



ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ผลของการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกการเตรียมเนื้อและลักษณะการบรรจุ
ต่อการยับยั้งฟีคัล โคลิฟอร์มในแหนม
(Effect of lactic cultures , Size of cooked pork skin and Packaging
on faecal coliforms in Nham)

โดย

นางสาวสุพินชา ทิม่อม รหัส 40044485

นางสาวอังศุธร โยธา รหัส 40044488

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

(C) 16/12/14
.....
(อ.อภิศร เสวยวงษ์)

อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

.....
()

หัวหน้าภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ผลของการใช้ล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก การเตรียมเนื้อและลักษณะการบรรจุ
ต่อการยับยั้งฟีคัล โคลิฟอร์มในเหนม

(Effect of lactic cultures , Size of cooked pork skin and Packaging on faecal coliforms in Nham)



นางสาว สุพินชา ทิพม่อม รหัส 40044485

นางสาว อังศุธร โยธา รหัส 40044488

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปพ. พ.ศ. 2544

๙๖๘๖๔

เลขหมู่..... 2544

เลขทะเบียน 96864

เอกสารนี้จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการเรียนการสอน ไม่อนุญาตให้

วันเดือนปี.....



T096864

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สุพินยา ทิพม่อม และ อังศุธร โยธา . 2544 : ผลของการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก การเตรียมเนื้อและลักษณะการบรรจุต่อการยับยั้งฟีคัล โคลิฟอร์มในแหนม (Effect of lactic cultures , Size of cooked pork skin and Packaging on faecal coliforms in Nham). โครงการคณะ อุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. อาจารย์ที่ปรึกษา : อาจารย์อศิศร เสวตวิวัฒน์ : กรรมการอาจารย์ที่ปรึกษา : ผศ.เขาวลัทธิณ์ สุรพันธ์พิสุทธิ์, อาจารย์นิศยา พิระภัทรรุ่งสุริยา : 56 หน้า

บทคัดย่อ

จากการศึกษาเปรียบเทียบการเติมและไม่เติมกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก TISTR536 การเตรียม หนั้หมู (บดและหั่น) และลักษณะการบรรจุ (อัดแท่งใหญ่และตุ้มจี้ว) ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลง ค่า pH และการยับยั้ง โคลิฟอร์ม พบว่าการเติมกล้าเชื้อแลคติกในผลิตภัณฑ์แหนมจะมีผลต่อการลด ลงของค่า pH ได้ดีกว่าในผลิตภัณฑ์แหนมที่ใช้เชื้อตามธรรมชาติที่ระยะเวลาการหมัก 0,1,2 และ3 วัน การเติมกล้าเชื้อจะช่วยทำให้ค่า pH ลดลงได้เร็วทำให้แหนมมีรสเปรี้ยวขึ้นซึ่งทำการเปรียบเทียบ จากแหนมหนั้หมูหั่นกับแหนมหนั้หมูบดและในแหนมบรรจุแบบตุ้มจี้วและบรรจุแบบแท่งใหญ่ จะได้ว่าในแหนมหนั้หมูหั่นและการบรรจุแบบแท่งใหญ่กล้าเชื้อแลคติกสามารถเจริญและผลิต กรดได้ดีกว่าแหนมหนั้หมูบดและการบรรจุแบบตุ้มจี้วอาจเนื่องจากว่าในแหนมหนั้หมูหั่นและ การบรรจุแบบแท่งใหญ่มีสภาวะ microaerophilic ที่เหมาะต่อการเจริญของเชื้อ ถึงแม้ว่าเชื้อ แบคทีเรียแลคติกสายพันธุ์ดังกล่าวมีรายงานว่าสามารถสร้างแบคทีเรียโอซินที่มีผลต่อการยับยั้ง หรือทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นพิษ ได้แต่จากผลการศึกษาพบว่าแหนมที่เติมกล้าเชื้อแลคติกสามารถ ลดจำนวนของฟีคัล โคลิฟอร์มลงได้ในระดับหนึ่งเท่านั้น ไม่สามารถลดจำนวนฟีคัล โคลิฟอร์ม ให้ หมดไปได้ภายในระยะเวลา 3 วันของการหมักทั้งนี้เนื่องจากการปนเปื้อนของฟีคัล โคลิฟอร์มเริ่ม ต้นในปริมาณสูง ดังนั้นการใช้กล้าเชื้อแลคติกเพื่อยับยั้งฟีคัล โคลิฟอร์มจะต้องมีการควบคุมปริมาณ เชื้อเริ่มต้น ให้มีปริมาณน้อย โดยการควบคุมด้านสุขลักษณะ การจัดการฟาร์ม การผ่าซาก วัตถุดิบ กระบวนการผลิตตลอดจนผู้ผลิต

ดังนั้นการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกเริ่มต้นในการผลิตแหนมจึงเป็นแนวทางในกระบวนการ ผลิตแหนมเพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ให้มีคุณภาพเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคและเป็นแนวทางในการ ศึกษาการลดลงของฟีคัล โคลิฟอร์มที่ปนเปื้อนมาในผลิตภัณฑ์เพื่อจะได้นำไปปรับใช้ในการควบคุม กระบวนการผลิตแหนมต่อไป

.....
ลายเซ็นต้นนักศึกษา

.....
ลายเซ็นต่ออาจารย์ที่ปรึกษา

.....
ลายเซ็นต่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ปัญหาพิเศษสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ผู้จัดทำขอขอบพระคุณ อาจารย์ช่อศิร เสวตวิวัฒน์ ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ ได้กรุณาสละเวลาอันมีค่าคอยแนะนำให้คำปรึกษาและดูแลเอาใจใส่ รวมทั้งแก้ไขรายงานฉบับนี้ให้ถูกต้องสมบูรณ์ยิ่งขึ้นด้วย ขอขอบพระคุณ ผ.ศ. เยาวลักษณ์ สุรพันธ์พิศิษฐ์ และอาจารย์นิตยา พิระภัทรรุ่งสุริยา ที่ปรึกษาร่วมปัญหาพิเศษ ที่คอยให้คำแนะนำต่างๆอันเป็นประโยชน์อย่างยิ่ง

นอกจากนี้การปฏิบัติการทดลองที่สำเร็จไปได้ ด้วยความเอื้ออำนวยความสะดวกด้วยดีเสมอมา เป็นอย่างยิ่งจากนักวิทยาศาสตร์และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการประจำโครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร

ขอบคุณคุณบุญยกฤต รัตนพันธุ์ ที่สละเวลาให้คำแนะนำและคำปรึกษาเกี่ยวกับโปรแกรมคอมพิวเตอร์ และขอขอบคุณคุณกิตติพจน์ ประवालปัทม์กุล ที่เอื้ออำนวยความสะดวกเครื่องคอมพิวเตอร์ และให้กำลังใจช่วยเหลือตลอดมา

กราบขอบพระคุณคุณแม่ที่คอยเป็นกำลังใจและสนับสนุนด้านทุนทรัพย์ในการจัดทำปัญหาพิเศษในครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี และขอบคุณเพื่อนๆทุกคนที่คอยให้ความช่วยเหลือทั้งกำลังใจและกำลังกายตลอดมา

ผู้จัดทำ

นางสาวสุพินยา ทิพม่อม

นางสาวอังศุธร โยธา

15 มีนาคม 2544

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
กิตติกรรมประกาศ	ข
สารบัญ	ค
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ฉ
บทที่	
1 บทนำ	1
วัตถุประสงค์	3
2. วารสารนิทัศน์	4
2.1 บทนิยาม	4
2.2 การเปลี่ยนแปลงทางจุลินทรีย์ในระหว่างการหมักแหนม	6
2.3 คุณสมบัติของกระบวนการเมตาบอลิซึมของแบคทีเรียแลคติก	9
2.4 ปัญหาของผลิตภัณฑ์แหนมในปัจจุบัน	16
2.5 ประโยชน์ของการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์	20
2.6 การใช้จุลินทรีย์เริ่มต้นในการหมัก	21
2.7 คุณสมบัติของกล้าเชื้อแลคติก โดยทั่วไป	21
2.8 ประโยชน์ของการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกบริสุทธิ์เริ่มต้นในอาหารหมัก	21
2.9 การใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก	22
2.10 วัตถุประสงค์ของการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก	23
2.11 การผลิตแหนมดั้งเดิม	23
2.12 พัฒนาการของการผลิตแหนมอดีตจนถึงปัจจุบัน	23
2.13 การศึกษาการใช้จุลินทรีย์เริ่มต้นในการหมักแหนม	24
2.14 การพัฒนากรรมวิธีการผลิตแหนม โดยใช้แบคทีเรียแลคติกเริ่มต้น	24
2.15 คุณสมบัติสำคัญของแหนมที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียชนิดเป็นพิษในระหว่างการหมัก	24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3. อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	26
3.1 อุปกรณ์การทดลอง	26
3.2 เชื้อจุลินทรีย์	27
3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ	27
3.4 ขั้นตอนการผลิตแทนมและวิธีการวิเคราะห์	27
4. ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	32
5. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	41
เอกสารอ้างอิง	42
ภาคผนวก ก	44
ภาคผนวก ข	45
ประวัติผู้เขียน	48



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 Homofermentation and Heterofermentative Lactic Acid Bacteria	8
2 จำนวนเชื้อซาลโมเนลลา serotype ต่าง ๆ ที่ตรวจพบในตัวอย่างແນມ จากแหล่งที่ผลิตต่าง ๆ กัน 9 แห่งในเขตกรุงเทพมหานคร	19
3 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ระหว่างการหมักผลิตภัณฑ์ແນມ ในรูปแบบต่างๆที่ ระยะเวลา 0,1,2,3 วัน	32
4 แสดงการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแลคติกะหว่างการหมักผลิตภัณฑ์ແນມ ที่ระยะเวลา 0,1,2,3 วัน	33
5 แสดงการวิเคราะห์หาค่า MPN ของฟีคัล โคลิฟอร์มตามระยะเวลาการหมักที่ เวลา 0 1 2 3 วันของແນມหนึ่งหมุดเติม(A)และไม่เติม(B)กล้ำเชื้อแลคติก บรรจุแบบตุ้มจิ๋ว	38
6 แสดงการวิเคราะห์หาค่า MPN ของฟีคัล โคลิฟอร์มตามระยะเวลาการหมักที่ เวลา 0 1 2 3 วันของແນມหนึ่งหมุดเติม(C)และไม่เติม(D)กล้ำเชื้อแลคติก บรรจุแบบแท่งใหญ่	38
7 แสดงการวิเคราะห์หาค่า MPN ของฟีคัล โคลิฟอร์มตามระยะเวลาการหมัก ที่เวลา 0 1 2 3วันของແນມหนึ่งหมุดเติม (E) และไม่เติม (F) กล้ำเชื้อแลคติก บรรจุแบบตุ้มจิ๋ว	39
8 แสดงการวิเคราะห์หาค่า MPN ของฟีคัล โคลิฟอร์มตามระยะเวลาการหมัก ที่เวลา 0 1 2 3 วันของແນມหนึ่งหมุดเติม (G) และไม่เติม (H) กล้ำเชื้อแลคติก บรรจุแบบแท่งใหญ่	39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 แสดงการหมักน้ำตาลกลูโคสของแบคทีเรีย	10
2 แสดงกระบวนการเมตาบอลิซึมน้ำตาลแลคโตสของแบคทีเรียแลคติก (A) วิธี Tagatose- 6- phosphate (B) วิธี Leloir	12
3 แสดงวิถีเมตาบอลิซึมไพรูเวทของแบคทีเรียแลคติก	14
4 แสดงขั้นตอนการผลิตแทนม	28
5 กราฟการเจริญของกล้าเชื้อกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่ระยะเวลาการหมัก 0 1 2 3 วัน ของแทนมหนึ่งหม้อนั้น, บด เติมและไม่เติมกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกอัดแบบตุ้มจืด	34
6 กราฟการเจริญของกล้าเชื้อกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่ระยะเวลาการหมัก 0 1 2 3 วัน ของแทนมหนึ่งหม้อนั้น, บด เติมและไม่เติมกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกอัดแบบแท่งใหญ่	35
7 กราฟการเจริญของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่ระยะเวลาการหมัก 0 1 2 3 วัน ของแทนมหนึ่งหม้อนั้น เติมและไม่เติมกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกอัดแบบตุ้มจืด และอัดแบบแท่งใหญ่	36
8 กราฟการเจริญของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่ระยะเวลาการหมัก 0 1 2 3 วัน ของแทนมหนึ่งหม้อ บด เติมและไม่เติมกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกอัดแบบตุ้มจืด และอัดแบบแท่งใหญ่	37

บทที่ 1

บทนำ

การผลิตหมกในอดีตที่ผ่านมา การผลิตจะเป็นแบบพื้นบ้าน โดยมีสูตรที่ไม่แน่นอนแล้วแต่ความต้องการของผู้บริโภค วิธีการผลิตส่วนใหญ่จะเป็นวิธีการหมักโดยธรรมชาติ กล่าวคือการหมักของหมกขึ้นอยู่กับเชื้อที่มีอยู่ในธรรมชาติ ดังนั้นจึงก่อให้เกิดปัญหาติดตามมาคือ คุณภาพของผลิตภัณฑ์ไม่สม่ำเสมอ ผู้ประกอบการมีความเสี่ยงกับการผลิตที่อาจจะได้ผลิตภัณฑ์ไม่ตรงตามความต้องการค่อนข้างสูง อายุการเก็บรักษาค่อนข้างสั้น และที่สำคัญ คือ เกิดความไม่ปลอดภัยของผู้บริโภคต่อการรับประทานหมก ทั้งนี้เนื่องจากไม่สามารถควบคุมกระบวนการหมักได้เพราะว่าขาดความรู้และเทคโนโลยีการจัดการเกี่ยวกับกระบวนการหมัก ปริมาณเชื้อเริ่มต้นในการหมักหมกตามธรรมชาติอาจไม่เพียงพอที่จะทำให้กระบวนการหมักเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ ซึ่งอาจมีผลทำให้เชื้อโรคสามารถเจริญเติบโตได้และสร้างสารพิษก่อนที่เชื้อแบคทีเรียแลคติกจะเจริญขึ้น อีกทั้งส่วนใหญ่ในการบริโภคหมกจะเป็นการบริโภคหมกในรูปหมกดิบที่ไม่ได้ผ่านความร้อนในการฆ่าเชื้อ จึงนับว่าปัจจุบันผู้บริโภคมีความเสี่ยงสูงในการบริโภคหมก ดังนั้นการใช้เทคโนโลยีสมัยใหม่ โดยการใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นในการผลิตหมกนับได้ว่าเป็นทิศทางใหม่ที่มีแนวโน้มที่จะประสบความสำเร็จสำหรับอุตสาหกรรมดังกล่าว ทั้งนี้แง่ทำให้คุณภาพหมกมีความสม่ำเสมอเพิ่มประสิทธิภาพในกระบวนการหมัก และยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อที่ทำให้เกิดโรคได้ (Swetwivathana and Lotong, 1999) ในปัจจุบัน ได้มีผู้ทำการทดลองและศึกษาถึงการใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ เริ่มต้นในการหมักหมก เพื่อเป็นการพัฒนาผลิตภัณฑ์ จากการวิจัยและผลิตหมก Biotech (ไพโรจน์ , 2538) ที่มีผลต่อการยับยั้ง จุลินทรีย์พวก phatogen เพื่อการยอมรับของผู้บริโภค การใช้กล้าเชื้อแลคติกบริสุทธิ์เริ่มต้นในการหมักหมก และการควบคุมด้านสุขลักษณะอนามัยในขั้นตอนกระบวนการผลิตหมกเพื่อยับยั้งเชื้อ โรคอาหารเป็นพิษที่ปนเปื้อนมาในผลิตภัณฑ์ จากการศึกษาและการทดลองโดยใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกบริสุทธิ์เป็น starter culture เพื่อศึกษาถึงการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่มีผลต่อหมก เนื่องจากเป็นเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่คัดเลือกมาจากหมกไม่ก่อให้เกิดโรคต่อมนุษย์และสัตว์ (Swetwivathana and Lotong ,1999) และที่สำคัญคือแบคทีเรียแลคติกมีกระบวนการเมตาบอลิซึมในการหมักอาหาร เกิดการสร้างกรดอินทรีย์จำนวนมากอย่างรวดเร็วเป็นผลให้ pH ของอาหารลดลง กระบวนการหมักดังกล่าวจะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์อาหารชนิดใหม่ที่มีกลิ่นรสและเนื้อสัมผัสที่แตกต่างจากเดิม อีกทั้งยังช่วยป้องกันการเสื่อมเสียของอาหารที่เกิดจากจุลินทรีย์หรือเอนไซม์ ทั้งนี้เพราะค่าความเป็นกรดของอาหารที่เพิ่มเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขึ้นและเมตาบอไลต์อื่นๆจากกระบวนการหมักโดยแบคทีเรียแลคติก เช่น ก๊าซคาร์บอน ไดออกไซด์ ไคโอะเซทิล และ แบคทีเรียโอจีน มีผลยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้ผลิตภัณฑ์เน่าเสีย ผลการยับยั้งนี้จะเกิดขึ้นกับจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคด้วย ดังนั้นการศึกษานี้จึงเป็นแนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์หมักเพื่อมาตรฐานชีวิตของผู้บริโภคโดยรวม ทั้งในด้านคุณภาพและความปลอดภัยจากจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อโรคทางอาหารได้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาลักษณะการผลิตแทนม การใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกและลักษณะการบรรจุที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่า pH และยับยั้งฟิซิล โคลิฟอร์ม ในผลิตภัณฑ์แทนม



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 บทนิยาม

ແໜມເປັນຜົດຜົນທີ່ໄດ້ຈາກການຫຸ້ມເນື້ອຫຸ້ມ ພຽງພຽງ ຜສມກັບສ່ວນຜສມອື່ນໆ ມີແຫ່ງກຳນົດມາ ຈາກຖານເນື້ອ ການຫຸ້ມໃນຮ່ວງ 1-2 ວັນ ຈະພົບ *Pediococcus cerevisiae* ແລະ *Heterofermentative lactobacilli* ເຈຣີຍູແລະສ້າງກຣຕື້ນມາຢ່າງຣວດຣຶ້ວ ແລະໃນຮ່ວງຫຼັງຈະພົບ *Lactobacillus plantarum* ແລະ *Lactobacillus brevis* ເຈຣີຍູຕ້ອຈາກແບກທີ່ຮຶກກຸ່ມແຣກ ແໜມທີ່ຫຸ້ມໄດ້ຈະມີ pH ປະມານ 4.45-4.55 ແລະພົບວ່າມີວິຕາມິນ B1 ແລະ B2 ຢູ່ສູງ (ເຍາວລັກຊັນ , 2536) ການບຣຣຈູແໜມຈະມີຫຼາຍ ລັກຊະ ດ້ອຍບຣຣຈູເປັນແຫ່ງໃນດູງຟລາສຕິກປິດສນິທ ອາຈມີການຫ່ອໂບຕອງອີກຈັ້ນໜຶ່ງ ຫຼືອັດເປັນຕຸ້ມ ໃນດູງຟລາສຕິກ ແໜມປັດເມື່ອຫຸ້ມໄດ້ 3-4 ວັນ ຈະນຳໄປເກັບໃນຕູ້ເຢັນ ເພື່ອຫຼອກຣລດລຽງຂອງ pH ເນື່ອງຈາກການຜລິຕກຣຂອງຈູລິນທຣີຍ໌ ໄມ່ໃຫ້ແໜມມີຣສເປື້ອນຫຼາຍ ແລະເພື່ອຍືດອາຍຸການເກັບຮັກຊາຈັ້ງຈະ ສາມາດເກັບໄດ້ນານເປັນເດືອນ ສ່ວນແໜມທີ່ໄມ່ໄດ້ເກັບທີ່ອຸນຫຼຸມຕໍ່າຈະເກີດການຫຸ້ມກຸ່ມຢ່າງຣວດຣຶ້ວແລະ ຈະເກັບແໜມໄດ້ປະມານ 1 ສັປດາຫໍ່ ປັຈຈູບັນແໜມກຸ່ມເປັນອາຫານທີ່ນິຍມບຣິໂລກກັນແຮ່ຫຼາຍທັງ ທຸກຖານຂອງປະຣເທສໄທຍ ການບຣິໂລກແໜມອາຈບຣິໂລກດິບຫຼືອຸກດ້ອຍການນຳໄປປັ້ງ ຫອດ ນອກຈາກ ແໜມຈະມີຣສາດີອໍຣ໌ຍແລ້ວຍັງສາມາດນຳມາປຸງອາຫານໄດ້ຫຼາຍຊນິດ ແໜມມີຄຸນຄ່າທາງອາຫານສູງ ຄືອມີໂປຣຕິນຣ໌ອຍລະ 20-25 ໄຂມັນຣ໌ອຍລະ 5-8 ວິຕາມິນແລະເຄືອແຮ່ອີກເລັກນ້ອຍ

2.1.1 ສ່ວນປະກອບແລະການທຳ

ສ່ວນປະກອບຫຼັກໃນການຜລິຕແໜມກຸ່ມປະກອບດ້ວຍເນື້ອຫຸ້ມໄມ່ນ້ອຍກວ່າຣ໌ອຍລະ 55 ມີສ່ວນຂອງ ຫຸ້ມແລະ/ ຫຼືອຫຸ້ມ ຈຸກຫຸ້ມ ໄມ່ເກີນຣ໌ອຍລະ 40 ແລະເຄືອບຣິໂລກ ກຣະເທືອມ ຂ້າວສຸກ ໃນໄຕ້ຣ໌ທ ນອກຈາກນີ້ຍັງມີການດິມສ່ວນປະກອບອື່ນໆ ເຊັ່ນ ຟຣິກສດ ນ້ຳຕາລ (ມອກ. 1519-2537)

2.1.2 คุณลักษณะที่ต้องการ

คุณลักษณะ ของແໜ່ນต้องมึเนื้อแน่น กงรูป เนื้อหุ่ม และส่วนประกอบต่างๆต้องผสมรวมกัน อยู่อย่างทั่วถึง มีสีชมพูตามธรรมชาติที่พร้อมจะบริโภค มีกลิ่นและรสชาติปราศจากกลิ่นแปลกปลอม เช่น กลิ่นเหม็นอับ และต้องปราศจากสิ่งแปลกปลอมอื่นๆ เช่น ผม ขน กระจุก ขกเว้นขนที่อยู่ใน หนังหุ่ม และกระจุกอ่อนของใบหุ่ม แໜ່ນควรมีโปรตีนไม่น้อยกว่าร้อยละ 22 และไขมันไม่เกิน ร้อยละ 8 (เขวลักษณะ . 2536)

2.1.3 วัตถุประสงค์ปอาหาร

ในผลิตภัณฑ์ແໜ່ນมาตรฐานอุตสาหกรรมແໜ່ນ (มอก. 1219-2537) อนุญาตให้มีฟอสเฟตอยู่ใน รูปโมโน-,ได-และโพลีของเกลือโซเดียม หรือโพแทสเซียมอย่างใดอย่างหนึ่ง หรือรวมกันใน ผลิตภัณฑ์สำเร็จ เมื่อกำนวณจากฟอสฟอรัสทั้งหมดในรูป P_2O_5 , ไม่เกิน 3000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และอนุญาตให้มีโซเดียมหรือโพแทสเซียมไนเตรท ไม่เกิน 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม หรือโซเดียม หรือโพแทสเซียมไนไตรท์ไม่เกิน 125 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมและต้องไม่มีการเจือสีใด ๆ วัตถุประสงค์ปน ในอาหารอื่น ๆ ที่ไม่ได้ระบุจะไม่อนุญาตให้ใช้

2.1.4 สุขลักษณะ

ແໜ່ນที่มีสุขลักษณะที่ดี เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางด้านจุลินทรีย์จะต้องไม่ตรวจพบซาลโมเนลลา (*Salmonella*) ในตัวอย่างແໜ່ນ 25 กรัม สตาฟิโลค็อกคัส (*Staphylococcus aureus*) และ กลอสตริเดียมเพอร์ฟริงเจนส์ (*Clostridium perfringens*) ต้องไม่พบในตัวอย่าง 0.1 กรัม พยาธิ ทรินิเนลลา (*Trichinella spirales*) ต้องไม่พบในตัวอย่าง 100 กรัม ส่วนเชื้อรา ต้องน้อยกว่า 10 โคลนิตต่อตัวอย่างແໜ່ນ 1 กรัม (มอก.1219-2537)

2.1.5 การเก็บรักษา

ແໜ່ນเป็นผลิตภัณฑ์เก็บ ได้ไม่นานเพราะจะเกิดการเสื่อมเสียจากจุลินทรีย์ปนเปื้อนได้ง่ายถ้าไม่ มีการควบคุมสภาวะการหมักอย่างดีและสามารถเก็บรักษาไว้ ณ อุณหภูมิห้องปกติได้นานประมาณ 2-3 วัน ถ้าหลังจากนั้นต้องเก็บรักษาไว้ในตู้แช่เย็นเพื่อมิให้ແໜ່นมมีรสเปรี้ยวยิ่งขึ้น แໜ່นที่หมัก ได้ แล้วสามารถเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นได้นานประมาณ 7 วัน โดยที่รสชาติไม่เปลี่ยนแปลง อย่างไรก็ตาม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถเก็บแหมมได้นานเป็นเดือนในตู้เย็นแต่อาจทำให้รสชาติและเนื้อสัมผัสเปลี่ยนแปลงได้ โดยแหมมจะเปรี้ยวมากขึ้น เนื้อสัมผัสเหนียวน้อยลงเนื้อยุ่ย (ไข่คำ , 2537)

2.2 การเปลี่ยนแปลงทางจุลินทรีย์ในระหว่างการหมักแหมม

การเปลี่ยนแปลงทางจุลินทรีย์ในระหว่างการหมักแหมม ได้มีการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ในระหว่างการหมักแหมม พบว่าเกิดขึ้น โดยแบคทีเรียแลคติก (จรูญ,2509) ซึ่งแบคทีเรียในกลุ่มดังกล่าวมีบทบาทและมีความสำคัญอย่างยิ่งต่ออุตสาหกรรมหมัก

2.2.1 แบคทีเรียแลคติก

แบคทีเรียแลคติกจัดเป็นแบคทีเรียกลุ่มหนึ่งที่มีความสำคัญอย่างยิ่งในอุตสาหกรรมหมัก เนื่องจากมีคุณสมบัติในการหมักน้ำตาลให้เป็นกรดแลคติก แบคทีเรียแลคติกเป็นแบคทีเรียแกรมบวก โดยทั่วไปจะไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ ไม่สร้างสปอร์ และให้ผลลบบต่อปฏิกิริยาของเอนไซม์ อะตะเลส คุณสมบัติที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งของแบคทีเรียแลคติกคือทนกรด และไม่ต้องการอากาศในการเจริญเติบโตแต่อย่างไรก็ตามแบคทีเรียในกลุ่มนี้สามารถเจริญเติบโตในสภาวะที่มีออกซิเจนได้ดีเท่ากับในสภาวะไร้อากาศ ด้วยเหตุนี้แบคทีเรียแลคติกจึงจัดเป็นแบคทีเรียที่ไม่ต้องการอากาศในการเจริญและทนก๊าซออกซิเจน (Brock และคณะ,1984 ; Ingram ,1975)

แบคทีเรียแลคติกจัดอยู่ในตระกูล *Lactobacillaceae* ซึ่งแบ่งได้เป็น 8 สกุล คือ *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactococcus* และ *Vagococcus* (Jame , 1992) สามารถจำแนกแบคทีเรียแลคติกตามลักษณะสัณฐานวิทยาได้ 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่มีรูปร่างกลม (cocci) และกลุ่มที่มีรูปร่างแท่ง (rod) หรืออาจจำแนกได้ตามลักษณะการหมักได้เป็นกลุ่ม Homofermentation ซึ่งสามารถหมักน้ำตาลให้ผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่เป็นกรดแลคติกมากกว่า 85 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่ม Heterofermentation ซึ่งสามารถหมักน้ำตาลให้ผลิตภัณฑ์อื่นนอกเหนือจากกรดแลคติกได้แก่ กรดอะซิติก ก๊าซคาร์บอน ไดออกไซด์ และเอทานอล ตัวอย่างของสายพันธุ์แบคทีเรียแลคติกในกระบวนการหมัก

Streptococcus spp.

แบคทีเรียในสกุลนี้จัดอยู่ในกลุ่ม Homofermentation มีรูปร่างกลม จัดเรียงตัวเป็นคู่หรือเรียงต่อกันเป็นสาย เจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีหรือไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobes) *Streptococcus* บางชนิดก่อให้เกิด โทษแก่มนุษย์และสัตว์ (pathogenic bacteria)

Leuconostoc spp.

แบคทีเรียในสกุลนี้มีรูปร่างกลม จัดเรียงตัวเป็นคู่หรือเรียงต่อกันเป็นสาย มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาคล้ายคลึงกับ *Streptococcus* แต่จัดเป็น Heterofermentation สามารถทนต่อความเข้มข้นของเกลือและน้ำตาล แบคทีเรียชนิดนี้สามารถผลิตสารที่ให้กลิ่นรส ซึ่งประกอบไปด้วยไดอะเซทิลและอะซิโตนิน และทำให้เกิดปริมาณกรดในผลิตภัณฑ์เพียงพอที่จะยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียอื่นๆ ได้รวดเร็วกว่าแบคทีเรียแลคติกอื่นหรือแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องชนิดอื่นๆ แบคทีเรียในจีนัสนี้ไม่ก่อให้เกิดโทษ

Pediococcus spp.

แบคทีเรียในสกุลนี้จัดเป็น Homofermentation มีรูปร่างกลม จัดเรียงตัวเป็นกลุ่มๆ ละ 4 โดยแบ่งเป็น 2 ระนาบ บางครั้งอาจพบเซลล์เดี่ยว เซลล์เรียงกันเป็นคู่หรือต่อกันเป็นสายสั้นๆ จัดเป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการปริมาณออกซิเจนปริมาณเล็กน้อยในการเจริญเติบโต (microaerophilic bacteria) สามารถเจริญในช่วงอุณหภูมิประมาณ 7-45 องศาเซลเซียส แต่เจริญได้ดีที่สุดที่ 25-32 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ยังเจริญได้ในน้ำเกลือที่เข้มข้นไม่เกิน 5.5 เปอร์เซ็นต์ แต่เจริญได้ไม่ดีหรือไม่สามารถเจริญได้ในน้ำเกลือที่มีความเข้มข้น 6-10 เปอร์เซ็นต์

Lactobacillus spp.

แบคทีเรียในกลุ่มนี้มีรูปร่างเป็นแท่งยาว เรียงต่อกันเป็นสายเกือบทุกสายพันธุ์ ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโตในปริมาณน้อยมาก (microaerophilic bacteria) หรือบางชนิดไม่ต้องการออกซิเจนเลย (strict anaerobes) เนื่องจากแบคทีเรียในสกุล *Lactobacillus* มีองค์ประกอบของดีเอ็นเอแตกต่างกันมาก แต่ละสายพันธุ์จึงมีคุณสมบัติที่แตกต่างกัน บางชนิดจัดเป็น Homofermentation และบางชนิดจัดเป็น Heterofermentation *Lactobacilli* สามารถทนต่อสภาวะที่เป็นกรดได้ดีกว่าแบคทีเรียชนิดอื่นๆ สามารถเจริญได้ดีที่พีเอช (pH) ประมาณ 5 ดังนั้นโดยทั่วไปเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการหมักแลคติกธรรมชาติ *Lactobacilli* สามารถดำเนินปฏิกิริยาหมักต่อไปเมื่อพีเอชต่ำลงเกินกว่าที่แบคทีเรียแลคติกชนิดอื่นจะเจริญได้ แบคทีเรียในจีนัสนี้ไม่ก่อให้เกิดโทษ พบอยู่ตามผิวพื้นของพืช ฟูจากมูลสัตว์

ตารางที่ 1 Homofermentative and Heterofermentative Lactic Acid Bacteria

Homofermentative			Heterofermentative		
Organisms	Lactate Configuration	%G + C	Organisms	Lactate Configuration	%G + C
<i>Lactobacillus</i>			<i>Lactobacillus</i>		
<i>L. acidophilus</i>	DL	36.7	<i>L. brevis</i>	DL	42.7–46.4
<i>L. bulgaricus</i>	D(-)	50.3	<i>L. buchneri</i>	DL	44.8
<i>L. casei</i>	L(+)	46.4	<i>L. cellobiosus</i>	DL	53
<i>L. coryniformis</i>	DL	45	<i>L. confusus</i>	DL	44.5–45.0
<i>L. curvatus</i>	DL	43.9	<i>L. coprophilus</i>	DL	41.0
<i>L. delbrueckii</i>	D(-)	50	<i>L. fermentum</i>	DL	53.4
<i>L. helveticus</i>	DL	39.3	<i>L. hilgardii</i>	DL	40.3
<i>L. jugurti</i>	DL	36.5–39.0	<i>L. sanfrancisco</i>	DL	38.1–39.7
<i>L. jensenii</i>	D(-)	36.1	<i>L. trichodes</i>	DL	42.7
<i>L. lactis</i>	D(-)	50.3	<i>L. viridescens</i>	DL	35.7–42.7
<i>L. leichmannii</i>	D(-)	50.8	<i>Leuconostoc</i>		
<i>L. plantarum</i>	DL	45	<i>L. cremoris</i>	D(-)	39–42
<i>L. salivarius</i>	L(+)	34.7	<i>L. dextranicum</i>	D(-)	38–39
<i>Pediococcus</i>			<i>L. lactis</i>	D(-)	43–44
<i>P. acidilactici</i>	DL	44.0	<i>L. mesenteroides</i>	D(-)	39–42
<i>P. cerevisiae</i>	DL		<i>L. oenos</i>	D(-)	39–40
<i>P. pentosaceus</i>	DL	38	<i>L. paramesenteroides</i>	D(-)	38–39
<i>Streptococcus</i>			<i>L. gelidum</i>	D(-)	37
<i>S. bovis</i>	D(-)	38–42	<i>L. carnosum</i>	D(-)	39
<i>S. thermophilus</i>	D(-)	40	<i>Carnobacterium</i>		
<i>Lactococcus</i>			<i>C. divergens</i>		33.0–36.4
<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	D(-)	38.4–38.6	<i>C. mobile</i>		35.5–37.2
<i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	D(-)	38.0–40.0	<i>C. gallinarum</i>		34.3–36.4
<i>L. lactis</i> subsp. <i>hordniae</i>		35.2	<i>C. piscicola</i>		33.7–36.4
<i>L. garvieae</i>		38.3–38.7			
<i>L. plantarum</i>		36.9–38.1			
<i>L. ruffinolactis</i>		40.0–43			
<i>Vagococcus</i>					
<i>V. fluvialis</i>		33.6			
<i>V. salmoninarum</i>		36.0–36.5			

ที่มา : Jay (1992)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

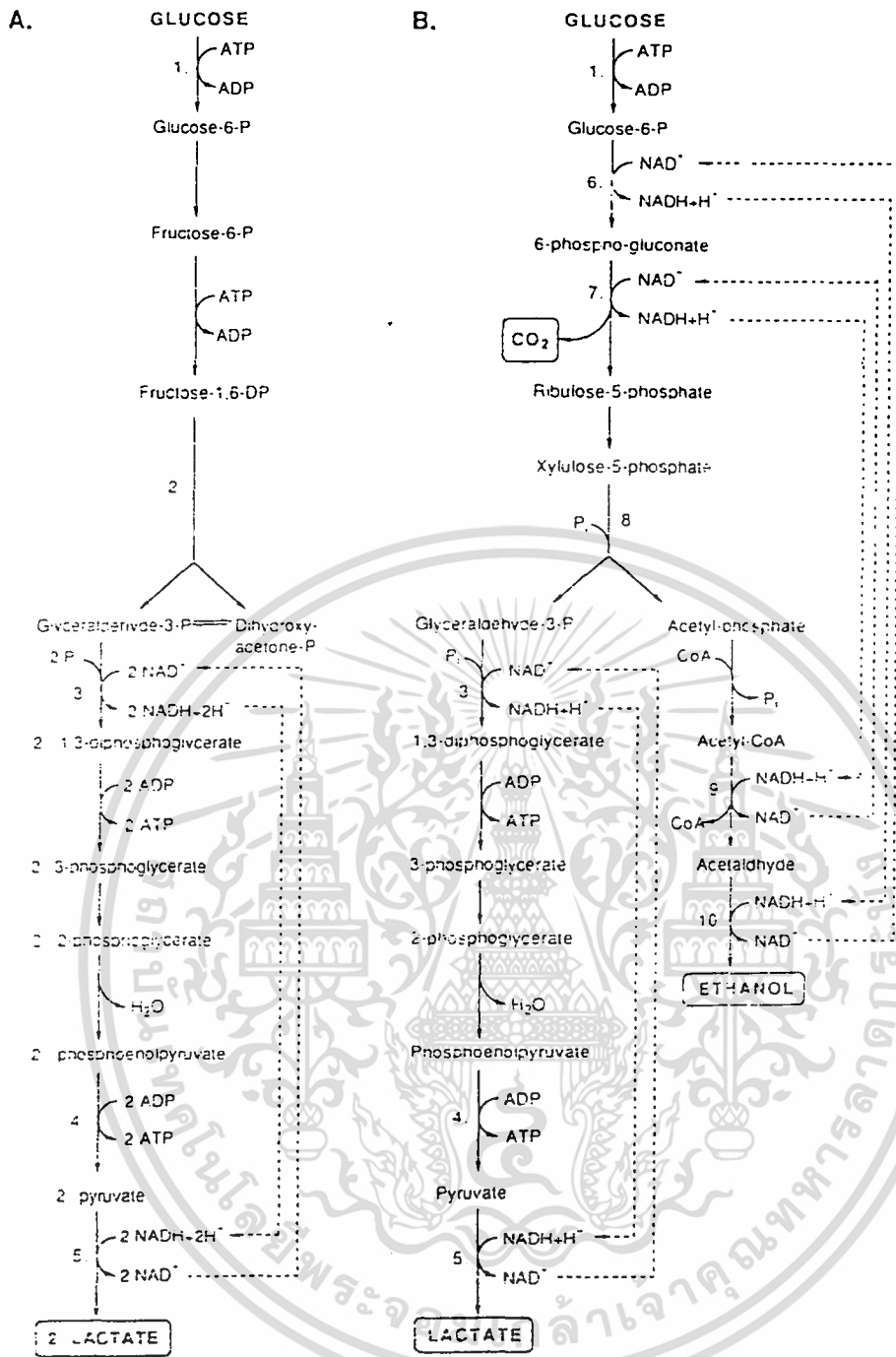
2.3 คุณสมบัติทางกระบวนการเมตาบอลิซึมของแบคทีเรียแลคติก

2.3.1 การใช้น้ำตาล

ความสามารถในการหมักคาร์โบไฮเดรตเพื่อสร้างกรดแลคติก ถือเป็นคุณสมบัติที่สำคัญของแบคทีเรียแลคติก โดยเฉพาะขบวนการหมักน้ำตาล

2.3.1.1 การใช้น้ำตาลโมลกุลเดี่ยว

แบคทีเรียแลคติกมีวิธีการหมักน้ำตาลคาร์บอน 6 อะตอม เช่นน้ำตาลกลูโคส แบ่งเป็นหลักๆ ได้สองวิธี (Axelsson ,1993) คือ โมลกุลน้ำตาลกลูโคสอิสระจะถูกนำเข้าสู่เซลล์ และเกิดปฏิกิริยา phosphorylation โดยเอนไซม์ glucokinase หรือ phosphoenolpyruvate-sugar phosphotransferase system (PTS) แล้วเข้าสู่การหมักโดยกระบวนการไกลโคไลซิส หรือ Embden-Meyerhof-Parnas (EMP pathway) เพื่อเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสไปเป็น fructose-1,6-diphosphate ซึ่งจะแตกออกเป็น dihydroxy acetonephosphate (DHAP) และ glyceraldehyde-3-phosphate (GAP) โดยเอนไซม์ fructose-1,6-diphosphate aldolase หลังจากนั้น GAP และ DHAP ที่เปลี่ยนรูปไปเป็น GAP จะเปลี่ยนไปเป็นไพรูเวท ซึ่งการเปลี่ยนแปลงนี้เป็นไปตามลำดับขั้นของกระบวนการเมตาบอลิซึม ภายใต้สภาวะปกติต่างๆไป ก็จะมีปริมาณน้ำตาลมากเกินพอ และได้รับออกซิเจนในปริมาณที่จำกัด ไพรูเวทจะถูกรีดิวซ์ไปเป็นกรดแลคติกโดยเอนไซม์ lactate dehydrogenase ที่อาศัยพลังงานจาก NAD^+ ซึ่งการเมตาบอลิซึมในลักษณะการหมักแบบนี้คือการหมักแบบ Homofermentative ดังแสดงในภาพที่ 1



(A) homolactic fermentation (glycolysis, Embden-Meyerhof pathway); (B) heterolactic fermentation (6-phosphogluconate/phosphoketolase pathway). Selected enzymes are numbered: 1. glucokinase; 2. fructose-1,6-diphosphate aldolase; 3. glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; 4. pyruvate kinase; 5. lactate dehydrogenase; 6. glucose-6-phosphate dehydrogenase; 7. 6-phosphogluconate dehydrogenase; 8. phosphoketolase; 9. acetaldehyde dehydrogenase; 10. alcohol dehydrogenase.

รูปที่ 1 แสดงการหมักน้ำตาลกลูโคสของแบคทีเรีย

ที่มา : Brock และคณะ (1984)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

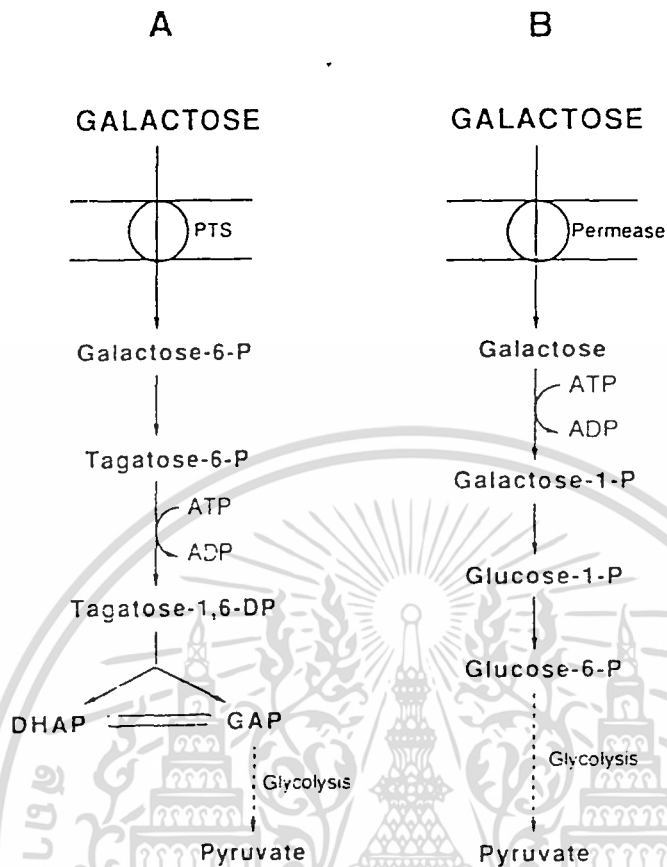
วิธีการหมักที่สำคัญอีกวิธีหนึ่งมีชื่อเรียกหลายอย่าง เช่น pentosephosphate pathway , pentose phosphoketolase pathway, และ 6-phosphogluconate pathway โดยวิธีการหมักเริ่มต้นจากการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสไปเป็น 6-phosphogluconate ทั้งนี้เนื่องจากเซลล์แบคทีเรียแลคติกที่ไม่มีเอนไซม์อัลโดเลสในการย่อย hexose diphosphate ให้เป็น triose phosphate จึงออกซิไดซ์ glucose 6-phosphate ไปเป็น 6-phosphogluconate แทน (Brock และคณะ ,1994) ต่อมาจะเกิดปฏิกิริยา decarboxylation ได้ pentose-5-phosphate ซึ่งจะแตกออกเป็น glyceraldehyde-3-phosphate (GAP) และ acetyl phosphate โดยเอนไซม์ phosphoketolase GAP จะถูกเมตาบอลิซึมในวิถีเดียวกันกับกระบวนการไกลโคไลซิส ให้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดแลคติก ส่วน acetyl phosphate จะถูกรีดิวซ์เป็นเอทานอล โดยเปลี่ยนรูปไปเป็น acetyl co A และอะเซทิลดีไฮด์ การเมตาบอลิซึมในลักษณะนี้จะทำให้เกิดเมตาบอลิท์อื่นๆ เช่น เอทานอล ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ จึงจัดเป็น Heterofermentation

2.3.1.2 การใช้น้ำตาลโมลกุลคู่

น้ำตาลโมลกุลคู่สามารถเข้าสู่เซลล์ได้ทั้งในรูปของน้ำตาลโมลกุลอิสระหรือน้ำตาลฟอสเฟต ซึ่งในกรณีแรก น้ำตาลโคแซคคาไรด์จะถูกย่อยโดยเอนไซม์ไฮโดรเลสที่จำเพาะให้เป็นน้ำตาลโมโนแซคคาไรด์ซึ่งจะเข้าสู่วิธีการหมักได้ ส่วนในกรณีที่สองที่เกิดขึ้นเมื่อมีระบบเอนไซม์ phosphoenolpyruvate-sugar phosphotransferase system (PTS) เข้ามาเกี่ยวข้อง กล่าวคือ เอนไซม์ phosphoketolase ที่จำเพาะจะทำให้ น้ำตาลฟอสเฟตโมลกุลคู่แตกออกเป็นน้ำตาลโมลกุลเดี่ยว และน้ำตาลฟอสเฟตโมลกุลเดี่ยว (Axelsson, 1993)

แบคทีเรียสามารถนำน้ำตาลแลคโตสโดยใช้เอนไซม์ permease เป็นตัวนำเข้าสู่เซลล์ เอนไซม์ β -galactosidase จะย่อยให้เกิดน้ำตาลกลูโคสและกาแลคโตส(Premi และ คณะ, 1972; Bhowmik และ Marth, 1990 ; Fox และคณะ, 1990) ซึ่งน้ำตาลทั้งสองชนิดนี้จะเข้าสู่วิถีหลักต่อไป นอกจากเอนไซม์ β - galact osidase แบคทีเรียแลคติกยังใช้เอนไซม์ phospho- β -D-galactosidase ในการย่อยน้ำตาลแลคโตสเข้าสู่ไซโตพลาสซึมในรูปของ lactose phosphate ไปเป็นกลูโคส และ galactose-6-phosphate จากนั้นน้ำตาลกลูโคสจะถูก phosphorylation ด้วยเอนไซม์ glucokinase แล้วจึงถูกเมตาบอลิซึมผ่านกระบวนการไกลโคไลซิส ในขณะที่ galactose-6-phosphate จะถูกเมตาบอลิซึมผ่านวิถี tagatose-6-phosphate ดังแสดงในภาพที่ 2 (Axelsson,1993)

การหมักน้ำตาลซูโครสของแบคทีเรียแลคติก อาศัยเอนไซม์ซูโครสไฮโดรเลสย่อยให้เป็นกลูโคสและฟรุกโตสก่อนจะเข้าสู่วิธีการหมักน้ำตาลโมลกุลเดี่ยว



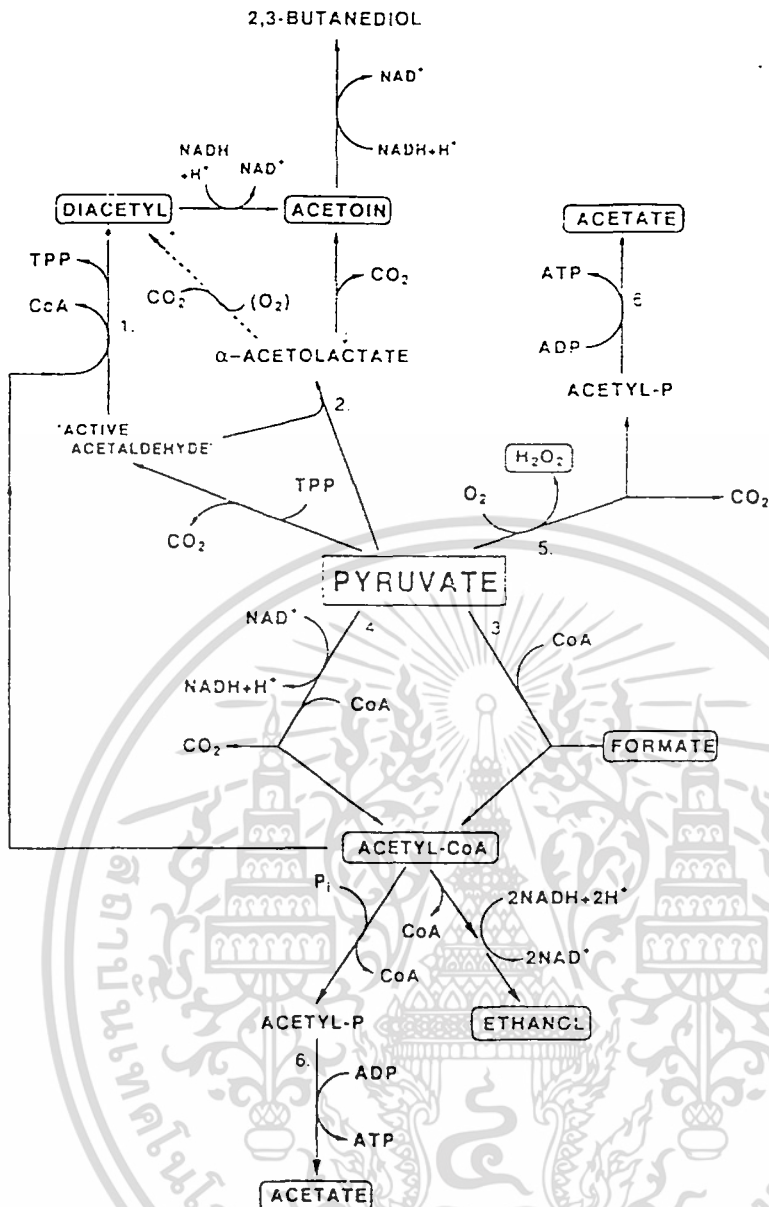
รูปที่ 2 แสดงกระบวนการเมตาบอลิซึมน้ำตาลแลคโตสของแบคทีเรียแลคติก
(A) วิธี Tagatose- 6- phosphate (B) วิธี Leloir

ที่มา : Axelsson (1993)

2.3.2 การสร้างกรดอินทรีย์

กรดแลกติกเป็นกรดอินทรีย์ส่วนใหญ่ที่แบคทีเรียแลกติกสร้างขึ้นจากกระบวนการหมักน้ำตาล โดยมีไพรูเวทเป็น intermediate ซึ่งนอกจากไพรูเวทจะถูกรีดิวซ์ไปเป็นกรดแลกติกภายใต้สภาวะที่เหมาะสมแล้ว แบคทีเรียแลกติกชนิด Heterofermentation ยังสามารถใช้ไพรูเวทไปในวิถีทางอื่นๆ ทำให้เกิดเมตาบอไลต์ที่แตกต่างกันออกไปจากการหมักแบบ Homofermentation ภายใต้สภาวะปกติ ทั้งนี้แบคทีเรียแลกติกต่างสายพันธุ์จะใช้วิถีที่แตกต่างกันหรือไม่ขึ้นกับสภาวะการเจริญเติบโต และเอนไซม์ที่จุลินทรีย์สร้างขึ้น ด้วยเหตุนี้จึงทำให้แบคทีเรียแลกติกสามารถสร้างกรดอินทรีย์ชนิดอื่น เช่น กรดอะซิติก และกรดฟอร์มิก (Kandler, 1983)

กรดอินทรีย์ที่เชื้อแบคทีเรียแลกติกสร้างขึ้นจะมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดอื่น ทั้งนี้เนื่องจาก pH มีผลต่อการซึมผ่านของเยื่อหุ้มเซลล์ ที่ pH ต่ำเยื่อหุ้มเซลล์จะอิมตัวด้วยไอออนของไฮโดรเจน ทำให้แอนไอออนที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตซึมผ่านเข้าไปในเซลล์ได้ยาก ดังนั้นการเจริญและกิจกรรมต่างๆภายในเซลล์จึงถูกยับยั้ง นอกจากนี้โมเลกุลของกรดที่อยู่ในสภาพที่ไม่แตกตัว (undissolved molecules) สามารถซึมผ่านผนังของเซลล์จุลินทรีย์ ทำให้ pH ภายในลดต่ำลงมีผลในการรบกวนกระบวนการเมตาบอลิซึมที่จำเป็นต่อการอยู่รอดของเซลล์ (วรวิทย์, 2536) ดังแสดงในภาพที่ 3



รูปที่ 3 แสดงวิถีเมตาบอลิซึม ไพรูเวทของแบคทีเรียแลคติก

ที่มา : Axelsson (1993)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.3 การสร้างก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

แบคทีเรียในกลุ่ม Heterofermentation สามารถสร้างก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จากกระบวนการ pentose phosphate pathway ได้ โดยจะเกิดขึ้นในระหว่างการ decarboxylation 6-phosphogluconate ไปเป็น pentose-5-phosphate (Axelsson, 1993 ;Brock และคณะ, 1984)

กลไกในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์นั้นยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด แต่สันนิษฐานว่าอาจเป็นไปได้ 2 กรณี คือ การยับยั้งเอนไซม์ในกระบวนการ decarboxylation และการสะสมของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์บริเวณผนังเมมเบรนในส่วนของ lipid bilayer ซึ่งจะทำลายคุณสมบัติการเข้าออกของสารบริเวณผนังเซลล์ (วรวิเศษย์, 2535)

2.3.4 การสร้างเอนไซม์ที่ย่อยสลายโปรตีน

คุณสมบัติที่เป็นประโยชน์ต่ออุตสาหกรรมการหมักของแบคทีเรียแลคติกคือเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายโปรตีน (proteolytic) ปฏิกิริยาการย่อยสลายโปรตีนของแบคทีเรียแลคติกในกระบวนการหมัก (curing) หรือการบ่ม (maturing) จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางกายภาพและกลิ่นรสของอาหาร

การหมักແหม่มทำในถุงที่มีอากาศน้อย นอกจากนี้สูตรในการผลิตยังมีเกลือเป็นองค์ประกอบอยู่ด้วย เป็นการกำหนดชนิดของจุลินทรีย์ที่เจริญ จะเป็นชนิดที่ทนเกลือ และทนต่อสภาพไม่มีอากาศ โดยเฉพาะจุลินทรีย์ประเภทแบคทีเรียแลคติกที่เป็นแกรมบวก(จรุง, 2509; สมบูรณ์, 2518)

ในช่วงแรกของการหมักคือ 24-72 ชั่วโมง เชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตกรดได้ทั้ง Homofermentative และ Heterofermentative lactobacilli รวมทั้ง Homofermentative cocci โดยเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญในช่วงแรกนี้จะมีทั้งรูปร่างแท่ง รูปร่างกลม แกรมบวก และแกรมลบที่สามารถผลิตกรดได้ สามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว และมีผลต่อการผลิตกรดแลคติกอย่างรวดเร็ว หลังจาก 72 ชั่วโมงของการหมัก เชื้อจุลินทรีย์ประเภท Homofermentative lactobacilli เช่น *Lactobacillus plantarum* จะมีการเจริญเติบโตมากที่สุด รวมทั้ง *Pediococcus* และ Heterofermentative lactobacilli บางสายพันธุ์ ยังคงเจริญเติบโตได้อยู่

2.4 ปัญหาของผลิตภัณฑ์ແໜມ

2.4.1 คุณภาพของผลิตภัณฑ์ไม่สม่ำเสมอ

คุณภาพของผลิตภัณฑ์มีความผันแปรจากจุดหนึ่งไปยังอีกจุดหนึ่ง และเวลาที่ใช้ในการหมักไม่สามารถคาดคะเนได้ เพราะการหมักของແໜມขึ้นกับเชื้อที่มีอยู่ในธรรมชาติ โดยเฉพาะแบคทีเรียแลคติก ในวัตถุดิบแต่ละแหล่งจะมีปริมาณเชื้อที่แตกต่างกันทั้งชนิดและปริมาณ นอกจากนี้อาจมีจุลินทรีย์ปนเปื้อนที่ไม่ต้องการซึ่งล้วนแต่มีผลต่อคุณภาพແໜມ แบคทีเรียแลคติกบางสายพันธุ์มีคุณสมบัติเด่นในการผลิตกรด บางสายพันธุ์ผลิตสารให้กลิ่นรส ซึ่งความแตกต่างของชนิดของเชื้อจะทำให้ແໜມมีความแตกต่างด้านคุณภาพ ดังนั้น ผู้ประกอบการอุตสาหกรรมการผลิตແໜມจึงมีความเสี่ยงต่อการผลิตและอาจจะไม่ได้ผลิตภัณฑ์ตามคุณภาพที่ต้องการในแต่ละรุ่นที่ผลิต

2.4.2 ความปลอดภัยของผู้บริโภคต่อการรับประทานແໜມ

ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นในการหมักແໜມตามธรรมชาติอาจไม่เพียงพอที่จะทำให้เกิดการหมักเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ ซึ่งอาจทำให้เชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคสามารถเจริญเติบโตและสร้างสารพิษได้ก่อนที่แบคทีเรียแลคติกจะเจริญมาภายหลัง อีกทั้งส่วนใหญ่การบริโภคແໜມมีการบริโภคແໜມโดยไม่ผ่านความร้อน ดังนั้นการควบคุมคุณภาพเพื่อให้มีความปลอดภัยสูง จึงเป็นสิ่งจำเป็นต่อผู้นิยมบริโภคແໜມในลักษณะดังกล่าว

2.4.2.1 แหล่งของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมาในผลิตภัณฑ์ແໜມ

1. วัตถุดิบ จุลินทรีย์ที่ติดมากับวัตถุดิบ มีทั้งจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์และเป็นโทษ ขึ้นอยู่กับว่าจะได้เชื้อจุลินทรีย์ชนิดใดมาและมีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์มากน้อยเพียงใด เช่น เนื้อหมูมีการปนเปื้อนแบคทีเรียชนิดเป็นพิษเช่น *Salmonella* เป็นต้น

2. ภาชนะ เครื่องมือเครื่องใช้ และอากาศและการผลิตແໜມในสภาพที่ไม่ถูกหลักสุขาภิบาลอาหาร

3. ปริมาณของเชื้อเริ่มต้นในการหมักແໜມตามธรรมชาติอาจจะไม่เพียงพอที่จะทำให้เกิดการหมักอย่างสมบูรณ์ได้ซึ่งทำให้แบคทีเรียชนิดเป็นพิษที่ปนเปื้อนมากับวัตถุดิบนั้นสามารถเจริญและสร้างสารพิษก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษได้

4. พนักงานผู้ผลิต

5. พฤติกรรมการบริโภคเนรม นิยมบริโภคเนรมในรูปแบบคิปที่ไม่ได้ผ่านความร้อนทำให้ไม่สามารถทำลายหรือลดจำนวนแบคทีเรียชนิดเป็นพิษที่ปนเปื้อนในเนรมได้

2.4.2.2 จุลินทรีย์ที่เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงสุขลักษณะในผลิตภัณฑ์เนรม

แบคทีเรียโคลิฟอร์มเป็นแบคทีเรียกลุ่มหนึ่งใน Family Enterobacteriaceae มีรูปร่างเป็นท่อนสั้น เป็นแบคทีเรียที่เป็นทั้งพวก aerobic Facultative และ anaerobic ติดสีแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ ซึ่งจะสลายน้ำตาลแลคโทสแล้วให้ก๊าซ สปีชีส์หลักของกลุ่มโคลิฟอร์ม ได้แก่ *Escherichia coli* และ *Enterobacter aerogenes* และฟีคัลโคลิฟอร์ม แบคทีเรียโคลิฟอร์มมักจะทำให้อาหารไม่น่ารับประทาน เช่น การปรากฏในอาหารบางชนิด น้ำ และในหอยนางรมเป็นการแสดงว่ามีการปนเปื้อนกับน้ำเสียมาแล้วจึงมีเชื้อโรคในลำไส้ปรากฏและเจริญอยู่ในอาหารจึงเป็นผลทำให้อาหารเสีย

ลักษณะบางประการที่ทำให้โคลิฟอร์มแบคทีเรียมีความสำคัญในด้านการทำให้อาหารเสียได้แก่

1. ความสามารถของเชื้อที่เจริญได้ดีในสภาวะหลายชนิดและใช้คาร์โบไฮเดรตหรือสารประกอบอินทรีย์บางชนิดเป็นแหล่งพลังงานและใช้สารประกอบไนโตรเจนที่มีโมเลกุลไม่ซับซ้อนเป็นแหล่งไนโตรเจนได้

2. ความสามารถของเชื้อที่สามารถสังเคราะห์วิตามินหลายชนิดได้เอง

3. ความสามารถของกลุ่มที่เจริญได้ดีในช่วงอุณหภูมิปานกลางคือช่วง 10-40 องศาเซลเซียส

4. คุณสมบัติในการผลิตกรดจำนวนมากและก๊าซจากน้ำตาล

5. คุณสมบัติในการทำให้อาหารหรือน้ำมีกลิ่นรสไม่ดีหรือที่เรียกว่าไม่สะอาด

6. ความสามารถของ *E. aerogenes* ในการทำให้เกิดสารเมือกหรือเกิดยางเหนียวในอาหาร

มีรายงานว่าผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์เป็นอาหารชนิดหนึ่งที่ถูกปนเปื้อนด้วยจุลินทรีย์หลายชนิด โดยผิวนอกของก้อนเนื้อจะปนเปื้อนด้วยจุลินทรีย์ที่ติดมากับหนังสัตว์และลำไส้หรืออาจติดมากับอุปกรณ์ที่ใช้ในโรงฆ่าสัตว์และสภาพแวดล้อมในโรงงานฆ่าสัตว์ซึ่งจุลินทรีย์ที่พบในเนื้อนี้มีพวกโคลิฟอร์มรวมอยู่ด้วย (Gangarosa, 1978; Goepfert and Hick, 1969) สมบุญ (2518) ได้ตรวจจุลินทรีย์ในเนรมจากตลาดโดยวิธี MPN พบว่าในชั่วโมงที่ 3 มี 19.50×10^4 เซลล์ต่อกรัม ชั่วโมงที่ 24 มี 240×10^4 เซลล์ต่อกรัม และในวันที่ 35 มีค่า 16.0 เซลล์ต่อกรัม

2.4.2.3 จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษจากการบริโภคแฮม

โคลิฟอร์มเป็นกลุ่มของจุลินทรีย์ที่เป็นตัวบ่งชี้ในด้านการสุขาภิบาลอาหารและอาจเป็นตัวบ่งชี้ถึงความเป็นโรคได้ด้วย (สุขใจ, 2525) พบว่าในแฮมเริ่มต้นหมักจะมีปริมาณเชื้อโคลิฟอร์มจำนวน 10^7 cfu/g และจากรายงานการสำรวจแฮมในท้องตลาดจำนวน 450 ตัวอย่าง ร้อยละ 12 พบเชื้อซาลโมเนลลา ดังแสดงในตารางที่ 2 (อศิสร และ อรุณ, 2539) ได้ตรวจหาเชื้อซาลโมเนลลาที่ปนเปื้อนในแฮมพร้อมบริโภคที่จำหน่ายตามท้องตลาดและห้างสรรพสินค้าในเขตกรุงเทพมหานคร จำนวน 40 ตัวอย่าง โดยวิธี samosyst procedure และวิธีมาตรฐาน พบว่า samosyst procedure ให้ผลการตรวจพบเชื้อสูงกว่าวิธีมาตรฐานที่ใช้ TTB และ SCB เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อในขั้นตอน selective enrichment (75% และ 70% ตามลำดับ) นอกจากนี้ เซโรวาร์ของซาลโมเนลลาที่ตรวจพบโดยวิธี samosyst procedure มีจำนวนมากกว่าวิธีมาตรฐาน(86.4% และ 54.5% ตามลำดับ) ด้วยเช่นเดียวกัน การใช้ Rambach (RAM) agar ในการตรวจหาเชื้อซาลโมเนลลาดีกว่าการใช้ Salmonella-Shi-gella (SS) agar และ Xylose-Lysine-Desoxycholate (XLD) agar ทั้งในด้านจำนวนตัวอย่างและชนิดเซโรวาร์ของซาลโมเนลลาที่พบ การใช้ samosyst procedure ควบคู่กับการใช้ RAM agar ในการตรวจหาซาลโมเนลลาในแฮมจะทำให้การตรวจพบเชื้อซาลโมเนลลาได้ดีที่สุด แต่การใช้อาหารแข็งเพาะเลี้ยงเชื้อมากกว่า 1 ชนิดจะให้ผลการตรวจพบชนิดเซโรวาร์ของเชื้อซาลโมเนลลาได้มากกว่า การใช้อาหารแข็งเพียงชนิดเดียวการศึกษานี้ตรวจพบซาลโมเนลลาปนเปื้อนในแฮมรวม 30 ตัวอย่าง (75%) เซโรวาร์ของเชื้อที่พบมากที่สุด ได้แก่ *S.derby* (80%) รองลงมาได้แก่ *S.anatum* (63.3%) และ *S.rissen* (57.6%) ตามลำดับ

ในปี 1972 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้มีการตรวจเชื้อซาลโมเนลลา ในแฮมจากแฮม 217 ตัวอย่าง พบ Samonella 27 ตัวอย่าง คิดเป็น 12.4 % serotypes ที่พบคือ *S. derby*; *S.anatum*; *S. bovis-morbificans*; *S.lexington*; *S.stanley*; *S.newport*; *S.montevideo* และ *S.wansworth* (Phan-Urai, 1978)

แบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคเกี่ยวกับระบบทางเดินอาหารอีกชนิดหนึ่งคือ *Shigella* เชื้อ *Shigella* เกือบทุกชนิดอาศัยในสัตว์เลือดอุ่นและเกือบทุกชนิดเป็นเชื้อโรคของคน อาการของโรคที่เกิดจากเชื้อ *Shigella* คือลำไส้อักเสบและอุจจาระเป็นน้ำ มีเลือด มูกและหนอง แหล่งที่สำคัญของการแพร่กระจายเชื้อ *Shigella* คือ อาหาร อุจจาระ มือ แผลง ดังนั้นการรักษาสุขลักษณะที่ดีจึงเป็นสิ่งสำคัญที่จะป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อ (Davis et al.,1980)

การระบาดของโรคท้องร่วงเนื่องจากการติดเชื้อ *Shigella* นั้นพบว่าเชื้อปนเปื้อนอยู่ในเนื้อสัตว์และสัตว์ปีกที่ชำแหละหรือหีบด้วยมือคนซึ่งมือคนอาจจะติดเชื้อมาหลังจากการถ่ายอุจจาระแล้วซึ่งจำนวน *Shigella* เพียงเล็กน้อยก็สามารถทำให้คนเกิดท้องร่วงได้ในระหว่างปี 1973-1975 มีรายงานจากอเมริกาและแคนาดาเกี่ยวกับโรคอาหารเป็นพิษอันเนื่องมาจากเชื้อ *Shigella* ว่า เชื้อ *Shi. Sonnei*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับกรใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นเชื้อที่พบบ่อยจากผู้ป่วยเนื่องจากอาหารเป็นพิษ ขณะเดียวกันการระบาดของ *Shi. Flexneri* type 2A & 3A ก็พบมากเช่นกันโดยแยกได้จากคนในอเมริกาเหนือ (Ewen, 1978; Frank, 1978; Frank, 1980)

ในประเทศไทย ปี พ.ศ 2524 ได้มีการตรวจหาเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคท้องร่วงจากคน คคยตรวจพบตัวอย่างอุจจาระของผู้ป่วย 7,285 ตัวอย่าง พบเชื้อ *Shigella* รวมทั้งสิ้น 1,636 ตัวอย่าง ชนิดที่พบมากที่สุดคือ *Shi. Flexneri* type 2A พบ 712 ตัวอย่าง (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2524)

ตารางที่ 2 จำนวนเชื้อซาล โมเนลลา serotype ต่าง ๆ ที่ตรวจพบในตัวอย่างเนนมจากแหล่งที่ผลิตต่าง ๆ กัน 9 แห่งในเขตกรุงเทพมหานคร

Serotype	จำนวนเชื้อ	คิดเป็นเปอร์เซ็นต์
<i>S. agona</i>	9	8.85
<i>S. anatum</i>	18	7.69
<i>S. bovis-mobificans</i>	3	1.28
<i>S. derby</i>	76	32.48
<i>S. heidenberg</i>	2	0.85
<i>S. java</i>	21	8.98
<i>S. krefeld</i>	14	5.98
<i>S. lexington</i>	31	13.25
<i>S. london</i>	19	8.12
<i>S. senftenberg</i>	1	0.43
<i>S. typhimurium</i>	2	0.85
<i>S. virchow</i>	3	1.28
<i>S. weltevreden</i>	35	14.96
รวม	284	100

ที่มา : สุขใจ (2525)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.3 อายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์

ผลิตภัณฑ์หมักมีอายุการเก็บรักษาค่อนข้างสั้นประมาณ 1 สัปดาห์ที่อุณหภูมิห้อง เพราะมีความเหมาะสมต่อการเกิดกระบวนการหมัก หากเก็บไว้นานกว่านี้จะเกิดรสเปรี้ยวขึ้นจนไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค การเก็บหมักไว้ในที่อุณหภูมิต่ำจะยืดอายุการเก็บรักษาได้ แต่โดยปกติผลิตภัณฑ์หมักมักจะเก็บที่อุณหภูมิห้อง ดังนั้นตลาดของผลิตภัณฑ์นี้ต้องการผลิตภัณฑ์ที่จะมีอายุการเก็บรักษาที่ยาวนานขึ้น

2.4.4 กระบวนการหมักหมักไม่สามารถควบคุมได้

เนื่องจากการขาดความรู้และเทคโนโลยีในการจัดการเกี่ยวกับกระบวนการหมัก ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาและปรับปรุงวิธีการควบคุมกระบวนการหมัก เพื่อให้มีค่าความเป็นกรด-ด่างเหมาะสมสามารถบริโภคได้และเพื่อให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพสม่ำเสมอ

2.5 ประโยชน์ของการใช้ล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์

เนื้อสัตว์จัดเป็นอาหารประเภทที่เสื่อมเสียได้ง่าย (Perishable food) เนื่องจากมีสารอาหารและวิตามินที่อุดมสมบูรณ์ รวมทั้งมีค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) และความชื้น (aw) ที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในเนื้อสัตว์ที่ผ่านขั้นตอนการหั่น สับ บด ให้มีขนาดเล็กลง จุลินทรีย์ที่พบในเนื้อสัตว์ ได้แก่ แบคทีเรียในกลุ่ม phychrotrophic แกรมลบ เช่น *Pseudomonas sp.* *Acientobacter sp.* และ *Alcaligenes sp.* จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคมักพบในเนื้อสด ได้แก่ *Staphylococcus aerus* , *Salmonella spp.* *Clostridium botulinum* และ *Listeria monocytogenes* (Bacus และ Brown , 1981)

นอกจากนี้อุปกรณ์และเครื่องมือ รวมทั้งกระบวนการแปรรูปอาจทำให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์มากขึ้น กระบวนการในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมาในวัตถุดิบนั้นอาจทำได้โดยวิธีการต่างๆ เช่น การเก็บรักษาในห้องเย็น หรือการบรรจุลงในภาชนะสุญญากาศ และการเปลี่ยนแปลงสภาพบรรยากาศภายใน ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้ในการยืดอายุการเก็บเนื้อสัตว์ โดยอาศัยหลักการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อม และมีผลทำให้แบคทีเรียแลคติกที่เจริญขึ้นเป็น dominant ในการถนอมอาหาร เนื่องจากแบคทีเรียชนิดนี้สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ แต่ถ้าพบลักษณะไม่ดีในผลิตภัณฑ์ เช่น การเกิดกลิ่น รสชาติไม่ดี และเกิดเมือก จะแสดงถึงความล้มเหลวในการใช้แบคทีเรียแลคติกในผลิตภัณฑ์ แบคทีเรียแลคติกมีความสามารถในการสร้างสารยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นและสามารถยืดอายุในการเก็บ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลิตภัณฑ์ ดังนั้นการคัดเลือกสายพันธุ์แบคทีเรียแลคติกที่ใช้เป็นกล้าเชื้อสำหรับผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ จะต้องสามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญต่างๆ ได้แก่ กรดอินทรีย์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และ สารปฏิชีวนะต่างๆ เป็นต้น (วรพีศย์, 2535)

2.6 การใช้เชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นในการผลิตอาหารหมัก

พัฒนาการของการใช้กล้าเชื้อในอาหารหมักเริ่มต้นตั้งแต่ในอดีตพร้อมกับกระบวนการผลิตอาหารหมักซึ่งมีการถ่ายทอดเทคโนโลยีสืบทอดกันมาเป็นศตวรรษ การใช้เทคโนโลยีบริสุทธิ์เริ่มต้น ควรจะต้องคำนึงถึงปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่จะเพียงพอหรือมากพอที่จะแข่งขันกับจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในธรรมชาติ รวมทั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคด้วย ตลอดจนคำนึงถึงการควบคุมกระบวนการหมักให้เหมาะสม ซึ่งถ้าหากมีการควบคุมและปฏิบัติการดังกล่าวอย่างดีแล้ว ก็จะเป็นการประกันได้ว่าผลิตภัณฑ์เหล่านั้นปลอดภัย และมีคุณภาพมาตรฐานที่ดี (Bacus and Brown ,1981)

2.7 คุณสมบัติของกล้าเชื้อแลคติกโดยทั่วไป

กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่ดีควรมีคุณสมบัติโดยทั่วไปดังนี้

1. สามารถใช้น้ำตาลที่มีอยู่ในวัตถุดิบ และผลิตกรดได้ในระยะเวลาและปริมาณที่เหมาะสมกับผลิตภัณฑ์ชนิดนั้นๆ
 2. ผลิตสารที่ให้กลิ่นรสเฉพาะของอาหารหมักชนิดนั้นๆ
 3. อยู่ในสภาพที่เมื่อนำไปเป็นกล้าเชื้อจะสามารถเจริญแข่งขันกับจุลินทรีย์อื่นได้ดี
 4. คุณสมบัติที่สำคัญมากที่สุดข้อหนึ่ง คือ การปลอดจากฟาจ์ (phage)
- (นภา , 2535)

2.8 ประโยชน์ของการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกบริสุทธิ์เริ่มต้นในอาหารหมัก

1. แบคทีเรียแลคติกสามารถสร้างกรดอินทรีย์ เช่น กรดแลคติก กรดอะซิติก และสารประกอบจากกระบวนการเมทาบอลิซึม เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค และจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในผลิตภัณฑ์อาหารหมัก
2. แบคทีเรียแลคติกสามารถสร้างสารที่ให้กลิ่นรส และเนื้อสัมผัสเฉพาะตัวกับอาหารหมัก เช่น ไคโอะเซทิล อะเซทิลไฮด์ 2,3 บิวเทนไดคอล ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ใหม่ที่มีลักษณะเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. แบคทีเรียแลคติกสามารถสร้างแบคทีเรียโอซิน ที่เป็นสารประกอบเปปไทด์ เช่น ในซินไคโพลคอคซิน และริวทีริน เป็นต้น ซึ่งมีผลในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการได้ และสามารถใช้แทนยาปฏิชีวนะที่ใช้กับมนุษย์ จึงทำให้เชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคไม่มีการคืบคาน นอกจากนั้นสารเหล่านี้สามารถย่อยสลายได้โดยเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายโปรตีน เช่น ทริปซิน แพนครีเอติน เอนไซม์จากน้ำลายและกระเพาะอาหาร จึงไม่ทำให้เกิดอาการคืบคานในมนุษย์หรือสัตว์เลี้ยง

4.แบคทีเรียแลคติก สามารถส่งเสริมคุณค่าทางโภชนาการ และสุขภาพแก่ผู้บริโภคอาหารหมัก กล่าวคือ แบคทีเรียแลคติกจะย่อยสลายสารโมเลกุลใหญ่ หรือโพลีเมอร์ให้เป็นสาร โมเลกุลเล็ก ทำให้ผู้ป่วยหรือผู้บริโภค ได้รับสารอาหารมากขึ้น นอกจากนี้ยังสร้างสารที่ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอล ในเลือด (anticholesterol) และสารยับยั้งการแพร่กระจายของเนื้องอก (antitumor) ได้อีกด้วย

2.9 การใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก

การใช้กล้าแบคทีเรียแลคติกเพื่อแปรรูปผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์นั้น เริ่มภายหลังจากที่ได้มีการพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตกล้าเชื้อเพื่อใช้กับผลิตภัณฑ์นมหมักอย่างได้ผลดีแล้ว โดยเริ่มใช้กล้าเชื้อ *Pediococcus cerevisiae* หมักไส้กรอกเป็นครั้งแรกในประเทศสหรัฐอเมริกาในปี 1955 American Meat Institute Foundation ของสหรัฐอเมริกาได้มีการยอมรับการใช้กล้าเชื้อดังกล่าว จึงทำให้มีการใช้กล้าเชื้อนี้ในโรงงานแปรรูปผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์อย่างแพร่หลายในยุโรปและอเมริกา (Niinivaara, Pohja and Komulainen, 1964; Bacus and Brown, 1981) ปัจจุบันนี้สายพันธุ์ของเชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อและประสบผลสำเร็จ ได้แก่ *Micrococcus* (Niinivaara, 1955; Nurmi ,1966; Coretti,1977) *Lactobacillus* (Nurmi, 1966; Everson et al.1970; Bacus, 1984; Gilliland,1985; Gibb,1987) และ *Pediococcus* (Deibel and Niven, 1957 ,Bacus and Brown, 1987; Bacus, 1984; Gilliland, 1985; Gibb, 1987) เชื้อจุลินทรีย์ประเภท *Micrococcus* ถูกเลือกใช้เป็นเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น ด้วยเหตุผลที่ว่าเชื้อดังกล่าวมีกิจกรรมที่สามารถรีดิวซ์ไนเตรทเป็นไนไตรท์ได้ และสามารถปรับปรุงคุณภาพสีในแง่ที่ปรากฏกลิ่นที่ดีต่อผลิตภัณฑ์ ขณะที่ *Lactobacillus* และ *Pediococcus* ถูกเลือกใช้ด้วยเหตุผลที่เป็นจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตกรดอินทรีย์โดยเฉพาะกรดแลคติกได้

การใช้กล้าเชื้อในประเทศเยอรมันสำหรับผลิตภัณฑ์อาหารหมัก มีลักษณะเป็นเชื้อเดี่ยว และเชื้อผสมในกลุ่มของ *Lactobacillaceae* ซึ่งประกอบด้วยหลายสายพันธุ์ ได้แก่ *Lactobacillus sake*, *Lactobacillus plantarum* , *Pediococcus pentosaceus* และ *Pediococcus acidilacticiand* และในกลุ่มของ *Micrococcaceae* ได้แก่ *Micrococcus varians*, *Staphylococcus xylosus* และ *Staphylococcus carnosus* (Hammes et al, 1985; Hammes, 1986)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.10 วัตถุประสงค์ของการใช้ล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก

วัตถุประสงค์ของการใช้ล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักนั้น เพื่อให้มีระยะเวลาในการหมักน้อยลง ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพสม่ำเสมอ มีอายุการเก็บรักษาที่ยาวนาน และเพื่อสร้างความมั่นใจในคุณภาพของผลิตภัณฑ์ให้มีความปลอดภัยสูง

ในด้านความปลอดภัยและอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ขึ้นอยู่กับเทคนิค และการควบคุม ในระหว่างกระบวนการผลิต การหมักที่อุณหภูมิที่เหมาะสม รวมทั้งสร้างสภาพแวดล้อมของผลิตภัณฑ์ในระหว่างการหมัก เช่น การบรรจุในถุงพลาสติก ซึ่งล้วนแต่เป็นเทคนิคที่ทำให้เชื้อแบคทีเรียแลคติกสามารถเจริญได้ และใช้น้ำตาลเพื่อผลิตกรด ทำให้ความเป็นกรดต่างของผลิตภัณฑ์ลดลง ทำให้ผลิตภัณฑ์มีความคงทนต่อการเสื่อมเสียเนื่องจากจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค และพบว่าจุลินทรีย์ที่ทำให้ผลิตภัณฑ์เสื่อมเสียและจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคจะตายในที่สุด ในระหว่างการเก็บรักษา (Bacus, 1984; Bacus and Brown, 1985)

2.11 การผลิตแฮมแบบดั้งเดิม

การผลิตแฮมแบบดั้งเดิม มีการถ่ายทอดวิธีการผลิตจากบรรพบุรุษมาเรื่อยๆ ผลิตภัณฑ์มีความแปรผันจากรุ่นหนึ่งไปยังอีกรุ่นหนึ่งก่อให้เกิดความไม่สม่ำเสมอในผลิตภัณฑ์ อายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ค่อนข้างสั้น สาเหตุดังกล่าวส่วนใหญ่เนื่องมาจากการผลิตยังคงพึ่งพากิจกรรมของเชื้อจุลินทรีย์ตามธรรมชาติเป็นส่วนใหญ่ สุขลักษณะในการผลิตแฮมยังไม่ดีเท่าที่ควร เนื่องจากขาดความรู้ และเทคโนโลยีที่สามารถควบคุมและป้องกันการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์(อัญประยูร, 2537)

2.12 พัฒนาการของการผลิตแฮมจากอดีตจนถึงปัจจุบัน

กรรมวิธีการผลิตแฮมในทศวรรษที่ผ่านมา มีการพัฒนาไประดับหนึ่ง เนื่องจากแฮมไม่ได้ผลิตในระดับครัวเรือนเล็กๆอีกต่อไป แต่ได้ผลิตในระดับอุตสาหกรรมขนาดย่อม และอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ มีปริมาณการผลิตมากขึ้น โดยเฉพาะในเทศกาลพิเศษต่างๆ ในการผลิตเป็นปริมาณมากๆ มีการใช้เครื่องมือ เครื่องจักรช่วยบดผสมส่วนผสมต่างๆ มีการเปลี่ยนแปลงภาชนะบรรจุจากเดิมที่เคยใช้ใบตองกล้วยห่อ และมัดให้แน่นด้วยดอกลิ้น เปลี่ยนมาใช้ภาชนะพลาสติกแทน โดยอัดของผสมผ่านเครื่องบรรจุเนื้อที่ใช้ทำไส้กรอก ทำให้มองเห็นลักษณะเนื้อแฮมได้ชัดเจน มีการคิดเครื่องหมายการค้าว่าเป็นแฮมที่ผลิตโดยใคร และมีมาตรฐานอุตสาหกรรมสำหรับผลิตแฮม(มอก.1219-2537) ขึ้น เพื่อเป็นการประกันคุณภาพให้ผู้บริโภคได้ระดับหนึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.13 การศึกษาการใช้เชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นในการหมักแหนม

การศึกษาการผลิตแหนมโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น มีรายงานการศึกษาและการค้นคว้าตั้งแต่ปี พ.ศ. 2525 ที่ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ การหมักแหนมในปัจจุบันนี้ขึ้นกับเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในธรรมชาติ การศึกษาถึงเทคโนโลยีการใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นผสม อาจเป็นแนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์และปรับปรุงคุณภาพตลอดจนกรรมวิธีการผลิตในระดับอุตสาหกรรมได้ (ไพโรจน์, 2538)

อย่างไรก็ตาม แหนมที่ผลิตโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น อาจเกิดปัญหาในด้านคุณภาพและมาตรฐานของผลิตภัณฑ์เช่นกัน ถ้าหากไม่มีการควบคุมถึงส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์อื่นๆ ตลอดจนการควบคุมกระบวนการผลิต ดังนั้นการศึกษาถึงผลของส่วนประกอบอื่นๆ และการควบคุมกรรมวิธีการผลิตจึงนับได้ว่ามีความสำคัญยิ่ง ตลอดจนถึงการศึกษาถึงผลของการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ในสภาพต่างๆ และภาชนะบรรจุที่แตกต่างกัน

2.14 การพัฒนากรรมวิธีการผลิตแหนมโดยใช้เชื้อแลคติกเริ่มต้น

การเจริญเติบโตของการผลิตกรดของเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่เติมลงไป สภาพแวดล้อมเช่น อุณหภูมิ ในการหมักแหนมจะมีผลต่ออัตราเร็วในการผลิตกรดและจะเป็นตัวกำหนดการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่างของผลิตภัณฑ์และการผลิตกรดได้มากน้อยต่างกัน ดังนั้นการที่อุณหภูมิมีความแปรผันไปจากอุณหภูมิที่เหมาะสมจะทำให้เชื้อแบคทีเรียแลคติกมีการเจริญเติบโตช้า และปัจจัยที่ควรพิจารณาคือ ระยะเวลาในการหมักที่ควรมีการควบคุม เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่คุณภาพตรงตามความต้องการ เวลาที่จะใช้ในระยะเวลาการหมักก็จะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิเช่นกัน การหมุนเวียนของอากาศ ความชื้นสัมพัทธ์ ขนาดของภาชนะบรรจุภัณฑ์ก็มีความสำคัญเช่นกันต่ออัตราเร็วในการผลิตกรด ดังนั้นการควบคุมกรรมวิธีการผลิตและสภาพแวดล้อมจึงมีความสำคัญต่อกระบวนการผลิตแหนมโดยใช้เชื้อแบคทีเรียแลคติกเริ่มต้นผสม

2.15 คุณสมบัติสำคัญของแหนมที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียชนิดเป็นพิษในระหว่างการหมัก

1. ความเป็นกรด-ด่างของแหนมในระหว่างการหมักเมื่อแบคทีเรียแลคติกเจริญและเพิ่มจำนวนไปเรื่อย ๆ จะสร้างกรดแลคติกช่วยให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของแหนมจาก 6.4 เป็น 4.57 (อดิศร, 2533) และประมาณ 4.3 (Wiriyaacharee, 1990)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 2.เกลือโซเดียมไนเตรท/ไนไตรท์มีผลต่อการยับยั้งการเจริญการงอกของสปอร์ของ *Clostridium* (อคิสร, 2533)
3. กระเทียม มีผลในการเจริญและสร้างกรดของแบคทีเรียแลคติกและยังมีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ เช่น *Salmonella* และ *Staphylococcus aureus* (อคิสร , 2533)
4. ชนิดและปริมาณของเชื้อแบคทีเรียแลคติกมีผลต่อการสร้างกรดและสายพันธุ์ที่สามารถสร้างสารยับยั้ง bacteriocin ซึ่งช่วยทำลายแบคทีเรียชนิดเป็นพิษได้
5. ส่วนผสมต่าง ๆ รวมทั้งสภาวะในช่วงหมักหมมจะเป็น hurdle effect ช่วยให้สามารถผลิตหมกคุณภาพดีและปลอดภัยในการบริโภค



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 อุปกรณ์การทดลอง

3.1.1 อุปกรณ์การผลิตแทนม

1. เครื่องบดเนื้อหมู
2. เครื่องอัดแทนม
3. เครื่องตีปั่น (blender)
4. เครื่องชั่งน้ำหนัก (balance)
5. อุปกรณ์เครื่องครัว

อุปกรณ์วิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา

1. หม้อนึ่งความดันไอน้ำ
2. ตู้ปลอดเชื้อ
3. ตู้บ่มเชื้อ
4. ตู้อบไมโครเวฟ
5. water bath 45 องศาเซลเซียส
6. pH meter (DHM61) Denmark
8. เครื่องตีปั่น (stomacher)
9. อุปกรณ์เครื่องแก้ววิทยาศาสตร์
10. ตะเกียงแอลกอฮอล์
11. เข็มเขี่ยเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 เชื้อจุลินทรีย์

กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกสายพันธุ์ TISTR 536

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ

- 3.3.1 MRS agar (ภาคผนวก ก)
- 3.3.2 MRS broth (ภาคผนวก ก)
- 3.3.3 LST broth (ภาคผนวก ก)
- 3.3.4 EC broth (ภาคผนวก ก)
- 3.3.5 สารละลาย NaCl (ภาคผนวก ก)

3.4 ขั้นตอนการผลิตแหนมและวิธีการวิเคราะห์

3.4.1 ขั้นตอนการผลิตแหนม

3.4.1.1 ส่วนผสมการผลิตแหนม

1. หมูเนื้อแดง 650 กรัม
2. หนั๋งหมู 350 กรัม
3. ข้าวสวยหุงสุก 60 กรัม
4. กระเทียมสับ 50 กรัม
5. เกลือ 25 กรัม
6. โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 3 กรัม
7. โซเดียมแอสคอร์เบต 0.5 กรัม
8. โซเดียมไนไตรท์ 0.125 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.1.2 ขั้นตอนการผลิต

1. แหนมหนังหมูปด

1.1 นำเนื้อหมูและหนังหมูที่ผ่านการต้มมาคดให้ละเอียด

1.2 นำส่วนประกอบพวกข้าวสุก กระเทียม เกลือ ตามอัตราส่วนที่กำหนดมาคลุกเคล้ากับเนื้อหมูและหนังหมูให้เข้ากัน แบ่งออกเป็นสอง 2 ส่วนให้เท่าๆกัน

1.3 นำส่วนแรกมาบรรจุแบบตุ้มจืด น้ำหนักประมาณตุ้มละ 20 กรัม และบรรจุแบบแทงใหญ่ น้ำหนักประมาณแทงละ 140 กรัม

1.4 นำส่วนที่สองเติมกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกในอัตราส่วนปริมาณกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก 1 มิลลิลิตรต่อน้ำหนักเนื้อหมู 1 กิโลกรัม แล้วนำมาบรรจุแบบตุ้มจืดและแทงใหญ่
หมายเหตุ ในการบรรจุแบบตุ้มจืดและอัดแทงใหญ่ต้องระวังไม่ให้มีอากาศ

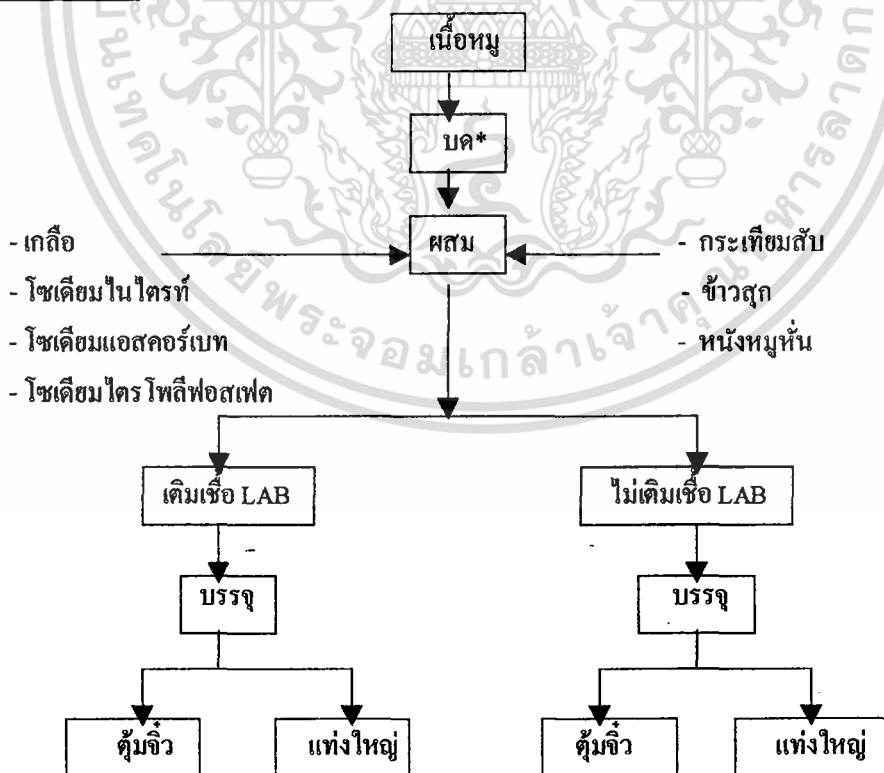
1.5 นำแหนมที่ได้บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน

2. แหนมหนังหมูหัน

วิธีการผลิตเหมือนแหนมหนังหมูปดเพียงแต่เปลี่ยนจากหนังหมูปดเป็นหนังหมูหัน

3.4.1.4 แผนภูมิการทำผลิตภัณฑ์แหนม

ขั้นตอนการผลิตแหนม



รูปที่ 4 แสดงขั้นตอนการผลิตแหนม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมายเหตุ * กรณีที่ทำเหมมหนังสือจะจดหนังสือกับเนื้อหามุมพร้อมกัน ในครั้งเดียว

ได้ผลิตภัณฑ์เหมมทั้งหมด 8 ลักษณะ คือ

1. เหมมหนังสือหั่น บรรจุแบบคัมจิ๋ว
2. เหมมหนังสือหั่น บรรจุแบบแท่งใหญ่
3. เหมมหนังสือหีบ บรรจุแบบคัมจิ๋ว
4. เหมมหนังสือหีบ บรรจุแบบแท่งใหญ่
5. เหมมหนังสือหั่น บรรจุแบบคัมจิ๋ว เดิมกล้าเชื้อ LAB
6. เหมมหนังสือหั่น บรรจุแบบแท่งใหญ่ เดิมกล้าเชื้อ LAB
7. เหมมหนังสือหีบ บรรจุแบบคัมจิ๋ว เดิมกล้าเชื้อ LAB
8. เหมมหนังสือหีบ บรรจุแบบแท่งใหญ่ เดิมกล้าเชื้อ LAB

3.4.2 วิธีการตรวจวิเคราะห์

3.4.2.1 การตรวจวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติกในกระบวนการผลิตเหมม

โดยนำผลิตภัณฑ์เหมมที่บ่มไว้ที่ระยะเวลา 0, 1, 2, 3 วันมาตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติก โดยใช้วิธี direct plate count ดังนี้

1. ชั่งตัวอย่างเหมม 25 กรัม ในถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ
2. เติมน้ำสำหรับเจือจาง 225 มิลลิลิตร ตีปั่นให้เข้ากัน โดย stomacher
3. ทำการเจือจางตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง 1:100, 1:1000 (ที่ระยะเวลาที่ 0) และทำการเจือจางตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง 10^{-4} - 10^{-6} ที่ระยะเวลาที่ 1,2,3 โดยปิเปิดตัวอย่าง 1 มิลลิลิตรลงในน้ำยาสำหรับเจือจาง (NaCl) ที่มีปริมาตรหลอดละ 9 มิลลิลิตร
4. ปิเปิดตัวอย่างแต่ละระดับความเจือจางหยดลงบน MRS Agar plate ระดับความเจือจาง ละ 2 plate plate ละ 0.1 มิลลิลิตร
5. ใช้แท่งแก้วรูปตัว L ที่ปราศจากเชื้อทำการเกลี่ยเชื้อบนอาหารให้ทั่วตามวิธี spread plate ให้ครบทุกระดับความเจือจางที่ต้องการ
6. บ่มเพาะเชื้อทั้งหมดใน candle jar ที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง
7. นำ plate มาตรวจนับจำนวน โคโลนี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.2.2 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณฟิคัลโคลิฟอร์มในกระบวนการผลิตแหนม

นำผลิตภัณฑ์แหนมที่บ่มไว้ที่ระยะเวลา 0,1,2,3 วัน มาทำการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณฟิคัลโคลิฟอร์ม โดยวิธี MPN ดังนี้

1. ชั่งตัวอย่างแหนม 25 กรัม ในถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ
2. เทน้ำยาสำหรับเจือจาง 225 มิลลิลิตร ตีปั่นให้เข้ากัน โดย stomacher
3. ทำการเจือจางตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง 1:100, 1:1000
4. ปิเปิดตัวอย่างแต่ละระดับความเจือจาง 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอด Lauryl sulfate broth (มีหลอด durham คว่ำอยู่ภายใน) ระดับความเจือจางละ 3 หลอด
5. นำไปบ่มเพาะเชื้อในตู้บ่มอุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง
6. หลังจากบ่มครบ 24 ชั่วโมง ให้อ่านผลของหลอดที่มีก๊าซเกิดขึ้นในหลอดดักก๊าซ ถ้าไม่พบให้บ่มต่อจนครบ 48 ชั่วโมง แล้วจึงนำมาอ่านผลอีกครั้ง
7. ทดสอบยืนยันผลฟิคัล โคลิฟอร์ม โดยใส่ตัวอย่าง 1 loop จากหลอดที่มีก๊าซลงไปหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ EC broth
8. บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 44-45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วตรวจสอบหลอดที่มีก๊าซเกิดขึ้น
9. ประเมินค่าฟิคัล โคลิฟอร์ม โดยเทียบกับตาราง MPN (ภาคผนวก ข)

3.4.2.3 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงกรด-ด่าง (pH) ในกระบวนการผลิตแหนม

นำแหนมที่บ่มที่ระยะเวลา 0,1,2,3 วัน มาตรวจสอบ โดยใช้ pH meter ดังนี้

1. ชั่งตัวอย่างแหนม 25 กรัม ใส่ถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ
2. เทน้ำยาสำหรับเจือจาง 225 มิลลิลิตร ตีปั่นให้เข้ากัน โดย stomacher
3. เทตัวอย่างลงไปนบีกเกอร์ประมาณ 100 มิลลิลิตร
4. นำตัวอย่างไปวัดค่า pH ด้วย pH meter

3.4.2.4 การศึกษาความสัมพันธ์การเจริญของแบคทีเรียแลคติกกับค่า pH ในกระบวนการผลิตแหนม

โดยนำค่าปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติกในกระบวนการผลิตแหนมที่ระยะเวลา 0,1,2,3 วัน มาสร้างกราฟความสัมพันธ์เปรียบเทียบกับค่า pH ที่ระยะเวลาการหมักที่ 0,1,2,3 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.2.5 การศึกษาความสัมพันธ์การเจริญของแบคทีเรียแลคติกกับปริมาณฟีคัลโคลิฟอร์มในกระบวนการผลิตเนม

โดยนำค่าปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติกในกระบวนการผลิตเนมที่ระยะเวลา 0,1,2,3 วัน มาสร้างกราฟความสัมพันธ์เปรียบเทียบกับปริมาณฟีคัลโคลิฟอร์มที่ระยะเวลาการหมักที่ 0,1,2,3 วัน



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

ตารางที่ 3 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ระหว่างการหมักผลิตภัณฑ์เหวมในรูปแบบต่างๆที่ระยะเวลา 0,1,2,3 วัน

ตัวอย่าง	pH (วัน)			
	0	1	2	3
เหวมหนังหมูบดไม่เติมกล้าเชื้อแลคติกอัดแบบตุ้มจืด	6.48	5.86	5.81	5.97
เหวมหนังหมูบดเติมกล้าเชื้อแลคติกอัดแบบตุ้มจืด	6.46	5.63	5.68	5.54
เหวมหนังหมูบดไม่เติมกล้าเชื้อแลคติกอัดแบบแห้งใหญ่	6.48	5.55	5.39	5.34
เหวมหนังหมูบดเติมกล้าเชื้อแลคติกอัดแบบแห้งใหญ่	6.46	5.64	5.53	5.18
เหวมหนังหมูหั่นไม่เติมกล้าเชื้อแลคติกอัดแบบตุ้มจืด	6.47	5.81	5.66	5.58
เหวมหนังหมูหั่นเติมกล้าเชื้อแลคติกอัดแบบตุ้มจืด	6.45	5.58	5.43	5.41
เหวมหนังหมูหั่นไม่เติมกล้าเชื้อแลคติกอัดแบบแห้งใหญ่	6.47	5.61	5.41	5.20
เหวมหนังหมูหั่นเติมกล้าเชื้อแลคติกอัดแบบแห้งใหญ่	6.45	5.45**	5.14**	5.08**

จากตารางแสดงการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ระหว่างการหมักที่ระยะเวลา 0,1,2,3 วันของผลิตภัณฑ์เหวมทั้ง 8 ลักษณะทำการเปรียบเทียบผลิตภัณฑ์เหวมทั้ง 8 ลักษณะดังนี้

1. ทำการเปรียบเทียบค่า pH ระหว่างผลิตภัณฑ์เหวมที่มีการเติมกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกและไม่มีการเติมกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกพบว่าผลิตภัณฑ์เหวมที่มีการเติมกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกการลดลงของค่า pH จะดีกว่าผลิตภัณฑ์เหวมที่ไม่มีการเติมกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก
2. ทำการเปรียบเทียบค่า pH ระหว่างผลิตภัณฑ์เหวมหนังหมูหั่นและผลิตภัณฑ์เหวมหนังหมูบดพบว่าผลิตภัณฑ์เหวมหนังหมูหั่นการลดลงของค่า pH จะดีกว่าผลิตภัณฑ์เหวมหนังหมูบด
3. ทำการเปรียบเทียบค่า pH ระหว่างผลิตภัณฑ์เหวมที่บรรจุแบบตุ้มจืดและบรรจุแบบแห้งใหญ่พบว่าผลิตภัณฑ์เหวมที่บรรจุแบบแห้งใหญ่การลดลงของ pH ดีกว่าผลิตภัณฑ์เหวมที่บรรจุแบบตุ้มจืด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

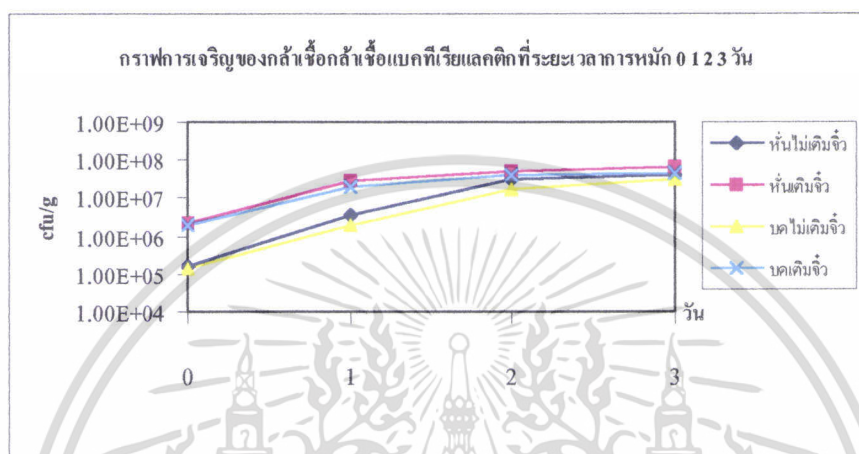
เวลาการหมักได้ จากผลการเปรียบเทียบการลดลงของค่า pH ของผลิตภัณฑ์แหมมหนึ่งหมูหั่นและผลิตภัณฑ์แหมมหนึ่งหมูปดและลักษณะการบรรจุคือการบรรจุแบบตุ้มจืดและการบรรจุแบบแท่งใหญ่พบว่า ผลิตภัณฑ์แหมมหนึ่งหมูหั่นการลดลงของค่า pH จะดีกว่าผลิตภัณฑ์แหมมหนึ่งหมูปดอาจเนื่องมาจาก ผลิตภัณฑ์แหมมหนึ่งหมูหั่นจะมีช่องว่างของอากาศภายในมากกว่าทำให้เกิดสภาพ microaerophilic ได้ดีแต่การหมักจะเกิดแบบหลวม ๆ ดังนั้นเมื่อเติมกลีเซอรีนและเกลือลงไปจะช่วยให้กระบวนการหมักเกิดขึ้นได้อย่างสมบูรณ์ การสร้างกรดเร็วขึ้นทำให้ pH ลดลงเร็วส่วนผลิตภัณฑ์แหมมหนึ่งหมูปด pH จะลดลงช้ากว่าอาจเนื่องมาจากว่าผลิตภัณฑ์แหมมหนึ่งหมูปดจะเกิดการเกาะรวมตัวกันระหว่างเนื้อหมูกับหนังหมูดี เกาะรวมตัวกันแน่นเหมาะกับการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแลคติก ดังนั้นเมื่อเติมกลีเซอรีนลงไป ผลิตภัณฑ์แหมมหนึ่งหมูปดจึงไม่ค่อยมีผลต่อการลดลงของค่า pH เท่าไรนักและลักษณะการบรรจุระหว่างการบรรจุแบบตุ้มจืดและการบรรจุแบบแท่งใหญ่จะเห็นว่า การบรรจุแบบแท่งใหญ่การลดลงของ pH จะดีกว่าอาจเนื่องมาจากแรงอัดของเครื่องจะทำให้ผลิตภัณฑ์แน่นสม่ำเสมอและสามารถควบคุมแรงอัดได้ทำให้เกิดสภาพ microaerophilic ได้ดีจึงเหมาะกับการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแลคติกส่วน การบรรจุแบบตุ้มจืดจะเป็นการใช้แรงงานคนในการอัดทำให้ไม่สามารถควบคุมแรงอัดให้สม่ำเสมอได้ ซึ่งอาจจะเป็นผลให้ไม่เกิดสภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแลคติก

ตารางที่ 4 แสดงการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแลคติกระหว่างการหมักผลิตภัณฑ์แหมมที่ระยะเวลา 0,1,2,3 วัน

ตัวอย่าง	Colony (cfu/g) (วัน)			
	0	1	2	3
แหมมหนึ่งหมูปด ไม่เติมกลีเซอรีนแลคติกอัดแบบตุ้มจืด	1.4×10^5	1.98×10^6	1.61×10^6	3.0×10^7
แหมมหนึ่งหมูปดเติมกลีเซอรีนแลคติกอัดแบบตุ้มจืด	2.0×10^6	1.9×10^7	3.8×10^7	4.5×10^7
แหมมหนึ่งหมูปด ไม่เติมกลีเซอรีนแลคติกอัดแบบแท่งใหญ่	1.4×10^5	2.8×10^6	3.7×10^7	4.5×10^7
แหมมหนึ่งหมูปดเติมกลีเซอรีนแลคติกอัดแบบแท่งใหญ่	2.2×10^6	3.2×10^7	4.0×10^7	4.8×10^7
แหมมหนึ่งหมูหั่น ไม่เติมกลีเซอรีนแลคติกอัดแบบตุ้มจืด	1.6×10^5	3.4×10^6	3.0×10^7	3.8×10^7
แหมมหนึ่งหมูหั่นเติมกลีเซอรีนแลคติกอัดแบบตุ้มจืด	2.3×10^6	2.8×10^7	5.0×10^7	6.1×10^7
แหมมหนึ่งหมูหั่น ไม่เติมกลีเซอรีนแลคติกอัดแบบแท่งใหญ่	1.6×10^5	3.9×10^6	4.3×10^7	4.8×10^7
แหมมหนึ่งหมูหั่นเติมกลีเซอรีนแลคติกอัดแบบแท่งใหญ่	2.3×10^6	4.1×10^7	5.5×10^7	6.4×10^7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 5 กราฟการเจริญของกล้าเชื้อกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่ระยะเวลาการหมัก 0 1 2 3 วัน
ของแหนมหน้หมูหัน, บค เต็มและ ไม่เต็มกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกอัดแบบตุ้มจิ๋ว



1. ความสัมพันธ์ของการเจริญของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกและค่า pH ใน

ผลิตภัณฑ์ แหนมหน้หมูหัน บรรจุแบบตุ้มจิ๋ว

ผลิตภัณฑ์ แหนมหน้หมูหัน บรรจุแบบตุ้มจิ๋ว เต็มกล้าเชื้อ LAB

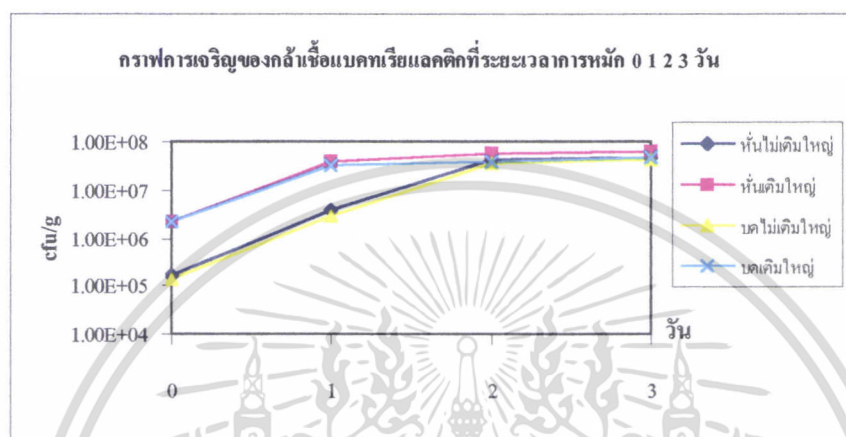
ผลิตภัณฑ์ แหนมหน้หมูบค บรรจุแบบตุ้มจิ๋ว

ผลิตภัณฑ์ แหนมหน้หมูบค บรรจุแบบตุ้มจิ๋ว เต็มกล้าเชื้อ LAB

จากผลการวิเคราะห์การเจริญเติบโตของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก ในผลิตภัณฑ์แหนมหน้หมูหัน และหน้หมูบคที่มีการเติมกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก การเจริญของจำนวนโคโลนีมีจำนวนมากกว่าในผลิตภัณฑ์แหนมหน้หมูหันและหน้หมูบคที่ไม่มีการเติมกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกในระยะเวลาการหมักในช่วงแรกและมีจำนวนโคโลนีใกล้เคียงกันในช่วงระยะเวลาการหมักวันที่ 3 เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบกับค่า pH แล้วพบว่าในผลิตภัณฑ์แหนมหน้หมูหันและแหนมหน้หมูบคที่มีการเติมกล้าเชื้อจะมีค่า pH ต่ำกว่า ซึ่งสามารถอธิบายได้ว่าการเติมกล้าเชื้อมีผลต่อการลดลงของค่า pH เนื่องจากว่าเชื้อแบคทีเรียแลคติกช่วยลดระยะเวลาในการหมักและสามารถผลิตกรดแลคติกได้เร็วขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 6 กราฟการเจริญของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่ระยะเวลาการหมัก 0 1 2 3 วัน
ของແໜ່ນໜັງໝູ່ຫິ້ນ, ບຸດ ເຕີມ ແລະ ໄມ່ເຕີມ ຄຳເຂົ້ອແບັກທີເຣີແລັກຕິກອັດແບບແຫ່ງໃຫຍ່



2. ความสัมพันธ์ของการเจริญของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกและค่า pH ใน

ผลิตภัณฑ์ แหนมหนังหมูหั่น บรรจุแบบแห้งใหญ่

ผลิตภัณฑ์ แหนมหนังหมูหั่น บรรจุแบบแห้งใหญ่ เติมกล้าเชื้อ LAB

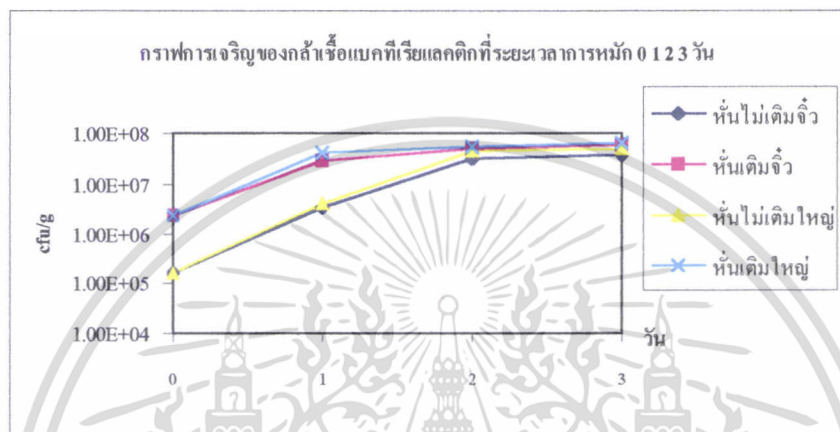
ผลิตภัณฑ์ แหนมหนังหมูบด บรรจุแบบแห้งใหญ่

ผลิตภัณฑ์ แหนมหนังหมูบด บรรจุแบบแห้งใหญ่ เติมกล้าเชื้อ LAB

จากผลการวิเคราะห์จากผลการวิเคราะห์การเจริญเติบโตของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก ในผลิตภัณฑ์ แหนมหนังหมูหั่นและหนังหมูบดที่มีการเติมกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก การเจริญของจำนวนโคโลนีมีจำนวนมากกว่าในผลิตภัณฑ์แหนมหนังหมูหั่นและหนังหมูบดที่ไม่มีการเติมกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก ในระยะเวลาการหมักในช่วงแรกและมีจำนวนโคโลนีใกล้เคียงกันในช่วงระยะเวลาการหมักวันที่ 3 เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบกับค่า pH แล้วพบว่าในผลิตภัณฑ์แหนมหนังหมูหั่นและแหนมหนังหมูบดที่มีการเติมกล้าเชื้อจะมีค่า pH ต่ำกว่า และเมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างแหนมหนังหมูหั่นและแหนมหนังหมูบด ค่า pH ในผลิตภัณฑ์แหนมหนังหมูหั่นจะมีค่า pH ต่ำกว่า ซึ่งสามารถอธิบายได้ว่า ในแหนมหนังหมูหั่น การรวมตัวกันระหว่างเนื้อหมูกับหนังหมูจะมีช่องว่างอากาศภายในเกิดขึ้น เมื่อมีการเติมกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกลงไปจะช่วยทำให้การหมักเกิดขึ้นได้เร็ว ในสภาวะ microaerophilic

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 7 กราฟการเจริญของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่ระยะเวลาการหมัก 0 1 2 3 วัน
ของແໜ່ນໜັງໝູ່ຫິ້ນ ເຕັມແລະ ໄມ່ເຕັມກ້ຳເຂົ້ອແບັກຕີເຣີແລັດຕິກອັດແບບຕຸ້ມຈີ້ວ
ແລະອັດແບບແຫ່ງໃຫຍ່



3. ความสัมพันธ์ของการเจริญของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกและค่า pH ใน

ผลิตภัณฑ์ แหนมหนັງໝູ່ຫິ້ນ ບຣຽຈູແບບຕຸ້ມຈີ້ວ

ผลิตภัณฑ์ แหนมหนັງໝູ່ຫິ້ນ ບຣຽຈູແບບຕຸ້ມຈີ້ວ ເຕັມກ້ຳເຂົ້ອ LAB

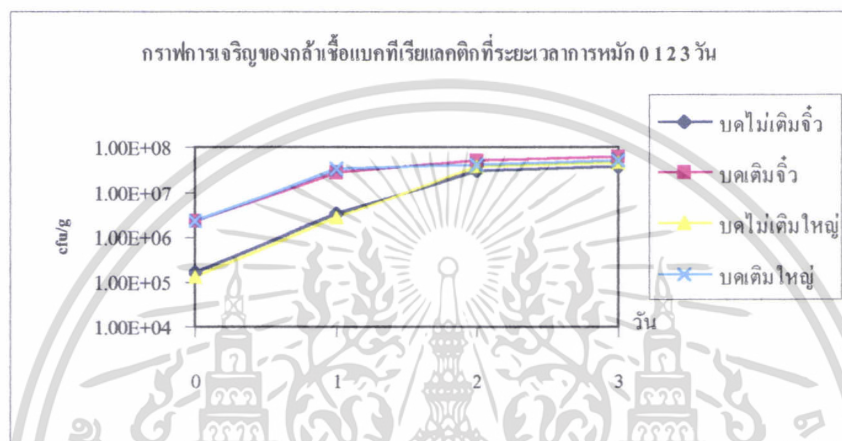
ผลิตภัณฑ์ แหนมหนັງໝູ່ຫິ້ນ ບຣຽຈູແບບແຫ່ງໃຫຍ່

ผลิตภัณฑ์ แหนมหนັງໝູ່ຫິ້ນ ບຣຽຈູແບບແຫ່ງໃຫຍ່ ເຕັມກ້ຳເຂົ້ອ LAB

จากผลการวิเคราะห์การเจริญเติบโตของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก ในผลิตภัณฑ์ແໜ່ນໜັງໝູ່ຫິ້ນ ບຣຽຈູແບບຕຸ້ມຈີ້ວ การเจริญเติบโตของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกจะมีจำนวนโคโลนีน้อยกว่าในผลิตภัณฑ์ແໜ່ນໜັງໝູ່ຫິ້ນ ບຣຽຈູແບບແຫ່ງໃຫຍ່ เมื่อพิจารณาเทียบกับค่า pH แหนมหนັງໝູ່ຫິ້ນອັດແຫ່ງໃຫຍ່มีค่า pH ต่ำสุด ซึ่งจะนำไปตามความสัมพันธ์ของจำนวนโคโลนีที่มีจำนวนมากที่สุดด้วย เนื่องจากว่าเชื้อแบคทีเรียแลคติกสามารถเจริญเติบโตได้ดีและผลิตรกรดได้ในระหว่างการหมักได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 8 กราฟการเจริญของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่ระยะเวลาการหมัก 0 1 2 3 วัน
ของແໜ່ນໜັງຮູບບຸດ ເຕັມ ແລະ ໄມ່ເຕັມ ຄ່າເຂົ້າແບັກທີເຣີແລັກຕິກອັດແບບຊຸ່ມຈີ້
ແລະອັດແບບແຫ່ງໂຫຼ່ຽ



4. ความสัมพันธ์ของการเจริญของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกและค่า pH ใน

ผลิตภัณฑ์ແໜ່ນໜັງຮູບບຸດ ບຣຽຈແບບຊຸ່ມຈີ້

ผลิตภัณฑ์ແໜ່ນໜັງຮູບບຸດ ບຣຽຈແບບຊຸ່ມຈີ້ ເຕັມຄ່າເຂົ້າ LAB

ผลิตภัณฑ์ແໜ່ນໜັງຮູບບຸດ ບຣຽຈແບບແຫ່ງໂຫຼ່ຽ

ผลิตภัณฑ์ແໜ່ນໜັງຮູບບຸດ ບຣຽຈແບບແຫ່ງໂຫຼ່ຽ ເຕັມຄ່າເຂົ້າ LAB

จากผลการวิเคราะห์การเจริญเติบโตของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก ในผลิตภัณฑ์ແໜ່ນໜັງຮູບບຸດບຣຽຈແບບແຫ່ງໂຫຼ່ຽที่มีการเติมกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกจะมีจำนวนโคโลนีมาก และมีค่า pH ต่ำที่สุด ซึ่งจะมีความสัมพันธ์กับจำนวนโคโลนีเนื่องจากเชื้อแลคติกที่มีจำนวนมากสามารถเจริญเติบโตและผลิตกรดในระหว่างการหมักได้อย่างรวดเร็ว

จากผลการวิเคราะห์ของผลิตภัณฑ์ແໜ່ນໜັງຮູບບຸດทั้งหมด สรุปได้ว่า การเติมกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกจะช่วยลดระยะเวลาในการหมักทำให้ແໜ່ນໜັງຮູບບຸດมีรสเปรี้ยวเร็วขึ้นและขนาดของແໜ່ນໜັງຮູບບຸດที่บຣຽຈແບບແຫ່ງໂຫຼ່ຽจะมีผลต่อการหมักของเชื้อแบคทีเรียแลคติกได้ดีกว่าແໜ່ນໜັງຮູບບຸດที่บຣຽຈແບບຊຸ່ມຈີ້อาจเนื่องจากการอัดແບບແຫ່ງໂຫຼ່ຽมีสภาวะที่เหมาะสมและช่วยในการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียแลคติกในสภาวะ microaerophilic

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 แสดงการวิเคราะห์หาค่า MPN ของฟิเคิล โคลิฟอร์มตามระยะเวลาการหมักที่เวลา 0 1 2 3 วันของแหนมหนังหมูปคเดิม(A)และไม่เดิม(B)กล้าเชื้อแลคติกบรจุแบบดุ่มจิว

เวลา (วัน)	ซ้ำ ที่	A			MPN/g	เวลา (วัน)	ซ้ำ ที่	B			MPN/ g
		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}				10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	
0	1	+++	+++	+++	>1100	0	1	+++	+++	+++	>1100
	2	+++	+++	+++	>1100		2	+++	+++	+++	>1100
1	1	+++	+-	+++	290	1	1	+++	+++	+++	>1100
	2	+++	+++	+++	>1100		2	+++	+++	+++	>1100
2	1	+++	+++	+++	>1100	2	1	+++	+++	+++	>1100
	2	+++	+++	+++	>1100		2	+++	+++	+-	1100
3	1	+++	+++	+-	1100	3	1	+++	+++	+-	1100
	2	+++	+-	+++	290		2	+++	+++	+++	>1100

ตารางที่ 6 แสดงการวิเคราะห์หาค่า MPN ของฟิเคิล โคลิฟอร์มตามระยะเวลาการหมักที่เวลา 0 1 2 3 วันของแหนมหนังหมูปคเดิม(C)และไม่เดิม(D)กล้าเชื้อแลคติกบรจุแบบแท่งใหญ่

เวลา (วัน)	ซ้ำ ที่	C			MPN/ g	เวลา (วัน)	ซ้ำ ที่	D			MPN/ g
		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}				10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	
0	1	+++	+++	+++	>1100	0	1	+++	+++	+++	>1100
	2	+++	+++	+++	>1100		2	+++	+++	+++	>1100
1	1	+++	+++	+-	1100	1	1	+++	+++	+++	>1100
	2	+++	+++	+++	>1100		2	+++	+++	+++	>1100
2	1	+++	+++	+++	>1100	2	1	+++	+++	+++	>1100
	2	+++	+-	+-	1100		2	+++	+++	+++	>1100
3	1	+++	+++	+-	460	3	1	+++	+++	+++	>1100
	2	+++	+-	+-	210		2	+++	+++	+++	>1100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 แสดงการวิเคราะห์หาค่า MPN ของฟิเคิล โคลิฟอร์มตามระยะเวลาการหมักที่เวลา 0 1 2 3 วันของเหวมหน้งหมูห้้นเดิม (E) และไม้เดิม (F) กล้าเชื้อแลคติกบรจุแบบค้่มจิว

เวลา (วัน)	ซ้่า ที่	E			MPN/ g	เวลา (วัน)	ซ้่า ที่	F			MPN/g
		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}				10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	
0	1	+++	+++	+++	>1100	0	1	+++	+++	+++	>1100
	2	+++	+++	+++	>1100		2	+++	+++	+++	>1100
1	1	+++	+++	+++	>1100	1	1	+++	+++	+++	>1100
	2	+++	+++	+++	>1100		2	+++	+++	+++	>1100
2	1	+++	+++	+++	>1100	2	1	+++	+++	+++	>1100
	2	+++	+++	+-	1100		2	+++	+++	+++	>1100
3	1	+++	+++	+++	>1100	3	1	+++	+++	+++	>1100
	2	+++	+++	+-	460		2	+++	+++	+-	1100

ตารางที่ 8 แสดงการวิเคราะห์หาค่า MPN ของฟิเคิล โคลิฟอร์มตามระยะเวลาการหมักที่เวลา 0 1 2 3 วันของเหวมหน้งหมูห้้นเดิม (G) และไม้เดิม (H) กล้าเชื้อแลคติกบรจุแบบเท้่งใหญ่

เวลา (วัน)	ซ้่า ที่	G			MPN/ g	เวลา (วัน)	ซ้่า ที่	H			MPN/ g
		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}				10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	
0	1	+++	+++	+++	>1100	0	1	+++	+++	+++	>1100
	2	+++	+++	+++	>1100		2	+++	+++	+++	>1100
1	1	+++	+++	+-	1100	1	1	+++	+++	+++	>1100
	2	+++	+++	+++	>1100		2	+++	+++	+++	>1100
2	1	+++	+++	+-	460	2	1	+++	+++	+++	>1100
	2	+++	+-	+++	290		2	+++	+++	+-	1100
3	1	+++	+-	+++	290	3	1	+++	+++	+-	1100
	2	+-	+++	+++	53		2	+++	+++	+++	>1100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการวิเคราะห์การหาค่า MPN ของฟิคัลโคลิฟอร์มของผลิตภัณฑ์นมทั้ง 8 ลักษณะจาก ตารางทั้ง 4 พบว่าการเติมกลีเซอรีนที่เรียลแลคติกสามารถลดจำนวนฟิคัลโคลิฟอร์มลงได้ระดับหนึ่ง การลดลงของค่า pH ที่รวดเร็วในตัวอย่างที่มีการเติมกลีเซอรีนที่เรียลแลคติกมีผลต่อการยับยั้งฟิคัลโคลิฟอร์มและจะเห็นได้ว่าในผลิตภัณฑ์นมหมักที่เติมกลีเซอรีนที่เรียลแลคติก การลดลงของฟิคัลโคลิฟอร์มจะลดลงมากกว่าผลิตภัณฑ์นมชนิดอื่น ๆ ซึ่งสอดคล้องกับค่า pH ที่มีค่าต่ำสุด แต่ไม่สามารถทำให้ฟิคัลโคลิฟอร์มที่ปนเปื้อนอยู่ในผลิตภัณฑ์นมคปไปในวันที่ 3 ของระยะการหมักได้ ทั้งนี้เนื่องจากว่าฟิคัลโคลิฟอร์มเป็นจุลินทรีย์ที่พบในธรรมชาติและในลำไส้ของสิ่งมีชีวิต วัตถุประสงค์ที่นำมาทำผลิตภัณฑ์ในแต่ละครั้งจะไม่มีควมสม่ำเสมออาจเกิดจากการปนเปื้อนของเชื้อในปริมาณที่ต่างกันจึงไม่สามารถควบคุมได้และวัตถุประสงค์ที่นำมาทำผลิตภัณฑ์นมหมักไม่ นิยมทำให้สุกก่อนการแปรรูปเพราะอาจเป็นการทำลายเชื้อที่เกี่ยวข้องกับการหมักและสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแลคติก

เนื่องจากฟิคัลโคลิฟอร์มเป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นตัวบ่งชี้ในด้านการสุขาภิบาลอาหารนอกจากนี้ อาจเป็นตัวบ่งชี้ถึงความเป็นโรคได้ด้วยเนื่องจากว่าฟิคัลโคลิฟอร์มเป็นเชื้อจุลินทรีย์พบในลำไส้ของ สิ่งมีชีวิตถ้าพบเชื้อฟิคัลโคลิฟอร์มปนเปื้อนในปริมาณสูง โอกาสที่จุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุในการเกิด โรคก็จะมีโอกาสเกิดขึ้นได้สูงเช่นเดียวกันอย่างเช่น *Salmonella* และ *Shigella* ซึ่งจะยังผลให้เป็น อันตรายต่อผู้บริโภค ดังนั้นการตรวจสอบการลดลงของฟิคัลโคลิฟอร์มจึงเป็นข้อมูลเพื่อใช้เป็นแนว ทางในการพัฒนา ค้นคว้าวิจัยหาเชื้อแบคทีเรียแลคติกสายพันธุ์อื่น ๆ ที่เหมาะสมและสามารถยับยั้ง ฟิคัลโคลิฟอร์มได้ดียิ่งขึ้น

บทที่ 5

สรุป

การศึกษาและการวิเคราะห์ผลของการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก ขนาดหนึ่งหมูและลักษณะการบรรจุต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง และการยับยั้งเชื้อฟิคัลโคลิฟอร์ม จากผลการวิเคราะห์สรุปได้ว่า การใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกมีผลต่อผลิตภัณฑ์แฮมหมูหั่นเดิมกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกบรรจุแบบแห้งใหญ่ ในการเปลี่ยนแปลงค่าของ pH ที่ลดลงทำให้แฮมมีรสเปรี้ยวและผลของการเดิมกล้าเชื้อเพื่อยับยั้งฟิคัลโคลิฟอร์มในผลิตภัณฑ์แฮมสามารถลดจำนวนของฟิคัลโคลิฟอร์มลงได้ในระดับหนึ่ง อาจเนื่องจากว่าปริมาณเชื้อฟิคัลโคลิฟอร์มเริ่มต้นที่ติดมากับวัตถุดิบมีจำนวนมากเกินไป ในการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกเพื่อยับยั้งฟิคัลโคลิฟอร์มจะต้องมีการควบคุมปริมาณเชื้อเริ่มต้นให้มีปริมาณน้อยโดยการควบคุมสุขลักษณะ การขนส่ง กระบวนการผลิต ภาชนะบรรจุ ตลอดจนพนักงานผู้ผลิต เพื่อลดการเสี่ยงต่ออันตรายของเชื้อโรคทางอาหารที่มีต่อผู้บริโภค

ดังนั้นการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกเริ่มต้นผสมในการผลิตแฮมจึงเป็นแนวทางในการพัฒนาการผลิต เพื่อให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคและเป็นแนวทางในการศึกษาการลดลงของเชื้อฟิคัลโคลิฟอร์มที่ปนเปื้อนมาในผลิตภัณฑ์ เพื่อจะได้นำไปปรับใช้ในการควบคุมกระบวนการผลิตแฮมต่อไป

อดิศร เสวตวิวัฒน์,ปรีชา จึงสมานกุล และ อรุณ บ้างตระกูลนนท์.2537. ซาลโมเนลลาในอาหาร
พร้อมบริโภค การประชุมวิชาการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ครั้งที่ 6 10-11 สิงหาคม 2537
ณ สถาบันวิทยาศาสตร์สาธารณสุขแห่งชาติ

อรนุช อุตริชาติ.2530. การคัดเลือกแบคทีเรียแลคติกซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของซาลโมเนลลา
และการผลิตกลิ่นเหม็นเพื่อใช้หมักแหนม. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
กรุงเทพมหานคร

A.O.A.C. 1995. Official Chemists Microbiological Methods. Washington, D.C.

Axelsson, L.T. 1993. Lactic Acid Bacteria . In Lactic Acid Bacteria , S. Salminier
and A.V Wright (ed), pp.20-37,128-130. New York: Marcel Dekke, Inc.

Bacus, J.N. 1984. Utilization of Microbiology in Meat Processing. Research studies Press,
Ltd., England.

Bacus, J.N. and Brown , W.L. 1981. Use of Microbial cultures : Meat Product Food Technology
35(1) : 74

Bacus, J.N. and Brown , W.L. 1985(a). The peddiococcus : meat product . P.85-95. In : Bacterial
Starter cultures for food. Edited by Gilliland, S.E., CRC press, Inc., Boca Ration, Florida

Bacus, J.N. and Brown , W.L. 1985(b). The peddiococcus : meat product . P.57-71. In : Bacterial
Starter cultures for food. Edited by Gilliland, S.E., CRC press, Inc., Boca Ration, Florida

Barber, L.E. and Deibel, R.H. 1972. The effect of pH and oxygen tension on Staphylococcus
growth and enterotoxin production in fermented sausage. Apple. Microbial., 24:891-896

Carl, S. 1979. Microbiology of food fermentation. 2 nd ed. USA. The AVI Publishing
CO. Inc. 384pp.

Dall, G.H., and Larry, R. 1993. Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria. USA. Academic Press, Inc

Niinivaara, F.p. 1955. The influence of pure bacteria culture on aging and changes of the red
Colour of dry sausage. Thesis, University of Helsinki, Finland, Acta Agralia, 32(8) 380-384

Niskanen, A. and Nurmi, E. 1976. Effect of starter culture on Staphylococcus enterotoxin and
thermonulease production in dry sausage. Appl. Microbal., 11-20

Nurmi, 1966. Effect of Bacterial inoculation on characteristic and microbial flora of dry sausage
Thesis, University of Helsinki, Finland, Acta Agralia Finnica No.108

Swetwathana, A. and N. Lonog. 1999. Selection of Lactic Acid Bacteria from Nham
(Thai Fermented Meat) . Processing of Internation 1, 1999. Chingmai, Thailand.
P III:543-548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

อาหารทุกสูตรใช้ผสมน้ำกลั่น 1 ลิตร นึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

สูตร MRS agar

MRS	52.2 กรัม
Agar	15 กรัม
CaCO ₃	10 กรัม
น้ำกลั่น	1 ลิตร

สูตร MRS broth

MRS	52.2 กรัม
CaCO ₃	10 กรัม
น้ำกลั่น	1 ลิตร

สูตร LST broth

LST	35.5 กรัม
น้ำกลั่น	1 ลิตร

สูตร EC broth

EC	37 กรัม
น้ำกลั่น	1 ลิตร

สารละลาย NaCl

Sodium Chloride	8.28 กรัม
น้ำกลั่น	1 ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์โดยวิธี MPN (Most Probable Number)

หลักการ

วิธี MPN เป็นวิธีการตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ที่มีชีวิตอยู่ในอาหารหรือน้ำ ซึ่งการใช้วิธีดังกล่าวนี้ใช้หลักการทางสถิติในการประเมินปริมาณจุลินทรีย์ ตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์วิธีนี้นักนำมาทำให้เจือจางระดับละ 10 เท่า เลือกระดับความเจือจางที่จะใช้ให้เหมาะสมกับตัวอย่างอาหารนั้นๆ เป็นเกณฑ์ตัดสินโดยเลือกความเจือจาง 3 ระดับติดกันโดยทั่วไปจะใช้ปริมาณตัวอย่างอาหารที่เจือจางในระดับต่างๆ ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในอาหารเหลวระดับความเจือจางละ 3 หลอดแล้วแต่จะเลือกใช้ ในกรณีที่ตัวอย่างอาหารมีการปนเปื้อนในปริมาณน้อย อาจเพิ่ม 2 เท่าของปกติ ตัวอย่างที่มีปริมาณจุลินทรีย์นิยมตรวจนับปริมาณด้วยวิธี MPN ได้แก่ จุลินทรีย์ในกลุ่มโคลิฟอร์ม (coliforms) ฟีคัล โคลิฟอร์ม (faecal coliforms) และ *E. coli*

วิธีการตรวจวิเคราะห์

ดังได้กล่าวมาแล้วว่าในตัวอย่างที่มีการปนเปื้อนของปริมาณจุลินทรีย์ต่ำ เช่น ตัวอย่างน้ำดื่มบรรจุขวดปิดสนิทต้องใช้ตัวอย่างอาหารมากในการตรวจวิเคราะห์จึงต้องใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่ความเข้มข้นถึง 2 เท่าในการตรวจหาเชื้อซึ่งการตรวจด้วยวิธีนี้ใช้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจางระดับละ 10 เท่าต่อเนื่องกัน 3 ระดับโดยใช้ตัวอย่างอาหาร 1 ml เพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวที่บรรจุในหลอดทดสอบระดับความเจือจางละ 3 หลอดบันทึกจำนวนหลอดที่ให้ผลบวกกับปฏิกิริยาที่เราต้องการทดสอบในแต่ละระดับความเจือจางไปอ่านค่าในตาราง MPN

การอ่านค่า MPN ของจุลินทรีย์ในตัวอย่างอาหาร

ตัวอย่างในการวิเคราะห์อาหารโดยใช้ระดับความเจือจาง 1:10 1:100 และ 1:1000 ระดับความเจือจางละ 3 หลอดพบว่าได้จำนวนหลอดที่ให้ผลบวกในแต่ละระดับเท่ากับ 2,2,1 ตามลำดับนำผลที่ได้ไปอ่านค่า MPN จากตารางที่ ซึ่งได้ค่า MPN / กรัม = 28

ตารางที่ ค่า MPN ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % เมื่อใช้ระดับความเจือจางละ 3 หลอด

หลอดที่ให้ผลบวก				หลอดที่ให้ผลบวก				หลอดที่ให้ผลบวก				หลอดที่ให้ผลบวก			
0.1	0.01	0.001	MPN	0.1	0.01	0.001	MPN	0.1	0.01	0.001	MPN	0.1	0.01	0.001	MPN
0	0	0	< 3	1	0	0	3.6	2	0	0	9.1	3	0	0	23
0	0	1	3	1	0	1	7.2	2	0	1	14	3	0	1	39
0	0	2	6	1	0	2	11	2	0	2	20	3	0	2	64
0	0	3	9	1	0	3	16	2	0	3	26	3	0	3	95
0	1	0	3	1	1	0	7.3	2	1	0	15	3	1	0	43
0	1	1	6.1	1	1	1	11	2	1	1	20	3	1	1	75
0	1	2	9.2	1	1	2	15	2	1	2	27	3	1	2	120
0	1	3	12	1	1	3	19	2	1	3	34	3	1	3	160
0	2	0	6.2	1	2	0	11	2	2	0	21	3	2	0	93
0	2	1	9.3	1	2	1	15	2	2	1	28	3	2	1	150
0	2	2	12	1	2	2	20	2	2	2	35	3	2	2	210
0	2	3	16	1	2	3	24	2	2	3	42	3	2	3	290
0	3	0	9.4	1	3	0	16	2	3	0	29	3	3	0	240
0	3	1	13	1	3	1	20	2	3	1	36	3	3	1	460
0	3	2	16	1	3	2	24	2	3	2	44	3	3	2	1100
0	3	3	19	1	3	3	29	2	3	3	53	3	3	3	>1100

ที่มา : AOAC (1992)

ถ้าในแต่ละระดับความเจือจางไม่มีหลอดใดให้ผลบวกเลย (0,0,0) ให้รายงานค่า MPN ต่อกรัมของตัวอย่างอาหารเป็นน้อยกว่า 3 (<3) แต่ถ้าทั้ง 3 ระดับความเจือจางที่ทำการทดลองให้ผลบวกหมดทุกหลอด (3,3,3) ให้รายงานค่า MPN ต่อกรัมของตัวอย่างอาหารว่ามากกว่า 1,100 (>1,100)

ในกรณีที่ตัวอย่างที่นำมาตรวจหาปริมาณจุลินทรีย์โดยวิธี MPN มีปริมาณจุลินทรีย์สูงมากจนไม่สามารถอ่านค่าได้ในระดับความเจือจาง 3 ระดับแรก (1:10, 1:100, 1:1000) ผู้วิเคราะห์ต้องเจือจางตัวอย่างอาหารมากขึ้นจนตัวอย่างอยู่ในระดับที่สามารถอ่านค่า MPN ได้ เช่นเมื่อทำการหาปริมาณจุลินทรีย์ของตัวอย่างอาหารชนิดหนึ่งโดยวิธี MPN โดยใช้ระดับความเจือจาง 5 ระดับคือ 10^{-1} - 10^{-5} ระดับความเจือจางละ 3 หลอด อ่านผลหลอดที่ให้ผลบวกได้ดังนี้ คือ 3, 3, 3, 2 และ 1 ตามลำดับนำค่าที่อ่านได้ 3 ระดับความเจือจางสุดท้าย คือ 3, 2, 1 ไปอ่านค่า MPN จากตารางที่ ได้ทำไคนำไปคูณด้วย dilution factor ของความเจือจางเริ่มต้นที่อ่านได้หารด้วย 10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\text{MPN / กรัม ของตัวอย่างอาหาร} = \frac{\text{ค่า MPN ที่อ่านจากตาราง} \times \text{dilution factor แรก}}{10}$$

ซึ่งจากตัวอย่าง หลอดที่ให้ผลบวก 3 ระดับความเจือจางสุดท้าย (3, 2, 1) มีค่า MPN = 150
 dilution factor ของระดับความเจือจางแรกที่เราอ่านคือ 1: 1,000
 ดังนั้น $\text{MPN / กรัม ของตัวอย่างอาหาร} = \frac{150 \times 1,000}{10}$
 $= 15,000$



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

นางสาวสุพินยา ทิพม่อม เกิดวันที่ 24 มกราคม 2521 จังหวัดสกลนคร สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนสกลราชวิทยานุกูล พ.ศ. 2540 ปัจจุบันศึกษาอยู่ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าคุณทหารลาดกระบัง ระดับปริญญาตรี หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต (สาขาเทคโนโลยีการหมัก)

นางสาวอังศุธร โยธา เกิดวันที่ 13 มกราคม 2522 จังหวัดนครปฐม สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนพระปฐมวิทยาลัย พ.ศ. 2540 ปัจจุบันศึกษาอยู่ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าคุณทหารลาดกระบัง ระดับปริญญาตรี หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต (สาขาเทคโนโลยีการหมัก)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้