บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1.บทบาทของจุลินทรีย์ในอาหาร

ในสภาพธรรมชาติสิ่งมีชีวิตต่างๆไม่ว่าจะเป็นพืชสัตว์และจุลินทรีย์ต่างก็มีความสัมพันธ์ซึ่งกันและกันในลักษณะที่ค่อนข้างจะคงที่อันเป็นคุณสมบัติของสิ่งมีชีวิตนั้นๆและจุลินทรีย์จะเป็นตัวที่มีบทบาทสำคัญมากในระบบนิเวศวิทยาของสิ่งมีชีวิตโดยเฉพาะอย่างยิ่งที่เกี่ยวกับวัฏจักรของสารทางธรณีบางอย่างและอาหารของมนุษย์ซึ่งโดยพื้นฐานแล้วได้มาจากพืชและสัตว์หรือเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากพืชและสัตว์โดยมีจุลินทรีย์ที่กำลังทำกิจกรรมอยู่ในอาหารนั้นด้วยแล้วใช้อาหารเป็นแหล่ง Substrate สำหรับการเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนสร้างเอนไซม์ตลอดจนการทำให้สีกลิ่นรสของอาหารเปลี่ยนแปลงไปเนื่องจากสารที่จุลินทรีย์สังเคราะห์ขึ้นหรือจากสารที่ได้จากการย่อยสลายเป็นเหตุให้อาหารนั้นเน่าเสียหายนี่คือบทบาทตามปกติของพวกจุลินทรีย์อย่างหนึ่งในการศึกษาด้านจุลวิทยาอาหารนั้นจะเน้นหนักไปทางด้านจุลินทรีย์ในกลุ่มที่ก่อให้เกิดอันตรายแก่สุขภาพ (Health Hazard) ของผู้บริโภคเป็นสำคัญดังสังเกตได้จากอาหารที่ถูกสั่งไปจำหน่ายยังต่างประเทศจำเป็นต้องผ่านการตรวจสอบจุลินทรีย์กลุ่มดังกล่าวซึ่งอาจเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า Foodborne microorganisms อย่างไรก็ตามจุลินทรีย์ในกลุ่มที่เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของอาหาร (Spoilage microorganisms) และกลุ่มที่ก่อให้เกิดประโยชน์ในผลิตภัณฑ์อาหาร (Useful microorganisms) ก็มีความสำคัญไม่ยิ่งหย่อนไปกว่ากันจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของอาหารจะก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของอาหารที่ผู้บริโภคไม่สามารถยอมรับได้ทั้งในแง่ของกลิ่นสีรสชาติเนื้อสัมผัสและรูปลักษณะของอาหารเป็นต้น ในบางกรณีจุลินทรีย์ไม่ได้ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโดยตรงแต่มันจะส่งผลให้จุลินทรีย์ธรรมชาติที่เรียกว่า microflora สามารถเจริญและก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงขึ้นดังเช่นกรณีของ bacteriophages ซึ่งจะเข้าไปเจริญภายในเชื้อที่ใช้ประโยชน์จนทำให้จุลินทรีย์นั้นเกิดการเปลี่ยนแปลงไปและเป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของอาหารได้จุลินทรีย์ในกลุ่มที่ก่อให้เกิดประโยชน์ (Useful microorganisms)นั้นก็ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงขึ้นในอาหารเช่นกันแต่เป็นการเปลี่ยนแปลงที่จำเป็นต่ออาหารดังกล่าวดังเช่นน้ำนมถูกเปลี่ยนเป็นเนยแข็ง (Cheese) น้ำตาลถูกเปลี่ยนเป็นแอลกอฮอล์และผักเปลี่ยนเป็นผักดองเป็นต้นทั้งนี้เราสามารถเรียกกระบวนการที่เกิดขึ้นนี้ได้ว่าการหมัก (Fermentation) นั่นเองแต่สิ่งที่มีความสำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวนั้นมาจากเอนไซม์ (Enzyme) ซึ่งถูกผลิตขึ้นมาจากจุลินทรีย์ที่ใช้เอนไซม์นี้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ต้องการให้เกิดขึ้นในอาหารก็ได้โดยเราสามารถใช้เอนไซม์ (ที่ผ่านการสกัดจากเซลล์จุลินทรีย์ดังกล่าว) ลงไปแทนก็ได้อย่างไรก็ตามเซลล์จุลินทรีย์ก็สามารถนำมาใช้ในการผลิตอาหารได้เช่นกันดังเช่นการผลิตจุลินทรีย์โปรตีนซึ่งเรียกว่า Single cell protein เป็นต้น

จากที่กล่าวมานี้ทำให้เราพอจะมองเห็นได้ว่าจุลินทรีย์ทั้งกลุ่มที่เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของอาหารและกลุ่มที่ก่อให้เกิดประโยชน์มีลักษณะที่ใกล้เคียงกันในกรณีของการก่อให้เกิดการ

เปลี่ยนแปลงขึ้นในอาหารแต่ในขณะเดียวกันก็ต่างกันตรงในกลุ่มแรกก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคส่วนกลุ่มหลังก่อให้เกิดการยอมรับของผู้บริโภคนั่นเอง

1.1 ประโยชน์ของจุลินทรีย์

ความรู้เกี่ยวกับจุลินทรีย์เป็นองค์ประกอบสำคัญในการผลิตอาหารหมักและเครื่องดื่มที่ได้จากการหมักการเกิดแอลกอฮอล์ส่วนใหญ่เนื่องมาจากยีสต์และกรดแลคติกเกิดจากการใช้ Lactic acid bacteria ในการเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นกรดแลคติกทั้งนี้ยังพบว่าจุลินทรีย์นั้นไม่เพียงแต่ทำให้เกิดรส (Taste) แต่เพียงอย่างเดียวในผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักแต่ยังสามารถทำให้เกิดสารที่เติมลงในอาหารเพื่อเป็นการชูรสด้วย

1.2 โทษของจุลินทรีย์ในอาหาร

การเน่าเสียของอาหารคือการที่อาหารมีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นทั้งทางเคมีและทางกายภาพอาหารมีกลิ่นรสชาติและลักษณะเนื้อสัมผัสเปลี่ยนไปในบางกรณีมีเมือกและก๊าซเกิดขึ้นด้วยอาหารเสียบางชนิดเช่นขนมปังและผลไม้จะมองเห็นการเจริญของเชื้อราได้ชัดเจนและอาหารบางชนิดมีกลิ่นเหม็นเน่าในที่นี้จะเน้นการเน่าเสียของอาหารจากจุลินทรีย์ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่สุดที่ทำให้อาหารเน่าเสียเอนไซม์ในอาหารจะเป็นปัจจัยที่ช่วยให้อาหารเกิดการเน่าเสียจากจุลินทรีย์ได้ง่ายขึ้นกล่าวคือเอนไซม์ในอาหารจะย่อยสลายสารอาหารให้อยู่ในสภาพที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ได้สะดวกขึ้นจุลินทรีย์จึงเจริญอย่างรวดเร็วเร่งอาหารให้เสียเร็วขึ้นในที่สุดอาหารแต่ละอย่างเกิดการเน่าเสียได้เร็วช้าต่างกัน

2.เทคโนโลยีการหมัก

การหมัก (Fermentation) เป็นรากศัพท์มาจากภาษาลาติน “fervere” แปลว่า “เดือด” ซึ่งครั้งแรกใช้เพื่ออธิบายลักษณะที่เกิดจากการกระทำของยีสต์ในน้ำสกัดผลไม้หรือเมล็ดข้าวมอลท์เนื่องจากยีสต์ย่อยสลายน้ำตาลภายใต้สภาวะไม่มีออกซิเจนทำให้เกิดฟองแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ผุดขึ้นมาเหมือนน้ำเดือดในทางชีวเคมีการหมักหมายถึงการสร้างพลังงานจากกระบวนการย่อยสลายสารประกอบอินทรีย์หรือการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของสารประกอบอินทรีย์เนื่องจากเอนไซม์โดยมีสารอินทรีย์เป็นทั้งตัวให้และตัวรับอิเล็กตรอนส่วนการหมักในทางจุลชีววิทยาอุตสาหกรรมหมายถึงกระบวนการผลิตผลผลิตใดๆก็ตามที่ได้จากการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์จำนวนมาก (mass culture) ซึ่งจะครอบคลุมทั้งกระบวนการแบบใช้และไม่ใช้ออกซิเจนในขณะที่การหมักทางชีวเคมีจะหมายถึงเฉพาะกระบวนการแบบไม่ใช้ออกซิเจนเท่านั้น

2.1การหมักตามสภาพธรรมชาติ

การหมักตามสภาพธรรมชาติ เป็นการหมักที่ไม่มีการเติมกล้าเชื้อในสูตรการผลิตเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่ทำหน้าที่สร้างกรดได้มาจากการปนเปื้อนในเนื้อสัตว์และส่วนผสมในการผลิตชนิดของแบคทีเรียกรดแลคติกที่พบมีจำนวนน้อย และยังพบแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ ทั้งที่ต้องการและไม่

ต้องการรวมอยู่ด้วย ซึ่งมีทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ แบคทีเรียที่มีประโยชน์ ได้แก่ Micrococcus ความสำเร็จในการสร้างกรดแลคติกช่วงแรกของการหมักขึ้นอยู่กับชนิดของแบคทีเรียในกลุ่มของ Enterococcus เมื่อมีการหมักเกิดขึ้น เชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกจะมีการเจริญอย่างรวดเร็วและที่อายุการหมัก 2-5 วัน โดยพบจำนวนของแบคทีเรียกรดแลคติกจำนวน 10^6-10^8 โคโลนี/กรัม ค่าพีเอชที่ลดลงอย่างรวดเร็วส่งผลให้เชื้อ Pseudomonas และแบคทีเรียแกรมลบรูปร่างเป็นแท่งที่ไวต่อกรดตายภายในเวลา 2-3 วัน แต่มีเชื้อบางชนิด เช่น Salmonella อาจจะทนอยู่ได้ จำนวนของแบคทีเรียกรดแลคติกมีแนวโน้มที่จะลดลงหลังจากที่มีการสร้างกรดสูงสุด ในช่วงที่สองของการหมัก (15 วัน) อาจมีเชื้อราเกิดขึ้น การผลิตกรดและค่าพีเอชที่ลดลงเริ่มเป็นไปอย่างช้า ๆ ซึ่งระยะนี้เป็นสภาพที่เหมาะต่อการเจริญของ *S. aureus* และอาจมีการผลิตสารพิษเกิดขึ้น แบคทีเรียกรดแลคติกที่พบตามสภาพธรรมชาติ ได้แก่ สกุล Lactobacillus ส่วนใหญ่ ได้แก่ สปีชีส์ *L. bavaricus, L. curvatus, L. farciminis, L. plantarum* และ *L. sake* โดยพบว่า *L. sake* มีความสำคัญต่อการหมักไส้กรอกที่สุดในสกุล Lactobacillus ทั้งหมด กลุ่มของแบคทีเรียกรดแลคติกที่พบรองจาก Lactobacillus คือสกุล Pediococcus ได้แก่ *P. damnosus, P. acidilactici* และ *P. pentosaceus* ส่วนสกุล *Leuconostoc* พบจำนวนน้อยและพบในไส้กรอกที่มีคุณภาพต่ำ (Varnam and Sutberland, 1995)

Park *et al.* (1997) ได้ศึกษาถึงผลของ *L. plantarum* ที่แยกได้จากอาหารหมักต่อคุณสมบัติของไส้กรอกหมักเปรียบเทียบกับการใช้กล้าเชื้อเชิงพาณิชย์ (commercial starter) พบว่า *L. plantarum* ที่แยกได้จากอาหารหมักมีความสามารถในการควบคุมคุณภาพของไส้กรอกหมักได้ดีกว่ากล้าเชื้อเชิงพาณิชย์ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียที่แยกได้จากตัวอย่างของผลิตภัณฑ์ชนิดนั้น ๆ มีศักยภาพพอที่จะพัฒนาเป็นกล้าเชื้อเชิงพาณิชย์สำหรับใช้ในผลิตภัณฑ์ได้เป็นอย่างดี

2.2การหมักด้วยกล้าเชื้อ

การหมักไส้กรอกที่เริ่มต้นด้วยการเติมกล้าเชื้อของแบคทีเรียกรดแลคติกลงในสูตรการผลิตมีความสำคัญเช่นเดียวกับการหมักตามสภาพธรรมชาติ โดยจะพบมากในช่วงแรกของการหมัก ลักษณะของแบคทีเรียกรดแลคติกที่ใช้เป็นกล้าเชื้อในการหมักไส้กรอกจะต้องมีคุณสมบัติตามมาตรฐานที่กำหนดไว้ ได้แก่ สามารถแข่งขันกับแบคทีเรียที่พบในเนื้อสัตว์ได้เป็นอย่างดีและมีประสิทธิภาพ ต้องสร้างกรดแลคติกได้ในปริมาณที่เพียงพอ ต้องทนต่อโซเดียมคลอไรด์และสามารถเจริญได้ที่ความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์อย่างน้อย 6 เปอร์เซ็นต์ ต้องทนต่อโซเดียมไนไทรต์ และสามารถเจริญได้ที่ความเข้มข้นของโซเดียมไนไทรต์อย่างน้อย 100มิลลิกรัม/กิโลกรัม สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 15-40 องศาเซลเซียส โดยมีอุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 30-37 องศาเซลเซียส เป็นกลุ่มที่มีวิถีการสร้างกรดแบบ homofermentative ต้องไม่มีการย่อยสลายโปรตีน ต้องไม่ผลิตไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในปริมาณที่มากเกินไป ควรเป็นแบคทีเรียชนิดที่ไม่สร้างแคตาเลส (catalase negative) ควรมีความสามารถในการรีดิวซ์ไนเทรตได้ดี เมื่อผลิตไส้กรอกเสร็จแล้วควรมีผลในการเพิ่ม

รสชาติของผลิตภัณฑ์อันเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ไม่ควรมีการสร้างสารไบโอจินิกเอมีน (biogenic amines) เพราะเป็นสารที่อาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพ (Silla-Santos *et al.*, 1998) ไม่ควรมีการสร้างเมือกในผลิตภัณฑ์ มีคุณสมบัติในการต่อต้านจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ที่ทำให้เกิดโรค และสุดท้ายควรมีความทนต่อสภาวะของการหมัก และสามารถทำงานร่วมกับกล้าเชื้อชนิดอื่น ๆ ได้เป็นอย่างดีปัจจัยที่มีผลในการแข่งขันของกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก ได้แก่ จำนวนกล้าเชื้อที่มีอยู่ในส่วนผสมของผลิตภัณฑ์ ธรรมชาติของแบคทีเรียที่มีอยู่ในส่วนผสม ปริมาณของกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่ใช้ สภาพทางสรีรวิทยาของกล้าเชื้อ และสูตรของส่วนผสมในการผลิตซึ่งกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่นิยมใช้มากคือ *L. plantarum, L. curvatus, P. pentosaceus* และ *P. acidilactici* ซึ่งส่วนใหญ่แล้วเป็นแบคทีเรียกรดแลคติกที่พบได้ตามสภาพธรรมชาติ (Hammes and Knauf, 1994)

การหมักที่มีการเติมกล้าเชื้อลงไปในส่วนผสมหรือที่เรียกว่า fermentation withstarter culture เป็นการหมักที่มีการเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์เข้าไปกล้าเชื้อที่เติมต้องเป็นสายพันธุ์ที่ได้รับการคัดเลือกแล้วว่ามีคุณสมบัติเหมาะสมต่อการหมักเจริญเติบโตได้เร็วสร้างกรดได้ในปริมาณสูงและมีความสามารถในการผลิตสารเพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์อื่นๆที่ไม่ต้องการได้เป็นอย่างดีเช่นแบคเทอริโอซินไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และสารประกอบอื่นๆที่มีผลในการเพิ่มคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ปัจจัยที่มีผลต่อความสามารถในการแข่งขันของกล้าเชื้อต่อจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆได้แก่จำนวนของกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่เติมลงไปในส่วนผสมกับแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีอยู่แล้วในส่วนผสมสภาพทางสรีรวิทยาของกล้าเชื้อและสูตรผสมในการผลิตว่ามีแหล่งพลังงานที่เหมาะสมต่อการเจริญของกล้าเชื้อหรือไม่โดยกล้าเชื้อบริสุทธิ์ของแบคทีเรียกรดแลคติกที่ใช้ได้แก่ *L. plantarum, L. curvatus, P. damnosus, P. acidilactici* ซึ่งส่วนใหญ่เป็นเชื้อที่แยกได้จากการหมักตามสภาพธรรมชาติ (Varnam and Sutberland, 1995)

3. แบคทีเรียกรดแลคติก (Lactic acid bacteria)

แบคทีเรียกรดแลคติกเป็นกลุ่มของแบคทีเรียแกรมบวก (gram-positive) มีรูปร่างกลมหรือเป็นแท่ง (cocci or rods) ไม่มีการสร้างสปอร์ (non sporeforming) ไม่เคลื่อนที่ (non-motile)หรือถ้ามีการเคลื่อนที่จะใช้แฟลคเจลลาไม่ต้องการออกซิเจนในการเจริญซึ่งจัดเป็น facultative anaerobic สามารถผลิตกรดแลคติกได้โดยใช้คาร์บอนเป็นสารอาหารน้ำตาลที่ใช้ได้แก่กลูโคสและแลคโทสตัวอย่างของแบคทีเรียกรดแลคติกได้แก่ *Lactobacillus, Leuconostoc, Pediococcus* และ*Streptococcus* เป็นต้น (Singleton and Sainsbury, 1988)

มนุษย์ได้นำแบคทีเรียกรดแลคติกมาใช้ในการหมักอาหารชนิดต่างๆเป็นเวลานานเช่นใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์นมชีสผักดองและ sour dough bread และกรดแลคติกได้ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารโดยใช้เป็นสารที่ให้ความเป็นกรด (acidulant) และสารถนอมอาหาร

การใช้ประโยชน์จากแบคทีเรียกรดแลคติกในการหมักเนื้อสัตว์เป็นส่วนหนึ่งที่ทำให้การหมักประสบความสำเร็จตามประวัติศาสตร์ได้มีการใช้แบคทีเรียกรดแลคติกแตกต่างกันไปตามแต่ละภูมิภาคเช่นในสหรัฐอเมริกาและยุโรปใช้ *P. cerevisiae* (ต่อมาเปลี่ยนเป็น *P. acidilactici* โดยสหรัฐอเมริกาใช้ในการผลิต summer sausage ซึ่งผลิตภัณฑ์เนื้อหมักชนิดนี้หมักได้ที่อุณหภูมิสูง (30 องศาเซลเซียส) ใช้ไนไทรต์ได้มีช่วงระยะเวลาการบ่มสั้นและยังสามารถควบคุมการหมักที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียสได้ด้วยส่วนในยุโรปนำ *L. plantarum* มาใช้ในการหมักครั้งแรกร่วมกับ micrococci ทั้ง *L. plantarum* และ *Pediococcus* จึงเป็นกล้าเชื้อที่สำคัญในการค้า (Hammes and Knauf, 1994)

3.1 การจำแนกแบคทีเรียกรดแลคติก

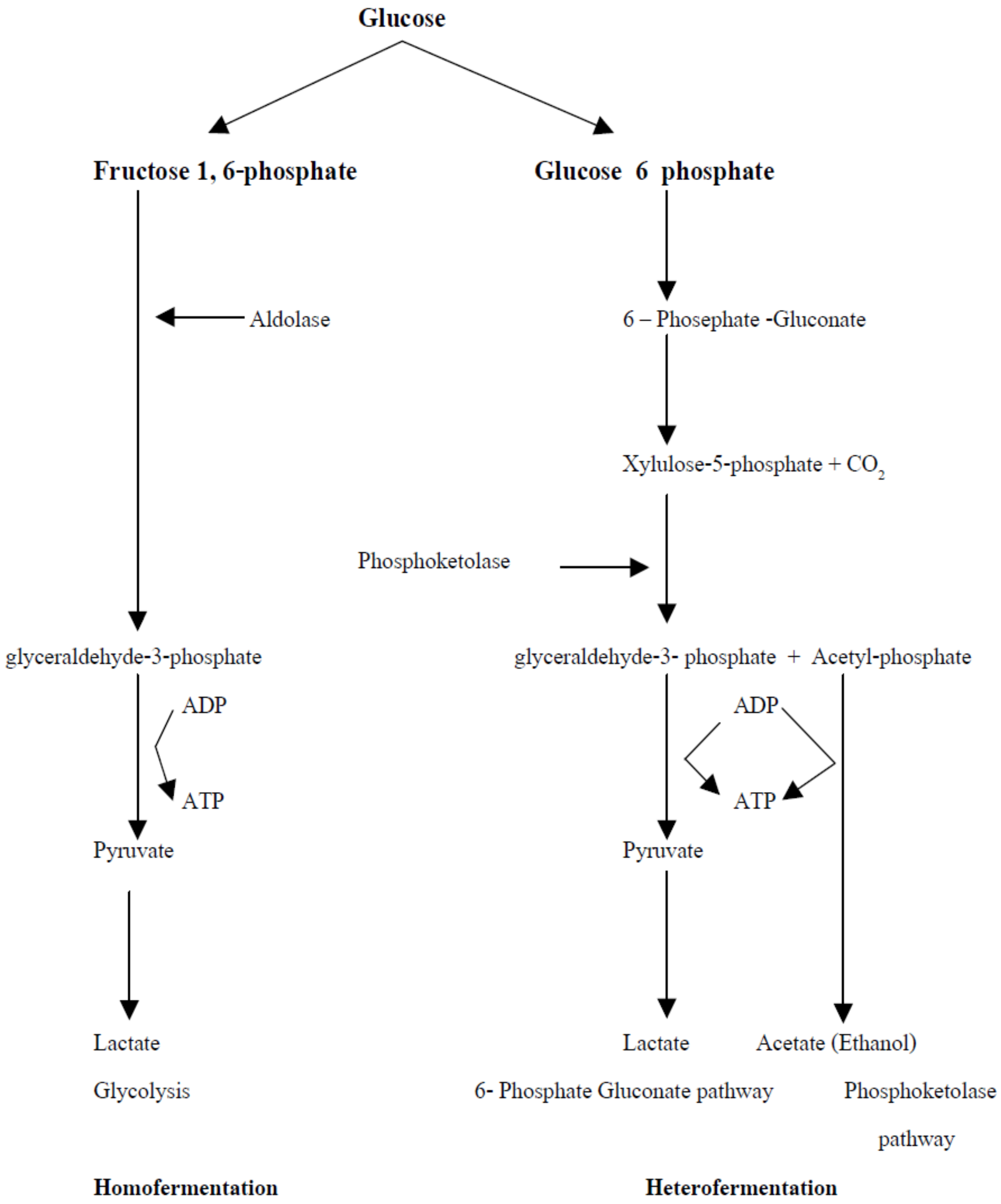
การสร้างกรดแลคติกของแบคทีเรียกรดแลคติกเกิดจากการใช้สารประกอบคาร์โบไฮเดรตในกระบวนการเมแทบอลิซิมได้กรดแลคติกเป็นผลิตภัณฑ์ดังนั้นเมื่อพิจารณาถึงผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากกระบวนการเมแทบอลิซึมสามารถจำแนกแบคทีเรียกรดแลคติกได้เป็นสองกลุ่มคือ homofermentative และ heterofermentative (Collier *et al*., 1998) (ตามภาพ 1)

3.1.1 Homofermentation

Homofermentative หรือ homolactic fermentation เป็นการหมักให้เกิดกรดแลคติกที่เกิดขึ้นโดยแบคทีเรียกรดแลคติกผลิตกรดแลคติกจากการหมักน้ำตาลกลูโคสโดยผ่านกระบวนการที่เรียกว่า Emden-Meyerhof-Parnas (EMP) หรือ glycolytic pathway ซึ่งแบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถผลิตกรดแลคติกได้ประมาณ 95 เปอร์เซ็นต์จากการหมักกลูโคสหรือกาแลคโทสโดยกลูโคส 1 โมเลกุลเมื่อเข้าสู่ EMP จะได้ไพรูเวท 2 โมเลกุลจากนั้นไพรูเวทจะถูกเปลี่ยนไปเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายคือกรดแลคติกซึ่งกรดแลคติกที่เกิดขึ้นพบทั้ง D-Lactic และ L-Lactic (Adams and Moss, 1995; Singleton and Sainsbury, 1988)

3.1.2 Heterofermentation

Heterofermentationหรือheterolactic fermentation เป็นการหมักให้เกิดกรดแลคติกโดยแบคทีเรียกรดแลคติกซึ่งหมักน้ำตาลกลูโคสและแลคโทสไปเป็นผลิตภัณฑ์หลายชนิดได้แก่กรดแลคติกกรดแอซีติกกรดฟอร์มิคเอธานอลและคาร์บอนไดออกไซด์ (Schlegel, 1993;Adams and Moss, 1995) ตัวอย่างของแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีวิถีการหมักแบบนี้ได้แก่สกุล Lactobacillus บางสปีชีส์และสกุล Leuconostoc โดยเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกในสกุล Lactobacillus มีวิถีการหมักได้ทั้งสองแบบ



ภาพ 1 การจำแนกชนิดของแบคทีเรียกรดแลคติกตามวิถีการสร้างกรด

ที่มา : Adams and Moss (1995)

3.2 แบคทีเรียที่จัดอยู่ในกลุ่มของแบคทีเรียกรดแลคติก

การจำแนกแบคทีเรียกรดแลคติกในปัจจุบันสามารถจัดจำแนกได้เป็น 12 สกุลคือ Aerococcus, Carnobacterium, Enterococcus, Lactobacillus, Lactococcus, Leuconostoc, Oenococcus, Pediococcus, Streptococcus, Tetragenococcus, Vagococcus และ Weissella (Stiles and Holzapfel, 1997) ซึ่งแต่ละสกุลมีลักษณะดังนี้

3.2.1 Aerococcus

เป็นกลุ่มของแบคทีเรียแกรมบวกตระกูล Streptococcaceae เซลล์มีรูปร่างกลมไม่มีการเคลื่อนที่มีการแบ่งตัวแบบ 2 ระนาบโดยทั่วไปจึงพบเซลล์อยู่เป็นคู่หรือ 4 เซลล์สามารถเจริญได้ดีในสภาพที่มีอากาศเพียงเล็กน้อยเป็นพวก homofermentative ไม่สร้างแคตาเลสแต่มีบางสายพันธุ์มีการผลิตแคตาเลสเทียม (pseudocatalase) แบคทีเรียที่พบในสกุลนี้มี 2 ชนิดคือ *A. urinae* และ *A. viridians* ซึ่งเปลี่ยนมาจาก *Pediococcus urinae-equi* และ*P. homari* ตามลำดับ (Singleton and Sainsbury, 1988; Stiles and Holzapfel, 1997)

3.2.2 Carnobacterium

เป็นแบคทีเรียแกรมบวกมีรูปร่างเป็นแท่งคล้าย Lactobacilli ซึ่งก่อนหน้านี้เคยจำแนกไว้ใน Lactobacilli ไม่มีการสร้างแคตาเลสเป็นกลุ่ม heterofermentative ส่วนใหญ่เจริญได้ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียสแต่ไม่เจริญที่ 45 องศาเซลเซียสมีบางสายพันธุ์ที่สร้างแก๊สจากการใช้น้ำตาลกลูโคสไม่สามารถเจริญบนอาหารที่มีแอซิเตทและไม่สร้างกรดโอลิอิคมี GC content ประมาณ 33.0-37.2 โมลเปอร์เซ็นต์พบได้ตามเนื้อสัตว์ที่บรรจุในสภาพสุญญากาศปลาและผลิตภัณฑ์จากสัตว์ปีก (Jay *et al*., 1996; Schleifer and Ludwing, 1995)

3.2.3 Enterococcus

เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่มีเซลล์เป็นรูปไข่พบการจัดเรียงตัวของเซลล์เป็นเซลล์เดี่ยวหรือเป็นคู่หรืออาจพบเป็นโซ่สายสั้นๆสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 10 และ 45 องศาเซลเซียสเจริญได้ในสภาพที่มีโซเดียมคลอไรด์ 6.5 เปอร์เซ็นต์และน้ำดี (bile) 40 เปอร์เซ็นต์เจริญได้ที่ความเป็นกรดด่าง 9.6 มีกระบวนการทางชีวเคมีเป็นแบบการหมักมี GC content ประมาณ 37-45 โมลเปอร์เซ็นต์แบคทีเรียสกุลนี้ประกอบด้วย 20 สปีชีส์เปลี่ยนชื่อมาจาก Streptococcus (Devriese and Pot, 1995; Jay *et al*., 1996; Schleifer and Ludwing, 1995)

3.2.4 Lactobacillus

เป็นกลุ่มของแบคทีเรียกรดแลคติกกลุ่มใหญ่ที่สุดมีความหลากหลายของลักษณะทางฟีโนไทป์ลักษณะทางชีวเคมีและลักษณะทางสรีรวิทยาอันเนื่องมาจากมีความแตกต่างของ GC content ภายในสกุลค่อนข้างสูงโดยอยู่ระหว่าง 32-53 โมลเปอร์เซ็นต์ (Axelsson, 1998) เซลล์มีรูปร่างเป็นแท่งหรือเป็นรูปทรงรีมีการจัดเรียงตัวเป็นเซลล์เดี่ยวๆหรือเป็นโซ่ไม่เคลื่อนที่ไม่มีการสร้างแคตาเลสมีบางสายพันธุ์เป็นแคตาเลสเทียมมีคุณสมบัติในการใช้เป็นโพรไบโอติกได้เป็นอย่างดีพบได้ทั่วไปในมนุษย์และสัตว์ในนมและผลิตภัณฑ์นมอาหารหมักชนิดต่างๆและเครื่องดื่มพบในพืชเพียงเล็กน้อยเช่นในหญ้าหมักและผักดองโดยทั่วไปไม่เป็นพิษ (Harrigan *et al*., 1998)

Hammes and Vogel (1995) ได้กล่าวถึงการจัดแบ่งแบคทีเรียสกุลนี้โดยพิจารณาจากกระบวนการหมักแบ่งได้เป็น 3 กลุ่มคือ

ก. Obligately homofermentative Lactobacilli หมักน้ำตาลแลคโทส ได้เป็นกรดแลคติกมากกว่า 85 เปอร์เซ็นต์โดยผ่านวิถี Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) ผลิตเอนไซม์1,6-biphosphate-aldolase ได้แต่ไม่ผลิต phosphoketolase ดังนั้นเชื้อกลุ่มนี้จึงไม่สามารถหมักน้ำตาลเพนโทสได้ประกอบด้วย 18 สปีชีส์

ข. Facultative heterofermentative Lactobacilli เชื้อกลุ่มนี้หมักน้ำตาลเฮกโซสได้เป็นกรดแลคติกโดยผ่านวิถี EMP มีกิจกรรมที่เกิดจากทั้ง aldolase และ phosphoketolase จึงสามารถหมักน้ำตาลเพนโทสได้ประกอบด้วย 18 สปีชีส์

ค. Obligately heterofermentative Lactobacilli เชื้อกลุ่มนี้หมักน้ำตาลเฮกโซสและน้ำตาลเพนโทสได้โดยผ่านวิถี phosphogluconate ได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดแลคติกเอทธานอลและคาร์บอนไดออกไซด์ประกอบด้วย 19 สปีชีส์

3.2.5 Lactococcus

เป็นแบคทีเรียที่พบได้ในผลิตภัณฑ์นมหลายชนิดมีเซลล์เป็นรูปไข่ขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5-1 ไมครอนไม่มีการเคลื่อนที่มีการจัดเรียงตัวเป็นเซลล์เดี่ยวเป็นคู่หรือต่อกันเป็นสายโซ่กระบวนการทางชีวเคมีเป็นแบบการหมักได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดแลคติก (L-lactic acid) เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียสแต่ไม่เจริญที่ 45 องศาเซลเซียสมี GC content ประมาณ34-43 โมลเปอร์เซ็นต์ประกอบด้วย 5 สปีชีส์ (Schleifer and Ludwing, 1995)

3.2.6 Leuconostoc

เป็นแบคทีเรียที่พบได้ในผลิตภัณฑ์นมหลายชนิดเครื่องดื่มที่ได้จากการหมักและผักดองหลายชนิดลักษณะของเซลล์มีรูปร่างกลมมีการจัดเรียงตัวเป็นคู่หรือเป็นโซ่จัดเป็นพวก heterofermentativeอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตอยู่ระหว่าง 20-30 องศาเซลเซียสเป็นกลุ่มที่ไม่สร้างแคตาเลสมักพบอยู่ร่วมกับ Lactobacilli มี GC content ประมาณ 38-44 โมลเปอร์เซ็นต์ประกอบด้วย 8 สปีชีส์ (Dessaet and Steenson, 1995; Jay *et al*., 1996; Schleifer and Ludwing, 1995)

3.2.7 Oenococcus

มีรูปร่างทรงกลมซึ่งถูกเปลี่ยนมาจาก *Leuconostocoenus* เดิมเนื่องจากมีลักษณะทางพันธุกรรมแตกต่างจาก Leuconostoc และทนต่อกรดได้ดีกว่า (Dick *et al*., 1995)

3.2.8 Pediococcus

มีรูปร่างกลมมีการแบ่งตัวแบบ 2 ทิศบนระนาบเดียวกันพบการจัดเรียงตัวอยู่เป็นคู่หรืออยู่เป็น 4 เซลล์ติดกันเป็นพวก homofermentative ต้องการสารอาหารที่มีความซับซ้อนมักพบร่วมกับพืชที่นำมาหมักเช่นผักดองเค็มนอกจากนั้นยังพบว่ามีการปนเปื้อนในเครื่องดื่มที่หมักด้วยยีสต์ มี GC content ประมาณ 34-44 โมลเปอร์เซ็นต์ (Harrigan *et al*., 1998)

3.2.9 Streptococcus

เป็นแบคทีเรียรูปร่างกลมหรือรูปไข่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.8-1.2 ไมครอนมีการจัดเรียงตัวเป็นคู่หรือเป็นโซ่ต้องการสารอาหารหลายชนิดเจริญได้ที่อุณหภูมิ20-40 องศาเซลเซียส เป็นได้ทั้ง homofermentative และ heterofermentative พบได้ในอาหารเป็นส่วนใหญ่นิยมใช้เป็นกล้าเชื้อในอุตสาหกรรมนมหมักประกอบด้วย 39 สปีชีส์ (Hardie and Whiley, 1995)

3.2.10 Tetragenococcus

เป็นสกุลที่เปลี่ยนมาจาก *P. halophillus* เดิมลักษณะส่วนใหญ่จึงเหมือนกันมีรูปร่างทรงกลมต้องการโซเดียมคลอไรด์ในการเจริญและสามารถเจริญได้ในอาหารที่มีโซเดียมคลอไรด์สูงถึง18 เปอร์เซ็นต์และมีลำดับของ 16s rRNA ต่างจาก Pediococcus (Simpson and Taguchi, 1995)

3.2.11 Vagococcus

เป็นแบคทีเรียที่แยกมาจาก Streptococcus กลุ่ม N เนื่องจากสามารถเคลื่อนที่ได้ประกอบด้วย 2 สปีชีส์ (Stiles and Holzapfel, 1997)

3.2.12 Weissella

เป็นแบคทีเรียกรดแลคติกสกุลเดียวที่มีทั้งรูปร่างทรงกลมและเป็นท่อนประกอบด้วย 7 สปีชีส์ซึ่งเดิมจำแนกอยู่ในสกุลLeuconostoc และ Lactobacillus คือ*Weissella paramenteroides* (*Leuconostoc paramesenteroides*) *W. cofusus* (*Lactobacillus cofusus*) *W. halotolerans* (*L. halotolerans*) *W. kandleri* (*L. kandleri*) *W. minor* (*L. minor*) *W. viridescens* (*L. viridescens*) และสปีชีส์ใหม่ที่แยกได้จากไส้กรอกเปรี้ยวคือ *W. hellenica* (Stiles and Holzapfel, 1997) คุณลักษณะที่แตกต่างกันของแบคทีเรียกรดแลคติกจีนัสต่างๆพอสรุปได้ในตาราง1

ตาราง 1 ลักษณะที่แตกต่างของแบคทีเรียสร้างกรดแลคติกแต่ละสกุล

ลักษณะ	Rod		Cocci							
	C.	*La.*	*A.*	*E.*	*V.*	*Lc.*	*Ln*	*P.*	*S.*	*T.*
การเรียงตัวของเซลล์แบบ tetrad	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+
หมักกลูโคสให้กลูโคส	-	±	-	-	-	-	+	-	-	-
เจริญที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส	+	±	+	+	+	+	+	±	-	+
เจริญที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส	-	±	-	+	-	-	-	±	±	-
เจริญที่มี เกลือ 6.5 เปอร์เซ็นต์	ND[a]	±	+	+	-	-	±	±	-	+
เจริญที่มี เกลือ 18 เปอร์เซ็นต์	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
เจริญที่ pH 4.4	ND	±	-	+	±	±	±	+	-	-
เจริญที่ pH 9.6	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+
Configulation ของกรดแลคติก	L	DL[b] D,L	L	L	L	L	D	L, DL[b]	L	L
Motility	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-

C.=*Carnobacterium*, La.=*Lactobacillus*, A.= *Aerococcus*, ,E.= *Enterococcus*, V.=*Vagococcus* Ln.=*Leuconostoc*, P.=*Pediococcus*, S.=*Streptococcus*, T.= *Tetragenococcus*, Lc.=*Lactococcus* ND= Not determine, ND[a] = เจริญไม่ได้ในอาหารที่มีความเข้มข้นของเกลือ 8 เปอร์เซ็นต์, + = positive, - = negative, ± = response varies between สปีซี่ส์, b = สร้าง D,L หรือ DL – Lactic acid แตกต่างกันขึ้นกับสปีซีส์
ที่มา : Axelsson (1998)

4. การใช้แบคทีเรียกรดแลคติกในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก

4.1 คุณสมบัติของแบคทีเรียกรดแลคติกในการผลิตสารจากกระบวนการเมแทบอลิซึมการค้นพบกรดแลคติกเกิดขึ้นครั้งแรกเมื่อพบว่านมซึ่งมีน้ำตาลแลคโทสเป็นองค์ประกอบมีรสเปรี้ยวเกิดขึ้นหลักการหมักกรดแลคติกในอุตสาหกรรมจึงเริ่มขึ้นเมื่อปีค.ศ. 1857 ซึ่งมีการเผยแพร่ผลงาน

ของหลุยส์ปาสเตอร์ตั้งแต่นั้นมาได้มีการแยกแบคทีเรียกรดแลคติกหลายชนิดจนมีความเข้าใจเกี่ยวกับการใช้เชื้อจุลินทรีย์ในการพัฒนาอาหารของมนุษยชาติเช่นการเตรียมอาหารหมักจากนมผักธัญชาติและเนื้อสัตว์ตลอดจนการใช้เพื่อการเก็บรักษาวัตถุดิบหลายชนิด (Rehm and Reed, 1996) เนื่องจากแบคทีเรียกรดแลคติกมีประโยชน์ในหลายด้านจึงได้ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมหลายประเภทโดยเฉพาะอุตสาหกรรมอาหารได้แก่การใช้ในผลิตภัณฑ์นมผลิตภัณฑ์ผักและผลไม้ถั่วและธัญชาติผลิตภัณฑ์ปลาตลอดจนผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ (วิเชียร ลีลาวัชรมาศ, 2539; Geoffrey *et al*., 1987)

แบคทีเรียกรดแลคติกได้ถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางในการผลิตอาหารหมักของมนุษย์และสัตว์หลายชนิดและพบว่าในผลิตภัณฑ์เหล่านี้ทำให้เกิดการพัฒนาด้านรสชาติเนื้อสัมผัสนอกจากนั้นยังมีบทบาทในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่ไม่ต้องการโดยการยับยั้งเป็นผลมาจากการผลิตสารหลายชนิดเช่นกรดอินทรีย์ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และไดอะซิทิลและยังมีรายงานว่ามีแบคทีเรียกรดแลคติกหลายที่ชนิดสามารถผลิตสารที่มีคุณสมบัติในการต่อต้านจุลินทรีย์ซึ่งต่อมาเรียกว่าแบคเทอริโอซิน (bacteriocin) และยังจัดเป็นสารที่มีคุณสมบัติเป็น biopreservative (Kelly *et al*., 1996) การนำแบคทีเรียกรดแลคติกมาใช้ในการถนอมอาหารโดยเฉพาะอาหารหมักระหว่างการหมักจะมีผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการเมแทบอลิซึมทั้งชนิดที่เป็นผลิตภัณฑ์ปฐมภูมิ (primary metabolite) และทุติยภูมิ (secondary metabolite) และผลิตภัณฑ์เหล่านี้มีคุณสมบัติในการต่อต้านจุลินทรีย์ตัวอย่างของสารในกลุ่มนี้ได้แก่

4.1.1 กรดอินทรีย์

เป็นกรดอินทรีย์ที่เกิดจากแบคทีเรียกรดแลคติกคือกรดแลคติกและกรดแอซีติกมีการศึกษาที่พบว่ากรดกรดแอซีติกมีความสามารถในการยับยั้งรายีสต์และแบคทีเรียได้ดีทั้งกรดแลคติกและกรดแอซีติกเมื่อทำงานร่วมกันจะมีผลในการลดการเจริญของ *Salmonella typhimurium* ได้เป็นอย่างดีในอาหารหมักส่วนใหญ่ทั้งกรดแลคติกและกรดกรดแอซีติกที่ผลิตจากแบคทีเรียกรดแลคติกมีผลทำให้ค่าพีเอชของผลิตภัณฑ์ลดลงกรดอินทรีย์ที่เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ส่วนใหญ่พบว่าเป็นกรดแลคติกและมีกรดกรดแอซีติกเพียงเล็กน้อย (Lucke *et al*., 2000)

4.1.2 ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

ในภาวะที่มีออกซิเจนแบคทีเรียกรดแลคติกบางกลุ่มโดยเฉพาะ Lactobacilli สามารถสร้างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้โดยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะทำลายเซลล์แบคทีเรียโดยส่วนของ sulphydryl group ของโปรตีนและลิปิดที่เมมเบรนจะถูกออกซิไดซ์อย่างรุนแรงการสะสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในผลิตภัณฑ์จะมีผลต่อการยั้บยั้ง *S. aureus* และ *Pseudomonas* spp. นอกจากนั้นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ยังทำปฏิกิริยากับสารประกอบตัวอื่นๆ เกิดเป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์ขึ้นมาเช่นในนมดิบไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จากแบคทีเรียกรดแลคติกจะทำปฏิกิริยากับ endogenous thiocyanate ซึ่งถูกเร่งปฏิกิริยาโดย lactoperoxidase เกิดเป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์ (Daeschel *et al*., 1989)

4.1.3 ไดอะซิทิล (Diacetyl) ไดอะซิทิล (2,3 – butanedione)

เป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากกระบวนการเมแทบอลิซึมที่สังเคราะห์จากสารตัวกลางในการสังเคราะห์ไพรูเวทเป็นสารที่ทำให้เกิดกลิ่น (flavour) หรือกลิ่นหอมในเนยและมีคุณสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรียโดยพบว่าที่ระดับความเข้มข้น 20 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรจะยับยั้งยีสต์และความเข้มข้น 300 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกแต่ยับยั้งแบคทีเรียกรดแลคติกได้เพียงเล็กน้อยโดยที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 350 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรขึ้นไปมีผลในการยับยั้งแบคทีเรียกรดแลคติก (Daeschel *et al*., 1989)

4.1.4 แบคเทอริโอซิน (Bacteriocins)

เป็นสารประกอบโปรตีนที่มีคุณสมบัติในการต่อต้านจุลินทรีย์ (proteinaceous antimicrobial substance) ชนิดหนึ่งซึ่งผลิตจากแบคทีเรียบางชนิดมีคุณสมบัติในการยับยั้งหรือทำลายจุลินทรีย์ในสปีชีส์หรือสายพันธุ์ที่ใกล้เคียงกันกลไกการทำลายมีความจำเพาะต่อเซลล์เป้าหมายที่แน่นอนแบคเทอริโอซินบางชนิดทนความร้อนได้ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาทีจึงใช้ร่วมกับการแปรรูปอาหารโดยใช้ความร้อนได้แบคเทอริโอซินจะถูกยับยั้งด้วยเอนไซม์ที่ย่อยสลายโปรตีนเช่น ทริปซินตัวอย่างของแบคเทอริโอซินที่ผลิตจากแบคทีเรียกรดแลคติกและอนุญาตให้ใช้ผสมในอาหารได้แก่ไนซิน

4.2 คุณสมบัติของแบคทีเรียกรดแลคติกในการต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ

การแยกเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกจากผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อสิ่งที่สมควรพิจารณาอีกประการหนึ่งคือความสามารถในการต้านทานต่อสารปฏิชีวนะเนื่องจากว่าการเลี้ยงสัตว์เพื่อการบริโภคเมื่อสัตว์เกิดโรคต้องมีการป้องกันและรักษาโรคที่เกิดขึ้นโดยใช้สารปฏิชีวินะและมีโอกาสที่สารปฏิชีวนะอาจตกค้างในเนื้อสัตว์ภายหลังการชำแหละดังนั้นคุณสมบัติประการหนึ่งของเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่จะนำมาเป็นกล้าเชื้อคือควรมีความต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ

สารปฏิชีวนะ (antibiotics) หมายถึงผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากเชื้อจุลินทรีย์โดยที่ความเข้มข้นเพียงเล็กน้อยมีผลในการทำลายจุลินทรีย์บางชนิดได้ในปัจจุบันสารปฏิชีวนะรวมถึงสารสังเคราะห์ด้วยสารปฏิชีวนะไม่สามารถยับยั้งแบคทีเรียทั้งหมดได้บางชนิดมีความจำเพาะต่อสปีชีส์ของจุลินทรีย์บางชนิดยับยั้งได้ทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบคุณสมบัติของสารปฏิชีวนะเป็นได้ทั้งทำลายแบคทีเรีย (bacteriocidal) หรือยับยั้งแบคทีเรีย (bacteriostatic) หรือสารปฏิชีวนะบางชนิดมีคุณสมบัติทั้งสองประการแต่ใช้ในความเข้มข้นที่ต่างกันกลไกการทำลายของสารปฏิชีวนะมีตำแหน่งที่จำเพาะต่อเซลล์โดยบริเวณที่ทำลายเป็นได้ทั้งเมมเบรนหรือเกี่ยวข้องกับการยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนการต้านทานต่อสารปฏิชีวนะของแบคทีเรียอาจเนื่องมาจากเซลล์ไม่มีโครงสร้างที่จำเพาะต่อสารปฏิชีวนะชนิดนั้นๆเช่น *Mycoplasma* ซึ่งไม่มีผนังเซลล์จึงไม่มีผลเมื่อใช้เพนนิซิลินการทดสอบความต้านทานต่อสารปฏิชีวนะในแบคทีเรียกรดแลคติกโดยทั่วไปมักใช้วิธีการที่เรียกว่า agar diffusion ซึ่งทดสอบในอาหารวุ้น (agar media) เป็นการวัดความอ่อนแอ (susceptibility) ของเชื้อ

ที่ใช้ทดสอบเมื่อได้รับสารปฏิชีวนะนั้นๆ (Rosenblatt *et al*., 1991) ตัวอย่างของสารปฏิชีวนะที่ใช้ในการศึกษาได้แก่

4.2.1 คลอแรมฟีนิคอล (chloramphenicol) เป็นสารปฏิชีวนะที่มีโมเลกุลขนาดเล็กผลิตได้จาก *Streptomyces Venezuelae* กลไกการยับยั้งพบว่ามีผลในการยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนโดยจะจับกับไรโบโซมหน่วยย่อยที่ 70s ของจุลินทรีย์ชนิดที่เป็น prokaryotes และจับกับไมโตคอนเดรียของสิ่งมีชีวิตในกลุ่ม eukaryotes มีการออกฤทธิ์เป็นแบบยับยั้งโดยไปขัดขวางการสังเคราะห์โปรตีนของเซลล์ขอบเขตในการทำลายแบคทีเรียแกรมบวกเกิดขึ้นได้ทั้งแบคทีเรียรูปร่างแท่งและรูปร่างกลมส่วนในแบคทีเรียแกรมลบเซลล์รูปร่างกลมทำลายได้บางส่วนรูปร่างแท่งส่วนใหญ่ทำลายได้การนำคลอแรมฟีนิคอลมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ยังค่อนข้างจำกัดเพราะมีความเป็นพิษส่วนใหญ่นิยมใช้ในทางสัตวแพทย์ (ดวงพรคันธโชติ, 2530) นอกจากนั้นยังพบว่าคลอแรมฟีนิคอลยังสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในระยะ vegetative และสามารถยับยั้งสปอร์ของเชื้อราบางชนิดในแบคทีเรียแกรมบวกที่ทนต่อคลอแรมฟีนิคอลพบว่ามีพลาสมิดควบคุม chloramphenicol acetyl transferase (CAT) หรือ chloramphenicol transacetylase โดยพลาสมิดชนิดหลังนี้พบได้ในแบคทีเรียแกรมลบแต่ชักนำให้เกิดได้ใน streptococci และที่ความเข้มข้น 20 ไมโครกรัม/มิลลิกรัมสามารถทำลาย streptococciได้ (Singleton and Sainsbury, 1988) โดยทั่วไปแล้วพบว่าคลอแรมฟีนิคอลใช้รักษาโรคติดเชื้อที่เกิดจากจุลินทรีย์หลายชนิดได้แก่*Bacteroides, Haemophilu sinfluenzae, Neisseria meningitidis,* Salmonella และRickettsia

4.2.2 สเตรปโตมัยซิน (streptomycin) สารปฏิชีวนะที่ผลิตได้จาก *Streptomyces griseus* มีคุณสมบัติในการทำลาย *Mycobacterium tuberculosi*, streptococci บางชนิด *Brucella* sp. และแบคทีเรียแกรมลบหลายสายพันธุ์ความสามารถในการทำลายเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารที่ใช้กลไกการยับยั้งจะน้อยลงหรือถูกยับยั้งภายใต้สภาวะไร้อากาศยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในระยะ vegetative และยับยั้งสปอร์ของเชื้อราบางชนิดโดยมีผลต่อการยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนความต้านทานต่อสารปฏิชีวนะชนิดนี้เป็นผลจากการกลายพันธุ์ของยีนซึ่งทำให้เกิดความผิดปกติในการจับหรือเกิดการเปลี่ยนแปลงการจับกับสารปฏิชีวนะหรืออาจเกิดจากพลาสมิดที่ความคุมการผลิตเอนไซม์ streptomycin phosphotransferase (Singleton and Sainsbury, 1988)

4.2.3 เททราซัยคลิน (tetracycline) เป็นสารปฏิชีวนะที่ผลิตจาก *Streptomyces* หลายสปีชีส์เช่น *S. aureofaciens, S. rimosus* และยังได้จากกระบวนการกึ่งสังเคราะห์เป็นสารปฏิชีวนะตัวแรกที่ใช้ต้านแบคทีเรียกลไกการออกฤทธิ์มีผลในการยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนหรืออาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเมมเบรนเททราซัยคลินถูกนำมาใช้ประโยชน์ในการรักษาโรคติดเชื้อที่เกิดจากแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบเช่น Mycoplasma, Chlamydia และRickettsia ความสามารถในการต้านทานต่อเททราซัยคลินของแบคทีเรียทั้งชนิดแกรมบวกและแกรมลบอาจเกิด

จากการไหลออกของตัวยา (efflux of drug) และการเปลี่ยนแปลงตำแหน่งการจับของตัวยากับเซลล์หรือโครงสร้างของยาถูกทำลายโดยทั่วไปแล้วความต้านทานของแบคทีเรียตามธรรมชาติเกิดได้กับแบคทีเรียแทบทุกสกุลซึ่งอาจเกิดจากพลาสมิดหรือการถ่ายทอดของโครโมโซมตามธรรมชาติ นอกจากนั้นการใช้เททราซัยคลินที่มีการสลายตัวตามธรรมชาติก็เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดความต้านทานขึ้นมาได้และยังพบว่าแบคทีเรียบางชนิดมีการทำลายพิษของสารปฏิชีวนะได้เช่นใน *E. coli* และ *Bacteroidesfragilis* พบว่าโครงสร้างของเททราซัยคลินมีการเปลี่ยนแปลงทำให้ไม่มี active site ที่จะจับกับเซลล์แบคทีเรียได้เซลล์แบคทีเรียจึงมีความต้านทานเกิดขึ้น

4.3 ประโยชน์ของการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก

อดิศร เสวตวิวัฒน์ (2533) ได้สรุปถึงประโยชน์ของการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกในการผลิตภัณฑ์เนื้อหมักไว้ดังนี้

4.3.1 ลดระยะเวลาการหมักผลิตภัณฑ์ให้สั้นลงเช่นการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกในการหมักไส้กรอกหลายชนิดในยุโรปจะลดระยะเวลาในการหมักจากที่ใช้อยู่เดิมประมาณ 150 ชั่วโมงให้เหลือเพียง 32-48 ชั่วโมง

4.3.2 สามารถควบคุมการหมักและคุณภาพรวมถึงกลิ่นรสจำเพาะของผลิตภัณฑ์เนื้อได้ง่ายขึ้นเช่นการเติมกล้าเชื้อ *S. carnosus* subsp. *Utilis* หรือ *Kocuria variance* (เดิมคือ *Micrococcus varian*) ในการผลิตไส้กรอกเยอรมัน (Rohwurst) นอกจากจะทำให้สีของผลิตภัณฑ์เป็นสีชมพูอมแดงอันเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคเนื่องมาจากการผลิตเอนไซม์ไนเทรตรีดักเทสเพื่อเปลี่ยนไนเทรตให้เป็นไนไทรต์ได้เร็วและผลิตเอนไซม์แคตาเลสซึ่งกำจัดปริมาณของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่อาจจะเกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์ได้แล้วเชื้อดังกล่าวยังสามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสและโปรตีเอสในขณะหมักผลิตภัณฑ์ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีกลิ่นรสดีขึ้น

4.3.3 ลดการสะสมของไนโทรซามีนซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งเช่นการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกในการหมักผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่ต้องใช้ไนเทรตหรือไนไทรต์เป็น curingsalts จะสามารถผลิตกรดได้อย่างรวดเร็วซึ่งมีผลทำให้ไนไตรท์ที่มีอยู่หรือรีดิวซ์มาจากไนเตรทสลายเป็นไนทรัสออกไซด์มีผลทำให้ปริมาณไนไทรต์ที่ตกค้างอยู่ในผลิตภัณฑ์ลดลงจึงทำให้ปริมาณของสารไนโทรซามีนที่เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์ดังกล่าวลดลงด้วย

4.3.4 ช่วยควบคุมสีของผลิตภัณฑ์โดยผลิตภัณฑ์ที่มีการเติมไนเทรตและไนไทรต์จะให้คงสีชมพูอมแดงไม่ซีดกล่าวคือกล้าเชื้อแบคทีเรียหลายชนิดเช่น *Pediococcus* spp. และ *Kocuria* spp. สามารถผลิตเอนไซม์ pseudocatalase ซึ่งเอนไซม์ดังกล่าวสามารถเปลี่ยนไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไปเป็นน้ำและออกซิเจนจึงไม่มีผลต่อสีชมพูอมแดงของผลิตภัณฑ์

4.3.5 ลดระดับฮีสตามีนในอาหารหมักเนื่องจากการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกในการหมักจะทำให้กระบวนการหมักเกิดได้อย่างรวดเร็วและมีผลในการทำลายกลุ่มของเชื้อจุลินทรีย์

ที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์ตามธรรมชาติซึ่งจุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถผลิตเอนไซม์ฮีสติดีนคาร์บอกซิเลสแล้วเปลี่ยนฮีสติดีนไปเป็นฮีสตามีนดังนั้นการใช้กล้าเชื้อจึงทำให้ระดับของฮีสตามีนในผลิตภัณฑ์ลดลง

4.3.6 ยับยั้งและทำลายจุลินทรีย์ที่ทำให้ผลิตภัณฑ์เสื่อมเสียและยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคซึ่งในปัจจุบันเป็นวัตถุประสงค์หลักประการหนึ่งของการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกในการควบคุมการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารหมักประเภทต่างๆให้มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคทั้งนี้เนื่องมาจากผลของความเป็นกรดที่เกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็วรวมทั้งสารชนิดต่างๆที่กล้าเชื้อสามารถผลิตขึ้นระหว่างการหมักเช่นกรดระเหย (volatile acid) กรดไขมันไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และแบค เทอริโอซินเป็นต้น

การใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกในผลิตภัณฑ์เนื้อนอกจากใช้เพื่อปรับปรุงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ให้มีรูปลักษณะที่ดีมีกลิ่นรสและคุณภาพที่สม่ำเสมอตลอดจนช่วยลดระยะเวลาในการผลิตแล้วยังมีการศึกษาถึงการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกในด้านการทำลายจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของอาหารเป็นพิษเช่น *S. aureus, C. botulinum, C. perfringens, Y. enterocolitica Salmonella* sp. และ *Shigella* sp. ซึ่งกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกมีผลต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าวได้ (อรนุชอุตรภิชาติ, 2530; อดิศรเสวตวิวัฒน์, 2533) โดยการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของแบคทีเรียกรดแลคติกพบว่ามาจากสารที่มีคุณสมบัติในการต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์นั่นเองสารดังกล่าวได้แก่ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์, ไดอะซิทิล, แบคเทอริโอซินและสารที่เรียกว่า microgard ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติต่อต้านจุลินทรีย์แกรมลบ (Daeschel*et al*., 1989) *L. plantarum* เป็นแบคทีเรียกรดแลคติกที่แยกได้อาหารหมักหลายชนิดมีรายงานว่าเชื้อชนิดที่แยกได้จากแตงกวาดองมีความสามารถในการผลิตแบคเทอริโอซินที่เรียกว่า plantaricin A สารชนิดนี้มีคุณสมบัติในการทำลายแบคทีเรียถูกสลายด้วยเอนไซม์โปรติเนสทนความร้อนได้ที่อุณหภูมิสูงถึง 100 องศาเซลเซียสได้นานกว่า 30 นาทีมีน้ำหนักโมเลกุลมากกว่า 8,000 bp กิจกรรมสูงสุดอยู่ที่พีเอชระหว่าง 4.0-6.5 และสารดังกล่าวนี้ยังทำลายแบคทีเรียกรดแลคติกหลายชนิด (Daeshel *et al*., 1990)

4.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาแบคทีเรียสร้างกรดแลคติกเป็นกล้าเชื้อ

อรรณพ ทัศนอุดม (2550) ได้ศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้เชื้อแบคทีเรียแลคติกในการผลิตผักกาดดองโดยใช้เชื้อแบคทีเรียแลคติกทั้งหมดที่แยกได้จากน้ำผักกาดดองในกระบวนการหมักผักกาดเขียวปลีศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพเคมีและทางจุลชีววิทยาของผักกาดดองระหว่างกระบวนการหมักและศึกษาการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัสของผักกาดเขียวปลีดองที่หมักด้วยวิธีการดั้งเดิมและหมักด้วยการใช้เชื้อแบคทีเรียแลคติกผลการศึกษาพบว่าการผลิตผักกาดเขียวปลีดองโดยใช้เชื้อแบคทีเรียแลคติกใช้ระยะเวลาในการดองเพียง 2 ถึง 3 วันก็สามารถนำมารับประทานได้โดยที่ระยะเวลาในการดองดังกล่าวผักกาดดองที่ได้จะมีค่าความเป็นกรด-ด่างและปริมาณกรดเท่ากับ 3.54 และร้อยละ 0.75 ตามลำดับซึ่งใกล้เคียงกับผักกาดดองที่มีจำหน่ายทั่วไปตามท้องตลาดการเปลี่ยนแปลงทางด้านกายภาพเคมีและทางจุลชีววิทยาของผักกาดดองระหว่างกระบวนการหมักเป็น

ระยะเวลา 14 วันพบว่าผักกาดเขียวปลีดองที่ผลิตโดยใช้หัวเชื้อแบคทีเรียแลคติกมีค่า L*a*b* อยู่ในช่วง 31.42 ถึง 38.12 -2.9 ถึง 1.13 และ 10.48 ถึง 12.53 ตามลำดับส่วนค่าความแน่นเนื้อที่วัดได้อยู่ในช่วง 2.11 kgf ถึง 2.96 kgf ค่าความเป็นกรด–ด่างและปริมาณกรดแลคติกอยู่ในช่วง 3.46 ถึง 4.94 และร้อยละ 0.27 ถึง 1.14 ตามลำดับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดและปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่พบอยู่ในช่วง 6.36 ถึง 8.61 log CFU/g. และ 7.62 ถึง 7.38 log CFU/g. ตามลำดับซึ่งกระบวนการดังกล่าวนี้สามารถลดระยะเวลาในการดองได้ 4 ถึง 5 วันเมื่อเปรียบเทียบกับผักกาดเขียวปลีดองที่ทำการผลิตโดยวิธีดั้งเดิมซึ่งระยะเวลาในการดองถึง 5 ถึง 7 วันและเมื่อนำผลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าค่า L* ค่า a* ค่าความเป็นกรด-ด่างปริมาณกรดแลคติกจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดและเชื้อแบคทีเรียแลคติกของผักกาดดองทั้ง 2 สิ่งทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) แต่อย่างไรก็ตามพบว่าค่า b* และค่าความแน่นเนื้อของผักกาดดองทั้ง 2 ไม่มีความแตกต่างกัน ($P>0.05$) เมื่อนำผักกาดเขียวปลีดองทั้ง 2 สิ่งทดลองมาทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสด้วยผู้ทดสอบชิมจำนวนทั้งสิ้น 50 คนพบว่าคะแนนด้านสีและความชอบรวมของสิ่งทดลองทั้ง 2 มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P<0.05$) ส่วนคะแนนด้านความชอบด้านกลิ่นรสเปรี้ยวและความกรอบไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P>0.05$) ดังนั้นจากผลการวิจัยในครั้งนี้จึงพบว่าการผลิตผักกาดเขียวปลีดองที่ทำการผลิตโดยใช้หัวเชื้อแบคทีเรียแลคติกในการหมักนั้นสามารถช่วยลดระยะเวลาในการหมักลงได้

อรุณวรรณ อินทร์ช่วยและคณะ(2554)ได้ศึกษาผลของการใช้เชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 และ *Lactobacillus salivarius* D4 เป็นกล้าเชื้อในผลิตภัณฑ์แหนมเนื้อโคแบ่งการทดลองออกเป็น 4 กลุ่มได้แก่แหนมกลุ่มควบคุม (ไม่เติมกล้าเชื้อ) แหนมที่เติมกล้าเชื้อทางการค้า (*Pacovis*RCI - 47) แหนมที่เติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR536 และแหนมที่เติมกล้าเชื้อ *Lb. salivarius* D4 ระยะเวลาการหมักแหนม 3 วันจากนั้นนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลาอีก 4 วันวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) สุ่มตัวอย่างวันที่ 0, 1, 2 และ 3 เพื่อตรวจหาเชื้อ Lactic acid bacteria (LAB) สุ่มตัวอย่างวันที่ 0 และ 3 เพื่อตรวจหาเชื้อ Yeast/Mold, Coliform, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella* spp. สำหรับปริมาณกรดทั้งหมดและค่า pH สุ่มตัวอย่างวันที่ 0 ถึงวันที่ 7 และการศึกษาค่าสี L*, a* และ b* สุ่มตัวอย่างวันที่ 3ของการหมักและวันที่ 4 ของการเก็บรักษา (วันที่ 7) ผลการศึกษาทางด้านจุลินทรีย์พบว่าจำนวน LAB ในวันที่ 0, 1และ 2 ของการหมักแหนมในกลุ่มควบคุมมีจำนวนต่ำสุดแต่ในวันที่ 3 พบว่าจำนวน LAB ไม่แตกต่างกันทุกกลุ่มการทดลองในขณะที่จำนวน Yeast/Mold ในทุกกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) แต่เมื่อหมักแหนม 3 วันพบว่ากลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 มีจำนวน Yeast/Mold ลดลงเหลือน้อยที่สุด ($P<0.05$) ส่วนจำนวน Coliform ในวันที่ 0 และ 3 ของการหมักแหนมพบว่าทุกกลุ่มการทดลองไม่

แตกต่างกัน (P>0.05) แต่พบว่าเมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้นทุกกลุ่มการทดลองมีแนวโน้มเชื้อ Coliform ลดลงอย่างไรก็ตามจำนวนเชื้อ *Salmonella* spp., *S. aureus* และ *E. coli* ในแหนมเนื้อโคตรวจไม่พบในทุกกลุ่มการทดลองผลทางด้านคุณภาพแหนมพบว่ากลุ่มควบคุมมีปริมาณกรดทั้งหมดต่ำสุดและมีค่า pH สูงสุด (P<0.05) การเติมกล้าเชื้อ *Lb. salivarius* D4 ทำให้ค่า pH ลดลงมากที่สุด (P<0.05) ส่วนค่า L* และ b* ที่ผิวสัมผัสด้านนอกของกลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Pacovis*RCI – 47 มีค่ามากกว่ากลุ่มอื่น

ปรมาภรณ์ เจ็ดวรรณะและคณะ (2554) ได้ศึกษาผลของการใช้กล้าเชื้อสายพันธ์ต่างๆได้แก่ *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis*P2 และ Sb2 ที่มีต่อคุณภาพและการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ในแหนมเนื้อโคโดยแบ่งออกเป็น 4กลุ่มทดลองได้แก่กลุ่มควบคุม (ไม่เติมกล้าเชื้อ) กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อทางการค้า (*Pacovis*RCI - 47) และกลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Lc. Lactis*subsp. *Lactis* P2 และ Sb2 ระยะเวลาการหมักแหนม 3 วันที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสจากนั้นนำมาเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลาอีก 4 วันวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ทำการศึกษาทางด้านจุลชีววิทยาโดยตรวจหา Coliform, *Escherichia coli*, Yeast/Mold, *Salmonella* spp. และ *Staphylococcus aureus* สุ่มเก็บตัวอย่างวันที่ 0 และ 3 ของระยะเวลาการหมักและแบคทีเรียกรดแลคติกสุ่มเก็บตัวอย่างทุกวันของการหมัก (วันที่ 0, 1, 2 และ 3) ส่วนการศึกษาทางด้านคุณภาพสุ่มเก็บตัวอย่างทุกวัน (วันที่0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 และ7) เพื่อทำการวิเคราะห์ค่าความเป็นกรดด่าง (pH) และปริมาณกรดทั้งหมด (Total acid) สำหรับการวัดค่าสีที่ผิวสัมผัสด้านนอก (L* a* และ b*) สุ่มเก็บตัวอย่างวันที่ 3 และ 7 ผลการทดลองพบว่าการใช้กล้าเชื้อมีผลต่อจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกโดยในวันที่ 0 ถึง 2 ของการผลิตกลุ่มควบคุมมีจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกน้อยที่สุดส่วนในวันที่ 3 ของการหมักพบว่า Yeast/Mold และ Coliform มีจำนวนลดลงนอกจากนี้ยังตรวจไม่พบ *E. coli*, *Salmonella* spp. และ *S. aureus* ในแหนมเนื้อโคทุกกลุ่มส่วนการศึกษาทางด้านคุณภาพในระหว่างกระบวนการหมักและการเก็บรักษาต่อที่อุณหภูมิแช่เย็นพบว่ากลุ่มควบคุมมีปริมาณกรดทั้งหมดต่ำสุดและมีค่า pH สูงสุด (P<0.05) ซึ่งการเติมกล้าเชื้อ *Lc. Lactis*subsp. *lactis* P2 ทำให้ค่า pH ลดลงมากที่สุดส่วนค่าสีที่ผิวสัมผัสด้านนอกของกลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Pacovis*RCI - 47 มีค่าความสว่าง (L*) และสีเหลือง (b*) มากกว่ากลุ่มอื่นในขณะที่กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Lc. Lactis* subsp. *Lactis* P2 และ Sb 2 มีค่าสีแดงสูงสุด (P<0.05)

นวรัตน์สุพิชญางกูรวรรณีจิรภาคย์กุลและอรอนงค์นัยวิกุล (ม.ป.ป) ได้ศึกษาแบคทีเรียกรดแลคติก3ชนิด ซึ่งคัดแยกจากข้าวหมักในการผลิตขนมจีนแป้งหมักทางการค้าได้แก่ *Lactobacillus* RE33, *Lactobacillus* PD110 และ *Leuconostoc* PD128 ใช้เป็นกล้าเชื้อสำหรับผลิตขนมจีนแป้งหมักโดยวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเคมีในขั้นตอนที่สำคัญของการผลิตขนมจีนได้แก่ค่าความเป็นกรด-เบสปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ปริมาณกรดแลคติกและกรดแอซีติกเปรียบเทียบกับกระบวนการผลิตขนมจีนแป้งหมักตามธรรมชาติซึ่งใช้เวลาหมักข้าว 48 ชั่วโมงพบว่าการหมักด้วยกล้า

เชื้อสามารถลดระยะเวลาหมักข้าวจาก 48 ชั่วโมงเป็น 24 ชั่วโมงได้เนื่องจากค่าความเป็นกรด-เบสที่ลดลงอย่างรวดเร็วจาก 6.7 เป็น 3.8-4.6 และการหมักด้วย *Lactobacillus* PD110 ให้ปริมาณกรดแลคติกใกล้เคียงกับการหมักตามธรรมชาติส่วนกระบวนการผลิตขนมจีนที่ระยะเวลาหมักข้าว 48 ชั่วโมงของการหมักด้วย *Lactobacillus* RE33 ในขั้นตอนแป้งทับน้ำและการหมักด้วย *Leuconostoc* PD128 ในขั้นตอนของข้าวหมักให้ปริมาณกรดแอซีติกสูงกว่าการหมักตามธรรมชาติมาก

กฤษณา ประภัสสรวัฒนา สาวิตรี วทัญญูไพศาลและจันทรพร ผลากรกุล (ม.ป.ป) ได้ทดลองผลิตไส้กรอกเปรี้ยว 4 สูตรโดยใช้หัวเชื้อบริสุทธิ์ *Lactobacillus plantarum* สายพันธุ์ (CP 2-11 และ 1-15) ที่สามารถสร้างสารแบคเทอริโอซินเพื่อยับยั้ง *Bacillus cereus* และ*Staphylococcus aureus* ได้พบว่าเมื่อหมักวันแรกค่าพีเอชของทั้ง 4 สูตรยังไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญแต่เมื่อหมักครบ 2 วันสูตรที่ 1 และสูตรที่ใส่หัวเชื้อ (สูตรที่ 3 และสูตรที่ 4) มีพีเอช 4.67,4.63 และ 4.67 ตามลำดับในขณะที่สูตรที่ใส่ไนไตรท์ (สูตรที่ 2) มีค่าพีเอช 4.83 นอกจากนี้สูตรที่ใส่หัวเชื้อ (สูตรที่ 3 และสูตรที่ 4) มีเปอร์เซ็นต์กรดสูงกว่าสูตรที่ไม่ใส่หัวเชื้อ (สูตรที่ 1 และสูตรที่ 2) อย่างชัดเจน สำหรับปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคที่ตรวจสอบTotal *Staphylococci, S. aureus*, *E. coli*และ Coliform ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$) ส่วนปริมาณเชื้อกลุ่ม Lactic acid bacteria (LAB) เพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้นและเริ่มคงที่ในวันที่ 2 โดยพบว่าไส้กรอกเปรี้ยวใส่หัวเชื้อ CP 2-11 (สูตรที่ 4) มีปริมาณเชื้อกลุ่ม LAB สูงสุดเมื่อเทียบกับไส้กรอกเปรี้ยวสูตรอื่นๆ

Berdague *et al*. (1993) ได้ศึกษาการใช้กล้าเชื้อหลายชนิดร่วมกันในการผลิตไส้กรอกที่ไม่มีการเติมเครื่องเทศ 30 วันการวิเคราะห์สารที่ทำให้เกิดองค์ประกอบในการทำให้เกิดรสชาติของผลิตภัณฑ์พบว่ามีถึง 80 ชนิดโดยสารดังกล่าวเกิดขึ้นจากกระบวนการหมักการออกซิเดชั่นของไขมันและการสลายตัวของกรดอะมิโนซึ่งผลการศึกษาสรุปได้ว่ากล้าเชื้อที่ใช้มีผลต่อปริมาณการสร้างสารที่เป็นองค์ประกอบของรสชาติในไส้กรอก

Vignolo *et al*. (1993) ได้ศึกษาถึงแบคทีเรียกรดแลคติก 100 สายพันธุ์ที่แยกได้จาก drycured sausage เมื่อนำมาทดสอบกิจกรรมในการต่อต้านจุลินทรีย์และเพื่อจัดกลุ่มของแบคทีเรียกรดแลคติกพบว่ามีจำนวน 52 สายพันธุ์เป็น *L .casei* และ 48 สายพันธุ์เป็น *L .plantarum* และจำนวน 3 ใน 48 สายพันธุ์ของ *L . plantarum* มีการสร้างบริเวณที่แสดงถึงการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์เกิดขึ้นซึ่งกิจกรรมในการยับยั้งเกิดจากการผลิตสารที่เรียกว่าแบคเทอริโอซิน

Helander *et al*. (1997) ได้กล่าวถึงสารที่แบคทีเรียกรดแลคติกสร้างขึ้นว่าเป็นสารประกอบที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำหลายชนิดได้แก่กรดอินทรีย์เอทธานอลคาร์บอนไดออกไซด์ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไดอะซิทิลและเมแทบอไลท์อื่นๆโดยเมแทบอไลท์หลายชนิดมีคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆที่ไม่ต้องการให้มีในผลิตภัณฑ์เช่นสารแบคเทอริโอซินซึ่งมีคุณสมบัติในการ

เป็น biopreservative ส่วนกรดแลคติกและกรดกรดแอซีติกมีผลในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้หลายชนิดผลของการยับยั้งเกิดจากการลดลงของค่าพีเอชที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการหมัก

Arihara *et al*. (1998) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการใช้แบคทีเรียกรดแลคติกชนิดที่เป็นโพรไบโอติกจำนวน 6 สายพันธุ์ด้วยกันคือ *Lactobacillus acidoplilus, L. crispatus, L. amylovorus, L. gallinarum, L. gasseri* และ *L. johnsonii* พบว่าการเติมกล้าเชื้อในการหมักเนื้อมีผลในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* สร้างกรดได้เร็วภายใน 48 ชั่วโมงสามารถเจริญได้ในสภาพที่มีองค์ประกอบของโซเดียมคลอไรด์ 3.3 เปอร์เซ็นต์และโซเดียมไนเทรต 200 ppm ซึ่งผลการศึกษาส่วนใหญ่แสดงให้เห็นว่ากล้าเชื้อดังกล่าวมีประโยชน์ต่อการหมักเนื้อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพที่ดี

Scannell *et al*. (2000) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการถนอมอาหารทางชีวภาพโดยใช้แบคเทอริโอซินที่ผลิตจาก *L. lactis* DPC3147 ที่แยกได้จากไส้กรอกหมูพบว่ามีผลในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคเช่นเดียวกับไนซินทำให้ไส้กรอกมีอายุนานขึ้นสารดังกล่าวเรียกว่าแลคติซินซึ่งสารชนิดนี้อาจได้รับการพิจารณาว่าสามารถใช้เป็นวัตถุเจือปนในอาหารได้เช่นเดียวกับไนซินนอกจากนั้นแบคทีเรียกรดแลคติกที่พบในผลิตภัณฑ์อาหารยังสร้างกรดได้อย่างรวดเร็วเป็นที่ยอมรับว่ามีความปลอดภัยดังนั้นการพัฒนาถึงวิธีการถนอมอาหารจึงได้มุ่งประเด็นไป ที่การเปลี่ยนแปลงกระบวนการหมักให้เป็นกระบวนการสร้างผลิตภัณฑ์ที่มีคุณสมบัติในการต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการเช่นการสร้างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และการสร้างสารแบคเทอริโอซินแบคทีเรียกรดแลคติกได้ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารหมักหลายชนิดและในสกุล Lactobacillus หลายสายพันธุ์มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติก เช่น *L. acidophilus* La5, *L. reuteri* SD2112, *L. casei* Shirota, *L. fermentum* KLD, *L. plantarum* 299v และ *L. rhamnosus* GG

5. แหล่งของกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารหมัก

เนื่องจากแบคทีเรียเป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กและพบได้ทั่วไปในตามธรรมชาติโดยเฉพาะแบคทีเรียกรดแลคติกที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการผลิตอาหารการแยกแบคทีเรียกรดแลคติกที่พบมากคือแยกจากอาหารที่เกี่ยวข้องกับแบคทีเรียดังกล่าวซึ่งส่วนใหญ่เป็นอาหารชนิดต่างๆที่มีรสเปรี้ยวเช่นผักและผลไม้ดองนมและผลิตภัณฑ์นมผลิตภัณฑ์ประมงเนื้อหมักและผลิตภัณฑ์เนื้อหมักซึ่งการศึกษาถึงการแยกเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกจากอาหารหมักชนิดต่างๆพอกล่าวได้ดังนี้

นวรัตน์ สุพิชญางกูร (2535) ได้ศึกษาถึงการแยกแบคทีเรียกรดแลคติกจากตัวอย่างไส้กรอกเปรี้ยวพบเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก 5 สายพันธุ์คือ *L. plantarum, L. salivarius* subsp. *salicinius, L. bulgaricus, P. pentosaceus* และ*P. acidilactici* ส่วนการศึกษาถึงการแยกเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกจากตัวอย่างแหนมด้วยวิธีการเดียวกันโดยปราณี (2535) แบคทีเรียกรดแลคติกที่พบได้แก่ *L. acidophilus, L. vinidescens, L. mensenteroides* subsp. *mensenteroides,*

L. mensenteroides subsp. *dextranicum, P. halophilus, P. pentosaceous* และ *Streptococcus lactis* ซึ่งผลการศึกษาดังกล่าวสอดคล้องกับการแยกเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักของต่างประเทศที่ศึกษาโดย Santos *et al*. (1998) โดยทำการศึกษาเปรียบเทียบแบคทีเรียกรดแลคติกที่แยกได้จาก chorizo ชนิดต่างๆผลการศึกษาพบว่าเชื้อที่แยกได้จำนวน 68.8 เปอร์เซ็นต์เป็น *L. sake* จำนวน 16.4 เปอร์เซ็นต์เป็น *L. curvatus* และจำนวน 6.2 เปอร์เซ็นต์เป็น *Pediococcus* sp.

วิศัย พรหมเทพ (2555) ได้ศึกษาและทำการแยกเชื้อแบคทีเรียสร้างกรดแลคติกจากอาหารหมัก 6 ตัวอย่าง โดยใช้อาหาร MRS + 1% $CaCO_3$ได้เชื้อแบคทีเรียทั้งสิ้น 52 ไอโซเลท โดยศึกษาจากลักษณะรูปร่างและสัณฐานวิทยาเมื่อนำไปศึกษาคุณสมบัติความเป็นโปรไบโอติก พบเชื้อแบคทีเรียตัวอย่างที่เหมาะสมต่อการพัฒนาเป็นจุลินทรีย์โปรไบโอติกที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดคือ ไอโซเลท ประตูI11 โดยสามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะที่มีเกลือน้ำดี 3 เปอร์เซ็นต์ ทนต่อสภาวะเป็นกรด pH 2 และมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคปลาได้ โดยสามารถยับยั้งก่อโรค *Aeromonas hydrophila*และเมื่อนำแบคทีเรียสร้างกรดแลคติกไอโซเลท ประตูI11 ไปจัดจำแนกในระดับสกุล พบว่าเป็น *Lactobacillus* sp. ในการศึกษาถึงผลของการเสริม *Lactobacillus* sp. (ประตู I11) ในปลาดุกต่อสมรรถภาพด้านการผลิต เช่น น้ำหนักตัวปลาและน้ำหนักมีชีวิต พบว่า การเสริมอาหารด้วย *Lactobacillus* sp. (ประตู I11) ทำให้สมรรถภาพด้านน้ำหนักตัวปลาและน้ำหนักมีชีวิตเพิ่มขึ้น ดังนั้นเพื่อเพิ่มสมรรถภาพการผลิตปลาดุกให้ดีขึ้นจึง ควรเสริมอาหารด้วย *Lactobacillus* sp. (ประตู I11)

Tanasupawat and Daengsubha (1983) ได้ศึกษาการแยกเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกในกลุ่มของ *Pediococcus* spp. จากอาหารหมักของประเทศไทยและพบว่าในผลิตภัณฑ์ประเภทเนื้อหมักพบเชื้อกลุ่มนี้ในตัวอย่างแหนมและไส้กรอกเปรี้ยวเป็นส่วนใหญ่

6.แบคทีเรียที่เป็นดัชนีชี้วัดคุณภาพทางจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์ส้มเท้าวัวตามประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เรื่องเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร (2553)

6.1 *Bacillus cereus* (*B. cereus*)

B. cereus เป็นแบคทีเรียมีรูปร่างท่อนขนาด 0.3–2.2 x 1.2– 7.0 ไมโครเมตรมักสร้างสารพิษเมื่ออยู่ในสภาพที่มีออกซิเจนน้อย (กระทรวงสาธารณสุข, 2553) โรคอาหารเป็นพิษที่เกิดจากแบคทีเรียชนิดนี้เรียกว่า Chinese restaurant syndrome เนื่องจากพบผู้ป่วยโรคนี้ครั้งแรกจากผู้ที่รับประทานอาหารจีน (สาวิตรี วทัญญูไพศาล, 2552)

ภาพ 2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา *B. cereus* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์
(ที่มา :Food safety counsel, 2013)

ชนิดของการเกิดโรคก่อให้เกิดสารพิษ (สาเหตุเกิดจากแบคทีเรียผลิตสารพิษในขณะที่เจริญในอาหารก่อนที่เราจะบริโภคเข้าไป)

ระยะฟักตัว2-15 ชั่วโมงหรืออยู่ในช่วง 6-24 ชั่งโมง

อาการอาเจียนปวดท้องบางรายท้องร่วง

ธรรมชาติของแบคทีเรียพบได้ในดินและในน้ำ

การเข้าถึงของแบคทีเรียในอาหารสปอร์ของ*B. cereus*จะพบเห็นได้บ่อยในธัญพืชโดยเฉพาะข้าวแป้งข้าวโพดและในเครื่องปรุงรส

การทำลายแบคทีเรียสปอร์ของ*B. cereus*ทำลายด้วยความร้อนได้ยากและจะมีชีวิตรอดได้ดีที่สุดเมื่ออยู่ในกระบวนการปรุงอาหารสปอร์จะไม่เพิ่มจำนวนแต่ถ้าอาหารเย็นหรืออุ่นๆ (ระหว่าง 15-50°C) จะมีการเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว

วิธีการป้องกัน

1. ควบคุมการงอกของสปอร์ในอาหารที่มีความเสี่ยงเช่นไม่ควรหุงข้าวคราวละมากๆ (สาวิตรี วทัญญูไพศาล, 2552)

2. ถ้าต้องการอุ่นอาหารอีกครั้งต้องอุ่นและเสิร์ฟอาหารทันทีไม่ควรอุ่นข้าวและเนื้อสัตว์มากกว่า 1 ครั้ง

6.2 Clostridium perfringens (C. perfringens)

เป็นแบคทีเรียแกรมบวกมีรูปร่างท่อนสามารถสร้างสปอร์ได้เมื่ออยู่ในสภาวะที่ไม่เหมาะสมเป็นแบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจนและเจริญได้ดีที่สุดในสภาวะที่ปราศจากออกซิเจนพบทั่วไปในธรรมชาติเกี่ยวข้องกับอาหารแบ่งออกเป็น 5 ชนิดที่แตกต่างกัน (A-E) โดยชนิด A และ C สามารถผลิต Enterotoxin ที่เกี่ยวข้องกับกระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบในมนุษย์แต่ชนิด A เป็นสาเหตุให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (Trickett *et al*., 1978) ซึ่งพบประมาณ 15-25% และเป็นแบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจนในการเจริญ (Moore *et al*.,1999) พบได้ทั่วไปในอาหารเช่นเนื้อวัวไก่ปรุงสุกกะปิน้ำพริกต่างๆอาการมักรุนแรงในผู้สูงอายุหรือผู้ที่มีอาการป่วยอยู่

ภาพ 3ลักษณะทางสัณฐานวิทยา *C. perfringens* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์
(ที่มา :Food safety counsel, 2013)

ระยะฟักตัว8-22 ชั่วโมงหรืออยู่ในช่วง 12-48 ชั่วโมง

อาการปวดท้องและท้องร่วงอาเจียนเป็นบางครั้ง

ธรรมชาติของแบคทีเรีย *C. perfringens* มักพบในดินฝุ่นละอองและระบบทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์ (Wagner *et al.,* 2010) โดยมีพาหะนำโรคคือแมลงวันและแมลงวันหัวเขียว

การเข้าถึงของแบคทีเรียในอาหาร

1. เนื้อเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดอาหารเป็นพิษแบคทีเรียจากเนื้อดิบสามารถเคลื่อนย้ายไปยังอาหารได้จากการเตรียมเครื่องมืออุปกรณ์ที่ไม่สะอาด

2. เกิดจากผักที่มีดินหรือฝุ่นละอองปนเปื้อนจากถุงหรือบรรจุภัณฑ์

3. ผู้ประกอบอาหารจะเป็นพาหะในการนำ *C. perfringens* จากลำไส้แพร่กระจายไปยังอาหารถ้ามือไม่สะอาดหรือหลังจากเข้าห้องน้ำ

การทำลาย

สปอร์ของ *C. perfringens* ไม่สามารถทำลายได้จากการปรุงอาหารโดยทั่วไปเพราะมันสามารถทนต่อความร้อนและไอน้ำได้การทอดน้ำมันเป็นเวลา 5 ชั่วโมงขึ้นไปสปอร์จะไม่เพิ่มจำนวนแต่ถ้าอาหารนั้นเย็นลง (15-50°C) จะมีการผลิตสปอร์เพิ่มขึ้นการใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 30-60 นาทีสามารถทำลายสปอร์ได้ร้อยละ 90 (จุรีภรณ์ บุญยวงศ์วิโรจน์, 2537)

วิธีการป้องกัน

1. แยกพื้นที่เครื่องมือและพื้นที่ในการเตรียมอาหารดิบและอาหารที่ปรุงแล้ว

2. ทำความสะอาดอุปกรณ์ทั้งหมดหลังจากใช้เสร็จทุกครั้ง

3. ล้างมือก่อนและหลังทำอาหารโดยเฉพาะหลังจากที่จับเนื้อดิบและผักที่ยังไม่ได้ล้าง

4. การอุ่นอาหารต้องอุ่นให้ทั่วถึงแล้วรับประทานทันทีไม่ควรอุ่นอาหารมากกว่า 1 ครั้ง

6.3 *Escherichia coli* (*E. coli*)

เป็นแบคทีเรียแกรมลบมีรูปร่างท่อนสามารถพบได้ในลำไส้ของเด็กผู้ใหญ่และสัตว์เลือดอุ่นเกือบทุกชนิด (ศุภชัยเนื้อนวลสุวรรณ, 2549) เป็นดัชนีในการบ่งบอกการปนเปื้อนของอุจจาระจากสัตว์เลือดอุ่นสายพันธุ์ที่ให้เกิดโรคมี 4 สายพันธุ์ต่างกันที่ serotype และความรุนแรงของโรคมีดังนี้

6.3.1 Enteropathogenic *E. coli* (EPEC) (Infantile enteritis) การเกิดโรคเกี่ยวข้องกับพลาสมิด (plasmid) มีอาการปวดท้องท้องเดินและมีไข้

6.3.2 Enteroinvastive *E. coli* (EIEC) มีสารพันธุกรรมใกล้เคียงกับ Shigella มีอาการปวดท้องท้องเดินอาจมีเลือดปนและมีไข้

6.3.3 Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) (traveler diarrhea) มักทำให้เกิดโรคกับทารกระยะฟักตัวสร้างสารพิษชนิดที่ไม่ทนความร้อน (heat labile enterotoxin :LT) และทนความร้อน (heat stable enterotoxin : ST) (ศุภชัย เนื้อนวลสุวรรณ, 2549) และ CFA antigen

6.3.4 Enterohaemoragic *E. coli* (EHEC) สายพันธุ์ที่สำคัญคือ O157:H7 สร้างสารพิษทำให้เลือดออกในลำไส้ใหญ่

ภาพ 4 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา *E. coli*ภายใต้กล้องจุลทรรศน์
(ที่มา :Food safety counsel, 2013)

ระยะฟักตัว 6-49 ชั่วโมง

อาการปวดท้องท้องเดินคลื่นไส้อาเจียนมักไม่มีไข้

แหล่งที่พบลำไส้เล็กตอนปลายและลำไส้ใหญ่ของสัตว์เลือดอุ่นการแพร่กระจายเกิดจากเชื้อปนเปื้อนมากับอุจจาระแล้วแพร่ไปกับดินและน้ำ

อาหารที่พบอาหารประเภทเนื้อสัตว์ที่ให้ความร้อนไม่เพียงพอน้ำนมดิบเนยแข็งอาหารที่มีการปนเปื้อนของสิ่งขับถ่ายน้ำที่ผ่านการบำบัดไม่ดีและนำมาใช้ล้างวัตถุดิบ

วิธีการป้องกัน

1. มีสุขาภิบาลน้ำใช้ที่ดี
2. กำจัดขยะและเศษอาหารเพื่อป้องกันแมลงและสัตว์แทะมิให้เป็นสื่อแพร่เชื้อ
3. รับประทานอาหารที่ปรุงสุกด้วยความร้อนอย่างทั่วถึงและเพียงพอ

6.4 *Salmonella* spp.

เป็นแบคทีเรียแกรมลบมีรูปร่างท่อนเล็กๆเจริญในสภาวะที่มีหรือไม่มีออกซิเจนก็ได้ (facultative anaerobe) ไม่สร้างสปอร์ไม่มีการหมักน้ำตาลแลกโตสและเคลื่อนที่โดยใช้แฟลกเจลลา (flagella)โรคที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ *Salmonella* spp. เรียกว่า *Salmonellosis* (โรคซัลโมเนลโลซิส) พบว่ามีการเกิดโรคอาหารเป็นพิษที่มีสาเหตุมาจาก *Salmonella* spp. มากกว่าแบคทีเรียชนิดอื่นๆ (ประมาณ 70-80%) ผู้ที่ได้รับความรุนแรงจากการติดเชื้อ *Salmonella* spp. มีประมาณ 20-40 ราย ต่อปีโดยพบมากในผู้สูงอายุเด็กทารกและผู้ป่วย

ภาพ 5 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา *Salmonella* spp.ภายใต้กล้องจุลทรรศน์
(ที่มา :Food safety counsel, 2013)

ชนิดของโรคเกิดจากการติดเชื้อ (เกิดจากการบริโภคอาหารที่มีแบคทีเรียชนิดนี้เข้าไป)

ระยะฟักตัว12-36 ชั่วโมงหรืออยู่ในช่วง 1-8 วัน

อาการเป็นไข้ปวดหัวปวดท้องท้องร่วงและอาเจียนผลที่ตามมาได้แก่ข้ออักเสบโลหิตเป็นพิษถุงน้ำดีอักเสบเส้นเลือดแดงอักเสบ (ภาวิน ผดุงทศ, 2547)

ธรรมชาติของแบคทีเรียมักพบที่ระบบทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์อาหารโปรตีนสูงเช่นเนื้อสัตว์สัตว์ปีกปลาและไข่ (Wagner *et al*., 2010) รวมไปถึงในน้ำดินและในห้องครัว

การเข้าถึงของแบคทีเรียในอาหาร

1. เกิดจากการนำอาหารดิบเช่นเนื้อสัตว์สัตว์ปีกไส้กรอกซึ่งมีการปนเปื้อนของเชื้อนี้เข้ามาในครัว

2. แมลงและนกสัตว์ขนาดเล็กและสัตว์เลี้ยงในบ้านสามารถแพร่กระจายเชื้อ *Salmonella* spp. เข้าไปในอาหารได้หากมีเชื้อนี้อยู่ในครัว

3. ผู้ประกอบอาหารสามารถแพร่เชื้อสู่อาหารได้ถ้าไม่ได้ล้างมือหลังเข้าห้องน้ำ

การทำลายแบคทีเรีย

Salmonella spp. สามารถฆ่าได้โดยใช้ความร้อนเนื่องจากไม่สร้างสปอร์โดยเริ่มถูกทำลายที่อุณหภูมิ 70°C (ศุภชัย เนื้อนวลสุวรรณ, 2549) หรือแช่อาหารในตู้เย็นให้อยู่ภายใต้อุณหภูมิ 4°C (Wagner *et al*., 2010)

วิธีการป้องกัน

1. รับประทานอาหารในขณะที่ยังร้อนอยู่ (กระทรวงสาธารณสุข, 2553)

2. การประกอบอาหารต้องมั่นใจว่ามีอุณหภูมิสูงพอที่จะฆ่าแบคทีเรียได้

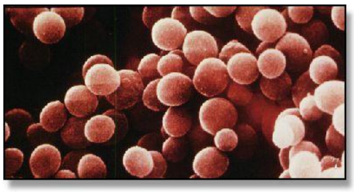
3. ใช้พื้นที่และอุปกรณ์ที่แตกต่างกันเช่นเขียงหั่นมีดเป็นต้นในการเตรียมอาหารดิบและอาหารที่ปรุงแล้ว

4. ทำความสะอาดอุปกรณ์ทั้งหมดหลังจากใช้เสร็จแล้ว

5. ล้างมือก่อนและหลังสัมผัสอาหาร

6.5 *Staphylococcus aureus*

เป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปร่างกลมชอบอยู่รวมกันเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่นเจริญได้ทั้งในที่มีและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) พบว่าประมาณ 5% ของการเกิดโรคอาหารเป็นพิษโดยทั่วไปเชื้อนี้สามารถเจริญได้เมื่ออยู่ที่อุณหภูมิระหว่าง 7-48°C และจะผลิตสารพิษเมื่ออยู่ที่อุณหภูมิระหว่าง 20-37 °C (Moore *et al*.,1999) โรคอาหารเป็นพิษที่เกิดจากแบคทีเรียสกุลนี้เรียกว่า staphyloenterotoxicosis หรือ staphyloenterotoxemia



ภาพ 6 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา *Staphylococcus aureus* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์
(ที่มา :Food safety counsel, 2013)

ชนิดของโรคก่อให้เกิดสารพิษ (สาเหตุเกิดจากแบคทีเรียผลิตสารพิษในขณะที่เจริญในอาหารก่อนที่เราจะบริโภคเข้าไป)

ระยะฟักตัว 2-6 ชั่วโมงหรืออยู่ในช่วง 6-24 ชั่งโมง

อาการอาเจียนปวดท้องท้องร่วง

ธรรมชาติของแบคทีเรียพบได้ในจมูกคอและมือของมนุษย์มีจำนวนมากบริเวณ septic cuts บริเวณรอยขีดข่วนฝีและตากุ้งยิงมักอาศัยอยู่รวมกันพบในนมที่ไม่ผ่านการพาสเจอร์ไลส์ *S. aureus* เจริญในสภาวะที่มีความเข้มข้นของเกลือได้ดีกว่าแบคทีเรียชนิดอื่นและสามารถเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็วเมื่อทิ้งอาหารไว้ที่อุณหภูมิห้อง (จุรีภรณ์ บุญยวงศ์วิโรจน์, 2537)

การเข้าถึงของแบคทีเรียในอาหาร

1. ผู้ที่ประกอบอาหารจามหรือไอใส่อาหารหรือผู้ที่มีรอยขีดข่วนฝีตากุ้งยิงโดยที่ไม่มีการปกปิดเป็นต้น

2. เกิดจากนมและผลิตภัณฑ์ที่ทำจากนมที่ไม่ยังผ่านการพาสเจอร์ไลส์

การทำลายแบคทีเรีย

S. aureus สามารถฆ่าให้ตายได้โดยใช้ความร้อนแต่สารพิษที่สร้างในอาหารจะมีชีวิตรอดในน้ำร้อนได้ถึง 30 นาทีโดย *S. aureus* จะถูกทำลายที่ความร้อน 66 $^{\circ}$C นาน 12 นาทีหรือ 60 $^{\circ}$C นาน 83 นาทีการทนความร้อนของเชื้อจะแตกต่างกันไปตามชนิดของอาหารและสายพันธุ์ (มหาวิทยาลัยทักษิณ, 2553)

วิธีการป้องกัน

1. ต้องรักษาสุขลักษณะของตนเองให้สะอาดปลอดภัยในขณะประกอบอาหาร (Wagner *et al.*,2010)

2. รักษาอาหารดิบและอาหารที่ปรุงแล้วในตู้เย็นเพื่อป้องกันการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรีย