

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 การคัดแยกแบคทีเรียกรดแลกติกจากที่สร้างสารแบคทีเรียโอซินจากอาหารหมักเนื้อ

1.1 การคัดแยกแบคทีเรียกรดแลกติกจากอาหารหมักเนื้อและการคัดแยกแบคทีเรียกรดแลกติกที่สร้างสารแบคทีเรียโอซิน

จากการแยกเชื้อจากแบคทีเรียกรดแลกติกจากอาหารหมักเนื้อชนิดต่างๆ ได้แก่ ไข่กรอกอีสาน จำนวน 5 ตัวอย่าง แหนมจำนวน 5 ตัวอย่าง และแหนมจากประเทศเวียดนามเรียกว่า เนมชัว (Nem Chua) จำนวน 5 ตัวอย่าง สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียกรดแลกติกได้จำนวน 250 ไอโซเลท พบว่า มี 1 ไอโซเลทที่สามารถสร้างสารแบคทีเรียโอซินยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบหลายชนิด ตั้งชื่อว่า ไอโซเลท KL-1 โดยสามารถยับยั้งเชื้อที่ทำให้อาหารและเนื้อสัตว์เน่าเสียได้แก่ *Lactobacillus plantarum* ATCC14917^T (6400 AU/ml) , (12800 AU/ml), *Lactobacillus sakei* subsp. *sakei* JCM1157^T (12800 AU/ml), , *Lactobacillus sakei* TISTR 890 (12800 AU/ml), *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* JCM6124^T (1600 AU/ml) , *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* TISTR942 (400 AU/ml) , *Enterococcus faecalis* JCM5803^T(6400 AU/ml) และ *Enterococcus faecalis* TISTR888 (6400 AU/ml) ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.1

สารที่แบคทีเรียกรดแลกติกสร้างออกมามีส่วนใหญ่เป็นกรดแลกติกและกรดอะซิติก (Franz *et al.* 1998) ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้ จึงมีการปรับค่าความเป็นกรดและด่างของสารละลายไฮโดรอกไซด์ให้มีสภาพเป็นกลางด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ก่อนนำมาทดสอบกิจกรรมในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ จึงเป็นการยืนยันได้ว่าผลการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบไม่ได้เกิดจากอิทธิพลของกรดอินทรีย์ (De Vuyst and Vandamme, 1994) Tagg *et al.* (1976) รายงานว่า แบคทีเรียโอซินเป็นสารประกอบโปรตีน ซึ่งมีคุณสมบัติในการออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียในชนิดเดียวกันหรือใกล้เคียงกับแบคทีเรียที่สร้างแบคทีเรียโอซินออกมา Ennahar *et al.* (1999) รายงานว่าการทำลายเซลล์เป้าหมายของแบคทีเรียโอซิน เกิดจากการที่แบคทีเรียโอซินแต่ละโมเลกุลมาอยู่ร่วมกัน ทำให้เกิดเป็นช่องว่างที่เชื่อมเซลล์เป้าหมาย ช่องว่างดังกล่าวทำให้เกิดการเสียสมดุลของไอออน สูญเสียกรดอะมิโนและสารประกอบอนินทรีย์ในกลุ่มฟอสเฟต ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญในการสร้างพลังงานของเซลล์

ตารางที่ 4.1 กิจกรรมสารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารแบคทีริโอซินที่สร้างจากไอโซเลท KL-1

Indicator microorganism	Bacteriocin activity (AU/mL)
<i>Lactobacillus plantarum</i> ATCC14917 ^T	6400
<i>Lactobacillus sakei</i> subsp. <i>sakei</i> JCM1157 ^T	12800
<i>Lactobacillus sakei</i> TISTR 890	12800
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> TISTR1344	0
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i> JCM6124 ^T	1600
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i> TISTR942	400
<i>Enterococcus faecalis</i> JCM5803 ^T	6400
<i>Enterococcus faecalis</i> TISTR888	6400
<i>Streptococcus</i> sp. TISTR1030	0
<i>Bacillus coagulans</i> JCM2257 ^T	0
<i>Bacillus coagulans</i> TISTR1447	0
<i>Listeria innocua</i> ATCC33090 ^T	0
<i>Brochotrix campestris</i> NBRC11547 ^T	0
<i>Staphylococcus aureus</i> TISTR118	0
<i>Pseudomonas fluorescens</i> JCM 5963 ^T	0
<i>Pseudomonas fluorescens</i> TISTR 358	0
<i>Aeromonas hydrophila</i> TISTR 1321	0

ATCC, American Type Culture Collection, Rockville;

JCM, Japan Collection of Micro-organisms, Wako, Japan;

NBRC, NITE Biological Resource Center, Chiba, Japan; TISTR, *Thailand Institute of Scientific and Technological Research*

1.2 การศึกษาคุณสมบัติของแบคทีเรียกรดแลกติกที่สร้างสารแบคทีริโอซินไอโซเลท KL-1

1.2.1 การจำแนกเชื้อแบคทีเรียกรดแลกติกที่สร้างสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

1.2.1.1 การศึกษาสัณฐานวิทยาและลักษณะทางกายภาพ

เมื่อนำไอโซเลท KL-1 มาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่าไอโซเลท KL-1 เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ลักษณะเป็นท่อนสั้น เชื้อไม่สร้างเอนไซม์อะเลส สามารถเจริญได้ตั้งแต่อุณหภูมิ 10- 42 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดต่าง 4.5 และ 9.6 เมื่อเปรียบเทียบกับ Bergey's

Manual (Kandler *et al.* 1986) พบว่า ไอโซเลท KL-1 จัดอยู่ในสกุล *Lactobacillus* spp. ผลการทดสอบแสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 การจำแนกสายพันธุ์ KL-1 โดยวิธีทางกายภาพ

Test	Results
Gram	+
Catalase	Negative
Morphology	Short rod
Growth temperature 10 °C	-
30 °C	+
37 °C	+
42 °C	+
NaCl concentration 1 %	+
2 %	+
3 %	+
4 %	+
5 %	+
pH 4.5	+
9.6	+

Remark : + growth, - not growth

1.2.1.2 การศึกษาทางชีวเคมี

จัดจำแนกชนิดของไอโซเลท KL-1 โดยศึกษากระบวนการหมักน้ำตาล ใช้ชุดจำแนกแบคทีเรียสำเร็จรูป API 50 CHL kit (bioMerieux) พบว่าไอโซเลท KL-1 หมักน้ำตาลได้หลายชนิด ได้แก่ glycerol, L-arabinose, D- ribose, D-galactose, D-glucose, D-fructose, D-mannose, D-manital, N-acetylglucosamine, Amygdalin, Arbutin, Esculin ferric citrate, Salicin, D-cellobiose, D-maltose, D-lactose, D-melibiose, D-saccharose (sucrose), D-trehalose, D-melezitose, D-raffinose, D-gentibiose and potassium gluconate เมื่ออ่านผลที่เกิดจากการหมักน้ำตาล 49 ชนิดและนำผลที่ได้ไปผ่านการประมวลด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูปสามารถจำแนกได้เป็น *Lactobacillus plantarum* ที่ระดับความเหมือน (% Identity) 95.1 เปอร์เซนต์ โดยผลการทดสอบแสดงในตารางที่ 4.3 อย่างไรก็ตามการยืนยันผลการจำแนกไอโซเลท KL-1 ด้วยวิธี 16S rDNA เนื่องจากว่าการจำแนกโดย

ศึกษากระบวนการหมักน้ำตาล โดยใช้ชุดจำแนกแบคทีเรียสำเร็จรูป API 50 CHL kit (bioMerieux) ยังเป็นข้อมูลที่ไม่เพียงพอสำหรับการจำแนกเชื้อ ดังนั้นจึงต้องมีการศึกษาโดยวิธี 16S rDNA เนื่องจากเป็นวิธีที่มีความน่าเชื่อถือมากกว่า เพราะสามารถทราบถึงระดับ interfamily และ interdivision ได้ (Pot *et al.* 1994)

ตารางที่ 4.3 การจำแนกสายพันธุ์ KL-1 โดยวิธีทางชีวเคมี

การทดสอบ	ไฮโดรเลท Sb2	
	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง
1. Control	-	-
2. Glycerol	+	+
3. Erythritol	-	-
4. D-arabinose	-	-
5. L-arabinose	+	+
6. D-ribose	+	+
7. D-xylose	-	-
8. L-xylose	-	-
9. D-adonitol	-	-
10. Methyl- β D-xylopyranoside	-	-
11. D-galactose	+	+
12. D-glucose	+	+
13. D-fructose	+	+
14. D-mannose	+	+
15. L-sorbose	-	-
16. L-rhamnose	-	?
17. Dulcitol	?	+
18. Inositol	-	-
19. D-mannitol	+	+
20. D-sorbitol	-	-
21. Methyl- α D-mannopyranoside	-	-
22. Methyl- α D-glucopyranoside	-	-
23. N-acetylglucosamine	+	+
24. Amygdalin	+	+

ตารางที่ 4.3 (ต่อ)

การทดสอบ	ไอโซเลท Sb2	
	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง
25. Arbutin	+	+
26. Esculin ferric citrate	+	+
27. Salicin	+	+
28. D-cellobiose	+	+
29. D-maltose	+	+
30. D-lactose(bovine origin)	+	+
31. D-melibiose	+	+
32. D-saccharose(sucrose)	+	+
33. D-trehalose	+	+
34. Inulin	-	-
35. D-melezitose	+	+
36. D-raffinose	+	+
37. Amidon (starch)	-	-
38. Glycogen	-	-
39. Xylitol	-	-
40. Gentiobiose	+	+
41. D-turanose	-	?
42. D-lyxose	-	-
43. D-tagatose	-	-
44. D-fucose	-	-
45. L-fucose	-	-
46. D-arabitol	-	-
47. L-arabitol	-	-
48. Potassium gluconate	+	+
49. Potassium 2-ketogluconate	-	-
50. Potassium 5-ketogluconate	-	-

Remark + fermented

- No fermented

? Non identified

1.2.1.3 การยืนยันผลการจำแนกไอโซเลท KL-1 โดยวิธี 16S rDNA

การจัดจำแนกแบคทีเรียโดยวิเคราะห์ลำดับเบสของยีน 16S rRNA โดยการเปรียบเทียบความเหมือน เนื่องจากในแบคทีเรียหรือสิ่งมีชีวิตทั่วไปจะมีไรโบโซม เป็นองค์ประกอบ โดยไรโบโซมของแบคทีเรียหรือโพรคาริโอต จะมีขนาด 70S ประกอบด้วยหน่วยย่อย 2 หน่วย คือ หน่วยใหญ่ 50S และหน่วยเล็ก 30S โดยในหน่วยใหญ่ 50S จะประกอบด้วย 23S rRNA ซึ่งมีจำนวนนิวคลีโอไทด์ประมาณ 2,900 นิวคลีโอไทด์ และมี 5S rRNA ซึ่งมีจำนวนนิวคลีโอไทด์ประมาณ 120 นิวคลีโอไทด์ ส่วนในหน่วยเล็ก 30S จะมี 16S rRNA ซึ่งจะมีจำนวนนิวคลีโอไทด์ประมาณ 1,500 นิวคลีโอไทด์ (ลัดดา เอกสมทราเมษฐ์, 2547) โดย rRNA จะทำหน้าที่ผลิตโปรตีนชนิดเดิมเสมอ และพบว่าการเปลี่ยนแปลงน้อยมากในแต่ละช่วงวิวัฒนาการ เนื่องจากว่าเป็นลำดับเบสอนุรักษ์ ดังนั้นจึงนำ 16S rRNA มาใช้ในการเปรียบเทียบความเหมือนหรือความสัมพันธ์ระหว่างสิ่งมีชีวิต (Madigan and Martino, 2006)

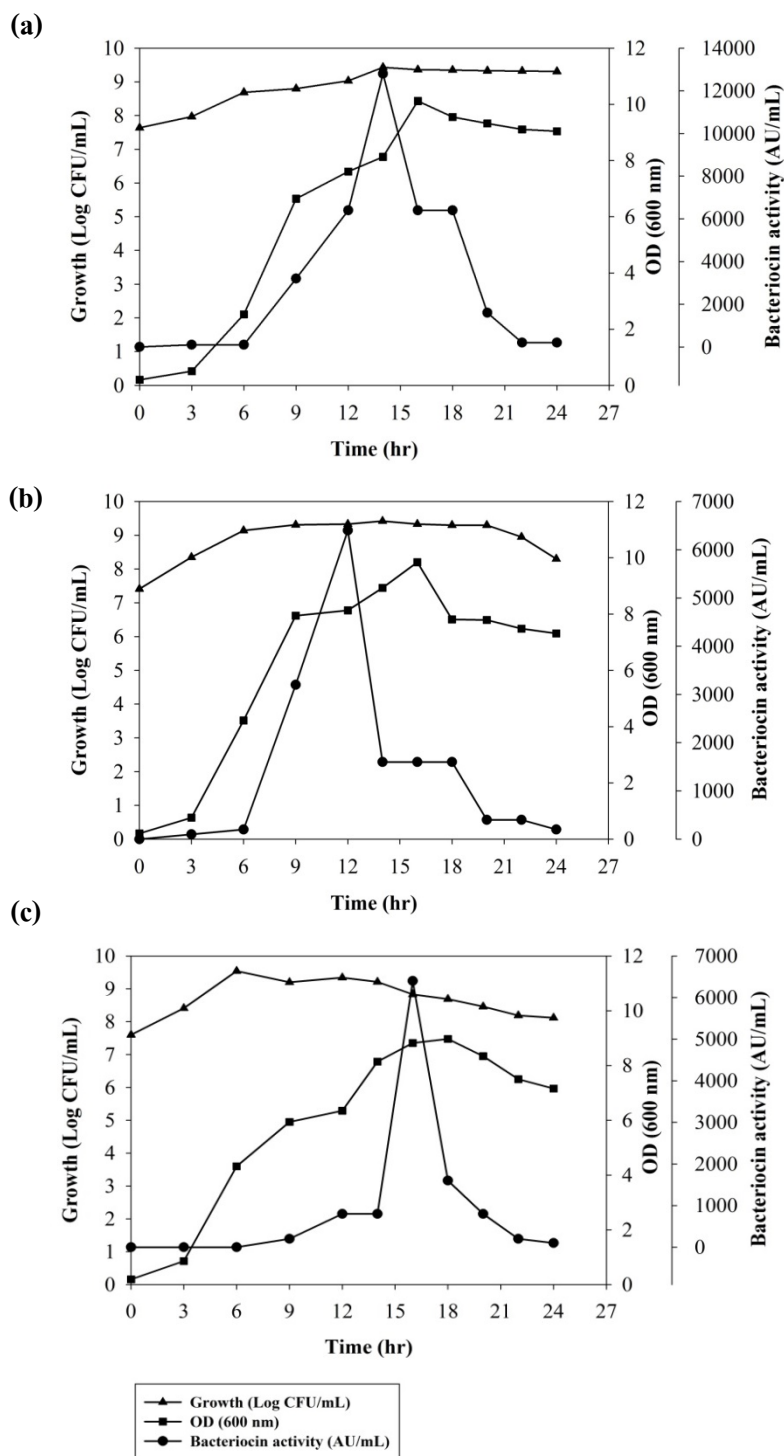
จากนั้นนำผลที่ได้จากการโคลนไปเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล 16S rDNA ของแบคทีเรียโดยใช้ฐานข้อมูลของ NCBI ในอินเทอร์เน็ต (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) เพื่อใช้ในการหาค่าเปอร์เซ็นต์ความคล้ายคลึงหรือความเหมือน (% Identity) และรายละเอียดต่างๆ ของแบคทีเรียที่ปรากฏในผลของการ BLASTN ผลการทดลองพบว่า ไอโซเลท KL-1 มีลำดับเบสความเหมือนกับสายพันธุ์ *Lactobacillus plantarum* JDMI (sbjct) ถึง 99% (Accession No. CP001617.1) แสดงดังภาพที่ 4.1 ดังนั้นจึงกำหนดชื่อสายพันธุ์ของแบคทีเรียดังกล่าวว่า *Lactobacillus plantarum* KL-1 ผลสรุปการจำแนกชนิดเชื้อไอโซเลท KL-1 แสดงดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 การจำแนกสายพันธุ์เชื้อไอโซเลท KL-1

	Characteristic
Morphology	Short rod
Biochem identification	เมื่ออ่านผลที่เกิดจากการหมักน้ำตาล 49 ชนิดและนำผลที่ได้ไปผ่านการประมวลด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ สำเร็จรูป 95.1%
16s rDNA	<i>Lb.plantarum</i> 99%

1.2.1.4 การทดสอบอุณหภูมิและระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการสร้างสารแบคทีเรียโอซินโดยไอโซเลท KL-1

เมื่อนำไอโซเลท KL-1 มาทดสอบการเลี้ยงที่อุณหภูมิต่างๆ ได้แก่ อุณหภูมิ 30, 37 และ 42 องศาเซลเซียส และหาระยะเวลาที่ไอโซเลท Sb2 สร้างสารแบคทีเรียโอซินได้มากที่สุด ผลปรากฏว่า จำนวนเซลล์ที่วัดได้จากค่าการดูดกลืนแสง (OD ที่ช่วงความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร) มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกันกับจำนวนเซลล์ในระหว่างการเจริญเติบโต ซึ่งที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ไอโซเลท KL-1 สามารถสร้างสารยับยั้งแบคทีเรียได้มากที่สุด (12,800 AU/ml) โดยใช้ระยะเวลาในการเจริญ 14 ชั่วโมง ส่วนที่อุณหภูมิ 37 และ 42 องศาเซลเซียส พบว่า ไอโซเลท KL-1 มีการสร้างสารยับยั้งแบคทีเรียต่ำกว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยมีค่ากิจกรรมการยับยั้งเท่ากับ 6400 AU/ml แสดงดังภาพที่ 4.1 (a, b และ c) ซึ่งพบว่าระยะการเจริญที่ไอโซเลท KL-1 สามารถสร้างสารแบคทีเรียโอซินได้สูงสุดคือ เข้าสู่ระยะ Stationary phase อย่างไรก็ตามเมื่อเลี้ยงเชื้อ ไอโซเลท KL-1 ที่อุณหภูมิ 37 และ 42 องศาเซลเซียส พบว่าเชื้อเข้าสู่ระยะ Stationary phase ได้เร็วกว่าการเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Cheigh et al. (2002) ซึ่งรายงานว่า การสร้างสารแบคทีเรียโอซินมีความสัมพันธ์กับระยะการเจริญของเชื้อที่สร้างสารแบคทีเรียโอซิน โดยอาจพบได้ในระยะกลางของช่วง exponential phase จนกระทั่งถึงช่วงปลายของระยะ exponential phase และระยะต้นของช่วง Stationary phase นอกจากนี้ Suma et al. (1998) รายงานว่าเชื้อ *L. plantarum* NCIM2084 สามารถสร้างสารแบคทีเรียโอซินได้สูงสุดเมื่อเชื้อเจริญในช่วงระยะปลาย exponential phase จนถึงระยะต้นของช่วง Stationary phase



ภาพที่ 4.1 ระยะและอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสร้างสารแบคทีริโอซินของเชื้อไอโซเลต KL-1 (a) 30 °C, (b) 37 °C และ (c) 42 °C

1.3 การทดสอบคุณสมบัติเบื้องต้นของสารแบคทีริโอซิน

1.3.1 การทดสอบการย่อยด้วยเอนไซม์ย่อยโปรตีน

จากคุณสมบัติเบื้องต้นแบคทีริโอซินมีคุณสมบัติเป็นโปรตีน ดังนั้นจึงมักถูกทำลายด้วยเอนไซม์ย่อยโปรตีน เมื่อทำการศึกษาผลของเอนไซม์ย่อยโปรตีนต่อสารยับยั้งแบคทีเรียที่ผลิตโดย ไอโซเลท KL-1 ในการยับยั้งเชื้อ *Lb. sakei* subsp. *sakei* JCM 1157^T โดยใช้เอนไซม์ trypsin, α -chymotrypsin และ proteinase K พบว่า สารยับยั้งจุลินทรีย์ที่สร้างจากไอโซเลท KL-1 ถูกทำลายด้วยเอนไซม์ trypsin, α -chymotrypsin และ proteinase K โดยมีค่ากิจกรรมการยับยั้งเท่ากับ 0, 0 และ 100 AU/ml ตามลำดับตามลำดับ โดยกิจกรรมการยับยั้งเชื้อของสารแบคทีริโอซินที่ศึกษามีค่าเริ่มต้น 12800 AU/ml ซึ่งคิดเป็นเปอร์เซ็นต์การถูกทำลายเท่ากับร้อยละ 100, 100 และ 99.2 การศึกษานี้เป็นการยืนยันผลว่าสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่สร้างจากไอโซเลท KL-1 นั้นคือ สารแบคทีริโอซิน เนื่องจากสารแบคทีริโอซินมีคุณสมบัติเป็นโปรตีน ดังนั้นจึงถูกทำลายด้วยเอนไซม์ที่ย่อยโปรตีน (Klaenhammer, 1988; Vaughan *et al.*, 2001) ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ผลของเอนไซม์ย่อยโปรตีนต่อกิจกรรมของสารแบคทีริโอซินในการยับยั้งเชื้อ *L. sakei* subsp. *sakei* JCM 1157^T

Proteolytic enzyme	Bacteriocin activity (AU/mL)
Control pH 7	12800
Control pH 3 (without adjusted pH)	12800
Trypsin	0
α -chymotrypsin	0
Proteinase K	0
Pepsin	100

1.3.2 การทดสอบความเสถียรของสารแบคทีริโอซินต่ออุณหภูมิสูงและต่ำ

เมื่อนำสารแบคทีริโอซินที่สร้างจากเชื้อไอโซเลท KL-1 ทดสอบความเสถียรที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ผลปรากฏว่า เมื่อให้ความร้อนที่เวลา 10 นาที ค่ากิจกรรมการยับยั้งยังคงที่ (12,800 AU/ml) และเมื่อให้ความร้อนผ่านไป 30 นาที ค่ากิจกรรมการยับยั้งลดลงร้อยละ 50 (6,400 AU/ml) ส่วนการทดสอบความเสถียรที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที ผลปรากฏว่า สารแบคทีริโอซินสามารถทนต่อความร้อนได้ แต่พบว่ามีความกิจกรรมการยับยั้งลดลงเหลือเพียง 400 AU/ml เมื่อนำสารแบคทีริโอซินทดสอบความเสถียรที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน ผลปรากฏว่า โดยในวันที่ 2 ค่ากิจกรรมการยับยั้งยังมีค่าคงที่ (12,800 AU/ml) และเมื่อเวลาผ่านไปในวันที่ 3 ค่ากิจกรรมการยับยั้งลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ (6,400 AU/ml) และเมื่อทำการทดลองจนถึงวันที่ 5 ผล

ปรากฏว่า ค่ากิจกรรมการยับยั้งลดลงเหลือเพียง 3,200 AU/ml และลดลงเหลือ 1600 AU/ml เมื่อเก็บแช่เย็นนาน 7 วัน ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.6 การทดสอบดังกล่าวเพื่อเป็นข้อมูลสำหรับการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารชนิดต่างๆ ในอนาคต ซึ่งในอุตสาหกรรมอาหารอาจผ่านกระบวนการความร้อนเพื่อฆ่าเชื้อหรือเพื่อทำให้อาหารสุกที่อุณหภูมิแตกต่างกันไป นอกจากนี้การทดสอบระยะเวลาของสารแบคทีเรียโอซินเมื่อเก็บแช่เย็นที่ระยะเวลาต่างๆ เนื่องจากในอุตสาหกรรมอาหารนั้นมักมีการเก็บรักษาอาหารที่ความเย็น ดังนั้นข้อมูลดังกล่าวนับว่าเป็นประโยชน์อย่างยิ่งหากมีการนำสารแบคทีเรียโอซินจากไอโซเลท KL-1 ไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารในอนาคต

ตารางที่ 4.6 ผลของความร้อนและความเย็นต่อกิจกรรมของสารแบคทีเรียโอซินในการยับยั้งเชื้อ

L. sakei subsp. *sakei* JCM 1157^T

Conditions	Bacteriocin activity (AU/mL)
Heat stability	
Control (100°C 5 min)	12800
100 °C 10 min	12800
100 °C 30 min	6400
100 °C 60 min	6400
121 °C 15 min	400
Chill stability (4 °C)	
Day 0	12800
1	12800
2	12800
3	6400
4	6400
5	3200
6	3200
7	1600
8	1600
9	1600
10	1600

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของสารแบคทีริโอซิน กรดแลกติก และสารแบคทีริโอซิน ร่วมกับกรดแลกติกในการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* sp., *E. coli* และ *S. aureus*

2.1 ทดสอบความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดแลกติก และสารแบคทีริโอซินในการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* sp., *E. coli* และ *S. aureus*

2.1.1 ประสิทธิภาพของสารละลายกรดแลกติกและสารแบคทีริโอซินในการยับยั้งเชื้อ

S. Anatum

จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารละลายกรดแลกติกและสารแบคทีริโอซิน โดยสารแบคทีริโอซินได้จากการนำส่วนใสที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงเชื้อ *Lb. plantarum* ที่เจริญ 18-20 ชั่วโมง (crude bacteriocin) ปรับค่าความเป็นกรดค้างให้อยู่ในช่วง 6-5-7 ในการยับยั้งเชื้อ *S. Anatum* พบว่ากลุ่มที่ไม่ได้ใช้สารละลายใดๆ (0 %) คือกลุ่มควบคุมพบการเพิ่มขึ้นของจำนวนเชื้ออย่างต่อเนื่อง โดยเมื่อเวลาผ่านไป 30 ชั่วโมง จำนวนเชื้อเพิ่มขึ้นประมาณ 2 log cfu/ml (จาก 6.13 log cfu/ml ใน ชั่วโมงที่ 0 เพิ่มขึ้นเป็น 8.32 log cfu/ml ใน ชั่วโมงที่ 30) กลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 1, 2 และ 3 % พบการเพิ่มขึ้นของเชื้อช้ากว่ากลุ่มแรก ($p < 0.05$) กลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 4% สามารถยับยั้งและทำลายเชื้อโดยไม่พบการเพิ่มขึ้นของเชื้อเมื่อระยะเวลาผ่านไป 18 ชั่วโมง แต่กลับพบการลดลงของเชื้อเมื่อเวลาผ่านไป 24 และ 30 ชั่วโมง ($p < 0.05$) (จาก 6.33 log cfu/ml ใน ชั่วโมงที่ 0 ลดลงเหลือเป็น 5.58 log cfu/ml ใน ชั่วโมงที่ 30) ส่วนการใช้สารแบคทีริโอซิน (pH 6.9) พบว่าไม่มีผลในการยับยั้งหรือทำลายเชื้อ *S. Anatum* แต่เมื่อใช้สารละลายกรดแลกติกร่วมกับสารแบคทีริโอซินพบว่ามีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารแบบเดี่ยว ซึ่งการใช้สารละลายกรดแลกติกที่ความเข้มข้น 1% และ 2% ร่วมกับ สารแบคทีริโอซินความเข้มข้น 2% มีแนวโน้มในการชะลอการเพิ่มจำนวนของเชื้อในชั่วโมงที่ 30 แต่ไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ($p > 0.05$) อย่างไรก็ตาม เมื่อใช้สารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 3% และ 4% ร่วมกับสารแบคทีริโอซินพบว่าสามารถลดจำนวนเชื้อ *S. Anatum* ในชั่วโมงที่ 24 และ 30 ($p < 0.05$) โดยพบจำนวนเชื้อจาก 6.35 log cfu/ml ใน ชั่วโมงที่ 0 ลดลงเหลือเป็น 4.75 log cfu/ml ใน ชั่วโมงที่ 30 เมื่อใช้สารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 4% ร่วมกับสารแบคทีริโอซิน ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 ประสิทธิภาพของสารละลายกรดแลกติกและสารแบคทีริโอซินในการยับยั้งเชื้อ *S. Anatum*

Treatment	จำนวนเชื้อ <i>Salmonella Anatum</i> (log cfu/ml)						
	pH	0 hr	6 hr	12 hr	18 hr	24 hr	30 hr
0 % lactic acid	7	6.13 ^{a,v}	7.42 ^{b,w}	7.45 ^{d,w}	8.32 ^{c,x}	8.43 ^{c,x}	8.32 ^{c,x}
1% lactic acid	6	6.16 ^{a,v}	7.33 ^{b,w}	7.38 ^{c,w}	7.68 ^{bc,w}	7.68 ^{b,w}	7.66 ^{b,w}
2% lactic acid	5.5	6.26 ^{ab,v}	7.32 ^{b,w}	7.38 ^{c,w}	7.36 ^{b,w}	7.33 ^{b,w}	7.30 ^{b,w}
3% lactic acid	5	6.28 ^{ac,v}	7.34 ^{b,z}	7.31 ^{b,z}	7.31 ^{b,z}	7.09 ^{b,w}	7.02 ^{b,w}
4% lactic acid	4.5	6.33 ^{c,w}	6.27 ^{a,vw}	6.20 ^{a,vw}	6.20 ^{a,vw}	5.70 ^{d,vw}	5.58 ^{a,v}
bacteriocin 2%	6.9	6.31 ^{a,v}	8.10 ^{c,w}	8.39 ^{c,w}	8.27 ^{c,w}	8.13 ^{c,w}	8.02 ^{d,w}
1% LA + 2% bacteriocin	5.7	6.32 ^{a,v}	7.40 ^{b,z}	7.24 ^{b,y}	7.16 ^{b,xy}	7.13 ^{b,x}	7.03 ^{c,w}
2% LA + 2% bacteriocin	5.3	6.36 ^{a,v}	7.38 ^{b,z}	7.27 ^{b,y}	7.13 ^{b,x}	7.08 ^{b,wx}	7.01 ^{c,w}
3% LA + 2% bacteriocin	4.8	6.33 ^{a,w}	7.29 ^{b,x}	7.19 ^{b,x}	7.12 ^{b,x}	7.06 ^{b,x}	5.56 ^{b,v}
4% LA + 2% bacteriocin	4.4	6.35 ^{a,z}	6.17 ^{a,y}	5.97 ^{a,x}	5.05 ^{a,w}	4.96 ^{a,w}	4.75 ^{a,v}

หมายเหตุ : a-d = ในแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

v-z = ในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

2.1.2 ประสิทธิภาพของสารละลายกรดแลกติกและสารแบคทีริโอซินในการยับยั้งเชื้อ

E. coli

จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารละลายกรดแลกติกและสารแบคทีริโอซินในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* พบว่ากลุ่มที่ไม่ได้ใช้สารละลายใดๆ (0 %) คือกลุ่มควบคุมพบการเพิ่มขึ้นของจำนวนเชื้ออย่างต่อเนื่อง โดยเมื่อเวลาผ่านไป 30 ชั่วโมง จำนวนเชื้อเพิ่มขึ้นประมาณ 2 log cfu/ml (จาก 6.25 log cfu/ml ในชั่วโมงที่ 0 เพิ่มขึ้นเป็น 8.04 log cfu/ml ในชั่วโมงที่ 30) ในทำนองเดียวกัน กลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 1% ไม่สามารถยับยั้งหรือทำลายเชื้อ *E. coli* ได้ กลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 2 % พบการเพิ่มขึ้นของเชื้อช้ากว่ากลุ่มแรก ($p < 0.05$) กลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 3 และ 4% สามารถยับยั้งและทำลายเชื้อโดยไม่พบการเพิ่มขึ้นของเชื้อเมื่อระยะเวลาผ่านไป 18 ชั่วโมง แต่กลับพบการลดลงของเชื้อเมื่อเวลาผ่านไป 24 และ 30 ชั่วโมง ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (จาก 6.34 log cfu/ml ในชั่วโมงที่ 0 ลดลงเหลือเป็น 5.62 log cfu/ml ในชั่วโมงที่ 30 เมื่อใช้สารละลายกรดแลกติกเข้มข้น 4%) ส่วนการใช้สารแบคทีริโอซิน (pH 6.9) พบว่าไม่มีผลในการยับยั้งหรือทำลายเชื้อ *E. coli* แต่เมื่อใช้สารละลายกรดแลกติกร่วมกับสารแบคทีริโอซินพบว่ามีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารแบบเดี่ยว ซึ่งการใช้สารละลายกรดแลกติกที่ความเข้มข้น 1% และ 2% ร่วมกับ สารแบคทีริโอซินความเข้มข้น 2% มี

แนวโน้มในการชะลอการเพิ่มจำนวนของเชื้อในชั่วโมงที่ 30 อย่างไรก็ตาม เมื่อใช้สารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 4% ร่วมกับสารแบคทีริโอซินพบว่าสามารถลดจำนวนเชื้อ *E. coli* ในชั่วโมงที่ 24 และ 30 ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยพบจำนวนเชื้อจาก 6.30 log cfu/ml ในชั่วโมงที่ 0 ลดลงเหลือเป็น 4.71 log cfu/ml ในชั่วโมงที่ 30 เมื่อใช้สารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 4% ร่วมกับสารแบคทีริโอซิน ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 ประสิทธิภาพของสารละลายกรดแลกติกและสารแบคทีริโอซินในการยับยั้งเชื้อ *E. coli*

Treatment	จำนวนเชื้อ <i>Escherichia coli</i> (log cfu/ml)						
	pH	0 hr	6 hr	12 hr	18 hr	24 hr	30 hr
0 % lactic acid	7	6.25 ^{a,v}	7.62 ^{b,w}	8.17 ^{d,x}	8.17 ^{d,x}	8.12 ^{c,x}	8.04 ^{d,x}
1% lactic acid	6	6.31 ^{ab,v}	7.75 ^{b,w}	8.17 ^{d,x}	8.17 ^{d,x}	8.14 ^{c,wx}	8.02 ^{d,wx}
2% lactic acid	5.5	6.41 ^{c,v}	7.42 ^{b,z}	7.38 ^{c,z}	7.28 ^{c,y}	7.13 ^{b,x}	7.01 ^{c,w}
3% lactic acid	5	6.31 ^{ab,w}	7.33 ^{b,z}	7.23 ^{b,y}	7.12 ^{b,z}	7.06 ^{b,x}	5.89 ^{b,v}
4% lactic acid	4.5	6.34 ^{bc,z}	6.31 ^{a,z}	6.12 ^{a,y}	5.91 ^{a,x}	5.76 ^{a,w}	5.62 ^{a,v}
bacteriocin 2%	6.9	6.26 ^{a,u}	7.56 ^{b,v}	8.16 ^{d,w}	8.18 ^{c,x}	8.13 ^{d,w}	8.08 ^{d,w}
1% LA + 2% bacteriocin	5.7	6.27 ^{a,u}	8.29 ^{c,y}	8.26 ^{dx,y}	8.13 ^{c,xy}	8.06 ^{b,vw}	7.95 ^{d,v}
2% LA + 2% bacteriocin	5.3	6.33 ^{a,u}	7.42 ^{b,y}	7.32 ^{c,x}	7.18 ^{b,x}	7.08 ^{c,v}	7.02 ^{c,v}
3% LA + 2% bacteriocin	4.8	6.30 ^{a,w}	7.26 ^{b,y}	7.17 ^{b,xy}	7.06 ^{b,y}	5.86 ^{b,v}	5.72 ^{b,v}
4% LA + 2% bacteriocin	4.4	6.30 ^{a,z}	6.18 ^{a,y}	6.02 ^{a,x}	5.85 ^{a,w}	4.71 ^{a,v}	4.59 ^{a,u}

หมายเหตุ : a-d = ในแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

u-z = ในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

2.1.3 ประสิทธิภาพของสารละลายกรดแลกติกและสารแบคทีริโอซินในการยับยั้งเชื้อ

S. aureus

จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารละลายกรดแลกติกและสารแบคทีริโอซินในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* พบว่ากลุ่มที่ไม่ได้ใช้สารละลายใดๆ (0 %) คือกลุ่มควบคุมพบการเพิ่มขึ้นของจำนวนเชื้ออย่างต่อเนื่อง โดยเมื่อเวลาผ่านไป 30 ชั่วโมง จำนวนเชื้อเพิ่มขึ้นประมาณ 2 log cfu/ml (จาก 6.33 log cfu/ml ในชั่วโมงที่ 0 เพิ่มขึ้นเป็น 8.02 log cfu/ml ในชั่วโมงที่ 30) ในทำนองเดียวกัน กลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 1% ไม่สามารถยับยั้งหรือทำลายเชื้อ *S. aureus* ได้ กลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 2 % พบการเพิ่มขึ้นของเชื้อช้ากว่ากลุ่มแรก กลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 3 และ 4% สามารถยับยั้งและทำลายเชื้อโดยไม่พบการเพิ่มขึ้นของเชื้อเมื่อระยะเวลาผ่านไป 18 ชั่วโมง แต่กลับพบการลดลงของเชื้อเมื่อเวลาผ่านไป 24 และ 30 ชั่วโมง ($p < 0.05$)

เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (จาก 6.28 log cfu/ml ในชั่วโมงที่ 0 ลดลงเหลือเป็น 4.61 log cfu/ml ในชั่วโมงที่ 30 เมื่อใช้สารละลายกรดแลกติกเข้มข้น 4%) ส่วนการใช้สารแบคทีริโอซิน (pH 6.9) พบว่าไม่มีผลในการยับยั้งหรือทำลายเชื้อ *S. aureus* แต่เมื่อใช้สารละลายกรดแลกติกร่วมกับสารแบคทีริโอซินพบว่ามีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อใกล้เคียงกับสารละลายกรดแลกติก ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9 ประสิทธิภาพของสารละลายกรดแลกติกและสารแบคทีริโอซินในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus*

Treatment	จำนวนเชื้อ <i>Staphylococcus aureus</i> (log cfu/ml)						
	pH	0 hr	6 hr	12 hr	18 hr	24 hr	30 hr
0 % lactic acid	7	6.33 ^{a,u}	7.62 ^{b,v}	8.22 ^{d,w}	8.18 ^{d,w}	8.11 ^{d,w}	8.02 ^{d,vw}
1% lactic acid	6	6.32 ^{a,u}	8.27 ^{c,x}	8.20 ^{d,x}	8.11 ^{d,w}	8.07 ^{d,vw}	8.02 ^{d,v}
2% lactic acid	5.5	6.32 ^{a,u}	7.26 ^{b,v}	7.19 ^{c,v}	7.15 ^{c,v}	7.10 ^{c,v}	7.17 ^{c,v}
3% lactic acid	5	6.30 ^{a,z}	6.24 ^{a,y}	6.16 ^{b,x}	6.08 ^{b,w}	6.01 ^{b,v}	5.90 ^{b,v}
4% lactic acid	4.5	6.28 ^{a,y}	6.22 ^{a,y}	6.08 ^{a,x}	5.95 ^{a,w}	4.81 ^{a,v}	4.61 ^{a,v}
bacteriocin 2%	6.9	6.29 ^{a,u}	7.66 ^{b,v}	8.23 ^{c,w}	8.16 ^{e,x}	8.13 ^{d,w}	8.07 ^{d,vw}
1% LA + 2% bacteriocin	5.7	6.32 ^{ab,u}	8.29 ^{c,z}	8.23 ^{c,y}	8.12 ^{d,x}	8.05 ^{d,w}	8.01 ^{d,v}
2% LA + 2% bacteriocin	5.3	6.29 ^{a,u}	7.25 ^{b,y}	7.20 ^{b,x}	7.16 ^{c,x}	7.11 ^{c,w}	7.03 ^{c,v}
3% LA + 2% bacteriocin	4.8	6.38 ^{b,w}	7.26 ^{b,y}	7.16 ^{b,x}	5.96 ^{b,v}	5.88 ^{b,v}	4.71 ^{b,u}
4% LA + 2% bacteriocin	4.4	6.32 ^{ab,y}	6.23 ^{a,y}	6.05 ^{a,x}	5.92 ^{a,w}	4.72 ^{a,v}	4.56 ^{a,u}

หมายเหตุ : a-d = ในแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

u-z = ในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

2.2 ประสิทธิภาพของสารยับยั้งจุลินทรีย์ (Crude bacteriocin) จากเชื้อ *Lb. plantarum* กรดแลกติก และสารแบคทีริโอซินร่วมกับกรดแลกติกในการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* sp., *E. coli* และ *S. aureus*

จากตารางที่ 4.10 จากการศึกษาสารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 2 และ 4 % และสารยับยั้งจุลินทรีย์ หรือ Crude bactericon ในการยับยั้งเชื้อ *S. Anatum* ซึ่งสารยับยั้งจุลินทรีย์ได้มาจากส่วนของเชื้อ *Lb. plaantarum* โดยไม่ผ่านการปรับค่าความเป็นกรดต่าง ทำให้สารยับยั้งจุลินทรีย์ดังกล่าวมีความเป็นกรด ผลการทดลองพบว่า สารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 4% สามารถยับยั้งเชื้อ

S. Anatum เมื่อระยะเวลาที่สารสัมผัสเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยระยะเวลาที่ 0, 12 และ 24 ชั่วโมง จำนวนเชื้อมีค่า 6.27, 6.15 และ 5.97 log cfu/ml ตามลำดับ ในขณะที่ความเข้มข้น 0 และ 2% พบการเพิ่มขึ้นของเชื้อเมื่อระยะเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง ($P < 0.05$) เช่นเดียวกัน ผลการทดลองพบว่า crude bacteriocin ความเข้มข้น 2% สามารถยับยั้งเชื้อ *S. Anatum* ได้เช่นกัน โดยระยะเวลาที่ 0, 12 และ 24 ชั่วโมง จำนวนเชื้อมีค่า 6.26, 5.95 และ 5.33 log cfu/ml ตามลำดับ เมื่อใช้สารละลายกรดแลกติกร่วมกับ crude bacteriocin พบว่าจำนวนเชื้อลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางที่ 4.10 ประสิทธิภาพของสารยับยั้งจุลินทรีย์ (Crude bacteriocin) จากเชื้อ *Lb. plantarum* กรดแลกติก และสารเบคเทอริโอซินร่วมกับกรดแลกติกในการยับยั้งเชื้อ *S. Anatum*

Treatment	จำนวนเชื้อ <i>Salmonella Anatum</i> (log cfu/ml)			
	pH	0 hr	12 hr	24 hr
0 % lactic acid	7	6.26 ^{b,y}	7.96 ^{c,z}	8.36 ^{c,z}
2% lactic acid	6	6.30 ^{b,y}	7.24 ^{b,y}	8.01 ^{c,z}
4% lactic acid	5.5	6.27 ^{b,y}	6.15 ^{b,y}	5.97 ^{b,y}
Crude bacteriocin 2%	5.4	6.26 ^{b,y}	5.95 ^{b,y}	5.33 ^{b,y}
2% LA + 2% crude bacteriocin	4.3	6.23 ^{b,y}	5.13 ^{b,y}	4.04 ^{a,x}
4% LA + 2% crude bacteriocin	4	6.21 ^{b,y}	4.90 ^{a,x}	3.76 ^{a,x}

หมายเหตุ : a-c = ในแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

x-z = ในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

จากตารางที่ 4.11 ผลการทดลองพบว่าสารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 2% ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* โดยพบการเพิ่มขึ้นของเชื้อ *E. coli* ในกลุ่มที่ใช้กรดแลกติกความเข้มข้นที่ 0 (กลุ่มควบคุม) และ 2 % เมื่อระยะเวลาผ่านไป 12 และ 24 ชั่วโมง ($p < 0.05$) อย่างไรก็ตามพบว่าสารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 4%, crude bacteriocin ความเข้มข้น 2% และการใช้สารละลายกรดแลกติกร่วมกับ crude bacteriocin สามารถยับยั้งและลดเชื้อ *E. coli* ($p < 0.05$) โดยที่ระยะเวลาที่สารสัมผัสเชื้อเป็นเวลา 0, 12 และ 24 ชั่วโมง กลุ่มที่ใช้ crude bacteriocin มีจำนวนเชื้อ 6.20, 6.28 และ 5.11 log cfu/ml ตามลำดับ กลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลกติก (2%) ร่วมกับ crude bacteriocin (2%) มีจำนวนเชื้อ 6.24, 5.15 และ 4.05 log cfu/ml ตามลำดับ ส่วนกลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลกติก (4%) ร่วมกับ crude bacteriocin (4%) มีจำนวนเชื้อ 6.19, 5.03 และ 3.69 log cfu/ml ตามลำดับ

ตารางที่ 4.11 ประสิทธิภาพของสารยับยั้งจุลินทรีย์ (Crude bacteriocin) จากเชื้อ *Lb. plantarum* กรดแลกติก และสารแบคทีริโอซินร่วมกับกรดแลกติกในการยับยั้งเชื้อ *E. coli*

Treatment	จำนวนเชื้อ <i>Escherichia coli</i> (log cfu/ml)			
	pH	0 hr	12 hr	24 hr
0 % lactic acid	7	6.17 ^{a,x}	8.23 ^{c,z}	8.38 ^{c,z}
2% lactic acid	6	6.12 ^{a,x}	7.15 ^{b,y}	8.12 ^{c,z}
4% lactic acid	5.5	6.21 ^{a,x}	6.16 ^{a,x}	4.81 ^{b,x}
Crude bacteriocin 2%	5.4	6.20 ^{a,x}	6.28 ^{a,x}	5.11 ^{b,y}
2% LA + 2% crude bacteriocin	4.3	6.24 ^{a,x}	5.15 ^{b,y}	4.05 ^{b,x}
4% LA + 2% crude bacteriocin	4	6.19 ^{a,x}	5.03 ^{b,y}	3.69 ^{b,x}

หมายเหตุ : a-c = ในแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

x-z = ในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ผลการศึกษาการใช้สารละลายกรดแลกติกและ crude bacteriocin ต่อจำนวนเชื้อ *S. aureus* แสดงในตารางที่ 4.12 ผลการทดลองให้ผลในทำนองเดียวกันกับการยับยั้งเชื้อ *S. Anatum* และ *E. coli* ซึ่งสารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 0 และ 2 % ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* แต่ที่ความเข้มข้น 4% สามารถทำลายเชื้อเมื่อระยะเวลาที่สารสัมผัสเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ($p < 0.05$) โดยที่ระยะเวลา 0, 12 และ 24 ชั่วโมง มีจำนวนเชื้อ 6.22, 6.13 และ 4.79 log cfu/ml นอกจากนี้ยังพบว่า crude bacteriocin สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และเมื่อใช้กรดแลกติกร่วมกับ crude bacteriocin พบว่ามีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อมากขึ้น โดยที่ระยะเวลาที่สารสัมผัสเชื้อเป็นเวลา 0, 12 และ 24 ชั่วโมง กลุ่มที่ใช้ crude bacteriocin มีจำนวนเชื้อ 6.23, 6.93 และ 5.09 log cfu/ml ตามลำดับ กลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลกติก (2%) ร่วมกับ crude bacteriocin (2%) มีจำนวนเชื้อ 6.27, 5.17 และ 4.13 log cfu/ml ตามลำดับ ส่วนกลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลกติก (4%) ร่วมกับ crude bacteriocin (4%) มีจำนวนเชื้อ 6.21, 4.07 และ 3.63 log cfu/ml ตามลำดับ

ตารางที่ 4.12 ประสิทธิภาพของสารยับยั้งจุลินทรีย์ (Crude bacteriocin) จากเชื้อ *Lb. plantarum* กรดแลคติก และสารแบคทีริโอซินร่วมกับกรดแลคติกในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus*

Treatment	จำนวนเชื้อ <i>Staphylococcus aureus</i> (log cfu/ml)			
	pH	0 hr	12 hr	24 hr
0 % lactic acid	7	6.28 ^{a,x}	8.22 ^{c,z}	8.36 ^{c,z}
2% lactic acid	6	6.27 ^{a,x}	7.21 ^{a,y}	8.17 ^{c,z}
4% lactic acid	5.5	6.22 ^{a,y}	6.13 ^{a,y}	4.79 ^{b,x}
Crude bacteriocin 2%	5.4	6.23 ^{a,x}	6.93 ^{a,y}	5.09 ^{b,y}
2% LA + 2% crude bacteriocin	4.3	6.27 ^{a,x}	5.17 ^{b,y}	4.13 ^{b,x}
4% LA + 2% crude bacteriocin	4	6.21 ^{a,z}	4.07 ^{b,x}	3.63 ^{b,y}

หมายเหตุ : a-c = ในแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

x-z = ในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

กรดแลคติกมีผลในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์โดยกรดทำให้ค่าความเป็นกรดต่างลดต่ำลง ทำให้สภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ส่งผลให้เชื้อจุลินทรีย์ขาดเสบียงและบางส่วนตายไป (Rosengren *et al.* 2013) ซึ่งค่าความเป็นกรดต่างที่ลดลงนั้นในช่วง Lag phase มีระยะเวลานานขึ้น ทำให้อัตราความเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ช้าลง (Woolthuis and Smulders. 1985) ผลของการยับยั้งจุลินทรีย์โดยกรดนั้นเกิดจากส่วนที่เป็น Lipophilic ของกรดที่ใช้ซึ่งอยู่ในรูปของโมเลกุลที่ไม่แตกตัวและซึมผ่านเข้าไปใน Plasma membrane ของแบคทีเรียที่มีค่าความเป็นกรดต่างค่อนข้างเป็นกลาง (pH 7) ซึ่งสูงกว่าค่าความเป็นกรดต่างของไซโทพลาสซึม ดังนั้นกรดอยู่ในรูปที่ไม่แตกตัวเข้าไปก็จะเกิดสถานะแตกตัวในรูปของ Protons และ conjugated base ซึ่งทำให้ภายในไซโทพลาสซึมของเซลล์จุลินทรีย์มีความเป็นกรด และมีผลในการทำลายระบบการขนส่งสาร (electron transport system) รวมถึงการยับยั้งระบบขนถ่ายสารต่างๆ (substrate molecule) เข้าสู่เซลล์ ทำให้มีผลต่อการทำลาย หรือยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ (Adam and Hall. 1988; Rosengren *et al.* 2013) การใช้กรดแลคติกในการลดจุลินทรีย์บนเนื้อสัตว์ได้รับการยอมรับให้ใช้ได้ในระดับความเข้มข้น 1-2% ซึ่งอาจใช้ในขั้นตอนที่แตกต่างกันได้ในแต่ละโรงฆ่าและได้แนะนำให้ใช้น้ำแช่ซากสัตว์ภายหลังฆ่าให้เร็วที่สุด เพื่อป้องกันเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนบนผิวซากไม่ให้เจริญและแทรกตัวลงไปในเนื้อเยื่อสัตว์ (Pipek *et al.* 2004) นอกจากนี้ Wang *et al.* (2015) รายงานว่า สารกรดแลคติกสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. Enteritidis*, *E. coli* และ *L. monocytogenes* เนื่องจากกรดทำให้โปรตีนในเซลล์แบคทีเรียเกิดการรั่วไหลและแตกตัว

ได้มีการศึกษาประสิทธิภาพการล้างซากโดยการฉีดพ่นสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 2% (v/v) บนซากไก่ก่อนกระบวนการเอาเครื่องในออก พบว่าสามารถลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้

อากาศ Aerobic plate count) ได้ถึง $1.6 \log \text{ cfu}/100 \text{ cm}^2$ และสามารถลดเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม Enterobacteriaceae ได้ถึง $1 \log \text{ cfu}/100 \text{ cm}^2$ นอกจากนี้ยังสามารถลดจำนวนเชื้อ *E. coli* O157:H7 ได้มากถึงร้อยละ 35 (Bosilevae *et al.* 2006 อ้างโดยพรชัย เหลืองวาริ. 2554) การลดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์โดยการฉีดพ่นบนซากสัตว์ เช่นซากโค เป็นวิธีการที่ปฏิบัติทั่วไปในประเทศแถบอเมริกาเหนือ และในสหภาพยุโรปเองก็อนุญาตให้ใช้กรดแลกติกในโรงฆ่าสัตว์เพื่อวัตถุประสงค์ดังกล่าวมาแล้ว ซึ่งกรดแลกติกนอกจากจะมีประสิทธิภาพในการลดเชื้อ *E. coli* แล้วยังสามารถทำลายเชื้อ *E. coli* O157:H7 ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่มีคุณสมบัติทนต่อกรดมากกว่า *E. coli* สายพันธุ์อื่นๆ อีกประการหนึ่งที่สำคัญคือ *E. coli* O157:H7 ที่มักพบบนเนื้อโคและเนื้อโคบดและเป็นเชื้อที่เป็นปัญหาสำคัญต่อผู้บริโภค (Youssef *et al.* 2013) ได้มีการศึกษาถึงผลของการใช้สารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 2 % ฉีดล้างบนชิ้นเนื้อโค ต่อการลดลงของเชื้อ *E. coli* O157:H7 เปรียบเทียบกับเนื้อโคที่ไม่ผ่านการล้างด้วยกรด พบว่ากรดแลกติกที่ความเข้มข้นดังกล่าวสามารถลดจำนวนเชื้อ *E. coli* O157:H7 บนเนื้อโคลงได้ $1 \log \text{ cfu}/\text{cm}^2$ (Carpenter *et al.* 2011)

จากการศึกษาผลของกรดแลกติกต่อเชื้อ *Listeria monocytogenes* โดยมีการศึกษาการยับยั้งเชื้อมากกว่าบนชิ้นเนื้อโคด้วยสารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 2 % ฉีดล้างบนชิ้นเนื้อโค ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C นาน 48 ชั่วโมง พบการลดลงของเชื้อ *L. monocytogenes* มากถึง $1.7 \log \text{ cfu}/\text{cm}^2$ (El-Khateib *et al.* 1993) อย่างไรก็ตามมีการศึกษาอื่นรายงานการใช้สารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 2 % ฉีดล้างบนเนื้อไก่กึ่งวง และทำการตรวจเชื้อทันทีภายหลังการล้างด้วยกรด ผลการทดลองพบการลดลงของเชื้อเพียง $0.58 \log \text{ cfu}/\text{cm}^2$ (Carpenter *et al.* 2011)

จากการทดลองครั้งนี้พบว่าสารแบคทีริโอซินไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *S. Typhimurium*, *E. coli* และ *S. aureus* ถึงแม้ว่าแบคทีริโอซิน (Bacteriocin) เป็นสารที่ได้รับการยอมรับว่ามีความปลอดภัยในการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารผลิตโดยแบคทีเรียกรดแลกติกมีคุณสมบัติเป็นสารประกอบโปรตีนที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่น โดยเฉพาะแบคทีเรียแกรมบวก (Lee *et al.* 1999) ลักษณะที่สำคัญของแบคทีริโอซินคือมีการยับยั้งแบคทีเรียสายพันธุ์เดียวกันหรือสายพันธุ์ที่มีความใกล้เคียง ผลของการออกฤทธิ์ทำให้เชื้อแบคทีเรียที่ถูกยับยั้งตาย (Tagg *et al.* 1976) หรือ อาจมีผลเพียงยับยั้งการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรีย และในขณะเดียวกันแบคทีเรียกรดแลกติกที่สร้างสารแบคทีริโอซินจะมีกลไกในการป้องกันตัวเองจากสารที่สร้างขึ้น (Hasting and Stiles. 1991)

การทดลองที่ 3 ศึกษาการใช้สารแบคทีเรียโอสิน กรดแลกติก และสารแบคทีเรียโอสิน ร่วมกับกรดแลกติกต่อคุณสมบัติทางด้านกายภาพ เคมี จุลินทรีย์และทางประสาทสัมผัส ของไส้กรอกอีสานภายใต้กระบวนการหมักโดยการแขวนในอุณหภูมิห้องและบรรจุถุงสุญญากาศ

3.1 ศึกษาการใช้สารแบคทีเรียโอสิน กรดแลกติก และสารแบคทีเรียโอสินร่วมกับกรดแลกติกต่อคุณสมบัติทางด้านกายภาพ เคมี จุลินทรีย์และทางประสาทสัมผัส ของไส้กรอกอีสานภายใต้กระบวนการหมักโดยการแขวนในอุณหภูมิห้องและบรรจุถุงสุญญากาศ เป็นระยะเวลา 0, 1, 2, 3 และ 4 วัน

การศึกษาผลของการใช้แบคทีเรียโอสินและกรดแลกติกเพื่อเพิ่มคุณภาพและความปลอดภัยของไส้กรอกอีสาน โดยการทดลองแบ่งเป็น 6 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 คือ กลุ่มควบคุม (Con)

กลุ่มที่ 2 คือ ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 2% (L2%)

กลุ่มที่ 3 คือ ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 4% (L4%)

กลุ่มที่ 4 คือ ไส้กรอกอีสานที่เติมแบคทีเรียโอสิน 2% (B2%)

กลุ่มที่ 5 คือ ไส้กรอกอีสานที่เติมแบคทีเรียโอสิน 4% (B4%)

กลุ่มที่ 6 คือ ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 2% ร่วมกับแบคทีเรียโอสิน 2% (L2%+B2%)

ระยะเวลาการหมัก 0, 1, 2, 3 และ 4 วัน จากนั้นวิเคราะห์ คุณภาพทางกายภาพของไส้กรอกอีสาน ได้แก่ ค่าความเป็นกรดต่าง, เปอร์เซ็นต์กรดทั้งหมด, ค่าสี, ค่า Texture Profile Analysis (TPA) คุณภาพทางเคมี ได้แก่ ค่า water activity (A_w), เปอร์เซ็นต์ความชื้น คุณภาพทางจุลินทรีย์ ได้แก่ จำนวนแบคทีเรียแลกติก (Lactic acid bacteria), ยีสต์และรา และ วิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส

3.1.1 ศึกษาการใช้สารแบคทีเรียโอสิน กรดแลกติก และสารแบคทีเรียโอสินร่วมกับกรดแลกติกต่อคุณสมบัติทางด้านกายภาพ

3.1.1.1 ผลของสารแบคทีเรียโอสิน กรดแลกติกและสารแบคทีเรียโอสินร่วมกับกรดแลกติก ต่อค่าความเป็นกรดต่างและปริมาณกรดในไส้กรอกอีสานที่ทำให้เกิดกระบวนการหมักโดยการแขวนในอุณหภูมิห้องและบรรจุถุงสุญญากาศ

ผลการศึกษาค่าความเป็นกรดต่างที่ตรวจพบในไส้กรอกอีสานที่ทำให้เกิดกระบวนการหมักโดยการแขวนที่อุณหภูมิห้อง (ตารางที่ 4.13) พบว่า การเติมสารแบคทีเรียโอสินและกรดแลกติกมีผลต่อการลดลงของค่าความเป็นกรดต่าง ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมในทุกระยะเวลาการหมัก ในวันแรกของการหมักไส้กรอกอีสานเติมกรดแลกติกและแบคทีเรียโอสินทุกกลุ่มมีค่าความเป็นกรดต่างน้อยกว่าชุดควบคุม (5.96) และลดลงตลอดระยะเวลาหมัก 4 วัน (pH 4.81) กลุ่มที่

มีการเติมสารละลายกรดแลกติก 2% กลุ่มที่มีการเติมแบคทีเรียโอซิน 2% และกลุ่มที่มีการเติมสารละลายกรดแลกติก 2% ร่วมกับแบคทีเรียโอซิน 2% ลงในไส้กรอกอีสาน พบ การลดลงของค่าความเป็นกรดต่างใกล้เคียงกันโดยไม่แตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) อยู่ระหว่าง 5.45-4.57, 5.41-4.55 และ 5.19-4.65 ตามลำดับ ส่วนกลุ่มที่มีการเติมสารละลายกรดแลกติก 4% กลุ่มที่มีการเติมแบคทีเรียโอซิน 4% ลงในไส้กรอกอีสาน พบการลดลงของค่าความเป็นกรดต่างไม่แตกต่างกัน คืออยู่ระหว่าง 5.14-4.48 และ 5.13-4.49 แต่เมื่อครบวันที่ 4 ทุกกลุ่มมีค่าความเป็นกรดต่างต่ำกว่ากลุ่มทดลอง อยู่ระหว่าง 4.48-4.65 สอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของปริมาณกรดทั้งหมด (ตารางที่ 4.14) พบว่า โดยกลุ่มควบคุมในวันที่ 0 มีค่าปริมาณกรด สูงสุด 0.69% จากนั้นทุกกลุ่มมีค่าเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการหมัก

ส่วนการศึกษาค่าความเป็นกรดต่างที่ตรวจพบในไส้กรอกอีสานทำให้เกิดกระบวนการหมักโดยการบรรจุถุงสุญญากาศ (ตารางที่ 4.15) พบว่า ให้ผลในการทำงานเดียวกันกับค่าความเป็นกรดต่างในไส้กรอกอีสานที่หมักโดยการแขวน โดยการเติมสารแบคทีเรียโอซิน กรดแลกติกมีผลต่อการลดลงของค่าความเป็นกรดต่าง ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมในทุกระยะเวลาการหมัก โดยในวันแรกของการหมักไส้กรอกอีสานที่มีการเติมกรดแลกติกและแบคทีเรียโอซินทุกกลุ่มมีค่าความเป็นกรดต่าง น้อยกว่าชุดควบคุม (5.91) และลดลงตลอดระยะเวลาหมัก 4 วัน (pH 4.57) ในวันที่ 1 กลุ่มที่มีการเติมสารละลายกรดแลกติก 2% และกลุ่มที่มีการเติมแบคทีเรียโอซิน 2% ลงในไส้กรอกอีสาน พบ การลดลงของค่าความเป็นกรดต่างใกล้เคียงกัน (ไม่แตกต่าง) 5.32 และ 5.30 ตามลำดับ ส่วนกลุ่มที่มีการเติมสารละลายกรดแลกติก 4% กลุ่มที่มีการเติมแบคทีเรียโอซิน 4% และ กลุ่มที่มีการเติมสารละลายกรดแลกติก 2% ร่วมกับแบคทีเรียโอซิน 2% ลงในไส้กรอกอีสาน พบการลดลงของค่าความเป็นกรดต่างไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) คือ 4.91, 4.90 และ 4.74 เมื่อสิ้นสุดการหมัก พบว่าค่าความเป็นกรดต่างของกลุ่มควบคุมยังคงมีค่าสูงสุด (4.57) เมื่อเทียบกับกลุ่มอื่น สอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของเปอร์เซ็นต์กรดทั้งหมด (ตารางที่ 4.16) ทุกกลุ่มมีค่าเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการหมัก

การลดลงของค่าความเป็นกรดต่าง เนื่องจากผลผลิตที่ได้จากกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานคือกรดแลกติก ที่มีเกิดจากจุลินทรีย์พวกแบคทีเรียแลกติกที่ย่อยวัตถุดิบหลัก ได้แก่ ข้าว ซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตเปลี่ยนเป็นไพรูเวตและกรดแลกติก โดยเอนไซม์ Lactate Dehydrogenase (De Vuyst and Vandamme. 1994) นอกจากนี้กระเทียมยังช่วยสนับสนุนการเจริญของแบคทีเรียแลกติกที่ติดมากับวัตถุดิบให้สร้างกรดมากขึ้นทำให้ค่าความเป็นกรดต่างลดลง (ณัฐธิดา แปวกะโทก. 2554) สอดคล้องกับการทดลองของ กฤษณา ประภัสสรวัฒนา และคณะ (2552) พบว่าการหมักไส้กรอกเปรี้ยวมีค่าความเป็นกรดต่างลดลงอย่างต่อเนื่องในวันที่ 0, 1 และ 2 มีค่า 5.95, 4.93 และ 4.67 โดยการเพิ่มขึ้นของค่าความเป็นกรดต่างและการลดลงของเปอร์เซ็นต์กรด เนื่องจากเกิดการสร้างกรดจากแบคทีเรียแลกติก *Leuconostoc* และ *Streptococcus* ที่ปะปนมากับวัตถุดิบตามธรรมชาติ (Steinkraus. 1992) ทำให้มีค่าความเป็นกรดต่างต่ำลงประมาณ 4-4.5 ส่วน *Lactobacillus* และ *Pediococcus* บางสายพันธุ์ทำให้ค่าความเป็นกรดต่างลดลงได้ถึง 3.5 ก่อนจะยับยั้งตัวเอง (Steinkraus .

1992) วัชรียา วงษ์หาญ และคณะ (2558) วัดค่าความเป็นกรดต่างของไส้กรอกอีสานกลุ่มควบคุม พบว่ามีค่าลดลงจากวันที่ 0 จนถึงวันที่ 1 อย่างชัดเจน และลดลงอีกเล็กน้อยจากวันที่ 2 จนถึงวันที่ 4 มีค่าเท่ากับ 6.5, 5, 4.7, 4.6 และ 4.5 ตามลำดับ สอดคล้องกับปริมาณกรดทั้งหมดที่เพิ่มขึ้นจาก 0.18, 0.4, 0.45, 0.5 และ 0.65 ตามลำดับ

จะเห็นว่าการเติมกรดแลกติกและแบคทีเรียโอซินซึ่งมีความเป็นกรดทำให้ไส้กรอกอีสานในวันที่ 0 มีค่าความเป็นกรดต่างน้อยกว่ากลุ่มควบคุม สัมพันธ์กับเปอร์เซ็นต์กรดทั้งหมดสูงกว่ากลุ่มควบคุม ตลอดระยะเวลาการหมักทั้งไส้กรอกอีสานที่ทำให้เกิดกระบวนการหมักโดยการแขวนและบรรจุถุงสุญญากาศ และไม่มีความแตกต่างกันในกลุ่มที่เติมกรดแลกติก 2%, 4% แบคทีเรียโอซิน 2%, 4% และกรดแลกติก 2% ร่วมกับแบคทีเรียโอซิน 2%

ตารางที่ 4.13 ผลของสารแบคทีเรียโอซินและกรดแลกติกต่อค่าความเป็นกรดต่างในไส้กรอกอีสานที่ทำให้เกิดกระบวนการหมักโดยการแขวน (Mean $\pm$ S.D.)

ระยะ เวลา (วัน)	ค่าความเป็นกรดต่าง					
	Con	L2%	L4%	B2%	B4%	L2%+B2%
0	5.96 $\pm$ 0.03 ^{a,A}	5.45 $\pm$ 0.01 ^{b,A}	5.14 $\pm$ 0.02 ^{c,A}	5.41 $\pm$ 0.00 ^{b,A}	5.13 $\pm$ 0.03 ^{c,A}	5.19 $\pm$ 0.15 ^{c,A}
1	5.75 $\pm$ 0.13 ^{a,AB}	5.41 $\pm$ 0.02 ^{b,B}	5.01 $\pm$ 0.01 ^{c,B}	5.38 $\pm$ 0.03 ^{b,A}	5.05 $\pm$ 0.01 ^{c,B}	4.59 $\pm$ 0.01 ^{d,B}
2	5.40 $\pm$ 0.38 ^{a,BC}	5.00 $\pm$ 0.01 ^{b,C}	4.91 $\pm$ 0.01 ^{bc,C}	5.04 $\pm$ 0.05 ^{b,B}	4.96 $\pm$ 0.03 ^{b,C}	4.63 $\pm$ 0.05 ^{c,B}
3	5.14 $\pm$ 0.28 ^{a,CD}	4.64 $\pm$ 0.02 ^{b,D}	4.53 $\pm$ 0.05 ^{b,D}	4.64 $\pm$ 0.03 ^{b,C}	4.54 $\pm$ 0.01 ^{b,D}	4.70 $\pm$ 0.04 ^{b,B}
4	4.81 $\pm$ 0.20 ^{a,D}	4.57 $\pm$ 0.02 ^{bc,E}	4.48 $\pm$ 0.03 ^{c,E}	4.55 $\pm$ 0.04 ^{bc,D}	4.49 $\pm$ 0.01 ^{c,E}	4.65 $\pm$ 0.04 ^{b,B}

^{abc} ตัวอักษรที่ต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

^{ABCDE} ตัวอักษรที่ต่างกันคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

Con	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานกลุ่มควบคุม	B2%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมแบคทีเรียโอซิน 2%
L2%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 2%	B4%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมแบคทีเรียโอซิน 4%
L4%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 4%	L2%+B2%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 2% ร่วมกับแบคทีเรียโอซิน 2%

ตารางที่ 4.14 ผลของสารแบคทีเรียโอซินและกรดแลกติกต่อปริมาณกรดทั้งหมดในไส้กรอกอีสานที่ทำให้เกิดกระบวนการหมักโดยการแขวน (Mean $\pm$ S.D.)

ระยะ	ปริมาณกรดทั้งหมด					
เวลา (วัน)	Con	L2%	L4%	B2%	B4%	L2%+B2%
0	0.69 $\pm$ 0.07 ^{a,C}	0.15 $\pm$ 0.03 ^{c,D}	0.33 $\pm$ 0.04 ^{bc,C}	0.19 $\pm$ 0.01 ^{bc,E}	0.36 $\pm$ 0.02 ^{b,C}	0.23 $\pm$ 0.01 ^{bc,A}
1	1.02 $\pm$ 0.07 ^{a,B}	0.26 $\pm$ 0.02 ^{b,C}	0.42 $\pm$ 0.01 ^{b,B}	0.25 $\pm$ 0.01 ^{b,D}	0.43 $\pm$ 0.03 ^{b,B}	0.29 $\pm$ 0.02 ^{b,A}
2	0.99 $\pm$ 0.08 ^{a,B}	0.44 $\pm$ 0.02 ^{b,B}	0.43 $\pm$ 0.01 ^{b,B}	0.43 $\pm$ 0.02 ^{b,C}	0.45 $\pm$ 0.03 ^{b,B}	0.36 $\pm$ 0.01 ^{b,A}
3	1.22 $\pm$ 0.05 ^{a,A}	0.57 $\pm$ 0.02 ^{b,A}	0.62 $\pm$ 0.02 ^{b,A}	0.55 $\pm$ 0.02 ^{b,B}	0.61 $\pm$ 0.02 ^{b,A}	0.50 $\pm$ 0.02 ^{b,A}
4	1.31 $\pm$ 0.12 ^{a,A}	0.59 $\pm$ 0.01 ^{b,A}	0.64 $\pm$ 0.02 ^{b,A}	0.58 $\pm$ 0.02 ^{b,A}	0.63 $\pm$ 0.03 ^{b,A}	0.56 $\pm$ 0.05 ^{b,A}

^{abc} ตัวอักษรที่ต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

^{ABCDE} ตัวอักษรที่ต่างกันคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

Con	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานกลุ่มควบคุม	B2%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมแบคทีเรียโอซิน 2%
L2%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 2%	B4%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมแบคทีเรียโอซิน 4%
L4%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 4%	L2%+B2%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 2% ร่วมกับแบคทีเรียโอซิน 2%

ตารางที่ 4.15 ผลของสารแบคทีเรียโอซินและกรดแลกติกต่อค่าความเป็นกรดต่างในไส้กรอกอีสานที่ทำให้เกิดกระบวนการหมักโดยการบรรจุถุงสุญญากาศ (Mean $\pm$ S.D.)

ระยะ	ค่าความเป็นกรดต่าง					
เวลา (วัน)	Con	L2%	L4%	B2%	B4%	L2%+B2%
0	5.91 $\pm$ 0.01 ^{a,A}	5.43 $\pm$ 0.02 ^{b,A}	5.12 $\pm$ 0.02 ^{b,A}	5.43 $\pm$ 0.02 ^{b,A}	5.12 $\pm$ 0.02 ^{bc,A}	4.96 $\pm$ 0.41 ^{c,A}
1	5.56 $\pm$ 0.02 ^{a,B}	5.32 $\pm$ 0.02 ^{b,B}	4.91 $\pm$ 0.05 ^{c,B}	5.30 $\pm$ 0.02 ^{b,B}	4.90 $\pm$ 0.10 ^{c,B}	4.74 $\pm$ 0.2 ^{c,A}
2	4.94 $\pm$ 0.04 ^{a,C}	4.82 $\pm$ 0.03 ^{ab,C}	4.77 $\pm$ 0.05 ^{bc,C}	4.80 $\pm$ 0.05 ^{bc,C}	4.70 $\pm$ 0.11 ^{bc,C}	4.67 $\pm$ 0.13 ^{c,A}
3	4.62 $\pm$ 0.02 ^{a,D}	4.48 $\pm$ 0.04 ^{bc,D}	4.42 $\pm$ 0.02 ^{c,D}	4.46 $\pm$ 0.05 ^{c,D}	4.41 $\pm$ 0.02 ^{c,D}	4.55 $\pm$ 0.10 ^{ab,A}
4	4.57 $\pm$ 0.02 ^{a,E}	4.40 $\pm$ 0.05 ^{b,E}	4.34 $\pm$ 0.04 ^{b,D}	4.39 $\pm$ 0.05 ^{b,E}	4.34 $\pm$ 0.02 ^{b,D}	4.53 $\pm$ 0.13 ^{b,A}

^{abc} ตัวอักษรที่ต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

^{ABCDE} ตัวอักษรที่ต่างกันคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

Con	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานกลุ่มควบคุม	B2%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมแบคทีเรียโอซิน 2%
L2%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 2%	B4%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมแบคทีเรียโอซิน 4%
L4%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 4%	L2%+B2%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 2% ร่วมกับแบคทีเรียโอซิน 2%

ตารางที่ 4.16 ผลของสารแบคทีเรียโอซินและกรดแลกติกต่อปริมาณกรดทั้งหมดในไส้กรอกอีสานที่ทำให้เกิดกระบวนการหมักโดยการบรรจุถุงสุญญากาศ (Mean $\pm$ S.D)

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณกรดทั้งหมด					
	Con	L2%	L4%	B2%	B4%	B2%+L2%
0	0.12 $\pm$ 0.01 ^{d,E}	0.21 $\pm$ 0.01 ^{c,E}	0.35 $\pm$ 0.03 ^{b,D}	0.21 $\pm$ 0.01 ^{c,E}	0.36 $\pm$ 0.02 ^{b,C}	0.45 $\pm$ 0.10 ^{a,B}
1	0.16 $\pm$ 0.01 ^{d,D}	0.31 $\pm$ 0.01 ^{c,D}	0.45 $\pm$ 0.01 ^{b,C}	0.31 $\pm$ 0.01 ^{c,D}	0.47 $\pm$ 0.02 ^{b,B}	0.48 $\pm$ 0.07 ^{a,B}
2	0.43 $\pm$ 0.03 ^{c,C}	0.51 $\pm$ 0.01 ^{b,C}	0.48 $\pm$ 0.02 ^{bc,C}	0.52 $\pm$ 0.02 ^{a,C}	0.49 $\pm$ 0.02 ^{bc,B}	0.48 $\pm$ 0.08 ^{b,AB}
3	0.48 $\pm$ 0.01 ^{c,B}	0.63 $\pm$ 0.02 ^{b,B}	0.68 $\pm$ 0.02 ^{b,B}	0.62 $\pm$ 0.01 ^{b,B}	0.70 $\pm$ 0.00 ^{a,A}	0.51 $\pm$ 0.13 ^{b,AB}
4	0.51 $\pm$ 0.01 ^{c,A}	0.67 $\pm$ 0.01 ^{b,A}	0.71 $\pm$ 0.01 ^{a,A}	0.68 $\pm$ 0.01 ^{b,A}	0.71 $\pm$ 0.01 ^{a,A}	0.55 $\pm$ 0.07 ^{c,A}

^{abc} ตัวอักษรที่ต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

^{ABCDE} ตัวอักษรที่ต่างกันคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

Con	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานกลุ่มควบคุม	B2%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมแบคทีเรียโอซิน 2%
L2%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 2%	B4%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมแบคทีเรียโอซิน 4%
L4%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 4%	L2%+B2%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 2% ร่วมกับแบคทีเรียโอซิน 2%

3.1.1.2 ผลของสารแบคทีเรียโอซิน กรดแลกติก และสารแบคทีเรียโอซินร่วมกับกรดแลกติกต่อค่าสีตรวจพบในไส้กรอกอีสานที่ทำให้เกิดกระบวนการหมักโดยการแขวนและบรรจุถุงสุญญากาศ

ผลการศึกษาค่าสีที่ตรวจพบในไส้กรอกอีสานที่ทำให้เกิดกระบวนการหมักโดยการแขวน (ตารางที่ 4.17) พบว่า ค่าความสว่าง (L^*) ของกลุ่มควบคุมลดลงจากวันเริ่มต้น (45.74 เป็น 32.41) ส่วนกลุ่มอื่นมีค่าความสว่างมากกว่าตลอดระยะเวลาการหมักเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกวันโดยกลุ่มที่เติมกรดแลกติก 4% มีค่าความสว่างสูงสุด ($L^* = 60.42$) ในวันที่ 4 นอกจากนี้ยังพบว่า กลุ่มที่เติมแบคทีเรียโอซิน 4% และกลุ่มที่เติมกรดแลกติก 2% ร่วมกับ แบคทีเรียโอซิน 2% มีค่าความสว่างค่อนข้างคงที่และไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ตลอดระยะเวลาการหมัก 4 วัน ค่าสีแดง (a^*) พบว่า กลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เติมกรดแลกติก 2% ร่วมกับแบคทีเรียโอซิน 2% มีค่าเพิ่มขึ้นทุกวัน ส่วน กลุ่มที่เติมกรดแลกติก 2, 44% และกลุ่มที่เติมแบคทีเรียโอซิน 2, 4% ค่าสีแดงลดลงตลอดระยะเวลาการหมัก ค่าสีเหลือง (b^*) พบว่าทุกกลุ่มมีค่าสีเหลืองลดลงตลอดระยะเวลาการหมัก โดยวันที่ 4 กลุ่มควบคุมมีค่าสีเหลืองสูงที่สุดเท่ากับ 13.88

ส่วนการศึกษาค่าสีที่ตรวจพบในไส้กรอกอีสานที่ทำให้เกิดกระบวนการหมักโดยการบรรจุถุงสุญญากาศ (ตารางที่ 4.18) พบว่า ค่าความสว่าง (L^*) ของทุกกลุ่มมีค่าเพิ่มขึ้นจากวันเริ่มต้น แต่กลุ่มที่เติมกรดแลกติก 2% ร่วมกับแบคทีเรียโอซิน 2% ค่าความสว่างค่อนข้างคงที่ตลอด

ระยะเวลาการหมัก สำหรับค่าสีแดง (a^*) พบว่า กลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เติมกรดแลกติก 2% มีค่าสีแดงลดลง ส่วนกลุ่มที่เติมกรดแลกติก 4% กลุ่มที่เติมแบคทีเรียโอซิน 2, 4 % กลุ่มที่เติมกรดแลกติก 2% ร่วมกับแบคทีเรียโอซิน 2% ค่าสีแดงค่อนข้างคงที่ตลอดระยะเวลาการหมัก ค่าสีเหลือง (b^*) พบว่าทุกกลุ่มมีค่าสีเหลืองเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการหมัก โดยวันที่ 4 กลุ่มควบคุมมีค่าสีเหลืองต่ำที่สุดเท่ากับ 6.54 สอดคล้องกับการทดลองของชนัญญา กงทะสร (2547) ศึกษาผลของสารละลายกรดแลกติกร่วมกับแบคทีเรียโอซินต่อค่าความสว่าง (L^*) ของสันนอกเนื้อสุกรโดยจุ่มชิ้นเนื้อในสารละลายกรดแลกติก 1% และสารละลายกรดแลกติก 1% ร่วมกับแบคทีเรียโอซิน 640 และ 1280 AU/ml แล้วนำเนื้อสันนอกไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง พบว่า ค่าความสว่างของเนื้อจะเพิ่มสูงเมื่อความเข้มข้นของสารละลายกรดแลกติกและแบคทีเรียโอซินสูงขึ้น ที่เป็นเช่นนี้เนื่องมาจากการใช้กรดแลกติกและ แบคทีเรียโอซินมีฤทธิ์เป็นกรด ค่า pH ของเนื้อที่ต่ำกว่ามีผลทำให้ความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อลดลง ที่ผิวเนื้อมีน้ำซึมออกมามาก เป็นผลทำให้ค่าความสว่างของเนื้อสูงขึ้น (Bayles et al. 1996) Phromraksa et al. (2005) พบว่า ค่าความสว่างของไส้กรอกอีสานมีค่าลดลง ส่วนค่าสีแดงและ ค่าสีเหลืองค่อนข้างคงที่

การเติมสารแบคทีเรียโอซินและกรดแลกติกมีผลทำให้ค่าความสว่าง (L^*) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในทุกระยะเวลาการหมัก และยังพบการลดลงของค่าสีเหลืองในกลุ่มที่เติมสารแบคทีเรียโอซินและกรดแลกติกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในทุกระยะเวลาการผลิต

ตารางที่ 4.17 ผลของสารแบคทีเรียโอซินและกรดแลกติกต่อค่าสีในไส้กรอกอีสานที่ทำให้เกิด
กระบวนการหมักโดยการแขวน (Mean $\pm$ S.D.)

ค่าสี	ระยะเวลา (วัน)	Con	L2%	L4%	B2%	B4%	B2%+L2%
ความสว่าง(L*)	0	45.74 $\pm$ 0.16 ^{c,A}	46.49 $\pm$ 0.31 ^{d,E}	47.11 $\pm$ 0.01 ^{c,E}	48.61 $\pm$ 0.14 ^{b,A}	45.11 $\pm$ 0.11 ^{f,A}	56.51 $\pm$ 0.73 ^{a,A}
	1	41.57 $\pm$ 0.03 ^{d,B}	48.15 $\pm$ 0.13 ^{bc,D}	50.28 $\pm$ 0.42 ^{b,D}	47.78 $\pm$ 0.13 ^{bc,AB}	44.95 $\pm$ 0.17 ^{cd,A}	56.37 $\pm$ 4.63 ^{a,A}
	2	41.48 $\pm$ 0.11 ^{d,B}	51.93 $\pm$ 0.05 ^{b,C}	52.60 $\pm$ 0.60 ^{b,C}	46.93 $\pm$ 0.05 ^{c,BC}	49.60 $\pm$ 4.61 ^{bc,A}	57.80 $\pm$ 1.44 ^{a,A}
	3	40.60 $\pm$ 0.08 ^{c,C}	56.84 $\pm$ 0.05 ^{a,B}	58.10 $\pm$ 0.01 ^{a,B}	46.84 $\pm$ 0.05 ^{b,BC}	49.50 $\pm$ 4.18 ^{b,A}	54.48 $\pm$ 1.25 ^{a,A}
	4	32.41 $\pm$ 0.15 ^{d,D}	59.76 $\pm$ 0.11 ^{a,A}	60.42 $\pm$ 0.58 ^{a,A}	46.10 $\pm$ 1.59 ^{c,C}	50.03 $\pm$ 5.21 ^{c,A}	55.36 $\pm$ 0.97 ^{b,A}
ค่าสีแดง (a*)	0	4.55 $\pm$ 0.04 ^{b,E}	5.41 $\pm$ 0.06 ^{a,A}	4.50 $\pm$ 0.07 ^{b,A}	5.49 $\pm$ 0.15 ^{a,A}	5.59 $\pm$ 0.21 ^{a,A}	3.34 $\pm$ 0.66 ^{c,B}
	1	5.43 $\pm$ 0.02 ^{a,D}	5.55 $\pm$ 0.36 ^{a,A}	4.28 $\pm$ 0.02 ^{b,AB}	4.30 $\pm$ 0.33 ^{b,B}	4.46 $\pm$ 0.34 ^{b,B}	5.57 $\pm$ 0.77 ^{a,AB}
	2	6.66 $\pm$ 0.03 ^{a,C}	4.38 $\pm$ 0.16 ^{b,B}	2.75 $\pm$ 1.21 ^{c,AB}	3.96 $\pm$ 0.12 ^{bc,BC}	4.33 $\pm$ 0.19 ^{b,BC}	5.00 $\pm$ 1.55 ^{b,AB}
	3	8.20 $\pm$ 0.04 ^{a,B}	4.09 $\pm$ 0.09 ^{c,B}	2.58 $\pm$ 0.12 ^{a,AB}	3.71 $\pm$ 0.16 ^{c,C}	3.96 $\pm$ 0.06 ^{c,C}	5.70 $\pm$ 1.44 ^{b,AB}
	4	9.73 $\pm$ 0.05 ^{a,A}	3.60 $\pm$ 0.08 ^{c,C}	2.48 $\pm$ 1.39 ^{c,B}	3.27 $\pm$ 0.18 ^{c,D}	3.48 $\pm$ 0.08 ^{c,D}	7.02 $\pm$ 1.99 ^{b,A}
ค่าสีเหลือง (b*)	0	16.05 $\pm$ 0.06 ^{a,A}	12.11 $\pm$ 0.01 ^{c,A}	14.14 $\pm$ 0.05 ^{b,A}	12.11 $\pm$ 0.01 ^{c,A}	13.42 $\pm$ 0.11 ^{c,A}	13.20 $\pm$ 0.18 ^{d,A}
	1	15.37 $\pm$ 0.10 ^{a,A}	9.47 $\pm$ 0.06 ^{c,B}	12.38 $\pm$ 0.23 ^{b,B}	9.06 $\pm$ 0.16 ^{f,B}	11.32 $\pm$ 0.06 ^{c,B}	10.68 $\pm$ 0.14 ^{b,B}
	2	16.03 $\pm$ 0.05 ^{a,A}	9.10 $\pm$ 0.02 ^{c,C}	10.31 $\pm$ 0.14 ^{b,C}	8.73 $\pm$ 0.20 ^{a,C}	9.21 $\pm$ 0.18 ^{c,C}	8.56 $\pm$ 0.37 ^{d,C}
	3	16.63 $\pm$ 0.36 ^{a,A}	8.68 $\pm$ 0.16 ^{bc,CD}	9.26 $\pm$ 0.15 ^{b,D}	8.08 $\pm$ 0.06 ^{bc,D}	8.35 $\pm$ 0.21 ^{bc,D}	7.58 $\pm$ 0.14 ^{c,D}
	4	13.88 $\pm$ 0.02 ^{a,B}	8.13 $\pm$ 0.08 ^{c,E}	8.70 $\pm$ 0.16 ^{b,E}	7.69 $\pm$ 0.14 ^{c,E}	7.95 $\pm$ 0.52 ^{c,D}	6.60 $\pm$ 0.31 ^{d,E}

^{abc} ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

^{ABCDE} ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

Con	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานกลุ่มควบคุม	B2%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมแบคทีเรียโอซิน 2%
L2%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 2%	B4%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมแบคทีเรียโอซิน 4%
L4%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 4%	L2%+B2%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 2% ร่วมกับแบคทีเรียโอซิน 2%

ตารางที่ 4.18 ผลของสารแบคทีเรียโอซินและกรดแลกติกต่อค่าสีในไส้กรอกอีสานที่ทำให้เกิด
กระบวนการหมักโดยการ บรรจุสุญญากาศ (Mean $\pm$ S.D)

ค่าสี	ระยะเวลา (วัน)	Con	L2%	L4%	B2%	B4%	B2%+L2%
ความสว่าง(L*)	0	48.50 $\pm$ 0.12 ^{b,D}	47.38 $\pm$ 0.13 ^{b,E}	48.54 $\pm$ 0.04 ^{b,E}	46.38 $\pm$ 0.13 ^{b,E}	47.54 $\pm$ 0.04 ^{b,E}	54.02 $\pm$ 4.74 ^{a,B}
	1	48.51 $\pm$ 0.27 ^{d,D}	51.35 $\pm$ 0.09 ^{c,D}	54.48 $\pm$ 0.02 ^{b,D}	49.35 $\pm$ 0.09 ^{d,D}	51.48 $\pm$ 0.02 ^{c,D}	56.34 $\pm$ 1.72 ^{a,AB}
	2	57.23 $\pm$ 0.04 ^{ab,C}	53.67 $\pm$ 0.01 ^{cd,C}	55.95 $\pm$ 0.06 ^{b,C}	52.34 $\pm$ 0.59 ^{d,C}	53.95 $\pm$ 0.06 ^{c,C}	58.00 $\pm$ 1.79 ^{a,AB}
	3	58.06 $\pm$ 0.03 ^{b,B}	58.70 $\pm$ 0.54 ^{ab,B}	59.43 $\pm$ 0.31 ^{a,B}	57.63 $\pm$ 0.59 ^{b,B}	58.76 $\pm$ 0.38 ^{b,B}	57.59 $\pm$ 1.47 ^{b,AB}
	4	58.63 $\pm$ 0.24 ^{c,A}	61.19 $\pm$ 0.03 ^{ab,A}	62.22 $\pm$ 0.02 ^{a,A}	60.19 $\pm$ 0.03 ^{bc,A}	61.24 $\pm$ 0.03 ^{ab,A}	59.85 $\pm$ 2.05 ^{bc,A}
ค่าสีแดง (a*)	0	5.89 $\pm$ 0.04 ^{bc,A}	6.09 $\pm$ 0.04 ^{bc,A}	5.86 $\pm$ 0.05 ^{c,A}	6.41 $\pm$ 0.02 ^{a,A}	6.12 $\pm$ 0.08 ^{b,A}	5.57 $\pm$ 0.29 ^{d,A}
	1	5.70 $\pm$ 0.19 ^{a,B}	4.09 $\pm$ 0.01 ^{bc,B}	3.20 $\pm$ 0.03 ^{c,BC}	3.69 $\pm$ 0.39 ^{b,B}	3.61 $\pm$ 0.02 ^{c,B}	5.10 $\pm$ 1.67 ^{ab,A}
	2	4.30 $\pm$ 0.02 ^{ab,C}	3.88 $\pm$ 0.06 ^{bc,C}	3.39 $\pm$ 0.27 ^{c,B}	3.70 $\pm$ 0.05 ^{bc,B}	3.59 $\pm$ 0.03 ^{bc,B}	4.76 $\pm$ 1.05 ^{a,A}
	3	3.40 $\pm$ 0.01 ^{b,D}	3.92 $\pm$ 0.02 ^{ab,C}	3.05 $\pm$ 0.05 ^{b,C}	3.59 $\pm$ 0.03 ^{ab,B}	3.38 $\pm$ 0.05 ^{b,C}	4.62 $\pm$ 1.39 ^{a,A}
	4	3.25 $\pm$ 0.08 ^{b,D}	3.29 $\pm$ 0.05 ^{b,D}	3.42 $\pm$ 0.03 ^{b,B}	3.19 $\pm$ 0.02 ^{b,C}	3.33 $\pm$ 0.02 ^{b,C}	5.16 $\pm$ 1.54 ^{a,A}
ค่าสีเหลือง (b*)	0	11.91 $\pm$ 0.28 ^{b,A}	12.17 $\pm$ 0.06 ^{ab,A}	12.41 $\pm$ 0.02 ^{a,A}	12.37 $\pm$ 0.07 ^{a,A}	12.33 $\pm$ 0.15 ^{a,A}	8.38 $\pm$ 0.38 ^{c,B}
	1	11.41 $\pm$ 0.17 ^{a,B}	9.78 $\pm$ 0.03 ^{c,B}	10.37 $\pm$ 0.06 ^{b,C}	9.56 $\pm$ 0.02 ^{cd,C}	9.52 $\pm$ 0.11 ^{cd,C}	9.42 $\pm$ 0.31 ^{d,AB}
	2	7.79 $\pm$ 0.10 ^{d,C}	9.25 $\pm$ 0.08 ^{c,C}	11.29 $\pm$ 0.88 ^{a,B}	9.25 $\pm$ 0.08 ^{c,D}	10.31 $\pm$ 0.11 ^{b,B}	9.00 $\pm$ 0.62 ^{c,AB}
	3	6.64 $\pm$ 0.14 ^{d,D}	9.07 $\pm$ 0.03 ^{b,D}	9.65 $\pm$ 0.05 ^{a,C}	9.75 $\pm$ 0.03 ^{a,B}	8.49 $\pm$ 0.11 ^{c,D}	8.38 $\pm$ 0.38 ^{c,B}
	4	6.54 $\pm$ 0.22 ^{c,D}	8.75 $\pm$ 0.11 ^{b,E}	9.82 $\pm$ 0.02 ^{a,C}	9.84 $\pm$ 0.04 ^{a,B}	8.26 $\pm$ 0.15 ^{b,E}	9.99 $\pm$ 0.88 ^{a,A}

^{abc} ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

^{ABCDE} ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

Con หมายถึง ไส้กรอกอีสานกลุ่มควบคุม B2% หมายถึง ไส้กรอกอีสานที่เติมแบคทีเรียโอซิน 2%
L2% หมายถึง ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 2% B4% หมายถึง ไส้กรอกอีสานที่เติมแบคทีเรียโอซิน 4%
L4% หมายถึง ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 4% L2%+B2% หมายถึง ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 2%
ร่วมกับแบคทีเรียโอซิน 2%

3.1.1.3 ผลของสารแบคทีเรียโอซิน กรดแลกติก และสารแบคทีเรียโอซินร่วมกับ
กรดแลกติก ต่อค่า Texture Profile Analysis (TPA) ในไส้กรอกอีสานที่ทำให้เกิดกระบวนการหมักโดย
การแขวนและบรรจุสุญญากาศ

ผลการศึกษาค่า TPA ที่ตรวจพบในไส้กรอกอีสานที่ทำให้เกิดกระบวนการ
หมักโดยการแขวน (ตารางที่ 4.19) พบว่า ค่าความแข็ง (Hardness) และค่าความเหนียวเป็นกาวหรือยาง
(Gumminess) ของไส้กรอกอีสานทุกกลุ่มมีค่าเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการหมักที่เพิ่ม โดยกลุ่มควบคุมมีค่า
ความแข็งและค่าความเหนียวสูงที่สุด เท่ากับ 20.08 และ 6.99 เมื่อครบวันที่ 4 ส่วนค่าความยืดหยุ่น
(Springiness) ค่าความสามารถในการเกาะตัวกัน (Cohesiveness) และค่าการเคี้ยว (Chewiness) ของไส้
กรอกอีสานทุกกลุ่มมีค่าลดลงตามระยะเวลาการหมักที่เพิ่ม โดยค่าความยืดหยุ่นเมื่อสิ้นสุดระยะการ
หมักจะไม่มีค่าแตกต่าง (p>0.05) ระหว่างกลุ่ม ค่าความสามารถในการเกาะตัวกัน พบว่ากลุ่มควบคุมมี
ความสามารถในการเกาะตัวกันดีกว่าทุกกลุ่ม เท่ากับ 0.33

ผลการศึกษาค่า TPA ที่ตรวจพบในไส้กรอกอีสานที่ทำให้เกิดกระบวนการหมักโดยการบรรจุถุงสุญญากาศ (ตารางที่ 4.20) พบว่า ค่าความแข็ง (Hardness) และค่าความเหนียวเป็นกาวหรือยาง (Gumminess) ของไส้กรอกอีสานทุกกลุ่มมีค่าเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการหมักที่เพิ่ม โดยกลุ่มควบคุมมีค่าความแข็ง สูงที่สุด เท่ากับ 20.38 กลุ่มที่เติมกรดแลกติก 2% มีค่าความเหนียวสูงสุด เท่ากับ 7.28 เมื่อครบวันที่ 4 ส่วนค่าความยืดหยุ่น (Springiness) ค่าความสามารถในการเกาะตัวกัน (Cohesiveness) และค่าการเคี้ยว (Chewiness) ของไส้กรอกอีสานทุกกลุ่มมีค่าลดลงตามระยะเวลาการหมักที่เพิ่ม

3.1.2 ศึกษาการใช้สารแบคทีเรียโอซิน กรดแลกติก และสารแบคทีเรียโอซินร่วมกับกรดแลกติกต่อคุณสมบัติทางด้านเคมี

3.1.2.1 ผลของสารแบคทีเรียโอซินกรดแลกติกและสารแบคทีเรียโอซินร่วมกับกรดแลกติกต่อค่า water activity และ ความชื้นในไส้กรอกอีสานที่ทำให้เกิดกระบวนการหมักโดยการแขวนและบรรจุถุงสุญญากาศ

ผลการศึกษาค่า water activity (A_w) ที่ตรวจพบในไส้กรอกอีสานที่ทำให้เกิดกระบวนการหมักโดยการแขวน (ตารางที่ 4.21) พบว่าในวันแรกของการหมัก ค่า A_w ของไส้กรอกอีสานทั้ง 6 กลุ่ม มีค่าระหว่าง 0.96-0.98 ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) จากนั้นค่า A_w ของไส้กรอกอีสานจะลดลง โดยกลุ่มควบคุมมีอัตราการลดลงน้อยสุด จาก 0.96-0.95 ส่วนที่เหลือ 5 กลุ่ม มีค่า A_w ลดลงจนวันที่ 4 ของการหมัก อยู่ระหว่าง 0.91-0.93 โดยลดลงมากกว่ากลุ่มควบคุม ($p < 0.05$) ส่วนค่า water activity (A_w) ที่ตรวจพบในไส้กรอกอีสานสภาวะการหมักแบบสุญญากาศ (ตารางที่ 4.22) พบว่า ในวันแรกของการหมัก ค่า A_w ของไส้กรอกอีสานทั้ง 6 กลุ่ม มีค่าระหว่าง 0.98-0.99 ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากนั้นค่า A_w ของไส้กรอกอีสานจะลดลง แต่จะสังเกตเห็นว่าค่า A_w ของทุกกลุ่มการทดลองมีค่าลดลงน้อยมาตั้งแต่วันที่ 0 จนถึงวันที่ 4 คือ ค่า A_w ลดลงเพียง 0.03-0.04 (กลุ่มควบคุมจาก 0.98 เป็น 0.94 ลดลง 0.03 กลุ่มที่มีการเติมสารละลายกรดแลกติก 2% A_w จาก 0.98 เป็น 0.95 ลดลง 0.03 กลุ่มที่มีการเติมสารละลายกรดแลกติก 4% A_w จาก 0.99 เป็น 0.96 ลดลง 0.03 กลุ่มที่มีการเติมแบคทีเรียโอซิน 2% A_w จาก 0.98 เป็น 0.95 ลดลง 0.03 กลุ่มที่มีการเติมแบคทีเรียโอซิน 4% A_w จาก 0.99 เป็น 0.96 ลดลง 0.03 กลุ่มที่มีการเติมสารละลายกรดแลกติก 2% ร่วมกับแบคทีเรียโอซิน 2% A_w จาก 0.98 เป็น 0.94 ลดลง 0.04

ผลการศึกษาค่าความชื้นที่ตรวจพบในไส้กรอกอีสานทำให้เกิดกระบวนการหมักโดยการบรรจุถุงสุญญากาศ (ตารางที่ 4.23) พบว่า ในวันแรกของการหมักค่าความชื้นของไส้กรอกอีสานกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่มีการเติมสารละลายกรดแลกติก 2% ร่วมกับแบคทีเรียโอซิน 2% ลงในไส้กรอกอีสาน มีค่าสูงสุด 57.33% และ 58.31% ตามลำดับ ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 2% , 4% และ ไส้กรอกอีสานที่เติมแบคทีเรียโอซิน 2%, 4% พบว่า มีค่าความชื้นใกล้เคียงกัน เท่ากับ 46.57%, 45.33%, 46.57% และ 45.33% ตามลำดับ จากนั้นค่าความชื้นของไส้กรอกอีสานทุกกลุ่มจะมีอัตราลดลงมากที่สุดระหว่างการหมักวันที่ 0 ถึงวันที่ 1 โดยกลุ่มควบคุมมีอัตราการลดลงน้อยสุด จาก 57.33-56.30 แต่เมื่อแขวนต่อจนครบ 4 วัน ค่าความชื้นของไส้กรอกอีสานกลุ่มที่มีการเติมสารละลายกรดแลกติก 2% ร่วมกับแบคทีเรียโอซิน 2% มีการลดลงตั้งแต่วันแรกมากที่สุด เหลือค่าความชื้นเพียง 37.27% (จาก 58.31% เป็น 37.27%) ซึ่งคิดเป็นอัตราการลดลงถึง 21.04% ส่วนการศึกษาค่าความชื้นที่ตรวจพบในไส้กรอกอีสานทำให้เกิดกระบวนการหมักโดยการบรรจุถุงสุญญากาศ (ตารางที่ 4.24) พบว่าทุกกลุ่มมีค่าใกล้เคียงกันและมีแนวโน้มลดลงตลอดระยะเวลาการหมัก 4 วัน

สอดคล้องกับการทดลองของมัลลิกา ไชยวุฒิ (2556) ได้ทำการหมักไส้กรอกอีสานที่บรรจุด้วยไส้หมูและไส้คอลลาเจนหมักสภาวะแบบสด(สูญญากาศ) และกึ่งแห้ง พบว่าความชื้นของไส้กรอกอีสานอยู่ที่ 50% เมื่อหมักที่ 30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65% นาน 2 วัน ไส้หมูและไส้คอลลาเจนในสภาวะหมักแบบสด มีค่าความชื้นเพิ่ม 51-55% มากกว่าหมักแบบกึ่งแห้ง ส่วนค่า A_w ทั้ง 4 แบบ อยู่ที่ประมาณ 0.968-0.969 เมื่อหมักค่า A_w จะลดลง โดยไส้หมูและไส้คอลลาเจนในสภาวะหมักแบบสดมี A_w ลดลงเหลือ 0.9666-0.967 ซึ่งลดลงน้อยกว่าไส้หมูและไส้คอลลาเจนในสภาวะกึ่งแห้ง มี A_w ลดลง 0.959-0.961 โดยไส้กรอกอีสานที่หมักแบบสด ซึ่งบรรจุในถุงปิดสนิทไม่มีการถ่ายเทความชื้นระหว่างภายนอกกับภายในถุงบรรจุ เป็นเหตุให้ความชื้นถูกกักอยู่ภายในถุงบรรจุ ส่วนไส้กรอกอีสานที่เติมสารแบคทีเรียโอซินและกรดแลกติกมีค่า A_w ลดลง และความชื้นต่ำกว่ากลุ่มควบคุมในไส้กรอกอีสานแบบแวน อาจเนื่องมาจากการระเหยของสารละลายที่เติมเข้าไป การสังเกตในระหว่างการทดลองพบว่าไส้กรอกอีสานที่เติมสารแบคทีเรียโอซินและกรดแลกติกมีความแห้งและเหี่ยวกว่ากลุ่มควบคุม

ตารางที่ 4.21 ผลของสารแบคทีเรียโอซินและกรดแลกติกต่อค่า water activity (A_w) ในไส้กรอกอีสานที่ทำให้เกิดกระบวนการหมักโดยการแวน (Mean $\pm$ S.D.)

ระยะ	$A_w \pm$ S.D.					
เวลา (วัน)	Con	L2%	L4%	B2%	B4%	L2%+B2%
0	0.96 $\pm$ 0.01 ^{b,A}	0.97 $\pm$ 0.01 ^{a,A}	0.98 $\pm$ 0.00 ^{a,A}	0.97 $\pm$ 0.01 ^{a,A}	0.98 $\pm$ 0.00 ^{a,A}	0.97 $\pm$ 0.00 ^{a,A}
1	0.97 $\pm$ 0.01 ^{a,A}	0.97 $\pm$ 0.01 ^{a,A}	0.97 $\pm$ 0.01 ^{a,A}	0.97 $\pm$ 0.01 ^{a,A}	0.97 $\pm$ 0.01 ^{a,A}	0.97 $\pm$ 0.01 ^{a,AB}
2	0.94 $\pm$ 0.00 ^{b,B}	0.93 $\pm$ 0.01 ^{b,B}	0.96 $\pm$ 0.01 ^{a,A}	0.93 $\pm$ 0.01 ^{b,B}	0.96 $\pm$ 0.01 ^{a,B}	0.96 $\pm$ 0.02 ^{a,AB}
3	0.97 $\pm$ 0.01 ^{a,A}	0.92 $\pm$ 0.00 ^{c,C}	0.95 $\pm$ 0.01 ^{b,B}	0.92 $\pm$ 0.00 ^{c,C}	0.94 $\pm$ 0.01 ^{b,C}	0.94 $\pm$ 0.01 ^{b,BC}
4	0.95 $\pm$ 0.0 ^{a,AB}	0.91 $\pm$ 0.00 ^{b,D}	0.93 $\pm$ 0.01 ^{b,B}	0.91 $\pm$ 0.01 ^{b,C}	0.93 $\pm$ 0.01 ^{b,C}	0.92 $\pm$ 0.00 ^{b,C}

^{abc} ตัวอักษรที่ต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

^{ABCDE} ตัวอักษรที่ต่างกันคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

Con	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานกลุ่มควบคุม	B2%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมแบคทีเรียโอซิน 2%
L2%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 2%	B4%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมแบคทีเรียโอซิน 4%
L4%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 4%	L2%+B2%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 2% ร่วมกับแบคทีเรียโอซิน 2%

ตารางที่ 4.22 ผลของสารแบคทีเรียโอซินและกรดแลกติกต่อค่า water activity (A_w) ในไส้กรอกอีสานที่ทำให้เกิดกระบวนการหมักโดยการบรรจุถุงสุญญากาศ (Mean $\pm$ S.D)

ระยะ	A_w					
เวลา (วัน)	Con	L2%	L4%	B2%	B4%	L2%+B2%
0	0.98 $\pm$ 0.00 ^{a,A}	0.98 $\pm$ 0.01 ^{a,A}	0.99 $\pm$ 0.00 ^{a,A}	0.98 $\pm$ 0.01 ^{a,A}	0.99 $\pm$ 0.00 ^{a,A}	0.98 $\pm$ 0.00 ^{a,A}
1	0.97 $\pm$ 0.00 ^{b,B}	0.97 $\pm$ 0.01 ^{b,A}	0.99 $\pm$ 0.00 ^{a,A}	0.97 $\pm$ 0.01 ^{b,A}	0.99 $\pm$ 0.00 ^{a,A}	0.96 $\pm$ 0.01 ^{b,A}
2	0.95 $\pm$ 0.00 ^{b,C}	0.95 $\pm$ 0.00 ^{b,B}	0.98 $\pm$ 0.00 ^{a,B}	0.95 $\pm$ 0.00 ^{b,B}	0.97 $\pm$ 0.00 ^{a,B}	0.96 $\pm$ 0.03 ^{ab,A}
3	0.95 $\pm$ 0.00 ^{b,C}	0.95 $\pm$ 0.00 ^{b,B}	0.97 $\pm$ 0.00 ^{a,C}	0.95 $\pm$ 0.00 ^{b,B}	0.97 $\pm$ 0.01 ^{a,B}	0.96 $\pm$ 0.02 ^{ab,A}
4	0.94 $\pm$ 0.01 ^{b,C}	0.95 $\pm$ 0.00 ^{ab,B}	0.96 $\pm$ 0.00 ^{a,C}	0.95 $\pm$ 0.00 ^{ab,B}	0.96 $\pm$ 0.00 ^{a,C}	0.94 $\pm$ 0.01 ^{b,A}

^{abc} ตัวอักษรที่ต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

^{ABCDE} ตัวอักษรที่ต่างกันคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

Con	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานกลุ่มควบคุม	B2%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมแบคทีเรียโอซิน 2%
L2%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 2%	B4%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมแบคทีเรียโอซิน 4%
L4%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 4%	L2%+B2%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 2% ร่วมกับแบคทีเรียโอซิน 2%

ตารางที่ 4.23 ผลของสารแบคทีเรียโอซินและกรดแลกติกต่อค่าความชื้น (%) ในไส้กรอกอีสานที่ทำให้เกิดกระบวนการหมัก โดยการแขวน (Mean $\pm$ S.D.)

ระยะ	ความชื้น (%)					
เวลา (วัน)	Con	L2%	L4%	B2%	B4%	L2%+B2%
0	57.33 $\pm$ 1.47 ^{a,A}	46.57 $\pm$ 0.03 ^{b,A}	45.33 $\pm$ 0.12 ^{b,A}	46.57 $\pm$ 0.03 ^{b,A}	45.33 $\pm$ 0.12 ^{b,A}	58.31 $\pm$ 1.03 ^{a,A}
1	56.30 $\pm$ 0.59 ^{a,A}	44.59 $\pm$ 0.25 ^{b,B}	40.68 $\pm$ 0.19 ^{c,B}	44.59 $\pm$ 0.25 ^{b,B}	41.01 $\pm$ 0.76 ^{c,B}	44.68 $\pm$ 1.02 ^{b,B}
2	52.15 $\pm$ 1.06 ^{a,B}	43.31 $\pm$ 0.10 ^{b,C}	40.52 $\pm$ 0.13 ^{d,B}	43.32 $\pm$ 0.10 ^{b,C}	40.86 $\pm$ 0.70 ^{d,B}	42.03 $\pm$ 0.55 ^{c,C}
3	50.39 $\pm$ 2.51 ^{a,B}	40.38 $\pm$ 0.07 ^{b,D}	40.15 $\pm$ 0.13 ^{bc,C}	40.40 $\pm$ 0.06 ^{b,D}	40.22 $\pm$ 0.0 ^{bc,BC}	38.27 $\pm$ 0.67 ^{c,D}
4	43.62 $\pm$ 1.63 ^{a,C}	39.72 $\pm$ 0.15 ^{b,E}	39.50 $\pm$ 0.06 ^{b,D}	39.52 $\pm$ 0.70 ^{b,E}	39.46 $\pm$ 0.05 ^{b,C}	37.27 $\pm$ 1.60 ^{c,D}

^{abc} ตัวอักษรที่ต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

^{ABCDE} ตัวอักษรที่ต่างกันคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

Con	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานกลุ่มควบคุม	B2%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมแบคทีเรียโอซิน 2%
L2%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 2%	B4%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมแบคทีเรียโอซิน 4%
L4%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 4%	L2%+B2%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 2% ร่วมกับแบคทีเรียโอซิน 2%

ตารางที่ 4.24 ผลของสารแบคทีเรียโอซินและกรดแลกติกต่อค่าความชื้น (%) ในไส้กรอกอีสานที่ทำให้เกิดกระบวนการหมักโดยการบรรจุถุงสุญญากาศ (Mean $\pm$ S.D)

ระยะ เวลา (วัน)	ความชื้น (%)					
	Con	L2%	L4%	B2%	B4%	L2%+B2%
0	54.72 $\pm$ 0.97 ^{a,A}	52.57 $\pm$ 0.56 ^{b,A}	54.45 $\pm$ 0.11 ^{a,A}	52.57 $\pm$ 0.56 ^{b,A}	54.45 $\pm$ 0.11 ^{a,A}	52.64 $\pm$ 1.56 ^{b,A}
1	54.19 $\pm$ 0.25 ^{a,AB}	52.40 $\pm$ 0.01 ^{b,A}	53.49 $\pm$ 0.28 ^{a,B}	52.40 $\pm$ 0.01 ^{b,A}	53.49 $\pm$ 0.28 ^{a,AB}	52.32 $\pm$ 1.01 ^{b,A}
2	53.99 $\pm$ 0.49 ^{a,AB}	52.02 $\pm$ 0.02 ^{b,A}	53.28 $\pm$ 0.32 ^{ab,B}	52.02 $\pm$ 0.02 ^{b,A}	53.28 $\pm$ 0.32 ^{ab,B}	46.26 $\pm$ 2.96 ^{c,B}
3	53.27 $\pm$ 0.15 ^{a,BC}	51.27 $\pm$ 0.10 ^{b,B}	51.41 $\pm$ 0.08 ^{b,C}	51.27 $\pm$ 0.10 ^{b,B}	51.41 $\pm$ 0.08 ^{b,C}	51.31 $\pm$ 0.19 ^{b,AB}
4	52.34 $\pm$ 0.22 ^{a,C}	50.48 $\pm$ 0.38 ^{b,C}	52.47 $\pm$ 0.12 ^{a,D}	50.84 $\pm$ 0.32 ^{b,B}	51.08 $\pm$ 1.16 ^{ab,C}	51.03 $\pm$ 1.33 ^{ab,AB}

^{abc} ตัวอักษรที่ต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

^{ABCDE} ตัวอักษรที่ต่างกันคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

Con	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานกลุ่มควบคุม	B2%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมแบคทีเรียโอซิน 2%
L2%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 2%	B4%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมแบคทีเรียโอซิน 4%
L4%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 4%	L2%+B2%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 2% ร่วมกับแบคทีเรียโอซิน 2%

3.1.3 ศึกษาการใช้สารแบคทีเรียโอซิน กรดแลกติก และสารแบคทีเรียโอซินร่วมกับกรดแลกติกต่อคุณสมบัติทางด้านจุลินทรีย์

3.1.3.1 ผลของต่อจำนวนแบคทีเรียแลกติกในไส้กรอกอีสานที่ทำให้เกิดกระบวนการหมักโดยการแขวนและบรรจุถุงสุญญากาศ

ทำการศึกษาการใช้กรดแลกติก สารแบคทีเรียโอซิน และกรดแลกติกร่วมกับแบคทีเรียโอซินเติมลงในไส้กรอกอีสานที่ทำให้เกิดกระบวนการหมักโดยการแขวน (ตารางที่ 4.25) แบ่งเป็น 6 กลุ่ม พบว่า ในวันที่แรกของการหมักทุกกลุ่มการทดลองมีจำนวนแบคทีเรียแลกติกไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) อยู่ระหว่าง 2.45-4.03 log cfu/g จากนั้นเมื่อผ่านไปวันที่ 1 จะเห็นว่าจำนวนแบคทีเรียแลกติกเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว อย่างน้อย 2 log cfu/g ในทุกกลุ่มและมีอัตราการเพิ่มช้าลงหลังจากวันที่ 1 จนตลอดระยะเวลาการหมัก ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 2% , 4% และ ไส้กรอกอีสานที่เติมแบคทีเรียโอซิน 2%, 4% พบว่าจำนวนแบคทีเรียแลกติกมีค่าเพิ่มขึ้นแต่ไม่แตกต่างกันตลอดระยะเวลาการหมัก 4 วัน แต่ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 2% ร่วมกับแบคทีเรียโอซิน 2% มีจำนวนแบคทีเรียแลกติกน้อยกว่าทุกกลุ่มตลอด 4 วัน รวมถึงกลุ่มควบคุม เมื่อทำการหมักครบวันที่ 4 พบว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เติมกรดแลกติก 2% ร่วมกับแบคทีเรียโอซิน 2% มีจำนวนแบคทีเรียแลกติก 7.21 และ 6.13 log cfu/g ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนกลุ่มที่เติมกรดแลกติก 2%, 4% และ กลุ่มที่เติมแบคทีเรียโอซิน 2%, 4% มีจำนวน แบคทีเรียแลกติก 8.60, 8.36, 8.16 และ 8.39 log cfu/g ตามลำดับ

ส่วนไส้กรอกอีสานที่ทำให้เกิดกระบวนการหมักโดยการบรรจุถุงสุญญากาศ (ตารางที่ 4.26) พบว่าในวันที่แรกของการหมักทุกกลุ่มการทดลองมีจำนวนแบคทีเรียแลคติกอยู่ระหว่าง 4.02-4.15 log cfu/g ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) และมีอัตราการเพิ่มช้าลงหลังจากวันที่ 1 จนตลอดระยะเวลาการหมัก จากนั้นเมื่อผ่านไปวันที่ 1 จะเห็นว่ามีความจำนวนแบคทีเรียแลคติกเพิ่มสูงขึ้นทุกกลุ่ม ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลคติก 2% , 4% และ ไส้กรอกอีสานที่เติมแบคทีเรียโอซิน 2%, 4% พบว่าจำนวนแบคทีเรียแลคติก มีค่าเพิ่มขึ้นแต่ไม่แตกต่างกันตลอดระยะเวลาการหมัก 4 วัน แต่ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลคติก 2% ร่วมกับแบคทีเรียโอซิน 2% มีจำนวนแบคทีเรียแลคติกน้อยกว่าทุกกลุ่มตลอด 4 วัน รวมทั้งกลุ่มควบคุม เมื่อทำการหมักครบวันที่ 4 พบว่า กลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เติมกรดแลคติก 2% ร่วมกับแบคทีเรียโอซิน 2% มีจำนวนแบคทีเรียแลคติก น้อยสุดคือ 6.22 log cfu/g ส่วนกลุ่มควบคุม กลุ่มที่เติมกรดแลคติก 2%, 4% และ กลุ่มที่เติมแบคทีเรียโอซิน 2%, 4% มีจำนวนแบคทีเรียแลคติก 8.16, 8.25, 8.46, 8.37 และ 8.47 log cfu/g ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ผลการศึกษา พบว่า จำนวนแบคทีเรียแลคติก เพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการหมัก 4 วัน เนื่องจาก ไส้กรอกอีสานเป็นผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แบบเปรี้ยว (Fermented meat product) ที่เกิดการหมักตามธรรมชาติ โดยแบคทีเรียแบคทีเรียแลคติกที่พบ ได้แก่ *Lactobacillus brevis*, *L. farcininis*, *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. sakei*, *Pediococcus acidilactici*, *P. pentosaceus*, *Weissella cibaria* และ *W. confuse* (อพัชชา จินดาประเสริฐ และคณะ. 2557) รวมถึงมีการสนับสนุนของแมงกานีสในกระเทียมที่มีส่วนช่วยสนับสนุนปริมาณของแบคทีเรียแลคติกให้เจริญเพิ่มขึ้น (Swetwathana *et al.* 1999) สอดคล้องกับการทดลองของ Jindaprasert *et al.* (2011) ซึ่งพบว่าจำนวนของแบคทีเรียแลคติกที่พบในวันแรก เท่ากับ 6.19 log cfu/g และเพิ่มขึ้นเป็น 8 log cfu/g จนระยะเวลาการหมัก เมื่อ 48 ชั่วโมง วัชรียา วงษ์หาญ และคณะ (2558) ตรวจสอบจำนวนแบคทีเรียแลคติกของไส้กรอกอีสานกลุ่มควบคุม พบว่า มีจำนวน เพิ่มขึ้น 5 log cfu/g อย่างรวดเร็ว ตั้งแต่วันที่ 0 ถึง 2 (จาก 6 log cfu/g เป็น 11 log cfu/g) หลังจากวันที่ 2 ถึง 4 ของการหมักมีจำนวนเพิ่มขึ้นที่ลดลง

ทั้งนี้การเติมกรดแลคติก 2%, 4% แบคทีเรียโอซิน 2%, 4% ในไส้กรอกอีสานที่ทำให้เกิดกระบวนการหมักโดยการแขวนและบรรจุถุงสุญญากาศ มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของจำนวน แบคทีเรียแลคติก ตลอดระยะเวลา 4 วัน โดยมากกว่ากลุ่มควบคุม แต่การเติมกรดแลคติก 2% ร่วมกับแบคทีเรียโอซิน 2% มีผลทำให้จำนวนแบคทีเรียแลคติก น้อยกว่าทุกกลุ่ม นอกจากนี้จะเห็นได้ว่าการเพิ่มความเข้มข้นของกรดแลคติกและแบคทีเรียโอซินจาก 2% เป็น 4% ของไส้กรอกอีสานที่ทำให้เกิดกระบวนการหมักโดยการแขวนและบรรจุถุงสุญญากาศ ไม่มีความแตกต่าง ($p>0.05$) ของจำนวนแบคทีเรียแลคติก แต่เมื่อเติมกรดแลคติก 2% ร่วมกับแบคทีเรียโอซิน 2% มีผลทำให้แบคทีเรียแลคติกลดลงกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งการเติมกรดแลคติกทำให้ค่าความเป็นกรดต่ำลง ทำให้สภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ซึ่งในสภาวะนี้จะทำให้ช่วงเจริญเติบโต (lag phase) ใช้ระยะเวลานานขึ้น จึงทำให้อัตราการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ช้าลง (Woolthuis and Smulders. 1985)

นอกจากนี้ Pilasombut *et al.* (2015) ศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค *S. Anatum*, *E. coli* TISTR780 และ *S. aureus* TISTR118 โดยการใช้กรดแลกติก ความเข้มข้น 1, 2, 3 และ 4% ร่วมกับ สารแบคทีเรียโอซิน 2% ในหลอดทดลอง พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายกรดแลกติกจะสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบ โดยการใช้สารละลายกรดแลกติก 3 และ 4% สามารถยับยั้งได้ ขณะที่เมื่อใช้สารแบคทีเรียโอซิน 2% จะไม่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบได้ แต่เมื่อใช้สารละลายกรดแลกติก 4% ร่วมกับ สารแบคทีเรียโอซิน 2% สามารถลดจุลินทรีย์ทดสอบได้มากกว่าใช้สารละลายกรดแลกติก 4% เพียงอย่างเดียว จะเห็นว่าสาร 2 ชนิดทำงานร่วมกันเพิ่มประสิทธิภาพทำลายเชื้ออื่นได้มากขึ้น โดยทั่วไปแล้วแบคทีเรียแลกติกมีความสามารถทนต่อภาวะความเป็นกรดและแบคทีเรียแลกติกบางสายพันธุ์ที่อยู่ในไส้กรอกอีสานซึ่งอาจถูกทำลายโดยการทำงานร่วมกันของสารทั้ง 2 ชนิด

ตารางที่ 4.25 จำนวนแบคทีเรียแลกติกที่ตรวจพบในไส้กรอกอีสานที่ทำให้เกิดกระบวนการหมักโดยการแขวน (Mean $\pm$ S.D)

ระยะ เวลา (วัน)	จำนวน Lactic acid bacteria (log cfu/g)					
	Con	L2%	L4%	B2%	B4%	L2%+B2%
0	3.09 $\pm$ 1.48 ^{a,C}	3.01 $\pm$ 0.01 ^{a,E}	4.04 $\pm$ 0.01 ^{a,E}	4.03 $\pm$ 0.02 ^{a,E}	4.03 $\pm$ 0.00 ^{a,E}	2.45 $\pm$ 0.15 ^{a,B}
1	5.65 $\pm$ 0.42 ^{bc,B}	6.11 $\pm$ 0.01 ^{b,D}	7.02 $\pm$ 0.02 ^{a,D}	6.12 $\pm$ 0.01 ^{b,D}	7.05 $\pm$ 0.01 ^{a,D}	5.26 $\pm$ 0.85 ^{c,A}
2	6.52 $\pm$ 0.50 ^{b,AB}	7.11 $\pm$ 0.01 ^{ab,C}	8.08 $\pm$ 0.01 ^{a,C}	7.14 $\pm$ 0.01 ^{ab,C}	8.12 $\pm$ 0.01 ^{a,C}	5.35 $\pm$ 1.49 ^{c,A}
3	7.10 $\pm$ 0.02 ^{b,A}	8.09 $\pm$ 0.01 ^{a,B}	8.32 $\pm$ 0.00 ^{a,B}	8.10 $\pm$ 0.01 ^{a,B}	8.35 $\pm$ 0.01 ^{a,B}	5.99 $\pm$ 0.97 ^{c,A}
4	7.21 $\pm$ 0.12 ^{ab,A}	8.60 $\pm$ 0.42 ^{a,a}	8.36 $\pm$ 0.00 ^{a,A}	8.16 $\pm$ 0.12 ^{a,A}	8.39 $\pm$ 0.01 ^{a,A}	6.13 $\pm$ 1.76 ^{b,A}

^{abc} ตัวอักษรที่ต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

^{ABCDE} ตัวอักษรที่ต่างกันคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

Con	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานกลุ่มควบคุม	B2%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมแบคทีเรียโอซิน 2%
L2%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 2%	B4%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมแบคทีเรียโอซิน 4%
L4%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 4%	L2%+B2%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 2%

ตารางที่ 4.26 จำนวน แบคทีเรียแลคติกที่ตรวจพบในไส้กรอกอีสานที่ทำให้เกิดกระบวนการหมักโดย
การ บรรจุสุญญากาศ (Mean $\pm$ S.D)

ระยะ	จำนวน Lactic acid bacteria (log cfu/g)					
เวลา (วัน)	Con	L2%	L4%	B2%	B4%	L2%+B2%
0	4.02 $\pm$ 0.05 ^{a,D}	4.05 $\pm$ 0.04 ^{a,D}	4.15 $\pm$ 0.00 ^{a,E}	4.04 $\pm$ 0.02 ^{a,E}	4.02 $\pm$ 0.01 ^{a,E}	4.03 $\pm$ 1.68 ^{a,B}
1	6.03 $\pm$ 0.01 ^{bc,C}	6.12 $\pm$ 0.05 ^{ab,C}	7.23 $\pm$ 0.01 ^{a,D}	6.30 $\pm$ 0.01 ^{ab,D}	7.28 $\pm$ 0.01 ^{a,D}	4.75 $\pm$ 1.16 ^{c,A}
2	6.92 $\pm$ 0.29 ^{b,B}	7.94 $\pm$ 0.28 ^{ab,B}	8.14 $\pm$ 0.00 ^{a,C}	8.20 $\pm$ 0.00 ^{a,C}	8.23 $\pm$ 0.03 ^{a,C}	5.44 $\pm$ 1.46 ^{c,A}
3	8.12 $\pm$ 0.01 ^{a,A}	8.18 $\pm$ 0.04 ^{a,A}	8.40 $\pm$ 0.03 ^{a,B}	8.28 $\pm$ 0.01 ^{a,B}	8.42 $\pm$ 0.00 ^{a,B}	6.10 $\pm$ 0.90 ^{b,A}
4	8.16 $\pm$ 0.04 ^{a,A}	8.25 $\pm$ 0.01 ^{a,A}	8.46 $\pm$ 0.00 ^{a,A}	8.37 $\pm$ 0.03 ^{a,A}	8.47 $\pm$ 0.01 ^{a,A}	6.22 $\pm$ 1.61 ^{b,A}

^{abc} ตัวอักษรที่ต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

^{ABCDE} ตัวอักษรที่ต่างกันคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

Con	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานกลุ่มควบคุม	B2%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมแบคทีเรียโอสติน 2%
L2%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลคติก 2%	B4%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมแบคทีเรียโอสติน 4%
L4%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลคติก 4%	L2%+B2%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลคติก 2% ร่วมกับแบคทีเรียโอสติน 2%

3.1.3.2 ผลของสารแบคทีเรียโอสตินและกรดแลคติกต่อจำนวนยีสต์และราในไส้กรอกอีสานที่ทำให้เกิดกระบวนการหมักโดยการแขวนและบรรจุสุญญากาศ

ผลการศึกษาจำนวนยีสต์และราที่ตรวจพบในไส้กรอกอีสานที่ทำให้เกิดกระบวนการหมักโดยการแขวน (ตารางที่ 4.27) พบว่า ในวันที่ 0 ของการหมักจำนวนยีสต์และราทุกกลุ่มทดลองไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) มีค่าระหว่าง 2.54-2.89 log cfu/g จากนั้นวันที่ 1 พบว่า กลุ่มที่เติมกรดแลคติก 2% ร่วมกับแบคทีเรียโอสติน 2% ลงในไส้กรอกอีสาน มีการลดลงของจำนวนยีสต์และรา คือ จาก 2.62 เป็น 2.46 log cfu/g ต่างจากกลุ่มอื่นคือมีการเพิ่มขึ้น และจำนวนยีสต์และราเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตลอดระยะเวลาการหมัก 4 วัน เมื่อครบวันที่ 4 ของการหมักพบว่าจำนวนยีสต์และราของกลุ่มที่เติมกรดแลคติก 2% ร่วมกับแบคทีเรียโอสติน 2% น้อยที่สุด คือ 4.06 log cfu/g ส่วนกลุ่มควบคุมมีจำนวนยีสต์และรามากสุด คือ 4.78 log cfu/g ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.27

การศึกษาจำนวนยีสต์และราที่ตรวจพบในไส้กรอกอีสานที่ทำให้เกิดกระบวนการหมักโดยการบรรจุสุญญากาศ (ตารางที่ 4.28) พบว่า ในวันที่ 0 ของการหมักจำนวนยีสต์และราทุกกลุ่มทดลองมีค่าระหว่าง 2.57-2.80 log cfu/g มีค่าไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) จากนั้นวันที่ 1 และ 2 พบว่า ทุกกลุ่มมีการเพิ่มขึ้น จนวันที่ 3 และ 4 ของการหมักพบจำนวนยีสต์และราที่ตรวจพบน้อยกว่า 10 log cfu/g โดยตามมาตรฐาน มพช. 144 / 2546 ที่กำหนดให้มีจำนวนยีสต์และราในไส้กรอกอีสานที่ผลิตต้องน้อยกว่า 10 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม ซึ่งจะเห็นว่าไส้กรอกอีสานที่ทำให้เกิดกระบวนการหมักโดยการบรรจุสุญญากาศทุกตัวอย่างมีจำนวนยีสต์และราไม่เกินมาตรฐานกำหนด

จากการทดลองของกฤษณา ประภัสสรวัฒนา และคณะ (2552) พบว่าจำนวนยีสต์จากการหมักไส้กรอกอีสานเพิ่มขึ้นจากวันแรกประมาณ 1 log cfu/g (จาก 1 log cfu/g เป็น 2 log cfu/g) หลังการหมัก 2 วัน โดยยีสต์เพิ่มจำนวนขึ้นได้เนื่องจากเจริญในสภาวะที่ความเป็นกรดต่างดีกว่าแบคทีเรีย นอกจากนี้ยีสต์และรายังชอบเจริญในสภาวะมีออกซิเจน การที่ยังมีการเจริญของยีสต์และราตั้งแต่วันแรกจนถึงวันที่ 2 เนื่องจาก ยังเหลือออกซิเจนในถุงบรรจุ ถึงแม้จะเป็นสภาวะสุญญากาศก็ตาม (Phomraksa *et al.* 2005) แต่จากการทดลองเมื่อเทียบกับการหมักไส้กรอกอีสานที่ทำให้เกิดกระบวนการหมักโดยการแว่นและบรรจุถุงสุญญากาศ จะเห็นว่าจำนวนยีสต์และราที่พบในสภาวะแว่นทุกกลุ่มมีจำนวนมากกว่าไส้กรอกอีสานที่ทำให้เกิดกระบวนการหมักโดยการบรรจุถุงสุญญากาศ เหตุผลเนื่องจากยีสต์และราชอบเจริญในสภาวะออกซิเจน สอดคล้องกับการทดลองของ Phomraksa *et al.* 2005 ได้หมักไส้กรอกอีสานในสภาวะแว่น เทียบกับสุญญากาศ พบว่า จำนวนยีสต์และราของไส้กรอกอีสานในสภาวะแว่นเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในวันที่เริ่มหมักถึงวันที่ 2 (จากน้อยกว่า 30 cfu/g เป็น 120-150 cfu/g) ส่วนไส้กรอกอีสานที่ทำให้เกิดกระบวนการหมักโดยการบรรจุถุงสุญญากาศ พบจำนวนยีสต์และราน้อยกว่า 30 cfu/g ตั้งแต่วันที่เริ่มหมักจนกระทั่งวันที่ 6

ตารางที่ 4.27 ผลของสารแบคทีเรียโอซินและกรดแลกติกต่อจำนวนยีสต์และราในไส้กรอกอีสานที่ทำให้เกิดกระบวนการหมัก โดยการแว่น (Mean $\pm$ S.D.)

ระยะ	จำนวนยีสต์และรา (log cfu/g)					
เวลา (วัน)	Con	L2%	L4%	B2%	B4%	L2%+B2%
0	2.61 $\pm$ 0.26 ^{ab,C}	2.63 $\pm$ 0.02 ^{ab,E}	2.89 $\pm$ 0.01 ^{c,E}	2.52 $\pm$ 0.04 ^{b,E}	2.54 $\pm$ 0.01 ^{b,D}	2.62 $\pm$ 0.25 ^{ab,B}
1	3.00 $\pm$ 0.18 ^{a,C}	2.88 $\pm$ 0.01 ^{ab,D}	3.07 $\pm$ 0.02 ^{a,D}	2.78 $\pm$ 0.06 ^{ab,D}	3.07 $\pm$ 0.01 ^{a,C}	2.46 $\pm$ 0.54 ^{b,B}
2	3.80 $\pm$ 0.30 ^{b,B}	4.01 $\pm$ 0.00 ^{b,C}	4.09 $\pm$ 0.01 ^{ab,C}	3.82 $\pm$ 0.28 ^{b,C}	4.08 $\pm$ 0.02 ^{ab,B}	4.40 $\pm$ 0.28 ^{a,A}
3	4.73 $\pm$ 0.06 ^{a,A}	4.08 $\pm$ 0.01 ^{bc,B}	4.14 $\pm$ 0.01 ^{b,B}	4.06 $\pm$ 0.01 ^{c,B}	4.12 $\pm$ 0.02 ^{bc,B}	4.09 $\pm$ 0.05 ^{bc,A}
4	4.78 $\pm$ 0.07 ^{a,A}	4.55 $\pm$ 0.03 ^{ab,a}	4.46 $\pm$ 0.03 ^{b,A}	4.62 $\pm$ 0.01 ^{ab,A}	4.57 $\pm$ 0.06 ^{ab,A}	4.06 $\pm$ 0.32 ^{c,A}

^{abc} ตัวอักษรที่ต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

^{ABCDE} ตัวอักษรที่ต่างกันคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

Con	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานกลุ่มควบคุม	B2%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมแบคทีเรียโอซิน 2%
L2%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 2%	B4%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมแบคทีเรียโอซิน 4%
L4%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 4%	L2%+B2%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 2% ร่วมกับแบคทีเรียโอซิน 2%

ตารางที่ 4.28 ผลของสารแบคทีเรียโอซินและกรดแลกติกต่อจำนวนยีสต์และราในไส้กรอกอีสานที่ทำให้เกิดกระบวนการหมักโดยการบรรจุถุงสุญญากาศ (Mean $\pm$ S.D)

ระยะ	จำนวนยีสต์และรา (log cfu/ml)					
เวลา (วัน)	Con	L2%	L4%	B2%	B4%	L2%+B2%
0	2.57 $\pm$ 0.01 ^{a,D}	2.77 $\pm$ 0.03 ^{a,A}	2.80 $\pm$ 0.02 ^{a,B}	2.60 $\pm$ 0.01 ^{b,B}	2.60 $\pm$ 0.02 ^{b,A}	2.60 $\pm$ 0.17 ^{b,A}
1	2.69 $\pm$ 0.02 ^{b,A}	2.76 $\pm$ 0.01 ^{ab,A}	2.95 $\pm$ 0.02 ^{a,A}	2.70 $\pm$ 0.04 ^{b,A}	2.76 $\pm$ 0.23 ^{ab,A}	2.92 $\pm$ 0.10 ^{a,A}
2	2.48 $\pm$ 0.03 ^{ab,C}	2.47 $\pm$ 0.01 ^{ab,B}	2.63 $\pm$ 0.03 ^{a,C}	2.49 $\pm$ 0.04 ^{ab,C}	2.58 $\pm$ 0.12 ^{a,A}	2.16 $\pm$ 0.41 ^{b,B}
3	<10	<10	<10	<10	<10	<10
4	<10	<10	<10	<10	<10	<10

^{abc} ตัวอักษรที่ต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

^{ABCDE} ตัวอักษรที่ต่างกันคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

Con	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานกลุ่มควบคุม	B2%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมแบคทีเรียโอซิน 2%
L2%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 2%	B4%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมแบคทีเรียโอซิน 4%
L4%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 4%	L2%+B2%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 2% ร่วมกับแบคทีเรียโอซิน 2%

3.1.4 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของไส้กรอกอีสานที่ทำให้เกิดกระบวนการหมักโดยการแขวนและบรรจุถุงสุญญากาศ

จากการทดลองผลิตไส้กรอกอีสานโดยเติมกรดแลกติก 2% แบคทีเรียโอซิน 2% และเติมกรดแลกติก 2% ร่วมกับแบคทีเรียโอซิน 2% จากนั้นนำไปหมักในสภาวะการหมักแบบแขวนและบรรจุถุงสุญญากาศ ครบ 4 วัน นำมาอย่างให้สุก แล้วทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสจากผู้ชิมที่ไม่ผ่านการฝึกจำนวน 30 คน ด้วยการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสความชอบโดยรวมด้านสี ลักษณะปรากฏ เนื้อสัมผัส กลิ่นรส ความเปรี้ยว ลักษณะโดยรวม ด้วยวิธีการให้คะแนนความชอบ 7 point hedonic scale ตั้งแต่ 1-7 ดังต่อไปนี้

คะแนน	1	หมายถึง	ไม่ชอบมากที่สุด
คะแนน	2	หมายถึง	ไม่ชอบมาก
คะแนน	3	หมายถึง	ไม่ชอบ
คะแนน	4	หมายถึง	เฉยๆ
คะแนน	5	หมายถึง	ชอบ
คะแนน	6	หมายถึง	ชอบมาก
คะแนน	7	หมายถึง	ชอบมากที่สุด

ผลการศึกษาการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสความชอบโดยรวมด้านสี ลักษณะปรากฏ เนื้อสัมผัส กลิ่นรส ความเปรี้ยว ลักษณะโดยรวม ที่ตรวจพบในไส้กรอกอีสานที่ทำให้

เกิดกระบวนการหมักโดยการแขวน (ตารางที่ 4.29) พบว่าทุกกลุ่มไม่มีความแตกต่าง ($p>0.05$) ด้านสี ลักษณะปรากฏ และเนื้อสัมผัส ส่วนกลิ่นรส ความเปรี้ยวและลักษณะโดยรวม ไส้กรอกเปรี้ยวที่เติมกรดแลคติก 2% ร่วมกับแบคทีเรียโอซิน 2% มีค่าสูงกว่ากลุ่มอื่นๆ เท่ากับ 4.73, 4.63 และ 4.70 ซึ่งหมายถึงผู้ประเมินมีความชอบถึงชอบมาก ส่วนการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสความชอบที่ตรวจพบในไส้กรอกอีสานที่ทำให้เกิดกระบวนการหมักโดยการบรรจุถุงสุญญากาศ (ตารางที่ 4.30) พบว่าทุกกลุ่มไม่มีความแตกต่าง ($p>0.05$) ด้านสี ลักษณะปรากฏ เนื้อสัมผัส กลิ่นรส และความเปรี้ยว ส่วนลักษณะโดยรวมไส้กรอกเปรี้ยวที่เติมกรดแลคติก 2% ร่วมกับแบคทีเรียโอซิน 2% มีค่าสูงกว่ากลุ่มอื่นๆ เท่ากับ 4.93 ซึ่งหมายถึงผู้ประเมินมีความชอบถึงชอบมาก กล่าวโดยรวมพบว่าผู้ประเมินชอบกลิ่นรส ความเปรี้ยวและลักษณะโดยรวมของไส้กรอกเปรี้ยวที่เติมกรดแลคติก 2% ร่วมกับแบคทีเรียโอซิน 2% จากการศึกษาความสว่าง (L^*) ของไส้กรอกเปรี้ยว ก่อนนำมาจะพบความแตกต่างของแต่ละกลุ่ม โดยกลุ่มที่เติมกรดแลคติกและแบคทีเรียโอซินจะมีความสว่างมากกว่า (ชัดเจนว่า) กลุ่มควบคุม แต่เมื่อนำมาผ่านการย่างจะพบว่าไม่มีความแตกต่าง ($p>0.05$) ด้านสี ลักษณะปรากฏ และเนื้อสัมผัส สอดคล้องกับการทดลองของ ญัฐธิดา แปวกระโทก (2554) ได้ทำไส้กรอกอีสานที่เติม *Lb.plantarum* RS21 ซึ่งสามารถสร้างแบคทีเรียโอซินได้ พบว่าผู้ประเมินมีความชอบเฉลี่ยด้านสีและกลิ่นรส มากกว่าไส้กรอกที่ผลิตทางการค้า

ตารางที่ 4.29 ค่าเฉลี่ยความชอบการประเมินผลทางประสาทสัมผัสของไส้กรอกอีสานที่เติมสารแบคทีเรียโอซินและกรดแลคติกที่ทำให้เกิดกระบวนการหมักโดยการแขวน (Mean $\pm$ S.D)

Parameter	Con	L2%	B2%	L2%+B2%
สี	4.50 $\pm$ 1.17 ^a	4.67 $\pm$ 1.32 ^a	4.70 $\pm$ 1.18 ^a	4.57 $\pm$ 1.01 ^a
ลักษณะปรากฏ	4.60 $\pm$ 1.50 ^a	4.57 $\pm$ 1.22 ^a	4.60 $\pm$ 1.13 ^a	5.03 $\pm$ 1.16 ^a
เนื้อสัมผัส	4.00 $\pm$ 1.51 ^a	4.43 $\pm$ 1.68 ^a	4.30 $\pm$ 1.42 ^a	4.47 $\pm$ 1.11 ^a
กลิ่นรส	3.97 $\pm$ 1.59 ^b	3.57 $\pm$ 1.48 ^b	3.50 $\pm$ 1.53 ^b	4.73 $\pm$ 1.23 ^a
ความเปรี้ยว	3.37 $\pm$ 1.73 ^b	4.03 $\pm$ 1.18 ^{ab}	3.90 $\pm$ 1.81 ^{ab}	4.63 $\pm$ 1.43 ^a
ลักษณะโดยรวม	4.10 $\pm$ 1.58 ^{ab}	4.17 $\pm$ 1.33 ^b	3.77 $\pm$ 1.33 ^b	4.70 $\pm$ 1.24 ^a

^{abc} ตัวอักษรที่ต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

Con	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานกลุ่มควบคุม	B2%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมแบคทีเรียโอซิน 2%
L2%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลคติก 2%	L2%+B2%	หมายถึง	ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลคติก 2% ร่วมกับแบคทีเรียโอซิน 2%

ตารางที่ 4.30 ค่าเฉลี่ยความชอบการประเมินผลทางประสาทสัมผัสของไส้กรอกอีสานที่เติมสารแบคทีเรียโอซินและกรดแลกติกที่ทำให้เกิดกระบวนการหมักโดยการบรรจุถุงสุญญากาศ (Mean $\pm$ S.D)

	Con	L2%	B2%	L2%+B2%
สี	4.83 $\pm$ 1.09 ^a	4.43 $\pm$ 1.22 ^a	4.63 $\pm$ 1.19 ^a	4.80 $\pm$ 0.92 ^a
ลักษณะปรากฏ	4.87 $\pm$ 1.04 ^a	4.37 $\pm$ 1.43 ^a	4.70 $\pm$ 1.21 ^a	4.83 $\pm$ 1.18 ^a
เนื้อสัมผัส	4.63 $\pm$ 1.45 ^a	4.13 $\pm$ 1.55 ^a	4.53 $\pm$ 1.43 ^a	4.40 $\pm$ 1.50 ^a
กลิ่นรส	4.77 $\pm$ 1.55 ^a	4.00 $\pm$ 1.66 ^b	4.57 $\pm$ 1.50 ^a	4.70 $\pm$ 1.70 ^a
ความเปรี้ยว	4.33 $\pm$ 1.56 ^a	3.93 $\pm$ 1.78 ^{ab}	4.10 $\pm$ 1.63 ^a	4.40 $\pm$ 1.63 ^a
ลักษณะโดยรวม	4.63 $\pm$ 1.30 ^{ab}	4.10 $\pm$ 1.52 ^b	4.57 $\pm$ 1.50 ^{ab}	4.93 $\pm$ 1.51 ^a

^{abc} ตัวอักษรที่ต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

Con หมายถึง ไส้กรอกอีสานกลุ่มควบคุม B2% หมายถึง ไส้กรอกอีสานที่เติมแบคทีเรียโอซิน 2%
 L2% หมายถึง ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 2% L2%+B2% หมายถึง ไส้กรอกอีสานที่เติมกรดแลกติก 2%
 ร่วมกับแบคทีเรียโอซิน 2%

3.2 ศึกษาการใช้สารแบคทีเรียโอซินและกรดแลกติก ร่วมกับวิธีการเก็บระหว่างเกิดกระบวนการหมัก ในการการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ในไส้กรอกอีสาน

โดยศึกษาการใช้สารแบคทีเรียโอซิน กรดแลกติก และสารแบคทีเรียโอซินร่วมกับกรดแลกติกในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ในไส้กรอกอีสาน เมื่อแขวนไว้ในตู้หมักหมักห้องและเมื่อบรรจุในถุงสุญญากาศที่อุณหภูมิ 30 °C ผลการศึกษาพบว่าสารแบคทีเรียโอซินและกรดแลกติกมีผลต่อการลดจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดและ *S. aureus* ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ตรวจพบในไส้กรอกอีสานทำให้เกิดกระบวนการหมักโดยการแขวน ต่อการยับยั้ง *S. aureus* (ตารางที่ 4.31) พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ตรวจพบในไส้กรอกอีสานที่บรรจุแบบแขวนทุกกลุ่มมีจำนวนเพิ่มมากกว่าวันที่ 0 แต่ไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) จากวันที่ 1 ทุกกลุ่มมีแนวโน้มลดลงตั้งแต่วันที่แรกจนกระทั่งวันที่ 4 ของการหมัก โดยในวันที่ 0 กลุ่มควบคุม มีจำนวนมากที่สุด คือ 5.14 log cfu/g. จนถึงวันที่ 4 ก็พบว่ายังมีจำนวนมากที่สุด คือ 6.76 log cfu/g. ส่วนกลุ่มที่มีการเติมกรดแลกติก แบคทีเรียโอซิน และกรดแลกติกร่วมกับแบคทีเรียโอซิน มีจำนวนน้อยกว่ากลุ่มควบคุม โดยเมื่อวันที่ 4 กลุ่มที่เติมกรดแลกติก 4% มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด 2.56 log cfu/g ซึ่งน้อยกว่าทุกกลุ่ม ส่วน *S. aureus* ที่ตรวจพบจากการเติมลงในการผลิตไส้กรอกอีสาน ทุกกลุ่มมีค่าใกล้เคียงกัน อยู่ระหว่าง 3.36 – 3.96 log cfu/g และมีแนวโน้มลดลงจนกระทั่งวันสุดท้าย โดยพบว่ากลุ่มที่มีการเติมกรดแลกติก แบคทีเรียโอซิน และกรดแลกติกร่วมกับแบคทีเรียโอซิน มีจำนวนน้อยกว่ากลุ่มควบคุม แต่ไม่แตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) และให้ผลไปแนวทางเดียวกับไส้กรอกอีสานที่ทำให้เกิดกระบวนการหมักโดยการบรรจุถุงสุญญากาศ

(ตารางที่ 4.32) คือ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ตรวจพบทุกกลุ่มมีแนวโน้มลดลงตั้งแต่วันแรกจนกระทั่งวันที่ 4 ของการหมัก แต่ *S. aureus* ที่ตรวจพบในวันที่ 4 ทุกกลุ่ม น้อยกว่า 10 cfu/g (<10 cfu/g)

จากการศึกษาการเติมกรดแลกติกและแบคทีเรียโอซินมีผลทำให้จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดและ *S. aureus* ที่ตรวจพบในไส้กรอกอีสานที่ตรวจพบน้อยกว่ากลุ่มควบคุม การเติมแบคทีเรียโอซินในแบบจำลองไส้กรอกอีสานช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งการทำงานของเซลล์ ซึ่งโดยปกติแบคทีเรียโอซินไม่สามารถทำลายผนังเซลล์ของกลุ่มแบคทีเรียแกรมลบที่อยู่ในสภาพแข็งแรงได้ จึงต้องใช้ร่วมกับกรรมวิธีอื่น เช่น กรดแลกติกที่มีความเข้มข้นสูง จนทำให้เชื้อกลุ่มเป้าหมายเกิดการบาดเจ็บแบคทีเรียโอซินจึงช่วยให้เชื้อในกลุ่มแกรมลบที่บาดเจ็บถูกทำลายเร็วขึ้น (Swetwathana *et al.* 2007) โดยแบคทีเรียโอซินจะเข้าสู่เยื่อหุ้มเซลล์เป้าหมายโดยอาศัยแรง electrostatic และแบคทีเรียโอซินส่วนใหญ่จะเหนี่ยวนำให้เกิดรูบนเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์เป้าหมายและขัดขวางกระบวนการ proton motive force รวมทั้งรบกวนสมดุลของ pH เป็นผลให้เกิดการรั่วไหลของไอออนจากกรดอินทรีย์ภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์ กระตุ้นให้เซลล์ใช้พลังงาน ATP ในการปรับสมดุล เมื่อพลังงาน ATP หมดเซลล์ก็ตาย (อรอนงค์ พริงสุตตะ, 2550) Swetwathana and Lotong (1999) รายงานว่า pediocin PA-1 ที่ผลิตจาก *Pediococcus pentosaceus* TISTR536 จะมีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกแต่จะไม่ยับยั้ง *S. aureus* ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Schillinger and Lucke (1989) ที่ทดลองใช้แบคทีเรียโอซินที่ผลิตจากเชื้อ *Lactobacillus sake* ในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ซึ่งก็พบว่าแบคทีเรียโอซินไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* แต่เมื่อใช้กรดอินทรีย์บางชนิดร่วมกับแบคทีเรียโอซิน พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อได้ Pilasombut *et al.* (2015) พบว่าการใช้สารละลายกรดแลกติก 4% ร่วมกับ แบคทีเรียโอซิน 2% จาก Lactic acid bacteria isolate KL-1 ในหลอดทดลอง มีประสิทธิภาพในการลดจำนวน *S. aureus* TISTR118 ชั่วโมง ที่ 24 และ 30 มากกว่าการใช้สารละลายกรดแลกติก 4% เพียงอย่างเดียว โดยประสิทธิภาพของการใช้กรดแลกติกร่วมกับแบคทีเรียโอซินช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์ก่อโรคได้จริงในหลอดทดลอง (in vitro) แต่เมื่อนำมาใช้เดิมในไส้กรอกอีสาน พบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งไม่ดีเหมือนกับการทดลองในหลอดทดลอง ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าเมื่อเติมกรดแลกติกและแบคทีเรียโอซินลงในไส้กรอกอีสานนั้น โปรตีนและไขมันที่เป็นส่วนประกอบหลักอาจเป็นตัวดักจับสารละลายไว้ ทำให้สารดังกล่าวไม่สามารถแสดงประสิทธิภาพในการลดเชื้อได้อย่างเต็มที่ (ชลัท ศานติวรานา, 2542) รวมถึงอาจเกิดจากการยับยั้งประสิทธิภาพของแบคทีเรียโอซินจากกลูต้าไธโอนในเนื้อสัตว์ (Rose *et al.* 1999) กฤษณา ประภัสสรวัฒนา และคณะ (2552) พบว่า จำนวน Total Staphylococci ที่ปนเปื้อนมากับวัตถุดิบ ซึ่งในวันที่ 0 ของการหมักมีจำนวน 4.20 ถึง 4.42 log cfu/ml. และมีจำนวนไม่เปลี่ยนแปลงมากเมื่อเสร็จสิ้นการหมักไส้กรอกอีสาน นาน 2 วัน ส่วน *S. aureus* มีจำนวนเริ่มต้น 0.77 log cfu/g หลังจากหมักครบ 2 วัน ยังพบเชื้ออยู่ในปริมาณที่ไม่แตกต่างกับวันเริ่มต้น นอกจากนี้ยังพบว่า การเติมหัวเชื้อบริสุทธิ์ *L. plantarum* CP 2-11 และ *L. plantarum* 1-15 สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคและเร่งกระบวนการผลิต คือทำให้ค่าความเป็นกรดต่ำลง และ

สร้างแบคทีเรียโอซินทำให้สามารถลดจำนวน *S. aureus* ได้ดีกว่าเมื่อเทียบกับการหมักแบบธรรมชาติ มัลลิกา ไชยวุฒิ (2556) ทำไส้กรอกอีสานที่ผลิตโดยควบคุมการหมักตามธรรมชาติเทียบกับหมักโดยเติมหัวเชื้อ *L. plantarum* RS49 เมื่อนำไส้กรอกอีสานมาทำการตรวจ *S. aureus* ซึ่งตามมาตรฐาน มพช. 144/2546) ต้องไม่พบ *S. aureus* ในตัวอย่าง 0.1 กรัม โดยวันที่ 0, 1 สามารถตรวจพบ *S. aureus* ในไส้กรอกอีสานทั้งสองตัวอย่าง ที่ปนเปื้อนมากับวัตถุดิบเริ่มต้น แต่เมื่อหมักต่อวันที่ 2 พบว่า *S. aureus* ในไส้กรอกอีสานที่ผลิตโดยควบคุมการหมักตามธรรมชาติ แต่กลับไม่พบ *S. aureus* ในไส้กรอกอีสานที่เติมหัวเชื้อ *L. plantarum* RS49 เนื่องจาก *L. plantarum* RS49 สามารถสร้าง pediocin-like bacteriocin ยับยั้ง *S. aureus* ATCC12600 โดยวิธี direct method บน Bacteriocin Screening Medium (BSM) เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.1 และ 0.3 เซนติเมตร ส่วน *S. aureus* NP-SA1 ยับยั้งเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.3 และ 0.6 เซนติเมตร ญัฐธิดา แปวกระโทก (2554) ได้ทำการผลิตไส้กรอกอีสานสูตรโรงงานสุทธิลักษณ์อินโนฟู้ด แล้วเติม *S. aureus* NP-SA1 (สูตรที่ 1) ความเข้มข้น 10⁴ cfu/ml. ส่วนสูตรที่ 2 คือ ไส้กรอกอีสานสูตรโรงงานสุทธิลักษณ์อินโนฟู้ด แล้วเติม *S. aureus* NP-SA1 ความเข้มข้น 10⁴ cfu/ml. และ *Weissella cibraria* SI21 ความเข้มข้น 10⁶ cfu/ml. สูตรที่ 3 คือ ไส้กรอกอีสานสูตรโรงงานสุทธิลักษณ์อินโนฟู้ด แล้วเติม *S. aureus* NP-SA1 ความเข้มข้น 10⁴ cfu/ml. แล้วเติม *Lb. plantarum* NP-SA1 ความเข้มข้นเชื้อ 10⁶ cfu/ml. จากนั้นตรวจการเหลือรอดของ *S. aureus* NP-SA1 พบว่า สูตรที่ 2 ในชั่วโมงที่ 0 ปริมาณ *S. aureus* ลดลงจาก 1.2 x 10⁵ cfu/ml. เป็น 9.2 x 10³ cfu/ml. ในชั่วโมงที่ 48 ของการหมัก ส่วนสูตรที่ 3 ในชั่วโมงที่ 0 ปริมาณ *S. aureus* ลดลงจาก 1.3 x 10⁵ cfu/ml. เป็น 9.0 x 10³ cfu/ml. ในชั่วโมงที่ 48 ของการหมัก เมื่อตรวจความเข้มข้นของแบคทีเรียโอซินที่เชื้อดังกล่าวผลิตขึ้น ด้วยวิธี spot on lawn โดยใช้ *Lb. sakei* subsp. *sakei* JCM1157T เป็นอินดิเคเตอร์ พบว่า ทั้งสูตรที่เติม *Weissella cibraria* SI21 และ *Lb. plantarum* NP-SA1 พบแบคทีเรียโอซินความเข้มข้น 200 Au/ml. ในชั่วโมงที่ 30 ซึ่งการลดลงของ *S. aureus* NP-SA1 ในชั่วโมงที่ 0 ถึง 48 มากกว่าสูตรที่ 1 เนื่องจากประสิทธิภาพของกล้ำเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่สามารถสร้างกรดแลคติกได้อย่างรวดเร็วทำให้ค่าความเป็นกรดต่ำลงและขยายช่วง lag phase ของจุลินทรีย์และเชื้อก่อโรค (Kostinek *et al.* 2007) อีกทั้ง ยังสามารถสร้างแบคทีเรียโอซินในระหว่างกระบวนการหมักไส้กรอกอีสาน จึงทำให้สูตรที่ 2 และ 3 ที่มีการเติมแบคทีเรียแลคติกสามารถยับยั้ง *S. aureus* ได้ดีกว่าสูตรที่ไม่เติมกล้ำเชื้อ

ทั้งนี้จากการศึกษาพบว่าการผลิตไส้กรอกอีสานทำให้เกิดกระบวนการหมักโดยการบรรจุถุงสุญญากาศ ไม่สามารถตรวจพบ *S. aureus* ในทุกกลุ่มในวันที่ 4 ซึ่งเป็นผลผลิต โดย ญัฐธิดา แปวกระโทก (2554) ได้สุ่มตรวจ *S. aureus* จากร้านจำหน่ายไส้กรอกอีสานบริเวณตลาดหัวตะเข้ เขตตลาดกระบัง กรุงเทพฯ พบ มากถึง 2,000 cfu/g เนื่องจากการบรรจุไส้กรอกอีสานเป็นการบรรจุแบบไม่มีออกซิเจนหรือมีออกซิเจนน้อย จึงทำให้เหมาะที่จะทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ โดย Gonzaaes-Fandos *et al.* 1999 ได้พบว่าสารพิษที่สร้างจาก *S. aureus* หากมีการปนเปื้อนจะทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ และ

สารพิษนี้มีคุณสมบัติทนความร้อนสูง ซึ่งเมื่อนำใส่กรอกอีตานไปปิ้งย่างแล้วก็ตามก็มีโอกาสได้รับสารพิษนี้