ผลของแบคทีเรียโปรไบโอติกต่อการยับยั้ง *Listeria monocytogenes* ในเนยแข็งมอสซาเรลล่า

(Effects of Probiotic Bacteria on *Listeria monocytogenes* Inhibition in Mozzarella Cheese)

ภานุวัฒน์ วิเชียรทอง (Panuwat vichainthong)* ดร.บวรศักดิ์ ลีนานนท์ (Dr.Borwonsak Leenanon)**

บทคัดย่อ

เนยแข็งมอสซาเรลล่าเป็นเนยแข็งชนิดนุ่ม ถูกใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตพิซซ่า งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาผลของแบคทีเรียโปรไบโอติก 3 ชนิด ได้แก่ *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1339, *Lactobacillus casei* TISTR 453 และ *Lactobacillus plantarum* TISTR 543ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Listeria monocytogenes* พบว่า *L. casei* TISTR 453 และ *L. plantarum* TISTR 543 มีผลในการยับยั้ง *L. monocytogenes* ได้สูงสุดโดยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแต่ยับยั้งได้มากกว่า *L. acidophilus* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จากนั้นได้เลือกเชื้อ *L. plantarum* TISTR 543 เพื่อศึกษาความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes* ในเนยแข็งมอสซาเรลล่า โดยได้จำลองระดับการปนเปื้อนของ *L. monocytogenes* 3 log CFU/g แล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°ซ เป็นเวลา 7 วัน โดยระหว่างการเก็บได้สุ่มตัวอย่างเนยแข็งมานับจำนวนเชื้อ *L. monocytogenes* ที่ระยะเวลา 0, 6, 24, 48, 72 ชั่วโมง และ 7 วัน ที่ระดับการปนเปื้อนดังกล่าวเชื้อ *L. monocytogenes* มีปริมาณเชื้อลดลงต่ำที่สุดที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง

ABSTRACT

Mozzarella cheese is a soft cheese used as ingredient for making pizza. This research was conducted to determine the effects of three types of probiotic bacteria including *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1339, *Lactobacillus casei* TISTR 453 and *Lactobacillus plantarum* TISTR 543 on growth inhibition of *Listeria monocytogenes*. It was found that *Lactobacillus casei* TISTR 453 and *Lactobacillus plantarum* TISTR 543 could inhibit *Listeria monocytogenes* the most but they were not significantly different ($p>0.05$) whereas they could inhibit significantly higher than *L. acidophilus* ($p \leq 0.05$). After that, *Lactobacillus plantarum* TISTR 543 was selected to determine the capability of *Listeria monocytogenes* inhibition in Mozzarella cheese via artificial contamination at 3 Log cfu/g and cheese samples were subsequently kept at 4°C for 7 days. Meanwhile, cheeses were sampled for *Listeria monocytogenes* enumeration after 0, 6, 24, 48, 72 hrs and 7 days. It was found that *Listeria monocytogenes* decreased to the lowest numbers after 72 hrs.

คำสำคัญ: ลิสทีเรีย โปรไบโอติก มอสซาเรลล่า

Keywords: *Listeria,* Probiotic, Mozzarella

** นักศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น*

*** รองศาสตราจารย์ สาขาวิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น*

บทนำ

เนยแข็งมอสซาเรลล่า (Mozzarella cheese) เป็นเนยแข็งชนิดนุ่ม สีขาว และไม่ผ่านการบ่ม ทำให้มีอายุการเก็บสั้น แต่เดิมมีต้นกำเนิดจากประเทศอิตาลี และทำจากน้ำนมควายแต่ในปัจจุบันนิยมทำจากน้ำนมวัว ลักษณะที่สำคัญประการหนึ่งของเนยแข็งชนิดนี้คือ ในกระบวนการผลิต เคิร์ดจะถูกยืดออกในน้ำร้อน ทำให้ได้ลักษณะเนื้อสัมผัสเรียบเนียนนิยมใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตพิซซ่า เนื่องจากเนยแข็งมอสซาเรลล่าเป็นเนยแข็งสดที่มีความชื้นสูง ในกระบวนการผลิตมีการใช้มือร่วมด้วยในขั้นตอนการยืดจึงมีความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนด้วยเชื้อก่อโรคต่างๆ เช่น *Staphylococcus aureus* และ *Listeria monocytogenes* ซึ่งเป็นเชื้อที่มักพบในผลิตภัณฑ์จากนมหลายชนิดรวมทั้งเนยแข็ง โดย *L. monocytogenes* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปท่อน ไม่สร้างสปอร์ เจริญได้ทั้งสภาวะที่มีและไม่มีอากาศ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญคือ 30-37 องศาเซลเซียส แต่มีรายงานว่าสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำคือ -0.4 องศาเซลเซียส (Walker et al., 2008) ทำให้อาหารที่เก็บที่อุณหภูมิตู้เย็นยังคงมีความเสี่ยงต่อเชื้อ *L. monocytogenes* โดยเฉพาะในกลุ่มอาหารพร้อมรับประทาน เช่น ผลไม้ตัดแต่ง ปลารมควัน รวมถึงผลิตภัณฑ์จากน้ำนม

ในปัจจุบันผู้บริโภคมีความกังวลเกี่ยวกับการใช้สารเคมีสังเคราะห์ในอาหารที่อาจมีผลต่อสุขภาพ ดังนั้นจึงคิดหาวิธีที่เป็นทางเลือกในการยืดอายุการเก็บทั้งวิธีทางกายภาพและทางเคมี ซึ่งรวมถึงการใช้สารจากธรรมชาติในการยับยั้งเชื้อก่อโรคและเชื้อที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสีย หนึ่งในวิธีดังกล่าวคือ การใช้สารออกฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียชนิดอื่นหรือแบคเทอริโอซิน (Bacteriocin) ทั้งนี้พบว่าแบคทีเรียหลายชนิดมีความสามารถหลั่งสารที่เป็นผลิตภัณฑ์จากกระบวนการเมตาบอลิซึม (metabolic products) ที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคได้ เช่น เชื้อ *L. monocytogenes* ตัวอย่างการใช้แบคเทอริโอซินเชิงการค้าได้แก่ ALTA® 2341 ซึ่งเป็นแบคเทอริโอซินในกลุ่ม pediocin ที่ใช้ในการยืดอายุการเก็บและยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์นม (Rodriguez et al., 2002)

วัตถุประสงค์การวิจัย

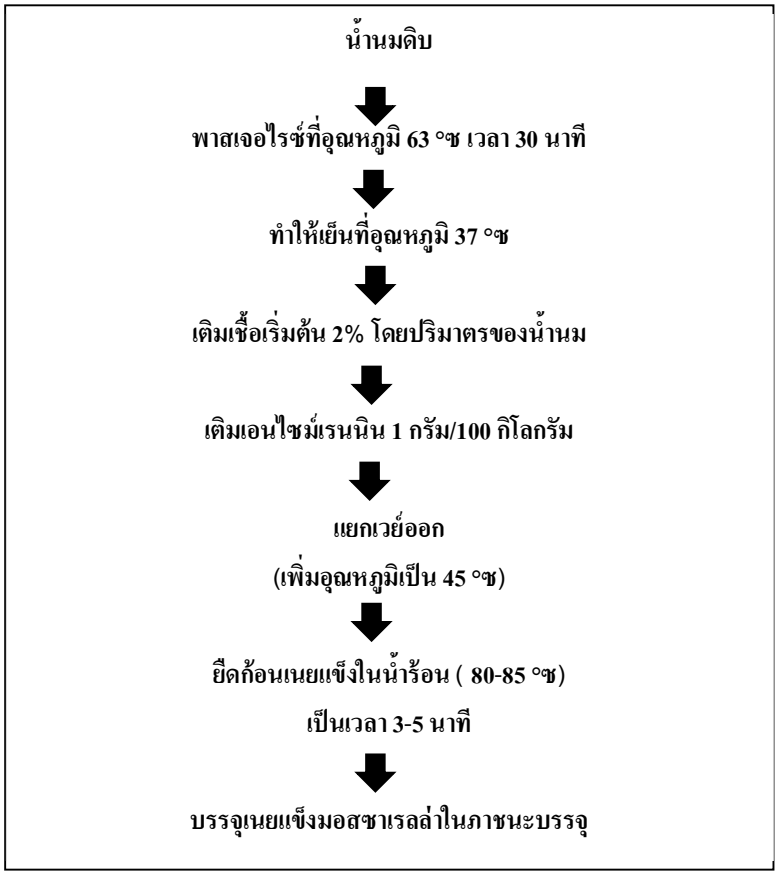
1. เพื่อศึกษาผลของ *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1339, *Lactobacillus casei* TISTR 453 และ *Lactobacillus plantarum* TISTR 543 ในการยับยั้งแบคทีเรีย *L. monocytogenes*
2. เพื่อศึกษาผลของแบคทีเรียโปรไบโอติกชนิดที่เหมาะสม ในการยับยั้งแบคทีเรีย *L. monocytogenes* ที่ระดับการปนเปื้อน 3 log CFU/g ในระหว่างการผลิตเนยแข็งมอซซาเรลล่า

วิธีการวิจัย

1. **การผลิตเนยแข็งมอสซาเรลล่า** (ดัดแปลงจาก Patel et al., 1986 และ Ghosh, Singh, 1996)

เริ่มต้นโดยการนำน้ำนมวัวดิบมาพาสเจอไรซ์ที่อุณหภูมิ 63±2 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที จากนั้นทำให้เย็นลงด้วยการแช่ในถังน้ำแข็งมาที่อุณหภูมิ 37±2 องศาเซลเซียส และเติมเชื้อเริ่มต้นคือ *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* และ *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* ซึ่งเป็น commercial starter ในอัตราส่วน 1:1 ที่ปริมาณ 2 % โดยปริมาตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37±2 องศาเซลเซียส จนกระทั่งพีเอชลดลงมาที่ 5.8 โดยใช้เวลาประมาณ 2 ชั่วโมง จากนั้นจึงเติมเอนไซม์เรนนิน (Rennet Type II from *Mucor miehei*)1 กรัม/น้ำนมดิบ 100 กิโลกรัม เพื่อตกตะกอนโปรตีนเคซีน แล้วแยกส่วนของเวย์ออกโดยการตัดเคิร์ดให้มีขนาดประมาณ1 ลูกบาศก์เซนติเมตร จากนั้น

เพิ่มอุณหภูมิเป็น 45±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที และนำเคิร์ดที่ได้ไปยืดด้วยมือ ในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 80±5 องศาเซลเซียส จนได้เป็นเนยแข็งมอสซาเรลล่า เนยแข็งที่ได้จะถูกเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส



รูปที่ 1 ขั้นตอนการผลิตเนยแข็งมอสซาเรลล่า

2. ศึกษาผลของ *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1339, *Lactobacillus casei* TISTR 453 และ *Lactobacillus plantarum* TISTR 543 ในการยับยั้งแบคทีเรีย *Listeria monocytogenes* (ดัดแปลงจาก Xiao et al., 2010)

แบคทีเรียโปรไบโอติกที่ใช้ในการประเมินกิจกรรมในการยับยั้ง *L. monocytogenes* นำมาจากห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางอาหารขั้นสูง ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น ซึ่งประกอบไปด้วย *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1339, *Lactobacillus casei* TISTR 453 และ *Lactobacillus plantarum* TISTR 543 โดยวิธีที่ใช้ในการศึกษาคือ paper disc diffusion (Sobrino et al., 1991) เพื่อคัดเลือกหาแบคทีเรียโปรไบโอติกชนิดที่มีผลในการยับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes* ได้สูงสุด

2.1 การเตรียมเชื้อโปรไบโอติก

2.1.1 นำเชื้อ *L. casei* TISTR 453, *L. acidophilus* TISTR 1339 และ *L. plantarum* TISTR 543 มาถ่ายลงในอาหาร MRS broth แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อ (subculture) อีกอย่างน้อยสามครั้ง เพื่อกระตุ้นให้เชื้อมีการเจริญเต็มที่และแข็งแรงสม่ำเสมอสำหรับใช้ในการทดลอง

2.1.2 ใช้ลูปถ่ายเชื้อจากข้อ 2.1.1 แล้ว streak ลงบน MRS agar slant จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง แล้วเก็บเชื้อที่เจริญแล้วไว้ที่อุณหภูมิต่ำสำหรับใช้เป็นเชื้อสำรอง (working stock culture)

2.2 การเตรียมเชื้อ *Listeria monocytogenes*

นำเชื้อ *L. monocytogenes* มาถ่ายลงในอาหาร TS broth นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อ (subculture) อย่างน้อยสามครั้งเพื่อกระตุ้นให้เชื้อเจริญเต็มที่และแข็งแรงสม่ำเสมอสำหรับใช้ในการทดลอง

2.3 การทดสอบความสามารถของแบคทีเรียโปรไบโอติกในการยับยั้ง *L. monocytogenes*

2.3.1 เพาะเลี้ยง *L. monocytogenes* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TS agar แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 ชั่วโมง

2.3.2 ถ่ายเชื้อแบคทีเรียโปรไบโอติก ได้แก่ *L. casei* TISTR 453, *L. acidophilus* TISTR 1339 และ *L. plantarum* TISTR 543 ซึ่งได้เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 2000×g เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นทิ้งส่วนใสแล้วเก็บส่วนที่เป็นตะกอนไว้

2.3.3 นำกระดาษปลอดเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 มิลลิเมตร วางบนจานเพาะเชื้อในข้อ 2.3.1 จากนั้นดูดเชื้อแบคทีเรียโปรไบโอติกในข้อ 2.3.2 ปริมาณ 100 ไมโครลิตร หยดลงบนกระดาษปลอดเชื้อข้างต้น

2.3.4 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส (clear zone) ด้วยไม้บรรทัดในหน่วยมิลลิเมตร (mm)

โดยเกณฑ์ที่ใช้ในการตัดสินคือ เลือกแบคทีเรียโปรไบโอติคชนิดที่ให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใสสูงสุด

แผนการทดลอง

ศึกษาโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design) ทรีตเมนต์ที่ศึกษา คือ แบคทีเรียโปรไบโอติกต่างชนิดกันจำนวน 3 ชนิด จากนั้นเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทรีตเมนต์โดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test และทำการทดลอง 2 ซ้ำ

3. ศึกษาผลของแบคทีเรียโปรไบโอติกชนิดที่เหมาะสม ในการยับยั้งแบคทีเรีย *L. monocytogenes* ที่ระดับการปนเปื้อน 3 log CFU/g ในระหว่างการผลิตเนยแข็งมอซซาเรลล่า (ดัดแปลงจาก Coelho et al., 2014)

นำเชื้อแบคทีเรียโปรไบโอติกชนิดที่มีผลในการยับยั้ง *L. monocytogenes* ได้ดีที่สุดในการทดลองข้อ 2 มาศึกษาผลของการยับยั้งในระหว่างการผลิตเนยแข็ง โดยการจำลองการปนเปื้อนของ *L. monocytogenes* ก่อนการบรรจุและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.1 เตรียมเชื้อ *L. monocytogenes* ที่ระดับ 3 log CFU/g โดยเจือจางกับ 0.85% NaCl จากนั้นดูดสารละลายที่ระดับการเจือจางข้างต้น 10 มิลลิลิตร มาผสมให้ทั่วเนยแข็งที่แบ่งเป็นก้อนน้ำหนักประมาณ 10 กรัม

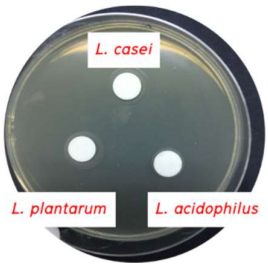
3.2 นำเชื้อแบคทีเรียโปรไบโอติกจากการทดลองที่ 2 ที่มีความสามารถในการยับยั้ง *L. monocytogenes* ได้ดีที่สุดในระดับปริมาณ 8 logCFU/mL โดยนำอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีการเจริญไปปั่นเหวี่ยงที่ 2000× g เป็นเวลา 10 นาที เก็บส่วนที่ตกตะกอนล้างกับสารละลาย 0.85% NaCl 2 ครั้ง เพื่อขจัดอาหารเลี้ยงเชื้อส่วนเกิน จากนั้นนำตะกอนผสมกับสารละลายเกลือ 0.85% NaCl 100 ไมโครลิตรแล้วผสมให้ทั่วเนื้อเนยแข็งในข้อ 3.1 ส่วนเนยแข็งกลุ่มควบคุม (control) จะมีเพียง *L. monocytogenes* เท่านั้น

3.3 นำตัวอย่างเนยแข็งทั้งหมด มาเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน โดยสุ่มตัวอย่างที่ 0, 6, 24, 48, 72 ชั่วโมง และ7 วันตามลำดับ และตรวจหาปริมาณเชื้อ *L. monocytogenes* โดยใช้เนยแข็งปริมาณ 10 กรัม เจือจางใน 0.85% NaCl 90 มิลลิลิตร ตีผสมให้เข้ากันแล้วเจือจางตามลำดับ จากนั้นนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PALCAM ซึ่งเป็น selective media ของเชื้อ *L. monocytogenes* แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

ผลการวิจัย

1. ผลของแบคทีเรียโปรไบโอติกต่างชนิดกัน ในการยับยั้งแบคทีเรีย *Listeria monocytogenes*

ผลของแบคทีเรียโปรไบโอติกทั้ง 3 ชนิด ในการยับยั้งเชื้อ *Listeria monocytogenes* ให้ผลดังตารางที่ 1 โดย *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1339 ให้ส่วนใสขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 12.33 มิลลิเมตร *L. casei* TISTR 453 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15.33 มิลลิเมตร และ *L. plantarum* TISTR 543 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 16.00 มิลลิเมตร ซึ่งจะเห็นได้ว่าเชื้อ *L. acidophilus* TISTR 1339 ให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า *L. casei* TISTR 453 และ *L. plantarum* TISTR 543 ($p \leq 0.05$) ในขณะที่ *L. casei* TISTR 453 และ *L. plantarum* TISTR 543 ให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) ในการทดลองครั้งนี้จึงเลือกใช้ *L. plantarum* TISTR 543 ในการยับยั้งเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในเนยแข็งมอสซาเรลล่า



รูปที่ 2 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส (clear zone) ในการยับยั้ง *Listeria monocytogenes* โดย *L. casei* TISTR 453, *L. plantarum* TISTR 543 และ *L. acidophilus* TISTR 1339

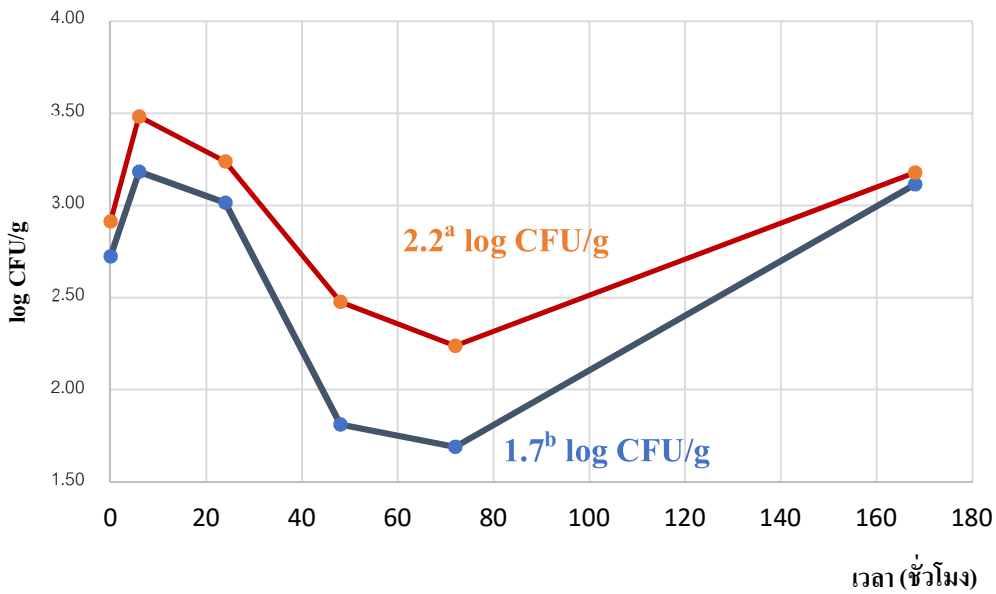
ตารางที่ 1 ชนิดของโปรไบโอติกและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส (มม.)ในการยับยั้ง *Listeria monocytogenes*

ชนิดของแบคทีเรียโปรไบโอติก	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส (มม.)
***Lactobacillus acidophilus* TISTR 1339**	**$12.33^{b} \pm 0.94$**
***Lactobacillus casei* TISTR 453**	**$15.33^{a} \pm 0.43$**
***Lactobacillus plantarum* TISTR 543**	**$16.00^{a} \pm 0.82$**

a, b ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

2. ผลของ *L. plantarum* ในการยับยั้ง *L. monocytogenes* ที่ระดับการปนเปื้อน 3 log CFU/g ในระหว่างการผลิตเนยแข็งมอซซาเรลล่า

เมื่อใช้ระดับการปนเปื้อนของเชื้อ *L. monocytogenes* 3 log CFU/g จะได้โปรไฟล์การเจริญของเชื้อแสดงดังรูปที่ 3 ซึ่งจะเห็นว่าเชื้อ *L. monocytogenes* เพิ่มขึ้นสูงสุดที่เวลาการเก็บ 6 ชั่วโมง ทั้งกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่มีการเติมเชื้อ *L. plantarum* TISTR 543 และค่อยๆลดต่ำลงจากชั่วโมงที่ 6 โดยพบว่าชั่วโมงที่ 72 ปริมาณเชื้อ *L. monocytogenes* กลุ่มควบคุมมีปริมาณ 2.2 log CFU/g และในกลุ่มทดลองที่มีการเติม *L. plantarum* TISTR 543 มีปริมาณเชื้อ *L. monocytogenes* 1.7 log CFU/g โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)



รูปที่ 3 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณเชื้อ *L. monocytogenes* ที่ระดับการปนเปื้อนประมาณ 3 log CFU/g ในระหว่างการเก็บเนยแข็งที่อุณหภูมิ 4 °ซ เป็นเวลา 7 วัน
(เส้นสีแดงแทนเนยแข็งที่การเติม *L. plantarum* TISTR 543 เส้นสีน้ำเงินแทนเนยแข็งกลุ่มควบคุม)

L. plantarum TISTR 543 ส่งผลในการยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* เนื่องจากความสามารถของเชื้อกลุ่มแบคทีเรียแลคติก ในการสร้างสารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียชนิดอื่น (Ammor et al., 2006) ในเบื้องต้นกลไกการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่ผลิตโดยแบคทีเรียแลคติกได้แก่ การสร้างกรดและส่งผลต่อการลดลงของพีเอช ซึ่งปริมาณและชนิดของกรดอินทรีย์ที่ผลิตในระหว่างการเจริญขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของแบคทีเรียแลคติกและสภาวะการเจริญ สำหรับสารต้านการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆมีหลายชนิด เช่น low-molecule-mass (LMM) compounds ได้แก่ Hydrogen peroxide (H_2O_2), Carbon dioxide (CO_2), diacetyl และ high-molecule-mass (HMM) ซึ่งเป็นสารจำพวกแบคเทอริโอซินที่สร้างขึ้น โดยแบคเทอริโอซินจัดเป็นสารธรรมชาติที่สร้างขึ้นจากแบคทีเรียหลายชนิดโดยมีผลต่อแบคทีเรียชนิดอื่น การใช้แบคเทอริโอซินจึงเป็นทางเลือกหนึ่งในการยืดอายุการเก็บทั้งยังเป็นการลดการใช้สารเคมีในอาหาร ดังจะเห็นได้ในงานวิจัยที่มีการใช้แบคเทอริโอซินในการควบคุมการเจริญของเชื้อ *L. monocytogenes* ในผลิตภัณฑ์เนยแข็ง (Bello et al., 2012; Liu et al., 2008; Ross et al., 1999)

การเจริญของเชื้อ *L. monocytogenes* ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สอดคล้องกับงานวิจัยของ Coelho et al. (2014) ที่มีการใช้แบคทีเรียโปรไบโอติกในการยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* ในเนยแข็งชนิดนุ่ม และเนื่องจากความสามารถในการเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำของ *L. monocytogenes* ส่งผลให้ปริมาณเชื้อค่อยๆเพิ่มสูงขึ้นในช่วงระยะหลังของการเก็บ ประกอบกับการเจริญของ *L. plantarum* TISTR 543 ซึ่งเป็นเชื้อที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิปานกลางทำให้กิจกรรมต่างๆของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 543 เกิดขึ้นได้ช้าหรือลดลงเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำ แต่ยังคงเห็นผลที่แตกต่างจากเนยแข็งที่ไม่มีการเติมเชื้อ *L. plantarum* TISTR 543 ซึ่งมีปริมาณเชื้อ *L. monocytogenes* สูงกว่าตลอดช่วงอายุการเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

เชื้อ *Lactobacillus plantarum* TISTR 543 เป็นเชื้อโปรไบโอติกที่ใช้ในการทดสอบการยับยั้งการเจริญของ *Listeria monocytogenes* ที่ระดับการปนเปื้อน 3 log CFU/g ในเนยแข็งมอสซาเรลล่าที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °ซ เป็นเวลา 7 วัน พบว่า *L. plantarum* TISTR 543 สามารถลดปริมาณเชื้อ *L. monocytogenes* ได้ต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่มีการเติมเชื้อ *L. plantarum* TISTR 543 โดยจากโปรไฟล์ของเชื้อพบว่า *L. monocytogenes* มีปริมาณสูงสุดและต่ำสุด ที่ชั่วโมงที่ 6 และ วันที่ 3 ตามลำดับ

กิตติกรรมประกาศ

ผม นายภานุวัฒน์ วิเชียรทอง ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. บวรศักดิ์ ลีนานนท์ ที่คอยให้คำปรึกษาและกำลังใจตลอดการดำเนินงานและขอขอบคุณครอบครัวที่คอยอยู่เคียงข้างเสมอมา

เอกสารอ้างอิง

Ammor S, Tauveron G, Dufour E, Chevallier I. Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small-scale facility 1-screening and characterization of the an tibacterial compounds. Food Control 2006; 17: 454-461.

Bello BD, Cocolin L, Zeppa G, Field D, Cotter PD, Hill C. Technological characterization of bacteriocin producing *Lactococcus lactis* strains employed to control *Listeria monocytogenes* in Cottage cheese. International Journal of Food Microbiology 2012; 153: 58-65.

Coelho MC, Silva CCG, Ribeiro SC, Dapkevicius MLNE, Rosa HJD. Control of *Listeria monocytogenes* in fresh cheese using protective lactic acid bacteria. International Journal of Food Microbiology 2014; 191: 53-59.

Ghosh BC, Singh S. A comparison of cow and buffalo milk Mozzarella cheese. Indian Journal of Dairy Science. 1996; 49: 38-41.

Liu L, O'Conner P, Cotter PD, Hill C, Ross RP. Controlling *Listeria monocytogenes* in Cottage cheese through heterologous production of enterocin A by *Lactococcus lactis*. Journal of Applied Microbiology 2008; 104: 1059-1066.

Patel GC, Vyas SH, Upadhyay KG. Evaluation of Mozzarella cheese made from buffalo milk using direct acidification technique. International Journal of Dairy Science 1986; 39: 394-403.

Rodriguez JM, Martinez MI, Kok J. Pediocin PA-1, a wide-spectrum bacteriocin from lactic acid bacteria. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 2002; 42: 91-121.

Ross RP, Galvin M, McAuliffe O, Morgan SM, Ryan MP, Twomey DP, Meaney WJ, et al. Developing applications for lactococcal bacteriocins. Antonie Van Leeuwenhoek 1999; 76: 337-346.

Sobrino OJ, Rodriguez JM, Moreira WL, Fernandez MF, Sanz B, Hernandez PE. Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from dry fermented sausages. International Journal of Food Microbiology 1991; 13: 1-10.

Walker S, Archer P, Banks J. Growth of *Listeria monocytogenes* at refrigeration temperatures. Journal of Applied Microbiology 2008; 68: 157-162.

Xiao HG, Jong MK, Hyang MN, Shin YP, Jae MK. Screening lactic acid bacteria from swine origins for multistrain probiotics based on in vitro functional properties. Anaerobe 2010; 16: 321-326.