกว่าแบคทีเรีย อาหารแต่ละชนิดจะมีพีเอชแตกต่างกัน (ตารางที่ 2.1) แต่ส่วนใหญ่มักจะเป็นกลางจนถึงเป็นกรด อาหารที่มีพีเอชต่ำจึงมักเก็บได้นานกว่าอาหารที่มีพีเอชเป็นกลาง อาหารบางชนิดมีพีเอชต่ำตามธรรมชาติ เช่น ผลไม้ที่เปรี้ยว ในขณะที่อาหารบางชนิดมีพีเอชต่ำจากกรดที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมัก ส่วนแบคทีเรียมักชอบเจริญในอาหารที่มีพีเอชเป็นกลางแต่บางชนิดที่ผลิตกรดก็จะชอบขึ้นในอาหารที่มีพีเอชเป็นกรด บางชนิดเช่น โปรทีโอไลติกแบคทีเรีย (proteolytic bacteria) เจริญได้ในอาหารที่มีพีเอชเป็นด่าง ดังที่พบในไข่ขาวที่เก็บไว้นาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ในวงวิชาการเท่านั้น ไม่สามารถนำข้อมูลไปใช้ในเชิงพาณิชย์ได้  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารบางชนิดมีความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับค่าพีเอชได้มากกว่าอาหารอื่น เนื่องจากมี buffer capacity (บัฟเฟอร์เป็นสารที่ทำให้ระดับพีเอชของอาหารเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย หรือแทบจะไม่เปลี่ยนแปลงแม้จะมีค่าพีเอชเพิ่มขึ้นหรือลดลง) ในเนื้อสัตว์มี buffering capacity มากกว่าผัก เนื่องจากเนื้อสัตว์มีโปรตีนสูงกว่าผัก โปรตีนจะทำหน้าที่เป็นบัฟเฟอร์ที่ดี ทำให้การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชเกิดขึ้นเล็กน้อย แม้ว่าในอาหารนั้นจะมีปริมาณกรดเพิ่มขึ้นก็ตาม ผักมีโปรตีนต่ำจึงขาด buffering capacity ทำให้อาหารประเภทผักที่มีจุลินทรีย์เติบโตและใช้น้ำตาลที่มีอยู่ในผักแล้วมีการสร้างกรดออกมาเล็กน้อย พบว่าผักจะมีการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชได้ง่าย ธรรมชาติของกรดที่อยู่ในอาหารจะช่วยทำให้เนื้อเยื่อของพืชและสัตว์ปลอดภัยต่อการถูกจุลินทรีย์ทำลาย ผลไม้ที่มีค่าพีเอชต่ำจึงมักนำเสียบากกว่าปกติ โครงสร้างของผลไม้ก็เป็นสิ่งที่สามารถป้องกันอันตรายแก่ผลไม้จากการทำลายด้วยจุลินทรีย์ ในขณะที่ค่าพีเอชของสัตว์ซึ่งยังมีชีวิตอยู่นั้นมีความเหมาะสมต่อการเติบโตของจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสียจำนวนมาก โดยมีปัจจัยอื่นๆ ภายในเนื้ออาหารที่มีบทบาททำให้เชื้อจุลินทรีย์รอดชีวิต และเติบโตได้ไม่สะดวก

ระดับพีเอชมีผลต่อจุลินทรีย์ 2 ประการ ได้แก่

- ผลต่อการทำงานของเอนไซม์
- ผลต่อการขนส่งสารอาหารเข้าสู่เซลล์เยื่อเซลล์ (cell membrane) ของจุลินทรีย์ ซึ่งเยื่อเซลล์ค่อนข้างจะไม่ยอมให้  $H^+$  และ  $OH^-$  ผ่านมากนัก ความเข้มข้นของสารเหล่านี้ในไซโทพลาซึมจึงยังคงที่ ถึงแม้ว่าสภาพแวดล้อมรอบเซลล์ จะมี  $H^+$  และ  $OH^-$  ปริมาณมากก็ตาม

นอกจากค่าพีเอชจะมีผลต่ออัตราการเจริญของจุลินทรีย์ยังมีผลต่อการอยู่รอดของจุลินทรีย์ ในระหว่างการเก็บ-การนำเชื้อ การทำแห้ง ฯลฯ และถึงแม้ว่าค่าพีเอชในตอนเริ่มต้นจะเหมาะสมต่อการเจริญและกิจกรรมของจุลินทรีย์ เมื่อมีการเจริญของจุลินทรีย์และมีการหมักเกิดขึ้นหรือมีการเจริญของจุลินทรีย์แข่งขันชนิดอื่น ก็อาจจะทำให้ค่าพีเอชเปลี่ยนไปในทางที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญอีกต่อไปก็ได้

ตารางที่ 2.1 ค่าพีเอชต่ำสุดที่แบคทีเรียสามารถเติบโตในอาหารได้

แบคทีเรีย	พีเอชต่ำสุดที่เชื้อเติบโต
<i>Alicyclobacillus acidocaldarius</i>	2.0
<i>Bacillus cereus</i>	4.9
<i>Clostridium botulinum</i> , Group I	4.6
<i>Clostridium botulinum</i> , Group II	5.0
<i>Clostridium. perfringens</i>	5.0
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	4.5
<i>Gluconobacter</i> spp.	3.6
<i>Lactobacillus brevis</i>	4.3
<i>Listeria monocytogenes</i>	4.1
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	4.5
<i>Pseudomonas fragi</i>	5.0
<i>Salmonella</i> spp.	4.1
<i>Shewanella putrefaciens</i>	5.4
<i>Shigella flexneri</i>	5.5
<i>Shigella sonnei</i>	5.0
<i>Staphylococcus aureus</i>	4.0
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	4.8
<i>Yersenia enterocolitica</i>	4.2

ที่มา: ดัดแปลงจาก Jay (2000)

### 2.5.2 ปริมาณความชื้น (moisture content)

ความชื้นจำเป็นต่อการเจริญของจุลินทรีย์ เพราะจุลินทรีย์จะไม่สามารถเจริญได้หากอาหารนั้นไม่มีความชื้นอยู่เลย ปริมาณของความชื้นที่จุลินทรีย์แต่ละชนิดต้องการจะแตกต่างกัน ความชื้นดังกล่าวนี้คือ น้ำที่เป็นอิสระ (water activity,  $A_w$ ) ของอาหารซึ่งมีค่าเท่ากับร้อยละของความชื้นสัมพัทธ์ที่แสดงออกมาเป็นค่าร้อยละ ถ้าความชื้นสัมพัทธ์รอบ ๆ อาหารต่ำกว่าในอาหารจะทำให้ค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ ที่ผิวของอาหารลดลงหรืออีกนัยหนึ่งค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ที่ผิวหน้าของอาหารจะเพิ่มขึ้นหากความชื้นสัมพัทธ์รอบๆอาหารสูงกว่าในอาหาร ค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ของอาหารมีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีที่เกิดขึ้น อาหารแต่ละชนิดประกอบด้วยสารอาหารแตกต่างกันที่มีค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ต่างกัน (ตารางที่ 2.2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 ค่าแอกเตอร์แอกติวิตี (water activity,  $A_w$ ) ที่ต่ำสุดสำหรับจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญต่อ  
อุตสาหกรรมอาหาร

Organism	Minimum ค่าแอกเตอร์แอกติวิตี
Most spoilage bacteria	0.90-0.91
<i>Acinetobacter</i>	0.95-0.98
<i>Aeromonas</i>	0.95-0.98
<i>Alcaligenes</i>	0.95-0.98
<i>Arthrobacter</i>	0.95-0.98
<i>Bacillus</i>	0.90-0.99
<i>B. cereus</i>	0.92-0.95
<i>Citrobacter</i>	0.95-0.98
<i>Clostridium botulinum</i>	0.90-0.98
Type A	0.95
Type B	0.94
Type E	0.97
<i>Corynebacterium</i>	0.95-0.98
<i>Enterobacter</i>	0.95-0.98
<i>Escherichia coli</i>	0.94-0.97
<i>Flavobacterium</i>	0.95-0.98
<i>Klebsiella</i>	0.95-0.98
<i>Lactobacillus</i>	0.90-0.94
<i>Leuconostoc</i>	0.96-0.98
<i>Micrococcus</i>	0.90-0.95
<i>M. roscus</i>	0.90-0.93
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0.96-0.98
<i>P. fluorescens</i>	0.95-0.97
<i>Salmonella</i>	0.93-0.96
<i>Staphylococcus albus</i>	0.88-0.92
<i>Staph. aureus</i>	0.84-0.92

ที่มา: ดัดแปลงจาก Banwart (1983)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งค่าออกเตอร์แอกติวิตีของอาหารสดส่วนใหญ่มีค่าสูงกว่า 0.99 จุลินทรีย์ทุกชนิดจะมีค่าออกเตอร์แอกติวิตีที่เหมาะสม หากค่าออกเตอร์แอกติวิตีลดลงต่ำกว่าระดับที่เหมาะสม อัตราการเจริญและการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ ของจุลินทรีย์จะลดลง โดยทั่วไปแบคทีเรียที่ต้องการค่าออกเตอร์แอกติวิตีในการเติบโตสูงกว่าเชื้อรา แบคทีเรียแกรมลบต้องการค่าออกเตอร์แอกติวิตีมากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียส่วนใหญ่ที่ทำให้อาหารเน่าเสียไม่สามารถเติบโตในที่ที่มีค่าออกเตอร์แอกติวิตี ต่ำกว่า 0.91 ในขณะที่เชื้อราที่ทำให้อาหารเน่าเสียไม่สามารถเติบโตในที่ที่มีค่าออกเตอร์แอกติวิตี ต่ำกว่า 0.80 แบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษ เช่น *Staph. aureus* สามารถเติบโตได้ในที่ที่มีค่าออกเตอร์แอกติวิตี 0.86 ในขณะที่เชื้อ *C. botulinum* ไม่เติบโตในที่ที่มีค่าออกเตอร์แอกติวิตี ต่ำกว่า 0.94

### 2.5.3 ออกซิเดชัน-รีดักชันโพเทนเชียล

มีผลต่อชนิดของจุลินทรีย์ที่จะเจริญ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในอาหาร การเกิดออกซิเดชันและรีดักชัน ในขณะที่เดียวกันจะเป็นแหล่งพลังงานในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ออกซิเดชัน-รีดักชันโพเทนเชียลของอาหาร ขึ้นอยู่กับ 1) ออกซิเดชัน-รีดักชันโพเทนเชียลตามธรรมชาติหรือกำลังการรีดิวซ์และออกซิไดส์ (reducing and oxidizing power) ของอาหารนั้น 2) ความดันย่อยของออกซิเจนรอบ ๆ อาหาร (oxygen tension) 3) การมีออกซิเจนจากอากาศแทรกซึมเข้าไปในอาหาร และ 4) ความสามารถในการคงสภาพ (poisoning capacity) หรือความต้านทานต่อการเปลี่ยนแปลงของโพเทนเชียล อาจจำแนกจุลินทรีย์ตามความสามารถในการใช้ออกซิเจนอิสระได้เป็น 3 พวก คือ

1. แอโรบ (aerobes) เป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจนอิสระในการเจริญและเกิดกิจกรรมต่าง ๆ
2. แอนแอโรบ (anaerobes) เป็นจุลินทรีย์ที่เจริญได้ดีในที่ที่ไม่มีออกซิเจน
3. ฟาคัลเททีฟแอนแอโรบ (facultative anaerobes) เป็นจุลินทรีย์ที่เจริญได้ทั้งในที่ที่มีออกซิเจนและที่ไม่มีออกซิเจน

พืชและเนื้อสัตว์สด ส่วนใหญ่จะมีค่าออกซิเดชัน-รีดักชันโพเทนเชียลต่ำ และไม่ค่อยมีการเปลี่ยนแปลง เนื่องจากมีตัวรีดิวซ์อยู่ เช่น มีกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) และน้ำตาลที่อยู่ในพืช ส่วนเนื้อสดจะมีหมู่ซัลไฟไฮดริล (sulfhydryl group) และตัวรีดิวซ์อื่น ๆ อยู่ คราบไคที่เซลล์ของพืชหรือสัตว์ยังไม่ตาย จะคงสภาพของออกซิเดชัน-รีดักชันโพเทนเชียลให้ต่ำอยู่ตลอดเวลาแม้ว่าจะมีออกซิเจนจากภายนอกแทรกซึมเข้าไปในเซลล์ก็ตาม เหตุนี้พืชสดและเนื้อสัตว์จะมีออกซิเจนเฉพาะที่ผิว ๆ เท่านั้น พวกแบคทีเรียมีสารเมือกหรือพวกที่ทำให้เกิดการจะเจริญบนเนื้อสัตว์เฉพาะที่ผิวหรือใกล้ ๆ ผิวเท่านั้น ในขณะที่โปรทีโอไลติกแบคทีเรียจะเจริญอยู่ภายในชิ้นเนื้อนั้นที่ไม่มีออกซิเจน สถานะเช่นนี้จะมีผลเกี่ยวข้องกับวิธีการในการผลิตอาหาร การให้ความร้อนจะลดความสามารถในการคงค่าโพเทนเชียลของอาหารได้ โดยไปทำลายหรือเปลี่ยนแปลงตัวรีดิวซ์และตัวออกซิไดส์เป็นผลทำให้ออกซิเจนแพร่เข้าไปข้างในได้อย่างรวดเร็ว กระบวนการผลิตอาหารก็อาจเปลี่ยนแปลงตัวออกซิไดส์หรือตัวรีดิวซ์เช่นเดียวกัน

#### 2.5.4 อุณหภูมิ

อุณหภูมิเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการเจริญของจุลินทรีย์ จุลินทรีย์แต่ละชนิดมีความต้องการและทนต่ออุณหภูมิแตกต่างกัน (ตารางที่ 2.3) อุณหภูมิที่เก็บอาหารจะเป็นตัวกำหนดชนิดของจุลินทรีย์ที่จะเจริญและควบคุมอัตราการเจริญจำนวนจุลินทรีย์ที่จะรอดชีวิตอยู่และการเกิดกิจกรรมต่างๆ พบว่าอุณหภูมิค่าที่ต่ำสุดในการเติบโตของจุลินทรีย์จะมีอุณหภูมิต่ำกว่า -34 องศาเซลเซียส ส่วนอุณหภูมิสูงสุดที่จุลินทรีย์สามารถเติบโตได้คือ อุณหภูมิสูงกว่า 100 องศาเซลเซียส แบ่งจุลินทรีย์ออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ ตามระดับอุณหภูมิที่เชื้อสามารถเติบโตได้ ดังนี้

1. ไสโครไฟล์ (psychrophile) เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่ชอบเติบโตในที่ที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า 7 องศาเซลเซียส และยังสามารถเติบโตได้บ้างในที่ที่มีอุณหภูมิระหว่าง 20-30 องศาเซลเซียส
2. มีโซไฟล์ (mesophiles) เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่ชอบเติบโตในที่ที่มีอุณหภูมิระหว่าง 20 – 45 องศาเซลเซียส แต่มีเชื้อบางชนิดสามารถเติบโตได้ในที่มีอุณหภูมิสูงกว่า 45 องศาเซลเซียส
3. เทอร์โมไฟล์ (thermophile) เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่ชอบเติบโตในที่ที่มีอุณหภูมิสูงโดยสามารถเติบโตได้ที่อุณหภูมิ 55-65 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 2.3 อุณหภูมิต่างๆ ที่จุลินทรีย์แต่ละชนิดเติบโตได้

จุลินทรีย์	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)		
	ต่ำสุด (minimum) ที่เชื้อเติบโต	เหมาะสม (optimum) ที่เชื้อเติบโต	สูงสุด (maximum) ที่เชื้อเติบโต
<i>Bacillus cereus</i>	10	-	47-50
<i>Clostridium botulinum</i>	3-10	30-40	42-45
<i>Clostridium perfringens</i>	15-20	30-40	45-51
<i>Escherichia coli</i>	3-10	37-41	48-50
<i>Lactobacillus</i>	5	30-40	53
<i>Leuconostoc</i>	10	20-30	40
<i>Micrococcus</i>	10	25-30	45
<i>Proteus</i>	10	37	43-45
<i>Pseudomonas</i>	-7-4	20-30	31-43
<i>Salmonella</i>	5-10	35-37	46-49
<i>Staphylococcus aureus</i>	5-10	35-39	44-48
<i>Vibrio</i>	-	10-37	-

ที่มา: คัดแปลงจาก Banwart (1989)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 3

# อุปกรณ์และวิธีการ

### 3.1 วัตถุดิบใช้ในการผลิต

- 3.1.1 เนื้อหมูส่วนสะโพก (ตลาดหัวตะเข้ เขตตลาดกระบ้ง)
- 3.1.2 หนังหมู (ตลาดหัวตะเข้ เขตตลาดกระบ้ง)
- 3.1.3 ข้าวสุก (ข้าวหอมมะลิ トラหงษ์ทอง)
- 3.1.4 กระเทียม (ตลาดหัวตะเข้ เขตตลาดกระบ้ง)
- 3.1.5 เกลือ (ตราชฎา)
- 3.1.6 น้ำตาล (ตรามิตรผล)

### 3.2 เชื้อจุลินทรีย์

3.2.1 *P. peniosaceus* TISTR 536 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่คัดแยกได้จากเหนมและได้รับการยืนยันว่าผลิต pediocin PA-1 (Swetwivathana, 2005) บ่มเพาะเลี้ยงเชื้อก่อนใช้เป็นกล้าเชื้อบริสุทธิ์ในอาหารเหลว MRS broth (Merck) เป็นเวลา 20-24 ชั่วโมง และใช้ MRS agar + 1.0 % CaCO<sub>3</sub> เป็นอาหารแข็งสำหรับเก็บเชื้อแบบ deep tube

3.2.2 *S. Anatum* ได้รับความอนุเคราะห์จาก FAO/WHO Salmonella-Shigella Center สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุขแห่งชาติ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข เก็บเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารแข็ง TSAYE [Trypticase soy agar (Merck) + 0.6 % yeast extract (Merck)] นำมาเพาะเลี้ยงในอาหาร TSBYE [Trypticase soy broth (Merck) + 0.6 % yeast extract] เป็นเวลา 20-24 ชั่วโมง ก่อนทำการศึกษา

### 3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อและส่วนประกอบที่ใช้ในการวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์

- 3.3.1 MRS broth (Merck, USA)
- 3.3.2 MRS agar (Merck, USA)
- 3.3.3 Salmosyst broth base,SB (Merck, USA)
- 3.3.4 Salmosyst selective supplement tablet ,SBST (Merck, USA)
- 3.3.5 XLD agar (Scharlau, Spain)
- 3.3.6 Rambach agar (Merck, USA)

เอกสารนี้เป็นเอกสารลิขสิทธิ์ของกรมวิทยาศาสตร์การศึกษานี้ ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 3.3.7 Triple Sugar Iron (TSI) agar slant (Merck, USA)
- 3.3.8 Lysine Indole Motility (LIM) medium (Difco, USA)
- 3.3.9 Trypticase soy agar (TSA) slant, plate (Merck, USA)
- 3.3.10 Agglutinating antiserum (polyvalent) A-67, A-I (S&A Reagent Lab, Thailand)
- 3.3.11 Antisera O group B, C, D, E (S&A Reagent Lab, Thailand)
- 3.3.12 KOVAC (Merck, USA)
- 3.3.13 Meat extract (Merck, USA)
- 3.3.14 Tryptone (Merck, USA)
- 3.3.15 Glucose (SP Scientific, Thailand)

### 3.4 สารเคมี

- 3.4.1 โซเดียมคลอไรด์ (Merck, USA)
- 3.4.2 โซเดียมไนไตรท์ (Merck, USA)
- 3.4.3 โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต (Carlo Erba Reagent, Italy)
- 3.4.4 โซเดียมแอสคอเบท (Fluka, Switzerland)
- 3.4.5 กลีเซอรอล (Carlo Erba Reagent, Italy)
- 3.4.6 น้ำมันพาราฟิน (Metha Group Trading Ltd., Part., Thailand)
- 3.4.7 ฟีนอล์ฟทาลีน 1 (Carlo Erba Reagent, Italy)
- 3.4.8 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Merck, USA)
- 3.4.9 แอลกอฮอล์ ร้อยละ 95 (องค์การสุรากรมสรรพสามิต, ประเทศไทย)

### 3.5 อุปกรณ์และเครื่องมือ

- 3.5.1 ตู้เขี่ยเชื้อ (Laminar Flow Clean Air Type 460 EC, Belgium)
- 3.5.2 ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Mettler, Germany)
- 3.5.3 ตู้บดลมร้อน (Mettler, Germany)
- 3.5.4 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Tomy SS-325, Japan)
- 3.5.5 เครื่องวัดค่าพีเอช (inolab pH Level I, Germany)
- 3.5.6 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง พิกัดชั่ง 3100 กรัม (Sartorius; BP 3100S, Germany)

- 3.5.7 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง พิกัดชั่ง 210 กรัม (A&D Company Ltd., Japan)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 3.5.8 เครื่องผสมสารละลายในหลอดทดลอง (Vortex Mixer VM-300)
- 3.5.9 กล้องจุลทรรศน์ (Olympus CH 30, Japan)
- 3.5.10 ไมโครเวฟ (LG intellowave, China)
- 3.5.11 เต้าไฟฟ้า (Kando, Germany)
- 3.5.12 เครื่องปั่นผสมอาหาร (Turbora TRK 72, Thailand)
- 3.5.13 เครื่องผสมอาหาร (Kitchen Aid รุ่น K5SS, USA)
- 3.5.14 เครื่องบรรจุสุญญากาศ (Sammic S.A.)
- 3.5.15 เครื่องบรรจุ
- 3.5.16 เครื่องบดเนื้อ (Seven Five OC 572, Thailand)
- 3.5.17 เครื่องอบแห้งแบบถาด (Patch OV 663)
- 3.5.18 เครื่องแก้วพร้อมอุปกรณ์อื่นๆที่จำเป็น
- 3.5.19 Cellulose casing (Type Cell FP, Cal 21, Shirred, Fa, Viscofam, 31007 Pamplona, Spain)
- 3.5.20 ถูพลาสติกสุญญากาศ ขนาด 9x14 นิ้ว (บริษัท กิจฉวารพลาสติก จำกัด)

### 3.6 สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการ โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

### 3.7 ระยะเวลาทำการทดลอง

ตุลาคม 2546 – กุมภาพันธ์ 2548

### 3.8 วิธีการทดลอง

#### 3.8.1 ผลของการใช้เชื้อแลคติกบริสุทธิเริ่มต้นในการผลิตแฮม

3.8.1.1 เตรียมเชื้อแบคทีเรียแลคติก *P. pentosaceus* TISTR 536 โดยถ่ายเชื้อบริสุทธิลงใน MRS broth นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20-24 ชั่วโมง

#### 3.8.1.2 การผลิตแฮม

ผลิตแฮม โดยแบ่งเป็น 2 สูตร คือ สูตรที่มีการเติมเชื้อแลคติกบริสุทธิเริ่มต้น และ ไม่มีการเติมเชื้อแลคติกบริสุทธิเริ่มต้น ซึ่งในแต่ละสูตรนั้นจะทำการผลิตแฮมที่มีน้ำหนัก 2 กิโลกรัม คือ น้ำหนักหั่นเส้นขนาดประมาณ 2x3x20 มิลลิเมตร และน้ำหนักบดที่ผ่านตะแกรง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้เผยแพร่ไปยังกระดานวิชาการ  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขนาด เส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร เตรียมส่วนผสมในแต่ละสูตรตามปริมาณที่แสดงในตารางที่ 3.1 ในสูตรที่ไม่มีการเติมเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นนั้นให้นำส่วนผสมทั้งหมดมาผสมในเครื่องผสม (Kitchen Aid ) นวดจนส่วนผสมเหนียว (ประมาณ 3 นาที) แต่ถ้าเป็นสูตรที่มีการเติมเชื้อบริสุทธิ์ เริ่มต้น ให้ผสมส่วนผสมทั้งหมดก่อนประมาณ 1 นาที จากนั้นจึงเติมเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นลงไป นวดต่อจนส่วนผสมเหนียว (ประมาณ 2 นาที) นำส่วนผสมทั้งหมดไปบรรจุโดยใช้ไส้บรรจุแบบ เซลลูโลส (Cellulose casing) ให้แต่ละแท่งมีความยาวประมาณ 6 นิ้ว จากนั้นรีดเอาอากาศออก มัดหัว-ท้ายให้แน่น นำไปบรรจุในถุงสุญญากาศ ปิดผนึกให้เป็นแบบสุญญากาศ โดยใช้เครื่องบรรจุแบบสุญญากาศ นำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างวิเคราะห์ทุกวัน เป็นเวลา 3 วัน

เตรียมตัวอย่างเหนียว โดยมีส่วนประกอบดังนี้

ตารางที่ 3.1 แสดงส่วนผสมในการผลิตเหนียว

ส่วนผสม	ปริมาณ (กรัม)
เนื้อหมู	650
หนังหมู	350
ข้าวสุก	60
กระเทียม	50
เกลือ	25
น้ำตาล	5
โซเดียม ไตร โพลีฟอสเฟต	3
โซเดียม แอสคอร์เบท	0.5
โซเดียม ไบ ไตรท์	0.100

ที่มา: Swetwivathana และคณะ (1999)

### 3.8.1.3 วิเคราะห์คุณสมบัติต่างๆของตัวอย่างเหนียว

- 1) วิเคราะห์หาปริมาณกรด แลคติก (ดัดแปลงจาก AOAC, 1984 โดย นภา , 2529)
- 2) การวัดค่าพีเอช (ดัดแปลงจาก AOAC, 1984 โดย นภา, 2529)
- 3) การวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ความชื้น (ดัดแปลงจาก AOAC, 1984 โดย นภา, 2529)

#### 4) การวัดค่าวอเตอร์แอกติวิตี (ตามคู่มือการใช้งานของเครื่อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ในการเรียนการสอนเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองในข้อ 1-4 วิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติโดยการวางแผนการทดลองแบบสุ่มภายในบล็อกสมบูรณ์ (Random Complete Block Design : RCBD) นำค่าที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยใช้ Analysis of Variance (ANOVA) หาค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย Duncan New's Multiple Range Test (DMRT)

#### 5) วิเคราะห์คุณสมบัติทางด้านจุลชีววิทยาของตัวอย่างเนม

ตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาที่มีอยู่ในตัวอย่างเนม โดยใช้วิธี Salmosyst (Weber, 1988; Ossmer, 1992; อติสร และอรุณ, 2539) โดยนำตัวอย่างเนม 25 กรัม ใส่ลงใน salmosyst broth base (SB) 225 มิลลิลิตร นำไปบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6-8 ชม. จากนั้นถ่ายเชื้อจาก SB 10 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เติม salmosyst selective supplement tablet (SBST) 1 เม็ด เข้าให้เม็ด SBST ละลายใน SB จนหมด บ่มหลอดที่มี SBST + SB ที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชม. แล้วนำไปเพาะเชื้อลงบนอาหารแข็งโดยใช้ XLD agar และ RAM agar บ่มเชื้อที่ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชม. นำโคโลนีที่สงสัยว่าเป็นเชื้อซัลโมเนลลามาทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีและคุณสมบัติทางเซโรโลยี จากนั้นนำตัวอย่างส่งกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์กระทรวงสาธารณสุข เพื่อตรวจหาเซโรวาร์ของเชื้อซัลโมเนลลา

#### 3.8.2 ผลของการใช้กระเทียมและกลั้วเชื้อแลคติกบริลูทรีเริ่มต้นที่มีต่อ *S. Anatum* ในแบบจำลองการหมักเนม (Nham model broth, NMB) (Swetwivathana และคณะ, 1998)

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแบบจำลองการหมักเนม ปริมาตร 198 มิลลิลิตร จำนวน 6 ขวด ในขวดทนร้อนฝาเกลียว นำอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้ไปผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที และดูดสารละลายโซเดียมไนไตรท์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยการกรองแล้ว 2 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อให้มีความเข้มข้นของโซเดียมไนไตรท์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ 0.01 เปอร์เซ็นต์

ขวดที่1 เชื้อ *S. Anatum*  $2.3 \times 10^4$  cfu/ ml

ขวดที่2 เชื้อ *S. Anatum*  $2.3 \times 10^4$  cfu/ ml + กระเทียมปลอดเชื้อ 5 เปอร์เซ็นต์

ขวดที่3 เชื้อ *S. Anatum*  $2.3 \times 10^4$  cfu/ ml + เชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536  $1.8 \times 10^6$  cfu/ ml

ขวดที่4 เชื้อ *S. Anatum*  $2.3 \times 10^4$  cfu/ ml + เชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536  $1.8 \times 10^6$  cfu/ ml  
+ กระเทียมปลอดเชื้อ 5 เปอร์เซ็นต์

ขวดที่5 เชื้อ *P. pentosaceus* TISTR536  $1.8 \times 10^6$  cfu/ ml

ขวดที่6 เชื้อ *P. pentosaceus* TISTR536  $1.8 \times 10^6$  cfu/ ml

+ กระเทียมปลอดเชื้อ 5 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เขย่าให้ส่วนผสมทั้งหมดเข้ากันในอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นปิดทับหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยน้ำมันพาราฟินทุกขวด นำขวดอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งหมดไปไว้ในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำการสุ่มตัวอย่างทุก 6 ชั่วโมง เพื่อวัดค่าพีเอช ปริมาณกรดแลคติก และตรวจหาปริมาณของเชื้อ *S. Anatum* ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA และ *P. pentosaceus* TISTR536 ด้วย MRS agar

### 3.8.3 คุณสมบัติทางประสาทสัมผัสของแฮมที่มีการใช้ และไม่ใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น

ใช้ผู้ทดสอบจำนวน 20 คน ดำเนินการทดสอบโดยใช้แผนการทดลองแบบ RCBD (Randomized Complete Block Design) โดยการทดสอบผู้ชิมประเมินผลในด้าน สี กลิ่นรส เนื้อสัมผัส และการยอมรับโดยรวม ซึ่งแบ่งเป็น 9 ระดับ คือ 9 = ชอบมากที่สุด และ 1 = ไม่ชอบมากที่สุด (9-point hedonic scale) นำคะแนนที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้ Analysis of Variance (ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างของคะแนนเฉลี่ยโดย Duncan New 's Multiple Range Test

### 3.8.4 ผลของการใช้กล้าเชื้อแลคติกบริสุทธิ์เริ่มต้น และการทำแห้งที่มีผลต่อเชื้อซัลโมเนลลา

3.8.4.1 จากการทดลองในข้อ 3.8.3 ในการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส เลือกสูตรที่มีแนวโน้มว่าผู้บริโภคชอบมากที่สุดของที่มีการเติมเชื้อแลคติกบริสุทธิ์ และไม่มีการเติม มาผลิตตามข้อ 3.7.1.2 จากนั้นนำแฮมที่ได้ออกจากถุงสุญญากาศ ไปอบแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบถาด ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปบรรจุแบบสุญญากาศอีกครั้งหนึ่ง เพื่อเก็บตัวอย่างรอทดสอบต่อไป

วิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี ภายนอก และจุลชีววิทยา โดยเก็บตัวอย่างที่ 0 และ 3 วัน ของการหมัก ตัวอย่างที่ผ่านการทำแห้งที่ระยะเวลา 2 4 6 และ 8 ชั่วโมง ตามวิธีในข้อ 3.8.1.3

### 3.8.5 ความเป็นไปได้ของการใช้เชื้อแลคติกบริสุทธิ์เริ่มต้น และการอบแห้งแฮมต่อการยอมรับของผู้บริโภค โดยการทดสอบทางประสาทสัมผัส

ใช้ผู้ทดสอบจำนวน 70 คน ดำเนินการทดสอบโดยใช้แผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design โดยการทดสอบผู้ชิมประเมินผลในด้าน สี กลิ่นรส เนื้อสัมผัส และการยอมรับโดยรวม ซึ่งแบ่งเป็น 5 ระดับ คือ 5 = ชอบมากที่สุด และ 1 = ไม่ชอบมากที่สุด (5-point hedonic scale)

นำคะแนนที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้ Analysis of Variance (ANOVA)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 4

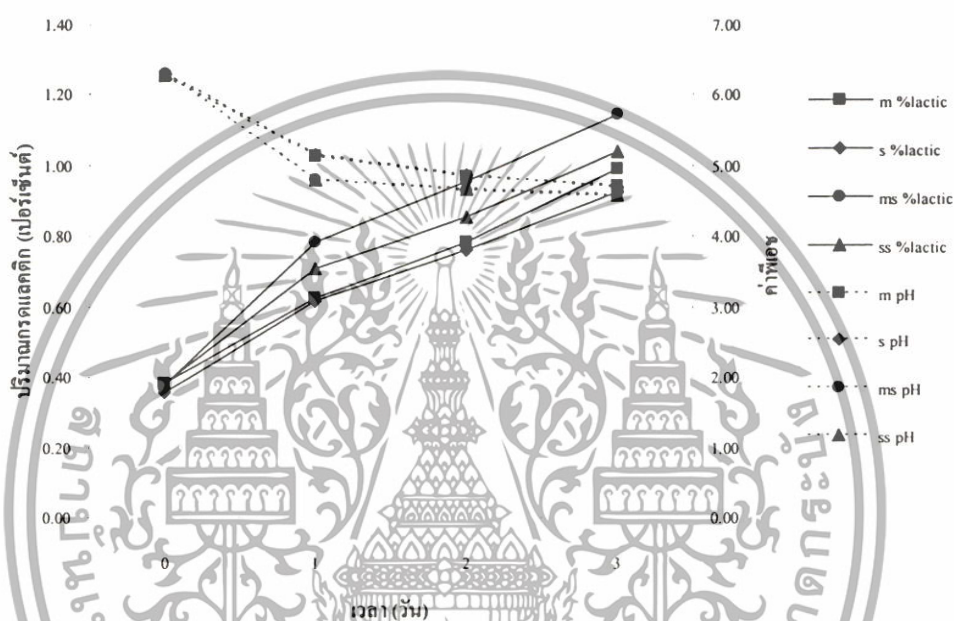
### ผลการทดลองและวิจารณ์

#### 4.1 ผลของการใช้เชื้อแลคติกบิริสุทธิเริ่มต้นในการผลิตแหนม

##### 4.1.1 ค่าพีเอชและเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก ของผลิตภัณฑ์แหนม

กระบวนการหมักแหนมโดยธรรมชาตินั้นมักเกิดจากจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับวัตถุดิบ ซึ่งมักจะมีส่วนที่สร้างกรดได้ และทำให้อาหารเน่าเสีย จุลินทรีย์ที่สร้างกรดได้ดี และพบในระยะแรกของการหมัก มักเป็นพวก homofermentative cocci เช่น *P. cerevisiae* , *P. pentosaceus* และ *P. acidilactici* ซึ่งเชื้อประเภทนี้จะใช้น้ำตาลกลูโคส แล้วสร้างเป็นกรดแลคติกออกมาเป็นส่วนใหญ่ทำให้ค่าพีเอชของแหนมลดลง (บุญกร , 2545) และจากการทดลองผลิตแหนมโดยแบ่งลักษณะของหนังกูที่ใช้เป็น 2 ลักษณะ คือ หนังกูแบบบดผานรูตะแกรงขนาด 5 มิลลิเมตร และหนังกูหั่นเส้นขนาดประมาณ 2x3x20 มิลลิเมตร ทำการหมักโดยใช้แบคทีเรียแลคติก *P. pentosaceus* TISTR 536 เป็นกล้าเชื้อในการหมักโดยเติมลงไปประมาณ  $10^7$  เซลล์/กรัม ในส่วนผสมก่อนทำการหมักเปรียบเทียบกับการหมักแบบธรรมชาติโดยไม่เติมกล้าเชื้อ พบว่าค่าพีเอชและเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกของแหนมแต่ละสูตรมีความแตกต่างกัน (รูปที่ 4.1) กล่าวคือ ในวันที่ 0 ของการหมัก ค่าพีเอชและเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกไม่แตกต่างกันมากนัก เนื่องจากกระบวนการหมักยังไม่เกิดขึ้น แต่หลังจากที่หมักแหนมได้ 1-3 วัน พบว่าการหมักแหนมที่มีการเติมกล้าเชื้อจะทำให้เปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเพิ่มสูงขึ้น และค่าพีเอชลดลงต่ำกว่าแหนมที่หมักโดยไม่มีการเติมกล้าเชื้อ โดยเฉพาะในวันที่ 1 ของการหมัก จะพบการเพิ่มของเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก ที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) (ตารางที่ 4.1) และการลดลงของพีเอชอย่างรวดเร็ว ในวันต่อมาจะสังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงของเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก และค่าพีเอชไม่มากนัก ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากว่า แหนมที่มีการหมักโดยเติมกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกลงไป ทำให้จำนวนของแบคทีเรียแลคติกมีการเพิ่มจำนวนมากขึ้น สามารถเปลี่ยนแหล่งพลังงานจากคาร์โบไฮเดรตไปเป็นกรดแลคติกได้ในจำนวนมากกว่า จึงทำให้ค่าพีเอชลดลงอย่างรวดเร็วและต่ำกว่าแหนมที่หมักโดยไม่มีการเติมกล้าเชื้อ แต่เมื่อการหมักใช้เวลานานขึ้น กรดแลคติกที่ถูกสร้างขึ้นและทำให้ค่าพีเอชลดลง ทำให้การเจริญของแบคทีเรียแลคติกช้าลงด้วย จึงทำให้ในระยะการหมักช่วงหลังมีการเปลี่ยนแปลงค่าเปอร์เซ็นต์กรด และค่าพีเอชน้อยกว่าในช่วงระยะเวลาในตอนแรก เมื่อพิจารณาผลของลักษณะหนังกูที่ใช้ คือ หนังกูบด และ หนังกูหั่นเส้น ร่วมกับการหมักแหนมที่เติม และไม่เติมกล้าเชื้อ (รูปที่ 4.1) พบว่าทั้งการหมักแบบที่มีการเติมและไม่เติมกล้าเชื้อให้ผลของเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก และค่าพีเอชในลักษณะเดียวกัน กล่าวคือ ในเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การผลิตแหนมที่ใช้หนังหมูบด มีแนวโน้มของเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกที่สูงกว่าและค่าพีเอชที่ต่ำกว่า แหนมที่ผลิตโดยใช้หนังหมูหั่นเส้น แต่ในทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p>0.05$ ) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากว่า การใช้หนังหมูบดนั้นจะทำให้แหนมรวมตัวเป็นเนื้อเดียวกัน ลดช่องว่างระหว่างเนื้อหมู และหนังหมูได้มากกว่าการใช้หนังหมูเส้น จึงทำให้กระบวนการหมักเกิดขึ้นได้ดีกว่า



รูปที่ 4.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติก และค่าความเป็นกรด-ด่าง ของผลิตภัณฑ์แหนม

- หมายเหตุ M หมายถึง แหนมที่ใช้หนังหมูบดในการผลิต และหมักโดยไม่มีการเติมกล้าเชื้อ  
 S หมายถึง แหนมที่ใช้หนังหมูเส้นในการผลิต และหมักโดยไม่มีการเติมกล้าเชื้อ  
 MS หมายถึง แหนมที่ใช้หนังหมูบดในการผลิตที่มีการเติมกล้าเชื้อ  
*P. pentosaceus* TISTR 536  $2 \times 10^6$  เซล/ กรัม  
 SS หมายถึง แหนมที่ใช้หนังหมูเส้นในการผลิตที่มีการเติมกล้าเชื้อ  
*P. pentosaceus* TISTR 536  $2 \times 10^6$  เซล/ กรัม

#### 4.1.2 ค่าวอร์เตอร์แอกติวิตี และ ค่าความชื้น ของผลิตภัณฑ์แหนม

ผลของการวิเคราะห์ค่าวอร์เตอร์แอกติวิตีและค่าความชื้น (ตารางที่ 4.2) พบว่าแหนมที่มีการเติมกล้าเชื้อและไม่มีการเติมกล้านั้นให้ผลที่ไม่แตกต่างกัน เนื่องจากใส่บรรจุภัณฑ์นั้นเป็นใส่บรรจุแบบพลาสติกซึ่งยอมให้อากาศและน้ำผ่านเข้าออกได้ เมื่อทำการบรรจุแหนมในใส่พลาสติกแล้ว จึงนำไปบรรจุในถุงพลาสติกสุญญากาศ แล้วทำการคว่ำอากาศออกให้อยู่ในสถานะเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สูญญากาศ เพื่อให้เกิดการหมักแบบไม่มีอากาศ เมื่อกระบวนการหมักเกิดขึ้นเนื้อหมูและส่วนผสมต่าง ๆ เกาะตัวกัน ทำให้มีน้ำที่เกิดจากกระบวนการหมักบางส่วนซึมผ่านไส้บรรจุออกมา เนื่องจากไส้บรรจุที่ใช้เป็นแบบพลาสติกที่ยอมให้น้ำซึมผ่านได้ ทำให้น้ำดังกล่าวออกมาอยู่ในถุงพลาสติกที่ยังคงอยู่ในสภาวะสูญญากาศ เกิดสมดุลของน้ำภายในถุงพลาสติก ดังนั้นเมื่อทำการวิเคราะห์ค่าออร์เตอร์แอกติวิตีและค่าความชื้น จึงทำให้ແນมทุกสูตรมีค่าออร์เตอร์แอกติวิตี และ ค่าความชื้นที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p>0.05$ )

ตารางที่ 4.1 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติก ของผลิตภัณฑ์ແນม

ระยะเวลาหมัก (วัน)	ปริมาณกรดแลคติก(เปอร์เซ็นต์)			
	M	S	MS	SS
0	0.4 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.4 ± 0.1
1	0.6 ± 0.1 <sup>b</sup>	0.6 ± 0.0 <sup>b</sup>	0.8 ± 0.1 <sup>a</sup>	0.7 ± 0.1 <sup>ab</sup>
2	0.8 ± 0.1	0.8 ± 0.1	1.0 ± 0.2	0.9 ± 0.1
3	1.0 ± 0.2	0.9 ± 0.2	1.1 ± 0.2	1.0 ± 0.1

หมายเหตุ a,b หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p<0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบโดย DMRT

M หมายถึง แแนมที่ใช้หนึ่งหมบคในการผลิต และหมักโดยไม่มีการเติมกล้าเชื้อ

S หมายถึง แแนมที่ใช้หนึ่งหมบคในการผลิต และหมักโดยไม่มีการเติมกล้าเชื้อ

MS หมายถึง แแนมที่ใช้หนึ่งหมบคในการผลิตที่มีการเติมกล้าเชื้อ

*P. pentosaceus* TISTR 536  $2 \times 10^6$  เซลล์/ กรัม

SS หมายถึง แแนมที่ใช้หนึ่งหมบคในการผลิตที่มีการเติมกล้าเชื้อ

*P. pentosaceus* TISTR 536  $2 \times 10^6$  เซลล์/ กรัม

#### 4.1.3 ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติทางด้านจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์ແນม

เนื่องจากเนื้อหมูซึ่งเป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตແแนม พบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อซัลโมเนลลาสูง (Phan-Urai, 1978; อติสร และคณะ, 2538) และเป็นกลุ่มเชื้อที่ก่อโรคอาหารเป็นพิษได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *S. Anatum* ซึ่งพบว่าเป็นเชื้อที่พบมากในແแนม และทนความเป็นกรดสูง (อรนุช, 2530; อติสร, 2533) ดังนั้นการศึกษานี้จึงได้ทำการหาวิธีการที่จะลดการปนเปื้อนของเชื้อชนิดนี้ โดยนำกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก *P. pentosaceus* TISTR 536 ซึ่งเป็นเชื้อที่พบว่าสามารถผลิตสารแบคทีริโอซินได้ (Swetwivathana และคณะ, 2004) มาใช้ในการผลิตແแนมโดยให้มีเชื้อเริ่มต้นก่อนการหมักในปริมาณ  $2 \times 10^6$  cfu/ กรัม เปรียบเทียบกับແแนมที่หมักโดยไม่มีการเติมกล้าเชื้อ จาก

การทดลอง (ตารางที่ 4.3) พบว่า ตัวอย่างที่ตรวจ จำนวน 6 ตัวอย่าง แแนมที่ไม่เติมกล้าเชื้อตรวจพบเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญตาเห็นไปไซเบรเซยช่นดำนการค้ำไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 ผลการวิเคราะห์ค่าออร์เตอร์แอกติวิตี้ และค่าความชื้นของผลิตภัณฑ์เหนม

ระยะเวลาหมัก (วัน)	ค่าออร์เตอร์แอกติวิตี้				ค่าความชื้น(เปอร์เซ็นต์)			
	M <sup>ns</sup>	S <sup>ns</sup>	MS <sup>ns</sup>	SS <sup>ns</sup>	M <sup>ns</sup>	S <sup>ns</sup>	MS <sup>ns</sup>	SS <sup>ns</sup>
0	0.97	0.97	0.96	0.97	69.7	71.1	69.8	71.2
1	0.97	0.97	0.96	0.96	71.2	70.2	69.8	70.3
2	0.96	0.97	0.96	0.96	70.2	70.1	70	70.1
3	0.96	0.96	0.96	0.96	69.5	70.3	70.1	70.4

หมายเหตุ ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p>0.05$ )

M หมายถึง แหนมที่ใช้หนังหมูบดในการผลิต และหมักโดยไม่มีการเติมกล้าเชื้อ

S หมายถึง แหนมที่ใช้หนังหมูเส้นในการผลิต และหมักโดยไม่มีการเติมกล้าเชื้อ

MS หมายถึง แหนมที่ใช้หนังหมูบดในการผลิตที่มีการเติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536  $2 \times 10^6$  เซลล์/กรัม

SS หมายถึง แหนมที่ใช้หนังหมูเส้นในการผลิตที่มีการเติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536  $2 \times 10^6$  เซลล์/กรัม

เชื้อซัลโมเนลลาทั้ง 6 ตัวอย่าง (100 เปอร์เซ็นต์) ตั้งแต่วันเริ่มต้นของการหมัก ( 0 วัน ) จนถึงวันที่ 2 แต่ในวันสุดท้ายของการหมัก ( 3 วัน ) ตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลาเพียง 4 ตัวอย่าง (66.7 เปอร์เซ็นต์) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากในวันสุดท้ายของการหมักนั้นมีค่าพีเอชที่ต่ำมาก จึงทำให้เชื้อซัลโมเนลลามีจำนวนลดลงซึ่งใน 2 ตัวอย่างจะตรวจไม่พบเชื้อซัลโมเนลลา แต่เมื่อดูผลของແහມທີ່ผลิตโดยมีการเติมกล้ำเชื้อแบคทีเรียแลคติก พบว่า ช่วงแรกของการหมักตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลาทั้ง 6 ตัวอย่าง ( 100 เปอร์เซ็นต์ ) แต่จำนวนตัวอย่างการตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลาลดลงมากกว่าແහມที่หมักโดยไม่เติมกล้ำเชื้อ กล่าวคือ ในวันที่ 2 และ 3 ของการหมัก ตรวจพบเชื้อ 4 ตัวอย่าง (66.7 เปอร์เซ็นต์) และ 2 ตัวอย่าง (33.3 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากเชื้อแบคทีเรียที่เติมลงไปนั้น มีผลทำให้กระบวนการหมักเกิดได้เร็วขึ้น มีกรดแลคติกถูกสร้างมากขึ้น มีผลทำให้ค่าพีเอชลดต่ำลง อีกทั้งเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่เติมลงไปยังสามารถสร้างสารแบคทีริโอซินได้ จึงมีผลในการยับยั้งและทำลายเชื้อซัลโมเนลลาได้ การตรวจพบในวันสุดท้ายจึงลดลงมากกว่าແහມที่ผลิตโดยไม่มีการเติมกล้ำเชื้อแบคทีเรียแลคติก ซึ่งก็ให้ผลสอดคล้องกับ อคิสร ( 2533 ) ที่ใช้กล้ำเชื้อแบคทีเรียแลคติก *Pediococcus* spp. รหัส P<sub>55</sub> และกล้ำเชื้อผสมระหว่างเชอร์รหัส P<sub>55</sub> และ *Lactobacillus* spp. รหัส L<sub>1</sub> ในการหมัก ที่มีผลในการยับยั้งและทำลายเชื้อซัลโมเนลลาในระหว่างการหมัก

ตารางที่ 4.3 ผลของการใช้กล้ำเชื้อแบคทีเรียแลคติกต่อการลดลงของเชื้อซัลโมเนลลาระหว่างการหมักແහມ

ระยะเวลาการหมัก (วัน)	จำนวนตัวอย่าง ที่ตรวจ	การตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลา			
		ແහມที่ไม่มีการเติมกล้ำเชื้อ		ແහມที่มีการเติมกล้ำเชื้อ	
		จำนวน	เปอร์เซ็นต์*	จำนวน	เปอร์เซ็นต์*
0	6	6	100	6	100
1	6	6	100	6	100
2	6	6	100	4	66.7
3	6	4	66.7	2	33.3

หมายเหตุ \* หมายถึง เปอร์เซ็นต์ของการตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลาในระหว่างการหมักແහມ

เชื้อซัลโมเนลลาจะถูกยับยั้งโดยสารต่าง ๆ ที่แบคทีเรียแลคติกสร้างขึ้นได้มากหรือน้อยเพียงใดนั้น ทั้งนี้ก็ขึ้นอยู่กับชนิด และปริมาณที่เชื้อซัลโมเนลลาปนเปื้อนอยู่ด้วย ( อรณูช , 2530 ) จากการทดลองครั้งนี้ตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลาทั้งหมด 11 เซโรวาร์ (ตารางที่ 4.4) โดยเซโรวาร์พบมากที่สุด 4 อันดับ คือ *S. Panama* (24.7 เปอร์เซ็นต์) *S. Rissen* (21.7 เปอร์เซ็นต์) *S. Anatum* (21.7 เปอร์เซ็นต์) และ *S. Stanley* 18.65 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนซัลโมเนลลา เซโรวาร์อื่นนั้นพบเพียงไม่กี่ตัวกรณใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1 – 3 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น เมื่อดูช่วงเวลาการหมักที่ตรวจพบว่า เชื้อซัลโมเนลลานั้นตรวจพบได้ทุกวันของการหมัก โดยเฉพาะเชื้อที่พบ 4 อันดับแรก ซึ่งหมายความว่าเชื้อทั้ง 4 นั้น (*S. Panama*, *S. Rissen*, *S. Anatum* และ *S. Stanley*) สามารถทนต่อสารที่เบคทีเรียแลคติกผลิตขึ้น และค่าพีเอชที่ลดลงของผลิตภัณฑ์หมักไม่ได้ดี จึงตรวจพบเชื้อเหล่านี้ได้ ในปริมาณที่สูงกว่าเชื้อเซโรวาร์อื่นๆ นอกจากนี้จากการศึกษายังพบว่า *S. Anatum* ยังคงเป็นสายพันธุ์ที่มีโอกาสปนเปื้อนมากในผลิตภัณฑ์หมัก โดยสามารถตรวจพบได้หลังจากหมักหมนมครบ 3 วัน ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ อคิสร (2533) ซึ่งเชื้อซัลโมเนลลาสายพันธุ์ดังกล่าวนี้มีรายงานการตรวจพบมากในเนื้อหมูดิบที่จำหน่ายทั่วไปในท้องตลาด (อคิสร และคณะ, 2548) และเป็นสายพันธุ์ที่พบว่าถูกยับยั้งโดยสารต่างๆ ที่ผลิตจากเบคทีเรียแลคติกที่แยกได้จากหมนม (อรนุช, 2530)

ตารางที่ 4.4 เชื้อซัลโมเนลลาเซโรวาร์ต่างๆ ที่ตรวจพบจากตัวอย่างหมนมในช่วงการหมัก 0-3 วัน

ซีโรวาร์	จำนวนตัวอย่าง	เปอร์เซ็นต์	ช่วงเวลาที่ตรวจพบ(วัน)
<i>S. Rissen</i>	21	21.7	0-2
<i>S. Anatum</i>	21	21.7	0-3
<i>S. Panama</i>	24	24.7	0-3
<i>S. Stanley</i>	18	18.6	0-3
<i>S. Kedougou</i>	2	2.1	0-1
<i>S. Orion</i>	3	3.1	0-3
<i>S. Lexington</i>	1	1.0	0-2
<i>S. Saintpaul</i>	1	1.0	0-2
<i>S. Weltevreden</i>	2	2.1	0-2
<i>S. Krefeld</i>	3	3.1	0-2
<i>S. Senftenberg</i>	1	1.0	0-3
รวม	97	100	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 4.2 ผลของการใช้กระเทียมและกล้ำเชื้อแลคติกบิริสุทธิเริ่มต้นที่มีต่อ *S. Anatum* ในแบบจำลองการหมักแฮม (Nham model broth, NMB)

### 4.2.1 ผลของการใช้กระเทียมที่มีผลต่อการเจริญของกล้ำเชื้อแบคทีเรียแลคติก

#### *P. pentosaceus* TISTR 536 ในแบบจำลองการหมักแฮม ( Nham model broth , NMB )

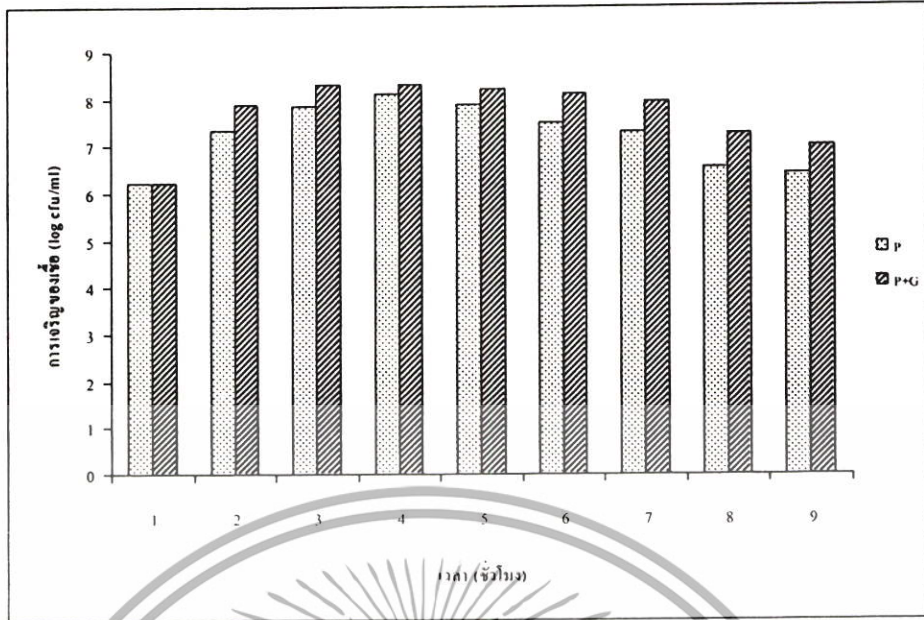
ผลของกระเทียมสดต่อการเจริญของกล้ำเชื้อแบคทีเรียแลคติก *P. pentosaceus* TISTR 536 พบว่า กระเทียมที่เติมลงไปนั้นส่งเสริมการเจริญของกล้ำเชื้อแบคทีเรียแลคติก จากรูปที่ 4.2 พบว่า ใน NMB ที่มีการเติมกระเทียมลงไปทำให้กล้ำเชื้อมีจำนวนมากกว่า NMB ที่ไม่มีการเติมกระเทียม ทั้งนี้เนื่องมาจากว่าในกระเทียมมีสารที่จำเป็นต่อการเจริญ และสร้างกรดแลคติก เช่น แมงกานีส เป็นต้น (อดิศร, 2542 ; Swetwathana และคณะ, 1999) นอกจากนี้เชื้อในกลุ่มแบคทีเรียแลคติกซึ่งเป็นกลุ่มที่เจริญโดยไม่ต้องใช้ออกซิเจน ซึ่งมีรายงานว่า หน่อสาร allicin ที่พบมากในกระเทียม (Willis, 1956 ; อดิศร, 2542) จึงทำให้กล้ำเชื้อดังกล่าวสามารถเจริญได้ ด้วยเหตุนี้ NMB ที่มีการเติมกระเทียมนั้นจึงมีการเจริญของกล้ำเชื้อที่มากกว่า มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์กรดแลคติกมีปริมาณสูงขึ้น และมีค่าพีเอชต่ำกว่า NMB ที่ไม่มีการเติมกระเทียม (รูปที่ 4.3)

#### 4.2.2 ผลของการใช้ กระเทียม และกล้ำเชื้อแบคทีเรียแลคติก *P. pentosaceus* TISTR 536 ที่มีผลต่อการเจริญของ *S. Anatum* ในแบบจำลองการหมักแฮม ( Nham-model broth , NMB )

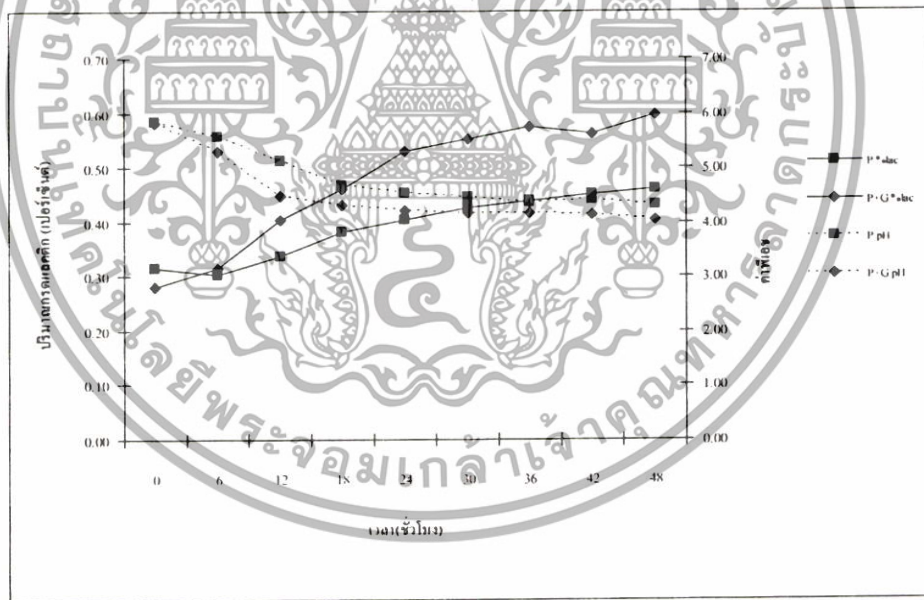
ผลของกระเทียม และกล้ำเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. Anatum* ใน NMB เทียบกับ NMB ที่เติมกระเทียม หรือกล้ำเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 เพียงอย่างเดียว พบว่า NMB ที่มีการเติมกระเทียมและกล้ำเชื้อ มีผลในการยับยั้งการเจริญของ *S. Anatum* ได้ดีที่สุด (รูปที่ 4.4) ทั้งนี้เนื่องจากการเติมกระเทียมทำให้กล้ำเชื้อแบคทีเรียแลคติกมีการเจริญดีขึ้น เป็นผลทำให้มีเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกที่สูงขึ้น และค่าพีเอชลดลงอย่างรวดเร็ว (รูปที่ 4.5) อีกทั้งมีรายงานว่ากล้ำเชื้อชนิดนี้สามารถผลิตสารแบคทีริโอซิน pediocin PA - 1 ได้ ( Swetwathana และคณะ, 2004 ) และในกระเทียมยังประกอบด้วยสาร allicin ที่มีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ รวมถึงจุลินทรีย์ที่ก่อโรค (อดิศร, 2542; Swetwathana และคณะ, 1999 ) ซึ่งผลการทำงานร่วมกันของสารต่างๆนี้อาจมีผลทำให้จำนวนเชื้อ *S. Anatum* ลดลงอย่างรวดเร็ว และหมดไปได้ภายใน 48 ชั่วโมง ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับผลของ Swetwathana และคณะ ( 2004 ) ที่พบว่าการใช้กระเทียม 5 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ ไนไตรท์ 125 ppm และกล้ำเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 สามารถทำลายเชื้อ *S. Anatum* ให้หมดไปได้ภายในระยะเวลา 30 ชั่วโมง เมื่อพิจารณาถึง NMB ที่มีการเติมกระเทียมอย่างเดียว หรือ NMB ที่มีการเติมกล้ำเชื้อเพียงอย่างเดียว นอกจากนี้ยังพบว่าการเติมกระเทียมนั้นมีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อซัลโมเนลลาในระยะแรกของการหมัก (0-12 ชั่วโมง) หลังจากนั้นเชื้อสามารถเจริญต่อได้ แต่ก็จะสามารถเจริญได้น้อยกว่า NMB ที่ไม่มีการเติม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาตจะถือว่าผิดกฎหมาย

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

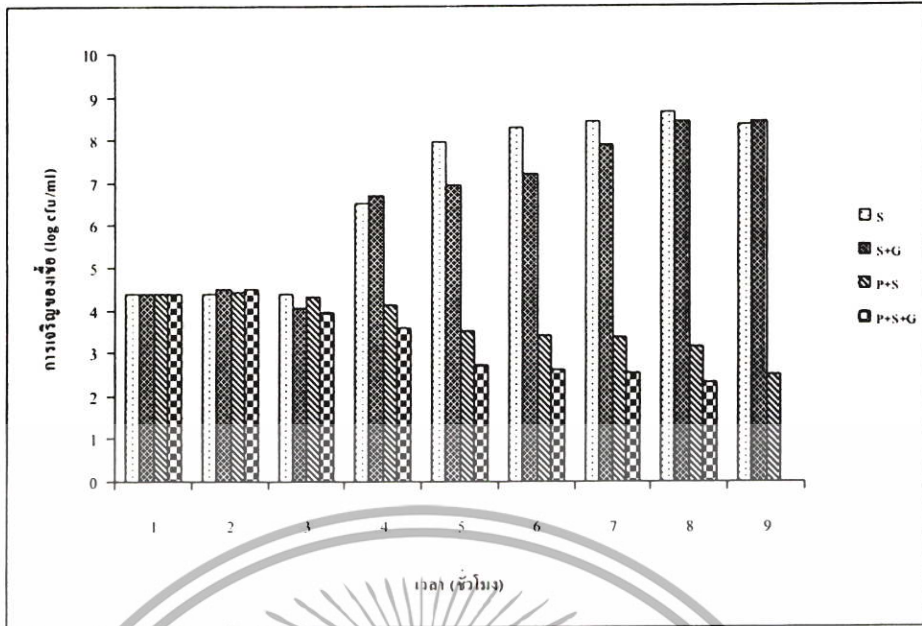


รูปที่ 4.2 แสดงการเจริญของ *P. pentosaceus* TISTR 536 ในแบบจำลองการหมักเหนม ( Nham model broth)

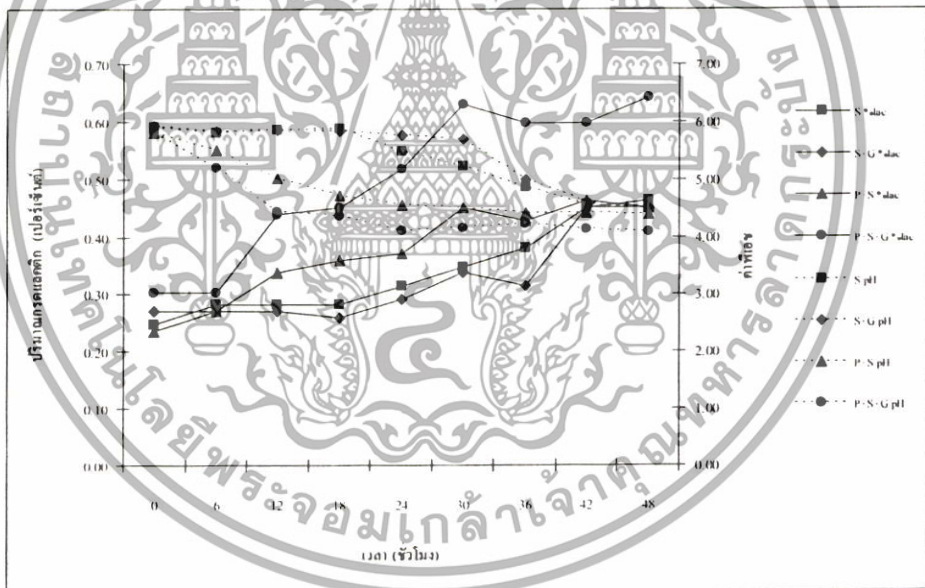


รูปที่ 4.3 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติก และค่าความเป็นกรด-ด่าง ของแบบจำลองการหมักเหนม (Nham Model Broth) ที่มีการเจริญของเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536  
 หมายถึง Nham model broth ที่มีเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536  
 $1.8 \times 10^6$  cfu/ml  
 P+G หมายถึง Nham model broth ที่มีเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536  
 $1.8 \times 10^6$  cfu/ml + กระเทียม 5 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 แสดงการเจริญของ *S. Anatum* ในแบบจำลองการหมักแทนม ( Nham model broth)



รูปที่ 4.5 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติก และค่าความเป็นกรด-ด่าง ของแบบจำลองการหมักแทนม (Nham model broth) ที่มีการเจริญของเชื้อ *S. Anatum*

- หมายเหตุ S หมายถึง Nham model broth ที่มีเชื้อ *S. Anatum*  $2.3 \times 10^4$  cfu/ml
- S+G หมายถึง Nham model broth ที่มีเชื้อ *S. Anatum*  $2.3 \times 10^4$  cfu/ml + กระเทียม 5 เปอร์เซ็นต์
- P+S หมายถึง Nham model broth ที่มีเชื้อ *S. Anatum*  $2.3 \times 10^4$  cfu/ml + *P. pentosaceus* TISTR 536  $1.8 \times 10^6$  cfu/ml
- P+S+G หมายถึง Nham model broth ที่มีเชื้อ *S. Anatum*  $2.3 \times 10^4$  cfu/ml + *P. pentosaceus* TISTR 536  $1.8 \times 10^6$  cfu/ml + กระเทียม 5 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้ทางเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้เพื่อการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัจจัยอื่นเลย สำหรับ NMB ที่มีการเติมกล้าเชื่อนั้นก็มีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. Anatum* ได้ผลดีรองจากการเติมทั้งกระเทียมและกล้าเชื้อ เนื่องด้วยการเจริญของกล้าเชื่อนั้นทำให้มีการสร้างกรดแลคติกเกิดขึ้นและทำให้ค่าพีเอชต่ำลง จึงสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. Anatum* ได้ดีกว่า NMB ที่ไม่เติมกล้าเชื้อ

#### 4.3 คุณสมบัติทางประสาทสัมผัสของแฮมที่มีการใช้ และไม่ใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น

ผลการทดลองหมักแฮมโดยเติมกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก *P. pentosaceus* TISTR 536 เพื่อทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้ง และทำลายเชื้อซัลโมเนลลาที่ปนเปื้อนมากับเนื้อหมู โดยเปรียบเทียบกับแฮมที่หมักที่ไม่มีเติมกล้าเชื้อ ซึ่งพบว่า การหมักแฮมที่มีการเติมกล้าเชื่อนั้น จะสามารถลดเชื้อซัลโมเนลลาได้มากกว่าการหมักที่ไม่มีเติมกล้าเชื้อ รวมถึงการขึ้นชั้นผลการลดลงของ *S. Anatum* ที่พบมากในผลิตภัณฑ์แฮม และเป็นสายพันธุ์ที่มีรายงานว่าทนต่อสารยับยั้งของแบคทีเรียแลคติกมากที่สุด เมื่อใช้แบคทีเรียแลคติกสายพันธุ์ *P. pentosaceus* TISTR 536 เป็นกล้าเชื้อในรูปแบบจำลองการหมักแฮม (NMB) จึงพอสรุปได้ว่า มีความเป็นไปได้ที่จะนำ *P. pentosaceus* TISTR 536 มาใช้เป็นกล้าเชื้อในการผลิตแฮมเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความปลอดภัยจากเชื้อในกลุ่มซัลโมเนลลา ด้วยเหตุนี้จึงทำการทดลองผลิตแฮมที่มีการเติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 เปรียบเทียบกับแฮมที่ไม่มีเติมกล้าเชื้อ โดยใช้สูตรหนังหมู 2 ลักษณะ คือ หนังหมอบด และหนังหมูเส้น ผ่านการหมักครบ 3 วัน มาทดสอบทางประสาทสัมผัส โดยให้ผู้ทดสอบจำนวน 20 ท่าน ให้คะแนนความชอบ 9 ระดับ (ตารางที่ 4.5) พบว่าผู้บริโภคให้การยอมรับแฮมหนังหมอบดที่หมักโดยมีการเติมกล้าเชื่อนักที่สุดในด้านเนื้อสัมผัสและความชอบโดยรวมมากที่สุด มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรอื่น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากว่า แฮมหนังหมอบดมีลักษณะของเนื้อสัมผัสที่เป็นเนื้อเดียวกัน มากกว่าหนังหมูเส้น และเมื่อมีการเติมกล้าเชื้อลงไปทำให้การหมักเกิดขึ้นได้ดีกว่า ลักษณะเนื้อสัมผัสจึงแน่นกว่าสูตรอื่น ๆ สำหรับความเปรี้ยวและกลิ่นรสพบว่าแฮมทุกสูตรที่ทำการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) และสำหรับสีของผลิตภัณฑ์ในการทดลองพบว่าสูตรที่มีการเติมกล้าเชื้อได้รับคะแนนความชอบน้อยกว่าในสูตรที่ไม่มีเติมกล้าเชื้อ ซึ่งสีของผลิตภัณฑ์แฮมเกิดจากสารไนโตรที่แตกตัวให้สารไนตริกออกไซด์ โดยมีแบคทีเรียแลคติกเป็นตัวช่วย สารนี้จะเข้าทำปฏิกิริยากับไมโอโกลบิน เกิดเป็นสารไนโตรโซไมโอโกลบิน ซึ่งเป็นสารที่ให้สีชมพู

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์เนนม

ตัวอย่าง	คะแนน±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน					
	ลักษณะปรากฏ	สี	กลิ่นรส <sup>ns</sup>	ความเปรี้ยว <sup>ns</sup>	เนื้อสัมผัส	การยอมรับโดยรวม
M	6.9±1.1 <sup>a</sup>	6.6±1.3 <sup>a</sup>	6.0±1.6	5.3±1.4	5.7±1.8 <sup>b</sup>	6.2±1.0 <sup>a</sup>
S	6.4±1.4 <sup>ab</sup>	6.8±1.3 <sup>a</sup>	5.3±1.8	5.3±1.8	4.5±1.8 <sup>c</sup>	5.4±1.5 <sup>b</sup>
MS	6.5±1.3 <sup>a</sup>	6.2±1.7 <sup>ab</sup>	5.6±2.1	6.1±2.0	6.6±1.4 <sup>a</sup>	6.4±1.8 <sup>a</sup>
SS	5.6±1.7 <sup>b</sup>	5.8±1.7 <sup>b</sup>	5.6±1.4	6.1±1.7	5.3±2.0 <sup>cb</sup>	5.9±1.7 <sup>ab</sup>

หมายเหตุ a,b,c,d หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรต่างกัน ในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

M หมายถึง เนมที่ใช้หนังหมูปคในการผลิต และหมักโดยไม่มีการเติมกล้าเชื้อ

S หมายถึง เนมที่ใช้หนังหมูเส้นในการผลิต และหมักโดยไม่มีการเติมกล้าเชื้อ

MS หมายถึง เนมที่ใช้หนังหมูปคในการผลิตที่มีการเติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536  $2 \times 10^6$  เซลล์/กรัม

SS หมายถึง เนมที่ใช้หนังหมูเส้นในการผลิตที่มีการเติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536  $2 \times 10^6$  เซลล์/กรัม

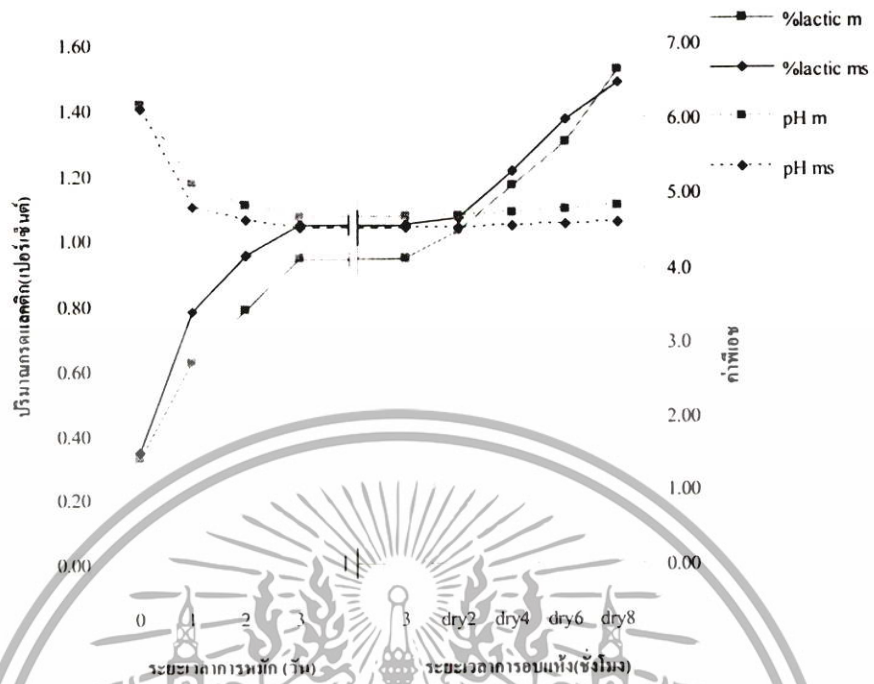
พบว่าเหนมที่ผลิตโดยใช้หนังหมูบดที่มีการเติมและไม่เติมกล้ำเชื้อได้รับคะแนนความชอบมากกว่าการใช้หนังหมูเส้น ที่เป็นเหนมแบบดั้งเดิม

#### 4.4 ผลของการใช้กล้ำเชื้อแลคติกบิริสุทธิเริ่มต้นและการทำแห้งที่มีผลต่อเชื้อซัลโมเนลลา

##### 4.4.1 ค่าพีเอชและเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก ของผลิตภัณฑ์เหนมกึ่งแห้ง

ผลการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์เหนมในข้อ 4.3 พบว่าผู้บริโภคให้คะแนนการยอมรับผลิตภัณฑ์เหนมที่ผลิตโดยใช้หนังหมูบดทั้งที่มีการเติมกล้ำเชื้อ และไม่มีการเติมกล้ำเชื้อมากกว่าผลิตภัณฑ์เหนมที่ผลิตโดยใช้หนังหมูหั่นเส้นที่ผลิตโดยมีการเติมกล้ำเชื้อ และไม่มีการเติมกล้ำเชื้อ จึงเลือกเหนมที่ผลิตโดยใช้หนังหมูบดทั้งสองสูตรมาผลิตเป็นเหนมกึ่งแห้ง โดยนำเหนมทั้งสองสูตรที่ผ่านการหมักครบ 3 วัน มาลองทำการอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 2 4 6 และ 8 ชั่วโมง ทั้งนี้เพื่อหาเวลาที่เหมาะสมที่จะลดความชื้นของผลิตภัณฑ์ให้น้อยลง เป็นการยืดอายุการเก็บผลิตภัณฑ์เหนมให้ยาวนานขึ้น และลดยังช่วยการปนเปื้อนเชื้อก่อโรคอย่างเชื้อซัลโมเนลลาที่อาจหลงเหลืออยู่ภายหลังการหมัก ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์รูปแบบใหม่แบบกึ่งแห้งที่มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคมากขึ้น

การทดลองที่ผลิตเหนมโดยใช้หนังหมูบดมีการเติมกล้ำเชื้อและไม่มีการเติมกล้ำเชื้อ พบว่าเหนมที่มีการเติมกล้ำเชื่อนั้นจะให้กรดในปริมาณที่สูงกว่า (1.05 เปอร์เซ็นต์) เหนมที่หมักโดยไม่มีการเติมกล้ำเชื้อ (0.94 เปอร์เซ็นต์) เมื่อหมักครบ 3 วัน (รูปที่ 4.6) ทั้งนี้เนื่องมาจากว่าการเติมกล้ำเชื้อในตอนเริ่มต้นการหมักนั้น ทำให้มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่มากกว่าการหมักแบบธรรมชาติ แบคทีเรียแลคติกเปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตไปเป็นกรดแลคติกจากกระบวนการหมัก ซึ่งแบคทีเรียแลคติกที่เจริญในปริมาณมากกว่านี้ ทำให้ผลิตภัณฑ์แลคติกในปริมาณมาก จึงส่งผลให้ค่าพีเอชลดต่ำลงมากกว่าการหมักที่ไม่มีการเติมกล้ำเชื้อ กล่าวคือ เหนมที่มีการหมักโดยเติมกล้ำเชื้อมีค่าพีเอชลดลงอย่างรวดเร็วกว่าเหนมที่หมักโดยไม่มีการเติมกล้ำเชื้อ (รูปที่ 4.6) โดยเหนมที่เติมกล้ำเชื้อมีค่าพีเอชลดลงจาก 6.13 เป็น 4.81 หลังจากนั้นค่าพีเอชยังคงลดต่ำลงแต่จะไม่ลดลงอย่างรวดเร็วเหมือนใน 24 ชั่วโมงแรก และมีค่าพีเอชหลังการหมักครบ 3 วัน คือ 4.54 เมื่อเปรียบเทียบกับเหนมที่ผลิตโดยไม่มีการเติมกล้ำเชื้อพบว่ามีค่าพีเอชตอนเริ่มต้นการหมัก 6.18 หลังการหมักผ่านไป 24 ชั่วโมงโดยค่าพีเอชลดลงเป็น 5.14 เมื่อการหมักสิ้นสุดมีค่าพีเอชสุดท้าย 4.68 ซึ่งสูงกว่าค่าพีเอชของเหนมที่หมักโดยมีการเติมกล้ำเชื้อ อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดและค่าพีเอชอย่างมากและรวดเร็วนี้เกิดขึ้นในช่วงแรกของการหมักเท่านั้น ส่วนในวันสุดท้ายของการหมักค่าพีเอชและปริมาณกรดจะไม่แตกต่างกัน ทั้งนี้เป็นผลมาจากแบคทีเรียแลคติกที่อยู่ในผลิตภัณฑ์สามารถเจริญเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติก และค่าพีเอชของผลิตภัณฑ์เหวมกแห้ง

- หมายเหตุ 0 หมายถึง ส่วนผสมเหวมที่ยังไม่ผ่านการหมัก
- 3 หมายถึง เหวมที่ผ่านการหมักเป็นระยะเวลา 3 วัน
- dry2 หมายถึง เหวมที่ผ่านการหมักเป็นระยะเวลา 3 วัน และผ่านการอบแห้ง 2 ชั่วโมง
- dry4 หมายถึง เหวมที่ผ่านการหมักเป็นระยะเวลา 3 วัน และผ่านการอบแห้ง 4 ชั่วโมง
- dry6 หมายถึง เหวมที่ผ่านการหมักเป็นระยะเวลา 3 วัน และผ่านการอบแห้ง 6 ชั่วโมง
- dry8 หมายถึง เหวมที่ผ่านการหมักเป็นระยะเวลา 3 วัน และผ่านการอบแห้ง 8 ชั่วโมง
- M หมายถึง เหวมที่ใช้หมักหมบุดในการผลิต และหมักโดยไม่มี การเติมกลูต้าซีอิ้ว
- MS หมายถึง เหวมที่ใช้หมักหมบุดในการผลิตที่มีการเติมกลูต้าซีอิ้ว

*P. pentosaceus* TISTR 536  $2 \times 10^6$  เซล/ กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เจริญได้ดีในช่วงแรก และเมื่อมาระยะหนึ่งสภาพการหมักเริ่มไม่เหมาะแก่การเจริญ กล่าวคือ กรดที่สร้างขึ้นในปริมาณมากทำให้ค่าพีเอชลดต่ำลง ส่งผลในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแลคติกเอง รวมถึงจุลินทรีย์อื่นที่อยู่ในการหมักด้วย เมื่อนำผลิตภัณฑ์ที่หมักได้ทีไปผ่านการอบแห้ง พบว่า ค่าพีเอชสูงขึ้นเล็กน้อยทั้งในสูตรที่มีการเติมกล้าเชื้อและไม่เติมกล้าเชื้อ เนื่องมาจากค่าพีเอชเป็นการวัดความสามารถในการแตกตัวให้โปรตอน ( $H^+$ ) เมื่อละลายน้ำ แต่ผลิตภัณฑ์เหนมเมื่อนำไปทำแห้งมีผลทำให้เนื้อสัมผัสของเหนมแข็งขึ้น การที่น้ำจะซึมเข้าเนื้อของเหนมจะไม่ดีเท่ากับคอนก่อนอบ ปริมาณกรดที่อยู่ในเนื้อจะออกมาในปริมาณที่น้อยลง จึงทำให้ค่าพีเอชที่วัดได้มีค่าสูงขึ้น ผลของปริมาณกรดที่เพิ่มสูงขึ้นหลังการอบแห้ง เนื่องจากตัวอย่างหลังผ่านการอบแห้งจะมีปริมาณเนื้อสารที่มากกว่าตัวอย่างที่ไม่ผ่านการอบแห้งที่เทียบน้ำหนักตัวอย่างที่เท่ากัน จึงทำให้ได้ตัวอย่างที่มีปริมาณกรดที่มากกว่าในน้ำหนักที่เท่ากัน เมื่อทำการไตเตรทจึงทำให้มีกรดที่ทำปฏิกิริยากับด่างในปริมาณที่มากขึ้น จึงมีผลทำให้เปอร์เซ็นต์กรดมีค่าสูงขึ้น ซึ่งการอบแห้งของตัวอย่างเหนมที่ใช้เวลาอบแห้งมากขึ้น จำทำให้มีการระเหยน้ำออกจากตัวอย่างมากขึ้น ยิ่งทำให้ผลของปริมาณกรดที่น้ำหนักเหนมที่นำมาตรวจสอบในน้ำหนักเดียวกันมีมากขึ้นตามไปด้วย แต่ค่าพีเอชนั้นไม่แตกต่างกัน

#### 4.4.2 ค่าวอร์เตอร์แอกติวิตี และ ค่าความชื้น ของผลิตภัณฑ์เหนมกึ่งแห้ง

ผลการวิเคราะห์ค่าวอร์เตอร์แอกติวิตี และ ค่าความชื้น ของผลิตภัณฑ์เหนมกึ่งแห้ง พบว่า เหนมที่มีการเติมกล้าเชื้อและไม่เติมกล้าเชื้อให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p>0.05$ ) ไม่ว่าจะอยู่ในช่วงการหมักก่อนอบแห้ง และหลังการอบแห้งครบ 8 ชั่วโมง เนื่องจากไส้บรรจุที่ใช้เป็นพลาสติกที่ขอมให้อากาศ และน้ำผ่านเข้าออกได้ เมื่อนำผลิตภัณฑ์ที่หมักได้ทีแล้วมาอบแห้ง โดยนำออกจากถุงสุญญากาศ เหนมที่ผลิตโดยมีการเติมกล้าเชื้อ และไม่มีการเติมกล้าเชื้อมีค่าวอร์เตอร์แอกติวิตี และ ค่าความชื้นที่ไม่แตกต่างกันที่ระยะเวลาอบแห้งเท่ากัน การอบแห้งนานขึ้นทำให้น้ำในผลิตภัณฑ์ลดน้อยลง (ตารางที่ 4.6) ค่าวอร์เตอร์แอกติวิตีของผลิตภัณฑ์ที่อบแห้งนาน 8 ชั่วโมง มีค่า 0.935 ซึ่งลดลงจากตอนเริ่มต้นประมาณ 0.03 และมีค่าความชื้น 50-51 เปอร์เซ็นต์ ลดต่ำลงจากตอนเริ่มต้นประมาณ 18-19 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งการใช้ไส้บรรจุแบบที่ขอมให้น้ำ และอากาศผ่านได้นี้ เหมาะกับผลิตภัณฑ์ที่จะนำมาอบแห้ง เพราะสามารถนำเข้าอบได้เลยโดยไม่ต้องแกะผลิตภัณฑ์ออกจากไส้บรรจุที่อาจก่อให้เกิดการปนเปื้อนในระหว่างการผลิต

ตารางที่ 4.6 แสดงผลการวิเคราะห์ค่าวอร์เตอร์แอกติวิตี และค่าความชื้น ของผลิตภัณฑ์หมกแห้ง

เวลาที่ใช้ในการผลิต	ค่าวอร์เตอร์แอกติวิตี		ค่าความชื้น (เปอร์เซ็นต์)	
	M <sup>ns</sup>	MS <sup>ns</sup>	M <sup>ns</sup>	MS <sup>ns</sup>
0	0.97	0.98	70.4	69.7
3	0.96	0.97	68.5	68.8
dry2	0.96	0.96	60.4	59.1
dry4	0.94	0.95	57.5	56.4
dry6	0.94	0.94	54.8	54.0
dry8	0.94	0.94	51.3	50.9

หมายเหตุ ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p>0.05$ )

0 หมายถึง หมกที่ยังไม่ผ่านการหมก

3 หมายถึง หมกที่ผ่านการหมกเป็นระยะเวลา 3 วัน

dry2 หมายถึง หมกที่ผ่านการหมกเป็นระยะเวลา 3 วัน และผ่านการอบแห้ง 2 ชั่วโมง

dry4 หมายถึง หมกที่ผ่านการหมกเป็นระยะเวลา 3 วัน และผ่านการอบแห้ง 4 ชั่วโมง

dry6 หมายถึง หมกที่ผ่านการหมกเป็นระยะเวลา 3 วัน และผ่านการอบแห้ง 6 ชั่วโมง

dry8 หมายถึง หมกที่ผ่านการหมกเป็นระยะเวลา 3 วัน และผ่านการอบแห้ง 8 ชั่วโมง

M หมายถึง หมกที่ใช้หนังหุบคในการผลิต และหมกโดยไม่มีการเติมกล้าเชื้อ

MS หมายถึง หมกที่ใช้หนังหุบคในการผลิตที่มีการเติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536  $2 \times 10^6$  เซลล์/กรัม

#### 4.4.3 ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติทางด้านจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์หมกกึ่งแห้ง

ผลการวิเคราะห์ทางด้านจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์หมกกึ่งแห้ง พบว่า แหนมที่ผลิตโดยใช้กล้าเชื้อในการหมัก สามารถลดจำนวนเชื้อซัลโมเนลลาได้ในวันที่ 3 ของการหมักที่ตรวจพบเชื้อเพียง 66.7 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.7) เทียบกับการหมักที่ไม่มีการเติมกล้าเชื้อที่ยังคงตรวจพบเชื้อ 100 เปอร์เซ็นต์ ในวันสุดท้ายของการหมัก เมื่อดูค่าพีเอชของแหนมที่มีการเติมกล้าเชื้อ (4.54) พบว่ามีค่าต่ำกว่าแหนมที่หมกโดยธรรมชาติ (4.68) เนื่องจากการเติมกล้าเชื้อลงในตอนเริ่มต้นการหมักจะทำให้มีปริมาณแบคทีเรียแลคติกเพิ่มมากขึ้น สารต่างๆที่เชื้อสร้างขึ้นมา เช่น กรดแลคติก ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ แบคทีเรียโอซิน ก็จะมีปริมาณมากขึ้นด้วย ซึ่งสารดังกล่าวนี้ล้วนมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อซัลโมเนลลา จึงทำให้แหนมที่มีการเติมกล้าเชื่อนั้นตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลาในจำนวนที่น้อยกว่า อีกทั้งในแหนมยังมีส่วนประกอบของเครื่องเทศ และสารปรุงแต่งต่างๆ เช่น กระเทียม เกลือ ไนไตรท์ สารประกอบฟอสเฟต ซึ่งพบว่าส่วนผสมบางชนิดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อซัลโมเนลลาได้ เช่น กระเทียม (อดิศร, 2542) ไนไตรท์ (Swetiwathana และคณะ, 1999) เมื่อนำผลิตภัณฑ์ไปอบแห้งที่ระยะเวลาต่างกัน คือ 2 4 6 และ 8 ชั่วโมง และนำมาตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลา ตรวจไม่พบเชื้อในผลิตภัณฑ์เลขที่ที่มีการเติมและไม่มีการเติมกล้าเชื้อ ทั้งนี้เนื่องจากการหมักที่เกิดขึ้นทำให้เกิดสารตั้งที่กล่าวมาแล้ว ซึ่งมีผลต่อการยับยั้งเชื้อซัลโมเนลลาได้ในระดับหนึ่ง เมื่อนำผลิตภัณฑ์ไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เชื้อซัลโมเนลลาจึงถูกทำลายได้หมดตั้งแต่ 2 ชั่วโมงแรก ดังนั้นการอบแห้งที่อุณหภูมิดังกล่าวจึงสามารถทำลายเชื้อได้

จากการตรวจหาเซโรovar ของซัลโมเนลลาที่ตรวจพบในส่วนของแหนมที่จะทำการอบแห้งนี้ (ตารางที่ 4.8) พบว่า *S. Anatum* ยังคงเป็นเซโรovar ที่ตรวจพบมากที่สุด (33.3 เปอร์เซ็นต์) รองลงมาคือ *S. Stanley* (29.2 เปอร์เซ็นต์) และ *S. Rissen* (25 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ ซึ่ง *S. Anatum* มีรายงานว่า เป็นเชื้อที่มักมีการปนเปื้อนอยู่ในแหนม และทนต่อกรดได้ดี (อรนุช, 2530 และ อดิศร, 2533)

ตารางที่ 4.7 ผลของการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก และการอบแห้ง ที่ใช้ในกระบวนการผลิต  
แฮมกึ่งแห้ง ต่อการลดลงของเชื้อซัลโมเนลลา

เวลาที่ใช้ ในการผลิต	จำนวนตัวอย่าง ที่ตรวจ	การตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลา			
		แฮมที่ไม่มี การเติมกล้าเชื้อ		แฮมที่มีการเติมกล้าเชื้อ	
		จำนวน	เปอร์เซ็นต์*	จำนวน	เปอร์เซ็นต์*
0	3	3	100	3	100
3	3	3	100	2	66.7
dry2	3	0	0	0	0
dry4	3	0	0	0	0
dry6	3	0	0	0	0
dry8	3	0	0	0	0

หมายเหตุ \* หมายถึง เปอร์เซ็นต์ของการตรวจสอบพบเชื้อซัลโมเนลลาในระหว่างการหมักแฮม

0 หมายถึง ส่วนผสมแฮมที่ยังไม่ผ่านการหมัก

3 หมายถึง แฮมที่ผ่านการหมักเป็นระยะเวลา 3 วัน

dry2 หมายถึง แฮมที่ผ่านการหมักเป็นระยะเวลา 3 วัน และผ่านการอบแห้ง 2 ชั่วโมง

dry4 หมายถึง แฮมที่ผ่านการหมักเป็นระยะเวลา 3 วัน และผ่านการอบแห้ง 4 ชั่วโมง

dry6 หมายถึง แฮมที่ผ่านการหมักเป็นระยะเวลา 3 วัน และผ่านการอบแห้ง 6 ชั่วโมง

dry8 หมายถึง แฮมที่ผ่านการหมักเป็นระยะเวลา 3 วัน และผ่านการอบแห้ง 8 ชั่วโมง

ตารางที่ 4.8 เชื้อซัลโมเนลลาเซโรวาร์ต่างๆที่ตรวจพบจากตัวอย่างแฮมในช่วงการหมัก 0-3 วัน  
ก่อนผ่านกระบวนการอบแห้ง

ซีโรวาร์	จำนวนตัวอย่าง	เปอร์เซ็นต์	ช่วงเวลาที่ตรวจพบ(วัน)
<i>S. Anatum</i>	8	33.3	0-3 วัน
<i>S. Stanley</i>	7	29.2	0-3 วัน
<i>S. Rissen</i>	6	25.0	0-3 วัน
<i>S. Weltevreden</i>	2	8.3	0-3 วัน
<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. 4,5,12:i:-	1	4.2	0-3 วัน
รวม	24	100	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.5 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์แฮมกึ่งแห้ง

ผลการทดสอบการอบแห้งแฮมกึ่งแห้งที่หมักครบ 3 วัน อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 4 6 และ 8 ชั่วโมง ซึ่งพบว่าแฮมหลังอบที่อุณหภูมิดังกล่าวเป็นเวลา 6 ชั่วโมงมีรูปลักษณะที่เหมาะสมที่สุด อีกทั้งยังปลอดภัยจากเชื้อก่อโรคอย่างซัลโมเนลลา และถึงแม้ว่าการอบแห้งที่ระยะเวลาอื่นจะปราศจากเชื้อดังกล่าวเช่นกัน แต่ที่ระยะเวลา 2 และ 4 ชั่วโมง ผลิตภัณฑ์ยังคงมีปริมาณน้ำมากไป และที่ 8 ชั่วโมง ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะที่แข็งเกินไป จึงได้ทำการนำแฮมที่ผ่านการอบแห้งดังกล่าวไปทำการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสโดยใช้ผู้ทดสอบ 70 คน ให้คะแนนความชอบ 5 ระดับ ในด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่นรส ความเปรี้ยว เนื้อสัมผัส และการยอมรับโดยรวม พบว่าผู้บริโภคให้คะแนนลักษณะปรากฏที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) โดยให้คะแนนในสูตรที่มีการเติมกล้าเชื้อมากกว่า (ตารางที่ 4.9) เนื่องมาจากว่าการใช้กล้าเชื้อในการหมักจะได้ผลิตภัณฑ์ที่มีเนื้อสัมผัสที่แน่นกว่าการไม่เติมกล้าเชื้อ เมื่อนำไปอบแห้งจึงทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ไม่มีการเติมกล้าเชื้อมีช่องว่างระหว่างชิ้นเนื้อมากกว่า สำหรับลักษณะอื่นๆ คือ สี กลิ่นรส ความเปรี้ยว เนื้อสัมผัส การยอมรับโดยรวม พบว่าแฮมที่ผลิตทั้งเติม และไม่เติมกล้าเชื้อไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

ซึ่งจากผลการทดลองทั้งหมดในการศึกษาครั้งนี้พอสรุปได้ว่า มีความเป็นไปได้ที่จะใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกสายพันธุ์ *P. pentosaceus* TISTR 536 นี้เป็นกล้าเชื้อในการผลิตแฮมเพื่อให้ได้แฮมที่มีความปลอดภัยต่อการบริโภคมากยิ่งขึ้น การอบแห้งหลังจากการหมักครบ 3 วันโดยใช้กล้าเชื้อ แล้วมาทำการอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง จะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์แฮมกึ่งแห้งแบบใหม่ที่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคมกกว่าแฮมที่ไม่ใช้กล้าเชื้อ อีกทั้งยังได้แฮมผลิตภัณฑ์ใหม่ที่ปลอดภัยจากเชื้อซัลโมเนลลาที่ปนเปื้อนและหลงเหลืออยู่หลังการหมักและวิธีการผลิตไม่ยุ่งยากนัก อีกทั้งยังเป็นการช่วยยืดอายุของผลิตภัณฑ์แฮมสดที่อาจเหลือมากตามท้องตลาดให้เป็นแฮมกึ่งแห้งรูปแบบใหม่ให้แก่ผู้ผลิตได้นำไปใช้ต่อไปในอนาคต

ตารางที่ 4.9 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์เนนมกึ่งแข็ง

ตัวอย่าง	คะแนน±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน					
	ลักษณะปรากฏ	สี <sup>ns</sup>	กลิ่นรส <sup>ns</sup>	ความเปรี้ยว <sup>ns</sup>	เนื้อสัมผัส <sup>ns</sup>	การยอมรับโดยรวม <sup>ns</sup>
M	3.2±0.8 <sup>b</sup>	3.5±0.6	3.4±0.9	3.4±1.0	3.3±1.0	3.5±0.7
MS	3.6±0.8 <sup>a</sup>	3.5±0.7	3.2±0.8	3.5±0.8	3.1±0.9	3.4±0.8

- หมายเหตุ a,b หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรต่างกันในแต่ละแถว มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )
- ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p > 0.05$ )
- M หมายถึง เนนมที่ใช้หมักหมบคในการผลิต และหมักโดยไม่มีการเติมกล้าเชื้อ
- MS หมายถึง เนนมที่ใช้หมักหมบคในการผลิตที่มีการเติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536  $2 \times 10^6$  เซลล์/กรัม

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลอง

1. จากการทดลองพบว่า แหนมที่มีการผลิตโดยใช้หนังหมูปด มีการเติมกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกในการหมัก เป็นสูตรที่มีปริมาณกรดแลคติกสูงสุด (1.14 เปอร์เซ็นต์) และค่าพีเอชต่ำสุด (4.56) เมื่อทำการตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาในผลิตภัณฑ์แหนม เปรียบเทียบกันระหว่างมีการเติมและไม่เติมกล้าเชื้อ พบว่า แหนมที่ไม่มีการเติมกล้าเชื่อนั้นสามารถตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลาได้มากกว่าที่มีการเติมกล้าเชื้อ (66.7 และ 33.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) โดยมี 4 เซโรวาร์ที่พบมากเป็น 4 อันดับแรก คือ *S. Panama* (24.7 เปอร์เซ็นต์) *S. Rissen* (21.7 เปอร์เซ็นต์) *S. Anatum* (21.7 เปอร์เซ็นต์) *S. Stanley* (18.6 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ เมื่อนำผลิตภัณฑ์แหนมไปทดสอบทางประสาทสัมผัส ผู้บริโภคให้คะแนนการยอมรับแหนมที่ผลิตโดยใช้หนังหมูปดมีการเติมกล้าเชื้อมากที่สุด และจากการศึกษาการลดลงของเชื้อซัลโมเนลลาจากแบบจำลองการหมักแหนม (Nham model broth, NMB) พบว่า NMB ที่มีการเติมกระเทียม และกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก มีผลในการยับยั้งและทำลายการเจริญ ของเชื้อ *S. Anatum* ได้มากที่สุด โดยใช้ระยะเวลาประมาณ 48 ชั่วโมง

2. แหนมที่ผลิตโดยใช้หนังหมูปด มีการเติมกล้าเชื้อและไม่มีการเติมกล้าเชื้อ เมื่อนำมาตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลา พบว่าสูตรที่ไม่มีการเติมกล้าเชื่อนั้น ตรวจพบเชื้อมากกว่าสูตรที่มีการเติมกล้าเชื้อ (100 เปอร์เซ็นต์ และ 66.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) เซโรวาร์ที่พบมากที่สุดคือ *S. Anatum* (33.3 เปอร์เซ็นต์) รองลงมาคือ *S. Stanley* (29.2 เปอร์เซ็นต์) และ *S. Rissen* (25 เปอร์เซ็นต์) เมื่อนำแหนมที่หมักครบ 3 วัน ไปอบแห้ง แล้วนำมาตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลา พบว่า ไม่มีการเจริญของเชื้อ ดังนั้นการทำแห้งด้วยการอบจึงเป็นวิธีที่ทำให้แหนมมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคในด้านจุลินทรีย์และยังได้ผลิตภัณฑ์ใหม่ที่พัฒนามาจากอาหารหมักพื้นบ้านด้วย

3. จากการศึกษาความเป็นไปได้ของการใช้กล้าเชื้อแลคติกบริสุทธิ์เริ่มต้น และการทำแห้งของผลิตภัณฑ์แหนมโดยการทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่า ผู้บริโภคให้คะแนนความชอบในเรื่องของลักษณะปรากฏของแหนมที่เติมกล้าเชื้อมากกว่าแหนมที่ไม่มีการเติมกล้าเชื้อ ( $p < 0.05$ ) แต่ในลักษณะอื่น ๆ คือ สี กลิ่นรส ความเปรี้ยว เนื้อสัมผัส และการยอมรับโดยรวม พบว่า ไม่มีความแตกต่างกัน ( $p > 0.05$ )

4. ข้อมูลการศึกษาดังกล่าว และขั้นตอนการผลิตแหนมกึ่งแห้งนี้ อาจเป็นแนวทางหนึ่งให้โรงงานผลิตแหนมสามารถนำไปใช้ดัดแปลงผลิตภัณฑ์ให้เป็นแหนมกึ่งแห้งแบบใหม่ซึ่งเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค และเป็นการช่วยยืดอายุการเก็บผลิตภัณฑ์แหนมที่ผลิตมาจนสิ้นตลาดให้ยาวนานขึ้น และมีความปลอดภัยต่อการบริโภคจากเชื้อซัลโมเนลลามากกว่าแหนมที่สดแบบดั้งเดิม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บรรณานุกรม

- กัลยา ภราไคย. 2548. กระเทียม. อนุกรมวิธานพืช ฉบับราชบัณฑิตยสถาน. อักษร ก : 100-101.
- นภา โล่ห์ทอง. 2529. ปฏิบัติการวิชาจุลชีววิทยาทางอาหาร ภาควิชาจุลชีววิทยาและวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- บุษกร อุตริชาติ. 2545. จุลชีววิทยาทางอาหาร. การผลิตเอกสารและตำรา มหาวิทยาลัยทักษิณ. สงขลา. 425 หน้า.
- มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน. 2546. แหนม มผช. 145/2546. 7 หน้า.
- เรณู ทวิชชาติวิทยากุล. 2539. ผลของเชื้อเริ่มต้นผสมในการหมักแหนมต่อการลดปริมาณ *Salmonella typhimurium* และ *Salmonella anatum*. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ลัดดาวัลย์ รัศมีหัต. 2536. จุลชีววิทยาทางอาหาร. มหาวิทยาลัยบูรพา. ชลบุรี.
- ศิพัตน์ รักย์เผ่า. 2539. ผลของเชื้อเริ่มต้นผสมในการหมักแหนมต่อการลดปริมาณ *Staphylococcus aureus*. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2518. การศึกษาจุลินทรีย์ที่เป็นตัวการในระหว่างการทำแหนม. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2545. จุลชีววิทยา. โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์. กรุงเทพฯ. 470 หน้า.
- สาโรจน์ ศิริคันสันยกุล. 2547. เทคโนโลยีชีวภาพอาหาร การหมักและสิ่งแวดล้อม. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 326 หน้า.
- โสภา สีซอถัก. 2541. ผลของเชื้อแบคทีเรียแลคติกผสมเริ่มต้น โขเคียมคลอไรด์ โขเคียมไนเตรด และ โขเคียมไนไตรต์ต่อการลดลงของ *Salmonella Typhimurium* และ *Salmonella Anatum*. วิทยานิพนธ์ ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- อดิศร เสวตวิวัฒน์. 2533. ผลของการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกต่อซาลโมเนลลาในการหมักแหนม. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- อดิศร เสวตวิวัฒน์. 2542. ผลของน้ำสกัดกระเทียมต่อการเจริญของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกสำหรับผลิตภัณฑ์เนื้อและเชื้อโรคอาหารเป็นพิษที่พบมากในแหนม(ในหลอดทดลอง). อาหาร. 29(2) : 107-115

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- อดิศร เสวตวิวัฒน์ ปรีชา จึงสมานกุล และ อรุณ บ้างตระกูลนนท์. 2538. ซาลโมเนลลาในอาหารพร้อมบริโภค. วารสารเทคนิคการแพทย์. 23(2): 153-160.
- อดิศร เสวตวิวัฒน์ วราวุฒิ ครุสง์ ศรีรัตน์ พรเรืองวงศ์ และ อรุณ บ้างตระกูลนนท์. 2548. เปรียบเทียบอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อในขั้นตอน selective enrichment และ isolation ในการตรวจหาเชื้อซาลโมเนลลาในเนื้อหมูสดจำหน่ายปลีก. (อยู่ในระหว่างการตีพิมพ์ในวารสารเกษตรพระจอมเกล้าปี 2548)
- อดิศร เสวตวิวัฒน์ และ อรุณ บ้างตระกูลนนท์. 2539. ประสิทธิภาพของ Salmosyst กับอาหารเลี้ยงเชื้อ Rambach agar ต่อการตรวจหาซาลโมเนลลาในแฮม. การประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 34 ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 272-279.
- อรนุช อุตรภักดี. 2530. การคัดเลือกแบคทีเรียแลคติกซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อซัลโมเนลลา และการผลิตกล้าเชื้อผงเพื่อใช้ในการหมักแฮม. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- Abbar, F.M., and M.M. Tahir. 1989. Beef casings and finished beef sausages a source of *Salmonella* in Iraq. J. Food Protection. 52(4) : 254-255
- Ankri, S., and D. Mirelman. 1999. Antimicrobial properties of allicin from garlic. Microbes and Infection. 1(2): 112-129.
- Association of Official Analytical Chemist. 1984. Official methods of Analysis 14 th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia, USA. I, 140p.
- Bangtrakulnonth, A., P. Tongra-ard, and M. Kusum. 1993. Contamination of *Salmonella* in exported frozen chicken. Food. (Thai) 23: 255-263.
- Banwart, G.J. 1983. Basic food microbiology. AVI Publishing Com., Inc. Westport, Connecticut.
- Banwart, G.J. 1989. Basic food microbiology. 2<sup>nd</sup> ed. Chapman & Hall. USA.
- Doyle, M. P., L. R. Beuchat, and T. J. Montville. 1997. Food microbiology : Fundamentals and frontiers. Washington D. C. : American Society for Microbiology.
- Escartin, EF., JS. Lozano, O. Rodriguez, NM. Gonzales, and JA. Torres. 1995. Incidence and level of *Salmonella* serovars in raw pork obtained from Mexican butcher shops. Food Microbiology. 12: 435- 439.
- Hugas, M., M. Garriga, M.T. Aymerich, and J.M. Monfort. 1995. Inhibition of *Listeria* in dry fermented sausages by the bacteriocinogenic *Lactobacillus sake* CTC494. J. Appl. Bacteriology. 79(3): 322-330.

เอกสารนี้เป็นสาธารณสมบัติของสังคมไทยที่เผยแพร่โดยมูลนิธิส่งเสริมศิลปวัฒนธรรมแห่งราชอาณาจักรไทย ซึ่งได้รับการสนับสนุนจากมูลนิธิส่งเสริมศิลปวัฒนธรรมแห่งราชอาณาจักรไทย โดยขอสงวนสิทธิ์ในเนื้อหาและข้อมูลเท่านั้น ไม่สามารถนำเนื้อหาไปใช้

- Mataragas, M., E.H. Drosinos, and J. Metaxopoulos. 2003. Antagonistic activity of lactic acid bacteria against *Listeria monocytogenes* in sliced cooked cured pork shoulder stored under vacuum of modified atmosphere at  $4 \pm 2$  °C. *Food Microbiology*. 20(2): 259-265.
- 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*. 32(6): 1051-1055.
- Noonpakdee, W., C. Santivarangkna, P. Jumriangrit, K. Sonomoto, and S. Panyim. 2003. Isolation of nisin-producing *Lactobacillus lactis* WNC 20 strain from nham, a traditional thai fermented sausage. *Int. J. Food Microbiology*. 81(2): 137-145.
- Ossmer, R. 1992. Salmosyst and RAMBACH Agar. A rapid alternative for the detection of Salmonella. Congress-Poster-Salmonella and Salmonellosis-Ploufragan/Saint-Brieux-France.
- Petchsing, U. and M.J. Woodburn. 1990. *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in nham (Thai- style fermented pork sausage). *Int. J. Food Microbiology*. 10(3-4): 183-192.
- Phan-Urai, R. 1978. Occurrence of Salmonella in common food stuffs in Bangkok. *Gastrointestinal Infect. SEA* 3: 59-63.
- Sallam, Kh. I., M. Ishioroshi, and K. Samejima. 2004. Antioxidant and antimicrobial effects of garlic in chichen sausage. *Lebensmittel – Wissenschaft und – Technologie*. 37(8) : 849-855.
- Savic, S., O. Buncic, B. Uzelac, and J. Tripkovic. 2001. Microflora of “Sremska salami” produced with and without starter culture. *Tehnologija-Mesa*. 42(1-2): 71-74.
- Scharner, E. 1990. The suppression of *Salmonella* by starter cultures in dry sausage. *Fleischwirtschaft*. 70 (10): 1183-1186.
- Schmidt, U. 1989. *Salmonella* in fine bratwurst. *Fleischwirtschaft*. 69(8): 1251-1257.
- Swetwivathana, A., U. Leutz and A. Fischer. 1998. Role of garlic on growth and lactic acid production of starter cultures. *Fleischwirtschaft*. 78: 294-298.
- Swetwivathana, A., and N. Lotong. 1999. Selection of bacteriocin-producing lactic acid bacteria from nham (Thai fermented meat). *Proceeding of International Conference on ASEAN NETWORK on Microbial Reserch*, November 29-December 1, 1999, Chiangmai, Thailand. P-III/16: 543-548.
- Swetwivathana, A., U. Leutz, N. Lotong, and A. Fischer. 1999. Controlling the growth of *Salmonella anatum* in nham. Effect of meat starter culture, nitrate, nitrite and garlic. *Fleischwirtschaft*. 79(9): 1241-1248.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Swetwathana, A., T. Zendo, N. Lotong, J. Nakayama, and K. Sonomoto. 2003. Screening of bacteriocin-producing bacteria associated in nham (Traditional Thai fermented meat). 49<sup>th</sup> International Congress of Meat Science and Technology 2<sup>nd</sup> Brazilian Congress of Meat Science and Technology.
- Swetwathana, 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 on the growth of *Salmonella* Anatum in stimulated nham fermentation. Proceedings of the 1<sup>st</sup> KMITL International Conference on Integration of Science & Technology for Sustainable Development. August 25-26 2004. Bangkok, Thailand.
- Tantillo, M. G., A. Pinto., L. Novello, and A. di-Pinto. 2002. Bacteriocin-producing *Lactobacillus sake* as starter culture in dry sausages. *Microbiologica*. 25(1): 45-49.
- Vuyst, L.DE., and E.J. Vandamme. 1994. Antimicrobial Potential of Lactic Acid Bacteria . In: Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria Microbiology, Genetics and Applications. Vuyst, L.DE., and E.J. Vandamme ed. 1<sup>st</sup> ed. Blackie Academic and Professional New York. N.Y. pp: 91-142.
- Weber, A. 1988. Über die brauchbarkeit von salmosyst zur anreicherung von salmonellen aus kotproben von tieren. *Berl. Munch. Tierarztl. Wschr.* 101: 57-59.
- Willis, E. D. 1956. Enzyme inhibition by alliin, the active principle of garlic. *Biochemical Journal*. 63 : 514-519.
- Wiriyajaree, P., L.D. Brooks, M.D. Earle, and G. Page. 1990. The improvement of a traditional thai fermented pork sausage by use of mixed starter cultures. In *Fermentation Technologies: Industrial Applications Conference*, Massey University, Palmerston North, New Zealand.
- Wood, B. J. B. 1992. *The lactic acid bacteria*. Elsevier applied science. London.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ก

### สูตรและวิธีเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

#### ก1. Salmosyst Broth Base

peptone from casein	5.0 กรัม
peptone from meat	5.0 กรัม
sodium chloride	5.0 กรัม
calcium carbonate	10.0 กรัม
น้ำกลั่น	1 ลิตร

ละลายสารประกอบโดยรวม 25 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร นำมาเชื้อ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

#### ก2. Salmosyst Selective Supplement

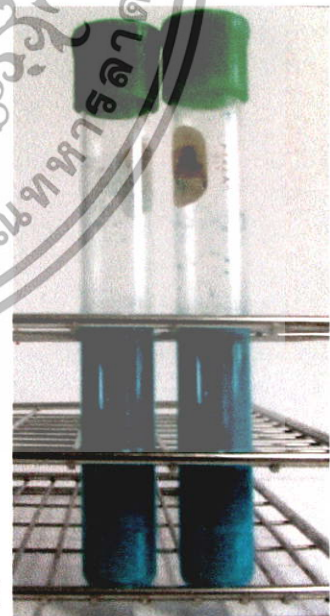
Potassium tetrathionate	0.2 กรัม
OX bile	0.08 กรัม
Brilliant green	

#### Preliminary Enrichment

นำตัวอย่าง 25 กรัม ใส่ในอาหาร Salmosyst Broth Base  
ที่เตรียมไว้ 225 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่ 35-37 องศาเซลเซียส  
เป็นระยะเวลา 6-8 ชั่วโมง

#### Selective Enrichment

ดูดสารละลาย Preliminary Enrichment  
มา 10 มิลลิลิตร เติม Salmosyst Selective Supplement tablet 1 เม็ด  
เขย่า 30 นาที นำไปบ่มที่ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา  
18-24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปตรวจในขั้นตอน selective plating ต่อไป



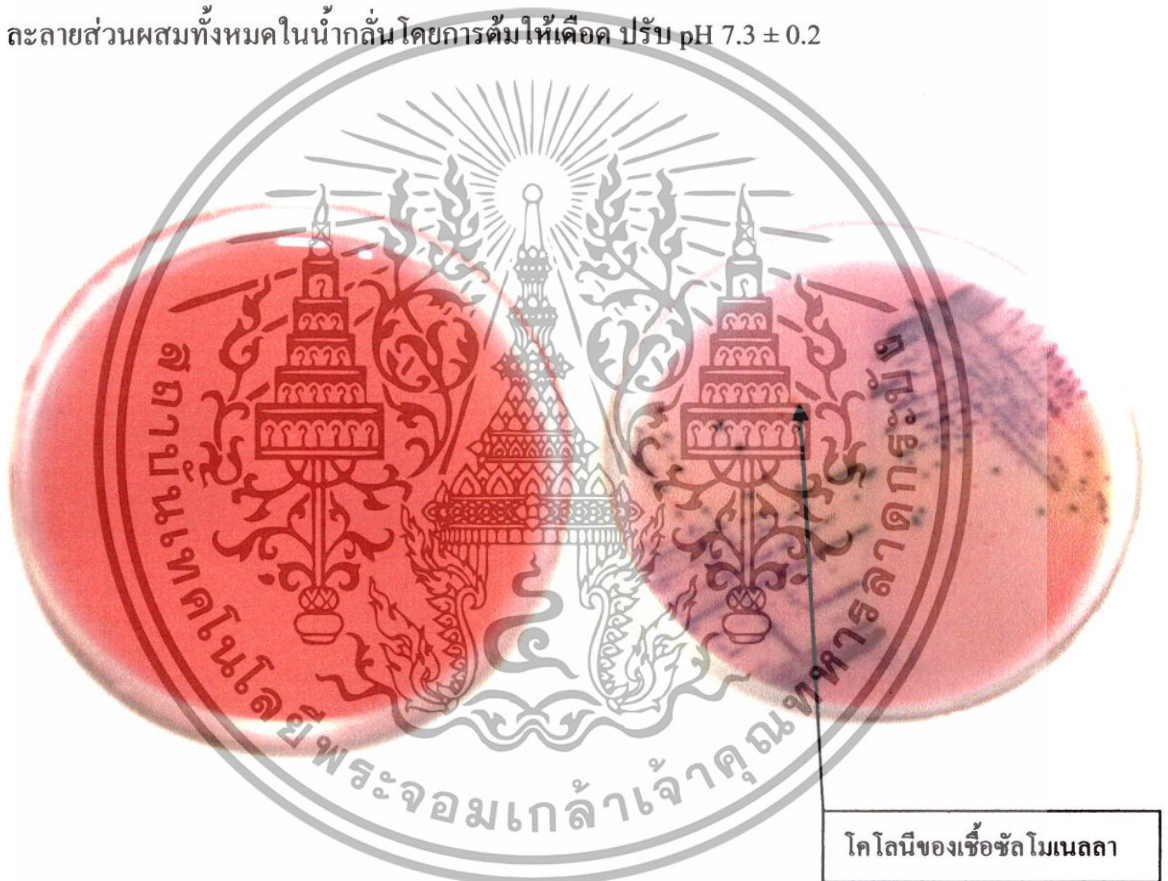
รูปที่ ก1 Salmosyst Broth  
Base ที่มีการเติม Salmosyst  
Selective Supplement tablet

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### ก3. Rambach Agar

peptone	8.0 กรัม
sodium chloride	5.0 กรัม
sodium deoxycholate	1.0 กรัม
chromogenic mix	1.5 กรัม
propylene glycol	10.5 กรัม
agar-agar	15.0 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น โดยการต้มให้เดือด ปรับ pH  $7.3 \pm 0.2$



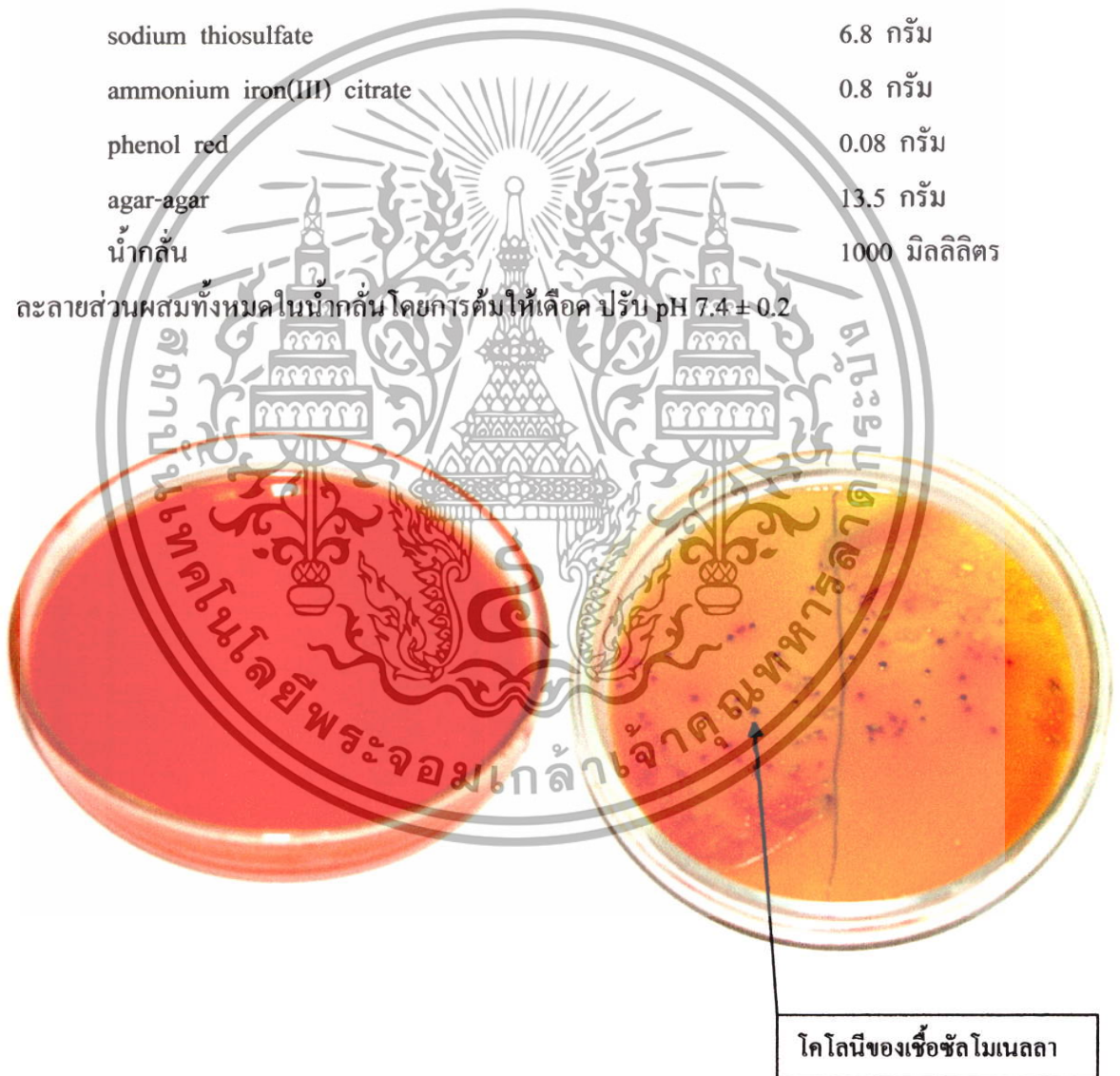
รูปที่ ก2 อาหารเลี้ยงเชื้อ Rambach agar ก่อน และหลังมีการเจริญของเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### ก4. Xylose-Lysin-Desoxycholate (XLD) agar

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

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น โดยการต้มให้เดือด ปรับ pH  $7.4 \pm 0.2$



รูปที่ ก3 อาหารเลี้ยงเชื้อ XLD agar ก่อน และหลังมีการเจริญของเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ก5. Triple Sugar Iron (TSI) agar slant**

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

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น โดยการต้มให้เดือด นิ่งฆ่าเชื้อ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

**ก6. Lysine-Indole-Motility (LIM) medium**

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

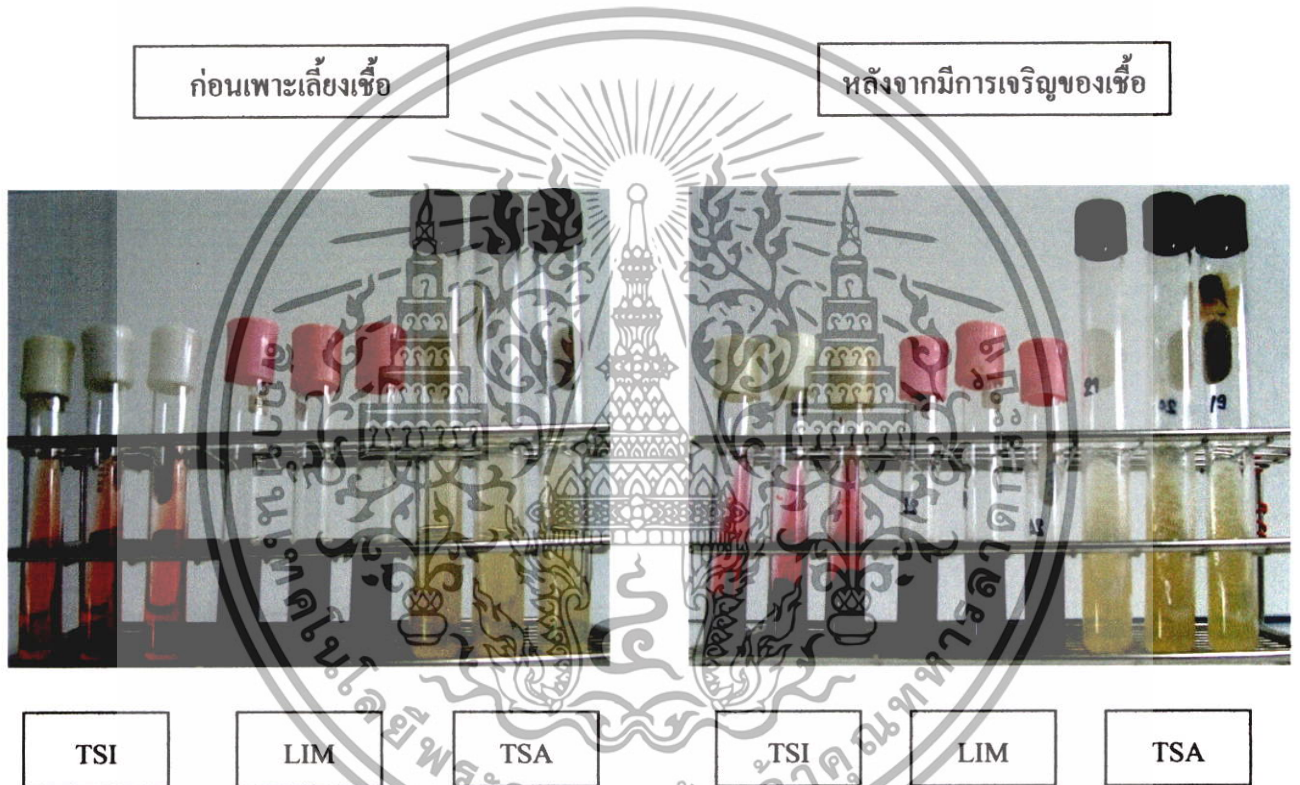
ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น โดยการต้มให้เดือด นิ่งฆ่าเชื้อ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### ก7. Trypticase soy agar (TSA)

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

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นโดยการต้มให้เดือด นิ่งงาเชื้อ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที



รูปที่ ก4 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้วิเคราะห์คุณสมบัติทางชีวเคมี ก่อนและหลังมีการเจริญของเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ก8. Trypticase Soy Broth (TSB)**

peptone from casein	17.0 ก.
peptone from soymeal	3.0 ก.
D(+)-glucose	2.5 ก.
sodium chloride	5.0 ก.
di-potassium hydrogen phosphate	2.5 ก.
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น โดยการต้มให้เดือด นิ่งฆ่าเชื้อ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

**ก9. MRS Agar**

proteose peptone	10.0 กรัม
beef extract	10.0 กรัม
yeast extract	5.0 กรัม
dextrose	20.0 กรัม
sorbitan monooleate complex	1.0 กรัม
ammonium citrate	2.0 กรัม
sodium acetate	5.0 กรัม
magnesium sulfate	0.1 กรัม
manganese sulfate	0.05 กรัม
disodium phosphate	2.0 กรัม
agar	15 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น โดยการต้มให้เดือด นิ่งฆ่าเชื้อ 118 องศาเซลเซียส 15 นาที

**ก10. MRS Broth**

proteose peptone	10.0 กรัม
beef extract	10.0 กรัม
yeast extract	5.0 กรัม
dextrose	20.0 กรัม
sorbitan monooleate complex	1.0 กรัม

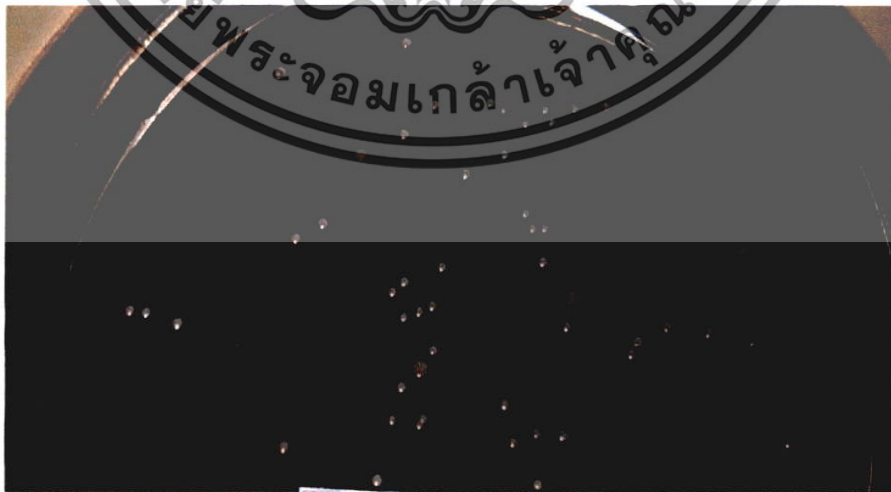
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ammonium citrate	2.0 กรัม
sodium acetate	5.0 กรัม
magnesium sulfate	0.1 กรัม
manganese sulfate	0.05 กรัม
disodium phosphate	2.0 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น โดยการต้มให้เดือด นิ่งมาเชื้อ 118 องศาเซลเซียส 15 นาที



รูปที่ ก5 ลักษณะ โคลินีของแบคทีเรียแลคติกที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS Agar



รูปที่ ก6 ลักษณะ โคลินีของเชื้อซัลโมเนลลาที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### ก11. สูตรอาหารในการเตรียมแบบจำลองการหมักเหวม (Nham model broth, NMB)

meat extract	10 g
tryptone	10 g
sodium ascobate	0.5 g
sodium tri-polyphosphate	3 g
glucose	10 g
NaCl	25 g
sodium nitrite	0.100 g
น้ำกลั่น	1,000 ml

หมายเหตุ

ใช้ glycerol 4 % เป็นตัวปรับค่า  $A_w$  ให้มีค่าเท่ากับ 0.97  
ปรับค่า pH ด้วย HCl ให้มีค่า 6.0  
ที่มา : Swetwivathana และคณะ (1998)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวก ข

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ค

ตารางที่ ค ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติก และค่าพีเอชของ Nham model broth ที่ศึกษาการเจริญของเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536

ระยะเวลาการบ่ม (ชั่วโมง)	ปริมาณกรดแลคติก(เปอร์เซ็นต์)		ค่าพีเอช	
	P	P+G	P	P+G
0	0.3	0.3	5.8	5.8
6	0.3	0.3	5.6	5.3
12	0.3	0.4	5.1	4.5
18	0.4	0.5	4.7	4.3
24	0.4	0.5	4.5	4.2
30	0.4	0.6	4.5	4.2
36	0.4	0.6	4.4	4.2
42	0.5	0.6	4.4	4.2
48	0.5	0.6	4.3	4.0

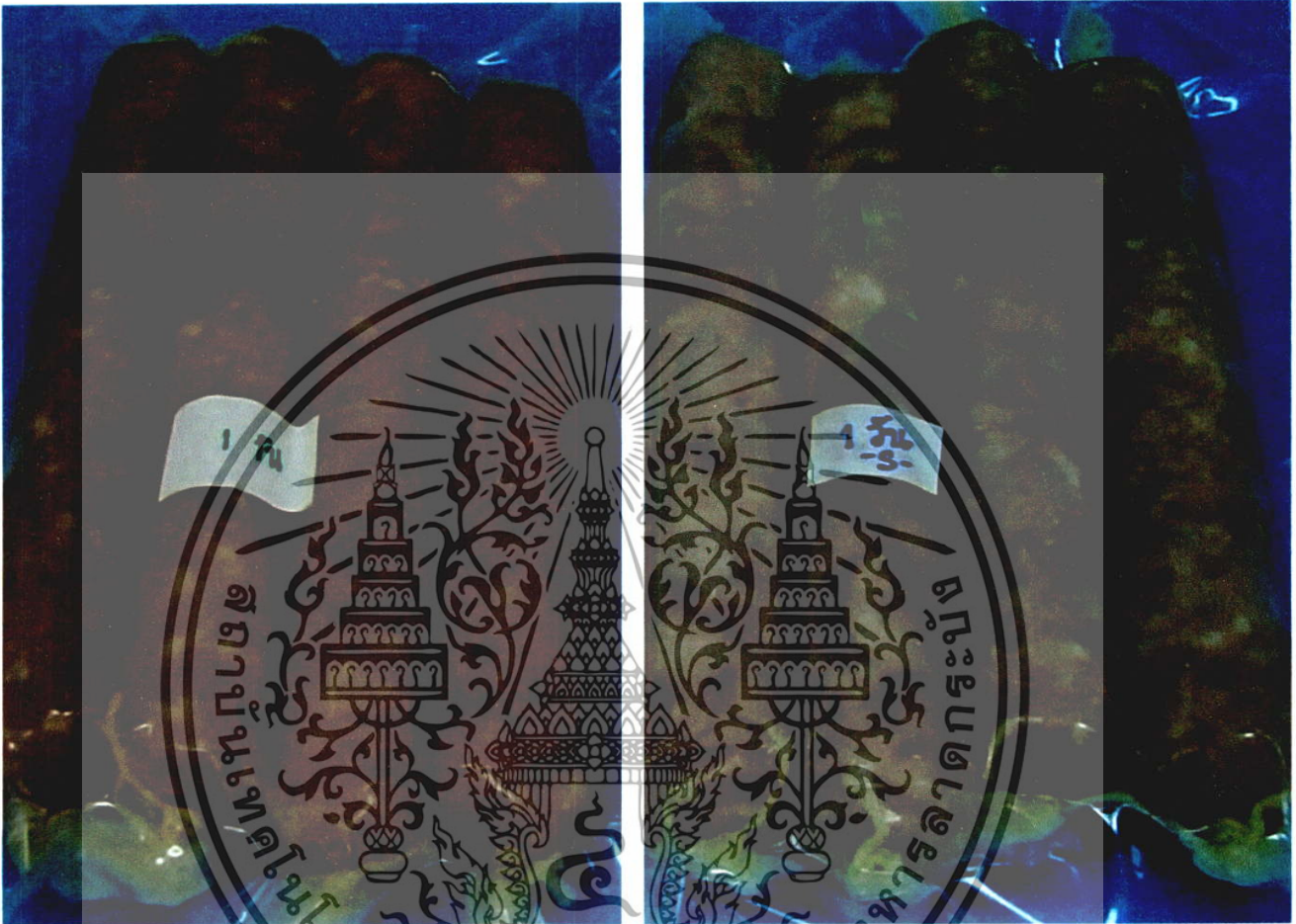
หมายเหตุ P หมายถึง Nham model broth ที่มีเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536  $1.8 \times 10^6$  cfu/ml

P+G หมายถึง Nham model broth ที่มีเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536  $1.8 \times 10^6$  cfu/ml + กระเทียม 5 เปอร์เซ็นต์



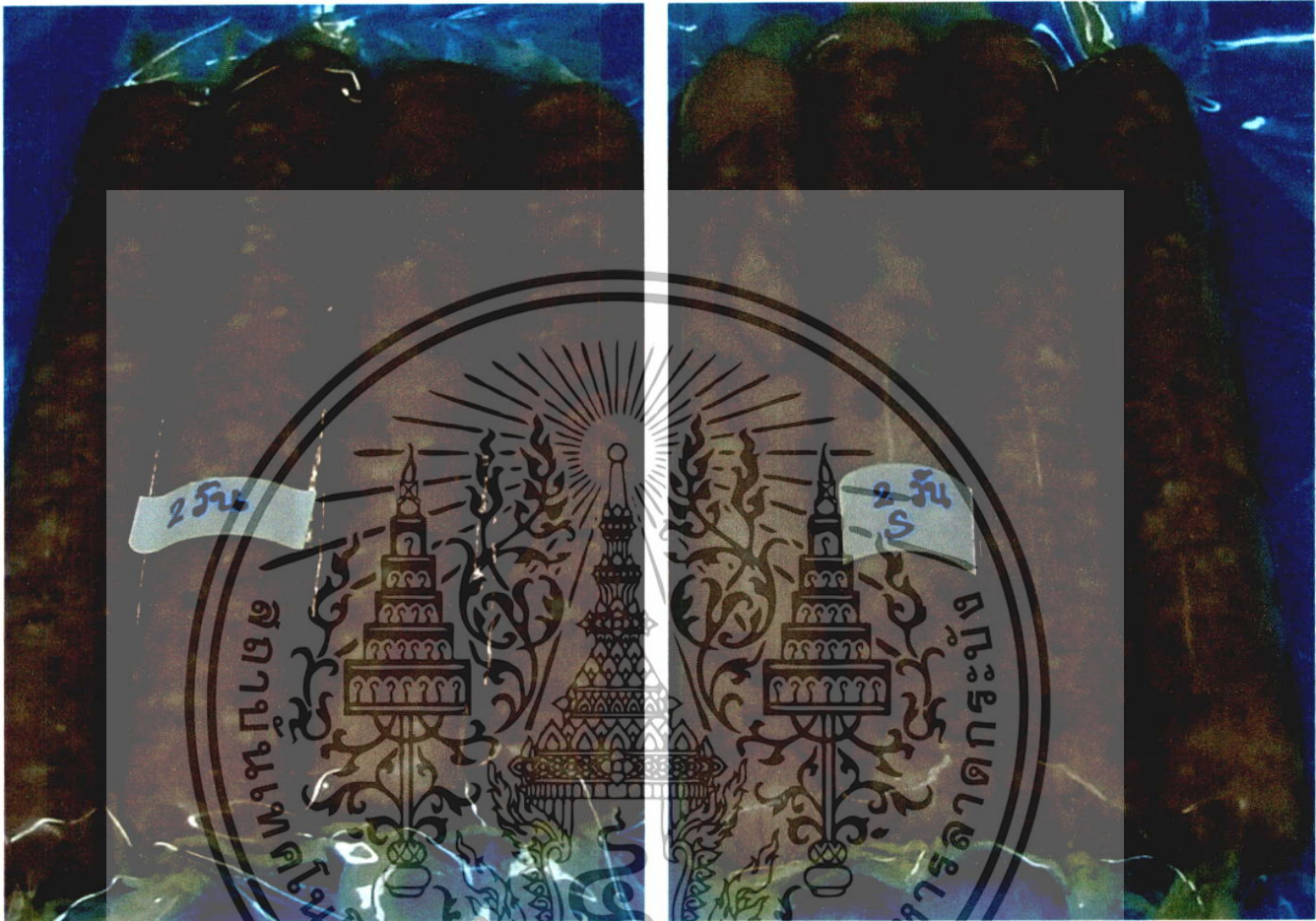
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ง



รูปที่ ง1 ผลึกก้อนที่เหวมที่หมักโดยธรรมชาติ และมีการเติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536  $2 \times 10^6$  cfu/g ที่ระยะเวลา 1 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ๖2 ผลึกภัณฑ์หมักที่หมักโดยธรรมชาติ และมีการเติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536  
 $2 \times 10^6$  cfu/g ที่ระยะเวลา 2 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ง3 ผลิตภัณฑ์ขนมปังที่หมักโดยธรรมชาติ และมีการเติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536  
 $2 \times 10^6$  cfu/g ที่ระยะเวลา 3 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 34 ขนมที่ผ่านการอบแห้งที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

รูปที่ 35 ขนมที่ผ่านการอบแห้งที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



**รูปที่ ๖ แทมที่ผ่านการอบแห้งที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง**

**รูปที่ ๗ แทมที่ผ่านการอบแห้งที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ประวัติผู้เขียน

- ชื่อผู้เขียน** นางสาวพรพิมล เทียนทอง
- วันเดือนปีเกิด** 15 มีนาคม 2521
- การศึกษา** สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี (วท.บ.) สาขาเทคโนโลยีการอาหาร จากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีการศึกษา 2542  
ศึกษาต่อในระดับวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ณ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในสาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร ในปีการศึกษา 2545



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้