บทที่ 2
เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา

เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาจำแนกได้ดังนี้

1. แบคทีเรียก่อโรคทางอาหาร
2. แบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสีย
3. โพรไบโอติก
4. สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

1. แบคทีเรียก่อโรคทางอาหาร

ความปลอดภัยของอาหารเป็นปัจจัยสำคัญที่ต้องคำนึงถึงของทั้งผู้ผลิตและผู้บริโภค ซึ่งอาหารทะเลเป็นผลิตภัณฑ์หนึ่งที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจของประเทศไทย ในแต่ละปีประเทศไทยผลิตและส่งออกสินค้าประเภทนี้จำนวนมาก แต่อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์เหล่านี้ยังคงมีการปนเปื้อนของแบคทีเรียก่อโรคชนิดต่าง ๆ อันส่งผลกระทบต่อสุขภาพของผู้บริโภค ดังนั้นจึงต้องมีการเฝ้าระวังการเกิดโรคจากการบริโภคอาหารทะเล แบคทีเรียก่อโรคที่มักพบปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลยกตัวอย่างเช่น

B. cereus จัดอยู่ในวงศ์ Bacillaceae เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปท่อนตรง ส่วนใหญ่เคลื่อนที่ได้ สร้างสปอร์ภายในเซลล์ (Endospore) บริเวณกลางเซลล์ เซลล์ถูกทำลายได้ด้วยความร้อนระดับอุณหภูมิพาสเจอร์ไรซ์ คือ 72 องศาเซลเซียส แต่ไม่สามารถทำลายสปอร์ได้จึงมักพบสปอร์เจริญอยู่ในอาหาร มักพบเซลล์และสปอร์ของ *B. cereus* ในดิน น้ำ ฝุ่นละออง ในอาหารสุกและอาหารดิบและธัญพืช *B. cereus* สามารถผลิตสารพิษออกมาอย่างน้อย 2 ชนิด และแต่ละชนิดจะทำให้เกิดอาการของโรคต่างกัน สารพิษจะสร้างออกมาในระหว่างการเจริญและยังคงอยู่ภายในเซลล์ เมื่อเซลล์แตกสารพิษจึงถูกปล่อยออกมา อาการของโรคอาหารเป็นพิษเนื่องจากเชื้อ *B. cereus* มี 2 แบบ คือ 1) อาการท้องร่วง (Diarrheal form) เกิดจากสารพิษที่เป็นโปรตีนที่ไม่ทนความร้อน (Thermolabile) ผู้ป่วยมีอาการอุจจาระร่วง ปวดท้อง คลื่นไส้ แต่ไม่อาเจียน ไม่มีไข้ ผู้ป่วยจะหายเองได้ภายใน 24 ชั่วโมง โดยอาการจะคล้ายกับโรคอาหารเป็นพิษที่เกิดจาก *C. perfringens* 2) อาการอาเจียน (Emetic form) เกิดจากสารพิษที่เป็นโปรตีนซึ่งที่ทนความร้อนได้ ผู้ป่วยจะมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง ท้องเสีย โดยอาการจะคล้ายกับโรคอาหารเป็นพิษที่เกิดจาก *S. aureus* (บุษกร อุตรภิชาติ, 2545)

Clostridium perfringens จัดอยู่ในวงศ์ Bacillaceae เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปท่อน สร้างสปอร์รูปไข่ที่ปลายข้างใดข้างหนึ่งของเซลล์ ไม่เคลื่อนที่ เจริญในที่ที่ไม่มีอากาศ เซลล์ปกติจะถูกทำลายได้โดยใช้ความร้อนต่ำแต่ไม่สามารถทำลายสปอร์ของเชื้อนี้ได้ พบเซลล์ปกติและสปอร์ได้ทั่วไปในดิน น้ำ อาหาร เครื่องเทศ ฝุ่นละออง ลำไส้มนุษย์และสัตว์ น้ำโสโครกและสิ่งปฏิกูล เป็นต้น *C. perfringens* สามารถสร้างสารพิษได้ 5 ชนิด คือ A B C D และ E แต่สารพิษชนิด A มักเป็นชนิดที่ทำให้เกิดโรคทางเดินอาหารเป็นพิษและสร้างก๊าซ อาการของโรคจะเกิดขึ้นหลังจากบริโภค

อาหารที่มีเชื้อปนเปื้อนในปริมาณมาก แบคทีเรียชนิดนี้ทนต่อความเป็นกรดของกระเพาะอาหารจึงมีชีวิตรอดผ่านเข้าสู่ลำไส้เล็ก เจริญและสร้างสปอร์พร้อมๆ กับขับสารพิษออกมามากทำให้ผู้บริโภคเกิดอาการของโรคอาหารเป็นพิษ (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545) อาการของโรคคือ ท้องเสีย ปวดท้อง เนื่องจากมีแก๊สในกระเพาะอาหารมาก คลื่นไส้ อาเจียน มีไข้ อัตราการตายต่ำ ถ้ามีการตายจะพบในเด็กทารก คนชราและคนป่วยด้วยโรคอื่นที่มีร่างกายอ่อนแอ อาการต่างๆ จะหายเองภายใน 24 ชั่วโมง (บุษกร อุตรภิชาติ, 2545) *C. perfringens* มักพบในอาหารแห้งทั่วๆ ไป แต่จะไม่พบในอาหารแช่แข็งเพราะสปอร์ไม่สามารถทนอยู่ได้ที่อุณหภูมิต่ำ ผลิตภัณฑ์ประมงที่พบเชื้อนี้ เช่น กะปิ ปลาเค็ม ปลาร้า ปลาเจ่าและกุ้งแห้ง (มัทนา แสงจินดาวงษ์, 2538)

Staphylococcus aureus เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปกลม ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนที่ เจริญได้ในที่มีอากาศและไม่มีอากาศ พบได้ทั่วไปตามส่วนต่างๆ ของร่างกายมนุษย์และสัตว์ เช่น จมูก มือ ผิวหนัง รวมทั้งอากาศและฝุ่นละออง การปนเปื้อนของเชื้อนี้ในอาหารมาจากการไอ จามลงในอาหารหรือจากผิวหนัง เมื่อ *S. aureus* ปนเปื้อนลงในอาหารและมีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญจะสร้างสารพิษ (Enterotoxin) ภายในเซลล์แล้วปล่อยออกนอกเซลล์ลงสู่อาหาร ชนิดของสารพิษที่สร้างมี 5 ชนิด คือ A B C D และ E ซึ่งมีคุณสมบัติในการทนความร้อน (Heat stable toxin) สารพิษชนิดนี้ไม่ทำให้รูปสัมผัสของอาหารมีการเปลี่ยนแปลงใดๆ ผู้บริโภคจึงไม่สามารถทราบได้ว่ามีสารพิษเกิดขึ้นในอาหาร เมื่อรับประทานอาหารที่มีสารพิษเข้าไปประมาณ 1-6 ชั่วโมง จะทำให้มีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้องอย่างรุนแรง ท้องเสีย เหงื่อแตก ปวดศีรษะ อ่อนเพลียและบางครั้งมีไข้ด้วย อาการป่วยจะดีขึ้นภายใน 8-24 ชั่วโมง (บุษกร อุตรภิชาติ, 2545)

***Salmonella* sp.** จัดอยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อน ไม่สร้างสปอร์ เคลื่อนที่ได้ เจริญได้ที่มีอากาศและไม่มีอากาศ ไม่ทนความร้อนสามารถทำลายได้ในระยะเวลาอันสั้น พบได้ทั่วไปในระบบทางเดินอาหารของสัตว์เลี้ยง สัตว์ป่า สัตว์ปีก เต่า กบ รวมทั้งแมลงต่างๆ สามารถแยกเชื้อได้จากดิน น้ำและสิ่งโสโครกต่างๆ ที่ปนเปื้อนด้วยอุจจาระ อาการของโรคอาหารเป็นพิษเนื่องจาก *Salmonella* sp. ผู้ป่วยจะมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง ปวดศีรษะ หนาวสั่นและอุจจาระร่วง อ่อนเพลีย มีไข้ปานกลาง โดยสามารถจำแนกอาการของโรคที่เกิดจาก *Salmonella* sp. ได้ 3 แบบคือ 1) โรคไข้เอนเทอริค (Enteric fever) ได้แก่ โรคไข้ไทฟอยด์และพาราไทฟอยด์ เชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคไทฟอยด์ คือ *S. typhi* และเชื้อที่เป็นสาเหตุของพาราไทฟอยด์คือ *S. paratyphi* A, *S. paratyphi* B และ *S. paratyphi* C โรคไข้ไทฟอยด์และพาราไทฟอยด์เกิดขึ้นเฉพาะในคนเท่านั้น โดยได้รับเชื้อที่ปนเปื้อนเข้าไปในอาหารและน้ำดื่ม แสดงอาการภายใน 12-24 ชั่วโมง ผู้ป่วยจะมีอาการไข้สูง ปวดศีรษะ ปวดเมื่อยตามตัว ปอดอักเสบ เบื่ออาหาร ท้องอืด ม้ามโต อาจมีอาการอุจจาระร่วง ระยะของโรคประมาณ 3-4 สัปดาห์ 2) โลหิตเป็นพิษ (Septicemia) เชื้อเข้าสู่กระแสเลือดโดยตรง สามารถตรวจพบเชื้อในกระแสโลหิตโดยไม่มีอาการอุจจาระร่วง ผู้ป่วยมีไข้สูง ตับและม้ามโต น้ำหนักลด เซื่องซึม อาจมีอาการปอดบวม เยื่อหุ้มสมองอักเสบ 3) กระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบ (Gastroenteritis) ส่วนใหญ่เชื้อนี้มักจะทำให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหาร เมื่อผู้ป่วยรับประทานอาหารที่มีเชื้อปนเปื้อนเข้าไป ภายใน 8-24 ชั่วโมง ผู้ป่วยจะมีอาการปวดท้อง คลื่นไส้ อาเจียน อุจจาระร่วง มีไข้เล็กน้อย อาจพบการปนเปื้อนของ *Salmonella* sp. ในเนื้อสัตว์ เช่น ไก่ หมู ปลา และสัตว์มีเปลือก ในผลิตภัณฑ์ประมงประเภทสัตว์มี

เปลือกแช่แข็งพร้อมบริโภค (Precooked frozen crustaceans) ในระหว่างกระบวนการผลิตเพราะอาหารประเภทนี้จะสัมผัสกับคนงานโดยตรง ถ้าคนงานไม่ระมัดระวังเรื่องความสะอาด เชื้อจากคนงานจะปนเปื้อนเข้าไปในอาหาร เมื่อนำอาหารไปแช่แข็งแบคทีเรียชนิดนี้สามารถทนอยู่ได้ ดังนั้นเมื่อนำอาหารมาละลายแล้วนำไปรับประทานทันทีก็จะทำให้ผู้บริโภคได้รับเชื้อเข้าไปด้วย (มัทนา แสงจินดาวงษ์, 2538)

Vibrio parahaemolyticus จัดอยู่ในวงศ์ Vibrionaceae เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อนตรงหรือท่อนโค้ง เคลื่อนที่ได้ ไม่สร้างสปอร์ สามารถเจริญได้ในที่มีอากาศและไม่มีอากาศ เจริญได้ดีในอาหารที่มีความเข้มข้นของเกลืออยู่ 3% พบได้ทั่วไปในน้ำทะเลหรือน้ำกร่อย สามารถทำลายได้ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที อาการของโรคเกิดขึ้นภายหลังได้รับเชื้อ 10-24 ชั่วโมง โดยจะมีอาการปวดท้องอย่างรุนแรงภายใน 2-48 ชั่วโมง มีไข้ คลื่นไส้ อาเจียนและอุจจาระร่วง ถ้าพิษรุนแรงจะทำให้ถ่ายออกมามีมูกเลือด (มัทนา แสงจินดาวงษ์, 2538) สามารถแยกเชื้อได้จากอาหารทะเลต่าง ๆ ในระหว่างฤดูร้อน การระบาดของโรคเกิดขึ้นเป็นครั้งคราวซึ่งเกิดจากผู้ป่วยรับประทานอาหารทะเลดิบ อาหารทะเลที่ปรุงไม่สุกหรือมีเชื้อปนเปื้อนภายหลังการปรุงอาหารสุกแล้ว ได้แก่ ปลา ปู เป็นต้น (บุษกร อุตรภิชาติ, 2545)

นอกจากนั้นยังพบงานวิจัยหลายชนิดที่ทำการศึกษาการปนเปื้อนของแบคทีเรียก่อโรค ได้แก่

Hatha and Lakshmanaperumalsamy (1997) รายงานการตรวจพบ *Salmonella* ในปลาและสัตว์มีเปลือก จำนวน 370 และ 276 ตัวอย่าง ตามลำดับ โดยซื้อตัวอย่างจากตลาดในเมือง Coimbatore ทางตอนใต้ของประเทศอินเดียตั้งแต่เดือนพฤศจิกายน ปี ค.ศ. 1990 ถึงเดือนสิงหาคม ปี ค.ศ. 1992 ตรวจพบ *Salmonella* ในปลาและสัตว์มีเปลือกจำนวน 14.25% และ 17.39% ตามลำดับ สามารถจำแนก Serotype ได้ คือ *Salmonella weltevreden, S. typhi, S. paratyphi* B, *S. mgulani* และ *S. typhimurium* ซึ่งพบได้ทั้งในปลาและสัตว์มีเปลือก ส่วน *S. senftenberg* พบได้ในสัตว์มีเปลือกเท่านั้น

Hosseini et al. (2004) รายงานการตรวจพบ *Vibrio* spp. ในกุ้งที่จับได้จากชายฝั่ง Persian Gulf อยู่ทางตอนใต้ของประเทศอิหร่าน มีจำนวนตัวอย่างทั้งหมด 770 ตัวอย่าง ตรวจพบ *Vibrio* spp. ในตัวอย่าง 16 ตัวอย่าง สามารถจำแนกชนิดได้ คือ *V. alginolyticus, V. parahaemolyticus, V. damsela* และ *V. fluvialis* แต่จากการทดลองนี้ตรวจไม่พบ *V. cholerae*

Aycicek et al. (2005) รายงานการตรวจพบ *S. aureus* ในอาหารพร้อมบริโภคจากร้านขายอาหารในกองทัพบกที่เมือง Ankara ประเทศตุรกี จำนวนตัวอย่างทั้งหมด 512 ตัวอย่าง ได้แก่ ตับ สลัดผัก สลัดรัสเซีย พิซซ่า แฮมเบอร์เกอร์ Meatballs, Turkish lahmacun, Turkish pide และ Turkish doner ตรวจพบ *S. aureus* ที่ให้ผลการทดสอบโคแอ็กกูเลสเป็นบวก ในตัวอย่าง 48 ตัวอย่าง คิดเป็น 9.4% มีปริมาณเชื้ออยู่ในช่วง 2.2 ถึง 4.3 log CFU/g ชนิดของอาหารพร้อมบริโภคได้แก่ สลัดผัก สลัดรัสเซียและ Meatballs มี *S. aureus* ปนเปื้อนในอาหารมากกว่าพิซซ่า แฮมเบอร์เกอร์ Turkish lahmacun, Turkish pide และ Turkish doner จากข้อมูลนี้แสดงให้เห็นว่า *S. aureus* อาจปนเปื้อนในอาหารได้จากการใช้มือสัมผัสกับอาหาร

Colakoglu et al. (2006) รายงานการตรวจพบ *Aeromonas* spp. และ *Vibrio* spp. ในหอยและกุ้งที่ซื้อจากตลาดและห้องครัวของโรงแรมในเมือง Dardanelles ประเทศตุรกี จำนวนตัวอย่างทั้งหมด 127 ตัวอย่าง แบ่งเป็นหอย 97 ตัวอย่าง และกุ้ง 30 ตัวอย่าง ตรวจพบ *Aeromonas* spp. และ *Vibrio* spp. ในตัวอย่าง 84 ตัวอย่าง สามารถจำแนกชนิดได้ คือ *Vibrio alginolyticus* จำนวน 26.7%, *V. vulnificus* จำนวน 9.7%, *V. parahaemolyticus* จำนวน 0.8% และ *A. hydrophila* จำนวน 29.1%

Normanno et al. (2006) รายงานการตรวจพบ *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *Salmonella* spp., *E. coli* และแบคทีเรียกลุ่มฟีคัลโคลิฟอร์ม (Fecal coliform) ในหอยแมลงภู่เมดิเตอร์เรเนียน (*Mytilus galloprovincialis*) จำนวน 600 ตัวอย่าง ซึ่งจำหน่ายที่ตลาดในเมือง Puglia ประเทศอิตาลี ตรวจพบ *V. parahaemolyticus* และ *V. vulnificus* ในตัวอย่างจำนวน 47 และ 17 ตัวอย่าง ตามลำดับ คิดเป็น 7.83% และ 2.83% ตามลำดับ พบ *E. coli* ในตัวอย่างจำนวน 21 ตัวอย่าง คิดเป็น 3.5% แบคทีเรียกลุ่มฟีคัลโคลิฟอร์มในตัวอย่างจำนวน 28 ตัวอย่าง คิดเป็น 4.66% และ *Salmonella* ในตัวอย่างจำนวน 1 ตัวอย่าง คิดเป็น 0.16%

Parihar et al. (2008) รายงานการตรวจพบ *Listeria* spp. ในอาหารทะเลที่จำหน่ายในตลาดในเมือง Goa ประเทศอินเดีย จำนวนตัวอย่างทั้งหมด 115 ตัวอย่าง ตรวจพบ *Listeria* spp. ในตัวอย่าง 28 ตัวอย่าง สามารถจำแนกชนิดได้คือ *L. monocytogenes* พบใน 10 ตัวอย่าง และ *L. innocua* พบใน 18 ตัวอย่าง โดย *L. monocytogenes* อาจเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคได้ถ้าปนเปื้อนในอาหารทะเลดิบแบบพร้อมบริโภค

2. แบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสีย

ตามปกติแล้วการเน่าเสียของอาหารจะทำให้ลักษณะทางด้านเคมีและทางกายภาพเปลี่ยนแปลงไป ส่งผลต่อเนื่องถึงคุณลักษณะของอาหาร เช่น ลักษณะเนื้อสัมผัส กลิ่น รสชาติ สีและคุณค่าทางอาหาร ซึ่งการเน่าเสียของอาหารนี้สาเหตุหลักเกิดจากแบคทีเรีย (รังสินี โสธรวิทย์, 2550) โดยอาหารทะเลและผลิตภัณฑ์อาหารทะเลเป็นอาหารที่นอกจากจะพบการปนเปื้อนของแบคทีเรียก่อโรคทางอาหารแล้วยังพบแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสีย ซึ่งไม่จัดเป็นแบคทีเรียก่อโรค แบคทีเรียกลุ่มนี้ทำให้อาหารเน่าเสีย เกิดกลิ่น รสชาติและลักษณะทางประสาทสัมผัสที่ไม่พึงประสงค์ ส่งผลให้ไม่สามารถเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหารไว้บริโภคในระยะเวลานานได้ แบคทีเรียกลุ่มนี้ยกตัวอย่างเช่น *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Moraxella* และ *Pseudomonas* นอกจากนี้ยังพบว่า อาหารประเภทเนื้อสัตว์ที่เก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 1-3 องศาเซลเซียส จะพบแบคทีเรียกลุ่มชอบความเย็นอีกหลายชนิดที่เป็นสาเหตุทำให้เนื้อเน่าเสีย ได้แก่ *Achromobacter*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Chromobacterium*, *Escherichia*, *Flavobacterium* และ *Pseudomonas* เป็นต้น ซึ่งจัดได้ว่าเป็นแบคทีเรียที่ชอบและทนอุณหภูมิต่ำได้เป็นอย่างดี จึงสามารถเจริญได้ในอาหารที่เก็บรักษาไว้ในอุณหภูมิระดับตู้เย็นและก่อให้เกิดการเสื่อมเสียของอาหารติดตามมา แบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสียที่สำคัญอีกกลุ่มหนึ่งคือ แบคทีเรียแลคติก ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้อาหารหลากหลายชนิดเน่าเสีย ได้แก่ นม ผลิตภัณฑ์นม เนื้อ ผัก ผลไม้ ขนมหวาน เครื่องดื่มแอลกอฮอล์และอาหารหมักดอง แบคทีเรียกลุ่มนี้ทำให้เกิดเมือก กลิ่นและ

รสชาติที่ผิดแผกไปของผลิตภัณฑ์อาหาร ทั้งนี้ลักษณะการเน่าเสียของผลิตภัณฑ์อาหารจะแตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับชนิดของแบคทีเรียแลคติก สภาพความเป็นกรดด่างของอาหาร ตลอดจนคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์และการบรรจุหีบห่อ (สาโรจน์ ศิริศันสนียกุล, 2547) นอกจากนั้นแบคทีเรียกลุ่มอื่นที่สำคัญที่สามารถทำให้อาหารเสียได้ เช่น แบคทีเรียกลุ่มผลิตไฮโดรเจนซัลไฟด์ แบคทีเรียที่สำคัญในกลุ่มนี้ที่มักพบปนเปื้อนในอาหารและผลิตภัณฑ์อาหาร คือ *Shewanella putrefaciens* หรือ *Pseudomonas putrefaciens* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อนและเป็นแบคทีเรียกลุ่ม Non-fermentative bacilli คือ กลุ่มที่ต้องการออกซิเจนในการเจริญ (Khashe and Janda, 1998) อยู่ในวงศ์ Shewanellaceae เป็นแบคทีเรียทางทะเลที่สามารถผลิตไฮโดรเจนซัลไฟด์ได้ (Holt et al., 2005)

งานวิจัยหลายฉบับได้ทำการศึกษาการปนเปื้อนของแบคทีเรียก่อโรคและแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสียในผลิตภัณฑ์อาหารทะเล ดังนี้

ปรียา วิบูลย์เศรษฐ์ และคณะ (2532) ศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยาและเคมีของกุ้งแห้งที่จำหน่ายทั่วไป พบว่ากุ้งแห้งมีจำนวนจุลินทรีย์ปนเปื้อนค่อนข้างสูง มีกลิ่นแอมโมเนียและมีปริมาณรงควัตถุแอสตาแซนทีนต่ำ กุ้งแห้งส่วนใหญ่มีความชื้นค่อนข้างสูงถึง 30% – 50% มีกลิ่นแอมโมเนียจึงทำให้ค่าความเป็นกรดด่างสูง มีค่าประมาณ 8.0 – 8.4 มีค่าปริมาณน้ำที่จำเป็นต่อการดำรงชีพของจุลินทรีย์ในช่วง 0.72 – 0.78 และมีปริมาณเกลือสูงถึง 9% – 13% และจากการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา พบว่าจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด *S. aureus* และเชื้อรามีค่าเท่ากับ 5.00×10^{5}, 1.00×10^{2} และ 5.00×10 CFU/g ตามลำดับ แต่ไม่พบ *E. coli และ Salmonella* sp. ในตัวอย่างกุ้งแห้ง

สินหทัย สมบูรณ์ยิ่ง (2545) ได้ศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์ปลาหมึกหวานปรุงรสที่จำหน่ายในตลาดหนองมน จังหวัดชลบุรี จำนวน 40 ตัวอย่าง ในเดือนตุลาคม - ธันวาคม พ.ศ. 2544 โดยเก็บตัวอย่างจาก 4 ร้าน ร้านละ 10 ตัวอย่าง นำมาวิเคราะห์จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด จำนวนเชื้อรา *E. coli* และแบคทีเรียก่อโรค คือ *S. aureus, Salmonella* sp. และ *Clostridium perfringens* พบว่าผลิตภัณฑ์ปลาหมึกหวานปรุงรสไม่ได้มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเลขที่ มอก.972-2533 เนื่องจากมีเชื้อราเกินกำหนด และพบ *E. coli* เกินกำหนด 1 ตัวอย่าง แต่ไม่พบแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 ชนิด ดังกล่าวในตัวอย่าง

สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ และคณะ (2553ก) ศึกษาถึงการปนเปื้อนของแบคทีเรียกลุ่มทนเค็มและแบคทีเรียกลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรียซีอีในผลิตภัณฑ์หมึกแห้งที่จำหน่ายในจังหวัดชลบุรีจำนวน 21 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อนของแบคทีเรียกลุ่มทนเค็มทุกตัวอย่างที่นำมาศึกษา (คิดเป็น 100%) โดยอาหารทะเลแห้งที่มีปริมาณแบคทีเรียกลุ่มทนเค็มมากที่สุดคือ หมึกกะตอย มีปริมาณแบคทีเรียเท่ากับ $1.97\pm0.16\times10^{9}$ CFU/g และพบการปนเปื้อนของแบคทีเรียกลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรียซีอีจำนวน 3 ตัวอย่าง (คิดเป็น 12.5%) โดยอาหารทะเลแห้งที่มีปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรียซีอีมากที่สุดคือ หมึกไข่ มีปริมาณแบคทีเรียเท่ากับ $1.70\pm0.21\times10^{4}$ CFU/g เมื่อนำมาจำแนกชนิดของแบคทีเรียกลุ่มทนเค็มในผลิตภัณฑ์หมึกแห้ง พบแบคทีเรียกลุ่ม *Staphylococcus* มากที่สุด รองลงมาคือ *Micrococcus* และ *Bacillus* ตามลำดับ ส่วนแบคทีเรียกลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรียซีอีที่จำแนกได้คือ *Proteus, Enterobacter* และ *Klebsiella* ดังนั้นควรมีการติดตามตรวจสอบและ

ตระหนักถึงความปลอดภัยของอาหารเป็นระยะ โดยเฉพาะการปนเปื้อนของแบคทีเรียในอาหารที่บริโภคในแต่ละวันและผลิตภัณฑ์ที่มีการส่งออก

สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ และคณะ (2553ข) ศึกษาการปนเปื้อนของแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปในอาหารทะเลแห้งที่จำหน่ายในจังหวัดชลบุรีจำนวน 29 ตัวอย่าง พบว่าอาหารทะเลแห้งมีปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปอยู่ในช่วง $6.00\pm2.00\times10^{2}$ ถึง $4.40\pm1.22\times10^{9}$ CFU/g โดยพบมากที่สุดในตัวอย่างหมึกกะตอยแห้ง และพบน้อยที่สุดในตัวอย่างหนวดหมึกชุบน้ำเชื่อม เมื่อนำมาจำแนกชนิดของแบคทีเรีย พบแบคทีเรียกลุ่ม *Staphylococcus* มากที่สุด รองลงมาคือ *Bacillus* และ *Micrococcus* นอกจากนี้ยังพบแบคทีเรียก่อโรค ได้แก่ *Corynebacterium* spp., *Enterobacter cloacae, Klebsiella pneumoniae, K. ozaenae, Listeria* spp. และ *Proteus mirabilis* ดังนั้นจึงควรมีการเฝ้าระวังและตรวจติดตามการปนเปื้อนของแบคทีเรีย เพื่อให้ผลิตภัณฑ์อาหารทะเลแห้งที่วางจำหน่ายในจังหวัดชลบุรีมีคุณภาพทางจุลินทรีย์มากยิ่งขึ้น

Ayulo et al. (1994) ทำการศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยาของปลาและความปลอดภัยของอาหารทะเลที่จับได้จากบริเวณชายฝั่งของรัฐซานตา คาทารินาและจำหน่ายในเมืองฟลอเรียโนโปลิส ประเทศบราซิล จากการตรวจคุณภาพปลา Acoupa blanc (*Cynoscion leiarchus*) ทั้งที่อยู่ในรูปของปลาสดและแปรรูป กุ้งขาว (*Peneaus paulensis*) หอย (*Anomalocardia brasiliensis*) หอย Blue mussel (*Mytilus edulis*) และปูม้า (*Callinectes sapidus*) จากตลาดจำนวน 175 ตัวอย่าง จากการศึกษาพบว่า ในตัวอย่าง 175 ตัวอย่าง ตรวจพบ *S. aureus* จำนวน 35 ตัวอย่าง คิดเป็น 20% และจากตัวอย่างเนื้อหอยคิดเป็น 60% และพบว่า *S. aureus* จำนวน 109 สายพันธุ์ ซึ่งมีจำนวน 9 สายพันธุ์ ที่ผลิตเอนเทอโรทอกซิน ได้แก่ เอนเทอโรทอกซินเอ จำนวน 4 สายพันธุ์ เอนเทอโรทอกซินดี จำนวน 1 สายพันธุ์ และเอนเทอโรทอกซินเอบี จำนวน 4 สายพันธุ์ จากการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าควรมีการจัดการเอาใจใส่ในระหว่างการจับสัตว์น้ำและหลังการจับสัตว์น้ำที่ได้เพื่อลดการปนเปื้อนแบคทีเรียของปลาและอาหารทะเล

Jeyasekaran et al. (2004) ศึกษาการเก็บรักษาปลาบรีม (*Lethrinus miniatus*) โดยใช้น้ำแข็งแห้ง 20% ร่วมกับน้ำแข็ง 50% พบว่าเป็นสภาวะที่ดีในการเก็บรักษาได้ถึง 24 ชั่วโมง โดยไม่ต้องเติมน้ำแข็งเพิ่ม โดยปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดอยู่ในช่วง 10^{4}-10^{7} CFU/g ในขณะที่แบคทีเรียที่ชอบอุณหภูมิต่ำมีปริมาณ 10^{2}-10^{4} CFU/g ปริมาณแบคทีเรียแลคติกอยู่ในช่วง 10^{1}-10^{2} CFU/g แบคทีเรียที่ผลิตก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟล์ตรวจพบที่เวลา 6 ชั่วโมง โดยมีปริมาณ 10^{2} CFU/g แบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มทั้งหมดและแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนในการเจริญและรีดิวซ์ซัลไฟท์ไม่แสดงแนวโน้มที่สอดคล้องกัน

3. โพรไบโอติก

โพรไบโอติกเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิตที่มีประโยชน์ต่อร่างกายของมนุษย์และสัตว์ จุลินทรีย์กลุ่มนี้ทำให้เกิดสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร โดยการเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ให้มากขึ้นและลดปริมาณจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ จุลินทรีย์โพรไบโอติกได้แก่ เชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มแบคทีเรียแลคติก โดยเฉพาะเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* และ *Bifidobacterium* sp. มีการนำจุลินทรีย์กลุ่มนี้มาผลิตอาหารหลายชนิด ได้แก่ ผลิตภัณฑ์นมหมัก ผักดอง และเนื้อหมัก และมีการผลิตในรูป

ของแคปซูลและเมล็ดออกมาจำหน่ายตามท้องตลาด นอกจากนี้มีการนำมาใช้ในอาหารสัตว์เร่งการเจริญเติบโตและป้องกันการเกิดโรค (อุษามาส จริยวรานุกุล, 2548)

ซึ่งโพรไบโอติก แปลว่า For life คือจุลินทรีย์ที่มีชีวิตที่คัดเลือกจากสายพันธุ์ที่มีอยู่แล้วในลำไส้ของมนุษย์ที่แข็งแรงดี โดยจะให้เสริมเข้าไปจากภายนอกร่างกายในปริมาณที่เพียงพอ เพื่อไปสู่ระบบทางเดินอาหาร และเข้าไปเจริญตั้งรกรากในลำไส้ ทำหน้าที่เหมือนกับเป็นสมาชิกของจุลินทรีย์ในลำไส้ และก่อให้เกิดกิจกรรมของจุลินทรีย์ อันจะเป็นผลดีต่อร่างกายหลายประการ ซึ่งโดยส่วนใหญ่มักจะเป็นจุลินทรีย์ในกลุ่ม Lactobacilli หรือ Bifidobacteria ในปัจจุบันมีหลักฐานการศึกษาในมนุษย์หรือสัตว์ทดลองพบว่า โพรไบโอติกมีบทบาทก่อให้เกิดผลดีต่อร่างกายหลายประการ (พีร์เหมะรัชตะ, 2551)

การเจริญของโพรไบโอติกจะสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อโรคได้นั้น เป็นไปตามกระบวนการธรรมชาติของจุลินทรีย์ที่มีจำนวนมากกว่าจะสามารถแย่งชิงอาหารได้ดีกว่า อีกทั้งยังปรับสภาพแวดล้อมให้เหมาะสมกับการเจริญของจุลินทรีย์ที่มีมากกว่านั้น ทำให้เชื้อโรคไม่สามารถอยู่รอดได้ และความสามารถในการผลิตกรดแลคติกของแบคทีเรียจำพวกนี้ในระหว่างการเจริญจะทำให้ระดับความเป็นกรดด่างในสภาพแวดล้อมรอบ ๆ นั้นลดลง เป็นเหตุหนึ่งที่ทำให้เชื้ออื่น ๆ รวมทั้งเชื้อโรคด้วยนั้นไม่สามารถเจริญได้ นอกจากนี้พบว่าโพรไบโอติกบางชนิดสามารถยับยั้งการยึดเกาะ (Adhesion) ของเชื้อโรคกับผนังเซลล์ภายในทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์ได้ และบางชนิดยังสามารถช่วยกระตุ้นการสร้างภูมิต้านทานชนิด Immunoglobulin A ซึ่งจะช่วยกำจัดเชื้อโรคได้ โพรไบโอติกใช้ได้ดีในการควบคุมโรคเกี่ยวกับทางเดินอาหาร ช่วยป้องกันโรคอุจจาระร่วง ซึ่งเกิดจากการที่มีเชื้อโรคปนเปื้อนไปกับอาหาร เมื่อเข้าสู่ระบบการย่อยอาหารจะเกิดการแบ่งตัวอย่างมาก ทำให้เกิดสภาวะผิดปกติในทางเดินอาหาร เป็นเหตุให้เกิดอาการอุจจาระร่วงได้ ดังนั้นการที่มีแบคทีเรียโพรไบโอติกอยู่ในทางเดินอาหารในปริมาณเพียงพอ จะทำให้สภาวะที่ไม่เหมาะสมกับการแบ่งตัวของเชื้อโรค เป็นเหตุให้เชื้อโรคไม่สามารถก่อให้เกิดอาการของโรคนั้น ๆ ได้ (เสาวนีย์ ธรรมสถิต, 2547)

โพรไบโอติกส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียที่เคยมีในลำไส้ใหญ่ในสมัยเป็นทารก ซึ่งมีมากมายหลายชนิด ดังแสดงในตางรางที่ 1

ตารางที่ 1 จุลินทรีย์ที่ใช้เป็นโพรไบโอติก

Lactobacillus species	*Bifidobacterium* species	อื่น ๆ
L. acidophilus	*B. bifidum*	*Bacillus cereus*
L. casei (rhamnosus) - LGG	*B. longum*	*Escherichia coli*
L. reuteri	*B. breve*	*Saccharomyces cerevisiae*
L. bulgaricus	*B. infantis*	*Saccharomyces boulardii*
L. plantarum	*B. lactis*	*Enterococcus faecalis*
L. johnsonii	*B. adolescentis*	*Streptococcus thermophilus*
L. lactis	-	-

(ที่มา: อุทัย เก้าเอี้ยน, 2549)

บทบาทของโพรไบโอติก

โพรไบโอติกออกฤทธิ์ได้หลายรูปแบบในการช่วยเสริมสร้างสุขภาพและป้องกันหรือรักษาโรคต่าง ๆ ที่เกิดขึ้น กลุ่ม Lactobacilli จะสร้างน้ำย่อยเบต้า-กาแลกโตซิเดส ช่วยลดปริมาณน้ำตาลแล็คโตสในอาหารซึ่งเป็นสาเหตุของอุจจาระร่วงได้ นอกจากนี้สามารถสร้างสารหลายชนิดที่ช่วยทำหน้าที่เป็นยาปฏิชีวนะ เช่น กรดอินทรีย์ กรดไขมันอิสระ แอมโมเนีย ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และแบคเทอริโอซิน ช่วยกำจัดแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในอาหาร น้ำย่อยบางชนิดจากโพรไบโอติกจะช่วยยับยั้งสารพิษจากแบคทีเรีย โดยไปปิดกั้นส่วนที่พิษเข้าเซลล์และสามารถแย่งจับตำแหน่งต่าง ๆ ของเนื้อเยื่อในลำไส้ เพื่อไม่ให้แบคทีเรียเข้าเกาะได้ ป้องกันไม่ให้แบคทีเรียเพิ่มจำนวนในลำไส้ นอกจากนี้สามารถกระตุ้นภูมิต้านทานทั้งในลำไส้และในกระแสเลือด หรือกระตุ้นการทำงานของเซลล์อื่น ๆ ไว้ต่อสู้กับเชื้อโรค และกระตุ้นการสร้างสารป้องกันโรคในร่างกาย เช่น Gamma-interferon, Interleukin-12 และ Interleukin-18 เป็นต้น (อุทัย เก้าเอี้ยน, 2549)

4. สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactive compounds) เป็นสารจากสิ่งมีชีวิตตามธรรมชาติที่มีผลต่อสิ่งมีชีวิตทั้งคน สัตว์และพืช สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีต้องเป็นสารที่มีผลจำเพาะเจาะจงและสารนั้นจะต้องไม่มีผลกระทบเชิงลบต่อร่างกายหรือมีผลข้างเคียงน้อยมาก แต่ถ้าหากสารใดก็ตามเมื่อเข้าสู่ร่างกายแล้วมีผลข้างเคียงที่ไม่ต้องการ เราจะจัดสารนั้นเป็นพวกสารพิษ (Toxic substances) ในปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์ได้มุ่งศึกษาและพัฒนาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีอยู่ในธรรมชาติเพื่อนำมาใช้ทดแทนสารต้านจุลชีพหรือสารเคมีสังเคราะห์ที่นิยมนำมาใช้ในทางการแพทย์ เภสัชวิทยาและอุตสาหกรรมอาหาร เป็นต้น ซึ่งในปัจจุบันกำลังประสบกับปัญหาการดื้อต่อสารต้านจุลชีพของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค เนื่องมาจากมีการนำสารต้านจุลชีพมาใช้กันอย่างแพร่หลายและมีการใช้ไม่ถูกวิธีส่งผลทำให้เชื้อจุลินทรีย์มีการพัฒนาตนเองให้ทนต่อสารต้านจุลชีพ ทำให้ต้องใช้ยาในปริมาณที่เพิ่มสูงขึ้นหรือสารต้านจุลชีพตัวเดิมใช้ไม่ได้ผล อีกทั้งในผู้ป่วยบางรายอาจเกิดอาการแพ้สารต้านจุลชีพ นอกจากนั้นการใช้สารเคมีสังเคราะห์เพื่อใช้เป็นสารกันเสียในอุตสาหกรรมอาหารได้สร้างความกังวลเกี่ยวกับผลกระทบต่อสุขภาพของผู้บริโภค ดังนั้นในปัจจุบันจึงมีการรณรงค์และส่งเสริมการบริโภคอาหารที่มีความปลอดภัยและไม่เจือปนสารเคมีสังเคราะห์

ด้วยสาเหตุดังกล่าวนี้จึงทำให้นักวิทยาศาสตร์พยายามคิดค้นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีคุณสมบัติที่เหมือนหรือให้มีประสิทธิภาพในการใช้งานใกล้เคียงกันกับการสารต้านจุลชีพหรือสารเคมีสังเคราะห์ โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจ คือ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากแบคทีเรีย ซึ่งสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากแบคทีเรียมีหลากหลายชนิด ยกตัวอย่างเช่น

แบคเทอริโอซิน คือ สารเปปไทด์หรือสารประกอบโปรตีนที่สร้างจากแบคทีเรีย มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียชนิดอื่นที่มีความใกล้เคียงกับแบคทีเรียที่ผลิตแบคเทอริโอซิน รวมทั้งสามารถยับยั้งแบคทีเรียชนิดอื่นที่มีความไวต่อแบคเทอริโอซิน (Brink et al., 1994) สารชนิดนี้ได้รับความสนใจอย่างมากในทางการแพทย์และอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากเป็นสารที่มีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคหลายชนิดได้อย่างจำเพาะและผลิตจากแบคทีเรียแลคติกที่ถือว่ามีความปลอดภัย (Generally Recognized as Safe; GRAS) สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดนี้

ถือว่าเป็นสารป้องกันการเน่าเสียตามธรรมชาติ โดยยับยั้งได้ทั้งแบคทีเรียก่อโรคทางอาหารและแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสีย (Delves-Broughton et al., 1996; Ogunbanwo et al., 2003) มนุษย์ได้นำสารชนิดนี้มาใช้ประโยชน์มานานนับศตวรรษ โดยมีการนำแบคเทอริโอซินมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อช่วยควบคุมคุณภาพอาหารและการป้องกันระบาดวิทยาของอาหารเป็นพิษที่เกิดจากแบคทีเรียก่อโรคทางอาหาร (Papagianni et al., 2006) แบคเทอริโอซินชนิดแรกที่ถูกนำมาใช้ในการถนอมอาหารและได้รับการยอมรับว่าปลอดภัย คือ ไนซิน ซึ่งได้มาจากแบคทีเรีย *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ในปัจจุบันไนซินได้ถูกนำมาใช้ในอาหารและผลิตภัณฑ์อาหารอย่างแพร่หลายเชิงพาณิชย์ในประเทศต่าง ๆ มากกว่า 50 ประเทศทั่วโลก ซึ่งช่วยแก้ปัญหาของการห้ามใช้สารต้านจุลชีพในผลิตภัณฑ์อาหารบางประเภทได้เป็นอย่างดี (Li and O'Sullivan, 2002) ในประเทศสหรัฐอเมริกาไนซินได้รับการยอมรับว่าปลอดภัยสามารถใช้ได้ในไข่เหลว ไส้กรอกและน้ำสลัด ในประเทศออสเตรเลียก็อนุญาตให้ใช้ไนซินได้ในผลิตภัณฑ์ขนมอบที่มีองค์ประกอบของความชื้นสูง เพื่อป้องกันการเจริญของ *B. cereus* และยังมีรายงานอื่น ๆ อีกมากมายที่ได้ระบุว่าสามารถใช้ไนซินในการควบคุมการเจริญของ *L. monocytogenes* และ *Clostridium* spp. ได้ในผลิตภัณฑ์นมและสัตว์ (สาโรจน์ ศิริศันสนียกุล, 2547)

ไนซินเป็นแบคเทอริโอซินที่ถูกนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารอย่างแพร่หลายในหลายประเทศทั่วโลกเพื่อช่วยรักษาคุณสมบัติของอาหารและยืดระยะเวลาในการเก็บรักษา ผลิตภัณฑ์อาหารที่นิยมใช้ไนซิน เช่น เนยแข็งต่าง ๆ นมพาสเจอร์ไรซ์ นมสเตอริไรซ์ อาหารกระป๋อง เครื่องดื่ม แอลกอฮอล์ และผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก เป็นต้น โดยปริมาณที่อนุญาตให้ใช้จะแตกต่างกันไปตามกฎหมายอาหารของแต่ละประเทศ ตัวอย่างเช่น ในประเทศไทยมีการอนุญาตให้ใช้ได้ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 84 ไนซินในความเข้มข้นไม่เกิน 4,000 IU ต่อกรัมของผลิตภัณฑ์อาหาร และอนุญาตให้ใช้ในผลิตภัณฑ์เนยแข็งแปรรูป ส่วนคณะกรรมการผู้เชี่ยวชาญของอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติองค์การอนามัยโลกที่เกี่ยวกับสารเจือปนในอาหาร (Joint FAO/WHO Expert Committees on Food Additives) ได้มีการประเมินความเป็นพิษของสารนี้ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1969 และได้กำหนดค่า Acceptable Daily Intake เป็น 0-33,000 หน่วยต่อกิโลกรัมของน้ำร่างกาย (ศิวาพร ศิวเวชช, 2546)

จากการศึกษาที่ผ่านมาแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียเป็นแหล่งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีศักยภาพในการนำมาใช้ในการควบคุมและทำลายแบคทีเรียก่อโรค และแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสีย รวมทั้งมีความเหมาะสมในการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อรักษาคุณสมบัติขิงผลิตภัณฑ์อาหารและยืดระยะเวลาการเก็บรักษา ดังรายงานการวิจัยต่อไปนี้

กรรณิการ์ เสนทอง และคณะ (2551) ได้คัดเลือกและแยก *Bacillus* ที่สามารถผลิตเอนไซม์โปรติเอสทนร้อนและ *Lactobacillus* จากน้ำนมดิบและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งสามารถคัดแยก *Bacillus* และ *Lactobacillus* ด้วยวิธีกระจาย ได้เชื้อจำนวน 41 และ 40 ไอโซเลท ตามลำดับ โดยในการศึกษาการผลิตเอนไซม์โปรติเอสทนร้อนใช้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Luria Bertani (LB) ที่มีส่วนประกอบของนมซึ่งสกัดเอาไขมันออกความเข้มข้น 2% และบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าสามารถแยกแบคทีเรีย *Bacillus* ได้จำนวน 10 ไอโซเลท ที่สามารถสร้างวงใสรอบโคโลนีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่า 10 มิลลิเมตร โดยไอโซเลท BA26 และ BA27 สามารถ

ผลิตเอนไซม์โปรติเอสสูงสุดเท่ากับ 12.278 และ 12.058 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน ตามลำดับ เมื่อทดสอบด้วยสารตั้งต้นเคซีนความเข้มข้น 1.5% และเอนไซม์มีความจำเพาะต่อเคซีนมากกว่าเจลลาติน ผลจากการศึกษาพบว่า *Bacillus* sp. สายพันธุ์ที่คัดเลือกได้สามารถผลิตเอนไซม์โปรติเอสแบบหลั่งออกนอกเซลล์ได้ดีที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จากการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อดัชนีด้วยวิธี Agar well diffusion ของแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากตัวอย่างน้ำนมดิบทั้งหมดจำนวน 81 ไอโซเลท พบว่าแบคทีเรียจำนวน 9 ไอโซเลท คือ BA08, BA16, LA09, LA10, LA13, LA16, LA18, LA19 และ LA20 แสดงผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* TISTR 517 และ *Escherichia coli* TISTR 887 โดยมีวงใสของการยับยั้งมากกว่า 10 มิลลิเมตร ซึ่งเมื่อจำแนกสายพันธุ์ โดยสังเกตลักษณะการติดสีย้อม สมบัติทางชีวเคมีและการหมักคาร์โบไฮเดรตชนิดต่าง ๆ สามารถจัดจำแนกสายพันธุ์ *Bacillus* ที่สามารถผลิตเอนไซม์สูงสุดคือ BA26 และ BA27 เป็น *Brevibacillus* Non reactive และจัดจำแนกสายพันธุ์ *Bacillus* ที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* TISTR 517 และ *E. coli* TISTR 887 โดยมีขนาดวงใสการยับยั้งได้สูงสุดคือ BA08 เป็น *Brevibacillus laterosporus* และ BA16 เป็น *Geobacillus thermoglucosidasius* ส่วน *Lactobacillus* ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อดัชนีทั้ง 2 ชนิด โดยมีขนาดวงใสการยับยั้งสูงสุด คือ LA10 และ LA16 เป็น *Lactobacillus plantarum* 1 และ *Lactobacillus plantarum* 2 ผลจากการศึกษาในครั้งนี้สามารถนำเชื้อ *Bacillus* ที่ผลิตเอนไซม์โปรติเอสทนร้อนและ *Bacillus* และ *Lactobacillus* ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย โดยนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น อุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมฟอกหนังสัตว์และอุตสาหกรรมเภสัชต่อไป

Anthony et al. (2009) ได้ศึกษาสารเปปไทด์ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย ซึ่งการศึกษานี้ได้รับความสนใจมากขึ้นในการที่จะนำมาเป็นทางเลือกหนึ่งในการรักษาโรค การถนอมอาหาร เพื่อป้องกันการเน่าเสียและการเสื่อมสภาพของผลิตภัณฑ์อาหาร ซึ่งแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ผลิตสารเปปไทด์ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียคือ *Bacillus licheniformis* ที่แยกได้จากดินตะกอนจากน้ำทิ้งในโรงฆ่าสัตว์ ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้หลายชนิด การผลิตสารเปปไทด์ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย *B. licheniformis* โดยเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติม Lactose, NH_4NO_3, Yeast extract, NaCl และศึกษาผลของสภาวะต่าง ๆ เช่น ความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ และระยะเวลาในการบ่มต่อประสิทธิภาพการผลิตสารเปปไทด์ จากการศึกษาพบว่าเมื่อมี Yeast extract และ NaCl ที่ความเข้มข้นสูงจะมีผลทำให้ผลิตสารเปปไทด์ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียและกิจกรรมจำเพาะได้ดีตามลำดับ ซึ่งความเป็นด่างและอุณหภูมิสูงจะส่งเสริมให้ *B. licheniformis* AnBa9 ผลิตสารเปปไทด์ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียได้ดี ถ้าในสภาวะที่เหมาะสม *B. licheniformis* AnBa9 สามารถผลิตสารเปปไทด์ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียได้สูงกว่าสภาวะที่ไม่เหมาะสมถึง 25 เท่า ซึ่งคุณสมบัติทางชีวเคมีของสารเปปไทด์ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียที่ผลิตได้จาก *B. licheniformis* มีคุณสมบัติเป็นสารแบคเทอริโอซิน

Matamoros et al. (2009b) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งโดยแบคทีเรียกลุ่มแลคติกที่ชอบความเย็นและแบคทีเรียกลุ่มแลคติกที่ชอบความเย็นมาศึกษาต่อเนื่องในการใช้เป็นสารกันเสียทางชีวภาพในผลิตภัณฑ์อาหารทะเล โดยการคัดเลือกแบคทีเรียกลุ่มแลคติกที่ชอบความเย็นทั้งหมด 5,575 ไอโซเลทที่แยกได้จากผลิตภัณฑ์อาหารทะเล พบว่า 132 ไอโซเลท มีคุณสมบัติในการ

ยับยั้งแบคทีเรีย และมีจำนวน 52 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียเป้าหมายได้ 14 ไอโซเลท (สามารถยับยั้งได้ทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ) ซึ่งเป็นแบคทีเรียกลุ่มแลคติกที่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส แต่ไม่เจริญที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยสามารถยับยั้งแบคทีเรียที่ทำให้อาหารทะเลเน่าเสียและแบคทีเรียก่อโรค จากนั้นจำแนกด้วยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA ของแบคทีเรียแลคติก 7 ไอโซเลทที่น่าสนใจประกอบด้วย *Leuconostoc gelidum* 3 ไอโซเลท *Lactococcus piscium* 2 ไอโซเลท *Lactobacillus fuchuensis* 1 ไอโซเลท และ *Carnobacterium alterfunditum* 1 ไอโซเลท แบคทีเรียสายพันธุ์เหล่านี้ไม่ผลิตฮิสตามีนและไทรามีน และพบว่าไม่มีการดื้อยาปฏิชีวนะ นอกจากนั้นยังได้ศึกษาถึงอัตราการเจริญที่อุณหภูมิต่างกันของ *L. piscium* 1 ไอโซเลท และ *L. gelidum* 1 ไอโซเลท เพื่อยืนยันคุณสมบัติความชอบเจริญที่อุณหภูมิต่ำ หนึ่งในเจ็ดเชื้อที่แยกได้สามารถผลิตสารคล้ายแบคเทอริโอซินที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรีย ส่วนกลไกในการยับยั้งของเชื้ออื่นที่แยกได้นั้นยังไม่ทราบแน่ชัดแต่อาจเกิดเนื่องจากการแข่งขันในการจับกับสารตั้งต้น

Hemalatha and Shanthi (2010) ได้ทำการแยก *Bacillus subtilis* จากตัวอย่างนม โดยศึกษาการดื้อยาปฏิชีวนะและประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ของ *B. subtilis* จากการศึกษาพบว่า *B. subtilis* ทั้ง 4 ไอโซเลท ไวต่อยาปฏิชีวนะ ได้แก่ Streptomycin (25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) Ampicillin (10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) Penicillin (10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) Erythromycin (15 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) และ Amoxycillin (10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) แต่ *B. subtilis* ทั้งหมดนี้ดื้อต่อ Bacitracin (10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) *B. subtilis* มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อโรคในมนุษย์ ได้แก่ *Salmonella* spp., *Streptococcus* spp., *Klebsiella* spp. และ *E. coli* ซึ่งสารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ผลิตจาก *B. subtilis* ที่สกัดด้วยสารอินทรีย์ คือ เอทิลอะซิเตท พบว่าสารที่ได้มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อโรคในมนุษย์ ซึ่งสารนี้เป็นโปรตีนที่ผลิตจาก *B. subtilis* มีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ โดยโปรตีนมีปริมาณระหว่าง 0.05-0.55 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อใช้เทคนิค SDS-PAGE ในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน พบว่าสารที่ผลิตจาก *B. subtilis* เป็นสารเปปไทด์มีน้ำหนักน้อยกว่า 62 กิโลดาลตัน