

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูป

จุดเริ่มต้นของการแปรรูปเนื้อสัตว์เกิดขึ้นตั้งแต่สมัยโบราณ ที่มนุษย์ล่าสัตว์มาแล้ว ต้องการบริโภคเนื้อสัตว์ทั้งในลักษณะสดหลังฆ่าและสามารถเก็บไว้บริโภคได้หลายวันโดยไม่มีภาวเสียดังนั้นจึงเริ่มแปรรูปตั้งแต่การต้ม ไปจนถึงกระบวนการอื่นๆ เพื่อยืดอายุและรักษาคุณภาพเนื้อสัตว์ไว้ ชาวอียิปต์มีการบันทึกถึงการใช้น้ำเกลือและการตากแห้ง ส่วนชาวโรมันเป็นพวกแรกที่ใช้ น้ำแข็งและหิมะในการถนอมอาหาร และต่อมาได้มีการทำผลิตภัณฑ์ในรูปไส้กรอก โดยการนำเนื้อมาหั่น บด เติมรสชาติโดยการใส่เกลือ เครื่องเทศ และมีการทำให้แห้งเพื่อยืดอายุของผลิตภัณฑ์ สำหรับเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดกลิ่นรส และลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์นั้นล้วนมาจากธรรมชาติทั้งสิ้น (Pederson, 1979)

ปัจจุบันไส้กรอกหมักแห้ง (fermented dry sausages) และไส้กรอกหมักกึ่งแห้ง (semidry sausages) ที่บริโภคในสหรัฐอเมริกา ถือได้ว่าการผลิตน้อยถ้าเทียบกับการผลิตไส้กรอกทั้งหมดซึ่งปริมาณการผลิตไส้กรอกทั้งหมดที่สำรวจโดย United States Department of Agriculture (USDA) Establishments ในปี 1973 เป็น 5,040 ล้านปอนด์ โดยเป็นไส้กรอกหมักแห้งและหมักกึ่งแห้ง 249 ล้านปอนด์ (ร้อยละ 4.9) และ 95 ล้านปอนด์ (ร้อยละ 1.9) ตามลำดับ (AMI, 1982)

โดยปกติสามารถแบ่งประเภทของไส้กรอกได้ 5 ประเภทดังนี้

ไส้กรอกสด (fresh sausages) : ผลิตจากเนื้อสดที่ผ่านการบดละเอียด คลุกเคล้ากับเกลือและเครื่องเทศแล้วนำมาอัดใส่ casing นิยมทำให้สุกทั้งหมดก่อนบริโภค มีการผลิตประมาณ 1,090 ล้านปอนด์ (ร้อยละ 21.6) ของปริมาณไส้กรอกทั้งหมด ตัวอย่างเช่น fresh pork sausage bratwurst และ bockwurst (AMI, 1982)

ไส้กรอกแห้งและกึ่งแห้ง (dry and semi-dry sausages) : เป็นไส้กรอก

ที่ผ่านการหมักและทำให้แห้งในอากาศ อาจมีการรมควันก่อนการทำแห้งก็ได้ บริโภคในลักษณะเย็น เช่น genoa salami และ pepperoni

ไส้กรอกสุก (cooked sausages) : ผลิตจากเนื้อสัตว์ที่บดละเอียดคลุกเคล้ากับเกลือและเครื่องเทศบรรจุลงใน casing อาจหมักหรือไม่ก็ได้ บางครั้งอาจใช้การรมควันใช้ความร้อนทำให้สุก ปกติมักบริโภคในลักษณะเย็น เช่น frankfurters liver sausage braunschweiger และ bologna และมักขายในลักษณะของ "พร้อมบริโภค (ready to eat)" ชนิดนี้มีการผลิตมากที่สุดคือ ประมาณ 3,200 ล้านปอนด์ (ร้อยละ 63.7) (AMI, 1982)

ไส้กรอกสดที่ผ่านการรมควัน (fresh, smoked sausages) : ผลิตจากเนื้อสัตว์ที่อาจผ่านการหมักหรือไม่ก็ได้ บรรจุใน casing ผ่านการรมควันแต่ไม่ให้ความร้อน แต่จะให้ความร้อนเมื่อต้องการบริโภค มีการผลิตเพียง 13 ล้านปอนด์ (ร้อยละ 0.26) เท่านั้น เช่น mettwurst kielbasa และ smoked, country style pork sausage เป็นต้น (AMI, 1982)

เนื้อสุกชนิดพิเศษ (cooked meat specialties) : มีวิธีการเตรียมเป็นพิเศษอาจผ่านการหมักหรือไม่ก็ได้ มักใช้ความร้อนในการทำสุก ปกติจะผลิตในลักษณะก้อนหรือแท่ง หั่นเป็นแผ่นบางและจำหน่ายทั้งก้อน บริโภคในลักษณะเย็น เช่น loaves head cheese scrapple มีการผลิตน้อยกว่า 381 ล้านปอนด์ (ร้อยละ 7.6) (AMI, 1982)

ในประเทศไทยและประเทศทางเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ นั้น ก็มีการถนอมอาหารโดยการแปรรูปเนื้อสัตว์เช่นกัน วิธีหนึ่งที่นิยมทำกันมากคือการหมัก โดยสามารถใช้ทั้งอาหารที่มีโปรตีนสูง เช่น เนื้อหมู เนื้อวัว เบ็ด ไก่ และปลา และอาหารที่มีโปรตีนต่ำ เช่น พืชและผักต่างๆ มาเป็นวัตถุดิบได้ อาหารหมักดองที่ทำจากอาหารที่มีโปรตีนสูงเช่นอาหารปลาหมัก ได้แก่ burong dalag (ฟิลิปปินส์) phaak หรือ mamchao (กัมพูชา) padec (ลาว) ปลาข้าวและส้มผัก (ไทย) อาหารกึ่งหมักได้แก่ burong hipon (ฟิลิปปินส์) กุ้งส้มหรือกุ้งจ่อม (ไทย) และอาหารเนื้อสุกหมักได้แก่ แหนมและไส้กรอกเปรี้ยว (ไทย) เป็นต้น (Geoffrey, 1987)

สำหรับแหนมเป็นผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่เป็นอาหารพื้นเมืองชนิดหนึ่งของประเทศไทย อาจเรียกอีกชื่อหนึ่งว่าหมูส้ม เพราะได้จากการหมักเนื้อสุกรให้มีรสเปรี้ยว อาจจัดอยู่ในประเภทไส้กรอกกึ่งแห้ง (semi-dry sausages) ที่ต้องผ่านการหมักเช่นเดียวกับพวกไส้กรอกเปรี้ยว ผลิตภัณฑ์แหนมพื้นบ้านสามารถทำได้โดยใช้เนื้อสุกรมาทุบหรือสับให้ละเอียด แล้วผสมกับเครื่องปรุงซึ่งมีอยู่หลายอย่างเช่น ข้าวสุก เกลือ กระเทียม ดินประสิว หนังกุ้งที่ต้มแล้วและหั่นเป็นเส้นบางๆ ใส่พริกทั้งเม็ด เมื่อผสมกันได้สัดส่วนดีแล้วนำมามัดด้วยพลาสติกบางๆ จากนั้นใช้

ใบตองที่ลนไฟแล้วห่อทับและอัดให้แน่น ใบตองที่ใช้จะห่อ 3-5 ชั้น แล้วคาดด้วยเชือกหรือตอก อีกครั้งหนึ่ง ในสมัยก่อนที่ยังไม่มีพลาสติกก็จะห่อด้วยใบตองโดยตรง ทิ้งไว้ประมาณ 3-5 วัน ก็สามารถนำมาบริโภคได้ โดยนิยมบริโภคในลักษณะที่ไม่ผ่านความร้อน หรืออาจนำไปทำให้สุก ก่อนก็ได้ ถ้าทิ้งไว้นานกว่า 5 วัน แหนมจะมีรสที่เปรี้ยวจัด ส่วนระยะเวลาที่เก็บนานเท่าใดขึ้นอยู่กับส่วนผสม เทคนิค และความสะอาดของการผลิต แต่ถ้าเก็บแหนมไว้ในตู้เย็นหรือที่อุณหภูมิ ต่ำ จะสามารถยืดอายุการเก็บได้นานขึ้น ซึ่งจากรายงานของ อัจฉรา มีวาสนา (2507) ที่ได้วิเคราะห์หาส่วนประกอบของอาหารแร่ธาตุของผลิตภัณฑ์แหนมยี่ห้อสุนันทา ซึ่งผลิตที่จังหวัด เชียงใหม่พบว่า ในส่วนที่บริโภคได้ 100 กรัม จะมีความชื้น 65.0 กรัม โปรตีน 23.1 กรัม ไขมัน 5.1 กรัม คาร์โบไฮเดรต 2.3 กรัม เถ้า 4.4 กรัม ฟอสฟอรัส 174.3 มิลลิกรัม เหล็ก 4.14 มิลลิกรัม วิตามินบีหนึ่ง 428 ไมโครกรัม และวิตามินบีสอง 11.40 ไมโครกรัม

ส่วนกลิ่นรสของแหนมที่เกิดขึ้นนั้น เป็นกลิ่นรสเฉพาะที่เกิดจากกระบวนการหมักที่มีเชื้อ จุลินทรีย์เข้าไปเกี่ยวข้อง และรสเปรี้ยวที่เกิดขึ้นจะเนื่องจากการดแลคติกที่เชื้อจุลินทรีย์พวก lactic acid bacteria สร้างขึ้น (Bacus, 1984) อย่างไรก็ตาม การผลิตแหนมในปัจจุบันเป็นอุตสาหกรรมแบบครัวเรือน ซึ่งจะมีการใช้สูตรเฉพาะในแต่ละแห่งและปล่อยให้มีการ หมักตามธรรมชาติ ทั้งนี้จะทำให้คุณภาพด้านกลิ่น รส และลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์จากแต่ละ แหล่งผลิต หรือแม้แต่ในแหล่งผลิตเดียวกันแต่เป็นการผลิตต่างครั้งกันก็แตกต่างกันออกไปได้ เนื่องจากจุลินทรีย์ที่ผลิตกรดแลคติกนั้นมีมากมายหลายสายพันธุ์ในช่วงการหมักแหนม ซึ่งจะส่งผล ต่อคุณภาพแหนมที่ผลิตนั้น

2.2 ส่วนผสมของผลิตภัณฑ์เนื้อหมักที่มีผลต่อการหมัก

2.2.1 ส่วนของเนื้อ

ในเนื้อที่มีปริมาณความชื้นสูงซึ่งจะช่วยเร่งปฏิกิริยาการหมักให้เร็วขึ้น ประกอบกับถ้าใน เนื้อนั้นมีส่วนของเนื้อแดงมาก (ปริมาณไขมันต่ำ) จะช่วยให้ค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ลดลง เร็วขึ้นด้วย นอกจากนี้ประมาณ โกลโคเจนในส่วนของเนื้อแดงก็มีผลต่อปริมาณกรดทั้งหมดด้วย (Acton and Dick, 1975) ส่วนการใช้เนื้อที่ผ่านกระบวนการแช่แข็งแล้วมาทำเป็นผลิตภัณฑ์ พบว่าปฏิกิริยาการหมักจะเกิดช้าลง ทั้งนี้เนื่องจากในเนื้อดังกล่าวมีปริมาณความชื้นลดลง (Klettner and Baumgartner, 1980) สำหรับระบบบัฟเฟอร์ที่เกิดขึ้นในเนื้อสัตว์นั้นพบว่า

จะมีผลต่ออัตราการลดลงของค่า pH โดยยังมีระบบบัฟเฟอร์มากเพียงใด เชื้อจุลินทรีย์ก็ต้องผลิตกรดให้มากขึ้นในการลดค่า pH ลง ดังนั้นเวลาที่ใช้ในการหมักจึงมากขึ้นด้วย

สำหรับปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในเนื้อดิบ ที่อาจติดมาระหว่างการฆ่า หรือการขนส่ง จะมีปริมาณมากขึ้นกับการสุกขาภิบาล ซึ่งเชื้อเหล่านี้จะมีผลทั้งโดยตรงและโดยอ้อมต่อผลิตภัณฑ์ ถ้ามีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่สร้างกรดแลคติกก็จะช่วยเพิ่มอัตราการหมักให้เร็วขึ้น แต่ถ้ามีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ เช่นพวก *Pseudomonas* sp. ยีสต์ ฯลฯ ก็จะได้สารที่เชื้อเหล่านี้สร้างขึ้น (อาจก่อนหรือระหว่างการหมัก) ซึ่งจะมีผลกระทบต่อกลิ่นของผลิตภัณฑ์ที่ได้ ถ้าในระบบการหมักมีการปนเปื้อนของพวกยีสต์ เชื้อพวกนี้จะแข่งกับเชื้อที่สร้างกรดแลคติกในการเจริญเติบโต ทำให้ค่า pH ลดลงช้าและอาจเกิดอัลกอฮอล์ขึ้นในผลิตภัณฑ์ได้ด้วย นอกจากนี้ถ้าในระบบมีปริมาณก๊าซออกซิเจนสูง จะช่วยให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในสารประกอบพวกคาร์โบไฮเดรต ได้เป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ น้ำ อัลกอฮอล์ และสารประกอบคาร์บอนิล (De Ketelaere et al., 1974) สำหรับจุลินทรีย์พวก micrococci ที่เจริญในช่วงต้นของการหมักจะช่วยให้มีการเปลี่ยนแปลงของคาร์โบไฮเดรตได้อย่างสมบูรณ์ขึ้น ซึ่งจะมีผลให้ระบบมีการลดลงของค่า pH เร็วยิ่งขึ้นด้วย

2.2.2 เกลือ

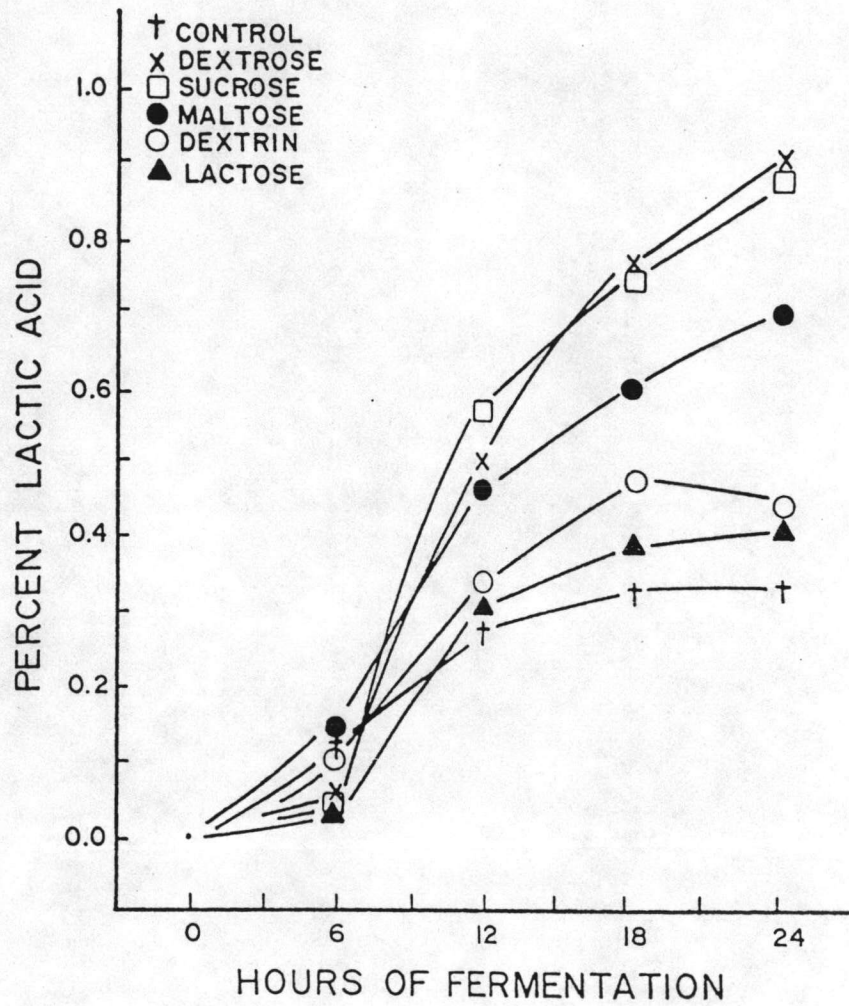
จุดประสงค์ที่ใส่เกลือในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเพื่อช่วยในด้านการเชื่อมติดของชิ้นเนื้อ จากหน้าที่ของโปรตีนสำคัญที่ละลายในเกลือ 2 ตัวคือ แอคติน (actin) และ ไมโอซิน (myosin) ช่วยในด้านกลิ่น รสชาติ ช่วยให้ lactic acid bacteria เจริญได้ดี ขณะเดียวกันจะหน่วงเหนี่ยวการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์บางพวกที่อาจทำให้เกิดการเน่าเสีย (Prescott and Dunn, 1959) เกลือที่ใช้ควรเป็นเกลือที่ทำให้บริสุทธิ์แล้ว (refined salt) เพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์และสารอื่น ๆ ที่ทำให้คุณภาพของผลิตภัณฑ์ลดต่ำลง โดยทั่วไปปริมาณเกลือที่ใช้ในไส้กรอกหมักจะอยู่ในช่วงร้อยละ 2.0-3.5 ขึ้นกับลักษณะของผลิตภัณฑ์ ถ้าใช้ในปริมาณต่ำกว่าร้อยละ 2.0 จะทำให้การเชื่อมติดกันไม่ดีเท่าที่ควร และถ้าใช้ในปริมาณมากกว่าร้อยละ 3 ขึ้นไป จะทำให้เวลาในการหมักยาวนานขึ้น (Zaika et al., 1978) สำหรับผลกระทบต่อเชื้อจุลินทรีย์พบว่า พวก streptococci สามารถทนสภาพที่มีเกลือสูงได้มากกว่า lactic acid bacteria แต่ที่ความเข้มข้นเกลือร้อยละ 4 พบว่า สามารถยับยั้งเชื้อพวกนี้ได้มากกว่าพวก lactic acid bacteria

2.2.3 น้ำตาล

ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักสามารถใช้น้ำตาลได้หลายรูปแบบ เช่น เดกซ์โทรส ซูโครส น้ำเชื่อมข้าวโพด (corn syrup) โดยจะช่วยในด้านกลิ่น ลักษณะเนื้อสัมผัส ทำให้เกิดลักษณะเฉพาะของแต่ละผลิตภัณฑ์ น้ำตาลที่ใช้จะเป็นสารเริ่มต้นของการเกิดกรดแลคติก (รูป 2.1) ซึ่งจะมีผลโดยตรงกับค่า pH ที่ลดลงด้วย ได้มีผู้ศึกษาว่าความเข้มข้นคาร์โบไฮเดรตที่เพิ่มขึ้นร้อยละ 1 จะมีผลให้ค่า pH ลดลง 1 หน่วย (Acton, 1977 quoted in Bacus, 1984) สำหรับการใส่คาร์โบไฮเดรตที่เป็นน้ำตาลอ้อย (ซูโครส) พบว่าจะให้รสเปรี้ยวลดกว่าการใช้น้ำตาลเดกซ์โทรสที่ระดับค่า pH เดียวกัน ทั้งนี้เนื่องจากน้ำตาลดังกล่าวมีรสหวานมากกว่าน้ำตาลเดกซ์โทรสหรือให้สภาพที่มีความเป็นด่างในผลิตภัณฑ์มากกว่า สำหรับคาร์โบไฮเดรตที่มีโมเลกุลซับซ้อนจะต้องอาศัยเวลาการหมักที่นานกว่า ตัวอย่างเช่นการใช้ข้าวสาลีหรือข้าวเหนียวหนึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนที่สำคัญของเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์หมัก โดยจะเปลี่ยนเป็นกรดแลคติก ทำให้เกิดรสเปรี้ยวในผลิตภัณฑ์ซึ่งถ้าต้องการให้มีรสเปรี้ยวยิ่งขึ้นอาจเพิ่มปริมาณข้าวสาลีได้ แต่ลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ดังกล่าวอาจเปลี่ยนไป (วรรณา เตียงพิทักษ์ และสาวิตรี ลิ้เจริญผล, 2533)

2.2.4 เครื่องเทศ

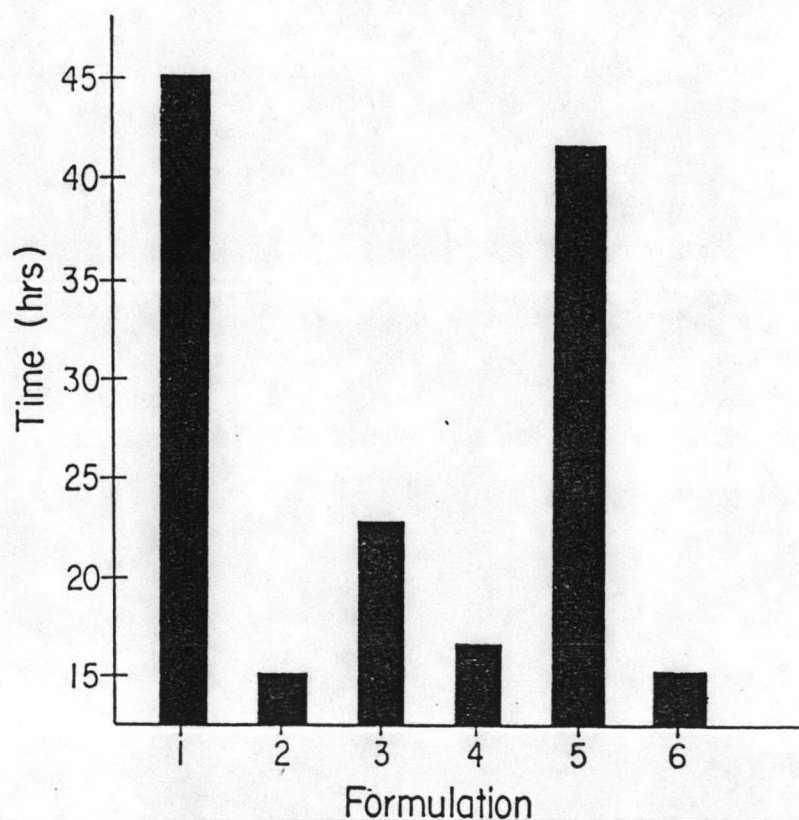
เครื่องเทศชนิดต่างๆที่มีการใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักที่สำคัญได้แก่ พริกไทยดำ พริกไทยขาว มัสตาร์ด กระเทียม พริกขี้หนู ลูกจันทน์ ดอกจันทน์ ออลสไปซ์ (allspice) ขิง อบเชย กระวาน กานพลู ขมิ้น เป็นต้น เครื่องเทศเหล่านี้จะมีผลกระตุ้นโดยช่วยส่งเสริมการทำงานของเชื้อจุลินทรีย์พวก lactobacilli มากกว่าพวก pediococci นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้เครื่องเทศร่วมกันหลายชนิด จะใช้เวลาในการหมักน้อยกว่าการใช้เครื่องเทศเพียงชนิดเดียว (ตาราง 2.1 และรูป 2.2) (Bacus, 1984) จากการศึกษาของ Zaika และ Kissinger ในปี 1982 (อ้างถึงใน คิวาพร คิวเวช, 2535) พบว่าธาตุแมงกานีสในเครื่องเทศเป็นปัจจัยหนึ่งซึ่งช่วยในการผลิตกรด โดยช่วยให้มีการเจริญของเชื้อที่ผลิตกรดมากขึ้น ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าเชื้อดังกล่าวต้องการธาตุแมงกานีสไปใช้ในการเจริญเติบโตและในการทำกิจกรรม นอกจากนี้การเพิ่มปริมาณเครื่องเทศที่มีธาตุแมงกานีสให้มากขึ้นจะให้ปริมาณกรดที่มากขึ้นด้วย แต่ถ้าไม่ใส่เครื่องเทศแต่ใส่ธาตุแมงกานีส ($10^{-5}M$) ในไส้กรอกหมักจะให้ผลที่เหมือนกับใส่เครื่องเทศ สำหรับผลในด้านการยับยั้งจุลินทรีย์พบว่า พริกไทยในระดับปกติที่ใช้



รูป 2.1 อัตราการเกิดกรดแลคติกในไส้กรอกหมักที่มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตชนิดต่างๆ ร้อยละ 1 เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

ตาราง 2.1 ผลของการใช้เครื่องเทศในไส้กรอกหมัก

Ingredients	Formulation (%)					
	1	2	3	4	5	6
Lean Beef (90/10)	96.0	93.8	95.8	95.8	96.0	95.6
Salt	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
Dextrose	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Sodium Nitrite	0.015	0.015	0.015	0.015	0.015	0.015
Corn Syrup Solids	-	1.5	-	-	-	-
Ground White Pepper	-	0.17	0.17	-	-	0.17
Ground Black Pepper	-	0.23	-	0.23	-	0.23
Garlic Powder	-	0.013	-	-	0.013	0.013
Monosodium Glutamate	-	0.2	-	-	-	-
Sodium Erythorbate	-	0.04	-	-	-	-
	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0



รูป 2.2 ผลของสูตรการผลิตที่มีเครื่องเทศต่างกันตามตาราง 2.1 ในไส้กรอกหมักที่มีส่วนผสมของ lactobacilli ต่อเวลาการหมักเพื่อให้ได้ pH 5.0

ในไส้กรอกหมักจะไม่มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียยกเว้นถ้าใช้ในรูปน้ำมันหอมระเหย (Salzer et al., 1977 quoted in Bacus, 1984) สำหรับในผลิตภัณฑ์แฮมจะใช้ กระจีตและพริกชี้หูสดเป็นหลัก ซึ่งนอกจากจะช่วยให้แฮมมีกลิ่นรสที่ดีแล้ว กระจีตยังช่วยป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์บางชนิดด้วย

2.2.5 สารประกอบฟอสเฟต

สารประกอบฟอสเฟตเป็นวัตถุดิบอาหารที่มีความสำคัญในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก โดยเริ่มใช้ในการหมักแฮม เบคอน และผลิตภัณฑ์เนื้ออื่นในปี คศ.1952 (Vollmar and Melton, 1981) นอกจากนี้สารประกอบฟอสเฟตจะช่วยให้ผลิตภัณฑ์เนื้อมีการอุ้มน้ำดีขึ้น และประสิทธิภาพของสารประกอบดังกล่าวจะดีขึ้นหากใช้ร่วมกับเกลือ (Mahon, 1961) และยังพบว่ามีส่วนช่วยให้สีของเนื้อที่ผ่านการหมักคงตัว ช่วยให้แฮมกระป๋องมีการอุ้มน้ำดีขึ้น เพิ่มความนุ่มเนื้อ ลดระยะเวลาในการแปรรูปลง เพิ่มการสกัดของโปรตีนแอคตินและไมโอซิน และช่วยในด้านกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ด้วย

การที่สารประกอบฟอสเฟตสามารถช่วยให้ผลิตภัณฑ์เนื้อมีการอุ้มน้ำและจับตัวกันได้ดีขึ้นนั้น เนื่องจากสารประกอบดังกล่าวจะช่วยเพิ่มความเป็นกรดต่างของเนื้อให้สูงขึ้นจาก iso-electric range และจากการศึกษาของ Hellendoorn (1962) พบว่า สารประกอบไพโรฟอสเฟตและไตรโพลีฟอสเฟต จะมีสมบัติเฉพาะในการช่วยให้มีการอุ้มน้ำดีขึ้นในช่วงความเป็นกรดต่าง 6.0-6.5 และจากรายงานการศึกษาของ Trout และ Schmidt (1984) แสดงให้เห็นว่า เตตราโซเดียมไพโรฟอสเฟตและโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต เป็นสารประกอบฟอสเฟตที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการช่วยให้มีการอุ้มน้ำดีขึ้นในผลิตภัณฑ์ beef roll

Shults, Russell และ Wierach (1972) ได้สรุปผลการทดลองไว้ว่า สารประกอบไพโรฟอสเฟตจะมีประสิทธิภาพดีที่สุดในการช่วยเพิ่มความเป็นกรดต่างของเนื้อ ส่วนโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตจะมีผลเพียงเล็กน้อย ในขณะที่โซเดียมเมตาฟอสเฟตจะไม่ช่วยเลย ซึ่งการที่สารประกอบโพลีฟอสเฟตสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการอุ้มน้ำและจับตัวกันนั้น มีส่วนมาจากคุณสมบัติในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับโลหะในโปรตีนเป็นผลให้เกิดการแยกตัวของแอคโตไมโอซิน (actomyosin) ออกเป็นแอคตินและไมโอซิน นอกจากนี้สารประกอบฟอสเฟตจะทำให้โปรตีนละลายได้ดียิ่งขึ้น เกิดเป็นร่างแหโปรตีนที่ละเอียด (fine protein

matrix) ซึ่งช่วยให้ความสามารถในการดักจับน้ำของโปรตีนเพิ่มขึ้น และเนื่องจากสารประกอบฟอสเฟตเป็น dynamic chemical เมื่อรวมตัวกับน้ำหรือเนื้อแล้วจะถูกไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์ฟอสฟาเตส ซึ่งไตรโพลีฟอสฟาเตสในเนื้อจะมีความทำงานสูงกว่าไฟโรฟอสฟาเตส (Hamm and Neraal, 1977 อ้างถึงใน วรธนา เตียงพิทักษ์ และสาวิตรี ลีเจริญผล, 2533) จากคุณสมบัติที่ช่วยเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อ สามารถเรียงลำดับสารประกอบฟอสเฟตจากมากไปน้อยได้ดังนี้

- โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต
- โซเดียมเตตราไพโรฟอสเฟต
- โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต
- เตตราโซเดียมไพโรฟอสเฟต
- โซคลิคโซเดียมเมตาฟอสเฟต
- ไดโซเดียมฟอสเฟต

สำหรับการที่สารประกอบฟอสเฟตมีส่วนช่วยเกี่ยวกับปฏิกิริยาในการหมัก (curing) นั้น Brotsky และ Everson (1973 อ้างถึงใน ศิวพร ศิวเวช, 2535) ได้อธิบายว่า โซเดียมแอสิดไพโรฟอสเฟตที่ผสมในสารที่ใช้ในการหมักนั้น จะมีส่วนช่วยเร่งปฏิกิริยาของการหมัก ช่วยให้ปฏิกิริยาการเกิดสีในเนื้อเร็วขึ้นโดยจะไปลดความเป็นกรดต่างลง และเหตุที่สารประกอบดังกล่าวสามารถช่วยให้ผลิตภัณฑ์ที่มีการอุ้มน้ำดีขึ้นทั้งๆที่ช่วยลดความเป็นกรดต่างลงนั้น เนื่องจากสารนี้มีคุณสมบัติเฉพาะที่สามารถเพิ่ม ionic strength ได้

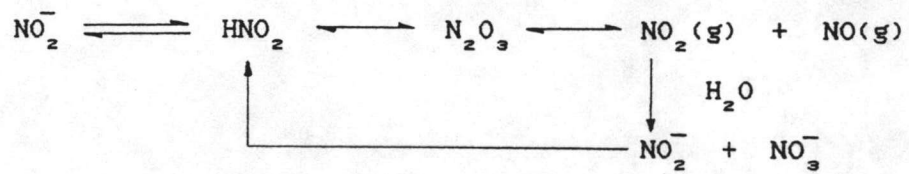
นอกจากนี้ สารประกอบฟอสเฟตยังมีคุณสมบัติในการเป็นวัตถุกันเสียด้วย โดยประสิทธิภาพจะแตกต่างกันไปตามชนิดของฟอสเฟตที่ใช้ ความเป็นกรดต่าง ปริมาณเกลือ สารประกอบไนโตรเจนและสารอื่นที่มีในผลิตภัณฑ์ ซึ่งจากการศึกษาของ Jaruis, Rhodes และ Patel (1979) พบว่าสารประกอบไดฟอสเฟตจะมีประสิทธิภาพดีกว่าสารประกอบไตรโพลีฟอสเฟตในการหน่วงเหนี่ยวการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของ Clostridium botulinum นอกจากนี้ประสิทธิภาพของโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตจะดีขึ้นถ้าในผลิตภัณฑ์มีเกลืออยู่ด้วย และจะดียิ่งขึ้นถ้ามีเกลือในปริมาณความเข้มข้นสูงขึ้น

กลไกของสารประกอบฟอสเฟตในการเป็นวัตถุกันเสียยังไม่ทราบแน่ชัด แต่ Tompkin (1984) กล่าวว่า น่าจะเป็นคุณสมบัติจากการที่สารประกอบฟอสเฟตสามารถเกิดเป็นสาร

ประกอบเชิงซ้อนกับอนุมูลโลหะต่างๆซึ่งอนุมูลโลหะเหล่านี้จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ มีผลให้การเจริญเติบโตลดลงได้ ส่วนกลไกอื่นนั้นอาจเนื่องมาจากปฏิกิริยาของสารประกอบฟอสเฟตต่อผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ ซึ่งมีผลให้การผ่านเข้าออกของสารต่างๆจากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์เสียไปหรือทำให้กิจกรรมต่างๆของจุลินทรีย์เสียไปด้วย จากการศึกษาของ Wagner และ Busta (1983) พบว่าโซเดียมแอสซิดไฟโรฟอสเฟตจะไปทำปฏิกิริยากับโปรตีนเอส ซึ่ง เป็นเอนไซม์ที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการสร้างสารพิษของ Clostridium botulinum ทำให้ประสิทธิภาพในการสร้างสารพิษของจุลินทรีย์ชนิดนี้เสียไป นอกจากนี้ Smith และคณะ (1984) ยังพบว่าสารประกอบฟอสเฟตจะช่วยชลอปฏิกิริยาออกซิเดชัน เนื่องจากสารประกอบฟอสเฟตสามารถเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับอนุมูลโลหะในเนื้อ และยังมีผลทำให้สีและกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์คงตัวด้วย

2.2.6 สารประกอบไนเตรทและไนไตรท์

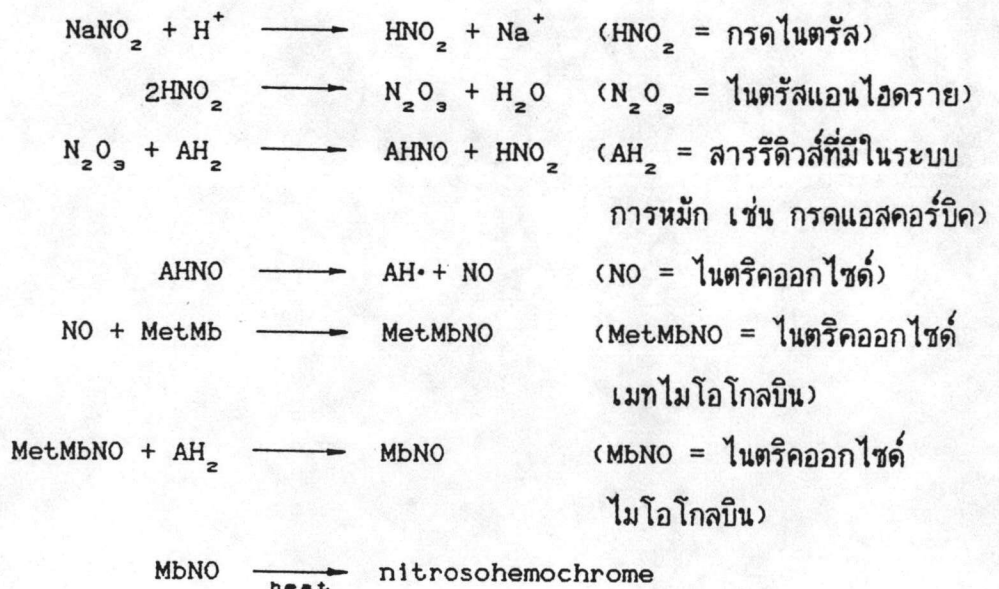
เป็นวัตถุดิบเสียที่นิยมใช้กันมากที่สุดในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก ซึ่งนอกจากจะช่วยยืดอายุการเก็บแล้ว ยังช่วยให้สีของผลิตภัณฑ์สวยขึ้นด้วย สำหรับกลไกยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์จะเริ่มจากปฏิกิริยาของสารไนไตรท์กับกรดอะมิโน ซึ่งจะมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงขึ้นที่ผนังเซลล์และเอนไซม์ดีไฮโดรจีเนส (dehydrogenase) ของจุลินทรีย์ ทำให้การทำงานของระบบไซโตโครม (cytochrome system) ผิดปกติ เพราะเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารไนไตรท์กับรงควัตถุในฮีม (heme pigment) นอกจากนี้ยังพบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์จะดีขึ้นเมื่อในระบบมีค่า pH ต่ำ (Gray and Randall, 1979) โดยสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ Cl. botulinum ได้ด้วย (Price and Greene, 1978) สำหรับประสิทธิภาพ ในการทำลายจุลินทรีย์ของสารไนไตรท์ใน model system พบว่าประสิทธิภาพจะเพิ่มขึ้น 10 เท่า ถ้าค่า pH ลดลง 1 หน่วย จาก 7.5 เป็น 6.0 (Duncan and Foster, 1968; Roberts and Ingram, 1966) และจากการศึกษาของ Shank, Silliker และ Harper (1962) พบว่าถ้าในระบบมีความเป็นกรดมากขึ้นจะทำให้ปริมาณกรดไนไตรท์มากขึ้นด้วย ซึ่งจะมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์พวก clostridia ได้ ดังแผนภาพต่อไปนี้



และถ้าค่า pH อยู่ในช่วง 4.5-5.5 จะมีปริมาณ HNO_2 มากที่สุด ทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์มีสูงสุดด้วย

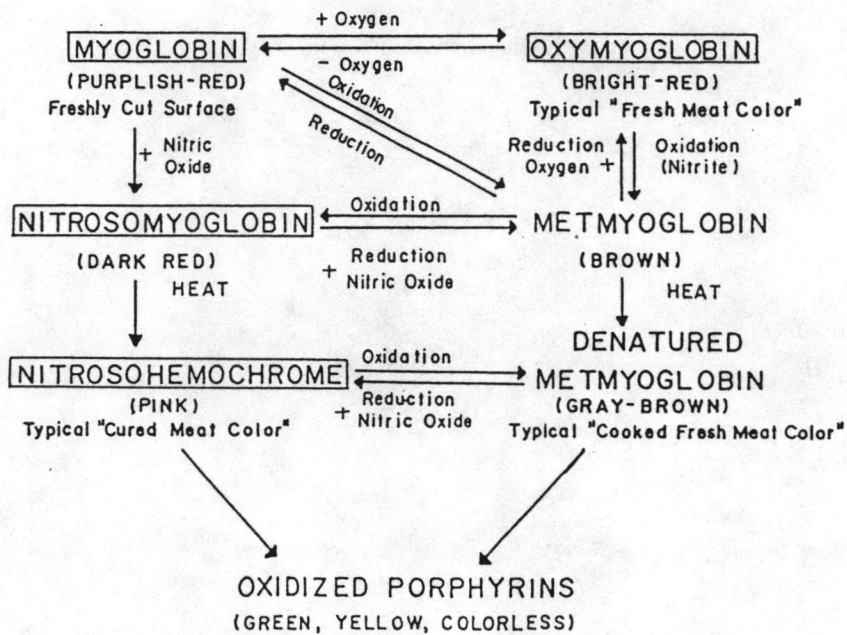
Price และ Schweigert (1973) ได้รายงานเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงของสีในผลิตภัณฑ์เนื้อที่เกิดขึ้นเนื่องจากการใช้สารประกอบไนเตรทและไนไตรท์ว่า ตามธรรมชาติของเนื้อสัตว์จะมีไมโอโกลบิน (myoglobin) ซึ่งเป็นรงควัตถุที่มีสีม่วงแดง (purple red) เมื่อสารไนเตรทถูกรีดิวส์เป็นสารไนไตรท์อาจเนื่องจากอนุมูลมีแบคทีเรีย หรือสภาพความเป็นกรด และสารไนไตรท์ถูกรีดิวส์เป็นไนตริกออกไซด์ในสภาพที่มีความเป็นกรด ไนตริกออกไซด์ที่เกิดขึ้นจะเข้าทำปฏิกิริยากับไมโอโกลบินเป็นไนโตรโซไมโอโกลบินซึ่งมีสีแดงเข้มดังแผนภาพในรูป 2.3

สำหรับปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงของสารไนไตรท์มีรายละเอียดดังนี้ (Fox and Thomson, 1963)



จากรายงานของ CAST (1978) กล่าวว่า สารไนไตรท์ที่ใส่ลงในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก นอกจากจะช่วยในด้านสีและยับยั้งการเจริญของ *Cl. botulinum* แล้ว ยังช่วยในด้านกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์อีกด้วย และจากการศึกษาของ Buchanan และ Solberg (1972) พบว่า สาร

COLOR CHANGES IN CURED MEAT



- (1) Nitrate $\xrightarrow[\text{organisms}]{\text{nitrate reducing}}$ Nitrite
- (2) Nitrite $\xrightarrow[\text{absence of light and air}]{\text{favorable conditions}}$ NO + H₂O
nitric oxide + water
- (3) NO + Mb $\xrightarrow[\text{p}]{\text{favorable conditions}}$ NOMMb--nitric oxide metmyoglobin
- (4) NOMMb $\xrightarrow[\text{conditions}]{\text{favorable}}$ NOMb
nitric oxide myoglobin
- (5) NOMb + Heat + Smoke \longrightarrow NO-Hemochromogen
nitroso-hemochromogen
Stable pink pigment

รูป 2.3 การเปลี่ยนแปลงสีและการเปลี่ยนสารไนเตรทในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก

ไนไตรท์สามารถยับยั้งการเจริญของ Cl.perfringens และ Rhia และ Solberg (1975) พบว่าสารไนไตรท์ช่วยยับยั้งการเจริญของ Staphylococcus aureus ได้ด้วย

การใช้สารประกอบไนเตรทและไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์เนื้อ จำเป็นต้องคำนึงถึงปริมาณสารไนไตรท์ที่เหลือ (residual nitrite) ในผลิตภัณฑ์ด้วย เนื่องจากสารไนไตรท์ดังกล่าวสามารถรวมตัวกับอะมีน (amines) เกิดเป็นสารประกอบไนโตรซามีน (nitrosamines) ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งในสัตว์ทดลองหลายชนิดได้ (Sender, 1970) แต่ได้มีการทดลองใช้กรดแอสคอร์บิกร่วมกับสารประกอบไนไตรท์และไนเตรท ซึ่งพบว่าสามารถลดปริมาณไนโตรซามีนที่เกิดขึ้นได้ดังการทดลองของ Gray และคณะ (1982) ที่ทดลองใช้แอสคอร์บิล พาล์มิเทต ในปริมาณ 500 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของเบคอน พบว่าสามารถลดปริมาณการเกิดไนโตรซามีนในเบคอนลงได้ถึงร้อยละ 92 และ 97 ตามลำดับ สำหรับสารประกอบไนเตรทและไนไตรท์นั้น ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 84 (พศ.2527) อนุญาตให้ใช้ได้ ในปริมาณไม่เกิน 500 และ 200 ส่วนในล้านส่วน โดยคำนวณในรูปของโซเดียมไนเตรทและโซเดียมไนไตรท์ตามลำดับ

2.2.7 สารประกอบอิริธอร์เบท

เกลืออิริธอร์เบทเป็นไอโซเมอร์ (isomer) ของเกลือแอสคอร์เบท ซึ่งจากการทดลองพบว่ามีส่วนช่วยให้สีของผลิตภัณฑ์ดีขึ้นและมีความคงตัวรวมไปถึงกลิ่นรสที่ดีขึ้น และปฏิกิริยาออกซิเดชันในผลิตภัณฑ์เกิดช้าลงด้วย (Lin et al., 1980) ซึ่งสอดคล้องการกับการศึกษาของ Mill และคณะ (1958) และ Sebranek และคณะ (1977) ที่ทดลองใช้โซเดียมอิริธอร์เบทในไส้กรอกแฟรงเฟอ์เตอร์ ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกที่มีสีและกลิ่นรสรวมทั้งการยอมรับที่ดีขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้สารประกอบอิริธอร์เบทจะช่วยลดปริมาณสารไนไตรท์ที่เหลือลงด้วย และช่วยเสริมประสิทธิภาพของสารประกอบไนไตรท์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ Bacillus cereus และ Cl.botulinum ด้วยเช่นกัน (Mirna, 1980)

2.3 เชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์

โดยธรรมชาติสัตว์ที่มีสุขภาพแข็งแรงสมบูรณ์จะมีกลไกป้องกันการแพร่กระจาย และการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อเยื่อได้ โดยผ่านระบบภูมิคุ้มกันต่างๆ ซึ่งจะมีผลให้เนื้อ

เยื่อภายในอยู่ในสภาพปลอดเชื้อ แต่จะมีเชื้อจุลินทรีย์บางสายพันธุ์ที่สามารถต้านทานกลไกป้องกันเหล่านั้นก็จะเป็นสิ่งที่ให้โทษในสัตว์นั้นขณะมีชีวิตอยู่

เมื่อมีการฆ่า ช้ำและเพื่อให้ได้เนื้อสัตว์ อาจมีการปนเปื้อนเนื่องมาจากจุลินทรีย์ที่อยู่ภายนอกโดยเฉพาะที่อยู่ตาม ขน กีบ ของสัตว์ซึ่งสัมผัสกับพื้นดิน น้ำ อาหาร ฯลฯ นอกจากนี้ อาจปนเปื้อนจากจุลินทรีย์พวก enteric bacteria ซึ่งอาศัยตามลำไส้ใหญ่ของสัตว์ หรืออาจติดมาจากเครื่องมือต่างๆ รวมไปถึงจากพนักงานฆ่าและด้วย (Bacus, 1984)

การแช่เย็นเนื้อสัตว์ทันทีหลังการฆ่า เป็นวิธีหนึ่งที่จะช่วยหน่วงเหนี่ยวการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนได้ แต่ยังมีจุลินทรีย์บางพวกที่สามารถเจริญบนผิวของเนื้อสัตว์ระหว่างแช่เย็น ซึ่งพบว่าเป็นพวกแกรมลบทั้งนี้รวมไปถึงจุลินทรีย์พวก *Pseudomonas* sp. และ *Achromobacter* sp. ด้วย นอกจากนี้ยังตรวจพบ ยีสต์และราอีกหลายสายพันธุ์ โดยเฉพาะในเนื้อที่ผ่านการบ่ม (aging) การเจริญของเชื้อที่ขอบของหมูมัต้านี้จะทำให้เกิดเมือกที่ผิว เกิดการเปลี่ยนแปลงและกลิ่นที่ผิดปกติ โดยเริ่มแรกการเปลี่ยนแปลงที่ผิวนี้จะเกิดเนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศ แต่ในที่สุดจะสามารถทะลุทะลวงเข้าไปถึงภายในก้อนเนื้อได้ ซึ่งถ้าเนื้อนั้นได้รับการปฏิบัติที่ถูกต้องก็จะไม่เกิดการทะลุทะลวงดังกล่าวขึ้น สำหรับการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นภายในก้อนเนื้อนั้น จะเนื่องมาจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการอากาศและสามารถสร้างสปอร์ได้ ซึ่งมักเป็นพวกแกรมบวกรวมถึง facultative bacteria ที่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำด้วย (Bacus, 1984)

สิ่งมีชีวิตที่ทำให้เกิดโรคเหล่านี้สามารถถ่ายทอดไปยังผู้บริโภคได้ บางครั้งสามารถตรวจพบได้ง่าย เช่น พยาธิ แต่บางกรณีก็เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่ตรวจได้ยาก เช่น *Brucella* sp. และ *Salmonella* sp. มีจุลินทรีย์หลายสายพันธุ์ที่ถูกทำลายได้ที่อุณหภูมิแช่เย็น (ต่ำกว่า $1-2^{\circ}\text{C}$) และอาจถูกทำลายได้หมดเมื่อมีการให้ความร้อนในกระบวนการผลิต

การหมักเนื้อด้วยเกลือ โซเดียมไนไตรต์ และ/หรือ โซเดียมไนเตรท จะช่วยให้ระบบเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อเปลี่ยนไป ซึ่งจะเหมาะต่อการเจริญของเชื้อที่เฉพาะกับผลิตภัณฑ์และเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก ที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบที่ปนเปื้อนมาได้ ลักษณะเช่นนี้เรียกว่า "microbial inversion" ซึ่งจะช่วยยืดอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ แต่กว่าที่เชื้อแบคทีเรียแกรมบวก ซึ่งพบน้อยในเนื้อสดจะเพิ่มปริมาณจนสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบได้นั้นต้องใช้เวลาาน จึงอาจเกิดการเน่าเสียรูปแบบอื่นได้ก่อนในผลิตภัณฑ์ สำหรับการใช้ภาชนะบรรจุแบบสุญญากาศกับเนื้อสด สามารถยืดอายุการเก็บได้เช่นกันเพราะในระบบไม่มีอากาศสำหรับการ

เจริญของจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศ (มักเป็นกรัมลบ) จุลินทรีย์พวกนี้จึงถูกยับยั้งและลดปริมาณลง

จุลินทรีย์ในเนื้อหมักประกอบไปด้วย Micrococcus sp. Lactobacillus sp. Streptococcus sp. Leuconostoc sp. และ Microbacterium sp. รวมถึงยีสต์และราบางชนิด ส่วนลักษณะการเสื่อมเสียที่อาจเกิดกับเนื้อหมักมีดังนี้

- ผิวมีลักษณะเป็นเมือกสีนํ้า เนื่องจากมีจุลินทรีย์ที่ผิวในปริมาณมากและมีจุลินทรีย์ข้างต้นที่กล่าวมาในส่วนผสม

- เกิดรสเปรี้ยว เนื่องจากมีการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์มาก และมีการสร้างกรดจาก lactic acid bacteria

- เกิดก๊าซ สาเหตุเกิดจาก heterofermentative lactic acid bacteria (Lactobacillus sp. และ Leuconostoc sp.) และอาจเกิดจากยีสต์ที่สามารถสร้างก๊าซได้จากการหมักน้ำตาล (Bacus, 1984)

- เกิดสีเขียวในเนื้อ เนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน หรือเกิดจากการสร้าง hydrogen peroxide จาก lactic acid bacteria หลายสายพันธุ์ โดยเฉพาะ L. viridescens ทั้งนี้ hydrogen peroxide ที่เกิดขึ้น สามารถเข้าเกาะกับวงแหวนของ porphyrin ในตำแหน่ง alpha methene carbon ได้เป็นสารประกอบ choleglobin ซึ่งถ้าตำแหน่งดังกล่าวเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันมากขึ้น จะเกิดสีเขียวของสารประกอบ verdoheme ทำให้เกิดสีเขียวในเนื้อได้ (Meyer, 1960)

เชื้อจุลินทรีย์ที่ให้โทษส่วนใหญ่ จะไม่สามารถเจริญได้ในเนื้อหมักที่มีเกลือ และสารไนไตรท์ เพราะสารสองชนิดนี้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูง ยิ่งถ้าสามารถเลือกสภาวะแวดล้อมให้เหมาะสมกับเชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการได้ ยิ่งเป็นการช่วยยับยั้งการเจริญของเชื้อที่ทำให้เกิดโรคได้ด้วย สภาวะดังกล่าวมักเกิดขึ้นเมื่อมีการสร้างกรดซึ่งจะทำให้ pH ในผลิตภัณฑ์ลดลง อย่างไรก็ตามเชื้อจุลินทรีย์พวก Staphylococcus sp. ซึ่งสามารถสร้างสารพิษที่เป็นอันตรายต่อมนุษย์จะเจริญได้ก่อนที่จะมีการลดลงของ pH ซึ่งจะพบได้มากในผลิตภัณฑ์จำพวกแอม และเมื่อทำให้สุกด้วยความร้อน พบว่าพิษดังกล่าวไม่ได้ถูกทำลายไปด้วยเพียงแต่จะช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์ลงได้เท่านั้น (Bacus, 1984) นอกจากนี้ยังมีสารพิษพวก botulism ซึ่งแม้จะพบน้อยในเนื้อหมัก แต่อาหารพวกแอมกระป๋องก็สำเร็จรูปหรืออาหารพวกเนื้อหมักอื่นๆ ก็เหมาะต่อการเจริญเติบโตของ Clostridium botulinum ทั้งสิ้นแต่จะเจริญได้มากน้อยเพียงใด หรือสร้างสารพิษ (toxin) ได้มากน้อยเพียงใดขึ้นกับการเจริญของ lactic microflora ด้วย (Niven,

1961 quoted in Bacus, 1984)

ปัจจุบันพบว่า การควบคุมสภาวะแวดล้อมให้เหมาะสมต่อเชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการจะทำให้ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นกรดแลคติกดีขึ้นและได้กลิ่นรส ที่เฉพาะของผลิตภัณฑ์ จะเห็นว่าการหมักเกิดมาจากการเสียของอาหาร (เช่น เกิดรสเปรี้ยว) แต่มนุษย์ก็พยายามศึกษาเรียนรู้จนสามารถควบคุมคุณภาพ คุณค่าทางอาหาร และยอมรับในผลิตภัณฑ์ได้

2.4 การหมักเนื้อสัตว์โดยเชื้อจุลินทรีย์

การทำงานของ lactic acid bacteria จะก่อให้เกิดกรดขึ้นอย่างช้าๆ ในเนื้อ ปฏิกริยาการหมักจึงเริ่มตั้งแต่การเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นกรดแลคติก จนทำให้ pH ของส่วนผสมลดลง ซึ่งสามารถแบ่งวิธีการหมักเพื่อให้เกิดกรดโดยจุลินทรีย์ได้ 2 วิธีใหญ่ๆ คือ

2.4.1 การหมักที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ในธรรมชาติ

กรรมวิธีนี้ขึ้นกับโอกาสของการปนเปื้อนด้วยจุลินทรีย์ในธรรมชาติ ถ้าจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์มีเพียงชนิดใดชนิดหนึ่ง ก็จะไม่ได้กลิ่นรส และลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ตามต้องการ ในการพยายามให้เกิดการหมักตามต้องการนั้นวิธีการหนึ่งที่ใช้กันอย่างกว้างขวางคือ "back slopping" ทำได้โดยหมักเนื้อที่สภาวะเหมาะสมก่อนในลักษณะ batch จากนั้นจึงเติมลงในเนื้อที่ต้องการหมักในลักษณะของ starter (Daly et al., 1973) อย่างไรก็ตามก็ตามข้อเสียในการหมักวิธีนี้ได้แก่

- ใช้เวลานาน โดยทั่วไปประมาณ 3-7 วัน เป็นการสิ้นเปลืองทั้งแรงงานคนและเวลา
- มาตรฐานคุณภาพของผลิตภัณฑ์ในแต่ละครั้งมักไม่เท่ากัน เพราะขึ้นกับโอกาสการปนเปื้อนของเชื้อชนิดต่างๆ
- back slopping สามารถทำให้เชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการเจริญได้ดีเท่ากับเชื้อที่ต้องการ ซึ่ง Jensen (1942) กล่าวว่าวิธีนี้ไม่เหมาะสมสำหรับการค้าระดับอุตสาหกรรมขนาดใหญ่

สำหรับผลิตภัณฑ์หมักที่มีการหมักตามธรรมชาติพบว่าในระยะแรกของการหมักจะตรวจพบจุลินทรีย์พวก Pediococcus sp. มาก ทำให้ความเป็นกรดทั้งหมดสูงขึ้น หลังจากนั้นจะพบจุลินทรีย์พวก Lactobacillus sp. มีผลให้ความเป็นกรดทั้งหมดมีค่าสูงขึ้นและค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ลดต่ำลงอีก (จรรยา คำวนตา, 2509) ซึ่งเป็นไปทำนองเดียวกับการศึกษาของสมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์ (2518) ที่ได้ศึกษาเกี่ยวกับเชื้อจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักหมมและพบว่าในเนื้อหมูซึ่งเป็นวัตถุดิบนั้น จะมีเชื้อจุลินทรีย์ส่วนใหญ่เป็นรูปแท่งและทรงกลม ทั้งกรัมบวกและลบ โปแตสเซียมไนเตรทที่เติมลงไปจะถูกเปลี่ยนเป็นสารไนไตรท์ โดย nitrate reducing micrococci ที่มีตามธรรมชาติ ส่วนผลหมักอื่นที่ใส่ลงไปจะช่วยเพิ่มกลิ่นรส และยังช่วยเป็นสารกันเสียด้วย หมักที่เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 3 จะได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคมากที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่าเวลาที่เหมาะสมที่สุดในการบริโภคคือวันที่ 4 ของการหมัก ช่วงเวลาก่อนหน้านั้นจะมีการลดลงของ pH รวดเร็วมากในวันแรกและปริมาณกรดแลคติกจะเพิ่มขึ้น พอหลังจาก 4 วันแล้ว ทั้ง pH และปริมาณกรดแลคติกจะเปลี่ยนแปลงน้อยมาก โดย pH ในผลิตภัณฑ์สุดท้ายจะน้อยกว่า 4.5 และปริมาณกรดแลคติกประมาณร้อยละ 0.5 สำหรับเชื้อจุลินทรีย์ในหมักจะมีปริมาณมากในช่วงเริ่มต้นของการหมัก แต่พอหลังจาก 24 ชั่วโมง จะมีชนิดจุลินทรีย์ลดลง และในช่วง 24-72 ชั่วโมงแรกจะมีการเจริญของ homofermentative และ heterofermentative lactobacilli รวมถึง homofermentative cocci (P.cerevisiae) ซึ่งพวกนี้จะช่วยเพิ่มอัตราการสร้างกรดให้มากขึ้น แต่พอหลังจาก 72 ชั่วโมง จะเกิดเชื้อพวก homofermentative lactobacilli (L.plantarum) ขึ้นพร้อมกันกับ pediococci และ heterofermentative lactobacilli พอหลังจาก 4 วัน จุลินทรีย์ที่สร้างกรดส่วนใหญ่จะถูกทำลาย รวมไปถึงพวกโคลิฟอร์มแบคทีเรียด้วย และพบว่ามี L.brevis ในปริมาณมากพอๆกับ L.plantarum แต่เจริญช้ากว่ามาก และถ้าเก็บหมักไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลามากกว่า 1 สัปดาห์ จะพบว่าความเปรี้ยวเพิ่มขึ้น ความเหนียวลดลง และพบยีสต์ (Candida sp.) ในหมักด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าการผสมหมักที่บ่มมาแล้ว 5 วัน (จากการผลิตครั้งก่อน) ลงในผลิตภัณฑ์ใหม่ร้อยละ 10 (ทำ back slopping) จะช่วยย่นระยะเวลาการหมักให้สั้นเข้าประมาณ 24-36 ชั่วโมง และช่วยลดจำนวนแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคได้ด้วย แต่ลักษณะเนื้อสัมผัสจะนุ่มหรืออ่อนตัวลงไปบ้าง

ส่วนการศึกษาเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคต่อร่างกายนั้น สุขใจ โสมาจิติ (2525) ได้ค้นพบว่า ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียเริ่มต้นในหมักที่มีการหมักตามธรรมชาติ มีประมาณ 10^7 เซลล์ต่อกรัม ซึ่งจะลดลงเหลือ 10^2 เซลล์ต่อกรัม ในวันที่ 5 ของการหมัก และพบเชื้อ

Salmonella sp. ในแฮมที่วางขายในกรุงเทพฯ 56 ตัวอย่างจาก 450 ตัวอย่าง (คิดเป็นร้อยละ 12) ส่วนแฮมที่ผลิตในจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย และอุบลราชธานี พบว่ามีเชื้อ Salmonella sp. คิดเป็นร้อยละ 25, 42 และ 11 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามไม่พบว่ามีเชื้อ Shigella sp. ในแฮมที่เก็บตัวอย่างในจังหวัดเหล่านี้ ในขณะที่ร่างกายได้รับเชื้อ Shigella sp. จะมีอาการในระบบทางเดินอาหาร โดยจะมีอาการท้องร่วง เป็นตะคริว มีไข้ และอาจมีอาการคลื่นไส้ อาเจียนได้ (William, 1990)

นอกจากอันตรายที่อาจเกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคแล้ว อันตรายอย่างหนึ่งที่ผู้บริโภคพึงระวังคือ การมีสารประกอบไนเตรทและไนไตรท์ที่มากเกินไปเกินมาตรฐานในผลิตภัณฑ์แฮม โดยผู้ผลิตจะอาศัยสารเคมี 2 ชนิดนี้ช่วยในด้านสีของผลิตภัณฑ์โดยไม่คำนึงถึงอันตรายที่อาจเกิดจากสารเหล่านี้กล่าวคือ สารดังกล่าวสามารถรวมตัวกับอะมีน (amines) ที่มีในเนื้อสัตว์ได้เป็นไนโตรซามีน (nitrosamines) ซึ่งเป็น carcinogen หรือสารก่อมะเร็งได้ ซึ่งจากการศึกษาของ อุษณี วิจิเชตคานวน พลศักดิ์ สัมภาวะผล และ โมตรี สุทธิจิตต์ (2525) พบว่ามีแฮมในจังหวัดเชียงใหม่ 2 ตัวอย่างจาก 10 ตัวอย่าง ที่ตรวจพบปริมาณสารไนเตรทเกินมาตรฐาน (500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมเนื้อ, ppm) ส่วนปริมาณสารไนไตรท์จะพบในปริมาณต่ำและไม่เกินมาตรฐาน (200 ppm) โดยพบอยู่ในช่วง 0-16.96 ppm อย่างไรก็ตาม เพื่อให้มีความปลอดภัยในการบริโภคมากขึ้น จึงควรมีระบบการผลิตที่สามารถควบคุมระบบการหมักให้คงที่ได้ และควรปฏิบัติตามมาตรฐานการผลิตอย่างเคร่งครัด

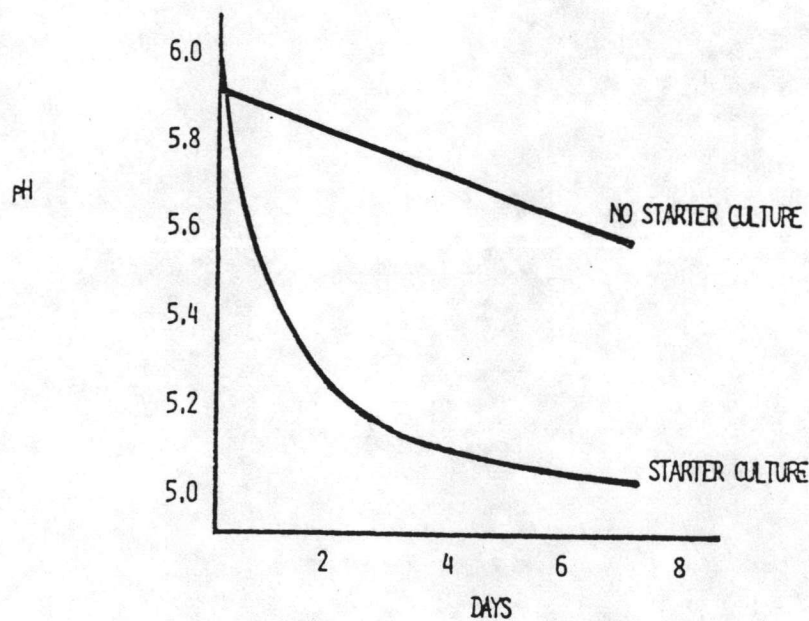
2.4.2 การหมักที่เกิดจากหัวเชื้อบรีสก์

Jensen และ Paddock (1940) สังเกตพบว่าเชื้อจุลินทรีย์พวก Lactobacillus sp. สามารถใช้เป็นหัวเชื้อบรีสก์ได้ และต่อมาได้มีการแนะนำให้ใช้หัวเชื้อบรีสก์ในไส้กรอกหมัก ในทศวรรษ 1950 Niinivaara (1955) และ Niven, Deibel และ Wilson (1958 quoted in Daly et al., 1973) แนะนำให้ใช้สายพันธุ์ Micrococcus aurantiacus ซึ่งสามารถรีดิวส์สารไนเตรทได้ในไส้กรอกหมักของประเทศแถบยุโรป นอกจากนี้ Deibel (1974 quoted in Bacus, 1984) ได้กล่าวว่าหัวเชื้อบรีสก์ที่ใช้ในไส้กรอกหมัก ควรมีลักษณะดังนี้

- ทนต่อเกลือ และสามารถเจริญได้เร็วในสภาวะที่มีเกลืออย่างน้อยร้อยละ 6.0
- สามารถเจริญได้ดีในภาวะที่มีสารไนไตรท์ 80-100 ppm.

- สามารถเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิ 27-43 องศาเซลเซียสและดีที่ที่สุดคือ 32 องศาเซลเซียส
- ต้องให้ผลผลิตชนิดเดียวเท่านั้น คือให้กรดแลคติกจากน้ำตาลเดกซ์โทรส
- ต้องไม่ย่อยสลาย โปรตีน และไขมัน
- ต้องไม่ผลิตสารประกอบใดๆที่จะก่อให้เกิดกลิ่นที่ผิดปกติ เช่น อะมีน หรือ ซัลไฟด์
- ต้องไม่เป็นอันตรายต่อร่างกายมนุษย์
- ถูกยับยั้งหรือทำลายได้ที่อุณหภูมิ 57.2 - 60 องศาเซลเซียส

เมื่อเปรียบเทียบอัตราการลดลงของค่า pH ในไส้กรอกหมักที่อาศัยการหมักทั้งสองวิธีข้างต้นพบว่า ในไส้กรอกหมักที่ใช้หัวเชื้อบริสุทธิ์จะมีอัตราในการลดค่า pH เร็วกว่าในไส้กรอกหมักที่ใช้การหมักตามวิธีทางธรรมชาติ ดังกราฟในรูป 2.4



รูป 2.4 การลดลงของ pH ในไส้กรอกหมักที่ใช้และไม่ใช้หัวเชื้อบริสุทธิ์ที่อุณหภูมิการหมัก 29.4 องศาเซลเซียส

2.5 หัวเชื้อบรีสุทรีที่ใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก

การใช้หัวเชื้อบรีสุทรีในผลิตภัณฑ์เนื้อได้เริ่มขึ้นในประเทศสหรัฐอเมริกาและในปัจจุบันเชื้อที่นิยมใช้กันคือ Micrococcus sp. (Niinvaara, 1955; Nurmi, 1966a) Lactobacillus sp. (Nurmi, 1966a; Everson, Danner and Hammes, 1970; Bacus, 1984; Gilliland, 1985; Gibbs, 1987) และ Pediococcus sp. (Deibel and Niven, 1957; Bacus and Brown, 1981; Bacus, 1984; Gilliland, 1985; Gibbs, 1987) โดยจะทำให้เกิดสภาพความเป็นกรดเนื่องจากกรดแลคติกที่สร้างขึ้น

เชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้จะใส่ในผลิตภัณฑ์เนื้อเพื่อเสริมความปลอดภัยในการบริโภค ช่วยลดระยะเวลาในการหมัก และให้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพคงที่ตลอดจนอายุของผลิตภัณฑ์ที่แน่นอนด้วย ซึ่ง Acton และ Keller (1974), Klettner และ Baumgartner (1980) ได้ศึกษาเกี่ยวกับคุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่คงที่ โดยการใช้หัวเชื้อบรีสุทรี ส่วนความปลอดภัยและอายุการเก็บจะขึ้นกับเทคนิคการผลิตที่รวดเร็ว การเติมเกลือ น้ำตาล สารไนเตรทหรือสารไนไตรท์ การรมควันและการเก็บผลิตภัณฑ์ไม่ว่าจะเป็นที่อุณหภูมิต่ำ ซึ่งช่วยลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชัน การเก็บผลิตภัณฑ์ใน casing จะช่วยเสริมการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติก เป็นผลให้ pH ของผลิตภัณฑ์ลดลง และยืดเวลาการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค้ออกไปได้ นอกจากนี้แบคทีเรียที่เป็นอันตรายต่อร่างกายก็จะถูกทำลายไปในผลิตภัณฑ์สุดท้าย (Bacus, 1984; Bacus and Brown, 1985a,b)

การใช้หัวเชื้อบรีสุทรี หมายถึงการเติมเชื้อจุลินทรีย์ที่กำลังมีการเจริญเติบโตลงในส่วนผสม ผู้ผลิตมักเติมลงไปหลังจากที่มีการผสมส่วนที่เป็นของแห้งกับเนื้อแล้ว หรืออาจเติมลงไปผสมกับเนื้อก่อนเพื่อให้มีการกระจายอย่างทั่วถึง จากนั้นจึงเติมส่วนผสมอื่นลงไป ข้อสำคัญคือต้องพยายามหลีกเลี่ยงการสัมผัสโดยตรงระหว่างหัวเชื้อบรีสุทรี กับส่วนผสมที่ช่วยในการหมัก เช่น เกลือ สารไนไตรท์ เพราะสารพวกนี้อาจทำให้ความสามารถในการทำงานของเชื้อจุลินทรีย์ลดลงได้ เชื้อจุลินทรีย์ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของสารแขวนลอย (suspension) ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ดังนั้นในการผสมจึงควรเจือจางลงให้ได้ในระดับความเข้มข้นที่ต้องการด้วยน้ำที่ปลอดเชื้อก่อน เพื่อให้เกิดการกระจายอย่างทั่วถึงระหว่างผสม หรือถ้าเชื้อจุลินทรีย์อยู่ในรูปผง (freeze-dried) ก็ควรละลายน้ำให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการก่อนใช้งานเช่นกัน

ผู้ผลิตหลายรายได้เปลี่ยนแปลงรูปแบบการหมักให้ได้ประโยชน์สูงสุด โดยการเพิ่ม
 อุณหภูมิการหมักให้เหมาะสมเพื่อให้เชื้อสามารถเจริญได้ดี อุณหภูมิดังกล่าวมักสูงกว่าอุณหภูมิที่
 กำหนดในกระบวนการผลิต ผลก็คือระบบการหมักมีอัตราการสร้างกรดที่เร็วขึ้น หลังจากได้ค่า
 pH ตามต้องการแล้ว จะนำมาผ่านความร้อนหรือทำแห้งซึ่งจะได้ลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์เนื้อ
 หมักแต่ข้อเสียของการเร่งสภาวะการหมักอย่างหนึ่งคือทำให้เกิดปัญหา "Greasing problems"
 ซึ่งเกิดกับไขมันของเนื้อหมู และอาจทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีกลิ่นรส ของกรดอย่างรุนแรง นอกจากนี้
 อัตราการเจริญเติบโตและการสร้างสารพิษของ Staphylococcus aureus จะถูกกระตุ้นให้
 เร็วขึ้นได้ด้วยอุณหภูมิสูงและปริมาณเกลือที่สูงและไม่มีกรรมควัน ในบางกรณีเชื้อจุลินทรีย์
 สายพันธุ์นี้จะมีมากในช่วงเริ่มต้นของการหมัก ซึ่งจะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ไม่ปลอดภัย
 (USDA, 1977) ดังนั้น การใช้หัวเชื้อบริสุทธิ์ที่มีอุณหภูมิในการเติบโตไม่สูงนัก (10-46
 องศาเซลเซียส) จะช่วยลดปัญหานี้ได้ และการกรรมควันในปริมาณที่มากพอจะช่วยลดปริมาณ
S. aureus ที่ผิวลงได้มากเช่นกัน

2.5.1 เชื้อจุลินทรีย์ Micrococcus sp.

กลไกการทำงานของเชื้อ Micrococcus sp. ในด้านการนำมาใช้เป็นหัวเชื้อ
 บริสุทธิ์นั้นค่อนข้างซับซ้อนและแตกต่างจากเชื้อที่ให้กรด เชื้อจีนส์นี้สามารถรื้อสสารไนเตรท
 และสามารถสร้างกรดจากการใช้น้ำตาลได้ในสภาพที่มีอากาศ ประกอบกับสามารถเจริญได้ใน
 สภาพที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ จึงทำให้สามารถแยกเชื้อจีนส์นี้ออกมาได้ (Ninivaara,
 Pohja and Komulainen, 1964)

ในสหรัฐอเมริกาไม่นิยมใช้เชื้อจีนส์นี้ในผลิตภัณฑ์เนื้อมากนัก เพราะสามารถทำให้เกิด
 สีชมพูแดงในผลิตภัณฑ์ได้โดยการเติมสารไนไตรท์เข้าไปในส่วนผสมโดยตรงอยู่แล้วแต่ในประเทศ
 แถบยุโรปยังคงใช้หัวเชื้อบริสุทธิ์ผสมของ Micrococcus sp. และ Lactobacillus sp.
 ในการทำให้เกิดลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์

Micrococcus sp. เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ทนต่อสภาพที่มีปริมาณเกลือและสาร
 ไนไตรท์ได้ มี 3 สปีชีส์คือ M. luteus M. roseus และ M. varians ไม่ให้โทษกับ
 ร่างกาย พบได้ทั่วไปในฝุ่นละออง ดิน น้ำ และตามผิวหนังของมนุษย์และสัตว์ M. luteus และ
M. varians จะสร้างสีเหลือง ส่วน M. roseus จะสร้างสีแดง ทั้งนี้ M. luteus จะสร้างก๊าซ

ในการหมักจึงไม่นำมาใช้ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมัก

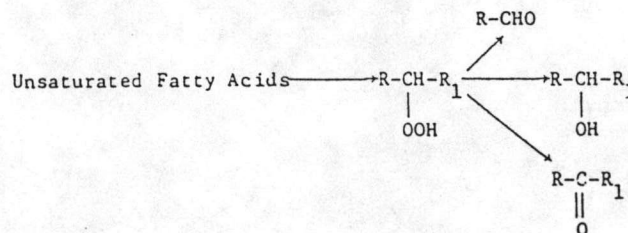
M. varians เป็นสปีชีส์ที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางในการผลิตไส้กรอก (Gryczka และ Shah, 1979) แต่ต้องใช้ร่วมกับแบคทีเรียที่ให้กรดแลคติก เพราะเชื้อนี้เพียงชนิดเดียวไม่สามารถให้กลิ่น รสชาติ แก่ไส้กรอกจนผู้บริโภคยอมรับได้ เชื้อชนิดนี้ช่วยให้เกิดสีชมพูแดงในผลิตภัณฑ์ที่มีสารไนไตรท์ และ/หรือ สารไนเตรท แต่มีปัญหาคือเอนไซม์ที่เชื้อสร้างขึ้นเพื่อรีดิวส์สารไนเตรท (nitrate reductase enzyme) นั้นจะหมดประสิทธิภาพที่ค่า pH 5.6 นั่นคือการหมักที่เร็วเกินไป หรือการใช้สารเคมีที่ให้ความเป็นกรดจะทำให้การรีดิวส์สารไนเตรทเป็นไปได้อย่างช้าลง ดังนั้น การทำงานของเชื้อนี้จะเกิดในช่วงต้นของการหมักก่อนที่ค่า pH จะลดลงถึง 5.6 ลักษณะทั่วไปของ M. varians จะมีรูปร่างกลม เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1.0-1.5 ไมครอน อาจอยู่เป็นโคโลนีเดี่ยว คู่ หรือปริมิตก็ได้ โคโลนีมีสีเหลือง หนูน และขอบเรียบ สามารถเปลี่ยนน้ำตาลฟรุกโตสและกลูโคสให้เป็นกรดได้ ไม่สร้างก๊าซ สามารถเปลี่ยนสารไนเตรทเป็นสารไนไตรท์ได้ แต่ทั้งนี้ต้องอยู่ในสภาพที่มีอากาศ M. varians สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 22-37 องศาเซลเซียส และไม่เป็นอันตรายต่อมนุษย์ (Buchanan and Gibbons, 1974)

การใช้ M. varians ในการหมักมีวัตถุประสงค์เพื่อความคุมปริมาณความเข้มข้นของสารไนไตรท์ในระบบที่มีการเติมสารไนเตรทลงไป ผู้ผลิตหลายรายสังเกตเห็นว่าการเกิดสีชมพูแดงในไส้กรอกที่ใช้ M. varians เป็นหัวเชื้อบริสุทธิ์ร่วมกับสารไนเตรท จะมีประสิทธิภาพและมีเสถียรภาพมากกว่าการใช้สารไนไตรท์โดยตรง ทั้งนี้เสถียรภาพของสีดังกล่าวจะช่วยป้องกันการเกิดสีเทาที่ผิวของไส้กรอกที่สัมผัสอากาศขณะนั้นได้ด้วย (สีเทาที่เกิดขึ้นนี้อาจเป็นผลจากการรีดิวส์ของสารไนเตรทเป็นไนไตรคออกไซด์) ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่าสีชมพูแดงที่เกิดจากการใช้สารไนเตรทจะมีระดับสูงกว่า และคงตัวกว่าสีชมพูแดงที่เกิดจากการใช้สารไนไตรท์โดยตรงในไส้กรอกหมัก (Anon., 1978)

ในการหมักเนื้อสัตว์ที่มีสารไนไตรท์และ/หรือสารไนเตรท พบว่าจะมีการเปลี่ยนสารไนเตรทไปเป็นสารไนไตรท์ก่อน จากนั้นจะเกิดปฏิกิริยาระหว่างไมโอโกลบินในเนื้อกับสารไนไตรท์ได้เป็นไนโตรโซไมโอโกลบิน (nitrosomyoglobin) ซึ่งมีสีแดงเข้ม ถ้าสารนี้ได้รับความร้อน (54.4-60 องศาเซลเซียส) จะเปลี่ยนเป็นสีชมพูของไนโตรโซฮีโมโครม (nitrosohemochrome) ซึ่งเป็นสีของเนื้อหมักทั่วไป เช่น แฮม และที่อุณหภูมิดังกล่าวนี้

สามารถทำให้โปรตีนตกตะกอนได้ด้วย นอกจากนี้ การหมักก็สามารถตกตะกอนโปรตีนได้เช่นกัน จึงมีผลทำให้สาร nitrosomyoglobin เกิดเสถียรภาพได้ด้วย (Bacus, 1984)

เชื้อจุลินทรีย์พวก micrococci สามารถย่อยสลายโปรตีนและไขมันในกล้ามเนื้อสัตว์ได้ จึงเกิดการย่อยสลายให้กรดไขมันอิสระ (free fatty acid) ขึ้นในระหว่างการหมัก ปริมาณสารประกอบไนโตรเจนที่ละลายน้ำได้จะเพิ่มขึ้น (Mihályi และ Körmendy, 1967) ขณะเดียวกันกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้นบางส่วนจะก่อให้เกิดสาร เมทิลคีโตน อัลดีไฮด์ และ อัลกอฮอล์ ดังแผนภาพในรูป 2.5 ซึ่งสารที่เกิดขึ้นเหล่านี้จะทำให้ได้กลิ่นรสเฉพาะของผลิตภัณฑ์ (Pezold, 1969 quoted in Bacus, 1984) แต่กลิ่นรสเหล่านี้จะแตกต่างไปจากเนื้อที่ผ่านความร้อน ดังนั้นจุลินทรีย์ชนิดนี้จึงเป็นตัวกระตุ้นให้เกิดกลิ่นรสที่เฉพาะ ทำให้เกิดสีของผลิตภัณฑ์ที่คงตัว นอกจากนี้เชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าวยังสามารถผลิตเอนไซม์ catalase ขึ้นได้ จึงเป็นการป้องกันการเกิดการเหม็นหืนในผลิตภัณฑ์ (oxidative rancidity) ได้ด้วย



รูป 2.5 แผนภาพการเปลี่ยนแปลงของกรดไขมันไม่อิ่มตัว

จากการศึกษาจลนพลศาสตร์ของเชื้อ M. varians ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (model system) พบว่า saturation constant (Ks) มีค่าร้อยละ 0.18 ซึ่งหมายความว่าเชื้อดังกล่าวต้องการปริมาณกลูโคสร้อยละ 0.18 เพื่อใช้ในการเจริญเติบโตให้ได้ครึ่งหนึ่งของ exponential phase ของเชื้อชนิดนี้ ซึ่งถ้าปริมาณกลูโคสน้อยกว่านี้การเจริญเติบโตของเชื้อ M. varians จะเป็นไปได้ไม่สมบูรณ์ นอกจากนี้กิจกรรมในการรีดิวส์สารไนเตรทเป็นสารไนไตรท์จะเริ่มเกิดขึ้นเมื่อเวลาการหมักผ่านไปประมาณ 3-4 ชั่วโมง แต่สังเกตเห็นได้ชัดเจนที่เวลาประมาณ 8 ชั่วโมง และสามารถเปลี่ยนสารไนเตรทเป็นสารไนไตรท์ได้มากถึงร้อยละ 80 (ไพโรจน์ วิริยจारी และคณะ, 2536ก)

2.5.2 เชื้อจุลินทรีย์ Lactobacillus sp.

lactobacilli เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่พบมากที่สุดในการผลิตโยเกิร์ตที่ผ่านกระบวนการหมักตามธรรมชาติ Jensen และ Paddock (1940) ได้ใช้เชื้อนี้ในไส้กรอกหมักและพบว่าการหมักดังกล่าวมีการสร้างกรดได้มากในเวลาสั้น แต่ยังคงขึ้นอยู่กับโอกาสการเกิดปฏิกิริยารีดักชันของสารไนเตรทที่ไม่แน่นอน

ในปี 1974 Everson และคณะ พบว่ามีการใช้เชื้อ L. plantarum ทั้งในรูปการใช้เดี่ยวๆ และใช้ควบคู่กับเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่ผลิตกรดแลคติกในการผลิตไส้กรอกหมักแห้งและกึ่งแห้ง แต่เนื่องจาก L. plantarum มีช่วงอุณหภูมิในการเจริญที่แคบจึงเริ่มเกิดแนวความคิดที่จะใช้หัวเชื้อบริสุทธิ์ผสม (mixed starter cultures) ในการผลิตไส้กรอก ซึ่งจะช่วยให้สามารถทำการผลิตได้ในช่วงอุณหภูมิการหมักที่กว้างขึ้น

L. plantarum เป็นแบคทีเรียกรัมบวก รูปแท่ง ยาวประมาณ 3-8 ไมครอน ไม่เคลื่อนที่ อาศัยอยู่ในลักษณะเดี่ยวหรือสายโซ่สั้นๆ ไม่มี flagella ไม่สร้างเอนไซม์ catalase ช่วงการเจริญอยู่ระหว่าง 7-45 องศาเซลเซียส ถูกทำลายได้ด้วยความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที สร้างกรดแลคติกได้ ไม่สร้างก๊าซ ทนสภาพที่มีปริมาณเกลือสูงกว่าร้อยละ 9 สามารถใช้แหล่งคาร์โบไฮเดรตพวก แลคโตส เดกซทริน กาแลคโตส ซูโครส มอลโตส ฟรุคโตส กลูโคส ซอร์บิทอล แมนนิทอล และกลีเซอรอลได้ เชื้อชนิดนี้สามารถเจริญได้ในที่ที่มีอากาศน้อย หรือไม่มีเลย ไม่สามารถรีดิวส์สารไนเตรทไปเป็นสารไนไตรท์ได้ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญคือ 30-35 องศาเซลเซียส ลักษณะโคโลนีสบนอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3 มิลลิเมตร กลม เรียบ มีสีขาวและบางครั้งอาจมีสีครีม ถ้าเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวจะมีความขุ่นมาก (Buchanan and Gibbons, 1974) และจากการศึกษาจลนพลศาสตร์ของเชื้อชนิดนี้ใน model system พบว่าต้องการปริมาณกลูโคสร้อยละ 0.12 เพื่อใช้ในการเจริญเติบโตให้ได้ครึ่งหนึ่งของ exponential phase ของเชื้อดังกล่าว และอัตราการใช้กลูโคสจะมีมากที่สุดในช่วงเวลาที่ 3 ของการหมัก และพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณกลูโคสให้มากขึ้น การสร้างกรดของเชื้อชนิดนี้จะมากขึ้นด้วย (ไพโรจน์ วิริยจारी และคณะ, 2536ข)

2.5.3 เชื้อจุลินทรีย์ Pediococcus sp.

Pediococcus sp. อยู่ในแฟมมีลี Streptococcaceae เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ทรงกลม เคลื่อนไหวไม่ได้ และไม่สร้าง endospore สร้างกรดแลคติกเพียงอย่างเดียวในการหมักโดยเปลี่ยนมาจาก เดกซ์โทรส มอลโตส กาแลคโตส และซาลิซิน ไม่เปลี่ยนสารในเตรท เป็นสารไนโตรที่

Pediococcus cerevisiae ไม่เจริญที่ pH 7.0 หรือที่ 35 องศาเซลเซียส แต่เจริญได้ที่ pH 3.5-6.2 และเจริญได้ดีที่ pH 5.5 หรือที่ 25 องศาเซลเซียส ในสภาพไม่มีอากาศ ลักษณะโคโลนิกรวม สีขาวออกเหลือง-น้ำตาล เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2-3 มิลลิเมตร ถูกทำลายได้ด้วยความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที มักพบในเบียร์ที่เสียแล้ว ซึ่งทาง USDA (1973) อนุญาตให้ใช้เชื้อนี้ในลักษณะของหัวเชื้อบริสุทธิ์ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก โดยใช้เป็นตัวให้กลิ่นรส และความเป็นกรดแก่ผลิตภัณฑ์ ปริมาณที่ให้ใช้ได้คือร้อยละ 0.5 และจากการศึกษาของ ไฟโรจน์ วิริยจारी และคณะ (2536ข) พบว่า เชื้อ P. cerevisiae ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (model system) จะต้องการปริมาณกลูโคสอย่างน้อยร้อยละ 0.34 เพื่อใช้ในการเจริญเติบโตให้ได้ครึ่งหนึ่งของ exponential phase ของเชื้อดังกล่าว และอัตราการใช้ปริมาณกลูโคสจะมีค่ามากที่สุดในช่วงที่ 3 จากนั้นจะลดลง และเพิ่มขึ้นอีกครั้งในช่วงที่ 18 ของการหมัก และเมื่อพิจารณาการสร้างกรดพบว่า ความเข้มข้นกลูโคสร้อยละ 1.50 จะให้ปริมาณกรดทั้งหมดคิดเทียบกรดแลคติกเท่ากับในระบบที่มีความเข้มข้นกลูโคสร้อยละ 2.0

นอกจากนี้ยังมีการใช้ P. acidilactici และ P. pentosaceus ในรูปของหัวเชื้อบริสุทธิ์ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักด้วย

2.5.4 ผลของการใช้หัวเชื้อบริสุทธิ์ต่อเชื้อจุลินทรีย์ที่ให้โทษ

การใช้หัวเชื้อบริสุทธิ์ จะทำให้การหมักมีปริมาณเชื้อที่ต้องการมากกว่าเชื้อที่มีในเนื้อโดยธรรมชาติ (microflora) ซึ่งรวมไปถึงจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคด้วย ประกอบกับถ้าใช้กรรมวิธีที่เหมาะสมและมีการควบคุมอย่างดี ย่อมประกันได้ถึงความปลอดภัยและคุณภาพของผลิตภัณฑ์สุดท้าย (Bacus and Brown, 1981) ความสามารถในการรอดชีวิต การเริ่มเจริญเติบโตใหม่ และการสร้างสารพิษของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคนั้น ขึ้นอยู่กับความทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมระหว่างการผลิต ซึ่งสำหรับชนิดจำกัดในการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่

ให้โทษแสดงดังตาราง 2.2 และองค์ประกอบที่สำคัญของสภาพแวดล้อมได้แก่

- องค์ประกอบเริ่มต้นของเนื้อรวมไปถึงการเปลี่ยนแปลง pH ปริมาณน้ำ การเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ และสารไนโตรเจนในผลิตภัณฑ์
 - อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ ชนิดของ casing และอัตราในการเปลี่ยนแปลงค่าทางเคมีและกายภาพ
 - ชนิดและจำนวนเริ่มต้นของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค
 - จำนวนของเชื้อที่มีในเนื้อโดยธรรมชาติ และหัวเชื้อบริสุทธิ์ที่เติมลงไป
- จุลินทรีย์ที่ให้โทษในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก ได้แก่

Staphylococcus aureus : โดยปกติ staphylococci จะแบ่งตัวและสร้าง enterotoxin ในช่วงเริ่มต้นของการหมักไส้กรอก (Barber and Deibel, 1972 ; Lee, Harmon and Price, 1977) ดังนั้นการควบคุมเชื้อนี้ต้องมีประสิทธิภาพจึงควรทำในช่วงเริ่มต้นของการหมัก ซึ่งผลดีจากการใช้หัวเชื้อบริสุทธิ์ในผลิตภัณฑ์ได้แสดงในตาราง 2.3 นอกจากนี้ ปริมาณ lactic acid bacteria ที่มีจำนวนมากจะสามารถควบคุมการหมักและเพิ่มอัตราการเกิดกรดในผลิตภัณฑ์ ซึ่งจะเป็นการหน่วงเหนี่ยวการเจริญของ staphylococci ด้วย (Nurmi, 1966a; Genigeorgis et al., 1971; Barber and Deibel, 1972; Daly et al., 1973; Haines and Harmon, 1973a,b; Raccach, 1986)

Salmonella sp. : พวก lactic acid bacteria มีขีดจำกัดในการยับยั้งการเจริญของ Salmonella sp. ซึ่งขึ้นกับ สปีชีส์ อัตราส่วนของ lactic acid bacteria กับ Salmonella sp. อุณหภูมิในการหมัก ปริมาณและอัตราการสร้างกรด (Park and Marth, 1972) สำหรับการใส่หัวเชื้อบริสุทธิ์จะช่วยลดเวลาในการหมักลงได้ และการอยู่รอดของ Salmonella sp. จะลดลง (Masters, 1979) นักวิจัยหลายท่านพบว่าในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักที่มีทั้ง Lactobacillus sp. และ Pediococcus sp. จะมีการลดปริมาณของ Salmonella sp. ลงระหว่างการหมัก (Geopfert and Chung, 1970; Baran and Stevenson, 1975; Smith et al., 1975 a,b)

ตาราง 2.2 สภาพแวดล้อมกับการเจริญของแบคทีเรียและราที่สร้างสารพิษระหว่างการผลิต
เนื้อหมัก

Bacteria or molds	Growth temperature range (C)	Lowest pH permitting growth	Maximum brine** concentration permitting growth (X)	Minimum water activity permitting growth
<u>Salmonella spp</u>	5.2-45	4.05	8	0.94
<u>Staphylococcus aureus</u>	6.7-45.6	4.0 (+0 ₂) 4.6 (-0 ₂)	16-18 (+0 ₂) 14-16 (-0 ₂)	0.83-0.86 (+0 ₂) 0.9 (-0 ₂)
<u>S. aureus enterotoxin production</u>	10-45	4.0 (+0 ₂) 5.3 (-0 ₂)	10 (+0 ₂) 9.5 (-0 ₂)	0.90 (+0 ₂) 0.94 (-0 ₂)
<u>Clostridium perfringens</u>	6.5-50	5.0	6	0.93-0.97
<u>Bacillus cereus</u>	7-49	4.4	7.5	0.955
<u>Clostridium botulinum types</u>				
A	10-48	4.7	10	0.93-0.95
B	10-48	4.7	10	0.93-0.94
B (nonproteolytic)	3.3	NK	NK	NK NK
E	3.3-45	5.0-5.4	5.3-5.5	0.94-0.97
F	3.3	NK	NK	NK NK
Molds*	-12-55	1.7	20	0.62
Mycotoxin production	4-40	1.7	10	0.8-0.85

NK = not known

*Extreme conditions at which at least one species was able to grow and produce a mycotoxin

$$**\text{Brine } X = \frac{\text{NaCl } (X)}{\text{moisture } (X) + \text{NaCl } (X)} \times 100$$

$$\text{Water activity} = \frac{\text{Vapor pressure of food}}{\text{Vapor pressure of distilled water of same temperature}}$$

ตาราง 2.3 การเกิด enterotoxin จากเชื้อ Staphylococcus sp.

Starter Culture	3 Days			7 Days		
	Log CPS	pH	Enterotoxin	Log CPS	pH	Enterotoxin
-	8.84	5.9	+	8.88	5.7	+
+	6.78	5.6	-	7.53	5.3	-

Clostridium botulinum : การยับยั้งการสร้างสารพิษของ Clostridium botulinum โดย lactic acid bacteria ในเนื้อหมักแสดงดังตารางที่ 2.4 เชื้อบริสซูร์รี่เริ่มต้นที่สร้างกรดแลคติกเมื่ออยู่ในสภาพที่มีทั้ง ซูโครส และ เดกซ์โตรส จะมีประสิทธิภาพในการสร้างกรดได้เร็วซึ่งสามารถป้องกันการสร้างสารพิษได้ แต่ทั้งนี้ต้องมีสารไนไตรท์อยู่ด้วย (Christiansen et al., 1975; Ivey and Robach, 1978; Tanaka et al., 1980) ซึ่ง Tanaka และคณะ (1980) กล่าวว่าถ้าในผลิตภัณฑ์เนื้อ มีแหล่งคาร์โบไฮเดรตและเชื้อจุลินทรีย์ที่ให้กรดแลคติกในปริมาณที่เหมาะสม จะทำให้ปริมาณสารไนไตรท์ลดลงอยู่ในระดับที่ไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค

ตาราง 2.4 การสร้าง botulinal toxin ใน summer style sausage ที่ 25 องศาเซลเซียส

Nitrite (ppm)	Starter Culture	Dextrose	Toxic/25
0	-	+	8
0	+	-	22
0	+	+	2
50	+	+	0
150	-	-	14
150	+	+	0

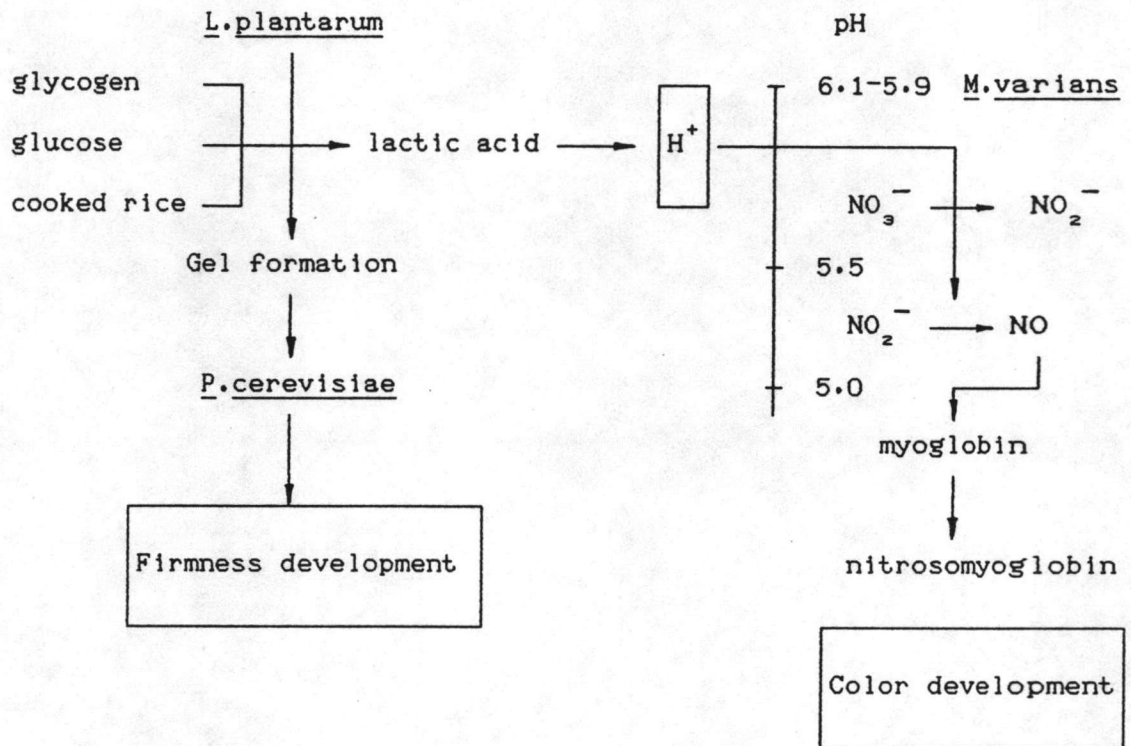
สำหรับการเจริญของเชื้อราบนผิวของไส้กรอกหมักจะพบมากที่สุดที่ pH ต่ำๆ และปริมาณน้ำน้อย เชื้อราที่พบมากที่สุดจะเป็นพวก Penicillium sp. แต่ไม่มีรายงานเกี่ยวกับสารพิษที่ผลิตจากจุลินทรีย์พวกนี้ในไส้กรอกหมัก (Adams, 1986)

หน้าที่หลักของหัวเชื้อบริสซูร์รี่ในไส้กรอกหมักคือ ช่วยยืดอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์โดยควบคุมความเป็นกรดและช่วยให้ความแน่นเนื้อ (firmness) แก่ผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้ยังมีการใช้หัวเชื้อบริสซูร์รี่ในผลิตภัณฑ์ปลา (Herborg and Johansen, 1977 quoted in Bacus, 1984) และในผลิตภัณฑ์เนื้อที่ไม่ผ่านการหมัก เพื่อยืดอายุการเก็บ และยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ให้โทษต่อร่างกายด้วย

Daly และคณะ (1973) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการควบคุมปริมาณเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในไส้กรอกโดยการใช้น้ำเชื้อบรืสุที่ซึ่งแบ่งการทดลองเป็น 3 ชุด น้ำเชื้อบรืสุที่ใช้ในแต่ละการทดลอง คือ *L. plantarum*, *P. cerevisiae* และน้ำเชื้อผสม 2 ชนิดข้างต้น จากนั้นใส่เชื้อ *S. aureus* ปริมาณที่เท่ากันลงในแต่ละชุดการทดลอง บ่มที่อุณหภูมิ 21, 30 และ 37 องศาเซลเซียส ตรวจสอบผลตลอดระยะเวลาเก็บที่ 0, 5, 10, 25 และ 50 ชั่วโมง ซึ่งพบว่า *P. cerevisiae* จะทำให้ pH ลดลงเร็วกว่าเชื้อชนิดอื่นและสามารถควบคุมปริมาณ *S. aureus* ได้ดีกว่าด้วย โดยสามารถยับยั้งการเจริญได้มากถึงร้อยละ 99.9 เมื่อเวลาผ่านไป 25 ชั่วโมง หรือสามารถลดการเจริญลงได้มากกว่า 3 log cycle เมื่อเทียบกับการเจริญของ *S. aureus* ปกติ สำหรับชุดการทดลองที่มีการใช้ทั้ง *L. plantarum* และ *P. cerevisiae* จะสามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ได้มากกว่าร้อยละ 99 ที่ 25 ชั่วโมง แม้ว่าจะมีการลดลงของ pH เริ่มต้นช้ากว่า ส่วน *L. plantarum* ที่ใช้ในปริมาณเท่ากับ *P. cerevisiae* นั้นพบว่าสามารถลด pH เริ่มต้นลงได้เร็วกว่า แต่ความสามารถในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ที่ 25 ชั่วโมงมีน้อยกว่า นอกจากนี้พบว่าถ้าเพิ่มปริมาณ *S. aureus* เริ่มต้น ความสามารถในการยับยั้งของเชื้อที่ให้กรดแลคติกก็ลดลงด้วย แต่อย่างไรก็ตาม สามารถยับยั้งได้เช่นเดิมที่ 25 ชั่วโมง แต่เมื่อพิจารณาในผลิตภัณฑ์ไส้กรอก การที่จะมีปริมาณ *S. aureus* มากน้อยเพียงใดก็ขึ้นกับความสะอาดและกระบวนการในการผลิตด้วย สำหรับผลการทดลองข้างต้นที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ได้นั้น เป็นตัวบ่งชี้ถึงประสิทธิภาพในการป้องกันการสร้างสารพิษในผลิตภัณฑ์ได้ด้วย เมื่อพิจารณาอุณหภูมิที่ใช้ในการบ่มนั้น พบว่าที่ 30 หรือ 37 องศาเซลเซียส จะสามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ได้มากกว่าที่ 21 องศาเซลเซียส ในช่วงท้ายตั้งแต่ 25 ชั่วโมงเป็นต้นไป แต่ในช่วงต้นของการทดลองพบว่าการบ่มที่ 21 องศาเซลเซียส จะช่วยยับยั้งการเจริญได้ดีกว่า อย่างไรก็ตาม Acton และ Keller (1974) กล่าวว่าอุณหภูมิที่ใช้ในการหมักช่วง 22-37 องศาเซลเซียส จะไม่มีผลต่อกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ summer sausage ที่ใช้น้ำเชื้อบรืสุที่เป็น *P. cerevisiae* แต่ได้แนะนำว่าการผลิตที่อุณหภูมิประมาณ 22 องศาเซลเซียส จะทำให้มีความปลอดภัยยิ่งขึ้น

สำหรับในผลิตภัณฑ์แฮม ได้มีการทดลองผลิตแฮมหน้าร้อน (ผลิตช่วงฤดูร้อน) โดยลักษณะ รุจะ ไกรกานต์, อรัญ หันพงศ์กิตติกุล และ ไพโรจน์ วิริยจารี ในปี พ.ศ. 2531 ซึ่งใช้น้ำเชื้อบรืสุจากตัวอย่างแฮมที่ผลิตภายในจังหวัดเชียงใหม่ และคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติกได้รวดเร็ว เปลี่ยนสารไนเตรทได้ดีและสามารถเจริญเติบโตได้ใน 24 ชั่วโมง โดยนำเชื้อที่คัดเลือกแล้วทั้งสิ้น 13 สายพันธุ์มาใช้ในการผลิตแฮมจำนวน 4 สิ่งทดลอง โดยสลับ

เชื้อในแฮมแต่ละสิ่งทดลอง จากการศึกษาทางเคมี จุลชีววิทยา และการทดสอบด้านประสาทสัมผัสสรุปว่า แฮมที่ใช้เชื้อบริสุทธิ์มีคุณค่าทางอาหารใกล้เคียงกับแฮมพื้นบ้าน ค่า pH ของผลิตภัณฑ์ดังกล่าวลดลงมากตั้งแต่วันแรกของการผลิต ทั้งนี้ปริมาณสารไนเตรท ไนไตรท์ และไนโตรซามีน จะมีค่าต่ำกว่าค่าสูงสุดที่กฎหมายอนุญาตให้มีในอาหารที่หมักด้วยสารเคมี นอกจากนี้แฮมที่มีอายุครบ 3 วัน พบว่าจะมีปริมาณกรดแลคติกสูง แต่หากผู้บริโภคริโภคแฮมดิบที่ค่า pH สูงกว่า 4.3 ย่อมเป็นการเสี่ยงต่อการเจ็บป่วยเนื่องจากเชื้อ *Salmonella* sp. ส่วนการทดสอบทางประสาทสัมผัสพบว่าทั้งสี กลิ่นรส และลักษณะเนื้อสัมผัส เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคกรณีแฮมหน้าหนาวที่ผลิตในฤดูหนาวนั้นพบว่า สิ่งทดลองที่ใช้เชื้อบริสุทธิ์จะให้แฮมที่มีกลิ่นรสดี แต่ในด้านของสี ลักษณะเนื้อสัมผัส และลักษณะการยอมรับรวมยังต้องการการปรับปรุง จึงมีข้อคิดว่าจะนำเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้แต่ละชนิด มาศึกษาในด้านคุณสมบัติและผลของเชื้อแต่ละชนิดต่อระบบของแฮมซึ่ง Pairote Wiriyacharee (1990) ได้ศึกษาผลของเชื้อบริสุทธิ์ดังกล่าวต่อระบบของแฮม และได้สรุปไว้ดังรูป 2.6 โดยสามารถอธิบายได้ว่า เชื้อ *L. plantarum* จะเปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตในระบบแฮมเป็นกรดแลคติก ทำให้ pH ของผลิตภัณฑ์ลดต่ำลง เป็นผลให้โปรตีนในเนื้อเสียสภาพ โดยเปลี่ยนโครงสร้างของสายโซ่ polypeptides จากลักษณะที่พับซ้อนไปมาเป็นกลุ่มให้อยู่ในรูปของสายโซ่ตรง จึงทำให้เกิด side chains ต่างๆขึ้น side chains เหล่านี้จะเข้าเกาะกันระหว่างสายโซ่ จึงทำให้ลักษณะโมเลกุลใหญ่ขึ้น ซึ่งถ้าการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวอยู่ในสารละลายจะเกิดการตกตะกอน แต่เมื่ออยู่ในของแข็งจะมีการเกาะตัวแน่นขึ้นในลักษณะเจล (gel) ทำให้เกิดความแน่นเนื้อ (firmness) ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะอย่างหนึ่งของแฮม นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อ *P. cerevisiae* เจริญได้ดีที่ค่า pH ประมาณ 5.0 และผลิตภัณฑ์มีผลต่อความแน่นเนื้อของแฮมในช่วงต่อมา ส่วน *M. varians* จะเปลี่ยนสารไนเตรทที่มีในส่วนผสมไปเป็นสารไนไตรท์ภายใต้สภาพความเป็นกรดของแฮม และสารไนไตรท์จะเกิดการสลายตัวไปเป็นไนตริกออกไซด์ ซึ่งสารนี้จะทำปฏิกิริยาต่อกับไมโอโกลบินในเนื้อได้เป็นรงควัตถุที่เรียกว่าไนโตรโซไมโอโกลบิน ซึ่งจะให้สีชมพูแดงในผลิตภัณฑ์แฮมขึ้น



รูป 2.6 แผนภาพแสดงผลของหัวเชื้อบริสุทธิ์ต่อระบบของผลิตภัณฑ์หมัก

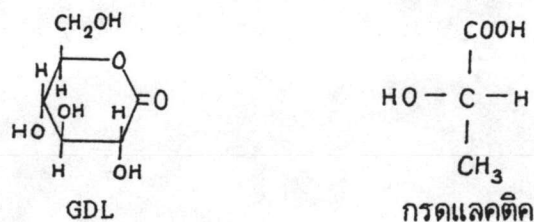
2.6 สารเคมีที่ให้ความเป็นกรด (chemical acidulants)

สารเคมีที่ให้ความเป็นกรด เป็นสารที่สามารถแตกตัวให้อิออนไฮโดรเจน (H⁺) แก่ระบบได้ซึ่งจะทำให้ค่า pH ลดลง ตัวอย่างสารที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมการหมัก เช่น glucono delta lactone (GDL) และ กรดแลคติก เป็นต้น

2.6.1 GDL

เป็นเอสเทอร์ของกรดกลูโคนิก อาจเรียกว่า glucono delta lactone หรือ D-gluconic acid lactone หรือ delta gluconolactone สูตรโมเลกุลคือ C₆H₁₀O₆ มีโครงสร้างเป็นวงแหวน ดังรูป 2.7 มีลักษณะเป็นผลึก จุดหลอมเหลว 156-159 องศาเซลเซียส มีรสหวาน ละลายได้ในน้ำ อัดกอลบอล ไม่ละลายในอีเทอร์ ทั้งนี้เมื่อละลายในน้ำจะค่อยๆ แตกตัวให้กรดกลูโคนิก โดยความเข้มข้น GDL ร้อยละ 1 ในน้ำจะให้ pH 3.6 และลดลงเป็น 2.5 ภายใน 2 ชั่วโมง ในการนี้สารแลคโตสประมาณร้อยละ 25 จะสลายตัวออกมาใน 10 นาทีแรก ส่วนที่เหลือจะสลายตัวช้าๆ ซึ่งใช้เวลามากกว่า 3 ชั่วโมง (Sair, 1961) ได้มีการใช้ GDL ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักโดยเฉพาะอย่างยิ่งในไส้กรอกหมักชนิดต่างๆ จากการศึกษาของ Varga (1973) ซึ่งทดลองใช้ GDL ในเนื้อสุกรพบว่าคุณค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ของระบบดังกล่าวจะลดลงเหลือ 3.30-3.45 ภายในระยะเวลา 12 ชั่วโมง การที่ค่า pH ลดลงอย่างรวดเร็วนี้เป็นผลดีต่อการแปรรูปผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก เพราะระยะเวลาเวลาที่ใช้จะลดลงได้ถึง 2 ใน 3 เท่าของการแปรรูปที่ไม่ใช้สารนี้ การใช้ GDL ในผลิตภัณฑ์เนื้อจะช่วยลดปริมาณสารไนเตรทและสารไนไตรท์ที่เหลือในผลิตภัณฑ์ให้น้อยลงได้ (Wenderdel, 1980) และตรวจไม่พบสารทั้งสองดังกล่าวเลย ถ้าในระบบใช้ GDL ร่วมกับกรดแอสคอร์บิก (Mathey, 1980) นอกจากนี้ยังมีการใช้ประโยชน์จาก GDL เพื่อเร่งการเกิดสีและทำให้สีคงตัวโดยเฉพาะในเนื้อบดทุกชนิด โดยเมื่อค่า pH ในเนื้อลดต่ำลงจะเกิดปฏิกิริยาของสารไนไตรท์ขึ้น ดังรายงานของ Monagle, Toledo และ Saffle (1974) และ Pate, Shuler และ Mandigo (1971) ที่ทดลองใช้ GDL ในไส้กรอกแพนเฟอ์เตอร์และแฮม ซึ่งพบว่าจะช่วยให้อายุของผลิตภัณฑ์เกิดเร็วขึ้นและมีความคงตัวด้วย ส่วนในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกมักนิยมใช้ร่วมกับโซเดียมอซิโธเรท เพราะจะช่วยให้อายุเพิ่มขึ้นในระหว่างการรมควันและลดเวลาที่จะต้องใช้ในการรมควันลงได้ถึงร้อยละ 50 และไส้กรอกที่ได้จะมีลักษณะเหี่ยวหรือหดตัวน้อย ในขณะที่เดียวกันจะมีอายุการเก็บนานขึ้นด้วย ซึ่งอายุการเก็บนี้จะสอดคล้องกับการศึกษาของ Riemann, Lee และ Genigeorgis (1972)

ที่พบว่าปริมาณความเข้มข้น GDL ร้อยละ 0.6 จะมีประสิทธิภาพในการรักษาระดับ pH ของเนื้อให้ต่ำกว่า 5.0 ในที่อุณหภูมิต่ำ (2-5 องศาเซลเซียส) ได้นานกว่า 2 เดือน และเมื่อใช้ในเนื้อวัวและเนื้อหมูซึ่งมีค่า pH ระดับนี้ร่วมกับเกลือ พบว่า จะสามารถยับยั้งการเจริญของ *staphylococci* และ *Cl.botulinum* เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำได้ด้วย สำหรับผลของ GDL ต่อการสร้าง biogenic amines ในเนื้อบด ตามรายงานของ Maijala และคณะ (1993) กล่าวว่า การใช้ GDL ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และ 1.0 สามารถลดระดับ histamine และ putrescin ซึ่งเป็น biogenic amines ประเภทหนึ่งลงได้ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และสามารถลดระดับของ fecal streptococci, total aerobic bacteria และ coliforms ลงได้ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.01$) ด้วยเช่นกัน นอกจากนี้ยังพบอีกว่า GDL ไม่มีผลกระทบต่อระดับของ lactic acid bacteria ในเนื้อบดซึ่งเป็นข้อได้เปรียบของการใช้ GDL ร่วมกับหัวเชื้อบริสุทธิ์อย่างหนึ่ง GDL ที่ใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักนี้ ยังมีส่วนช่วยเร่งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ที่ช่วยให้เกิดปฏิกิริยาการหมักและชะลอการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเป็นพิษได้ (Kotter, Palitzsch and Geiger, 1969; Kotter, Palitzsch and Kundrat, 1969) ทั้งนี้จากการศึกษาของ Sair (1963) พบว่า GDL ไม่มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในไส้กรอก แต่เมื่อมีการใช้ GDL ในไส้กรอกหมักแห้งพบว่าผลิตภัณฑ์จะมีกลิ่นรสที่หวานซึ่งเป็นกลิ่นที่ผิดปกติคือไม่ใช่กลิ่นของกรดแลคติก (Nurmi, 1966b quoted in Bacus, 1984) แต่ Everson (1981) กล่าวว่าลักษณะดังกล่าวได้รับการยอมรับในประเทศแถบยุโรป แต่การผลิตโดยวิธีนี้อาจก่อให้เกิดการเหม็นหืนได้ ซึ่งพบว่าค่า peroxide number จะเพิ่มขึ้นถ้าเทียบกับชุดควบคุม (ไม่ใช่ GDL) และการใช้เชื้อกลุ่ม lactobacilli ร่วมกับ GDL จะเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้เกิดกลิ่นในไส้กรอกหมักแห้งข้างต้น แต่ถ้าใช้เชื้อในกลุ่ม micrococci ร่วมกับ GDL จะทำให้ค่า peroxide number ลดลงได้ (Nurmi, 1966b quoted in Bacus, 1984) นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อระบบการหมักมีค่า pH ลดต่ำลงจะมีผลให้ความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อลดลงด้วย สำหรับปริมาณที่ USDA (1973) อนุญาตให้ใช้ใน European dry and semi-dry sausage คือร้อยละ 1.0

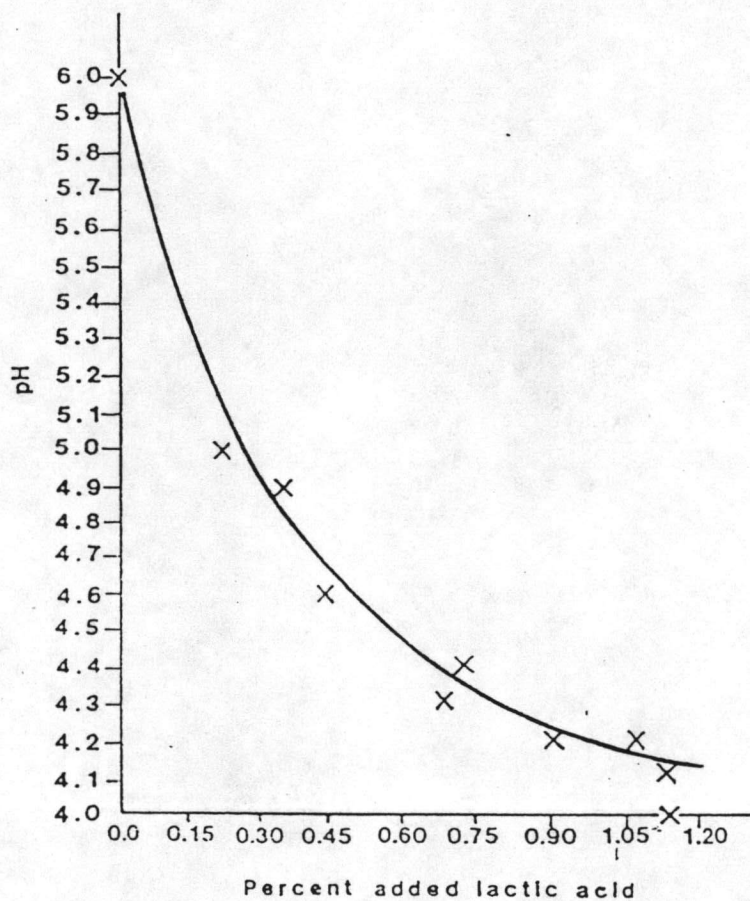


รูป 2.7 สูตรโครงสร้างของ GDL และกรดแลคติก

2.6.2 กรดแลคติก

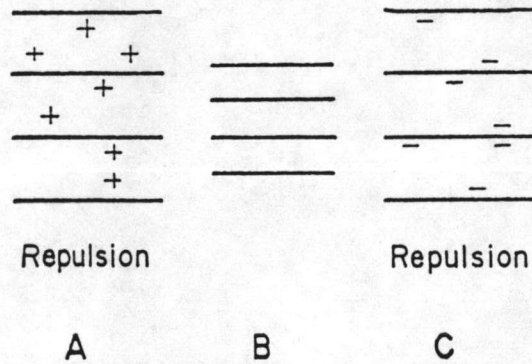
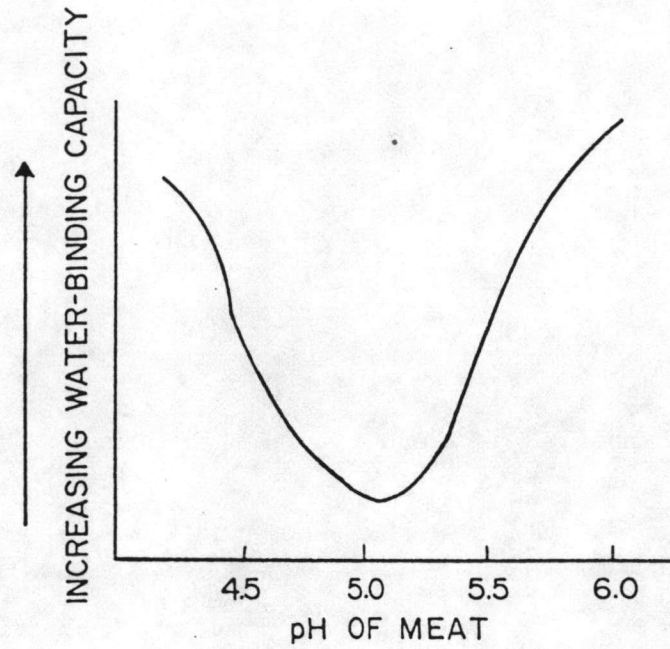
อาจเรียกว่า (S)-2-hydroxypropanoic acid หรือ L(+)-lactic acid หรือ dextrorotatory lactic acid หรือ d-lactic acid หรือ savcolactic acid paralactic acid หรือ fleishmilchsaure หรือ L-milchsaure สูตรโมเลกุลคือ $C_3H_5O_3$ (รูป 2.7) พบได้เล็กน้อยในเลือด กล้ามเนื้อ ของมนุษย์และสัตว์ และจะมีปริมาณมากขึ้นหลังจากที่ทำการกิจกรรมหนัก ในอาหารหมักจะใช้ในรูปของสารละลาย โดยใช้เป็นวัตถุกันเสีย สาเหตุที่นิยมใช้มากขึ้นในระยะหลังเนื่องจากพบว่าสามารถช่วยลด water activity และความเป็นกรดต่างของผลิตภัณฑ์ ทำให้สามารถเก็บผลิตภัณฑ์ได้นานขึ้น ทั้งนี้สามารถลดค่า pH ลงได้เร็วมากเริ่มตั้งแต่เสร็จสิ้นการผสมเครื่องปรุง (Klettner and Baumgartner, 1980) นอกจากนี้อาจใช้เกลือของกรดแลคติก เช่น โซเดียมแลคเตท โพแทสเซียมแลคเตท และแคลเซียมแลคเตท ในผลิตภัณฑ์อาหารได้อีกด้วย นอกจากนี้จากการทดลองยังพบอีกว่าสามารถช่วยขลอการสร้างสารพิษของ *Cl. botulinum* ทำให้สามารถลดปริมาณการใช้สารไนเตรทและสารไนไตรท์ลงได้ ซึ่งจะช่วยลดปัญหาการเกิดไนโตรซามีนในผลิตภัณฑ์เนื้อได้ด้วย และสามารถลดปริมาณแบคทีเรียลงได้ ตามการศึกษาของ Egbert และคณะ (1992) ซึ่งได้ทดลองใช้โพแทสเซียมแลคเตทในผลิตภัณฑ์ low fat ground beef ที่เก็บรักษาในสภาพมีอากาศและอุณหภูมิต่ำ พบว่าการใช้โพแทสเซียมแลคเตทร้อยละ 2 และ 3 จะช่วยลดปริมาณ aerobic plate count bacteria และ psychrotrophic bacteria ในผลิตภัณฑ์ลงได้เล็กน้อย โดยไม่เกิดความแตกต่างทางด้านประสาทสัมผัสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.5$) การที่โพแทสเซียมแลคเตท สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น ก็เป็นเพราะสารเคมีนี้มีสมบัติเป็น undissociated acid เช่นเดียวกับโซเดียมแลคเตท สารประเภทนี้สามารถแตกตัวและให้กรดแลคติก ซึ่งจะมีผลยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ก็ต่อเมื่อมีความเข้มข้นตั้งแต่ 0.002 M ขึ้นไป (Conner, Scott and Bernard, 1990) สำหรับในการทดลองนี้ได้ใช้ความเข้มข้นของโพแทสเซียมแลคเตท คิดเป็น 0.003 M และ 0.004 M จึงมีความสามารถในการยับยั้งต่ำตามที่กล่าวข้างต้น

จากการทดลองของ Pisanu Vichiensanth (1982) ที่ได้ศึกษาการใช้สารเคมีที่ให้ความเป็นกรดคือ GDL และกรดแลคติกในไส้กรอกเปรี้ยวของไทยพบว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณที่ใช้ และ pH ที่ลดลงอย่างไม่เป็นเส้นตรง กล่าวคือจะมีการลดลงของ pH ในช่วงแรก (pH 6.0-5.0) เร็วมาก แล้วจึงช้าลง พอลงถึง pH 4.4 จะยิ่งช้ามากดังกราฟรูป 2.8 นั่นคือ



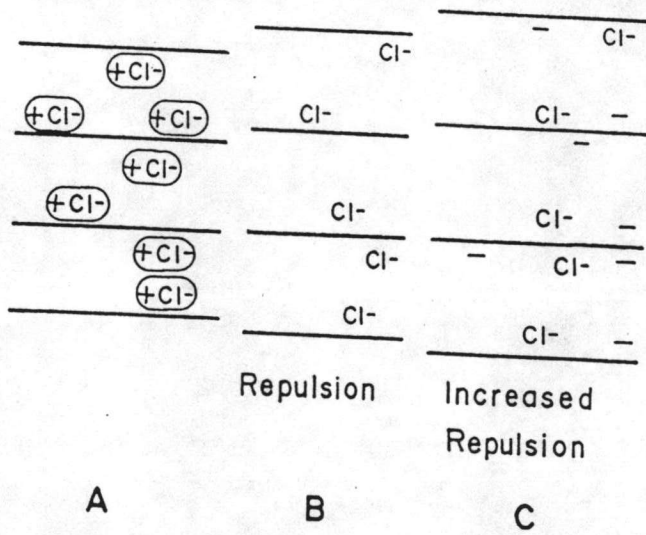
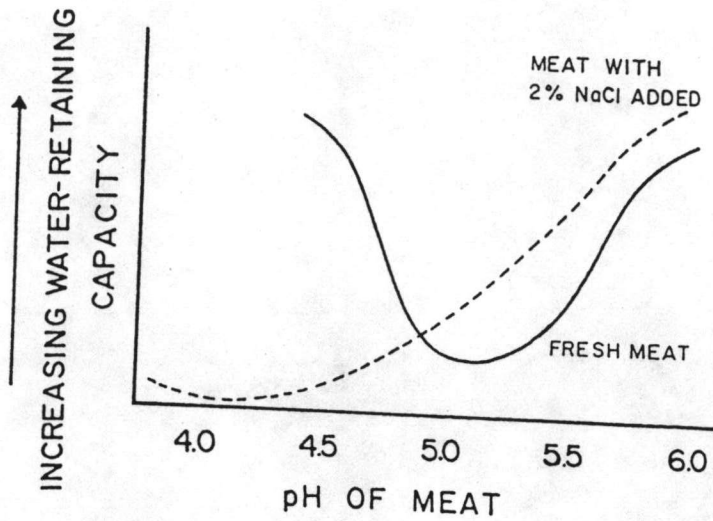
รูป 2.8 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดแลคติกและ pH ที่ลดลงในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยว

ถ้าต้องการลด pH ให้ต่ำกว่า 4.4 จะต้องเพิ่มการใช้กรดในช่วงนี้อีก และจากการทดสอบกับ ผู้บริโภคพบว่าปริมาณกรดแลคติกที่ให้ระดับความเปรี้ยวที่เหมาะสมคือร้อยละ 0.72-1.08 โดย น้ำหนัก แต่การใช้กรดแลคติกมีข้อเสียคือต้องใช้ในรูปของสารละลายซึ่งให้ผลที่ไม่ดีต่อลักษณะ เนื้อสัมผัส ส่วนผสมจะแฉะ ยากต่อการอัดใส่ casing เพราะน้ำจะไหลออกมาขณะอัด โดยเฉพาะเมื่อส่วนผสมมี pH ต่ำกว่า 4.6 และยังพบว่ามีการระเบิดหรือแตกออกของไส้กรอก เปรี้ยวขณะให้ความร้อนในการทำให้สุก ทั้งนี้เพราะการลดลงของ pH อย่างรวดเร็ว จะทำให้ ความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อหมูลดลง ทำให้น้ำถูกปล่อยออกมามาก เมื่อได้รับความร้อน จะเกิดการระเหยเป็นไอซึ่งเป็นการเพิ่มความดันใน casing และทำให้แตกออกได้ในที่สุด การที่เนื้อหมูมีความสามารถในการอุ้มน้ำลดลงเป็นผลจากค่า isoelectric point ของ myofibrillar proteins ในเนื้อตามธรรมชาติที่มีค่าระดับหนึ่ง (Grau, Hamm and Baumann, 1953) myofibrillar proteins มีผลต่อความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อ ซึ่งการเกาะกันระหว่างโมเลกุลของน้ำ-โปรตีน และโปรตีน-โปรตีน จะกำหนดขนาดช่องว่างที่ โมเลกุลของน้ำจะแทรกตัวในร่างแหโปรตีน ดังนั้นปริมาณน้ำในเนื้อจึงขึ้นกับช่องว่างดังกล่าว ใน เนื้อสดจะมีความสามารถในการอุ้มน้ำต่ำสุดที่ค่า pH 5.0-5.1 ซึ่งเทียบได้กับ isoelectric point ของ myofibrillar proteins ในสภาพปกติของเนื้อ (รูป 2.9) ที่ isoelectric point นี้ myofibrillar proteins จะมีกลุ่มมีขั้วที่ผิวมากที่สุดจึงสามารถ อุ้มน้ำผ่าน H-bonding ได้มากที่สุดด้วย สภาวะเช่นนี้สามารถคงตัวอยู่ได้ถ้ามีกลุ่มขั้วบวกเท่า กับการกลุ่มขั้วลบ แต่ถ้าค่า pH สูงกว่า isoelectric point จะเกิดการเคลื่อนที่ของกลุ่มขั้ว บวก ทำให้มีปริมาณกลุ่มขั้วลบมากขึ้น เป็นผลให้เกิดการผลักกันของ myofilaments และ เกิดช่องว่างที่จะให้น้ำเข้าไปแทรกตัวได้มากขึ้น ในทำนองเดียวกันที่ pH ต่ำกว่า isoelectric point เนื้อสดก็จะมีความสามารถในการอุ้มน้ำได้มากขึ้น แต่ในผลิตภัณฑ์เนื้อ หมักจะมีการเติมเกลือ (NaCl) ลงไป ซึ่งจะมีผลต่อจำนวนกลุ่มมีขั้วของ myofilaments โดยคลอไรด์ไอออน (Cl^-) จะเกาะแน่นกับกลุ่มขั้วบวก ทำให้มีปริมาณขั้วลบลดลง ส่วนโซเดียม ไอออน (Na^+) จะเกาะกับกลุ่มขั้วลบอย่างหลวมๆ เป็นผลให้เกิด isoelectric point ใหม่ขึ้น ที่ pH ต่ำลง (Niinivaara and Pohja, 1954 quoted in Bacus, 1984) ผลิตภัณฑ์ เนื้อหมักจึงมีความสามารถในการอุ้มน้ำได้มากขึ้นที่ค่า $pH \geq 5.0$ (รูป 2.10) แต่ที่ค่า pH ต่ำๆ (ใกล้กับ isoelectric point จุดใหม่) ผลิตภัณฑ์เนื้อหมักจะมีความสามารถในการอุ้ม น้ำลดลง ซึ่งเป็นไปทำนองเดียวกับในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยวที่ความสามารถในการอุ้มน้ำของ เนื้อลดลงเมื่อผลิตภัณฑ์มีค่า pH ต่ำกว่า 4.6 แสดงว่าที่ค่า pH ระดับนี้เป็นระดับที่ต่ำกว่าค่า isoelectric point ของ myofibrillar proteins ในผลิตภัณฑ์ขณะนั้นแล้ว



- A : ปริมาณกลุ่มขั้วบวกมากกว่ากลุ่มขั้วลบ
- B : ปริมาณกลุ่มขั้วบวกเท่ากับกลุ่มขั้วลบ
- C : ปริมาณกลุ่มขั้วลบมากกว่ากลุ่มขั้วบวก

รูป 2.9 ผลของค่า pH ต่อความสามารถในการอุ้มน้ำในเนื้อสด



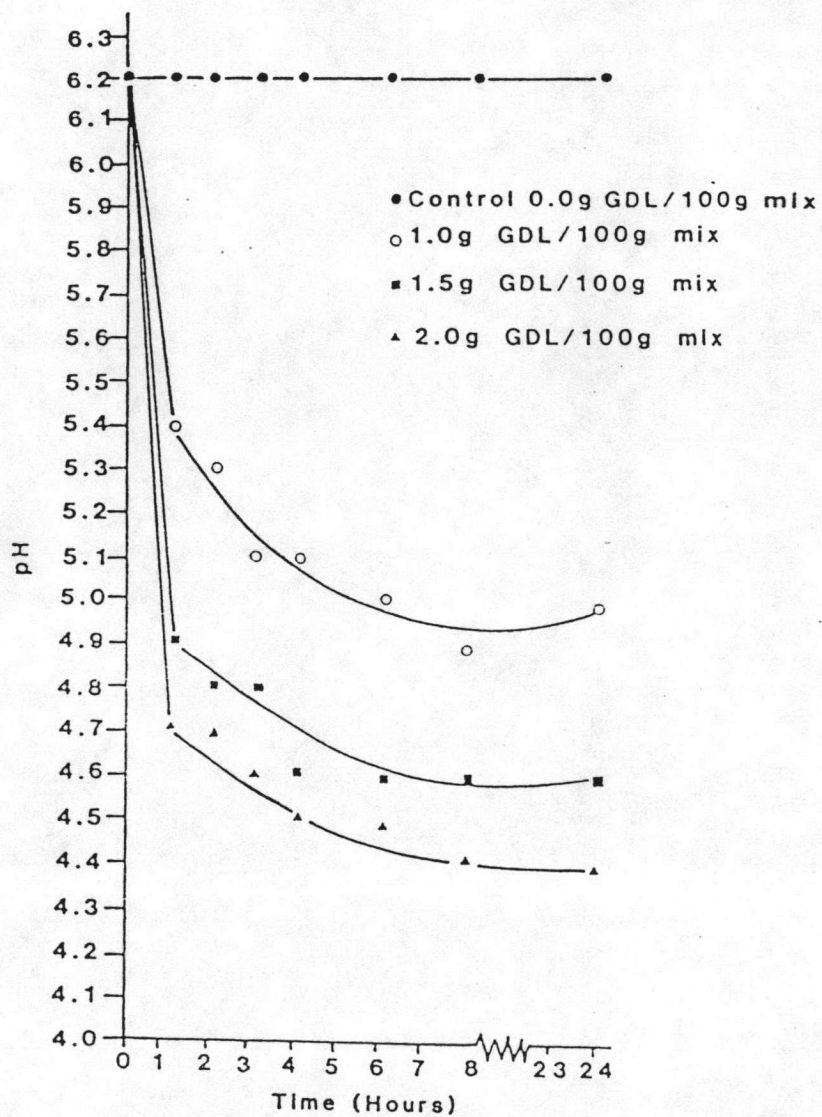
- A : ปริมาณกลุ่มขั้วบวกเท่ากับกลุ่มขั้วลบ
- B : ปริมาณกลุ่มขั้วลบมากกว่ากลุ่มขั้วบวก
- C : ปริมาณกลุ่มขั้วลบมากกว่ากลุ่มขั้วบวกยิ่งขึ้น

รูป 2.10 การกระจายของกลุ่มขั้วเมื่อมีเกลือ (NaCl) ในระบบซึ่งมีผลต่อความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อที่ค่า pH ต่างๆ

สำหรับการใช้ GDL นั้นเนื่องจากจะค่อยๆ แยกตัวให้ กรดกลูโคโนค ดังนั้นจึงมีผู้ศึกษา ความสัมพันธ์ระหว่าง pH ที่ลดลง กับเวลาที่เปลี่ยนไป ซึ่งพบว่าความสัมพันธ์ดังกล่าวไม่เป็น เส้นตรงเช่นกัน ดังกราฟรูป 2.11 โดยในช่วง 3 ชั่วโมงแรก จะมีการลดลงของ pH รวดเร็ว มาก และจะค่อยๆ ลดทีละน้อยจนถึง 24 ชั่วโมง ซึ่ง pH สามารถลดลงถึง 4.4 ได้ สาเหตุที่ อัตราการลดลงของ pH ช้าลงเมื่อเวลาผ่านไป เพราะในระบบของเนื้อหมักจะมีสารที่ทำหน้าที่ เป็นบัฟเฟอร์ ได้แก่ โปรตีน สารประกอบฟอสเฟต carnosine anserine และกรดแลคติก (ที่ pH ต่ำๆ) ที่ต้านไม่ให้มีการลดลงของ pH เร็วเกินไป ซึ่งในการทดลองนี้พบว่าค่า pH ต่ำ ที่สุดของการใช้สารเคมีที่ให้ความเป็นกรดคือ 4.4 (Bate - Smith, 1948) การใช้ GDL มีข้อดีมากกว่ากรดแลคติกในแง่ของปริมาณน้ำในผลิตภัณฑ์ที่น้อยกว่า เพราะลักษณะการใช้จะอยู่ใน รูปผงละเอียด แต่ถ้าต้องการลด pH ให้ต่ำกว่า 4.4 ไม่ควรใช้วิธีการเพิ่มความเข้มข้น ของ GDL เพราะจากการทดลองพบว่าจะให้กลิ่นรสรุนแรง (harsh flavour) ในผลิตภัณฑ์ อย่างไรก็ตาม การใช้ GDL จะให้ลักษณะเนื้อสัมผัสที่ดีกว่า และลดการแตกของไส้กรอกเปรี้ยว ได้เมื่อมีการให้ความร้อน

2.6.3 ผลของการใช้สารเคมีที่ให้ความเป็นกรดร่วมกับหัวเชื้อบริสุทธิ์ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก

Daly และคณะ (1973) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการควบคุมเชื้อ Staphylococcus aureus ในไส้กรอกโดยการใช้หัวเชื้อบริสุทธิ์และสารเคมีที่ให้ความเป็นกรด ในการทดลองจะมี 4 สิ่งทดลอง ซึ่งสารเคมีที่ให้ความเป็นกรดคือ GDL และใช้กรดซิตริกร้อยละ 0.1 โดยจะใช้ ร่วมกับเชื้อจุลินทรีย์ L.plantarum, P.cerevisiae และเชื้อผสมทั้ง 2 ชนิดร่วมกัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุม ปริมาณ GDL ที่ใช้คือร้อยละ 0.75 (Federal Register, 1970 กำหนดให้ใช้ GDL ได้ในปริมาณร้อยละ 0.5-1.0 และกรดซิตริกได้ไม่เกินร้อยละ 0.02 ใน ผลิตภัณฑ์ในลักษณะของสารเคมีกันหืน) จากนั้นใส่ S.aureus ลงไปในปริมาณที่เท่ากัน บ่มไว้ที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ตรวจผลทุก 0, 4, 10, 25 และ 50 ชั่วโมง สาเหตุที่ใช้ GDL เป็นเพราะเมื่อสารนี้ละลายน้ำจะให้กรดกลูโคโนค ซึ่งทำให้เกิดการลดลงของ pH ส่วนกรดซิตริก มีประโยชน์ในด้านการยับยั้งสมบัติบางประการของ S.aureus โดยอาจเข้าไปจับกับไอออนของ โลหะบางชนิดที่จำเป็นสำหรับการเจริญของเชื้อ และรวมไปถึงปฏิกิริยาอื่นๆ ด้วย จากผลการ ทดลอง พบว่าการใช้เฉพาะสารเคมีที่ให้ความเป็นกรด จะค่อยๆ มีการลดจำนวนของ S.aureus ลงในช่วงต้นของการหมัก แต่หลังจากนั้น (ประมาณชั่วโมงที่ 25-50) จะมีการเพิ่มจำนวนของ S.aureus มาก จนมีปริมาณพอๆกับชุดควบคุม ส่วนชุดที่ใช้ร่วมกันระหว่างสารเคมีที่ให้ความเป็น



รูป 2.11 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยวที่ใช้ GDL ระดับต่างๆ
 ที่ 30-32 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75

กรดกับหัวเชื้อบริสุทธิ์ จะพบว่ามี การป้องกัน การเจริญของ S.aureus ในช่วงเริ่มต้นการหมัก โดยมีการลดลงของ pH ซึ่งเป็นผลมาจากการทำงานของหัวเชื้อบริสุทธิ์ หลังจากนั้น pH ยังคงลดลงอีก โดยการทำงานของสารเคมี ที่ให้ความเป็นกรด ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของ S.aureus ได้ในเวลา 25 และ 50 ชั่วโมง

จากข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้พบว่า การใช้สารเคมี ที่ให้ความเป็นกรดร่วมกับหัวเชื้อบริสุทธิ์ จะให้ผลดีแก่เนื้อหมัก อย่างน้อยก็ทำให้ได้มาตรฐานความปลอดภัยของอาหารทางหนึ่ง สำหรับในการทดลองนี้ ได้ใช้ความเข้มข้นของสารเคมี ที่ให้ความเป็นกรด เพียงความเข้มข้นเดียวเท่านั้น และได้ใช้ปริมาณกรดซิตริกมากกว่าที่กฎหมายกำหนด จึงควรศึกษาต่อไปในด้านการลดปริมาณสารนี้ลงว่าจะมีผลกระทบต่อกลิ่นรส และลักษณะเนื้อสัมผัส ตลอดจนความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์หรือไม่

นอกจากนี้ จากการศึกษาของ Brankova และคณะ (1985) ในการศึกษาหาวิธีที่เหมาะสมในการปรับปรุง กลิ่นรส และสีของไส้กรอกหมักประเภท fast-ripening โดยใช้หัวเชื้อบริสุทธิ์ และ GDL ในระดับต่างๆพบว่า GDL ทำให้ lactobacilli และ micrococci เจริญได้ช้าลง ซึ่งเป็นเหตุผลหนึ่งที่ทำให้เกิดความแตกต่างด้านกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ ส่วนในการทดลองที่ใช้ GDL ร้อยละ 0.5 เพียงอย่างเดียว ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีรสเปรี้ยว กลิ่นไม่ดี แต่สีและลักษณะเนื้อสัมผัสดี เปรียบเทียบกับการใช้หัวเชื้อบริสุทธิ์เพียงอย่างเดียวซึ่งจะให้กลิ่นรสที่ดี แต่สีของผลิตภัณฑ์ซีดเกินไป ดังนั้นสรุปได้ว่า ควรใช้หัวเชื้อบริสุทธิ์ร่วมกับสารเคมี ที่ให้ความเป็นกรดในระดับความเข้มข้นต่างๆ เพื่อให้เกิดลักษณะที่ดีของผลิตภัณฑ์และได้รับการยอมรับจากผู้บริโภค

จากผลงานวิจัยที่กล่าวมาทำให้สรุปได้ว่า การใช้สารเคมี ที่ให้ความเป็นกรดร่วมกับหัวเชื้อบริสุทธิ์ผสมจะให้สมบัติที่ดีแก่ผลิตภัณฑ์เนื้อหมักดังนี้

- สามารถควบคุมกระบวนการผลิตและคุณภาพสุดท้ายของผลิตภัณฑ์เนื้อหมักได้
- สามารถยับยั้งและควบคุมปริมาณจุลินทรีย์ที่เป็นอันตรายต่อร่างกาย ซึ่งส่งผลให้เกิดความปลอดภัยกับผู้บริโภค
- สามารถประเมินอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ได้ ซึ่งเป็นผลดีในด้านการตลาด