บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

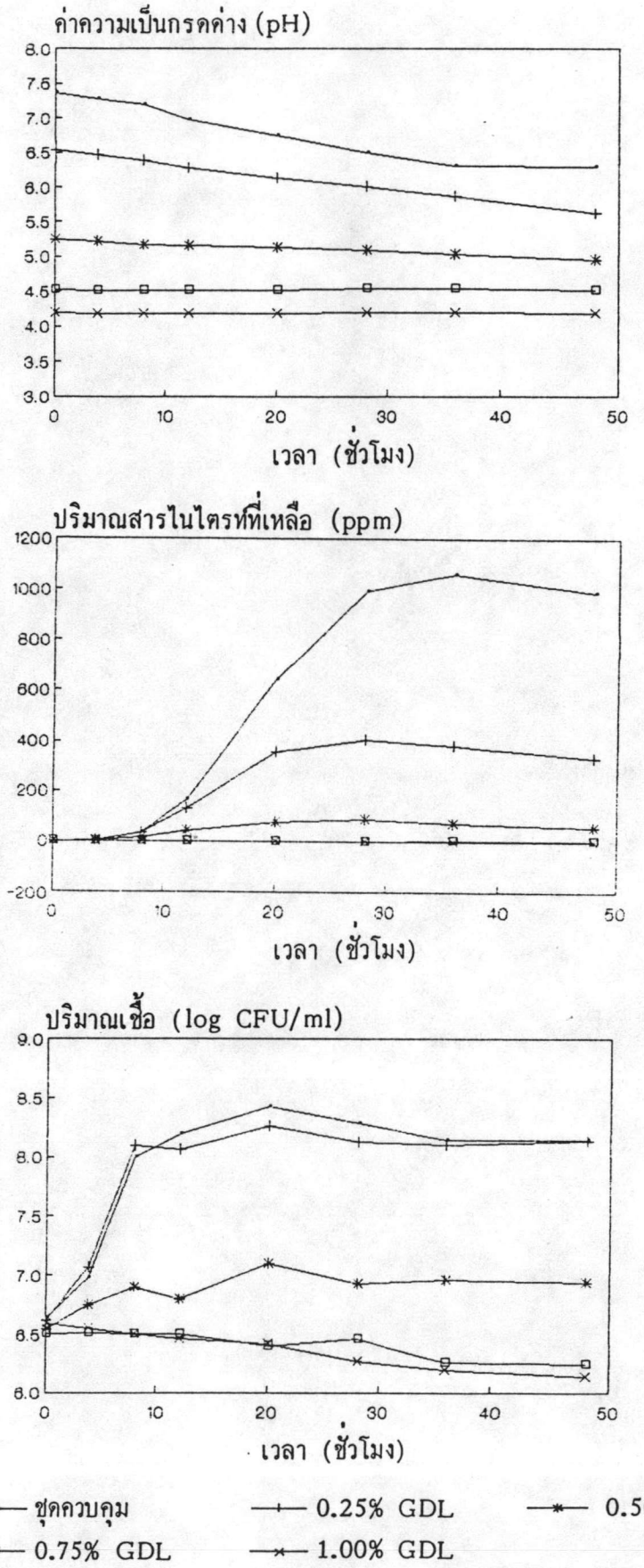
4.1 ศึกษาชนิดและปริมาณสารเคมีที่ให้ความเป็นกรดที่มีผลต่อหัวเชื้อแต่ละชนิด

สารเคมีที่ให้ความเป็นกรดในการศึกษานี้ได้แก่ Glucono delta lactone (GDL) และกรดแลคติค ซึ่งผลของสารเคมีที่มีต่อหัวเชื้อแต่ละชนิดมีดังนี้

4.1.1 ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของ GDL ที่มีผลต่อเชื้อ Micrococcus varians, Lactobacillus plantarum และ Pediococcus cerevisiae

เนื่องจาก M.varians เป็น nitrate reducing bacteria ที่สามารถเปลี่ยนสารไนเตรทให้เป็นสารไนไตรท์ ส่วน L.plantarum และ P.cerevisiae สามารถสร้างกรดแลคติคได้ในระหว่างที่มีการเจริญเติบโต จึงอาศัยกิจกรรมของเชื้อดังกล่าวในการคาดคะเนความสามารถในการอยู่รอดของเชื้อเมื่อในระบบมีสารเคมีที่ให้ความเป็นกรดที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ซึ่งผลของ GDL ต่อเชื้อ M.varians ดังแสดงในรูป 4.1

จากกราฟในรูป 4.1 พบว่า เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของ GDL จะมีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ M.varians ค่อนข้างมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อความเข้มข้นมากกว่าร้อยละ 0.50 ขึ้นไปซึ่งเมื่อพิจารณาการเจริญเติบโตของเชื้อดังกล่าวจะลดลงอย่างเห็นได้ชัดและจากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าสามารถแบ่งระดับความเข้มข้นของ GDL ที่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของ M.varians ออกได้เป็น 3 กลุ่ม (อย่างมีระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ $p \leq 0.05$) ได้แก่ กลุ่มระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.25 กับชุดควบคุม กลุ่มระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.50 และกลุ่มระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.75 และ 1.00 ดังตาราง ข.1 ในภาคผนวก ข ประกอบกับเมื่อพิจารณาความสามารถในการเปลี่ยนสารไนเตรทเป็นสารไนไตรท์ การเติม GDL ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.25 มีผลต่อประสิทธิภาพในการลดปริมาณสารดังกล่าวลงถึงร้อยละ 61.93 เมื่อเทียบกับปริมาณเริ่มต้นที่ตรวจพบ ในขณะที่เมื่อเพิ่มความ

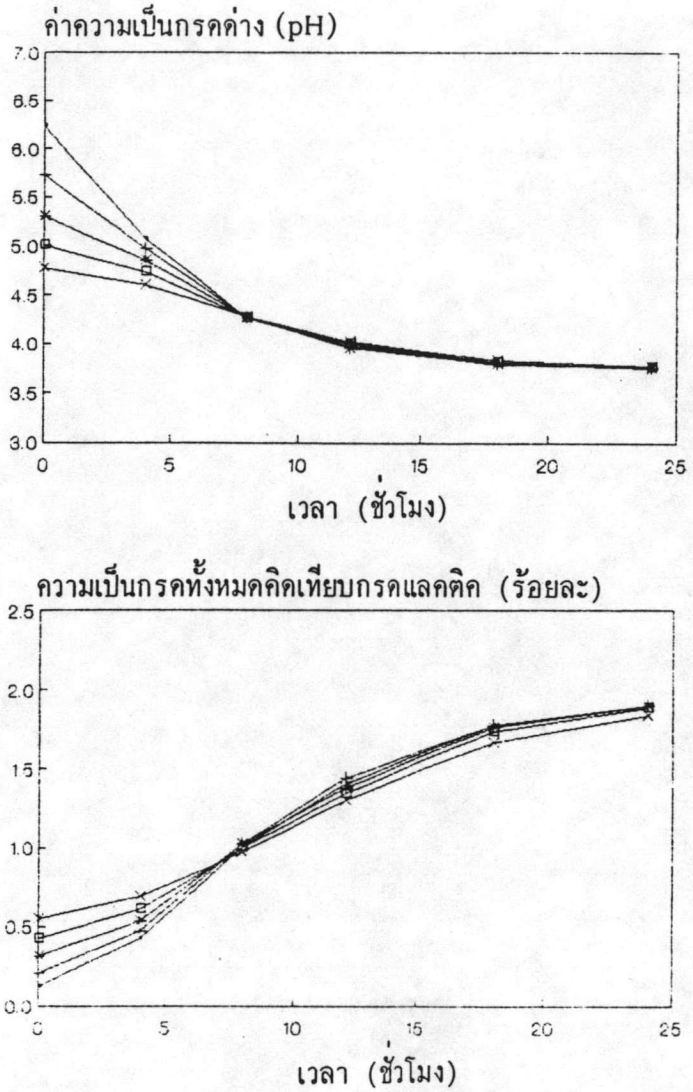


รูป 4.1 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ปริมาณสารไนไตรท์ที่เหลือ (residual nitrite) และปริมาณเชื้อ M.varians ใน 48 ชั่วโมง ของระบบที่มี GDL ในระดับความเข้มข้นต่างๆ

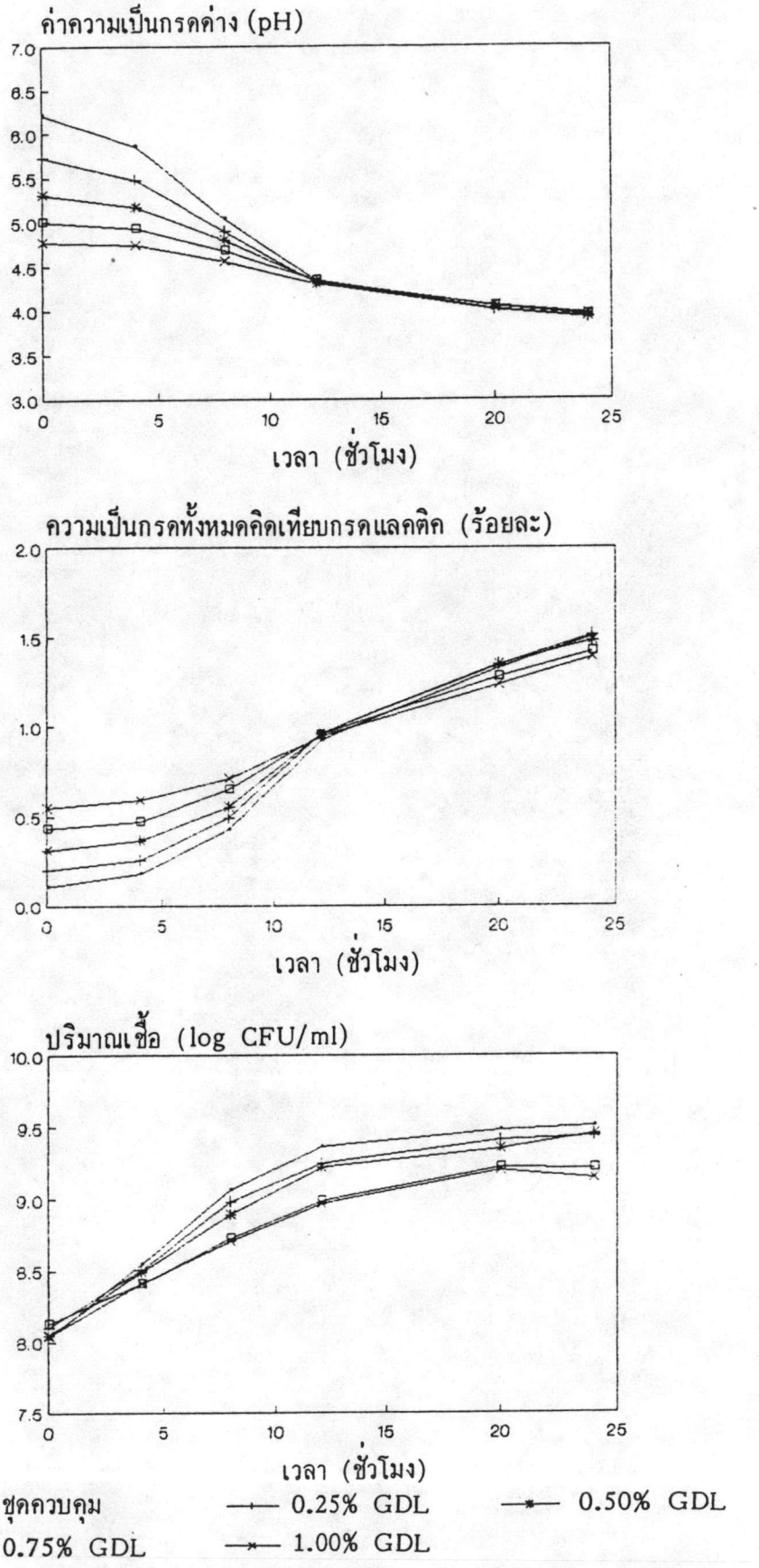
เข้มข้น GDL เป็นร้อยละ 0.50 ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนจะลดลงถึงร้อยละ 91.75 อย่างไรก็ตามปริมาณเชื้อ M.varians ที่มีชีวิตอยู่ยังคงเพิ่มขึ้นในช่วง 20 ชั่วโมงแรก และหลังจากนั้นปริมาณเชื้อจะค่อนข้างคงที่ ในกรณีที่มี GDL มากกว่าร้อยละ 0.50 ซึ่งนอกจากไม่มีการเปลี่ยนสารไนเตรทเป็นสารไนไตรท์อีกแล้ว ปริมาณเชื้อที่มีชีวิตอยู่ใน 48 ชั่วโมงยังลดลงด้วยอย่างเห็นได้ชัด แสดงว่าสารเคมีชนิดนี้มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ M.varians ดังนั้นถ้าต้องการนำสารดังกล่าวไปใช้ในผลิตภัณฑ์แหนม เพื่อประโยชน์ในด้านสี แต่มีปริมาณสารไนเตรทและสารไนไตรท์ที่เหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์ที่เหมาะสมนั้นควรเลือกใช้ในระดับที่มีผลกระทบต่อเชื้อน้อยที่สุด ซึ่งจากการทดลองนี้คือระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.25 เป็นระดับที่เหมาะสมที่สุด ส่วนปริมาณความเข้มข้นที่มากกว่านี้อาจมีผลต่อเชื้อ M.varians มาก จนเชื้อไม่สามารถทำกิจกรรมตามที่ต้องการได้

ในทางทฤษฎีนั้น ปริมาณความเข้มข้นของ GDL ที่เหมาะสมในการผลิตผลิตภัณฑ์แหนมไม่ควรมีผลกระทบต่อเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด หรือมีผลกระทบน้อยมากทั้งนี้เพื่อไม่ให้ระบบการหมักของผลิตภัณฑ์แหนมเปลี่ยนไป และเมื่อพิจารณาผลกระทบของ GDL ต่อเชื้อ L.plantarum และ P.cerevisiae พบว่าการเติม GDL ในช่วงความเข้มข้นร้อยละ 0.25 - 1.0 จะให้ค่า pH และความเป็นกรดทั้งหมดคิดเทียบกรดแลคติค ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p \leq 0.05$ ใน 12 ชั่วโมงแรก แต่เมื่อเวลาผ่านไป ค่า pH จะไม่แตกต่างกัน ดังกราฟในรูป 4.2 และ 4.3 (ตารางภาคผนวก ข.2(ก),(ข) และ ข.3(ก),(ข) ตามลำดับ)

สำหรับผลกระทบของ GDL ที่มีต่อปริมาณเชื้อ L.plantarum และ P.cerevisiae นั้น พบว่าเมื่อความเข้มข้นของ GDL เพิ่มขึ้นจะทำให้อัตราการเพิ่มจำนวนเซลมีแนวโน้มลดลง แต่ไม่มีผลกระทบต่อกิจกรรมต่างๆของเชื้อ แสดงว่าสามารถใช้ปริมาณ GDL ในผลิตภัณฑ์แหนมได้ทุกระดับความเข้มข้น แต่ในการผลิตจริงจำเป็นต้องอาศัยหัวเชื้อซึ่งประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรียถึง 3 ชนิดด้วยกัน ดังนั้นจำเป็นต้องคำนึงถึงเชื้อที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรดมากที่สุด ซึ่งในที่นี้ได้แก่เชื้อ M.varians เพราะถ้าความเข้มข้นของ GDL มากกว่าร้อยละ 0.50 แล้ว จะมีผลกระทบต่อกิจกรรมของเชื้อดังกล่าวข้างต้น นั่นคือในการผลิตผลิตภัณฑ์แหนม สามารถใช้สารเคมีที่ให้ความเป็นกรดซึ่งในที่นี้คือ GDL ได้ในระดับความเข้มข้นต่ำกว่าร้อยละ 0.50 ดังนั้นจึงใช้ในระดับร้อยละ 0.25 ซึ่งเป็นปริมาณที่เหมาะสมสำหรับการผลิตในการทดลองต่อไป



รูป 4.2 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ความเป็นกรดทั้งหมดคิดเทียบกรดแลคติคและปริมาณเชื้อ L. plantarum ใน 24 ชั่วโมง ของระบบที่มี GDL ในระดับความเข้มข้นต่างๆ

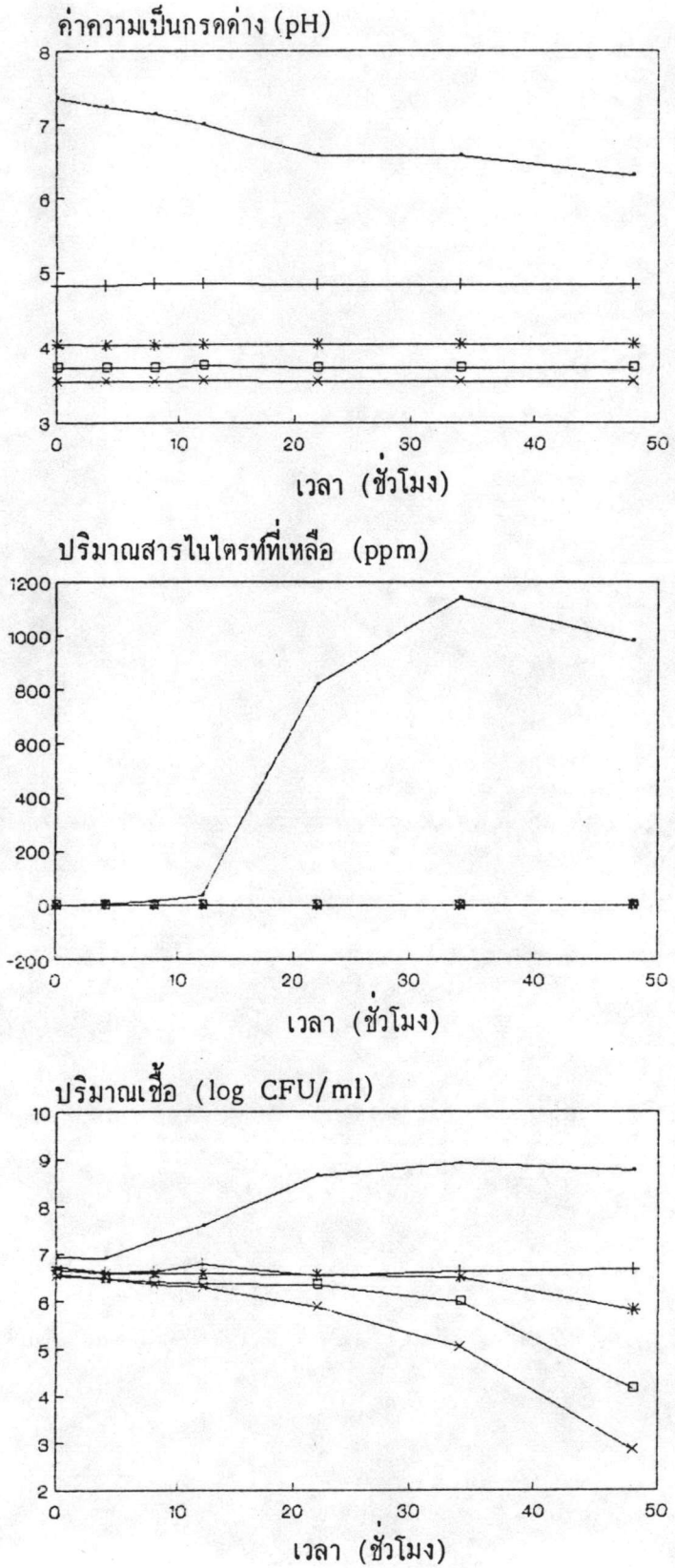


รูป 4.3 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ความเป็นกรดทั้งหมดคิดเทียบกรดแลคติคและปริมาณเชื้อ P. cerevisiae ใน 24 ชั่วโมง ของระบบที่มี GDL ในระดับความเข้มข้นต่างๆ

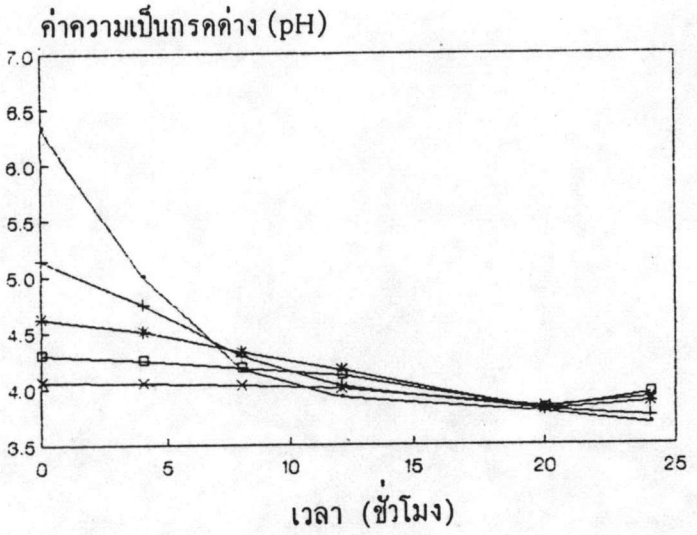
4.1.2 ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของกรดแลคติคที่มีผลต่อเชื้อ Micrococcus varians, Lactobacillus plantarum และ Pediococcus cerevisiae

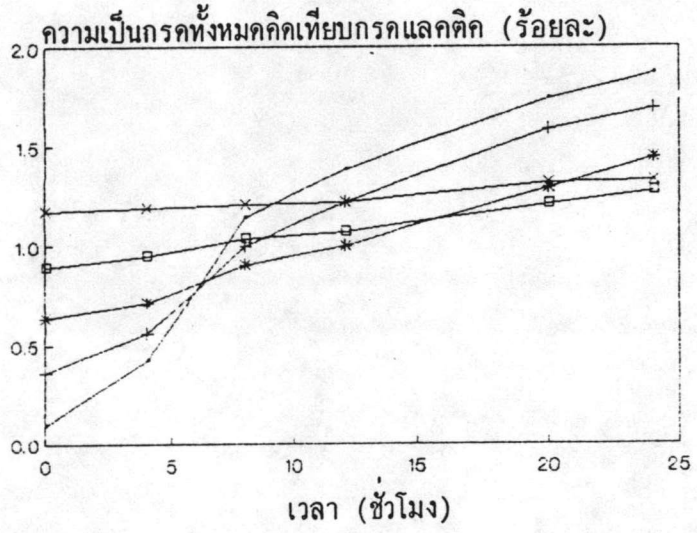
กรดแลคติคที่ใช้ในการทดลองมี 4 ระดับความเข้มข้นเช่นเดียวกับ GDL ได้แก่ร้อยละ 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.00 (โดยน้ำหนัก) เปรียบเทียบกับชุดควบคุมอีก 1 สิ่งทดลอง พบว่า กรดแลคติคที่ระดับความเข้มข้นเดียวกับ GDL จะมีความเป็นกรดทั้งหมดคิดเทียบกรดแลคติคมากกว่า ดังนั้นที่ระดับความเข้มข้นเดียวกันกรดแลคติคจึงมีผลกระทบต่อเชื้อทั้ง 3 ชนิดมากกว่า โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อ M.varians ซึ่งไม่ทนต่อสภาพที่มีความเป็นกรดสูง ดังกราฟในรูป 4.4

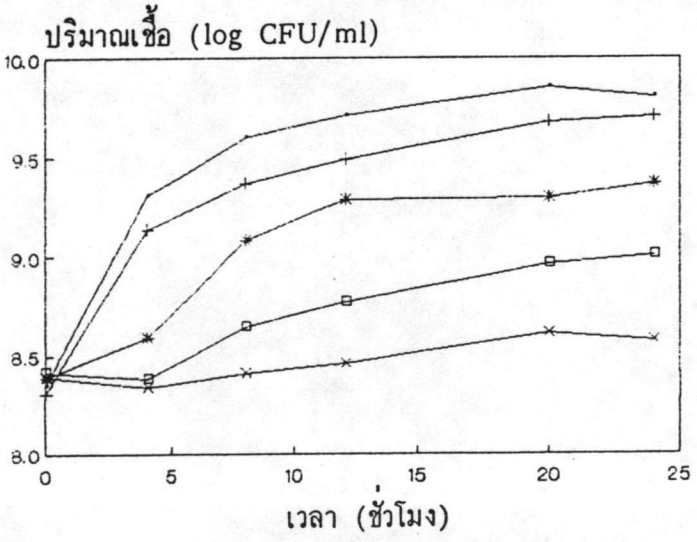
จากกราฟในรูป 4.4 พบว่ากรดแลคติคร้อยละ 0.25 สามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนและกิจกรรมในการเปลี่ยนสารไนเตรทเป็นสารไนไตรท์ของเชื้อ M.varians ในระบบของอาหารเลี้ยงเชื้อได้ และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกรดแลคติคขึ้น เชื้อบางส่วนจะตายไป ทำให้จำนวนที่ตรวจพบลดน้อยลง แสดงว่ากรดแลคติคที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ร้อยละ 0.25 ขึ้นไปไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์แหนม แต่เมื่อพิจารณาว่าในส่วนผสมของผลิตภัณฑ์แหนมนั้นมีลักษณะเป็นของแข็ง โอกาสที่กรดแลคติคจะแตกตัวให้ไฮโดรเจนอิออน (H^+) จะยากกว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งมีลักษณะเป็นสารละลาย หรืออาจใช้เวลาในการแตกตัวนานขึ้น จึงเป็นจุดที่ควรให้ความสนใจในการประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์แหนม เพราะถ้าค่าความเป็นกรดด่างของระบบยังไม่ลดต่ำมากนัก โอกาสการเปลี่ยนสารไนเตรทของเชื้อ M.varians อาจยังคงมีอยู่ อย่างไรก็ตาม ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.25 นี้มีผลต่อการเจริญของเชื้อ L.plantarum และ P.cerevisiae ด้วยเช่นกัน แต่เชื้อทั้งสองชนิดดังกล่าวยังสามารถทำกิจกรรมคือการผลิตกรดซึ่งเป็นผลให้ค่า pH ลดลง และความเป็นกรดทั้งหมดคิดเทียบกรดแลคติคเพิ่มขึ้นได้เมื่อเวลาผ่านไป (รูปที่ 4.5 และ 4.6) กล่าวคือเมื่อเวลาการหมักผ่านไป 24 ชั่วโมง L.plantarum สามารถสร้างกรดได้ถึงร้อยละ 1.69 คิดเทียบกรดแลคติค และ P.cerevisiae สามารถสร้างได้ประมาณร้อยละ 1.33 อย่างไรก็ตาม แม้ว่าเชื้อดังกล่าว สามารถเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนได้ ที่ระดับความเข้มข้นของกรดแลคติคมากกว่าร้อยละ 0.25 แต่กิจกรรมการสร้างกรดของเชื้อเหล่านั้นจะลดลงอย่างเห็นได้ชัดเจน

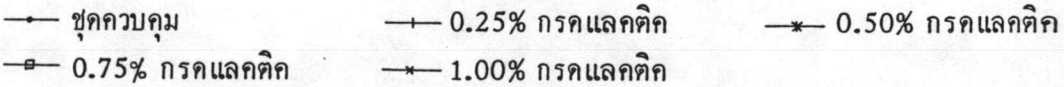


รูป 4.4 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ปริมาณสารไนไตรท์ที่เหลือ (residual nitrite) และปริมาณเชื้อ M. varians ใน 48 ชั่วโมง ของระบบที่มีกรดแลคติคในระดับความเข้มข้นต่างๆ

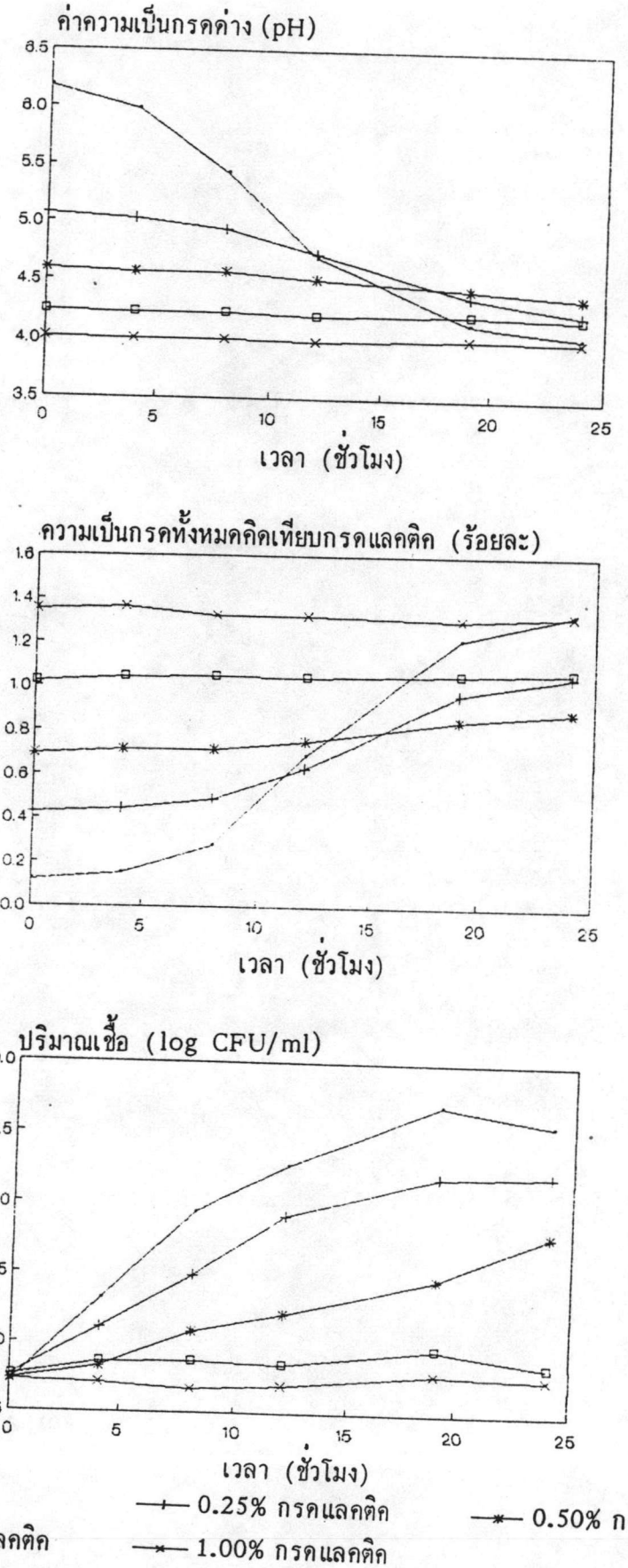








รูป 4.5 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ความเป็นกรดทั้งหมดคิดเทียบกรดแลคติค และปริมาณเชื้อ L.plantarum ใน 24 ชั่วโมง ของระบบที่มีกรดแลคติคในระดับความเข้มข้นต่างๆ



รูป 4.6 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ความเป็นกรดทั้งหมดคิดเทียบกรดแลคติค และปริมาณเชื้อ P.cerevisiae ใน 24 ชั่วโมง ของระบบที่มีกรดแลคติคในระดับความเข้มข้นต่างๆ

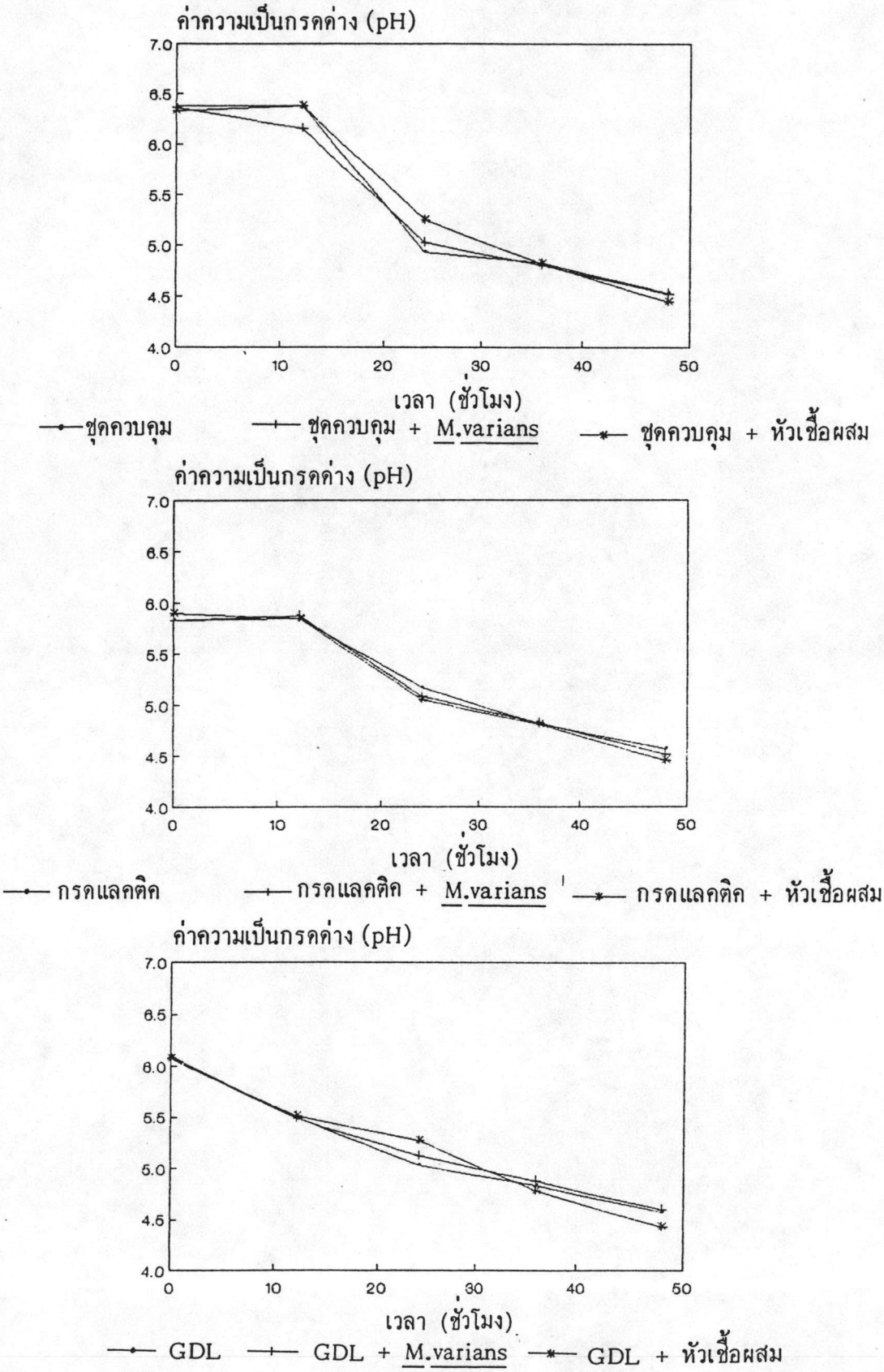
การทดลองในส่วนที่ 1 นี้ต้องการศึกษาถึงชนิดและปริมาณที่เหมาะสมของสารเคมีที่ให้ความเป็นกรด และจากการทดลองดังกล่าวข้างต้นสามารถระบุได้ว่าในระบบของอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งเป็นสารละลาย สารเคมีที่ให้ความเป็นกรดที่เหมาะสมคือ GDL ในปริมาณร้อยละ 0.25 ส่วนกรดแลคติคนั้น จะมีความเหมาะสมต่อการนำมาประยุกต์ใช้เป็นสารให้ความเป็นกรดในผลิตภัณฑ์ได้ไม่ดีเท่าที่ควร แต่อย่างไรก็ตาม กรดแลคติคจะถูกนำมาใช้ในการทดลองส่วนที่ 2 ในปริมาณร้อยละ 0.25 ด้วยเช่นกัน เพื่อใช้เปรียบเทียบกับการใช้ GDL เมื่ออยู่ในระบบของผลิตภัณฑ์แหนมจริง

4.2 ศึกษาการใช้สารเคมีที่ให้ความเป็นกรดในปริมาณที่เหมาะสมและหัวเชื้อผสมในผลิตภัณฑ์แหนม

จากการทดลองในส่วนที่ 1 สรุปได้ว่า ปริมาณสารเคมีที่ให้ความเป็นกรดที่เหมาะสมในการนำมาประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์แหนมคือ GDL และกรดแลคติค ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 ซึ่งจะเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ใช้สารเคมีที่ให้ความเป็นกรดใดๆ และเปรียบเทียบในด้านหัวเชื้อผสมด้วยเพื่อศึกษาว่าถ้าในระบบมีสารเคมีที่ให้ความเป็นกรดแล้ว จำเป็นหรือไม่ที่จะใช้หัวเชื้อผสมในผลิตภัณฑ์ หรือใช้เฉพาะ nitrate reducing bacteria ในการเปลี่ยนสารไนเตรทในระบบให้เป็นสารไนไตรท์เพื่อประโยชน์ด้านสีของผลิตภัณฑ์เท่านั้น ซึ่งในการคัดเลือกสิ่งทดลองที่ดีที่สุดนี้จะคำนึงถึงสมบัติ 4 ด้านคือ การเปลี่ยนแปลงทางเคมีได้แก่ ค่า pH และความเป็นกรดทั้งหมดคิดเทียบกรดแลคติคของผลิตภัณฑ์ การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ ได้แก่ ค่าแรงกด แรงตัดขาด และสีของผลิตภัณฑ์ซึ่งจะเกี่ยวข้องกับปริมาณสารไนเตรทและสารไนไตรท์ ในด้านความปลอดภัยในการบริโภค จะพิจารณาจากปริมาณเชื้อในกลุ่ม Enterobacteriaceae ปริมาณเชื้อ Staphylococcus aureus และ Salmonella sp. ซึ่งเป็นเชื้อที่ให้โทษแก่ร่างกายและสามารถตรวจพบได้ในเนื้อสุกรดิบ รวมไปถึงพิจารณาการยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์ดังกล่าวด้วย สำหรับลักษณะต่างๆ ที่ใช้ประกอบการพิจารณาข้างต้นมีรายละเอียดดังนี้

4.2.1 การเปลี่ยนแปลงทางเคมี

พิจารณาการเปลี่ยนแปลง pH ของผลิตภัณฑ์ (รูป 4.7) พบว่าในชุดที่ใช้กรดแลคติคจะมีค่า pH เริ่มต้นต่ำกว่าชุดที่ใช้ GDL และชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p \leq 0.05$ (ตารางภาคผนวก ข.4) แต่แนวโน้มการลดลงจะแตกต่างกัน โดยชุดที่ใช้กรดแลคติคและชุด

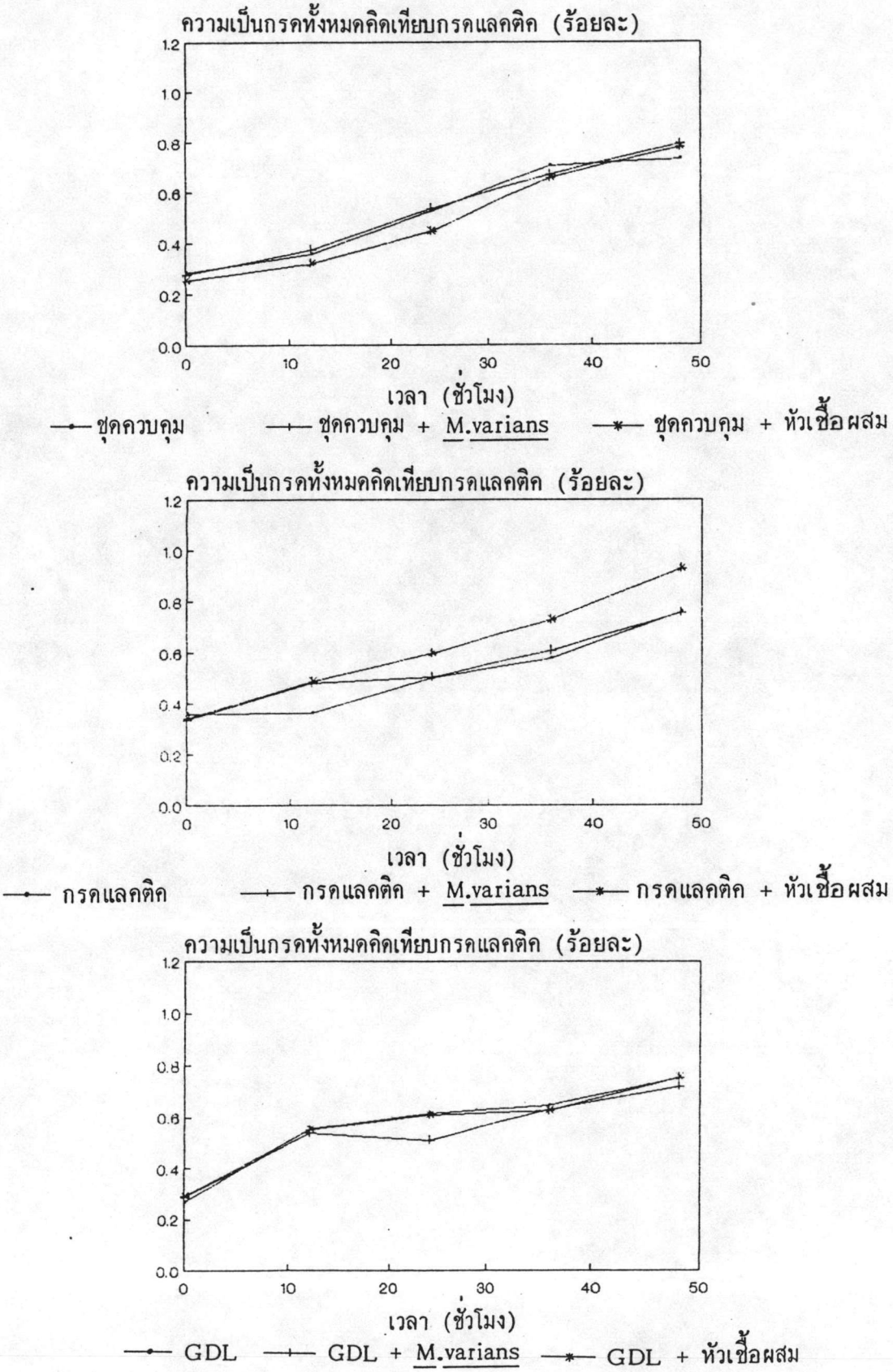


รูป 4.7 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ของผลิตภัณฑ์แหนมในช่วงเวลา 48 ชั่วโมง

ควบคุมจะมีการลดลงอย่างช้าๆใน 12 ชั่วโมงแรกของการหมักและลดลงค่อนข้างเร็วในช่วงถัดมาที่ 12-24 ชั่วโมง ส่วนชุดที่ใช้ GDL นั้นจะค่อยๆลดลง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะการแตกตัวของ GDL ที่เกิดขึ้นทีละน้อย แต่อย่างไรก็ตามในชั่วโมง ที่ 24 ของการหมัก พบว่าไม่มีความแตกต่างของค่า pH ในทุกสิ่งทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ซึ่งเป็นไปทำนองเดียวกันกับชั่วโมงที่ 36 และ 48 หากแต่ค่า pH นั้นยังลดลงเรื่อยๆ จนอยู่ในช่วง 4.4-4.6 ที่เวลาการหมักสุดท้าย (48 ชั่วโมง) เหตุที่การเปลี่ยนแปลงไม่แตกต่างกันในทุกสิ่งทดลองในช่วงท้ายของการหมักอาจเป็นเพราะในผลิตภัณฑ์แหนมมีระบบบัฟเฟอร์ทำให้ค่า pH ไม่สามารถลดต่อกว่านี้ได้อีก (Bacus, 1984) การลดลงของค่า pH ในสิ่งทดลองที่ใช้ GDL นี้สอดคล้องกับการทดลองของ Maijala และคณะ (1993) ที่ได้ทดลองใช้ GDL ในเนื้อบดที่บรรจุในถุงพลาสติคปิดสนิท ซึ่งพบว่า GDL ร้อยละ 0.5 จะช่วยลดค่า pH ลงเรื่อยๆ จาก 5.4 เป็น 5.1 ในช่วงเวลาการหมัก 3 วัน และจากการทดลองของ Pisanu Vichiensanth (1982) พบว่าการใช้ GDL ในไส้กรอกเปรี้ยวของไทย จะให้ค่า pH เริ่มต้นประมาณ 6.2 และลดลงเป็น 5.0 เมื่อเวลาการหมักผ่านไปประมาณ 8 ชั่วโมง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองนี้เช่นกัน

สำหรับค่าความเป็นกรดทั้งหมดคิดเทียบกรดแลคติคพบว่า สิ่งทดลองที่ใช้กรดแลคติคจะมีค่าดังกล่าวที่เวลาเริ่มต้นของการหมักสูงกว่าของชุดที่ใช้ GDL และชุดควบคุม และหลังจากนั้นจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆในทุกสิ่งทดลองจนเมื่อสิ้นเวลาการหมักที่ 48 ชั่วโมง ทุกสิ่งทดลองจะมีค่าความเป็นกรดทั้งหมดประมาณร้อยละ 0.7-0.9 ดังกราฟในรูปที่ 4.8 และเป็นที่น่าสังเกตว่าสิ่งทดลองที่ใส่ GDL จะมีค่าความเป็นกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 12 ชั่วโมงแรกของการหมัก ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเกิดการแตกตัวของ GDL เป็นกรดกลูโคนิคมากในช่วงนี้ทำให้สามารถทำปฏิกิริยากับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ได้ในปริมาณมากขึ้น ค่าความเป็นกรดทั้งหมดจึงมากขึ้นด้วย ซึ่งสอดคล้องกับค่า pH ที่ลดลงมากในช่วงแรกเช่นกัน

เนื่องจากผลิตภัณฑ์แหนมทำมาจากเนื้อสุกรดิบ ดังนั้นการลดลงของค่า pH หรือการเพิ่มขึ้นของค่าความเป็นกรดทั้งหมดที่รวดเร็วในช่วงต้นของการหมัก จะช่วยหน่วงการเจริญเติบโต ตลอดจนการสร้างสารพิษของเชื้อจุลินทรีย์ที่ให้โทษต่างๆ ได้ อาทิเช่น จุลินทรีย์พวก Salmonella sp. และ S.aureus ที่มี pH ต่ำสุดในการเจริญเติบโตที่ 4.05 และ 4.60 ตามลำดับ (Bacus and Brown, 1981) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง S.aureus ที่สามารถแบ่งตัวและสร้าง enterotoxin ได้ในช่วงเริ่มต้นของการหมัก (Barber and Deibel,



รูป 4.8 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดทั้งหมดคิดเทียบกรดแลคติค ของผลิตภัณฑ์แหนม ในช่วงเวลา 48 ชั่วโมง

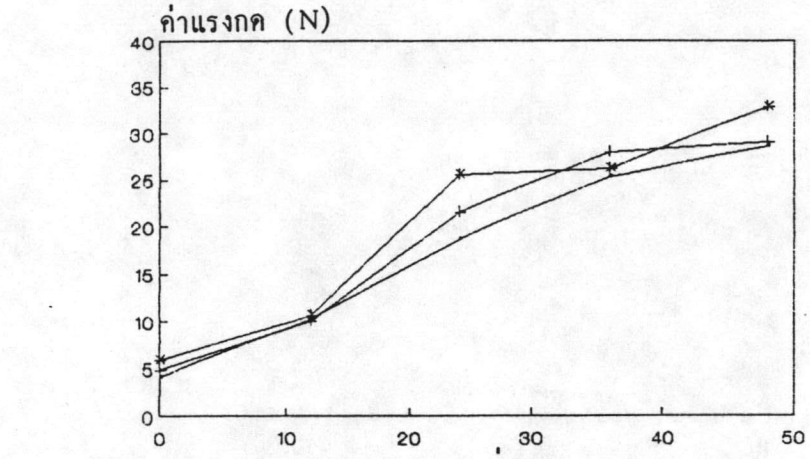
1972; Lee et al., 1977) ซึ่ง enterotoxin ของเชื้อดังกล่าวจะมีผลต่อระบบทางเดินอาหาร โดยจะทำให้เกิดกาซในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก มีผลต่อระบบประสาทส่วนกลาง ทำให้เกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน และท้องเสียรุนแรงแต่ไม่ถึงกับเสียชีวิต ทั้งนี้สารพิษดังกล่าวไม่มีผลต่อลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์ ดังนั้นถ้าพิจารณาเฉพาะ pH และค่าความเป็นกรดทั้งหมด สิ่งทดลองที่ดีที่สุดในการทดลองนี้ คือสิ่งทดลองที่ใช้ GDL ร่วมกับหัวเชื้อผสม เพราะนอกจากจะมีการลดลงของ pH อย่างรวดเร็วแล้ว ยังให้ค่า pH ที่ต่ำที่สุดคือ 4.43 ในผลิตภัณฑ์สุดท้ายด้วย หลังจากการหมักผ่านไปได้ 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

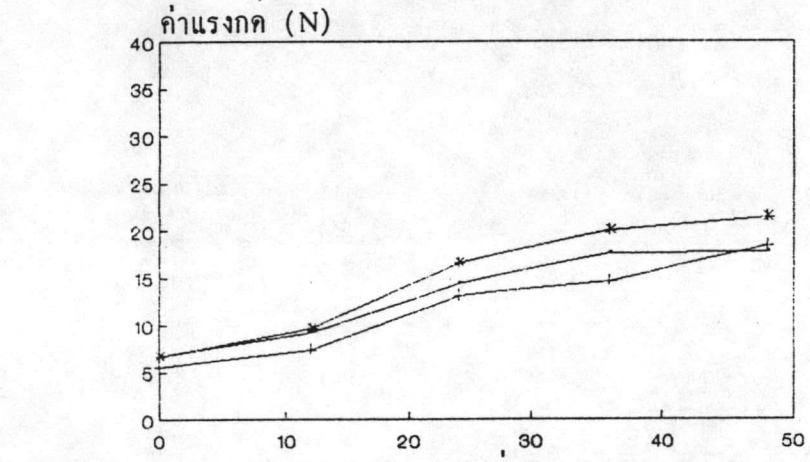
4.2.2 การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ

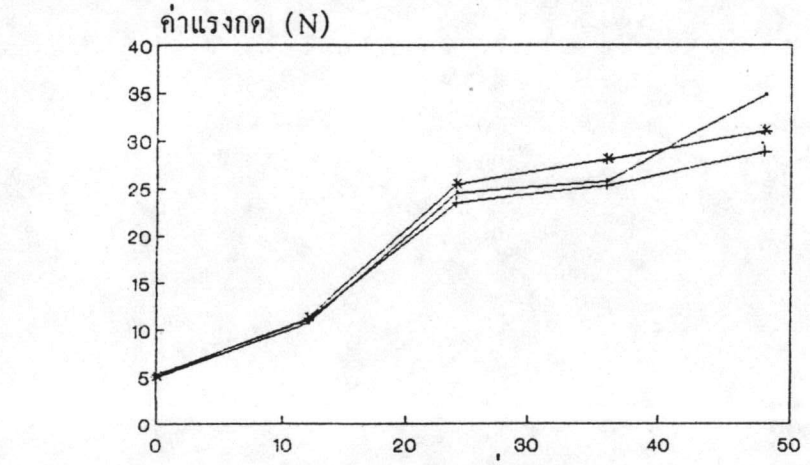
การเปลี่ยนแปลงทางภายภาพของผลิตภัณฑ์แหนมระหว่างการหมักนี้ ได้ตรวจวัดสมบัติ 2 ประการคือการเปลี่ยนแปลงค่าแรงที่ใช้ในการกด แรงที่ใช้ในการตัดผลิตภัณฑ์ให้ขาด (compression force และ shear force) และการเปลี่ยนแปลงสีของผลิตภัณฑ์ ดังรายละเอียดต่อไปนี้

- การเปลี่ยนแปลงค่าแรงกดและแรงตัดขาด

แรงกด เป็นแรงที่แสดงให้เห็นถึงลักษณะการเกาะตัวกันของส่วนผสมในผลิตภัณฑ์แหนม ซึ่งถ้าผลิตภัณฑ์มีการเกาะตัวกันอย่างหลวมๆ ค่าแรงกดที่วัดได้จะน้อย ในทางกลับกันถ้าผลิตภัณฑ์มีการเกาะตัวกันมากหรือเหนียวแน่น ค่าแรงกดดังกล่าวจะมีค่ามากด้วย ซึ่งจากผลการทดลองในกราฟรูป 4.9 พบว่าที่เวลาเริ่มต้นของการหมัก ค่าแรงกดของทุกสิ่งทดลองจะมีค่าน้อยประมาณ 5-7 นิวตัน(N) เท่านั้น และเมื่อเวลาการหมักผ่านไป ค่าแรงกดดังกล่าวจะเพิ่มมากขึ้น โดยที่ 48 ชั่วโมงของการหมักพบว่า ชุดควบคุมและสิ่งทดลองที่ใช้ GDL มีค่าแรงกดสูงกว่าสิ่งทดลองที่ใช้กรดแลคติคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p \leq 0.05$ ดังตารางภาคผนวก ข.5 ซึ่ง Niinivaara และ Pohja (1954 quoted in Bacus, 1984) กล่าวว่า เกลือที่ใช้เป็นส่วนผสมในเนื้อหมักจะมีผลต่อการอุ้มน้ำของเนื้อ โดยจะทำให้ค่า isoelectric point ของ myofibrillar proteins ในเนื้อลดลง และเมื่อ pH ของระบบการหมักลดต่ำลงจนใกล้ค่า isoelectric point นั้น ความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อดังกล่าวจะลดลงด้วย น้ำจึงถูกปล่อยออกมาอยู่ในส่วนผสมมากขึ้น ผลิตภัณฑ์จึงมีลักษณะนิ่ม โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสิ่งทดลองที่ใช้กรดแลคติคซึ่งจะมี pH เริ่มต้นที่ต่ำกว่าสิ่งทดลองอื่นๆ จึงมีผลให้ค่าแรงกดมีค่าน้อย





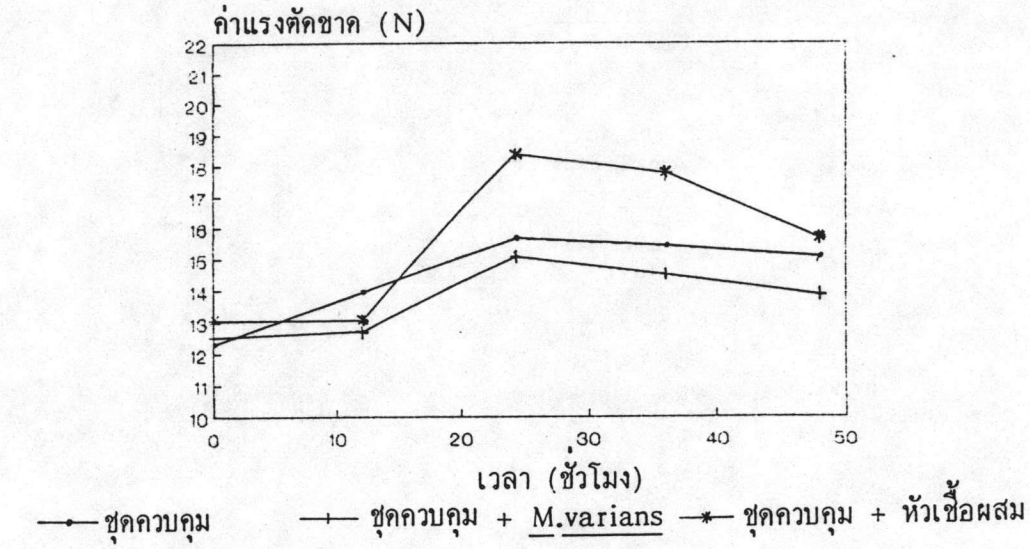


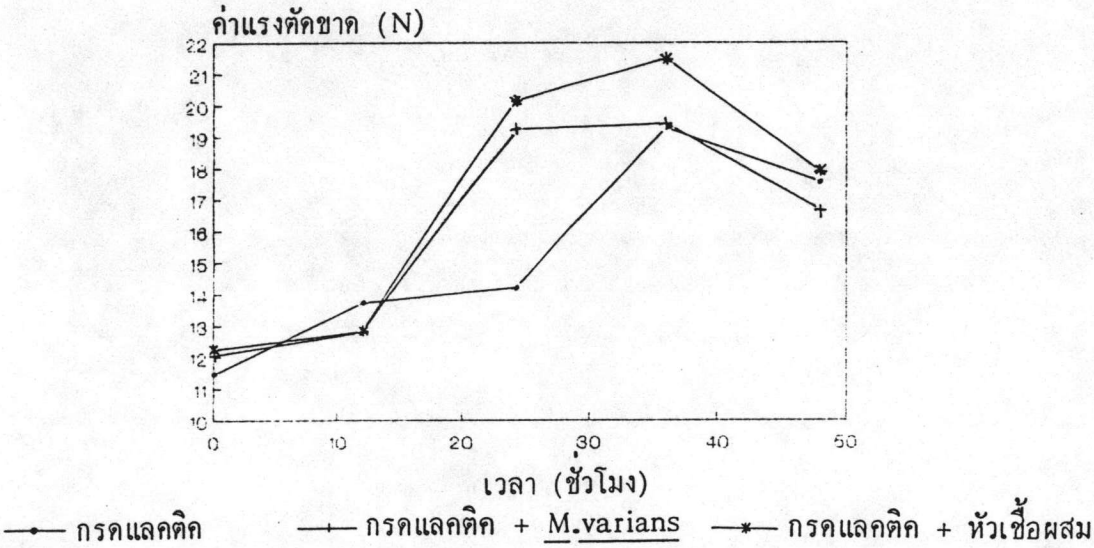
รูป 4.9 การเปลี่ยนแปลงค่าแรงกด (compression force) ของผลิตภัณฑ์แหนมในช่วงเวลา 48 ชั่วโมง

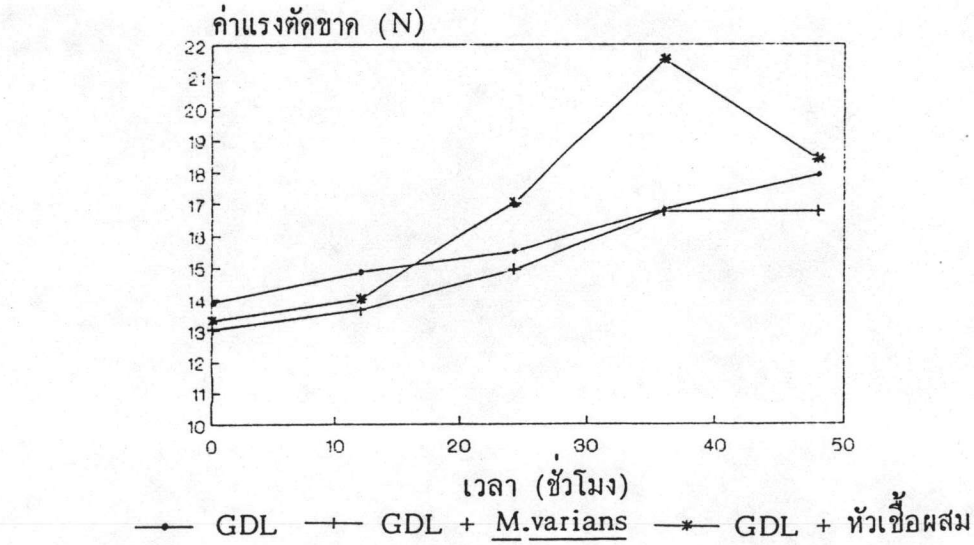
สำหรับแรงที่ใช้ในการตัดผลิตภัณฑ์ให้ขาดพบว่า ในผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะไม่เป็นเนื้อเดียวกัน (heterogeneous) เช่น ผลิตภัณฑ์แหนมนี้จะมีปัญหาในการทดสอบแรงตัดขาดมาก เพราะในแต่ละจุดที่ทดลองตัดอาจมีส่วนผสม เช่น พังผืด หนัง และเนื้อ ที่กระจายอยู่ต่างกัน ซึ่งส่วนผสมแต่ละอย่างจะมีความเหนียวต่างกันจึงจำเป็นต้องเพิ่มตัวอย่างในการทดสอบให้มากขึ้น จากการทดลองในกราฟรูป 4.10 พบว่าเมื่อเพิ่มเวลาการหมัก ค่าแรงตัดขาดของทุกสิ่งทดลองจะเพิ่มมากขึ้น โดยมีค่าสูงสุดในช่วง 24-36 ชั่วโมงของการหมัก ทั้งนี้เพราะเกิดการสลายตัวของสายเปปไตด์ และเกิดการจับตัวกันใหม่ (cross linkage) แบบไม่คงตัว ซึ่งจะมีผลให้เนื้อมีลักษณะแข็งตัวขึ้น แต่หลังจากนั้นเมื่อค่า pH ลดลงอีก จะเกิดการสลายตัวของสายเปปไตด์มากขึ้น ทำให้โปรตีนในเนื้อสูญเสียสภาพ (denatured protein) และแรงยึดเหนี่ยวต่างๆ ในกล้ามเนื้อถูกทำลายไป (Lee, 1975) ซึ่งจะส่งผลให้ค่าแรงตัดขาดลดลงในชั่วโมงที่ 48

- **การเปลี่ยนแปลงสีของผลิตภัณฑ์**

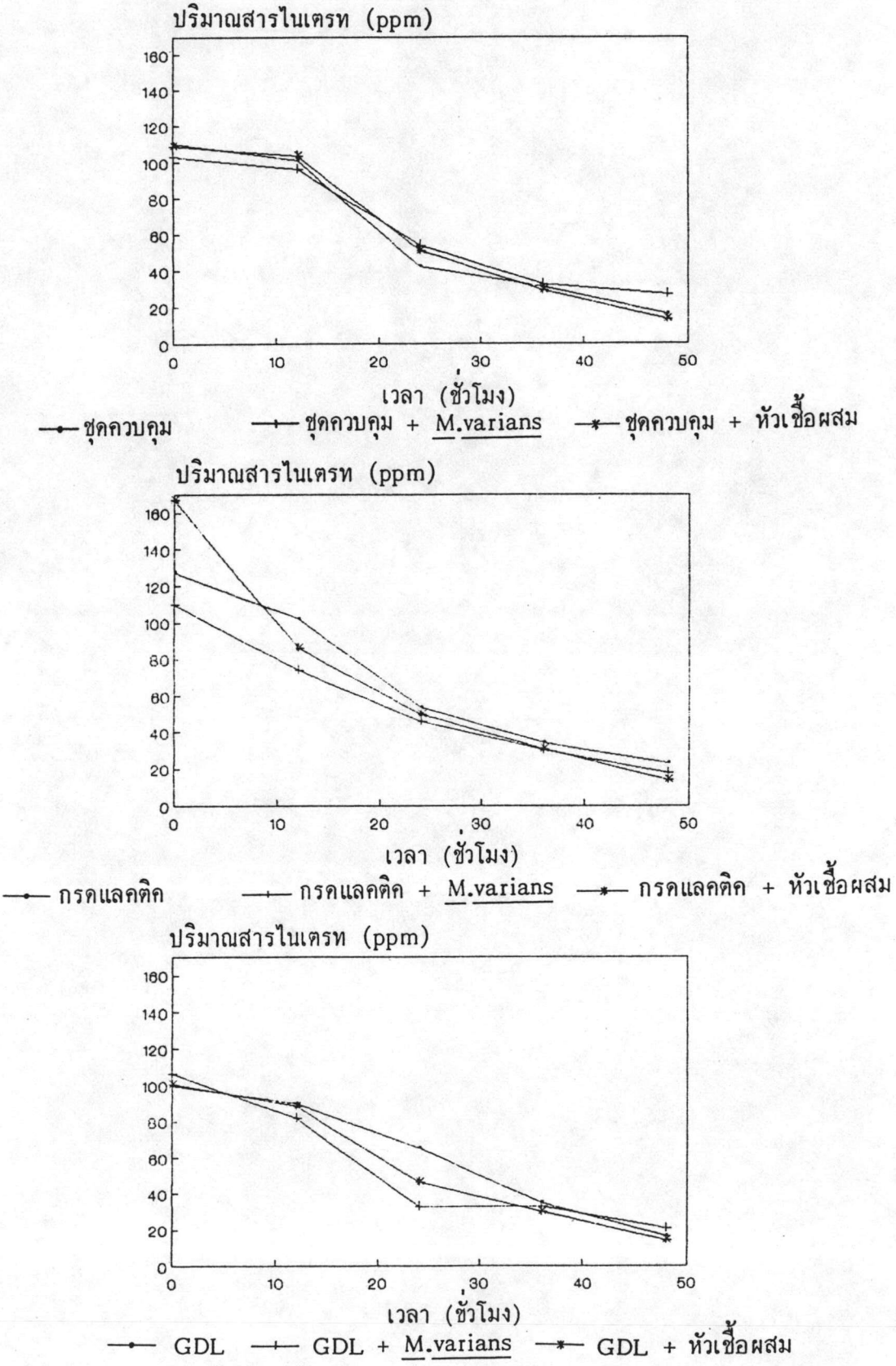
สีของผลิตภัณฑ์แหนมเกิดจากรงควัตถุในเนื้อสุกรดิบ ที่เรียกว่า ไมโอโกลบิน (myoglobin) เมื่อในระบบมีสารไนเตรทหรือสารไนไตรท์ จะเกิดปฏิกิริยาโดยสารไนเตรทจะถูกรีดิวส์ให้เป็นสารไนไตรท์ และสารไนไตรท์เกิดการสลายตัวเป็นไนตริคออกไซด์ในสภาวะที่ระบบมีความเป็นกรด จากนั้นจะเกิดปฏิกิริยาระหว่างไนตริคออกไซด์และไมโอโกลบินได้เป็นไนโตรโซไมโอโกลบิน ซึ่งให้สีชมพูในผลิตภัณฑ์แหนมได้ (Bacus, 1984) ในการทดลองนี้จะใช้สารไนเตรท 500 ppm (ส่วนในล้านส่วน) และสารไนไตรท์ 200 ppm เหตุที่ใช้สารทั้งสองชนิดร่วมกันเพราะต้องการให้สีของผลิตภัณฑ์แหนมเปลี่ยนแปลงเร็วขึ้น และช่วยป้องกันการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์บางชนิด เช่น Clostridium botulinum, Clostridium welchii และ Staphylococcus aureus (อุษณีย์ วินิจเขตคำนวณ และคณะ, 2525) ตลอดจนช่วยให้รสชาติและกลิ่นของผลิตภัณฑ์ดีขึ้นด้วย (CAST, 1978) จากผลการทดลอง (รูป 4.11) พบว่าปริมาณสารไนเตรทที่ตรวจพบในชั่วโมงเริ่มต้นของการหมักนั้นมีปริมาณที่ต่ำกว่าปริมาณที่เติมลงไปมากคือตรวจพบในช่วง 100-170 ppm เท่านั้น จากที่เติมลงในผลิตภัณฑ์เริ่มต้น 500 ppm ซึ่งสันนิษฐานว่าสารไนเตรทเหล่านั้น ส่วนหนึ่งอาจเปลี่ยนเป็นสารไนไตรท์จากกิจกรรมของเชื้อ M.varians และอีกส่วนหนึ่งอาจติดไปกับเครื่องมือที่ใช้ในการผลิต





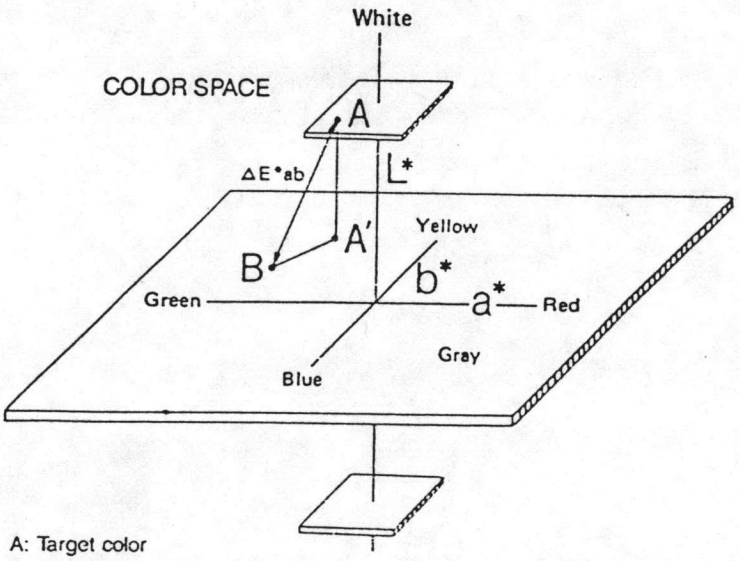


รูป 4.10 การเปลี่ยนแปลงค่าแรงตัดขาด (shear force) ของผลิตภัณฑ์แหนมในช่วงเวลา 48 ชั่วโมง



รูป 4.11 การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารไนเตรทของผลิตภัณฑ์แหนมในช่วงเวลา 48 ชั่วโมง

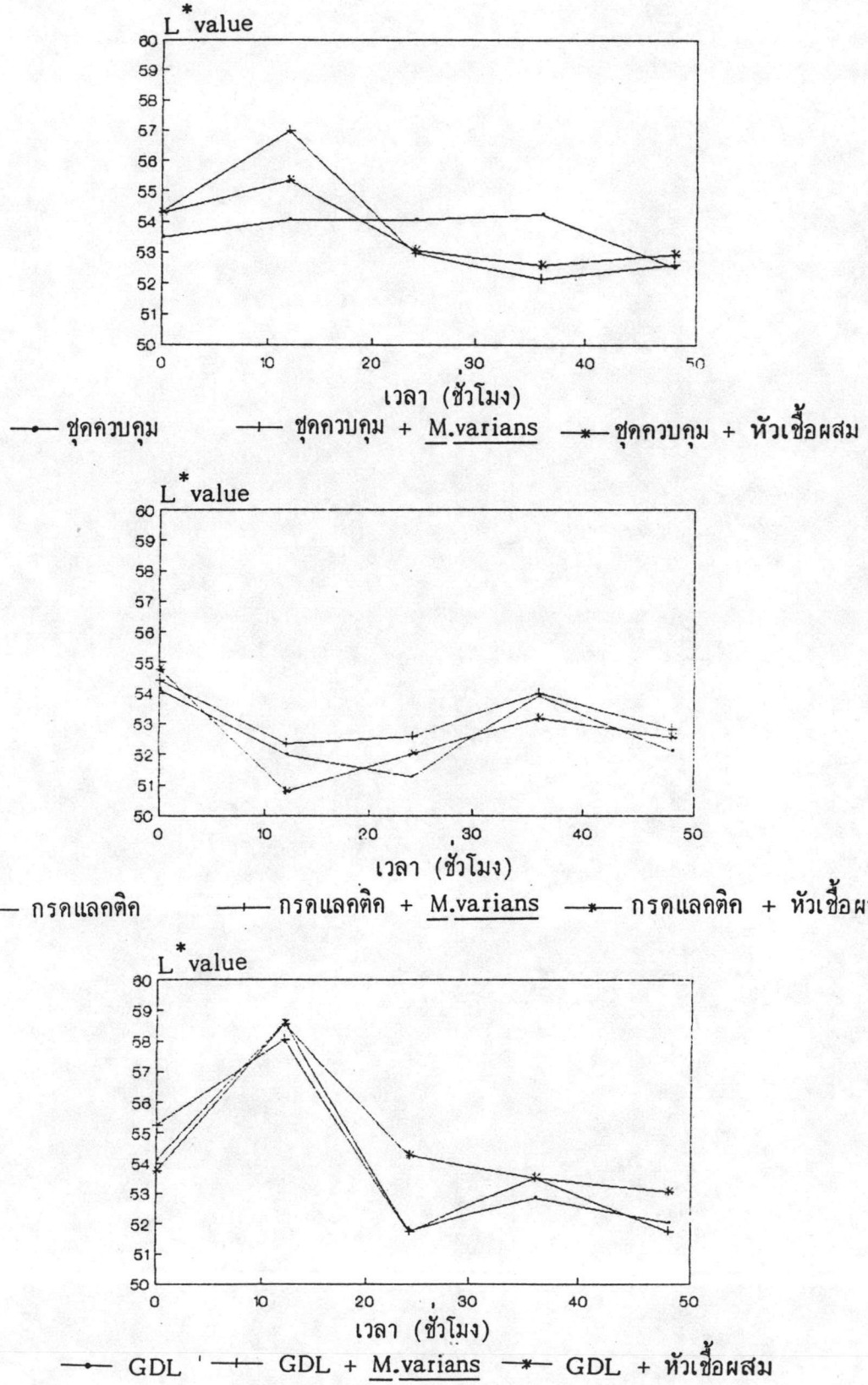
เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของสารไนเตรท ควบคู่กับค่า L^* a^* b^* ซึ่งเป็นหน่วยของสีในระบบ CIE (Commission Internationale de l' Eclairage) โดยค่า L^* แสดงความสุกสว่าง (brightness) จากสีดำถึงสีขาว ค่า a^* แสดงความเป็นสีเขียวถึงสีแดง และ b^* แสดงความเป็นสีน้ำเงินถึงสีเหลือง ดังรูป 4.12 (Hutchings, 1994; Minolta Camera Co.,Ltd.,1991) พบว่าในช่วงเริ่มต้นของการหมัก ทุกสิ่งทดลองมีค่าความสุกสว่างในช่วง 53-55 จากนั้นจะเกิดการเปลี่ยนแปลงโดยสิ่งทดลองที่ใช้กรดแลคติคจะมีความสุกสว่างลดลง (ค่า L^* ลดลง) เมื่อเทียบกับสิ่งทดลองอื่น (รูป 4.13) แต่สีแดง (ค่า a^*) ในสิ่งทดลองดังกล่าว ยังคงอยู่ในระดับเดียวกันกับเมื่อเริ่มผลิต (รูป 4.14) ทั้งนี้เนื่องจากสภาพความเป็นกรดจากกรดแลคติคดังกล่าวสามารถเปลี่ยนสารไนไตรท์ให้เป็นสาร



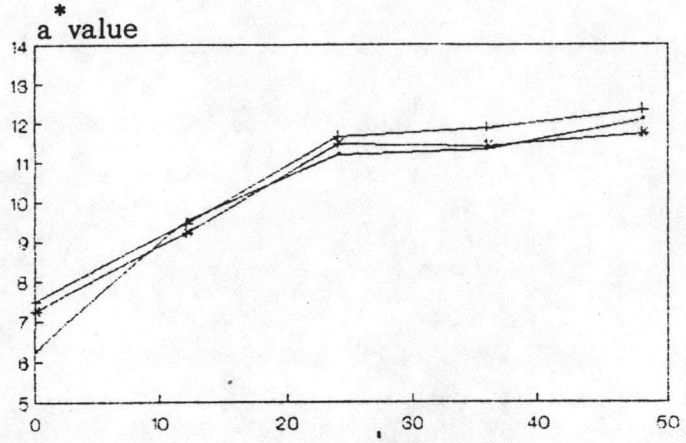
A: Target color
B: Specimen's color
A': Target color at the same lightness level as specimen's color

รูป 4.12 การแทนที่สีด้วยสัญลักษณ์ L^* a^* b^* ในระบบ CIE

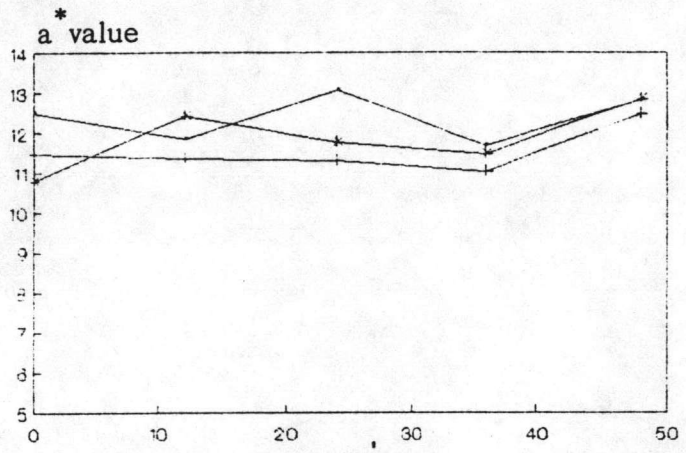
ไนตริคออกไซด์เพื่อทำปฏิกิริยากับไมโอโกลบินได้เป็นไนโตรโซไมโอโกลบิน ซึ่งให้สีแดงในผลิตภัณฑ์ได้อย่างรวดเร็วตั้งแต่เริ่มการผลิต แต่การที่ไม่มีการเพิ่มขึ้นของสีแดงเมื่อเวลาการหมักผ่านไป อาจเป็นเพราะสภาพที่เป็นกรดมากเกินไปมีผลให้เกิดปรากฏการณ์ของ nitrite burn ทำให้เกิดสีเขียวขึ้นในผลิตภัณฑ์ ขณะเดียวกันสารไนโตรโซไมโอโกลบินที่เกิดขึ้นนั้นอาจเกิด



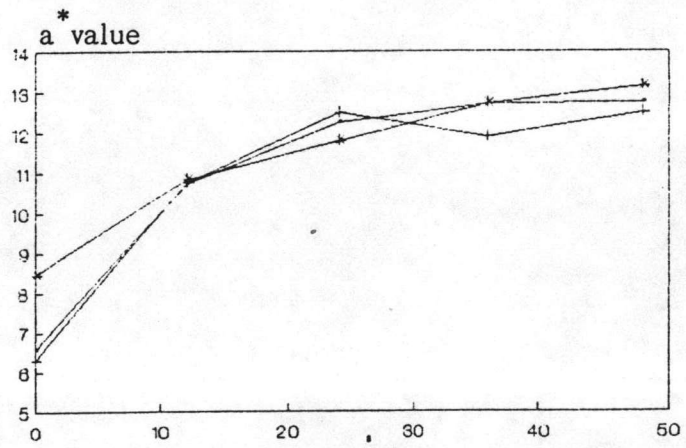
รูป 4.13 การเปลี่ยนแปลงค่าความสุกสว่าง (L^*) ของผลิตภัณฑ์แหนม ในช่วงเวลา 48 ชั่วโมง



—•— ชุดควบคุม —+— ชุดควบคุม + M.varians —*— ชุดควบคุม + หัวเชื้อผสม



—•— กรดแลคติค —+— กรดแลคติค + M.varians —*— กรดแลคติค + หัวเชื้อผสม

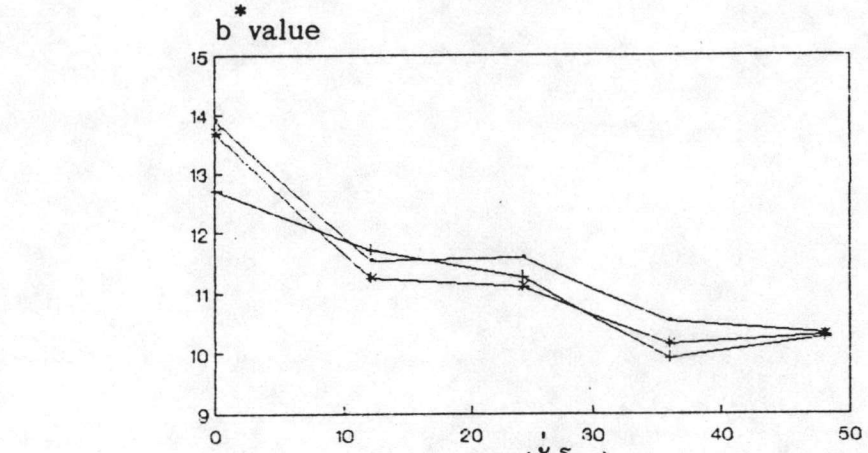


—•— GDL —+— GDL + M.varians —*— GDL + หัวเชื้อผสม

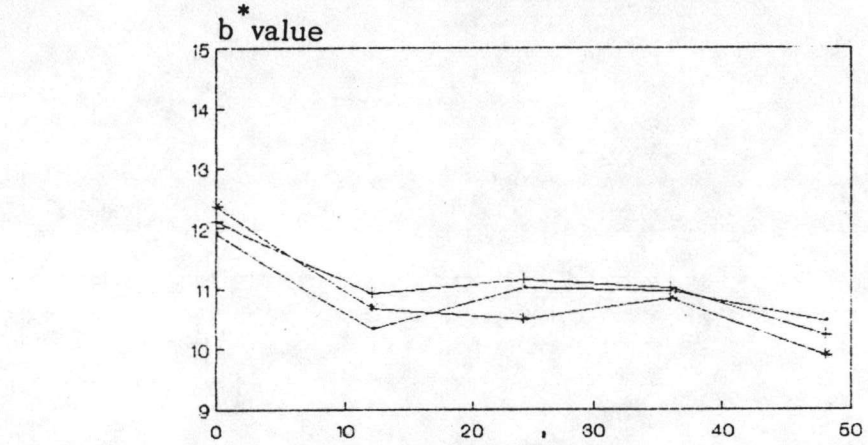
รูป 4.14 การเปลี่ยนแปลงค่า a* ของผลิตภัณฑ์แหนม ในช่วงเวลา 48 ชั่วโมง

ปฏิกิริยารีดักชันได้เป็นสารเมทโอโกลบิน (metmyoglobin) ซึ่งมีสีน้ำตาลหรือสีแดงคล้ำ เป็นผลให้ค่า L^* ที่วัดได้เริ่มลดลงในเวลาที่ 12 ชั่วโมงของการหมัก และหลังจากหมักผ่านไป 48 ชั่วโมง พบว่าในทุกสิ่งทดลองมีค่า a^* อยู่ในช่วง 11-13 (โดยสิ่งทดลองที่ใช้ GDL ร่วมกับหัวเชื้อผสมมีค่าสูงสุด หรือมีสีแดงมากที่สุดอย่างมีระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ $p \leq 0.05$ ดังแสดงในตารางภาคผนวก ข.6) ขณะที่ค่า L^* ของทุกสิ่งทดลองจะลดลงจนอยู่ในช่วง 51-53 ที่ 48 ชั่วโมงของการหมัก ทั้งนี้อาจเป็นเพราะเมื่อเวลาการหมักมากขึ้น ความเป็นกรดในผลิตภัณฑ์ย่อมมากขึ้น ทำให้มีการตกตะกอนของโปรตีนและเกิดการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนซึ่งโปรตีนที่เสียสภาพนี้ จะสูญเสียความสามารถในการอุ้มน้ำ และมีการละลายของโปรตีนใน sarcoplasmic reticulum ซึ่งเป็นองค์ประกอบอย่างหนึ่งของเนื้อออกมา มีผลให้ผลิตภัณฑ์มีลักษณะชุ่น จึงมีผลต่อความสุกสว่างของผลิตภัณฑ์ สำหรับการเปลี่ยนแปลงค่า b^* (รูป 4.15) พบว่าในช่วงเริ่มต้นของการหมักผลิตภัณฑ์ในทุกสิ่งทดลองจะมีสีค่อนไปทางสีเหลืองมากกว่า แต่หลังจากนั้นสีจะเข้มขึ้นคือมีส่วนผสมของสีน้ำเงินมากขึ้น จนที่เวลาการหมัก 48 ชั่วโมง จะมีค่านี้ในช่วง 9-10 โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p > 0.05$ (ตารางภาคผนวก ข.7)

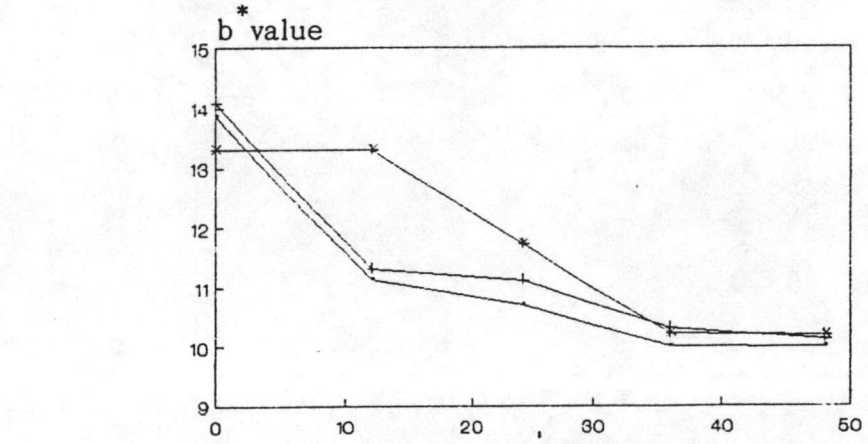
เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบทั้ง 9 สิ่งทดลองในเรื่องของสีแดงในผลิตภัณฑ์แหนมที่เวลาสุดท้ายของการหมักพบว่าการใช้สารเคมีที่ให้ความกรดไม่ว่าจะเป็นกรดแลคติคหรือ GDL ร่วมกับหัวเชื้อ M.varians เพียงชนิดเดียว จะให้สีแดงในผลิตภัณฑ์สุดท้ายไม่แตกต่างจากชุดควบคุมที่ใช้หัวเชื้อ M.varians ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ $p > 0.05$ (ตารางภาคผนวก ข.6) แต่ในสิ่งทดลองที่ใช้สารเคมีที่ให้ความเป็นกรดร่วมกับหัวเชื้อผสมพบว่า จะให้สีแดงในผลิตภัณฑ์สุดท้ายมากกว่าชุดควบคุมที่ใช้หัวเชื้อผสมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p \leq 0.05$ อย่างไรก็ตาม เมื่อเวลาในการหมักเพิ่มมากขึ้นพบว่า ปริมาณสารไนเตรทและสารไนไตรท์ลดลงด้วยเช่นกัน จนเมื่อเวลาการหมักที่ 48 ชั่วโมง พบว่า ปริมาณสารไนเตรทและสารไนไตรท์ที่ตรวจพบอยู่ในช่วง 13-27 และ 1-5 ppm ตามลำดับ จากการศึกษาของ Crosby และ Sawyer (1976) พบว่าปริมาณสารไนเตรทที่น้อยที่สุดที่จะเปลี่ยนเป็นสารไนไตรท์ และสามารถทำให้เกิดสารไนโตรซามีนในสัตว์ทดลองคือ 20 ppm ดังนั้นสิ่งทดลองที่มีปริมาณสารไนเตรทมากกว่าระดับนี้จึงน่าจะเป็นอันตรายในระยะยาวต่อผู้บริโภคได้ ซึ่งได้แก่ชุดควบคุมที่ใช้เชื้อ M.varians สิ่งทดลองที่ใช้เฉพาะกรดแลคติคโดยไม่ใช้หัวเชื้อผสมและสิ่งทดลองที่ใช้ GDL ร่วมกับเชื้อ M. varians ดังตาราง 4.1 และจากกราฟในรูป 4.16 พบว่า ในสิ่งทดลองที่ใช้กรดแลคติคจะมีปริมาณสารไนไตรท์ที่เหลืออยู่ในชั่วโมงเริ่มต้นของการหมักต่ำกว่าในชุดควบคุมและสิ่งทดลอง



—●— ชุดควบคุม —+— ชุดควบคุม + M.varians —*— ชุดควบคุม + หัวเชื้อผสม



—●— กรดแลคติค —+— กรดแลคติค + M.varians —*— กรดแลคติค + หัวเชื้อผสม



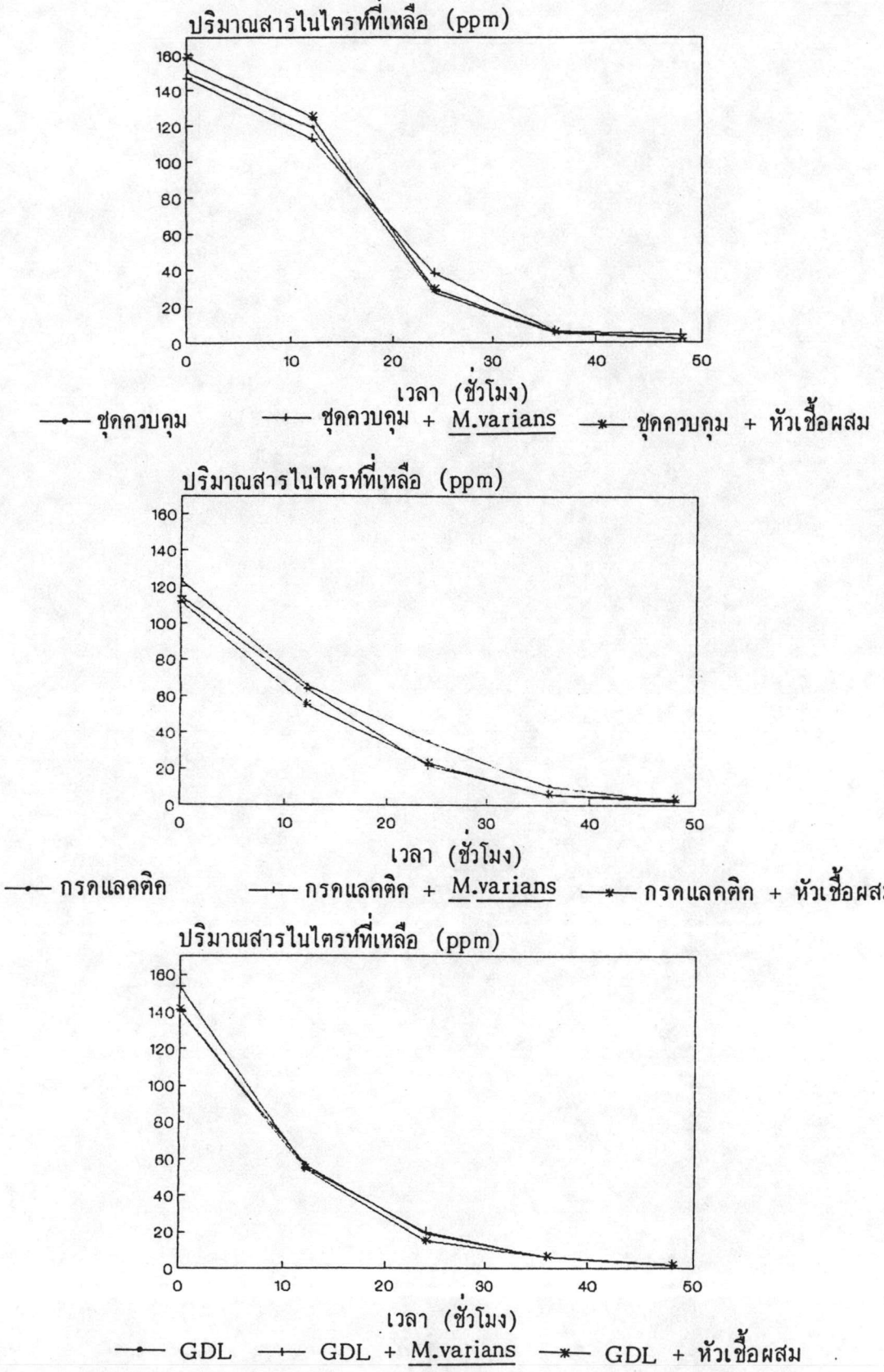
—●— GDL —+— GDL + M.varians —*— GDL + หัวเชื้อผสม

รูป 4.15 การเปลี่ยนแปลงค่า b* ของผลิตภัณฑ์แหนม ในช่วงเวลา 48 ชั่วโมง

ตาราง 4.1 ปริมาณสารไนเตรทและสารไนไตรท์ที่เหลือในผลิตภัณฑ์แหนม เมื่อสิ้นสุดเวลาการหมัก (48 ชั่วโมง)

สิ่งทดลอง	ค่าเฉลี่ย ± เบี่ยงเบนมาตรฐาน	
	สารไนเตรท (ppm)	สารไนไตรท์ (ppm)
ชุดควบคุม	16.47 ± 1.68 ^{de}	2.10 ± 0.19 ^{d}
ชุดควบคุม + เชื้อ M.varians	27.02 ± 4.38 ^{a}	4.74 ± 0.14 ^{a}
ชุดควบคุม + หัวเชื้อผสม	13.42 ± 1.09 ^{e}	1.93 ± 0.14 ^{d}
กรดแลคติค	23.05 ± 1.83 ^{b}	2.81 ± 0.66 ^{c}
กรดแลคติด + เชื้อ M.varians	17.76 ± 2.09 ^{cd}	1.93 ± 0.09 ^{d}
กรดแลคติค + หัวเชื้อผสม	14.14 ± 4.81 ^{de}	3.32 ± 0.22 ^{b}
GDL	16.42 ± 1.14 ^{de}	2.06 ± 0.15 ^{d}
GDL + เชื้อ M.varians	21.07 ± 2.66 ^{bc}	2.03 ± 0.14 ^{d}
GDL + หัวเชื้อผสม	13.85 ± 1.81 ^{de}	1.50 ± 0.38 ^{e}

อักษร a-e ที่แตกต่างกันในแนวคอลัมน์เดียวกัน หมายถึงค่านั้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p \leq 0.05$



รูป 4.16 การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารไนไตรท์ที่เหลือ (residual nitrite) ของผลิตภัณฑ์แหนม ในช่วงเวลา 48 ชั่วโมง

ที่ใช้ GDL อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p \leq 0.05$ (ตารางภาคผนวก ข.8) ทั้งนี้เพราะสารไนไตรท์ดังกล่าวมีการเปลี่ยนแปลงไปอยู่ในรูปสารไนตริคออกไซด์ ซึ่งทำให้เกิดสีแดงได้อย่างรวดเร็วดังอธิบายข้างต้น จากนั้นสารไนไตรท์ที่เหลือที่ตรวจพบจะมีปริมาณลดลงเรื่อยๆ โดยในสิ่งทดลองที่ใช้ GDL จะมีอัตราการลดลงเร็วที่สุด และเมื่อสิ้นกระบวนการหมักพบว่าสิ่งทดลองที่สามารถลดปริมาณสารไนเตรทได้มากที่สุด คือสิ่งทดลองที่ใช้กรดแลคติคร่วมกับหัวเชื้อผสมคือลดได้ถึงร้อยละ 91.54 ส่วนสิ่งทดลองที่สามารถลดปริมาณสารไนไตรท์ได้มากที่สุดคือสิ่งทดลองที่ใช้ GDL ร่วมกับหัวเชื้อผสม คือลดได้ถึงร้อยละ 98.94 ดังแสดงในตาราง 4.2 ดังนั้นสิ่งทดลองที่ดีที่สุดในด้านสี ปริมาณสารไนเตรท และสารไนไตรท์คือ สิ่งทดลองที่ใช้กรดแลคติคหรือ GDL ร่วมกับหัวเชื้อผสม

4.2.3 ความปลอดภัยในการบริโภค

สำหรับความปลอดภัยในการบริโภค ผู้บริโภคส่วนใหญ่มีความเข้าใจในเกี่ยวกับการบริโภคผลิตภัณฑ์แหนมว่าเป็นการบริโภคเนื้อสุกรดิบ ซึ่งมีโอกาสเสี่ยงต่อพยาธิหรือไข่พยาธิ (cyst) โดยเฉพาะพยาธิตัวจี๊ด ซึ่งหากต้องการแก้ปัญหาดังกล่าวควรแก้จากต้นเหตุ นั่นคือมีการควบคุมที่ดีตั้งแต่การเลี้ยงสุกรจนถึงการตรวจสุขภาพสุกรก่อนฆ่า ซึ่งเป็นหน้าที่ของเกษตรกรหรือสัตวแพทย์ แต่ปัญหาที่ตามมาซึ่งยากต่อการควบคุมคือการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่ให้โทษแก่ร่างกาย โดยอาจติดมาจากผู้ประกอบการ ภาชนะ เครื่องมือ เครื่องใช้ต่างๆในระหว่างผลิต ซึ่งความต้านทานของร่างกายผู้บริโภคแต่ละคนต่อเชื้อเหล่านี้ไม่เท่ากัน จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องควบคุมปริมาณเชื้อดังกล่าวให้อยู่ในระดับต่ำที่สุด ในการทดลองนี้ได้ตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์พวก Enterobacteriaceae ที่มักพบได้ในระบบทางเดินอาหารของคนและสัตว์ Staphylococcus aureus บางชนิดซึ่งสามารถสร้าง enterotoxin ที่เป็นอันตรายต่อร่างกายได้ ตลอดจน Salmonella sp. จากกราฟในรูป 4.17 พบว่า สิ่งทดลองที่ใช้กรดแลคติคจะสามารถลดเชื้อในกลุ่ม Enterobacteriaceae ลงได้มากกว่าในสิ่งทดลองที่ใช้ GDL และชุดควบคุมประมาณ 1-2 log cycle เมื่อสิ้นสุดเวลาการหมักอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p \leq 0.05$ (ตารางภาคผนวก ข.9) และสิ่งทดลองที่ใช้ GDL ตรวจพบเชื้อในกลุ่ม Enterobacteriaceae น้อยกว่าชุดควบคุม นอกจากนี้เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบเฉพาะสิ่งทดลองที่ใช้หัวเชื้อผสม (สิ่งทดลองที่ 3,6,9) กับสิ่งทดลองอื่น พบว่าในสิ่งทดลองดังกล่าวจะตรวจพบเชื้อ S.aureus ในปริมาณ 10 CFU/มิลลิลิตร ที่เวลา 24 ชั่วโมงของการหมักดังตาราง 4.3 โดยสามารถลดปริมาณ S.aureus ลงได้ตั้งแต่ชั่วโมงแรกของการหมัก ดังนั้น

ตาราง 4.2 ค่าร้อยละการลดลงของปริมาณสารไนเตรทและสารไนไตรท์ที่เหลือ ในผลิตภัณฑ์แหนม เมื่อสิ้นสุดเวลาการหมัก (48 ชั่วโมง)

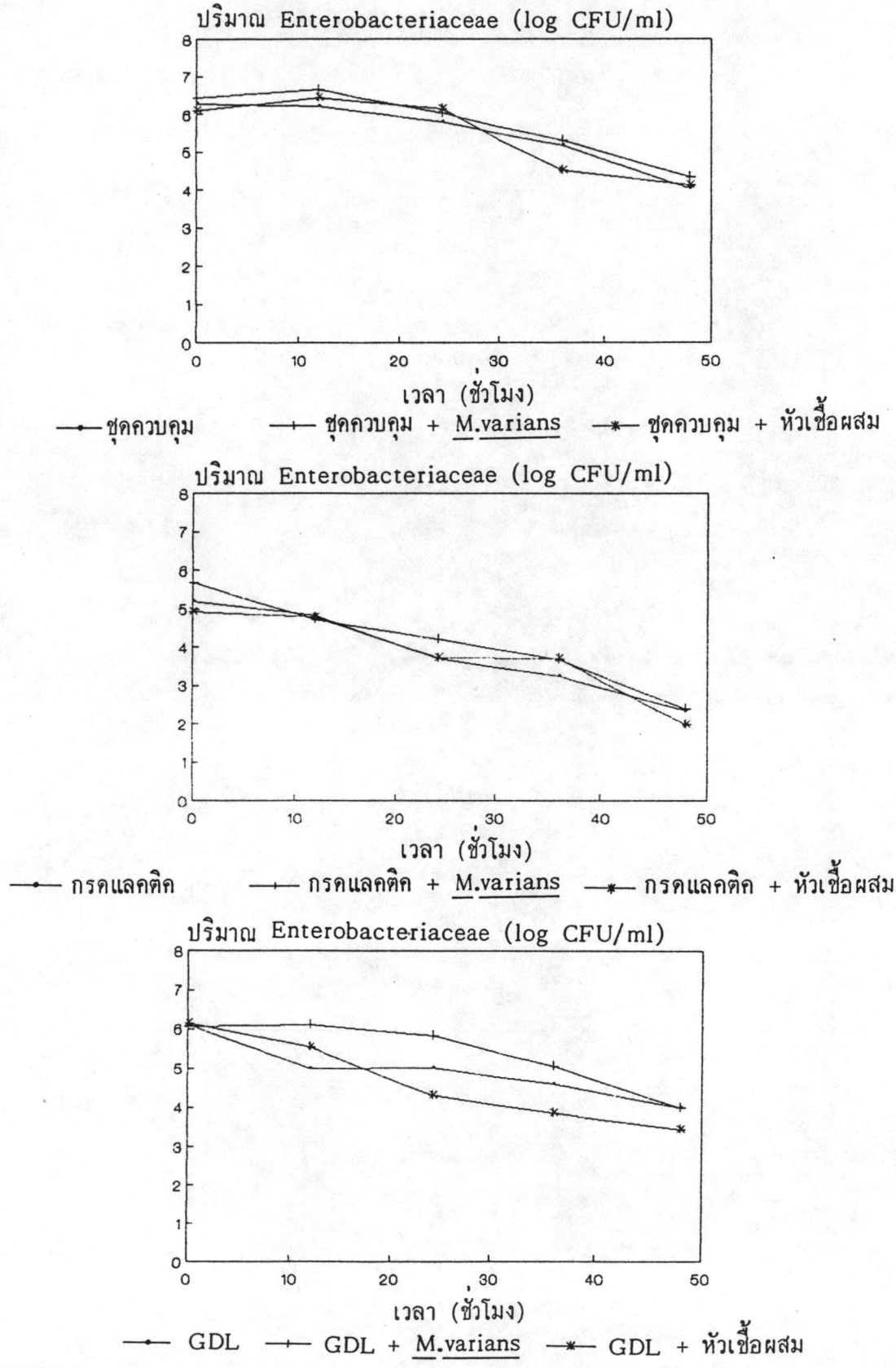
สิ่งทดลอง	สารไนเตรท* (ร้อยละ) (%A)	สารไนไตรท์** (ร้อยละ) (%B)
ชุดควบคุม	85.08	98.61
ชุดควบคุม + M.varians	73.79	96.77
ชุดควบคุม + หัวเชื้อผสม	86.92	98.79
กรดแลคติค	81.93	97.72
กรดแลคติด + M.varians	83.84	98.32
กรดแลคติค + หัวเชื้อผสม	91.54	97.03
GDL	83.54	98.54
GDL + M.varians	80.20	98.68
GDL + หัวเชื้อผสม	86.24	98.94

$$* \quad \%A = \frac{A \text{ ชั่วโมงที่ } 0 - A \text{ ชั่วโมงที่ } 48}{A \text{ ชั่วโมงที่ } 0} \times 100$$

$$** \quad \%B = \frac{B \text{ ชั่วโมงที่ } 0 - B \text{ ชั่วโมงที่ } 48}{B \text{ ชั่วโมงที่ } 0} \times 100$$

โดย A = สารไนเตรท

B = สารไนไตรท์



รูป 4.17 ปริมาณเชื้อในกลุ่ม Enterobacteriaceae ที่ตรวจพบในผลิตภัณฑ์แหนมที่ช่วงเวลาต่างๆ ใน 48 ชั่วโมง

ตาราง 4.3 ปริมาณเชื้อ Staphylococcus aureus ที่ตรวจพบในผลิตภัณฑ์แหนม ที่ช่วงเวลาต่างๆใน 48 ชั่วโมง

สิ่งทดลอง	ปริมาณเชื้อ S.aureus (CFU/มิลลิลิตร)				
	0	12	24	36	48
ชุดควบคุม	65	40	15	0	0
ชุดควบคุม + M.varians	60	55	35	0	0
ชุดควบคุม + หัวเชื้อผสม	50	45	10	0	0
กรดแลคติค	30	20	20	0	0
กรดแลคติค + M.varians	35	20	20	0	0
กรดแลคติด + หัวเชื้อผสม	30	20	10	0	0
GDL	55	15	10	0	0
GDL + M.varians	20	20	10	0	0
GDL + หัวเชื้อผสม	20	10	10	0	0

ตาราง 4.4 ปริมาณเชื้อ Salmonella sp. ที่ตรวจพบในผลิตภัณฑ์แหนม ที่ช่วงเวลาต่างๆ ใน 48 ชั่วโมง โดยวิธี MPN (most propable number)

สิ่งทดลอง	ปริมาณเชื้อ Salmonella sp. (MPN/กรัม)				
	0	12	24	36	48
ชุดควบคุม	29	24	12	7.2	3.6
ชุดควบคุม + M.varians	27	20	19	15	7.3
ชุดควบคุม + หัวเชื้อผสม	29	19	11	<3	<3
กรดแลคติค	28	12	7.2	<3	<3
กรดแลคติค + M.varians	26	15	9.1	<3	<3
กรดแลคติด + หัวเชื้อผสม	35	11	<3	<3	<3
GDL	29	23	15	3	<3
GDL + M.varians	34	20	15	3	<3
GDL + หัวเชื้อผสม	29	21	11	3	<3

สิ่งทดลองที่ใช้หัวเชื้อผสมนี้น่าจะสามารถป้องกันการสร้าง enterotoxin ได้ ส่วนในสิ่งทดลองที่ใช้กรดแลคติคร่วมกับหัวเชื้อผสม จะสามารถลดปริมาณเชื้อ Salmonella sp. ลงถึงระดับ MPN น้อยกว่า 3 ต่อกรัมของตัวอย่าง ได้ที่เวลา 24 ชั่วโมงของการหมัก (ตาราง 4.4). ผลการทดลองดังกล่าวเป็นไปทำนองเดียวกับการทดลองของ Shank , Silliker และ Harper (1962) ซึ่งพบว่าในระบบที่มี pH 4.5-5.5 สารไนไตรท์ที่มีอยู่จะอยู่ในรูปของกรดไนตรัส ซึ่งจะมีผลต่อเมตาบอลิซึมของแบคทีเรียโดยเฉพาะพวกกรัมลบ และสำหรับในการทดลองนี้ ค่า pH ในสิ่งทดลองที่ใช้ GDL จะอยู่ในช่วง 5.5-6.2 (12 ชั่วโมงแรกของการหมัก) เป็นผลให้ปริมาณ S.aureus มีค่าลดลงตั้งแต่ช่วงต้นๆอย่างเห็นได้ชัด นอกจากนี้เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ Pediococcus cerevisiae สามารถยับยั้งการเจริญและการสร้าง enterotoxin ของเชื้อ S.aureus (Barber and Deibel, 1972) จึงอาจเป็นผลให้ตรวจพบปริมาณ S.aureus ในสิ่งทดลองที่ใช้ GDL ร่วมกับหัวเชื้อผสมน้อยกว่าสิ่งทดลองอื่นๆ ในช่วงต้นๆของการหมัก และจากการทดลองของ Daly และคณะ (1973) พบว่าการใช้ GDL ร้อยละ 0.15 และกรดซิตริคร้อยละ 0.1 ร่วมกับหัวเชื้อผสมของ L.plantarum (NRRL B-5632) และ P.cerevisiae (NRRL B-5627) สามารถยับยั้งการเจริญของ S.aureus ได้ตลอดระยะเวลา 50 ชั่วโมงของการหมัก โดยจะมีผลยับยั้งตั้งแต่ช่วงเริ่มต้นของการหมัก (เปรียบเทียบกับชุดควบคุมและชุดที่ใช้เฉพาะ GDL เดี่ยวๆ) ซึ่งก็ให้ผลการทดลองที่สอดคล้องกันกับการทดลองในที่นี้เช่นกัน ดังนั้น ถ้าพิจารณาด้านความปลอดภัยในการบริโภคโดยตรวจสอบจำนวนแบคทีเรียทั้ง 3 กลุ่มแล้ว สิ่งทดลองที่ปลอดภัยมากที่สุดคือสิ่งทดลองที่ใช้ GDL หรือกรดแลคติค ร่วมกับหัวเชื้อผสม

4.2.4 การทดสอบทางประสาทสัมผัส

สำหรับการทดสอบทางประสาทสัมผัสใช้ผู้บริโภคที่เป็น semi-trained panelists จำนวน 20 คน ทดสอบลักษณะของผลิตภัณฑ์แหนมโดยอาศัยการให้คะแนนแบบ descriptive analysis ชนิด ideal ratio score และใช้แบบฟอร์มการให้คะแนน ดังแสดงในภาคผนวก ก.9 ทั้งนี้ผู้เข้าร่วมทดสอบจะเปรียบเทียบผลิตภัณฑ์แหนมที่ได้รับกับผลิตภัณฑ์แหนมในจินตนาการ(ideal) โดยให้คะแนนสี (colour) ความแน่นเนื้อ (firmness) ความชุ่มน้ำ (juiciness) ความเปรี้ยว(sourness) และการยอมรับรวม(overall acceptability) ซึ่งจากการวิเคราะห์ผลได้ค่าดังตาราง 4.5 โดยในการแปลความหมายจะให้ค่าที่ใกล้ 1 เป็นค่าที่มีความเหมาะสมหรือใกล้เคียงกับผลิตภัณฑ์แหนมในจินตนาการซึ่งมีคุณลักษณะด้านต่างๆ ดีมากที่สุด

ตาราง 4.5 คะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์แหนมที่ผ่านการหมัก 48 ชั่วโมง

สิ่งทดลอง	คะแนนเฉลี่ยของผลิตภัณฑ์ ± เบี่ยงเบนมาตรฐาน				
	สี	ความแน่นเนื้อ	ความชุ่มน้ำ	ความเปรี้ยว	การยอมรับรวม
ชุดควบคุม	1.35±0.24	0.84±0.16^{a}	0.91±0.18	0.89±0.12	0.73±0.16
ชุดควบคุม + M.varians	1.23±0.27	0.80±0.18^{ac}	0.86±0.20	0.88±0.17	0.75±0.15
ชุดควบคุม + หัวเชื้อผสม	1.25±0.25	0.80±0.23^{ad}	0.93±0.21	0.92±0.18	0.72±0.19
กรดแลคติค	1.31±0.22	0.69±0.18^{cf}	0.89±0.28	0.90±0.19	0.63±0.18
กรดแลคติค + M.varians	1.32±0.27	0.67±0.18^{ef}	0.88±0.25	0.88±0.24	0.65±0.17
กรดแลคติด + หัวเชื้อผสม	1.19±0.24	0.73±0.18^{bcde}	0.95±0.24	0.91±0.20	0.66±0.19
GDL	1.20±0.25	0.72±0.22^{bcde}	0.90±0.18	0.90±0.16	0.69±0.15
GDL + M.varians	1.26±0.23	0.78±0.18^{ac}	0.86±0.20	0.85±0.23	0.70±0.18
GDL + หัวเชื้อผสม	1.18±0.21	0.82±0.16^{ab}	0.94±0.15	0.87±0.21	0.76±0.19

อักษร a-f ที่กำกับตัวเลขต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p \leq 0.05$ โดยเปรียบเทียบในแนวคอลัมน์ของลักษณะหนึ่งๆของผลิตภัณฑ์

จากตาราง 4.5 พบว่า ผู้บริโภคไม่สามารถแยกความแตกต่างของทั้ง 9 สิ่งทดลองในด้านสี ความชุ่มน้ำ ความเปรี้ยว และการยอมรับรวมได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p \leq 0.05$ ยกเว้นความแน่นเนื้อของผลิตภัณฑ์ ซึ่งพบว่าในสิ่งทดลองที่ใช้กรดแลคติคจะมีค่าดังกล่าวต่ำกว่าในชุดควบคุมและในสิ่งทดลองที่ใช้ GDL โดยที่ชุดควบคุมจะมีความแน่นเนื้อที่ใกล้เคียงกับลักษณะในจินตนาการมากที่สุด ทั้งนี้เนื่องจากการใช้สารเคมีให้ความเป็นกรดจะมีผลต่อค่า pH ซึ่งจะกระทบต่อความสามารถในการเชื่อมติดของเนื้อดังผลการทดลองในข้อ 4.2.2 ที่ได้อธิบายมาข้างต้น

ในด้านสีของผลิตภัณฑ์ ซึ่งในแบบฟอร์มการให้คะแนนจะกำหนดคะแนนน้อยเป็นสีแดงเข้ม และคะแนนมากเป็นสีชมพูอ่อน พบว่าในทุกสิ่งทดลองจะให้สีชมพูที่อ่อนกว่าสีของผลิตภัณฑ์แหนมในจินตนาการ โดยในสิ่งทดลองที่ใช้ GDL ร่วมกับหัวเชื้อผสมจะมีสีที่ใกล้เคียงกับในจินตนาการมากที่สุด

สำหรับความชุ่มน้ำของผลิตภัณฑ์ จะมีค่าใกล้เคียงกับค่าในจินตนาการมากคือมีค่าอยู่ในช่วง 0.86-0.95 ลักษณะดังกล่าวเป็นผลเนื่องจากปริมาณน้ำที่อยู่ในผลิตภัณฑ์แหนม ซึ่งจะรวมทั้งน้ำที่อยู่ในตัวเนื้อและน้ำที่ถูกจับไว้ระหว่างส่วนผสม ความสามารถในการอุ้มน้ำในผลิตภัณฑ์ขึ้นกับปริมาณสารประกอบฟอสเฟตที่เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ด้วยส่วนหนึ่ง (ลักขณา รุจนะไกรกานต์, 2533) ดังนั้นปริมาณสารประกอบฟอสเฟตที่เลือกใช้ในส่วนผสมดังกล่าวจึงเป็นปริมาณที่เหมาะสมในการผลิตแหนมเนื่องจากให้ค่าความชุ่มน้ำที่ใกล้เคียงกับค่า 1

ในกรณีความเปรี้ยวของผลิตภัณฑ์แหนมพบว่า ผู้บริโภคพิจารณาให้มีระดับที่ใกล้เคียงกันโดยมีค่าอยู่ในช่วง 0.85-0.92 ซึ่งต่ำกว่าค่าในจินตนาการเพียงเล็กน้อยเท่านั้น สาเหตุที่ผลิตภัณฑ์มีความเปรี้ยวใกล้เคียงกันเพราะระบบบัฟเฟอร์ที่มีในระบบเนื้อ (Bacus, 1984) ซึ่งจะมีผลถึงค่า pH ที่วัดได้ด้วย โดยมีค่าแปรผันในช่วงที่ไม่กว้างมากนักดังผลการทดลองในข้อ 4.2.1

เมื่อพิจารณาการยอมรับรวมในผลิตภัณฑ์แหนมของผู้บริโภค พบว่าสิ่งทดลองที่ใช้ GDL ร่วมกับหัวเชื้อผสมได้รับการยอมรับมากที่สุด และสิ่งทดลองที่ใช้กรดแลคติคมีค่าการยอมรับต่ำที่สุด แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงว่าการใช้สารเคมีที่ให้ความเป็นกรดไม่ว่าจะใช้ร่วมกับหัวเชื้อหรือไม่ก็ตาม ผู้บริโภคไม่สามารถแยกความแตกต่างออกจากกันได้

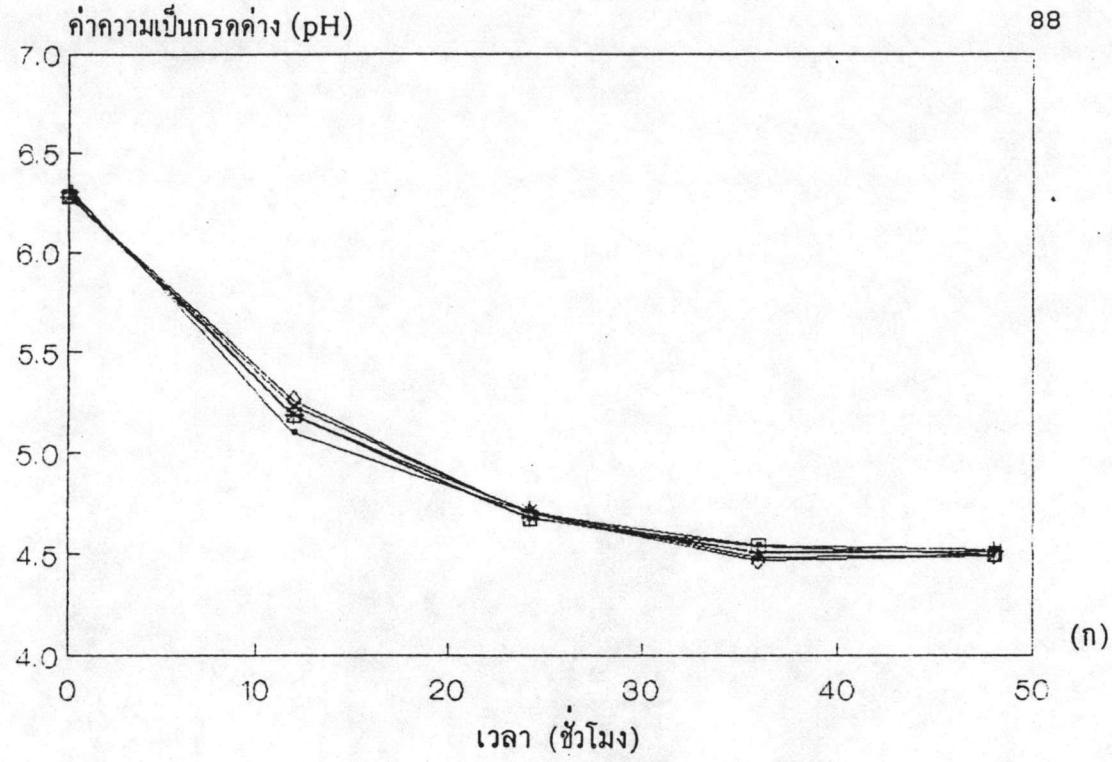
อย่างไรก็ตาม ลักษณะผลิตภัณฑ์แหนมที่ควรพิจารณาปรับปรุงในที่นี้คือ สีของผลิตภัณฑ์ที่มีสีชมพูอ่อนเกินไป ตลอดจนความแน่นเนื้อให้มากขึ้น โดยอาจต้องปรับปรุงเทคนิคการผลิตในขั้นของการอัดใส่หลอดพลาสติก (casing) และการรัดปากหลอดให้บรรจุและรัดได้แน่นยิ่งขึ้น

การทดลองในส่วนที่ 2 นี้ต้องการศึกษาถึงผลกระทบของชนิดสารเคมีที่ให้ความเป็นกรดในปริมาณความเข้มข้นร้อยละ 0.25 และหัวเชื้อในผลิตภัณฑ์แหนม ซึ่งจากผลการทดลองดังกล่าวข้างต้นพบว่า สิ่งทดลองที่ให้ผลน่าพอใจที่สุดคือสิ่งทดลองที่ใช้ GDL ร่วมกับหัวเชื้อผสม ซึ่งทำให้ได้ผลิตภัณฑ์แหนมที่มีปริมาณการผลิตกรดทั้งหมดคิดเทียบกรดแลคติคดีที่สุด มีค่า pH ที่ลดลง มีปริมาณสารไนไตรท์ที่เหลือน้อยที่สุด มีความปลอดภัยจากจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ตลอดจนการยอมรับรวมของผู้บริโภคดีที่สุด ดังนั้นจึงนำสิ่งทดลองดังกล่าวไปทดลองศึกษาในส่วนที่ 3 ซึ่งจะศึกษาถึงปริมาณสารไนไตรท์และสารไนเตรทที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตผลิตภัณฑ์แหนม เพื่อให้มีความปลอดภัยต่อการบริโภคให้มากที่สุด

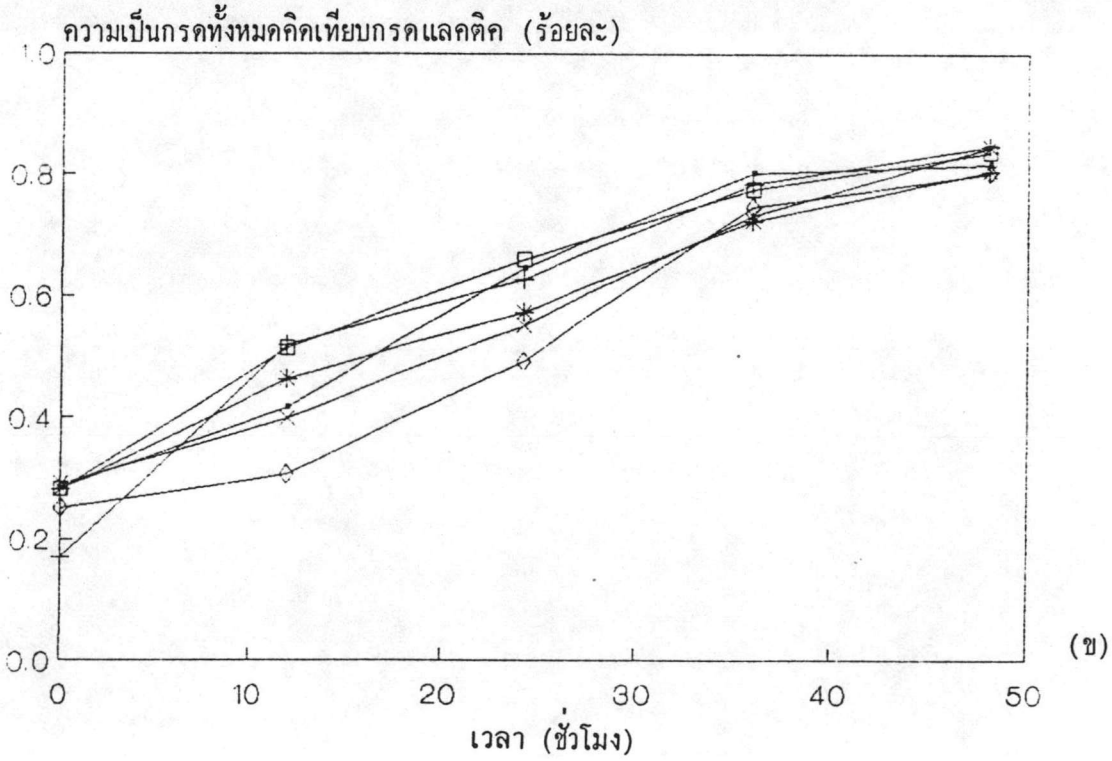
4.3 ศึกษาปริมาณสารไนเตรทและสารไนไตรท์ ที่เหมาะสมกับผลิตภัณฑ์แหนมที่ใช้สารเคมีที่ให้ความเป็นกรดและหัวเชื้อผสม

สิ่งทดลองที่ดีที่สุดที่สรุปได้จากการทดลองในส่วนที่ 2 คือ การใช้ GDL ร่วมกับหัวเชื้อผสม และในงานทดลองส่วนที่ 3 นี้จะนำสิ่งทดลองดังกล่าวมาศึกษาปริมาณสารไนเตรทและสารไนไตรท์เพื่อหาปริมาณที่เหมาะสมของสารทั้งสองในด้านของสีของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ ทั้งนี้ต้องพิจารณาถึงปริมาณของสารดังกล่าวที่เหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์ซึ่งควรเหลือในปริมาณต่ำสุด หรือในปริมาณที่ไม่ก่อให้เกิดอันตรายแก่ผู้บริโภค ตลอดจนต้องคำนึงถึงเชื้อจุลินทรีย์ที่ให้โทษต่างๆ ซึ่งต้องควบคุมให้มีปริมาณต่ำสุดด้วย

จากการทดลองพบว่า ปริมาณสารไนเตรทและสารไนไตรท์ไม่มีผลต่อค่าความเป็นกรดด่าง (pH) และค่าความเป็นกรดทั้งหมดคิดเทียบกรดแลคติค โดยในแต่ละสิ่งทดลองจะมีค่าดังกล่าวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p>0.05$ เมื่อสิ้นสุดเวลาการหมัก (48 ชั่วโมง) ตามภาคผนวก ข.10 ข.11 และกราฟรูป 4.18 ซึ่งผลิตภัณฑ์จะมีค่า pH อยู่ในช่วง 4.49-4.52 และค่าความเป็นกรดทั้งหมดคิดเทียบกรดแลคติคในช่วงร้อยละ 0.80-0.85 แสดงว่าปริมาณสารไนเตรทและสารไนไตรท์ไม่มีผลต่อค่า pH และค่าความเป็นกรดทั้งหมด แต่ค่าดังกล่าวจะขึ้นกับเวลาการหมัก กล่าวคือ เมื่อเวลาการหมักเพิ่มขึ้น ค่า pH จะลดลง ส่วนค่า



(ก)



(ข)

—●— $NaNO_3$ 200, $NaNO_2$ 100
—✱— $NaNO_3$ 200, $NaNO_2$ 200
—×— $NaNO_3$ 350, $NaNO_2$ 150
—+— $NaNO_3$ 500, $NaNO_2$ 100
—□— $NaNO_3$ 500, $NaNO_2$ 200
—◇— $NaNO_3$ 350, $NaNO_2$ 150

รูป 4.18 (ก) (ข) การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่าง (pH) และความเป็นกรดทั้งหมดคิดเทียบกรดแลคติคของผลิตภัณฑ์แหนม ในช่วงเวลาการหมัก 48 ชั่วโมง

ความเป็นกรดทั้งหมดคิดเทียบกรดแลคติคจะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p \leq 0.05$ ดังสมการสหสัมพันธ์ (coded regression equation) ดังนี้

$$pH = 5.8900 - 0.0355\ (Time) \quad R^2 = 0.7943$$

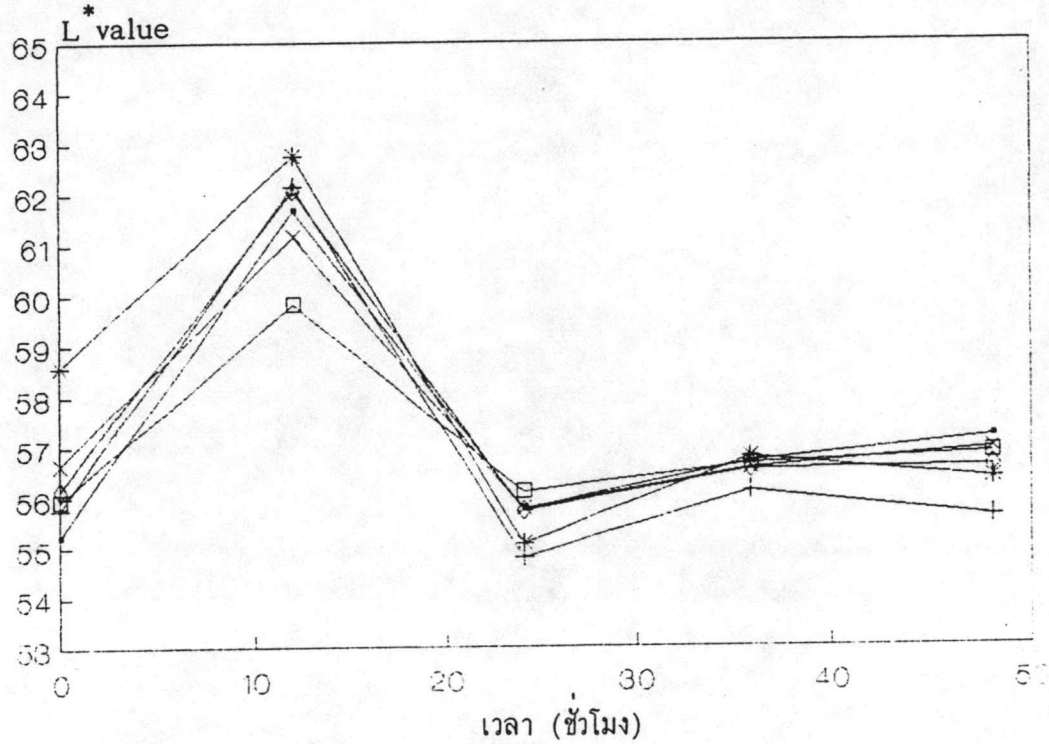
$$\%acidity\ (as\ lactic\ acid) = 0.2837 + 0.0121\ (Time) \quad R^2 = 0.9309$$

และจากค่าการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของค่า pH ของผลิตภัณฑ์แหนมในช่วง 48 ชั่วโมงของการหมัก พบว่ามีค่าไม่แตกต่างกัน เมื่อมีการใช้โซเดียมไนเตรท 200 ppm หรือ 500 ppm หรือเมื่อมีการใช้โซเดียมไนไตรท์ 100 ppm หรือ 200 ppm ตามลำดับ (ตาราง 4.6) สำหรับการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของความเป็นกรดทั้งหมดของผลิตภัณฑ์แหนมตลอดเวลาการหมัก 48 ชั่วโมงของการหมักพบว่า มีค่าร้อยละ 0.58 และร้อยละ 0.60 เมื่อมีการใช้โซเดียมไนเตรท 200 ppm หรือ 500 ppm ตามลำดับ และมีค่าไม่แตกต่างกันเมื่อมีการใช้โซเดียมไนไตรท์ 100 ppm หรือ 200 ppm ตามลำดับ

ตาราง 4.6 ค่าเฉลี่ยของค่า pH และความเป็นกรดทั้งหมดคิดเทียบกรดแลคติค ตลอดเวลาการหมัก 48 ชั่วโมง ของผลิตภัณฑ์แหนมที่ใช้ GDL ร่วมกับหัวเชื้อผสมที่มีโซเดียมไนเตรทและโซเดียมไนไตรท์ระดับต่างๆ

ปัจจัยหลัก	ค่าเฉลี่ย $\pm$ เบี่ยงเบนมาตรฐาน	
	pH	ความเป็นกรดทั้งหมดคิดเทียบกรดแลคติค
โซเดียมไนเตรท 200 ppm	5.04$\pm$0.71	0.58$\pm$0.21 %
500 ppm	5.04$\pm$0.71	0.60$\pm$0.23 %
โซเดียมไนไตรท์ 100 ppm	5.04$\pm$0.71	0.59$\pm$0.24 %
200 ppm	5.04$\pm$0.71	0.59$\pm$0.20 %

สำหรับการเปลี่ยนแปลงสีของผลิตภัณฑ์ซึ่งแสดงในระบบ CIE ($L^*a^*b^*$) พบว่าในสิ่งทดลองที่ใช้สารไนเตรทระดับสูงร่วมกับสารไนไตรท์ระดับสูงจะมีค่า L^* หรือความสุกสว่างที่เวลาการหมัก 12 ชั่วโมง ต่ำกว่าสิ่งทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p \leq 0.05$ ดังตารางภาคผนวก ข.12 และกราฟในรูป 4.19 และเมื่อเสร็จสิ้นการหมัก (48 ชั่วโมง) พบว่า



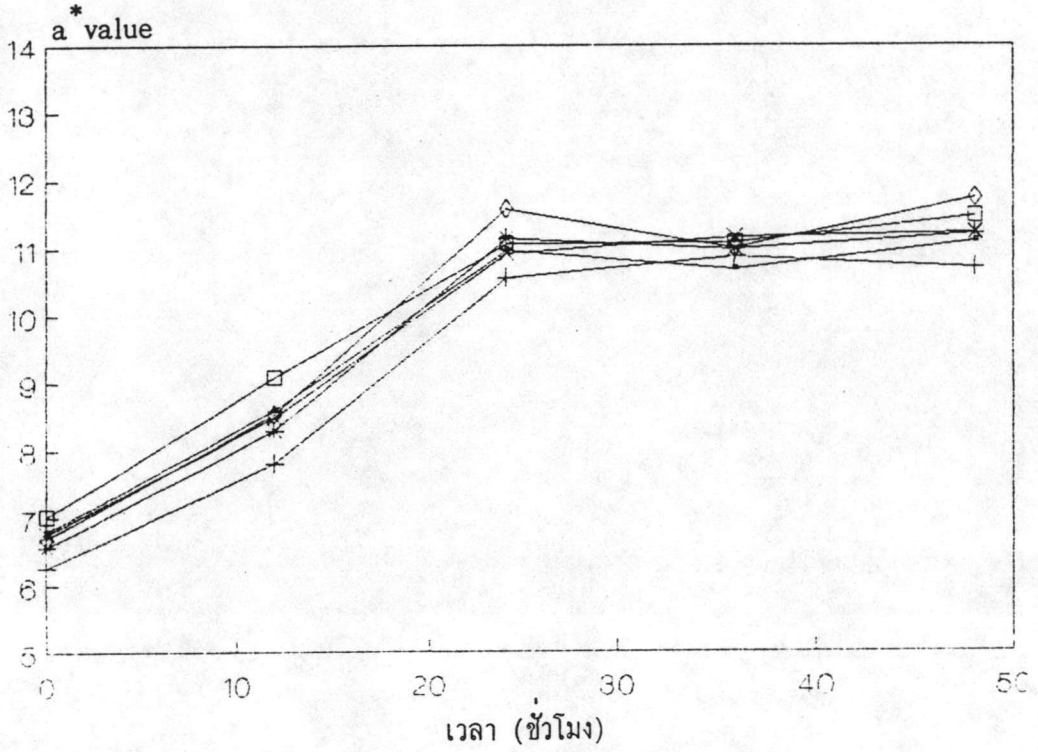
รูป 4.19 การเปลี่ยนแปลงค่าความสุกสว่าง (L^*) ของผลิตภัณฑ์แหนม ในช่วงเวลา 48 ชั่วโมง

สิ่งทดลองที่ใช้สารไนเตรทระดับสูงร่วมกับสารไนไตรท์ระดับต่ำจะมีค่า L^* ต่ำที่สุด อย่างไรก็ตาม ค่าที่ค่อนข้างมีผลต่อสีของผลิตภัณฑ์แหนมคือค่า a^* ซึ่งแสดงถึงสีแดง-เขียวของผลิตภัณฑ์ จากผลการทดลองพบว่าในทุกสิ่งทดลองจะมีสีแดงระดับหนึ่งที่เวลาเริ่มต้นของการหมัก หลังจากนั้นค่าดังกล่าวจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วใน 24 ชั่วโมงแรกและจะค่อนข้างคงที่ไปจนตลอดการหมัก (รูป 4.20) ซึ่งจากการวิเคราะห์ทางด้านสถิติพบว่าค่า a^* จะเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาการหมักเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p \leq 0.05$ ดังสมการสหสัมพันธ์ (coded regression equation) ดังนี้

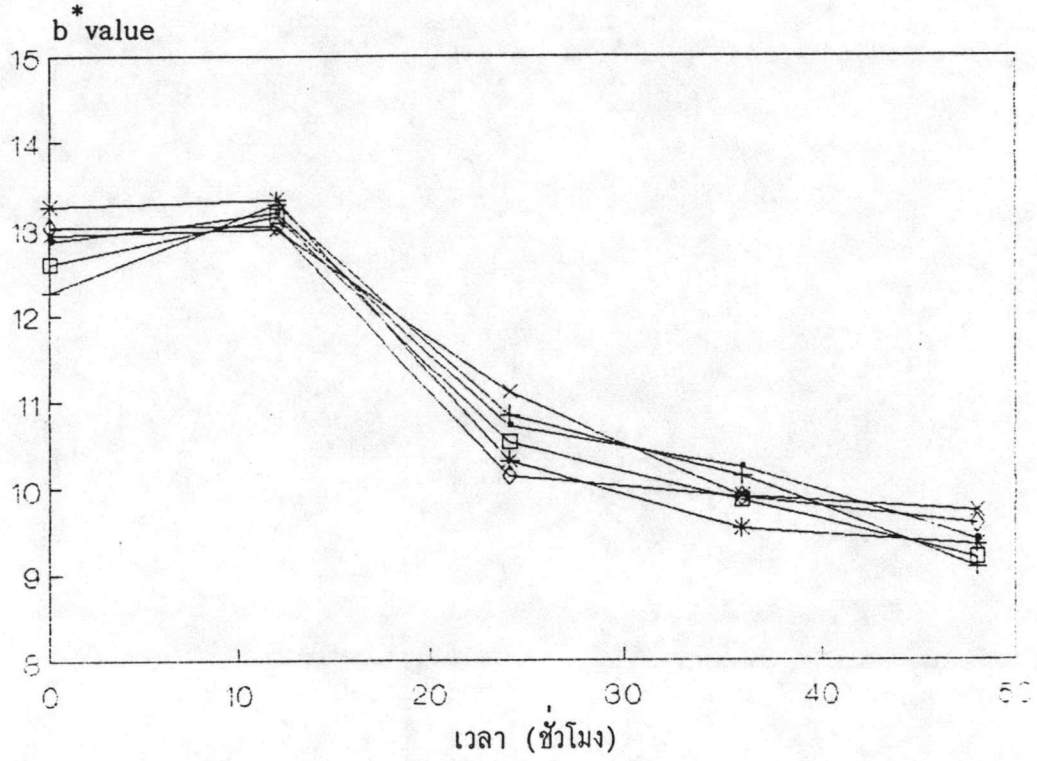
$$a^* = 7.3603 + 0.0965 \text{ (Time)} \qquad R^2 = 0.8033$$

ส่วนค่า b^* หรือค่าที่แสดงถึงสีน้ำเงิน-เหลือง พบว่าในทุกสิ่งทดลองมีการเปลี่ยนแปลงไปในทำนองเดียวกันตลอดระยะเวลาการหมัก ดังรูป 4.21 อย่างไรก็ตาม สีของผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้แม้จะมีค่าที่แตกต่างกันเมื่อตรวจวัดด้วยเครื่องมือ แต่เมื่อสังเกตด้วยสายตาแล้วมีความใกล้เคียงกันมากจนไม่สามารถแยกความแตกต่างออกจากกันได้

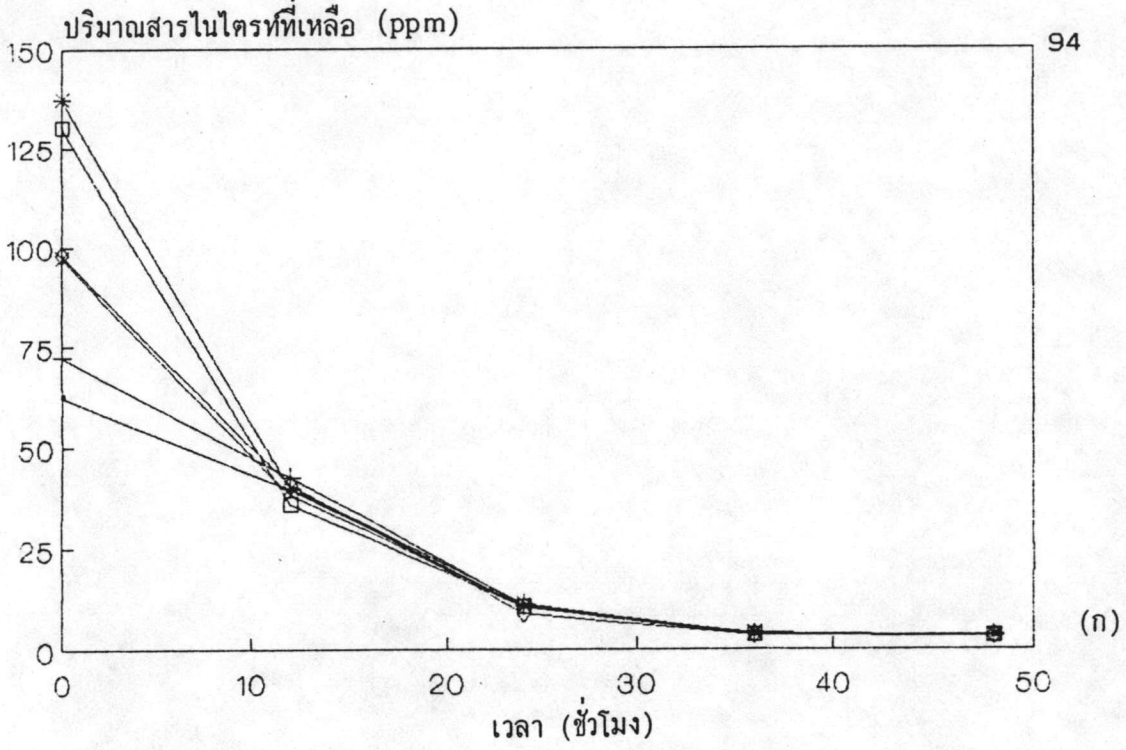
เมื่อพิจารณาปริมาณสารไนไตรท์ที่เหลือในผลิตภัณฑ์ พบว่าที่เวลาเริ่มต้นของการหมักตรวจพบในปริมาณที่แตกต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณที่ใช้ในแต่ละสิ่งทดลอง แต่หลังจากนั้นปริมาณที่ตรวจพบในแต่ละสิ่งทดลองจะมีค่าใกล้เคียงกันมากและไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p > 0.05$ จนกระทั่งเสร็จสิ้นการหมักดังตารางภาคผนวก ข.13 และ รูป 4.22(ก) แสดงว่าเมื่อสารไนไตรท์อยู่ในสภาพที่มีความเป็นกรด (ซึ่งในการทดลองนี้อาศัย GDL ช่วยเสริมความเป็นกรดของผลิตภัณฑ์นอกเหนือจากหัวเชื้อผสมด้วยทางหนึ่ง) จะเปลี่ยนเป็นไนตริคออกไซด์และเข้าทำปฏิกิริยากับไมโอโกลบิน ให้สีแดงของไนตริคออกไซด์ไมโอโกลบินแก่ผลิตภัณฑ์ได้ทันที ปริมาณที่ตรวจพบจึงน้อยลงด้วย เช่นเดียวกับปริมาณสารไนเตรท (รูป 4.22(ข)) ที่จะมีค่าลดลงเรื่อยๆ และเป็นที่น่าสังเกตว่าไม่ว่าจะใช้ปริมารสารไนเตรทในผลิตภัณฑ์แหนมที่ระดับสูงหรือต่ำก็ตาม ปริมาณที่ตรวจพบตั้งแต่ชั่วโมงการหมักที่ 36 เป็นต้นไป จะไม่มีความแตกต่างกันในแต่ละสิ่งทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p > 0.05$ ดังตารางภาคผนวก ข.14 สำหรับในผลิตภัณฑ์สุดท้ายพบว่าตรวจพบปริมาณสารไนเตรทน้อยมากเพียง 0.68-0.96 ppm เท่านั้น ทั้งนี้แสดงว่ามีการทำงานของ M.varians ในการเปลี่ยนแปลงสารไนเตรทเป็นสารไนไตรท์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ และปริมาณดังกล่าวต่ำกว่าปริมาณที่จะก่อให้เกิดสารไนโตรซามีน (ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งแก่ร่างกายในระยะยาว) ที่ระบุไว้ที่ 20 ppm (Crosby and Sawyer, 1976) ดังนั้นแม้ว่าจะใช้ปริมาณสารไนเตรทระดับสูง (500 ppm) ควบคู่กับสารไนไตรท์ระดับสูง (200 ppm) ในการทำผลิตภัณฑ์แหนมที่ใช้ GDL ร่วมกับหัวเชื้อผสมก็จะไม่เป็นอันตรายต่อ

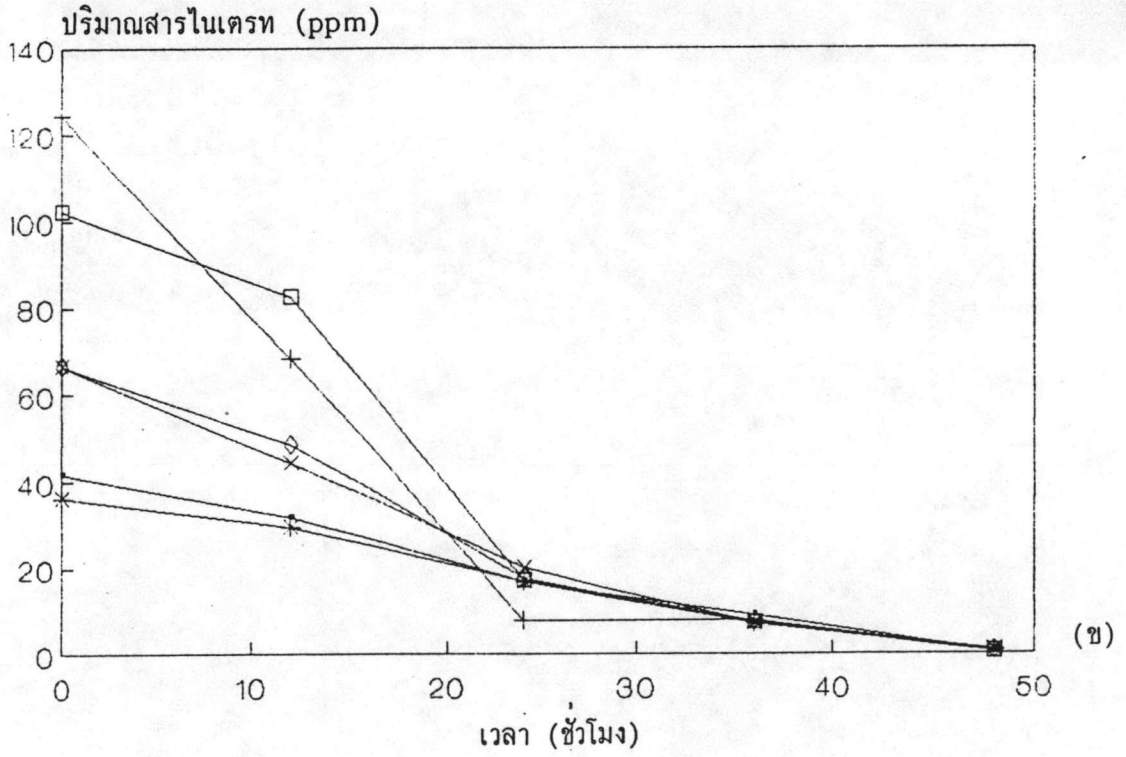


รูป 4.20 การเปลี่ยนแปลงค่า a^* ของผลิตภัณฑ์แหนม ในช่วงเวลา 48 ชั่วโมง



รูป 4.21 การเปลี่ยนแปลงค่า b^* ของผลิตภัณฑ์แหนม ในช่วงเวลา 48 ชั่วโมง





—•— $NaNO_3$ 200, $NaNO_2$ 100
—*— $NaNO_3$ 200, $NaNO_2$ 200
—×— $NaNO_3$ 350, $NaNO_2$ 150
—+— $NaNO_3$ 500, $NaNO_2$ 100
—□— $NaNO_3$ 500, $NaNO_2$ 200
—◇— $NaNO_3$ 350, $NaNO_2$ 150

รูป 4.22 (ก) (ข) การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารไนไตรท์ที่เหลือ (residual nitrite) และปริมารสารไนเตรทตามลำดับ ที่ตรวจพบในผลิตภัณฑ์แหนมในช่วงเวลาการหมัก 48 ชั่วโมง

ร่างกายในแง่สารก่อมะเร็งได้

จุดมุ่งหมายของการเติมโซเดียมไนเตรทและโซเดียมไนไตรท์ ลงในสูตรการผลิตนั้น เพื่อให้เกิดสีชมพูแดงในผลิตภัณฑ์ ทั้งนี้เนื่องมาจากสารไนเตรทจะถูกเปลี่ยนเป็นสารไนไตรท์โดยกิจกรรมของเชื้อ M.varians ซึ่งเชื้อดังกล่าวจะสามารถเปลี่ยนสารไนเตรทเป็นสารไนเตรท์ได้ดีในช่วงแรกของการหมักเมื่อค่า pH ยังไม่ลดลงมากนักคือประมาณ 5.2-6.2 และสารไนไตรท์ที่เกิดขึ้นจะเปลี่ยนมาอยู่ในรูปไนตริคออกไซด์ซึ่งจะรวมตัวกับไมโอโกลบิน ได้เป็นสารไนโตรโซไมโอโกลบินในที่สุด (Nurmi, 1966a ; Pairote Wiriyacharee, et al., 1990) ซึ่งสารดังกล่าวมีสีชมพูแดงแต่ไม่คงตัว โดยตัวมันเองสามารถเปลี่ยนไปอยู่ในรูปเมทไมโอโกลบินได้ และหากเก็บผลิตภัณฑ์ไว้นานๆ จะพบว่าผลิตภัณฑ์แหนมมีการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลของเมทไมโอโกลบินดังกล่าว ดังนั้นในสูตรการผลิตจึงมีการเติมโซเดียมอิริธอร์เบทซึ่งเป็นเกลือของกรดแอสคอร์บิค สารดังกล่าวมีคุณสมบัติเป็นสารรีดิวส์ (reducing agent) ซึ่งสามารถป้องกันการเกิดเมทไมโอโกลบินในผลิตภัณฑ์ โดยจะเปลี่ยนเมทไมโอโกลบินให้เป็นไมโอโกลบินได้ อย่างไรก็ตามสีชมพูแดงในผลิตภัณฑ์แหนมจะเกิดขึ้นได้ก็ต่อเมื่อสารไนไตรท์ต้องถูกเปลี่ยนเป็นไนตริคออกไซด์ก่อน ซึ่งถ้าปริมาณโซเดียมอิริธอร์เบทในส่วนผสมมีมากเกินไป จะทำให้สารไนไตรท์เกิดการแตกตัว และสูญหายไป อาจเป็นผลให้สีของผลิตภัณฑ์ไม่ได้ตามต้องการ (ลักขณา รุจนะไกรกานต์, 2533)

จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ปริมาณสารไนไตรท์ที่เหลืออยู่จะลดลงเมื่อเวลาการหมักของผลิตภัณฑ์แหนมเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p \leq 0.05$ ดังสมการสหสัมพันธ์ (coded regression equation) ดังนี้

$$\text{residual nitrite (ppm)} = 76.9572 - 1.9016\ (\text{Time}) \quad R^2 = 0.6990$$

นอกจากนี้ ปริมาณสารไนเตรทที่ตรวจพบในผลิตภัณฑ์แหนมจะเพิ่มขึ้นตามปริมาณโซเดียมไนเตรทที่เติมลงไปในสูตรการผลิตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p \leq 0.05$ และจะมีปริมาณลดลงเมื่อเวลาการหมักเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p \leq 0.05$ ดังสมการสหสัมพันธ์ (coded regression equation) ดังนี้

$$\text{nitrate (ppm)} = 67.1483 + 11.4099\ (NaNO_3) - 1.5608\ (\text{Time}) \quad R^2 = 0.7615$$

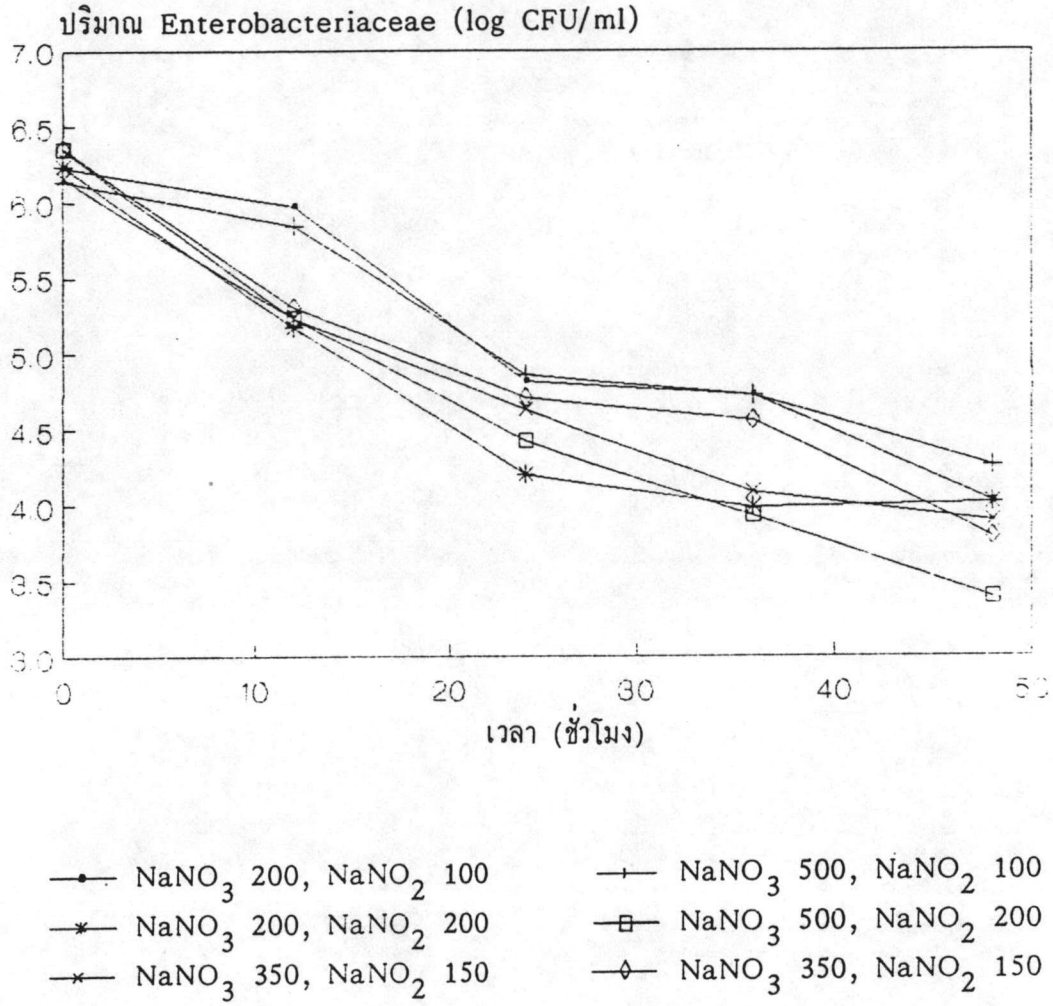
สำหรับในด้านความปลอดภัยจากจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคพบว่า ในสิ่งทดลองที่ใช้สารไนเตรทระดับสูงร่วมกับสารไนไตรท์ระดับสูง (สิ่งทดลองที่ 4) จะสามารถลดปริมาณเชื้อในกลุ่ม

Enterobacteriaceae ลงได้มากกว่าสิ่งทดลองอื่นๆอย่างนัยสำคัญทางสถิติที่ $p \leq 0.05$ ดังตารางภาคผนวก ข.15 และกราฟในรูป 4.23 และในสิ่งทดลองที่ใช้สารไนเตรทระดับสูงร่วมกับสารไนไตรท์ระดับต่ำ (สิ่งทดลองที่ 2) จะตรวจพบเชื้อกลุ่มดังกล่าวในผลิตภัณฑ์แหนมที่ 48 ชั่วโมง มากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p \leq 0.05$ และจากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าปริมาณเชื้อในกลุ่ม Enterobacteriaceae จะลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณสารไนไตรท์และเพิ่มเวลาการหมักอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p \leq 0.05$ ดังสมการสหสัมพันธ์ (coded regression equation) ดังนี้

$$\log \text{No. of Enterobacteriaceae} = 6.0740 - 0.2323\ (NaNO_2) - 0.0486\ (\text{Time}) \quad R^2 = 0.9191$$

แสดงว่าปริมาณสารไนไตรท์สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อในกลุ่มนี้ได้ ส่วนเวลาการหมักที่เพิ่มขึ้นนั้นจะมีผลทำให้ค่า pH ลดต่ำลงซึ่งเป็นสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อดังกล่าว ปริมาณเชื้อจึงลดลงเมื่อเพิ่มเวลาการหมักขึ้น

สำหรับปริมาณเชื้อ Staphylococcus aureus และ Salmonella sp. ที่ตรวจพบในผลิตภัณฑ์แหนมในช่วงเวลาต่างๆแสดงในตาราง 4.7 และ 4.8 ตามลำดับ ซึ่งพบว่าสิ่งทดลองที่ใช้ปริมาณสารไนเตรทระดับสูงร่วมกับสารไนไตรท์ระดับสูง(สิ่งทดลองที่ 4) สามารถลดปริมาณเชื้อ S.aureus ลงได้เร็วกว่าสิ่งทดลองอื่นๆ ทั้งนี้จะสามารถลดความเสี่ยงจากการสร้าง enterotoxin ของเชื้อ S.aureus บางชนิดลงได้ ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับการศึกษาของ Rhia และ Solberg (1975) และในทำนองเดียวกันเมื่อพิจารณาเชื้อ Salmonella sp. พบว่าในชั่วโมงที่ 24 ของการหมักจะตรวจพบปริมาณเชื้อชนิดนี้ในสิ่งทดลองดังกล่าวต่ำกว่าสิ่งทดลองอื่น และเมื่อเวลาการหมักผ่านไปปริมาณ Salmonella sp. ที่ตรวจพบจะลดลงด้วย จนกระทั่งในผลิตภัณฑ์สุดท้ายตรวจพบในปริมาณที่ต่ำมากคือมีค่า MPN น้อยกว่า 3 ในทุกสิ่งทดลองยกเว้นสิ่งทดลองที่ใช้ปริมาณสารไนเตรทและสารไนไตรท์ในระดับต่ำคือ 200 ppm และ 100 ppm ตามลำดับ ที่ตรวจพบว่ามีปริมาณ Salmonella sp. ที่ MPN เท่ากับ 3.6 ซึ่งถ้านำไปใช้ในการผลิตจริงอาจมีโอกาสเสี่ยงต่ออันตรายจากเชื้อดังกล่าวได้



รูป 4.23 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อในกลุ่ม Enterobacteriaceae ที่ตรวจพบในผลิตภัณฑ์แหนม ในช่วงเวลาการหมัก 48 ชั่วโมง

ตาราง 4.7 ปริมาณเชื้อ Staphylococcus aureus ที่ตรวจพบในผลิตภัณฑ์แหนม ที่ช่วงเวลาต่างๆใน 48 ชั่วโมง

สิ่งทดลอง	ปริมาณเฉลี่ยของเชื้อ S.aureus (CFU/มิลลิลิตร)				
	0	12	24	36	48
(1)	140	105	80	30	10
a	105	100	75	35	0
b	105	85	20	0	0
ab	100	50	20	0	0
cp_1	105	95	35	0	0
cp_2	135	95	50	0	0

หมายเหตุ : (1) = $NaNO_3$ 200 ppm, $NaNO_2$ 100 ppm
a = $NaNO_3$ 500 ppm, $NaNO_2$ 100 ppm
b = $NaNO_3$ 200 ppm, $NaNO_2$ 200 ppm
ab = $NaNO_3$ 500 ppm, $NaNO_2$ 200 ppm
cp_1,cp_2 = $NaNO_3$ 350 ppm, $NaNO_2$ 150 ppm

ตาราง 4.8 ปริมาณเชื้อ Salmonella sp. ที่ตรวจพบในผลิตภัณฑ์แหนมที่ช่วงเวลาต่างๆ ใน 48 ชั่วโมง โดยวิธี MPN (most propable number)

สิ่งทดลอง	ปริมาณเชื้อ Salmonella sp. (MPN/กรัม)				
	0	12	24	36	48
(1)	23	19	11	9.1	3.6
a	26	15	11	7.2	<3
b	29	14	6.1	<3	<3
ab	27	15	3	<3	<3
cp_1	26	12	7.2	<3	<3
cp_2	28	14	7.3	<3	<3

หมายเหตุ : (1) = $NaNO_3$ 200 ppm, $NaNO_2$ 100 ppm
a = $NaNO_3$ 500 ppm, $NaNO_2$ 100 ppm
b = $NaNO_3$ 200 ppm, $NaNO_2$ 200 ppm
ab = $NaNO_3$ 500 ppm, $NaNO_2$ 200 ppm
cp_1,cp_2 = $NaNO_3$ 350 ppm, $NaNO_2$ 150 ppm

จากผลการทดลองในส่วนที่ 3 นี้สรุปได้ว่า สิ่งทดลองที่ใช้สารไนเตรทและสารไนไตรท์ในระดับสูง (500 ppm และ 200 ppm ตามลำดับ) เป็นสิ่งทดลองที่มีความเหมาะสมที่สุดโดยเฉพาะปริมาณสารไนไตรท์จะมีผลต่อปริมาณเชื้อในกลุ่ม Enterobacteriaceae อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p \leq 0.05$ และปริมาณสารทั้งสองที่เหลือในผลิตภัณฑ์สุดท้ายพบว่ามีปริมาณต่ำกว่าปริมาณที่จะก่อให้เกิดสารก่อมะเร็งได้