การศึกษาในครั้งนี้ได้ทำการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกและ coagulase-negative staphylococci จากเนื้อหมูสด เนื้อวัวสด เบคอนและแหนมจำนวนทั้งหมด 50 ตัวอย่าง เพื่อให้ได้กล้าเชื้อที่มีคุณสมบัติเหมาะสมต่อการผลิตภัณฑ์เนื้อหมักของไทย ซึ่งได้แยกแบคทีเรียกรดแลคติกจำนวน 403 ไอโซเลตและ Micrococcaceae จำนวน 250 ไอโซเลตนำมาศึกษาคุณลักษณะ จากนั้นนำแบคทีเรียกรดแลคติกที่แยกได้มาทดสอบหากิจกรรมการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียจำนวน 11 ชนิด ด้วยเทคนิค agar spot test นำแบคทีเรียกรดแลคติกที่คัดเลือกมาศึกษาการสร้างเอนไซม์คะตะเลส เอนไซม์ไนเตรทรีดักเทส ไนไตรท์รีดักเทสและอะมิโนแอซิดดีคาร์บอกซีเลส จากนั้นนำมาจำแนกชนิดโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมีพบว่า แบคทีเรียกรดแลคติก 184 ไอโซเลต (ร้อยละ 45.66 ของ 403 ไอโซเลต) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทดสอบได้อย่างน้อย 1 ชนิด และ 25 ไอโซเลตจาก 184 ไอโซเลต (ร้อยละ 13.59) สร้างไนเตรทรีดักเทสแต่ไม่สร้างอะมิโนแอซิดดีคาร์บอกซีเลสซึ่งจะไม่ทำให้เกิดการสะสมไบโอจีนิกเอมีนในอาหารหมัก แบคทีเรียกรดแลคติก 10 ไอโซเลตซึ่งมีความสามารถสูงในการทนต่อกรดไฮโดรคลอริก กรดแลคติกและเกลือน้ำดีได้ถูกคัดเลือกมาศึกษาการสร้างแบคเทอริโอซินโดยเทคนิค agar well diffusion พบว่าแบคทีเรียที่สร้างแบคเทอริโอซินซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ทดสอบได้บางชนิดมีจำนวน 4 ไอโซเลตคือ ไอโซเลต B0410, S0602, T0903 และ T0904 เมื่อนำมาจำแนกชนิดพบว่าเชื้อทั้ง 4 ไอโซเลตนี้เป็น *Lactobacillus*

plantarum (ความคล้ายคลึงร้อยละ 99.6) *Lactobacillus plantarum* (ความคล้ายคลึงร้อยละ 99.9) *Lactobacillus brevis* (ความคล้ายคลึงร้อยละ 62.5) และ *Lactobacillus brevis* (ความคล้ายคลึงร้อยละ 99.6) ตามลำดับ ส่วนเชื้อ coagulase-negative staphylococci ที่สามารถสร้างเอนไซม์ไนเตรทรีดักเทส ไนไตรท์รีดักเทสและอะมิโนแอซิดดีคาร์บอกซีเลสได้ถูกจำแนกชนิดพบว่าเป็น *S. xylosus* (ร้อยละ 43.75 ของ 16 ไอโซเลตที่คัดเลือก) *S. saprophyticus* (ร้อยละ 12.50), *S. lentus* (ร้อยละ12.50), *S. cohnii* ssp. *urealyticum* (ร้อยละ12.50), *S. cohnii* ssp. *cohnii* (ร้อยละ 6.25), *S. haemolyticus* (ร้อยละ 6.25) และ *S. lugdunensis* (ร้อยละ 6.25) แต่มีเพียง 1 ไอโซเลตจาก 16 ไอโซเลต คือ *S. xylosus* C0903 ที่ไม่สร้างเอนไซม์อะมิโนแอซิดดีคาร์บอกซิเลส ดังนั้น *Staphylococcus* สายพันธุ์นี้เป็นสายพันธุ์เดียวที่เหมาะสมต่อการใช้เป็นกล้าเชื้อ

ในการศึกษากิจกรรมการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ 16 ชนิดโดยน้ำมันหอมระเหยจากเครื่องเทศ 8ชนิดได้แก่ เทียนสัตตบุษย์ (*Pimpinella anisum*) เร่ว (*Amomum xanthioides*) อบเชย (*Cinnamomum zeylanicum*) เทียนตาตั๊กแตน (*Anethum graveolens*) จันทน์เทศ (*Myristica fragrans*) ขมิ้นอ้อย *(Curcuma zedoaria*) พริกหอม (*Zanthoxylum limonella*) และกระทือ)*Zingiber zerumbet*) พบว่า น้ำมันอบเชยมีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียได้ดีที่สุด โดยแบคทีเรียที่มีความไวต่อน้ำมันอบเชยมากที่สุด คือ *Bacillus cereus* ซึ่งมีค่า minimum inhibitory concentration (MIC) เท่ากับ 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับน้ำมันเทียนสัตตบุษย์ น้ำมันอบเชย น้ำมันเทียนตาตั๊กแตน น้ำมันจันทน์เทศ และน้ำมันพริกหอมมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดี เชื้อราที่มีความไวต่อน้ำมันเหล่านี้ คือ *Rhodotorula glutinis*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Aspergillus ochraceus* และ *Fusarium moniliforme* และเมื่อทดสอบหาค่า fractional inhibitory concentration index (FICI) ของน้ำมันหอมระเหยผสมระหว่างน้ำมันอบเชยและน้ำมันจันทน์เทศ กับน้ำมันหอมระเหยผสมระหว่างน้ำมันอบเชยและน้ำมันพริกหอมพบว่าค่า FICI มีค่าอยู่ระหว่าง 0.38-0.32มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งให้ผลเสริมฤทธิ์กันเมื่อทดสอบกับเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas fluorescens* และ *Salmonella* Rissen นอกจากนี้ยังได้ศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจากเครื่องเทศทั้ง 8 ชนิด พบว่าน้ำมันอบเชย น้ำมันจันทน์เทศ และน้ำมันพริกหอมมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าน้ำมันหอมระเหยชนิดอื่น เมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH พบว่าน้ำมันทั้งสามชนิดนี้มีค่า IC_{50} อยู่ในช่วง 5.66-0.29มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร วิธี β-carotene bleaching ได้ค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระอยู่ในช่วงร้อยละ 68.52-61.46วิธี FRAP สามารถเปลี่ยน Fe^{3+}-TPTZ ให้เป็น Fe^{2+}-TPTZ ได้ค่าความเข้มข้นอยู่ในช่วง 2.1-0.221 มิลลิโมลาร์ต่อมิลลิกรัม ในขณะที่น้ำมันอบเชยและน้ำมันพริกหอมมีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีเมื่อทดสอบด้วยวิธี superoxide anion-scavenging activity ซึ่งมีค่าการยับยั้งเท่ากับร้อยละ 84.30 และ 82.62 ตามลำดับ นอกจากนี้น้ำมันหอมระเหยทั้ง 3 ชนิดนี้ยังมีสารประกอบฟีนอลทั้งหมดในปริมาณสูงโดยมีค่าอยู่ระหว่าง 140.9-51.540 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัม นอกจากนี้ยังได้ศึกษาฤทธิ์ของน้ำมันอบเชยและน้ำมันจันทน์เทศในการยับยั้งแบคทีเรียก่อ

โรค และแบคทีเรียกรดแลคติกในอาหารจำลองต่างชนิดกันได้แก่ starch agar, meat agar และ sausage agar ด้วยวิธี agar dilution พบว่าเชื้อ *Salmonella* Senftenberg, *Sal.* Rissen, *S. aureus* และ *L. monocytogenes* มีความไวต่อน้ำมันอบเชยในอาหาร sausage agar (มีค่า MIC เท่ากับ 0.063 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) มากกว่าในอาหารชนิดอื่น ในขณะที่เชื้อ *Sal.* Senftenberg มีความต้านทานต่อน้ำมันอบเชยในอาหาร starch agar มากที่สุด (MIC 14 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และพบว่าเชื้อ *Sal.* Rissen มีความต้านทานต่อน้ำมันจันทน์เทศมากที่สุดในอาหาร sausage agar (MIC เท่ากับ 22 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) สำหรับแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดที่ทดสอบ (*Pediococcus pentosaceus*, *Lactococcus lactis*, *Enterococcus faecalis* และ *Enterococcus faecium*) พบว่ามีความต้านทานต่อน้ำมันอบเชยและน้ำมันจันทน์เทศมากกว่าแบคทีเรียก่อโรค และแบคทีเรียกรดแลคติกส่วนใหญ่มีความต้านทานต่อน้ำมันจันทน์เทศในอาหาร sausage agar มากที่สุด แต่กลับมีความไวต่อน้ำมันอบเชยเมื่อทดสอบบนอาหารชนิดเดียวกัน

การศึกษาผลของการใช้กล้าเชื้อ *S. xylosus* C0903 (10^6 CFU ต่อกรัม) และ *L. plantarum* S0602 (10^6 CFU ต่อกรัม) ร่วมกับโซเดียมไนไตรท์ (50 ppm และ 500 ppm) และน้ำมันอบเชย (1008 ppm) ในฐานะของสารทดแทนไนไตรท์ต่อการลดลงของไนไตรท์ตกค้างและการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* และ *Salmonella* Schwarzengrund ในไส้กรอกอีสานระหว่างการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสปรากฏว่า การใส่กล้าเชื้อมีผลทำให้ปริมาณไนไตรท์ลดลงเฉพาะในไส้กรอกอีสานที่เติมโซเดียมไนไตรท์ 50 ppm แต่การใส่กล้าเชื้อหรือไม่ใส่กล้าเชื้อไม่มีผลทำให้ค่าพีเอชแตกต่างกัน และการเติมน้ำมันอบเชย 1008 ppm ให้ผลในการลดจำนวน *S. aureus* ที่มีชีวิตในไส้กรอกอีสานได้ดีกว่าการไม่เติม ดังนั้นจึงเป็นไปได้ที่จะนำน้ำมันอบเชยมาใช้ทดแทนโซเดียมไนไตรท์ในไส้กรอกอีสาน

The aims of this study were to screen lactic acid bacteria (LAB) and coagulase negative staphylococci (CNS) from 50 samples of raw beef, raw pork, bacon, Nham and Saigoyisan (Thai fermented pork sausage) to select the most suitable strains for use as starter cultures in Thai fermented meat products. A total of 403 LAB and 250 Micrococcaceae isolates were isolated and characterized. The isolates of LAB were screened for inhibitory activity against 11 bacterial species by agar spot test. The selected LAB and CNS isolated were tested for the production of enzymes such as catalase, nitrate and nitrite reductase and amino acid decarboxylase. They were identified by morphological and biochemical test. The 184 LAB isolates (45.66% of 403 isolates) were able to inhibit at least one of 11 indicator organisms by agar spot test. Twenty-five isolates (13.59% of 184 isolates) were nitrate reductase positive and amino acid decarboxylase negative which may not accumulate biogenic amine in fermented foods. Ten selected LAB had high ability to tolerate hydrochloric acid, lactic acid, sodium chloride and bile salts were selected for bacteriocin production. Only 4 isolates (the isolates B0410, S0602, T0903 and T0904) could produce bacteriocins to inhibit growth of some indicator bacteria by agar well diffusion technique. They were identified as *Lactobacillus plantarum* (99.6% similarity) *Lactobacillus plantarum* (99.9 similarity) *Lactobacillus brevis* (62.5% similarity) และ *Lactobacillus brevis* (99.6% similarity). The CNS which were catalase, nitrate and nitrite reductase and amino acid decarboxylase positive were identified as *S. xylosus* (43.75% of 16 selected CNS isolates) *S. saprophyticus* (12.50%), *S. lentus* (12.50%), *S. cohnii* ssp. *urealyticum* (12.50%), *S. cohnii* ssp. *cohnii* (6.25%), *S. haemolyticus* (6.25%), and *S. lugdunensis* (6.25%). Only one CNS strain, *S. xylosus* (C0903) that could not produce the latter enzyme was the most suitable *Staphylococcus* strain to be use as meat starter culture.

Eight essential oils of anise (*Pimpinella anisum*), bastard cardamom (*Amomum xanthioides*), cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*), dill (*Anethum graveolens*), mace (*Myristica fragrans*), zedoary *(Curcuma zedoaria*), *Zanthoxylum limonella* and *Zingiber zerumbet* were determined for their antimicrobial activity against 16 microorganisms. Of all, cinnamon oil had the highest antibacterial activity. The most sensitive bacterium was *Bacillus cereus* with the minimum inhibitory concentration (MIC) of 0.5 mg/ml. Oils of anise, cinnamon, dill, mace and *Z. limonella* exhibited strong antifungal activity. The most susceptible fungal species to these oils were *Rhodotorula glutinis*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Aspergillus ochraceus* and *Fusarium moniliforme*. The fractional inhibitory concentration index (FICI) of cinnamon oil mixed with mace oil, and cinnamon

oil mixed with *Z. limonella* was in the range of 0.32-0.38 mg/ml, showing a synergistic effect against *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas fluorescens* and *Salmonella* Rissen. Antioxidant activity of these oils was studied. Compared to other oils, oils of cinnamon, mace and *Z. limonella* had stronger antioxidant activity with 0.29-5.66 mg/ml IC_{50} (by DPPH method), 61.46-68.52% antioxidant activity (by β-carotene bleaching method) and 0.22-2.11 mM/mg reducing capacity (by FRAP method), while oils of cinnamon and *Z. limonella* showed percentage of inhibition with 84.30% and 82.62% (by superoxide anion-scavenging activity), respectively. These oils also contained high amount of total phenolics (51.54-140.90 μg gallic acid/mg oil). In addition, antibacterial effect of cinnamon oil and mace oil on different food model media (starch agar, meat agar and sausage agar) against pathogenic bacteria and lactic acid bacteria was evaluated by agar dilution. *Salmonella* Senftenberg, *Sal.* Rissen, *S. aureus* and *L. monocytogenes* were more sensitive to cinnamon oil on sausage agar (MIC 0.063 mg/ml) than the others. *Sal.* Senftenberg was the most resistant bacteria to cinnamon oil with MIC value of 14 mg/ml on starch agar, while *Sal.* Rissen was the most resistant bacteria to mace oil on sausage agar (MIC 22 mg/ml). All lactic acid bacteria tested (*Pediococcus pentosaceus*, *Lactococcus lactis*, *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*) were more resistant to cinnamon and mace oils than pathogenic bacteria. Among all food model media, most of lactic acid bacteria had the highest resistance to mace oil, but showed sensitivity to cinnamon oil on sausage agar.

The effect of starter culture (*S. xylosus* C0903 and *L. plantarum* S0602, 10^6 CFU/g each) combined with sodium nitrite (50 and 500 ppm) and cinnamon oil (1008 ppm) as nitrite substitute on decreasing of residual nitrite and inhibiting growth of pathogenic microorganisms in fermented pork sausages inoculated with *S. aureus* and *Salmonella* Schwarzengrund during fermentation at 30°C were studied. Addition of starter culture could reduce residual nitrite only in the sausages added with 50 ppm sodium nitrite, but it did not affect final pH of fermented sausages. In addition, cinnamon oil (1008 ppm) added in the sausages caused greater decrease of *S. aureus* viable cells, compared to the samples without cinnamon oil. Therefore, cinnamon oil could be used as nitrite substitute in the fermented pork sausage.