

## บทที่ 2

### วารสารปริทัศน์

#### 2.1 ไส้กรอก (Sausage)

คำว่า Sausage มาจากภาษาลาตินว่า salsus หมายถึง การใส่เกลือหรือการเก็บรักษาเนื้อ โดยใส่เกลือ (The Committee on Textbooks of American Meat Institute, 1953) แหล่งกำเนิดเริ่มแรกอยู่ในยุโรปต่อมาได้รับความนิยมและแพร่ขยายอย่างกว้างขวางไปทั่วโลก ความแตกต่างของชนิดและรสชาติเกิดจากการใช้เครื่องเทศ และเครื่องปรุงแต่งกลิ่นรสตามรสนิยมของแต่ละท้องถิ่น และโดยปกติจะตั้งชื่อตามแหล่งแรกที่ผลิต เช่น ไส้กรอกเวียนนา (Vienna), Frankfurter ซึ่งมีชื่อตามชื่อเมืองที่ผลิตเป็นแห่งแรก (Henrickson, 1978) ไส้กรอกเวียนนาเป็นผลิตภัณฑ์เนื้อประเภทบดละเอียดจนมีลักษณะคล้าย paste จัดอยู่ในไส้กรอก emulsion พวกต้มและรมควัน (cooked; smoked sausage) เป็นไส้กรอกที่ได้มาจากการนำเนื้อสัตว์มาหมักกับเกลือแล้วบดละเอียดหรือสับพร้อมน้ำแข็ง ไขมันและเครื่องปรุงแต่งกลิ่นรส บรรจุใส่ รมควัน และทำให้สุก Kiernat และคณะ (1964) ได้รายงานว่า องค์ประกอบทางเคมีของไส้กรอกเวียนนา ประกอบด้วย โปรตีน 14 % ไขมัน 19.8 % คาร์โบไฮเดรต 0.3 % เถ้า 2.9 % และความชื้น 63 %

#### 2.2 ชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ในไส้กรอก

ไส้กรอก เป็นผลิตภัณฑ์เนื้อที่ต้องเก็บรักษาไว้ในอุณหภูมิต่ำ เพื่อชะลอการเจริญของจุลินทรีย์ที่เหลือจากกระบวนการผลิตและปนเปื้อนภายหลัง ถ้าเก็บที่อุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิตู้เย็น ( $4^{\circ}\text{C}$ ) จะทำให้จำนวนจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว เป็นผลให้กลิ่น รสชาติ และคุณภาพอื่นของไส้กรอกค่อยลงในเวลาอันสั้น จำนวนและชนิดของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนเป็นดัชนีแสดงถึงสุขลักษณะของโรงงานที่ผลิต ตลอดจนสภาวะบรรจุ และการเก็บ Elliott และ Michmer (1961) เสนอว่าควรวัดจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด Coliform bacteria *Staphylococcus aureus* ซึ่งสร้างเอนไซม์ coagulase และเชื้อ *Salmonella* เป็นปัจจัยแสดงคุณภาพของไส้กรอก และเสนอว่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในไส้กรอก และ แชมเบอร์เกอร์ ไม่ควรเกิน  $2.5 \times 10^3$  เซลล์ต่อกรัม Franksen และคณะ (1970) ได้ตรวจสอบจุลินทรีย์ชนิดที่ต้องการอากาศในไส้กรอก Frankfurter 100 ตัวอย่าง และได้เสนอว่าไส้กรอก Frankfurter

นั้น ควรจะมีจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศต่ำกว่า  $10^5$  โคลนิต่อกรัม และไม่ควรมีแบคทีเรียแกรมลบ พิคซิล สเตรปโตคอคคัส หรือ แอสทรีโคคคัส ซึ่งสร้างเอนไซม์โคอะกูเลสในตัวอย่าง 0.01 กรัม Surkiewicz และคณะ (1977) ได้ศึกษาไส้กรอก Frankfurter ที่ผลิตเสร็จใหม่ ๆ จากโรงงาน พบว่ามีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดอยู่ในช่วง  $10^4$  เซลล์ต่อกรัม และปริมาณเชื้อในส่วนผสมดิบของไส้กรอกจะลดต่ำลงประมาณ 78 % เมื่อผ่านความร้อน Gaserio และ Patano (1981) กล่าวว่า ไส้กรอกที่จำหน่ายในประเทศไทย ความมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่เกิน  $10^6$  โคลนิต่อกรัม Coliform bacteria ทั้งหมดไม่เกิน 2000 โคลนิต่อกรัม E. coli ไม่เกิน 150-200 โคลนิต่อกรัม และต้องไม่พบ Salmonella spp. ในไส้กรอก สำหรับมาตรฐานของผลิตภัณฑ์เนื้อของไทย เช่น แสมและลูกชิ้น ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเรื่องแสม (2532) และเรื่องลูกชิ้น (2533) ได้กำหนดไว้ว่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดจากแหล่งผลิตต้องไม่เกิน  $10^4$  โคลนิต่อกรัม และจากที่จำหน่ายต้องไม่เกิน  $10^6$  โคลนิต่อกรัม และมี E. coli น้อยกว่า 3 โคลนิต่อกรัม ต้องไม่พบ Salmonella ในตัวอย่าง 25 กรัม, ไม่พบ Staphylococcus aureus และ Clostridium perfringens ในตัวอย่าง 0.1 และ 0.01 กรัม ตามลำดับ

### 2.3 การเน่าเสียของไส้กรอก

การเน่าเสียของไส้กรอกแบ่งได้เป็น 3 ลักษณะ คือ

#### 2.3.1 การเกิดเมือก

พบอยู่ภายนอกของไส้บรรจุ โดยเฉพาะไส้กรอก Frankfurter ในระยะเริ่มแรกจะพบโคลนิตัวเดียวกระจายอยู่ทั่วไป ต่อมาจะรวมกันกลายเป็นเมือกสีเทา เมื่อนำมาแยกเชื้อจะพบเชื้อที่ผลิตกรดแลคติก ได้แก่ Lactobacillus spp. Streptococcus spp. และ Microbacterium spp. โดยเฉพาะ M. thermosphactum และ L. viridescens ทำให้ไส้กรอกเกิดเมือกและมีสีเขียว การเกิดเมือกมักเกิดบนผิวที่ชื้น โดยเฉพาะภายนอกไส้ แต่สามารถใช้น้ำร้อนล้างเมือกนี้ออกได้โดยผลิตภัณฑ์ยังมีลักษณะภายในเหมือนเดิม Ogilvy และ Ayres (1952) พบว่า Micrococcus spp. สร้างเมือกบนไส้กรอกได้ เชื้อพวกนี้ถูกทำลายได้ง่าย โดยการใช้ความร้อนในระดับหุงต้มธรรมดา นอกจากนั้นยังพบ Bacillus spp. ด้วย Drake และคณะ (1958) รายงานว่าจุลินทรีย์ที่เป็น Flora

ของไส้กรอก Frankfurter ที่เกิดเมื่อก่อนเมื่อเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ  $2^{\circ}\text{C}$  ได้แก่ Microbacterium spp. และยีสต์ โดยพบยีสต์ถึงร้อยละ 65 ยีสต์ที่พบคือ Debaryomyces spp. และเสนอว่า การพบยีสต์ในไส้กรอกนี้ถือ เป็น เรื่องปกติธรรมดา

### 2.3.2 การเกิดรสเปรี้ยว

มักเกิดภายในไส้กรอก เป็นผลจากการเจริญของจุลินทรีย์พวก Streptococcus spp. และเชื้ออื่นๆ ที่มีลักษณะใกล้เคียงกันที่สามารถสร้างกรดแลคติกได้ แหล่งที่มาของเชื้อได้แก่ ผลิตภัณฑ์นมที่ ำใช้เป็นส่วนผสมในไส้กรอก การเปรี้ยวของไส้กรอกเกิด เนื่องจากการที่จุลินทรีย์ใช้น้ำตาลแลคโตสและ น้ำตาลชนิดอื่นๆ แล้วได้กรดแลคติกออกมา

### 2.3.3 การเกิดสีเขียวของไส้กรอก

พบในไส้กรอกชนิด Frankfurterมากกว่าไส้กรอกชนิดอื่นเกิดจากเชื้อ Lactobacillus spp. Leuconostoc spp, Pediococcus spp. Streptococcus faecium และ S. faecalis โดยที่ nitric oxide myoglobin ได้สาร oxidized porphyrin ซึ่งมีสีเขียว ปฏิกิริยานี้จะไม่เกิดขึ้น (American Meat Institute Foundation, 1960)

### 2.4 อายุการเก็บของ เนื้อและผลิตภัณฑ์ เนื้อสัตว์

อายุการเก็บของ เนื้อและผลิตภัณฑ์ เนื้อ นอกจากจะขึ้นกับจำนวนและชนิดของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนแล้วยังขึ้นกับลักษณะทางเคมีและทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ สภาพที่เก็บ และสภาวะการบรรจุด้วย ซึ่งปัจจัยเหล่านี้มีผลต่อการเจริญของ เชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนระหว่างการผลิต Shay และคณะ(1978) รายงานว่า ผลิตภัณฑ์แฮมและไส้กรอก เริ่มมีกลิ่นผิดปกติ และตรวจพบจุลินทรีย์ทั้งหมดประมาณ  $10^8$  โคโลนีต่อกรัม หลังจากเก็บไว้ประมาณ 10 วัน ที่อุณหภูมิ  $5^{\circ}\text{C}$  อภรณ์ คงสวัสดิ์(2525) ศึกษาอายุการเก็บชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ในไส้กรอกเวียนนา จากตัวอย่างไส้กรอก 120 ตัวอย่าง และรายงาน ว่า ปริมาณจุลินทรีย์

ทั้งหมดที่ผ่านการแช่เย็นมาแล้ว 24 ชั่วโมงและตรวจวิเคราะห์ภายใน 12 ชั่วโมง หลังจากซื้อจากร้านค้า  
 อยู่ในช่วงระหว่าง  $4.35 \times 10^3 - 5.18 \times 10^7$  โคโลนีต่อกรัม จุลินทรีย์ที่แยกได้ส่วนใหญ่ เป็น  
 แบคทีเรีย แกรมบวก รูปทรงกลมต่อกันเป็นสาย และพบแบคทีเรีย ที่สร้างกรดแลคติก ระหว่าง  
 $1.8 \times 10^3 - 1.9 \times 10^6$  โคโลนีต่อกรัม และการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์  
 ต่ออายุการเก็บไส้กรอกที่ผลิตจากโรงงาน 3 แห่ง เมื่อเก็บที่อุณหภูมิระหว่าง  $7 - 11^\circ\text{C}$  พบว่า ไส้กรอก  
 เวียนนาจะ เริ่มแสดงลักษณะ เสียเมื่อเก็บไว้ประมาณ 6 - 10 วัน โดยมีแนวโน้มว่าอายุการเก็บจะขึ้นกับ  
 ความชื้นและปริมาณจุลินทรีย์ตั้งต้น ลักษณะการเสียของไส้กรอกเริ่มด้วยมีสีซีด และมีกลิ่นเหม็นเปรี้ยวใน  
 เวลาต่อมา หลังจากนั้นจะ เกิด เมื่อกขึ้นบนผิว เมื่อไส้กรอกเริ่มมีกลิ่นเหม็นเปรี้ยวและ เกิด เมื่อกบนผิวนั้น  
 จะตรวจพบ lactic acid bacteria เป็นส่วนใหญ่ และพบยีสต์ รองลงมา

## 2.5 สารยับยั้งจุลินทรีย์

2.5.1 เกลือไนไตรท์และไนเตรทเกลือทั้ง 2 ชนิดนี้ ใช้ได้เฉพาะรูปเกลือโซเดียม และโปแตส  
 เข้มเท่านั้น โดยที่โซเดียมไนไตรท์มีลักษณะ เป็นผง มีสีเหลืองซีดหรือทึบแสง โปแตส เข้มไนไตรท์มี  
 ลักษณะ เป็น เม็ดขนาดเล็ก คุณความชื้นในอากาศได้คิมิสีเทาหรือสีเหลือง โซเดียมไนเตรทมีลักษณะ เป็นผง  
 หรือ เม็ดสีขาวหรือไม่มีสี และโปแตส เข้มไนเตรทมีลักษณะ เป็น เม็ดหรือผลึกละเอียดสีขาว (ศิวพร  
 ศิวเวชช, 2524)

ไนไตรท์ มีคุณสมบัติ เช่นเดียวกับสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่มีฤทธิ์ในสภาพกรด(acid antimicrobial  
 inhibitor) อื่นๆ คือ มีผลในการทำลายจุลินทรีย์มากขึ้น เมื่ออยู่ในสภาพที่เป็นกรดมากขึ้น ความสามารถ  
 ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์นั้น อธิบายได้ว่าไนตริกออกไซด์(NO)ที่ได้จากการสลายตัวของไนไตรท์  
 จะทำปฏิกิริยากับแอลฟา-อะมิโน ( $\alpha - \text{NH}_2$ ) ในกรดอะมิโนได้อย่างสมบูรณ์ นอกจากนี้ยังทำปฏิกิริยากับ  
 สารพวก monophenol เช่น ไทโรซีน(tyrosine) ด้วย ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของ เม็ดสีใน  
 เนื้อ เอนไซม์คาตาเลส และไซโตโครม (cytochrome) ของเซลล์ด้วย ทำให้เกิดการสูญเสีย Heme  
 containing respiratory catalyst ซึ่งปฏิกิริยาเหล่านี้สามารถยับยั้งการเจริญของ เชื้อจุลินทรีย์ได้  
 (พวงพร โชติไกร 2525 : Niven.Castellani และ Allenson, 1949)

Hustod และคณะ(1973) รายงานว่า โขเดียมนไทรท์ ปริมาณ 25-50 ส่วนในล้านส่วนช่วย  
ให้เนื้อหมักมีสีและรสชาติดีขึ้น ส่วน Christian และคณะ (1973) และ Christian และคณะ (1974)  
รายงานว่า โขเดียมนไทรท์ปริมาณอย่างน้อย 100 - 150 ส่วน ในล้านส่วน สามารถยับยั้งการเจริญ  
เติบโต และการสร้างสารพิษของเชื้อ Clostridium botulinum ได้

จุลินทรีย์ชนิดต่างๆ มีความทนทานต่อสารไนไตรท์แตกต่างกัน สารไนไตรท์สามารถยับยั้งการ  
เจริญ Staphylococcus aureus, Streptococcus salivarius, และ Streptococcus mitis  
ได้ ซึ่งประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จะเพิ่มมากขึ้นเมื่อมีเกลือบริโภคน้อยกว่า การใช้เกลือโซเดียม  
ไนไตรท์ 40 ส่วนในล้านส่วน สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ Staphylococcus aureus ได้  
(Price และ Schweigert, 1973) นอกจากนี้เกลือไนไตรท์ยังสามารถยับยั้งการงอกของ  
putrefactive anaerobic (P.A.3679) ในไส้กรอกได้ ถึงแม้ความเข้มข้นของไนไตรท์จะเหลืออยู่  
น้อยกว่า 4 ส่วนในล้านส่วนก็ตาม (Bulman และ Ayres, 1952)

Bauermann (1979) ได้ศึกษาการใช้เกลือไนไตรท์ในไส้กรอกแฟรงเฟอर्टเตอร์ไก่ และ เก็บไว้  
ที่อุณหภูมิ 2.2 - 4.4°C พบว่า เกลือไนไตรท์ช่วยยืดอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ ทำให้เก็บได้นาน  
ถึง 2 สัปดาห์ และตรวจพบเชื้อ Lactobacillus spp. มากกว่า  $10^6$  โคโลนีต่อกรัม ส่วนการตรวจ  
นับโคลิฟอร์ม โดยใช้เกณฑ์ของการนับจำนวนของเชื้อโคลิฟอร์ม มากกว่า 100 เซลล์ต่อกรัมนั้น พบว่า ใน  
ไส้กรอกที่ใส่ไนไตรท์ใช้เวลามากกว่า 5 สัปดาห์ ในขณะที่ไส้กรอกที่ไม่ใส่เกลือไนไตรท์จะใช้เวลา  
เพียง 2 สัปดาห์ สำหรับเชื้อ Staphylococcus spp. นั้นตรวจไม่พบในทั้งสองตัวอย่าง ถึงแม้จะเก็บ  
ไว้นาน 2 สัปดาห์

สำหรับการใช้ไนเตรท-ไนไตรท์ ต้องคำนึงถึงความปลอดภัยของผู้บริโภคในแง่ของปริมาณตกค้าง  
ในผลิตภัณฑ์ด้วย ในประเทศไทยมีการควบคุมการใช้สารไนเตรท - ไนไตรท์ในอาหารโดยพระราชบัญญัติ  
อาหารและยา พ.ศ. 2522 ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 84 (2527) เรื่องวัตถุเจือปน  
ในอาหาร ได้ระบุปริมาณสูงสุดของไนไตรท์ตกค้างในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ไว้ไม่เกิน 125 ส่วนในล้านส่วนโดย  
วิเคราะห์ในรูปโซเดียมไนไตรท์ และปริมาณของสารไนเตรทสูงสุดที่ใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อไม่เกิน 500 ส่วน  
ในล้านส่วน โดยวิเคราะห์ในรูปโซเดียมไนไตรท์ สำหรับกระทรวงสาธารณสุขของสหรัฐอเมริกาอนุญาต

ทำให้ใช้สารไนไตรท์ในปริมาณจำกัด คือต้องมีสารไนไตรท์ ซึ่งวิเคราะห์ในรูป โซเดียมไนไตรท์อิสระตกค้าง อยู่ในผลิตภัณฑ์ไม่เกิน 156 ส่วนในล้านส่วน Nitrite Safety Council (1980) ซึ่งเป็นหน่วยงาน ในกระทรวงเกษตรของสหรัฐอเมริกาได้สำรวจปริมาณไนไตรท์ ที่ใช้ในผลิตภัณฑ์ เนื้อและปริมาณไนไตรท์ อิสระตกค้าง พบว่า ในไส้กรอกต้มพวก Frankfurters ที่ใส่ไนไตรท์ 150 - 156 ส่วนในล้านส่วน จะเหลือปริมาณสารไนไตรท์อิสระ 33 - 67 ส่วนในล้านส่วน และในไส้กรอก Bologna ที่ใส่สาร ไนไตรท์ 150 ส่วนในล้านส่วน จะเหลือ ไนไตรท์อิสระอยู่ 72 ส่วนในล้านส่วน

2.5.2 กรดซอร์บิกและเกลียวซอร์เบท เป็นวัตถุกันเสียที่ใช้กันมาก เป็นสารประเภทกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัว กรดซอร์บิก (2,4 - hexadienoic) มีสูตรโมเลกุล  $\text{CH}_3\text{-CH=CH-CH=CH-COOH}$  ใช้ในการทำละลาย เชื้อยีสต์ และเราได้ศึกษาพวกแบคทีเรีย และมีความสามารถในการทำลายได้ดีที่ pH ไม่เกิน 6.5 โดยที่กรดซอร์บิกและ เกลียวซอร์เบทจะไปขัดขวางการทำงานของ sulfhydryl enzyme ได้แก่ fumalase aspartase และ succinic dehydrogenase (York และ Vaughn, 1964) และ ขัดขวางการทำงานของ catalase (Beuchat, 1981) ซึ่งมีผลทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถใช้สารประกอบ พวกคาร์บอน เพื่อการดำรงชีวิตได้ ทำให้จุลินทรีย์ตายไปในที่สุด แต่เนื่องจาก เป็นสารที่มีโทษต่อร่างกาย ถ้าใช้ในปริมาณสูง ดังนั้นในบางประเทศจึงกำหนดปริมาณสูงสุดที่อนุญาตให้ใช้ในอาหารได้ไม่มากกว่าร้อยละ 0.1 (สิวพร สิ่วเวช, 2524; พวงพร โชติไกร, 2525) จุดประสงค์ของการใช้ เกลียวซอร์เบทใน ประเทศพัฒนา ก็เพื่อลดปริมาณการใช้เกลือไนไตรท์ลงส่วนหนึ่งเพื่อผลในการยับยั้งจุลินทรีย์ และใช้เกลือ ไนไตรท์เป็นสารทำให้เกิดสีเพียงอย่างเดียว (USDA, 1978)

ประเทศไทยตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 18 พ.ศ. 2522 เรื่องการใช้วัตถุเจือปน ในอาหาร (Food Additives) และฉลากสำหรับอาหารที่มีวัตถุเจือปนในอาหารนั้น อนุญาตให้ใช้กรด ซอร์บิกและ เกลียวซอร์เบทได้ในอาหารทุกชนิด ยกเว้นเนื้อสัตว์ ในขณะที่กลุ่มประเทศอื่นๆ เช่นสหรัฐอเมริกา ญี่ปุ่น รัสเซีย และเยอรมัน อนุญาตให้ใช้ได้ ในอาหารมานานกว่า 35 ปีแล้ว เพื่อเป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์ (Luck, 1976) สำหรับสหรัฐอเมริกานั้นอนุญาตให้ใช้ เกลียวซอร์เบทได้ถึงร้อยละ 0.26 เมื่อใช้ร่วมกับ เกลียวโซเดียมไนไตรท์ 40 ส่วนในล้านส่วนของน้ำหนักเบคอน (USDA, 1978) รายงานของ Deuel และ

คณะ (1954) สรุปได้ว่า เกลือซอร์เบทนี้ร่างกายจะนำไปใช้ประโยชน์ได้เหมือนกรดไขมัน และพบว่า เกลือซอร์เบทมีประสิทธิภาพในการยับยั้ง เชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่าและเป็นพิษน้อยกว่าเกลือ เบนโซเอต (Smith และ Rollin, 1954) เพราะเกลือ เบนโซเอตจะต้องถูกกำจัดความเป็นพิษที่ดับก่อนที่จะขับออกจาก ร่างกาย ซึ่งผิดกับเกลือซอร์เบทที่ร่างกายสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ ปัจจุบันมีการใช้เกลือซอร์เบทใน รูปของวัตถุกันเสียในอาหารหลายๆ ชนิดและพบว่าในด้านความปลอดภัยนั้นกรดซอร์บิกมีค่า LD<sub>50</sub> ประมาณ 10 กรัมต่อน้ำหนักตัวหนึ่งกิโลกรัม ในขณะที่เกลือบรินค (NaCl) มีค่า LD<sub>50</sub> เท่ากับ 5 กรัมต่อน้ำหนัก ตัวหนึ่งกิโลกรัม นอกจากนี้ทางองค์การอนามัยโลก (The World Health Organization) กำหนด ค่า ADI (Acceptable Daily Intake) สูงสุดสำหรับเกลือซอร์เบทให้เท่ากับ 25 มิลลิกรัมต่อน้ำหนัก ตัวหนึ่งกิโลกรัม

โปแตสเซียมซอร์เบท จัดอยู่ในพวก GRAS additive และใช้ในอาหารหลายชนิด ตั้งแต่ผลิตภัณฑ์ นมจนถึงขนมอบ พบว่าโดยทั่วไปแล้วเกลือซอร์เบทเป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์ รา และ แบคทีเรียบางชนิด ซึ่ง Emard กับ Vaughn (1951) และ York กับ Vaughn (1954) รายงานว่าเกลือ โปแตสเซียมซอร์เบท อาจมีผลหรือไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ Clostridium botulinum แต่จากรายงานของ Tompink และคณะ (1974) พบว่าเกลือซอร์เบทช่วยยับยั้งการเกิด Clostridium botulinum ในไส้กรอกสุกที่ไม่มีการหมัก

Rice และ Pierson (1982) ได้ศึกษาผลของเกลือไนไตรท์และเกลือซอร์เบทในการยับยั้ง การเจริญของเชื้อ Salmonella spp. ในไส้กรอก Frankfurter เก็บที่อุณหภูมิ 15 และ 27°C เป็น เวลา 21 วัน โดยใส่เกลือโซเดียมไนไตรท์ เพียงชนิดเดียวที่ระดับ 0, 50 และ 156 ส่วนในล้านส่วน หรือใส่เกลือโปแตสเซียมซอร์เบทเพียงชนิดเดียวที่ระดับ 0, 2600 และ 3900 ส่วนในล้านส่วน และใส่ เกลือทั้งสองชนิดโดยใส่เกลือไนไตรท์ 50 ส่วนในล้านส่วนร่วมกับเกลือซอร์เบท 2600 ส่วนในล้านส่วน พบว่าการใส่เกลือไนไตรท์เพียงชนิดเดียวที่ระดับ 50 และ 156 ส่วนในล้านส่วนและเก็บที่อุณหภูมิ 27 °C และใส่เกลือไนไตรท์เพียงชนิดเดียวที่ระดับ 50 ส่วนในล้านส่วน เก็บที่อุณหภูมิ 15 °C ไม่สามารถยับยั้ง การเจริญของเชื้อนี้ในไส้กรอกได้ ต่างกับการที่ใส่เกลือซอร์เบทเพียงอย่างเดียวหรือใส่ร่วมกับ เกลือ ไนไตรท์

ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อที่ได้ดีทั้งที่อุณหภูมิ 15 และ 27 °C เช่นเดียวกับการที่ใส่เกลือไนไตรท์เพียงชนิดเดียวที่ระดับ 156 ส่วนในล้านส่วน และเก็บที่อุณหภูมิ 15 °C Smoot(1981) กล่าวว่า เกลือโปแตสเซียมซอร์เบต มีผลในการยับยั้งการงอกของสปอร์ของ Clostridium botulinum และ Bacillus cereus T. ได้ดีที่สุดในขณะที่สารอื่นๆ มีผลในการยับยั้งการงอกของสปอร์ได้เพียงเล็กน้อย

2.5.3 กรดแอสคอร์บิก (วิตามินซี) มีลักษณะเป็นผลึกสีขาวละลายน้ำได้ดีมาก พบทั่วไปในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต แต่ถูกทำลายได้ง่ายที่สุดโดยกระบวนการแปรรูปอาหาร เมื่อเปรียบเทียบกับวิตามินชนิดอื่นๆ จุดประสงค์ในการใช้นั้น โดยทั่วไปเป็นตัวช่วยเพิ่มคุณค่าทางอาหาร นอกจากนี้ยังทำหน้าที่เป็นสารช่วยป้องกันการเหม็นหืน (antioxidant) และช่วยป้องกันการเปลี่ยนสีของอาหาร (สายสนม ประดิษฐ์ดวง และ เนื้อทอง วานานูวิธ, 2523) จากการทดลองของ Izumi, Cassens และ Greaser (1982) พบว่าเมื่อใช้เกลือไนไตรท์ร่วมกับเกลือโซเดียมแอสคอร์เบตแล้ว เกลือแอสคอร์เบตจะช่วยให้เกลือไนไตรท์รวมตัวกับ Cytochrome C ที่ความเป็นกรด-ด่าง 5.0-6.0 ได้มากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับที่ไม่ได้เติม เกลือแอสคอร์เบต

## 2.6 การใช้กรดในอุตสาหกรรมอาหาร

กรดเริ่มเข้ามามีบทบาทในอุตสาหกรรมอาหารเป็นเวลานานนับพันปี นับตั้งแต่ที่มนุษย์รู้จักใช้รสเปรี้ยวในการปรุงแต่งรสอาหาร สารที่ให้รสเปรี้ยวที่เป็นกรดอินทรีย์ตามธรรมชาติและใช้มากในอุตสาหกรรมอาหารนั้น ได้แก่ acetic, citric, fumaric, lactic, malic และ tartaric acid รวมทั้ง glucono delta lactone ซึ่งเป็นสารที่สามารถไฮโดรไลซ์แล้วให้กรดออกมา (Smulders และ คณะ, 1986)

โดยสรุปแล้ว หน้าที่ของกรดในอุตสาหกรรมอาหาร ได้แก่ (Vreeman, 1985)

1. Flavouring : เป็นการนำกรดมาใช้เพื่อปรับปรุงรสชาติของอาหาร และผลิตภัณฑ์อาหาร
2. Preservation : ใช้ในการถนอมอาหารช่วยยืดอายุการเก็บและทำลายจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ
3. pH regulation : ใช้ควบคุมสภาพความเป็นกรด-ด่างของอาหาร

4. Colour retention/control : ช่วยในการรักษาและควบคุมสีของผลิตภัณฑ์

5. Digestibility improvement : ปรับปรุงคุณสมบัติในการย่อย เช่น ในกระบวนการย่อยโปรตีน จะมีการใช้กรดกำมะถันเข้มข้นช่วยในการย่อยได้

หลังสงครามโลกครั้งที่ 1 ได้มีการพัฒนาการผลิตกรดซิตริก ด้วยกระบวนการหมักและมีการใช้กรดซิตริกในอุตสาหกรรมอาหาร โดยใช้เป็นสารให้ความเป็นกรด (acidulant) ที่แพร่หลายที่สุด หลังจากนั้นจึงมีการผลิตกรดแลคติกขึ้นมาใช้ พร้อมทั้งพัฒนานำออกเผยแพร่ด้านการตลาด ปัจจุบันนี้ปริมาณการผลิตกรดแลคติกมีปริมาณร้อยละ 10 ของปริมาณการผลิตกรดซิตริกทั้งหมด ครึ่งหนึ่งของปริมาณกรดแลคติกทั้งหมดผลิตได้จากการหมัก และส่วนที่เหลือผลิตโดยกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมี

กรดชนิดอื่นที่มีคุณสมบัติคล้ายกับกรดซิตริกและกรดแลคติก คือ กรดมาลิก และกรดทาร์ทาริก กรดมาลิกนั้นค้นพบหลังกรดแลคติก และสามารถผลิตโดยใช้วิธีการทางเคมี ใช้ผสมในเครื่องดื่มที่มีแคลอรีต่ำ ส่วนกรดทาร์ทาริกผลิตจากผลพลอยได้ที่เหลือหลังจากทำไวน์ เช่น พวกกากจากการหมักไวน์ เฉพาะทางยุโรปตอนใต้มีการใช้กรดทาร์ทาริกในการผลิตไวน์มาก การส่งออกของกรดนี้จึงมีน้อย และราคาแพง ทำให้ความสำคัญในอุตสาหกรรมน้อยลง (Vreeman, 1985)

นอกจากนี้ยังมีกรดอินทรีย์บางตัวที่นำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารได้แก่ กรดฟอสฟอริก ส่วนพวกกรดแร่ตัวอื่นๆซึ่งมีการควบคุมปริมาณการใช้ เช่น พวกกรดเกลือและกรดกำมะถัน ไม่นิยมใช้ในอุตสาหกรรม

## 2.7 กรดแลคติกที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

กรดแลคติกเป็นกรดอินทรีย์ที่เกิดตามธรรมชาติ และมีประวัติการใช้งานในอุตสาหกรรมอาหารมาเป็นระยะเวลาานาน กรดนี้พบในอาหารต่างๆ เช่น เนยแข็ง โยเกิร์ต ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ ผักดอง เบียร์ และไวน์ ซึ่งมีการสร้างกรดแลคติกหลังจากการหมัก นอกจากนี้ยังมีกรดแลคติกที่ผลิตขึ้น และนำมาใช้อย่างกว้างขวาง ในอุตสาหกรรมอาหารเกือบทุกประเภท โดยมีหน้าที่สำคัญคือ ให้กลิ่น รส และยืดอายุการเก็บรักษา

กรดแลคติกมีรสกรดอ่อน ต่างจากรสจัดของกรดชนิดอื่น ไม่กลบหรือลบกลิ่นธรรมชาติ เมื่อใส่ลงในผลิตภัณฑ์อาหาร สามารถถนอมรักษาอาหารและความคงปริมาณจุลินทรีย์ได้ดี เกิดขึ้นได้เองตามธรรมชาติ และเป็นส่วนประกอบตามธรรมชาติในอาหาร (ตารางที่ 1) ทั้งจากกระบวนการหมัก และจากการใส่กรดที่สังเคราะห์ขึ้นลงในผลิตภัณฑ์อาหาร เกลือของกรดนี้จะละลายน้ำได้ดี



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางที่ 2.1 ปริมาณกรดแลคติกในอาหารบางประเภท (Vreeman, 1985)

Food	Lactic acid content (g/kg)	Per capita consumption (kg)	Per capita lactic acid ingestion (g)
Pork	9	41.7	375.3
Beef	9	18.6	167.4
Cheese (Gouda)	13	12.5	162.5
Buttermilk	10	9.3	93.0
Poultry	10	9.0	90.0
Yoghurt	10	6.9	69.0
Edible slaughter offals	9	3.9	35.1
Dry fermented sausage	17	1.3	22.1
Sauerkraut	11	2.0	22.0
Horse meat	9	1.8	16.2
Veal	9	1.4	12.6
Mutton	9	0.5	4.5

นอกจากนี้กรดแลคติกไม่ เป็นพิษและได้รับการรับรองความปลอดภัย ในการใช้เป็นสารปรุงแต่งรส อาหารในประเทศสหรัฐอเมริกา (FAO/WHO, 1974) และในประเทศอื่นๆ (ตารางที่ 2) ประเทศไทย อนุญาตให้ใช้กรดแลคติก เป็นวัตถุเจือปนในอาหารได้ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 84 (2527) เรื่องวัตถุเจือปนในอาหาร และได้กำหนดคุณภาพหรือมาตรฐานของกรดแลคติกไว้ว่า เป็นของเหลว ชัน เหนียว ไม่มีสีหรือสีเหลืองอ่อน เกือบไม่มีกลิ่น สารผสมของกรดแลคติก ( $C_3H_6O_3$ ) และเกลือของกรด แลคติก ซึ่งมีสูตร  $C_6H_{10}O_5$  เตรียมได้จากการหมักน้ำตาลหรือสังเคราะห์ขึ้น โดยทั่วไปจะอยู่ในสภาพสาร ละลาย ซึ่งประกอบด้วยกรดแลคติกร้อยละ 50 - 90 จะดูดความชื้นเมื่อทิ้งไว้ในอากาศ และเมื่อนำมาต้ม เดือดจนข้น จะเกิดการรวมตัวกันของกรดแลคติกและเกลือของกรดได้ 2 -(lactoyloxy) propanoic acid ซึ่งเมื่อนำมาเติมน้ำและอุ่นให้ร้อนจะไฮโดรไลซ์เป็นกรดแลคติก ซึ่งสามารถละลายได้ในน้ำ และ แอลกอฮอล์

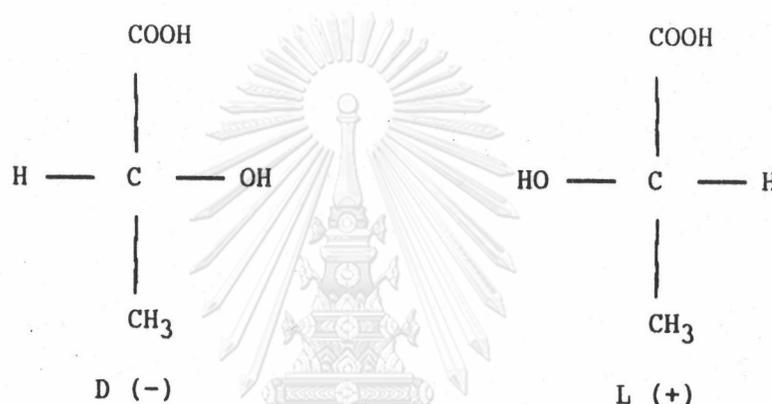
สมบัติของกรดแลคติก เมื่อ เปรียบเทียบกับกรดซิตรีก นั้นแตกต่างกันเล็กน้อย และในการใช้กับ อาหาร สามารถใช้แทนที่กันได้บางส่วน ความแตกต่างของกรดแลคติกกับกรดซิตรีก คือ รสชาติ ซึ่ง กรดแลคติกมีรสอ่อนและนุ่มกว่า ส่วนกรดซิตรีกมีรสชาติจัดกว่าและใช้ในรูปผลึกหรือเป็นผง แต่กรดแลคติก มักจะใช้ในรูปของเหลวที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กัน และมีผลในการถนอมรักษาอาหารที่ดีกว่า (Vreeman, 1985)

ตารางที่ 2.2 The interpretation of the legislation on the use of lactic acid as a meat decontaminant in the European Economic Community and in some other major meat producing countries \*

Country	Allowed	No decision	Prohibited
Belgium	X		
Denmark		X	
Federal Republic of Germany	X		
France			X
Greece		X	
Ireland		X	
Italy		X	
Luxemburg			X
Portugal		X	
Spain		X	
The Netherlands			X
United Kingdom		X	
Argentina		X	
Australia		X	
New Zealand			X
United States		X	

\* Based on data provided by the local agricultural authorities  
(Smulders และคณะ, 1986)

โครงสร้างของกรดแลคติก แบ่งตามสมบัติการบิดระนาบแสงโพลาไรซ์ได้ 2 แบบ คือ D (-) และ L (+) (รูปที่ 1) L (+) form จะพบได้ในสัตว์และมนุษย์ ในร่างกายมนุษย์เกิดจาก metabolism ของกลูโคส หรือไกลโคเจน รวมทั้งยังพบในจุลินทรีย์พวกที่สร้างกรดแลคติก (lactic acid bacteria) ดังนั้น L (+) จึงเรียกได้ว่าเป็น natural or physiological lactic acid ส่วน D (-) form นี้จะได้อมาจากการสังเคราะห์ (Krusch, 1978)



รูปที่ 2.1 โครงสร้างของกรดแลคติก D (-) และ L (+)

กรดแลคติกในทางการค้ามี 3 ประเภท (Holten, 1971) คือ

1. pure dry form (2-hydroxy propionic acid) ลักษณะเป็นผงสีขาว มีจุดหลอมเหลวเท่ากับ  $18^{\circ}\text{C}$  (racemic dl-form) และ  $26^{\circ}\text{C}$  [(lactic acid isomer), L (+)] ปกติจะใช้ในรูปสารละลาย เตรียมได้ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ
2. edible grade L (+) lactic acid เป็นของเหลวสีค่อนข้างเหลือง ปกติแล้วเป็นสารละลายเข้มข้น 50 - 80 %
3. pharmaceutical grade เป็นของเหลวใส ไม่มีสี มีความเข้มข้น 88 - 90 %

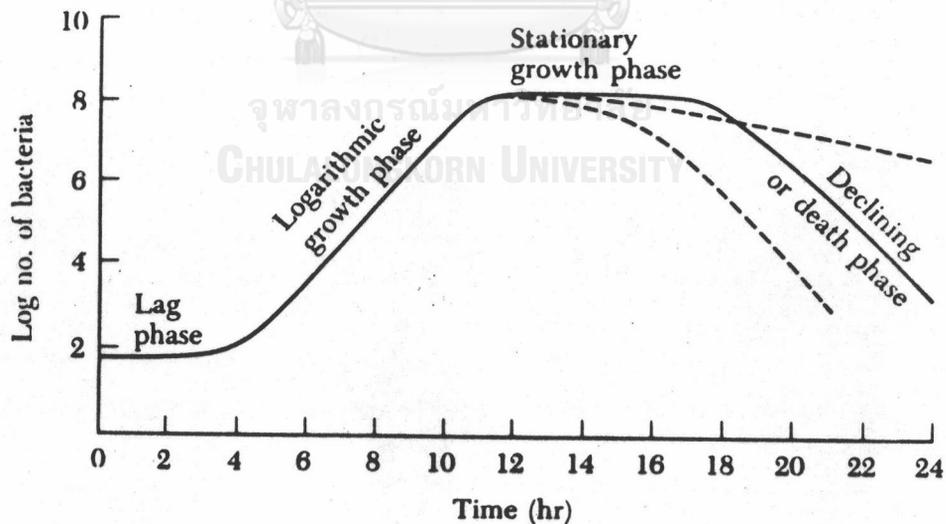
## 2.8 การใช้กรดแลคติกเป็นสารถนอมอาหาร

การใช้ประโยชน์จากกรดแลคติกมีความสำคัญเพิ่มมากขึ้น มีการใช้ประโยชน์ของกรดและเกลือของกรดแลคติกอย่างกว้างขวาง ในอุตสาหกรรมอาหาร และเป็นการรองรับกรดแลคติกที่ผลิตขึ้นมา กรดแลคติกประมาณ 23,000 ตัน ถูกนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารทุกๆ สาขา

สมบัติในด้านการป้องกันการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ สำหรับกรดแลคติกนั้นเป็นที่รู้จักแพร่หลายมานานแล้วในพวกอาหารหมักดองทั้งหลาย เช่น yoghurt sauerkraut หรือพวก fermented sausage ต่างๆ ซึ่งพบว่ามีการผลิตอยู่ในปริมาณต่างๆ กัน กรดนี้เกิดจากจุลินทรีย์ที่สร้างกรดแลคติก และในผลิตภัณฑ์เหล่านี้มักจะไม่มีพบการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดอื่น (Vreeman, 1985) จึงช่วยยืดอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ให้ยาวนานขึ้น

## 2.9 กลไกในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียโดยกรดแลคติก

การเจริญเติบโตของแบคทีเรียแบ่งได้เป็น 4 ระยะ (phase) ตามลักษณะเส้นกราฟ ในรูปที่ 2



รูปที่ 2.2 กราฟการเจริญเติบโตของ แบคทีเรีย

การเจริญเติบโตของแบคทีเรียนั้นแบ่งได้เป็น 4 ระยะ (phase) (รูปที่ 2) ระยะแรก เรียกว่า lag phase ซึ่งเป็นระยะที่ แบคทีเรีย ปรับตัวให้เหมาะสมกับสภาพแวดล้อม โดยเพิ่มปริมาณสารภายในเซลล์และเอนไซม์บางชนิด ในระยะนี้จำนวนแบคทีเรียจะไม่เพิ่มขึ้น แต่หลังจากระยะนี้ไปแล้ว เซลล์จะเริ่มเพิ่มจำนวนขึ้นด้วยอัตราการเพิ่มที่สม่ำเสมอ เรียกระยะนี้ว่า logarithmic growth phase ต่อมาการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียจะค่อยๆ ช้าลง เนื่องจากอาหารเริ่มจำกัดและของเสียจากการเจริญเติบโตของแบคทีเรียมีปริมาณมากขึ้น จำนวนแบคทีเรียจะคงตัวไม่เปลี่ยนแปลงชั่วระยะเวลาหนึ่ง คือการเกิดสมดุลย์ระหว่างอัตราการเจริญกับอัตราการตาย เรียกระยะนี้ว่า stationary phase และระยะสุดท้ายเรียกว่า declining หรือ death phase เป็นช่วงที่แบคทีเรียลดจำนวนลงไปเรื่อยๆ เนื่องจากสภาวะแวดล้อมไม่เหมาะสม เราสามารถควบคุมจุลินทรีย์เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อได้โดยยืดระยะเวลาในช่วง lag phase ออกไปให้นานที่สุด โดยพยายามทำให้เกิดสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ เช่น การเปลี่ยนแปลงความชื้น อุณหภูมิ สภาพความเป็นกรด-ด่างในอาหาร หรือการเติมสารยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในอาหาร (ชัยณรงค์, 2529)

กรดมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ เพราะกรดเป็นตัวการทำให้เกิดสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต โดยทำให้ pH ลดต่ำลง ซึ่งเป็นการช่วยขยายระยะเวลาในช่วง lag phase ในจุลินทรีย์พวกไวต่อกรด (acid sensitive) ทำให้ระบบการทำงานต่างๆ ภายในเซลล์หยุดชะงักลง (Smulders, 1983 และ Woolthuis, 1985) ในบางครั้งการใช้กรดเพียงอย่างเดียวก็ไม่เพียงพอในการยับยั้งการเจริญเติบโตเพราะจุลินทรีย์บางพวกเป็นพวกทนกรด(acid tolerance) เช่น พวก coliform bacteria และยีสต์บางชนิด ถ้าต้องการผลในด้านที่ยับยั้งจุลินทรีย์ จำเป็นจะต้องใช้กรดที่มีความเข้มข้นมาก ๆ แต่จะมีผลกระทบทางด้านกลิ่นรสและสีของผลิตภัณฑ์ จึงมีการใช้กรดแลคติกในสภาพของสารละลาย buffer (กรดอ่อนและเกลือของกรดอ่อน) เพื่อประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์ โดยยังคงมีผลต่อกลิ่นรสและลักษณะปรากฏที่ดีของผลิตภัณฑ์ด้วย

กรดอินทรีย์ เช่น แลคติก และอะซิติก จะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตโดยทำให้ pH ลดลงในช่วงของการเจริญเติบโตและจะมีผลต่อระบบการทำงานภายใน เซลล์ของจุลินทรีย์ เมื่ออยู่ในรูป

ของโมเลกุลที่ไม่แตกตัว (undissociated acid molecule) (Ingram และคณะ, 1956)

Adam และ Hall (1988) รายงานว่าผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์เกิดจากความสามารถในส่วนที่เป็น lipophilic ของกรดที่เข้า ซึ่งจะอยู่ในรูปโมเลกุลที่ไม่แตกตัวและซึมผ่าน (penetrate) เข้าไปใน plasma membrane ของแบคทีเรีย ที่มี pH ค่อนข้างเป็นกลาง (pH 7) สูงกว่า pH ของ cytoplasm ดังนั้น เมื่อกรดที่อยู่ในรูปไม่แตกตัว เข้าไปก็จะเกิดการแตกตัวออกเป็นรูปของ protons และ conjugated base และจะมีผลในการทำลาย oxidative phosphorylation form ของ electron transport system รวมไปถึงการยับยั้งระบบการขนถ่าย substrate molecule เข้าสู่เซลล์ และผลในการทำลายหรือยับยั้งการเจริญเติบโตโดยกรดอินทรีย์นี้จะขึ้นกับค่าคงที่ของการแตกตัวของกรดและ pH ของ medium

#### 2.10 การใช้กรดแลคติกในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์

เนื้อสัตว์เป็นอาหารประเภทหนึ่งที่เน่าเสียง่ายเพราะมีความชื้นสูง pH ปานกลาง (5.5 - 7) มีคุณค่าทางโภชนาการสูง ปัจจัยที่มีผลต่ออัตราการเน่าเสียของเนื้อสัตว์ คือ ชนิดของจุลินทรีย์และปริมาณจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในเนื้อสัตว์ กรดอินทรีย์ที่เข้าเป็นสารลดการปนเปื้อนของเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์นิยมมาซึ่งในรูปกรดอ่อน การใช้กรดที่มีความเข้มข้นมากจะช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้มากขึ้น ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียโดยกรดจะเพิ่มขึ้น 10 เท่า เมื่อ pH ของกรดลดลง 1 หน่วย กรดอินทรีย์ที่ใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ ได้แก่ กรดอะซิติก กรดแลคติก กรดซอร์บิก (Frazier และ Westhoff, 1988)

การปนเปื้อนและทำให้เกิดการเน่าเสียในผลิตภัณฑ์เนื้อเกิดจากจุลินทรีย์ในกลุ่มของรา ยีสต์ และแบคทีเรีย โดยจุลินทรีย์เหล่านี้ มีช่วง pH ในการเจริญเติบโตได้ต่าง ๆ กัน โดยที่ราเป็นจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญเติบโตได้ในช่วง pH กว้าง ตั้งแต่ 2.0 - 8.0 แต่ช่วง pH ที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของราจะอยู่ในช่วงที่เป็นกรด สำหรับยีสต์นั้นสามารถเจริญเติบโตได้ดีในช่วงที่มี pH เป็นกรดปานกลาง ประมาณ 4.0 - 4.5 และแบคทีเรียมักจะเจริญเติบโตได้ดีในช่วง pH ที่เป็นกลาง กล่าวได้ว่า ถ้าอยู่ในสภาวะปกติของเนื้อสัตว์ ซึ่งมี pH ในช่วง 5.4-5.6 แล้ว แบคทีเรียจะเจริญเติบโตได้ดีกว่ายีสต์ และยีสต์จะเจริญได้ดีกว่ารา (ชัยณรงค์ คันธพนิต, 2529)

ในทางปฏิบัติ การนำกรดแลคติกมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เพื่อจุดประสงค์ในการยืดอายุการเก็บรักษานั้นขึ้นกับความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ของกรดแลคติก ซึ่งปัจจัยที่มีผลกระทบได้แก่ผลของค่า pH ขอบเขตในการแตกตัวของกรดและผลที่เกี่ยวข้องกับโมเลกุลของกรด (Freese และคณะ, 1973) และยังขึ้นกับลักษณะการนำมาใช้อีกด้วย ได้แก่

วิธีการใช้กรด จะขึ้นกับลักษณะของผลิตภัณฑ์ โดยทั่วไปจะมีวิธีการใช้ 2 ลักษณะ คือ การฉีดพ่น (spray) และการแช่ (dip) สำหรับการผสมลงไปในผลิตภัณฑ์นั้นไม่นิยมปฏิบัติเพราะถ้าใช้กับผลิตภัณฑ์ที่ต้องการให้เกิด emulsion แล้ว จะทำให้การรวมตัวของ emulsion ไม่ดีทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะประสาธสัมผัสต้อยลง สำหรับการเลือกใช้นั้นจะพิจารณาว่า ถ้าเป็นผลิตภัณฑ์ขนาดใหญ่ พวงซาก (whole carcass) หรือผลิตภัณฑ์จำนวนมาก ๆ และการซึมผ่านของกรดเป็นไปได้ดี จะเลือกใช้วิธีการฉีดพ่น เพื่อลดปัญหาการสิ้นเปลืองกรด ถ้าเป็นชิ้นส่วนขนาดเล็กมักจะใช้วิธีการแช่ลงในสารละลายกรด (Freese, 1973 ; Snijders และคณะ, 1985) ทั้งนี้จะคำนึงถึงความเหมาะสมของขั้นตอนการผลิตด้วย

ระดับความเข้มข้น ไม่มีข้อกำหนดที่แน่นอนและปกติจะใช้ผลการยอมรับทางประสาธสัมผัส เป็นเกณฑ์ในการตัดสินใจร่วมกับผลทางด้านความยับยั้งจุลินทรีย์ ซึ่งประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์นั้น เมื่อใช้กรดที่ระดับความเข้มข้นสูงจะมีประสิทธิภาพดีกว่า (Snijders และคณะ, 1985) นอกจากนี้ยังคำนึงถึงวิธีการนำไปใช้ควบคู่ไปด้วย Woolthuis และ Smulders (1985) ได้ศึกษาผลของการใช้กรดแลคติกที่ระดับ 0.75, 1, 1.2, 1.5, 2.0 และ 2.5 % ปริมาตรโดยปริมาตร ฉีดพ่นลงบนซากลูกวัว โดยคำนึงถึงผลในการยับยั้งจุลินทรีย์รวมกับการยอมรับทางประสาธสัมผัส พบว่าความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์แปรผันโดยตรงกับระดับความเข้มข้นของกรดที่เลือกใช้ แต่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 1.5 % ขึ้นไป จะทำให้ลักษณะปรากฏไม่เป็นที่ยอมรับและสีซีดจางลงโดยระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมอยู่ที่ 1.25 % ถ้าซากที่ผ่านการตัดแต่งไขมันตัดผิวหนังแล้วสามารถใช้กรดแลคติกได้ที่ระดับความเข้มข้นถึง 2 % โดยที่ลักษณะทางประสาธสัมผัสยังเป็นที่ยอมรับ

เวลาและอุณหภูมิของสารละลายกรดที่ใช้ในการแช่ Anderson (1990) ทดลองโดยใช้วิธีการแช่ชิ้นเนื้อวัวขนาด 2.54 ซม. x 2.54 ซม. ลงในสารละลายกรดแลคติกเข้มข้น 0, 1, 2 และ 3 % ปริมาตรโดยปริมาตร และที่อุณหภูมิ 25, 40, 55 และ 70°C เป็นเวลา 15 วินาที พบว่า ผลในการลด

จำนวนจุลินทรีย์แปรผันโดยตรงกับระดับความเข้มข้นของกรดที่ใช้ ปริมาณกรดที่ตกค้างวัดจากการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ซึ่งลดลงในช่วง 5 วินาทีแรก แล้วจึงเพิ่มขึ้นจนมี pH ใกล้เคียงกับตัวอย่างที่ไม่ได้ผ่านการแช่กรด หลังจากเก็บไว้เป็นเวลา 24 ชม. ที่อุณหภูมิ  $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$

อุณหภูมิในการเก็บรักษาและสภาวะการบรรจุ โดยปกติแล้วเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ เช่น ไส้กรอก แยม และ เบคอน จะต้องเก็บในที่ที่มีอุณหภูมิต่ำ เพื่อชะลอการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ Cudjoe (1988) ได้ใช้สารละลายกรดแลคติกเข้มข้น 1 % ปริมาตรโดยปริมาตร ฉีดพ่นลงบนซากโค แล้วติดตามปริมาณ total viable count ที่อุณหภูมิก่อนเก็บ  $4^{\circ}, 15^{\circ}$  และ  $20^{\circ}\text{C}$  พบว่า สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ลงได้อย่างมีนัยสำคัญทุกอุณหภูมิที่ทดลอง และอายุการเก็บของตัวอย่างเพิ่มขึ้นได้อย่างน้อยที่สุด 3 วัน ที่  $4^{\circ}\text{C}$  และ 1 วัน ที่อุณหภูมิก่อนเก็บที่ 15 และ  $20^{\circ}\text{C}$  แต่ในกรณีของ coliform bacteria ซึ่งจัดอยู่ในพวก enterobacteriaceae ซึ่งทนต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตด้วยกรดแลคติกนั้น พบว่าผลของการยับยั้งด้วยกรดแลคติกไม่ดีเท่าที่ควร Snijder และคณะ (1985) ได้ทดลองสนับสนุนผลในการยับยั้งจุลินทรีย์พวก aerobes และ enterobacteriaceae colony โดยศึกษาผลของการใช้กรดแลคติกร่วมกับการบรรจุในภาชนะสุญญากาศและอุณหภูมิก่อนเก็บในสภาพแช่เย็นที่  $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$  พบว่าจะให้ผล ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ทั้งสองประเภทได้ดีกว่าอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับการบรรจุ แบบไม่ใช้สภาวะสุญญากาศ ทั้งนี้ เป็นเพราะผลที่เสริมกันทั้งสภาวะการบรรจุและผลของกรด ทำให้อายุการเก็บเพิ่มมากขึ้น

ในปัจจุบันนี้ ผลิตภัณฑ์เนื้อโดยทั่วไปจะบรรจุในสภาวะสุญญากาศ เพื่อลดจำนวนจุลินทรีย์พวก aerobes และเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ เช่น อุณหภูมิแช่เย็น  $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$  (Frazier และ Westhoff, 1988) แต่ในระดับอุตสาหกรรมที่ใช้ในการเก็บผลิตภัณฑ์ เพื่อรอจำหน่ายจะเก็บที่อุณหภูมิแช่แข็ง  $-18^{\circ}\text{C}$  เพื่อเป็นการยืดอายุการเก็บและลดการเปลี่ยนแปลงที่จะเกิดขึ้นกับผลิตภัณฑ์