# บทที่ 2
# วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

## 1. จุลินทรีย์กับอาหาร

จุลินทรีย์เป็นสิ่งมีชีวิตที่มีความสำคัญมีบทบาทเป็นผู้ย่อยสลาย (decomposer) ในระบบนิเวศน์ ส่วนในอาหาร จะมีบทบาทแตกต่างกันไปตามชนิดของจุลินทรีย์และสภาวะของอาหารที่จุลินทรีย์อาศัยอยู่ จุลินทรีย์ในอาหารสามารถแบ่งออกตามบทบาทได้ 3 ประเภทดังนี้

### 1.1 จุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเสื่อมเสีย (spoilage microorganism)

หมายถึง จุลินทรีย์ที่เมื่อเข้าไปอยู่ในระบบอาหารแล้วสามารถเจริญเติบโตและผลิตสารบางชนิดออกมาส่งผลให้อาหารเน่าเสีย หรือมีลักษณะเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

### 1.2 จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค (pathogenic microorganism)

หมายถึง จุลินทรีย์ที่เมื่อเข้าสู่ร่างกายสามารถทำให้เกิดอาการเจ็บป่วยได้ เช่น *E. coli* O157:H7, *Vibrio cholera*, *Salmonella* sp. และ *Shigella* sp. เป็นต้น (Klaenhammer, 2001) เมื่อรับประทานอาหารที่มีเชื้อดังกล่าวเข้าไปจะทำให้ร่างกายเกิดโรคได้ ขึ้นกับชนิดของจุลินทรีย์

### 1.3 จุลินทรีย์ที่ใช้ผลิตอาหาร (food producing microorganism)

หมายถึงจุลินทรีย์ที่สามารถนำมาใช้ในการผลิตอาหารได้ เช่น โยเกิร์ต ไวน์ เบียร์ ขนมปัง หรืออาหารหมักดอง เป็นต้น ซึ่งจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้บางชนิดจัดเป็นโปรไบโอติก ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย

## 2. โปรไบโอติก

### 2.1 ความหมายของโปรไบโอติก

โปรไบโอติก (Probiotics) หรือสารเสริมชีวนะ หมายถึงจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อร่างกายใช้เป็นอาหารโดยตรงหรือใช้เสริมในอาหารสำหรับมนุษย์และสัตว์ (เยาวพา บุญปู่, ม.ป.ป.) เป็นจุลินทรีย์ที่ไม่ทำให้เกิดโรค และหลายชนิดถูกนำมาใช้ผลิตอาหาร

คำว่าโปรไบโอติกมาจากภาษากรีกหมายถึง "เพื่อชีวิต" (วิเชียร ลีลาวัชรมาศ, 2541ก; Klaenhammer, 2001) โปรไบโอติกมีการบริโภคมาตั้งแต่ยุคโบราณ โปรไบโอติกชนิดแรกของโลกที่พบหลักฐานได้แก่นมหมักของชาวสุมาเรียนซึ่งมีการบริโภคกันมาก่อนคริสตกาลถึง 2500 ปี จากหลักฐานภาพวาดฝาผนังก่อนประวัติศาสตร์ของชาวสุมาเรียน โดยในภาพได้แสดงถึงวิธีการผลิตนมหมัก (Kroger et al., 1989 cited in Fuller, 1992)

ต้นศตวรรษที่ 20 มีกลุ่มนักวิทยาศาสตร์ได้ศึกษาแบคทีเรียที่ใช้ในการหมักนมของชาวบัลกาเรียนและเรียกเป็นชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Bacillus bulgaricus* ซึ่งต่อมาคือ *Lactobacillus bulgaricus* (วิเชียร ลีลาวัชรมาศ, 2541ก)

Metchnikoff ผู้ได้รับรางวัลโนเบลสาขาแพทยศาสตร์ในปี 1908 เชื่อว่าการบริโภคนมหมักจะทำให้อายุยืนเนื่องจากมีแบคทีเรียที่ทำให้สุขภาพดี ทำให้ผู้บริโภคมีภูมิต้านทานโดยการปรับสมดุลจุลินทรีย์ในระบบย่อยอาหาร ทำให้เกิดการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อโรคได้ และการให้ทารกดื่มนมจากมารดาจะช่วยเพิ่มบทบาทของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในลำไส้ของเด็ก จุลินทรีย์ดังกล่าวได้แก่ *Lactobacillus* sp. และ *Bifidobacterium* sp. เมื่อ

นำเชื้อดังกล่าวมาหมักนม เชื้อจะผลิตกรดแลกติกเป็นหลักและไม่ทำให้อาหารเสื่อมเสียหรือผลิตสารพิษ โดย Metchnikoff ได้อ้างถึงชาวบัลกาเรียน ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีว่าเป็นชนชาติที่มีสุขภาพดีและมีอายุยืนยาวเนื่องจากการบริโภคนมหมักเป็นประจำนั่นเอง ต่อมาได้มีการทดลองพบว่าจุลินทรีย์จากลำไส้สามารถผลิตนมหมักและทำให้ผู้บริโภคมีอายุที่ยืนยาวได้ นมหมักจึงเป็นที่นิยมบริโภคในยุโรปในเวลาต่อมา สถาบันปาสเตอร์ได้สนับสนุนการผลิตโยเกิร์ตโดยใช้ Bulgarian *Lactobacillus* sp. เป็นเชื้อที่ใช้หมักและเรียกผลิตภัณฑ์นี้ว่า Le Ferment (วิเชียร ลีลาวัชรมาศ, 2541ก; Klaenhammer, 2001)

ในช่วงหลังสงครามโลกครั้งที่ 2 นักวิทยาศาสตร์ได้ทดลองหมักนมโดยใช้ *Lactobacillus acidophilus* โดยเชื่อว่าจุลินทรีย์ดังกล่าวจะผลิตสารที่เป็นประโยชน์และสามารถป้องกันโรคได้ แต่หากร่างกายมีจุลินทรีย์ในระดับที่สมดุลก็สามารถต้านทานกับโรคได้โดยไม่จำเป็นต้องใช้โปรไบโอติก แต่ในปัจจุบันอาหารการกิน การใช้สารเคมี การใช้ยาปฏิชีวนะอย่างพร่ำเพรื่อ และความเครียดมีผลให้จุลินทรีย์ในร่างกายเกิดความไม่สมดุลความต้องการโปรไบโอติกในคนและสัตว์จึงมีความจำเป็นมากขึ้น (วิเชียร ลีลาวัชรมาศ, 2541ก)

## 2.2 จุลินทรีย์ที่ใช้เป็นโปรไบโอติก

จุลินทรีย์ที่ใช้เป็นโปรไบโอติกมีหลายชนิด ทั้งแบคทีเรีย ยีสต์ และรา และแต่ละชนิดมีหลายสายพันธุ์ที่สามารถนำมาใช้เป็นโปรไบโอติกได้ ได้แก่

### 2.2.1 แบคทีเรีย

ส่วนมากจะเป็นแบคทีเรียแลคติก (วิเชียร ลีลาวัชรมาศ, 2541ก) ได้แก่

(1) จีนัส *Lactobacillus* เช่น *Lactobacillus acidophilus* และ *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus kefir* และ *Carnobacterium* เป็นต้น

(2) จีนัส *Leuconostoc* ได้แก่ *Leuconostoc mesenteroides*, *Leu. plantarum* เป็นต้น

(3) จีนัส *Pediococcus* ได้แก่ *Pediococcus pentosaceus*, *P. halophilus* หรืออีกชื่อหนึ่งคือ *Tetragenococcus halophilus* เป็นต้น

(4) จีนัส *Streptococcus* ปัจจุบันแบ่งเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม Enterococci เช่น *Enterococcus faecium* M74 และ SF68 กลุ่ม Lactococci เช่น *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* และกลุ่ม Streptococci เช่น *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* เป็นต้น

(5) จีนัส *Bifidobacterium* เช่น *Bifidobacterium adolescentis*, *B. animalis*, *B. bifidum*, *B. infantis*, *B. longum*, *B. thermophilum*

(6) จีนัส Propionibacterium ได้แก่ *Propionibacterium freudenreichii*

### 2.2.2 ยีสต์

ยีสต์ที่นำมาใช้ได้แก่ *Saccharomyces cereviceae*, *Candida pintolopesii (Torulopsis bovina)*

### 2.2.3 รา

ราที่นำมาใช้เป็นโปรไบโอติกได้ ได้แก่ *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*

## 2.3 การเลือกจุลินทรีย์มาใช้เป็นโปรไบโอติก

จุลินทรีย์ที่จะนำมาใช้เป็นโปรไบโอติกควรมีคุณสมบัติดังนี้ (ธนาคาร นะศรี, จิรศักดิ์ ตั้งตรงไพโรจน์, 2536; สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545; Goldin, Gorbach, 1992; Nousiainen, Setälä, 1993; Kalantzopoulos, 1997)

1. ต้องเป็นจุลินทรีย์ที่มีความปลอดภัย (Generally Regarded As Safe: GRAS) ต่อมนุษย์และสัตว์
2. อาศัยอยู่เป็นปกติในลำไส้ เพิ่มจำนวนได้ง่าย และมีอัตราการเจริญสูง
3. มีความคงทนระหว่างกระบวนการผลิต เช่น การทำแห้งแบบแช่แข็ง การใช้ความร้อน หรือ การใช้ความดันสูง เป็นต้น รวมทั้งทนสารที่ใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาหาร และมีชีวิตรอดระหว่างการเก็บรักษา
4. สามารถเหลือรอด และเพิ่มจำนวนภายในลำไส้ สามารถปกป้องร่างกายจากจุลินทรีย์ก่อโรคและป้องกันโรคทางเดินอาหารได้
5. ไม่ก่อโรค ไม่สร้างสารพิษและสารก่อมะเร็ง และไม่จู่โจมเนื้อเยื่อลำไส้
6. มีความคงตัวทางพันธุกรรม คือไม่กลายพันธุ์ง่าย และประสิทธิภาพไม่ลดลงแม้จะมีจุลินทรีย์ที่ก่อโรคอยู่ด้วย รวมทั้งไม่มีสมบัติในการถ่ายทอดพันธุกรรมการต้านยา โดยเฉพาะกับจุลินทรีย์ที่ก่อโรค
7. สามารถย่อยน้ำตาลแลกโทส และผลิตสารที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น วิตามินต่างๆ และย่อยสารที่ก่อผลเสียต่อร่างกายได้
8. สามารถป้องกันมะเร็งได้ทั้งทางตรงและทางอ้อม โดยทางตรงได้แก่การกำจัดเซลล์มะเร็งหรือเซลล์ที่จะกลายเป็นมะเร็ง และทางอ้อมโดยการไปลดกิจกรรมของเอนไซม์ที่จะก่อให้เกิดสารก่อมะเร็ง เช่น azoreductase, β-glucuronidase, nitroreductase, β-glucosidase และ nitrate reductase เป็นต้น และกระตุ้นภูมิคุ้มกันของร่างกายในการต้านไวรัสและต้านการเพิ่มจำนวนของเซลล์แปลกปลอม
9. กรณีที่ใช้โปรไบโอติกเป็นเชื้อเริ่มต้นในอาหารหมัก ควรให้ผลิตภัณฑ์ที่มีกลิ่นรสและเนื้อสัมผัสที่ผู้บริโภคยอมรับ
10. สามารถผลิตสารยับยั้งจุลินทรีย์ได้ เช่น กรดอินทรีย์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ไดอะเซทิล หรือแบคเทอริโอซินส์ เป็นต้น

การคัดเลือกจุลินทรีย์มาใช้เป็นโปรไบโอติกนั้นไม่มีข้อกำหนดตายตัว วัตถุประสงค์ในการใช้จะเป็นข้อกำหนดในการพิจารณา ถ้าใช้เป็นอาหารควรคำนึงถึงความปลอดภัย การเหลือรอดในลำไส้ ความสามารถในการป้องกันโรค และคงทนต่อกระบวนการผลิตอาหาร อย่างไรก็ตามจุลินทรีย์ที่จะนำมาใช้เป็นโปรไบโอติกควรมีคุณสมบัติพื้นฐานคือ มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค ป้องกันโรค และให้ประโยชน์กับร่างกายได้

## 2.4 ประโยชน์ของโปรไบโอติกที่มีต่อร่างกาย

มนุษย์มีการบริโภคโปรไบโอติกมาเป็นเวลานานในรูปของผลิตภัณฑ์นมหมักชนิดต่างๆ และปัจจุบันก็ได้มีการเสริมโปรไบโอติกในผลิตภัณฑ์อื่นด้วย เช่น นมผง หรือน้ำผลไม้ เป็นต้น เมื่อมนุษย์และสัตว์ได้รับโปรไบโอติกเข้าไปจะทำให้ร่างกายได้รับผลดีหลายประการดังนี้

### 2.4.1 ให้คุณค่าทางโภชนาการ

โปรไบโอติกจะผลิตเอนไซม์หลายชนิดออกมาระหว่างการหมักนม เอนไซม์ดังกล่าวจะช่วยย่อยสารอาหารในนม ทำให้โมเลกุลของอาหารเล็กลง ร่างกายจึงสามารถนำเอาสารอาหารไปใช้ได้เต็มที่ ซึ่งเป็นการช่วยการทำงานของระบบย่อยอาหาร ทำให้สามารถย่อยอาหารและดูดซึมอาหารไปใช้ได้มากขึ้น และยังช่วยเพิ่มการหลั่งเอนไซม์ในกระเพาะอาหารและดับอ่อน ช่วยให้ระบบย่อยอาหารดีขึ้นและผลิตสารที่เป็นประโยชน์ระหว่างการหมักทั้งวิตามินและกรดอะมิโนบางชนิด (Kalantzopoulos, 1997) เช่น วิตามินบี ไพโรดอกซิล

ไรโบฟลาวิน ไทอามีน กรดนิโคตินิค กรดโฟลิก กรดเพนโทเทนิก และไบโอติน เป็นต้น ซึ่งเป็นการช่วยให้ร่างกายได้รับสารอาหารเพิ่มขึ้น (วิเชียร ลีลาวัชรมาศ, 2542ข)

**2.4.2 ปรับปรุงการย่อยสลายแลกโทส**

แลกโทสเป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่ที่มีอยู่ในน้ำนม ปกติจะอาศัยเอนไซม์แลกเทสในลำไส้เล็กเป็นตัวย่อยแต่เนื่องจากในปัจจุบันพบว่าประชากรของโลกส่วนใหญ่ขาดเอนไซม์ชนิดนี้ตั้งแต่อายุ 10-20 ปีขึ้นไป เมื่อดื่มนมจึงทำให้ท้องเสีย (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545) แต่แบคทีเรียแลกติกสามารถย่อยน้ำตาลแลกโทสได้ คนที่ไม่สามารถดื่มนมสดได้จึงสามารถรับประทานนมได้ในรูปของนมซึ่งหมักโดยแบคทีเรียแลกติก นอกจากมีปริมาณน้ำตาลแลกโทสน้อยลงแล้วยังได้รับเอนไซม์ β-galactosidase จากแบคทีเรียแลกติกที่รอดชีวิตผ่านมาถึงลำไส้ ช่วยย่อยน้ำตาลแลกโทสที่เหลือ ทำให้ร่างกายสามารถนำน้ำตาลแลกโทสไปใช้ประโยชน์ได้มากขึ้น และช่วยลดอาการท้องร่วงได้ (ธนาคาร นะศรี, จิรศักดิ์ ตั้งตรงไพโรจน์, 2536; สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545)

**2.4.3 ปรับสมดุลจุลินทรีย์ในลำไส้และยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค**

โปรไบโอติกสามารถปรับสมดุลจุลินทรีย์ในลำไส้ให้อยู่ในระดับที่สมดุล เพื่อไม่ให้ร่างกายเจ็บป่วย ซึ่งการปรับสมดุลดังกล่าวทำได้โดยการแข่งขันการใช้สารอาหาร และผลิตสารต่างๆ ที่มีผลในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียชนิดอื่น เช่น กรดแลกติก ส่งผลให้ความเป็นกรด-ด่างลดลง (Kalantzopoulos, 1997) มีผลต่อจุลินทรีย์บางชนิด นอกจากนี้ยังมีกรดอินทรีย์ชนิดอื่น เช่น กรดอะซิติก กรดเบนโซอิก กรดโพรพิโอนิก กรดฟอร์มิก กรดบิวทีริก กรดออกทาโนอิก และกรดเฮกซาโนอิก เป็นต้น (Mossel et al., 1995) กรดเหล่านี้แม้จะผลิตออกมาน้อยแต่มีความว่องไวมากในการยับยั้งจุลินทรีย์ในสภาวะกรด (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545)

แบคทีเรียที่ผลิตกรดชนิดอื่นนอกจากกรดแลกติก เช่น *Leuconostoc* และ *Lactobacillus* ให้กรดอะซิติก *Streptococcus thermophilus* ให้กรดฟอร์มิก และ *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* และ *Lactobacillus acidophilus* ให้กรดเบนโซอิก เป็นต้น (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545)

โปรไบโอติกสามารถผลิตสารที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์เช่น คาร์บอนไดออกไซด์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ไดอะเซทิล (Kalantzopoulos, 1997) เอทานอล เมทานอล และอะซิโตน เป็นต้น โดยสารแต่ละชนิดสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้ในระดับต่างกัน (Mossel et al., 1995) ตัวอย่างจุลินทรีย์ที่ผลิตสารยับยั้ง เช่น *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus* และ *Lactococcus* ผลิตไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ จุลินทรีย์พวก *Lactococcus*, *Pediococcus* และ *Leuconostoc* แคแทบอไลท์กรดซิตริกได้ไดอะเซทิล ส่วน *Lactobacillus reuteri* จะแคแทบอไลท์ กลีเซอรอลและกลีเซอรอลดีไฮด์ได้รีวทีริน (Hoover, 2000) และ *Streptococcus thermophilus* ให้เมทานอลและอะซิโตน เป็นต้น (วิเชียร ลีลาวัชรมาศ, 2542ข) และยังผลิตแบคเทอริโอซินส์ (Kalantzopoulos, 1997) ซึ่งมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ปัจจุบันไนซินเป็นแบคเทอริโอซินส์เพียงชนิดเดียวที่ USFDA อนุญาตให้ใช้ในอาหารได้ (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545)

นอกจากนี้โปรไบโอติกยังไปแย่งพื้นที่เกาะในผนังลำไส้ เมื่อร่างกายได้รับจุลินทรีย์ก่อโรคเข้าไป จุลินทรีย์ดังกล่าวก็ไม่สามารถเข้าเกาะผนังลำไส้ได้ ทำให้ไม่แสดงฤทธิ์ของเชื้อโรคออกมา (ธนาคาร นะศรี, จิรศักดิ์ ตั้งตรงไพโรจน์, 2536) และโปรไบโอติกยังเป็นตัวแข่งขันในการแย่งอาหารกับจุลินทรีย์ก่อโรค ซึ่งจะเป็นการควบคุมจุลินทรีย์ในลำไส้ได้ ส่วนจุลินทรีย์พวกที่เจริญได้ทั้งในที่มีและไม่มีออกซิเจน (Facultative anaerobe) สามารถลดรีดอกซ์โพเทนเชียล (redox potential ; Eh) ของอาหารหรือสภาพแวดล้อมทำให้ไม่เหมาะในการเจริญของจุลินทรีย์บางชนิด (Kalantzopoulos, 1997)

### 2.4.4 ยับยั้งปฏิกิริยาการเกิดสารพิษหรือสารก่อมะเร็ง

โปรไบโอติกกลุ่ม Lactobacilli สามารถช่วยลดการเกิดสารพิษหรือสารก่อมะเร็งได้โดยการไปลดกิจกรรมของเอนไซม์ที่ทำให้เกิดสารก่อมะเร็ง ได้แก่ azoreductase, β-glucuronidase, nitroreductase, β-glucosidase, nitrate reductase เนื่องจากเอนไซม์เหล่านี้จะเปลี่ยนสารตั้งต้นของสารก่อมะเร็ง (procarcinogen) ให้กลายเป็นสารก่อมะเร็ง (carcinogen) ในลำไส้ใหญ่ และมีการศึกษาพบว่า Lactobacilli บางสายพันธุ์สามารถผลิตเอนไซม์ที่มีคุณสมบัติในการลดไนไตรท์ในอาหาร จึงลดความเสี่ยงจากไนโตรซามีน ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งได้ (วิเชียร ลีลาวัชรมาศ, 2542; สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545; Fuller, 1992; Kalantzopoulos, 1997)

### 2.4.5 กระตุ้นภูมิคุ้มกันโรคในระบบทางเดินอาหาร

โปรไบโอติกสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันของคนและสัตว์ได้ โดยตัวเซลล์ ผนังเซลล์ หรือแอนติเจนของโปรไบโอติกสามารถเข้าไปยังผนังลำไส้และกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกัน และได้มีการศึกษาพบว่า *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* และพวก *Bifidobacterium* ก่อให้เกิดภูมิคุ้มกันได้โดยการชักนำให้เกิดสารแอลฟาอินเทอเฟอรอนซึ่งสามารถต้านไวรัสและกำจัดเซลล์แปลกปลอมได้ (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545; Kalantzopoulos, 1997)

### 2.4.6 ลดโคเลสเตอรอล

โปรไบโอติกสามารถลดโคเลสเตอรอลได้ โดยการไปลดการดูดซึมโคเลสเตอรอลภายในลำไส้และยังลดการสังเคราะห์โคเลสเตอรอลที่ตับด้วยเป็นการช่วยควบคุมให้อยู่ในระดับที่เหมาะสม (Kalantzopoulos, 1997) โดย O'Sullivan et al. (1997 อ้างถึงใน วิเชียร ลีลาวัชรมาศ, 2541ค) เชื่อว่า *Lactobacillus* ได้ผลิต hydroxyl methyl glutarate ซึ่งมีคุณสมบัติในการยับยั้งการสังเคราะห์โคเลสเตอรอล (วิเชียร ลีลาวัชรมาศ, 2542) อย่างไรก็ตาม ผลการวิจัยและกระบวนการของโปรไบโอติกในการลดโคเลสเตอรอลก็ยังไม่ชัดเจนนัก ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ ดังนั้นคุณสมบัติในการลดความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจจึงยังไม่สามารถสรุปได้แน่ชัด (Marteu, Rambaud, 1993 อ้างถึงใน สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545)

## 3. การยับยั้งจุลินทรีย์ในอาหารของโปรไบโอติก

คุณสมบัติที่น่าสนใจและเป็นแนวทางในการพัฒนาอุตสาหกรรมอาหารคือ สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการในอาหารได้ ได้แก่จุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเสื่อมเสียและจุลินทรีย์ก่อโรค โดยโปรไบโอติกแต่ละชนิดจะมีความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้แตกต่างกันไป ดังตารางที่ 1

**ตารางที่ 1** สมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดอื่นของจุลินทรีย์โปรไบโอติกบางชนิด

| จุลินทรีย์เป้าหมาย | จุลินทรีย์ที่ยับยั้ง |
|---|---|
| *Aeromonas hydrophila* | *Lactococcus*, *Pediococcus* |
| *Bacillus cereus* | *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus* |
| *Clostridium botulinum* | Lactobacilliceae, *Bacillus*, *Brevibacterium*, *Clostridium*, *Cl. Sporogenes*, *Enterococcus*, *E. Coli*, *Micrococcus*, *Moraxella* |
| *Clostridium perfringens* | *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus* |
| *Escherichia coli* | Enterobacteriaceae, Lactobacilliceae, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Bacillus*, *Pseudomonas* |
| *Listeria monocytogenes* | *Enterococcus* sp., *Lactobacillus* sp., *Lactococcus* sp., *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Staphylococcus xylosus*, *Streptococcus lactis* |
| *Plesiomonas* | *Pseudomonas*, *Enterococcus* |
| *Salmonella* | Enterobacteriaceae, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Veilonella*, *Pseudomonas* |
| *Staphylococcus aureus* | Lactobacilliceae, *Achromobacter*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Micrococcus*, *Pediococcus*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus* |
| *Vibrio parahaemolyticus* | *Pseudomonas*, *Lactococcus*, *Pediococcus* |
| *Yersinia enterocolitica* | Gram-negative bacteria, *Hafnia*, *Yersinia*, Lactobacteriaceae |
| *Aspergillus* | *Saccharomyces cereviceae*, *Streptococcus lactis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* |
| *Brochothrix* | *Lactobacillus* |
| *Clostridium tyrobutyricum* | Lactic acid bacteria |
| *Pseudomonas* | *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus diacetilactis* |
| Moulds | *Pseudomonas*, *Bacillus cereus* |
| Yeasts | *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Chromobacterium*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Vibrio* |

ที่มา : Mossel et al., 1995

จากตารางที่ 1 จะเห็นว่าจุลินทรีย์ที่ยับยั้งส่วนใหญ่จะเป็นโปรไบโอติกในระบบอาหาร มีโปรไบโอติก หลายชนิดที่แสดงสมบัติในการต่อต้านจุลินทรีย์ชนิดอื่น เช่น แหนม ไส้กรอก ผักดอง เป็นต้น การยับยั้งส่วนใหญ่จะใช้หลายวิธีการร่วมกัน วิธีการโดยสรุป ได้แก่ การแข่งขันการใช้อาหาร การปรับสภาพแวดล้อมให้ไม่เหมาะต่อการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดอื่น รวมทั้งการผลิตสารที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

### 3.1 การแข่งขันการใช้อาหาร

จุลินทรีย์แต่ละชนิดมีอัตราการเจริญที่ต่างกันถ้าจุลินทรีย์มากกว่าหนึ่งชนิดอาศัยอยู่ในระบบเดียวกัน จุลินทรีย์ที่มีอัตราการเจริญสูงกว่าจะส่งผลต่อจุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่ง โดยหากอาหารในระบบมีอยู่จำกัด จุลินทรีย์ที่มีอัตราการเจริญสูงกว่าจะใช้สารอาหารที่จำเป็นในการเจริญได้ก่อน จุลินทรีย์ที่เป็นโปรไบโอติกจะมีอัตราการเจริญที่สูงจึงมีผลต่อจุลินทรีย์ที่ทำให้เสื่อมเสียและจุลินทรีย์ก่อโรคบางชนิด เมื่อสารอาหารมีไม่เพียงพอจึงไม่สามารถเจริญได้อย่างเต็มที่ ทำให้อัตราการเจริญเติบโตลดลงและถูกยับยั้งในที่สุด แต่อย่างไรก็ตามหากอยู่ในระบบที่มีสารอาหารที่จำเป็นอยู่เกินพอ จุลินทรีย์อีกชนิดอาจกลับมาเจริญเร็วกว่าได้ ซึ่งก็จะขึ้นอยู่กับอัตราการเจริญและสภาวะแวดล้อมของแบคทีเรียแต่ละชนิด

### 3.2 เปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมในอาหาร

จุลินทรีย์แต่ละชนิดมีสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมในการเจริญแตกต่างกันไปหากอยู่ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมก็อาจถูกยับยั้งได้ โปรไบโอติกสามารถเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมที่อาศัยอยู่ได้จากการผลิตสารบางชนิดออกมาซึ่งสามารถส่งผลต่อเซลล์จุลินทรีย์ได้ โปรไบโอติกจะทนต่อสภาวะแวดล้อมที่ตัวเองสร้างขึ้นได้ดีกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่น จุลินทรีย์ชนิดอื่นจึงถูกยับยั้งไปก่อน ตัวอย่างการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมได้แก่ การเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่างจากการผลิตกรดอินทรีย์ ซึ่งสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการได้ โดยปกติแบคทีเรียจะเจริญได้ที่ความเป็นกรด-ด่าง 6-8 ยีสต์เจริญได้ที่ความเป็นกรด-ด่าง 4.5-6 และราเจริญได้ที่ความเป็นกรด-ด่าง 3.5-4 และกรดดังกล่าวยังมีผลในการเพิ่มค่ารีดอกซ์โพเทนเชียล (Eh) เนื่องจากกรดอินทรีย์จะแตกตัวให้ $H^+$ ซึ่งเป็นตัวรับอิเล็กตรอนที่ดี ส่งผลให้ค่า Eh สูงขึ้น ซึ่งสามารถควบคุมแบคทีเรียพวกที่ไม่ต้องการออกซิเจนได้ (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545)

#### 3.2.1 เปลี่ยนแปลงค่ารีดอกซ์โพเทนเชียล (Redox potential: Eh)

รีดอกซ์โพเทนเชียลเป็นค่าความต่างศักย์ที่วัดจากปฏิกิริยาการถ่ายทอดอิเล็กตรอนหรือปฏิกิริยา รีดอกซ์ซึ่งเกิดในระบบสารละลายของอิออน มีหน่วยเป็นมิลลิโวลท์ (mV) การให้และรับอิเล็กตรอนของสารที่มีอยู่ในอาหาร ทำให้เกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ ตามปกติโลหะจะเป็นตัวให้อิเล็กตรอนที่ดี (electron doner) เรียกว่าเป็น reducing agent ปฏิกิริยาที่มีการให้อิเล็กตรอนเรียกว่าปฏิกิริยาออกซิเดชั่น ส่วน $H^+$ เป็นตัวรับอิเล็กตรอนที่ดี (electron acceptor) เรียกว่าเป็นตัว oxidizing agent ปฏิกิริยาที่มีการรับอิเล็กตรอนเรียกว่าปฏิกิริยารีดักชั่น ปฏิกิริยารีดอกซ์จะประกอบไปด้วยครึ่งปฏิกิริยาออกซิเดชั่นและครึ่งปฏิกิริยารีดักชั่น

ค่ารีดอกซ์โพเทนเชียลของอาหารจะขึ้นอยู่กับตัวรีดิวซ์และตัวออกซิไดซ์ที่มีอยู่ในอาหารและขึ้นอยู่กับความเป็นกรด-ด่างของอาหาร ซึ่งจะเกี่ยวข้องอยู่กับปฏิกิริยาการให้และรับอิเล็กตรอนและค่ารีดอกซ์โพเทนเชียลของอาหารก็เป็นตัวบ่งชี้ได้ถึงกลุ่มของแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในอาหารได้ โดยทั่วไปกรดอะมิโนที่มีหมู่ซัลไฮดริลในเนื้อสัตว์ วิตามิน และน้ำตาลรีดิวซ์ในผักและผลไม้ จะทำหน้าที่เป็นผู้ให้อิเล็กตรอน หรือเป็นตัวรีดิวซ์ที่ดี (เกิดปฏิกิริยา oxidation) ทำให้ค่ารีดอกซ์โพเทนเชียลของอาหารเป็นลบ ส่วน $H^+$ ที่ได้จากการแตกตัวของกรดในอาหารนั้น มีแนวโน้มที่จะเป็นตัวรับอิเล็กตรอน หรือเป็นตัวออกซิไดซ์ที่ดี มีผลทำให้ค่ารีดอกซ์โพเทนเชียลของอาหารมีค่าเป็นบวก (เกิดปฏิกิริยา reduction) ทั้งนี้ประมาณว่าทุกหน่วยของความเป็นกรด-ด่างที่ลดลงจะมีผลให้ค่ารีดอกซ์โพเทนเชียลเพิ่มขึ้นเท่ากับ 58 mV

จุลินทรีย์แต่ละชนิดมีความต้องการค่ารีดอกซ์โพเทนเชียลต่างกันไป บางชนิดต้องการสภาวะที่ค่ารีดอกซ์โพเทนเชียลเป็นลบ เช่นค่าประมาณ -200 mV จะเป็นแบคทีเรียพวกที่ไม่ต้องการอากาศ (พวก *Clostridium* sp.) บางชนิดต้องการสภาวะเป็นบวก ได้แก่ พวกที่ต้องการอากาศและพวกที่ต้องการสภาวะริดิวซ์เล็กน้อย เช่น ต้องการอากาศประมาณร้อยละ 5 ได้แก่ แบคทีเรียกลุ่ม microaerophiles (*Lactobacillus* sp.,

*Campylobactor* sp.) บางชนิดเจริญได้ทั้งในสภาวะรีดิวซ์และสภาวะออกซิไดซ์ ได้แก่พวกที่เจริญได้ทั้งสภาวะที่มีและไม่มีอากาศ ส่วนพวกยีสต์และราจะชอบสภาวะที่มีอากาศ แต่บางชนิดก็เจริญได้ทั้งสภาวะที่มีและไม่มีอากาศ

การเจริญของจุลินทรีย์ในอาหารนั้นมีผลต่อค่ารีดอกซ์โพเทนเชียลเนื่องจากเหตุผล 2 ประการ โดยประการแรกคือ การที่ออกซิเจนลดลงเนื่องจากการสลายตัวให้อิเล็กตรอนแก่สารละลายหรือเป็นตัวรีดิวซ์ที่ดี ทำให้ค่ารีดอกซ์โพเทนเชียลเป็นลบ และประการที่ 2 เกิดไฮโดรเจนอิออน ($H^+$) ซึ่งเป็นตัวรับอิเล็กตรอนหรือตัวออกซิไดซ์ที่ดีทำให้ค่ารีดอกซ์โพเทนเชียลเป็นบวก ถ้าในระบบที่อาหารมีสารที่เป็นตัวออกซิไดซ์ที่ดี (เช่น $H^+$) ค่ารีดอกซ์โพเทนเชียลจะเป็นบวก เช่น อาหารที่เป็นกรด หรือเนื้อบด แต่ถ้าอาหารมีสารที่เป็นตัวรีดิวซ์ที่ดีเช่น โลหะหรือออกซิเจนค่า รีดอกซ์โพเทนเชียลของอาหารจะป็นลบ เช่น เนื้อสัตว์ทั้งก้อน เป็นต้น

โปรไบโอติกจะผลิตกรดอินทรีย์ออกมาทำให้อาหารมีความเป็นกรด-ด่างต่ำ มี $H^+$ เป็นตัวรับอิเล็กตรอนที่ดีทำให้ค่ารีดอกซ์โพเทนเชียลเป็นบวก ซึ่งมีผลในการยับยั้งจุลินทรีย์พวกที่ไม่ต้องการออกซิเจนได้ เนื่องจากเมื่ออยู่ในสภาวะที่มีออกซิเจน แบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจนจะใช้ออกซิเจนในกระบวนการหายใจ ออกซิเจนจะสลายตัวและเกิดเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ($H_2O_2$) และ $O_2^-$ ซึ่งเป็นสารประเภทซูเปอร์ออกไซด์ ซึ่งพิษต่อเซลล์ ส่วนโปรไบโอติกพวกที่เจริญได้ทั้งที่มีและไม่มีอากาศ สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีออกซิเจนเล็กน้อยเนื่องจากมีสาร Mn ไปทำลายสารซูเปอร์ออกไซด์และ Mn เป็นผู้ให้อิเล็กตรอนแทนออกซิเจนในสภาวะไร้อากาศหรือมีอากาศเพียงเล็กน้อย จุลินทรีย์ดังกล่าวจึงสามารถเจริญได้โดยไม่ถูกทำลาย (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545)

### 3.2.2 เปลี่ยนแปลงความเป็นกรดด่าง (pH)

เป็นที่ทราบกันดีว่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารมีความสำคัญต่อชนิด และปริมาณจุลินทรีย์ในอาหารส่วนใหญ่จะมีความเป็นกรดเล็กน้อย ปกติความเป็นกรดของอาหารจะขึ้นอยู่กับความสามารถในการแตกตัวให้โปรตอน ($H^+$) เมื่อละลายน้ำ อาหารที่แตกตัวให้ $H^+$ มากจะมีความเป็นกรด-ด่างสูง ซึ่งจุลินทรีย์จะสามารถเจริญได้ดี ส่วนอาหารที่แตกตัวให้ $H^+$ น้อยจะมีความเป็นกรด-ด่างต่ำซึ่งจะมีผลในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ กรดแต่ละชนิดจะมีค่าสัมประสิทธิ์การแตกตัวคงที่ กรดอ่อนจะแตกตัวได้น้อยกว่ากรดแก่ กรดอ่อนจึงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดีกว่า

ตามปกติเซลล์จะสังเคราะห์ ATP จากสารอาหารที่ถูกขนส่งเข้าสู่เซลล์โดยผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ ทั้งนี้มีการใช้พลังงานที่เก็บสะสมไว้ในเยื่อหุ้มเซลล์ในรูปของโปรตอนซึ่งเป็นตัวช่วยให้เกิดความต่างศักย์ทางเคมีไฟฟ้าและเป็นแรงขับเคลื่อนให้สารอาหารจากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ สำหรับสารที่ไม่มีประจุสามารถซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เข้าไปในเซลล์ได้อิสระเนื่องจากเกิดความต่างศักย์ระหว่างภายนอกและภายในเซลล์ ส่วนในสภาวะที่ความเป็นกรด-ด่างสูง สมดุลจะเกิดได้จากสารที่ไม่ได้แตกตัว ส่วนกรดที่แตกตัวให้โปรตอนมีแนวโน้มจะทำให้ภายในเซลล์มีสภาวะเป็นกรด และทำให้เกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ขึ้นภายในเซลล์ เซลล์รักษาสภาวะที่เป็นกลางไว้โดยขับไล่โปรตอนออกจากเซลล์ ซึ่งกลไกนี้จะมีผลทำให้จุลินทรีย์เจริญช้าลงเนื่องจากต้องใช้พลังงานส่วนหนึ่งในการขับไล่โปรตอนออกไป ยิ่งถ้านอกเซลล์มีความเป็นกรด-ด่างต่ำมากเท่าใดเซลล์ก็จะยิ่งทำงานหนักขึ้น ถ้าความเป็นกรด-ด่างในเซลล์ลดลงถึงจุดหนึ่งการเจริญจะหยุดชะงัก ถ้าเซลล์ซ่อมแซมสภาวะให้กลับสู่สภาพเดิมไม่ได้ เซลล์ก็จะตาย

เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ความเป็นกรด-ด่างของอาหารมีแนวโน้มเป็นกรดมากขึ้น เกลือมีผลให้ความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะต่อการเจริญของจุลินทรีย์กว้างขึ้น และความเป็นกรด-ด่างที่ไม่เหมาะสมจะส่งผลให้จุลินทรีย์ไม่ทนต่อสารพิษ เซลล์ที่อายุน้อยจะไวต่อการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่าง แบคทีเรียแลกติกสามารถผลิตกรดอินทรีย์ทำให้ความเป็นกรด-ด่างของอาหารต่ำลงความเป็นกรดสูงขึ้น จึงมีผลในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545)

### 3.3 ผลิตสารยับยั้งจุลินทรีย์

โปรไบโอติกหลายชนิดสามารถผลิตสารเมตาบอไลท์บางชนิดที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ ซึ่งสารที่ผลิตขึ้นบางครั้งก็มีโครงสร้างที่ไม่ซับซ้อน เช่น กรดอินทรีย์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ($H_2O_2$) ไดอะเซทิล (diacetyl) ริวทีริน (reuterin) เป็นต้น ซึ่งสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ทั่วไปได้แบบไม่จำเพาะเจาะจง (Mossel et al., 1995) และบางครั้งก็ผลิตสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่มีโครงสร้างที่ซับซ้อนขึ้น และมีคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่จำเพาะมากขึ้นได้แก่ แบคเทอริโอซินส์ (bacteriocins) ซึ่งสารที่จุลินทรีย์โปรไบโอติกผลิตขึ้นจะมีผลต่อจุลินทรีย์ในลักษณะที่แตกต่างกันไปดังนี้

#### 3.3.1 กรดอินทรีย์

โปรไบโอติกสามารถผลิตกรดอินทรีย์ได้หลายชนิด แบคทีเรียแลกติกจะผลิตกรดแลกติกเป็นหลัก และบางครั้งก็สามารถผลิตกรดชนิดอื่นได้ด้วย (Ray, Sandine, 1992) ขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ในสภาวะการเจริญที่เหมาะสม กรดอินทรีย์จะถูกสังเคราะห์จากกระบวนการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตสำหรับจุลินทรีย์พวกโฮโมเฟอร์เมนเตทีฟแลกติกแอซิดแบคทีเรีย เช่น Lactococci, Pediococci, Streptococci และ Lactobacilli บางชนิด (Marteu, Rambaud, 1993 อ้างถึงใน สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545) จะผลิตกรดแลกติกได้อย่างเดียว ส่วนแบคทีเรียพวกเฮทเทอโรเฟอร์เมนเตทีฟแลกติกแอซิดแบคทีเรีย เช่น *Lactobacillus lactis* subsp. *cremoris*, *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* และ *Lactobacillus casei* ซึ่งจะหมักได้สารชนิดอื่นด้วยนอกจากกรดแลกติก เช่น กรดอะซิติก หรือ แอลกอฮอล์ เป็นต้น

กรดอินทรีย์จะยับยั้งจุลินทรีย์ได้ โดยการที่กรดจะแทรกผ่านเข้าไปในเซลล์ของจุลินทรีย์และเกิดการแตกตัวภายในเซลล์ได้ไฮโดรเจนไอออนซึ่งจะไปมีผลต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมภายในเซลล์ (พงศ์เทพ วิไลพันธ์, 2546) และกรดอินทรีย์ยังไปทำให้โปรตีนภายในเซลล์เสียสภาพ ทำให้เซลล์ไม่สามารถดำเนินกิจกรรมต่อไปได้ (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545)

ประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ของกรดอินทรีย์แต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน มีการศึกษาพบว่ากรดอินทรีย์สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดีกว่ากรดอนินทรีย์ และมีข้อสันนิษฐานว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์น่าจะเกี่ยวข้องกับสัดส่วนโมเลกุลของกรดที่แตกตัว (dissociate) และไม่แตกตัว (undissociate) โดยประสิทธิภาพจะเพิ่มมากขึ้นเมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำลง ซึ่งจะมีสัดส่วนโมเลกุลที่ยังไม่แตกตัวสูง (Ray, Sandine, 1992)

มีการศึกษาพบว่าอัตราการตายของ *Salmonella typhimurium* เมื่อใช้กรดแลกติกมีมากกว่าการใช้กรดไฮโดรคลอริก ซึ่งให้ผลเดียวกันทั้งที่สภาวะความเป็นกรด-ด่าง 4.0 และ 5.5 (Levine, Feller, 1940; Ingram et al., 1956 cited in Ray, Sandine, 1992) ส่วน Sorrells et al. (1989 cited in Ray, Sandine, 1992) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของกรดในการยับยั้ง *Listeria monocytogenes* ที่ความเป็นกรด-ด่าง 4.0 ถึง 5.2 พบว่ากรดอะซิติกมีประสิทธิภาพสูงที่สุด รองลงมาคือกรดแลกติก และกรดไฮโดรคลอริกตามลำดับ ส่วน Chung, Goepfert (1970 cited in Ray, Sandine, 1992) พบว่ากรดโพรพิโอนิกมีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้ง *Salmonella* sp. รองลงมาคือกรดอะซิติกและกรดแลกติกตามลำดับ ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับการยับยั้ง *Listeria monocytogenes* (Connar et al., 1990 cited in Ray, Sandine, 1992)

ส่วนเอทานอล ได้จากกระบวนการหายใจโดยไม่ใช้ออกซิเจน จัดเป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่สำคัญและมีใช้กันอย่างแพร่หลาย เอทานอลที่แบคทีเรียแลกติกผลิตขึ้น แม้จะไม่มากนักแต่ก็มีส่วนเสริมกับสารอื่นที่ผลิตขึ้นและมีส่วนร่วมในการยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้ (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545)

### 3.3.2 ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ($H_2O_2$)

ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ($H_2O_2$) มีคุณสมบัติเป็นพิษทางชีววิทยา โปรไบโอติกบางชนิดสามารถผลิตไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้ ได้แก่ Lactobacilli, Lactococci, Pediococci และ *Leuconostoc* (Hoover, 2000) แบคทีเรียเหล่านี้จะผลิตไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในสภาวะที่มีออกซิเจนเท่านั้น และจุลินทรีย์ผู้ผลิตจะทนได้มากกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่น (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545)

ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะทำปฏิกิริยากับไขมันที่เยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งจะส่งผลให้เซลล์ไม่สามารถควบคุมการผ่านเข้าออกของสารได้ และมีผลในการทำลายโครงสร้างกรดนิวคลีอิค รวมทั้งโปรตีนภายในเซลล์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ยังสามารถรวมตัวกับสารชนิดอื่น เกิดเป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดใหม่ขึ้นมาได้ (พงศ์เทพ วิไลพันธ์, 2546)

Jaroni, Brashears (2000) ได้ศึกษาการสร้างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ของ *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* I ในอาหารเลี้ยงเชื้อต่างกันพบว่า เซลล์ที่แขวนลอยในฟอสเฟตบัฟเฟอร์จะผลิตไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้แตกต่างกันตามปริมาณกลูโคส และพบว่าเซลล์ที่เจริญใน MRS broth จะผลิตไฮโดรเจน เปอร์ออกไซด์ได้มากที่สุด รองลงมาคือ LBS และ PTM ตามลำดับ และพบว่าเซลล์ที่เลี้ยงในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่มีกลูโคส 0% จะผลิตไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้มากกว่ากลูโคส 1 และ 10%

### 3.3.3 ไดอะเซทิล (diacetyl)

ไดอะเซทิล (2,3-butanedione) ได้จากกระบวนการสลายซิเตรทในสภาวะมีและไม่มีออกซิเจน ซึ่งขับออกมาโดยจุลินทรีย์พวก Lactococci, Pediococci และ Leuconostoc (พงศ์เทพ วิไลพันธ์, 2546) ไดอะเซทิลจะมีผลต่อแบคทีเรียแกรมลบ ยีสต์ และราได้มากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก (Hoover, 2000) เนื่องจากจะไปขัดขวางการใช้อาร์จินีนของแบคทีเรียแกรมลบ โดยไปแทนที่อาร์จินีนในการรวมตัวกับอาร์จินินบายดิ้งโปรตีน (arginine-binding protein) (พงศ์เทพ วิไลพันธ์, 2546)

Jay (1982) รายงานว่าไดอะเซทิล 200 mg/mL สามารถยับยั้งการเจริญของยีสต์และแบคทีเรียแกรมลบได้ เมื่อใช้ 300 mg/mL สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ และเมื่อใช้ปริมาณมากกว่า 350 mg/mL สามารถยับยั้งแบคทีเรียแลกติกได้ ส่วน Gupta et al. (1973 อ้างถึงใน สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545) พบว่าไดอะเซทิลมีผลดีที่สุดในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ และ Motlagh et al. (1991 cited in Davidson, Hoover, 1993) พบว่าไดอะเซทิล 344 mg/ml สามารถยับยั้ง *Listeria monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. innocua*, *Salmonella anatum*, *S. typhimurium*, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli* และ *Aeromonas hydrophila* ได้ แต่หากต้องการใช้ไดอะเซทิลเป็นตัวหลักในการยับยั้งจุลินทรีย์จะต้องใช้ความเข้มข้นสูง

### 3.3.4 อะซีทัลดีไฮด์ (acetaldehyde)

อะซีทัลดีไฮด์เกิดจากกระบวนการหมักคาร์โบไฮเดรตของแบคทีเรียแลกติก ในสภาวะที่ไม่มีเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส (alcohol dehydrogenase) จึงผลิตอะซีทัลดีไฮด์ออกมา ซึ่งเป็นการหมักแบบเฮทเทอโรเฟอร์เมนเตชั่น (heterofermentation) มีรายงานว่าอะซีทัลดีไฮด์เข้มข้น 10-100 ppm สามารถยับยั้ง *E. coli*, *S. aureus* และ *Salmonella typhimurium* ได้ (พงศ์เทพ วิไลพันธ์, 2546)

### 3.3.5 ริวทีริน (reuterin)

ริวทีรินเกิดจากกระบวนการสลายกลีเซอรอลและกลีเซอรอลดีไฮด์ซึ่งผลิตโดย *Lactobacillus reuteri* ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (Hoover, 2000) ริวทีรินไม่ใช่แบคเทอริโอซินส์ แต่เป็นสารผสมของโมโนเมอริก (monomeric) ไฮเดรทโมโนเมอริก (hydrated monomeric) และไซคลิกไดเมทริก (cyclicdimetric) ในรูปของเบต้าไฮดรอกซีโพรพิโอนัลดีไฮด์ (β – hydroxypropionaldehyde) ริวทีรินเป็นสารต้านจุลินทรีย์ที่แรง มี

ผลต่อแบคทีเรียแกรมลบ แกรมบวก ยีสต์ รา และโปรโตซัว เนื่องจากไปยับยั้งเอนไซม์ไรโบนิวคลีโอไทด์-รีดักเทส (ribonucleotide reductase) (Talarico and Dobrogosz, 1989 cited in Hoover, 2000) ทำให้ไม่สามารถดำเนินกิจกรรมภายในเซลล์ได้ มีรายงานว่าการเติมริวทีรินลงในเนื้อวัวแช่เย็นสามารถยับยั้ง *E. coli* และจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้ (Daeschel, 1992)

### 3.3.6 แบคเทอริโอซินส์ (bacteriocins)

แบคเทอริโอซินส์ (bacteriocins) เป็นสารประเภทเปปไทด์หรือโปรตีนขนาดเล็กสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ไวต่อสารดังกล่าว (พงศ์เทพ วิไลพันธ์, 2546) รวมทั้งแบคทีเรียมีลักษณะคล้ายคลึงกับแบคทีเรียที่ให้กรดแลกติก (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545) แต่ไม่ทำลายหรือเป็นพิษต่อเซลล์ผู้ผลิต แบคเทอริโอซินส์ถูกทำลายได้ด้วยเอนไซม์ย่อยโปรตีน (proteolytic enzymes) (พงศ์เทพ วิไลพันธ์, 2546) แบคเทอริโอซินส์เป็นสารที่เกิดขึ้นตามกลไกธรรมชาติ จึงมีความปลอดภัยมากกว่าสารเคมี โปรไบโอติกหลายชนิดสามารถสร้างแบคเทอริโอซินส์ได้ เช่น *Lactobacillus acidophilus* สามารถผลิต Acidocin ได้ ส่วน *Lactococcus lactis* สามารถผลิต Nisin ได้ และ *Lactobacillus plantarum* สามารถผลิต Plantaricin ได้ เป็นต้น (Muriana, 1996 อ้างถึงใน พงศ์เทพ วิไลพันธ์, 2546) มีรายงานว่าแบคเทอริโอซินส์ที่สร้างจากแบคทีเรียแลกติกมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่มีผลต่อคุณภาพ และความปลอดภัยของอาหาร เช่น *B. cereus*, *C. botulinum*, *C. perfringens*, *S. aureus*, *L. monocytogenes* รวมทั้งแบคทีเรียแลกติกบางชนิด (Cleveland et al., 2001)

แบคเทอริโอซินส์มีผลกับแบคทีเรียโดยการยับยั้งการเจริญ (bacteriostatic) หรือทำลายเซลล์แบคทีเรีย (bacteriocidal) ได้ โดยจะมีผลต่อเซลล์ในลักษณะใดก็ขึ้นอยู่กับชนิด ความบริสุทธิ์ และความเข้มข้นของแบคเทอริโอซินส์ รวมทั้งสภาพแวดล้อม ชนิด จำนวนของเซลล์เป้าหมาย และการรวมตัวกับสารอาหาร แบคเทอริโอซินส์ทำลายเซลล์เป้าหมายโดย แบคเทอริโอซินส์แต่ละโมเลกุลร่วมกันทำให้เกิดรูหรือช่องว่างที่เยื่อหุ้มเซลล์เป้าหมาย ส่งผลให้เกิดการเสียสมดุลของไอออน สูญเสียกรดอะมิโนและสารประกอบในกลุ่มฟอสเฟต ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญในการสร้างพลังงานของเซลล์ กลไกในการทำลายเซลล์เป้าหมายจะต่างกันไปตามแต่ชนิดของแบคเทอริโอซินส์ เช่น ไนซินซึ่งผลิตโดย *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* เป็นแบคเทอริโอซินส์กลุ่มแลนติไบโอติก (lantibiotic) เป็นกลุ่มที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก ทนความร้อนและมีวงแหวนที่เกิดจากพันธะระหว่างโมเลกุลของสารประกอบซัลเฟอร์ในโมเลกุลเรียกว่าแลนธิโอนีน (lanthionine) ลักษณะการทำลายแบคทีเรียของไนซินเป็นแบบทำลายแบคทีเรียแกรมบวกทั่วไป และยังสามารถทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ภายนอกของแบคทีเรียแกรมลบบางชนิด โดยไนซินซึ่งเป็นสายโพลีเปปไทด์ที่มีประจุสุทธิเป็นบวกจะเข้าจับกับเซลล์ของแบคทีเรียเป้าหมาย เยื่อหุ้มเซลล์จะถูกรบกวน เซลล์จะเกิดรูพรุนที่เยื่อหุ้มพลาสมาทำให้องค์ประกอบภายในเซลล์รั่วไหลออกมา เซลล์จึงไม่สามารถดำเนินกิจกรรมต่อไปได้ ส่วนสปอร์ของแบคทีเรียจะไวต่อไนซิน โดยกรณีของสปอร์พบว่า เยื่อหุ้มเซลล์จะถูกทำลายอย่างรวดเร็วระหว่างที่สปอร์เกิดการงอก ถ้าไนซินมีความเข้มข้นสูงจะสามารถยับยั้งการสร้างเปปทิโดไกลแคน (peptidoglycan) ซึ่งเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของผนังเซลล์ของ *E. coli* และ *Bacillus stearothermophilus* ได้ (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545; พงศ์เทพ วิไลพันธ์, 2546; Davidson and Hoover, 1993)

ส่วนแบคเทอริโอซินส์กลุ่มนอนแลนติไบโอติก (non lantibiotic) จะมีขนาดโมเลกุลที่เล็กและทนความร้อน การยับยั้งทำได้โดยในขั้นตอนแรกปลายด้าน N-terminal ของโมเลกุลแบคเทอริโอซินส์ซึ่งมีประจุบวกจะเข้าจับกับส่วนหัวของฟอสโฟลิปิดที่เยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียเป้าหมายซึ่งมีประจุลบโดยแรงทางไฟฟ้าสถิตย์ (electrostatic binding) จากนั้นปลายด้าน C-terminal ในโมเลกุลแบคเทอริโอซินส์ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นไฮโดรโฟบิก (hydrophobic) จะทำปฏิกิริยากับเอซิลกรุ๊ป (acyl group) ของไขมันในเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้เกิดเป็นรู

ที่เยื่อหุ้มเซลล์ ส่งผลให้เซลล์สูญเสียสมดุลไอออนรวมทั้งสาร ประกอบฟอสเฟตภายในเซลล์ (Ennahar et al., 2000 อ้างถึงใน พงศ์เทพ วิไลพันธ์, 2546)

แบคเทอริโอซินส์ที่ยอมรับและอนุญาตให้นำมาใช้กับอาหารได้ขณะนี้มีเพียงไนซิน (nisin) ซึ่งมีการอนุญาตในประเทศอังกฤษ บางประเทศก็ใช้ไนซินเป็นวัตถุกันเสียมาตั้งแต่ต้นทศวรรษที่ 1950 ในขณะที่ USFDA เพิ่งผ่านกฎหมายยอมรับไนซินเป็นวัตถุเจือปนในอาหารประเภทสารกันเสียเมื่อปี ค.ศ. 1988 การนำไนซินมาใช้ในอาหารช่วงแรกใช้เพื่อหยุดการเจริญของสปอร์บาซิลลัสในผลิตภัณฑ์อาหารบางชนิดเท่านั้น เช่น เนยแข็งและอาหารกระป๋อง แต่เมื่อใช้ไนซินกับเซลล์ของแบคทีเรียพบว่าสามารถทำลายเซลล์จุลินทรีย์ได้ จึงนำมาใช้ยับยั้งและทำลายเซลล์จุลินทรีย์ การเลือกแบคทีเรียที่ผลิตไนซินมาใช้ในการหมักกรดแลกติกจึงเป็นการเสริมประสิทธิภาพ ในการควบคุมแบคทีเรียแกรมบวกได้โดยเฉพาะอย่างยิ่งพวกที่สร้างสปอร์ แต่ทั้งนี้ต้องระวังปัญหาการยับยั้งตัวเองด้วย (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545)

## 4. การใช้โปรไบโอติกควบคุมจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์อาหาร

เป็นที่ทราบกันดีว่าโปรไบโอติกเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย และจุลินทรีย์ดังกล่าวหลายชนิดมีการนำมาใช้ในการผลิตอาหารตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน ซึ่งมีจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ประโยชน์มากขึ้นและการใช้ประโยชน์ที่หลากหลายขึ้นโดยในช่วงแรกมนุษย์อาจพบการผลิตอาหารโดยจุลินทรีย์โดยบังเอิญ เช่น ไวน์ โยเกิร์ต แหนม เป็นต้น ต่อมามีการศึกษาพบว่าจุลินทรีย์บางชนิดหากรับประทานเข้าไปจะมีผลดีต่อร่างกาย ช่วยให้สุขภาพดีและมีอายุยืนเรียกว่า โปรไบโอติก ต่อมาก็ได้มีการศึกษาพบว่าโปรไบโอติกหลายชนิดสามารถควบคุมจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการในอาหารได้ทั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียและจุลินทรีย์ก่อโรคที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์อาหาร ซึ่งเป็นวิธีการควบคุมจุลินทรีย์ที่เป็นที่สนใจอย่างมากในปัจจุบัน เนื่องจากจุลินทรีย์เหล่านี้เป็นจุลินทรีย์ที่มีความปลอดภัย (Generaly Regarded As Safe: GRAS) ซึ่งจะเป็นการเพิ่มความปลอดภัยแก่ผู้บริโภคทั้งจากจุลินทรีย์ก่อโรค และจากสารเคมี อย่างไรก็ตามการใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารแต่ละชนิดจำเป็นต้องมีการศึกษาประสิทธิภาพและผลของวิธีการอย่างรอบคอบก่อนนำมาใช้จริงในระดับอุตสาหกรรม จึงมีการศึกษาการนำโปรไบโอติกมาใช้ควบคุมจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์อาหารชนิดต่าง ๆ มากขึ้น ได้แก่

### 4.1 ผลิตภัณฑ์นม

ปัจจุบันมีการศึกษาการใช้โปรไบโอติกควบคุมจุลินทรีย์ทางชีวภาพในผลิตภัณฑ์นมหลายชนิด เช่น โยเกิร์ต และเนยแข็ง เป็นต้น ดังนี้

#### 4.1.1 โยเกิร์ต

โยเกิร์ตเป็นอาหารสุขภาพที่มนุษย์บริโภคมาเป็นเวลานาน ผลิตจากนมที่หมักด้วยแบคทีเรียแลกติกซึ่งมีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติก ได้แก่ *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* และ *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่นิยมใช้ในการหมักโยเกิร์ตที่ผลิตในทางการค้าในปัจจุบัน แต่อย่างไรก็ตาม มีงานวิจัยหลายชิ้นที่บ่งบอกว่าจุลินทรีย์ก่อโรคบางชนิดสามารถเหลือรอดในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตได้และเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคดังที่ Bodnaruk et al. (1998) ได้รายงานว่าในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่ผลิตจากนมที่มีเชื้อ *Yersinia enterocolitica* เริ่มต้น 4.5-5.5 log cfu/mL จะมีเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าวเหลือรอดอยู่ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตเป็นเวลา 3, 4 และ 6 วัน ในโยเกิร์ตที่หมักด้วยเชื้อที่ผลิตกรดได้เร็ว เชื้อที่ผลิตกรดได้ช้า และเชื้อที่ใช้ทั่วไปตามลำดับ ส่วน Ogwaro et al. (2002) ได้ศึกษาการเหลือรอดของ *E.coli* O157:H7 ระหว่างกระบวนการหมักแอฟริกันโยเกิร์ต (African yoghurt) โดยใช้ *E.coli* O157:H7 เริ่มต้น 6 log cfu/mL พบว่าระหว่างการหมักที่อุณหภูมิ 25, 30 และ 37 °ซ จำนวน *E.coli* O157:H7 จะเพิ่มขึ้นตั้งแต่เริ่มกระบวนการหมักจนถึง 24 ชั่วโมง ส่วนการหมักที่อุณหภูมิ 43 °ซ *E.coli* O157:H7 มีจำนวนลดลงหลังชั่วโมงที่ 6 และเมื่อนำมาเก็บรักษา

ที่อุณหภูมิ 4 และ 25 °ซ พบว่าเมื่อเก็บที่ 25 °ซ สามารถลด *E. coli* O157:H7 ลงได้ภายใน 3, 4, 6 และ 6 วัน จากการหมักที่อุณหภูมิ 43, 37, 30 และ 25 °ซ ตามลำดับในขณะที่การเก็บที่ 4 °ซ จะลดจำนวน *E. coli* O157:H7 ได้ทั้งหมดต้องใช้เวลาถึง 4 วัน ส่วนการหมักที่ 25, 30 และ 37 °ซ พบว่าจำนวน *E. coli* O157:H7 จะลดลงเล็กน้อยและเมื่อศึกษาการเหลือรอดของ *E. coli* O157:H7 ที่ปนเปื้อนหลังกระบวนการหมักและเก็บที่ 4 และ 25 °ซ พบว่า *E.coli* O157:H7 ลดลงเร็วกว่าเมื่อเก็บที่ 25 °ซ

จากการศึกษาข้างต้นจะพบว่า *E. coli* O157:H7 จะลดลงเร็วที่สุดคือ 3 วัน เมื่อหมักที่อุณหภูมิ 43 °ซ และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °ซ แต่อย่างไรก็ตาม ในทางการค้าจำเป็นต้องเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำเพื่อหยุดการผลิตกรดของเชื้อเริ่มต้นที่ใช้และรักษากลิ่นและรสชาติที่ดีของโยเกิร์ตไว้ ซึ่งการเก็บรักษาดังกล่าวจำนวน *E. coli* O157:H7 จะลดลงจนหมดภายในเวลา 4 วัน ซึ่งในบางครั้ง เวลา 4 วันผลิตภัณฑ์อาจถึงมือผู้บริโภคแล้ว จึงค่อนข้างเสี่ยงต่อความปลอดภัยของผู้บริโภคหากโยเกิร์ตนั้นมีการปนเปื้อนของ *E. coli* O157:H7

จากความเสี่ยงดังกล่าวจึงได้มีผู้ศึกษาถึงผลของการใช้จุลินทรีย์โปรไบโอติกชนิดอื่นต่อ *E. coli* O157:H7 เมื่อนำมาใช้ร่วมในการหมักโยเกิร์ตได้แก่

Kasimoglu, Akgün (2004) ได้ศึกษาการเหลือรอดของ *E. coli* O157:H7 ระหว่างกระบวนการผลิต acidophilus yoghurt ซึ่งใช้ *Lactobacillus acidophilus* ร่วมในการหมัก เปรียบเทียบกับโยเกิร์ตที่ใช้เชื้อเริ่มต้นในทางการค้า (commercial yoghurt) พบว่า acidophilus yoghurt สามารถลดจำนวนของ *E.coli* O157:H7 ลงจนไม่สามารถตรวจพบได้ภายใน 3 ชั่วโมง ที่จำนวนเชื้อ *E. coli* O157:H7 เริ่มต้น 2 log cfu/mL และภายใน 48 ชั่วโมงที่จำนวนเชื้อเริ่มต้น 4 และ 6 log cfu/mL ซึ่งลดลงได้เร็วกว่า commercial yoghurt ถึง 24-45 ชั่วโมง แสดงว่า *Lactobacillus acidophilus* สามารถยับยั้ง *E. coli* O157:H7 ได้ดีกว่าเชื้อโยเกิร์ตทั่วไป และพบว่ายิ่งจุลินทรีย์ปนเปื้อนน้อย ก็จะถูกกำจัดได้เร็วขึ้น

**4.1.2 เนยแข็ง**

มีรายงานหลายชิ้นพบว่าโปรไบโอติก *Lactococcus lactis* สายพันธุ์ที่ผลิตไนซินสามารถยับยั้งการเจริญของ *Clostridium sporogenes*, *Listeria monocytogenes* และ *Staphylococcus aureus* ในผลิตภัณฑ์เนยแข็งได้ (O'Sullivan et al., 2002)

Maisnier-Patin et al. (1992) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ที่ผลิตไนซินในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค *L. monocytogenes* ในผลิตภัณฑ์เนยแข็งโดยใช้เชื้อเริ่มต้นเป็น *Lactococcus lactis* สายพันธุ์ที่ผลิตไนซิน เปรียบเทียบกับสายพันธุ์ที่ไม่ผลิตไนซินพบว่า สายพันธุ์ที่ผลิตไนซินสามารถลดจำนวน *L. monocytogenes* ได้มากกว่า 3 log cycle

Rilla et al. (2003) ได้ศึกษาการยับยั้งเชื้อ *Clostridium tyrobutyricum* โดย *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* IPLA 729 ซึ่งผลิต nisin Z ได้ ส่วน *Clostridium tyrobutyricum* เป็นจุลินทรีย์ที่ทำให้เนยแข็งวิดิเอโก้ (Vidiago cheese) เกิดฟองช้า ทำการศึกษาโดยเปรียบเทียบเนยแข็ง 3 ชนิด คือ เนยแข็งที่ใช้เชื้อเริ่มต้นที่ไม่ผลิตไนซิน เนยแข็งที่ใช้เชื้อเริ่มต้นที่ผลิตไนซิน และเนยแข็งที่ใช้เชื้อเริ่มต้นทางการค้าพบว่าเนยแข็งที่ใช้เชื้อเริ่มต้นที่ผลิตไนซินมีจำนวนเชื้อ *Clostriduim tyrobutyricum* ลดลง 3 log cfu/g ส่วนเนยแข็งที่ใช้เชื้อเริ่มต้นทางการค้า และเชื้อเริ่มต้นที่ไม่ผลิตไนซินมีจำนวนเชื้อ *Clostriduim tyrobutyricum* เพิ่มขึ้นโดยคุณภาพของเนยแข็งทั้ง 3 ชนิดแทบไม่แตกต่างกันยกเว้นปริมาณสารให้กลิ่น และพบว่าเนยแข็งที่ใช้เชื้อเริ่มต้นที่ผลิตและไม่ผลิตไนซินจะให้มากกว่าตัวอย่างที่ใช้เชื้อเริ่มต้นทางการค้า

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาในอาหารอีกหลายชนิด รวมทั้งศึกษาการใช้โปรไบโอติกชนิดอื่นด้วย ตัวอย่างโปรไบโอติกที่ใช้ควบคุมจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์นมแสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 โปรไบโอติกที่ใช้ในการควบคุมจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์นม

| จุลินทรีย์กรดแลกติก | จุลินทรีย์ที่ทำให้เสื่อมเสียและ จุลินทรีย์ก่อโรค | สภาวะที่ใช้ | % การยับยั้ง |
|---|---|---|---|
| *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* | *Pseudomonas* spp. | นม 21 °ซ 24 ชั่วโมง | 99.9 |
| *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* | *Salmonella tennessee* | นม 30 °ซ 24 ชั่วโมง | 70.0 |
| *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* | *Staphylococcus aureus* | นม 30 °ซ 24 ชั่วโมง | 99.9 |
| *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* | *Clostridium perfringens* | นม 30 °ซ 24 ชั่วโมง | 99.0 |
| *Lactobacillus bulgaricus* | *Pseudomonas fragi* | นม 7 °ซ 24 ชั่วโมง | 99.9 |
| *Lactobacillus bulgaricus* | Gram-negative rods | นม 5 °ซ 10 วัน | 95.0 |
| *Lactobacillus bulgaricus* | Gram-negative rods | นม 5.5 °ซ 6 วัน | 82.0 |
| *Lactobacillus strains* C2 | *Pseudomonas putida* | นม 7 °ซ 48 ชั่วโมง | 90.0 |
| *Lactococcus lactis* | *Salmonella typhimurium* | นม 32 °ซ 6 ชั่วโมง | 93.4 |
| *Lactococcus lactis* | *Staphylococcus aureus* | นม 32 °ซ 6 ชั่วโมง | 98.6 |
| *Lactococcus cremoris* | *Listeria monocytogenes* | เนยแข็ง 10 ชั่วโมง | 99.9 |
| *Lactococcus thermophilus* | *Listeria monocytogenes* | โยเกิร์ต 45 °ซ 5 ชั่วโมง | 100.0 |
| *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* ร่วมกับ *Lactococcus lactis* | *Listeria monocytogenes* | นม 21 °ซ 15 ชั่วโมง | 98.0 |
| *Lactococcus* sp. | *Enterobacter aerogenes* | บัตเตอร์มิลค์ 7.2 °ซ 10 วัน | 95.0 |
| *Lactococcus* sp. | *Escherichia coli* | ครีมเปรี้ยว 7.2 °ซ 10 วัน | 99.0 |

ที่มา : Ray, 1992

### 4.2 ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์

ปัจจุบันมีการศึกษาพบว่า *Lactobacillus* และ *Pediococcus* จะช่วยยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เนื้อ แช่เย็นได้ดี เนื่องจากสามารถเจริญได้ในอุณหภูมิแช่เย็น และผลิตสารออกมายับยั้งจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ เช่น *L. monocytogenes* เป็นต้น (O'Sullivan et al., 2002)

Minor-Pérez et al. (2004) ได้ศึกษาการใช้จุลินทรีย์ *Lactobacillus alimentarius* และ *Staphylococcus carnosus* เป็นตัวควบคุมจุลินทรีย์ทางชีวภาพ ในเนื้อที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 และ 20 °ซ พบว่าจุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิด สามารถผลิตกรดได้มากกว่า 6 mg/g ซึ่งมีผลในการลดความเป็นกรด-ด่างของเนื้อลงได้มากกว่าตัวอย่างที่ไม่มีจุลินทรีย์เป็นตัวควบคุมจุลินทรีย์ทางชีวภาพ โดยการเก็บที่ 20 °ซ จะลดความเป็นกรด-ด่างได้ต่ำกว่าเมื่อเก็บที่ 4 °ซ และยังสามารถควบคุมจำนวนของจุลินทรีย์พวก Enterococci ได้ดีเมื่อเก็บที่ 20 °ซ และพบว่าความเข้มข้น

ของกรดไขมันสายยาวในเนื้อที่เก็บ 4 °ซ ไม่แตกต่างกัน แต่พบว่ากรดไขมันอิสระในตัวอย่างจะเพิ่มขึ้นเร็วเมื่อเก็บที่ 20 °ซ

Aymerich et al. (2002) พบว่า *Lactobacillus sakei* CTC494 และ *Enterococcus faecium* CTC492 สามารถยับยั้งการผลิตเมือกของ *Lactobacillus sakei* CTC746 ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูสไลด์ปรุงสุกบรรจุสุญญากาศได้ดีเมื่อใช้ร่วมกับแบคเทอริโอซินส์

Pidcock et al. (2002) ได้ศึกษาการใช้โปรไบโอติกยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค *Listeria monocytogenes* และ *E. coli* O111 ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกแห้ง (Hungarian salami) โดยเปรียบเทียบระหว่างสูตรที่ใช้เชื้อเริ่มต้นทางการค้ากับสูตรที่ใช้เชื้อเริ่มต้นทางการค้าร่วมกับโปรไบโอติกพบว่า มีโปรไบโอติก 5 สายพันธุ์ คือ *Lactobacillus acidophilus* LAFTI$^{TM}$L10, *L. paracasei* LAFTI$^{TM}$L26, *L. paracasei* 5119, *Lactobacillus* sp. L24 และ *Bifidobacterium lactis* LAFTI$^{TM}$B94 เหมาะในการใช้ควบคุมจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกแห้งได้ดีเนื่องจากสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคได้โดยไม่มีผลต่อ pH ของ batter และเหลือรอดตลอดกระบวนการหมัก

### 4.3 ผลิตภัณฑ์ปลา

Duffes et al. (1999) ได้ศึกษาพบว่า *Carnobacterium divergens* V41 และ *Carnobacterium piscicola* V41 มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้ง *L. monocytogenes* ในผลิตภัณฑ์ปลารมควันแช่เย็น และยังพบว่า *Carnobacterium divergens* V41 มีสมบัติในการยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* ส่วน *Carnobacterium piscicola* V1 นั้นมีสมบัติในการทำลายเซลล์ของ *L. monocytogenes* และ *Carnobacterium piscicola* SF668 สามารชะลอการเจริญของ *L. monocytogenes* ได้เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 8 °ซ และสามารถยับยั้งการเจริญได้เมื่อเก็บที่ 4 °ซ โดยไม่มีผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์

### 4.4 ผักและผลไม้

ปัจจุบันตามร้านสะดวกซื้อ และตามซุปเปอร์มาร์เกต มีการจำหน่ายสลัดบาร์ผักผลไม้กันมากขึ้นซึ่งง่ายต่อการปนเปื้อนอย่างมากเนื่องจากควบคุมอุณหภูมิยาก การหยิบจับ การบรรจุ ของทั้งพนักงานและผู้ซื้อ ซึ่งอาจทำให้จุลินทรีย์ปนเปื้อนได้ เช่น *L. monocytogenes* เป็นต้น

Cai et al. (1997) ได้ศึกษาการยับยั้ง *L. monocytogenes* ของ *Lactococcus lactis* strain HPB 1688 ซึ่งผลิต nisin Z ในสลัดผักโดยการถ่ายเชื้อลงไปพร้อมกับ *L. monocytogenes* เก็บที่อุณหภูมิ 7 และ 10 °ซ พบว่าจำนวน *L. monocytogenes* ลดลงถึง 10 เท่า หลังจากเก็บเป็นเวลา 10 วัน

Vescovo et al. (1995 cited in O'Sullivan, 2002) รายงานว่า *Lactobacillus casei* สามารถลดจำนวน Coliform หรือ Enterococci ได้ในผักพร้อมบริโภค ที่เก็บเป็นเวลา 3 วันที่อุณหภูมิแช่เย็น

## 5. ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต

เป็นที่ทราบกันดีว่าโยเกิร์ตเป็นอาหารสุขภาพที่มนุษย์บริโภคมาเป็นเวลานาน ปัจจุบันจึงนิยมผลิตกันมากทั้งในโรงงานนมขนาดใหญ่และขนาดเล็ก โยเกิร์ตเป็นผลิตภัณฑ์นมชนิดหนึ่งซึ่งผลิตจากนมที่หมักด้วยแบคทีเรียกรดแลกติกซึ่งเป็นโปรไบโอติกชนิดหนึ่ง สายพันธุ์ที่นิยมใช้หมักโยเกิร์ต ได้แก่ *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* และ *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* นอกจากโยเกิร์ตแล้วยังมีนมหมักอีกหลายชนิดซึ่งมีความแตกต่างกันไปตามชนิดของวัตถุดิบและชนิดของเชื้อเริ่มต้นที่ใช้ เช่น บัลกาเรียนมิลค์ หมักโดย *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* คีเฟอร์หมักโดย *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lb. acidophilus*, *Lb. kefir*, *Lb. kefiranofaciens*, *Lb. casei*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis/cremoris* และ *Candida* หรือ *Saccharomyces* คัลเจอร์บัตเตอร์มิลค์ผลิตจากบัตเตอร์มิลค์หมักด้วย *Lactococcus lactis* subsp.

*lactis*, *L. lactis* subsp. *cremoris*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* และ *L. lactis* subsp. *diacetylactis* เป็นต้น (พวงพร โชติไกร, 2542; สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545; Garbutt, 1997)

การผลิตโยเกิร์ตมีขั้นตอนดังนี้ (Garbutt, 1997)

1. เตรียมเชื้อเริ่มต้นโดยนำเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* และ *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* มาเติมลงในนมปลอดเชื้อ บ่มที่ 40-45 °ซ จนมีความเป็นกรด-ด่างประมาณ 4.2-4.5 แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4.5 °ซ

2. นำนมดิบมาผ่านกระบวนการพาสเจอไรซ์ จากนั้นเติมส่วนผสมต่าง ๆ ลงไป กวนให้เข้ากันพร้อมกับให้ความร้อนประมาณ 85 °ซ เป็นเวลา 30 นาที

3. ลดอุณหภูมิลงเท่าอุณหภูมิที่จะใช้บ่ม เติมเชื้อเริ่มต้นที่เตรียมไว้ลงไป 2-5% (v/v) บ่มที่ 30-45 °ซ เป็นเวลา 4-16 ชั่วโมง จนได้ความเป็นกรด-ด่างตามต้องการ ทำให้เย็น แต่งกลิ่นรส และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4.5 °ซ

ระหว่างกระบวนการผลิตโยเกิร์ตโดยใช้เชื้อผสม 2 ทั้งชนิดพบว่า *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* จะเจริญก่อนและผลิตคาร์บอนไดออกไซด์ และกรดฟอร์มิก มีผลให้ความเป็นกรด-ด่างลดลงซึ่งจะไปกระตุ้นให้ *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* เจริญและสร้างเป็ปไทด์ขนาดเล็ก รวมทั้งกรดอะมิโนจากเอนไซม์โปรติเนสซึ่งจะช่วยกระตุ้นการเจริญของ *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นดังกล่าวทำให้แบคทีเรียทั้งสองเจริญขึ้นอย่างรวดเร็ว เป็นผลให้กระบวนการหมักเกิดได้เร็ว เกิดกรดแลกติกและสารให้กลิ่นรสมากกว่าที่จะใช้เชื้อเพียงชนิดเดียว โดยโยเกิร์ตที่ได้มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 3.7-4.3 ค่าเปอร์เซ็นต์ความเป็นกรดเท่ากับ 0.8-1.8 อะซิทัลดีไฮด์ 20-40 ppm รวมทั้งไดอะเซทิลและกรดอะซิติกเล็กน้อย (Garbutt, 1997)

โยเกิร์ตที่บ่มในบรรจุภัณฑ์ที่ใช้จำหน่ายโดยตรงเรียกว่า set - type yoghurt ส่วนโยเกิร์ตที่บ่มก่อนแล้วจึงถ่ายลงบรรจุภัณฑ์เรียกว่า stirred - type yoghurt ปัจจุบันนิยมผลิต stirred-type yoghurt มากกว่า set - type yoghurt เนื่องจากควบคุมคุณภาพได้ง่ายกว่า แต่ความเสี่ยงด้านจุลินทรีย์จะมีมากกว่า จากการคน การปรุงแต่งกลิ่นรส และการถ่ายลงบรรจุภัณฑ์หลังการหมัก ปกติจุลินทรีย์ส่วนใหญ่จะถูกยับยั้งระหว่างกระบวนการหมัก แต่งานวิจัยหลายชิ้นบ่งบอกว่าจุลินทรีย์ก่อโรคบางชนิด เช่น *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* และ *Escherichia coli* O157:H7 สามารถเหลือรอดได้ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตและอาจเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคได้

### 6. *Escherichia coli* O157:H7

*Escherichia coli* เป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปแท่ง ปกติมักไม่ทำให้เกิดโรคในมนุษย์ โดยเป็นไมโครฟลอราในลำไส้ของสัตว์เลือดอุ่นทั่วไป แต่มีบางกลุ่มที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษได้ (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545; Garbutt, 1997) ได้แก่

1. Enteropathogenic *E. coli* (EPEC) ทำให้เกิดโรคโดยกลไกการเกาะติดกับเซลล์เนื้อเยื่อในลำไส้ เกิดการรวมตัวกับเยื่อเมือกและเจริญเพิ่มจำนวนในเยื่อเมือกของลำไส้ แล้วขับโปรตีนออกมายับยั้งการทำงานของเซลล์เม็ดเลือดขาวทำให้เกิดอาการท้องร่วง ซึ่งมักเกิดกับเด็กทารกอายุต่ำกว่า 1 ขวบ

2. Enteroinvasive *E. coli* (EIEC) ทำให้เกิดโรคโดยการเจาะเข้าไปในเซลล์ชั้นนอกของโฮสต์แล้วกระจายไปยังเซลล์ข้างเคียง มักอยู่ในลำไส้ใหญ่ ทำให้เกิดอาการท้องร่วงทั้งมีและไม่มีเลือดปน เกิดกับเด็กอ่อนและคนชรา

3. Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) ทำให้เกิดโรคจากการสร้างเอนเทอโรทอกซิน โดยแบคทีเรียจะเจริญในลำไส้เล็กพร้อมกับขับสารพิษออกมา ทำให้เกิดอาการท้องร่วง ไม่มีเลือดปน ถ่ายเหลวคล้ายอหิวาต์แต่รุนแรงน้อยกว่า มักเกิดกับนักเดินทาง จึงได้ชื่อว่าเป็นโรคท้องร่วงของนักเดินทาง

4. Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) ทำให้เกิดโรคเนื่องจากสารพิษที่เชื้อชนิดนี้ผลิตขึ้น ซึ่งเป็นสารพิษประเภทเวอโรทอกซิน (verotoxin) ทำให้เกิดอาการ Hemolytic uremic syndrome (HUS) ซึ่งเป็นอาการปัสสาวะเป็นเลือด ทำให้เกิดภาวะโลหิตจางเฉียบพลัน เกล็ดเลือดไม่แข็งตัว และอาจเกิดไตวายเฉียบพลันได้ และอาการ Hemorrhagic colitis (HC) ซึ่งเป็นโรคลำไส้ใหญ่อักเสบ มีอาการเลือดออกที่ทางเดินอาหารถ่ายเป็นเลือดสดหรือมีเลือดปน นอกจากนี้ยังมีอาการเลือดแข็งตัวในท่อไตและเลือดออกตามอวัยวะภายใน เนื่องจากขาดเกล็ดเลือดทำให้สมองถูกทำลาย ในเด็กอาจทำให้ไตพิการอย่างถาวรได้ (ไมตรี ปะการะสังข์ และคณะ, 2542; ปัทมา แดงชาติ, นงลักษณ์ พิสุทธิลาภ, 2543; สุมณฑา วัฒนสินธุ์ 2545; Garbutt, 1997)

*E. coli* O157:H7 เป็นจุลินทรีย์ก่อโรคชนิดหนึ่งจัดเป็น Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) ซึ่งก่อให้เกิดการเจ็บป่วยได้แม้มีจำนวนเพียงเล็กน้อย (Low Infective dose) มีรายงานว่า *E. coli* O157:H7 จำนวนเพียง 10-100 เซลล์ก็เพียงพอที่จะทำให้เกิดโรคได้ (Garbutt, 1997; FSIS, 1999) และสามารถเจริญได้ดีแม้จะมีเชื้อชนิดอื่นปนอยู่ด้วย (Garbutt, 1997) เชื้อชนิดนี้จะสร้างสารพิษเวอโรทอกซิน ซึ่งทำให้เกิดอาการ HUS และ HC ดังกล่าวข้างต้น (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545) มีรายงานการระบาดในหลายประเทศจากการบริโภคเนื้อสัตว์ นม สัตว์ปีก หรืออาหารทะเล ที่มีเชื้อชนิดนี้ปนอยู่ ในประเทศไทยพบในเนื้อวัวร้อยละ 8-28 นอกจากนี้ยังมีการศึกษาพบในอุจจาระวัวด้วย โดยพบว่ามีจำนวนร้อยละ 11-84 (Suthienkul et al., 1990) เป็นเชื้อที่สามารถเกิดการปนเปื้อนข้ามได้ ในอเมริกามีการปนเปื้อนในฟาร์มถึง 80%

*E. coli* O157:H7 มีรายงานการระบาดในหลายประเทศ ทั้งแคนาดา อเมริกา ญี่ปุ่น และประเทศในแถบยุโรป พบในผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิดได้แก่ ผลิตภัณฑ์เนื้อ ผักสด ผลไม้สด น้ำผลไม้ และผลิตภัณฑ์นม เช่น ไอศกรีม และโยเกิร์ต และมีรายงานว่าการบริโภคโยเกิร์ตที่มีเชื้อชนิดนี้อยู่สามารถทำให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคได้ (Morgan et al., 1993) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาหลายชิ้นที่บ่งชี้ว่า *E. coli* O157:H7 สามารถเหลือรอดในโยเกิร์ตได้เป็นเวลาหลายวัน เช่น

Ogwaro et al. (2002) พบว่า *E. coli* O157:H7 เหลือรอดได้อย่างน้อย 4 วันที่จำนวนเชื้อเริ่มต้น 5 log cfu/mL ใน African yoghurt ที่ทำการหมักและเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ

Govaris et al. (2002) ได้ศึกษาการเหลือรอดของ *E. coli* O157:H7 ในโยเกิร์ตที่ผลิตจากนมชนิดต่าง ๆ พบว่า *E. coli* O157:H7 สามารถเหลือรอดในโยเกิร์ตที่ผลิตจากนมวัวได้ 6-8 วันเมื่อมีการปนเปื้อนก่อนการหมักและเหลือรอดได้ 14-15 วันเมื่อมีการปนเปื้อนหลังการหมักที่จำนวนเริ่มต้น 6 log cfu/mL ส่วนโยเกิร์ตที่ผลิตจากนมแกะสามารถเหลือรอดได้ถึง 13 วันในตัวอย่างที่มีการปนเปื้อนก่อนหมัก และ 17 วันในตัวอย่างที่ปนเปื้อนหลังการหมัก

Massa et al. (2002) ได้ศึกษาการเหลือรอดของ *E. coli* O157:H7 ในโยเกิร์ต พบว่าเหลือรอดได้มากกว่า 7 วันที่จำนวนเริ่มต้น 3 และ 7 log cfu/ml ในโยเกิร์ต และ ไบโอเกิร์ต

Gulmez, Guven (2003) พบว่า *E. coli* O157:H7 สามารถเหลือรอดในโยเกิร์ตได้มากกว่า 10 วัน ที่มีจำนวนเชื้อเริ่มต้น 5 log cfu/ml โดยในวันที่ 10 จำนวน *E. coli* O157:H7 เหลือรอดประมาณ 1 log cfu/mL

จากรายงานข้างต้นจะเห็นว่า *E. coli* O157:H7 จะลดจำนวนลงจนไม่สามารถตรวจพบได้เร็วที่สุดอย่างน้อย 4 วัน ซึ่งผลิตภัณฑ์อาจถึงมือผู้บริโภคแล้ว จึงค่อนข้างเสี่ยงต่อความปลอดภัยของผู้บริโภคหากโยเกิร์ตนั้นมีการปนเปื้อนของเชื้อดังกล่าว แต่อย่างไรก็ตามมีงานวิจัยพบว่าโปรไบโอติกหลายชนิดที่ใช้ในนมหมักสามารถ

ลดจำนวน *E. coli* O157:H7 ได้ เช่นจุลินทรีย์จีนัส *Lactobacillus*, *Lactococcus* และ *Pediococcus* มีรายงานว่าสามารถยับยั้ง *E. coli* สายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรคได้ (Mossel et al., 1995)

Bredholt et al. (1999) พบว่าเชื้อผสมของแบคทีเรียแลกติกสามารถควบคุมการเจริญของ *E. coli* O157:H7 และ *Listeria monocytogenes* ได้ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมูและเนื้อหมูหั่นปรุงสุกบรรจุแบบสุญญากาศและบรรจุแก๊ส

Ogawa et al. (2001) ได้ศึกษาการยับยั้ง *E. coli* O157:H7 โดยใช้โปรไบโอติกจีนัส *Lactobacillus* พบว่า *Lactobacillus acidophilus* และ *Lactobacillus casei* strain Shirota สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* O157:H7 ได้ เมื่ออยู่ร่วมกันในอาหารเลี้ยงเชื้อ

Pidcock et al. (2002) พบว่า *Lactobacillus* sp. และ *Bifidobacterium lactis* สามารถยับยั้ง *E. coli* O111 ได้ ซึ่งเป็น EHEC เช่นเดียวกับ *E. coli* O157:H7 และสามารถจัดอยู่ในกลุ่ม Enteropathogenic *E. coli* (EPEC) ได้ด้วย

Ibrahim et al. (2003) พบว่า *Lactobacillus reuteri* มีสมบัติในการยับยั้ง *E. coli* O157:H7 ใน MRS ที่มีส่วนผสมของกลีเซอรอลได้ที่อุณหภูมิ 37 °ซ ภายในเวลา 8 ชั่วโมง และสามารถใช้ควบคุม *E. coli* O157:H7 ในอาหารได้

Kasimoglu, Akgün (2004) พบว่า *E. coli* O157:H7 ใน acidophilus yoghurt ลดจำนวนลงจนไม่สามารถตรวจพบได้ในเวลาที่น้อยกว่าโยเกิร์ตทั่วไปเนื่องจาก *Lactobacilllus acidophilus* ที่มีอยู่ใน Acidophilus Yoghurt สามารถยับยั้งเชื้อดังกล่าวได้

Gutiérrez-Méndez (2004) ได้ศึกษาการใช้แบคทีเรียแลกติกในการยับยั้ง *E. coli* O157:H7 โดยเลือกชนิดที่มีการใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นในผลิตภัณฑ์นม พบว่า *Lactobacillus acidophilus* และ *Lactobacillus casei* สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* O157:H7 และ *Staphylococcus aureus* ได้ดีกว่าโปรไบโอติกชนิดอื่นโดยสามารถยับยั้งได้ภายใน 24 ชั่วโมงที่ 24 °ซ ในหางนมผงคืนรูป

Timmermann et al. (2004) พบว่า *Lb. acidophilus*, *Lb. casei* และ *Lb. plantarum* สามารถลดจำนวน *E. coli* 0157:H7 ในระบบขับถ่ายของแกะได้

จากงานวิจัยข้างต้นจะเห็นว่าโปรไบโอติกหลายชนิดสามารถนำมาใช้ในการควบคุม *E. coli* O157:H7 ในโยเกิร์ตได้ โดยอาจทำการปรับปรุงผลิตภัณฑ์เดิม หรือสร้างผลิตภัณฑ์ใหม่ที่มีการนำเอาโปรไบโอติกชนิดต่างๆ มาใช้มากขึ้น เพื่อเพิ่มความมั่นใจและลดความเสี่ยงต่อผู้บริโภค