

การศึกษานี้ได้ทำการคัดเลือกแบคทีเรียโปรไบโอติกกรดแลคติกจากแหนมพื้นบ้านมาพัฒนาใช้เป็นหัวเชื้อหมักในแหนม เพื่อควบคุมเชื้อก่อโรคและเพิ่มมาตรฐานคุณภาพของผลิตภัณฑ์ จากการศึกษาสามารถคัดแยกเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกได้ทั้งหมด 116 ไอโซเลต และทำการคัดเลือกแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเป็นแบคทีเรียโปรไบโอติกกรดแลคติกได้แก่ เป็นแบคทีเรีย แกรมบวกรูปท่อนหรือรูปกลม มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อก่อโรคที่มีการปนเปื้อน และตรวจพบในผลิตภัณฑ์แหนมทั้ง 6 สายพันธุ์ได้ดีได้แก่ *E. coli*, *S. typhimurium*, *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *S. aureus* และ *H. pylori* ความสามารถในการทนต่อสภาพความเป็นกรด pH 2.5 และเกลือ น้ำดี 0.3 เปอร์เซ็นต์ กิจกรรมการย่อยสลายเมื่อดัดแลคโตส การเกิด autoaggregation, coaggregation, hydrophobicity และการยึดเกาะกับเซลล์เยื่อผิวของลำไส้ (Caco-2) ผลการทดลองพบว่าแบคทีเรียไอโซเลต TFM-B1.1, TFM-B3.1, TFM-R4.3, และ TFM-31.1 มีคุณสมบัติเป็นแบคทีเรียโปรไบโอติกกรดแลคติกที่ดี จากการจัดจำแนกแบคทีเรียดังกล่าวโดยการใช้ชุดทดสอบสำเร็จรูป API 50 CH และการเปรียบเทียบลำดับเบสของยีน 16S rRNA พบว่าแบคทีเรีย 3 ไอโซเลต ได้แก่ TFM-B1.1, TFM-B3.1 และ TFM-R4.3 คือ *Lactobacillus plantarum* ส่วน TFM-31.1 คือ *Enterococcus faecium* หลังจากการนำหัวเชื้อหมักที่ผ่านการคัดเลือกเป็นแบคทีเรียโปรไบโอติกกรดแลคติก 2 สายพันธุ์มาใช้เป็นหัวเชื้อในการหมักผลิตภัณฑ์แหนมคือ TFM-R4.3 และ TFM-31.1 จากการศึกษาผลของหัวเชื้อหมักแบคทีเรียโปรไบโอติกกรดแลคติกต่อการยับยั้งเชื้อก่อโรค *E. coli* พบว่าการเติมหัวเชื้อหมักแบคทีเรียโปรไบโอติกกรดแลคติกในแหนมทำให้มีปริมาณ *E. coli* ลดลง และแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) และจากการศึกษาผลของหัวเชื้อหมักแบคทีเรียโปรไบโอติกกรดแลคติกต่อลักษณะต่างๆของแหนมพบว่า แหนมที่ใช้หัวเชื้อหมักแบคทีเรียโปรไบโอติกกรดแลคติกมีปริมาณแบคทีเรียโปรไบโอติกกรดแลคติก  $10^8$  cfu/g มีค่าความเป็นกรดเบสลดลงถึง 4.5 ภายในเวลา 48 ชั่วโมง ซึ่งแตกต่างจากการทดลองกลุ่มควบคุม ( $P < 0.05$ ) ที่ใช้เวลา 80 ชั่วโมง และมีค่าสีของผลิตภัณฑ์คือค่า  $L^*a^*b^*$  ในชั่วโมงที่ 72 อยู่ในช่วง 62.0-67.3, 3.4-6.0 และ 5.3-5.8 ตามลำดับ จากการศึกษาการยอมรับผลิตภัณฑ์แหนมจากผู้ชิมโดยใช้การทดสอบ 9 point Hedonic scale พบว่าแหนมที่ใช้แบคทีเรียโปรไบโอติกในการหมักนั้นได้รับความชอบโดยรวมไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ดังนั้นการประยุกต์ใช้หัวเชื้อหมักแบคทีเรียโปรไบโอติกกรดแลคติกในการหมักแหนมเป็นการพัฒนาแหนมทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคและยกระดับมาตรฐานผลิตภัณฑ์แหนมในอนาคต

This research was on the isolation of probiotic lactic acid bacteria from traditional fermented meat products (Nham) for possible use as a potential probiotic starter in order to inhibit foodborne pathogens and increase value of Nham. A total of 116 isolates of lactic acid bacteria were isolated and their probiotic properties such as rod/cocci Gram-positive, ability to inhibit pathogenic action of *E. coli*, *S. typhimurium*, *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *S. aureus* and *H. pylori*, tolerance to low pH 2.5 and 0.3% bile salt, haemolytic activity, autoaggregation, coaggregation, hydrophobicity, and adhesion to intestinal epithelial cells (Caco-2) were tested. Results showed that TEM-B1.1, TFM-B3.1, TFM-R4.3, and TFM-31.1 bacterial isolates had these properties of suitable probiotic lactic acid bacteria. Identification of these isolates by using the API 50 CH package and comparing their 16S rRNA sequences found that TFM-B1.1, TFM-B3.1, and TFM-R4.3 isolates were *Lactobacillus plantarum*, and TFM-31.1 was *Enterococcus faecium*. Later in the study, two probiotic lactic acid bacteria, TFM-31.1 and TFM-R4.3, were used as potential starters in Nham products. The results on effects of probiotic lactic acid bacteria used as starters in Nham to inhibit *E. coli* showed that the amount of *E. coli* decreased and was lower than that of a control ( $P<0.05$ ). And the results on effects of probiotic lactic acid bacteria as starters to changes in characteristics found lactic acid bacteria at  $10^8$  cfu/g, pH decreased to 4.5 within 48 h which was different from that of a control ( $P<0.05$ ) that had pH decreased to 4.5 within 80 h, and Nham color as L\*a\*b\* values in 72h were 62.0-67.3, 3.4-6.0 and 5.3-5.8, respectively. In terms of acceptability, a control and mixed culture showed no significant differences in 9 point Hedonic scale ratings on the overall liking. From this study, it is recommended that the application of probiotic lactic acid could be used as a potential probiotic lactic acid bacteria starter to develop Nham products for consumer safety and increase value of Nham products in the future.