



รายงานฉบับสมบูรณ์

โครงการ “การพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่เป็นเอกลักษณ์ของเนื้อโคไทย”

โดย

รศ.ดร.จุฑารัตน์ เศรษฐกุล และคณะ

ศูนย์เครือข่ายการวิจัยเทคโนโลยีเนื้อสัตว์

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

กุมภาพันธ์ 2555

รายงานฉบับสมบูรณ์

โครงการ “การพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่เป็นเอกลักษณ์ของเนื้อโคไทย”

คณะผู้วิจัย

รศ.ดร. จุฑารัตน์ เศรษฐกุล

ดร. รุจรีน ลิ้มสุภวานิช

ผศ.ดร. कमแข พิลาสมบัติ

รศ.ดร. อติสร เสวตวิวัฒน์

ศูนย์เครือข่ายการวิจัยเทคโนโลยีเนื้อสัตว์

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

Abstract

Research on development of unique natural beef products delimited firstly to the development of fermented beef products, using known sources of raw native Thai beef materials produced under natural production system. The major emphasis was to use bacteriocin-producing and potentially probiotic lactic acid bacteria, discovered by researchers of the Meat Technology Research Network Center (MTRNC), as starter culture. The second research delimitation was to study branding potential of beef products, produced mainly from rough cuts and value-added primal cuts. Total study period was 3 years. The first year of the study focused on the development of meat fermentation laboratory and knowledge and technical transfer on Western style fermented meat (salami) production. The second and third years of study focused on performing research on the development of unique natural native Thai beef products, which consisted of 3 major parts of study as follows.

Part 1: the development of natural beef products with potential for promoting as branded products, which consisted of 2 groups of products. Firstly, western style beef products included emulsion type meat products, beef ham, beef bacon, and beef jerky. Secondly, Thai native meat products included mirror beef product, beef dad-deaw, nham, and sour sausages.

Part 2: The development of fermented native Thai meat products (probiotic beef nham) consisted of 3 research projects as follows.

2.1 Effects of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* P 2 and Sb 2 on microbiological property and quality of beef nham: The objective was to study the potential of using *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* P 2 and Sb 2 as starter culture for producing beef nham (utilizing beef tendon instead of the traditional ingredient, pork rind). The goal was to produce safer fermented beef products and to obtain unique fermented Thai beef products.

The results of this research showed that comparing to treatment without starter culture, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* P 2 and Sb 2 were the best in inhibiting yeast and mold and coliforms. In addition, no growth of *Escherichia coli* (*E. coli*), *Salmonella* spp., and *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) was observed in all treatments. For nham quality, the use of starter cultures affected total acidity, pH values, and instrumental color (CIE L*, a*, and b*). Nham with *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 resulted in the highest total acidity and lowest pH values. Comparing to control, the use of both *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 and Sb 2 resulted in redder products. Therefore, both *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 and Sb 2 could be used as a starter culture, with probiotic potential property, for producing safer beef nham with more palatable color.

2.2 Microbiological property and quality of beef nham produced either with *Pediococcus pentasaceus* TISTR 536 (*P. pentasaceus* TISTR 536) or *Lactobacillus salivarius* D 4 (*Lb. salivarius* D4): The objective was to study the potential of using *P. pentasaceus* TISTR 536 and *Lb. salivarius* D 4 as a starter culture for producing beef nham (utilizing beef tendon instead of the traditional ingredient, pork rind). The goal was to produce safer fermented beef products and to obtain unique fermented Thai beef products.

The results of this research showed that comparing to control, each treatment with starter culture, including commercial starter culture (*Pacovis* RCI – 47, Germany), *P. pentasaceus* TISTR 536, and *Lb. salivarius* D 4, respectively, had more lactic acid bacterial numbers. This property is preferable as lactic acid bacteria produce substances which can inhibit spoilage and pathogenic microorganisms. Treatment added with *P. pentasaceus* TISTR 536 resulted in the lowest number of yeast and mold. After 3 days of fermentation, the number of coliforms was reduced in all treatments produced with starter cultures. In addition, no growth of *E. coli*, *Salmonella* spp., and *S. aureus* was observed in all treatments. For quality of beef nham, the starter culture added treatments had lower pH values and higher amount of total acid compared to control. The *Lb. salivarius* D 4 treatment had the lowest pH value with highest amount of total acid. In addition, treatment with *Pacovis* RCI – 47 resulted in the highest L* value (lightest color) with the most decreased a* value (the least red), resulting in less palatable product. Therefore, there is a potential in using *P. pentasaceus* TISTR 536 and *Lb. salivarius* D 4 as a starter culture for beef nham production.

2.3 The study on quality, refrigerated shelf-life, and consumer acceptance of fermented native Thai meat product (beef nham without tendon and chilli peppers added). The objective was to study the potential of using the 4 bacteriocins producing with probiotic potential lactic acid bacteria, which were discovered by researchers of MTRNC, as a starter culture in beef nham production. The study investigated chemical, physical, and microbiological quality, as well as consumer acceptance, as preliminary information for choosing starter culture for further in-depth research on beef nham quality. For this study, due to much variation occurred during instrumental texture profile analysis and sensory evaluation in previous studies (2.1 and 2.2), beef tendon and chilli peppers were not added in beef nham.

Results showed that after 3 days of fermentation, nham produced without starter culture had no difference in total acidity and pH value, compared to the starter culture added treatments. Except for treatment with *P. pentosaceus* TISTR 536 which had higher pH value than the other treatments did after 3 days of fermentation at 30°C and after 4 days of storage at 4°C. All treatments had high moisture content with water activity (*A_w*) of 0.97 during fermentation and storage. This might be due to the production of

beef nham using plastic casing resulted in less water evaporation from the product. After 3 days of fermentation, all treatments had no difference in the number of lactic acid bacteria. In addition, no growth of *E. coli*, *Salmonella* spp., and *S. aureus* was observed in all treatments. In overall, the number of coliforms decreased after 3 days of fermentation. Treatments with *Pacovis* RCI – 47 and *Lc. lactis* spp. *lactis* Sb 2 tended to have lower number of coliforms when compared to the control treatment. Furthermore, the number of yeast and mold of all treatments decreased after 3 days of fermentation. However, the level of yeast and mold in all treatments was higher than 2 log cfu/g, the recommended level by the Thai community standard 470/2548 for beef nham. Results indicated that *Lc. lactis* spp. *lactis* Sb 2 had the lowest ($P<0.05$) yeast and mold number compared to other treatments, but did not ($P>0.05$) different from that of *P. pentosaceus* TISTR 536.

For color quality, nham with *Pacovis* RCI – 47 treatment tended to be paler (lighter, more yellow, and less red) compared to other treatments ($P<0.05$). After 3 days of fermentation, the outer surface color measured through the package of treatments with *lactis* spp. *lactis* P 2 and Sb 2 was redder ($P<0.05$) than that of the control treatment. However, after 4 days of refrigerated storage, treatments with *lactis* spp. *lactis* P 2 and Sb 2, as well as *P. pentosaceus* TISTR 536, had redder ($P<0.05$) outer surface color compared to control.

For instrumental hardness measurement, after 3 days of fermentation, the control treatment was harder ($P<0.05$) than those with starter cultures. But no difference ($P>0.05$) in hardness values was observed among treatments with starter cultures. After 4 days of refrigerated storage, the control treatment continued to have the highest ($P<0.05$) hardness value compared to treatments with starter cultures added. However, the *P. pentosaceus* TISTR 536 treatment had lower ($P<0.05$) hardness value compared to *lactis* spp. *lactis* P 2 and Sb 2, respectively.

Results on consumer acceptance on color of beef nham were in agreement with instrumental measurement. Consumers scored their likeness on color of beef nham treated with *Pacovis* RCI – 47 and *Lb. salivarius* D 4 lower than other treatments ($P<0.05$). Color likeness scores of nham treated with *Lc. lactis* spp. *lactis* P 2, *P. pentosaceus* TISTR 536, and *Lc. lactis* spp. *lactis* Sb 2 were not different ($P>0.05$) from that of control. However, consumer likeness score on tangy or sour taste of treatment with *P. pentosaceus* TISTR 536 was lower ($P<0.05$) than those of control, *Lc. lactis* spp. *lactis* P 2, and Sb 2, respectively. In overall, likeness scores on tangy taste, nham aroma, nham flavor, and overall characteristics of treatments with *Lc. lactis* spp. *lactis* P 2 and Sb 2 did not differ ($P>0.05$) from those of control. But treatment with *Lc. lactis* spp. *lactis* Sb 2 tended to inhibit yeast and mold better than ($P<0.05$) the control and *Lc. lactis* spp. *lactis* P 2 treatments. Therefore, *Lc. lactis* spp. *lactis* Sb 2 could be

bacteriocin producing and potential probiotic starter culture for beef nham production. However, due to slower pH reduction in beef nham, fermentation time should be extended longer than 3 days. Furthermore, the addition of glucono-delta-lactone may help accelerate pH reduction to a safer level for raw consumption.

Part 3: The development of semi-dried fermented western style meat products, which normally were added with imported commercial starter culture. The research consisted of 2 study projects as follows.

3.1 Semi-dried fermented western style meat product produced from native Thai beef. This project consisted of 2 parts as follows.

3.1.1 Preliminary study on the development of Thai native semi-dried fermented western style beef products (Beef Snack Sticks or Slim Jims). The objectives were to 1) develop the recipe of Thai native dried or semi-dried fermented western style beef products (Beef Snack Sticks or Slim Jims); 2) develop the fermentation and ripening (drying) time for production of Thai native dried or semi-dried fermented western beef products; and 3) obtain the preliminary information on chemical and microbiological quality of the developed product.

The preliminary study was done by production of 3 slim jims recipes; 1) American recipe, 2) spicy recipe, and 3) recipe adjusted from mum, the Thai northeastern fermented meat product. Collagen casing with diameter of 19 mm. were used. Each slim jims sausage was linked into 6-inch long and fermented and dried in a temperature and relative humidity controlled chamber. The production steps included fermentation, heating, and ripening (or drying). The drying step was conducted at lower temperature and relative humidity.

From preliminary quality examination, the western and mum recipe slim jims had basic property of dried or semi-dried sausages. However, increasing fermentation time longer than 17 hours could help reducing pH value and moisture content of the products. For the spicy recipe, problem with case-hardening was found. This might be due to the difference in rate of moisture migration from the center of the sausage and that from sausage surface to the environment, which could also be influenced by a shorter fermentation period.

The heating step, by increasing the chamber temperature to 70°C for 2 hours after fermentation period, could increase product safety by reducing some pathogenic microorganisms. The use of heating in fermented meat product production is practiced in the US fermented meat production. However, heating to 70°C might destroy probiotic lactic acid bacteria. If probiotic lactic acid bacteria can tolerate 70°C, the products added with these starter cultures and produced with heating step will be much

safer. In the next study, heating temperature might be reduced to 50°C, a temperature at which was previously indicated that *P. pentosaceus* TISTR 536 could survive and was able to produce bacteriocins.

3.1.2 Development of semi western style semi-dried fermented native Thai beef product: Semi-dried Mum Snack Stick. The objectives of this research were to 1) develop semi western style semi-dried fermented native Thai beef product (Semi-dried Mum Snack Stick), produce a safer product by using western style fermented sausage production technology, and perform preliminary study on its quality examination; 2) study the effects of using bacteriocin producing and potential probiotic lactic acid bacteria as starter culture compared to the use of imported commercial starter culture (Pacovis RCI-47) and to that produced without starter culture on basic quality of the product; and 3) to study consumer acceptance of the product.

Preliminary study from 3.1.1 resulted in the use of mum recipe for this present study. In addition, heating temperature was reduced to 60°C, a maximum temperature at which a starter culture might be able to survive. Results indicated that mum snack sticks produced by using western style production technology could be considered as dried or semi-dried beef product. This assumption was based on its pH value of less than 5.3, Aw of 0.82-0.83 which was lower than 0.91, and a moisture content of 35%. After production, mum sticks had more than 50% moisture lost. These properties, therefore, could be considered as shelf-stable meat product when it was kept in a proper packaging system. However, more study on other quality characteristics, shelf-life, and consumer acceptance, using larger numbers of consumers, should be performed. Production of mum sticks using starter cultures together with 2-hour heating process at 60°C were able to increase product safety by controlling coliforms and yeasts. Under the study condition, *P. pentosaceus* TISTR 536 grew better than *L. lactis spp. lactis* P 2. However, the effects of starter culture with heating process on pathogen control should be confirmed by microbial challenge study. Microbiology and chemical quality of treatment added with *P. pentosaceus* TISTR 536 were not different from those using commercial starter culture (Pacovis RCI-47). But mum sticks produced with Pacovis RCI-47 were redder than those produced using starter cultures discovered by the MTRN researchers. However, darker red color of mum sticks is a common color found in the traditional Thai mum product. In addition, further study on their probiotic property, starter culture survival during the production process, and product shelf-life, as well as its health benefit are needed.

3.2 Development of semi-dried fermented meat product (salami with green tea added): the objectives were to 1) study the effects of green tea extract on microbiology and quality of salami. 2) study the effects of green tea extract on extending shelf-life of fresh meat and salami. 3) study the optimum fermentation and ripening periods for beef salami production.

Effects of green tea extract at concentration of 0, 10, 20 g/kg on salami oxidation were observed on 0, 7, 14, 21, 28, 35 and 42 days of production time. Results indicated that green tea extract inherits anti-oxidative activity. The 2-Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) values of green tea extract added treatments were consistent (0.273 mg malonaldehyde (MDA)/kg salami) during production time, while that of control treatment was at 0.782 MDA/kg. For microbiological quality, lactic acid bacteria, the beneficial bacteria, were higher in treatments with green tea extract than the control treatment. Coliforms were lower in treatments with green tea extract added than in the control treatment. Yeasts and molds on casing surface were lower in green tea extract added treatments. No difference on pH values was found between treatments. But the control treatment had A_w (0.898) and moisture content (36.38%) higher ($P<0.0001$) than those in the green tea extract added treatments. However, no difference in A_w and moisture content was found between the green tea extract added treatments.

From this study, it can be concluded that the optimum production time for beef salami was 28 days, considering from products A_w of less than 0.91, moisture content of less than 35%, and pH value of less than 5.2. At 28 days of production, treatments with 0, 10, and 20 g green tea extract/kg had A_w of 0.870, 0.884, and 0.887, moisture content of 29.69, 31.21, and 31.15%, and pH values of 4.56, 4.51, and 4.52, respectively.

Considering the appearance of salami, treatment with 20 g green tea extract/kg was less red compared to other treatments. Since red color is preferred by consumers. The addition of green tea extract at 10 g/kg would be sufficient for increasing product safety of salami produced with natural native Thai beef as main raw material. In addition, production of beef salami with good color quality added with this level (10 g/kg) of green tea extract could be done in the same production time.

บทคัดย่อ

การพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่เป็นเอกลักษณ์จากเนื้อโคธรรมชาติ มีขอบเขตการวิจัยมุ่งเน้นการพัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อโคไทย ที่ใช้วัตถุดิบจากเนื้อโคพื้นเมืองที่ทราบแหล่งที่มาและอยู่ภายใต้ระบบการผลิตเนื้อโคธรรมชาติ (natural beef) โดยเน้นการพัฒนาผลิตภัณฑ์ภายใต้ระบบการหมักเปรี้ยว (fermentation) ด้วยการนำเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่สามารถผลิต bacteriocins และมีคุณสมบัติเบื้องต้นเป็น probiotic ที่ค้นพบโดยนักวิจัยในโครงการมาใช้ในการผลิต และศึกษาผลิตภัณฑ์ที่มีความเป็นไปได้ในการสร้างตราสินค้า โดยเน้นการใช้ประโยชน์จากเนื้อชิ้นส่วนรองที่ได้จากการตัดแต่ง และสร้างมูลค่าเพิ่มจากการใช้ประโยชน์จากเนื้อชิ้นส่วนหลัก ระยะเวลาดำเนินการทั้งหมด 3 ปี โดยในปีที่ 1 เป็นการปรับปรุงห้องปฏิบัติการแปรรูปเนื้อหมักและรับการถ่ายทอดเทคโนโลยีการทำผลิตภัณฑ์เนื้อหมักแบบตะวันตก (ชาลามิ) ในปีที่ 2 และ 3 เป็นการพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่เป็นเอกลักษณ์จากเนื้อโคธรรมชาติ โดยมีการดำเนินการศึกษาวิจัยแบ่งออกเป็น 3 ตอน คือ

ตอนที่ 1 พัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อโคธรรมชาติที่มีความเป็นไปได้ในการสร้างตราสินค้า ซึ่งได้แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ ก) กลุ่มผลิตภัณฑ์ตะวันตก ได้แก่ ผลิตภัณฑ์เนื้ออิมัลชัน แฮมเนื้อ เบคอนเนื้อ และเนื้อเจอร์กี ข) ผลิตภัณฑ์พื้นบ้าน ได้แก่ เนื้อกระเจก เนื้อแดดเดียว แหนม และไส้กรอกเปรี้ยว

ตอนที่ 2 การพัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวแบบพื้นบ้าน (แหนมเนื้อโคโปรไบโอติก) ซึ่งมีการศึกษาแบ่งเป็น 3 โครงการ ได้แก่

2.1 ผลของการใช้เชื้อ *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 ต่อคุณสมบัติทางจุลินทรีย์และคุณภาพของแหนมเนื้อโค มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการนำเชื้อ *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 มาเป็นก้ำเชื้อในผลิตภัณฑ์แหนมเนื้อโคที่ใช้เอ็นโคแทนหนังหมู เพื่อให้ได้แนวทางการผลิตเนื้อหมักจากเนื้อโคที่มีความปลอดภัยทางด้านอาหาร และได้ผลิตภัณฑ์เนื้อหมักจากโคพื้นเมืองไทยที่มีความเป็นเอกลักษณ์

ผลการศึกษาพบว่า การใช้ก้ำเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ Yeast/Mold และ Coliforms ตามลำดับ ได้ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และตรวจไม่พบเชื้อ *Escherichia coli* (*E. coli*), *Salmonella* spp. และ *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ในแหนมทุกกลุ่มทดลอง ในด้านคุณภาพ พบว่าการใช้ก้ำเชื้อสายพันธุ์ต่างๆ มีผลต่อปริมาณกรดทั้งหมด ค่า pH และค่าสี (CIE L* a* และ b*) โดยการใช้ก้ำเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 มีปริมาณกรดทั้งหมดสูงสุดและมีค่า pH ต่ำสุด และยังพบว่าการใช้ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 มีผลให้แหนมเนื้อโคสีแดงเพิ่มมากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่า *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 เป็นก้ำเชื้อที่มีคุณสมบัติเบื้องต้นเป็น โปรไบโอติกที่สามารถนำมาเป็นก้ำเชื้อในการผลิตแหนมเนื้อโคได้ สามารถเพิ่มความปลอดภัยต่อผู้บริโภคและผลิตภัณฑ์ที่ได้มีสีที่น่ารับประทานมากขึ้น

2.2 คุณสมบัติทางด้านจุลินทรีย์และคุณภาพของผลิตภัณฑ์แฮมเนื้อโคเมื่อใช้ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 และ *Lactobacillus salivarius* D 4 เป็นก๊าล้าเชื้อ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษานำเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 และ *Lb. salivarius* D 4 มาใช้เป็นก๊าล้าเชื้อในผลิตภัณฑ์แฮมเนื้อโคที่ใช้เอ็นโคแทนหนังหมู เพื่อให้ได้แนวทางการผลิตเนื้อหมักเปรี้ยวจากเนื้อโคที่มีความปลอดภัยทางด้านอาหาร และได้ผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวจากโคพื้นเมืองไทยที่มีความเป็นเอกลักษณ์

ผลการศึกษาพบว่า กลุ่มที่เติมก๊าล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 3 กลุ่มทดลอง มีจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกมากกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งเป็นผลดีต่อการผลิตแฮม เพราะแบคทีเรียกรดแลคติกสามารถสร้างสารที่ยับยั้งเชื้อก่อโรคและทำให้อาหารเน่าเสียบางกลุ่มได้ ขณะเดียวกัน การใช้ก๊าล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 สามารถลดจำนวน Yeast/Mold ลงเหลือจำนวนน้อยที่สุด และพบว่าภายหลังระยะเวลาการหมัก 3 วัน แฮมจากทุกกลุ่มทดลองที่เติมก๊าล้าเชื้อ มีจำนวน Coliforms ลดลง นอกจากนั้นยังตรวจไม่พบเชื้อ *Salmonella* spp., *S. aureus* และ *E. coli* ในทุกกลุ่มทดลอง ทางด้านคุณภาพ พบว่า กลุ่มที่เติมก๊าล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกมีค่า pH ต่ำและมีปริมาณกรดทั้งหมดสูงกว่ากลุ่มควบคุม โดยกลุ่มที่เติม *Lb. salivarius* D 4 มีค่า pH ต่ำสุดและปริมาณกรดทั้งหมดสูงสุด นอกจากนี้ยังพบว่า การเติมก๊าล้าเชื้อ *Pacovis* RCI - 47 ทำให้สีที่ผิวด้านนอกของแฮมมีค่าความสว่างมากที่สุด และค่าสีแดงลดลงมากกว่าทุกกลุ่มทดลอง ซึ่งอาจทำให้ผลิตภัณฑ์มีความน่ารับประทานลดลงเนื่องจากมีสีที่ซีดกว่าทุกกลุ่มทดลอง ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ในการนำเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 และ *Lb. salivarius* D 4 มาใช้เป็นก๊าล้าเชื้อในผลิตภัณฑ์แฮมเนื้อโค

2.3 ศึกษาผลของการใช้ก๊าล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกต่อคุณภาพ การเก็บรักษา และการยอมรับของผู้บริโภคในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักแบบพื้นบ้าน (แฮมเนื้อโคไม่เค็มเอ็นโคและพริก) มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการนำก๊าล้าเชื้อแลคติกบริสุทธิ์เริ่มต้นที่สามารถสร้างสาร bacteriocins และมีคุณสมบัติเบื้องต้นเป็น probiotic ทั้ง 4 ชนิดที่ค้นพบโดยนักวิจัยของศูนย์เครือข่ายฯ มาใช้ในการผลิตแฮมเนื้อโคเพื่อศึกษาคุณภาพ (เคมี กายภาพ และจุลินทรีย์) และความชอบของผู้บริโภค และให้ได้ข้อมูลเบื้องต้นเพื่อใช้ในการพิจารณาเลือกก๊าล้าเชื้อแลคติกสำหรับศึกษาคุณภาพของแฮมเนื้อโคในเชิงลึกต่อไป ทั้งนี้จากปัญหาคความแปรปรวนสูงในการตรวจวัดลักษณะเนื้อสัมผัส และคุณภาพทางประสาทสัมผัสในโครงการก่อนหน้านี้ (2.1 และ 2.2) จึงใช้แฮมเนื้อโคที่ไม่เค็มเอ็นโคและพริกในการศึกษาส่วนนี้

ผลการศึกษาพบว่า ภายหลังการหมัก 3 วัน แฮมที่ผลิตโดยไม่เติมก๊าล้าเชื้อ มีปริมาณกรดแลคติกและค่า pH ไม่แตกต่างจากแฮมที่ใช้ก๊าล้าเชื้อชนิดอื่นๆ ยกเว้นแฮมที่ใช้ก๊าล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 ที่มีค่า pH สูงกว่าแฮมทุกกลุ่มทั้งหลังจากการหมัก 3 วัน ที่ 30 องศาเซลเซียสและภายหลังเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียสอีก 4 วัน พบว่าทุกกลุ่มทดลองมีความชื้นสูง โดยมีค่า A_w ที่ 0.97 ตลอดการหมักและเก็บรักษา เป็นเพราะลักษณะการผลิตที่บรรจุในไส้พลาสติก ภายหลังการหมัก 3 วันของการหมัก ทุกกลุ่มทดลองมีจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกไม่แตกต่างกัน และตรวจสอบไม่พบการเจริญของเชื้อ *E. coli*, *S. aureus* และ *Salmonella* ในแฮมทั้งที่ผลิตโดยไม่เติมก๊าล้าเชื้อและที่ใช้ก๊าล้าเชื้อ โดยรวมแฮมจะมีปริมาณ Coliforms

ลดลงภายหลังการหมัก โดยเหนมที่ใช้กล้าเชื้อทางการค้า (*Pacovis* RCI – 47) และกล้าเชื้อ *Lc. lactis* spp. *lactis* Sb 2 มีแนวโน้มให้ปริมาณ Coliforms ที่ต่ำกว่าการหมักตามธรรมชาติ ขณะที่ทุกกลุ่มทดลองมี Yeast and mold ลดลงจากในวันที่ผลิต แต่ยังคงมีปริมาณที่มากกว่ากำหนดของ มผช. 470/ 2548 คือ 2 log CFU/g โดยพบว่าเหนมที่เดิม *Lc. lactis* spp. *lactis* Sb 2 มีปริมาณ Yeast and mold ต่ำกว่าเหนมกลุ่มอื่นๆ ($P<0.05$) แต่ไม่แตกต่างทางสถิติจากเหนมที่ใช้กล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536

สำหรับคุณภาพด้านสี พบว่าเหนมที่ใช้กล้าเชื้อต่างประเทศมีแนวโน้มให้สีที่ผิวนอกซีด (สว่างและเหลืองมากกว่า แดงน้อยกว่า) กว่ากลุ่มทดลองอื่นๆ ($P<0.05$) ขณะที่หลังการหมัก 3 วัน เหนมที่ใช้ *Lc. lactis* spp. *lactis* P 2 และ Sb 2 มีสีที่ผิวนอกแดงกว่าเหนมที่หมักตามธรรมชาติ ($P<0.05$) แต่ภายหลังเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 วัน ทั้งกลุ่มที่ใช้ *Lc. lactis* spp. *lactis* P 2 และ Sb 2 และที่ใช้กล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 ต่างก็มีสีที่ผิวนอกแดงกว่า ($P<0.05$) เหนมที่หมักตามธรรมชาติ

ในด้านค่าความแข็ง (Hardness) ของเนื้อสัมผัสของเหนม พบว่าหลังการหมัก 3 วัน เหนมที่ไม่เติมกล้าเชื้อมีค่า Hardness มากกว่าทุกกลุ่มทดลอง ($P<0.05$) ขณะที่กลุ่มที่ใช้กล้าเชื้อทุกกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันในค่า Hardness ($P>0.05$) แต่เมื่อเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 วัน พบว่าเหนมที่หมักตามธรรมชาติ ยังคงมีค่า Hardness มากกว่าทุกกลุ่มทดลอง ($P<0.05$) ขณะที่เหนมที่เดิม *P. pentosaceus* TISTR 536 มีค่า Hardness ต่ำกว่าเหนมที่ใช้กล้าเชื้อ *Lc. lactis* spp. *lactis* P 2 และ Sb 2 ($P<0.05$)

การศึกษาความชอบของผู้บริโภคให้ผลในด้านสีค่อนข้างสอดคล้องกับการวัดด้วยเครื่องมือ คือ ผู้บริโภคให้คะแนนความชอบด้านสีของเหนมจากกลุ่มที่ใช้กล้าเชื้อทางการค้า และกล้าเชื้อ *Lb. salivarius* D 4 น้อยกว่ากลุ่มอื่นๆ ($P<0.05$) ขณะที่คะแนนความชอบด้านสีของเหนมที่ใช้กล้าเชื้อ *Lc. lactis* spp. *lactis* P 2, *P. pentosaceus* TISTR 536, และ *Lc. lactis* spp. *lactis* Sb 2 ไม่แตกต่างจากเหนมที่หมักตามธรรมชาติ แต่เหนมที่ใช้กล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 มีข้อจำกัดในด้านความเปรี้ยว ซึ่งได้คะแนนความชอบต่ำกว่ากลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ใช้กล้าเชื้อ *Lc. lactis* spp. *lactis* P 2 และ Sb 2 ($P<0.05$) โดยรวมเหนมที่ใช้กล้าเชื้อ *Lc. lactis* spp. *lactis* P 2 และ Sb 2 มีคะแนนความชอบด้านความเปรี้ยว กลิ่นเหนม รสชาติเหนม และลักษณะโดยรวมไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ($P>0.05$) แต่กล้าเชื้อ *Lc. lactis* spp. *lactis* Sb 2 ให้ผลดีกว่าเหนมที่หมักตามธรรมชาติ และที่ใช้กล้าเชื้อ *Lc. lactis* spp. *lactis* P 2 ในการควบคุม Yeast and mold ($P<0.05$) จึงมีความเป็นไปได้ในการนำมาเป็นกล้าเชื้อผลิตเหนมโค อย่างไรก็ตาม จากการที่ค่า pH ของเหนมเนื้อโคยังคงมีค่าสูงกว่า 4.6 ภายหลังการหมักเป็นเวลา 3 วัน ดังนั้นการยืดเวลาการหมักให้เพิ่มขึ้นอีก 1-2 วัน หรือการใช้ glucono-delta-lactone เป็นส่วนประกอบอาจช่วยให้ค่า pH ลดลงถึงระดับที่ปลอดภัยมากขึ้น

ตอนที่ 3 การพัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวกึ่งแข็งแบบกึ่งตะวันตกที่มีการเติมกล้าเชื้อนำเข้า มีการศึกษาแบ่งเป็น 2 โครงการ ได้แก่

3.1 ผลิตภัณฑ์เนื้อโคพื้นเมืองหมักกึ่งแห้งแบบกึ่งตะวันตก ซึ่งมีการดำเนินโครงการเป็น 2 ตอน คือ

3.1.1 การศึกษาเบื้องต้นเพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อโคพื้นเมืองหมักกึ่งแห้งในรูปแบบเนื้อเค็มกึ่งตะวันตก (Beef Snack Sticks หรือ Slim Jims) โดยใช้กระบวนการผลิตแบบตะวันตก มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) ศึกษาสูตรสำหรับผลิตภัณฑ์เนื้อโคหมักแบบแห้งหรือกึ่งแห้งในรูปแบบเนื้อเค็มกึ่งตะวันตก 2) ศึกษากระบวนการหมักและบ่มที่เหมาะสมสำหรับผลิตเนื้อโคหมักแบบแห้งหรือกึ่งแห้งแบบกึ่งตะวันตก และ 3) ศึกษาคุณภาพเบื้องต้นทางเคมี และจุลินทรีย์ ของผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาขึ้น

ทำการศึกษาเบื้องต้นโดยผลิต Slim jims โดยใช้สูตรแบบอเมริกัน (สูตรฝรั่ง) สูตรรสจัด และสูตรหม่าของไทย์ บรรจุในไส้ Collagen ขนาด 19 มิลลิเมตร มัดเป็นแท่งยาวประมาณ 6 นิ้ว นำเข้าหมักและบ่มในตู้บ่มที่มีการควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ กระบวนการผลิตโดยสังเขปประกอบด้วยการหมัก การให้ความร้อน และการบ่มเพื่อลดความชื้นที่อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ที่ต่ำลง

จากการตรวจสอบคุณภาพ พบว่า slim jims สูตรตะวันตกและสูตรหม่ามีคุณสมบัติเบื้องต้นที่สามารถจัดอยู่ในกลุ่มผลิตภัณฑ์ dry หรือ semi-dry sausage ได้ และการเพิ่มช่วงเวลาในการหมักให้นานกว่า 17 ชั่วโมง อาจช่วยลดค่า pH และความชื้นลงได้ดีขึ้น สำหรับสูตรรสจัด พบว่าผลิตภัณฑ์มีผิวสัมผัสค่อนข้างเหนียว (case hardening) เนื่องจากการระบายความชื้นจากภายในและที่พื้นผิวของไส้กรอกไม่สัมพันธกัน ซึ่งอาจเกี่ยวเนื่องถึงการหมักที่เกิดขึ้นไม่เต็มที่

สำหรับการใช้อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสในเวลา 2 ชั่วโมง ภายหลังการหมัก เพื่อเพิ่มความปลอดภัยในการผลิต อาจลดโอกาสการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคได้ ซึ่งการใช้ความร้อนที่ระดับต่างๆ ในการผลิตไส้กรอกหมักมีปฏิบัติกันในสหรัฐอเมริกา แต่การใช้ความร้อนสูงถึง 70 องศาเซลเซียสอาจไม่เหมาะสำหรับการผลิตไส้กรอกแบบ probiotic ซึ่งหากมีจุลินทรีย์กรดแลคติกที่มีคุณสมบัติเป็น probiotic และสามารถทนอุณหภูมิสูงได้ถึง 70 องศาเซลเซียสจะเกิดทั้งประโยชน์และความปลอดภัย อย่างไรก็ตามในการศึกษาต่อไปอาจลดอุณหภูมิในการให้ความร้อนลงไม่เกิน 50 องศาเซลเซียสซึ่งกล้าเชื้อ เช่น *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ยังสามารถเจริญและผลิต bacteriocin ได้

3.1.2 การพัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อโคพื้นเมืองหมักกึ่งแห้งแบบกึ่งตะวันตก: หม่าแท่งทานเล่นกึ่งแห้ง (Semi-dry Mum Snack Stick) มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) พัฒนาและศึกษาคุณภาพเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์จากเนื้อโคพื้นเมืองประเภทหมักแบบแห้งหรือกึ่งแห้งในรูปแบบกึ่งตะวันตก (หม่าแท่งกึ่งแห้ง) ที่ผลิตโดยประยุกต์ใช้กระบวนการผลิตไส้กรอกกึ่งแห้งแบบตะวันตก เพื่อเพิ่มความปลอดภัยให้กับผลิตภัณฑ์ 2) ศึกษาผลของการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่สร้างสาร bacteriocins และมีคุณสมบัติเบื้องต้นเป็น probiotic เปรียบเทียบกับการหมักโดยใช้กล้าเชื้อของต่างประเทศ (Pacovis RCI-47) และการหมักโดยไม่เติมกล้าเชื้อ ต่อคุณภาพเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์ และ 3) เพื่อศึกษาความชอบของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์

จากข้อมูลเบื้องต้นใน 3.1.1 จึงใช้สูตรหม่า เพื่อศึกษาในส่วนนี้ และลดอุณหภูมิในการให้ความร้อนอยู่ที่ 60 ซึ่งเป็นอุณหภูมิสูงสุดที่คิดว่ากล้าเชื้ออาจจะยังมีชีวิตอยู่ ผลการศึกษาพบว่า หม่าแท่งที่พัฒนาขึ้นโดย

ใช้วิธีผลิตแบบตะวันตกมีคุณสมบัติจัดเป็นหม่ำแห้งหรือกึ่งแห้ง เนื่องจากมีค่า pH น้อยกว่า 5.3 ค่า A_w ประมาณ 0.82-0.83 ซึ่งต่ำกว่า 0.91 ความชื้นประมาณ 35% โดยสูญเสียความชื้นไปมากกว่า 50% หลังการผลิต จึงอาจจะจัดเป็นกลุ่ม Shelf-stable meat product ได้หากเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสม อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงคุณภาพด้านอื่นๆ อายุการเก็บรักษา และการยอมรับของผู้บริโภคในจำนวนมากขึ้น สำหรับการผลิตโดยใช้กล้ำเชื้อ ร่วมกับการให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง สามารถเพิ่มความปลอดภัยโดยช่วยควบคุมปริมาณ Coliforms และยีสต์ได้ โดยพบว่า *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 อาจจะสามารถเจริญได้ดีกว่า *Lactococcus lactis* spp. *lactis* P 2 เล็กน้อยภายใต้กระบวนการผลิตที่ศึกษา อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาด้วย Microbial challenge เพื่อยืนยันผลของการใช้กล้ำเชื้อ ร่วมกับการให้ความร้อนต่อการควบคุมจุลินทรีย์ที่ก่อโรคเพื่อเพิ่มความปลอดภัยในการบริโภคต่อไป การใช้กล้ำเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ให้ผลด้านจุลินทรีย์และเคมีไม่แตกต่างจากการใช้กล้ำเชื้อทางการค้ามากนัก แต่การใช้กล้ำเชื้อทางการค้าอาจจะให้ผลิตภัณฑ์ที่มีสีแดงกว่าเล็กน้อย ซึ่งคุณภาพด้านสีเป็นข้อที่ควรปรับปรุงสำหรับการผลิตหม่ำแห้งที่ผลิตโดยใช้กล้ำเชื้อแบคทีเรียแลคติกซึ่งค้นพบโดยนักวิจัยของศูนย์เครือข่ายการวิจัยเทคโนโลยีเนื้อสัตว์ แม้ว่าสีคล้ำเข้มของผลิตภัณฑ์ที่ได้ค่อนข้างเป็นสีปกติของหม่ำโดยทั่วไป นอกจากนี้ผลในการเป็นโปรไบโอติกยังต้องมีการยืนยันด้วยการศึกษาเพิ่มเติม ทั้งในด้านการรอดชีวิตของกล้ำเชื้อในระหว่างการผลิตและเก็บรักษา และในด้านของการให้ผลดีต่อสุขภาพ

3.2 พัฒนานื้อหมักเปรี้ยวกึ่งแห้ง ซาลามีผสมชาเขียว มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากชาเขียวในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์และคุณภาพของผลิตภัณฑ์จากนื้อหมักเปรี้ยวซาลามี 2) ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากชาเขียวในการยืดการเก็บรักษาเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากนื้อหมักเปรี้ยวซาลามี และ 3) ศึกษากระบวนการหมักและบ่มที่เหมาะสมสำหรับผลิตนื้อหมักเปรี้ยวกึ่งแห้ง (ซาลามี)

จากการศึกษาโดยการเติมสารสกัดชาเขียว 0, 10 และ 20 กรัมต่อกิโลกรัม ในผลิตภัณฑ์ซาลามี ที่ระยะเวลาการบ่ม 0, 7, 14, 21, 28, 35 และ 42 วัน พบว่า การใช้สารสกัดชาเขียวเติมลงในผลิตภัณฑ์ซาลามีสามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ โดยพบว่าค่า 2-Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) มีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาในการบ่มโดยมีค่าเท่ากับ 0.273 มิลลิกรัม MDA ต่อกิโลกรัมซาลามี ในขณะที่กลุ่มที่ไม่เสริมสารสกัดชาเขียวมีค่าเท่ากับ 0.782 มิลลิกรัม MDA ต่อกิโลกรัมซาลามี สำหรับด้านจุลินทรีย์ พบว่าการเสริมสารสกัดชาเขียวมีจำนวนเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกมากกว่าในกลุ่มที่ไม่เสริมสารสกัดชาเขียว ซึ่งเป็นแบคทีเรียกลุ่มที่มีประโยชน์ ในส่วนเชื้อโคลิฟอร์ม พบว่ากลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียวจะมีจำนวนน้อยกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมสารสกัดชาเขียว และการเติมสารสกัดชาเขียวจะลดปริมาณยีสต์และราที่บริเวณผิวได้บรรจุได้ นอกจากนี้พบว่า การเสริมและไม่เสริมสารสกัดชาเขียว มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่า pH ตลอดระยะเวลาในการบ่มไม่ต่างกัน แต่พบว่ากลุ่มที่ไม่เสริมสารสกัดชาเขียวมีค่า A_w และ เฟอร์เซ็นต์

ความชื้นตลอดระยะเวลาในการบ่มเท่ากับ 0.898 และ 36.38 ตามลำดับ ต่างจากกลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว ทั้งสองกลุ่ม ($P < 0.0001$) ขณะที่กลุ่มที่เสริมสกัดชาเขียวด้วยกันมีค่า A_w และ เปอร์เซ็นต์ความชื้นไม่แตกต่างกันแต่จะมีค่าต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่เติมสารสกัดชาเขียว

ระยะเวลาในการบ่มผลิตภัณฑ์ชาลามีที่เหมาะสมคือ 28 วัน โดยพิจารณาจากข้อกำหนดคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ชาลามีควรมีค่า A_w ไม่เกิน 0.91 มีเปอร์เซ็นต์ความชื้นน้อยกว่า 35 และมีค่า pH น้อยกว่า 5.2 โดยพบว่าที่ระยะการบ่ม 28 วันในกลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0, 10 และ 20 กรัมต่อกิโลกรัม มีค่า A_w เท่ากับ 0.870, 0.884 และ 0.887 มีค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้นเท่ากับ 29.69, 31.21 และ 31.15 ตามลำดับ และมีค่า pH เท่ากับ 4.56, 4.51 และ 4.52 ตามลำดับ

5. เมื่อพิจารณาถึงคุณสมบัติที่เกี่ยวข้องกับลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์ คือ สีของผลิตภัณฑ์ชาลามีที่เสริมสารสกัดชาเขียว 20 กรัมต่อกิโลกรัม จะมีสีแดงของผลิตภัณฑ์ที่ลดลงมากกว่ากลุ่มอื่นๆ ซึ่งการมีลักษณะสีแดงของผลิตภัณฑ์ชาลามีเป็นลักษณะที่พึงประสงค์ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า การเติมสารสกัดชาเขียว 10 กรัมต่อกิโลกรัมเพียงพอที่จะช่วยทำให้เพิ่มคุณภาพทางด้านความปลอดภัยอาหารของผลิตภัณฑ์ชาลามีซึ่งใช้เนื้อโคไทยธรรมชาติเป็นส่วนประกอบหลัก โดยไม่ทำให้คุณภาพทางด้านสีของผลิตภัณฑ์ชาลามีลดลง นอกจากนี้ยังใช้ระยะการบ่มไม่ต่างกัน

บทสรุปสำหรับผู้บริหาร (Executive Summary)

ความเป็นมาและความสำคัญ

ผลจากการศึกษาวิจัยภายใต้ชุดโครงการการขยายโอกาสธุรกิจเนื้อโคไทย พบว่า เนื้อโคไทยแต่ละประเภทที่ผลิตได้มีความเหมาะสมในการนำไปใช้ประโยชน์แตกต่างกัน เนื้อโคพื้นเมืองไม่เหมาะที่จะนำไปใช้ประโยชน์ ทำอาหารประเภทสเต็กเพราะเนื้อมีความเหนียวมาก การบ่มเนื้อถึง 14 วันช่วยทำให้เนื้อนุ่มขึ้นเล็กน้อย และแม้ว่าจะเพิ่มระยะเวลาการบ่มที่นานขึ้น เป็นเวลา 21 หรือ 30 วันก็ไม่ช่วยให้เนื้อนุ่มมากขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเจน แสดงให้เห็นว่าอาจจะเป็นไปได้ที่มีการย่อยสลายของไมโอไฟบรिलाโปรตีนน้อย เนื้อที่มีคุณลักษณะเช่นนี้เหมาะที่จะนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์เนื้อ

องค์ความรู้เกี่ยวกับคุณภาพเนื้อโคพื้นเมืองไทยในเชิงลึกยังไม่มีการศึกษา จากการศึกษาวิจัยเบื้องต้นพบว่า เนื้อโคพื้นเมืองโดยทั่วไปแล้วจะมีสีเข้ม เนื้อแน่นเป็นมันวาว เส้นใยกล้ามเนื้อละเอียด เหมาะที่จะนำไปทำผลิตภัณฑ์เนื้อกลุ่มบดละเอียดได้แก่ ลูกชิ้น ผลิตภัณฑ์เนื้ออิมัลชัน นอกจากนี้ยังเหมาะที่จะนำไปทำผลิตภัณฑ์หมักเปรี้ยวแบบตะวันตก ได้แก่ ซาลามิ แฮมดิบ (air dried beef) ซึ่งผลิตภัณฑ์หมักเปรี้ยวที่กล่าวถึงนี้ปัจจุบัน โรงงานผลิตของภาคเอกชนได้ผลิตอยู่แล้วโดยใช้เนื้อโคพื้นเมือง หรือเนื้อโคลูกผสมพื้นเมืองบราห์มันที่เลี้ยงด้วยหญ้าเป็นอาหารหลัก ทั้งนี้ได้มีการใช้กล้าเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ (starter culture) มาใช้ในการผลิตเพื่อควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ให้มีความสม่ำเสมอ และที่สำคัญคือความปลอดภัยด้านอาหาร

เชื้อบริสุทธิ์ที่กล่าวมาได้นำเข้ามาจากต่างประเทศ และเป็นเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่ไม่มีคุณสมบัติเป็น probiotic ดังนั้นการนำกลุ่มเชื้อที่มีคุณสมบัติเบื้องต้นเป็น probiotic ที่พบได้โดยผู้วิจัยไทย มาทดลองใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวแบบตะวันตกจะเป็นการริเริ่มพัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อเพื่อสุขภาพ (functional food) ที่สามารถสร้างเอกลักษณ์ผลิตภัณฑ์เนื้อได้

นอกจากนี้ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวแบบพื้นบ้าน เช่น แหนม ไส้กรอกเปรี้ยว ควรได้มีการนำเทคโนโลยีการเติมกลุ่มเชื้อ probiotic มาใช้เช่นกัน ซึ่งแม้ว่า ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวจำเป็นต้องผ่านกระบวนการทำให้สุกก่อนการบริโภคซึ่งจะทำให้เชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกตาย แต่ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีความปลอดภัยทางด้านอาหารมากกว่า ผลิตภัณฑ์ที่ไม่เติมกล้าเชื้อจุลินทรีย์

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อโคธรรมชาติที่มีความเป็นไปได้ในการสร้างตราสินค้า (brand)
2. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยว probiotic แบบตะวันตก

3. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวกึ่งแห้ง probiotic แบบพื้นบ้าน
4. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวกึ่งแห้ง probiotic ในรูปแบบของเนื้อเค็มแบบตะวันตก (beef jerky)

ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้พัฒนาผลิตภัณฑ์จากเนื้อโคไทยที่มีความเป็นไปได้ทางตลาด
2. ได้พัฒนาการผลิตเนื้อหมักเปรี้ยวจากเนื้อโคที่มีความปลอดภัยด้านอาหาร
3. ได้แนวทางในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารเนื้อสัตว์เพื่อสุขภาพ
4. ได้เทคโนโลยีการผลิต ผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวแบบตะวันตก
5. ได้ผลงานวิจัยตีพิมพ์ในวารสารระดับชาติ
6. ได้ผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวจากโคพื้นเมืองไทยที่มีความเป็นเอกลักษณ์
7. ได้นักวิจัยรุ่นใหม่

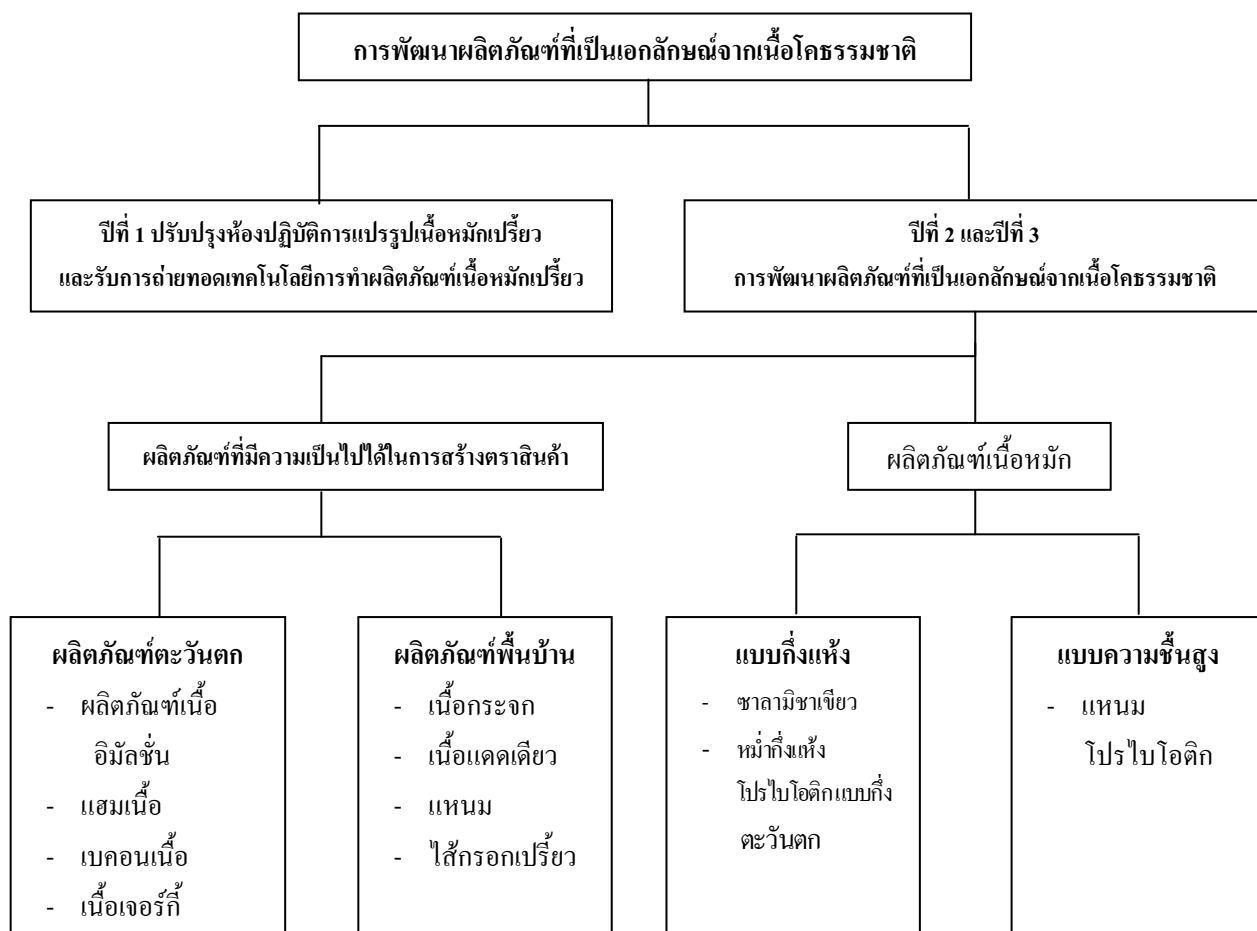
เป้าหมายของการวิจัย

เพิ่มศักยภาพในการขยายโอกาสทางการตลาดของเนื้อโคไทยตลอดห่วงโซ่ของการผลิตเนื้อโคและผลิตภัณฑ์ และเพื่อพัฒนาคุณภาพชีวิตของคนไทยในการบริโภคเนื้อโคและผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพและปลอดภัย

กรอบแนวคิด

ขอบเขตการวิจัยมุ่งเน้นการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากเนื้อโคไทย ที่ใช้วัตถุดิบจากเนื้อโคพื้นเมืองที่ทราบแหล่งที่มาและอยู่ภายใต้ระบบการผลิตเนื้อโคธรรมชาติ (natural beef) โดยเน้นการพัฒนาผลิตภัณฑ์ภายใต้ระบบการหมักเปรี้ยว (fermentation) โดยใช้กลูต้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีคุณสมบัติเบื้องต้นเป็น probiotic ของนักวิจัยในโครงการมาใช้ในการผลิต และผลิตภัณฑ์ที่มีความเป็นไปได้ในการสร้างตราสินค้า โดยเน้นการใช้ประโยชน์จากเนื้อชิ้นส่วนรองที่ได้จากการตัดแต่ง และสร้างมูลค่าเพิ่มจากการใช้ประโยชน์จากเนื้อชิ้นส่วนหลัก

ขอบเขตการดำเนินงาน (3 ปี)



การดำเนินการวิจัย

การดำเนินการวิจัยแบ่งออกเป็น 3 ตอน ดังนี้

1. พัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อโคธรรมชาติที่มีความเป็นไปได้ในการสร้างตราสินค้า

2. การพัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวแบบพื้นบ้าน : แหนมเนื้อโคโปรโปโอดิก

2.1 ผลของการใช้เชื้อ *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 ต่อคุณสมบัติทางจุลินทรีย์และคุณภาพของแหนมเนื้อโค

2.2 คุณสมบัติทางด้านจุลินทรีย์และคุณภาพของผลิตภัณฑ์แหนมเนื้อโคเมื่อใช้ *Pediococcus pentasaceus* TISTR536 และ *Lactobacillus salivarius* D4 เป็นก้ำเชื้อ

2.3 ศึกษาผลของการใช้ก้ำเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกต่อคุณภาพ การเก็บรักษา และการยอมรับของผู้บริโภคในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักแบบพื้นบ้าน: แหนมเนื้อโคไม่เติมเอ็นโคและพริก

3. การพัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวกึ่งแห้งแบบกึ่งตะวันตกที่มีการเติมก้ำเชื้อนำเข้า

3.1 ผลิตภัณฑ์เนื้อโคพื้นเมืองหมักกึ่งแห้งแบบกึ่งตะวันตก

3.1.1 การศึกษาเบื้องต้นเพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อโคพื้นเมืองหมักกึ่งแห้งในรูปแบบเนื้อเค็มกึ่งตะวันตก (beef snack sticks หรือ slim jims) โดยใช้กระบวนการผลิตแบบตะวันตก

3.1.2 ผลของการใช้ก้ำเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกในการผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อโคพื้นเมืองหมักกึ่งแห้งโดยใช้แนวการผลิตแบบตะวันตก: หมู่ม้าแท่งทานเล่นกึ่งแห้ง (semi-dry mum snack stick)

3.2 พัฒนาเนื้อหมักเปรี้ยวกึ่งแห้ง ซาลามิผสมชาเขียว

ตอนที่ 1 พัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อโคธรรมชาติที่มีความเป็นไปได้ในการสร้างตราสินค้า

วัตถุประสงค์

1. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อแปรรูปจากชิ้นส่วนรอง
2. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อแปรรูปจากชิ้นส่วนหลัก
3. เพื่อเพิ่มมูลค่าเนื้อโคพื้นเมืองธรรมชาติ

ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1. แนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่มีโอกาสทางตลาด
2. แนวทางการบริหารจัดการชิ้นส่วนจากการตัดแต่งซากโคอย่างมีประสิทธิภาพ

กรอบแนวความคิด

ใช้ประโยชน์จากชิ้นส่วนรองและเศษเนื้อที่ได้จากการตัดแต่งมาทำผลิตภัณฑ์เนื้อเพื่อเพิ่มมูลค่าและพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่สามารถเพิ่มมูลค่าจากชิ้นส่วนหลักและชิ้นส่วนรองให้ได้มูลค่าสูงขึ้น เพื่อนำไปสู่การสร้างตราสินค้าได้แก่ แหนมโปรโปโอติก ซาลามิซาเชียว และหม่าแท่งเพื่อความปลอดภัยอาหาร

ผลการศึกษา

เป็นการใช้ประโยชน์จากชิ้นส่วนรอง ได้แก่ เนื้อคอ เนื้อสันท้อง เนื้อเสีร่องไห เนื้อสีข้าง และเศษเนื้อตัดแต่ง มาทำผลิตภัณฑ์เพื่อสร้างมูลค่าเพิ่มและพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่สามารถเพิ่มมูลค่าจากชิ้นส่วนหลัก ได้แก่ เนื้อพับนอก และชิ้นส่วนรอง เพื่อนำไปสู่การสร้างตราสินค้า ได้แก่ แหนมโปรโปโอติก ซาลามิซาเชียว และหม่าแท่งเพื่อความปลอดภัยทางอาหาร

ผลิตภัณฑ์ที่ได้พัฒนาและมีการวางจำหน่ายแล้ว ได้แก่ ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอิมัลชันรมควันชนิดต่างๆ มีทโลฟ ไส้กรอกเปรี้ยวเนื้อโคพื้นเมือง เนื้อเจอร์กี้ เนื้อกระเจก แหนมเนื้อ และแฮมเนื้อ สำหรับผลิตภัณฑ์ที่สามารถนำไปสู่การสร้างตราสินค้าและอยู่ในระหว่างการพัฒนา ได้แก่ หม่าแท่ง แหนมโปรโปโอติก ซาลามิซาเชียว

ตอนที่ 2 การพัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวแบบพื้นบ้าน : แหนมเนื้อโคโปรไบโอติก

2.1 ผลของการใช้เชื้อ *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 ต่อคุณสมบัติทางจุลินทรีย์ และคุณภาพของแหนมเนื้อโค

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการนำเชื้อ *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 เพื่อใช้เป็นก้ำเชื้อในผลิตภัณฑ์แหนมเนื้อโคที่ใช้เอ็นโคแทนหนังหมู เพื่อให้ได้แนวทางการผลิตเนื้อหมักเปรี้ยวจากเนื้อโคที่มีความปลอดภัยทางด้านอาหาร และได้ผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวจากโคพื้นเมืองไทยที่มีความเป็นเอกลักษณ์

ขอบเขตและการดำเนินการศึกษา

ศึกษาความเป็นไปได้ในการนำเชื้อ *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 เพื่อใช้เป็นก้ำเชื้อในผลิตภัณฑ์แหนมเนื้อโคเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่เติมก้ำเชื้อ และกลุ่มทดลองที่ใช้ก้ำเชื้อทางการค้า (*Pacovis* RCI – 47 จากประเทศเยอรมัน) ศึกษาคุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ เคมีและทางกายภาพ โดยตรวจวิเคราะห์เชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกในวันเริ่มผลิตและระหว่างการหมักเป็นเวลา 3 วัน ที่ 30 องศาเซลเซียส ตรวจวิเคราะห์ปริมาณ Coliform, *E. coli*, Yeast and mold, *Salmonella* spp. และ *S. aureus* ในวันเริ่มผลิต และเมื่อสิ้นสุดการหมัก 3 วัน ศึกษาคุณภาพทางเคมีโดยตรวจวัดค่า pH และปริมาณกรดทั้งหมดทุกวันในระหว่างการหมัก 3 วันที่ 30 องศาเซลเซียส และในระหว่างการเก็บรักษาต่ออีก 4 วัน ที่ 4 องศาเซลเซียส สำหรับคุณภาพทางกายภาพ ตรวจวัดค่าสี CIE L* a* และ b* ที่ผิวสัมผัสด้านนอกของแหนมในวันที่ 3 เมื่อสิ้นสุดการหมัก และภายหลังการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน (วันที่ 7 ของการทดลอง)

ผลการศึกษา

การใช้ก้ำเชื้อทางการค้า *Pacovis* RCI – 47 ก้ำเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 ในการหมักแหนมเนื้อโคมีผลต่อปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติก Yeast/Mold และ Coliforms โดยพบว่า การใช้ก้ำเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ Yeast/Mold และ Coliforms ตามลำดับ ได้ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และยังตรวจไม่พบเชื้อ *E. coli*, *Salmonella* spp. และ *S. aureus* ส่วนด้านคุณภาพ พบว่าการใช้ก้ำเชื้อสายพันธุ์ต่างๆ มีผลต่อปริมาณกรดทั้งหมด ค่า pH และค่าสี (CIE L* a* และ b*) โดยการใช้ก้ำเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 มีปริมาณกรดทั้งหมดสูงสุดและมีค่า pH ต่ำสุด และยังพบว่าการใช้ก้ำเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 มีผลให้แหนมเนื้อโคสีแดงเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่า ก้ำเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 สามารถนำมาใช้เป็นก้ำเชื้อโปรไบโอติกในแหนมเนื้อโคได้ ทำให้มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคและผลิตภัณฑ์ที่ได้มีสีที่น่ารับประทานมากขึ้น

2.2 คุณสมบัติทางด้านจุลินทรีย์และคุณภาพของผลิตภัณฑ์แฮมเนื้อโคเมือใช้ *Pediococcus pentosaceus* TISTR536 และ *Lactobacillus salivarius* D4 เป็นกล้าเชื้อ

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาการนำเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 และ *Lb. salivarius* D 4 มาใช้เป็นกล้าเชื้อในผลิตภัณฑ์แฮมเนื้อโคที่ใช้อินโคแทนหนังหมู เพื่อให้ได้แนวทางการผลิตเนื้อหมักเปรี้ยวจากเนื้อโคที่มีความปลอดภัยทางด้านอาหาร และได้ผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวจากโคพื้นเมืองไทยที่มีความเป็นเอกลักษณ์

ขอบเขตและการดำเนินการศึกษา

ศึกษาความเป็นไปได้ในการนำเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 และ *Lb. salivarius* D 4 เพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อในผลิตภัณฑ์แฮมเนื้อโคเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่เติมกล้าเชื้อ และกลุ่มทดลองที่ใช้กล้าเชื้อทางการค้า *Pacovis* RCI – 47 จากประเทศเยอรมัน ศึกษาคุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ เคมิและทางกายภาพ โดยตรวจวิเคราะห์เชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกในระหว่างในวันเริ่มผลิตและระหว่างการหมักเป็นเวลา 3 วันที่ 30 องศาเซลเซียส ตรวจวิเคราะห์ปริมาณ Coliform, *E. coli*, Yeast and mold, *Salmonella* spp. และ *S. aureus* ในวันเริ่มผลิต และเมื่อสิ้นสุดการหมัก 3 วัน ศึกษาคุณภาพทางเคมีโดยตรวจวัดค่า pH และปริมาณกรดทั้งหมด ทุกวันในระหว่างการหมัก 3 วันที่ 30 องศาเซลเซียสและในระหว่างการเก็บรักษาต่ออีก 4 วันที่ 4 องศาเซลเซียส สำหรับคุณภาพทางกายภาพ ตรวจวัดค่าสี CIE L* a* และ b* ที่ผิวสัมผัสด้านนอกของแฮมในวันที่ 3 เมื่อสิ้นสุดการหมัก และภายหลังการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน (วันที่ 7 ของการทดลอง)

ผลการศึกษา

การใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกมีผลดี คือในกลุ่มที่เติมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 3 กลุ่มทดลอง มีจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกมากกว่ากลุ่มควบคุม เป็นผลดีต่อผลิตภัณฑ์แฮมหมัก คือ แบคทีเรียกรดแลคติกสามารถสร้างสารที่ยับยั้งเชื้อก่อโรคและทำอาหารเน่าเสีย ซึ่งจะทำให้แฮมกลุ่มดังกล่าวมีความปลอดภัย และอายุการเก็บรักษายาวนานขึ้น ขณะเดียวกัน พบว่าการใช้กล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 สามารถลดจำนวน Yeast/Mold ลงเหลือจำนวนน้อยที่สุด ซึ่งการลดลงของเชื้อส่งผลดีต่อผู้บริโภคในเรื่องของความปลอดภัยต่อการบริโภคผลิตภัณฑ์แฮม นอกจากนี้ยังพบว่าภายหลังระยะเวลาการหมัก 3 วัน แฮมจากทุกกลุ่มการทดลองที่เติมกล้าเชื้อ มีจำนวนเชื้อ Coliforms ลดลง นอกจากนั้นผลการศึกษาระบุว่า ตรวจไม่พบเชื้อ *Salmonella* spp., *S. aureus* และ *E. coli* ในแฮมทุกกลุ่มการทดลอง ทางด้านคุณภาพของแฮม พบว่า กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกมีค่า pH ต่ำและมีปริมาณกรดทั้งหมดสูงกว่ากลุ่มควบคุม และแฮมกลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Lb. salivarius* D 4 มีค่า pH ต่ำสุดและมีปริมาณกรดทั้งหมดสูงสุด ทำให้แฮมกลุ่มดังกล่าวมีความปลอดภัยเนื่องมาจากการที่ค่า pH ต่ำลง ซึ่งเป็นสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรคและทำให้อาหารเน่าเสีย แต่กลับพบว่าการลดลงของค่า pH มีผลเสียต่อค่าสีที่ผิวด้านนอกของแฮม โดยพบว่า การเติมกล้าเชื้อ *Pacovis* RCI – 47 ให้ค่าความสว่างมากที่สุด และค่าสีแดงลดลงมากกว่าทุกกลุ่มการทดลอง ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความสว่างเพิ่มขึ้น และสีแดงลดน้อยลง ผลิตภัณฑ์

มีความน่ารับประทานลดลงเนื่องจากผลิตภัณฑ์ที่ได้มีสีที่ซีกกว่าทุกกลุ่มทดลอง ซึ่งเป็นลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่ผู้บริโภคไม่ต้องการ ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ในการนำเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 และ *Lb. salivarius* D 4 มาใช้เป็นกล้าเชื้อในผลิตภัณฑ์แฮมเนื้อโค

2.3 ศึกษาผลของการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกต่อคุณภาพ การเก็บรักษา และการยอมรับของผู้บริโภคในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักแบบพื้นบ้าน: แฮมเนื้อโคไม่เติมเอ็นโคและพริก

จากผลการศึกษาการใช้กล้าเชื้อทั้ง 4 ชนิดดังกล่าวข้างต้น (การทดลองที่ 2.1 และ 2.2) ในการผลิตแฮมเนื้อโค ผู้วิจัยพบอุปสรรคในการตรวจสอบคุณภาพด้านเนื้อสัมผัสและความชอบของผู้บริโภค เมื่อใช้ตัวอย่างแฮมเนื้อโคที่ผลิตเต็มสูตรโดยเติมเอ็นโคและพริก เนื่องจากผลการตรวจสอบที่ได้มีความแปรปรวนสูงมาก การทดลองในส่วน 2.3 จึงเป็นการศึกษาคุณภาพของแฮมเนื้อโคที่ไม่เติมเอ็นโคและพริกขึ้น เพื่อลดปัญหาดังกล่าว

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการนำกล้าเชื้อแลคติกบริสุทธิ์เริ่มต้นที่สามารถสร้างสาร bacteriocins และมีคุณสมบัติเบื้องต้นเป็น probiotic ที่ค้นพบโดยนักวิจัยของศูนย์เครือข่ายฯ มาใช้ในการผลิตแฮมเนื้อโค (ไม่เติมเอ็นโคและพริก) เพื่อศึกษาคุณภาพ (เคมี กายภาพ และ จุลินทรีย์) และความชอบของผู้บริโภคต่อแฮมเนื้อโคที่ผลิตขึ้น และเพื่อให้ได้ข้อมูลเพื่อใช้ในการพิจารณาเลือกกล้าเชื้อแลคติกสำหรับศึกษาคุณภาพของแฮมเนื้อโคในเชิงลึกต่อไป

ขอบเขตและการดำเนินการศึกษา

ศึกษาความเป็นไปได้ในการนำเชื้อ *Lc. lactis* spp. *lactis* P 2, *P. pentosaceus* TISTR 536, *Lb. salivarius* D 4 และ *Lc. lactis* spp. *lactis* Sb 2 มาใช้เป็นกล้าเชื้อในผลิตภัณฑ์แฮมเนื้อโคเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่เติมกล้าเชื้อ และกลุ่มทดลองที่ใช้กล้าเชื้อทางการค้า *Pacovis* RCI – 47 ศึกษาคุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ เคมีและทางกายภาพ โดยตรวจวิเคราะห์เชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก ในวันเริ่มผลิตและระหว่างการหมักเป็นเวลา 3 วัน โดยหมักที่ 30 องศาเซลเซียส ตรวจวิเคราะห์ปริมาณ Coliform, *E. coli*, Yeast and mold, *Salmonella* spp. และ *S. aureus* ในวันเริ่มผลิต และเมื่อสิ้นสุดการหมัก 3 วัน ศึกษาคุณภาพทางเคมีโดยตรวจวัดค่า Water activity (Aw) ค่า pH และปริมาณกรดทั้งหมด ทุกวันในระหว่างการหมัก 3 วัน ที่ 30 องศาเซลเซียส และในระหว่างการเก็บรักษาต่ออีก 4 วัน ที่ 4 องศาเซลเซียส สำหรับคุณภาพทางกายภาพ ตรวจวัดค่าสี CIE L* a* และ b* ที่เนื้อสัมผัสด้านในและที่ด้านนอกของแฮม และตรวจวิเคราะห์ค่าความแข็ง (Hardness) โดยวิธี Texture profile analysis ในวันที่ 3 (เมื่อสิ้นสุดการหมัก) และภายหลังนำมาเก็บรักษาต่อที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน (วันที่ 7 ของการทดลอง) และประเมินความชอบของผู้บริโภคต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ผลการศึกษา

ในด้านคุณภาพทางเคมี กายภาพ และจุลินทรีย์ของแฮมเนื้อโคพื้นเมืองของไทย (สูตรไม่ใส่เอ็น และพริกชี้หนู) พบว่าภายหลังการหมัก 3 วัน แฮมที่ผลิตโดยไม่เติมกล้ำเชื้อ มีปริมาณกรดแลคติกและค่า pH ไม่แตกต่างจากแฮมที่ใส่กล้ำเชื้อชนิดอื่นๆ ยกเว้นแฮมที่ใส่กล้ำเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 ที่มีค่า pH สูงกว่า ($P < 0.05$) แฮมทุกกลุ่มทั้งหลังจากการหมัก 3 วันและภายหลังเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส อีก 4 วัน ทั้งนี้แฮมจัดว่าเป็นผลิตภัณฑ์หมักที่มีความชื้นสูงด้วยค่า A_w ที่ประมาณ 0.97 ตลอดการหมัก และเก็บรักษา

สำหรับผลทางด้านจุลินทรีย์ แม้ว่าในวันที่ผลิตและในระหว่างการหมัก จะพบว่าแฮมที่เติมกล้ำเชื้อบางกลุ่มมีแนวโน้มการเจริญของจุลินทรีย์กรดแลคติกมากกว่าแฮมที่หมักตามธรรมชาติ แต่หลังจาก 3 วันของการหมัก แฮมทุกกลุ่มทดลองมีจำนวนจุลินทรีย์กรดแลคติกไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) และจากการศึกษาครั้งนี้ ตรวจสอบไม่พบการเจริญของเชื้อ *E. coli*, *S. aureus* และ *Salmonella* ในแฮมเนื้อโคพื้นเมืองทั้งที่ผลิตโดยไม่เติมกล้ำเชื้อและที่ใส่กล้ำเชื้อ

สำหรับปริมาณ Coliforms พบว่าภายหลังการหมัก 3 วัน โดยรวมแฮมจะมีปริมาณ Coliforms ลดลง โดยแฮมที่ใส่กล้ำเชื้อทางการค้า และกล้ำเชื้อ *Lc. lactis* spp. *lactis* Sb 2 มีแนวโน้มให้ปริมาณ Coliforms ที่ต่ำกว่าการหมักตามธรรมชาติ ($P > 0.05$) แต่อย่างไรก็ตาม ผลการวิเคราะห์ทางสถิติไม่พบว่าการใส่กล้ำเชื้อชนิดใดให้ผลแตกต่างจากการหมักตามธรรมชาติ

สำหรับปริมาณ Yeast and mold พบว่า เมื่อผ่านการหมักไป 3 วัน แฮมเนื้อโคที่ผลิตขึ้นทุกกลุ่มมีปริมาณ Yeast and mold ลดลงจากในวันที่ผลิต แต่ยังคงปริมาณที่มากกว่ากำหนดของ มพช. 470/ 2548 คือ 2 log cfu/g อย่างไรก็ตามพบว่าแฮมที่เติมกล้ำเชื้อ *Lc. lactis* spp. *lactis* Sb 2 มีปริมาณ Yeast and mold ต่ำกว่าแฮมกลุ่มอื่นๆ ($P < 0.05$) แต่ไม่แตกต่างทางสถิติจากแฮมที่ใส่กล้ำเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 ($P > 0.05$)

สำหรับคุณสมบัติทางกายภาพของแฮมเนื้อโค พบว่าแฮมที่ใส่กล้ำเชื้อต่างประเทศมีแนวโน้มให้สีที่ผิวนอกซีด (สว่างและเหลืองมากกว่า แดงน้อยกว่า) กว่ากลุ่มทดลองอื่นๆ ($P < 0.05$) โดยภายหลังการหมัก 3 วัน แฮมที่ใส่กล้ำเชื้อ *Lc. lactis* spp. *lactis* P 2 และ Sb 2 มีสีที่ผิวนอกแดงกว่าแฮมที่หมักตามธรรมชาติ ($P < 0.05$) แต่ภายหลังเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน นอกจากกล้ำเชื้อ *Lc. lactis* spp. *lactis* P 2 และ Sb 2 แล้วแฮมที่ใส่กล้ำเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 ก็มีสีที่ผิวนอกแดงกว่า ($P < 0.05$) แฮมที่หมักตามธรรมชาติเช่นกัน

ในด้านค่า Hardness พบว่าหลังการหมัก 3 วัน แฮมที่หมักตามธรรมชาติ มีค่า Hardness มากกว่าทุกกลุ่มทดลอง ($P < 0.05$) อย่างไรก็ตามแฮมที่ใส่กล้ำเชื้อทุกชนิดไม่มีความแตกต่างกันในค่า Hardness ($P > 0.05$) และภายหลังเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน แฮมที่หมักตามธรรมชาติ ยังคงมีค่า

Hardness มากกว่าทุกกลุ่มทดลอง ($P < 0.05$) ขณะที่เหนมที่ใช้กล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 มีค่า Hardness ต่ำกว่าเหนมที่ใช้กล้าเชื้อ *Lc. lactis* spp. *lactis* P 2 และ Sb 2 ($P < 0.05$)

การศึกษาความชอบของผู้บริโภคให้ผลในด้านสีค่อนข้างสอดคล้องกับการวัดด้วยเครื่องมือ คือ ผู้บริโภคให้คะแนนความชอบด้านสีของเหนมแก่กลุ่มที่ใช้กล้าเชื้อทางการค้า และกล้าเชื้อ *Lb. salivarius* D 4 น้อยกว่ากลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ขณะที่คะแนนความชอบด้านสีของเหนมที่ใช้กล้าเชื้อ *Lc. lactis* spp. *lactis* P 2, *P. pentosaceus* TISTR 536, และ *Lc. lactis* spp. *lactis* Sb 2 ไม่แตกต่างจากเหนมที่หมักตามธรรมชาติ แต่เหนมที่ใช้กล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 มีข้อจำกัดในด้านความเปรี้ยว ซึ่งได้คะแนนความชอบต่ำกว่ากลุ่มควบคุม และ กลุ่มที่ใช้กล้าเชื้อ *Lc. lactis* spp. *lactis* P 2 และ Sb 2 อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) โดยรวมเหนมที่ใช้กล้าเชื้อ *Lc. lactis* spp. *lactis* P 2 และ Sb 2 มีคะแนนความชอบด้านความเปรี้ยว กลิ่นเหนม รสชาติเหนม และลักษณะโดยรวมไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ($P > 0.05$) แต่กล้าเชื้อ *Lc. lactis* spp. *lactis* Sb 2 ให้ผลดีกว่าเหนมที่หมักตามธรรมชาติ และที่ใช้กล้าเชื้อ *Lc. lactis* spp. *lactis* P 2 ในการควบคุม Yeast and mold ($P < 0.05$) จากคุณสมบัติเบื้องต้นดังกล่าวจึงมีความเป็นไปได้ในการนำ *Lc. lactis* spp. *lactis* Sb 2 มาใช้เป็นกล้าเชื้อในการผลิตเหนมเนื้อโค

ตอนที่ 3 การพัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวกึ่งแห้งแบบกึ่งตะวันตกที่มีการเติมกล้าเชื้อนำเข้า

3.1 ผลิตภัณฑ์เนื้อโคพื้นเมืองหมักกึ่งแห้งแบบกึ่งตะวันตก

3.1.1 การศึกษาเบื้องต้นเพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อโคพื้นเมืองหมักกึ่งแห้งในรูปแบบเนื้อเค็มกึ่งตะวันตก (Beef Snack Sticks หรือ Slim Jims) โดยใช้กระบวนการผลิตแบบตะวันตก

ในประเทศตะวันตกทั้งในทวีปยุโรปและอเมริกา มีการผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อหมักแห้งและกึ่งแห้ง โดยเฉพาะกลุ่มไส้กรอกหมักกันมานาน และมีการศึกษาพัฒนาวิธีการผลิตกันมาตลอด ทั้งในด้านวัตถุดิบ การใช้กล้าเชื้อ รวมทั้งเทคนิคกระบวนการผลิต เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพพึงประสงค์ และมุ่งเพิ่มความปลอดภัยในการบริโภค ในหลายๆ ประเทศวัตถุดิบหลักที่ใช้ในการผลิตมักจะเป็นเนื้อโค ดังนั้นการใช้เนื้อจากโคพื้นเมืองเพื่อผลิตไส้กรอกหมักแห้งหรือกึ่งแห้งแบบตะวันตกจึงน่าจะเป็นการเพิ่มมูลค่าได้ โดยเฉพาะการศึกษาแนวการผลิตแบบตะวันตกที่มีการใช้กล้าเชื้อเริ่มต้น และใช้กระบวนการผลิตภายใต้สถานะที่มีการควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ ซึ่งมักจะไม่มี การปฏิบัติกันสำหรับผลิตภัณฑ์เนื้อหมักของไทย อย่างไรก็ตามผู้บริโภคบางกลุ่มอาจจะไม่เคยชินกับรสชาติหรือคุณลักษณะอื่นๆ แบบตะวันตกของผลิตภัณฑ์ ดังนั้นเพื่อเป็นการเพิ่มทางเลือกแก่ผู้บริโภค ทั้งยังเป็นการประชาสัมพันธ์ผลิตภัณฑ์ของประเทศไทย จึงน่าสนใจในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อหมักแบบตะวันตกที่มีรสชาติแบบไทยๆ ทั้งนี้ นอกเหนือจากเหนมและไส้กรอกเปรี้ยว ซึ่งเป็นที่นิยม ของชาวไทยแล้ว หม่า เป็นอีกผลิตภัณฑ์หนึ่งที่เป็นที่นิยมกันมากในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และมักจะทำจากเนื้อโค รวมทั้งเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีการใช้ผลิตผลพลอยได้จากสัตว์เป็นส่วนประกอบ จึงน่าจะนำมาผลิตเพื่อเพิ่มมูลค่า โดยเฉพาะการนำมาผลิตใน

รูปแบบของ beef snack sticks เช่น slim jims ที่ผลิตโดย บริษัท ConAgra Foods, Inc. เพราะเป็นผลิตภัณฑ์เนื้อหมักกึ่งแห้งสะดวกบริโภคที่มีการจำหน่ายแพร่หลายในแถบตะวันตก

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาสูตรสำหรับผลิตภัณฑ์เนื้อโคหมักแบบแห้งหรือกึ่งแห้งในรูปแบบเนื้อเค็มกึ่งตะวันตก
2. เพื่อศึกษากระบวนการหมักและบ่มที่เหมาะสมสำหรับผลิตเนื้อโคหมักแบบแห้งหรือกึ่งแห้งแบบกึ่งตะวันตก

3. เพื่อศึกษาคุณภาพเบื้องต้น (ทางเคมี และจุลินทรีย์) ของผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาขึ้น

ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้สูตรและกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อโคหมักแบบแห้งหรือกึ่งแห้งแบบกึ่งตะวันตก ที่เหมาะสม
2. ทราบคุณภาพเบื้องต้น (ทางเคมี และจุลินทรีย์) ของผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาขึ้น
3. สามารถใช้สูตรและกระบวนการผลิตที่พัฒนาขึ้นเพื่อศึกษาความเป็นไปได้ของการใช้กลูต้าเซอ กรดแลคติกที่สามารถสร้างสาร bacteriocins และมีคุณสมบัติเบื้องต้นเป็น probiotic

ขอบเขตและการดำเนินการศึกษา

1. ทำการผลิต Slim jims โดยใช้สูตรแบบอเมริกัน (สูตรฝรั่ง) สูตรรสจัด และสูตรหมา อัดบรรจุลงในไส้บรรจุ Collagen ขนาด 19 มม. มัดเป็นแท่งๆ ความยาวประมาณ 6 นิ้ว นำเข้าแขวนในตู้บ่ม ทั้งนี้ทำการทดลองสองครั้ง โดยมีการปรับอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ดังนี้

การทดลองครั้งที่ 1

- ขั้นตอนที่ 1 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90 เปอร์เซ็นต์ เวลา 17 ชั่วโมง
- ขั้นตอนที่ 2 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90 เปอร์เซ็นต์ เวลา 5 ชั่วโมง
- ขั้นตอนที่ 3 อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 85 เปอร์เซ็นต์ เวลา 2 ชั่วโมง
- ขั้นตอนที่ 4 อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65 เปอร์เซ็นต์ เวลา 2 ชั่วโมง
- ขั้นตอนที่ 5 อุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65 เปอร์เซ็นต์ เวลา 6 ชั่วโมง
- ขั้นตอนที่ 6 อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65 เปอร์เซ็นต์ เวลา 72 ชั่วโมง
- ขั้นตอนที่ 7 อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65 เปอร์เซ็นต์ เวลา 72 ชั่วโมง

การทดลองครั้งที่ 2

- ขั้นตอนที่ 1 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90 เปอร์เซ็นต์ เวลา 17 ชั่วโมง
- ขั้นตอนที่ 2 อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65 เปอร์เซ็นต์ เวลา 2 ชั่วโมง
- ขั้นตอนที่ 3 อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65 เปอร์เซ็นต์ เวลา 72 ชั่วโมง
- ขั้นตอนที่ 4 อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65 เปอร์เซ็นต์ เวลา 72 ชั่วโมง

2. การวิเคราะห์คุณภาพเบื้องต้น โดยในวันที่ผลิต (d 0) และทุกวันระหว่างการบ่ม (d1-d5) สุ่มตัวอย่างไส้กรอก สำหรับตรวจวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ จุลินทรีย์โดยรวม (Total aerobic plate count), Yeast and mold, และ *Escherichia coli* (*E. coli*), Coliforms (เฉพาะ d0, 1, 3, และ 4) และ ในวันที่ผลิต (d

0) และทุกวันระหว่างการบ่ม (d1-d5) หลังจากสุ่มตัวอย่างเพื่อตรวจเชื้อจุลินทรีย์แล้ว ทำการสุ่มตัวอย่างเพื่อวัดค่า pH วัดค่า Aw และวัดปริมาณความชื้น

ผลการศึกษา

จากการตรวจสอบคุณภาพเบื้องต้นบางประการ พบว่า slim jims สูตรตะวันตกและสูตรหม่ำมีคุณสมบัติเบื้องต้นที่สามารถจัดอยู่ในกลุ่มผลิตภัณฑ์ dry หรือ semi-dry sausage ได้ และการเพิ่มช่วงเวลาในการหมักให้นานกว่า 17 ชั่วโมง อาจช่วยลดค่า pH และความชื้นลงได้ดีกว่า สำหรับสูตรสจ๊วต จากการทดสอบชิม (อย่างไม่เป็นทางการ) พบว่าผลิตภัณฑ์มีผิวสัมผัสค่อนข้างเหนียว (case hardening) เนื่องจากการระบายความชื้นจากภายในและที่พื้นผิวของไส้กรอกไม่สัมพันธ์กัน ซึ่งอาจเกี่ยวเนื่องถึงการหมักที่เกิดขึ้นไม่เต็มที่ด้วย

สำหรับกระบวนการผลิตที่ใช้อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ในเวลาอันสั้นภายหลังการหมัก เพื่อทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นอันตรายนั้น เป็นกระบวนการเพิ่มความปลอดภัยในการผลิต ลดโอกาสการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค ซึ่งการใช้ความร้อนที่ระดับต่างๆ ในการผลิตไส้กรอกกลุ่มนี้มีปฏิบัติกันในสหรัฐอเมริกา โดยเฉพาะกลุ่มที่ใช้เวลาการหมักช่วงสั้นๆ เช่น 63 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 นาที (Incze, 1998) ดังนั้นการใช้ความร้อนสูงถึง 70 องศาเซลเซียส อาจไม่เหมาะสมสำหรับกรณีต้องการผลิตไส้กรอกแบบ probiotic ซึ่งหากมีจุลินทรีย์กรดแลคติกที่สามารถทนอุณหภูมิสูงได้ ถึง 70 องศาเซลเซียส และมีคุณสมบัติเป็น probiotic ด้วย จะเกิดทั้งประโยชน์และความปลอดภัย อย่างไรก็ตามอาจลดอุณหภูมิในการให้ความร้อนลงไม่เกิน 50 องศาเซลเซียส ซึ่งกล้าเชื้อ เช่น *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ที่สร้าง Pediocin PA-1 ยังสามารถเจริญและผลิต bacteriocin ได้

3.1.2 ผลของการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกในการผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อโคพื้นเมืองหมักกึ่งแห้งโดยใช้แนวการผลิตแบบตะวันตก: หม่ำแท่งทานเล่นกึ่งแห้ง (Semi-dry Mum Snack Stick)

งานวิจัยส่วนนี้เป็นการพัฒนาผลิตภัณฑ์หม่ำแท่งทานเล่นกึ่งแห้ง โดยใช้วัตถุดิบเนื้อโคพื้นเมืองร่วมกับเทคโนโลยีฮาร์ดเดิล (Hurdle technology) โดยใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่สามารถสร้างสาร bacteriocins และมีแนวโน้มเป็น probiotic ซึ่งค้นพบโดยนักวิจัยของศูนย์เครือข่ายการวิจัยเทคโนโลยีเนื้อสัตว์ และใช้แนวการผลิตไส้กรอกกึ่งแห้งแบบตะวันตก เพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับวัตถุดิบเนื้อโคพื้นเมืองของไทย เพราะนอกจากจะสามารถเพิ่มความปลอดภัย ยืดอายุการเก็บรักษา และอาจจะส่งผลดีต่อสุขภาพแล้ว ยังเพิ่มความสะดวกในการนำไปบริโภคในลักษณะของไส้กรอกกึ่งแห้งแท่งเล็กๆ ซึ่งอาจช่วยขยายโอกาสทางการตลาดให้กับเนื้อโคไทยได้ด้วย

วัตถุประสงค์

1. เพื่อพัฒนาและศึกษาคุณภาพเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์จากเนื้อโคพื้นเมืองประเภทหมักแบบแห้งหรือกึ่งแห้งในรูปแบบกึ่งตะวันตก (หม่ำแท่งกึ่งแห้ง) ที่ผลิตโดยประยุกต์ใช้กระบวนการผลิตไส้กรอกกึ่งแห้งแบบตะวันตก เพื่อเพิ่มความปลอดภัยให้กับผลิตภัณฑ์

2. เพื่อศึกษาผลของการใช้กลีเซอรีนแบคทีเรียกรดแลคติกที่สามารถสร้างสาร bacteriocins และมีคุณสมบัติเบื้องต้นเป็น probiotic เปรียบเทียบกับการหมักโดยใช้กลีเซอรีนเริ่มต้นของต่างประเทศ และการหมักโดยไม่เติมกลีเซอรีน ต่อคุณภาพเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์เนื้อโคพื้นเมืองหมักกึ่งแห้งแบบกึ่งตะวันตกที่พัฒนาขึ้น

3. เพื่อศึกษาความชอบของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์เนื้อโคพื้นเมืองหมักกึ่งแห้งแบบกึ่งตะวันตกที่พัฒนาขึ้น

ขอบเขตและการดำเนินการศึกษา

ศึกษาความเป็นไปได้ในการนำเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 และ *Lc. lactis* spp. *lactis* P 2 มาใช้เป็นกลีเซอรีนในผลิตภัณฑ์หมักเนื้อโคกึ่งแห้งที่อัดบรรจุลงในไส้บรรจุ Collagen ขนาด 19 มม. มัดเป็นแท่งๆ ความยาวประมาณ 6 นิ้ว เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่เติมกลีเซอรีน และกลุ่มทดลองที่ใช้กลีเซอรีนทางการค้า Pacovis RCI - 47 ที่ผลิตด้วยกระบวนการผลิตแบบตะวันตก ภายใต้สภาวะที่มีการควบคุมดังต่อไปนี้

ขั้นตอนที่ 1 (การหมัก) อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90 เปอร์เซ็นต์ เวลา 24 ชั่วโมง

ขั้นตอนที่ 2 (ให้ความร้อน) อุณหภูมิ 60 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 70 เปอร์เซ็นต์ เวลา 2 ชั่วโมง

ขั้นตอนที่ 3 (ลดความชื้น) อุณหภูมิ 14 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65 เปอร์เซ็นต์ เวลา 72 ชั่วโมง

ขั้นตอนที่ 4 (ลดความชื้น) อุณหภูมิ 14 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65 เปอร์เซ็นต์ เวลา 72 ชั่วโมง

ทำการศึกษาคูณภาพทางด้านจุลินทรีย์ โดยสุ่มตัวอย่างทั้งหมด 6 ช่วงเวลา ได้แก่ ในวันที่ผลิตก่อนเริ่มการหมักที่ 30 องศาเซลเซียส (D0) ภายหลังการหมักที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 23 ชั่วโมง ซึ่งเป็นช่วงเวลาก่อนเริ่มให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียส (D1BH; before heating) ระยะเวลาประมาณ 30 นาที ภายหลังให้ความร้อนครบ 2 ชั่วโมง (D1AH; after heating) และในวันที่ 3 5 และ 7 ของการบ่ม (D3 D5 และ D7 ตามลำดับ) ซึ่งเป็นขั้นตอนการลดความชื้นที่อุณหภูมิประมาณ 14 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 65 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้ตรวจวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติก, Coliform, *E. coli*, Yeast, mold, *Salmonella* spp. และ *S. aureus*

ตรวจวัดคุณภาพทางกายภาพและทางเคมีโดย วัดค่าสี ที่ผิวหน้าของหมักแห้ง (CIE L* a* และ b*, Illuminant D65) สุ่มตัวอย่างทั้งหมด 9 ช่วงเวลา ได้แก่ ในวันที่ผลิตก่อนเริ่มการหมักที่ 30 องศาเซลเซียส (D0) ภายหลังการหมักที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 23 ชั่วโมง ซึ่งเป็นช่วงเวลาก่อนเริ่มให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียส (D1BH; before heating) ระยะเวลาประมาณ 30 นาที ภายหลังให้ความร้อนครบ 2 ชั่วโมง (D1AH; after heating) และทุกวันหลังจากนั้น คือในวันที่ 2 3 4 5 6 และ 7 ของการบ่ม (D2 D3 D4 D5 D6 และ D7 ตามลำดับ)

ภายหลังวัดค่าสี วิเคราะห์หาปริมาณกรดแลคติก ค่า pH ค่า Aw และเปอร์เซ็นต์ความชื้น และคำนวณหาปริมาณน้ำหนักระหว่างกระบวนการผลิต โดยชั่งน้ำหนักหมักแห้งจำนวน 3 พวงต่อ

กลุ่มทดลอง ซึ่งในแต่ละพวงประกอบด้วยหมีแท่งจำนวน 6-10 แท่ง และชั่งน้ำหนักอีกครั้งเมื่อสิ้นสุดกระบวนการผลิตในวันที่ 7

ผลการศึกษา

1. หมีแท่งที่พัฒนาขึ้นโดยใช้วิธีผลิตแบบตะวันตกมีคุณสมบัติจัดเป็นหมีแท่งหรือกึ่งแท่งเนื่องจากมีค่า pH น้อยกว่า 5.3 ค่า A_w ประมาณ 0.82-0.83 ซึ่งต่ำกว่า 0.91 ปริมาณความชื้นประมาณ 35 เปอร์เซ็นต์ โดยสูญเสียความชื้นไปมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ หลังการผลิต ซึ่งคุณสมบัติที่ได้อาจจะจัดเป็นกลุ่ม Shelf-stable meat product หากเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสม อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงคุณภาพด้านอื่นๆ เช่น อายุการเก็บรักษา และการยอมรับของผู้บริโภคทั่วไปในจำนวนมากขึ้น

2. การผลิตโดยใช้กล้ำเชื้อ ร่วมกับการให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง สามารถเพิ่มความปลอดภัยโดยช่วยควบคุมปริมาณ Coliforms และยีสต์ได้ โดยพบว่ากล้ำเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 อาจจะสามารถเจริญได้ดีกว่า *Lactococcus lactis* spp. *lactis* P 2 เล็กน้อย หากมีการให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง สำหรับผลของการใช้กล้ำเชื้อร่วมกับการให้ความร้อนต่อการควบคุมจุลินทรีย์ที่ก่อโรคเพื่อเพิ่มความปลอดภัยในการบริโภค ควรศึกษายืนยันด้วย Microbial challenge ต่อไป

3. กล้ำเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ให้ผลด้านจุลินทรีย์และเคมีไม่แตกต่างจากการใช้กล้ำเชื้อทางการค้ามากนัก แต่การใช้กล้ำเชื้อทางการค้าอาจจะให้ผลิตภัณฑ์ที่มีสีแดงกว่าเล็กน้อย ซึ่งคุณภาพด้านสีเป็นข้อที่ควรปรับปรุงสำหรับการผลิตหมีแท่งที่ผลิตโดยใช้กล้ำเชื้อแบคทีเรียแลคติกซึ่งค้นพบโดยนักวิจัยของศูนย์เครือข่ายการวิจัยเทคโนโลยีเนื้อสัตว์ แม้ว่าสีกล้ำเชื้อของผลิตภัณฑ์ที่ได้ค่อนข้างเป็นสีปกติของหมีเนื้อโคโดยทั่วไป นอกจากนี้ผลในการเป็นโปรไบโอติกยังต้องมีการยืนยันด้วยการศึกษาเพิ่มเติม สำหรับเบื้องต้นกำลังอยู่ในระหว่างการศึกษาเพื่อยืนยันว่ากล้ำเชื้อที่ใช้ยังคงมีชีวิตอยู่ในระหว่างกระบวนการผลิต ซึ่งไม่ได้รวมอยู่ในรายงานส่วนนี้

3.2 พัฒนาเนื้อหมักเปรี้ยวกึ่งแห้งชาลามิผสมชาเขียว

ผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวแบบตะวันตกที่เป็นที่รู้จักดี คือ ชาลามิ ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์กึ่งแห้งถึงแห้งมีอายุของการเก็บรักษานาน เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความเป็นกรดและมีค่า Water Activity, A_w ต่ำ เป็นผลิตภัณฑ์ที่สร้างมูลค่าเพิ่มได้มาก สามารถใช้วัตถุดิบเนื่องจากสัตว์ที่มีความเหนียวจากเนื้อโคที่มีอายุมากมาใช้เป็นวัตถุดิบหลัก ซึ่งเนื้อโคพื้นเมืองมีความเหมาะสมอย่างมากในการที่จะผลิตเนื่องจากเนื้อโคไทยที่มีไขมันน้อย เนื้อแห้งและมีสีเข้มและสามารถใช้เนื่องจากชิ้นส่วนรอง เช่น เนื้อคอ และเนื้อพื้นท้องมาเป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตได้ แต่เนื่องจากผลิตภัณฑ์นี้ใช้ไขมันสุกรเป็นส่วนประกอบสูงถึง 20-30 เปอร์เซ็นต์ โอกาสที่อายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์จะสั้นลงเนื่องจากการหืนของไขมันโดยปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันร่วมกับการทำงานของเอนไซม์ไลเปสมีสูงมากเช่นกัน และโดยเฉพาะอากาศร้อนแบบบ้านเราจะทำให้เร่งปฏิกิริยาการทำงานของเอนไซม์ การใช้สารสกัดจากชาเขียวมาเป็นส่วนผสมในการทำผลิตภัณฑ์ดังกล่าวจึงมีโอกาที่จะช่วยทำให้อายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์นานขึ้น เนื่องจาก ชาเขียวมีสารคาเทชินซึ่ง

เป็นองค์ประกอบสำคัญของสารโพลีฟีนอล มีคุณสมบัติที่ดีหลายประการซึ่งมีในรายงานนักวิจัยเป็นจำนวนมาก เช่นเป็นสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) เป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (antimicrobial) ป้องกันการเกิดมะเร็ง (anticarcinogenic) เป็นต้น ดังนั้นการรักษาคุณภาพให้มีอายุการเก็บรักษายาวนานขึ้น โดยใช้สารสกัดจากธรรมชาติ เช่น ชาเขียว ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวชาลามีจึงเป็นเรื่องน่าจะได้มีการศึกษา

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากชาเขียวในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์และคุณภาพของผลิตภัณฑ์จากเนื้อหมักเปรี้ยวชาลามี
2. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากชาเขียวในการยืดการเก็บรักษาเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากเนื้อหมักเปรี้ยวชาลามี
3. เพื่อศึกษากระบวนการหมักและบ่มที่เหมาะสมสำหรับผลิตเนื้อโคหมักเปรี้ยวกึ่งแห้ง (ชาลามี)

ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงคุณภาพเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์ ทางด้านกายภาพ และชีวภาพ
2. ได้ทราบถึงกระบวนการผลิตและการบ่มของผลิตภัณฑ์เนื้อโคหมักเปรี้ยวแบบแห้งที่เหมาะสมเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาผลิตภัณฑ์
3. ได้ทราบความเป็นไปได้ในการใช้ของสารสกัดจากชาเขียวในการชะลอการหืนของผลิตภัณฑ์

ผลการศึกษา

การเติมสารสกัดชาเขียว 0, 10 และ 20 กรัมต่อกิโลกรัม ในผลิตภัณฑ์ชาลามี ที่ระยะเวลาการบ่ม 0, 7, 14, 21, 28, 35 และ 42 วัน ปรากฏผลดังนี้

1. การใช้สารสกัดชาเขียวเติมลงในผลิตภัณฑ์ชาลามีสามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (TBARS) ได้ โดยพบว่าค่าการออกซิเดชันมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาในการบ่มโดยมีค่า (LSM) เท่ากับ 0.273 0.782 มิลลิกรัม MDA ต่อกิโลกรัมชาลามี ในขณะที่กลุ่มที่ไม่เสริมสารสกัดชาเขียวมีค่า (LSM) เท่ากับ 0.782 มิลลิกรัม MDA ต่อกิโลกรัมชาลามี

2. การเสริมสารสกัดชาเขียวมีจำนวนเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกมากกว่าในกลุ่มที่ไม่เสริมสารสกัดชาเขียว ซึ่งเป็นแบคทีเรียกลุ่มที่มีประโยชน์ ในส่วนเชื้อโคลิฟอร์ม จะพบว่ากลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียวจะมีจำนวนน้อยกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมสารสกัดชาเขียว นอกจากนี้การเติมสารสกัดชาเขียวจะลดปริมาณยีสต์และราที่บริเวณผิวได้บรรจุได้

3. ผลิตภัณฑ์ชาลามีที่เสริมและไม่เสริมสารสกัดชาเขียว มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่า pH ตลอดระยะเวลาในการบ่มไม่ต่างกัน แต่พบว่ากลุ่มที่ไม่เสริมสารสกัดชาเขียวมีค่า A_w และ เปอร์เซ็นต์ความชื้นของผลิตภัณฑ์ชาลามีตลอดระยะเวลาในการบ่มเท่ากับ 0.898 และ 36.38 เปอร์เซ็นต์ ต่างจากกลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียวทั้งสองกลุ่ม ($P < 0.0001$) ขณะที่กลุ่มที่เสริมสกัดชาเขียวด้วยกันมีค่า A_w และ เปอร์เซ็นต์ความชื้นไม่แตกต่างกันแต่จะมีค่าต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่เติมสารสกัดชาเขียว

4. ระยะเวลาในการบ่มผลิตภัณฑ์ชาลามีที่เหมาะสมคือ 28 วัน โดยพิจารณาจากข้อกำหนดคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ชาลามีที่ควรมีค่า A_w ไม่เกิน 0.91 มีความชื้นน้อยกว่า 35 เปอร์เซ็นต์ และมีค่า pH น้อยกว่า 5.2 ทั้งนี้พบว่าผลิตภัณฑ์ชาลามีที่ระยะการบ่ม 28 วันในกลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0, 10 และ 20 กรัมต่อกิโลกรัม มีค่า A_w เท่ากับ 0.870, 0.884 และ 0.887 มีค่าความชื้นเท่ากับ 29.69, 31.21 และ 31.15 เปอร์เซ็นต์ และมีค่า pH เท่ากับ 4.56, 4.51 และ 4.52 ตามลำดับ

5. เมื่อพิจารณาถึงคุณสมบัติที่เกี่ยวข้องกับลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์ คือ สีของผลิตภัณฑ์ชาลามีที่เสริมสารสกัดชาเขียว 20 กรัมต่อกิโลกรัม จะมีสีแดงของผลิตภัณฑ์ที่ลดลงมากกว่ากลุ่มอื่นๆ ซึ่งการมีลักษณะสีแดงของผลิตภัณฑ์ชาลามีเป็นลักษณะที่พึงประสงค์ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า การเติมสารสกัดชาเขียว 10 กรัมต่อกิโลกรัมเพียงพอที่จะช่วยทำให้เพิ่มคุณภาพทางด้านความปลอดภัยอาหารของผลิตภัณฑ์ชาลามีซึ่งใช้เนื้อโศไทยธรรมชาติเป็นส่วนประกอบหลัก โดยไม่ทำให้คุณภาพทางด้านสีของผลิตภัณฑ์ชาลามีลดลง นอกจากนี้ยังใช้ระยะการบ่มไม่ต่างกัน

1. หลักการและเหตุผล

ผลจากการศึกษาวิจัยภายใต้ชุดโครงการการขยายโอกาสธุรกิจเนื้อโคไทย พบว่า เนื้อโคไทยแต่ละประเภทที่ผลิตได้มีความเหมาะสมในการนำไปใช้ประโยชน์แตกต่างกัน เนื้อโคพื้นเมืองไม่เหมาะที่จะนำไปใช้ประโยชน์ ทำอาหารประเภทสเต็กเพราะเนื้อมีความเหนียวมาก การบ่มเนื้อถึง 14 วันช่วยทำให้เนื้อนุ่มขึ้นเล็กน้อย และแม้ว่าจะเพิ่มระยะเวลาการบ่มที่นานขึ้น เป็นเวลา 21 หรือ 30 วันก็ไม่ช่วยให้เนื้อนุ่มมากขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเจน แสดงให้เห็นว่าอาจจะเป็นไปได้ที่มีการย่อยสลายของไมโอไฟบริลลาโปรตีนน้อย เนื้อที่มีคุณลักษณะเช่นนี้เหมาะที่จะนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์เนื้อ

องค์ความรู้เกี่ยวกับคุณภาพเนื้อโคพื้นเมืองไทยในเชิงลึกยังไม่มีการศึกษา จากการศึกษาวิจัยเบื้องต้นพบว่า เนื้อโคพื้นเมืองโดยทั่วไปแล้วจะมีสีเข้ม เนื้อแน่นเป็นมันวาว เส้นใยกล้ามเนื้อละเอียดเหมาะที่จะนำไปทำผลิตภัณฑ์เนื้อกลุ่มบดละเอียดได้แก่ ลูกชิ้น ผลิตภัณฑ์เนื้ออิมัลชัน นอกจากนี้ยังเหมาะที่จะนำไปทำผลิตภัณฑ์หมักเปรี้ยวแบบตะวันตก ได้แก่ ซาลามิ แฮมดิบ (air dried beef) ซึ่งผลิตภัณฑ์หมักเปรี้ยวที่กล่าวถึงนี้ปัจจุบันโรงงานผลิตของภาคเอกชนได้ผลิตอยู่แล้วโดยใช้เนื้อโคพื้นเมือง หรือเนื้อโคลูกผสมพื้นเมืองบราห์มันที่เลี้ยงด้วยหญ้าเป็นอาหารหลัก ทั้งนี้ได้มีการใช้ล้าเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ (starter culture) มาใช้ในการผลิตเพื่อควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ให้มีความสม่ำเสมอ และที่สำคัญคือความปลอดภัยด้านอาหาร

เชื้อบริสุทธิ์ที่กล่าวมาได้นำเข้ามาจากต่างประเทศ และเป็นเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่ไม่มีคุณสมบัติเป็น probiotic ดังนั้นการนำกลุ่มเชื้อ probiotic ที่พบได้โดยผู้วิจัยไทย มาทดลองใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวแบบตะวันตกจะเป็นการริเริ่มพัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อเพื่อสุขภาพ (functional food) ที่สามารถสร้างเอกลักษณ์ผลิตภัณฑ์เนื้อได้

นอกจากนี้ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวแบบพื้นบ้าน เช่น แหนม ไส้กรอกเปรี้ยว ควรได้มีการนำเทคโนโลยีการเติมกลุ่มเชื้อ probiotic มาใช้เช่นกัน ซึ่งแม้ว่า ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวจำเป็นต้องผ่านกระบวนการทำให้สุกก่อนการบริโภคซึ่งจะทำให้เชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกตาย แต่ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีความปลอดภัยทางด้านอาหารมากกว่า ผลิตภัณฑ์ที่ไม่เติมกล้าเชื้อจุลินทรีย์

2. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อโคธรรมชาติที่มีความเป็นไปได้ในการสร้างตราสินค้า (brand)
2. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยว probiotic แบบตะวันตก
3. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวกึ่งแห้ง probiotic แบบพื้นบ้าน
4. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวกึ่งแห้ง probiotic ในรูปแบบของเนื้อเค็มแบบตะวันตก (beef jerky)

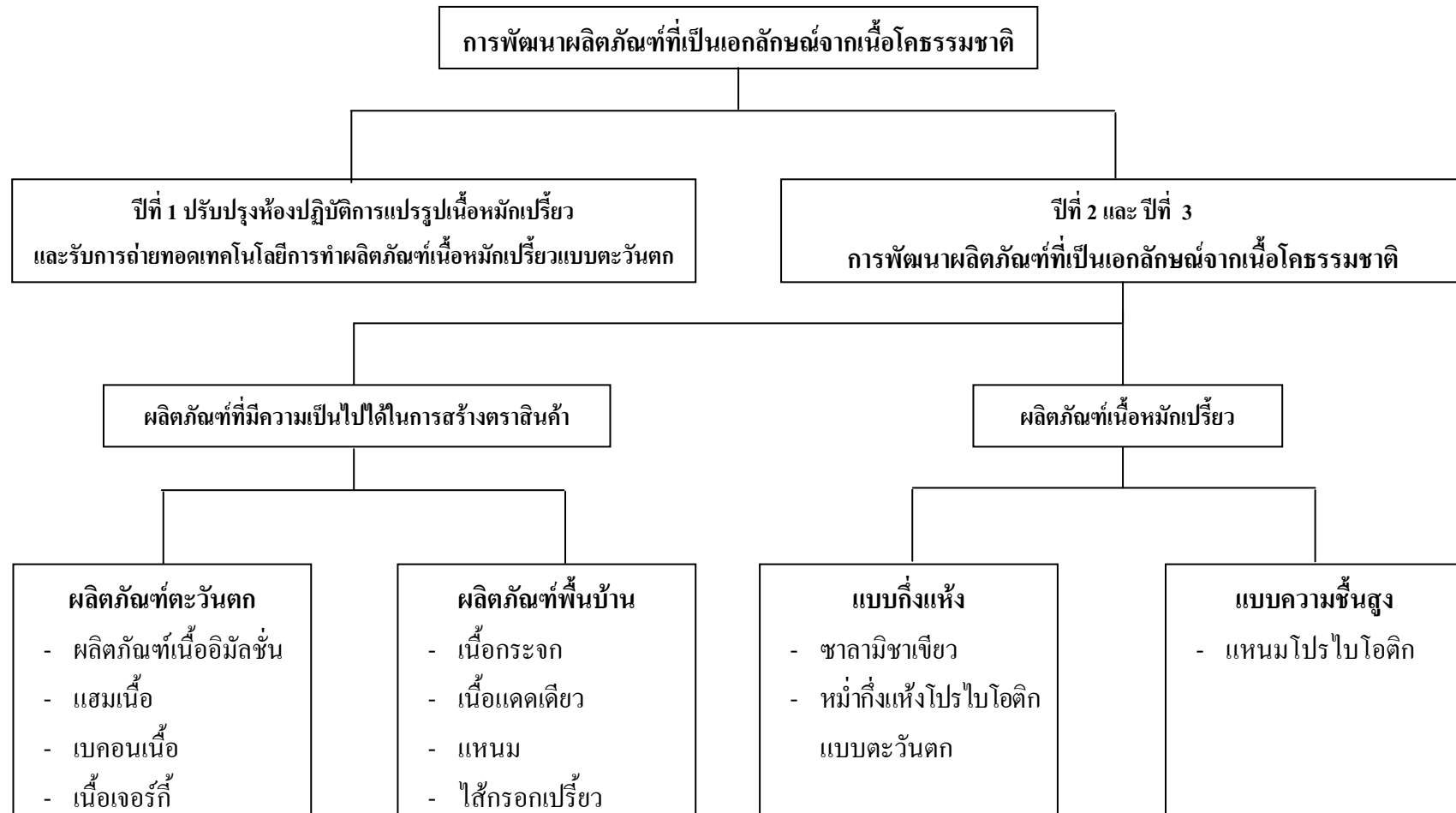
3. ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้พัฒนาผลิตภัณฑ์จากเนื้อโคไทยที่มีความเป็นไปได้ทางตลาด
2. ได้พัฒนาการผลิตเนื้อหมักเปรี้ยวจากเนื้อโคที่มีความปลอดภัยด้านอาหาร
3. ได้แนวทางในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารเนื้อสัตว์เพื่อสุขภาพ
4. ได้เทคโนโลยีการผลิต ผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวแบบตะวันตก
5. ได้ผลงานวิจัยตีพิมพ์ในวารสารระดับชาติ
6. ได้ผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวจากโคพื้นเมืองไทยที่มีความเป็นเอกลักษณ์
7. ได้นักวิจัยรุ่นใหม่

4. ขอบเขตการวิจัย

การวิจัยมุ่งเน้นการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากเนื้อโคไทย ที่ใช้วัตถุดิบจากเนื้อโคพื้นเมืองที่ทราบแหล่งที่มาและอยู่ภายใต้ระบบการผลิตเนื้อโคธรรมชาติ (natural beef) โดยเน้นการพัฒนาผลิตภัณฑ์ภายใต้ระบบการหมักเปรี้ยว (fermentation) โดยใช้กลูต้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่เป็น probiotic ของนักวิจัยในโครงการมาใช้ในการผลิต และผลิตภัณฑ์ที่มีความเป็นไปได้ในการสร้างตราสินค้า โดยเน้นการใช้ประโยชน์จากเนื้อชิ้นส่วนรองที่ได้จากการตัดแต่ง และสร้างมูลค่าเพิ่มจากการใช้ประโยชน์จากเนื้อชิ้นส่วนหลัก

ขอบเขตการดำเนินงาน (3 ปี)



5. เป้าหมายของการวิจัย

เพิ่มศักยภาพในการขยายโอกาสทางการตลาดของเนื้อโคไทยตลอดห่วงโซ่ของการผลิตเนื้อโคและผลิตภัณฑ์ และเพื่อพัฒนาคุณภาพชีวิตของคนไทยในการบริโภคเนื้อโคและผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพและปลอดภัย

6. สถานที่ดำเนินงานวิจัย

หน่วยปฏิบัติการวิจัยศูนย์เครือข่ายการวิจัยเทคโนโลยีเนื้อสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

7. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ประเภทของผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก

การจัดแบ่งกลุ่มของผลิตภัณฑ์เนื้อหมักซึ่งเป็นที่ยอมรับ โดยเฉพาะในกลุ่มผลิตภัณฑ์แบบลดรูปประเภทไส้กรอกหมัก เช่น แหนม ไส้กรอกเปรี้ยว และหม่า ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์เนื้อหมักพื้นบ้านของไทย หรือไส้กรอกหมักแบบตะวันตก เช่น ซาลามิ หรือ เปปเปอร์โรนนิ คือการจัดแบ่งออกตามปริมาณความชื้นที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์ ซึ่ง Campbell-Platt (1995) อธิบายว่าอาจแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่ม ดังต่อไปนี้

1. ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักแบบแห้ง (dry fermented sausages)

ที่มาของ Dry fermented sausage นั้นเชื่อกันว่ามาจากประเทศทางตอนใต้ของยุโรป เช่น แถบเมดิเตอร์เรเนียน เนื่องจากมีอากาศอบอุ่นกว่าทางเหนือของยุโรป สามารถลดความชื้นได้ดีกว่าโดยการตากแดด (Toldra *et al.*, 2007) ตัวอย่างของไส้กรอกแบบแห้ง เช่น Genoa salami ที่มักผลิตจากเนื้อสุกรบดละเอียด ไขมันสุกร และเนื้อโคอีกเล็กน้อย นอกจากนี้ยังมี Pepperoni ซึ่งเป็นไส้กรอกชนิดบดหยาบที่ผลิตจากเนื้อสุกรและเนื้อโค แต่อาจผลิตจากเนื้อสัตว์เพียงชนิดใดชนิดหนึ่งก็ได้เช่นกัน มีไขมันประมาณ 30-35 เปอร์เซ็นต์ มักใช้เป็นส่วนประกอบบนหน้าของพิซซ่า และ Dry salami ซึ่งเป็นไส้กรอกแห้งจากเนื้อสุกรและเนื้อโคที่ไม่ผ่านการทำสุก แต่มักจะรมควัน ผลิตภัณฑ์ทั้งสามชนิดนี้มักจะมีราขาวเกิดคลุมที่ผิวหน้าออกด้วย อย่างไรก็ตาม Dry fermented sausage นั้นมักไม่ผ่านการทำให้สุก และจะมีการรมควันในเฉพาะบางผลิตภัณฑ์ โดยมักจะเป็นการรมควันแบบเย็นที่ 15-25 องศาเซลเซียส (Campbell-Platt, 1995)

ขั้นตอนการหมัก โดยส่วนใหญ่จะเกิดขึ้นอย่างช้าๆ (Slow fermentation) เพราะมักจะใช้อุณหภูมิต่ำ เช่น 15-26 องศาเซลเซียสที่ความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ เวลาประมาณ 3 วัน

หรือจนกระทั่งได้ค่า pH น้อยกว่า 4.7 แต่ในสหรัฐอเมริกา พบว่ามีการหมักที่ประมาณ 38-43 องศาเซลเซียสด้วยเวลาที่สั้นลงคือน้อยกว่า 24 ชั่วโมง (Fast fermentation) ทั้งนี้ขึ้นกับขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของไส้กรอกด้วย ค่า pH อาจอยู่ระหว่าง 4.7 ถึงไม่เกิน 5.3 (Ricke and Keeton, 1997) จากนั้นจึงเข้าสู่กระบวนการทำแห้ง โดยลดความชื้นอย่างค่อยเป็นค่อยไปที่ 12-15 องศาเซลเซียสและมีการลดลงของความชื้นสัมพัทธ์ในการบ่มอย่างต่อเนื่อง (Campbell-Platt, 1995) ในสหรัฐอเมริกา อุณหภูมิการทำแห้งจะอยู่ที่ประมาณ 10-11 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 68-72 เปอร์เซ็นต์ อาจใช้เวลาอย่างน้อย 21 วัน โดยจะมีการสูญเสียความชื้นไปประมาณ 25-50 เปอร์เซ็นต์ ความเป็นกรดที่เกิดขึ้นจะช่วยเร่งให้ผลิตภัณฑ์แห้งเร็วขึ้นด้วย เพราะเมื่อค่า pH เข้าใกล้ค่า Isoelectric point ของโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อ ทำให้ความสามารถในการจับน้ำลดลง ความชื้นในผลิตภัณฑ์จึงลดลงได้ดีขึ้น โดยทั่วไป Dry fermented sausage มักมีค่า pH ประมาณ 5.0-5.3 ปริมาณกรดแลคติกประมาณ 0.5-1.0 เปอร์เซ็นต์ และควรมีอัตราส่วนของปริมาณความชื้นต่อโปรตีน (Moisture to protein ratio; MPR) น้อยกว่า 2.3:1 โดยมีความชื้นในผลิตภัณฑ์น้อยกว่า 35 เปอร์เซ็นต์ และ ค่า Aw ไม่เกิน 0.91 (Getty, 2010)

การควบคุมกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์ Dry fermented sausage จะมีความลำบากมากกว่าการผลิต Semi dry fermented sausage ในบางครั้งอาจต้องใช้เวลานานถึง 90 วัน ซึ่งในระหว่างนี้จะนอกจากเป็นการลดความชื้นแล้ว ยังถือเป็นช่วงของการบ่ม (Ripening) ที่จะทำให้เกิดการพัฒนากลิ่นรสที่เป็นเอกลักษณ์ของแต่ละผลิตภัณฑ์ด้วย ในระหว่างนี้ ไส้กรอกจะมีน้ำหนักลดลง มีการหดตัว ในบางผลิตภัณฑ์จะพบว่าผิวของไส้บรรจุไส้กรอกอาจดูเหี่ยวแห้งขึ้น จากระยะเวลาในการผลิตที่ยาวนานทำให้มีโอกาสสูงที่ผลิตภัณฑ์จะเกิดการเสื่อมเสียทั้งทางเคมี หรือโดยเชื้อจุลินทรีย์ที่อาจปนเปื้อนมา แต่หากกระบวนการผลิตเป็นไปอย่างถูกต้องก็จะได้ผลิตภัณฑ์เนื้อที่มีความคงตัวสูง สามารถเก็บไว้ได้โดยไม่ต้องแช่เย็น ปริมาณเกลือ ความเป็นกรด ระดับความชื้นสุดท้ายของผลิตภัณฑ์ (ประมาณ 25-35 เปอร์เซ็นต์) และชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ จะทำให้ผลิตภัณฑ์มีรสชาติเฉพาะตัวและลักษณะเนื้อสัมผัสที่ค่อนข้างแน่นมีความเป็นเอกลักษณ์ ระหว่างการบ่มอาจพบว่ามีผลิตภัณฑ์เนื้อหมักหลายชนิด อาจมีการเจริญของเชื้อราสีขาว (*Penicillium*) ปกคลุมบนผลิตภัณฑ์ การเจริญของเชื้อราในลักษณะนี้ของผลิตภัณฑ์กลุ่มนี้ ถือเป็นสิ่งที่น่าพึงพอใจ เพราะเชื่อว่าราจะช่วยให้การลดความชื้นเป็นไปอย่างค่อยเป็นค่อยไป ช่วยลดโอกาสการเกิดกลิ่นหืน และยังช่วยทำให้ไส้กรอกหมักแบบแห้งมีรสชาติไม่เปรี้ยวมากเกินไป และมีกลิ่นรสเฉพาะตัวที่น่าพึงพอใจของผู้บริโภค โดยเฉพาะชาวตะวันตก ด้วยเหตุนี้ในการผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อหมักบางประเภทของชาวตะวันตก จึงมีการใช้กล้าเชื้อราอย่างตั้งใจ เพื่อให้เกิดการเจริญของเชื้อรากลุ่มที่พึงประสงค์และมีความปลอดภัยต่อการบริโภค อย่างไรก็ตามหากผลิตภัณฑ์ได้ผ่านการรมควันมาก่อน มักไม่พบการเจริญของเชื้อรา แต่โดยทั่วไป ไส้กรอกหมักแบบแห้งมักจะไมผ่านการรมควัน หรือรมควันเพียงเล็กน้อยเท่านั้น (Rust, 2004)

2. ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักแบบกึ่งแห้ง (Semi-dry fermented sausages)

ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักแบบกึ่งแห้งมีแหล่งกำเนิดดั้งเดิมมาจากแถบยุโรป โดยเฉพาะประเทศเยอรมัน อาจผลิตจากเนื้อและมันจากสุกร หรือโค หรืออบดหยาบผสมกัน มักมีปริมาณความชื้นในผลิตภัณฑ์ประมาณ 35-50 เปอร์เซ็นต์ แปรรูปโดยการหมักที่อุณหภูมิ 25-32 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ค่อนข้างสูง (85-95 เปอร์เซ็นต์) และมักผ่านการรมควัน (Smoking) ที่ 35-50 องศาเซลเซียส เวลาประมาณ 12-48 ชั่วโมง (Campbell-Platt, 1995) ระดับของอุณหภูมิในการรมควันอาจเป็นแบบรมควันเย็น (15-25 องศาเซลเซียส) รมควันอุ่น (30-50 องศาเซลเซียส) หรือรมควันร้อน (60-90 องศาเซลเซียส) ซึ่งหากเป็นการรมควันร้อน อุณหภูมิสุดท้ายที่วัดได้ ณ ใจกลางของผลิตภัณฑ์อาจมีค่าถึง 65 องศาเซลเซียสหรือสูงกว่านั้น (Rust, 2007) ซึ่งเป็นการทำให้สุกไปในตัว เพื่อเพิ่มความปลอดภัยในการบริโภค หลังจากนั้นอุณหภูมิในการผลิตจะถูกลดลงให้อยู่ในช่วง 14-18 องศาเซลเซียส ภายใต้ความชื้นสัมพัทธ์ที่ต่ำลง เพื่อลดความชื้นและเพื่อบ่มไส้กรอก อาจใช้เวลาประมาณ 10-25 วัน Semi-dry fermented sausages มักมีค่า pH ประมาณ 4.7-5.1 ปริมาณกรดแลคติกประมาณ 0.5-1.3 เปอร์เซ็นต์ และค่า MPR มากกว่า 2.3:1 แต่จะไม่เกิน 3.7:1 ปริมาณความชื้นในผลิตภัณฑ์อาจสูญเสียไปประมาณ 8-15 เปอร์เซ็นต์ มีค่า Aw ประมาณ 0.90-0.94 แต่คุณสมบัติต่างๆ เหล่านี้อาจแตกต่างกันไป ขึ้นกับชนิดของผลิตภัณฑ์ ข้อกำหนดของผู้ผลิตแต่ละราย หรือข้อกำหนดของแต่ละประเทศ (Getty, 2010) ตัวอย่างของผลิตภัณฑ์ ได้แก่ Summer sausages Thuringer และ Lebanon bologna ที่ผลิตในสหรัฐอเมริกา สำหรับผลิตภัณฑ์ชนิดหลัง Rust (2004) กล่าวว่า เป็น Semi-dry fermented sausage ที่ผลิตจากเนื้อวัวล้วน ผสมกับส่วนผสมอื่นๆ มีพริกไทดำเป็นเครื่องเทศหลัก บางกรณีอาจใช้อุณหภูมิในการหมักที่สูงถึง 30-43 องศาเซลเซียสเพื่อเร่งกระบวนการสร้างกรด (Fast fermentation) และมักผ่านการรมควันแบบเย็นเป็นเวลาค่อนข้างนาน มีลักษณะเนื้อสัมผัสคล้าย Salami แต่มีสีเข้มกว่า มีไขมันต่ำ แม้จะมีความชื้นค่อนข้างสูง แต่เพราะมีความเป็นกรดสูง (pH ประมาณ 4.5) และรสค่อนข้างเปรี้ยว ทั้งยังรมควัน จึงสามารถเก็บไว้ได้นาน สำหรับ Summer sausages นั้น Getty (2010) ระบุว่ามักมีค่า pH ต่ำกว่า 5.0 ปริมาณกรดแลคติกประมาณ 1.0 เปอร์เซ็นต์ ค่า MPR เท่ากับ 3.1:1 และความชื้นในผลิตภัณฑ์ประมาณ 41-51 เปอร์เซ็นต์

Semi-dry fermented sausages มีอายุการเก็บรักษานานขึ้น เพราะ 1) มีสัดส่วนของเกลือต่อปริมาณความชื้นที่สูง 2) ความเป็นกรดสูง (pH ต่ำกว่า 5.3) ทั้งนี้ผลิตภัณฑ์ชนิดนี้จะเก็บไว้ได้นานขึ้นหากมีค่า pH ประมาณ 4.8-5.0 และมีปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดแลคติก ในช่วง 0.75-1.0 เปอร์เซ็นต์ และ 3) มักมีการทำให้สุกในระดับที่สามารถลดการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเน่าเสีย อย่างไรก็ตาม Semi-dry fermented sausages จะเก็บได้นานขึ้นหากเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น ซึ่งเป็นข้อแนะนำในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กลุ่มนี้ในสหรัฐอเมริกา ตัวอย่างอีกชนิดซึ่งกำลังเป็นที่นิยมอย่างมากในประเทศตะวันตก โดยเฉพาะในสหรัฐอเมริกา คือ Snack sticks ชนิดต่างๆ เช่น Beef snack sticks ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์เนื้อโคทานเล่น และอาหารสะดวกบริโภค (Convenient foods) จัดเป็น Semi-

dry fermented sausages ที่มีอายุการเก็บรักษาก่อนข้างนาน สามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องได้หากมีการบรรจุอย่างเหมาะสม (Shelf-stable) มีสูตรผสมที่คล้ายกับ summer sausage และอาจมีการเสริมเครื่องเทศจัด เช่น พริกประเภทต่างๆ มักผลิตโดยใช้ไส้บรรจุคอลลาเจนที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 15-19 มม. และมักแยกบรรจุแบบสุญญากาศ จำหน่ายเป็นแท่งๆ (Getty, 2010)

3. ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักชนิดที่มีความชื้นสูง (Moist fermented meat products)

วิธีการผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อหมักกลุ่มนี้มักจะผ่านช่วงของการหมักที่อุณหภูมิค่อนข้างสูง คือ ประมาณ 30-43 องศาเซลเซียสโดยใช้เวลาสั้นๆ ขึ้นกับชนิดของผลิตภัณฑ์ เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีค่า pH ที่ลดลงค่อนข้างเร็ว (Fast fermentation) อยู่ในช่วง 4.4-4.8 จากนั้นจึงมีการลดความชื้นของผลิตภัณฑ์ลงโดยใช้เวลาสั้นๆ เช่นกัน เวลาในการผลิตอยู่ในช่วง 3-5 วัน น้ำหนักที่สูญหายไปหลังการผลิตมักจะไม่มากกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ และทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความชื้นระหว่าง 50-60 เปอร์เซ็นต์ ค่า Aw จะยังคงมีค่ามากประมาณ 0.95-0.97 ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักแบบตะวันตกในกลุ่มนี้มักมีการรมควันด้วย ตัวอย่างของผลิตภัณฑ์ ได้แก่ กลุ่ม Spreadable fermented meat products ซึ่งเป็นที่นิยมในประเทศในแถบยุโรป เช่น Mettwurst และ Teewurst ของประเทศเยอรมัน (Campbell-Platt, 1995) สำหรับตัวอย่างผลิตภัณฑ์เนื้อหมักของไทย ได้แก่ แหนม โดยเฉพาะเมื่อผลิตแหนมโดยอัดใส่ไส้บรรจุพลาสติก พบว่าจะมีความชื้นสูงถึง 70 เปอร์เซ็นต์ และค่า Aw ประมาณ 0.96-0.97

อย่างไรก็ตามการจัดแบ่งประเภทของผลิตภัณฑ์เนื้อหมักแบบต่างๆนั้น มีความหลากหลายมาก และแม้ผลิตภัณฑ์ที่มีชื่อเดียวกัน อาจจะมีการจัดแบ่งประเภทแตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นกับคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ที่ได้ภายหลังการผลิต เช่น ความเป็นกรด ปริมาณความชื้น องค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์ ซึ่งจะขึ้นกับกระบวนการผลิตที่ใช้ในขั้นตอนต่างๆ ด้วย นอกจากนั้นผลิตภัณฑ์ที่มีคุณสมบัติคล้ายกัน ยังอาจมีชื่อเรียกแตกต่างกันไปตามแต่ละท้องถิ่นที่ผลิตด้วย

การใช้กล้ำเชื้อแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก

การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร โดยเฉพาะเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย (spoilage microorganism) และเชื้อที่ก่อให้เกิดโรค (pathogenic microorganism) ถือเป็นสิ่งไม่พึงประสงค์ แต่สำหรับผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แบบหมัก (fermented meat products) กลับต้องการให้มีการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ในระหว่างการหมักเนื้อ โดยเฉพาะจุลินทรีย์กลุ่มที่สามารถใช้คาร์โบไฮเดรต เช่น น้ำตาล กลูโคส (glucose) เป็นแหล่งวัตถุดิบในการผลิตกรดอินทรีย์ เช่น กรดแลคติกเป็นต้น (รุจริน ลิ้มศุภวานิช และจุฑารัตน์ เศรษฐกุล, 2552) ผลของกระบวนการหมักซึ่งเกิดจากการทำงานของกรดแลคติกเป็นหลัก ทำให้ผลิตภัณฑ์เนื้อหมักมีรสชาติออกเปรี้ยว (tangy) นอกจากนี้การสลายตัวและเสื่อมสภาพของโปรตีน (protein degradation and denaturation) ในวัตถุดิบเนื้อสัตว์ ซึ่งเกิดจากการทำงานร่วมกันของเอนไซม์ในเนื้อ และการทำงานของแบคทีเรียกรดแลคติก และการลดความชื้นลงในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก

บางประเภท ทำให้ผลิตภัณฑ์มีลักษณะเนื้อสัมผัสและกลิ่นรสเป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัว นอกจากนี้กรดอินทรีย์ที่ถูกผลิตโดยแบคทีเรียแลคติกยังช่วยยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มที่ไม่พึงประสงค์ จึงช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ได้ (Cocconcelli, 2007; Hugas and Monfort, 1997)

ในอดีตการผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อแบบหมักเกิดขึ้นโดยธรรมชาติตามภูมิปัญญาของมนุษย์ในแต่ละท้องถิ่น ดังเช่น การผลิตแฮมของไทย หรือซาลามี่ (salami) ของชาวตะวันตก จุลินทรีย์กลุ่มที่ผลิตกรดแลคติกซึ่งเกิดขึ้นโดยธรรมชาติ อาจมาจากตัววัตถุดิบเนื้อสัตว์เอง หรือจากอุปกรณ์และสิ่งแวดล้อมในการผลิต ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการผลิตแต่ละครั้งอาจมีรสชาติที่แตกต่างกัน คุณภาพไม่คงที่ ต่อมาจากความก้าวหน้าทางการวิจัย จึงมีกระบวนการคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มแลคติก นำมาผลิตเป็นกล้าเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น (starter culture) เพื่อใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก ช่วยให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพคงตัวขึ้น สามารถควบคุมกระบวนการหมักได้ดีขึ้น และเพิ่มความปลอดภัยให้กับผลิตภัณฑ์ เนื่องจากกรดอินทรีย์ หรือเอนไซม์บางชนิด รวมถึง bacteriocins ซึ่งเป็นโปรตีนที่ผลิตโดยเชื้อจุลินทรีย์ ตั้งแต่นั้นมีความคุณสมบัติในการต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่พึงประสงค์บางประเภท (Albano *et al.*; 2007; Cocconcelli, 2007)

กลุ่มของจุลินทรีย์ที่มักใช้เป็นกล้าเชื้อเริ่มต้นในกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อหมักได้แก่ กลุ่มของแบคทีเรียแลคติก เช่น *Lactobacillus* และ *Pediococcus*, กลุ่มแบคทีเรีย Micrococcaceae เช่น *Staphylococcus* และ *Micrococcus*, กลุ่มแบคทีเรีย *Streptomyces*, กลุ่มยีสต์ *Debaryomyces* และกลุ่มของรา *Penicillium* (Jessen, 1995) ซึ่งจุลินทรีย์แต่ละชนิดจะมีบทบาทของตนเองในกระบวนการหมักเนื้อ ตัวอย่างของกล้าเชื้อแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก เช่น

1. กล้าเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Lactobacillus*

จัดเป็นกลุ่มแบคทีเรียกรดแลคติก ชนิดแกรมบวก ที่มีรูปร่างเป็นแท่งแบบ rod ซึ่งประกอบด้วยจุลินทรีย์ ถึง กว่า 100 species ตัวอย่างของแบคทีเรียกลุ่ม *Lactobacillus* ที่นิยมใช้เป็นกล้าเชื้อในการหมักผลิตภัณฑ์เนื้อ เช่น *Lb. sakei*, *Lb. curvatus* และ *Lb. plantarum* ซึ่งอยู่ใน subgroup ของ facultative heterofermentative lactobacilli (Cocconcelli, 2007) คือมีคุณสมบัติสามารถเป็นได้ทั้ง homofermentative หรือ heterofermentative bacteria ขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำตาลที่เป็นแหล่งพลังงาน ทั้งนี้ ศศิวิมล ชื่นอ้อม อาเหม็ด และ อติสร เสวตวิวัฒน์ (2548) อธิบายว่า homofermentative bacteria สามารถย่อยสลายกลูโคส หรือน้ำตาลที่มีคาร์บอน 6 ตัว (hexose) ได้เป็นกรดอินทรีย์คือกรดแลคติกเป็นหลัก (ประมาณ 95 เปอร์เซ็นต์) รวมถึงกรดอินทรีย์อื่นๆ และคาร์บอนไดออกไซด์อีกเล็กน้อย ส่วน heterofermentative bacteria สามารถย่อยสลายกลูโคส หรือ hexose ได้เป็นกรดแลคติกประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ และเป็นกรดอะซิติก กรดอินทรีย์อื่นๆ เอทานอล ไดอะซิติก และคาร์บอนไดออกไซด์ รวมอีกประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ Cocconcelli (2007) กล่าวว่า *Lb. sakei* เป็นกล้าเชื้อ *Lactobacillus* ที่นิยมใช้ในการหมักผลิตภัณฑ์เนื้ออย่างกว้างขวางโดยเฉพาะในกลุ่มยุโรป เพราะนอกจากจะสร้างกรดแลคติก

แล้วยังสามารถย่อยสลายโปรตีนให้กรดอะมิโนบางชนิด เป็นผลให้ผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวมีกลิ่นรสที่เป็นเอกลักษณ์น่าพึงพอใจ และเนื่องจาก *Lb. sakei* สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิต่ำ และสามารถทนสถานะที่มีความเค็ม (10 เปอร์เซ็นต์ NaCl) ได้ดี ทั้งนี้ Jay (1996) กล่าวว่ากลุ่ม heterolactic จะมีบทบาทต่อการสร้างกลิ่นรสในผลิตภัณฑ์อาหารหมักมากกว่ากลุ่ม homofermentative bacteria เนื่องจากสามารถผลิตอะเซทาลดีไฮด์ และไดอะซีทิล เป็นต้น อย่างไรก็ตาม Jessen (1995) และ Petäjä-Kanninen and Puolanne (2007) กล่าวว่าในการผลิตไส้กรอกหมักเปรี้ยวนั้นจะนิยมใช้กล้าเชื้อที่เป็น homofermentative lactobacilli

2. กล้าเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Pediococcus*

เป็นกลุ่มแบคทีเรียแลคติกแกรมบวก มีรูปร่างกลม (coccus-shape) มีคุณสมบัติเป็น homofermentative bacteria คือสร้างกรดแลคติกเป็นหลัก ตัวอย่างจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้ที่มักใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวคือ *P. pentosaceus* หรือชื่อเดิมคือ *P. cerevisiae* (Cocconcelli, 2007) ซึ่งได้มีการเปลี่ยนชื่อจากเดิมมาก่อนที่เรียกว่า *P. acidilactici* และพบว่าจุลินทรีย์ชนิดนี้มีการสร้างกรดในปริมาณ 0.8-1.2 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้เป็นกล้าเชื้อในการผลิต Lebanon bologna ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์เนื้อโคหมักเปรี้ยวแบบกึ่งแห้งที่นิยมมากในสหรัฐอเมริกา (Jay, 1996) ทั้งนี้ Jessen (1995) อ้างจาก Blickstad and Molin (1981) ระบุว่า *P. pentosaceus* สามารถเจริญได้ในสภาวะแวดล้อมที่หลากหลาย มีอากาศหรืออับอากาศ มีความทนทานต่อเกลือไนไตรท์ และเจริญได้ในช่วง pH ที่ค่อนข้างกว้าง แต่จะมีอัตราการเจริญลดลงที่อุณหภูมิต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส ซึ่ง Kröckel (1995) อ้างจาก Lücke (1985) ระบุว่าในการผลิต Summer sausage ที่เป็นผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวของชาวสหรัฐนั้นมักจะใช้ *P. acidilactici* เป็นกล้าเชื้อโดยจะบ่มที่ 38 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ Tetlow and Hoover (1988) อ้างโดย Jessen (1995) ระบุว่านอกจาก *P. pentosaceus* จะผลิตแลคเตทแล้ว ยังสามารถผลิตเอทานอลและอะซีเตทจากน้ำตาล hexose และ pentose ที่มีคาร์บอน 5 ตัวด้วย ดังนั้นหลายครั้งจึงพบว่าไส้กรอกหมักเปรี้ยวของชาวตะวันตกที่หมักโดยใช้กล้าเชื้อ *Pediococcus* มีความเปรี้ยวไม่มากนัก

3. กล้าเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Micrococcaceae*

เป็นกลุ่มของจุลินทรีย์อีกประเภทหนึ่งที่มักใช้เป็นกล้าเชื้อเริ่มต้นในการผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก เช่น กล้าเชื้อ *Staphylococcus* และ *Micrococcus* เนื่องจากจุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถเปลี่ยนสารไนเตรทให้เป็นไนไตรท์ โดย Nitrate reductase activity การสลายตัวของไนไตรท์และทำปฏิกิริยากับสารสีธรรมชาติในเนื้อ คือไมโอโกลบิน เกิดเป็นไนโตรซิลไมโอโกลบิน (Nitrosylmyoglobin) จึงทำให้ผลิตภัณฑ์เนื้อหมักมีสีแดงชมพูซึ่งเป็นคุณลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์ ตัวอย่างของ *Staphylococcus* ซึ่งมีการคัดแยกได้จากผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักแบบความชื้นต่ำเช่น *Staphylococcus xylosus* (*S. xylosus*), *S. carnosus*, *S. saprophyticus* เป็นต้น ตัวอย่างของ *Micrococcus* เช่น *Micrococcus varians* ซึ่งปัจจุบันเรียกเป็น *Kocuria varians* นอกจากนี้คุณสมบัติที่พึงประสงค์อีกประการของกลุ่มแบคทีเรีย *Micrococcaceae* คือสามารถสร้าง Catalase ซึ่งจะสลาย hydrogen peroxide ที่บางครั้งถูกผลิตขึ้นโดย

แบคทีเรียแลคติก เนื่องจาก hydrogen peroxide มีผลทำให้สีของผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวชัดหรือผิดปกติ ไม่เป็นที่พึงประสงค์ (Cocconcelli, 2007)

สารยับยั้งจุลินทรีย์ที่สร้างโดยแบคทีเรียกรดแลคติก

นอกจากการผลิตกรดแลคติกแล้ว แบคทีเรียกรดแลคติกยังสามารถผลิตสารอื่นที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้ แต่ปริมาณการผลิตอาจอยู่ในจำนวนเพียงเล็กน้อย เช่น กรดอินทรีย์อื่นๆ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) คาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) แบคเทอริโอซิน (bacteriocin) และ ไดอะซิติดิล (diacetyl) เป็นต้น (ศิพัตม์ รักษ์เฝ้า, 2539)

1. กรดอินทรีย์ (organic acids)

กรดอินทรีย์ที่สำคัญที่สร้างจากแบคทีเรียกรดแลคติก ได้แก่ กรดแลคติก ซึ่งเป็นผลผลิตที่เกิดขึ้นในกระบวนการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรต เกิดการเปลี่ยนไพรูเวตไปเป็นกรดแลคติกโดยเอนไซม์ lactate dehydrogenase และเมื่อมีการสะสมมากขึ้นจะทำให้ค่า pH ลดลง สภาพความเป็นกรดที่มากขึ้นจนอาจมากเกินไป ทำให้ไม่เหมาะสมกับการเจริญของแบคทีเรียชนิดอื่น พบว่ากรดแลคติกจะทำให้เชื้อหุ้มเซลล์แตกออกและเอนไซม์ถูกปลดปล่อยออกมาจากเซลล์ หรือกรดแลคติกอาจแทรกผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียได้โดยตรง และเข้าไปอยู่ในส่วนของ cytoplasm ที่มี pH สูงกว่า ดังนั้นจึงเกิดการปลดปล่อยโปรตอนออกมานอกเซลล์เพื่อรักษาสมาดุลของ pH จึงทำให้เกิดการทำลายแรงขับเคลื่อนโปรตอน และทำลายกระบวนการเคลื่อนย้ายสารอาหารต่างๆ ส่งผลให้เกิดการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (De Vuyst and Vandamme, 1994)

2. ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide)

ความเป็นพิษของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์อาจเป็นผลมาจากการเกิดออกซิเดชันที่เยื่อหุ้มเซลล์ไขมันซึ่งจะแทรกซึมผ่านผนังเซลล์ได้เพิ่มมากขึ้น มีผลในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ โดยมีการจับออกซิเจนไว้ทำให้จุลินทรีย์เป้าหมายอยู่ในสภาวะไร้ออกซิเจนจึงไม่สามารถมีชีวิตอยู่ได้ และยังทำลายโครงสร้างโมเลกุลของกรดนิวคลีอิกและเซลล์โปรตีน (De Vuyst and Vandamme, 1994)

3. คาร์บอนไดออกไซด์ (Carbon dioxide)

Caplice and Fitzgerald (1999) รายงานว่า คาร์บอนไดออกไซด์เกิดขึ้นจากกระบวนการหมักน้ำตาลเฮกโซสให้เป็นกรดแลคติกแบบ heterofermentative ได้โดยตรงในสภาวะที่ไร้ออกซิเจน คาร์บอนไดออกไซด์สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์อื่นได้ด้วยกลไกการแทนที่โมเลกุลของออกซิเจน ทำให้เกิดสภาพไร้ออกซิเจน เยื่อหุ้มเซลล์เกิดการเสื่อมสภาพและทำให้เซลล์ตายในที่สุด

4. แบคเทอริโอซิน (Bacteriocins)

Muyanja *et al.* (2003) กล่าวว่า แบคเทอริโอซินเป็นสารประกอบโปรตีนขนาดใหญ่ มีโครงสร้างเป็นพอลิเพปไทด์ ประกอบด้วยกรดอะมิโนหลายร้อยตัวต่อกันแบบ linear chain เนื่องจากไม่มีพันธะไฮโดรเจนและ disulphide bridges (-s-s-) มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียหลายชนิดรวมทั้งแบคทีเรียก่อโรคในอาหาร สารแบคเทอริโอซินที่สร้างจากเชื้อต่างชนิดกัน

จะมีโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกัน และสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้แตกต่างกัน ตัวอย่างเช่น nisin, pediocin และ lactocin เป็นต้น โดย nisin เป็นแบคทีเรียโอซินชนิดแรกที่ถูกค้นพบผลิตได้จากแบคทีเรียกรดแลคติกสายพันธุ์ *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ซึ่งมีผลในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกโดยเฉพาะอย่างยิ่ง *Listeria monocytogenes* ฤทธิ์ในการต้านสารจุลินทรีย์ของ Nisin ขึ้นอยู่กับ receptor ที่ผนังเซลล์ของจุลินทรีย์เป้าหมาย ปัจจุบันแบคทีเรียโอซินได้รับอนุญาตให้มีการใช้ในอาหารในหลายประเทศ ซึ่งใช้เป็นสารเพื่อป้องกันการเน่าเสียในผลิตภัณฑ์นมและเนื้อสัตว์ (Hampikyan and Ugur, 2007)

โดยทั่วไปกลไกของแบคทีเรียโอซินในการยับยั้งจุลินทรีย์ จะเข้าไปทำปฏิกิริยาโดยเฉพาะกับสารหรือตัว receptor ที่อยู่รอบนอกเซลล์ สำหรับกลไกการยับยั้งจุลินทรีย์ทั้งในสภาพเซลล์ปกติและสปอร์ แบคทีเรียโอซินจะเข้าไปมีผลต่อผนังเซลล์ของแบคทีเรีย โดยถูกดูดซึมเข้าไปทางผนังเซลล์และมีผลทำให้เกิดการสูญเสียองค์ประกอบที่สำคัญจำพวก ATP ทำให้เซลล์ถูกย่อยสลาย ส่งผลให้มีการเคลื่อนย้ายไอออนอย่างอิสระและสูญเสียแรงเคลื่อนของโปรตอน (Proton motive force; PMF) จึงทำให้ความต่างศักย์ลดลงและไม่มีการสร้างพลังงานเกิดขึ้น เมื่อเซลล์ไม่สามารถนำสารอาหารขนาดใหญ่เข้าสู่เซลล์ได้ แต่น้ำสามารถไหลเข้าพร้อมกับการไหลออกของสารโมเลกุลขนาดเล็ก จึงทำให้เซลล์เกิดการแตกจากแรงดันออสโมติก (Sahl *et al.*, 1995) นอกจากนี้ยังไปมีผลยับยั้งการทำงานของหมู่ sulphhydryl group ของโปรตีนใน cytoplasmic membrane ทำให้เซลล์แบคทีเรียไม่สามารถเจริญได้ นอกจากนี้แบคทีเรียโอซินจะมีผลยับยั้งกระบวนการออกของสปอร์ ทำให้สปอร์ไม่มีผนังเซลล์ห่อหุ้มและกลายสภาพไปเป็นเซลล์ปกติ ซึ่งมีรายงานว่าแบคทีเรียโอซินสามารถยับยั้งสปอร์ของเชื้อ *Clostridium botulinum* และ *Bacillus cereus* (ศิริพัฒน์ รักษ์เฝ้า, 2539)

5. ไดอะซีทิล (Diacetyl)

ไดอะซีทิล เป็นสารที่ให้กลิ่นเฉพาะสามารถพบได้ในผลิตภัณฑ์นมหมัก และมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ด้วย แบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* และ *Streptococcus* สามารถสังเคราะห์ไดอะซีทิลขึ้นเป็นผลผลิตสุดท้ายที่ได้จากกระบวนการเมแทบอลิซึมของแบคทีเรียกรดแลคติก ซึ่งสังเคราะห์ขึ้นจากไพรูเวตที่เป็นสารตัวกลาง (intermediate) ในระหว่างการใช้น้ำตาลเฮกโซส (hexose) และบางครั้งอาจเกิดขึ้นจากการใช้ซิเตรท (citrate) โดยซิเตรทจะถูกเปลี่ยนผ่านไพรูเวตไปเป็นสารไดอะซีทิล และอาจอยู่ในรูปปริดิวัซ์ คือ อะซิโตอิน (acetoin; Caplice and Fitzgerald, 1999) นอกจากนี้ยังพบไดอะซีทิลในอาหารหมักหลายชนิด ความเข้มข้นของไดอะซีทิลที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารทั่วไปจะมากกว่า 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร อย่างไรก็ตามผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดจะแตกต่างกันออกไป (วรายุทธ สุระนรากุล, 2549)

6. ริวเทอร์ริน (Reuterine)

ริวเทอร์ริน ผลิตได้ในระหว่างระยะ stationary phase โดยแบคทีเรียชนิด *Lb. reuteri* ที่มีการเจริญแบบไม่ต้องการออกซิเจน สร้างจากกลูโคสและกลีเซอรอล หรือกลีเซอรอลดีไฮด์ สามารถยับยั้งกิจกรรมไรโบนิวคลีโอไทด์รีดักเตส (ribonucleotide reductase) เป็นสายพันธุ์ที่มีความสามารถในการต่อต้านไวรัส ราและโปรโตซัว (Caplice and Fitzgerald, 1999)

นอกจากคุณสมบัติในการต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่พึงประสงค์บางประเภท ปัจจุบันความก้าวหน้าของการวิจัยโดยเฉพาะการใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลยังนำไปสู่ความพยายามในการคัดสรรให้ได้กล้าเชื้อเริ่มต้นที่มีคุณสมบัติที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพในด้านต่างๆ (functional quality) นอกเหนือไปจากคุณสมบัติในการผลิตด้านคุณภาพและความปลอดภัยในการบริโภคดังกล่าวข้างต้น นั่นคือการใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นที่มีคุณสมบัติเป็น probiotic

ตามคำจำกัดความของ FAO/WHO (2002) probiotic bacteria หมายถึงเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มที่สามารถเจริญและทนต่อสภาวะภายในลำไส้และกระเพาะอาหารได้ และที่สำคัญคือเมื่อรับประทานเข้าไปในปริมาณที่เหมาะสมจะให้ผลดีต่อสุขภาพของผู้บริโภค ทั้งนี้ Arihara (2006) รายงานถึงผลดีจากการบริโภคอาหาร probiotic ที่มีต่อสุขภาพ เช่น ช่วยปรับสภาพของเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้ ป้องกันอาการท้องร่วง ลดอาการท้องผูก ลดโอกาสการเป็นมะเร็งลำไส้ เพิ่มภูมิคุ้มกัน ลดอาการโรคภูมิแพ้ และลดคอเลสเตอรอลในเลือด เป็นต้น อย่างไรก็ตามการนำเชื้อจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็น probiotic มาใช้ในอาหาร ควรพิสูจน์ได้ว่าจุลินทรีย์นั้นสามารถทนต่อภาวะความเป็นกรดและเกลือได้ดี สามารถยึดเกาะกับผนังลำไส้ และเจริญได้ดีภายในลำไส้ สามารถต้านทานจุลินทรีย์ที่ก่อโรคได้ และสร้างสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ไม่พึงประสงค์ได้ หรือสร้างสมดุลให้กับระบบภูมิคุ้มกัน และที่สำคัญคือปลอดภัยสำหรับการบริโภค (Ammor and Mayo, 2007, Arihara, 2006) นอกจากนี้ยังต้องมั่นใจได้ว่าจุลินทรีย์เหล่านั้นสามารถทนต่อสภาวะของผลิตภัณฑ์ซึ่งอาจจะมีความเป็นกรดสูง ระดับความชื้นต่ำ และทนต่อเกลือไนเตรทหรือไนไตรท์ที่เป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวได้ (De Vuyst *et al.*, 2008) ทั้งนี้ Jemenez-Colmenero *et al.* (2001) ระบุว่ามีการผลิต chorizo ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวแบบแห้งให้เป็น functional foods โดยเติม “active bifidus” และ “*Lactobacillus casei*” รวมทั้งการใช้กรรมวิธีผลิตพิเศษเพื่อให้มั่นใจว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่เติมเข้าไปยังมีชีวิตอยู่ เมื่อบริโภคจะมีผลให้ลดการดูดซึมของไขมันและคอเลสเตอรอล และช่วยเพิ่มการดูดซึมสารอาหาร อย่างไรก็ตามแนวโน้มการผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวประเภทความชื้นต่ำให้มีคุณสมบัติเป็น Functional foods โดยใช้กล้าเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็น probiotic มีความเป็นไปได้สูง เพราะโดยปกติผู้บริโภคสามารถบริโภคผลิตภัณฑ์เหล่านี้ได้โดยไม่ต้องผ่านการให้ความร้อน ซึ่งจะไม่ทำลายเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ที่เป็น probiotic (De Vuyst *et al.*, 2008; Ammor and Mayo, 2007; Arihara, 2006) นอกจากนี้ De Vuyst *et al.* (2008) ยังระบุว่า functional foods โดยเฉพาะกลุ่มอาหารที่มีคุณสมบัติเป็น probiotic กำลังเป็นที่นิยมของผู้บริโภค แต่การผลิตผลิตภัณฑ์ไส้กรอกที่มีคุณสมบัติเป็น probiotic เป็นการค้ายังไม่ปรากฏมากนัก สิ่งสำคัญคือจะต้องพิสูจน์ได้ว่า

ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักเปรี้ยว probiotic นั้นมีคุณสมบัติที่ดีต่อสุขภาพของผู้บริโภคจริง ขณะเดียวกัน การศึกษาถึงความชอบของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักเปรี้ยว probiotic ก็มีความจำเป็น ขณะที่ Incze (1998) กล่าวว่าความสามารถในการหมักของจุลินทรีย์บริสุทธิ์ที่เป็น probiotic รวมถึงคุณสมบัติในการให้กลิ่นรสที่ดีต่อผลิตภัณฑ์จัดเป็นปัจจัยที่ควรพิจารณาในการเลือกใช้จุลินทรีย์ probiotic เป็นกล้าเชื้อ

8. การดำเนินงานของโครงการวิจัย

โดยการดำเนินงานของโครงการแบ่งเป็นขั้นตอนตามระยะเวลาของโครงการดังนี้

ปีที่ 1

1. นำเข้า ติดตั้งและทดสอบตู้อบผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวจากประเทศเยอรมัน
2. รับการถ่ายทอดเทคโนโลยีการแปรรูปเนื้อหมักเปรี้ยวแบบตะวันตก

ปีที่ 2 และ ปีที่ 3

1. พัฒนาผลิตภัณฑ์ที่มีความเป็นไปได้ในการสร้างตราสินค้าของเนื้อโคไทยธรรมชาติ
2. ทดลองทำผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวแบบตะวันตก (salami) โดยใช้กล้าเชื้อจากต่างประเทศ
3. ศึกษาคุณภาพตามระยะเวลาในกระบวนการผลิตหมักที่มีการเติมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก และการยอมรับของผู้บริโภค
4. ศึกษาคุณภาพตามระยะเวลาในกระบวนการผลิตในผลิตภัณฑ์ซาลามิที่มีการเติมกล้าเชื้อจากต่างประเทศร่วมกับการใช้ชาเขียว
5. ศึกษาคุณภาพตามระยะเวลาในกระบวนการผลิต และการยอมรับของผู้บริโภคในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวในรูปแบบเนื้อเค็มกึ่งตะวันตก (jerky)

การรายงานผลการดำเนินการวิจัยแบ่งออกเป็น 3 ตอนตามวัตถุประสงค์

1. พัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อโคธรรมชาติที่มีความเป็นไปได้ในการสร้างตราสินค้า
2. พัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยว probiotic แบบพื้นบ้าน
3. พัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวกึ่งแห้งแบบตะวันตก
 - 3.1 พัฒนาเนื้อหมักเปรี้ยวกึ่งแห้ง probiotic หม่า
 - 3.2 พัฒนาเนื้อหมักเปรี้ยวกึ่งแห้ง ซาลามิผสมชาเขียว

ตอนที่ 1 การพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่มีความเป็นไปได้ในการสร้างตราสินค้า

หลักการและเหตุผล

เนื้อโคพื้นเมืองมีจุดเด่นที่มีเส้นใยกล้ามเนื้อละเอียด ไขมันน้อย เนื้อแน่นค่อนข้างแห้ง ไม่เหนียว มีสีแดงเข้ม ความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนในเนื้อสูง การย่อยสลายของโปรตีนในเนื้อ (proteolysis) ในกระบวนการบ่มเนื้อ (aging) ค่อนข้างช้า เนื้อมีคุณสมบัติที่เหมาะสมในการนำไปแปรรูป ซึ่งโดยทั่วไปนิยมที่จะใช้เนื้อโคพื้นเมืองในการผลิตลูกชิ้น แต่เนื่องจากวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตลูกชิ้นมีหลากหลายและอาจใช้เนื้อจากโคแก่ โคคัดทิ้ง ซึ่งคุณภาพของเนื้อจะต่างจากเนื้อโคพื้นเมืองที่มาจากโคที่เลี้ยงแบบปล่อยตามธรรมชาติและมีอายุไม่เกิน 3 ปี ที่อยู่ภายใต้โครงการต้นแบบการบริหารจัดการเนื้อโคพื้นเมืองธรรมชาติสู่ผู้บริโภค เป็นการผลิตเนื้อโคพื้นเมืองที่สามารถเพิ่มมูลค่ามากกว่าเนื้อโคพื้นเมืองที่จำหน่ายอยู่ในตลาดทั่วไป ทั้งนี้เพราะเป็นเนื้อที่ได้มาจากระยะการผลิตที่มีการควบคุมมาตรฐานการผลิต ตั้งแต่มาตรฐานของการเลี้ยงผ่านกระบวนการฆ่าในโรงฆ่าที่ได้มาตรฐานและมีการควบคุมคุณภาพ ทำให้เนื้อที่ผลิตได้สามารถส่งขายในซูเปอร์มาร์เก็ตชั้นนำ ทั้งนี้ชิ้นส่วนที่ยังไม่สามารถจะทำตลาดเนื้อสดได้ คือ เนื้อคอ เนื้อพื้นท้อง เนื้อสีข้าง และเนื้อเสื่อร้องไห้ ซึ่งเนื้อดังกล่าวอาจจะมีกลิ่นเหม็นและมีพังผืดมากจึง มีความจำเป็นต้องพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์แปรรูปที่มีความหลากหลายและสามารถเพิ่มมูลค่าได้มากยิ่งขึ้น โดยพยายามที่จะหลีกเลี่ยงการใช้เนื้อที่มาจากชิ้นส่วนหลักให้มากที่สุด หรือหากมีการใช้ชิ้นส่วนหลักในการทำผลิตภัณฑ์ต้องเป็นผลิตภัณฑ์ที่แปลกไปจากที่มีวางจำหน่ายตามตลาดทั่วไป เพื่อเพิ่มมูลค่ายิ่งขึ้น

วัตถุประสงค์

1. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อแปรรูปจากชิ้นส่วนรอง
2. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อแปรรูปจากชิ้นส่วนหลัก
3. เพื่อเพิ่มมูลค่าเนื้อโคพื้นเมืองธรรมชาติ

ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1. แนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่มีโอกาสทางตลาด
2. แนวทางการบริหารจัดการชิ้นส่วนจากการคัดแต่งซากโคอย่างมีประสิทธิภาพ

กรอบแนวความคิด

ใช้ประโยชน์จากชิ้นส่วนรองและเศษเนื้อที่ได้จากการคัดแต่งมาทำผลิตภัณฑ์เนื้อเพื่อเพิ่มมูลค่าและพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่สามารถเพิ่มมูลค่าจากชิ้นส่วนหลักและชิ้นส่วนรองให้ได้มูลค่าสูงขึ้น เพื่อนำไปสู่การสร้างตราสินค้าได้แก่ แหนมโปรโปโอติก ซาลามิซาเชียว และหม่าแท่งเพื่อความปลอดภัยอาหาร

ชนิดของผลิตภัณฑ์และการเลือกใช้วัตถุดิบเนื้อ

1. ผลิตภัณฑ์พื้นบ้าน

1.1 แหนมเนื้อโค

แหนมที่ผลิตขึ้นต่างจากแหนมเนื้อโคโดยทั่วไปที่มีการใช้เอ็นของโคมาเป็นส่วนประกอบในการทำแหนม ซึ่งแหนมเนื้อที่มีจำหน่ายโดยทั่วไปจะใช้เนื้อโคเป็นวัตถุดิบหลักต่างจากแหนมหมูที่มีการใช้หนังหมูเป็นส่วนผสม

1.2 ไส้กรอกเปรี้ยว

ไส้กรอกเปรี้ยวจะใช้เนื้อสีข้างและเนื้อเสีรื่องไห้ของโคพื้นเมือง ซึ่งมีไขมันปนน้อยมาก จึงต้องนำเอาไขมันที่ได้จากการตัดแต่งเนื้อโคขุน (โดยใช้เศษมันตัดแต่งจากเนื้อโคขุนโพนยางคำ) มาเป็นส่วนผสมและใช้ไส้คอลลาเจนแทนการใช้ไส้สุกร เพื่อผู้บริโภคที่เป็นมุสลิมรับประทานได้

1.3 เนื้อกระเจก

เป็นผลิตภัณฑ์เนื้อแห้งโดยใช้ความร้อนจากแสงอาทิตย์ มีความเป็นเอกลักษณ์ที่ใช้เนื้อพบนอก หรือเนื้อพบนอกในทีสไลด์เป็นแผ่นบางก่อนนำไปแช่ในน้ำปรุง โดยใช้จุดเด่นของเนื้อโคพื้นเมืองที่มีเส้นใยกล้ามเนื้อละเอียด ซึ่งจะทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้ภายหลังการอบแห้งเป็นแผ่นใส

1.4 เนื้อแดดเดียว

เป็นผลิตภัณฑ์ที่เลือกใช้เฉพาะเนื้อพบนอกซึ่งมีลักษณะเป็นแผ่นแบน นำมาตัดแต่งเอาพังศีคออกและหั่นตามขวางของเส้นใยกล้ามเนื้อ ซึ่งจะทำให้เนื้อที่ผ่านการอบแห้งแล้วไม่เหนียว

2. ผลิตภัณฑ์แบบตะวันตก

2.1 เนื้อเจอร์กี้

เป็นผลิตภัณฑ์เนื้อบดหยาบขึ้นรูปและผ่านการอบแห้ง โดยใช้เนื้อจากชิ้นส่วนคอ เนื้อเสีรื่องไห้ และเนื้อพบนอกซึ่งแต่งเอาพังศีคออก ผลิตภัณฑ์นี้คล้ายเนื้อเค็มซึ่งมีลักษณะเป็นแผ่นบางแต่ไม่เหนียว เนื่องจากเนื้อจะถูกบดก่อนจากนั้นผ่านขั้นตอนการปรุงรส โดยมีรสชาติแบบไทยๆ และนำไปขึ้นรูปก่อนที่จะนำไปอบให้แห้ง

2.2 แฮมเนื้อ

เป็นผลิตภัณฑ์ที่เลือกใช้เฉพาะเนื้อจากส่วนพบนอกทั้งก้อนมาใช้ประโยชน์ โดยเน้นจุดเด่นที่เนื้อไม่มีไขมันแทรกและมีสีอมชมพูเมื่อผ่านกระบวนการอบและนำมาสไลด์เป็นแผ่นบาง

2.3 เบคอนเนื้อ

เป็นผลิตภัณฑ์ที่เลือกใช้เฉพาะชิ้นส่วนสีข้างหรือข้างสามชั้นของโค โดยนำมาแต่งเอาพังศีคออกบ้างและม้วนเป็นก้อนก่อนการนึ่งนำปรุงรส

2.4 ผลิตภัณฑ์เนื้ออิมัลชัน

เน้นการใช้ประโยชน์จากเนื้อส่วนคอที่มีเนื้อติดพังผืดและเหนียวไม่เหมาะนำไปการปรุงอาหาร และใช้เศษเนื้อที่ได้จากการตัดแต่ง ผลิตภัณฑ์ประเภทนี้ได้แก่ ใส้กรอกอิมัลชันรมควันชนิดต่างๆ และมีทโลฟ

2.5 ผลิตภัณฑ์หมักเปรี้ยวแบบแห้ง

2.5.1 ซาลามิ

เป็นผลิตภัณฑ์ที่เน้นการใช้ประโยชน์จากเนื้อคอที่มีแม้จะมีพังผืดมากแต่ต้องตัดแต่งเอาพังผืดออก และใช้เนื้อแต่งพังผืดออกจากส่วนพื้นท้องที่เหลือจากการนำไปใช้ทำเนื้อแดดเดียวโดยไม่พยายามที่จะใช้เนื้อจากชิ้นส่วนหลักเนื่องจากวัตถุดิบเนื้อที่จะนำมาทำผลิตภัณฑ์ซาลามิจะต้องถูกสับให้เป็นชิ้นเล็กๆกระจายตัวรวมอยู่กับมันแข็ง

2.5.2 หม่าແ່ງ

เป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้ส่วนประกอบคล้ายหม่าของไท แต่ผ่านกรรมวิธีการผลิตแบบการทำใส้กรอกเปรี้ยวแบบตะวันตก และเพิ่มความปลอดภัยอาหารโดยผ่านกระบวนการทำให้ร้อนภายหลังกระบวนการหมักสิ้นสุด ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์หม่าແ່ງที่เป็นอาหารทานเล่นและสะดวกต่อการบริโภค รับประทานได้โดยไม่ต้องผ่านกระบวนการทำให้สุกอีก

ตารางที่ 1.1 ชิ้นส่วนเนื้อโคพื้นเมืองที่เหมาะสมในการทำผลิตภัณฑ์เนื้อโคแต่ละชนิด

ผลิตภัณฑ์	เนื้อชิ้นส่วนหลัก					เนื้อชิ้นส่วนรอง				
	พับนอก (bottom round)	พับใน (top round)	ลูกมะพร้าว (knuckle)	รักบี้ (chuck tender)	สันในเทียม (false filet)	คอ (neck)	พื้นที่อง (flank)	สี่ข้าง (plate)	เสื่อรื่องให้ (brisket)	เศษตัดแต่ง (trimming)
แฮม	/	/	/	/	/					
เนื้อกระจก	/	/								
เนื้อเจอร์กี้						/	/			
ไส้กรอกเปรี้ยว						/	/	/	/	
เนื้อแคคเคียว							/			
ไส้กรอกอิมัลชัน						/	/	/	/	/
มีทโลฟ						/	/	/	/	/
แฮมเนื้อ	/									
เบคอนเนื้อ								/		
ชาลามิ	/			/		/	/			



ภาพที่ 1.1 ชิ้นส่วนที่ได้จากการตัดแต่งซากโคพื้นเมือง

กรรมวิธีการแปรรูปเนื้อโค

1. การเตรียมส่วนผสมมีลชั้น (Batter)

ก. วัตถุดิบ

1. เนื้อโคชนิดต่างๆ

- เนื้อสะโพก	6.0 กิโลกรัม
- เนื้อคอ หรือ เศษเนื้อ	5.0 กิโลกรัม
- มันวัว	4.0 กิโลกรัม
- มันหมู	4.0 กิโลกรัม
- เนื้อหมู (เนื้อสะโพก)	5.0 กิโลกรัม
- น้ำแข็ง	6.0 กิโลกรัม

2. เครื่องปรุงและสารเคมีที่ใช้ในสูตรไส้กรอก 30 กิโลกรัม

- เกลือไนไตรท์	420 กรัม
- เกลือฟอสเฟต	120 กรัม
- เกลืออิริโทรเบต	30 กรัม
- ผงชูรส	30 กรัม
- น้ำตาล	200 กรัม
- หอมใหญ่สับ	300 กรัม
- กระเทียมสดสับ	200 กรัม
- ปาปริก้า	30 กรัม
- frankfurter premix	600 กรัม

หมายเหตุ เครื่องเทศรวมหรือ frankfurter premix มีส่วนผสมดังนี้

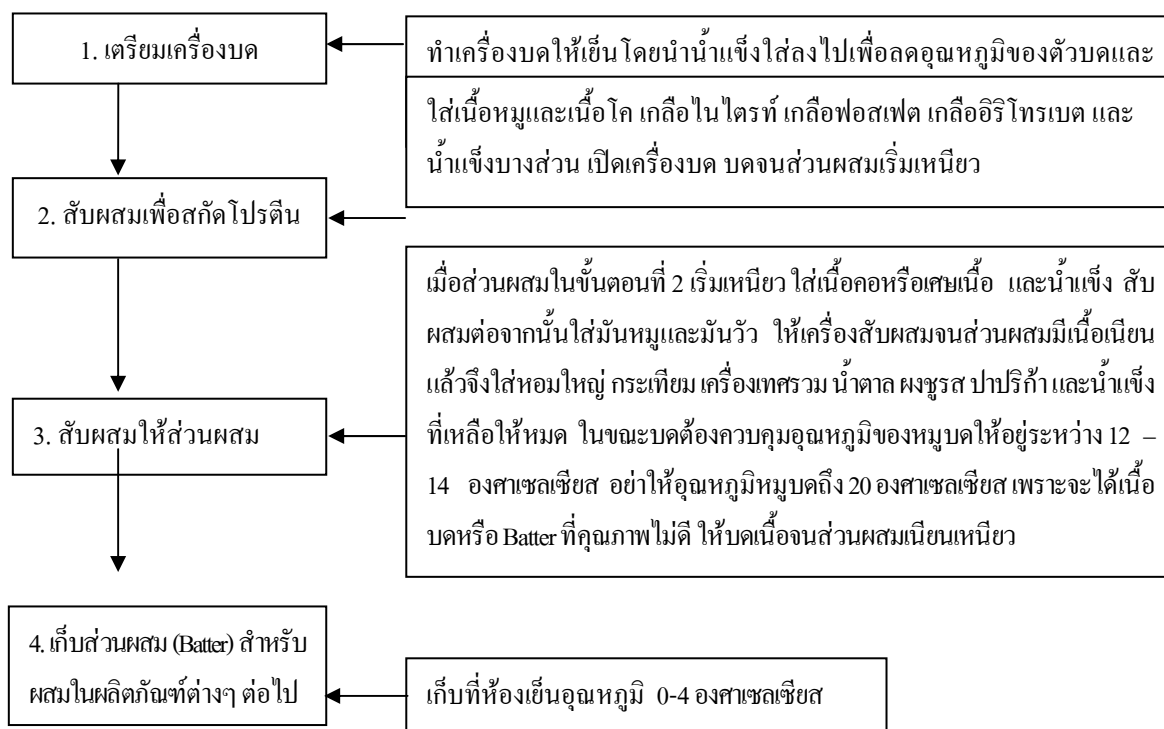
- แป้งมัน	100 กรัม
- พริกไทยขาวป่น	60 กรัม
- ดอกจันทน์เทศ	25 กรัม
- ปาปริก้า	45 กรัม

ผสมเครื่องเทศทุกชนิดเข้าด้วยกัน ใช้แป้งมันในสัดส่วน 1 : 1 ของเครื่องเทศ สามารถปรับปริมาณและชนิดของเครื่องเทศได้ตามความชอบ

ข. วัสดุและอุปกรณ์ในการผลิต

- เครื่องบด

ค. ขั้นตอนการผลิต



2. ไส้กรอกอิมัลชันรมควัน

ก. วัตถุดิบ

- Batter 10 กิโลกรัม

ข. วัสดุ & อุปกรณ์

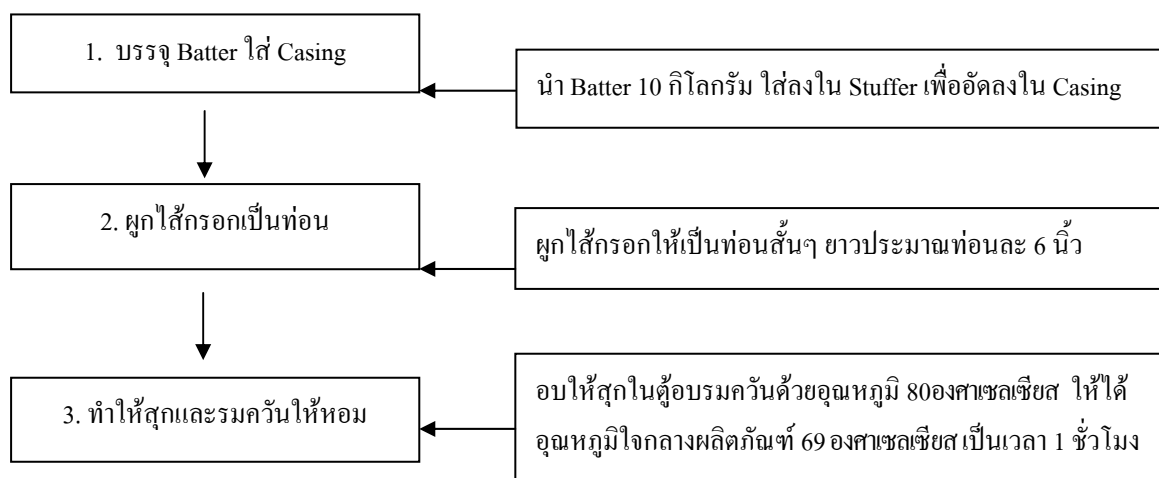
- Casing Collagen No 21-22

- เชือกผูก Casing

- เครื่องบรรจุ (Stuffer)

- ตู้อบรมควัน

ค. ขั้นตอนการผลิต



3. มีทโลฟ

ก. วัตถุดิบ

- Batter 20 กิโลกรัม

ข. วัสดุ & อุปกรณ์

- บล็อกที่ทำน้ำมันพืชไว้แล้ว
- ตู้อบ

ค. ขั้นตอนการผลิต



สรุปขั้นตอนการทำผลิตภัณฑ์เนื้ออิมัลชัน



นำเนื้อแดงบดหยาบ เกลือชนิดต่างๆ ตามสูตร และเกล็ดน้ำแข็งหนึ่งในสามส่วนมาสับผสมในเครื่องสับผสม



เติมไขมันบดหยาบและเกล็ดน้ำแข็งอีกหนึ่งในสามส่วนเพื่อช่วยควบคุมอุณหภูมิในการสับผสมให้อยู่ในช่วง 12-14 องศาเซลเซียส เติมเครื่องเทศ สารปรุงแต่ง และเกล็ดน้ำแข็ง



เนื้ออิมัลชัน (meat batter) ที่ได้หลังจากสับผสมจนเป็นเนื้อเดียวกันและเกาะตัวเป็นมวลเหนียว สามารถอัดลงในไส้คอตลาเจนเบอร์ 21 มัด ทำให้สุกและรมควันเพื่อทำแฟรงเฟอร์เทอร์ บรรจุลงถาดสี่เหลี่ยมขอบเป็นมิทโลฟ



แฟรงเฟอร์เทอร์



บิฟโลฟ

4. เนื้อแดดเดียว

ก. วัตถุดิบ

- เนื้อสะโพก	10	กิโลกรัม
- น้ำตาลปีบ	150	กรัม
- น้ำตาลทราย	100	กรัม
- พริกไทย	50	กรัม
- เมล็ดผักชีบดหยาบ	35	กรัม
- เกลือไนไตรท์	100	กรัม
- ผงชูรส	30	กรัม
- ซอสถั่วเหลือง	200	กรัม

ข. วัสดุ & อุปกรณ์

- มีด เขียง
- ตระแกรง

ค. ขั้นตอนการผลิต

- ล้างเนื้อสะโพกให้สะอาด ซับให้แห้ง แล่เนื้อเป็นแผ่นบาง ๆ หรือเป็นเส้น
- ผสมเครื่องปรุงทั้งหมดหมักรวมกับเนื้อที่เตรียมไว้ ประมาณ 3 ชั่วโมง
- เรียงบนตระแกรงผึ่งแดดจัด ๆ 1 วัน
- นำมาทอดให้สุกก่อนรับประทาน

5. เนื้อกระเจก

ก. วัตถุดิบ

- เนื้อสันนอก หรือสะโพก	2	กิโลกรัม
- น้ำ brine ความเค็ม 4 เปอร์เซนต์	500	กรัม
- เกลือ	34	กรัม
- น้ำตาลทรายแดง	41	กรัม
- น้ำตาลปีบ	100	กรัม
- ผงชูรส	10	กรัม
- เมล็ดผักชีบดหยาบ	20	กรัม

ข. วัสดุ & อุปกรณ์

- มีด เขียง

- ตระแกรง

ค. ขั้นตอนการผลิต

- ล้างเนื้อทั้งก้อนให้สะอาด ซับน้ำให้แห้งแล้วแลเป็นแผ่นบาง ๆ หรือใช้เนื้อทั้งก้อนแช่แข็ง แล้วนำมาสไลด์ด้วยเครื่องให้เป็นแผ่นบาง ๆ
- ผสมเครื่องปรุงทั้งหมดหมักรวมกับเนื้อที่เตรียมไว้ ประมาณ 1 วัน
- เรียงบนตระแกรงผึ่งแดดจัด ๆ 1 วัน
- ทำให้สุกโดยไมโครเวฟ ใช้ไฟแรง ประมาณ 30 วินาที-1 นาที หรือทอดหรือย่างด้วยไฟอ่อน ๆ

6.เนื้อเจอร์กี้

ก. วัตถุดิบ

- เนื้อบดหยาบ	500	กรัม
- น้ำตาลปี๊บ	17	กรัม
- เกลือ	7.5	กรัม
- เกลือไนไตรท์	7.5	กรัม
- ผงชูรส	1	กรัม
- ซอสปรุงรส	14	กรัม
- พริกไทยป่น	5	กรัม
- อิริโทรเบต	1.5	กรัม
- เมล็ดผักชีบดหยาบ	5	กรัม
- น้ำ	80	กรัม

ข. วัสดุ & อุปกรณ์

- มีด เขียง เครื่องบด
- เครื่องอบลมร้อน

ค. ขั้นตอนการผลิต

- เตรียมเนื้อตามสูตร หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ ก่อนนำไปบด
- บดเนื้อด้วยเครื่องบด
- ผสมเครื่องปรุงทั้งหมดหมักรวมกับเนื้อที่เตรียมไว้
- บรรจุใส่ถุง ปริมาณ 100 กรัม ริดให้เป็นแผ่น หนาประมาณ 2 มิลลิเมตร
- นำไปแช่ในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ประมาณ 1 วัน
- นำมาตัดให้เป็นแท่งขนาดพอประมาณ

- นำเข้าเครื่องอบลมร้อน กำลังไฟ 700 วัตต์ ประมาณ 2 ชั่วโมง
- อบในเครื่องอบลมร้อนต่อโดยใช้กำลังไฟ 500 วัตต์ ประมาณ 3 ชั่วโมง

7. ไส้กรอกเปรี้ยวเนื้อ

ไส้กรอกเปรี้ยวหรือไส้กรอกอีสาน ปกติหมายถึง ผลิตภัณฑ์พื้นบ้านของภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่ผลิตจากเนื้อหมูติดมันที่มีคุณภาพปานกลาง ที่นำมาผสมกับเครื่องปรุงและอาจมีการเติมมันแข็งบดละเอียด เพื่อให้ไส้กรอกนุ่มขึ้น แล้วนวดผสมให้เข้ากันแล้วบรรจุในไส้สดมัดด้วยเชือกเป็นปล้องขนาด 1-3 นิ้ว แขนงราว หมักไว้ในตู้สุญญากาศ 2-3 วัน การหมักจะทำให้แบคทีเรียพวก *Pediococcus* และ *Lactobacillus* เจริญเติบโตสร้างกรดจนได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความเปรี้ยวตามชอบแล้วเก็บไว้ในตู้เย็น เมื่อจะรับประทานให้นำมาปิ้ง ทอด หรืออบ

สำหรับไส้กรอกเปรี้ยวเนื้อนั้นนิยมทำจากเนื้อวัวหรือเนื้อควายก็ได้

ก. วัตถุดิบ

- เนื้อติดไขมันหรือเนื้อสันท้อง	5.5	กิโลกรัม
- มันวัว	3	กิโลกรัม
- ข้าวสุก	1.5	กิโลกรัม
- เกลือไนไตรท์	140	กรัม
- เกลือฟอสเฟต	30	กรัม
- น้ำตาลทราย	50	กรัม
- พงชูรส	25	กรัม
- พริกไทยบด	40	กรัม
- กระเทียมบด	500	กรัม

ข. วัสดุ & อุปกรณ์

- เครื่องบด
- เชือกผูก Casing
- เครื่องบรรจุ (Stuffer)

ค. ขั้นตอนการผลิต

- เตรียมเนื้อและมันตามสูตร แล้วหั่นให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ ก่อนนำไปบด
- บดเนื้อและมันด้วยเครื่องบด ควรบดเนื้อผ่านตะแกรงที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 มิลลิเมตร
- เตรียมเครื่องปรุงตามสูตร คือ กระเทียม ข้าวสุก เกลือไนไตรท์ เกลือฟอสเฟต น้ำตาลทราย พงชูรส พริกไทย

- ผสมเครื่องปรุงทั้งหมดลงในเนื้อมัดแล้วนวดเครื่องปรุงผสมกับเนื้อให้เข้ากัน ไม่ต้องให้เหนียว ใช้เวลานวดประมาณ 3-5 นาที

- นำส่วนผสมไปบรรจุลงในไส้เล็กที่ล้างเอาไขมันออกจนหมด ไม่ต้องอัดส่วนผสมให้แน่นมากนัก
- ผูกไส้กรอกเปรี้ยวให้เป็นท่อนๆ ด้วยด้ายให้มีขนาดตามความต้องการ
- นำไส้กรอกเปรี้ยวไปผึ่งลมในที่ร่มประมาณ 1 วัน ไส้กรอกก็จะเปรี้ยวสามารถนำมาทำให้สุกโดยการย่างหรือทอด ถ้ายังไม่รับประทานให้เก็บไว้ในตู้เย็น สามารถเก็บได้นาน 1 เดือน

8. แหนมเนื้อ

แหนมเป็นผลิตภัณฑ์ประเภทหมักเปรี้ยวที่ทำมาจากเนื้อแดงเอาไขมันออกจนหมด โดยนิยมนำส่วนเนื้อสะโพกมาหมักรวมกับเครื่องปรุงอื่น ๆ แหนมเนื้อนิยมทำกันมากในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

ก. วัตถุดิบ

- เนื้อสะโพก	5.5	กิโลกรัม
- เอนดัมหั่นฝอย	1.2	กิโลกรัม
- กระเทียม	320	กรัม
- เกลือไนไตรท์	110	กรัม
- สารประกอบฟอสเฟต	20	กรัม
- ผงชูรส	12	กรัม
- น้ำตาลทราย	20	กรัม
- ข้าวหุงสุก	400	กรัม
- พริกขี้หนู	200	กรัม

ข. วัสดุ & อุปกรณ์

- เครื่องบด

ค. ขั้นตอนการผลิต

- เตรียมเนื้อ หั่นให้เป็นชิ้นเล็กๆ ก่อนนำไปบด
- เตรียมเอนดัมหั่นฝอย
- บดเนื้อด้วยเครื่องบด
- ผสมเครื่องปรุงทั้งหมดลงในเนื้อมัดแล้วนวดเครื่องปรุงผสมกับเนื้อให้เข้ากัน
- บรรจุใส่ถุง หมักผึ่งในร่ม 2-3 วัน จนมีรสเปรี้ยว

ผลิตภัณฑ์ที่มีการวางจำหน่าย



ไส้กรอกอิมัลชันรมควัน



มีทโลฟ



ไส้กรอกเปรี้ยว

ผลิตภัณฑ์ที่มีโอกาสสร้างตราสินค้า



แฮมเนื้อ



เบคอนเนื้อ



เนื้อเจอร์กี้



เนื้อกระเจก

ผลิตภัณฑ์ที่มีโอกาสสร้างตราสินค้า



แฮมเนื้อโค



ซาลามิ

ตอนที่ 2 การพัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวแบบพื้นบ้าน : แหนมเนื้อโคโปรโปติก

2.1 ผลของการใช้เชื้อ *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 ต่อคุณสมบัติทางจุลินทรีย์และคุณภาพของแหนมเนื้อโค

หลักการและเหตุผล

แหนมเป็นผลิตภัณฑ์อาหารหมักพื้นบ้านที่นิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลายในประเทศไทย การหมักเป็นเทคนิคในการเก็บรักษาอาหาร ไม่เพียงแต่จะยืดอายุการเก็บรักษาแต่ยังช่วยเพิ่มรสชาติและคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์ รวมทั้งยังก่อให้เกิดความหลากหลายของผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเฉพาะตัว ซึ่งการหมักที่อาศัยแบคทีเรียตามธรรมชาตินั้นอาจทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีคุณภาพไม่สม่ำเสมอ ในปัจจุบันจึงได้มีการนำเอาเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกมาใช้เป็นกล้าเชื้อเริ่มต้นของกระบวนการหมัก เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพ และช่วยลดระยะเวลาในการหมักให้สั้นลงด้วย (Riebroy *et al.* 2008) แหนมควรมี pH อยู่ระหว่าง 4.4-4.8 (Visessanguan *et al.* 2004)

รุจริน ลิ้มศุภวานิช และจุฑารัตน์ เศรษฐกุล (2552) กล่าวว่าจากความก้าวหน้าทางงานวิจัยมีกระบวนการคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มแลคติกที่ช่วยในการหมักเนื้อ นำมาผลิตเป็นเชื้อจุลินทรีย์ตั้งต้น (Starter culture) เพื่อใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยว ซึ่งการใช้จุลินทรีย์ตั้งต้นจะช่วยให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพคงตัวขึ้น สามารถควบคุมกระบวนการหมักได้ดีขึ้น แล้วยังมีความปลอดภัยไม่ก่อให้เกิดอันตรายกับผู้บริโภค จากคุณสมบัติดังกล่าวของแบคทีเรียกรดแลคติกสามารถทำให้ผลิตภัณฑ์แหนมมีคุณภาพสม่ำเสมอ ยืดอายุการเก็บรักษา ช่วยเพิ่มรสชาติและคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์ รวมทั้งยังก่อให้เกิดความหลากหลายของผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเฉพาะตัวอีกทั้งยังสามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคที่อาจปนเปื้อนมากับวัตถุดิบ ศูนย์เครือข่ายการวิจัยเทคโนโลยีเนื้อสัตว์ โดยความร่วมมือของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังร่วมกับสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ได้ทำการคัดแยกแบคทีเรียกรดแลคติกสายพันธุ์ *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 ทั้งนี้ จากการศึกษาเบื้องต้นของศูนย์เครือข่ายการวิจัยเทคโนโลยีเนื้อสัตว์และ Runjuankiat *et al.* (2009) รายงานว่าเชื้อ *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 สามารถสร้างสารแบคทีริโอซินที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อ *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917, *Lactobacillus sakei* subsp. *sakei* JCM 1157^T, *Lactobacillus sakei* TISTR 890, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* TISTR 1344, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *Mesenteroides* JCM 6128^T, *Leuconostoc mesenteroides* TISTR 942, *Bacillus coagulans* JCM 2257^T, *Listeria innocua* ATCC 33090, *Brochotrix campestris* NBRC 11547, *Pseudomonas fluorescens* JCM 5693^T, *Pseudomonas fluorescens* TISTR 358, *Enterococcus faecalis* JCM 5803^T, *E. faecalis* TISTR 888 และ *Streptococcus* sp. TISTR 1030 และ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 ยกเว้น *Pseudomonas fluorescens* TISTR 358, *Staphylococcus aureus* TISTR 118 และ *Streptococcus* sp. TISTR 1030 ที่เชื้อ P 2

ไม่สามารถยับยั้งได้ ส่วนคุณสมบัติเบื้องต้นในการเป็นโปรไบโอติกของเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 คือ สามารถทนต่อสภาวะความเป็นกรด-ด่าง (pH) เท่ากับ 3-10 และสร้างสารแบคทีเรียโอซินได้ดีในสภาวะที่ pH เท่ากับ 6 ทนต่อโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1-5 เปอร์เซ็นต์ แต่สามารถสร้างสารแบคทีเรียโอซินได้ดีที่ 1-4 เปอร์เซ็นต์ และ 1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทั้งนี้เชื้อ Sb 2 สามารถทนต่อความเข้มข้นของ Bile salts ที่ 0.3 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ P 2 ไม่สามารถทนอยู่ได้ และเชื้อทั้งสองชนิดสามารถมีชีวิตอยู่ในสภาวะกระเพาะและลำไส้จำลองที่มีค่า pH เท่ากับ 2.5, 3, 4 และ 7 ยกเว้นที่ pH เท่ากับ 2.5 ซึ่งเชื้อ Sb 2 ไม่สามารถเจริญในลำไส้ได้ ส่วนคุณสมบัติในการเป็นกรดคือ ในสภาวะหมักจำลองที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบทั้งเชื้อ P 2 และ Sb 2 สามารถมีชีวิตอยู่ได้และมีจำนวนลดลงเล็กน้อย ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการนำแบคทีเรียกรดแลคติกสายพันธุ์ *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 มาใช้เป็นกรดเชื้อแบคทีเรียในแฮมเนื้อโค เพื่อให้เป็นอาหารที่มีความปลอดภัยในการบริโภค และมีคุณภาพที่สม่ำเสมอ

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการนำเชื้อ *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 เพื่อใช้เป็นกรดเชื้อในผลิตภัณฑ์แฮมเนื้อโค

ขอบเขตการวิจัย

ศึกษาความเป็นไปได้ในการนำเชื้อ *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 เพื่อใช้เป็นกรดเชื้อในผลิตภัณฑ์แฮมเนื้อโคเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และกลุ่มทดลองที่ใช้กรดเชื้อทางการค้า (*Pacovis* RCI - 47) ศึกษาลักษณะทางด้านจุลินทรีย์ ได้แก่ ตรวจวิเคราะห์เชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก Coliform, *E. coli*, Yeast and mold, *Salmonella* spp. และ *S. aureus* และลักษณะทางกายภาพและเคมีของแฮมเนื้อโค ได้แก่ ค่า pH ปริมาณกรดทั้งหมด ค่าสีที่ผิวสัมผัสด้านนอก

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงความเป็นไปได้ในการใช้เชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 สำหรับเป็นกรดเชื้อในการผลิตแฮมเนื้อโค
2. ได้แนวทางการผลิตเนื้อหมักเปรี้ยวจากเนื้อโคที่มีความปลอดภัยทางด้านอาหาร
3. ได้ผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวจากโคพื้นเมืองไทยที่มีความเป็นเอกลักษณ์

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ลักษณะทั่วไปของแฮม

แฮมเนื้อเป็นผลิตภัณฑ์ที่ทำจากเนื้อวัวส่วนที่แยกไขมันและเอ็นออก อาจผสมส่วนประกอบอื่น เช่น หนัง หรือเอ็น เดิมเกลือ ข้าวเจ้าสุก กระเทียม ผสมให้เข้ากัน เดิมน้ำตาล พริกสด ห่อเป็นมัดหรือบรรจุในภาชนะบรรจุที่เหมาะสม หมักจนมีรสเปรี้ยว สำหรับคุณลักษณะของแฮมนั้นต้องมีการกระจายตัวของส่วนประกอบที่ใช้อย่างสม่ำเสมอ ไม่มีโพรงอากาศ และมีน้ำที่เกิดจากการหมักได้เล็กน้อย มีสีที่ดีตามธรรมชาติของส่วนประกอบที่ใช้ มีกลิ่นรสที่ดีตามธรรมชาติที่เกิดจากการหมักของส่วนประกอบที่ใช้ มีรสเปรี้ยวพอเหมาะ ปราศจากกลิ่นรสอื่นที่ไม่พึงประสงค์ เช่น กลิ่นอับ กลิ่นเหม็น รสขม ลักษณะเนื้อต้องแน่น ไม่ยุ่ย และต้องไม่พบสิ่งแปลกปลอมที่ไม่ใช่ส่วนประกอบที่ใช้ เช่น เส้นผม ขนสัตว์ ดิน ทราย กรวด ชิ้นส่วนหรือสิ่งปฏิกูลจากสัตว์ หากมีการใช้วัตถุเจือปนอาหาร ให้ใช้ได้ตามชนิดและปริมาณที่กำหนดดังต่อไปนี้ โซเดียมไนไตรท์หรือโพแทสเซียมไนไตรท์ (คำนวณเป็นโซเดียมไนไตรท์ต้องไม่เกิน 125 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม หรือถ้าใช้ในรูปของผงเพรก (เกลือ : เกลือไนไตรท์ในสัดส่วนร้อยละ 94 : 6) ต้องไม่เกิน 2 กรัมต่อกิโลกรัม และฟอสเฟตในรูปของโมโน-ได- และโพลีของเกลือโซเดียมหรือโพแทสเซียมอย่างใดอย่างหนึ่งหรือรวมกัน (คำนวณเป็น P_2O_5 จากฟอสฟอรัสทั้งหมด) ต้องไม่เกิน 3,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และความเป็นกรดต้องไม่เกิน 4.6 ทางด้านจุลินทรีย์ต้องไม่พบเชื้อ *Salmonella* ในตัวอย่าง 25 กรัม เชื้อ *Staphylococcus aureus* ต้องไม่เกิน 100 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม ยีสต์และราต้องน้อยกว่า 100 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม จากนั้นบรรจุแฮมเนื้อในภาชนะบรรจุที่สะอาด แห้ง ผนึกได้เรียบร้อย และสามารถป้องกันการปนเปื้อนจากสิ่งสกปรกภายนอกได้ (มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน. 2548)

กระบวนการหมักแฮม

การหมักแฮมเกิดจากกิจกรรมของแบคทีเรียกรดแลคติกโดยในระยะแรกของการหมักจะมีจุลินทรีย์เพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะพวกที่สร้างกรดได้ดี และเติบโตในที่มีออกซิเจนน้อย ได้แก่ homofermentative cocci เช่น *Pediococcus cerevisiae*, *P. pentosaceus* และ *P. acidilactici* เติบโตไปพร้อมกับ heterofermentative lactobacilli ได้แก่ *Lactobacillus brevis* หลังจากการหมัก 3 วัน homofermentative cocci จะใช้น้ำตาลกลูโคสเปลี่ยนเป็นกรดแลคติกทำให้ค่า pH ลดลง ต่อมาการหมักในวันที่ 4 จะพบเชื้อ heterofermentative lactobacilli คือ *Lb. plantarum* สร้างกรดออกมาในขณะที่ *Pediococcus* ซึ่งทนกรดได้น้อย จะเจริญช้าลงและหยุดเจริญในที่สุด ในระยะนี้ค่า pH ต่ำกว่า 4.5 มีผลทำให้จุลินทรีย์บางชนิด คือ แบคทีเรียโคลิฟอร์ม และ *Salmonella* ตายเกือบหมด (อัจฉรา เพิ่ม. 2549)

การใช้เชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกในการเป็นกล้าเชื้อในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก

กล้าเชื้อบริสุทธิ์ คือ เชลล์จุลินทรีย์จำนวนมากที่ใช้เป็นจุลินทรีย์ตั้งต้นในการผลิตอาหารหมัก โดยสามารถเร่งกระบวนการหมักให้เร็วขึ้น แบคทีเรียกรดแลคติกเป็นกลุ่มที่มีบทบาทในกระบวนการหมักตั้งแต่อดีตที่มีมายาวนาน ซึ่งสามารถยืดระยะเวลาและเก็บรักษาอาหารในการผลิตอาหารหมัก

Ammor and Mayo (2007) รายงานว่าลักษณะของแบคทีเรียกรดแลคติกที่ใช้เป็นกล้าเชื้อในการหมักจะต้องมีคุณสมบัติตามมาตรฐานที่กำหนดไว้ ได้แก่ สามารถแข่งขันกับแบคทีเรียชนิดอื่นที่พบในเนื้อสัตว์ได้เป็นอย่างดีและมีประสิทธิภาพ ต้องสร้างกรดแลคติกได้ในปริมาณที่เพียงพอ ต้องทนต่อโซเดียมคลอไรด์ ต้องทนต่อโซเดียมไนไตรท์ เป็นกลุ่มที่มีวิธีการสร้างกรดแบบ homofermentative ต้องไม่มีการย่อยสลายโปรตีน ต้องไม่ผลิตไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในปริมาณที่มากเกินไป ควรเป็นแบคทีเรียชนิดที่ไม่สร้างแคตาเลส (catalase negative) ควรมีความสามารถในการรื้อชีวิตในเตรทได้ดี เมื่อผลิตไส้กรอกเสร็จแล้วควรมีผลในการเพิ่มรสชาติของผลิตภัณฑ์อันเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ไม่ควรมีการสร้างสารไบโอจีนิกเอมีน (biogenic amines) เพราะเป็นสารที่อาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพ นอกจากนี้ Varnam and Sutherland (1995) กล่าวว่าต้องทนต่อโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และเจริญได้ที่อุณหภูมิในช่วงระหว่าง 15-40 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิที่เหมาะสมในช่วง 30-37 องศาเซลเซียส ไม่ควรมีการสร้างเมือกในผลิตภัณฑ์ มีคุณสมบัติในการต่อต้านจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ ที่ทำให้เกิดโรค และสุดท้ายควรมีความทนต่อสภาวะของการหมัก และสามารถทำงานร่วมกับกล้าเชื้อชนิดอื่นๆ ได้เป็นอย่างดี

กล้าเชื้อทางการค้าที่นิยมใช้โดยทั่วไปในยุโรป ได้แก่ กลุ่มแบคทีเรียกรดแลคติก (*Lactobacillus* และ *Pediococcus*) และกลุ่ม GCC+ (*Staphylococcus* และ *Kocuria*) ซึ่งแบคทีเรียสายพันธุ์เหล่านี้มีบทบาทหน้าที่แตกต่างกันออกไปในกระบวนการหมักเนื้อ (Cocconcelli and Fontana, 2008)

การคัดเลือกกล้าเชื้อแบคทีเรียที่อาศัยคุณลักษณะที่ต้องการ โดยเฉพาะอย่างยิ่งไม่มีกิจกรรมของกรดอะมิโน decarboxylase การสร้างสารพิษ หรือสารต้านทานต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ ที่มีความเสถียรภายใต้สภาวะของการผลิต เช่น เกลือ การทนกรดและการผลิตแบคทีเรียโอซิน แบคทีเรียที่เจริญตามธรรมชาติในไส้กรอกหมักนั้นเป็นแบคทีเรียที่ดี ที่สามารถนำมาคัดแยกเพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อซึ่งสามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมและเนื้อสัตว์ได้ดี ในการผลิตไส้กรอกหมักส่วนใหญ่จะใช้ร่วมกับกล้าเชื้อที่ประกอบด้วยแบคทีเรียกรดแลคติกเพียงอย่างเดียวหรือร่วมกับ coagulase negative staphylococci (CNS) และยีสต์/รา การใช้แบคทีเรียกรดแลคติกจึงเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการหมักคาร์โบไฮเดรตเพื่อให้ได้กรดแลคติกที่ทำให้ค่า pH ลดลงอย่างต่อเนื่อง นอกจากนี้แบคทีเรียเหล่านี้สามารถผลิตเอนไซม์ที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี เช่น การย่อยสลายคาร์โบไฮเดรต โปรตีนและไขมันที่ส่งผลต่อสี รสชาติ และลักษณะเนื้อสัมผัส ทั้งนี้ต้องพิจารณาจากปัจจัยอื่นร่วมด้วย เช่น อุณหภูมิและระยะเวลาของการหมักและการบ่ม ปริมาณเกลือไนเตรทและไนไตรท์ ชนิดและปริมาณของคาร์โบไฮเดรต การเปลี่ยนแปลงของค่า pH a_w และเครื่องเทศ (Flores and Toldra, 2010)

การหมักเนื้อ เป็นกระบวนการถนอมอาหารและยืดอายุการเก็บรักษาควบคุมไปกับการเพิ่มรสชาติอันเป็นที่พึงประสงค์ ซึ่งมีส่วนประกอบ ได้แก่ เกลือ และไนไตรท์ นอกเหนือไปจากนี้อาจเติมส่วนประกอบอื่นๆ เข้าไปอีกบ้าง ทั้งนี้เพื่อ (1) เร่งปฏิกิริยาในการหมักซึ่งจะทำให้ใช้เวลาในการทำผลิตภัณฑ์สั้นลงกว่าเดิม (2) เพื่อสร้างและรักษาสีของผลิตภัณฑ์ให้คงนาน (3) เพื่อให้มีรสชาติและลักษณะเนื้อสัมผัสที่น่ารับประทาน และ (4) เพื่อลดการสูญเสียน้ำหนัก (ชัยณรงค์ คันธพนิต, 2529) นอกจากนี้ส่วนผสมต่างๆที่ใช้ในกระบวนการหมักรวมทั้งกล้ำเชื้อบริสุทธิ์ที่ใช้ส่งผลให้ค่า pH ลดลง เกิดจากการตกตะกอนของโปรตีน ในขณะที่ค่า pH เข้าใกล้จุด isoelectric point ของเนื้อ เนื้อจึงมีความสามารถในการอุ้มน้ำลดลง และเป็นผลให้ผลิตภัณฑ์มีการสูญเสียน้ำหนักเพิ่มมากขึ้น Erkkilä (2001)

การผลิตกรดที่สร้างมาจากแบคทีเรียกรดแลคติกในระหว่างการหมัก เป็นการควบคุมความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นจากการปนเปื้อนด้วยจุลินทรีย์ก่อโรค เช่น *S. aureus* และ *Salmonella* เป็นต้น และมีผลในการลดลงของค่า pH ซึ่งมีส่วนเกี่ยวข้องกับการย่อยสลายโปรตีน (proteolysis) ในเนื้อ กระบวนการย่อยสลายโปรตีนทำให้เกิดการผลิตสารแอมโมเนียที่จะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่า pH และปฏิกิริยาร่วมระหว่างกรดแลคติก แอมโมเนีย ปริมาณน้ำและโปรตีนในเนื้อซึ่งเป็นปัจจัยหลักในการพิจารณาถึงการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ปริมาณกรดแลคติกที่ผลิตออกมานั้นมีบทบาทสำคัญในการทำให้เกิดรสชาติเปรี้ยวของความเป็นกรดในผลิตภัณฑ์ที่มีความเป็นกรดสูงให้มีลักษณะเฉพาะตัว (Varnam and Sutherland, 1995) นอกจากนี้ในปัจจุบันอาหารเพื่อสุขภาพ (functional food) ได้มีการใช้กล้ำเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่เป็นโปรไบโอติกกันอย่างแพร่หลาย ซึ่งส่งผลดีต่อสุขภาพของผู้บริโภค โดยพบว่า *Lactobacillus* สามารถกระตุ้นการสร้างแกมมาโกลบูลิน (gamma globulin) แกมมาอินเตอร์เฟอรอน (gamma interferon) และส่งเสริมกิจกรรมของแมคโครฟาจ (macrophage) ซึ่งเป็นตัวสำคัญในการกำจัดเชื้อโรคออกจากร่างกาย (อัญญา เพิ่ม, 2550) และงานวิจัยของ Commane *et al.* (2005) กล่าวว่า โปรไบโอติกอาจจะช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดมะเร็งได้ในระยะของการเกิดมะเร็งที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของโปรไบโอติก มะเร็งลำไส้ใหญ่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงที่เกี่ยวข้องกับจุลกายวิภาคศาสตร์ของเนื้อเยื่อที่เกิดขึ้นเป็นลำดับต่อเนื่องที่เกิดขึ้นจากการกลายพันธุ์ การกระตุ้นและการขาดหายไปของ oncogenes และ tumour suppressor นอกจากนี้ Bae *et al.* (2002) ศึกษาคุณสมบัติการเป็นโปรไบโอติกของ *Lb. salivarius* subsp. *salivarius* เพื่อใช้เสริมในผลิตภัณฑ์นมหมักเพื่อสุขภาพ ซึ่งสามารถทนกรดและน้ำดีได้ เพื่อประเมินความสามารถในการลดระดับโคเลสเตอรอล พบว่า โคเลสเตอรอลใน lactobacilli MRS broth ลดลง 23-38 เปอร์เซ็นต์ ในระหว่างการเจริญของแบคทีเรียเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และ O'Mahony *et al.* (2001) สรุปว่า การเปลี่ยนแปลงจุลินทรีย์ก่อโรคในลำไส้โดย Lactobacilli ที่เป็นโปรไบโอติก จะช่วยลดการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่และการอักเสบของเยื่อบุผิว

วิธีการดำเนินงานวิจัย

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1. MRS broth (Merck, Germany)
2. Agar (Criterion, U.S.A)
3. CaCO_3 0.5 เปอร์เซนต์ (Scharlau Chemie S.A., Spain)
4. Agglutinating antiserum (polyvalent) A-67
5. Tryptone (BIO BASIC INC, Canada)
6. Chromocult (Merck, Germany)
7. Salmonella-Shigella (SS) agar (Merck, Germany)
8. Xylose-Lysine-Deoxycholate (XLD) agar (Merck, Germany)
9. Salmosyst broth base (SB) (Merck, Germany)
10. Salmosyst selective supplement tablet, SBST (Merck, Germany)
11. Baird - Parker's media with egg yolk telluite (Merck, Germany)
12. โขเดียมคลอไรด์ 0.85 เปอร์เซนต์
13. กลีเซอรอล
14. น้ำมันพาราฟิน
16. แอลกอฮอล์ 70 และ 95 เปอร์เซนต์
17. Plate Count Agar (Merck, Germany)
18. Eosin Methylene Blue (EMB) Agar (Criterion, U.S.A)
19. Triple Sugar iron (TSI) agar slant (Merck, Germany)
20. Lysine indole motility (LIM) medium (Merck, Germany)
21. α -Naphthol ความเข้มข้น 5 เปอร์เซนต์ (Merck, Germany)
22. Tryptophan Broth (Merck, Germany)
23. Potassiumhydroxide (KOH) ความเข้มข้น 40 เปอร์เซนต์ (Merck, Germany)
24. Kovac's indole reagent (Merck, Germany)
25. สารละลาย Kovac (Merck, Germany)
26. Methyl Red Voges Proskauer Broth (MR-VP, Merck, Germany)
27. Simmon's Citrate Agar (Merck, Germany)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. ตู้เป็ยเชื้อแบบ Laminar Flow (Dwyer model Mark II, U.S.A)

2. ตู้บเพาะเชื้อ (WTB Binder model BD, Germany)
3. เครื่องเขย่าสาร (Vortex, Vision Scientific co., ltd. model KMC-1300V, Korea)
4. เครื่องตีบดตัวอย่าง (Stomacher Bag Mixer 400 interscience, France)
5. เครื่องซังไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Fx-2000i, Japan)
6. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Memmert, Germany)
7. ไมโครเวฟ (TRX-249M, Korea)
8. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave, Hirayama, Japan)
9. ไมโครปิเปต (Micropipette, Eppendorf, Germany)
10. ตู้แช่แข็ง -20 องศาเซลเซียส (SANDENIntercool, Thailand)
11. ตู้อบเครื่องแก้ว (Hot air oven: Memmert, Belgium)
12. เครื่องมือวัดอุณหภูมิ (Ebro model TTX100, Germany)
13. เครื่องมือวัดสี (Minolta Chromameter CR-300, Japan)
14. เครื่องมือวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (Mettler Toledo model SG-2, China)
15. เครื่องซังไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Fx-2000i, Japan)
16. ไมโครเวฟ (TRX-249M, Korea)
17. ไมโครปิเปต ขนาด 200-1000 ไมโครลิตร (Eppendorf, Germany)
18. เครื่องแก้วพร้อมอุปกรณ์ต่างๆ ที่จำเป็น
19. ไม้บรรจจุพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร
20. เครื่องอัดไส้กรอก (TALSA #0542MODELH 26PA (380/50/3), EU)
21. เครื่องมัดไส้กรอก (MAX SEALING MACHINE, HR - PSII, JAPAN)
22. Type KA 50 air-conditioned maturing cabinet (SUDTRONIC, Germany)

วัตถุดิบที่ใช้ผลิตแฮมเนื้อโค น้ำหนักรวม 6 กิโลกรัม ดัดแปลงจาก จุฑารัตน์ เศรษฐกุล และ พรรณีภา ศิวะพิรุฬห์เทพ (2553)

1. เนื้อโค	3.8	กิโลกรัม
2. เอ็นโค	1.2	กิโลกรัม
3. ข้าวสุก	400	กรัม
4. กระเทียม	400	กรัม
5. พงชูรส	10	กรัม
6. พริกสด	200	กรัม
7. น้ำตาลทราย	20	กรัม

8. เกลือฟอสเฟต	20	กรัม
9. ผงเพรค	110	กรัม

กล้าเชื้อจุลินทรีย์และกลุ่มทดลอง

1. *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่คัดแยกได้จากปลาซวายและปลากระพง ได้มาจากห้องปฏิบัติการจุลินทรีย์เนื้อสัตว์ ศูนย์เครือข่ายการวิจัยเทคโนโลยีเนื้อสัตว์ บ่มเพาะเลี้ยงเชื้อก่อนใช้เป็นกล้าเชื้อบริสุทธิ์ จากสต็อกเชื้อที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส นำมาละลายน้ำแข็งดูเชื้อปริมาณ 100 ไมโครลิตร ลงในอาหารเหลว MRS + 1 เปอร์เซนต์ NaCl broth 5 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง แล้วนำมาเพาะเลี้ยงเชื้ออีกครั้งตามวิธีการดังกล่าว และใช้อาหาร MRS agar + 0.5 เปอร์เซนต์ CaCO_3 + 1 เปอร์เซนต์ NaCl เป็นอาหารแข็งสำหรับเก็บเชื้อแบบ deep tube

2. *Pacovis* RCI - 47 (*Pacovis*, Germany) จำนวน 1 กรัมละลายด้วยน้ำกลั่นต้ม 5 มิลลิลิตร เขย่าให้ละลายแล้วจึงใส่ลงในแฮม

กลุ่มการทดลอง ประกอบด้วย

- กลุ่มที่ 1 ควบคุม (ไม่เติมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลกติก)
- กลุ่มที่ 2 เติมกล้าเชื้อทางการค้า *Pacovis* RCI - 47
- กลุ่มที่ 3 เติมกล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2
- กลุ่มที่ 4 เติมกล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* Sb 2

ขั้นตอนการผลิตแฮม (ดัดแปลงจาก จุฑารัตน์ เสรฐกุล และ พรรณิภา ศิวะพิรุฬห์เทพ. 2553)

3.1 เตรียมแฮมน้ำหนักรวม 6 กิโลกรัม ซึ่งมีส่วนผสมดังนี้ คือ เนื้อโปกด 3.8 กิโลกรัม เอ็นโศก 1.2 กิโลกรัม ข้าวสุก 400 กรัม กระเทียมสด 400 กรัม ผงเพรค 110 กรัม ฟอสเฟต 20 กรัม น้ำตาลทราย 20 กรัม โมโนโซเดียมกลูตาเมต 10 กรัม ผสมส่วนผสมทั้งหมดแล้วนวดเป็นเวลา 10 นาที จนส่วนผสมเหนียวจึงใส่เชื้อจุลินทรีย์ที่เตรียมไว้ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ต่อ 1 กิโลกรัมแฮม

3.2 สำหรับสูตรควบคุม นำแฮมที่ผสมเรียบร้อยแล้ว เข้าเครื่องอัดลงในไส้พลาสติกปริมาณแห้งละ 100 กรัมต่อแท่ง มัดปลายของไส้ทั้งสองด้านให้แน่นด้วยเครื่องมือมัดไส้กรอก

3.3 สำหรับสูตรที่เติมกล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 และสูตรที่ผสมกล้าเชื้อทางการค้า *Pacovis* RCI - 47 เมื่อผสมแฮมในขั้นตอนที่ 3.1 เรียบร้อยแล้ว นำเชื้อจุลินทรีย์ปริมาณ 10^6 cfu/g ของแฮม นวดให้กระจายทั่วแฮมเป็นเวลา 3 นาที ก่อนนำแฮมที่ผสมแล้วเข้าเครื่องอัดแฮมอัดลงในไส้พลาสติกแห้งละ 100 กรัมต่อแท่ง มัดปลายทั้งสองด้านด้วยเครื่องมือมัดไส้กรอก

3.4 นำตัวอย่างแฮมทั้ง 4 สูตรเข้าตูบ่มที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65 เปอร์เซนต์ เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นนำตัวอย่างแฮมไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็น

เวลา 4 วัน ทำการตรวจเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ Coliforms, *E. coli*, *Salmonella* spp., *S. aureus* และ Yeast/Mold ในวันที่ 0 และ 3 ของการหมัก ส่วนเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก ทำการตรวจในวันที่ 0, 1, 2 และ 3 ของการหมัก และตรวจวิเคราะห์ทางเคมีและกายภาพ ได้แก่ ปริมาณกรดทั้งหมด (Total acid) การวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ทุกวันตลอดระยะเวลาการหมักและระหว่าง 4 วันของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น ส่วนการวัดค่าสีที่ผิวสัมผัสด้านนอกเก็บตัวอย่างวันที่ 3 ของกระบวนการหมัก และวันที่ 4 ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น (หรือ 7 วันหลังการผลิต)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ Analysis of Variance วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

ผลการตรวจวิเคราะห์ทางด้านจุลินทรีย์ของแฮมเนื้อโค

จากการศึกษาผลของการใช้กล้าเชื้อทางการค้า (*Pacovis* RCI – 47) กล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 ต่อจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติก Yeast/Mold และ Coliforms (ตารางที่ 2.1.1, 2.1.2 และ 2.1.3) พบว่าในวันที่ 0 ของการหมัก กลุ่มควบคุมมีจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกน้อยที่สุดมีค่าเท่ากับ 4.78 log cfu/g เมื่อเทียบกับกลุ่มที่มีการเติมกล้าเชื้อ *Pacovis* RCI – 47, *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 มีค่าเท่ากับ 5.74, 6.16 และ 5.85 log cfu/g ในวันที่ 1 และ 2 ของการหมัก พบว่ากลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* Sb 2 มีจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกมากที่สุดมีค่าเท่ากับ 8.23 และ 8.43 log cfu/g ตามลำดับ และในขณะเดียวกันกลุ่มควบคุมยังคงมีจำนวนน้อยที่สุดมีค่าเท่ากับ 7.56 และ 7.93 log cfu/g ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่เติมกล้าเชื้ออื่น ส่วนในวันที่ 0 ของการหมัก Yeast/Mold ของกลุ่มควบคุมมีจำนวนน้อยที่สุด มีค่าเท่ากับ 5.49 log cfu/g เมื่อเทียบกับกลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Pacovis* RCI – 47 กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 มีค่าเท่ากับ 6.14, 6.43 และ 6.26 log cfu/g ($P < 0.05$) ส่วนในวันที่ 3 ของการหมักพบว่าจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติก (ตารางที่ 2.1.1) Yeast/Mold (ตารางที่ 2.1.2) และ Coliforms (ตารางที่ 2.1.3) ของกลุ่มที่เติมและไม่เติมกล้าเชื้อไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่จำนวน Yeast/Mold ของกลุ่มควบคุมมีแนวโน้มลดลงน้อยที่สุดมีค่าเท่ากับ 3.86 log cfu/g โดยปริมาณเชื้อเริ่มต้นของกลุ่มควบคุมมีค่าเท่ากับ 5.49 log cfu/g ซึ่งน้อยกว่ากลุ่มอื่นที่มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นมากกว่า และจำนวน Coliforms ของกลุ่มควบคุมมีแนวโน้มลดลงน้อยที่สุดมีค่าเท่ากับ 4.71 log cfu/g โดยปริมาณเชื้อเริ่มต้นของกลุ่มควบคุมมีค่าเท่ากับ 4.94 log cfu/g ซึ่งน้อยกว่ากลุ่มอื่นที่มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นมากกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Pacovis* RCI – 47, *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 มีค่าเท่ากับ 4.17, 4.50 และ 4.09 log

cfu/g แต่ทุกกลุ่มไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ทั้งนี้จากการศึกษาเบื้องต้นของศูนย์เครือข่ายเทคโนโลยี เนื้อสัตว์และ Runjuankiat *et al.* (2009) รายงานว่า *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 สามารถผลิตแบคทีเรียโอซินและเจริญได้ดีในสภาวะที่ค่า pH ต่ำ ซึ่งแบคทีเรียโอซินที่สร้างจากเชื้อดังกล่าวมีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ โดยภายหลังกระบวนการหมัก 3 วันพบว่า Yeast/Mold และ Coliforms มีจำนวนลดลงซึ่งสอดคล้องกับจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกที่เพิ่มขึ้นในวันที่ 1 และ 2 ของการหมัก เนื่องจากการสร้างกรดออกมาเพิ่มขึ้น ทำให้ค่า pH ของหมักลดลง ส่งผลให้เกิดการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อดังกล่าวได้ ซึ่งการทดลองของ Erkkilä *et al.* (2001) ได้ศึกษาความสามารถในการหมักของโปรไบโอติก ได้แก่ *Lb. rhamnosus* GG, LC-705 และ E-97800, *P. pentosaceus* E-90390 และ *Lb. plantarum* E-98098 ในกระบวนการผลิตไส้กรอกหมักแห้ง พบว่าโปรไบโอติกสายพันธุ์ดังกล่าวสามารถสร้างกรดแลคติกได้สูงกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งในระหว่างการหมักไส้กรอกหมักแห้งมีจำนวนของแบคทีเรียเพิ่มขึ้นจาก 6.5-7.0 log cfu/g ถึง 8.0-9.0 log cfu/g โดย *P. pentosaceus* เจริญได้ดีที่สุด โดยค่า pH ของไส้กรอกหมักลดลงจาก 5.6 ถึง 4.9-5.0 และ Fontana *et al.* (2005) ได้ศึกษาความหลากหลายของแบคทีเรียในระหว่างการหมักตามธรรมชาติ พบว่าภายหลังจาก 5 วันของการหมักมีจำนวน Coliforms และ Yeast/Mold ลดลง โดยจุลินทรีย์ในไส้กรอกหมักส่วนใหญ่มาจากการปนเปื้อนของเนื้อสัตว์ เครื่องเทศ วัตถุดิบ และสิ่งแวดล้อมในระหว่างการผลิตซึ่งส่งผลกระทบต่อผลิตภัณฑ์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียได้ อย่างไรก็ตามจากการทดลองนี้ตรวจไม่พบ *Salmonella* spp., *S. aureus* และ *E. coli* ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานของ มพข. 470/2548 โดยสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (2548) ระบุว่าต้องตรวจไม่พบเชื้อ *Salmonella* ในตัวอย่างแฮมเนื้อโค 25 กรัม และสำหรับ *S. aureus* ต้องไม่เกิน 100 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม

ตารางที่ 2.1.1 ผลของการใช้เชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 ต่อจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติก (log cfu/g) ของแฮมเนื้อโคในแต่ละวันของการหมัก

Treatment	Fermentation time (day)			
	0	1	2	3
Control	4.78±0.45 ^b	7.56±0.48	7.93±0.07 ^b	8.53±0.30
<i>Pacovis</i> RCI - 47	5.74±0.33 ^a	8.01±0.46	8.49±0.06 ^a	8.52±0.46
P 2	6.16±0.14 ^a	7.85±0.14	8.10±0.13 ^b	8.31±0.25
Sb 2	5.85±0.25 ^a	8.23±0.44	8.43±0.31 ^a	8.48±0.32

Control = กลุ่มควบคุม

Pacovis RCI - 47 = กลุ่มที่เติมเชื้อเพื่อการค้า (*Pacovis* RCI - 47)

P 2 = กลุ่มที่เติมเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2

Sb 2 = กลุ่มที่เติมเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* Sb 2

^{a, b} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตารางที่ 2.1.2 ผลของการใช้กล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 ต่อจำนวน Yeast/Mold (log cfu/g) ของแฮมเนื้อโคในแต่ละวันของการหมัก

Treatment	Fermentation time (day)	
	0	3
Control	5.49±0.31 ^b	3.86±0.45
<i>Pacovis</i> RCI - 47	6.14±0.32 ^a	3.86±0.12
P 2	6.43±0.54 ^a	3.80±0.12
Sb 2	6.26±0.38 ^a	3.86±0.13

Control = กลุ่มควบคุม

Pacovis RCI - 47 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อทางการค้า (*Pacovis* RCI - 47)

P 2 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2

Sb 2 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* Sb 2

^{a, b} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

ตารางที่ 2.1.3 ผลของการใช้กล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 ต่อจำนวน Coliforms (log cfu/g) ของแฮมเนื้อโคในแต่ละวันของการหมัก

Treatment	Fermentation time (day)	
	0	3
Control	4.94±0.06	4.71±0.14
<i>Pacovis</i> RCI - 47	4.85±0.26	4.17±0.71
P 2	5.13±0.53	4.50±1.13
Sb 2	5.41±0.47	4.09±0.62

Control = กลุ่มควบคุม

Pacovis RCI - 47 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อทางการค้า (*Pacovis* RCI - 47)

P 2 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2

Sb 2 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* Sb 2

ผลการตรวจวิเคราะห์ทางด้านคุณภาพของแฮมเนื้อโค

การใช้กล้าเชื้อสายพันธุ์ต่างๆ มีผลต่อปริมาณกรดทั้งหมด (ตารางที่ 2.1.4) โดยพบว่า ในวันที่ 0 กลุ่มควบคุมมีปริมาณกรดทั้งหมดต่ำสุดมีค่าเท่ากับ 0.51 เนื่องจากมีจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกเริ่มต้นน้อยที่สุด (ตารางที่ 2.1.1) เมื่อระยะเวลาในการหมักนานขึ้น ทำให้จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกของทุกกลุ่มเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นปริมาณกรดทั้งหมดจึงสูงขึ้นเมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มมากขึ้น ในขณะที่กลุ่มควบคุมมี

ปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นต่ำที่สุด และในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็นพบว่าปริมาณกรดทั้งหมดของทุกกลุ่มเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากในระหว่างการเก็บรักษามีผลให้กิจกรรมของแบคทีเรียกรดแลคติกมีการทำงานน้อยลงโดยมีผลมาจากอุณหภูมิของการเก็บรักษา แต่อย่างไรก็ตามพบว่ากลุ่มที่เติมกลีเซอรีน *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 มีปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มมากที่สุดตลอดระยะเวลาการหมัก และการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น สำหรับค่า pH พบว่าในระหว่างกระบวนการหมัก 3 วัน กลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เติมกลีเซอรีน *Pacovis* RCI - 47 มีค่า pH ลดลงต่ำกว่ากลุ่มอื่น มีค่าเท่ากับ 4.99 และ 4.98 ตามลำดับ ในขณะที่กลุ่มที่เติมกลีเซอรีน *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 มีค่าเท่ากับ 4.81 และ 4.87 ตามลำดับ โดยในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็นพบว่า ในวันที่ 7 ค่า pH ของกลุ่มควบคุมยังคงอยู่ที่ 5.06 ในขณะที่กลุ่มที่เติมกลีเซอรีน *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 มีค่า pH ลดลงมากกว่าซึ่งมีค่าเท่ากับ 4.81 และ 4.82 ตามลำดับ โดยการลดลงของค่า pH จะสอดคล้องกับจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกที่เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งจะบ่งบอกถึงความปลอดภัยของผู้บริโภค และส่งผลในการยับยั้งการเจริญของ *Salmonella* (อดิศร. 2533) และ *S. aureus* (Kaban and Kaya. 2005) สำหรับผลการวัดค่าสีที่ผิวสัมผัสด้านนอกในวันที่ 3 ของการหมัก และวันที่ 4 ของการเก็บรักษา พบว่ากลุ่มที่เติมกลีเซอรีน *Pacovis* RCI - 47 มีค่าความสว่าง (L^* , ตารางที่ 2.1.6) และสีเหลือง (b^* , ตารางที่ 2.1.8) สูงสุด ในขณะที่ค่าสีแดงต่ำสุด ($p < 0.05$, ตารางที่ 2.1.7) และกลุ่มที่เติมกลีเซอรีน *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 มีค่าสีแดงสูงสุด ทั้งนี้เนื่องมาจากในระหว่างกระบวนการหมักกลุ่มที่เติมกลีเซอรีน *Pacovis* RCI - 47 ซึ่งเป็นกลีเซอรีนจากต่างประเทศ มีแบคทีเรียกรดแลคติกเพิ่มจำนวนมากขึ้น เกิดการสร้างกรดจึงทำให้มีค่า pH ลดลง และมีปริมาณกรดสูงซึ่งมีผลทำให้ค่าความสว่างและค่าสีเหลืองของแฮมมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม มีผลทำให้แฮมมีสีซีดมากขึ้น ซึ่งสภาวะการเจริญของกลีเซอรีนต่างประเทศนั้นอาจไม่เหมาะกับการนำมาใช้กับแฮมเนื้อโค อาจทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะปรากฏภายนอกไม่เป็นที่ต้องการ โดย Visessanguan *et al.* (2006) รายงานว่าการเปลี่ยนแปลงของแบคทีเรียกรดแลคติกในแฮมที่เติมกลีเซอรีน *Lb. curvatus* และกลุ่มที่ไม่เติมกลีเซอรีน *Lb. curvatus* ซึ่งหมักไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 84 ชั่วโมง จะเพิ่มขึ้นจนถึง 10^8 cfu/g ภายใน 12 และ 72 ชั่วโมงตามลำดับ และมีค่า pH ลดลงอย่างรวดเร็วเนื่องจากการผลิตกรดอินทรีย์ของกลีเซอรีน และทำให้จำนวน Yeast/Mold ลดลงอย่างรวดเร็วจนถึง 10^2 cfu/g ภายใน 24 - 36 ชั่วโมง และจุลินทรีย์ในกระบวนการหมักก็มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าสีของแฮมซึ่งเกี่ยวข้องกับการผลิตกรด และการเสื่อมสภาพของโปรตีน และผลการวิจัยของ Visessanguan *et al.* (2004) รายงานว่าในการหมักแฮมเนื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 84 ชั่วโมง มีผลให้ค่า pH ของแฮมลดลงอย่างรวดเร็วใน 24 ชั่วโมงแรก และมีค่าลดลงจนถึง 4.8 ภายใน 72 ชั่วโมง เนื่องจากสารอินทรีย์ซึ่งส่วนใหญ่เป็นกรดแลคติกที่ผลิตได้จากแบคทีเรียกรดแลคติกมีปริมาณเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับปริมาณกรดแลคติกที่เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตามระยะเวลาการหมักที่เพิ่มขึ้น คณะผู้วิจัยยังพบว่าค่าความสว่างที่ผิวสัมผัสด้านนอกมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ส่วนค่าสีแดงมีค่าเพิ่มขึ้นใน 12 ชั่วโมง

แรกและมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาการหมัก ซึ่งเห็นมเนื่อโคจากการศึกษาครั้งนี้พบว่าค่า pH มีแนวโน้มสูงกว่าเล็กน้อย อาจเป็นเพราะวัตถุดิบเนื่อโคมักจะมีค่า pH สูงกว่าเนื่อสุกร

ตารางที่ 2.1.4 ผลของการใช้กล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 ต่อปริมาณกรดทั้งหมด (เปอร์เซ็นต์) ของแฮมมเนื้อโค (mean±SD) ในระหว่าง 3 วันของการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสและ 4 วันของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

Parameter	Fermentation time (day)				Refrigerated storage time (day)			
	0	1	2	3	1	2	3	4
Control	0.51±0.11 ^b	0.66±0.11	0.89±0.25	0.89±0.20	0.94±0.06 ^b	0.92±0.09 ^b	0.95±0.29	1.01±0.06 ^b
<i>Parcovis</i> RCI-47	0.62±0.09 ^{ab}	0.71±0.02	0.83±0.14	0.81±0.21	0.93±0.12 ^b	1.07±0.07 ^a	1.08±0.13	1.04±0.103 ^b
P 2	0.62±0.14 ^{ab}	0.79±0.12	0.86±0.17	0.97±0.16	1.14±0.06 ^a	1.05±0.08 ^{ab}	1.07±0.06	1.25±0.12 ^a
Sb 2	0.69±0.06 ^a	0.74±0.12	0.87±0.16	0.95±0.05	0.98±0.04 ^b	1.00±0.09 ^{ab}	1.07±0.04	1.07±0.06 ^b

^{a,b} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

Control = กลุ่มควบคุม ; *Pacovis* RCI - 47 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อทางการค้า (*Pacovis* RCI - 47);

P 2 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 ; Sb 2 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* Sb 2

ตารางที่ 2.1.5 ผลของการใช้กล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 ต่อค่าความเป็นกรดต่างของแฮมมเนื้อโค (mean±SD) ในระหว่าง 3 วันของการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสและ 4 วันของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

Parameter	Fermentation time (day)				Refrigerated storage time (day)			
	0	1	2	3	1	2	3	4
Control	6.26±0.08	5.64±0.56	5.17±0.18 ^a	4.99±0.14 ^a	5.01±0.19	4.96±0.17	5.00±0.17	5.06±0.13 ^a
<i>Parcovis</i> RCI-47	6.21±0.09	5.20±0.06	5.07±0.103 ^{ab}	4.98±0.06 ^a	4.89±0.15	4.85±0.14	4.86±0.21	4.87±0.16 ^b
P 2	6.23±0.11	5.35±0.31	4.97±0.05 ^b	4.81±0.08 ^b	4.83±0.05	4.82±0.04	4.83±0.01	4.81±0.06 ^b
Sb 2	6.21±0.08	5.42±0.40	4.94±0.04 ^b	4.87±0.02 ^{ab}	4.84±0.02	4.86±0.04	4.82±0.04	4.82±0.04 ^b

^{a,b} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) Control = กลุ่มควบคุม ; *Pacovis* RCI - 47 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อทางการค้า (*Pacovis* RCI - 47); P 2 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Lc.*

lactis subsp. *lactis* P 2 ; Sb 2 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* Sb 2

ตารางที่ 2.1.6 ผลของการใช้กล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 ต่อค่าสี L* (lightness) ของแฮมเนื้อโคที่ผิวสัมผัสด้านนอก (mean±SD) ในวันที่ 3 ของการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสและหลังจาก 4 วันของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

Parameter	3 Days after fermentation	4 Days after refrigerated storage
Control	48.68±1.66 ^b	47.38±1.43 ^c
<i>Parcovis</i> RCI-47	50.60±1.54 ^a	50.49±1.20 ^a
P 2	50.09±1.18 ^a	48.73±1.19 ^b
Sb 2	50.28±0.86 ^a	49.51±0.79 ^b

^{a b c} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

Control = กลุ่มควบคุม ; *Parcovis* RCI - 47 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อทางการค้า (*Parcovis* RCI - 47)

P 2 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 ; Sb 2 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* Sb 2

ตารางที่ 2.1.7 ผลของการใช้กล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 ต่อค่าสี a* (redness) ของแฮมเนื้อโคที่ผิวสัมผัสด้านนอก (mean±SD) ในวันที่ 3 ของการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสและหลังจาก 4 วันของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

Parameter	3 Days after fermentation	4 Days after refrigerated storage
Control	16.17±1.68 ^b	15.84±1.94 ^b
<i>Parcovis</i> RCI-47	15.62±0.34 ^b	15.61±0.34 ^b
P 2	18.07±0.98 ^a	17.44±1.17 ^a
Sb 2	17.90±1.06 ^a	17.95±1.02 ^a

^{a b} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

Control = กลุ่มควบคุม ; *Parcovis* RCI - 47 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อทางการค้า (*Parcovis* RCI - 47)

P 2 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 ; Sb 2 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* Sb 2

ตารางที่ 2.1.8 ผลของการใช้กล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 ต่อค่าสี b* (yellowness) ของแฮม เนื้อโคที่ผิวสัมผัสด้านนอก (mean±SD) ในวันที่ 3 ของการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสและหลังจาก 4 วันของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

Parameter	3 Days after fermentation	4 Days after refrigerated storage
Control	3.32±0.84 ^b	3.71±0.86 ^b
<i>Pacovis</i> RCI-47	3.97±0.55 ^a	4.40±0.68 ^a
P 2	2.89±0.36 ^c	3.52±0.62 ^b
Sb 2	2.91±0.58 ^c	3.37±0.51 ^b

^{a b c} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

Control = กลุ่มควบคุม ; *Pacovis* RCI - 47 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อทางการค้า (*Pacovis* RCI - 47)

P 2 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 ; Sb 2 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* Sb 2

สรุปผลการทดลอง

การใช้กล้าเชื้อทางการค้า (*Pacovis* RCI – 47) กล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 ในการหมักแฮมเนื้อโคมีผลต่อปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติก Yeast/Mold และ Coliforms โดยพบว่า การใช้กล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ Yeast/Mold และ Coliforms ตามลำดับได้ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และยังตรวจไม่พบเชื้อ *E. coli*, *Salmonella* spp. และ *S. aureus* ส่วนด้านคุณภาพ พบว่าการใช้กล้าเชื้อสายพันธุ์ต่างๆ มีผลต่อปริมาณกรดทั้งหมด ค่า pH และค่าสี (L^* a* และ b*) โดยการใช้กล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 มีปริมาณกรดทั้งหมดสูงสุดและมีค่า pH ต่ำสุด และยังพบว่าการใช้กล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 มีผลให้แฮมเนื้อโคสีแดงเพิ่มมากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ดังนั้นสามารถนำกล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 มาใช้เป็นกล้าเชื้อโปรไบโอติกในแฮมเนื้อโคเพื่อเพิ่มความความปลอดภัยต่อการบริโภคและอาจทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีสีที่น่านรับประทานมากขึ้น

เอกสารอ้างอิง

- ชัยณรงค์ คันทพนิต. 2529. วิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์ไทยวัฒนาพานิช.
- นภา โล่ห์ทอง. 2529. ปฏิบัติการวิชาจุลชีววิทยาทางอาหาร. ภาควิชาจุลชีววิทยาและวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน. 2548. แฮมเนื้อ มพช. 470/2548. กระทรวงอุตสาหกรรม. 5 หน้า.
- รุจริน ลิ้มสุกวานิช และจุฑารัตน์ เสริมสกุล. 2552. คุณค่าเนื้อโคไทย. กรุงเทพฯ : บริษัท อัมรินทร์พริ้นติ้ง แอนด์ พับลิชชิ่ง จำกัดมหาชน. 98 หน้า.
- อัจฉรา เพิ่ม. 2549. แบคทีเรียแลคติก. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : หจก. ภาพพิมพ์.
- อดิศร เสวตวิวัฒน์. 2533. ผลของการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกต่อชาลโมเนลลาในการหมักแฮม.
- วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย,

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

- Ammor, M.S. and Mayo, B. 2007. "Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production: An update." *Meat Sci.* 76 : 138-146.
- AMSA. 1991. Guideline for meat color evaluation. American Meat Science Association. Illinois. USA.
- AOAC. 1995. Chapter 17 AOAC Official Method 17.9.01. p. 55. In Cunniff, P. Official methods of analysis of AOAC International. Virginia: AOAC International.
- AOAC. 2005. Chapter 17 AOAC Official Method 940.36B. p. 2. In Horwitz, W. and Latimer, G.W. Official methods of analysis of AOAC International. U.S.A.
- AOAC. 2006. Chapter 17 AOAC Official Method 966.23c-24. p.5-6. In Horwitz, W. and Latimer, G.W. Official methods of analysis of AOAC International. Maryland: AOAC International.
- Bae, H.C., Nam, M.S. and Lee, J.Y. 2002. "Probiotic characterization of acid- and bile-tolerant *Lactobacillus salivarius* subsp. *salivarius* from Korean faeces." *Asian-australasian J. Anim. Sci.* (Abstract).
- BAM. 2001. Bacteriological Analytical Manual online, Chapter 12 on *Staphylococcus aureus*. U.S. Food and Drug Administration. January 2001. <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM>.
- Commane, D., Hughes, R., Shortt, C. and Rowland, I. 2005. "The potential mechanisms involved in the anti-carcinogenic action of probiotics." *Mutat. Res.* 591 : 276-289.
- Erkkilä, S., Suihko, M. L., Earola, S., Petäjä, E. and Sandholm, T. M. 2001. "Dry sausage fermented by *Lactobacillus rhamnosus* strains." *Int. J. of Food Microbiol.* 641(1-2) : 205-210.
- Erkkilä, S. 2001. "Bioprotective and probiotic meat starter cultures for the fermentation of dry sausages." Presented with permission of Faculty of Agriculture and Forestry of the University of Helsinki, for public criticism in lecture hall XV, Aleksanterinkatu 5, on June 29th 2001.
- Flores, M. and Toldra, F. 2010. "Microbial enzymatic activities for improved fermented meats." *Trends Food Sci. Technol.* xx : 1-10.
- Fontana, C., P.S. Cocconelli and G. Vignolo. 2005. Monitoring the bacterial population dynamics during fermentation of artisanal Argentinean sausages. *Int. J. Food Microbiol.* 103 : 131-142.
- Kaban, G. and Kaya, M. 2005. "Effect of starter culture on growth of *Staphylococcus aureus* in sucuk." *Meat Sci.* 17 : 797 - 801.
- O'Mahony, L., Feeney, M., O'Halloran, S., Murphy, L., Kiely, B., Fitzgibbon, J., Lee G. O'Sullivan, G., Shanahan, F. and Collins, J. 2001. "Probiotic impact on microbial flora, inflammation and development in IL-10 knockout mice." *Alimentary Pharmacology & Therapeutics.* (Abstract).
- Riebroy, S., Benjakul, S. and Visessanguan, W. 2008. "Properties and acceptability of Som-fug, a Thai fermented fish mince, inoculated with lactic acid bacteria starters." *LWT.* 41 : 569 - 580.

- Runjuankiat, K., Pilasombut, K., Wangwibulkit, S., and Swetwiwathana, A. 2009. "Screening and partial characterization of bacteriocin from lactic acid bacteria in fish gastrointestinal tract." In book of Abstract of The 3rd International Conference on Fermentation Technology for Value Added Agricultural Products. 26-28 August, Khon kaen, Thailand.
- Varnam, A. H. And Sutherland, J. P. 1995. "Fermented sausages." *In* Varnam, A. H. And Sutherland, J. P. (ed.) Meat and meat product. New York : Chapter and Hall.
- Visessanguan, W., Benjakul, S., Riebroy, S. and Thepkasikul, P. 2004. "Changes in composition and functional properties of proteins and their contributions to Nham characteristics." *Meat Sci.* 66 : 579 - 588.
- Visessanguan, W., Benjakul, S., Smitinonta, T., Kittikuna, C., Thepkasikula, P. and Panya, A. 2006. "Changes in microbiological, biochemical and physico-chemical properties of Nham inoculated with different inoculum levels of *Lactobacillus curvatus*." **LWT.** 39 : 814-826.

2.2 คุณสมบัติทางด้านจุลินทรีย์และคุณภาพของผลิตภัณฑ์แฮมเนื้อโคเมื่อใช้ *Pediococcus pentosaceus* TISTR536 และ *Lactobacillus salivarius* D4 เป็นกล้าเชื้อ

หลักการและเหตุผล

ในปัจจุบันการนำกล้าเชื้อที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติกและสร้างสารแบคทีเรียโอซิน มาใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักกำลังแพร่หลายและเป็นที่ต้องการของผู้บริโภค เพราะโปรไบโอติกหมายถึงจุลินทรีย์ที่มีชีวิตที่เมื่อได้รับเข้าสู่ร่างกายในปริมาณที่เพียงพอ จะก่อให้เกิดประโยชน์ต่อสุขภาพของเจ้าบ้าน (Guarner *et al.* 2005) อัจฉราเพิ่ม (2549) รายงานว่า โปรไบโอติกมีประโยชน์หลายประการ เช่น ช่วยในการยับยั้งเชื้อก่อโรคในลำไส้โดยการสร้างกรดอินทรีย์ ทำให้ค่า pH ลดลง ช่วยในการกีดกันการยึดเกาะของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในลำไส้ เป็นต้น จากการศึกษาของ Erkkilä and Petäjä (2000) รายงานว่า คุณสมบัติของโปรไบโอติกที่ดีคือ ต้องสามารถยึดเกาะกับระบบทางเดินอาหารของเจ้าบ้าน สามารถอยู่รอดได้ในกระเพาะอาหารซึ่งมีค่า pH ต่ำ และสามารถทนต่อกรดน้ำดีในลำไส้เล็ก นอกจากนี้ต้องสามารถต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์อื่นที่ไม่ต้องการในระบบทางเดินอาหารได้ และยังพบว่า แบคทีเรียโอซินสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรคทั้งแกรมบวกและแกรมลบ

รุจิรินทร์ ลิ้มสุวานิช และจุฑารัตน์ เศรษฐกุล (2552) กล่าวว่า จากความก้าวหน้าทางงานวิจัยมีกระบวนการคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มแลคติกที่ช่วยในการหมักเนื้อ นำมาผลิตเป็นเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น (Starter Culture) เพื่อใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก ซึ่งการใช้จุลินทรีย์เริ่มต้นจะช่วยให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพคงตัวขึ้น สามารถควบคุมกระบวนการหมักได้ดีขึ้น และยังช่วยเพิ่มความปลอดภัยจากจุลินทรีย์ก่อโรค จากคุณสมบัติดังกล่าวของแบคทีเรียกรดแลคติกสามารถทำให้ผลิตภัณฑ์แฮมมีคุณภาพสม่ำเสมอ อายุการเก็บรักษายาวนานขึ้น ช่วยเพิ่มรสชาติและคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์ ทำให้ผลิตภัณฑ์มีลักษณะเฉพาะตัว และยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค ซึ่งแฮมเนื้อโคเป็นอาหารหมักที่ทำมาจากเนื้อสัตว์ ถือว่าเป็นผลิตภัณฑ์จากภูมิปัญญาท้องถิ่นซึ่งคนไทยนิยมบริโภค แฮมที่ผ่านกระบวนการหมักมีรสชาติอมเปรี้ยว Visessanguan *et al.* (2004) รายงานว่า แฮมควรมี pH อยู่ระหว่าง 4.4-4.8 ปริมาณกรดทั้งหมด 0.77-1.6 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณน้ำอิสระ (a_w) อยู่ระหว่าง 0.80-0.95

ศูนย์เครือข่ายการวิจัยเทคโนโลยีเนื้อสัตว์ โดยความร่วมมือของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ร่วมกับสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ได้ทำการคัดแยกแบคทีเรียกรดแลคติกสายพันธุ์ *Lactobacillus salivarius* D 4 และ Swetwivathana *et al.* (2005) ได้คัดแยกเชื้อสายพันธุ์ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ซึ่งเชื่อดังกล่าว เป็นแบคทีเรียกรดแลคติกที่สามารถผลิตกรดแลคติก สร้างสารแบคทีเรียโอซิน และมีคุณสมบัติเบื้องต้นเป็นโปรไบโอติก

ดังนั้นการศึกษารุ่นนี้ จึงมีวัตถุประสงค์ในการนำแบคทีเรียกรดแลคติกสายพันธุ์ดังกล่าว มาใช้เป็นกล้าเชื้อแบคทีเรียโปรไบโอติกในแฮมให้เป็นอาหารเพื่อสุขภาพ มีความปลอดภัยทางด้านอาหาร และความสม่ำเสมอด้านคุณภาพของผลิตภัณฑ์

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ลักษณะทั่วไปของแฮม

มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (2548) ได้ให้นิยามของแฮมว่า หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ทำมาจากเนื้อหมูและหนังหมู เดิมเครื่องปรุง ห่อเป็นมัดหรือบรรจุในภาชนะบรรจุ หมักจนได้รสเปรี้ยว สำหรับคุณลักษณะทั่วไปของแฮมนั้น แฮมต้องมีเนื้อแน่นและคงรูป ส่วนประกอบต่างๆ ต้องผสมกันอย่างทั่วถึง มีสีชมพูตามธรรมชาติของแฮมที่พร้อมบริโภค กรณีหั่นต้องคงสภาพเป็นชิ้น ไม่ยุ่ย มีการกระจายตัวของส่วนประกอบอย่างสม่ำเสมอ มีกลิ่นและรสชาติ ปราศจากกลิ่นแปลกปลอม เช่น กลิ่นอับ กลิ่นเหม็น ห้ามใช้วัตถุเจือปนในอาหารอื่นใด นอกจากชนิดและปริมาณที่กำหนดดังต่อไปนี้ ฟอสเฟตในรูปของโมโน-ได- และพอลิของเกลือโซเดียมหรือโพแทสเซียมอย่างใดอย่างหนึ่ง หรือรวมกันในผลิตภัณฑ์สำเร็จ (คำนวณจากฟอสฟอรัสทั้งหมดในรูป P_2O_5) ให้ใช้ได้ไม่เกิน 3,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โซเดียมหรือโพแทสเซียมในไตรต์ให้ใช้ได้ไม่เกิน 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม หรือโซเดียมหรือโพแทสเซียมในไตรต์ ไม่เกิน 125 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

แฮมเนื้อ หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำเนื้อวัวหรือเนื้อควาย ที่ตัดแต่งเอามันและพังผืดออกมาล้างทำความสะอาด แล้วบดหรือหั่นเป็นชิ้นผสมกับเกลือ เดิมข้าวเจ้าสุกหรือข้าวเหนียวสุก และกระเทียมบด อาจเติมน้ำตาล ผสมให้เข้ากัน อาจตกแต่งด้วยพริก ห่อเป็นมัด หมักในระยะเวลาที่เหมาะสมจนมีรสเปรี้ยว ลักษณะทั่วไปคือ ต้องแน่น คงรูป กรณีหั่นเป็นชิ้น ต้องยังคงสภาพเป็นชิ้น ไม่ยุ่ย มีการกระจายของส่วนประกอบที่ใช้ค่อนข้างสม่ำเสมอ ต้องมีสีที่ติดตามธรรมชาติของแฮมเนื้อ ต้องมีกลิ่นหอมเฉพาะตัวของแฮมเนื้อ ปราศจากกลิ่นอื่นที่ไม่พึงประสงค์ เช่น กลิ่นอับ กลิ่นหืน กลิ่นสาบ ต้องมีรสเปรี้ยวเค็มกลมกล่อม ความเป็นกรด-ด่างต้องไม่เกิน 4.6 ต้องไม่พบเชื้อ *Salmonella* spp. ในตัวอย่าง 25 กรัม เชื้อ *Staphylococcus aureus* ต้องไม่เกิน 100 โคโลนี ต่อตัวอย่าง 1 กรัม ยีสต์และราต้องน้อยกว่า 100 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม พยาธิ *Taenia saginata* และ *Gnathostoma spinigigrum* ต้องไม่พบในตัวอย่าง 100 กรัม (มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน. 2548)

การศึกษาเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก

แบคทีเรียกรดแลคติก คือ กลุ่มของแบคทีเรียที่จัดอยู่ใน Family *Lactobacillaceae* เมื่อทำการย้อมแกรมแล้วติดสีแกรมบวก มีรูปร่างท่อนและทรงกลม ไม่สร้างเอนไซม์อะคาเลส แบคทีเรียกรดแลคติกสามารถจำแนกได้รวมทั้งหมด 12 สกุล คือ *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* และ *Weissella* (Axelsson. 1993) ซึ่ง อัจรา เพิ่ม (2549) รายงานว่า สารที่แบคทีเรีย กรดแลคติกสร้างออกมาได้แก่ กรดแลคติก กรดอะซิติก แบคเทอรีโอซิน นอกจากนี้ ยังมีสารชนิดอื่น ๆ ที่เกิดขึ้นในปริมาณน้อย แต่มีผลในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียชนิดต่าง ๆ เช่นกัน ได้แก่ กรดฟอร์มิก กรดไขมันอิสระ แอมโมเนีย เอทานอล ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ไดอะซีทิล อะซีโตน อะซีทัลดีไฮด์ เบนโซเอต เอนไซม์ที่มีผลทำให้เซลล์แบคทีเรียแตก ซึ่งสารที่แบคทีเรียกรดแลคติก สร้างออกมาส่วนใหญ่ คือ

1) กรดอินทรีย์

กรดอินทรีย์ เช่น กรดแลกติกและกรดอะซิติก เป็นสารเมตาบอไลต์ทุติยภูมิ มีผลทำให้ค่า pH ของ ซับสเตรตต่ำลง ความเป็นกรดสูงขึ้น จึงมีผลยับยั้งจุลินทรีย์แบคทีเรียอื่น (สุเมธนา วัฒนสินธุ์, 2545) และ Swetwathana *et al.* (1999) กล่าวว่า กรดแลกติกที่สร้างจากคาร์โบไฮเดรต โดยตระกูลของ *Lactobacillus* spp. และ *Pediococcus* spp. จะทำให้ pH ต่ำลง และไปยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการในผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้ยังทำให้ผลิตภัณฑ์มีรสเปรี้ยว

2) แบคทีเรียโอซิน

Leroy and De Vuyst (2004) รายงานว่า แบคทีเรียโอซิน คือ สารประกอบประเภทโปรตีนที่สร้างขึ้นโดยแบคทีเรียทั้งจากแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ มีโครงสร้างเป็นเปปไทด์สายเล็กๆ เป็นสารที่มีฤทธิ์ทำลายจุลินทรีย์ชนิดอื่นบางชนิดได้ กลไกการทำลายเชื้อของแบคทีเรียโอซิน เกิดจากแบคทีเรียโอซินแต่ละโมเลกุลร่วมกันทำให้เกิดเป็นรูหรือช่องว่างในบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์เป้าหมาย โดยจะมีลักษณะคล้ายเข็มไม้ที่มาประกอบกันเป็นผนังด้านข้างของถังไม้ (barrel-stave) รูปแบบดังกล่าว จะทำให้เกิดการเสียสมดุลของไอออน เกิดการสูญเสียกรดอะมิโน และสารประกอบอินทรีย์ในกลุ่มฟอสเฟต ซึ่งเป็นสารประกอบสำคัญในการสร้างพลังงานของเซลล์ ซึ่งขั้นตอนและกลไกในการทำลายเซลล์เป้าหมายจะแตกต่างกันไปตามชนิดของแบคทีเรียโอซิน

3) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide)

Otero and Nader-Macías (2006) ศึกษาการยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการติดเชื้อในระบบสืบพันธุ์ภายหลังการคลอด ด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ที่สร้างจาก *Lb. gasseri* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่แยกได้จากช่องคลอดของโคกระบือ พบว่า *Lb. gasseri* สามารถสร้างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้ปริมาณมาก เมื่อเลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์นี้ร่วมกับ *S. aureus* พบว่า เมื่อเวลาผ่านไป 6 ชั่วโมง การเจริญของ *S. aureus* ลดลง อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เมื่อดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบว่า ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และกรดแลกติกที่หลั่งออกมาโดย *Lactobacilli* จะสามารถทำลายเซลล์ของ *S. aureus* ได้

1. คุณสมบัติของกล้ำเชื้อแบคทีเรียกรดแลกติกในการเป็นโปรไบโอติก

รายงานของ Frederic and De Vuyst (2004) กล่าวว่า กล้ำเชื้อแบคทีเรีย คือ จุลินทรีย์ที่เตรียมในห้องปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์ ซึ่งอาจประกอบด้วยเชื้อ 1 ชนิดหรือมากกว่า 1 ชนิด บางชนิดสามารถผลิตกรดแลกติกและกรดอินทรีย์จากกระบวนการหมักคาร์โบไฮเดรต มีความสำคัญในกระบวนการหมักที่ใช้ในอุตสาหกรรมนมหมักเนื้อ อัจฉรา เพิ่ม (2549) รายงานว่า คุณสมบัติที่ดีของกล้ำเชื้อแบคทีเรียกรดแลกติกคือ มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติก โดยโปรไบโอติก คือ จุลินทรีย์ที่มีชีวิต ที่เมื่อได้รับเข้าสู่ร่างกายในปริมาณที่เพียงพอ จะก่อให้เกิดประโยชน์ต่อสุขภาพของเจ้าบ้าน Guarner *et al.* (2005) กล่าวว่า การยับยั้งเชื้อก่อโรคลำไส้โดยการสร้างกรดอินทรีย์ทำให้ค่า pH ลดลง ช่วยในการกีดกันการยึดเกาะของเชื้อก่อโรคลำไส้ สร้างสารแบคทีเรียโอซิน ช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน Erkkilä and Petäjä (2000) รายงานว่า คุณสมบัติของโปรไบโอติกที่ดี คือ ต้องสามารถยึดเกาะบนผนังลำไส้ของระบบทางเดินอาหารของเจ้าบ้าน สามารถอยู่รอดได้ในกระเพาะอาหารซึ่งมีค่า pH ต่ำ และสามารถทนต่อกรดน้ำดีในลำไส้เล็กได้ นอกจากนี้ ต้องสามารถแข่งขันและต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์อื่นที่ไม่ต้องการในระบบทางเดินอาหารได้ นอกจากนี้ Leroy *et al.* (2006) กล่าวว่า กล้ำเชื้อ

แบคทีเรียจะช่วยเพิ่มรสชาติ ความปลอดภัย และการเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ โดยจุลินทรีย์เหล่านี้จะสร้างสารให้กลิ่นรส สารแบคทีเรียโอซิน หรือสารยับยั้งจุลินทรีย์อื่นๆ ช่วยพัฒนาสีของเนื้อหมัก ไม่สร้างเอมีน หรือสารประกอบที่เป็นพิษอื่นๆ แบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดแลคติกนั้นมีด้วยกันหลายชนิด

2. คุณสมบัติของกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกในการยับยั้งเชื้อก่อโรคในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก

กลไกการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคนั้น เกิดจากสารที่แบคทีเรียกรดแลคติกสร้างขึ้นได้แก่ กรดอินทรีย์ เช่น กรดแลคติก ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และแบคทีเรียโอซิน โดยพบว่า ส่วนที่ชอบไขมันซึ่งจะอยู่ในโมเลกุลที่ไม่แตกตัว จะซึมผ่านเข้าไปในพลาสมาเมมเบรนของแบคทีเรียที่มีค่า pH ก่อนข้างเป็นกลาง ซึ่งมีค่า pH สูงกว่า ไฮโดรฟาสซึม ดังนั้นเมื่อกรดอยู่ในรูปที่ไม่แตกตัวเข้าไปก็จะเกิดภาวะแตกตัวออกในรูปของโปรตอน มีผลในการทำลายออกซิเดทีฟ ฟอสฟอริเลชันฟอรั่ม ของระบบการขนส่งอิเล็กตรอน รวมไปถึงการยับยั้งระบบการขนส่งสารโมเลกุลเข้าสู่เซลล์ ผลในการทำลายและยับยั้งการเจริญเติบโตจากกรดอินทรีย์ ขึ้นอยู่กับค่าคงที่ของการแตกตัวของกรด ที่สร้างขึ้นมาจากแบคทีเรียกรดแลคติก (ชลัท ศานติวรางคณา. 2542) นอกจากนี้ Davidson and Hoover (1993) กล่าวว่า การยับยั้งที่เกิดจากแบคทีเรียโอซินนั้น พบว่า แต่ละโมเลกุลของแบคทีเรียโอซินร่วมกัน ทำให้เกิดเป็นรูหรือช่องว่างในบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์เป้าหมาย โดยจะมีลักษณะคล้ายกับไม้ที่มาประกอบกันเป็นผนังด้านข้างของถังไม้ (barrel-stave) รูปแบบดังกล่าว จะทำให้เกิดการเสียสมดุลของไอออน สูญเสียกรดอะมิโน และสารประกอบอินทรีย์ในกลุ่มฟอสเฟต ซึ่งเป็นสารประกอบสำคัญในการสร้างพลังงานของเซลล์ Ruengwilayup (2005) ศึกษาผลของการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกสายพันธุ์ *Lb. phantarum*, *Lb. sakie*, *Lb. mesenteroides* spp. *mesenteroides*, *Pc. acidilactici*, *Pc. pentosaseus* และ *lactacel* 115 เพื่อศึกษาการยับยั้งเชื้อ *S. Typhimurium*, *E. coli* 0157:H7, *Y. enterocolitica*, *Lb. monocytogenes* และ *Cl. perfringens* แบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 7 กลุ่มการทดลอง คือ กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อทั้ง 6 สายพันธุ์ และกลุ่มที่ไม่เติมกล้าเชื้อ (กลุ่มควบคุม) โดยอุณหภูมิการหมักหมกแทนเท่ากับ 37 องศาเซลเซียส ค่า pH ในหมก < 4.6 ตรวจเชื้อวันที่ 0, 1, 2 และ 3 ของกระบวนการหมัก จากการทดลองพบว่า เชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก *Pc. pentosaseus* และ *lactacel* 115 เป็นสายพันธุ์ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. Typhimurium*, *E. coli*, *Y. enterocolitica* และ *Lb. monocytogenes*

Erkkilä et al. (2001) ทำการศึกษา การผลิตไส้กรอกแห้งโดยใช้โปรไบโอติก 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Lb. rhamnosus* GG, E-97800 และ LC-705 และกล้าเชื้อทางการค้า 1 ชนิด คือ *Pc. pentosaceus* ใช้เป็นกลุ่มควบคุม จากการศึกษาพบว่า ในระหว่างกระบวนการหมักจำนวนของแบคทีเรียกรดแลคติกที่เติมลงไปมีจำนวนเพิ่มสูงขึ้น 7 log cfu/g ถึง 8-9 log cfu/g และค่า pH ลดลงจาก 5.6 เป็น 4.9-5.0 ทุกกลุ่มการทดลอง จากการทดสอบทางด้านรสชาติ พบว่า ไส้กรอกหมักที่เติมเชื้อ *Lb. rhamnosus* LC-705 มีรสชาติดีกว่าไส้กรอกในกลุ่มควบคุม แต่กลับพบว่า ไส้กรอกในกลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Lb. rhamnosus* GG และ E-97800 มีรสชาติดีกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งผลที่ได้จากการศึกษานี้พบว่า *Lb. rhamnosus* โดยเฉพาะอย่างยิ่งสายพันธุ์ GG และ E-97800 มีความเป็นไปได้ในการนำไปใช้เป็นกล้าเชื้อโปรไบโอติกในการผลิตไส้กรอกหมักแบบแห้ง

Kaban and Kaya (2005) ศึกษาผลของการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก ต่อการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* โดยการเติมเชื้อ *S. aureus* ลงในหมกเท่ากับ 10^6 cfu/g แบ่งกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกออกเป็น 2

กลุ่ม กลุ่มแรกประกอบด้วยเชื้อ *Pc. acidilactici*, *Lb. curvatus* และ *S. xylosus* กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยเชื้อ *Lb. sakei* และ *S. carnosus* จากการทดลองพบว่า กล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่ใช้ในการทดลองทั้ง 2 กลุ่มการทดลอง มีความสามารถต่อการยับยั้งเชื้อ *S. aureus*, *Micrococcus/Staphylococcus* และ *Enterobacteriaceae* เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้เติมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกในผลิตภัณฑ์ จำนวนเชื้อ *S. aureus* ลดลงจาก 10^6 cfu/g เหลือเพียง 10^4 cfu/g เมื่อการหมักหมกผ่านไป 3 วัน แต่ในกลุ่มควบคุมกลับพบความแตกต่างที่ตรงกันข้าม คือ เมื่อกระบวนการหมักหมกผ่านไปเพียง 48 ชั่วโมง จำนวนเชื้อ *S. aureus* กลับเพิ่มขึ้นจากเดิมกลายเป็น 10^8 cfu/g แล้วยังพบว่ากลุ่มควบคุมมีจำนวนเชื้อในกลุ่ม *Micrococcus/Staphylococcus* และ *Enterobacteriaceae* สูงสุด เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่เติมกล้าเชื้อทั้ง 2 กลุ่ม ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

3. คุณสมบัติของกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีผลต่อลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก

Visessanguan *et al.* (2004) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงส่วนประกอบและคุณสมบัติของโปรตีนระหว่างการหมักหมกที่ 0, 12, 24, 36, 48, 60, 72 และ 84 ชั่วโมง ที่มีผลต่อลักษณะเนื้อสัมผัส สี รสชาติ pH และ ปริมาณกรดแลคติก จากการทดลองพบว่า ค่า pH ของแฮมลดลงอย่างรวดเร็วใน 24 ชั่วโมงแรก เนื่องจากปริมาณกรดแลคติกเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ตามระยะเวลาการหมักที่เพิ่มขึ้น และมีค่า pH ลดลงจนถึง 4.6 ภายใน 60-72 ชั่วโมง จากการศึกษาทางด้านกายภาพพบว่า ปริมาณน้ำที่สูญเสียไปในระหว่างการหมักเพิ่มขึ้น ปริมาณน้ำที่สูญเสียเป็นน้ำที่ยังคงอยู่ในไส้บรรจุและที่พื้นผิวแฮม ส่วนสีแฮมในระหว่างการหมัก มีความสว่างลดลงในระหว่าง 12 ชั่วโมงแรก และจะเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึง 36 ชั่วโมง แฮมมีสีแดงเพิ่มขึ้นใน 12 ชั่วโมงแรก และมีสีเหลืองลดลงใน 24 ชั่วโมงแรก และจะลดลงอย่างมากใน 36 ชั่วโมง ต่อมา นอกจากนี้ Visessanguan *et al.* (2005) ศึกษาผลของอัตราส่วนที่แตกต่างกันของเนื้อมัดและหนัง ที่มีผลต่อลักษณะทางกายภาพและเคมีของแฮม แบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 5 กลุ่มการทดลอง โดยมีอัตราส่วนของเนื้อมัดต่อหนังเท่ากับ 4:6, 5:5, 6:4, 7:3 และ 8:2 (กลุ่มละ 7.5 kg) จากการทดลองพบว่า แฮมที่มีอัตราส่วนของเนื้อมัดเพิ่มขึ้น ทำให้มีปริมาณกรดแลคติกเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ค่า pH ลดลงถึง 4.8 ภายใน 72 ชั่วโมงโดยลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และปริมาณน้ำที่สูญเสียไปในระหว่างการหมักมีปริมาณเพิ่มขึ้น เมื่ออัตราส่วนของเนื้อมัดต่อหนังเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) อัตราส่วนของหนังต่อเนื้อมัดในแฮมดิบที่เพิ่มขึ้นมีผลต่อการยึดเกาะ (Adhesiveness) แรงกด (Force) ความแข็ง (Hardness) และการเกาะเป็นก้อน (Cohesiveness) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ปริมาณของเนื้อมัดที่มากขึ้นจะทำให้แฮมมีสีแดงสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

Riebrooy *et al.* (2008) ศึกษาการใช้แบคทีเรียกรดแลคติกสายพันธุ์ *Lb. plantarum*, *Pc. acidilactici* และ *Pc. pentosaceus* BT 520 เป็นกล้าเชื้อในผลิตภัณฑ์แฮมปลา แบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ 3 สายพันธุ์ และกลุ่มที่ไม่ได้เติมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก (กลุ่มควบคุม) ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางกายภาพและเคมี พบว่า กล้าเชื้อทั้ง 3 ชนิด มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) แต่พบว่า การใส่กล้าเชื้อปริมาณที่แตกต่างกัน 2 ระดับ คือ 10^4 และ 10^6 cfu/g ทำให้มีค่า pH ลดลงใกล้เคียง 4.6 ภายใน 36 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมง ของการหมักตามลำดับ ปริมาณกรด

แลคติกในกลุ่มที่เติมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 3 สายพันธุ์ เพิ่มขึ้นมากกว่ากลุ่มที่ไม่ใส่กล้าเชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แหนมที่ใส่กล้าเชื้อ *Pc. acidilactici* ปริมาณ 10^4 cfu/g ระหว่าง 12-36 ชั่วโมง มีปริมาณน้ำที่สูญเสียไปเพิ่มมากกว่ากลุ่มที่ไม่ใส่กล้าเชื้อ ($P < 0.05$)

Muthukumarasamy and Holley (2007) ได้ศึกษาผลของการเติมโปรไบโอติก 2 ชนิดคือ *Lb. reuteri* และ *B. longum* ร่วมกับกล้าเชื้อ *Pc. pentosaceus* และ *S. carnosus* ที่มีผลต่อการอยู่รอดของ *E. coli* 0157 : H7 ในไส้กรอกหมักแบบแห้ง โดยหมักไส้กรอกไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 26 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 88 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลาเท่ากับ 3 วัน และทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 75 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 25 วัน ในระหว่างการหมักทำการวิเคราะห์ค่า pH ค่า Water activity (a_w) โปรตีน ความชื้น และจำนวนจุลินทรีย์ จากการศึกษาพบว่า ค่า pH ลดลงจาก 5.7 และ 5.8 เหลือ 4.8 และ 4.9 ตามลำดับ ซึ่งส่งผลให้จำนวน *E. coli* 0157 : H7 ลดลงเหลือประมาณ 2 log cfu/g ทั้งสองกลุ่มที่เติมกล้าเชื้อจนถึงวันสุดท้ายของการหมัก

4. เชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในแหนม

Chokesajjawatee et al. (2009) ดำเนินการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์แหนมหมัก จากการทดลองสุ่มตัวอย่างแหนมทั้งหมด 155 ตัวอย่าง จากตลาดสดในเขตกรุงเทพมหานคร พบว่าตัวอย่างแหนม 61 ตัวอย่าง คิดเป็น 39.35 เปอร์เซ็นต์ พบการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* ปริมาณ 2–3500 MPN/g ในกลุ่มของแหนมที่มีค่า pH สูงกว่า 4.6 นอกจากนี้ยังพบว่า เมื่อค่า pH ของแหนมลดลงน้อยกว่า 4.6 พบการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* ในแหนมลดลง โดยพบเพียง 2–17 MPN/g เท่านั้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่าจากกิจกรรมการหมักทำให้ค่า pH ของแหนมลดลง จะทำให้การมีชีวิตรอดของเชื้อ *S. aureus* ลดลงด้วย

สำหรับรายงานการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. ในกลุ่มของผลิตภัณฑ์แหนมหมัก อิศร เสวตวิวัฒน์ (2533) ได้ตรวจการปนเปื้อนของเชื้อชนิดนี้ในแหนม 56 ตัวอย่าง พบเชื้อ *Salmonella* spp. ทั้งหมด 16 เซโรไทป์ โดยเซโรไทป์ที่พบมากที่สุดได้แก่ *S. Derby* และเซโรไทป์ *S. Anatum* พบถึง 20.50 เปอร์เซ็นต์ และ 14.72 เปอร์เซ็นต์ ของตัวอย่างที่ตรวจตามลำดับ ซึ่งต่อมามีการศึกษาพบว่า อิศร เสวตวิวัฒน์ และอรุณ บ้างตระกูลนนท์ (2539) ได้ตรวจหาเชื้อ *Salmonella* spp. ในแหนมที่จำหน่ายตามท้องตลาดและห้างสรรพสินค้าในเขตกรุงเทพฯ จำนวน 40 ตัวอย่าง พบว่า มีการปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์มากถึง 30 ตัวอย่าง

ประเวทย์ ตัญเฒ่าวงศ์ และคณะ (2548) ทำการประเมินความเสี่ยงของการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. ในแหนมเนื้อหมู จากการสุ่มตัวอย่างทั้งหมด 450 ตัวอย่าง ในตลาดสดทั่วกรุงเทพฯ พบว่า การปนเปื้อนมักพบเชื้อนี้มากในเนื้อสุกรซึ่งใช้เป็นวัตถุดิบในการทำแหนม ซึ่งการปนเปื้อนของเชื้อนี้ เริ่มตั้งแต่การมีอยู่ของเชื้อในตัสุกร เนื้อสุกร และแหนม ดังนั้น โอกาสที่ผู้บริโภคจะเกิดการเจ็บป่วยอันเนื่องมาจากการบริโภคแหนมที่มีการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. ในระดับที่อาจก่อให้เกิดการเจ็บป่วยได้จึงมีสูง จึงมีการนำการประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร มาใช้เพื่อป้องกันการเจ็บป่วยจากโรคซัลโมเนลโลซิส โดยทำการประเมินความเสี่ยงของเชื้อ *Salmonella* spp. ในแหนม พบว่า ความน่าจะเป็นของการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. ในแหนมมีค่าเท่ากับ 0.186 และพบว่า ความน่าจะเป็นของการแพร่กระจายของเชื้อ *Salmonella* spp. ในแหนมมีค่าความน่าจะเป็นสูงสุดอยู่ที่ประมาณ 0.035 และปริมาณเชื้อ *Salmonella* spp. ที่พบในแหนมมี

จำนวน 100-200 โคโลนี ต่อแหนม 25 กรัม เมื่อเปรียบเทียบกับ การแพร่กระจายของเชื้อ *Salmonella* spp. ในเนื้อสุกร อยู่ที่ประมาณ 200–250 โคโลนี ต่อเนื้อสุกร 25 กรัม และมีความน่าจะเป็นสูงสุดอยู่ที่ประมาณ 0.045

การศึกษาคุณสมบัติการเป็นกล้ำเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีแนวโน้มเป็นโปรไบโอติก

ศูนย์เครือข่ายเทคโนโลยีเนื้อสัตว์โดยความร่วมมือของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังร่วมกับสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ได้ทำการคัดแยกแบคทีเรียกรดแลคติกสายพันธุ์ *Lb. salivarius* D 4 และ Swetwathana *et al.* (2005) ทำการคัดแยกเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536

1. คุณสมบัติของเชื้อ *Lb. salivarius* D 4

Pilasombut *et al.* (2009) ทำการคัดแยกเชื้อ *Lb. salivarius* D 4 จากลำไส้เปิด ซึ่งมีคุณสมบัติผลิตแบคทีเรียโอซินชนิด abp 118 β ซึ่งมีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อ *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917, *Lactobacillus sakei* subsp. *sakei* JCM 1157^T, *Lactobacillus sakei* TISTR 890, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* TISTR 1344, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* JCM 6124^T, *Leuconostoc mesenteroides* TISTR 942, *Enterococcus faecalis* JCM 5803^T, *Bacillus coagulans* JCM 2257^T, *Listeria innocua* ATCC 33090, *Brochotrix campestris* NBRC 11547, *Pseudomonas fluorescens* JCM 5693 และ *Enterococcus faecalis* TISTR 888 โดยทดสอบใช้ supernatant pH 7 และเชื้อ *Lb. salivarius* D 4 มีคุณสมบัติเบื้องต้นเป็นโปรไบโอติกโดยเชื้อสามารถเจริญในสภาวะที่มีกลีสน้ำดี (bile salt) 0.9 เปอร์เซ็นต์ ทนค่า pH เท่ากับ 2 และทนต่อ NaCl ที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ จากการศึกษาของศูนย์เครือข่ายการวิจัยเทคโนโลยีเนื้อสัตว์ ศึกษาคุณสมบัติการเป็นกล้ำเชื้อในเบื้องต้น พบว่า เชื้อสามารถมีชีวิตรอดได้ในระบบทางเดินอาหารจำลองที่ค่า pH เท่ากับ 2.5 และเชื้อสามารถทนต่อไนไตรท์ในปริมาณ 100 ppm

2. คุณสมบัติของเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536

Swetwathana *et al.* (2005) ทำการคัดแยกเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 จากแหนมเนื้อหมู ซึ่งมีความสามารถในการผลิตแบคทีเรียโอซินชนิด pediocin PA-1 ที่มีคุณสมบัติยับยั้งเชื้อ *Enterococcus faecalis*, *Kocuria varians*, *Lactobacillus plantarum*, *Lb. sakei*, *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Listeria innocua* และ *Lb. monocytognes* ทั้งนี้เชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 มีคุณสมบัติเบื้องต้นเป็นโปรไบโอติกโดยเชื้อมีความสามารถทนต่อค่า pH ที่ระดับ 2 และสามารถทนกลีสน้ำดี (bile salt) ในระดับความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 เป็นสายพันธุ์ที่มีผลต่อ ด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม โดยแหนมหมูที่เติมกล้ำเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 มีแนวโน้มการยอมรับโดยรวมจากผู้ทดสอบมากกว่าแหนมที่หมักแบบธรรมชาติโดยไม่เติมกล้ำเชื้อ นอกจากนี้ จากการศึกษาคุณสมบัติการเป็นกล้ำเชื้อในเบื้องต้น Swetwathana *et al.* (2004) พบว่า เชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 สามารถทนต่อไนไตรท์ในปริมาณ 125 ppm นอกจากนี้ Swetwathana *et al.* (2005) รายงานว่า เชื้อสามารถมีชีวิตรอดได้ในระบบทางเดินอาหารจำลองที่ค่า pH เท่ากับ 2 ได้ จากคุณสมบัติที่กล่าวมาเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 จึงมีความเหมาะสม ที่จะนำมาเป็นกล้ำเชื้อในผลิตภัณฑ์แหนมเนื้อโค

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาการนำเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 และ *Lb. salivarius* D 4 มาใช้เป็นกล้าเชื้อในผลิตภัณฑ์แฮมเนื้อโค

ขอบเขตการวิจัย

ศึกษาความเป็นไปได้ในการนำเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 และ *Lb. salivarius* D 4 เพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อในผลิตภัณฑ์แฮมเนื้อโคเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และกลุ่มทดลองที่ใช้กล้าเชื้อทางการค้า (*Pacovis* RCI - 47) ศึกษาคุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ ได้แก่ ตรวจวิเคราะห์เชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก Coliforms, *E. coli*, Yeast and mold, *Salmonella* spp. และ *S. aureus* และคุณภาพทางกายภาพและเคมีของแฮมเนื้อโค ได้แก่ ค่า pH ปริมาณกรดทั้งหมด ค่าสีที่ผิวสัมผัสด้านนอก

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงความเป็นไปได้ในการใช้เชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 และ *Lb. salivarius* D 4 สำหรับเป็นกล้าเชื้อในการผลิตแฮมเนื้อโค
2. ได้แนวทางการผลิตเนื้อหมักเปรี้ยวจากเนื้อโคที่มีความปลอดภัยทางด้านอาหาร
3. ได้ผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวจากโคพื้นเมืองไทยที่มีความเป็นเอกลักษณ์

ระยะเวลาและสถานที่ดำเนินงาน

เดือนเมษายน 2552 ถึง เมษายน 2553 ที่ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีเนื้อสัตว์ และห้องปฏิบัติการจุลินทรีย์เนื้อสัตว์ ศูนย์เครือข่ายการวิจัยเทคโนโลยีเนื้อสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

วัสดุอุปกรณ์ และวิธีดำเนินการทดลอง

1. วัสดุอุปกรณ์ และเครื่องมือในการผลิตแฮม

- 1) ไม้บรรจูลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 เซนติเมตร
- 2) เครื่องอัดไส้กรอก (TALSA #0542MODELH 26PA 380/50/3, EU)
- 3) เครื่องมัดไส้กรอก (MAX SEALING MACHINE รุ่น HR – PSII, MAX Co., LTD, JAPAN)
- 4) Type KA 50 air- conditioned maturing cabinet (SUDTRONIC M. Schaa Co., Germany)

2. อุปกรณ์และเครื่องมือในการวิเคราะห์เชื้อ

- 1) ตู้แช่เชื้อ (DWYER instruments INC, USA.)
- 2) ตู้บ่มเพาะเชื้อ (BD, WTB binder, U.S.A.)
- 3) ไมโครปิเปต (Finnpipette F3, Finland)
- 4) เครื่องตีบดตัวอย่าง (Stomacher Bag Mixer 400 interscience, France)

- 5) ตู้อบเครื่องแก้ว (Hot air oven: Memmert, Belgium)
- 6) เครื่องซั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Fx-2000i, Japan)
- 7) ตู้แช่แข็ง -20 องศาเซลเซียส (Angle Technology CO., Ltd., Thailand)
- 8) ไมโครเวฟ (TRX-249M, Korea)
- 9) หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave, Hirayama, Japan)

3. อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

- 1) MRS broth (Merck, Germany)
- 2) Agar (Criterion, U.S.A.)
- 3) Malt Agar (Merck, Germany)
- 4) Methyl Red Voges Proskawer Broth (MR-VP) (Merck, Germany)
- 5) Triple sugar iron agar (Merck, Germany)
- 6) Lysine indole motility (LIM) medium (Merck, Germany)
- 7) Peptone (Merck, Germany)
- 8) Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) agar (Merck, Germany)
- 9) Salmosyst broth base, SB (Merck, Germany)
- 10) Salmosyst selective supplement tablet, SBST (Merck, Germany)
- 11) CaCO_3 0.5 เปอร์เซ็นต์ (Scharlau, Spain)
- 12) โซเดียมคลอไรด์ 0.85 เปอร์เซ็นต์ (Ajax Finechem, Australia)
- 13) กลีเซอรอล 30 เปอร์เซ็นต์ (Scharlau, Spain)
- 14) น้ำมันพาราฟิน (Metha Group Trading Ltd., Part., Thailand)
- 16) แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ และ 95 เปอร์เซ็นต์
- 17) Triple Sugar iron (TSI) agar slant (Merck, Germany)
- 18) Chromocult (Merck, Germany)
- 19) Kovac's indole reagent (Merck, Germany)
- 20) Salmonella-Shigella (SS) agar (Merck, Germany)
- 21) Baird – Parker 's media with egg yolk telluite (Merck, Germany)
- 22) Simmon's Citrate Agar (Merck, Germany)
- 23) Eosin Methylene Blue Agar (EMB Agar) (Criterion, U.S.A)
- 24) Tryptophan Broth (Merck, Germany)
- 25) สารละลาย Kovac (Merck, Germany)

4. อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์ลักษณะทางเคมีและกายภาพ

- 1) เครื่องซั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Fx-2000i, Japan)
- 2) ตู้บ่มเชื้อ (WTB Binder model BD, Germany)

- 3) เครื่องมือวัดอุณหภูมิ (Ebro model TTX100, Germany)
- 4) เครื่องมือวัดค่าสี (Minolta Chromameter CR-300, Japan)
- 5) เครื่องมือวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (Mettler Toledo model SG-2, China)
- 6) อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Mettmert, Germany)

5. การเตรียมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก

5.1 การเตรียมกล้าเชื้อทางการค้า *Pacovis* RCI – 47 ทำโดยชั่งกล้าเชื้อปริมาณ 1 กรัม ละลายด้วยน้ำอุ่น ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่าให้ละลายแล้วจึงนำไปใส่ลงในหม้อม ในอัตราส่วนหม้อม 1 กิโลกรัมต่อเชื้อ 1 มิลลิลิตร

5.2 เชื้อ *Lb. salivarius* D 4 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่คัดแยกได้จากลำไส้เป็ดซึ่งมีคุณสมบัติผลิตแบคทีเรียโอซินชนิด abp 118 β (Pilasombut *et al.* 2009) ที่เก็บในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth (Merck, Germany) และกลีเซอรอลความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ โดยใส่เชื้อ 500 ไมโครลิตร กลีเซอรอล 500 ไมโครลิตร แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จากนั้นถ่ายเชื้อปริมาณ 100 ไมโครลิตร ลงในอาหารเหลว MRS (Merck, Germany) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 16 – 18 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อจากหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาณ 1,000 ไมโครลิตร ลงในอาหารเหลว MRS (Merck, Germany) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำไปบ่มเป็นระยะเวลา 16–18 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จึงนำไปใส่ลงในหม้อม ในปริมาณ 10^6 cfu/g โดยใส่เชื้อปริมาณ 1 มิลลิลิตร ต่อหม้อม 1 กิโลกรัม

5.3 เชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่คัดแยกได้จากหม้อมเนื้อหมู ซึ่งมีคุณสมบัติผลิตแบคทีเรียโอซินชนิด pediocin PA-1 (Swetwathana *et al.* 2005) ที่เก็บในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth (Merck, Germany) และกลีเซอรอลความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ โดยใส่เชื้อ 500 ไมโครลิตร กลีเซอรอล 500 ไมโครลิตร แล้วนำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ถ่ายเชื้อจำนวนปริมาณ 100 ไมโครลิตร ลงในอาหารเหลว MRS (Merck, Germany) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 16–18 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อจากหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาณ 1,000 ไมโครลิตร ลงในอาหารเหลว MRS (Merck, Germany) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำไปบ่มเป็นระยะเวลา 16–18 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จึงนำไปใส่ลงในหม้อม ในปริมาณ 10^6 cfu/g โดยใส่เชื้อปริมาณ 1 มิลลิลิตร ต่อหม้อม 1 กิโลกรัม

6. การเตรียมตัวอย่างหม้อมเนื้อโค

6.1 วัตถุดิบที่ใช้ผลิตหม้อมเนื้อโค (น้ำหนักรวม 6 กิโลกรัม) จุฬารัตน์ เศรษฐกุล และพรรณภา ศิวะพิรุฬห์เทพ (2553)

1) เนื้อโค	5.0	กิโลกรัม
2) เอ็นโค	1.2	กิโลกรัม
3) ข้าวสุก	400	กรัม
4) กระเทียม	400	กรัม
5) ผงชูรส	10	กรัม
6) พริกสด	200	กรัม
7) น้ำตาลทราย	20	กรัม

8) เกลือฟอสเฟต	20	กรัม
9) ผงเพรก	110	กรัม

6.2 ขั้นตอนการทำแหมม คัดแปลงมาจากวิธีการของ จุฑารัตน์ เศรษฐกุล และพรณิภา สีวะพิรุฬห์เทพ (2553)

1) แหมมผสมน้ำหนักรวม 6 กิโลกรัม มีส่วนผสมดังนี้คือ เนื้อโคบด 3.8 กิโลกรัม เอ็นโคสุก 1.2 กิโลกรัม ข้าวสุก 400 กรัม กระเทียมสด 400 กรัม ผงเพรก 110 กรัม ฟอสเฟต 20 กรัม น้ำตาลทราย 20 กรัม และ โมโนโซเดียมกลูตาเมต 10 กรัม ผสมส่วนผสมทั้งหมดแล้วนวดเป็นเวลา 10 นาที จนส่วนผสมเหนียวจึงใส่ เชื้อจุลินทรีย์ที่เตรียมไว้

2) สำหรับสูตรควบคุมนำแหมมที่ผสมเรียบร้อยแล้วเข้าเครื่องอัดลงในไส้พลาสติกปริมาณแต่ละ 100 กรัมต่อแท่ง มัดปลายของไส้ทั้งสองด้านให้แน่นด้วยเครื่องมือมัดไส้กรอก

3) สำหรับสูตรที่ผสมกล้าเชื้อทางการค้า และสูตรที่ผสมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรด แลคติก เมื่อผสมแหมมในขั้นตอนที่ 1 เรียบร้อยแล้ว นำเชื้อจุลินทรีย์ปริมาณ 10^6 cfu/g ของแหมม นวดให้กระจายทั่วแหมมเป็นเวลา 4 นาที ก่อนนำแหมมที่ผสมแล้วเข้าเครื่องอัดแหมมอัดลงในไส้พลาสติกแต่ละ 100 กรัมต่อแท่ง มัดปลายทั้งสองด้านด้วยเครื่องมือมัดไส้กรอก

4) นำตัวอย่างแหมมทั้ง 4 สูตรเข้าตู้บ่มที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 3 วัน จากนั้น นำตัวอย่างแหมมไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน

7. การวิเคราะห์ทางด้านจุลินทรีย์ของตัวอย่างแหมมเนื้อโค

สุ่มตัวอย่างแหมมแต่ละสูตรจำนวน 25 กรัมในวันผลิตที่ 0 และ 3 เพื่อตรวจวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ Coliforms, *E.coli*, Yeast/Mold, *S. aureus* และ *Salmonella* spp. ยกเว้นแบคทีเรียกรดแลคติกทำการสุ่มตัวอย่างแหมมแต่ละสูตรจำนวน 25 กรัมในวันผลิตที่ 0, 1, 2 และ 3 ของการบ่มเพื่อวิเคราะห์หาแบคทีเรียกรดแลคติก

7.1 การตรวจวิเคราะห์เชื้อ *E. coli* ด้วยอาหาร Chromocult คัดแปลงมาจากวิธีการของ AOAC (2006)

สุ่มตัวอย่างแหมมจำนวน 25 กรัม ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อใส่ในถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ เทน้ำยาเจือจางปริมาตร 225 มิลลิลิตร ตีปั่นให้เข้ากันด้วยเครื่อง Stomacher นำมาทำการเจือจางตัวอย่างเพิ่มขึ้นอีก 1-2 ระดับ ตามความเหมาะสม โดยใช้ปิเปตดูดตัวอย่างเจือจาง 1:10 ในขั้นต้น 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดหรือขวดบรรจุ น้ำยาเจือจางปริมาตร 9 มิลลิลิตร ปิดฝาแล้วเขย่าหลอดหรือขวดด้วยเครื่องเขย่าไฟฟ้า (Mixer) หรือใช้มือเขย่าขึ้นลงอย่างแรง 25 ครั้ง ให้เข้ากันดี จะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจางเท่ากับ 10^{-2} (1:100) ถ้าต้องการเตรียมตัวอย่างให้เจือจางในระดับต่อไปนี้ คือ 10^{-3} (1:1,000) และ 10^{-4} (1:10,000) ตามลำดับ ถ่ายตัวอย่างแต่ละความเจือจางลงบนอาหารโดยวิธี Pour plate เมื่ออาหารแข็งตัวนำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง การตรวจผลโดยโคโลนีที่ขึ้นบนอาหาร Chromocult ที่มีสีชมพูเป็น Coliforms ส่วนโคโลนีที่เป็นสีม่วงเป็น *E. coli* สำหรับโคโลนีที่สงสัยนำไปทดสอบ IMViC test (indole, MR, VP, citrate) โดยนำจานเพาะเชื้อที่มีเชื้อ *E. coli*

จำนวน 2 โคโลนี ถ่ายลงใน Plate Count Agar slant หยอดละ 1 โคโลนี นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แบ่งการทดสอบออกเป็น

1) การทดสอบ indole โดยการถ่ายเชื้อจากอาหาร Plate count agar slant ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptophan broth แล้วบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเติมสารละลาย Kovac จำนวน 0.2-0.3 มิลลิลิตร ถ้าให้ผลบวกจะปรากฏสีแดงที่ส่วนบนของ tryptophan broth

2) การทดสอบ Methyl red และ Acetoin (MR-VP) โดยการถ่ายเชื้อจากอาหารใน Plate count agar slant ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MR-VP บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 48 ชั่วโมง แล้วแบ่งเป็น 2 ส่วนดังนี้

2.1) สำหรับ MR ให้เติมสารละลาย Methyl red 2-3 หยด ลงในสารละลายเชื้อประมาณ 2 มิลลิลิตร ผลบวกจะเกิดสีแดง

2.2) สำหรับ VP ให้ถ่ายเชื้อประมาณ 0.7 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองแล้วเติม 0.1 มิลลิลิตรของ 5 เปอร์เซ็นต์ α -naphthol ลงในสารละลายแอลกอฮอล์ และ 40 เปอร์เซ็นต์ ของสารละลาย KOH ลงไป ผสมทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง ผลบวกจะให้สีชมพูแดง

7.2 การตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Salmonella* spp. ตัดแปลงมาจากวิธีการของ AOAC (1995)

นำตัวอย่างแห้งจำนวน 25 กรัม ใส่ลงใน Salmosyst broth base (SB) ปริมาตร 225 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6-8 ชั่วโมง ถ่ายเชื้อจาก SB 10 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เติม Salmosyst selective supplement tablet (SBST) 1 เม็ด เขย่าให้เม็ด SBST ละลายใน SB จนหมด นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง แล้วนำไปเพาะเชื้อลงบนอาหารแข็ง โดยใช้ XLD agar และ SS agar นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง นำโคโลนีที่สงสัยว่าเป็นเชื้อ *Salmonella* spp. มาทดสอบทางชีวเคมีโดยการถ่ายโคโลนีต้องสงสัยลงในอาหาร TSI และ LIM

การทดสอบปฏิกิริยาชีวเคมี

ดูปฏิกิริยาในหลอด TSI agar slant และ LIM medium เชื้อ *Salmonella* spp. จะให้คุณสมบัติทางชีวเคมีดังนี้

K = การเกิด alkaline โดยบริเวณปลายหลอด (Slant) ของอาหาร TSI จะมีสีแดง

A = การเกิด Acid บริเวณก้นหลอด (Butt) ของ TSI จะมีสีเหลือง

H_2S^+ = ภายในหลอดอาหาร TSI จะเกิดตะกอนสีดำของไฮโดรเจนซัลไฟด์ ซึ่ง *Salmonella* spp. ส่วนใหญ่จะให้ผล +

H_2S^- = ภายในหลอดอาหาร TSI จะไม่เกิดตะกอนสีดำของไฮโดรเจนซัลไฟด์

Gas^+ = มีฟองอากาศคั่งวุ้นของอาหาร TSI เนื่องจาก *Salmonella* spp. ส่วนใหญ่สามารถหมักย่อยน้ำตาลกลูโคสแล้วได้กรดและแก๊สเพียงเล็กน้อย

Gas^- = ภายในหลอดอาหารไม่มีฟองอากาศคั่งวุ้นของ TSI

Lysine⁺ = หลอดอาหารจะมีสีม่วงทั้งหลอดเนื่องจากเชื้อ *Salmonella* spp. มีเอนไซม์ Lysine decarboxylase ไปย่อย lysine ทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าวมีความเป็นด่างมากขึ้น มีผลทำให้ Brom cresol purple ซึ่งใช้เป็น Indicator ในอาหารดังกล่าวและมี pH เป็นกลาง มีสีม่วงเข้มมากยิ่งขึ้นซึ่ง *Salmonella* spp. จะมีเอนไซม์นี้

Lysine⁻ = หลอดอาหารจะมีสีเหลืองเนื่องจากเชื้อ *Salmonella* spp. ไม่มีเอนไซม์ Lysine Decarboxylase ไปย่อย Lysine ทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าวมีค่า pH ต่ำมากขึ้น มีผลทำให้สีม่วงของ Brom cresol purple เปลี่ยนไปเป็นสีเหลือง

Indole⁺ = อาหารเลี้ยงเชื้อจะมีสีแดงบนหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อหลังหยดน้ำยา Kovac ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ

Indole⁻ = อาหารเลี้ยงเชื้อไม่มีสีแดงบนหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อหลังหยดน้ำยา Kovac ซึ่ง *Salmonella* spp. ไม่มีเอนไซม์ tryptophanase จึงไม่เกิดปฏิกิริยากับ Kovac

Motile⁺ = หลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ LIM จะพุ่งทั้งหลอด ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อ *Salmonella* spp. ส่วนมากจะมีแฟลกเจลลาในการเคลื่อนที่ ดังนั้น เมื่อทำการ Stab เชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อจะเกิดการเคลื่อนที่จากรอย stab ไปทุกทิศทุกทางจึงทำให้หลอดพุ่ง

Motile⁻ = หลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ LIM จะมีการเจริญบริเวณรอย stab เท่านั้น ส่วนบริเวณอาหารรอบรอย stab จะใส ทั้งนี้เนื่องจาก เชื้อไม่มีแฟลกเจลลาในการเคลื่อนที่ จึงเจริญบริเวณรอย stab เท่านั้น

7.3 การตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Staphylococcus aureus* ดัดแปลงมาจากวิธีของ BAM (2001)

ชั่งตัวอย่างແໜ່ນจำนวน 25 กรัม ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อใส่ในถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ เทน้ำยาเจือจางปริมาตร 225 มิลลิลิตร ตีปั่นให้เข้ากันด้วยเครื่อง Stomacher นำมาทำการเจือจางตัวอย่างเพิ่มขึ้นอีก 1-2 ระดับ ตามความเหมาะสม โดยใช้ปิเปตเชื้อชุดตัวอย่างเจือจาง 1:10 ในขั้นตอน 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดหรือขวดบรรจุน้ำยาเจือจางปริมาตร 9 มิลลิลิตร ปิดฝาแล้วเขย่าหลอดหรือขวดด้วยเครื่องเขย่าไฟฟ้า (Mixer) หรือใช้มือเขย่าขึ้นลงอย่างแรง 25 ครั้ง ให้เข้ากันดี จะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจางเท่ากับ 10⁻² (1:100) ถ้าต้องการเตรียมตัวอย่างให้เจือจางในระดับต่อไปนี้ คือ 10⁻³ (1:1,000) และ 10⁻⁴ (1:10,000) ตามลำดับ ถ่ายตัวอย่างแต่ละความเจือจางลงบนอาหาร Baird– Parker ระดับความเจือจางละ 3 จาน จานละ 0.1 มิลลิลิตร ใช้แท่งแก้วรูปตัว L ทำการเกลี่ยเชือบนอาหารเลี้ยงเชื้อให้ทั่ว ตามวิธี Spread plate ให้ครบทุกระดับความเจือจางที่ต้องการ หากทำการเจียเชื้อแล้วตัวอย่างไม่ซึมลงไปในวัน ให้วางจานเพาะในตู้บ่มนาน 1 ชั่วโมง จากนั้น จึงกลับจานเพาะเชื้อคว่ำลง นำเชื้อเข้าตู้บ่มอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45-48 ชั่วโมง ตรวจนับเฉพาะโคโลนีที่สงสัยว่าเป็น *S. aureus* โดยโคโลนีของเชื้อ *S. aureus* มีลักษณะกลมมน สีดำเป็นมัน ผิวเรียบ ขอบขาว มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2-3 มิลลิลิตร มีตะกอนพุ่งรอบๆ โคโลนี ซึ่งเกิดจากเอนไซม์ Lecithinase ทำให้เกิดปฏิกิริยากับเลซิทินในไข่แดงที่เติมในอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำให้เกิดตะกอนของเกลือฟอสเฟต เห็นเป็นตะกอนพุ่ง ที่เรียกว่า Opaque หรือ Creamy zone และมักพบโซนใสในอาหารเลี้ยงเชื้อถัดจาก Opaque zone ในตัวอย่างอาหารแช่แข็งและอาหารแห้ง โคโลนีของเชื้ออาจเกิดสีดำซำกว่าปกติและขอบไม่เรียบได้

การทดสอบการสร้างเอนไซม์ของ *S. aureus* ดัดแปลงมาจากวิธีของ BAM (2001)

Subculture เชื้อลงใน Brain heart infusion broth (BHI broth) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ลงในหลอดทดลอง ขนาด 13 x 100 มิลลิลิตร หลอดละ 0.3 มิลลิลิตร นำไปบ่มเพาะเชื้อไว้ 48 ชั่วโมง ใช้เข็มเจาะเชื้อที่ปราศจากเชื้อ เชื้อโคโลนีที่สงสัยว่าเป็น *S. aureus* เพาะเชื้อในหลอดที่มี BHI broth และหลอดอาหาร TSA slant (สำหรับการทดสอบซ้ำ) บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ดู Coagulase plasma with EDTA ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร ลงในหลอดเพาะเชื้อที่มี BHI broth บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4-6 ชั่วโมง อ่านผลโดยดูการแข็งตัวของ Plasma อันเนื่องมาจากเอนไซม์ Coagulase (Coagulase positive) ที่เชื้อ *S. aureus* สร้างขึ้น ซึ่งอาจจะมีลักษณะต่างๆ กัน สำหรับเชื้อที่ให้ Coagulase มากน้อยไม่เท่ากัน

7.4 การตรวจวิเคราะห์เชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก ดัดแปลงมาจากวิธีของ AOAC (2006)

สุ่มตัวอย่างແໜ່ນตัวอย่างละ 25 กรัม ผสมด้วยน้ำยาเจือจางปริมาตร 225 มิลลิลิตร จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 1:10 ทำจนได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม โดยใช้ ปิเปตเชื้อดูตัวอย่างเจือจาง 1:10 ในขั้นต้น 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดหรือขวดบรรจุน้ำยาเจือจางปริมาตร 9 มิลลิลิตร ปิดฝาแล้วเขย่าหลอดหรือขวดด้วยเครื่องเขย่าไฟฟ้า (Mixer) หรือใช้มือเขย่าขึ้นลงอย่างแรง 25 ครั้ง ให้เข้ากันดี จะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจางเท่ากับ 10^{-2} (1:100) ถ้าต้องการเตรียมตัวอย่างให้เจือจางในระดับต่อไปนี้ คือ 10^{-3} (1:1,000) และ 10^{-4} (1:10,000) ตามลำดับ จากนั้นดูสารละลายที่เจือจางแล้ว ทั้ง 3 ระดับความเจือจางสุดท้าย ความเจือจางละ 1 มิลลิลิตร และถ่ายลงในจานเพาะเชื้อ เทอาหาร MRS Agar ที่เติม CaCO_3 (0.5 เปอร์เซ็นต์) ลงจานเพาะเชื้อ ปริมาตรจานละ 15–20 มิลลิลิตรที่ระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ รอจนอาหารแข็งแล้วคว่ำจานเพาะเชื้อ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะที่ไม่มีอากาศ นับจำนวนโคโลนีที่มีบริเวณใส (clear zone) รอบ ๆ โคโลนี และรายงานผลเฉพาะจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนระหว่าง 30-300 โคโลนี

7.5 การตรวจวิเคราะห์เชื้อ Yeast/Mold ดัดแปลงมาจากวิธีการของ AOAC (2005)

สุ่มตัวอย่างແໜ່ນ 25 กรัม ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อใส่ในถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ เทน้ำยาเจือจาง ปริมาตร 225 มิลลิลิตร ตีปั่นให้เข้ากันด้วยเครื่อง Stomacher ทำการเจือจางตัวอย่างเพิ่มขึ้นอีก 1-2 ระดับ ตามความเหมาะสมโดยใช้ปิเปตดูตัวอย่างเจือจาง 1:10 ในขั้นต้น 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดหรือขวดบรรจุน้ำยาเจือจางปริมาตร 9 มิลลิลิตร ปิดฝาแล้วเขย่าหลอดหรือขวดด้วยเครื่องเขย่าไฟฟ้า (mixer) หรือใช้มือเขย่าขึ้นลงอย่างแรง 25 ครั้ง ให้เข้ากันดี จะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจางเท่ากับ 10^{-2} (1:100) ถ้าต้องการเตรียมตัวอย่างให้เจือจางในระดับต่อไปนี้ คือ 10^{-3} (1:1,000) และ 10^{-4} (1:10,000) ตามลำดับ ถ่ายตัวอย่างแต่ละความเจือจางลงบนอาหารโดยวิธี Pour plate เทอาหาร Malt agar เมื่ออาหารแข็งแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง จึงตรวจนับเชื้อที่ขึ้น

8. การตรวจวิเคราะห์ทางเคมีและกายภาพ

8.1 วิเคราะห์หาปริมาณกรดทั้งหมด (Total acid) ดัดแปลงมาจากวิธีการของ นภา โล่ห์ทอง (2529)

นำตัวอย่างແໜ່ນที่จะทำการวิเคราะห์หาปริมาณกรดทั้งหมดมา 3 กรัม หรือ ตัวอย่างจากแบบจำลอง การหมักແໜ່ນ 3 มิลลิลิตร บดແໜ່ນให้ละเอียด แล้วเติมน้ำกลั่นที่ทำการต้มเพื่อไล่คาร์บอนไดออกไซด์ แล้ว ลงไป 50 มิลลิลิตร นำส่วนใสไปทำการวิเคราะห์โดยเติมฟีนอล์ฟทาลีน ลงไป 2-3 หยด แล้วนำไปไตเตรท

ด้วย 0.1 N NaOH จนกระทั่งได้จุดยุติ (End point) เป็นสีชมพู บันทึกปริมาตรของ NaOH แล้วนำไปคำนวณปริมาณกรดทั้งหมดตามสูตร

$$\text{ปริมาณกรดทั้งหมด} = \frac{N \times V \times 90.01 \times 100}{1,000 \times \text{ปริมาตรของตัวอย่าง}}$$

N = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน 0.1 N NaOH

V = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน 0.1 N NaOH ที่ใช้

8.2 การวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ดัดแปลงมาจากวิธีการของ นภา โล่ห์ทอง (2529)

นำตัวอย่างແໜ່ນที่จะทำการวัดค่าความเป็นกรดต่างปริมาณ 3 กรัม บดແໜ່ນให้ละเอียด เติมน้ำกลั่นลงไป 50 มิลลิลิตร นำส่วนใ้ไปวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง

8.3 การวัดค่าสี ดัดแปลงจากวิธีการของ AMSA (1991)

นำตัวอย่างແໜ່ນที่จะทำการวัดค่าสีจำนวน 3 แ่ง โดยวัดสีที่ผิวนอกใต้บรรจุจำนวน 3 ครั้ง ด้วยเครื่องวัดสี Minolta Chromameter CR 300 (Japan) โดยใช้ Illuminant D65 บันทึกค่า lightness (CIE L*), redness (CIE a*) และ yellowness (CIE b*) ทำการวัดค่าสีในวันที่ 3 ของการหมักและวันที่ 4 ของการเก็บรักษา

9. การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การศึกษาทางด้านเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ เชื้อ Yeast/Mold, Lactic acid bacteria, Coliforms, *Salmonella* spp., *S. aureus* และ *E. coli* และการศึกษาทางด้านคุณภาพ ค่า pH ปริมาณกรดทั้งหมด และค่าสีที่ผิวด้านนอก ซึ่งประกอบด้วยค่า CIE L* (lightness) CIE a* (redness) และ CIE b* (yellowness) วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ Analysis of Variance และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลของกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกและระยะเวลาการหมักต่อจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ແໜ່ນเนื้อโค

ผลการศึกษาทางด้านจุลินทรีย์ เมื่อใช้กล้าเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 และ *Lactobacillus salivarius* D 4 เป็นกล้าเชื้อในผลิตภัณฑ์ແໜ່ນเนื้อโค พบว่า จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติก (ตารางที่ 2.2.1) ในวันแรกของการหมัก (0 day) กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อมีจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) และทุกกลุ่มมีจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกมากกว่ากลุ่มควบคุม ($P<0.05$) โดยกลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Pacovis* RCI - 47 มีจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกสูงที่สุด ($5.74 \log \text{cfu/g}$) เมื่อผ่านการหมักไป 1 วัน พบว่าแบคทีเรียกรดแลคติกในทุกกลุ่มทดลองมีจำนวนเพิ่มขึ้นประมาณ $2.2\text{-}2.8 \log \text{cfu/g}$ แต่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติระหว่างกลุ่มทดลอง ($P>0.05$) จนกระทั่งวันที่ 2 ของการหมัก พบว่า จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกในกลุ่มที่เติมกล้าเชื้อมีปริมาณมากกว่ากลุ่มควบคุม ($P<0.05$) แต่จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกในกลุ่มที่เติมกล้าเชื้อมีปริมาณไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) โดยกลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Pacovis* RCI - 47 มีจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกสูงที่สุดคือ $8.49 \log \text{cfu/g}$ ในขณะที่กลุ่มควบคุมมีจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกเท่ากับ $7.93 \log \text{cfu/g}$ อย่างไรก็ตามเมื่อผ่านการหมักไป 3 วัน พบว่าจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกในทุกกลุ่มไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า

กลุ่มที่เดิมกล้าเชื้อทุกกลุ่มมีจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกสูงกว่ากลุ่มควบคุม โดยเฉพาะในช่วงแรกของการหมัก เนื่องจากกลุ่มที่เดิมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกมีจำนวนเชื้อเริ่มต้นมากกว่ากลุ่มควบคุม ทำให้อัตราการเจริญเติบโตและการเพิ่มจำนวนสูงกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งแบคทีเรียกรดแลคติกในกลุ่มควบคุมมักมาจากวัตถุดิบที่ใช้ทำแหนม ทำให้เชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกมีอัตราการเจริญเติบโตที่น้อยกว่ากลุ่มที่เดิมกล้าเชื้อ ทั้งนี้จากการศึกษาคุณสมบัติเบื้องต้นของเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 และ *Lb. salivarius* D 4 พบว่าสามารถเจริญได้ดีในสภาวะ pH ต่ำ ดังรายงานของ Swetwathana *et al.* (2005) และ Pilasombut *et al.* (2009)

สำหรับจำนวนเชื้อ Yeast/Mold ในวันที่ 0 ของการหมัก พบว่าทุกกลุ่มการทดลองมีจำนวนเชื้อ Yeast/Mold ไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) แต่พบว่า ในวันที่ 3 ของการหมักแหนม กลุ่มที่เดิมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 มีจำนวนเชื้อ Yeast/Mold ต่ำสุด ($P<0.05$) โดยมีจำนวนเท่ากับ $3.08 \log \text{ cfu/g}$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม กลุ่มที่เดิมกล้าเชื้อ *Pacovis* RCI - 47 และ *Lb. salivarius* D 4 ซึ่งมีจำนวนเท่ากับ 3.86, 3.86 และ $3.62 \log \text{ cfu/g}$ ตามลำดับ (ตารางที่ 2.2.2) ซึ่งการลดลงของเชื้อ Yeast/Mold ในกลุ่มที่เดิมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 อาจเนื่องมาจากเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 เป็นเชื้อที่เจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนได้ดีในช่วงแรกๆ ของการหมัก จึงทำให้สร้างกรดในปริมาณที่มากและเร็วกว่าแหนมกลุ่มอื่นๆ ซึ่งกรดจะไปยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ Yeast/Mold ให้ลดลง และจากรายงานของ บุญกร (2547) กล่าวว่าในระยะแรกของการหมัก เชื้อจุลินทรีย์ที่มักพบได้แก่ เชื้อกลุ่ม homofermentative cocci ยกตัวอย่างเช่น *P. cerevisiae*, *P. pentosaceus* และ *P. acidilactici* เป็นจำนวนมากโดยเติบโตไปพร้อมกับเชื้อกลุ่ม heterofermentative lactobacilli และมีการใช้น้ำตาลกลูโคสแล้วสร้างกรดแลคติกออกมาเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งทำให้ pH ลดลงจากเดิมในระยะ 3 วันแรกของการหมัก และ Swetwathana *et al.* (2005) รายงานว่า กล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 สามารถสร้างแบคทีเรียโอซิน ชนิด Pediocin PA-1 จึงอาจเป็นไปได้ว่าแบคทีเรียโอซินที่เชื้อสร้างขึ้นไปยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ Yeast/Mold ในผลิตภัณฑ์แหนมเนื้อโคให้เหลือน้อยที่สุด จากรายงานของ Visessanguan *et al.* (2006) รายงานว่าการใช้กล้าเชื้อ *Lb. curvatus* ทำให้จำนวนเชื้อ Yeast/Mold ลดลงเหลือน้อยกว่า $3.0 \log \text{ cfu/g}$ ภายในระยะเวลา 36 ชั่วโมง ในผลิตภัณฑ์แหนมหมัก เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้เดิมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่จำนวนเชื้ออยู่ในระดับที่สูงกว่า $4.0 \log \text{ cfu/g}$

สำหรับจำนวนเชื้อ Coliforms พบว่า ในวันที่ 0 และ 3 ทุกกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 2.2.3) แต่พบว่าในวันที่ 3 ของการหมักมีจำนวนเชื้อ Coliforms น้อยกว่าวันที่ 0 ของการหมักในทุกกลุ่มการทดลอง เนื่องมาจากวันที่ 3 ของการหมัก แบคทีเรียกรดแลคติกมีจำนวนมากกว่าวันที่ 0 ทำให้ผลิตกรดแลคติกออกมายับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ Coliforms อย่างไรก็ตามการศึกษานี้ครั้งนี้ตรวจไม่พบเชื้อ *Salmonella* spp., *S. aureus* และ *E. coli* ในแหนมทุกกลุ่มการทดลอง

ตารางที่ 2.2.1 ผลของการใช้กล้าเชื้อชนิดต่างๆ ต่อจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติก (log cfu/g) ของแฮมเนื้อโคอินแต่ละวันของการหมัก

Treatment	Fermentation time (day)			
	0	1	2	3
Control	4.78±0.45 ^b	7.56±0.33	7.93±0.27 ^b	8.53±0.33
<i>Pacovis</i> RCI – 47	5.74±0.48 ^a	8.01±0.46	8.49±0.18 ^a	8.49±0.33
P 536	5.36±0.07 ^a	8.02±0.06	8.30±0.21 ^a	8.43±0.58
D 4	5.59±0.30 ^a	7.75±0.46	8.27±0.41 ^a	8.58±0.48

Control = กลุ่มควบคุม; *Pacovis* RCI - 47 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อทางการค้า (*Pacovis* RCI - 47)

P 536 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536; D 4 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Lactobacillus salivarius* D 4

^{a, b} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

ตารางที่ 2.2.2 ผลของการใช้กล้าเชื้อชนิดต่างๆ ต่อจำนวน Yeast/Mold (log cfu/g) ของแฮมเนื้อโคอินแต่ละวันของการหมัก

Treatment	Fermentation time (day)	
	0	3
Control	5.49±0.31	3.86±0.45 ^a
<i>Pacovis</i> RCI – 47	6.14±0.32	3.86±0.12 ^a
P 536	5.97±0.47	3.08±0.58 ^b
D 4	6.16±0.58	3.62±0.11 ^a

Control = กลุ่มควบคุม; *Pacovis* RCI - 47 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อทางการค้า (*Pacovis* RCI - 47)

P 536 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536; D 4 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Lactobacillus salivarius* D 4

^{a, b} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

ตารางที่ 2.2.3 ผลของการใช้กล้าเชื้อชนิดต่างๆ ต่อจำนวน coliforms (log cfu/g) ของแฮมเนื้อโคอินแต่ละวันของการหมัก

Treatment	Fermentation time (day)	
	0	3
Control	4.94±0.06	4.71±0.14
<i>Pacovis</i> RCI – 47	4.85±0.26	4.17±0.71
P 536	5.12±0.51	4.34±0.64
D 4	5.21±0.55	4.54±0.94

Control = กลุ่มควบคุม; *Pacovis* RCI - 47 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อทางการค้า (*Pacovis* RCI - 47)

P 536 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536; D 4 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Lactobacillus salivarius* D 4

ค่าเฉลี่ยในแนวตั้ง (คอลัมน์เดียวกัน) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (p>0.05)

ผลของกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกต่อคุณภาพของแฮมเนื้อโคในระหว่างการหมักและเก็บรักษา

การศึกษาผลของกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกต่อคุณภาพของแฮมเนื้อโค พบว่าปริมาณกรดทั้งหมดในกลุ่มควบคุมมีแนวโน้มต่ำที่สุดในระหว่างกระบวนการหมักและการเก็บรักษา โดยเฉพาะ ในวันแรกของการหมัก พบว่ากลุ่มควบคุมมีการเพิ่มของปริมาณกรดทั้งหมดต่ำกว่ากลุ่มอื่นๆ อย่างไรก็ตามในระหว่างการหมัก 3 วัน ไม่พบความแตกต่างทางสถิติในปริมาณกรดทั้งหมดของทุกกลุ่มการทดลอง ($P>0.05$) นอกจากนี้ในวันที่ 3 ของกระบวนการหมัก กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 มีปริมาณกรดทั้งหมดสูงที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 1.01 ทั้งนี้เมื่อนำแฮมมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่า มีการสร้างกรดเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องแต่น้อยกว่าในช่วง 3 วันแรกของการหมัก และในวันที่ 5 พบว่ากลุ่มที่เติมกล้าเชื้อทุกกลุ่มมีปริมาณกรดทั้งหมดมากกว่ากลุ่มควบคุม ($P<0.05$) สอดคล้องกับจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกในกลุ่มที่เติมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกมีจำนวนมากกว่ากลุ่มควบคุมในระหว่างกระบวนการหมัก อย่างไรก็ตามกลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 มีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของปริมาณกรดทั้งหมดมากที่สุด จนถึงวันที่ 7 (ตารางที่ 2.2.4) สำหรับค่า pH พบว่ากลุ่มควบคุมมีแนวโน้มของค่า pH สูงกว่ากลุ่มที่เติมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก ในระหว่างกระบวนการหมักและระหว่างการเก็บรักษา จนกระทั่งในวันที่ 7 พบว่าค่า pH ของกลุ่มควบคุมยังคงสูงกว่ากลุ่มอื่นๆ โดยมีค่าเท่ากับ 5.06 (ตารางที่ 2.2.5) สอดคล้องกับจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกในกลุ่มที่เติมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก โดยมีจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกสูงกว่ากลุ่มควบคุม เป็นผลให้ค่า pH ลดลง เมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้น และมีการผลิตกรดในปริมาณที่สูงกว่ากลุ่มควบคุมด้วย ผลิตภัณฑ์ที่ได้จึงมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคเมื่อรับประทานแฮมที่มี pH ต่ำ ซึ่งไม่สอดคล้องกับการศึกษาของ Visessanguan *et al.* (2004) ที่รายงานว่า ค่า pH ของแฮมลดลงอย่างรวดเร็วภายใน 24 ชั่วโมงแรกของการหมัก และมีค่าลดลงเหลือ 4.8 ภายใน 72 ชั่วโมง ผลการทดลองที่ได้อาจเป็นไปได้ว่า กล้าเชื้อที่เติมลงไปนั้น ไม่สามารถเจริญเพิ่มจำนวนมากพอที่จะสร้างกรด และทำให้ค่า pH ลดลงต่ำกว่า 4.8 ได้ภายในวันที่ 3 ของการหมัก ซึ่งแฮมที่ได้จากการทดลองมีค่า pH สูงกว่า 4.8 สำหรับค่าสีที่ผิวสัมผัสด้านนอก พบว่า ในวันที่ 3 และวันที่ 7 ค่า L^* และ ค่า b^* ที่ผิวสัมผัสด้านนอก ของกลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Pacovis* RCI – 47 มีค่าสูงสุด ทำให้แฮมที่เติมกล้าเชื้อดังกล่าวมีลักษณะสีที่ซีดกว่ากลุ่มอื่น แล้วยังนอกจากนี้ กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Lb. salivarius* D 4 และกลุ่มควบคุม มีค่าสีแดงสูงกว่ากลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Pacovis* RCI – 47 และ *P. pentosaceus* TISTR 536 จึงทำให้แฮมมีลักษณะสีแดงสวยกว่าทั้ง 2 กลุ่ม (ตารางที่ 2.2.6) และ (ตารางที่ 2.2.8) สอดคล้องกับค่า a^* ที่มีค่าต่ำที่สุด (ตารางที่ 2.2.7) เป็นผลอาจเนื่องจากค่า pH ในกลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Pacovis* RCI – 47 มีค่าต่ำสุด ในวันที่ 7 ซึ่งการลดลงของค่า pH ทำให้ค่าความสว่างของผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้น และค่าสีแดงลดลง จึงส่งผลให้ ค่า L^* และค่า b^* เพิ่มขึ้น สอดคล้องกับการศึกษาของ Visessanguan *et al.* (2004) รายงานว่า การลดลงของค่า pH มีผลทำให้ค่าความสว่างของแฮมหมูเพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นผลมาจากกรดแลคติกทำให้โปรตีนเกิดการสูญเสียสภาพ และการออกซิเดชันของโปรตีน

ตารางที่ 2.2.4 ผลของการใช้กล้าเชื้อชนิดต่างๆ ต่อปริมาณกรดทั้งหมดของแฮมเนื้อโค (mean±SD) ในระหว่าง 3 วันของการหมักที่ 30 องศาเซลเซียสและ 4 วันของการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส

Parameter	Fermentation time (day)				Refrigerated storage time (day)			
	0	1	2	3	1	2	3	4
Control	0.51±0.11	0.66±0.11	0.89±0.25	0.89±0.20	0.94±0.06 ^{ab}	0.92±0.09 ^b	0.95±0.23	1.01±0.06
<i>Parcovis</i>								
RCI-47	0.62±0.09	0.71±0.12	0.83±0.14	0.81±0.21	0.93±0.12 ^b	1.07±0.07 ^a	1.08±0.13	1.04±0.10
P 536	0.59±0.07	0.76±0.17	0.84±0.16	1.01±0.09	1.00±0.07 ^a	1.03±0.07 ^a	0.90±0.12	1.10±0.18
D 4	0.61±0.11	0.78±0.16	0.84±0.20	0.99±0.07	0.86±0.08 ^b	0.99±0.07 ^a	1.03±0.12	1.01±0.08

Control = กลุ่มควบคุม; *Pacovis* RCI - 47 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อทางการค้า (*Pacovis* RCI - 47)

P 536 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536; D 4 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Lactobacillus salivarius* D 4

^{a, b} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

ตารางที่ 2.2.5 ผลของการใช้กล้าเชื้อชนิดต่างๆ ต่อค่า pH ของแฮมเนื้อโค (mean±SD) ในระหว่าง 3 วันของการหมักที่ 30 องศาเซลเซียส และ 4 วันของการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส

Parameter	Fermentation time (day)				Refrigerated storage time (day)			
	0	1	2	3	1	2	3	4
Control	6.26±0.08	5.64±0.56	5.17±0.18	4.99±0.14 ^a	5.01±0.19	4.96±0.17	5.00±0.17	5.06±0.13 ^a
<i>Parcovis</i>								
RCI-47	6.21±0.09	5.20±0.06	5.07±0.10	4.98±0.06 ^a	4.89±0.15	4.85±0.14	4.86±0.21	4.87±0.16 ^b
P 536	6.26±0.10	5.43±0.29	5.18±0.19	5.09±0.09 ^a	5.02±0.14	5.00±0.10	5.00±0.10	4.97±0.03 ^a
D 4	6.25±0.09	5.57±0.49	5.00±0.04	4.86±0.03 ^b	4.97±0.06	4.94±0.10	4.92±0.05	4.97±0.03 ^a

Control = กลุ่มควบคุม; *Pacovis* RCI - 47 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อทางการค้า (*Pacovis* RCI - 47)

P 536 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536; D 4 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Lactobacillus salivarius* D 4

^{a, b} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

ตารางที่ 2.2.6 ผลของการใช้กล้าเชื้อชนิดต่างๆ ต่อค่า L* (lightness) ของแฮมเนื้อโค (mean±SD) ในวันที่ 3 ของการหมักที่ 30 องศาเซลเซียส และหลังจากการเก็บรักษา 4 วัน ที่ 4 องศาเซลเซียส

Parameter	3 Days after fermentation	4 Days after refrigerated storage
Control	48.68±1.66 ^b	47.38±1.43 ^c
<i>Parcovis</i> RCI-47	50.60±1.54 ^a	50.49±1.20 ^a
P 536	47.41±1.39 ^c	46.68±1.53 ^c
D 4	50.02±1.36 ^a	48.73±1.25 ^b

Control = กลุ่มควบคุม; *Pacovis* RCI - 47 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อทางการค้า (*Pacovis* RCI - 47)

P 536 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536; D 4 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Lactobacillus salivarius* D 4

^{a - c} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

ตารางที่ 2.2.7 ผลของการใช้กล้าเชื้อชนิดต่างๆ ต่อค่า a* (redness) ของแฮมเนื้อโค (mean±SD) ใน วันที่ 3 ของการหมักที่ 30 องศาเซลเซียส และหลังจากการเก็บรักษา 4 วัน ที่ 4 องศาเซลเซียส

Parameter	3 Days after fermentation	4 Days after refrigerated storage
Control	16.17±2.68	15.84±1.94
<i>Parcovis</i> RCI-47	15.62±1.06	15.61±1.02
P 536	16.18±1.06	16.60±1.02
D 4	16.70±1.63	15.75±2.02

Control = กลุ่มควบคุม; *Pacovis* RCI - 47 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อทางการค้า (*Pacovis* RCI - 47)

P 536 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536; D 4 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Lactobacillus salivarius* D 4 ค่าเฉลี่ยในแนวดิ่ง (คอลัมน์เดียวกัน) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ 2.2.8 ผลของการใช้กล้าเชื้อชนิดต่างๆ ต่อค่า b* (yellowness) ของแฮมเนื้อโค (mean±SD) ใน วันที่ 3 ของการหมักที่ 30 องศาเซลเซียส และหลังจากการเก็บรักษา 4 วัน ที่ 4 องศาเซลเซียส

Parameter	3 Days after fermentation	4 Days after refrigerated storage
Control	3.32±0.84 ^b	3.71±0.86 ^b
<i>Parcovis</i> RCI-47	3.97±0.55 ^a	4.40±0.68 ^a
P 536	3.25±0.56 ^b	3.91±0.55 ^b
D 4	3.29±0.42 ^b	3.87±0.53 ^b

Control = กลุ่มควบคุม; *Pacovis* RCI - 47 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อทางการค้า (*Pacovis* RCI - 47)

P 536 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536; D 4 = กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Lactobacillus salivarius* D 4 ^{a-b} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

สรุปผลการทดลอง

การใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกมีผลดี โดยพบว่าในกลุ่มที่เติมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 3 สายพันธุ์ มีจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกมากกว่ากลุ่มควบคุม ส่งผลให้มีผลดีต่อผลิตภัณฑ์แฮมหมัก คือ แบคทีเรียกรดแลคติกสามารถสร้างสารที่ยับยั้งเชื้อก่อโรคและทำอาหารเน่าเสีย จึงทำให้แฮมกลุ่มดังกล่าวมีความปลอดภัย และอายุการเก็บรักษายาวนานขึ้น ขณะเดียวกัน พบว่าการใช้กล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 สามารถลดจำนวน Yeast/Mold ให้เหลือน้อยที่สุด ซึ่งการลดลงของเชื้อส่งผลดีต่อผู้บริโภคในเรื่องของความปลอดภัยต่อการบริโภคผลิตภัณฑ์แฮม นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มมากขึ้น แฮมทุกกลุ่มการทดลองที่เติมกล้าเชื้อมีจำนวนเชื้อ Coliforms ลดลง อย่างไรก็ตามตรวจไม่พบเชื้อ *Salmonella* spp., *S. aureus* และ *E. coli* ในแฮมทุกกลุ่มการทดลองทางด้านคุณภาพของแฮม พบว่า กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกมีค่า pH ต่ำและมีปริมาณกรดทั้งหมดสูงกว่ากลุ่มควบคุม และแฮมกลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Lb. salivarius* D 4 มีค่า pH ต่ำสุดและปริมาณ

กรดทั้งหมดสูงสุด ทำให้เนื้อมกุ่มดังกล่าวมีความปลอดภัยมากขึ้น เนื่องจากค่า pH ที่ต่ำเป็นสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรคและทำให้อาหารเน่าเสีย แต่อย่างไรก็ตาม พบว่าการลดลงของค่า pH มีผลเสียต่อค่าสีที่ผิวสัมผัสด้านนอกของเนื้อมกุ่ม พบว่า การเติมกลูต้าเชื้อ *Pacovis* RCI – 47 ให้ค่าความสว่างมากที่สุด และค่าสีแดงลดลงมากกว่าทุกกลุ่มการทดลอง ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความสว่างเพิ่มขึ้น และสีแดงลดน้อยลงผลิตภัณฑ์มีความน่ารับประทานลดลงเนื่องจากผลิตภัณฑ์ที่ได้มีสีที่ซีดกว่าทุกกลุ่มซึ่งเป็นลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่ผู้บริโภคไม่ต้องการ ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ในการนำเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 และ *Lb. salivarius* D 4 มาใช้เป็นกลูต้าเชื้อในผลิตภัณฑ์เนื้อมกุ่มเนื้อโค

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ศูนย์เครือข่ายการวิจัยเทคโนโลยีเนื้อสัตว์โดยความร่วมมือของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ร่วมกับสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ที่ได้ให้ทุนสนับสนุนการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- จุฑารัตน์ เศรษฐกุล และ พรรณีภา สีวะพิรุฬห์เทพ. 2553. การแปรรูปเนื้อสัตว์. เอกสารประกอบการอบรมการแปรรูปเนื้อสัตว์ ครั้งที่ 3. ศูนย์เครือข่ายการวิจัยเทคโนโลยีเนื้อสัตว์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 95 หน้า.
- ชลัท ศานติวราจกาน. 2542. การคัดแยกและการศึกษาคุณสมบัติของแบคทีเรียกรดแลคติกที่สามารถผลิตสารยับยั้งจากน้ำนมดิบในโคนมแห่งประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร.
- นภา โล่ห์ทอง. 2529. ปฏิบัติการวิชาจุลชีววิทยาทางอาหาร. ภาควิชาจุลชีววิทยาและวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน. 2548. แหนมเนื้อ. มพช. 470/2547. 6 หน้า.
- ประเวทย์ ดุษฎีเมฆวงศ์ สุคันธา โอศิริพันธุ์ อดิศักดิ์ พงษ์พลผลศักดิ์ และฉรณี ดุษฎีเมฆวงศ์. 2548. การประเมินความเสี่ยงเชิงปริมาณต่อเชื้อ *Salmonella* spp. ในแหนมหมู Quantitative Risk Assessment of *Salmonella* spp. In Fermented Pork Sausage (Nham). การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 42. กรุงเทพฯ. 64 หน้า
- รุจรีน ลิ้มสุกวานิช และ จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2552. คุณค่าเนื้อโคไทย. กรุงเทพฯ : บริษัทอมรินทร์พริ้นติ้ง แอนด์พับลิชชิ่งจำกัดมหาชน. 98 หน้า
- สุเมธนา วัฒนสินธุ์. 2545. จุลชีววิทยาทางอาหาร. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.
- อัจฉรา เพิ่ม. 2549. แบคทีเรียกรดแลคติก. หจก. ภาพพิมพ์. กรุงเทพฯ.

- อดิศร เสวตวิวัฒน์. 2533. “ผลของการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกต่อชาลโมเนลลาในการหมักแหนม.”
วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- อดิศร เสวตวิวัฒน์ และ อรุณ ป่างตระกูลนนท์. 2539. ประสิทธิภาพของ Salmosyst กับอาหารเลี้ยงเชื้อ
Rambach agar ต่อการตรวจหาชาลโมเนลลาในแหนม. การประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 34 ของ
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- AMSA. 1991. “Guideline for meet color evaluation.” Proceedinge of the Reciprocal Meat
Conference, 44:1-17.
- AOAC. 1995. “Chapter 17 AOAC Official Method 17.9.01.” p.55. in Cunniff, P. Official methods of
analysis of AOAC international. Maryland : AOAC international
- AOAC. 2005. “Chapter 17 AOAC Official Method 940.36B.” p.2. in Horwitz, W. and Latimer, G.W.
Official methods of analysis of AOAC international. Maryland : AOAC international.
- AOAC. 2006. “Chapter 17 AOAC Official Method 966.23c-24.” 5-6. in Horwitz, W. and Latimer,
G.W. Official methods of analysis of AOAC international. Maryland : AOAC international.
- Axelsson, L.T. 1993. Lactic Acid Bacteria : Classification and physiology. pp. 1-89. In Lactic
Acid Bacteria Microbiological and Functional Aspects. New York : Marcel Dekker.
- BAM. 2001.“Chapter 12 BAM Bacteriological Analytical Manual online, on *Staphylococcus
aureus*.” U.S. Food and Drug Administration. January. 2001. [http://www.fda.gov/Food/
ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/default](http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/default).
- Campos, C.A., Rodríguez, Ó., Calo-Mata, P., Prado, M. and Barrops-Velázquez, J. 2006.
“Preliminary characterization of bacteriocin from *Lactococcus lactis*, *Enterococcus faecium*
and *Enterococcus munditii* strains isolated from turbot (*Psetta maxima*).” Int. Food Res. 39 :
356-364.
- Chokesajjawatee, N., Sarinya, P., Yoong, G., Sanit, K., Luxananil, P., Wanasen, S. and Valy, R. 2009.
“ Incident of *Staphylococcus aureus* and associated risk factors in Nham, a Thai ferment pork
product.” Int. J. Food Microbiol. 26 : 547-551.
- Davidson, P.M. and Hoover. D.G. 1993. Antimicrobial Components from Lactic Acid 76 Bacteria. In
Salmine, S. and Von Wright, A. editors. Lactic Acid Bacteria. Marcel Dekker. Inc. New York
32 : 127 – 160.
- Erkkilä, S. and Petäjä, E. 2000. “Screening of commercial meat starter cultures at low pH and in the
presence of bile salts for potential probiotic use.” Meat Sci. 55 : 297-300.

- Erkkilä, S., Petäjä, E., Eerola, S., Lilleberg, L., Mattila-Sandholm, T. and Suihko, M-L. 2001. "Flavour profiles of dry sausages fermented by selected novel meat starter cultures." *Meat Sci.* 58 : 111-116.
- González, L., Sandoval, H., Sacristán, N., Castro, J.M., Fresno, J.M. and Tornadijo, M.E. 2007. "Identification of lactic acid bacteria isolated from Genestoso cheese throughout ripening and study of their antimicrobial activity." *Food Contr.* 18 : 716-722.
- Guarner, F., Perdigon, G., Corthier, G., Salminen, S., Koletzko, B. and Morelli, L. 2005. "Should yoghurt cultures be considered probiotic." *Br. J. Nutr.* 93 : 783-786.
- Kaban, G. and Kaya, M. 2005. "Effect of starter culture on growth of *Staphylococcus aureus* in sucuk." *Meat Sci.* 17 : 797-801.
- Lan, P.T.N., Binh, L.T. and Benno, Y. 2003. "Impact of two probiotic *Lactobacillus* strains feeding on fecal lactobacilli and weight gains in chicken." *J. Gen. Appl. Microbiol.* 49 : 29-36.
- Leroy, F. and De Vuyst, L. 1999. "The presence of salt and a curing agent reduces bacteriocin production by *Lactobacillus sakei* CTC 494, a potential starter culture for sausage fermentation." *Appl. Environ. Microbiol.* 65(12) : 5350-5356.
- Leroy, F. and De Vuyst, L. 2004. "Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry." *Trends in Food Sci. Technol.* 15 : 67-78.
- Leroy, F., Verluysen, J. and De Vuyst, L. 2006. "Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation." *Int. J. Food Microbiol.* 106 : 270-285.
- Lindgren, S.E. and Dobrogosz, W.J. 1990. "Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentations." *FEMS Microbiol. Rev.* 87 : 149-163.
- Makras, L. and Vuyst, L.D. 2006. "The in vitro inhibition of Gram-negative pathogenic bacteria by bifidobacteria is caused by the production of organic acids." *Int. Dairy J.* 16 : 1049-1057.
- Muthukumarasamy, P. and Holley, R.A. 2007. "Survival of *Escherichia coli* 0157:H7 in dry fermented sausages containing micro-encapsulated probiotic lactic acid bacteria." *Food Microbiol.* 24 : 82-88.
- Murry, A.C., Hinton, A. and Morrison, H. 2004. "Inhibition of Growth of *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, and *Clostridia perfringens* on Chicken Feed Media by *Lactobacillus salivarius* and *Lactobacillus plantarum*." *Int. J. Poul. Sci.* 3(9) : 603-607.
- Otero, M.C., and Nader-Macías, M.E. 2006. "Inhibition of *Staphylococcus aureus* by H₂O₂-producing *Lactobacillus gasseri* isolated from the vaginal tract of cattle." *Anim. Reprod. Sci.* 96 : 35-46.

- Pilasombut, K., Swetwathana, A., Sithigripong, R. and Sethakul, J. 2009. "Screening of bacteriocin-like inhibitory substance from lactic acid bacteria for fermented meat starter culture." Paper presented at 55th International Congress of Meat Science and Technology (ICoMST), Copenhagen, Denmark, August 2009. 4 p.
- Ray, B. 2004. Fundamental Food Microbiology. 3rd ed. CRD Press LLC: Florida.
- Riebroy, S., Benjakul, S. and Visessanguan, W. 2008. "Properties and acceptability of Som-fug, a Thai fermented fish mince, inoculated with lactic acid bacteria starters." LWT. 41: 569–580.
- Ruengwilay, C.W. 2005. "Controlling *Salmonella* typhimurium, *Escherichia coli* O157:H7, *Yersinia enterocolitica* and *Listeria monocytogenes* in Nham, a Thai style fermented pork sausage, by Lactic acid bacteria." Ph. D. Thesis, Kansas State University, Manhattan, Kansas, United States America.
- Solichien, M.S., Brien, D.O. Hammond, E.G. and Glatz, C.E. 1995. "Membrane-based extractive fermentation to propionic and acetic acid : Toxicity and mass transfer consideration." Enzyme and Microbial Technology. 17 : 23-31.
- Swetwathana, A., Leutz, U., Lotong, N. and Fischer, A. 1999. "Controlling the growth of *Salmonella* anatum in Nham; Effect of meat starter cultures, nitrate, nitrite and garlic." Fleischwirtschaft. 79(9) : 124-128.
- Swetwathana, A., Lotong, N., Nakayama, J. and Sonomoto, K. 2004. "Effect of Garlic nitrite on Pediocin PA-1 production of *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 and on the Growth of *Salmonella* anatum in Simulate Nham Fermentation." Paper presented at KMITL International Conference On Integration of Science and Technology for Sustainable Development, Bangkok, Thailand, August 2004. 4 p.
- Swetwathana, A. 2005. "Microbiological quality enhancement of Thai fermented meat product (Nham) using – associated pediocin producing Lactic acid bacteria (*Pediococcus pentosaceus* TISTR536)." Fleischwirtschaft. 16(4) : 78-86.
- Swetwathana, A., Srisuk, n., Sangsuk, L., Lotong, N., Nakayama, J. and Sonomoto, K. 2005. "Screening of bacteriocin-producing Lactic Acid Bacteria isolated from fermented meat in acidic broth and the presence of bile salts for probiotic prospect." Paper presented at 55th International Congress of Meat Science and Technology (USDA), Baltimore, Maryland, USA, August 2005. 7 p.

- Visessanguan, W., Benjakul, S., Riebroy, S. and Thepkasikul, P. 2004. "Changes in composition and functional properties of proteins and their contributions to Nham characteristics." Meat Sci. 66 : 579 – 588.
- Visessanguan, W., Benjakul, S., Smitinont, T., Kittikun, C., Thephasikul, P. and Panya, A. 2005. "Changes in microbiological, biochemical and physical – chemical properties of Nham inoculate with different inoculums levels of *Lactobacillus curvatus*." Int. J. Food Microbiol. 39 : 814-826.
- Wodzki, R., Nowaczyk, J. and Kujawski, M. 2000. "Separation of propionic and acetic acid by pertraction in a multimembrane hybrid system." Sepa. Pur. Techol. 21 : 39-54.
- Zhang, W., Xiao, S., Samaraweera, H., Lee, E. J. and Ahn, D. U. 2010. "Improving functional value of meat products." Meat Sci. 86 : 15 – 31.

2.3 ศึกษาผลของการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกต่อคุณภาพ การเก็บรักษา และการยอมรับของผู้บริโภคในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักแบบพื้นบ้าน: แหนมเนื้อโคไม่เค็มเอ็นโคและพริก

หลักการและเหตุผล

แหนมเป็นอาหารหมักพื้นบ้านของไทยที่มีการผลิตกันมาช้านาน โดยส่วนใหญ่ผู้ผลิตแม้จะเป็นในทางการค้า จะใช้วิธีการหมักตามธรรมชาติเพื่อให้เกิดกรดแลคติกซึ่งทำให้แหนมมีรสเปรี้ยว มีเนื้อสัมผัสเป็นเอกลักษณ์เฉพาะของผลิตภัณฑ์ ซึ่งแหนมเป็นที่นิยมของทุกครัวเรือน ในขณะที่วงการอุตสาหกรรมได้สรรหากลิ่นในต่างประเทศโดยส่วนใหญ่จะมีการเติมกล้าเชื้อเริ่มต้นทั้งที่เป็นแบคทีเรียกรดแลคติกและจุลินทรีย์กลุ่มอื่นๆ เพื่อช่วยควบคุมกระบวนการผลิต ทั้งในเรื่องของระยะเวลาการผลิต ความสม่ำเสมอของคุณภาพ และที่สำคัญช่วยเพิ่มความปลอดภัยในการบริโภค เนื่องจากกล้าเชื้อกรดแลคติกมักสามารถช่วยควบคุมการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรควางชนิดได้ เนื่องจากสารที่ถูกผลิตขึ้นโดยจุลินทรีย์กลุ่มนี้ ทั้งนี้จากการวิจัยของนักวิจัยของศูนย์เครือข่ายการวิจัยเทคโนโลยีเนื้อสัตว์ โดยความร่วมมือของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) ร่วมกับสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ได้ทำการคัดแยกแบคทีเรียกรดแลคติกที่พบว่าสามารถสร้างสารแบคทีเรียโอซินและมีคุณสมบัติเบื้องต้นเป็นโปรไบโอติก ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวของแบคทีเรียที่นักวิจัยได้ศึกษา นอกจากจะสามารถช่วยเพิ่มความปลอดภัยในการบริโภคให้กับผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเพราะสารแบคทีเรียโอซินสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ทั้งที่ก่อโรคและไม่ก่อโรควางชนิดได้ คุณสมบัติที่เป็นโปรไบโอติกยังเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้ที่รับประทานผลิตภัณฑ์อีกด้วย ทั้งนี้เนื่องจากการค้นพบคุณสมบัติทั้งสองประการโดยเฉพาะคุณสมบัติเบื้องต้นของเชื้อที่สามารถเป็นโปรไบโอติกได้ จึงเป็นที่น่าสนใจในการนำกล้าเชื่อดังกล่าวมาเป็นกล้าเชื้อเริ่มต้นในการผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก ซึ่งแหนมเป็นผลิตภัณฑ์เนื้อหมักของไทยที่มักจะรับประทานกันโดยไม่ถูกทำให้สุก จึงเป็นผลิตภัณฑ์กลุ่มแรกที่น่าสนใจและมีความเป็นไปได้ที่กล้าเชื้อที่ถูกเติมลงไปจะมีโอกาสรอดชีวิตและแสดงคุณสมบัติการเป็นโปรไบโอติกต่อไปได้

ด้วยเหตุดังกล่าวคณะผู้วิจัยจึงต้องการเพิ่มมูลค่าให้แก่วัตถุดิบเนื้อโคพื้นเมืองของไทยโดยการนำมาผลิตแหนมเนื้อโค และเพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้กล้าเชื้อที่สามารถผลิตแบคทีเรียโอซินและมีคุณสมบัติเบื้องต้นเป็นโปรไบโอติกซึ่งค้นพบโดยนักวิจัยของศูนย์ฯ เพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่า ทั้งนี้จากผลการศึกษาการใช้กล้าเชื่อดังกล่าวในการผลิตแหนมเนื้อโคที่ได้รายงานไปในตอนต้น (การทดลองที่ 2.1 และ 2.2) ผู้วิจัยพบอุปสรรคในการตรวจสอบคุณภาพด้านเนื้อสัมผัสและความชอบของผู้บริโภคเมื่อใช้ตัวอย่างแหนมเนื้อโคที่ผลิตเต็มสูตรโดยเติมเอ็นโคและพริก เนื่องจากผลการตรวจสอบที่ได้มีความแปรปรวนสูงมาก การทดลองในรายงานส่วนนี้จึงเป็นการศึกษาคุณภาพของแหนมเนื้อโคที่ไม่เติมเอ็นโคและพริกชี้หนู เพื่อลดปัญหาดังกล่าว

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ของการใช้กล้าเชื้อแลคติกบริสซูทรีเริ่มต้นที่สามารถสร้างสาร bacteriocins และมีคุณสมบัติเบื้องต้นเป็น probiotic
2. เพื่อศึกษาคุณภาพ (เคมี กายภาพ และจุลินทรีย์) ของแฮมเนื้อโคที่ผลิตโดยใช้กล้าเชื้อแลคติกบริสซูทรีเริ่มต้นที่สามารถสร้างสาร bacteriocins และมีคุณสมบัติเบื้องต้นเป็น probiotic
3. เพื่อศึกษาความชอบของผู้บริโภคที่มีต่อแฮมเนื้อโคที่ผลิตโดยใช้กล้าเชื้อแลคติกบริสซูทรีเริ่มต้นที่สามารถสร้างสาร bacteriocins และมีคุณสมบัติเบื้องต้นเป็น probiotic

ขอบเขตการวิจัย

ศึกษาความเป็นไปได้ในการนำเชื้อ *Lactococcus lactis* spp. *lactis* P2, *P. pentosaceus* TISTR 536, *Lb. salivarius* D4 และ *Lactococcus lactis* spp. *lactis* Sb2 เพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อในผลิตภัณฑ์แฮมเนื้อโคเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และกลุ่มทดลองที่ใช้กล้าเชื้อทางการค้า (Pacovis RCI - 47) ศึกษาคุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ ได้แก่ ตรวจวิเคราะห์เชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก Coliforms, *E. coli*, Yeast/Mold, *Salmonella* spp. และ *S. aureus* และคุณภาพทางเคมีและกายภาพของแฮมเนื้อโค ได้แก่ ค่า Aw pH ปริมาณกรดทั้งหมด ค่าสีและค่าความแข็ง และการประเมินความชอบของผู้บริโภคต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงคุณภาพ (เคมี กายภาพ และจุลินทรีย์) ของแฮมเนื้อโคที่ผลิตโดยใช้กล้าเชื้อแลคติกบริสซูทรีเริ่มต้นที่สามารถสร้างสาร bacteriocins และมีคุณสมบัติเบื้องต้นเป็น probiotic เปรียบเทียบกับการหมักโดยใช้กล้าเชื้อบริสซูทรีเริ่มต้นของต่างประเทศ และการหมักโดยไม่เติมกล้าเชื้อจุลินทรีย์
2. ทราบถึงความชอบของผู้บริโภคที่มีต่อแฮมเนื้อโคที่ผลิตโดยใช้กล้าเชื้อแลคติกบริสซูทรีเริ่มต้นที่สามารถสร้างสาร bacteriocins และมีคุณสมบัติเบื้องต้นเป็น probiotic เปรียบเทียบกับการหมักโดยใช้กล้าเชื้อบริสซูทรีเริ่มต้นของต่างประเทศ และการหมักโดยไม่เติมกล้าเชื้อจุลินทรีย์
3. ทราบถึงความเป็นไปได้ของการใช้กล้าเชื้อแลคติกบริสซูทรีเริ่มต้นที่สามารถสร้างสาร bacteriocins และมีคุณสมบัติเบื้องต้นเป็น probiotic ในการหมักแฮมเนื้อโคแบบพื้นบ้าน และได้ข้อมูลเพื่อใช้ในการพิจารณาเลือกกล้าเชื้อแลคติกสำหรับศึกษาคุณภาพของแฮมเนื้อโคในเชิงลึกต่อไป

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

แฮมเป็นผลิตภัณฑ์อาหารหมักพื้นบ้านที่นิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลายในประเทศไทยซึ่งมีวัตถุดิบหลักส่วนใหญ่เป็นเนื้อหมูหรือเนื้อโค โดยกระบวนการหมักเพื่อผลิตแฮมที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่ยังคงอาศัยแบคทีเรียแลคติกที่มีอยู่ในธรรมชาติที่ปนเปื้อนมาจากเนื้อสัตว์ และเครื่องปรุงต่างๆ ที่จะทำ

ให้เกิดกลิ่นรสเฉพาะของแฮม ซึ่งการหมักที่อาศัยเพียงแบคทีเรียแลคติกที่มีอยู่ในธรรมชาตินั้น อาจทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีคุณภาพไม่สม่ำเสมอ ในปัจจุบันจึงมีการนำเอาเชื้อแลคติกบริสุทธิ์มาใส่ในตอนเริ่มต้นของกระบวนการหมัก เพื่อช่วยให้ผู้ผลิตมั่นใจได้ว่าจะได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพ และยังช่วยลดระยะเวลาในการหมักให้สั้นลงด้วย และเนื่องจากพฤติกรรมในการบริโภคแฮมนั้น นิยมบริโภคโดยไม่ผ่านความร้อน จึงเป็นความเสี่ยงที่ผู้บริโภคจะได้รับอันตรายจากเชื้อที่อาจก่อโรคที่ปนเปื้อนอยู่ในแฮมได้ เช่น เชื้อซัลโมเนลลา ที่มักพบปนเปื้อนอยู่ในเนื้อหมู (อดิศร เสวตวิวัฒน์ และคณะ, 2548) และเนื้อโค (สุมาลี บุญมา และคณะ, 2539; สมัญญา สุขพหล และคณะ, 2549) ซึ่งเป็นวัตถุดิบหลักในการผลิต จึงมีการศึกษาที่จะทำให้ผลิตภัณฑ์ชนิดนี้มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคมากขึ้น และพบว่าการนำเชื้อแลคติกบริสุทธิ์มาใส่ในตอนเริ่มต้นของการหมักนั้น นอกจากจะให้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพดีสม่ำเสมอแล้ว ยังช่วยในเรื่องการลดจำนวนเชื้อที่ก่อโรคอีกด้วย ดังรายงานการวิจัยของอดิศร เสวตวิวัฒน์ (2533) และเรณู ทวีชาติวิทยากุล (2539) ที่พบว่าเชื้อแลคติกบริสุทธิ์เริ่มต้นที่ใส่ลงไปนั้นสามารถลดจำนวนของเชื้อซัลโมเนลลาได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งแบคทีเรียแลคติกสายพันธุ์ที่สามารถผลิตสารยับยั้งชีวภาพในกลุ่ม bacteriocin เช่น *P. pentosaceus* TISTR 536 ที่ผลิตสาร bacteriocin ในกลุ่ม pediocin PA-1 เมื่อใช้เป็นก้ำเชื้อในการหมักแฮม มีผลช่วยในการยับยั้งเชื้อซัลโมเนลลาในระหว่างการหมักแฮม (Swetwathana *et al.*, 2007) ได้ดีเมื่อเทียบกับแฮมที่หมักโดยวิธีตามธรรมชาติโดยไม่ใช้ก้ำเชื้อ

Swetwathana *et al.* (2004) ศึกษาผลของกระเทียมและไนไตรท์ซึ่งเป็นส่วนผสมสำคัญในการผลิตแฮมที่มีต่อการผลิต pediocin PA-1 ของ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ต่อการเจริญของ *Salmonella* Anatum ในสภาวะการหมักแฮมจำลอง (Nham Model Broth) พบว่ากระเทียมสด 5 เปอร์เซ็นต์จะช่วยให้ *P. pentosaceus* TISTR 536 เจริญได้ดีทั้งที่มีไนไตรท์และไม่มีไนไตรท์ เมื่อเทียบกับที่ไม่ได้ใส่กระเทียมและเมื่อใช้กระเทียมสด 5 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับไนไตรท์ 125 ppm และ *P. pentosaceus* TISTR 536 จะสามารถลดจำนวนของ *Salmonella* Anatum ได้ภายใน 30 ชั่วโมง ดังนั้นเชื่อดังกล่าวจึงเป็นเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีแนวโน้มที่จะใช้ในการผลิตแฮมโปรโปติก

ศิริพร พงษ์วุฒิประพันธ์ (2553) ทำการศึกษาผลของการปนเปื้อนของเชื้อซัลโมเนลลาในเนื้อโค 3 ชนิด (เนื้อโคพันธุ์บราห์มันเลี้ยงด้วยหญ้า พันธุ์บราห์มันเลี้ยงด้วยเปลือกสับปะรด และพันธุ์พื้นเมือง) พบว่าจากจำนวนตัวอย่างที่ตรวจ 18 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อนของเชื้อซัลโมเนลลาทั้งหมด 10 ตัวอย่าง คิดเป็น 55.56 เปอร์เซ็นต์จากตัวอย่างทั้งหมด โดยตรวจพบเชื้อ *Salmonella* Anatum และ *Salmonella* Amsterdam มากที่สุด โดยตรวจพบชนิดละ 3 ตัวอย่างเท่ากันคิดเป็น 5.56 เปอร์เซ็นต์ จากตัวอย่างทั้งหมด โดยตรวจไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อซัลโมเนลลาในเนื้อโคพันธุ์พื้นเมือง และเมื่อทำการตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาในแฮมที่ผลิตจากเนื้อโคทั้ง 3 ชนิดที่แบ่งการเก็บรักษาออกเป็น 2 แบบ คือ การแช่เย็นและการแช่แข็ง นำมาผลิตโดยมีการใส่เชื้อแบคทีเรียแลคติกเริ่มต้น *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ที่ผลิต pediocin PA-1 เทียบกับตัวอย่างที่ไม่ใส่เชื้อเริ่มต้น พบว่ามีการปนเปื้อนเชื้อซัลโมเนลลาในวันที่ 0 จำนวน 11 ตัวอย่าง และในวันที่ 3 จำนวน 6 ตัวอย่าง โดยพบเชื้อ

Salmonella Anatum หลังการหมักมากที่สุด ซึ่งสูตรที่มีการเติมกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกเริ่มต้นส่งผลให้ซาลโมเนลลาลดลงกว่าสูตรที่ไม่มีการเติมกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกเริ่มต้น

เมื่อนำผลิตภัณฑ์หมักที่ผลิตโดยใช้เนื้อโคทั้งสามสายพันธุ์ จากการเก็บเนื้อ 2 ลักษณะ คือ เนื้อโคแบบแช่เย็น และเนื้อโคแบบแช่แข็ง ที่มีการเติมและไม่เติมกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกเริ่มต้น *P. pentosaceus* TISTR 536 ไปทดสอบคุณสมบัติทางเคมีและจุลชีววิทยาของหมักในวันแรกของการหมักและหลังการหมัก 3 วัน พบว่า *P. pentosaceus* TISTR 536 สามารถเจริญและผลิตกรดได้ดีกว่าหมักที่ไม่เติมกล้าเชื้อ ซึ่งส่งผลให้ค่าพีเอชของหมักที่เติมกล้าเชื้อมากกว่าหมักที่ไม่เติมกล้าเชื้อ นอกจากนี้ยังพบว่า เนื้อโคที่ใช้ในการผลิตหมักมีผลทำให้ค่าเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกและค่าพีเอชของหมักต่างกัน กล่าวคือ หมักเนื้อโคที่ผลิตจากโคพื้นเมืองจะมีค่าเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกต่ำและค่าพีเอชสูงกว่าหมักที่ผลิตจากพันธุ์บราห์มันเลี้ยงด้วยหญ้าและเปลือกสับประดออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และเมื่อนำหมักทั้งหมดมาทดสอบทางด้านความชอบทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค พบว่า ผู้บริโภคให้การยอมรับผลิตภัณฑ์หมักที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มันแบบแช่แข็งทั้งที่มีการเติมเชื้อแบคทีเรียแลคติกเริ่มต้น *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 และไม่เติมเชื้อเริ่มต้นมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยมีแนวโน้มที่จะชอบหมักเนื้อโคที่ผลิตจากเนื้อโคแช่แข็งมากกว่าเนื้อโคแช่เย็น

ผลของการหมักหมักในรูปแบบจำลองการหมักหมักในหลอดทดลอง (Nham Model Broth, NMB) ที่มีค่าออกซิเจนแอคทีวิตี้ 0.97 เช่นเดียวกับหมัก เพื่อยืนยันผลของกระเทียม ในไตรท์ และ เชื้อแบคทีเรียแลคติก *P. pentosaceus* TISTR 536 พบว่า ใน NMB ที่เติมกระเทียม 5 เปอร์เซ็นต์ ในไตรท์ 100 ppm และเชื้อแบคทีเรียแลคติก *P. pentosaceus* TISTR 536 ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 6.6×10^6 cfu/mL สามารถลดจำนวนเชื้อ *Salmonella* Anatum ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 6.6×10^4 cfu/mL และ *S. Amsterdam* ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 4.4×10^4 cfu/mL ได้ดีที่สุด เมื่อเทียบกับ NMB ที่มีการเติมของกระเทียม ในไตรท์ หรือ เชื้อแบคทีเรียแลคติก *P. pentosaceus* TISTR 536 เพียงอย่างเดียว ภายในระยะเวลา 48 ชั่วโมง และ 42 ชั่วโมงของการหมักใน NMB ตามลำดับ โดยที่ *S. Anatum* มีแนวโน้มที่ทนสภาวะการหมักได้ดีที่สุด

เมื่อนำสูตรที่ผู้บริโภคยอมรับมากที่สุดคือหมักที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มันแบบแช่แข็ง มาทำการผลิตหมัก โดยเติมและไม่เติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 6.6×10^6 cfu/mL และเติม *S. Anatum* ประมาณ 10^4 cfu/mL ให้เป็นหมักอบแห้งหลังจากหมักครบ 3 วัน ด้วยการใช้ตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส ในเวลา 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง แล้วทำการตรวจหาเชื้อซาลโมเนลลาและเชื้อแบคทีเรียแลคติกในหมักก่อนหมัก หมักครบ 3 วัน และหลังอบแห้ง 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง พบว่าหลังจากการหมักหมักทั้งที่มีการเติมเชื้อเริ่มต้นและไม่เติมเชื้อเริ่มต้นครบ 3 วัน ยังคงตรวจพบเชื้อซาลโมเนลลาจากตัวอย่างหมัก โดยก่อนการอบแห้งพบ *S. Anatum* มากที่สุด และในระหว่างการอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส พบว่าสามารถยับยั้งและ

ลดปริมาณเชื้อ *S. Anatum* ได้ภายใน 6 ชั่วโมงของการอบแห้ง ในขณะที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ไม่พบเชื้อซาลโมเนลลาหลังทำการอบแห้งที่ 2 ชั่วโมง และหลังทำการอบแห้ง 8 ชั่วโมง พบว่า ยังคงมีเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่เหลือรอดอยู่ในปริมาณที่สูงในแฮมเนื้อโคที่ผลิตที่อบแห้งที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส อยู่ที่ $6.75 \log \text{ cfu/g}$ และ $6.96 \log \text{ cfu/g}$ ตามลำดับ จากข้อมูลการอบที่พบว่า *S. Anatum* ถูกทำลายจนหมดหลังการอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 6 ชั่วโมง จึงได้นำผลิตภัณฑ์ที่อบแห้ง 6 ชั่วโมง ทั้งที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียสมาทดสอบความชอบผลิตภัณฑ์ผู้บริโภค พบว่าผู้ทดสอบให้การยอมรับเนื้อโคที่ผลิตจากเนื้อโคพันธุ์บราห์มันแบบแช่แข็ง ทั้งสูตรที่มีการเติมและไม่เติมกล้ำเชื้อแบคทีเรียแลคติกเริ่มต้นที่ทำการอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

จึงพอสรุปได้ว่า *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 เป็นแบคทีเรียแลคติกที่สามารถนำมาใช้เป็นกล้ำเชื้อเพื่อปรับปรุงคุณภาพการผลิตแฮมเนื้อโคไทย เพื่อให้ได้แฮมที่มีความปลอดภัยต่อการบริโภค การนำผลิตภัณฑ์ที่ทำการหมักครบ 3 วัน จะได้ผลิตภัณฑ์แฮมเนื้อโคกึ่งแห้งแบบใหม่ที่ปลอดภัยจากเชื้อซาลโมเนลลาและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคมากกว่าการอบที่ 60 องศาเซลเซียสในเวลาที่เท่ากัน ทำให้ผู้บริโภคยังอาจได้รับประโยชน์จากเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่เหลือรอดภายหลังการอบอันจะนำไปสู่แนวทางการพัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวกึ่งแห้งโปรไปโอติก เช่น หม่ำโปรไปโอติก ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์กึ่งแห้งโดยธรรมชาติอยู่แล้ว ซึ่งผู้บริโภคอาจให้การยอมรับมากกว่าการพัฒนาทำแฮมกึ่งแห้ง ซึ่งผู้บริโภคคุ้นเคยกับแฮมซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์แบบเปียก

Vissesanguan *et al.* (2006) ศึกษาผลของการใช้กล้ำเชื้อ *Lb. curvatus* ที่ระดับ 10^4 cfu/g และ 10^6 cfu/g ในการผลิตแฮม เปรียบเทียบกับการหมักตามธรรมชาติ พบว่าการใช้กล้ำเชื้อมีผลในการเร่งกระบวนการบ่มหมักของแฮม โดยทำให้ค่า pH ลดลงเร็วขึ้น และปริมาณกรดเพิ่มขึ้นเร็วกว่าการผลิตแฮมโดยไม่ใช้กล้ำเชื้อ นอกจากนั้นคณะผู้วิจัยพบว่า การใช้กล้ำเชื้อ *Lb. curvatus* ในปริมาณ 10^6 cfu/g มีผลให้แฮมเกิดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ ทั้งนี้ Vissesanguan *et al.* (2005) อ้างจาก Phithakpol *et al.* (1995) กล่าวว่าโดยทั่วไปการหมักแฮมที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสจะใช้เวลาประมาณ 3-5 วัน มีผลให้ค่า pH ประมาณ 4.4-4.8 และปริมาณกรดโดยรวมประมาณ 0.77-1.60 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากรายงานของ Vissesanguan *et al.* (2006) กล่าวว่าผลของกระบวนการหมักเปรี้ยวโดยใช้กล้ำเชื้อ *Lb. curvatus* จะเกิดการสร้างกรดแลคติกเป็นหลัก เป็นผลทำให้ภายหลังการหมัก แฮมจะมีความแน่นเนื้อมากขึ้น รวมทั้งมีผลต่อสี กลิ่น และรสชาติของแฮม ซึ่ง Vissesanguan *et al.* (2004) ศึกษาการหมักแฮมที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสโดยไม่เติมกล้ำเชื้อ พบว่าค่า pH ของแฮมลดลงเท่ากับ 4.6 เมื่อแบคทีเรียแลคติกเจริญถึงระยะสุดท้ายของ exponential phase ซึ่งอยู่ในช่วง 60-72 ชั่วโมง ทั้งนี้การเพิ่มความเข้มข้นกรดมีมากในช่วง 24 ชั่วโมงแรกของการบ่ม โดยพบว่ากรดที่เป็นผลผลิตหลักคือกรดแลคติก ลำดับรองลงมาคือ กรดอะซิติก และออกซาลิก ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมสำหรับแฮม (มอก. 1219 – 2547) และมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนสำหรับแฮมเนื้อ (มพช. 470/ 2548) โดยสำนักงาน

มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (2547) และ (2548) ตามลำดับ ระบุว่าเนื้อมีค่า pH ไม่เกิน 4.6 ในวัน เดือน ปี ที่ควรบริโภค สำหรับเชื้อจุลินทรีย์ มพช. 470/ 2548 ระบุว่า ต้องตรวจไม่พบเชื้อ *Salmonella* ในตัวอย่างเนื้อม 25 กรัม *Staphylococcus aureus* ต้องไม่เกิน 100 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม และยีสต์และรา ต้องน้อยกว่า 100 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม

ขณะเดียวกัน มพช. 470/ 2548 โดยสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (2548) ระบุว่า เนื้อมีลักษณะเนื้อแน่น คงรูป กรณีนั่นเป็นชิ้น ต้องคงสภาพเป็นชิ้น ไม่ยุ่ย ทั้งนี้ Barbut (2007) กล่าวว่าลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวเกิดจากผลพวงของปัจจัยต่างๆ เช่น ส่วนผสมที่ใช้ในสูตรการผลิต กระบวนการแปรรูปที่ใช้ วิธีการทำให้เป็นกรด ซึ่งอาจเกิดจากจุลินทรีย์ หรือใช้สารเคมี การให้ความร้อนระดับต่ำๆ หรือปานกลางในกระบวนการผลิต ซึ่งมักพบมีการปฏิบัติใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักของสหรัฐอเมริกา รวมถึงวิธีการลดความชื้นและการบ่ม เป็นต้น ทั้งนี้พัฒนาการและการเปลี่ยนแปลงของเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์เนื้อ เกิดจากกระบวนการสกัดโปรตีนด้วยเกลือ (salt extraction) การเกิดเจลของโปรตีน (protein gelation) โดยการทำงานของกรด และการที่เจลของโปรตีน มีความแข็งแรงอยู่ตัวมากขึ้นเนื่องจากการเสื่อมสภาพของโปรตีนในระหว่างการทำแห้งหรือทำให้สุก จากรายงานของ Visessanguan *et al.* (2004) ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางหน้าที่ของโปรตีนในระหว่างการทำหมักเนื้อมที่ผลิตจากเนื้อสุกรเป็นส่วนประกอบหลัก โดยไม่เติมเกลือ พบว่าเมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้น ปริมาณของ sarcoplasmic และ myofibrillar proteins มีจำนวนลดลง ขณะที่ส่วนของโปรตีนที่เป็น alkaline-soluble proteins ซึ่งคาดว่าเป็น actomyosin ที่เสื่อมสภาพ และองค์ประกอบอื่นที่ไม่ใช่โปรตีน (non-protein constituents) มีจำนวนเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้ Visessanguan *et al.* (2004) ยังพบว่าลักษณะเนื้อสัมผัสของเนื้อมก่อนการบ่มมีความแข็งแรง (Hardness) ซึ่งวัดได้จากค่าแรงสูงสุดที่ใช้ในการกดลงบนตัวอย่างเนื้อมในครั้งแรก (ธงชัย สุวรรณสิขณน์ (2549) เท่ากับ 1001.2 ± 124.4 กรัม เมื่อผ่านการบ่มไป 3 วันพบว่าค่า Hardness เพิ่มขึ้นเป็น 6356.8 ± 555.3 กรัม สำหรับความสามารถของตัวอย่างเนื้อมในการกลับคืนสู่สภาพเดิม ภายหลังจากถูกแรงกดและถอนแรงออก หรือ springiness (ธงชัย สุวรรณสิขณน์, 2549) หรือความยืดหยุ่น พบว่าก่อนการบ่มมีค่า 0.65 ± 0.05 มิลลิเมตร เมื่อผ่านการบ่มไป 3 วันมีค่าเพิ่มขึ้นเป็น 0.83 ± 0.01 มิลลิเมตร เมื่อคณะผู้วิจัยพิจารณาค่า cohesiveness หรือความสามารถของเนื้อมในการเกาะตัวรวมกันเหนียวแน่นเพียงใด (ธงชัย สุวรรณสิขณน์, 2549) พบว่าก่อนการบ่มเนื้อมมีค่า cohesiveness 0.45 ± 0.04 กรัม.มิลลิเมตร และค่าเพิ่มเป็น 0.58 ± 0.03 กรัม.มิลลิเมตร ภายหลังจาก 3 วันของการบ่ม นอกจากนี้คณะผู้วิจัยพบว่าก่อนการบ่ม เนื้อมมีค่า adhesiveness หรือคุณสมบัติของเนื้อมที่มีลักษณะเหมือนกาวสามารถในการเกาะติดผิวที่ไปสัมผัส (ธงชัย สุวรรณสิขณน์, 2549) เท่ากับ -325.8 ± 74.2 g.s เมื่อผ่านการบ่มไป 3 วันพบว่าค่าสามารถในการเกาะติดผิวลดลงเป็น -18.2 ± 5.9 กรัม.วินาที ทั้งนี้ Bourne (2002) อธิบายว่าค่า adhesiveness ที่เป็นค่าลบหมายถึงตัวอย่างนั้นมีคุณสมบัติในการเกาะติดผิวสัมผัสอื่น สำหรับคุณภาพสี Visessanguan *et al.* (2004) พบว่าเนื้อมมีสีคล้ำลง (CIE L* มีค่าลดลง)

ในช่วง 12 ชั่วโมงแรกของการบ่ม จากนั้นจึงมีความสว่างเพิ่มขึ้น (CIE L* มีค่ามากขึ้น) จนถึง 36 ชั่วโมงของการหมักจึงไม่มีการเปลี่ยนแปลง และมีค่าสีแดงเพิ่มมากขึ้น (CIE a* มีค่ามากขึ้น) ในช่วง 12 ชั่วโมงแรก จากนั้นไม่มีการเปลี่ยนแปลงมากนัก ซึ่งสีแดงชมพูของแฮม คือไนโตรซิลไมโอโกลบินที่เกิดจากการที่ไนโตรที่ทำปฏิกิริยากับไมโอโกลบินนั่นเอง

จากการที่นักวิจัยของ “ศูนย์เครือข่ายการวิจัยด้านเทคโนโลยีเนื้อสัตว์” ภายใต้อาณัติของสำนักงานสนับสนุนกองทุนวิจัย (สกว.) และ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) ค้นพบเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์เริ่มต้นที่สามารถสร้างสาร bacteriocins และมีคุณสมบัติเป็น probiotic ได้แก่ *P. pentosaceus* TISTR 536 (Swetwathana, 2005; Swetwathana *et al.*, 2007; Swetwathana *et al.*, 2009), *Lb. salivarius* K7 (Pilasombut, 2006; Pilasombat *et al.*, 2006; Narakaew *et al.*, 2009), *Lb. salivarius* D4 (Pilasombut *et al.*, 2009), *Lactococcus lactis* spp. *lactis* P2 ดังนั้นเพื่อศึกษาความเป็นไปได้และเหมาะสมในการนำเชื้อดังกล่าวมาใช้ในการผลิตแฮมเนื้อโคพื้นเมืองไทย ซึ่งแฮมเป็นผลิตภัณฑ์เนื้อหมักพื้นบ้านที่นิยมมากชนิดหนึ่งของไทย ให้มีคุณสมบัติเป็น functional foods จุดประสงค์ของงานวิจัยส่วนนี้จึงต้องการศึกษาถึงคุณภาพ อายุการเก็บรักษา และการยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อแฮมเนื้อโคที่ผลิตจากเชื้อดังกล่าว เปรียบเทียบกับการหมักโดยใช้เชื้อแบคทีเรียเริ่มต้นของต่างประเทศ และการหมักโดยไม่เติมเชื้อจุลินทรีย์ ทั้งนี้เพื่อเพิ่มศักยภาพในการผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อโคของไทย

วิธีดำเนินการทดลอง

1. กล้าเชื้อจุลินทรีย์แลคติก

Lactococcus lactis spp. *lactis* P2 (อดิศร เสวตวิวัฒน์ และคณะ 2552)

Pediococcus pentosaceus TISTR 536 (Swetwathana, 2005; Swetwathana *et al.*, 2007; Swetwathana *et al.*, 2009)

Lactobacillus salivarius D4 (Pilasombut *et al.*, 2009)

Lactococcus lactis spp. *lactis* Sb2 (อดิศร เสวตวิวัฒน์ และคณะ 2552)

2. กล้าเชื้อจุลินทรีย์จากต่างประเทศ

Pacovis RCI-47 starter culture for raw fermented sausage Lot No. 8.850.04 , Pacovis Deutschland, GmbH

3. วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตแฮม

เนื้อโค	5.0	กิโลกรัม
ข้าวสุก	400	กรัม
กระเทียม	400	กรัม

ผงชูรส	10	กรัม
น้ำตาลทราย	20	กรัม
เกลือฟอสเฟต	20	กรัม
เกลือผสมไนไตรท์ (โซเดียมไนไตรท์ 0.5 เปอร์เซ็นต์)	110	กรัม

4. วัสดุ อุปกรณ์ และเครื่องมือในการผลิตเหนม

- 1) ไม้บรรจูปลาสติคขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร
- 2) เครื่องอัดไส้กรอก TALSA #0542 MODEL H26PA (380/50/3), EU
- 3) เครื่องมัดไส้กรอก (MAX SEALING MACHINE รุ่น HR-PSII, MAX Co., LTD, JAPAN)
- 4) Type KA 50 air-conditioned maturing cabinet (SÜDTRONIC M.Schaaf + Co., Germany)

5. อุปกรณ์และเครื่องมือในการวิเคราะห์เชื้อ

- 1) ตู้เขี่ยเชื้อ (DWYER instruments INC, USA)
- 2) ตู้บ่มเพาะเชื้อ (BD, Scientific promotion CO., LTD.)
- 3) เครื่องเขย่า (Shaking Incubator: VS-8408 SFN, Korea)
- 4) เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge CR 3i, France)
- 5) เครื่องวัดค่า pH (EUTECH PC 510)
- 6) เครื่องฆ่าไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Fx-2000i, Japan)
- 7) เครื่องผสมสารละลายในหลอดทดลอง (KMC-1300V, Korea)
- 8) ไมโครเวฟ (TRX-249M, Korea)
- 9) หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (High-Pressure Steam Sterilizer ES-315, Japan)
- 10) ไมโครปิเปต (Biopipette autoclavable, Labnet)
- 11) ตู้แช่แข็ง -20 องศาเซลเซียส (Angle Technology CO., Ltd., Thailand)
- 12) ตู้อบเครื่องแก้ว (Hot air oven: Memmert, Belgium)
- 13) อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Mettler, Germany)
- 14) เครื่องตีบดตัวอย่าง (Stomacher Bag Mixer 400 interscience, France)

6. เครื่องมือในการตรวจสอบคุณภาพ

- 1) เครื่องวัดสี Minolta Chromameter CR-300, Japan
- 2) เครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (TA-XT2i texture analyzer, Stable Micro System, UK)
- 3) เครื่องวัด Water activity Novasina (NAVASINA EEJA-3, Switzerland)

7. ขั้นตอนการทำผลิตภัณฑ์หมัก (ดัดแปลงจาก Swetwathana et al. 2007)

ทำการผลิตหมักเนื้อทั้งหมด 5 สูตร ได้แก่

สูตร Control (ไม่เติมกล้าเชื้อจุลินทรีย์)

สูตร Commercial ใช้กล้าเชื้อ Pacovis จากเยอรมัน

สูตร P 2 ใช้กล้าเชื้อ *Lb. lactis* spp. *Lactis* P 2

สูตร P 536 ใช้กล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536

สูตร D 4 ใช้กล้าเชื้อ *Lb. salivarius* D 4

และสูตร Sb 2 ใช้กล้าเชื้อ *Lactococcus lactis* spp. *lactis* Sb 2

มีขั้นตอนการทำได้ดังนี้

1. ผสมส่วนผสมหมักทั้งหมดตามสูตรข้างต้นเข้าด้วยกัน นวดด้วยมือเป็นเวลาประมาณ 10 นาทีจนส่วนผสมเหนียว

2. สำหรับสูตรควบคุม (Control) นำส่วนผสมหมักเนื้อที่ได้เข้าเครื่องอัด อัดลงในไส้บรรจุพลาสติกในปริมาณ 100 กรัม ต่อแท่ง มัดปลายของไส้บรรจุทั้งสองด้านให้แน่นด้วยเครื่องมือมัดไส้กรอก

3. สำหรับสูตรที่ผสมกล้าเชื้อจุลินทรีย์ เมื่อส่วนผสมหมักเนื้อเสร็จในขั้นตอนที่ 1 จึงใส่กล้าเชื้อจุลินทรีย์ที่เตรียมไว้ในปริมาณ 10^6 cfu/ g ของหมัก นวดให้เข้ากันให้กระจายตัวทั่วถึงสม่ำเสมอประมาณ 3 นาที ก่อนนำส่วนผสมหมักเนื้อที่ได้เข้าเครื่องอัด อัดลงในไส้บรรจุพลาสติกในปริมาณ 100 กรัม ต่อแท่ง มัดปลายของไส้บรรจุทั้งสองด้านให้แน่นด้วยเครื่องมือมัดไส้กรอก

4. นำตัวอย่างหมักทั้ง 5 สูตรเข้าบ่มในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 ± 1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65 ± 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นนำหมักไปเก็บรักษาที่ 4 ± 3 องศาเซลเซียส อีก 4 วัน รวมเป็นเวลา 7 วันหลังการผลิต

8. การวิเคราะห์คุณสมบัติต่างๆ ของตัวอย่างหมัก

1) ในวันที่ผลิต (day 0) ก่อนบรรจุหมักแต่ละกลุ่มทดลองลงในไส้ สุ่มตัวอย่างหมักที่ผสมเสร็จและเติมกล้าเชื้อแล้วแต่ละสูตรจำนวน 25 กรัม สำหรับตรวจวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ Lactic acid bacteria, *Escherichia coli* (*E. coli*), Coliforms, Yeast and mold, *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), และ *Salmonella* spp. (Swetwathana et al., 1999) และในวันที่ 1, 2, และ 3 ของการหมัก สุ่มตัวอย่างหมักที่บ่มในตู้บ่มจำนวน 1 แท่ง เพื่อตรวจสอบ Lactic acid bacteria สำหรับจุลินทรีย์อื่นๆ ดังกล่าวข้างต้น ทำการตรวจสอบอีกครั้งหลังสิ้นสุดการหมักในวันที่ 3 (day 3)

2) ในวันที่ผลิต (day 0) หลังจากสุ่มตัวอย่างของหมักที่ผสมเสร็จแล้วแต่ละสูตรเพื่อตรวจเชื้อจุลินทรีย์ ทำการสุ่มตัวอย่างหมักปริมาณ 25 กรัม เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณกรดแลกติก (ดัดแปลงจาก AOAC, 1984 โดย นภา โล่ทอง, 2529) วัดค่าความเป็นกรดต่าง (pH) โดยดัดแปลงวิธีจาก AOAC (1984) โดย นภา โล่ทอง (2529) และวัดค่า water activity (A_w) โดยสุ่มตัวอย่างหมัก 5 กรัม บดให้

ละเอียด และวัดด้วยเครื่อง (ตามคู่มือการใช้งานของเครื่อง NAVASINA EEJA-3) และในทุกวันหลังการผลิตเป็นเวลา 7 วัน (วันที่ 1, 2 และ 3 ของการหมักที่ 30 ± 3 องศาเซลเซียส และวันที่ 1-4 ของการเก็บรักษาที่ 4 ± 3 องศาเซลเซียส) ทำการสุ่มตัวอย่างແ່ນมจำนวน 1 แ่ง เพื่อ ตรวจสอบค่า pH และวัดค่า Aw สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณกรดแลกติกทำในวันที่ 0-3 ของการหมัก และวันที่ 4 ของการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส

3) ในวันที่ 3 ของการหมัก และภายหลังจากเก็บรักษาในตู้เย็นเป็นเวลา 4 วัน สุ่มตัวอย่างແ່ນมจำนวน 3 แ่งจากแต่ละสูตร ทำการวัดค่าสี (CIE L^* , a^* และ b^* , Illuminant D65, 2° viewing angle) ที่ภายนอกตัวอย่างແ່ນม โดยใช้เครื่องวัดสี Minolta Chromameter CR-300 วัดผ่านถุง 3 ตำแหน่งต่อแ่ง นำค่าที่วัดได้จาก 3 แ่งมาหาค่าเฉลี่ยสำหรับค่าสีเป็น 1 ซ้ำของการทดลอง จากนั้น ตัดແ່ນมที่กึ่งกลางตามความยาวของแ่งແ່ນม วัดค่าสีที่ภายในแ่งແ่ง 2 ตำแหน่งต่อแ่ง ทำการวัดทั้งหมด 3 แ่ง นำค่าสีภายในที่ได้มาหาค่าเฉลี่ยสำหรับค่าสีเป็น 1 ซ้ำ

4) ในวันที่ผลิต (day 0) ระหว่างการหมัก (day 1, 2 และ 3) และ 4 วันหลังเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส (หรือ 7 วันหลังการผลิต) สุ่มตัวอย่างແ่งจำนวน 6 แ่งจากแต่ละสูตร ลอกถุงบรรจุพลาสติกออก ตัดตัวอย่างແ่งซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 เซนติเมตร ให้มีขนาดยาว 2.54 เซนติเมตร ตามความยาวของแ่งແ่ง วัดค่า Texture profile analysis (TPA) โดยใช้เครื่อง TA-XT2i Texture analyzer (Stable Micro System, UK) ที่ประกอบด้วยหัววัดอูมิเนียมรูปทรงกระบอก ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 50 มิลลิเมตร ทำการวัดด้วยแรงกด 2 รอบ และความเร็วของ Crosshead ที่ 5.0 มิลลิเมตร/วินาที ทั้งนี้ตั้งค่าการวัดของเครื่องตามวิธีของ Vissessanguan *et al.* (2004) และ Vissessanguan *et al.* (2005) จากนั้นคำนวณค่า Hardness ตามคำอธิบายโดย Bourne (1976) และ Bourne (2002) โดยใช้ Texture Expert version 1.0 Software

5) ภายหลังเก็บรักษาແ่งที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน (หรือ 7 วันหลังการผลิต) ศึกษาความชอบของผู้บริโภคที่มีต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสของແ่งทั้ง 6 สูตร ได้แก่ แ่งที่ผลิตโดยไม่เติมกล้าเชื้อ แ่งที่เติมกล้าเชื้อทางการค้า แ่งที่เติมกล้าเชื้อ *Lc. lactis* spp. *lactis* P2 กล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 กล้าเชื้อ *Lb. salivarius* D และແ่งที่เติมกล้าเชื้อ *Lc. lactis* spp. *lactis* Sb2 โดยใช้ผู้ทดสอบชิมที่ไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 30 คน ประเมินผลในด้าน สี กลิ่นແ่ง ความแน่นเนื้อ ความเปรี้ยว รสชาติແ่ง และลักษณะโดยรวม ซึ่งแบ่งคะแนนเป็น 7 ระดับ (7-point hedonic scale) คือ 7 = ชอบมากที่สุด และ 1 = ไม่ชอบมากที่สุด

9. การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การศึกษาด้านคุณภาพวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design สำหรับการศึกษความชอบของผู้บริโภควางแผนแบบ Randomized Complete Block Design วิเคราะห์ความ

แตกต่างโดย Analysis of Variances และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดย Duncan's Multiple Rank Test โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

ผลการตรวจสอบคุณสมบัติทางเคมี

จากการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของแหนมเนื้อโคพื้นเมืองของไทย (สูตรไม่เติมหนังและพริกชี้หนู) ที่ผลิตโดยใช้กล้าเชื้อแลคติกบิริสซูทรีเริ่มต้นที่สามารถสร้างสาร bacteriocin และมีคุณสมบัติเป็น probiotic ซึ่งค้นพบโดยนักวิจัยของศูนย์เครือข่ายการวิจัยด้านเทคโนโลยีเนื้อสัตว์ สจล. ได้แก่ *P. pentosaceus* TISTR 536 (Swetwathana, 2005; Swetwathana *et al.*, 2007; Swetwathana *et al.*, 2009), *Lb. salivarius* K7 (Pilasombut, 2006; Pilasombat *et al.*, 2006; Narakaew *et al.*, 2009), *Lb. salivarius* D 4 (Pilasombut *et al.*, 2009), *Lc. lactis spp. lactis* P 2 และ *Lc. lactis spp. lactis* Sb 2 (อดิศร เสวตวิวัฒน์ และคณะ 2552) เปรียบเทียบกับการหมักโดยใช้กล้าเชื้อเริ่มต้นของต่างประเทศ และการหมักตามธรรมชาติโดยไม่เติมกล้าเชื้อจุลินทรีย์ พบว่าตลอดระยะเวลา 3 วัน ระหว่างการหมักที่ 30 องศาเซลเซียส และเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียสอีก 4 วัน แหนมจากทุกกลุ่มทดลองมีค่า Aw ประมาณ 0.97 ซึ่งจัดว่ามีความชื้นสูง เนื่องจากแหนมถูกผลิตขึ้นโดยบรรจุในไส้บรรจุพลาสติก ทั้งนี้ไม่ได้แสดงข้อมูลไว้ในรายงาน เนื่องจากค่าที่วัดได้ไม่เปลี่ยนแปลง

สำหรับค่า pH พบว่าในวันแรกของการหมัก ค่า pH ของแหนมจากทุกกลุ่มทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$, ตารางที่ 2.3.1) โดยมีค่าระหว่าง 6.22 – 6.28 และมีค่าลดลงเมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มมากขึ้น เมื่อหมักแหนมเนื้อโคเป็นเวลา 1 วัน พบว่าแหนมที่ใช้กล้าเชื้อทางการค้า (Commercial) มีค่า pH เท่ากับ 5.21 ซึ่งมีค่าต่ำกว่าแหนมที่ไม่เติมกล้าเชื้อ (Control) แหนมที่เติมกล้าเชื้อ P536 และกล้าเชื้อ D4 อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) แต่ไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ใช้กล้าเชื้อ P2 และ Sb2 ($P>0.05$) ในวันที่ 2 และ 3 ของการหมัก พบว่าแหนมเนื้อโคที่เติมกล้าเชื้อ P536 มีค่า pH สูงกว่ากลุ่มทดลองอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) โดยพบว่าภายหลังการหมักที่ 30 องศาเซลเซียส แหนมที่เติมกล้าเชื้อ P536 มีค่า pH เท่ากับ 5.18 ในขณะที่กลุ่มทดลองอื่นๆ มีค่าระหว่าง 4.91-4.98 จากการตรวจวัดค่า pH พบว่า แหนมเนื้อโคจากการวิจัยครั้งนี้ (ไม่เติมเอ็นและพริกชี้หนู) ที่ผ่านการหมักที่ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน ยังคงมีค่า pH สูงกว่า 4.6 ซึ่งเป็นระดับค่า pH ที่ปลอดภัยสำหรับการบริโภค ตามข้อกำหนดของมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมสำหรับแหนม (มอก. 1219 – 2547) และมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนสำหรับแหนมเนื้อ (มพช. 470/ 2548) โดยสำนักงานมาตรฐาน

ผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (2547) และ (2548) ตามลำดับ นอกจากนี้ Vissesanguan *et al.* (2005) อ้างจาก Phithakpol *et al.* (1995) กล่าวว่าโดยทั่วไปการหมักแหมนที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จะใช้เวลาประมาณ 3-5 วัน มีผลให้ได้ค่า pH ประมาณ 4.4-4.8 ซึ่งแหมนเนื้อโคจากการศึกษาครั้งนี้มีแนวโน้มให้ค่า pH สูงกว่าที่ระบุเล็กน้อย อาจเป็นเพราะการใช้เนื้อโคซึ่งมักจะมีค่า pH สูงกว่าเนื้อสุกรเป็นวัตถุดิบในการผลิต ดังนั้นในการผลิตแหมนจากเนื้อโค อาจจะต้องใช้เวลาในการหมักให้ยาวนานขึ้น หรืออาจจะต้องใช้หลักการ acidification เช่นการเติม glucono-delta-lactone เพื่อให้เกิดการสร้างกรดมากขึ้น

ตารางที่ 2.3.2 แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดแลกติกของแหมนเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักโดยไม่เติมกล้ำเชื้อและโดยใช้กล้ำเชื้อ พบว่าผลการทดลองเป็นไปในทำนองเดียวกันกับการเปลี่ยนแปลงของค่า pH คือในวันเริ่มต้นการผลิต แหมนเนื้อโคจากแต่ละกลุ่มทดลองมีปริมาณกรดแลกติกไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) โดยมีค่าระหว่าง 0.66-0.74 เปอร์เซ็นต์ เมื่อหมักได้ 1 วัน พบว่าทุกกลุ่มทดลองมีปริมาณกรดแลกติกมากขึ้น (0.90-1.10 เปอร์เซ็นต์) โดยแหมนที่เติมกล้ำเชื้อทางการค้าและกลุ่มที่เติมกล้ำเชื้อ Sb2 มีปริมาณกรดแลกติกสูงกว่าแหมนที่เติมกล้ำเชื้อ P2 และ D4 อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) จากกลุ่มที่ไม่เติมกล้ำเชื้อ และกลุ่มที่เติมกล้ำเชื้อ P536 ซึ่งสอดคล้องกับผลการตรวจวัดค่า pH ของแหมนในวันที่ 1 ของการหมัก ที่พบว่าแหมนที่เติมกล้ำเชื้อทางการค้ามีแนวโน้มให้ค่า pH ต่ำที่สุด ทั้งนี้ Vissesanguan *et al.* (2004) ศึกษาการหมักแหมนจากเนื้อสุกร ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสโดยไม่เติมกล้ำเชื้อ และรายงานว่าการเพิ่มความเข้มข้นกรดมีมากในช่วง 24 ชั่วโมงแรกของการบ่ม โดยพบว่ากรดที่เป็นผลผลิตหลักคือกรดแลกติก ลำดับรองลงมาคือ กรดอะซิติก และออกซาลิก

เมื่อหมักแหมนผ่านไป 2 และ 3 วัน ปรากฏว่าแต่ละกลุ่มทดลองมีปริมาณกรดแลกติกไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) อย่างไรก็ตาม พบว่าแหมนที่เติมกล้ำเชื้อ P536 มีปริมาณกรดแลกติกค่อนข้างต่ำ ($P>0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับผลการวัดค่า pH ของแหมนกลุ่มนี้ที่มีค่าสูงกว่ากลุ่มทดลองอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ภายหลังจากการหมัก เมื่อนำแหมนเข้าเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น (4 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 4 วัน หรือ 7 วันหลังจากการผลิต พบว่าในวันแรกของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น แหมนยังคงมีปริมาณกรดแลกติกเพิ่มขึ้น คืออยู่ในช่วง 1.22-1.51 เปอร์เซ็นต์ โดยแหมนที่เติมกล้ำเชื้อ P536 มีปริมาณกรดแลกติกต่ำที่สุด ($P<0.05$) สอดคล้องกับค่า pH เท่ากับ 5.04 ซึ่งสูงกว่ากลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ภายหลังจากเก็บรักษาแหมนที่อุณหภูมิแช่เย็น (4 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 4 วัน พบว่าปริมาณกรดแลกติกของทุกกลุ่มทดลองลดลงเล็กน้อย (1.08-1.19 เปอร์เซ็นต์) และไม่มี ความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ขณะที่ค่า pH ของแหมนกลุ่มที่เติมกล้ำเชื้อ P536 ยังคงมีค่าสูงที่สุด คือ 5.11 แต่ไม่แตกต่าง ($P>0.05$) จากกลุ่มที่ไม่ใช้กล้ำเชื้อ (pH = 4.98) และกลุ่มที่ใช้กล้ำเชื้อ Sb2 (pH = 4.96) ซึ่งพบว่าแหมนทั้งสองกลุ่มหลังนี้มีค่า pH ไม่แตกต่าง ($P>0.05$) จากแหมนที่ใช้กล้ำเชื้อทางการค้า กล้ำเชื้อ P2 และกล้ำเชื้อ D4 ที่มีค่า pH เท่ากับ = 4.88 4.90 และ 4.92 ตามลำดับ

ตารางที่ 2.3.1 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ของແໜມເນື້ອໂຕທີ່ผลิตด้วยการหมักโดยไม่เติมกล้ำเชื้อ กับແໜມທີ່ผลิตโดยเติมกล้ำเชื้อทางการค้า และແໜມที่ผลิตโดยใช้กล้ำเชื้อที่มีคุณสมบัติเป็น probiotic ในระหว่างการหมักเป็นเวลา 3 วัน ที่ 30 องศาเซลเซียส และระหว่างเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 วัน (7 วันหลังการผลิต)

Treatment	Fermentation time (day)				Refrigerated storage time (day)			
	0	1	2	3	1	2	3	4
Control	6.28±0.06a	5.38±0.26a	5.04±0.04b	4.95±0.09b	4.89±0.05b	4.89±0.09b	4.89±0.04b	4.98±0.05ab
Commercial	6.23±0.08a	5.21±0.07b	5.02±0.05b	4.98±0.06b	4.85±0.103b	4.82±0.103b	4.76±0.103c	4.88±0.18b
P2	6.28±0.06a	5.32± 0.28ab	5.02± 0.03b	4.92± 0.05b	4.87± 0.01b	4.86± 0.01b	4.84± 0.02bc	4.90± 0.04b
P536	6.28±0.08a	5.45±0.31a	5.19±0.20a	5.18±0.19a	5.04±0.17a	5.03±0.14a	5.04±0.14a	5.11±0.16a
D4	6.27±0.07a	5.43±0.31a	4.99±0.03b	4.91±0.04b	4.88±0.05b	4.85±0.01b	4.83±0.05bc	4.92±0.103b
Sb2	6.25±0.04a	5.35±0.25ab	5.00±0.103b	4.93±0.08b	4.89±0.07b	4.88±0.06b	4.82±0.04bc	4.96±0.14ab

Control = แໜມເນື້ອໂຕທີ່ผลิตด้วยการหมักแบบธรรมชาติโดยไม่เติมกล้ำเชื้อ

Commercial = แໜມເນື້ອໂຕທີ່ผลิตด้วยการหมักโดยใช้กล้ำเชื้อทางการค้า Pacovis จากเยอรมันนี

P2 = แໜມເນື້ອໂຕที่ผลิตด้วยการหมักโดยเติมกล้ำเชื้อ *Lactococcus lactis* spp. *lactis* P2 เริ่มต้น ประมาณ 10^6 cfu/g

P536 = แໜມເນື້ອໂຕที่ผลิตด้วยการหมักโดยเติมกล้ำเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 เริ่มต้น ประมาณ 10^6 cfu/g

D4 = แໜມເນື້ອໂຕที่ผลิตด้วยการหมักโดยเติมกล้ำเชื้อ *Lactobacillus salivarius* D4 เริ่มต้น ประมาณ 10^6 cfu/g

Sb2 = แໜມເນື້ອໂຕที่ผลิตด้วยการหมักโดยเติมกล้ำเชื้อ *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* Sb2 เริ่มต้น ประมาณ 10^6 cfu/g

abc ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่มีอักษรต่างกั้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ตารางที่ 2.3.2 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดแลคติกของแฮมเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักโดยไม่เติมกล้ำเชื้อ กับแฮมที่ผลิตโดยเติมกล้ำเชื้อทางการค้า และแฮมที่ผลิตโดยใช้กล้ำเชื้อที่มีคุณสมบัติเป็น probiotic ในระหว่างการหมักเป็นเวลา 3 วัน ที่ 30 องศาเซลเซียส และระหว่างเก็บรักษา ที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน (7 วันหลังการผลิต)

Treatment	Fermentation time (day)				Refrigerated storage time (day)			
	0	1	2	3	1	2	3	4
Control	0.69±0.24	1.04±0.07ab	1.25±0.07	1.07±0.08	1.39±0.09bc	1.32±0.20b	1.25±0.07bc	1.14±0.21
Commercial	0.74±0.36	1.10±0.04a	1.20±0.06	1.07±0.04	1.36±0.08c	1.37±0.25b	1.34±0.15ab	1.08±0.07
P2	0.66±0.30	0.90± 0.11c	1.19± 0.04	1.12± 0.08	1.47± 0.16ab	1.49± 0.13a	1.34± 0.09ab	1.19± 0.103
P536	0.71±0.27	0.98±0.07abc	1.16±0.16	0.96±0.06	1.22±0.17d	1.27±0.22b	1.19±0.06c	1.14±0.21
D4	0.71±0.32	0.95±0.0bc	1.19±0.07	1.12±0.14	1.51±0.12a	1.37±0.09b	1.38±0.03a	1.11±0.08
Sb2	0.69±0.28	1.01±0.103a	1.16±0.09	1.07±0.09	1.37±0.15c	1.27±0.13b	1.30±0.103abc	1.14±0.16

Control = แฮมเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักแบบธรรมชาติโดยไม่เติมกล้ำเชื้อ

Commercial = แฮมเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักโดยใช้กล้ำเชื้อทางการค้า Pacovis จากเยอรมันนี

P2 = แฮมเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักโดยเติมกล้ำเชื้อ *Lactococcus lactis* spp. *lactis* P2 เริ่มต้น ประมาณ 10^6 cfu/g

P536 = แฮมเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักโดยเติมกล้ำเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 เริ่มต้น ประมาณ 10^6 cfu/g

D4 = แฮมเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักโดยเติมกล้ำเชื้อ *Lactobacillus salivarius* D4 เริ่มต้น ประมาณ 10^6 cfu/g

Sb2 = แฮมเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักโดยเติมกล้ำเชื้อ *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* Sb2 เริ่มต้น ประมาณ 10^6 cfu/g

abcd ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่มีอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ผลการตรวจสอบคุณสมบัติทางจุลินทรีย์

ตารางที่ 2.3.3 แสดงให้เห็นการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกในผลิตภัณฑ์เนื้อมะเขือเทศที่ผลิตด้วยการหมักแบบธรรมชาติโดยไม่เติมกลูต้าเชื้อ กับเนื้อมะเขือเทศที่ผลิตด้วยการหมักโดยใช้กลูต้าเชื้อทางการค้า และเนื้อมะเขือเทศที่ผลิตโดยใช้กลูต้าเชื้อที่มีคุณสมบัติเป็น probiotic ในระหว่าง 3 วันของการหมักที่ 30 องศาเซลเซียส พบว่าเมื่อเริ่มทำการผลิต เนื้อมะเขือเทศกลุ่มควบคุมมีปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกต่ำที่สุด ($5.3 \log \text{ cfu/g}$) แต่ไม่แตกต่าง ($P>0.05$) จากเนื้อมะเขือเทศที่เติมกลูต้าเชื้อ P536 และ D4 ($5.7 \log \text{ cfu/g}$) ในขณะที่เนื้อมะเขือเทศทั้งสองกลุ่มนี้มีปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ใช้กลูต้าเชื้อทางการค้า ($P>0.05$) ที่มีปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติก $6.0 \log \text{ cfu/g}$ ซึ่งมีปริมาณไม่แตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) จากกลุ่ม Sb 2 ($6.3 \log \text{ cfu/g}$) และพบว่ากลุ่มที่ใช้กลูต้าเชื้อ P2 มีจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกมากที่สุด ($P<0.05$) คือ $6.9 \log \text{ cfu/g}$ ปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกในกลุ่มควบคุมที่มีค่าต่ำที่สุดในวันเริ่มผลิต เนื่องจากไม่มีการเติมกลูต้าเชื้อ แต่ปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกที่แตกต่างกันในกลุ่มที่เติมกลูต้าเชื้อ อาจเนื่องมาจากการทิ้งช่วงเวลาหลังจากสุ่มตัวอย่าง จนเริ่มทำการตรวจวิเคราะห์ที่แตกต่างกัน

ตารางที่ 2.3.3 ปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติก ($\log \text{ cfu/g}$) ในเนื้อมะเขือเทศ (ไม่เติมเอ็นและพริก) ที่ผลิตด้วยการหมักโดยไม่ใช้กลูต้าเชื้อ กับเนื้อมะเขือเทศที่ผลิตโดยใช้กลูต้าเชื้อทางการค้า และเนื้อมะเขือเทศที่ใช้กลูต้าเชื้อที่มีคุณสมบัติเป็น probiotic ในระหว่าง 3 วันของการหมักที่ 30 องศาเซลเซียส

Treatment	ปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติก ($\log \text{ cfu/g}$)			
	day 0	day 1	day 2	day 3
Control	5.3 ± 0.4 d	7.6 ± 0.2 b	8.1 ± 0.1 bc	8.2 ± 0.1
Commercial	6.0 ± 0.1 bc	8.3 ± 0.4 a	8.6 ± 0.1 a	8.3 ± 0.0
P2	6.9 ± 0.0 a	8.0 ± 0.4 ab	8.4 ± 0.1 ab	7.8 ± 0.6
P536	5.7 ± 0.1 cd	8.3 ± 0.1 a	8.5 ± 0.1 a	8.3 ± 0.2
D4	5.7 ± 0.5 cd	7.9 ± 0.3 ab	8.4 ± 0.5 ab	8.8 ± 0.9
Sb2	6.3 ± 0.5 b	8.0 ± 0.3 ab	8.0 ± 0.1 c	8.3 ± 0.5

Control = เนื้อมะเขือเทศที่ผลิตด้วยการหมักแบบธรรมชาติโดยไม่เติมกลูต้าเชื้อ

Commercial = เนื้อมะเขือเทศที่ผลิตด้วยการหมักโดยใช้กลูต้าเชื้อทางการค้า Pacovis จากเยอรมันนี

P2 = เนื้อมะเขือเทศที่ผลิตด้วยการหมักโดยเติมกลูต้าเชื้อ *Lactococcus lactis* spp. *lactis* P2 เริ่มต้น ประมาณ 10^6 cfu/g

P536 = เนื้อมะเขือเทศที่ผลิตด้วยการหมักโดยเติมกลูต้าเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 เริ่มต้น ประมาณ 10^6 cfu/g

D4 = เนื้อมะเขือเทศที่ผลิตด้วยการหมักโดยเติมกลูต้าเชื้อ *Lactobacillus salivarius* D4 เริ่มต้น ประมาณ 10^6 cfu/g

Sb2 = เนื้อมะเขือเทศที่ผลิตด้วยการหมักโดยเติมกลูต้าเชื้อ *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* Sb2 เริ่มต้น ประมาณ 10^6 cfu/g

a-d หมายถึงค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่มีอักษรต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 1 วัน ปริมาณจุลินทรีย์กรดแลคติกเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว (7.6-8.3 log cfu/g) โดยเฉพาะกลุ่มทดลองที่ใช้กล้าเชื้อทางการค้า และ กล้าเชื้อ P536 พบว่ามีจุลินทรีย์กรดแลคติกจำนวนมากกว่าหมักที่หมักตามธรรมชาติอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) แต่ไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ ($P > 0.05$) เมื่อผ่านการหมักไป 2 วัน พบว่ากลุ่มที่ใช้กล้าเชื้อ Sb 2 มีปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกต่ำที่สุด (8.0 log cfu/g) แต่ไม่แตกต่าง ($P > 0.05$) ไปจากกลุ่มควบคุม (8.1 log cfu/g) ขณะที่ปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกของกลุ่มอื่นๆ ที่เติมกล้าเชื้อไม่มีความแตกต่างกัน ($P > 0.05$) อย่างไรก็ตาม เมื่อหมักหมกเป็นเวลา 3 วัน พบว่า ทุกกลุ่มทดลองมีจำนวนจุลินทรีย์กรดแลคติกไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$)

ผลการตรวจสอบครั้งนี้ไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ *E. coli* (Est. < 1.0 CFU/g) ในหมกเนื้อโคที่ไม่เค็มเย็นและพริกทั้งในวันเริ่มต้นการผลิตและ 3 วันหลังการบ่ม (ตารางที่ 2.3.4) สำหรับเชื้อจุลินทรีย์ *coliforms* พบว่าหมกที่ใช้กล้าเชื้อจุลินทรีย์กรดแลคติกมีจำนวน *coliforms* ไม่แตกต่างกันกับหมกที่หมักตามธรรมชาติ ($P > 0.05$) อย่างไรก็ตามพบว่าโดยรวมหมกที่ผ่านการหมักเป็นเวลา 3 วันมีจำนวน *coliforms* ลดลงจากวันเริ่มการผลิต

สำหรับผลการตรวจสอบ Yeast and mold (ตารางที่ 2.3.4) พบว่าในวันเริ่มต้นการผลิต หมกจากทุกกลุ่มทดลองมีจำนวน Yeast and mold ประมาณ 5.5-6.4 log cfu/g โดยหมกที่ใช้กล้า D4 มีปริมาณ Yeast and mold จำนวนต่ำที่สุด ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มทดลองอื่นๆ อย่างไรก็ตามเมื่อหมักหมกเป็นเวลา 3 วัน พบว่าจำนวน Yeast and mold ลดลง โดยมีปริมาณระหว่าง 2.8-3.9 log cfu/g ซึ่งมีค่ามากกว่าปริมาณที่กำหนดใน มพช. 470/ 2548 โดยสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (2548) คือต้องน้อยกว่า 100 โคโลนี ต่อตัวอย่าง 1 กรัม หรือ 2 log cfu/g ทั้งนี้หมกที่ใช้กล้าเชื้อ Sb2 มีจำนวน Yeast and mold น้อยกว่าหมกกลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) แต่ไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ใช้กล้าเชื้อ P536 ($P > 0.05$) ในขณะที่พบว่าหมกที่ใช้กล้าเชื้อ P2 มีจำนวน Yeast and mold มากกว่ากลุ่มที่ใช้กล้าเชื้อ P536 อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ผลการวิจัยครั้งนี้แสดงให้เห็นว่ากล้าเชื้อ Sb2 มีความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์กลุ่ม Yeast and mold ได้ค่อนข้างดีกว่าการหมักตามธรรมชาติหรือโดยการใส่กล้าเชื้ออื่นๆ ที่ศึกษาครั้งนี้ ทั้งนี้ Dalie *et al.* (2010) ระบุว่ากล้าเชื้อจุลินทรีย์กรดแลคติกมีคุณสมบัติในการควบคุมการเจริญของเชื้อราและสามารถควบคุม mycotoxin ชนิดต่างๆ จึงจัดเป็นสารควบคุมทางชีวภาพที่ดีเพื่อเพิ่มความปลอดภัยให้อาหาร

สำหรับผลการตรวจสอบเชื้อจุลินทรีย์ *S. aureus*, และ *Salmonella* แสดงอยู่ในตารางที่ 2.3.5 พบว่าในหมกจากทุกกลุ่มทดลอง ตรวจสอบไม่พบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 2 ประเภท ทั้งนี้ มพช. 470/ 2548 โดยสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (2548) ระบุว่า ต้องตรวจไม่พบเชื้อ *Salmonella* ในตัวอย่างหมกเนื้อโค 25 กรัม และสำหรับ *S. aureus* ต้องไม่เกิน 100 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม หรือไม่เกิน 2 log cfu/g

ตารางที่ 2.3.4 ปริมาณ *E. coli coliforms* และ Yeast and mold (log cfu/g) ในแฮมเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักโดยไม่เติมกล้าเชื้อ กับแฮมที่ผลิตโดยใช้กล้าเชื้อทางการค้า และแฮมที่ผลิตโดยใช้กล้าเชื้อที่มีคุณสมบัติเป็น probiotic ที่ตรวจพบในวันเริ่มต้นการผลิตและ 3 วันภายหลังการหมักที่ 30 องศาเซลเซียส

Microbiological Analysis	Treatment	Fermentation time	
		day 0	day 3
<i>E.coli</i> (log cfu/g)*	control	Est. < 1	Est. < 1
	Commercial	Est. < 1	Est. < 1
	P2	Est. < 1	Est. < 1
	P536	Est. < 1	Est. < 1
	D4	Est. < 1	Est. < 1
	Sb2	Est. < 1	Est. < 1
<i>Coliforms</i> (log cfu/g)	control	4.3 ± 0.4	4.2 ± 0.4
	Commercial	4.5 ± 0.4	3.8 ± 0.3
	P2	4.2 ± 0.7	4.2 ± 0.7
	P536	4.1 ± 0.7	3.8 ± 0.9
	D4	4.2 ± 0.4	4.1 ± 0.5
	Sb2	4.2 ± 0.6	3.5 ± 0.1
Yeast and Mold (log cfu/g)	control	6.2 ± 0.2 a	3.5 ± 0.4 ab
	Commercial	6.0 ± 0.1 a	3.4 ± 0.4 ab
	P2	6.4 ± 0.4 a	3.9 ± 0.4 a
	P536	6.0 ± 0.1a	3.2 ± 0.2 bc
	D4	5.5 ± 0.6 b	3.6 ± 0.3 ab
	Sb2	6.0 ± 0.3 a	2.8 ± 0.2 c

Control = แฮมเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักแบบธรรมชาติโดยไม่เติมกล้าเชื้อ

Commercial = แฮมเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักโดยใช้กล้าเชื้อทางการค้า Pacovis จากเยอรมันนี

P2 = แฮมเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักโดยเติมกล้าเชื้อ *Lactococcus lactis* spp. *lactis* P2 เริ่มต้น ประมาณ 10^6 cfu/g

P536 = แฮมเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักโดยเติมกล้าเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 เริ่มต้น ประมาณ 10^6 cfu/g

D4 = แฮมเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักโดยเติมกล้าเชื้อ *Lactobacillus salivarius* D4 เริ่มต้น ประมาณ 10^6 cfu/g

Sb2 = แฮมเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักโดยเติมกล้าเชื้อ *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* Sb2 เริ่มต้น ประมาณ 10^6 cfu/g

* ไม่มีการวิเคราะห์ผลทางสถิติ

Est. < 1 คือตรวจสอบไม่พบการเจริญของโคโลนี

abc ค่าเฉลี่ยของจุลินทรีย์แต่ละชนิดในคอลัมน์เดียวกันที่มีอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

ตารางที่ 2.3.5 ผลการตรวจสอบเชื้อจุลินทรีย์ *S. aureus* (log cfu/g) และ *Salmonella* ในแฮมเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักโดยไม่เติมกล้าเชื้อ กับแฮมที่ผลิตด้วยการหมักโดยใช้กล้าเชื้อทางการค้า และแฮมที่ผลิตโดยใช้กล้าเชื้อที่มีคุณสมบัติเป็น probiotic ที่ตรวจพบในวันแรกของการหมัก และ 3 วันภายหลังการหมักที่ 30 องศาเซลเซียส

Microbiological Analysis	Treatment	Fermentation time	
		day 0	day 3
<i>S. aureus</i> * (log cfu/g)	Control	Est. < 1	Est. < 1
	Commercial	Est. < 1	Est. < 1
	P2	Est. < 1	Est. < 1
	P536	Est. < 1	Est. < 1
	D4	Est. < 1	Est. < 1
	Sb2	Est. < 1	Est. < 1
<i>Salmonella</i> *	Control	negative	negative
	Commercial	negative	negative
	P2	negative	negative
	P536	negative	negative
	D4	negative	negative
	Sb2	negative	negative

Control = แฮมเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักแบบธรรมชาติโดยไม่เติมกล้าเชื้อ

Commercial = แฮมเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักโดยใช้กล้าเชื้อทางการค้า Pacovis จากเยอรมันนี

P2 = แฮมเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักโดยเติมกล้าเชื้อ *Lactococcus lactis* spp. *lactis* P2 เริ่มต้น ประมาณ 10^6 cfu/g

P536 = แฮมเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักโดยเติมกล้าเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 เริ่มต้น ประมาณ 10^6 cfu/g

D4 = แฮมเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักโดยเติมกล้าเชื้อ *Lactobacillus salivarius* D4 เริ่มต้น ประมาณ 10^6 cfu/g

Sb2 = แฮมเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักโดยเติมกล้าเชื้อ *Lactococcus lactis* spp. *lactis* Sb2 เริ่มต้น ประมาณ 10^6 cfu/g

* ไม่มีการวิเคราะห์ผลทางสถิติ

Est. < 1 คือตรวจสอบไม่พบการเจริญของโคโลนี

ผลการตรวจสอบคุณสมบัติทางกายภาพ

คุณภาพสีหลังการหมัก

โดยทั่วไปสีแดงอมชมพูของແໜມเกิดจากการเติมสารไนไตรต์ซึ่งเป็นส่วนผสมหนึ่งที่ใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อ ไนไตรต์ทำปฏิกิริยากับไมโอโกลบิน เกิดเป็นไนโตรซิลไมโอโกลบิน (Nitrosylmyoglobin) ซึ่งทำให้ผลิตภัณฑ์เนื้อหมักมีสีแดงอมชมพู (Hornsey, 1956) จากการวัดค่าสีที่ภายนอกແໜມ (วัดผ่านถุง) ภายหลังจากหมักเป็นเวลา 3 วัน (ตารางที่ 2.3.6) พบว่าແໜມที่ใช้เกลือเพื่อการคั่ว มีสีซีดกว่ากลุ่มทดลองอื่นๆ คือมีความสว่าง (L^*) และค่าสีเหลือง (b^*) มากกว่าและค่าสีแดง (a^*) น้อยกว่ากลุ่มทดลองอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ขณะที่ແໜມที่ใช้เกลือ P536 มีค่าความสว่างต่ำที่สุด ($P<0.05$) สำหรับແໜມที่ใช้เกลือ P2 D4 และ Sb2 พบว่ามีค่าความสว่างไม่แตกต่างจากกลุ่มที่หมักตามธรรมชาติ ($P>0.05$) ขณะเดียวกันพบว่าແໜມที่ใช้เกลือ P2 และ Sb2 จะมีสีแดงที่ผิวนอกมากกว่ากลุ่มอื่นๆ ($P<0.05$) แต่ແໜມที่ใช้เกลือ P536 และ D4 มีสีแดงที่ไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ไม่เติมเกลือ ($P>0.05$) ขณะที่ D4 และ Sb2 มีค่าสีเหลืองที่ผิวนอกไม่แตกต่างจากແໜມที่หมักตามธรรมชาติ ($P>0.05$) เมื่อวัดค่าสีภายในແໜມพบผล (ตารางที่ 2.3.6) สอดคล้องกันว่าແໜມที่ใช้เกลือเพื่อการคั่วมีสีสว่างที่สุด ($P<0.05$) และมีสีแดงน้อยกว่าແໜມที่ใช้เกลือ Sb2 และ D4 อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) แต่มีสีแดงที่ภายในไม่แตกต่างจากແໜມที่ไม่ใช้เกลือ ($P>0.05$) นอกจากนั้นແໜມที่ใช้เกลือเพื่อการคั่ว และ D4 มีสีภายในที่มีค่าสีเหลืองมากกว่ากลุ่ม P536 Sb2 และ กลุ่มที่ไม่ใช้เกลือ อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)

คุณภาพสีหลังการเก็บรักษา

จากตารางที่ 2.3.7 ภายหลังจากเก็บรักษาແໜມที่ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 วัน หรือ 7 วันหลังการผลิต ปรากฏว่าเมื่อพิจารณาจากภายนอก แໜມที่ใช้เกลือเพื่อการคั่ว ยังคงมีสีซีดกว่ากลุ่มทดลองอื่นๆ คือมีความสว่างมากที่สุดและมีสีแดงน้อยที่สุด ($P<0.05$) แม้ว่าจะมีสีเหลืองไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ($P>0.05$) แต่ค่าสีเหลืองจะมากกว่าແໜມที่มีการเติมเกลือกลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) และพบว่า P536 มีสีค่อนข้างเข้มคือมีความสว่างต่ำกว่า ($P<0.05$) กลุ่มที่ใช้เกลือเพื่อการคั่ว เกลือ D4 P2 และกลุ่มที่หมักตามธรรมชาติ ตามลำดับ แต่มีความสว่างไม่แตกต่างจากແໜມที่ใช้เกลือ Sb2 ($P>0.05$) นอกจากนั้นແໜມที่ใช้เกลือ D4 มีสีแดงไม่แตกต่างจากที่หมักตามธรรมชาติ ($P>0.05$) แต่พบว่าการใช้เกลือ P2 P536 และ Sb2 มีผลให้ແໜມที่มีสีผิวนอกที่แดงที่สุด ($P<0.05$) หลังเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 วัน อย่างไรก็ตามพบว่าภายในແໜມทุกกลุ่มมีสีแดงไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) แต่คุณภาพสีที่ดีน้อยกว่า อาจพิจารณาจากค่าความสว่างและค่าสีเหลืองที่มากกว่ากลุ่มทดลองอื่นๆ โดยเฉพาะในແໜມที่ใช้เกลือเพื่อการคั่ว ที่แม้จะพบว่ามีค่าความสว่างของสีภายในແໜມไม่แตกต่างจากແໜມที่ใช้เกลือ P2 แต่จะมีสีสว่างกว่ากลุ่มทดลองอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ขณะเดียวกันก็มีสีเหลืองที่สุด ($P<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับทุกกลุ่มทดลอง โดยรวมผลการศึกษาค่าสีบ่งบอกถึงการเกิด

ออกซิเดชันของลิพิดที่ผิวของแฮมเนื้อโคที่ใช้เกลือเพื่อการถนอม ซึ่งโดยทั่วไปเกลือที่ใช้ในต่างประเทศ นอกจากจะเป็น *Lactobacillus* แล้ว ยังมักประกอบไปด้วยเกลือในกลุ่ม *Staphylococcus* และ *Kocuria* ซึ่งมีคุณสมบัติในการช่วยให้เกิดสี และกลิ่นรสที่พึงประสงค์ในไส้กรอกกลุ่มหมักเปรี้ยวแบบ Dried หรือ Semi-dried (Cocconcelli, 2007) แต่โดยปกติจุลินทรีย์ในกลุ่ม *Staphylococcus* และ *Kocuria* ไม่ทนต่อสภาวะที่เป็นกรดสูง (Stahnke and Tjener, 2007) การใช้เกลือจากต่างประเทศในการผลิตแฮมซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความเป็นกรดเพิ่มขึ้นค่อนข้างรวดเร็ว และความชื้นสูงเมื่อเทียบกับผลิตภัณฑ์หมักเปรี้ยวแบบ Dried หรือ Semi-dried ของต่างประเทศ อาจเป็นอุปสรรคต่อคุณสมบัติในการช่วยให้เกิดสีของเกลือกลุ่มนี้

คุณภาพด้านลักษณะเนื้อสัมผัส

ผลการตรวจสอบลักษณะเนื้อสัมผัสของแฮมในระหว่างการหมัก 3 วัน ที่ 30 องศาเซลเซียส และหลังเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน (ตารางที่ 2.3.8) พบว่า ค่า Hardness ของแฮมในวันที่เริ่มผลิตมีค่าประมาณ 2148.6-2534.7 กรัม โดยแฮมที่ใช้เกลือเพื่อการถนอมมีค่า Hardness มากกว่าแฮมที่หมักตามธรรมชาติ และแฮมที่ใช้เกลือ P536 D4 และ Sb2 อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) แต่ไม่ต่างจากกลุ่มที่ใช้เกลือ P2 หลังการหมัก 1 วัน พบว่าทุกกลุ่มทดลองมี ค่า Hardness มากขึ้น (6728.3-11372.1 กรัม) โดยแฮมที่ใช้เกลือเพื่อการถนอมยังคงมีค่า Hardness มากที่สุด ($P < 0.05$) ขณะที่แฮมที่ใช้เกลือ D4 มีค่า Hardness น้อยที่สุด ($P < 0.05$) และพบว่าแฮมหมักตามธรรมชาติมีค่า Hardness มากกว่าแฮมที่ใช้เกลือ Sb2 และ D4 ตามลำดับ ($P < 0.05$) แต่ไม่แตกต่างจาก P2 และ P536 ($P > 0.05$) อย่างไรก็ตามพบว่าภายหลังจาก 2 วันของการหมัก และหลังเก็บรักษาโดยการแช่เย็น 4 วัน แฮมที่หมักโดยไม่เติมเกลือกลับมีค่า Hardness มากที่สุด ($P < 0.05$) ขณะที่หลังจาก 3 วันของการหมัก ค่า Hardness ของแฮมทุกกลุ่มทดลองไม่ว่าจะใช้เกลือประเภทใดไม่มีความแตกต่างกัน และเมื่อเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 วัน แฮมที่ใช้เกลือ P536 มีแนวโน้มให้ค่า Hardness ต่ำที่สุด โดยมีค่า Hardness ไม่แตกต่างจากแฮมที่ใช้เกลือเพื่อการถนอม และเกลือ D4 แต่มีค่าน้อยกว่ากลุ่มควบคุม Sb2 และ P2 อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) จากรายงานวิจัยของ Visessanguan *et al.* (2004) พบว่าแฮมเนื้อสุกรที่ผลิตตามธรรมชาติโดยไม่มีการเติมเกลือ บ่มที่ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน มีค่า Hardness ประมาณ 6356.8 กรัม แต่เนื่องจากการวิจัยครั้งนี้ เป็นแฮมที่ใช้เนื้อโคเป็นวัตถุดิบ และปราศจากการเติมน้ำและพริก ค่าที่ได้จึงแตกต่างจากรายงานดังกล่าว ทั้งนี้ Barbut (2007) กล่าวว่า ในระหว่างการหมัก กรดแลคติกที่ผลิตโดยจุลินทรีย์ที่มีในเนื้อตามธรรมชาติ หรือที่ได้จากเกลือที่เติมเข้าไป จะมีผลทำให้โปรตีนในเนื้อเสื่อมสภาพ (denaturation) และจับตัวกัน (coagulation) เป็นผลให้เนื้อหมักเปรี้ยวมีลักษณะเนื้อสัมผัสเฉพาะตัว และมีเนื้อสัมผัสแข็งขึ้น ที่อาจเรียกว่ามี “body” ซึ่ง Ngapo (1996) กล่าวว่า การค่อยๆ ลดลงของ pH ทำให้โปรตีนเกิดสภาพเป็นเจล (protein gelation) และทำให้เนื้อหมักเปรี้ยวมีเนื้อสัมผัสแน่นแข็งขึ้น

ตารางที่ 2.36 ค่าสี (L* a* และ b*) ที่วัดจากภายนอกแท่งเหนมโดยการวัดผ่านถุง (Outer color) และวัดจากผิวสัมผัสภายใน (Inner color) ของเหนมเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักโดยไม่เติมกล้ำเชื้อ กับเหนมที่ผลิตโดยใช้กล้ำเชื้อทางการค้า และที่ใช้กล้ำเชื้อที่มีคุณสมบัติเป็น probiotic ภายหลังการหมักเป็นเวลา 3 วัน ที่ 30 องศาเซลเซียส

Treatment	Outer color after 3 days of fermentation			Inner color after 3 days of fermentation		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*
Control	49.70 ±4.22 b	15.23±1.14 b	3.28±1.20 bc	47.93±4.92 b	17.43±3.00 abc	4.27±0.78 b
Commercial	51.90±3.98 a	13.04±1.87 c	4.42±1.32 a	49.17±3.31 a	17.05±3.08 c	5.20±0.59 a
P2	49.77±4.24 b	16.18±1.76 a	2.81±0.57 d	47.94±3.76 b	17.75±2.70 ab	4.74±0.61 ab
P536	47.79±3.24 c	15.36±2.40 b	2.42±1.31 d	47.14±3.41 b	17.26±3.06 bc	4.40±0.72 b
D4	50.25±5.44 b	16.54±2.12 b	3.46±1.05 b	47.78±4.24 b	17.50±3.67 abc	4.91±0.73 a
Sb2	49.45±5.04 b	15.25±2.38 a	3.30±1.19 cd	47.69±4.45 b	17.93±2.92 a	4.37±0.89 b

Control = เหนมเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักแบบธรรมชาติโดยไม่เติมกล้ำเชื้อ

Commercial = เหนมเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักโดยใช้กล้ำเชื้อทางการค้า Pacovis จากเยอรมันนี

P2 = เหนมเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักโดยเติมกล้ำเชื้อ *Lactococcus lactis* spp. *lactis* P2 เริ่มต้น ประมาณ 10^6 cfu/g

P536 = เหนมเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักโดยเติมกล้ำเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 เริ่มต้น ประมาณ 10^6 cfu/g

D4 = เหนมเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักโดยเติมกล้ำเชื้อ *Lactobacillus salivarius* D4 เริ่มต้น ประมาณ 10^6 cfu/g

Sb2 = เหนมเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักโดยเติมกล้ำเชื้อ *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* Sb2 เริ่มต้น ประมาณ 10^6 cfu/g

abcd ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่มีอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

ตารางที่ 2.3.7 ค่าสี (L^* a^* และ b^*) ที่วัดจากภายนอกแท่งแฮมโดยการวัดผ่านถุง (Outer color) และวัดจากผิวสัมผัสภายใน (Inner color) ของแฮมเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักโดยไม่เติมกลูต้าเชื้อ กับแฮมที่ผลิตโดยใช้กลูต้าเชื้อทางการค้า และที่ใช้กลูต้าเชื้อที่มีคุณสมบัติเป็น probiotic ภายหลังเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 วัน (7 วันหลังการผลิต)

Treatment	Outer color after 4 days of refrigerated storage			Inner color after 4 days of refrigerated storage		
	L^*	a^*	b^*	L^*	a^*	b^*
Control	48.52±3.37 c	13.35±1.04 b	4.76±1.10 ab	47.61±5.35 c	17.14±2.59 a	3.94±0.79 c
Commercial	52.02±3.97 a	11.81±2.11 c	5.19±1.09 a	48.93±4.67 a	17.26±2.65 a	5.11±0.46 a
P2	49.00±3.81 c	15.43±1.47 a	4.36±0.65 b	48.45±5.31 ab	17.30±2.45 a	4.29±0.64 bc
P536	47.64±3.30 d	14.69±1.97 a	4.56±0.89 b	46.6±3.72 d	17.28±3.04 a	3.93±0.96 c
D4	50.08±5.30 b	12.92±2.81b	4.63±0.71 b	47.69±5.50 bc	17.34±3.51 a	4.46±1.01 b
Sb2	48.32±4.19 cd	15.05±1.61 a	4.42±0.79 b	47.82±4.88 bc	17.63±2.62 a	4.09±0.73 bc

Control = แฮมเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักแบบธรรมชาติโดยไม่เติมกลูต้าเชื้อ

Commercial = แฮมเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักโดยใช้กลูต้าเชื้อทางการค้า Pacovis จากเยอรมันนี

P2 = แฮมเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักโดยเติมกลูต้าเชื้อ *Lactococcus lactis* spp. *lactis* P2 เริ่มต้น ประมาณ 10^6 cfu/g

P536 = แฮมเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักโดยเติมกลูต้าเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 เริ่มต้น ประมาณ 10^6 cfu/g

D4 = แฮมเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักโดยเติมกลูต้าเชื้อ *Lactobacillus salivarius* D4 เริ่มต้น ประมาณ 10^6 cfu/g

Sb2 = แฮมเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักโดยเติมกลูต้าเชื้อ *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* Sb2 เริ่มต้น ประมาณ 10^6 cfu/g

abcd ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่มีอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

ตารางที่ 2.3.8 ค่าความแข็ง (Hardness) ของแฮมมเนื้อโค (ไม่เติมเอ็นและพริก) ที่ผลิตด้วยการหมักโดยไม่เติมกลูต้าเชื้อ กับแฮมที่ผลิตโดยใช้กลูต้าเชื้อทางการค้า และแฮมที่ผลิตโดยใช้กลูต้าเชื้อที่มีคุณสมบัติเป็น probiotic ในระหว่างการหมักเป็นเวลา 3 วันที่ 30 องศาเซลเซียส และภายหลังการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 วัน (7 วันหลังการผลิต)

Treatment	Hardness (g.)				
	Day 0 of fermentation	Day 1 of fermentation	Day 2 of fermentation	Day 3 of fermentation	Day 4 of refrigerated storage
Control	2274.4±99.7 bc	9011.1±827.5 b	13540.4±635.5 a	15630.8±1491.9 a	15024.2±1288.5 a
Commercial	2534.7±222.8 a	11372.1±885.9 a	12061.9±862.2 bc	12289.1±847.8 b	12072.4±788.7 bc
P2	2443.8±180.1 ab	8798.1±1006.5 bc	12429.1±581.1 b	13206.6±639.2 b	12493.5±1086.6 b
P536	2274.3±149.4 bc	8515.4±437.8 bc	10094.1±552.3 d	12621.9±727.9 b	11302.41±862.67 c
D4	2318.4±171.7 bc	6728.3±212.1 d	12061.9±592.9 c	12446.7±930.8 b	11770.6±1193.9 bc
Sb2	2148.6±119.0 c	8112.0±713.3 c	12061.9±1160.2 bc	12352.6±901.1 b	12640.4±627.5 b

Control = แฮมมเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักแบบธรรมชาติโดยไม่เติมกลูต้าเชื้อ

Commercial = แฮมมเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักโดยใช้กลูต้าเชื้อทางการค้า Pacovis จากเยอรมันนี

P2 = แฮมมเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักโดยเติมกลูต้าเชื้อ *Lactococcus lactis* spp. *lactis* P2 เริ่มต้น ประมาณ 10^6 cfu/g

P536 = แฮมมเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักโดยเติมกลูต้าเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 เริ่มต้น ประมาณ 10^6 cfu/g

D4 = แฮมมเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักโดยเติมกลูต้าเชื้อ *Lactobacillus salivarius* D4 เริ่มต้น ประมาณ 10^6 cfu/g

Sb2 = แฮมมเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักโดยเติมกลูต้าเชื้อ *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* Sb2 เริ่มต้น ประมาณ 10^6 cfu/g

abcd ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่มีอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)

ผลการประเมินความชอบของผู้บริโภค

จากตารางที่ 2.3.9 พบว่า ผู้บริโภคให้คะแนนความชอบในด้านสีของແໝ້ນເນື້ອໂຕที่ผลิตโดย ใช้กล้าเชื้อ P536 มากที่สุด (4.9) แต่คะแนนที่ให้ไม่แตกต่าง ($P > 0.05$) จากกลุ่มที่ไม่เติมกล้าเชื้อ (4.6) และที่ใช้กล้าเชื้อ Sb2 (4.6) โดยอยู่ระดับชอบ ขณะที่คะแนนความชอบในແໝ້ນທີ່ใช้กล้าเชื้อ P2 (4.5) ก็ไม่แตกต่าง ($P > 0.05$) จากกลุ่มที่ไม่เติมกล้าเชื้อ (4.6) และที่ใช้กล้าเชื้อ Sb2 (4.6) พบว่าผู้บริโภคมีความชอบในสีของແໝ້ນที่ใช้กล้าเชื้อ D4 และ แໝ້ນที่ใช้กล้าเชื้อทางการค้า น้อยที่สุด ($P < 0.05$) อาจเป็นเพราะແໝ້ນทั้งสองกลุ่มมีสีค่อนข้างซีด คือมีความสว่างมากและค่าสีแดงน้อย (ตารางที่ 2.3.7) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มทดลองอื่นๆ

ในด้านความแน่นเนื้อ พบว่าคะแนนความชอบของผู้บริโภคต่อແໝ້ນເນື້ອໂຕที่ไม่เติมกล้าเชื้อ ไม่แตกต่าง ($P > 0.05$) จากແໝ້ນທີ່เติมกล้าเชื้อ Sb2 P2 และ P536 (5.1 5.1 5.0 และ 4.7 ตามลำดับ) ขณะเดียวกันແໝ້ນที่ใช้กล้าเชื้อ P536 D4 และกล้าเชื้อทางการค้า ได้รับคะแนนความแน่นเนื้อไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) แต่ແໝ້ນที่ใช้กล้าเชื้อทางการค้า และ D4 มีคะแนนต่ำกว่าແໝ້ນເນື້ອໂຕที่ไม่เติมกล้าเชื้อ และที่เติมกล้าเชื้อ Sb2 และ P2 อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

พบว่าคะแนนความชอบเฉลี่ยด้านความเปรี้ยวของແໝ້ນທີ່เติมกล้าเชื้อ Sb2 และ P2 ไม่แตกต่าง ($P > 0.05$) จากແໝ້ນที่หมักตามธรรมชาติ (5.1 4.9 และ 4.9 ตามลำดับ) และผู้บริโภคให้คะแนนความชอบด้านความเปรี้ยวของແໝ້ນທີ່เติมกล้าเชื้อทางการค้า กล้าเชื้อ P536 และ D4 (4.4 4.3 และ 4.5 ตามลำดับ) น้อยกว่ากลุ่ม Sb2 อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

คะแนนความชอบเฉลี่ยด้านกลิ่นແໝ້ນของແໝ້ນທີ່เติมกล้าเชื้อ D4 มีค่าน้อยกว่ากลุ่มทดลองอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ขณะที่กลุ่มทดลองอื่นๆ (ยกเว้น D4) ได้รับคะแนนความชอบไม่แตกต่างจากແໝ້ນที่หมักตามธรรมชาติ ($P > 0.05$) นอกจากนั้นແໝ້ນที่ใช้กล้าเชื้อ P536 มีคะแนนด้านกลิ่นແໝ້ນมากกว่าແໝ້ນที่เติมกล้าเชื้อทางการค้า กล้าเชื้อ P2 และ D4 อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

ในด้านรสชาติແໝ້ນและคุณลักษณะโดยรวม พบว่าແໝ້ນที่ใช้กล้าเชื้อ P2 P536 และ Sb2 มีคะแนนความชอบไม่แตกต่าง ($P > 0.05$) จากແໝ້ນที่หมักตามธรรมชาติ (5.0 4.9 5.2 และ 5.1 ตามลำดับ) คือมีคะแนนอยู่ในระดับ “ชอบ” ทั้งนี้ແໝ້ນทั้ง 4 กลุ่มทดลองมีคะแนนความชอบด้านรสชาติແໝ້ນและคุณลักษณะโดยรวมมากกว่า ($P < 0.05$) แໝ້ນที่เติมกล้าเชื้อทางการค้า และ กล้าเชื้อ D4 ซึ่งได้รับคะแนนอยู่ในระดับ “เฉยๆ”

ตารางที่ 2.3.9 คะแนนความชอบของผู้ทดสอบจำนวน 30 คน ในแต่ละคุณลักษณะแฮมทั้ง 6 ตัวอย่าง

ตัวอย่าง แฮม	คะแนนความชอบเฉลี่ยของคุณลักษณะแฮม ^{1/} $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน					
	สี	ความ แน่นเนื้อ	ความเปรี้ยว	กลิ่นแฮม	รสชาติ แฮม	ลักษณะ โดยรวม
Control	4.6 $\pm$ 1.4 ab	5.1 $\pm$ 1.1 a	4.9 $\pm$ 1.0 ab	4.6 $\pm$ 1.1 ab	5.1 $\pm$ 0.9 a	5.0 $\pm$ 1.0 a
Commercial	3.7 $\pm$ 1.1 c	4.4 $\pm$ 1.1 b	4.4 $\pm$ 1.2 bc	4.3 $\pm$ 1.3 b	4.2 $\pm$ 1.4 b	4.2 $\pm$ 1.2 b
P2	4.5 $\pm$ 1.2 b	5.0 $\pm$ 1.0 a	4.9 $\pm$ 0.9 ab	4.4 $\pm$ 1.0 b	5.0 $\pm$ 0.8 a	5.1 $\pm$ 0.9 a
P536	4.9 $\pm$ 1.3 a	4.7 $\pm$ 1.1 ab	4.3 $\pm$ 1.4 c	4.9 $\pm$ 1.3 a	4.9 $\pm$ 1.1 a	4.9 $\pm$ 1.4 a
D4	3.8 $\pm$ 1.1 c	4.6 $\pm$ 1.0 b	4.5 $\pm$ 1.4 bc	3.8 $\pm$ 1.1 c	4.4 $\pm$ 1.5 b	4.3 $\pm$ 1.4 b
Sb2	4.6 $\pm$ 1.1 ab	5.1 $\pm$ 0.8 a	5.1 $\pm$ 1.1 a	4.6 $\pm$ 1.0 ab	5.2 $\pm$ 1.1 a	5.3 $\pm$ 1.1 a

Control = แฮมนเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักแบบธรรมชาติโดยไม่เติมกลูต้าเชื้อ

Commercial = แฮมนเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักโดยใช้กลูต้าเชื้อทางการค้า Pacovis จากเยอรมันนี

P2 = แฮมนเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักโดยเติมกลูต้าเชื้อ *Lactococcus lactis* spp. *lactis* P2 เริ่มต้น ประมาณ 10^6 cfu/g

P536 = แฮมนเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักโดยเติมกลูต้าเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 เริ่มต้น ประมาณ 10^6 cfu/g

D4 = แฮมนเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักโดยเติมกลูต้าเชื้อ *Lactobacillus salivarius* D4 เริ่มต้น ประมาณ 10^6 cfu/g

Sb2 = แฮมนเนื้อโคที่ผลิตด้วยการหมักโดยเติมกลูต้าเชื้อ *Lactococcus lactis* spp. *lactis* Sb2

^{abc} ตัวอักษรที่แตกต่างตามแนวตั้งหมายถึงคะแนนความชอบเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

^{1/} มาจากระดับคะแนนความชอบชนิด 1-7 Hedonic Scale ระดับ 1 หมายถึงไม่ชอบมากที่สุด ระดับ 2 หมายถึง ไม่ชอบมาก ระดับ 3 หมายถึง ไม่ชอบ ระดับ 4 หมายถึง เฉย ๆ ระดับ 5 หมายถึง ชอบ ระดับ 6 หมายถึง ชอบมาก และระดับ 7 หมายถึง ชอบมากที่สุด

สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองในด้านคุณภาพทางเคมี กายภาพ และจุลินทรีย์ของแฮมเนื้อโคพื้นเมืองของไทย (สูตรไม่ใส่หนังและพริกชี้หนู) พบว่าภายหลังการหมัก 3 วัน แฮมที่ผลิตโดยไม่เติมกลูต้าเชื้อ มีปริมาณกรดแลคติกและค่า pH ไม่แตกต่างจากแฮมที่ใช้กลูต้าเชื้อชนิดอื่นๆ โดยมีค่า pH ระหว่าง 4.91-5.18 ยกเว้นแฮมที่ใช้กลูต้าเชื้อ P536 ที่มีค่า pH สูงกว่า ($P < 0.05$) แฮมทุกกลุ่มทั้งหลังจากการหมัก 3 วัน ที่ 30 องศาเซลเซียส และภายหลังเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียสอีก 4 วัน ทั้งนี้พบว่าแฮมเนื้อโคจัดว่าเป็นผลิตภัณฑ์เนื้อหมักที่มีความชื้นสูงด้วยค่า A_w ที่ 0.97 ดังนั้นอาจเพิ่มระยะเวลาในการหมักอีก 1-2 วัน เพื่อให้ได้ค่า pH ต่ำกว่าหรือเท่ากับ 4.6 นอกจากนั้น การใช้น้ำตาล glucose หรือ glucono-delta-lactone อาจจะช่วยทำให้ pH ลดลงได้เร็วขึ้น

สำหรับผลทางด้านจุลินทรีย์ แม้ว่าในวันที่ผลิตและในระหว่างการหมัก จะพบว่าแหนมที่เติมกล้าเชื้อบางกลุ่มมีแนวโน้มการเจริญของจุลินทรีย์กรดแลคติกมากกว่าแหนมที่หมักตามธรรมชาติ แต่ภายหลังจาก 3 วันของการหมัก แหนมทุกกลุ่มทดลองมีจำนวนจุลินทรีย์กรดแลคติกไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) จากการศึกษาครั้งนี้ ตรวจสอบไม่พบการเจริญของเชื้อ *E. coli* *S. aureus* และ *Salmonella* ในแหนมเนื้อโคพื้นเมืองทั้งที่ผลิตโดยไม่เติมกล้าเชื้อและที่ใช้กล้าเชื้อ สำหรับปริมาณ Coliforms พบว่าภายหลังจากการหมัก 3 วัน โดยรวมแหนมจะมีปริมาณ Coliforms ลดลง โดยแหนมที่ใช้กล้าเชื้อทางการค้าและกล้าเชื้อ Sb2 มีแนวโน้มให้ปริมาณที่ต่ำกว่าการหมักตามธรรมชาติ ($P>0.05$) แต่อย่างไรก็ตาม ผลการวิเคราะห์ทางสถิติไม่พบว่าการใช้กล้าเชื้อชนิดใดให้ผลแตกต่างจากการหมักตามธรรมชาติ สำหรับปริมาณ Yeast and mold พบว่า เมื่อผ่านการหมักไป 3 วัน แหนมเนื้อโคที่ผลิตขึ้นทุกกลุ่มมีปริมาณ Yeast and mold ลดลงจากในวันที่ผลิต แต่ยังคงมีปริมาณที่มากกว่าข้อกำหนดของ มพช. 470/ 2548 คือที่ $2 \log \text{ cfu/g}$ อย่างไรก็ตามพบว่าแหนมที่เติมกล้าเชื้อ Sb2 มีปริมาณ Yeast and mold ต่ำกว่าแหนมกลุ่มอื่นๆ ($P<0.05$) แต่ไม่แตกต่างทางสถิติจากแหนมที่ใช้กล้าเชื้อ P536 ($P>0.05$)

สำหรับคุณสมบัติทางกายภาพของแหนมเนื้อโค พบว่าแหนมที่ใช้กล้าเชื้อต่างประเทศมีแนวโน้มให้สีที่ผิวนอกซีด (สว่างและเหลืองมากกว่า แดงน้อยกว่า) กว่ากลุ่มทดลองอื่นๆ ($P<0.05$) ภายหลังจากการหมัก 3. วัน แหนมที่ใช้กล้าเชื้อ P2 และ Sb2 มีสีที่ผิวนอกแดงกว่าแหนมที่หมักตามธรรมชาติ ($P<0.05$) แต่ภายหลังเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 วัน นอกจากกล้าเชื้อ P2 และ Sb2 แล้ว ยังพบว่าแหนมที่ใช้กล้าเชื้อ P536 มีสีที่ผิวนอกแดงกว่า ($P<0.05$) แหนมที่หมักตามธรรมชาติเช่นกัน

ในด้านค่า Hardness พบว่าหลังการหมัก 3 วัน แหนมที่หมักตามธรรมชาติ มีค่า Hardness มากกว่าทุกกลุ่มทดลอง ($P<0.05$) อย่างไรก็ตามแหนมที่ใช้กล้าเชื้อทุกชนิดไม่มีความแตกต่างกันในค่า Hardness ($P>0.05$) ภายหลังเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 วัน แหนมที่หมักตามธรรมชาติ ยังคงมีค่า Hardness มากกว่าทุกกลุ่มทดลอง ($P<0.05$) ขณะที่แหนมที่ใช้กล้าเชื้อ P536 มีค่า Hardness ต่ำกว่าแหนมที่ใช้กล้าเชื้อ P2 และ Sb2 ($P<0.05$)

การศึกษาความชอบของผู้บริโภคให้ผลในด้านสีก่อนข้างสอดคล้องกับการวัดด้วยเครื่องมือ คือ ผู้บริโภคให้คะแนนความชอบด้านสีของแหนมแก่กลุ่มที่ใช้กล้าเชื้อทางการค้า และกล้าเชื้อ D4 น้อยกว่ากลุ่มอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญ ขณะที่คะแนนความชอบด้านสีของแหนมที่ใช้กล้าเชื้อ P2 P536 และ Sb2 ไม่แตกต่างจากแหนมที่หมักตามธรรมชาติ แต่แหนมที่ใช้กล้า P536 มีข้อจำกัดในด้านความเปรี้ยว ซึ่งได้คะแนนความชอบต่ำกว่ากลุ่มควบคุม และ กลุ่มที่ใช้กล้าเชื้อ P2 และ Sb2 อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) โดยรวมแหนมที่ใช้กล้าเชื้อ P2 และ Sb2 มีคะแนนความชอบด้านความเปรี้ยว กลับกันแหนม รสชาติ

ແໜ່ນ ແລະ ລັກຊະໂຍດຮວມ ໄມ່ ແຕກຕ່າງຈາກກຸ່ມຄວບຄຸມ ($P>0.05$) ແຕ່ ຄ່າ ເຊື້ອ *Sb2* ໃຫ້ ຜົນດີ ກ່ວາ ແໜ່ນ ທີ່ ເມັດຕາມ ທຣຸ້ນຊາດີ ແລະ ທີ່ ໃຊ້ ຄ່າ ເຊື້ອ *P2* ໃນ ການ ຄວບຄຸມ *Yeast and mold* ($P<0.05$)

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนสนับสนุนการวิจัยจากศูนย์เครือข่ายการวิจัยเทคโนโลยีเนื้อสัตว์ โดยความร่วมมือของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กับสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) และขอขอบคุณนักศึกษาผู้ช่วยวิจัยของโครงการคือ นางสาวปรมาภรณ์ เจ็ดวรรณะ และนางสาวอรุณวรรณ อินทร์ช่วย นายเฉลิมชัย ทิพย์ค รวบรวมทั้งเจ้าหน้าที่และนักศึกษาของศูนย์เครือข่ายการวิจัยเทคโนโลยีเนื้อสัตว์ ที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการดำเนินงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- ธงชัย สุวรรณสิขณน์. 2549. การประเมินคุณภาพทางกายภาพด้านเนื้อสัมผัส. ใน การพัฒนาผลิตภัณฑ์ในอุตสาหกรรมเกษตร. รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต (บรรณาธิการ). สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ, น. 349-367.
- นภา โล่ห์ทอง. 2529. ปฏิบัติการวิชาจุลชีววิทยาทางอาหาร. ภาควิชาจุลชีววิทยาและวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- นิตยา บุญมี และ อติสร เสวตวิวัฒน์. 2542. ปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางอาหาร. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพมหานคร. 75 น.
- เรณู ทวีชาติวิทยากุล. 2539. ผลของเชื้อเริ่มต้นผสมในการหมักແໜ່ນต่อการลดปริมาณ *Salmonella typhimurium* และ *Salmonella anatum*. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- รุจริน ลิ้มสุวานิช และ จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2552. ผลิตภัณฑ์เนื้อประเภทต่างๆ. ใน คุณค่าเนื้อโคไทย (จุฑารัตน์ เศรษฐกุล และ พรรณีภา สีวะพิรุณห์เทพ, บรรณาธิการ). บริษัทอมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด (มหาชน), กรุงเทพฯ, น. 65-86.
- ศศิวิมล ชื่นอิม อาเหม็ด และ อติสร เสวตวิวัฒน์. 2548. การใช้ประโยชน์และการตรวจหาแบคทีเรียแลคติกในอาหาร. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 23:(1) 188-101.

สมัญญา สุขพหล อรุณ บำตระกุลนนท์ เขวลักษณ์ สุรพันธ์พิสิษฐ์ ประภาพร ขอไพบูลย์ และ
อดิศร เสวตวิวัฒน์. 2549. การเปรียบเทียบอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อในขั้นตอน selective
enrichment และ selective plating ในการตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาในเนื้อโคช้าและ จำหน่าย
ปลีก. การประชุมสัมมนาวิชาการอุตสาหกรรมเกษตร ครั้งที่ 8. 15-16 มิถุนายน 2549. ศูนย์
ประชุมนานาชาติไบเทค บางนา

สิริพร พงษ์วุฒิประพันธ์. 2553. “ผลของเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ต่อคุณภาพ
แฮมที่ผลิตจากเนื้อโคไทย” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาสุขาภิบาลอาหาร
บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
กรุงเทพมหานคร.

ศุมาลี บุญมา อรุณ บำตระกุลนนท์ นพรัตน์ หมานริน และ ชุทพจน์ อมาตยกุล. 2539. การตรวจ
เชื้อซัลโมเนลลาในเนื้อสัตว์ โดยวิธี SCM และ MSRV. อาหาร. 26: 88-97.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2547. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก. 1219 –
2547): แฮม. สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, กระทรวงอุตสาหกรรม. แหล่งที่มา
: <http://www.huaimong.com/standard/fulltext/TIS1219-2547.pdf>, 20 สิงหาคม 2551. 13 หน้า.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2548. มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (มผช. 470/2548) :
แฮมเนื้อ. สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, กระทรวงอุตสาหกรรม. แหล่งที่มา :
http://www.tisi.go.th/otop/pdf_file/tcps470_48.pdf, 20 สิงหาคม 2551. 5 หน้า.

อดิศร เสวตวิวัฒน์. 2533. ผลของการใช้กลูตาเมตที่เรียกติดคอซัลโมเนลลาในการหมัก แฮม.
วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อดิศร เสวตวิวัฒน์ วราวุฒิ คุรุส่ง ศรีรัตน์ พรเรืองวงศ์ และ อรุณ บำตระกุลนนท์. 2548.
เปรียบเทียบอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อในขั้นตอน selective enrichment และ isolation ในการ
ตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาในเนื้อหมูสดจำหน่ายปลีก. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 23(1): 1–13.

Ammor, M.S. and Mayo, B. 2007. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional
starter cultures in dry sausage production: An update. Meat Sci., 76: 138-146.

AOAC International. 2005. Official Methods of Analysis of AOAC International, 18th Ed.,
Microbiological Methods No. 966.24. AOAC INTERNATIONAL, USA.

Arihara, Keizo. 2006. Strategies for designing novel functional meat products. Meat Sci., 74, 219-229.

- Blickstad, E. and Molin, G. 1981. Growth and lactic acid production of *Pediococcus pentosaceus* at different gas environment, temperatures, pH values, and nitrite concentrations. *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 13: 170-174.
- Bourne, M.C. 1976. Interpretation of force curves from instrumental texture measurements. In *Rheology and Texture in Food Quality*, ed. J.M. deMan, P.W. Voisey, V.F. Rasper, and D.W. Stanley, AVI Publishing Co., USA, p. 244- 274.
- Bourne, M. C. 2002. Texture profile analysis. In *Food Texture and Viscosity: Concept and Measurement*. Academic Press, UK, p. 182-186.
- Cocconcelli, P. S. 2007. Starter culture: bacteria. In *Handbook of fermented meat and poultry*. Toldra, F. (ed.), Hui, Y.H., Astiasaran, I., Nip, W-K., Sebranek, J.G., Silveira, E-T. F., Stanhnke, L.H., and Talon, R. (Assoc. eds.), Blackwell Publishing Professional, USA, p. 137-146.
- De Vuyst, Luc., Falony, G., and Leroy, F. 2008. Probiotics in fermented sausages. *Meat Sci.*, 80: 75-78.
- FAO/WHO (2009) Guideline for the Evaluation of Probiotics in Foods. Report of a Joint FAO/WHO Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food, London Ontario, Canada. April 30 and May 1, 2002.
- Hermansson, A.-M., Harbitz, O., and Langton, M. 1986. Formation of two types of gels from bovine myosin. *J. Sci. Food Agri.*, 37: 69-84.
- Hornsey, H.C. 1956. The color of cooked cured pork. I. Estimation of nitric oxide-heme pigments. *J. Sci. Food Agri.*, 7:534-540.
- Hugas, M. and Monfort, J.M. 1997. Bacterial starter cultures for meat fermentation. *Food Chemistry*, 59:547-554.
- Incze, K. 1998. Dry fermented sausages. *Meat Sci.*, 49 (Suppl. I): S169-S177.
- Jay, J. M. 1996. *Modern Food Microbiology. Fermentation and fermented dairy products*. 5th Edition. Chapman & Hall, New York, USA.
- Jemenez-Colmenero, F., Carballo, J., and Cofrades, S. 2001. Healthier meat and meat products: their role as functional foods. *Meat Sci.* 59: 5-13.
- Jessen, B. 1995. Starter cultures for meat fermentation. In *Fermented Meats*. G. Campbell-Platt and P.E. Cook (eds.), Blackie Academic & Professional, UK, p. 130-159.

- Kröckel, L. 1995. Bacterial fermentation of meats. In *Fermented Meats*. G. Campbell-Platt and P.E. Cook (eds.), Blackie Academic & Professional, UK, p. 69-109.
- Lebert, I., Leroy, S., Giammarinaro, P., Lebert, A., Chacornac, J.P., Bover-Cid, S., Vidal-carou, M.C., and Talon, R. 2007. Diversity of microorganisms in the environment and dry fermented sausages of small traditional French processing units. *Meat Sci.* 76:112-122.
- Lücke, F.K. 1985. Fermented sausages. In *Microbiology of fermented foods*, Vol. 2. Ed. B.J.B. Wood, pp. 41-83. Elsevier Applied Science London.
- Narakaew, T., Pilasombat, K., Ngamyeesoon et al., 2009. Preliminary characterization of *Lactobacillus salivarius* K7 for probiotic properties. In *Book of Abstract of the 3rd International Conference on Fermentation Technology for Value Added Agricultural Products*, Khon Kaen, Thailand, p. 74.
- Ngapo, T.M., Wilkinson, B.H.P., and Chong, R. 1996. 1,5-Glucono- δ -lactone-induced gelation of myofibrillar protein at chilled temperature. *Meat Sci.*, 42: 3-13.
- Petäjä -Kanninen, E. and Puolanne, E. 2007. Principles of Meat Fermentation. In *Handbook of fermented meat and poultry*. Toldra, F. (ed.), Hui, Y.H., Astiasaran, I., Nip, W-K., Sebranek, J.G., Silveira, E-T. F., Stanhnke, L.H., and Talon, R. (Assoc. eds.), Blackwell Publishing Professional, USA, p. 137-146.
- Phithakpol, B., Varanyanond, W., Reunmaneevaitoon, S., and Wood, H. 1995. The traditional fermented foods of Thailand. Institute of Food Research and Product Development, Kasetsart University, Bangkok, Thailand.
- Pilasombut, K. 2006. Purification and characterization of bacteriocins by *Lactobacillus salivarius* K4 and K7 isolated from chicken intestine. Ph.D. Thesis, Kasetsart University, Bangkok. Thailand.
- Pilasombut, K., Sakpuaram, T., Wajjwalku, Nitisinprasert, S., Swetwiwathana, A., Zendo, T., Fujita, K., Nakayama, J. and Sonomoto, K. 2006. "Purification and amino acid sequence of a bacteriocin produced by *Lactobacillus salivarius* K7 isolated from chicken intestine." *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 28(Suppl.): 121-132.
- Pilasombut, K., Swetwiwathana, A., Sitthigriping, R., and Sethakul, J. 2009. Screening of bacteriocin-like inhibitory substances from lactic acid bacteria for fermented meat starter

- culture. In Proceedings of International Congress of Meat Science and Technology, Copenhagen, Denmark. August, 20-25,
- Stahnke, L. H. and Tjener, K. 2007. Influence of processing parameters on cultures performance. In Handbook of fermented meat and poultry. Toldra, F. (ed.), Hui, Y.H., Astiasaran, I., Nip, W-K., Sebranek, J.G., Silveira, E-T. F., Stanhnke, L.H., and Talon, R. (Assoc. eds.), Blackwell Publishing Professional, USA, p. 187-194.
- Swetwathana, A., Leutz, U., Lotong, N., and Fischer, A. 1999. Controlling the Growth of *Salmonella anatum* in Nham. *Fleischwirtschaft*. 79(9): 124-128.
- Swetwathana, A., Lotong, N., Nakayama, J. and Sonomoto, K. 2004. "Effect of garlic and nitrite on Pediocin PA-1 production of *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 and on the growth of *Salmonella* Anatum in stimulated nham fermentation." Proceeding of the 1st KMITL International Conference on Integration of Science & Technology for Sustainable Development. August 25-26, 2004. Bangkok, Thailand.
- Swetwathana, A. 2005. Microbiological quality enhancement of Thai fermented meat product (Nham) using Nham-associated pediocin-producing lactic acid bacteria (*Pediococcus pentosaceus* TISTR 536). Philosophy Degree thesis, Kyushu University, Japan.
- Swetwathana, A., Lotong, N., Nakayama, J., and Sonomoto, K. 2007. Maturation of Nham – a Thai Fermented Meat Product : Effect of Pediocin PA-1 Producer (*Pediococcus pentosaceus* TISTR 536) as Starter Culture, Nitrite and Garlic on *Salmonella anatum* during Nham Fermentation. *Fleischwirtschaft International*. 22(3): 46 – 49.
- Swetwathana, A., Pilasombut, K., and Sethakul, J. 2009. An in-vitro screening of isolated bacteriocin-producing lactic acid bacteria from Thai fermented meat for probiotic prospect. In Proceedings of International Congress of Meat Science and Technology, Copenhagen, Denmark. August, 20-25,
- Tetlow, A. L. and Hoover, D.G. 1988. In Fermented Meats. G. Campbell-Platt and P.E. Cook (eds.), Blackie Academic & Professional, UK, p. 33.
- Vissesanguan, W., Benjakul, S., Riebroy, S., and Thepkasikul, P. 2004. Changes in compositional and functional properties of proteins and their contribution to Nham characteristics. *Meat Sci*. 66: 579-588.

- Vissesanguan, W., Benjakul, S., Panya, A., Kittikun, C., and A. Assavanig. 2005. Influence of minced pork and rind ratios on physico-chemical and sensory quality of Nham – a Thai fermented pork sausage. *Meat Sci.* 69: 355-362.
- Vissesanguan, W., Benjakul, S., Smitinont, T., Kittikun, C., Thepkasikul, P., and Panya, A. 2006. Changes in microbiological, biochemical and physico-chemical properties of Nham inoculated with different inoculum levels of *Lactobacillus curvatus*. *LWT* 39: 814-826.

ตอนที่ 3 การพัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวกึ่งแห้งแบบกึ่งตะวันตกที่มีการเติมกล้าเชื้อนำเข้า

3.1 ผลิตภัณฑ์เนื้อโคพื้นเมืองหมักกึ่งแห้งแบบกึ่งตะวันตก

3.1.1 การศึกษาเบื้องต้นเพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อโคพื้นเมืองหมักกึ่งแห้งในรูปแบบเนื้อเค็มกึ่งตะวันตก (Beef Snack Sticks หรือ Slim Jims) โดยใช้กระบวนการผลิตแบบตะวันตก

หลักการและเหตุผล

ในประเทศตะวันตกทั้งในทวีปยุโรปและอเมริกา มีการผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อหมักแห้งและกึ่งแห้ง โดยเฉพาะกลุ่มไส้กรอกหมักกันมาช้านาน และมีการศึกษาพัฒนาวิธีการผลิตกันมาตลอด ทั้งในแง่ของวัตถุดิบ การใช้กล้าเชื้อ รวมทั้งเทคนิคในกระบวนการผลิต เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่นอกจากจะมีคุณภาพพึงประสงค์ของผู้บริโภคแล้ว ยังมุ่งเพิ่มความปลอดภัยในการบริโภคด้วย กลุ่มไส้กรอกหมักแห้งและกึ่งแห้งนอกจากจะมีรสชาติและคุณลักษณะของเนื้อสัมผัสเป็นเอกลักษณ์แล้ว ส่วนใหญ่ยังมีอายุการเก็บที่ยาวนานในสภาวะแวดล้อมของประเทศตะวันตกด้วย ซึ่งในหลายๆ ประเทศวัตถุดิบหลักที่ใช้ในการผลิตไส้กรอกหมักแห้งหรือกึ่งแห้งมักจะเป็นเนื้อ โค ดังนั้นการใช้เนื้อจากโคพื้นเมืองเพื่อผลิตไส้กรอกหมักแห้งหรือกึ่งแห้งแบบตะวันตกจึงน่าจะเป็นการเพิ่มมูลค่าได้เป็นอย่างดี โดยเฉพาะการศึกษาแนวทางการผลิตแบบตะวันตกที่มีการใช้กล้าเชื้อเริ่มต้น และใช้กระบวนการผลิตภายใต้สภาวะที่มีการควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ ซึ่งมักจะ ไม่มีการปฏิบัติกันสำหรับผลิตภัณฑ์เนื้อหมักของไทย จึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจในการนำแนวทางการผลิตนี้มาศึกษาวิจัยเพื่อเพิ่มมูลค่าและให้กับวัตถุดิบเนื้อโคไทย รวมทั้งเพิ่มความปลอดภัยในการบริโภคผลิตภัณฑ์เนื้อหมักของไทยด้วย อย่างไรก็ตามการศึกษาดังกล่าวจะครอบคลุมถึงผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักแห้งหรือกึ่งแห้งแบบตะวันตกเป็นสิ่งจำเป็นเช่นกัน เนื่องจากผู้บริโภคบางกลุ่มอาจจะไม่เคยชินกับรสชาติหรือคุณลักษณะอื่นๆ แบบตะวันตกของผลิตภัณฑ์ ดังนั้นเพื่อเป็นการเพิ่มทางเลือกในการพัฒนาผลิตภัณฑ์และเพิ่มทางเลือกแก่ผู้บริโภค ทั้งยังเป็นการประชาสัมพันธ์ผลิตภัณฑ์ของประเทศไทย จึงเป็นการน่าสนใจในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อหมักแบบตะวันตกที่อาจจะมีรสชาติ

แบบไทยๆ ด้วย ทั้งนี้ นอกเหนือจากแฮมและไส้กรอกเปรี้ยว ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์เนื้อหมักที่นิยมกัน โดยทั่วไปของชาวไทยแล้ว หม่ำ เป็นอีกผลิตภัณฑ์หนึ่งที่เป็นที่นิยมกันมากในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และมักจะทำจากเนื้อโค รวมทั้งเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีการใช้ผลผลิตพลอยได้จากสัตว์เป็นส่วนประกอบ จึงเป็นผลิตภัณฑ์ที่น่าจะนำมาผลิตเพื่อเพิ่มมูลค่า โดยเฉพาะการนำมาผลิตในรูปแบบของ Beef snack sticks เช่น Slim jims ที่ผลิตโดย บริษัท ConAgra Foods, Inc. เพราะเป็นผลิตภัณฑ์เนื้อหมักกึ่งแห้งสะดวกบริโภคที่มีการจำหน่ายแพร่หลายในแถบตะวันตก

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักแบบกึ่งแห้งมีแหล่งกำเนิดดั้งเดิมมาจากแถบยุโรป โดยเฉพาะเยอรมันนี อาจผลิตจากเนื้อและมันจากสุกร หรือโค หรือผสมกัน มักมีปริมาณความชื้นในผลิตภัณฑ์ประมาณ 35-50 เปอร์เซ็นต์ (Campbell-Platt, 1995) โดยปริมาณความชื้นในผลิตภัณฑ์อาจสูญเสียไปประมาณ 8-15 เปอร์เซ็นต์ มีค่า Aw ประมาณ 0.90-0.94 ค่า pH ประมาณ 4.7-5.1 ปริมาณกรดแลคติกประมาณ 0.5-1.3 เปอร์เซ็นต์ และค่า moisture to protein ratio (MPR) มากกว่า 2.3:1 แต่จะไม่เกิน 3.7:1 (Getty, 2010) ผลิตโดยการหมักที่ 25-32 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 85-95 เปอร์เซ็นต์ และมักผ่านการรมควัน (smoking) ที่ 35-50 องศาเซลเซียส เวลาประมาณ 12-48 ชั่วโมง (Campbell-Platt, 1995) ระดับของอุณหภูมิในการรมควันอาจเป็นแบบรมควันเย็น (15-25 องศาเซลเซียส) รมควันอุ่น (30-50 องศาเซลเซียส) หรือรมควันร้อน (60-90 องศาเซลเซียส) ซึ่งหากเป็นการรมควันร้อน อุณหภูมิสุดท้ายที่วัดได้ ณ ใจกลางของผลิตภัณฑ์อาจมีค่าถึง 65 องศาเซลเซียสหรือสูงกว่านั้น (Rust, 2007) จากนั้นเข้าสู่กระบวนการลดความชื้นโดยบ่มที่ 14-18 องศาเซลเซียสภายใต้ความชื้นสัมพัทธ์ที่ลดต่ำลง อาจใช้เวลาประมาณ 10-25 วัน ในระหว่างนี้ไส้กรอกจะมีน้ำหนักลดลง มีการหดตัว และเกิดกลิ่นรสเฉพาะตัว (Campbell-Platt, 1995)

ในปัจจุบัน โดยเฉพาะในประเทศสหรัฐอเมริกา จะมีการให้ความร้อนแก่ไส้กรอกหมักภายหลังผ่านกระบวนการหมัก โดยเฉพาะในกลุ่มผลิตภัณฑ์ที่ใช้เวลาการหมักช่วงสั้นๆ ซึ่งมักผ่านการหมักที่อุณหภูมิค่อนข้างสูง (Fast fermentation) เช่น การให้ความร้อนที่ 63 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 นาที (Incze, 1998) หรือการให้ความร้อนภายหลังกระบวนการลดความชื้น ซึ่งเป็นมาตรการเพิ่มความปลอดภัยจากแบคทีเรียก่อโรค และมีการศึกษาวิจัยกันมากถึงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาอุณหภูมิที่ใช้ Getty *et al.* (1999) รายงานว่าการบ่ม Lebanon bologna ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 90 มม. และ 115 มม. โดยใช้อุณหภูมิต่ำเป็นเวลานาน (Slow fermentation) และผ่านกระบวนการให้ความร้อน จะสามารถลด

E. coli O157:H7 ลงได้ $> 5 \log \text{ cfu/g}$ ซึ่งในประเทศตุรกี มีการประยุกต์ใช้วิธีการให้ความร้อนในระหว่างการผลิต Sucuk ซึ่งเป็นไส้กรอกกึ่งแห้ง โดยให้ความร้อนที่ 45-70 องศาเซลเซียสหลังจากการหมักเป็นเวลาสั้นๆ หรืออาจให้ความร้อนภายหลังขั้นตอนการลดความชื้น (Dalmis and Soyer, 2008)

สำหรับผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักเปรี้ยวแบบแห้ง (dry fermented sausages) เชื่อกันว่ามีที่มาจากประเทศทางตอนใต้ของยุโรป เช่น แถบเมดิเตอร์เรเนียน เนื่องจากมีอากาศอบอุ่นกว่าทางเหนือของยุโรป จึงสามารถลดความชื้นได้ดีกว่าโดยการตากแดด (Toldra *et al.*, 2007) ตัวอย่างของไส้กรอกแบบแห้ง เช่น Genoa salami ที่มักผลิตจากเนื้อสุกรบดละเอียด ไขมันสุกร และเนื้อโคอีกเล็กน้อย นอกจากนี้ยังมี Pepperoni ซึ่งเป็นไส้กรอกชนิดบดหยาบที่ผลิตจากเนื้อสุกรและเนื้อโค แต่อาจผลิตจากเนื้อสัตว์เพียงชนิดใดชนิดหนึ่งก็ได้เช่นกัน มีไขมันประมาณ 30-35 เปอร์เซ็นต์ มักใช้เป็นส่วนประกอบบนหน้าของพิซซ่า และ dry salami ซึ่งเป็นไส้กรอกแห้งจากเนื้อสุกรและเนื้อโคที่ไม่ผ่านการทำสุก แต่มักจะรมควัน ผลิตภัณฑ์ทั้งสามชนิดนี้มักจะมีราขาวเกิดคลุมที่ผิวนอกด้วย อย่างไรก็ตาม dry sausage นั้นมักไม่ผ่านการทำให้สุก และจะมีการรมควันในเฉพาะบางผลิตภัณฑ์ โดยมักจะเป็นการรมควันแบบเย็นที่ 15-25 องศาเซลเซียส (Campbell-Platt, 1995)

ขั้นตอนการหมักมักจะใช้อุณหภูมิต่ำเช่น 15-26 องศาเซลเซียสที่ความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ เวลาประมาณ 3 วัน จนกระทั่งได้ค่า pH น้อยกว่า 4.7 แต่ในสหรัฐอเมริกา พบว่ามีการหมักเปรี้ยวที่ 37.8-43.3 องศาเซลเซียส ด้วยเวลาที่สั้นลงคือน้อยกว่า 24 ชั่วโมง ทั้งนี้ขึ้นกับขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของไส้กรอก และความเหมาะสมของเกลือที่ใช้ ค่า pH สุดท้ายที่ได้มักมีค่าระหว่าง 4.7 และไม่เกิน 5.3 (Ricke and Keeton, 1997) จากนั้นจึงเข้าสู่กระบวนการทำแห้งอย่างค่อยเป็นค่อยไปที่ 12-15 องศาเซลเซียสและมีการลดความชื้นสัมพัทธ์ในการบ่มลงอย่างต่อเนื่อง (Campbell-Platt, 1995) ในสหรัฐอเมริกา อุณหภูมิการทำแห้งจะอยู่ที่ 10-11.2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 68-72 เปอร์เซ็นต์ อาจใช้เวลาอย่างน้อย 21 วัน โดยมักจะมีการสูญเสียความชื้นไปประมาณ 25-50 เปอร์เซ็นต์ dry sausage มักมีค่า pH ประมาณ 5.0-5.3 ปริมาณกรดแลคติกประมาณ 0.5-1.0 เปอร์เซ็นต์ และควรมีค่า MPR น้อยกว่า 2.3:1 โดยมีความชื้นในผลิตภัณฑ์น้อยกว่า 35 เปอร์เซ็นต์ และ ค่า A_w ไม่เกิน 0.91 (Getty, 2010)

Snack sticks จัดเป็นผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักเปรี้ยวแบบกึ่งแห้ง ที่มีอายุการเก็บรักษาค่อนข้างนาน สามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องได้หากมีการบรรจุอย่างเหมาะสม (Shelf-stable) มีสูตรผสมที่คล้ายกับ summer sausage และอาจมีการเสริมเครื่องเทศจัด เช่น พริกประเภทต่างๆ มักผลิตโดยใช้ไส้บรรจุคอลลาเจนขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 15-19 มม. และมักแยกบรรจุแบบสุญญากาศขายเป็นแท่งๆ (Rust, 2007) Beef snack sticks เป็นผลิตภัณฑ์เนื้อโคทานเล่น และอาหารสะดวกบริโภคอีกชนิดหนึ่งซึ่ง

เป็นที่นิยมมากสำหรับผู้บริโภคในสหรัฐอเมริกาและอีกหลายประเทศ มีการวางจำหน่ายอยู่ทั่วไป ซึ่ง Slim jims เป็นชื่อทางการค้าของ beef snack stick ชนิดหนึ่งผลิตโดย บริษัท ConAgra Foods, Inc. มีปริมาณการผลิตในแต่ละปีประมาณ 500 ล้านแท่ง ด้วยรสชาติที่หลากหลายมากกว่า 20 รส (Wikipedia , 2010) เป็นที่นิยมมากของผู้บริโภค ดังจะเห็นได้จากการโฆษณาจำหน่าย และการนำเสนอสูตรและวิธีการผลิตที่พบได้มากบนอินเทอร์เน็ต

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อพัฒนาสูตรสำหรับผลิตภัณฑ์เนื้อโคหมักเปรี้ยวแบบแห้งหรือกึ่งแห้งในรูปแบบเนื้อเค็มกึ่งตะวันตก
2. เพื่อศึกษากระบวนการหมักและบ่มที่เหมาะสมสำหรับผลิตเนื้อโคหมักเปรี้ยวแบบแห้งหรือกึ่งแห้งแบบกึ่งตะวันตก
3. เพื่อศึกษาคุณภาพเบื้องต้น (ทางเคมี และจุลินทรีย์) ของผลิตภัณฑ์ เนื้อโคหมักเปรี้ยวแบบแห้งหรือกึ่งแห้งแบบกึ่งตะวันตกที่ได้พัฒนาขึ้น

ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้สูตรและกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อโคหมักเปรี้ยวแบบแห้งหรือกึ่งแห้งแบบกึ่งตะวันตกที่เหมาะสม
2. ทราบคุณภาพเบื้องต้น (ทางเคมี และจุลินทรีย์) ของผลิตภัณฑ์ เนื้อโคหมักเปรี้ยวแบบแห้งหรือกึ่งแห้งแบบกึ่งตะวันตกที่ได้พัฒนาขึ้น
3. สามารถใช้สูตรและกระบวนการผลิตที่พัฒนาขึ้นเพื่อศึกษาความเป็นไปได้ของการใช้กลไกเชื้อกรดแลคติกที่สามารถสร้างสาร bacteriocins และมีคุณสมบัติเบื้องต้นเป็น probiotic

ระยะเวลาและสถานที่ดำเนินการ

เดือนเมษายน 2553 ถึง เดือนกันยายน 2553 ที่ห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเนื้อสัตว์ และห้องปฏิบัติการจุลินทรีย์เนื้อสัตว์ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

วิธีดำเนินการทดลอง

1. กล้าเชื้อจุลินทรีย์จากต่างประเทศ

Pacovis RCI-47 starter culture for raw fermented sausage Lot No. 8.850.04 , Pacovis Deutschland, GmbH

2. วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิต Slim Jims

สูตรฝรั่ง (ดัดแปลงจาก Kutas, 1999)

เนื้อเล็กร้องไห้	5.0	กิโลกรัม
ผงเพรก	120	กรัม
ปาปริกา	70	กรัม
ผงมันตาล	90	กรัม
กระเทียมสดบด	50	กรัม
ผงชูรส	5	กรัม
กลูโคส	77	กรัม
พริกไทดำ	6	กรัม
พริกไทขาว	6	กรัม
ผงคื่นช่าย	6	กรัม
กล่ำเชื้อ	6	กรัม

สูตรรสจัด (ดัดแปลงจาก Fisher, 2008)

เนื้อเล็กร้องไห้	5.0	กิโลกรัม
ผงเพรก	120	กรัม
เกลือฟอสเฟต	15	กรัม
เกลืออิริโทรเบท	25	กรัม
กระเทียมสดบด	50	กรัม
พริกไทดำ	20	กรัม
พริกป่นละเอียด	10	กรัม
ผงชูรส	5	กรัม
กลูโคส	20	กรัม
กล่ำเชื้อ	1.25	กรัม

สูตรหมา (ดัดแปลงจาก วิรัตน์ สุนน และณัฐยาพร สุนน, 2552)

เนื้อ Plate	5.0	กิโลกรัม
ตับ	500	กรัม
กระเทียมสดบด	500	กรัม
ข้าวสวย	125	กรัม

ผงเพร็ก	4.17	กรัม
เกลือฟอสเฟต	8.3	กรัม
ผงชูรส	12.5	กรัม
กลูโคส	20	กรัม
กลีเซอรีน	1.25	กรัม

3. วัสดุ อุปกรณ์ และเครื่องมือในการผลิต

- 1) ไม้เทียมคอลล่าเจนขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 19 mm. (Nippi, Japan)
- 2) เครื่องสับผสม
- 3) เครื่องอัดไส้กรอก TALSA #0542 MODEL H26PA (380/50/3), EU
- 4) Type KA 50 air-conditioned maturing cabinet (SÜDTRONIC M.Schaaf + Co., Germany)

4. อุปกรณ์และเครื่องมือในการวิเคราะห์เชื้อ

- 1) ตู้เขี่ยเชื้อ (DWYER instruments INC, USA)
- 2) ตู้บ่มเพาะเชื้อ (BD, Scientific promotion CO., LTD.)
- 3) เครื่องเขย่า (Shaking Incubator: VS-8408 SFN, Korea)
- 4) เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge CR 3i, France)
- 5) เครื่องวัดค่า pH (EUTECH PC 510)
- 6) เครื่องฆ่าไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Fx-2000i, Japan)
- 7) เครื่องผสมสารละลายในหลอดทดลอง (KMC-1300V, Korea)
- 8) ไมโครเวฟ (TRX-249M, Korea)
- 9) หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (High-Pressure Steam Sterilizer ES-315, Japan)
- 10) ไมโครปิเปต (Biopipette autoclavable, Labnet)
- 11) ตู้แช่แข็ง -20 องศาเซลเซียส (Angle Technology CO., Ltd., Thailand)
- 12) ตู้อบเครื่องแก้ว (Hot air oven: Memmert, Belgium)
- 13) อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Mettler, Germany)
- 14) เครื่องตีบดตัวอย่าง (Stomacher Bag Mixer 400 interscience, France)

5. เครื่องมือในการตรวจสอบคุณภาพ

- 1) เครื่องวัดค่า pH (EUTECH PC 510)
- 2) เครื่องวัดค่าความชื้น (Moisture analyzer, Hobart, USA.)
- 3) เครื่องวัด Water activity Novasina (NAVASINA EEJA-3, Switzerland)

6. ขั้นตอนการทำผลิตภัณฑ์

มีขั้นตอนการทำได้ดังนี้

1) นำวัตถุดิบเนื้อ (หรือตับสำหรับสูตรหมา) จากโคที่ผ่านการบ่มมา 7 วัน มาหั่นเป็นชิ้นขนาดประมาณ 2 ลูกบาศก์นิ้ว วางเรียงบนถาด นำเข้าแช่แข็งที่ -20 องศาเซลเซียสเพื่อลดอุณหภูมิของเนื้อให้ไม่เกิน -18 องศาเซลเซียส

2.) ใส่เนื้อแช่แข็งไว้ในอ่างสับผสม ล้างหน้าประมาณ 1 ชั่วโมง เพื่อลดอุณหภูมิของอ่างสับผสม เมื่อจะใช้ จึงนำเนื้อแช่แข็งออก เช็ดให้แห้ง

3) ใส่วัตถุดิบเนื้อ สับด้วยความเร็วรอบต่ำ 2 รอบ

4) เติมเครื่องเทศ และส่วนผสมอื่นๆ สับผสมด้วยความเร็วรอบสูงประมาณ 4 รอบ ลดความเร็วรอบให้ต่ำลง แล้วจึงใส่กลัเชื้อ (หากจำเป็น สามารถเติมน้ำเพื่อช่วยละลายได้เล็กน้อย) ในระหว่างสับผสมด้วยความเร็วรอบต่ำ ก่อนจะเติมเกลือชนิดต่างๆ แล้วสับผสม ระวังอย่าให้อุณหภูมิเนื้อสูงกว่า 0° ซ

5) อัดด้วยเครื่องอัดไส้กรอก ซึ่งได้ลดอุณหภูมิด้วยการแช่เนื้อแช่แข็งมาก่อนหน้านี้

6) มักเป็นท่อนยาวประมาณ 6 นิ้ว

7) นำเข้าแขวนในตู้บ่ม ทั้งนี้จากการทำการทดลองสองครั้ง มีการปรับอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ดังนี้

การทดลองครั้งที่ 1

ขั้นตอนที่ 1 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90 เปอร์เซ็นต์ เวลา 17 ชั่วโมง

ขั้นตอนที่ 2 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90 เปอร์เซ็นต์ เวลา 5 ชั่วโมง

ขั้นตอนที่ 3 อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 85 เปอร์เซ็นต์ เวลา 2 ชั่วโมง

ขั้นตอนที่ 4 อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65 เปอร์เซ็นต์ เวลา 2 ชั่วโมง

ขั้นตอนที่ 5 อุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65 เปอร์เซ็นต์ เวลา 6 ชั่วโมง

ขั้นตอนที่ 6 อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65 เปอร์เซ็นต์ เวลา 72 ชั่วโมง

ขั้นตอนที่ 7 อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65 เปอร์เซ็นต์ เวลา 72 ชั่วโมง

การทดลองครั้งที่ 2

ขั้นตอนที่ 1 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90 เปอร์เซ็นต์ เวลา 17 ชั่วโมง

ขั้นตอนที่ 2 อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65 เปอร์เซ็นต์ เวลา 2 ชั่วโมง

ขั้นตอนที่ 3 อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65 เปอร์เซ็นต์ เวลา 72 ชั่วโมง

ขั้นตอนที่ 4 อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65 เปอร์เซ็นต์ เวลา 72 ชั่วโมง

7. การวิเคราะห์คุณภาพเบื้องต้น

1) ในวันที่ผลิต (d 0) และทุกวันระหว่างการบ่ม (d1-d5) สุ่มตัวอย่างไส้กรอก จำนวน 25 g. สำหรับตรวจวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ จุลินทรีย์โดยรวม (Total aerobic plate count), Yeast and mold, และ *Escherichia coli* (*E. coli*), Coliforms (เฉพาะ d0, 1, 3, และ 4) ตามวิธีของ AOAC (2005)

2) ในวันที่ผลิต (d 0) และทุกวันระหว่างการบ่ม (d1-d5) หลังจากสุ่มตัวอย่างเพื่อตรวจเชื้อจุลินทรีย์แล้ว ทำการสุ่มตัวอย่างเพื่อวัดค่าความเป็นกรดค่า (pH) วัดค่า water activity (Aw) และวัดปริมาณความชื้น

8. การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การทดลองส่วนที่รายงานนี้ยังไม่มีวิเคราะห์ผลทางสถิติ เนื่องจากการศึกษาเพื่อให้ได้ข้อมูลเบื้องต้น

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

ผลการตรวจสอบคุณสมบัติทางเคมี

จากตารางที่ 3.1.1.1 พบว่าค่า pH ของ slim jims ทุกกลุ่มทดลองจากการทดลองครั้งที่ 1 และ 2 มีค่าลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 1 วันของการหมัก ยกเว้น slim jims สูตรรสจัดที่มีการลดลงค่อนข้างช้ากว่ากลุ่มทดลองอื่นๆ อาจเนื่องมาจากปริมาณน้ำตาลที่มีในสูตรค่อนข้างต่ำกว่าสูตรอื่นๆ แต่โดยรวมเมื่อบ่มครบ 5 วัน พบว่าค่า pH ของทุกสูตรลดลงอยู่ในระดับที่สามารถจัดอยู่ในกลุ่มของไส้กรอกแบบ dry หรือ semi-dry ได้ ยกเว้นสูตรรสจัดจากการทดลองครั้งที่ 2 ที่มีค่า pH ค่อนข้างสูง ทั้งนี้ dry sausage มักมีค่า pH ประมาณ 5.0-5.3 และ semi-dry มีค่า pH ประมาณ 4.7-5.1 (Ricke and Keeton, 1997 และ Getty, 2010)

ตารางที่ 3.1.1.1 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ของ slim jims ทั้ง 3 สูตร ระหว่างกระบวนการผลิตเป็นเวลา 5 วัน จากการทดลองครั้งที่ 1 และ 2

slim jims	pH					
	d 0	d 1	d 2	d 3	d 4	d 5
สูตรตะวันตก ครั้งที่ 1	5.8	4.4	4.3	4.3	4.2	3.9
สูตรตะวันตก ครั้งที่ 2	5.9	4.4	4.4	4.1	4.3	4.5
สูตรรสจัด ครั้งที่ 1	6.0	5.1	5.1	5.2	5.2	4.9
สูตรรสจัด ครั้งที่ 2	6.2	5.2	5.3	5.1	5.4	5.5
สูตรหม่า	6.2	4.7	4.7	4.5	4.6	4.8

สำหรับค่า A_w (ตารางที่ 3.1.1.2) พบว่า slim jims ทุกกลุ่มทดลองมีค่า A_w อยู่ในการกำหนดของ dry sausage ($A_w < 0.91$) และ semi-dry ($A_w = 0.90-0.94$) ทั้งนี้ยกเว้นสูตรรสจัดจากการทดลองครั้งที่ 2 ที่มีค่าสูงกว่ากำหนดคือ 0.96 แม้ว่าเมื่อพิจารณาค่าความชื้น (ตารางที่ 3.1.1.3) จะพบว่าทุกกลุ่มทดลองมีค่าน้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ สาเหตุส่วนหนึ่งที่สูตรรสจัดจากการทดลองครั้งที่ 2 มีแนวโน้มของค่า pH และ A_w สูงกว่าครั้งที่ 1 อาจเป็นเพราะช่วงเวลาในขั้นตอนการหมักของการทดลองที่ 2 จะน้อยกว่าที่กำหนดไว้ใน การทดลองที่ 1

ตารางที่ 3.1.1.2 การเปลี่ยนแปลงค่า A_w ของ slim jims ทั้ง 3 สูตร ระหว่างกระบวนการผลิตเป็นเวลา 5 วัน จากการทดลองครั้งที่ 1 และ 2

slim jims	A_w					
	d 0	d 1	d 2	d 3	d 4	d 5
สูตรตะวันตก ครั้งที่ 1	0.97	0.98	0.95	0.89	0.83	0.78
สูตรตะวันตก ครั้งที่ 2	0.97	0.97	0.95	0.94	0.92	0.87
สูตรรสจัด ครั้งที่ 1	0.98	0.98	0.95	0.89	0.85	0.80
สูตรรสจัด ครั้งที่ 2	0.97	0.98	0.96	0.94	0.92	0.96
สูตรหม่า	0.96	0.97	0.96	0.94	0.90	0.87

ตารางที่ 3.1.1.3 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณความชื้นของ slim jims ทั้ง 3 สูตร ระหว่างกระบวนการผลิตเป็นเวลา 5 วัน จากการทดลองครั้งที่ 1 และ 2

slim jims	เปอร์เซ็นต์ ความชื้น					
	d 0	d 1	d 2	d 3	d 4	d 5
สูตรตะวันตก ครั้งที่ 1	67.52	64.70	52.88	40.84	33.72	29.94
สูตรตะวันตก ครั้งที่ 2	67.57	68.19	60.55	56.39	46.80	32.60
สูตรรสจัด ครั้งที่ 1	67.21	64.58	60.31	42.80	35.27	31.40
สูตรรสจัด ครั้งที่ 2	71.49	68.29	51.72	53.19	51.92	41.45
สูตรหม่า	72.09	70.65	63.44	58.44	48.41	39.89

ผลการตรวจสอบคุณสมบัติทางจุลินทรีย์

จากการศึกษาเบื้องต้น จากตารางที่ 3.1.1.4 พบว่าที่ 1 วันหลังการผลิต slim jims ที่ผลิตขึ้นมีจำนวนจุลินทรีย์โดยรวมเพิ่มขึ้นประมาณ 0.4-1.3 log cfu/g ทั้งนี้โดยส่วนใหญ่คาดว่าจะเป็นกลุ่มจุลินทรีย์กรดแลคติก เนื่องจากมีการเติมกล้าเชื้อในการผลิต และพบว่าหลังจาก 2 วันจุลินทรีย์โดยรวมมีปริมาณลดลงเล็กน้อย ขณะที่ในวันสุดท้ายของการบ่มพบว่ามีค่าระหว่าง 5.9-8.4 log cfu/g

ตารางที่ 3.1.1.4 จำนวนจุลินทรีย์โดยรวม (log cfu/g) ที่ตรวจพบใน slim jims ทั้ง 3 สูตร ระหว่างกระบวนการผลิตเป็นเวลา 5 วัน จากการทดลองครั้งที่ 1 และ 2

slim jims	จุลินทรีย์โดยรวม (log cfu/g)					
	d 0	d 1	d 2	d 3	d 4	d 5
สูตรตะวันตก ครั้งที่ 1	6.7	7.1	6.1	6.0	5.9	5.9
สูตรตะวันตก ครั้งที่ 2	6.3	7.4	6.1	6.6	6.7	7.7
สูตรรสจัด ครั้งที่ 1	6.6	6.8	6.1	6.1	6.0	5.9
สูตรรสจัด ครั้งที่ 2	5.9	7.4	7.3	7.0	6.9	8.3
สูตรหมา	6.2	7.5	6.3	8.1	8.0	8.4

สำหรับจำนวน yeast and mold (ตารางที่ 3.1.1.5) มีการตรวจสอบเฉพาะในครั้งที่ 2 ที่ทำการทดลอง พบว่าในวันเริ่มการผลิต slim jims แต่ละสูตรมีจำนวน yeast and mold ระหว่าง 3.5-4.1 log cfu/g และมีจำนวนเพิ่มขึ้นเล็กน้อยตลอดการบ่ม ทั้งนี้พบว่าสูตรหมามีจำนวน yeast and mold สูงกว่าสูตรอื่นๆ ในการผลิต dry semi-dry sausage นั้นมักจะพบว่ามี yeast and mold เจริญอยู่ด้วย (Campbell-Platt, 1995)

ในตารางที่ 3.1.1.6 แสดงค่า MPN ของ *E. coli*/coliforms เห็นได้ว่าสูตรหมาจะมีจำนวน *E. coli*/coliforms สูงกว่าสูตรอื่นๆ เนื่องจากมีการใช้ตับเป็นวัตถุดิบด้วย อย่างไรก็ตามพบว่าในวันที่ 3 ของการบ่ม ตรวจพบว่าจำนวน *E. coli*/coliforms ของ slim jims ทุกสูตรมีปริมาณลดลง อาจเนื่องมาจากการให้ความร้อนที่ 70 องศาเซลเซียสในระหว่างการบ่ม

ตารางที่ 3.1.1.5 จำนวน yeast and mold (log cfu/g) ที่ตรวจพบใน slim jims ทั้ง 3 สูตร ระหว่างกระบวนการผลิต จากการทดลองครั้งที่ 2

slim jims	yeast and mold (log cfu/g)				
	d 0	d 1	d 2	d 3	d 5
สูตรตะวันตก ครั้งที่ 2	3.6	4.2	4.5	5.2	4.2
สูตรรสจัด ครั้งที่ 2	3.5	4.3	5.1	4.8	5.6
สูตรหมา	4.1	4.1	5.0	5.4	6.1

ตารางที่ 3.1.1.6 จำนวน *E. coli*/coliforms (MPN) ที่ตรวจพบใน slim jims ทั้ง 3 สูตร ระหว่างกระบวนการผลิต จากการทดลองครั้งที่ 2

slim jims	<i>E. coli</i> /coliforms (MPN)			
	d 0	d 1	d 3	d 5
สูตรตะวันตก ครั้งที่ 2	230	230	150	9.1
สูตรรสจัด ครั้งที่ 2	230	530	230	230
สูตรหมา	4600	11000	2900	2400

สรุปผลการศึกษาเบื้องต้น

จากการตรวจสอบคุณภาพบางประการ พบว่า slim jims สูตรตะวันตกและสูตรหมามีคุณสมบัติเบื้องต้นที่สามารถจัดอยู่ในกลุ่มผลิตภัณฑ์ dry หรือ semi-dry sausage ได้ และการเพิ่มช่วงเวลาในการหมักให้นานกว่า 17 ชั่วโมง อาจช่วยลดค่า pH และความชื้นลงได้ดีกว่า สำหรับสูตรรสจัด จากการทดสอบชิม (อย่างไม่เป็นทางการ) พบว่าผลิตภัณฑ์มีผิวสัมผัสค่อนข้างเหนียว (case hardening) เนื่องจากการระบายความชื้นจากภายในและที่พื้นผิวของไส้กรอกไม่สัมพันธ์กัน ซึ่งอาจเกี่ยวเนื่องถึงการหมักที่เกิดขึ้นไม่เต็มที่ด้วย

สำหรับกระบวนการผลิตที่ใช้อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสในเวลาอันสั้นเพื่อทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นอันตรายนั้น เป็นกระบวนการเพิ่มความปลอดภัยในการผลิต ลดโอกาสการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค ซึ่งการใช้ความร้อนที่ระดับต่างๆ ในการผลิตไส้กรอกกลุ่มนี้มีปฏิบัติกันในสหรัฐอเมริกา โดยเฉพาะกลุ่มที่ใช้เวลาการหมักช่วงสั้นๆ เช่น 63 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 นาที (Incze, 1998) ดังนั้นการใช้ความร้อนสูงถึง 70 องศาเซลเซียสอาจไม่เหมาะสมสำหรับกรณีต้องการผลิตไส้กรอกแบบ probiotic

ซึ่งหากมีจุลินทรีย์กรดแลคติกที่สามารถทนอุณหภูมิสูงได้ ถึง 70 องศาเซลเซียสและมีคุณสมบัติเป็น probiotic ด้วยจะเกิดทั้งประโยชน์และความปลอดภัย อย่างไรก็ตามอาจลดอุณหภูมิในการให้ความร้อนลงไม่เกิน 50 องศาเซลเซียสซึ่งกล้าเชื้อ เช่น *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ที่สร้าง Pediocin PA-1 ยังสามารถเจริญและผลิต bacteriocin ได้ (Swetwathana *et al.*, 1999; Swetwathana, 2005; Swetwathana *et al.*, 2007)

เอกสารอ้างอิง

- วิรัตน์ สุมน และณัฐยาพร สุมน. 2552. ผลิตภัณฑ์พื้นบ้านจากเนื้อโคไทย. ใน คุณค่าเนื้อโคไทย (จุฬารัตน์ เศรษฐกุล และ พรรณีภา ศิวะพิรุณห์เทพ, บรรณาธิการ). บริษัทอมรินทร์พริ้นติ้ง แอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด (มหาชน), กรุงเทพฯ, น. 87-94.
- AOAC International. 2005. Official Methods of Analysis of AOAC International, 18th Ed., Microbiological Methods No. 966.24. AOAC INTERNATIONAL, USA.
- Campbell-Platt, G. 1995. Fermented meats-a world perspective. In Fermented Meat, (G. Campbell-Platt and P.E. Cook, Eds.), Blackie Academic & Professional, London, UK. p. 39-52.
- Fisher, A. 2008. Western Fermented Meat Products Processing. A workshop program at the Meat Technology Network Center, Faculty of Agricultural technology, KMITL, December 2-4, 2008.
- Getty, K.K. 2010. Dry and semi-dry fermented and direct acidified sausage validation. National Pork Board, American Meat Science Association Fact Sheet.
- Ricke, S.C. and Keeton, J.T. 1997. Fermented meat, poultry, and fish products. In Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers, Chapter 33, Doyle, M.P., Beuchat, L.R., and Montville, T.J. (Eds.), ASM Press, USA. p. 610-628.
- Rust, R.E. 2004. Ethnic Meat Products: North America. In Encyclopedia of Meat Sciences. 1st Ed. W.K. Jensen, C. Devine, and M. Dikeman, Editors. Elsevier Ltd., UK. p. 455-457.
- Rust, R.E. 2007. U.S. Products. In Handbook of Fermented Meat and Poultry. Toldra, F., Hui, Y.H., Nip, W.-K., Sebranek, J.G., Silveira, E-T. F., Stahnke, L.H., and Talon, R. (Eds.). Blackwell Publishing, USA. 303-306.
- Incze, K. 1998. Dry fermented sausages. Meat Sci, 49 (Suppl. I): S169-S177.

- Kutus, R. 1999. Dried sausage sticks (Slim Jims). Chapter XII Cured Sausage Semi-Dry, In Great Sausage Recipes and Meat Curing, B. Kutus, Editor. The Sausage Maker Inc., USA. p. 343-408
- Toldra, F. , Hui., Y.H., Nip, W.-K. 2007. Dry-fermented sausages. In Handbook of Fermented Meat and Poultry. Toldra, F. , Hui., Y.H., Nip, W.-K., Sebranek, J.G., Silveira, E-T. F., Stahnke, L.H., and Talon, R. (Eds.). Blackwell Publishing, USA. p. 321-327.
- Swetwiwathana, A., Leutz, U., Lotong, N., and Fischer, A. 1999. Controlling the Growth of *Salmonella anatum* in Nham. *Fleischwirtschaft*. 79(9) : 124-128.
- Swetwiwathana, A. 2005. Microbiological quality enhancement of Thai fermented meat product (Nham) using Nham-associated pediocin-producing lactic acid bacteria (*Pediococcus pentosaceus* TISTR 536). Philosophy Degree thesis, Kyushu University, Japan.
- Swetwiwathana, A., Lotong, N., Nakayama, J., and Sonomoto, K. 2007. Maturation of Nham – a Thai Fermented Meat Product : Effect of Pediocin PA-1 Producer (*Pediococcus pentosaceus* TISTR 536) as Starter Culture, Nitrite and Garlic on *Salmonella anatum* during Nham Fermentation. *Fleischwirtschaft International*. 22(3) : 46 – 49.
- Wikipedia. 2010. Slim Jim (Snack Food). Wikipedia Foundation, Inc. Available: [http://en.wikipedia.org/wiki/Slim_Jim_\(snack_food\)](http://en.wikipedia.org/wiki/Slim_Jim_(snack_food)), October 15, 2010.

3.1.2 ผลของการใช้กล้ามเนื้อแบคทีเรียกรดแลคติกในการผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อโคพื้นเมืองหมักกึ่งแห้งโดยใช้แนวการผลิตแบบตะวันตก: หมูแห้งทานเล่นกึ่งแห้ง (Semi-dry Mum Snack Stick)

หลักการและเหตุผล

การใช้เนื้อโคพื้นเมืองของไทยเป็นวัตถุดิบสำหรับพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ประเภทต่างๆ เป็นการเพิ่มมูลค่าและขยายโอกาสทางการตลาดให้กับเนื้อโคพื้นเมือง ซึ่งการผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อประเภทหมักหรือหมักเปรี้ยว (Fermented meat products) เป็นวิธีการถนอมรักษาเนื้อสัตว์รูปแบบหนึ่งที่เป็นภูมิปัญญาชาวบ้าน โดยอาศัยการสร้างกรดจากแบคทีเรียกรดแลคติก ทำให้ผลิตภัณฑ์มีรสชาติเปรี้ยว และมีเนื้อสัมผัสเฉพาะตัว แตกต่างไปจากผลิตภัณฑ์เนื้อประเภทอื่นๆ ทั้งนี้ นอกเหนือจากแฮมและไส้กรอกเปรี้ยว ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์เนื้อหมักที่นิยมกันโดยทั่วไปของชาวไทยแล้ว หมู เป็นผลิตภัณฑ์เนื้อหมักอีกชนิดหนึ่งซึ่งเป็นที่นิยมกันมากในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ทั้งนี้ สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (2546) ระบุใน มพข. 146/2546 ว่า หมู หรืออาจเรียกว่า หมู หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ทำจากส่วนที่เป็นเนื้อของวัว ควายหรือหมู เป็นส่วนประกอบหลัก ผสมกับตับและมันของสัตว์นั้นๆ แล้วเติมเครื่องปรุง เช่น เกลือ ข้าวคั่ว ข้าวสุก กระเทียมบด นวดให้เข้ากัน บรรจุลงไส้ หรือกระเพาะปัสสาวะสัตว์ที่สะอาด หรือบรรจุในไส้อื่นที่บริโภคได้ แล้วผูกปลายหรือมัดเป็นท่อนๆ ผึ่งไว้ในร่ม 2 ถึง 3 วัน จนมีรสเปรี้ยว จากกรรมวิธีการผลิตหมูดังกล่าวซึ่งเป็นการผลิตโดยอาศัยการหมักให้เกิดขึ้นตามธรรมชาติ และยังคงเป็นวิธีการที่ผู้ผลิตโดยทั่วไปใช้ปฏิบัติกันอยู่ รวมถึงระยะเวลาที่ใช้ในการผลิตที่ไม่แน่นอน อาจทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีคุณภาพที่ไม่สม่ำเสมอ และที่สำคัญอาจมีความเสี่ยงต่ออันตรายที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรค การใช้กล้ามเนื้อแบคทีเรียกรดแลคติกเพื่อเป็นกล้ามเนื้อตั้งต้นในการผลิตจึงมีบทบาทสำคัญและสามารถช่วยลดปัญหาต่างๆ ดังกล่าวข้างต้นได้ โดยเฉพาะการใช้กล้ามเนื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่สามารถผลิตสารแบคทีริโอซิน และมีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติก เพราะนอกจากจะช่วยเพิ่มความปลอดภัยให้กับผลิตภัณฑ์แล้วยังอาจส่งผลดีต่อสุขภาพอีกด้วย นอกจากนี้การนำเทคโนโลยีการผลิตผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักแบบกึ่งแห้งตามแนวการผลิตแบบตะวันตก ที่นอกจากจะใช้กระบวนการหมักเพื่อเพิ่มความเป็นกรดให้กับผลิตภัณฑ์แล้ว ยังมีการลดความชื้นในผลิตภัณฑ์ลงในช่วงกระบวนการผลิต ซึ่งเป็นการเพิ่มความปลอดภัยในการบริโภคและสามารถยืดอายุการเก็บรักษาให้นานขึ้นด้วย ยิ่งไปกว่านั้นเทคโนโลยีการผลิตไส้กรอกหมักกึ่งแห้งแบบตะวันตกโดยเฉพาะในสหรัฐอเมริกา ยังมีการให้ความร้อนในระดับต่างๆ เป็นเวลาต่างๆ กันในระหว่างการผลิตเพื่อช่วยควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค ซึ่งเป็นมาตรการเพิ่มความปลอดภัยให้กับผลิตภัณฑ์อีกระดับหนึ่ง

อย่างไรก็ตามความร้อนที่ใช้ในการผลิตนี้จะต้องอยู่ในระดับที่กล้ามเนื้อเนื้อที่เรียกว่าแลคติกที่ใช้อย่างมีประสิทธิภาพมีชีวิตอยู่และเจริญเติบโตได้ เพื่อคงคุณสมบัติการเป็นโปรไบโอติกของผลิตภัณฑ์เอาไว้

Snack sticks จัดเป็นผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักเปรี้ยวแบบกึ่งแห้ง ที่มีอายุการเก็บรักษาค่อนข้างนาน สามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ภายใต้การบรรจุที่เหมาะสม (Shelf-stable) มีส่วนผสมที่คล้ายกับ summer sausage และอาจมีการเสริมเครื่องเทศจัด เช่น พริกประเภทต่างๆ มักผลิตโดยใช้ไส้บรรจุคอลลาเจนขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 15-19 มม. เพื่อให้เป็นแท่งไส้กรอกขนาดเล็ก และมักแยกบรรจุแบบสุญญากาศเป็นแท่งๆ (Rust, 2007) โดยเฉพาะ Beef snack sticks ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์เนื้อโคทานเล่น หรือเป็นอาหารว่างสะดวกบริโภคชนิดหนึ่งที่เป็นที่นิยมมากสำหรับผู้บริโภคในสหรัฐอเมริกาและอีกหลายประเทศ มีการวางจำหน่ายอยู่ทั่วไปทั้งตามซูเปอร์มาร์เก็ต หรือในร้านสะดวกซื้อตามปั้มน้ำมัน ซึ่ง Slim jims เป็นชื่อทางการค้าของ Beef snack stick ชนิดหนึ่งที่ผลิตโดย บริษัท ConAgra Foods, Inc. มีปริมาณการผลิตในแต่ละปีประมาณ 500 ล้านแท่ง ด้วยรสชาติที่หลากหลายมากกว่า 20 รส (Wikipedia , 2010) และเป็นที่นิยมมากของผู้บริโภค ดังจะเห็นได้จากการโฆษณาจำหน่าย และการนำเสนอสูตรและวิธีการผลิตที่พบได้มากมายตามอินเทอร์เน็ต

ดังนั้นการพัฒนาผลิตภัณฑ์หม่าแท่งทานเล่นกึ่งแห้งโดยใช้วัตถุดิบเนื้อโคพื้นเมือง ร่วมกับเทคโนโลยีฮาร์ดเดิล (Hurdle technology) โดยใช้กล้ามเนื้อเนื้อโคที่เรียกว่าแลคติกที่สามารถสร้างสารแบคทีเรียโอซิน และมีแนวโน้มเป็นโปรไบโอติก ซึ่งค้นพบโดยนักวิจัยของศูนย์เครือข่ายการวิจัยเทคโนโลยีเนื้อสัตว์ และใช้แนวการผลิตไส้กรอกกึ่งแห้งแบบตะวันตก จึงเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับวัตถุดิบเนื้อโคพื้นเมืองของไทย เพราะนอกจากจะสามารถเพิ่มความปลอดภัย ยืดอายุการเก็บรักษา และอาจจะส่งผลดีต่อสุขภาพแล้ว ยังเพิ่มความสะดวกในการนำไปบริโภคในลักษณะของไส้กรอกกึ่งแห้งแท่งเล็กๆ ซึ่งอาจช่วยขยายโอกาสทางการตลาดให้กับเนื้อโคไทยอีกด้วย

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

คุณสมบัติของหม่าและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

หม่า เป็นผลิตภัณฑ์พื้นบ้านรับประทานกันมากทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย โดยสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (2546) ให้นิยามดังระบุใน มพช. 146/2546 ว่า หม่า หรือที่เรียกว่า หม่า หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ทำจากส่วนที่เป็นเนื้อของวัว ควายหรือหมู เป็นส่วนประกอบหลักผสมกับตับและมันของสัตว์นั้นๆ แล้วเติมเครื่องปรุง เช่น เกลือ ข้าวคั่ว ข้าวสุก กระเทียมบด นวดให้เข้ากัน บรรจุลงไส้ หรือกระเพาะปัสสาวะสัตว์ที่สะอาด หรือบรรจุในไส้อื่นที่บริโภคได้ แล้วผูกปลายหรือมัดเป็นท่อนๆ ผึ่งไว้ในร่ม 2 ถึง 3 วัน จนมีรสเปรี้ยว โดยอาจแบ่งออกเป็น หม่าเนื้อ และหม่าหมู

นอกจากนั้นหม่ำ หรือบางครั้งเรียกว่า มั้ม ซึ่งงานนิจ นนทโส (2539) กล่าวว่าสามารถแบ่งเป็น หม่ำซ้อ หม่ำพอก และหม่ำหม้อ ตามภาชนะบรรจุ โดยหม่ำซ้อ คือหม่ำที่บรรจุในไส้หมูหรือไส้วัวสด ผูกเป็น ท่อน ความยาวประมาณ 4-5 นิ้ว แขนงหมักไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1-2 วัน จึงรับประทานได้ ส่วนหม่ำพอก คือหม่ำที่บรรจุในไส้ตั้งของวัว จึงมีขนาดใหญ่ น้ำหนัก 1-4 กก. ต้องหมัก 2-3 วัน จึงจะมีรสเปรี้ยว เมื่อ หมักทิ้งไว้นานขึ้นหรืออาจตากแดด จะมีน้ำหนักลดลงเพราะสูญเสียความชื้น หม่ำพอกที่แห้งดี จะ สามารถเก็บได้นาน 1-3 เดือน สำหรับหม่ำหม้อ เป็นหม่ำที่มีราคาถูก เพราะมีการหมักเนื้อผสมกับปอด ตับบด และม้ามบด หมักโดยอัดบรรจุลงในหม้อหรือภาชนะอื่นเป็นเวลา 1-2 วัน จึงตัดออกจำหน่าย

คุณลักษณะที่ต้องการของหม่ำที่ระบุใน มพข. 146/2546 คือ ควรมีการกระจายตัวของ ส่วนประกอบที่ใช้ผสมกันอย่างทั่วถึง มีสีที่สีตามธรรมชาติของส่วนประกอบที่ใช้ มีกลิ่นรสที่ดีตาม ธรรมชาติที่เกิดจากการหมักของส่วนประกอบที่ใช้ มีรสเปรี้ยวพอเหมาะ ปราศจากกลิ่นอื่นที่ไม่พึง ประสงค์ มีเนื้อนุ่ม แห้ง ไม่รวน ไม่พบสิ่งแปลกปลอมที่ไม่ใช่ส่วนประกอบที่ใช้ และห้ามใช้สีผสม อาหารทุกชนิด (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2546)

สำหรับคุณสมบัติทางเคมีและทางจุลินทรีย์ มพข. 146/2546 ระบุว่า หม่ำ หรือหม่ำ ต้องมีค่า ความเป็นกรด-ด่างไม่เกิน 4.6 มีปริมาณโปรตีนไม่น้อยกว่าร้อยละ 17 โดยน้ำหนัก และมีปริมาณไขมัน ไม่เกินร้อยละ 5 และ 10 โดยน้ำหนัก สำหรับหม่ำเนื้อและหม่ำหมู ตามลำดับ ทั้งนี้ต้องไม่พบซาล โมเนลลาในตัวอย่าง 25 กรัม ไม่พบสตาฟีโลค็อกคัส ออเรียส และคลอสทริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์ ใน ตัวอย่าง 0.1 กรัม ปริมาณเอสเชอริเชีย โคลิ โดยวิธีเอ็มพีเอ็น ต้องน้อยกว่า 3 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม และ ปริมาณยีสต์และรา ต้องน้อยกว่า 100 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม (สำนักงานมาตรฐาน ผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2546)

งานนิจ นนทโส (2539) สํารวจตัวอย่างหม่ำ 3 ตัวอย่างจากจังหวัดกาฬสินธุ์ พบว่าในวันเริ่มต้น หม่ำมีความชื้น 72.13 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณกรด 22.76 มก./ก. ค่า pH 5.59 และแบคทีเรียแลคติก 6.17 log cfu/g และภายหลังการผึ่งแดด 1 วัน แล้วหมักไว้ที่อากาศถ่ายเทรวม 14 วัน พบว่าหม่ำมีความชื้น 29.99 เปอร์เซ็นต์ (ลดลงจากวันเริ่มต้น 42.16 เปอร์เซ็นต์) ปริมาณกรด 26.07 มก./ก. ค่า pH 5.36 และ แบคทีเรียแลคติก 9.15 log cfu/g โดยพบว่าแบคทีเรียกรดแลคติกที่พบมากที่สุดคือ *Pediococcus* (31.67 เปอร์เซ็นต์), *Enterococcus* (24.0 เปอร์เซ็นต์), และ *Lactobacillus* (11.67 เปอร์เซ็นต์) กิตติวรรณ ยอด รักษ์ (2546) ศึกษาคุณภาพหม่ำโดยหมักและทำแห้งที่ 30 องศาเซลเซียสพบว่าเมื่อเริ่มต้นหมัก หม่ำมี ปริมาณกรดแลคติก 0.79-0.91 เปอร์เซ็นต์ ค่า pH ประมาณ 4.95-4.99 และความชื้น 63.17-65.78 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นที่เวลา 24 ชั่วโมง พบว่ามีปริมาณกรดแลคติกเพิ่มเป็น 1.18-1.34 เปอร์เซ็นต์ ค่า pH ประมาณ 4.27-4.39 และความชื้นลดลงอยู่ในช่วง 55.23-57.98 เปอร์เซ็นต์ และภายหลังหมักและทำแห้ง

ที่ 48 ชั่วโมงพบว่า ปริมาณกรดแลคติกเพิ่มเป็น 1.84-2.14 เปอร์เซ็นต์ ค่า pH ประมาณ 3.71-3.96 และความชื้นมีค่าประมาณ 52 เปอร์เซ็นต์ จากรายงานของ อรรถพล สุจริตรักษ์ (2549) พบว่ามีแบคทีเรียกรดแลคติก 4 ชนิดที่คัดแยกได้จากหม่าพื้นบ้านที่มีความสำคัญต่อการหมักได้แก่ *Pediococcus acidilactici*, *Lactobacillus plantarum*¹, *Lactobacillus plantarum*², และ *Lactobacillus cellobiosus* นอกจากนั้นผู้วิจัยได้ศึกษาผลการใช้กล้าเชื้อเริ่มต้น *Pediococcus acidilactici* ในการผลิตหม่า และรายงานว่า การใช้กล้าเชื้อเริ่มต้นที่ 6 log cfu/g เป็นระดับที่เหมาะสม โดยพบว่าระยะเวลาการหมัก 48 ชั่วโมง ที่ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลาการหมักที่ให้ผลดีที่สุด และได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพทางประสาทสัมผัสใกล้เคียงค่าอุดมคติที่สุด นอกจากนั้น วิรัตน์ สุมน และณัฏยาพร สุมน (2552) ศึกษาคุณภาพหม่าที่ทำจากเนื้อโคพื้นเมือง เนื้อโคที่ขุนด้วยสับปะรด และเนื้อโคขุนกำแพงแสน โดยหมักในตู้อบลมร้อนที่ 40 องศาเซลเซียสนาน 24 ชั่วโมง ก่อนบรรจุในถุงพลาสติกใสสารดูดซับออกซิเจน เก็บที่อุณหภูมิห้อง 60 วัน พบว่าในวันเริ่มผลิต หม่ามีค่า Aw เท่ากับ 0.93 และมีค่า pH 4.54-4.75 แต่ภายหลังการเก็บเป็นเวลา 10 วัน พบว่าค่า pH ลดลงเหลือ 3.91-3.98 สำหรับด้านจุลินทรีย์ ผู้วิจัยพบว่า หม่าที่ผลิตจากเนื้อโคพื้นเมืองมีจุลินทรีย์ทั้งหมดเมื่อเริ่มผลิตในปริมาณ 3.3×10^5 cfu/g มียีสต์ในจำนวน 8.1×10^4 cfu/g และเชื้อรา <10 cfu/g จำนวน *E. coli* มีปริมาณ 93 MPN/g ซึ่งภายหลังการเก็บรักษาโดยใช้สารดูดซับออกซิเจน พบว่ายีสต์ลดลงเป็น <10 cfu/g ขณะที่ *E. coli* มีปริมาณ <3 MPN/g นอกจากนั้นผู้วิจัยตรวจไม่พบ *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, และ *Salmonella* spp.

การผลิตไส้กรอกแห้งและกึ่งแห้งแบบตะวันตก

การผลิตไส้กรอกหมักกึ่งแห้งและแบบแห้งโดยใช้วิธีการผลิตแบบตะวันตกก่อนข้างมีความหลากหลาย ซึ่งจะกล่าวถึงโดยสังเขป ดังนี้

1) การผลิตไส้กรอกหมักแบบแห้ง (dry fermented sausages)

ในการผลิตไส้กรอกหมักแบบแห้งในยุโรปมักจะใช้การหมักที่อุณหภูมิต่ำ เช่น 15-26 องศาเซลเซียสความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ เวลาประมาณ 3 วัน จนกระทั่งได้ค่า pH น้อยกว่า 4.7 (Slow fermentation) แต่ในสหรัฐอเมริกา พบว่ามีการหมักที่ 37.8-43.3 องศาเซลเซียส ด้วยเวลาที่สั้นลงคือน้อยกว่า 24 ชั่วโมง (Fast fermentation) ทั้งนี้ขึ้นกับขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของไส้กรอก และความเหมาะสมสำหรับการเจริญของกล้าเชื้อที่ใช้ ค่า pH สุดท้ายที่ได้มักมีค่าระหว่าง 4.7 และไม่เกิน 5.3 (Ricke and Keeton, 1997) จากนั้นจึงเข้าสู่กระบวนการทำแห้งแบบค่อยเป็นค่อยไปที่ 12-15 องศาเซลเซียส โดยมีการลดความชื้นสัมพัทธ์ในการบ่มลงอย่างต่อเนื่อง (Campbell-Platt, 1995) ในสหรัฐอเมริกา อุณหภูมิการทำแห้งจะอยู่ที่ 10-11 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 68-72 เปอร์เซ็นต์ อาจใช้เวลาอย่างน้อย 21 วัน โดยมักจะมีการสูญเสียความชื้นไปประมาณ 25-50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสุดท้าย

แล้ว ไส้กรอกแบบแห้งมักมีค่า pH ประมาณ 5.0-5.3 ปริมาณกรดแลคติก 0.5-1.0 เปอร์เซ็นต์ และควรมีค่า MPR น้อยกว่า 2.3:1 โดยมีความชื้นในผลิตภัณฑ์น้อยกว่า 35 เปอร์เซ็นต์ และ ค่า Aw ไม่เกิน 0.91 (Getty, 2010)

2) การผลิตไส้กรอกหมักเปรี้ยวแบบกึ่งแห้ง (semi-dry fermented sausages)

ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักแบบกึ่งแห้ง มักมีปริมาณความชื้นในผลิตภัณฑ์ประมาณ 35-50 เปอร์เซ็นต์ มักใช้อุณหภูมิการหมักที่ 25-32 องศาเซลเซียสความชื้นสัมพัทธ์ค่อนข้างสูงที่ 85-95 เปอร์เซ็นต์ และผ่านการรมควัน (smoking) ที่ 35-50 องศาเซลเซียส เวลาประมาณ 12-48 ชั่วโมง (Campbell-Platt, 1995) ระดับของอุณหภูมิที่ใช้รมควันอาจเป็นการรมควันเย็นที่ 15-25 องศาเซลเซียส หรือรมควันอุ่นที่ 30-50 องศาเซลเซียสหรือรมควันร้อนที่ 60-90 องศาเซลเซียสซึ่งหากเป็นการรมควันร้อน อุณหภูมิใจกลางของผลิตภัณฑ์อาจมีค่าถึง 65 องศาเซลเซียสหรือสูงกว่านั้น (Rust, 2007) หลังจากนั้นจะเข้าสู่กระบวนการบ่มเพื่อลดความชื้นเป็นเวลา 10-25 วัน ที่ 14-18 องศาเซลเซียสภายใต้ความชื้นสัมพัทธ์ที่ลดต่ำลง ในระหว่างนี้ไส้กรอกจะมีการสูญเสียน้ำหนัก มีการหดตัว ผิวนอกอาจเหี่ยวแห้ง และเกิดกลิ่นรสเฉพาะตัว (Campbell-Platt, 1995) สุดท้ายมักมีค่า pH ประมาณ 4.7-5.1 ปริมาณกรดแลคติก 0.5-1.3 เปอร์เซ็นต์ และค่า moisture to protein ratio (MPR) มากกว่า 2.3:1 แต่จะไม่เกิน 3.7:1 ปริมาณความชื้นในผลิตภัณฑ์อาจสูญเสียไปประมาณ 8-15 เปอร์เซ็นต์ มีค่า Aw ประมาณ 0.90-0.94 ขึ้นกับชนิดของผลิตภัณฑ์ ข้อกำหนดของผู้ผลิตแต่ละราย หรือขึ้นกับข้อกำหนดของแต่ละประเทศ และเนื่องจากค่า MPR ที่ค่อนข้างสูงของ semi-dry sausage จึงควรเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กลุ่มนี้โดยการแช่เย็น (Getty, 2010)

การให้ความร้อนในการผลิตไส้กรอกแห้งหรือกึ่งแห้งและผลต่อจุลินทรีย์

นอกจากการให้ความร้อนในระหว่างการรมควัน ภายหลังการหมักแล้ว ยังมีการให้ความร้อนแก่ไส้กรอกกึ่งแห้งโดยเฉพาะในกลุ่มผลิตภัณฑ์ที่ใช้เวลาการหมักช่วงสั้นๆ เช่นที่ 63 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 นาที (Incze, 1998) หรือการให้ความร้อนภายหลังกระบวนการลดความชื้น ซึ่งเป็นมาตรการเพิ่มความปลอดภัยจากแบคทีเรียก่อโรค และมีการปฏิบัติกันในการผลิตไส้กรอกกึ่งแห้งในสหรัฐอเมริกา Getty et al. (1999) รายงานว่าการบ่ม Lebanon bologna ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 90 มม. และ 115 มม. โดยใช้อุณหภูมิต่ำเป็นเวลานาน (Slow fermentation) และผ่านกระบวนการให้ความร้อน จะสามารถลด *E. coli* O157:H7 ลงได้ $> 5 \log \text{ cfu/g}$ ซึ่งในประเทศตุรกี มีการประยุกต์ใช้วิธีการให้ความร้อนในระหว่างการผลิต Sucuk ซึ่งเป็นไส้กรอกกึ่งแห้ง โดยให้ความร้อนที่ 45-70 องศาเซลเซียส ภายหลังการหมักเป็นเวลาสั้นๆ หรืออาจให้ความร้อนภายหลังขั้นตอนการลดความชื้น อย่างไรก็ตามกลไกการสลายของ

Sucuk ที่ผ่านการให้ความร้อนอาจจะมีคุณภาพไม่เทียบเท่าชนิดที่ผลิตด้วยวิธีดั้งเดิมโดยไม่ผ่านความร้อน (Dalmis and Soyer, 2008) นอกจากนั้น Ensoy et al. (2009) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีและทางจุลินทรีย์ของ Sucuk ที่ผลิตจากไก่วง โดยศึกษาผลของการใช้เกลือรวม 2 กลุ่ม และผลของการให้ความร้อนที่ 70 องศาเซลเซียสแก่ผลิตภัณฑ์ ภายหลังการหมัก จนได้อุนหนุมิใจกลางที่ 55 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 นาที ผู้วิจัยพบว่า การให้ความร้อนมีผลทำให้ปริมาณยีสต์ลดลง 1 log cfu/g นอกจากนั้น lactic acid bacteria, total mesophilic aerobic bacteria และ micrococci-staphylococci มีปริมาณลดลง 1.5 log cfu/g จากผลการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่ายังคงมีแบคทีเรียกรดแลคติกบางส่วนที่สามารถทนความร้อน และคงเหลืออยู่ภายหลังจากการให้ความร้อนที่อุณหภูมิดังกล่าว นอกจากนั้น Ramirez-chavarin et al. (2010) ได้ศึกษาและคัดแยกแบคทีเรียกรดแลคติกกลุ่ม thermotolerant จากไส้กรอกสุกที่ผ่านความร้อน 70 องศาเซลเซียสนาน 30 นาที เพื่อศึกษาคุณสมบัติการเป็น bioprotective culture และรายงานว่ามี 10 strains จาก 22 strains ที่มีคุณสมบัติดังกล่าวโดยอยู่ในกลุ่มของ *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Aerococcus* และ *Enterococcus* ซึ่งจากการศึกษาของ Swetwathana et al. (1999), Swetwathana (2005) และ Swetwathana et al. (2007) รายงานว่า *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ที่สร้าง Pediocin PA-1 ยังสามารถเจริญและผลิต bacteriocin ได้ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ต่อมาจากรายงานวิจัยโดย สิริพร พงษ์วุฒิประพันธ์ (2553) ได้นำเนื้อโคพันธุ์ราห์มันที่ผ่านการแช่แข็ง มาผลิตแฮมโดยเติมและไม่เติมเกลือ *P. pentosaceus* TISTR 536 ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 6.6×10^6 cfu/mL และเติม *S. Anatum* ประมาณ 10^4 cfu/mL และทำให้เป็นแฮมอบแห้งหลังจากหมักครบ 3 วัน ด้วยการใช้อุณหภูมิร้อนที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียสในเวลา 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง แล้วทำการตรวจหาเชื้อซาลโมเนลลาและเชื้อแบคทีเรียแลคติกในแฮมก่อนหมักหมักครบ 3 วัน และหลังอบแห้ง 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง พบว่าหลังจากการหมักแฮมทั้งที่มีการเติมเชื้อเริ่มต้นและไม่เติมเชื้อเริ่มต้นครบ 3 วัน ยังคงตรวจพบเชื้อซาลโมเนลลาจากตัวอย่างแฮม โดยก่อนการอบแห้งพบ *S. Anatum* มากที่สุด และในระหว่างการอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส พบว่าสามารถยับยั้งและลดปริมาณเชื้อ *S. Anatum* ได้ภายใน 6 ชั่วโมงของการอบแห้ง ในขณะที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ไม่พบเชื้อซาลโมเนลลาหลังทำการอบแห้งที่ 2 ชั่วโมง และหลังทำการอบแห้ง 8 ชั่วโมง พบว่ายังคงมีเชื้อแบคทีเรียแลคติกเหลือรอดอยู่ในปริมาณที่สูงในแฮมเนื้อ โคที่ผลิตที่อบแห้งที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส โดยมีปริมาณอยู่ที่ 6.75 log cfu/g และ 6.96 log cfu/g ตามลำดับ

คุณสมบัติของ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 และ *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* P 2

Swetwathana *et al.* (2005) คัดแยกเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 จากแหนมเนื้อหมู พบว่ามีคุณสมบัติผลิตแบคทีเรียโอซินชนิด pediocin PA-1 ที่มีคุณสมบัติยับยั้งเชื้อ *Enterococcus faecalis*, *Kocuria varians*, *Lactobacillus plantarum*, *Lb. sakei*, *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Listeria innocua* และ *Lb. monocytogenes* นอกจากนี้เชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 มีคุณสมบัติเบื้องต้นเป็นโปรไบโอติก โดยเชื้อมีความสามารถทนค่า pH เท่ากับ 2 สามารถทนเกลือน้ำดี (bile salt) ที่ความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ และพบว่า เชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 เป็นสายพันธุ์ที่มีผลต่อ ด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมของแหนมหมูที่เติมกล้าเชื้อดังกล่าว นอกจากนี้ จากการศึกษาคุณสมบัติการเป็นกล้าเชื้อในเบื้องต้นโดย Swetwathana *et al.* (2004) พบว่า เชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 สามารถทนต่อไนโตรที่ 125 ppm

จากการศึกษาเบื้องต้นของนักวิจัยของศูนย์เครือข่ายการวิจัยเทคโนโลยีเนื้อสัตว์และ Runjuankiat *et al.* (2009) รายงานว่าเชื้อ *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* P 2 สามารถสร้างสารแบคทีเรียโอซินที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อ *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917, *Lactobacillus sakei* subsp. *sakei* JCM 1157^T, *Lactobacillus sakei* TISTR 890, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* TISTR 1344, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *Mesenteroides* JCM 6128^T, *Leuconostoc mesenteroides* TISTR 942, *Bacillus coagulans* JCM 2257^T, *Listeria innocua* ATCC 33090, *Brochetrix campestris* NBRC 11547, *Pseudomonas fluorescens* JCM 5693^T, *Enterococcus faecalis* JCM 5803^T, *E. faecalis* TISTR 888 แต่ไม่สามารถยับยั้ง *Pseudomonas fluorescens* TISTR 358, *Staphylococcus aureus* TISTR 118 และ *Streptococcus* sp. TISTR 1030 ส่วนคุณสมบัติเบื้องต้นในการเป็นโปรไบโอติกของเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 คือ สามารถทนต่อสภาวะที่ pH เท่ากับ 3-10 และสร้างสารแบคทีเรียโอซินได้ดีที่ pH เท่ากับ 6 ทนต่อโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1-5 เปอร์เซ็นต์ แต่สามารถสร้างสารแบคทีเรียโอซินได้ดีที่ 1-4 เปอร์เซ็นต์ และ 1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และแต่ไม่สามารถทนต่อความเข้มข้นของ Bile salts ที่ 0.3 เปอร์เซ็นต์ และสามารถมีชีวิตอยู่ได้ในสภาวะกระเพาะและลำไส้จำลองที่ค่า pH เท่ากับ 2.5, 3, 4 และ 7 ส่วนคุณสมบัติในการเป็นกล้าเชื้อ คือ สามารถมีชีวิตอยู่ได้และมีจำนวนลดลงเล็กน้อยในสภาวะแหนมจำลองที่มีไนโตรที่เป็นองค์ประกอบ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์จากเนื้อโคพื้นเมืองประเภทหมักแบบแห้งหรือกึ่งแห้งในรูปแบบกึ่งตะวันตก

2. เพื่อศึกษาคุณภาพเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์เนื้อโคพื้นเมืองหมักกึ่งแห้งแบบกึ่งตะวันตก (หม่าแท่งกึ่งแห้ง) ที่ผลิตโดยประยุกต์ใช้กระบวนการผลิตไส้กรอกกึ่งแห้งแบบตะวันตก เพื่อเพิ่มความปลอดภัยให้กับผลิตภัณฑ์
3. เพื่อศึกษาผลของการใช้กลูต้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่สามารถสร้างสาร bacteriocins และมีคุณสมบัติเบื้องต้นเป็น probiotic เปรียบเทียบกับการหมักโดยใช้กลูต้าเชื้อเริ่มต้นของต่างประเทศ และการหมักโดยไม่เติมกลูต้าเชื้อ ต่อคุณภาพเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์เนื้อโคพื้นเมืองหมักกึ่งแห้งแบบกึ่งตะวันตกที่พัฒนาขึ้น
4. เพื่อศึกษาความชอบของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์เนื้อโคพื้นเมืองหมักกึ่งแห้งแบบกึ่งตะวันตกที่พัฒนาขึ้น

ขอบเขตการวิจัย

ศึกษาความเป็นไปได้ในการนำเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 และ *Lc. lactis* spp. *lactis* P 2 มาใช้เป็นกลูต้าเชื้อในผลิตภัณฑ์หม่าเนื้อโคกึ่งแห้งเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และกลุ่มทดลองที่ใช้กลูต้าเชื้อทางการค้า *Pacovis* RCI - 47 ที่ผลิตด้วยกระบวนการผลิตแบบตะวันตก โดยการหมักที่ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 วัน ผ่านการให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง และลดความชื้นต่ออีก 6 วันที่ 14 องศาเซลเซียสความชื้นสัมพัทธ์ 65 เปอร์เซ็นต์ ทำการศึกษาคูณภาพทางด้านจุลินทรีย์ ได้แก่ ปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติก, Coliform, *E. coli*, Yeast, mold, *Salmonella* spp. และ *S. aureus* และคุณภาพทางเคมีและกายภาพ ได้แก่ ค่า Aw ปริมาณความชื้น pH ปริมาณกรดทั้งหมด น้ำหนักที่สูญเสีย และค่าสี

ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ผลิตภัณฑ์จากเนื้อโคพื้นเมืองประเภทหมักแบบแห้งหรือกึ่งแห้งในรูปแบบกึ่งตะวันตก
2. ทราบถึงคุณภาพเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์เนื้อโคพื้นเมืองหมักกึ่งแห้งแบบกึ่งตะวันตก (หม่าแท่งกึ่งแห้ง) ที่ผลิตโดยประยุกต์ใช้กระบวนการผลิตไส้กรอกกึ่งแห้งแบบตะวันตก
3. ทราบถึงผลของการใช้กลูต้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่สามารถสร้างสาร bacteriocins และมีคุณสมบัติเบื้องต้นเป็น probiotic เปรียบเทียบกับการหมักโดยใช้กลูต้าเชื้อเริ่มต้นของต่างประเทศ และการหมักโดยไม่เติมกลูต้าเชื้อ ต่อคุณภาพเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์เนื้อโคพื้นเมืองหมักกึ่งแห้งแบบกึ่งตะวันตกที่พัฒนาขึ้น
4. ทราบถึงความชอบของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์เนื้อโคพื้นเมืองหมักกึ่งแห้งแบบกึ่งตะวันตกที่พัฒนาขึ้น

ระยะเวลาและสถานที่ดำเนินการ

เดือนเมษายน 2553 ถึง เดือนกรกฎาคม 2554 ที่ห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี เนื้อสัตว์ ห้องปฏิบัติการแปรรูปเนื้อสัตว์ และห้องปฏิบัติการจุลินทรีย์เนื้อสัตว์ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และการประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร และห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์คุณภาพเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ สาขาวิชาครุศาสตร์เกษตร คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

วิธีดำเนินการทดลอง

วัตถุดิบและอุปกรณ์

1. กล้าเชื้อจุลินทรีย์

1.1 กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่สามารถสร้างสาร bacteriocins และมีคุณสมบัติเป็น probiotic ซึ่งค้นพบโดยนักวิจัยของศูนย์เครือข่ายฯ ได้แก่

Lactococcus lactis spp. *lactis* P2 (อดิสร เสวตวิวัฒน์ และคณะ 2552)

Pediococcus pentosaceus TISTR 536 (Swetwathana, 2005; Swetwathana et al., 2007; Swetwathana et al., 2009)

1.2 กล้าเชื้อเริ่มต้นทางการค้าจากต่างประเทศ ได้แก่

Pacovis RCI-47 starter culture for raw fermented sausage Lot No. 8.850.04 , Pacovis Deutschland, GmbH.

2. วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตหมักกึ่งแห้ง

สูตรหมัก (ดัดแปลงจาก วิรัตน์ สุมน และณัฐยาพร สุมน, 2552)

	สูตร Control	สูตร P2	สูตร P536	สูตร Commercial
เนื้อ Plate (กิโลกรัม)	5000	5000	5000	5000
ดัดโค (กรัม)	500	500	500	500
กระเทียมสดบด (กรัม)	500	500	500	500
ข้าวสาลี (กรัม)	125	125	125	125
เกลือฟอสเฟต (กรัม)	8.3	8.3	8.3	8.3
ผงเพรก (กรัม)	4.17	4.17	4.17	4.17
กลูโคส (กรัม)	20	20	20	20
ผงชูรส (กรัม)	12.5	12.5	12.5	12.5
กลีเซอรีนเบคทีเรียแลคติก (มิลลิลิตร)	0	5 *	5 *	5 **
น้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อ (มิลลิลิตร)	5	0	0	0

* จำนวน 10^6 cfu/g

** ละลายกลีเซอรีน 1.25 กรัมในน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 5 มิลลิลิตร โดยใช้ในอัตราส่วนตามคำแนะนำของผู้ผลิต

3. วัสดุ และเครื่องมือในการผลิตหมัก

- 1) ไม้กอลลาเจน ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 19 มิลลิเมตร (Nippi, Japan)
- 2) เครื่องสับผสม (Seydelmann, Germany)
- 3) เครื่องอัดไส้กรอก TALSA #0542 MODEL H26PA (380/50/3), EU
- 4) ตู้บ่มแบบควบคุมบรรยากาศ Type KA 50 air-conditioned maturing cabinet (SÜDTRONIC

M. Schaaf + Co., Germany)

4. อุปกรณ์และเครื่องมือในการวิเคราะห์เชื้อ

- 1) ตู้เปียเชื้อ (DWYER instruments INC, USA)
- 2) ตู้บ่มเพาะเชื้อ (BD, Scientific promotion CO., LTD.)
- 3) เครื่องเขย่า (Shaking Incubator: VS-8408 SFN, Korea)
- 4) เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge CR 3i, France)
- 5) เครื่องวัดค่า pH (EUTECH PC 510)
- 6) เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Fx-2000i, Japan)
- 7) เครื่องผสมสารละลายในหลอดทดลอง (KMC-1300V, Korea)

- 8) ไมโครเวฟ (TRX-249M, Korea)
- 9) หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (High-Pressure Steam Sterilizer ES-315, Japan)
- 10) ไมโครปิเปต (Biopipette autoclavable, Labnet)
- 11) ตู้แช่แข็ง -20 องศาเซลเซียส (Angle Technology CO., Ltd., Thailand)
- 12) ตู้อบเครื่องแก้ว (Hot air oven: Memmert, Belgium)
- 13) อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Mettler, Germany)
- 14) เครื่องตีบดตัวอย่าง (Stomacher Bag Mixer 400 interscience, France)

5. เครื่องมือในการตรวจสอบคุณภาพ

- 1) เครื่องวัดค่า pH (EUTECH PC 510, USA.)
- 2) เครื่องวัดค่าความชื้น (Moisture analyzer, Hobart, USA.)
- 3) เครื่องวัดปริมาณน้ำอิสระ (Water activity; Aw, NAVASINA EEJA-3, Switzerland)
- 4) เครื่องวัดค่าสี (MiniScan XE plus, Hunter Associates Laboratory, Inc., Virginia, USA)
- 5) เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Fx-2000i, Japan)

6. ขั้นตอนการผลิตหม่า

มีขั้นตอนการผลิตดังนี้

1) ก่อนวันผลิต 1 วัน ตัดวัตถุดิบเนื้อและตับ จากโคพื้นเมือง จากจังหวัดอุบลราชธานี ที่ผ่านการบ่มมาประมาณ 14 วัน เป็นชิ้นขนาดประมาณ 2 ลูกบาศก์นิ้ว วางเรียงบนถาด และนำเข้าแช่แข็งที่ -20 องศาเซลเซียส เพื่อลดอุณหภูมิของเนื้อ

2.) ในวันผลิต ก่อนเริ่มการผลิตประมาณ 1 ชั่วโมง ใส่น้ำแข็งไว้ในอ่างสับผสม และเครื่องอัดไส้กรอก เพื่อลดอุณหภูมิ เมื่อจะใช้ จึงนำน้ำแข็งออก และเช็ดให้แห้ง

3) ใส่วัตถุดิบเนื้อแช่แข็งลงในอ่างสับผสม สับด้วยความเร็วรอบต่ำเป็นเวลา 10 วินาที (ประมาณ 2 รอบ) จึงเติมตับแช่แข็ง ในระหว่างที่สับผสมด้วยความเร็วรอบต่ำไปเรื่อยๆ เติมเครื่องเทศ และผงชูรส และน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์จำนวน 5 มิลลิลิตร สำหรับสูตรควบคุม (สำหรับสูตรที่ใช้กล้าเชื้อต่างประเทศ ละลายกล้าเชื้อจำนวน 1.25 กรัม ด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์แล้ว ปริมาณ 5 มิลลิลิตร ส่วนกลุ่มทดลองที่ใช้กล้าเชื้อโปรไบโอติก ทำการเติมกล้าเชื้อในปริมาณ 5 มิลลิลิตร) จากนั้นเติมเกลือชนิดต่างๆ โดยใช้เวลาในการสับผสมด้วยรอบต่ำเป็นเวลา 50 วินาที แล้วจึงใช้ความเร็วรอบสูงอีก 10 วินาที ระวังไม่ให้อุณหภูมิเนื้อสูงกว่า 0 องศาเซลเซียส

4) อัดด้วยเครื่องอัดไส้กรอก ซึ่งได้ลดอุณหภูมิด้วยการแช่น้ำแข็งมาก่อนหน้านี้

5) มักเป็นท่อนยาวประมาณ 6 นิ้ว

6) นำเข้าแขวนในตู้บ่ม โดยมีการปรับอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90 เปอร์เซ็นต์ เวลา 24 ชั่วโมง

ขั้นตอนที่ 2 อุณหภูมิ 60 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 70 เปอร์เซ็นต์ เวลา 2 ชั่วโมง

ขั้นตอนที่ 3 อุณหภูมิ 14 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65 เปอร์เซ็นต์ เวลา 72 ชั่วโมง

ขั้นตอนที่ 4 อุณหภูมิ 14 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65 เปอร์เซ็นต์ เวลา 72 ชั่วโมง

7. การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

ในแต่ละครั้งของการผลิต สุ่มตัวอย่างหม้าจำนวน 3 แห่งต่อกลุ่มทดลอง จากคนละตำแหน่งที่แขวนในตู้บ่มด้วย Aseptic technique ตัดหม้าเป็นชิ้นเล็กๆ ชั่งจำนวน 25 กรัม (2 ซ้ำ) สำหรับตรวจวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ Lactic acid bacteria, *Escherichia coli* (*E. coli*), Coliforms, Yeast and mold, *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), และ *Salmonella spp.* ตามวิธีของ AOAC (2005) ทั้งนี้สุ่มตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์จุลินทรีย์ทั้งหมด 6 ช่วงเวลา ได้แก่ ในวันที่ผลิตก่อนเริ่มการหมักที่ 30 องศาเซลเซียส (D0) ภายหลังการหมักที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 23 ชั่วโมง ซึ่งเป็นช่วงเวลาก่อนเริ่มให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียส (D1BH; before heating) ระยะเวลาประมาณ 30 นาที ภายหลังให้ความร้อนครบ 2 ชั่วโมง (D1AH; after heating) และในวันที่ 3 5 และ 7 ของการบ่ม (D3 D 5 และ D7 ตามลำดับ) ซึ่งเป็นขั้นตอนการลดความชื้นที่อุณหภูมิประมาณ 14 องศาเซลเซียสและความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 65 เปอร์เซ็นต์

8. การตรวจสอบด้านคุณภาพ

1) ภายหลังการสุ่มตัวอย่างสำหรับตรวจสอบด้านจุลินทรีย์ จึงสุ่มตัวอย่างหม้าจำนวน 3-4 แห่งต่อกลุ่มทดลอง วางหม้าทั้ง 3-4 แห่งเรียงชิดกันบนจาน วัดค่าสี ที่ผิวนอกของหม้าแห่งจำนวน 3 ตำแหน่ง (CIE L^* a^* และ b^* , Illuminant D65) ด้วย MiniScan XEplus หัววัดขนาด 2.54 ซม. (Hunter Associates Laboratory, Inc., USA.) ทั้งนี้สุ่มตัวอย่างทั้งหมด 9 ช่วงเวลา ได้แก่ ในวันที่ผลิตก่อนเริ่มการหมักที่ 30 องศาเซลเซียส (D0) ภายหลังการหมักที่ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลาประมาณ 23 ชั่วโมง ซึ่งเป็นช่วงเวลาก่อนเริ่มให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียส (D1BH; before heating) ระยะเวลาประมาณ 30 นาที ภายหลังให้ความร้อนครบ 2 ชั่วโมง (D1AH; after heating) และทุกวันหลังจากนั้น คือในวันที่ 2 3 4 5 6 และ 7 ของการบ่ม (D2 D3 D4 D5 D6 และ D7 ตามลำดับ)

2) ภายหลังวัดค่าสี ตัดหม้าทั้ง 3 แห่ง เป็นชิ้นเล็กๆ เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณกรดแลกติก และค่าความเป็นกรดค่า (pH) โดยดัดแปลงวิธีจาก AOAC (1984) อ้างโดย นภา โล่ห์ทอง (2529) และวัดค่า water activity (A_w ; Novasina EEJA-3, Switzerland) และเปอร์เซ็นต์ความชื้น (Hobart, USA) โดยตรวจสอบทั้งหมด 3 ซ้ำในแต่ละครั้งของการผลิต

3) การตรวจสอบปริมาณน้ำหนักร้อยละที่สูญเสียไประหว่างกระบวนการผลิต ในแต่ละครั้งของการผลิต ก่อนเริ่มการหมัก ซึ่งน้ำหนักหมักแห้งจำนวน 3 พวงต่อกลุ่มทดลอง ซึ่งในแต่ละพวงประกอบด้วยหมักแห้งจำนวน 6-10 แท่ง และชั่งน้ำหนักอีกครั้งเมื่อสิ้นสุดกระบวนการผลิตในวันที่ 7 เพื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่สูญหายไประหว่างการผลิต

4) ศึกษาความชอบของผู้บริโภคที่มีต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสของหมักแห้งทั้ง 4 กลุ่มทดลอง ได้แก่ หมักแห้งที่ผลิตโดยไม่เติมกล้ำเชื้อ (Control) หมักแห้งที่เติมกล้ำเชื้อทางการค้า (Commercial) หมักแห้งที่เติมกล้ำเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 (P536) และที่เติมกล้ำเชื้อ *Lc. lactis* spp. *lactis* P 2 (P2) โดยใช้ผู้ทดสอบชิมที่ไม่ผ่านการฝึกฝน แต่เป็นผู้ที่รู้จักและเคยรับประทานหมักจากเนื้อโคจำนวน 25 คน ประเมินผลในด้าน สี รสชาติ ลักษณะเนื้อสัมผัส และคุณภาพโดยรวม ซึ่งแบ่งคะแนนเป็น 7 ระดับ (7-point hedonic scale) คือ 7 = ชอบมากที่สุด และ 1 = ไม่ชอบมากที่สุด

9. การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การศึกษาด้านจุลินทรีย์และด้านคุณภาพ ใช้แผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design สำหรับการศึกษความชอบของผู้ทดสอบต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัส ใช้แผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design วิเคราะห์ความแตกต่างโดย Analysis of Variances และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดย Duncan's Multiple Rank Test ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

ผลการตรวจสอบคุณสมบัติทางจุลินทรีย์

1) ปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติก

จากตารางที่ 3.1.2.1 พบว่าในวันเริ่มต้นการผลิต (D0) หมักแห้งจากทุกกลุ่มทดลองมีปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) โดยมีปริมาณ 6.06- 6.82 log cfu/g อย่างไรก็ตามพบว่ากลุ่ม Control มีจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกต่ำกว่ากลุ่มทดลองอื่นๆ เนื่องจากไม่มีการเติมกล้ำเชื้อ เมื่อพิจารณาผลการหมักที่ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 วัน (D1BH) จะเห็นได้ว่าทุกกลุ่มทดลองมีปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยกลุ่ม Commercial จะมีการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติก (8.99 log cfu/g) มากกว่ากลุ่ม P536 (8.35) กลุ่ม Control (8.19) และกลุ่ม P2 (7.87) ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ทั้งนี้พบว่า P2 มีจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกน้อยกว่าทุกกลุ่มทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

การให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมงแก่หม่ำแท่งภายหลังจากการหมัก (D1AH) มีผลทำให้ปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกในทุกกลุ่มทดลองลดลงประมาณ 0.5-1.5 log cfu/g โดยเฉพาะกลุ่ม Commercial ที่มีปริมาณลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) คือจาก 8.99 log cfu/g ก่อนให้ความร้อน ลดลงเป็น 7.43 log cfu/g หลังจากให้ความร้อน อย่างไรก็ตามพบว่าปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกของแต่ละกลุ่มทดลองที่ตรวจพบภายหลังจากผ่านความร้อน 2 ชั่วโมง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) สอดคล้องกับรายงานของ Ensoy *et al.* (2009) ที่พบว่าการใช้ความร้อนที่ 70 องศาเซลเซียสในการผลิตไส้กรอกกึ่งแห้ง *Sucus* ภายหลังจากกระบวนการหมัก จนได้อุณหภูมิใจกลางที่ 55 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 นาที มีผลทำให้ปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกลดลงประมาณ 1.5 log cfu/g

ระหว่างการบ่มเป็นเวลา 6 วัน ที่ 14 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 65 เปอร์เซ็นต์ เพื่อลดความชื้นในผลิตภัณฑ์ลง พบว่าการเปลี่ยนแปลงของปริมาณของแบคทีเรียกรดแลคติกในแต่ละวันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยพบว่าในวันสุดท้ายของการบ่ม (D7) หม่ำแท่งที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อ *Lc. lactis spp. lactis* P 2 มีจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกต่ำกว่ากลุ่มทดลองอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) อาจเป็นเพราะในระหว่างการหมักที่ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 วัน การเจริญของกล้าเชื้อ P2 มีน้อยกว่ากล้าเชื้อ Commercial และ P536 รวมถึงจุลินทรีย์ที่มีตามธรรมชาติในกลุ่ม Control เป็นผลให้กล้าเชื้อ P2 มีจำนวนต่ำกว่ากลุ่มทดลองอื่นๆ ในวันที่ 1 ก่อนเข้าสู่กระบวนการให้ความร้อน และเมื่อผ่านความร้อน 2 ชั่วโมง กล้าเชื้ออาจอ่อนแอลง จึงมีปริมาณลดลงและไม่เพิ่มจำนวนขึ้นมากนักในระหว่างการบ่ม ทั้งนี้อรธพล สุจริตรักษ์ (2549) ระบุว่า *Pediococcus acidilactici* เป็นหนึ่งในแบคทีเรียกรดแลคติก 4 ชนิดที่คัดแยกได้จากหม่ำพื้นบ้าน และมีความสำคัญต่อการหมัก ซึ่งการหมักที่ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จะให้ผลการหมักดีที่สุด นอกจากนั้น งามนิจ นนทโส (2539) สำรวจตัวอย่างหม่ำ 3 ตัวอย่างจากจังหวัดกาฬสินธุ์ และรายงานว่าแบคทีเรียกรดแลคติกที่พบมากที่สุดคือ *Pediococcus* โดยคิดเป็น 31.67 เปอร์เซ็นต์ จึงอาจเป็นไปได้ว่าแบคทีเรียกรดแลคติกกลุ่มหลักที่มีตามธรรมชาติใน Control เป็นกลุ่ม *Pediococcus* เช่นกัน

ตารางที่ 3.1.2.1 ปริมาณแบคทีเรียกรดแลกติก (mean±SD) ซึ่งตรวจพบในหม่ำแพ่งกึ่งแห้งที่ผลิตโดย
ไม่เติมและเติมกล้าเชื้อเริ่มต้น ในระหว่าง 7 วันของการผลิต

Day	Lactic acid bacteria (log cfu/g)			
	Control	Commercial	P536	P2
D0	6.06±1.53 b	6.82±0.66 b	6.59±0.88 c	6.46±0.88 b
D1BH	8.19±0.34 a x	8.99±0.17 a w	8.35±0.23 a x	7.87±0.09 a y
D1AH	7.73±1.48 ab	7.43±0.76 b	7.73±0.51 ab	7.35±1.08 ab
D3	7.33±0.84 ab	7.83±1.47 ab	6.94±0.43 bc	6.39±1.33 b
D5	7.11±1.08 ab	7.28±1.39 b	6.78±1.29 bc	6.45±0.103 b
D7	7.63±1.00 abw	7.71±1.20 abw	7.42± 0.99 abcw	6.68±0.81 abx

Control = หม่ำแพ่งที่ผลิตโดยไม่เติมกล้าเชื้อ

Commercial = หม่ำแพ่งที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อทางการค้า Pacovis RCI-47

P536 = หม่ำแพ่งที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ประมาณ 10^6 cfu/g

P2 = หม่ำแพ่งที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อ *Lactococcus lactis* spp. *lactis* P 2 ประมาณ 10^6 cfu/g

BH = ก่อนให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

AH = หลังจากให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

abc ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่มีอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

wxy ค่าเฉลี่ยในแถวเดียวกันที่มีอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

2) ปริมาณยีสต์และรา

จากตารางที่ 3.1.2.2 พบว่าในวันแรกของการผลิต หม่ำแพ่งจากทุกกลุ่มทดลองมีปริมาณยีสต์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยมีปริมาณในช่วง 3.55-4.14 log cfu/g ซึ่งมีจำนวนใกล้เคียงกับผลรายงานของ วิรัตน์ สุมน และณัฏยาพร สุมน (2552) ที่พบว่ามียีสต์ในหม่ำที่ทำจากเนื้อโคพื้นเมือง ในวันเริ่มการผลิตจำนวน 8.1×10^4 CFU/g หรือ 4.91 log cfu/g ในขณะที่จำนวนเชื้อรามีปริมาณ < 1 log cfu/g ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองครั้งนี้ (ตารางที่ 3) ที่ตรวจไม่พบการเจริญของเชื้อราตลอดการผลิต อย่างไรก็ตามผลการศึกษาการผลิตไส้กรอกกึ่งแห้งแบบตะวันตกโดยใช้กล้าเชื้อชนิดต่างๆ ในการหมัก Sucuk จากเนื้อไก่อ่งรวมกับการให้ความร้อนระหว่างการผลิต โดย Ensoy *et al.* (2010) รายงานปริมาณยีสต์เริ่มต้นที่ 5.67 5.90 และ 5.87 log cfu/g ใน Sucuk ที่เติมกล้าเชื้อ S1 S2 และที่ไม่เติมกล้าเชื้อตามลำดับ

ตารางที่ 3.1.2.2 จำนวนยีสต์ (mean±SD) ซึ่งตรวจพบในหม้าแต่งกึ่งแห้งที่ผลิตโดยไม่เติมและเติมกล้าเชื้อเริ่มต้น ในระหว่าง 7 วันของการผลิต

Day	Yeast (log cfu/g)			
	Control	Commercial	P536	P2
D0	4.08 ± 0.37 c	4.14 ± 0.89 b	3.55 ± 0.35 b	3.92 ± 0.93 b
D1BH	6.13 ± 0.02 abw	5.74 ± 0.69 abwx	5.21 ± 0.26 abx	5.45 ± 0.53 abwx
D1AH	6.01 ± 0.45 ab	5.10 ± 0.53 ab	4.98 ± 0.99 ab	4.91 ± 1.18 ab
D3	5.86 ± 0.77 bw	4.61 ± 1.47 abx	4.98 ± 1.69 abwx	5.01 ± 1.83 abwx
D5	6.77 ± 0.84 a	5.81 ± 1.33 a	6.05 ± 1.45 a	6.07 ± 1.32 a
D7	6.54 ± 1.10 ab	5.92 ± 1.36 a	5.37 ± 1.03 a	5.66 ± 1.04 a

Control = หม้าแต่งที่ผลิตโดยไม่เติมกล้าเชื้อ

Commercial = หม้าแต่งที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อทางการค้า Pacovis RCI-47

P 536 = หม้าแต่งที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ประมาณ 10^6 cfu/g

P 2 = หม้าแต่งที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อ *Lactococcus lactis* spp. *lactis* P 2 ประมาณ 10^6 cfu/g

BH = ก่อนให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

AH = หลังจากให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

abc ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่มีอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

wx ค่าเฉลี่ยในแถวเดียวกันที่มีอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

หลังจากการหมักที่ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 วัน (D1BH) พบว่ายีสต์มีจำนวนเพิ่มขึ้นในทุกกลุ่มทดลอง โดยเฉพาะในกลุ่ม Control มีจำนวนยีสต์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยเพิ่มขึ้น 2.05 log cfu/g ในขณะที่กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อมีจำนวนเพิ่มขึ้นประมาณ 1.5 log cfu/g ($p > 0.05$) ซึ่งแตกต่างจากรายงานโดย Ensoy et al. (2010) ที่พบว่าปริมาณยีสต์ในกลุ่มที่เติมกล้าเชื้อมีจำนวนลดลง ส่วนในกลุ่มที่ไม่ใช้กล้าเชื้อจะมีปริมาณยีสต์เพิ่มมากขึ้น แต่เป็นไปอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) อย่างไรก็ตาม จากผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 3.1.2.2 พบว่าทุกกลุ่มทดลองที่เติมกล้าเชื้อมีแนวโน้มของปริมาณยีสต์ต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่เติมกล้าเชื้อ (Control) โดยเฉพาะภายหลังการหมัก 1 วัน (D1BH) พบว่า P536 มีจำนวนยีสต์ต่ำกว่ากลุ่ม Control อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ขณะที่ในวันที่ 3 (D3) พบว่ากลุ่ม Commercial มีจำนวนยีสต์ต่ำกว่ากลุ่ม Control อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 3.1.2.3 ปริมาณเชื้อราซึ่งตรวจพบในหม้าแท่งกึ่งแห้งที่ผลิตโดยไม่เติมและเติมกล้าเชื้อเริ่มต้น
ในระหว่าง 7 วันของการผลิต

Day	Mold (log cfu/g)			
	Control	Commercial	P536	P2
D0	Est. < 1.0	Est. < 1.0	Est. < 1.0	Est. < 1.0
D1BH	Est. < 1.0	Est. < 1.0	Est. < 1.0	Est. < 1.0
D1AH	Est. < 1.0	Est. < 1.0	Est. < 1.0	Est. < 1.0
D3	Est. < 1.0	Est. < 1.0	Est. < 1.0	Est. < 1.0
D5	Est. < 1.0	Est. < 1.0	Est. < 1.0	Est. < 1.0
D7	Est. < 1.0	Est. < 1.0	Est. < 1.0	Est. < 1.0

Control = หม้าแท่งที่ผลิตโดยไม่เติมกล้าเชื้อ

Commercial = หม้าแท่งที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อทางการค้า Pacovis จากเยอรมันนี

P536 = หม้าแท่งที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ประมาณ 10^6 cfu/g

P2 = หม้าแท่งที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อ *Lactococcus lactis* spp. *lactis* P 2 ประมาณ 10^6 cfu/g

BH = ก่อนให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

AH = หลังจากให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

Est. < 1.0 log cfu/g คือ ตรวจสอบไม่พบการเจริญของโคโลนี

ผลของการให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทำให้ปริมาณยีสต์ในทุกกลุ่มทดลองมีจำนวนลดลง ($p>0.05$) แต่การลดลงมีเพียงไม่เกิน 0.5 log cfu/g ซึ่ง Ensoy et al. (2009) รายงานว่าการใช้ความร้อนที่ 70 องศาเซลเซียส ภายหลังจากการหมัก ในการผลิตไส้กรอกกึ่งแห้ง Sucus จนได้อุณหภูมิใจกลางที่ 55 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 นาที มีผลทำให้ยีสต์ลดลง 1.0 log cfu/g

ขณะที่การบ่มเพื่อลดความชื้นเป็นเวลา 6 วัน ที่ 14 องศาเซลเซียสและความชื้นสัมพัทธ์ 65 เปอร์เซ็นต์ มีผลให้ปริมาณยีสต์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตลอดการบ่ม ($p>0.05$) โดยในวันที่ 7 ของการผลิตพบว่าหม้าแท่งมีปริมาณยีสต์ 5.37-6.34 log cfu/g ซึ่งปริมาณยีสต์ที่ตรวจพบตั้งแต่วันแรกของการผลิตอยู่ในระดับที่สูงกว่าข้อกำหนดตาม มพข. 146/2546 ที่ระบุว่าปริมาณยีสต์และรา ต้องน้อยกว่า 2 log cfu/g (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2546) แต่ทั้งนี้ Campbell-Platt (1995) กล่าวว่าในการผลิตไส้กรอกแห้งหรือกึ่งแห้งนั้นมักจะพบว่ามียีสต์และราเจริญอยู่ด้วย โดย Cooked (1995) กล่าวว่ากลุ่มยีสต์ที่มักพบในไส้กรอกหมักของตะวันตกคือ *Debaromyces hansenii* Roncales et al. (1991)

พบว่าในแรกของการผลิตไส้กรอกหมัก มีปริมาณยีสต์และรา 10^2 - 10^3 cfu/cm² และเมื่อบ่มไป 25 วัน พบว่ายีสต์เพิ่มขึ้นเป็น 10^5 - 10^6 ส่วนราเพิ่มเป็น 10^6 - 10^7 cfu/cm² ซึ่ง Rust (2004) ระบุว่าระหว่างการบ่ม อาจพบว่าการเจริญของเชื้อราบางชนิดที่พึงประสงค์ เพราะราจะช่วยให้การลดความชื้นเป็นไปอย่างค่อยเป็นค่อยไป ช่วยลดการเกิดกลิ่นหืน และยังช่วยให้ไส้กรอกหมักแบบแห้งมีรสชาติไม่เปรี้ยวมากเกินไป และมีกลิ่นรสเฉพาะตัว แต่ถ้ามีการรมควัน มักไม่พบการเจริญของเชื้อรา ซึ่งจากการศึกษาครั้งนี้ การให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียสและการควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ในระหว่างการบ่มอาจช่วยลดโอกาสการเจริญของเชื้อราลงได้ สำหรับการศึกษาคุณภาพหม่าจากเนื้อโคพื้นเมืองโดย วิรัตน์ สุมณ และณัฏยาพร สุมณ (2552) พบว่าภายหลังเก็บรักษาหม่าไว้ 60 วัน ปริมาณยีสต์ลดลงเป็น <10 cfu/g เนื่องจากผู้วิจัยทำการหมักหม่าโดยบรรจุในถุงร่วมกับสารดูดซับออกซิเจน ซึ่งจำกัดอากาศในถุง

ตารางที่ 3.1.2.4 จำนวน *Escherichea coli* ซึ่งตรวจพบในหม่าแท่งกึ่งแห้งที่ผลิตโดยไม่เติมและเติม กล้าเชื้อเริ่มต้น ในระหว่าง 7 วันของการผลิต

Day	<i>Escherichea coli</i> (log cfu/g)			
	Control	Commercial	P536	P2
D0	Est. < 1.0	Est. < 1.0	Est. < 1.0	Est. < 1.0
D1BH	Est. < 1.0	Est. < 1.0	Est. < 1.0	Est. < 1.0
D1AH	Est. < 1.0	Est. < 1.0	Est. < 1.0	Est. < 1.0
D3	Est. < 1.0	Est. < 1.0	Est. < 1.0	Est. < 1.0
D5	Est. < 1.0	Est. < 1.0	Est. < 1.0	Est. < 1.0
D7	Est. < 1.0	Est. < 1.0	Est. < 1.0	Est. < 1.0

Control = หม่าแท่งที่ผลิตโดยไม่เติมกล้าเชื้อ

Commercial = หม่าแท่งที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อทางการค้า Pacovis จากเยอรมันนี

P536 = หม่าแท่งที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ประมาณ 10^6 cfu/g

P2 = หม่าแท่งที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อ *Lactococcus lactis* spp. *lactis* P 2 ประมาณ 10^6 cfu/g

BH = ก่อนให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

AH = หลังจากให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

Est. < 1.0 log cfu/g คือ ตรวจสอบไม่พบการเจริญของโคโลนี

3) ปริมาณ *Escherichea coli* และ Coliforms

ปริมาณ *Escherichea coli* และ Coliforms ที่พบในผลิตภัณฑ์อาหารถือเป็นดัชนีบ่งชี้ถึงสุขลักษณะในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหาร จากผลการวิจัยครั้งนี้ ไม่พบการเจริญของ *E. coli* ดังแสดงใน

ตารางที่ 3.1.2.4 ในขณะที่รายงานโดย วิรัตน์ สุมน และณัฏยาพร สุมน (2552) พบว่าจำนวน *E. coli* เริ่มต้นในหม่าจากเนื้อโคพื้นเมืองมีปริมาณ 93 MPN/g ซึ่งภายหลังการเก็บรักษาโดยใช้สารดูดซับออกซิเจน พบว่า *E. coli* มีปริมาณ <3 MPN/g ซึ่งอาจเป็นเพราะความเป็นกรดที่เพิ่มขึ้นเนื่องจากการเจริญของแบคทีเรียกรดแลกติกในระหว่างเก็บรักษาหม่าโดยใช้สารดูดซับออกซิเจน

ตารางที่ 3.1.2.5 จำนวนโคลิฟอร์ม (mean±SD) ซึ่งตรวจพบในหม่าแท่งกึ่งแห้งที่ผลิตโดยไม่เติมและเติมกล้ำเชื้อเริ่มต้น ในระหว่าง 7 วันของการผลิต

Day	Coliforms (log cfu/g)			
	Control	Commercial	P536	P2
D0	4.43 ± 0.72 b	3.83 ± 0.78	3.87 ± 0.93	4.13 ± 0.82
D1BH	6.06 ± 0.54 aw	4.17 ± 1.44 x	5.23 ± 0.36 wx	4.99 ± 0.44 wx
D1AH	4.88 ± 1.15 ab	4.11 ± 1.56	4.11 ± 0.82	4.72 ± 1.10
D3	5.10 ± 1.54 ab	3.75 ± 1.32	4.68 ± 1.50	4.59 ± 1.00
D5	4.96 ± 1.74 abw	3.29 ± 0.66 x	4.05 ± 0.87 w	4.10 ± 1.17 w
D7	5.32 ± 1.66 abw	3.16 ± 0.54 x	3.83 ± 0.98 wx	3.82 ± 0.49 wx

Control = หม่าแท่งที่ผลิตโดยไม่เติมกล้ำเชื้อ

Commercial = หม่าแท่งที่ผลิตโดยเติมกล้ำเชื้อทางการค้า Pacovis จากเยอรมันนี

P536 = หม่าแท่งที่ผลิตโดยเติมกล้ำเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ประมาณ 10^6 cfu/g

P2 = หม่าแท่งที่ผลิตโดยเติมกล้ำเชื้อ *Lactococcus lactis* spp. *lactis* P 2 ประมาณ 10^6 cfu/g

BH = ก่อนให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

AH = หลังจากให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

ab ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่มีอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

wx ค่าเฉลี่ยในแถวเดียวกันที่มีอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

สำหรับปริมาณ Coliforms ในหม่าแท่งที่ตรวจพบในวันแรกของการผลิตมีจำนวน 3.83-4.43 log cfu/g (ตารางที่ 3.1.2.5) ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างแต่ละกลุ่มทดลอง ($p > 0.05$) แต่เมื่อผ่านการหมักที่ 30 องศาเซลเซียสนาน 1 วัน พบว่าทุกกลุ่มทดลองมี Coliforms เพิ่มขึ้น โดยเฉพาะในกลุ่ม Control ที่มีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยพบว่าในวันที่ 1 ก่อนให้ความร้อน (D1BH) ปริมาณ Coliforms ของกลุ่มที่ใช้กล้ำเชื้อไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และมีจำนวนน้อยกว่าในกลุ่ม Control โดยเฉพาะปริมาณ Coliforms ในกลุ่ม Commercial ที่มีปริมาณต่ำกว่ากลุ่ม Control อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ผลการให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง หลังผ่านกระบวนการหมัก พบว่าทุกกลุ่มทดลองมีปริมาณ Coliforms ลดลง โดยรวมกลุ่มที่เติมกล้าเชื้อจะมีการลดลงของ Coliforms อย่างต่อเนื่องจนถึงวันที่ 7 ในทางตรงข้าม กลุ่ม Control จะมีการลดลงหลังผ่านความร้อน (D1AH) จากนั้นกลับมีจำนวนเพิ่มขึ้นอีกครั้งระหว่างการบ่ม ($p>0.05$) ซึ่งในวันที่ 7 พบว่ากลุ่มที่ไม่เติมกล้าเชื้อยังคงมีแนวโน้มการเจริญของ Coliforms มากกว่ากลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ โดยกลุ่ม Control มีจำนวน Coliforms มากกว่ากลุ่ม Commercial อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ในขณะที่จำนวน Coliforms ในหมำที่เติมกล้าเชื้อคือ กลุ่ม Commercial P536 และ P2 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ 3.1.2.6 จำนวน *Staphylococcus aureus* (mean±SD) ซึ่งตรวจพบในหมำที่กึ่งแห้งที่ผลิตโดยไม่เติมและเติมกล้าเชื้อเริ่มต้น ในระหว่าง 7 วันของการผลิต

Day	<i>Staphylococcus aureus</i> (log cfu/g)			
	Control	Commercial	P536	P2
D0	Est. < 1.0	Est. < 1.0	Est. < 1.0	Est. < 1.0
D1BH	Est. < 1.0	Est. < 1.0	Est. < 1.0	Est. < 1.0
D1AH	Est. < 1.0	Est. < 1.0	Est. < 1.0	Est. < 1.0
D3	Est. < 1.0	Est. < 1.0	Est. < 1.0	Est. < 1.0
D5	Est. < 1.0	Est. < 1.0	Est. < 1.0	Est. < 1.0
D7	Est. < 1.0	Est. < 1.0	Est. < 1.0	Est. < 1.0

Control = หมำที่ผลิตโดยไม่เติมกล้าเชื้อ

Commercial = หมำที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อทางการค้า Pacovis จากเยอรมัน

P536 = หมำที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ประมาณ 10^6 cfu/g

P2 = หมำที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อ *Lactococcus lactis* spp. *lactis* P 2 ประมาณ 10^6 cfu/g

BH = ก่อนให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

AH = หลังจากให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

Est. < 1.0 log cfu/g คือ ตรวจสอบไม่พบการเจริญของโคโลนี

4) ปริมาณ *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella* spp.

ผลการศึกษานี้ ตรวจไม่พบ *S. aureus* และ *Salmonella* spp. (ตารางที่ 3.1.2.6 และ 3.1.2.7) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของวิรัตน์ สุมน และณัฏยาพร สุมน (2552) และเป็นไปตามข้อกำหนดของ มพช. 146/2546 (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2546)

ตารางที่ 3.1.2.7 ผลการตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลาในหม่ำแท่งที่ผลิตโดยไม่เติมและเติมกล้ำเชื้อเริ่มต้น
ในระหว่าง 7 วันของการผลิต

Day	<i>Salmonella</i> spp. (log cfu/g)											
	Control			Commercial			P536			P2		
	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3
D0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D1BH	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D1AH	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Control = หม่ำแท่งที่ผลิตโดยไม่เติมกล้ำเชื้อ

Commercial = หม่ำแท่งที่ผลิตโดยเติมกล้ำเชื้อทางการค้า Pacovis

P536 = หม่ำแท่งที่ผลิตโดยเติมกล้ำเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ประมาณ 10^6 cfu/g

P2 = หม่ำแท่งที่ผลิตโดยเติมกล้ำเชื้อ *Lactococcus lactis* spp. *lactis* P 2 ประมาณ 10^6 cfu/g

BH = ก่อนให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

AH = หลังจากให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

- ตรวจไม่พบการเจริญของ *Salmonella* spp.

ผลการตรวจสอบด้านคุณภาพ

จากตารางที่ 3.1.2.8 พบว่าในวันเริ่มผลิต (D0) ปริมาณกรดทั้งหมดของหม่ำแท่งทุกกลุ่มทดลองไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) โดยมีค่า 0.87-0.90 เปอร์เซ็นต์ ผลจากการหมักที่ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 วัน (D1BH) ทำให้ปริมาณกรดแลคติกเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยกลุ่ม Commercial (1.55 เปอร์เซ็นต์) มีปริมาณกรดทั้งหมดมากกว่า P536 (1.41 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่ไม่แตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) จาก P2 (1.48 เปอร์เซ็นต์) และ Control (1.43 เปอร์เซ็นต์) ขณะเดียวกันปริมาณกรดทั้งหมดในกลุ่ม P2 และ Control ไม่แตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) จากกลุ่ม P536 เช่นกัน ภายหลังจากการให้ความร้อน 2 ชั่วโมง พบว่าหม่ำแท่งมีปริมาณกรดทั้งหมดไม่แตกต่างกันทางสถิติ จากก่อนให้ความร้อน ($p>0.05$) แต่มีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ในระหว่างการบ่มที่ 14 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 6 วัน โดยในวันที่ 7 พบว่ามีปริมาณกรดทั้งหมดเท่ากับ 2.41 2.56 2.70 และ 2.71 เปอร์เซ็นต์ สำหรับกลุ่ม P2 Control P536 และ Commercial ตามลำดับ

ตารางที่ 3.1.2.8 ปริมาณกรดแลกติกของหมำ้แพ่งกึ่งแห้งที่ผลิตโดยไม่เติมและเติมกล้ำเชื้อเริ่มต้น ในระหว่าง 7 วันของการผลิต

Day	Total acidity (เปอร์เซ็นต์ lactic acid)			
	Control	Commercial	P536	P2
D0	0.90 c	0.89 c	0.98 d	0.87 c
D1BH	1.43 bc wx	1.55 bc w	1.41 cd x	1.48 bc wx
D1AH	1.53 bc	1.45 bc	1.46 cd	1.45 bc
D2	1.87 ab	2.02 ab	2.03 abc	1.96 ab
D3	2.05 ab	2.15 ab	1.92 bc	2.11 ab
D4	2.10 ab	2.06 ab	2.12 abc	2.02 ab
D5	2.12 ab	2.26 ab	2.27 ab	2.32 ab
D6	1.89 ab	2.00 ab	2.22 ab	2.33 a
D7	2.56 a	2.71 a	2.70 a	2.41 a

Control = หมำ้แพ่งที่ผลิตโดยไม่เติมกล้ำเชื้อ

Commercial = หมำ้แพ่งที่ผลิตโดยเติมกล้ำเชื้อทางการค้า Pacovis RCI-47

P 536 = หมำ้แพ่งที่ผลิตโดยเติมกล้ำเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ประมาณ 10^6 cfu/g

P 2 = หมำ้แพ่งที่ผลิตโดยเติมกล้ำเชื้อ *Lactococcus lactis* spp. *lactis* P 2 ประมาณ 10^6 cfu/g

BH = ก่อนให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

AH = หลังจากให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

abcd ค่าเฉลี่ยในแถวเดียวกันที่มีอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

wx ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่มีอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

สำหรับค่า pH พบว่าในวันเริ่มผลิต หมำ้แพ่งมีค่า pH ระหว่าง 6.30-6.33 และ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) แต่ค่า pH ในทุกกลุ่มทดลองลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อหมักที่ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 วัน (5.04-5.11) ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณกรดทั้งหมดที่ไม่แตกต่างกันในวันเริ่มผลิต และเพิ่มขึ้นภายหลังการหมัก จากนั้นเมื่อให้ความร้อนเป็นเวลา 2 ชั่วโมง พบว่าทุกกลุ่มทดลองมีค่า pH เพิ่มขึ้นเล็กน้อย (5.12-5.16) แต่ทั้งนี้ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) เมื่อบ่มหมำ้แพ่งที่ 14 องศาเซลเซียสเพื่อลดความชื้น พบว่าภายในเวลา 1 วัน (D2) ทุกกลุ่มทดลองมีค่าการลดลงของค่า pH โดยเฉพาะกลุ่ม P536 มีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) จาก 5.16 เป็น 4.88 อย่างไรก็ตามเมื่อบ่มต่ออีกจนครบ 7 วัน พบว่าค่า pH ของทุกกลุ่มมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อย แม้จะไม่แตกต่างทางสถิติจากค่า pH ที่วัดได้ในวันที่ 2 (D2) ทั้งนี้ในแต่ละวันระหว่างการผลิต ค่า pH ในแต่ละกลุ่มทดลอง

ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) แม้ว่าในวันที่ 7 พบว่ากลุ่มที่ใช้กล้ำเชื้อจะมีค่า pH ระหว่าง 5.06 (P536) ถึง 5.10 (P2) ส่วนกลุ่มที่ไม่เติมกล้ำเชื้อมีค่า pH 5.21 อาจกล่าวได้ว่าจากกระบวนการหมักและบ่มเพื่อลดความชื้น ทุกกลุ่มทดลองมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ในทำนองเดียวกัน โดยกลุ่มที่ใช้กล้ำเชื้อจะมีแนวโน้มให้ค่า pH ต่ำกว่าเล็กน้อย ซึ่งการลดลงและเพิ่มขึ้นของค่า pH ในระหว่างการบ่มของการผลิตไส้กรอกแบบแห้งหรือกึ่งแห้งตามวิธีตะวันตกนี้ เป็นเพราะการเกิด proteolysis ในระหว่างการบ่ม (Campbell-Platt, 1995) ทั้งนี้ dry sausage มักมีค่า pH ประมาณ 5.0-5.3 และ semi-dry มีค่า pH ประมาณ 4.7-5.1 (Ricke and Keeton, 1997 และ Getty, 2010)

ตารางที่ 3.1.2.9 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ของหม่าแท่งกึ่งแห้งที่ผลิตโดยไม่เติมและเติมกล้ำเชื้อเริ่มต้นในระหว่าง 7 วันของการผลิต

Day	pH			
	Control	Commercial	P536	P2
D0	6.30 ± 0.09 a	6.31 ± 0.103 a	6.33 ± 0.90 a	6.33 ± 0.12 a
D1BH	5.14 ± 0.17 b	5.04 ± 0.36 b	5.11 ± 0.14 bc	5.06 ± 0.32 b
D1AH	5.16 ± 0.29 b	5.13 ± 0.47 b	5.16 ± 0.25 b	5.12 ± 0.42 b
D2	4.92 ± 0.22 b	4.87 ± 0.40 b	4.88 ± 0.22 c	4.89 ± 0.39 b
D3	4.93 ± 0.22 b	4.91 ± 0.55 b	4.93 ± 0.20 bc	4.91 ± 0.53 b
D4	5.11 ± 0.34 b	5.04 ± 0.48 b	5.05 ± 0.20 bc	5.04 ± 0.43 b
D5	5.18 ± 0.27 b	5.09 ± 0.44 b	5.08 ± 0.25 bc	5.05 ± 0.41 b
D6	5.13 ± 0.30 b	5.04 ± 0.42 b	5.04 ± 0.17 bc	4.99 ± 0.40 b
D7	5.21 ± 0.23 b	5.09 ± 0.42 b	5.06 ± 0.21 bc	5.10 ± 0.35 b

Control = หม่าแท่งที่ผลิตโดยไม่เติมกล้ำเชื้อ

Commercial = หม่าแท่งที่ผลิตโดยเติมกล้ำเชื้อทางการค้า Pacovis RCI-47

P 536 = หม่าแท่งที่ผลิตโดยเติมกล้ำเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ประมาณ 10^6 cfu/g

P 2 = หม่าแท่งที่ผลิตโดยเติมกล้ำเชื้อ *Lactococcus lactis* spp. *lactis* P 2 ประมาณ 10^6 cfu/g

BH = ก่อนให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

AH = หลังจากให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

abc ค่าเฉลี่ยในแถวเดียวกันที่มีอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

wx ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่มีอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

สำหรับค่า A_w เมื่อเริ่มผลิต ในทุกกลุ่มทดลองมีค่าประมาณ 0.97 (ตารางที่ 3.1.2.10) ซึ่งใกล้เคียงกับรายงานของ วิรัตน์ สุมน และณัญญาพร สุมน (2552) ที่ระบุค่า A_w เท่ากับ 0.93 ในหม้าที่ทำจากเนื้อโคพื้นเมือง สำหรับผลของการใช้กล้าเชื้อ พบว่าตลอดการผลิตแต่ละกลุ่มทดลองมีค่า A_w ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) เช่นเดียวกันกับผลของการหมัก 1 วันที่ 30 องศาเซลเซียสและการให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ที่พบว่าค่า A_w ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) จากวันที่เริ่มผลิต (D0) แต่ผลของกระบวนการบ่มที่ 14 องศาเซลเซียสและความชื้นสัมพัทธ์ 65 เปอร์เซ็นต์ ทำให้หม้าแห้งมีค่า A_w ลดลงอย่างต่อเนื่อง โดยมีผลอย่างชัดเจนในวันที่ 6 และ 7 ของการผลิต (D6-D7) ซึ่งพบว่าในวันที่ 7 ค่า A_w เท่ากับ 0.816 ในกลุ่ม P536 0.833 ในกลุ่ม P2 และ Commercial และมีค่า 0.837 ในกลุ่ม Control ตามลำดับ ทั้งนี้ Getty (2010) กล่าวว่า ไล์กรอกหมักแบบแห้งควรมีค่า $A_w < 0.91$ และแบบกึ่งแห้งควรมี $A_w = 0.90-0.94$ จึงอาจกล่าวได้ว่าหม้าแห้งที่ศึกษาอาจสามารถจัดอยู่ในกลุ่มไล์กรอกหมักแบบแห้ง ซึ่งสอดคล้องกับผลของความชื้นที่สูญเสียไประหว่างการผลิตดังแสดงในตารางที่ 12 ที่มีค่ามากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ โดยกลุ่มที่ใช้กล้าเชื้อมีการสูญเสียความชื้นมากกว่ากลุ่มที่ไม่ใช้กล้าเชื้อเล็กน้อย ($p<0.05$) ในขณะที่ความชื้นของผลิตภัณฑ์ที่ได้หลังจาก 7 วัน มีค่า 33.99-35.52 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 11) การผลิตหม้าแบบพื้นบ้านโดยผึ่งแดด 1 วัน แล้วหมักไว้ในที่อากาศถ่ายเทรวม 14 วัน พบว่าหม้ามีความชื้น 29.99 เปอร์เซ็นต์ โดยลดลงจากวันเริ่มต้น 42.16 เปอร์เซ็นต์ (งามนิจ นนทโสสม, 2539) Getty (2010) กล่าวว่าไล์กรอกแบบแห้งมักมีค่า pH ประมาณ 5.0-5.3 ปริมาณกรดแลคติก 0.5-1.0 เปอร์เซ็นต์ มีความชื้นในผลิตภัณฑ์น้อยกว่า 35 เปอร์เซ็นต์ และมักจะมีการสูญเสียความชื้นไปประมาณ 25-50 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 3.1.2.10 ค่า Aw ของหม่าแท่งกึ่งแห้งที่ผลิตโดยไม่เติมและเติมกล้าเชื้อเริ่มต้น ในระหว่างการผลิต

Day	Aw			
	Control	Commercial	P536	P2
D0	0.971 ± 0.001 a	0.968 ± 0.007 a	0.972 ± 0.002 a	0.966 ± 0.009 a
D1BH	0.973 ± 0.004 a	0.974 ± 0.004 a	0.974 ± 0.004 a	0.973 ± 0.003 a
D1AH	0.975 ± 0.004 a	0.974 ± 0.004 a	0.971 ± 0.010 a	0.972 ± 0.003 a
D2	0.970 ± 0.003 a	0.973 ± 0.003 a	0.969 ± 0.005 a	0.972 ± 0.003 a
D3	0.946 ± 0.024 ab	0.941 ± 0.025 a	0.949 ± 0.018 ab	0.950 ± 0.020 ab
D4	0.928 ± 0.039 ab	0.934 ± 0.033 a	0.919 ± 0.045 bc	0.910 ± 0.054 b
D5	0.909 ± 0.044 bc	0.889 ± 0.034 b	0.901 ± 0.053 c	0.906 ± 0.051 b
D6	0.875 ± 0.048 cd	0.865 ± 0.040 bc	0.846 ± 0.040 d	0.857 ± 0.050 c
D7	0.837 ± 0.063 d	0.833 ± 0.051 c	0.816 ± 0.043 d	0.833 ± 0.041 c

Control = หม่าแท่งที่ผลิตโดยไม่เติมกล้าเชื้อ

Commercial = หม่าแท่งที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อทางการค้า Pacovis RCI-47

P 536 = หม่าแท่งที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ประมาณ 10^6 cfu/g

P 2 = หม่าแท่งที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อ *Lactococcus lactis* spp. *lactis* P 2 ประมาณ 10^6 cfu/g

BH = ก่อนให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

AH = หลังจากให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

abcd ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่มีอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางที่ 3.1.2.11 เปอร์เซ็นต์ความชื้นของหม่าแท่งกึ่งแห้งที่ผลิตโดยไม่เติมและเติมกล้ำเชื้อเริ่มต้น

ในระหว่างการผลิต

Day	Mum Stick			
	Control	Commercial	P536	P2
D0	69.72 a	70.19 a	71.13 a	70.03 a
D1BH	69.86 a	69.62 a	70.23 a	70.04 a
D1AH	69.07 a	69.49 a	69.70 a	69.66 a
D2	64.94 ab	65.92 a	65.31 a b	65.57 ab
D3	58.72 b	57.43 b	59.32 b	59.76 b
D4	50.58 c	51.35 bc	50.14 c	48.80 c
D5	43.22 d	45.04 cd	44.26 c	44.32 c
D6	38.99 de	39.06 de	37.44 d	37.91 d
D7	33.99 e	35.45 e	35.52 d	35.37 d

Control = หม่าแท่งที่ผลิตโดยไม่เติมกล้ำเชื้อ

Commercial = หม่าแท่งที่ผลิตโดยเติมกล้ำเชื้อทางการค้า Pacovis RCI-47

P 536 = หม่าแท่งที่ผลิตโดยเติมกล้ำเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ประมาณ 10^6 cfu/g

P 2 = หม่าแท่งที่ผลิตโดยเติมกล้ำเชื้อ *Lactococcus lactis* spp. *lactis* P 2 ประมาณ 10^6 cfu/g

BH = ก่อนให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

AH = หลังจากให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

abcd ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่มีอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางที่ 3.1.2.12 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักของหม่าแท่งกึ่งแห้งที่สูญเสียไปหลังการผลิตเป็นเวลา 7 วัน

	Mum Stick			
	Control	Commercial	P536	P2
เปอร์เซ็นต์				
weight loss	58.43±0.97 b	59.22±1.21 a	59.10±0.64 a	59.34±1.18 a

Control = หม่าแท่งที่ผลิตโดยไม่เติมกล้ำเชื้อ

Commercial = หม่าแท่งที่ผลิตโดยเติมกล้ำเชื้อทางการค้า Pacovis RCI-47

P 536 = หม่าแท่งที่ผลิตโดยเติมกล้ำเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ประมาณ 10^6 cfu/g

P 2 = หม่าแท่งที่ผลิตโดยเติมกล้ำเชื้อ *Lactococcus lactis* spp. *lactis* P 2 ประมาณ 10^6 cfu/g

ab ค่าเฉลี่ยในแถวเดียวกันที่มีอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ผลการตรวจคุณภาพด้านสี พบว่าในแต่ละวันของการผลิต ค่าความสว่างหรือ L^* (ตารางที่ 3.1.2.13) ในแต่ละกลุ่มทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) แต่พบว่าผลของการหมักที่ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 วัน ทำให้หมำ้แห้งมีค่าความสว่างเพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะกลุ่มที่ใช้กล้าเชื้อค่า L^* เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) และเมื่อผ่านความร้อนค่าความสว่างในทุกกลุ่มทดลองมีค่ามากขึ้นอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ส่วนผลของการบ่มเพื่อลดความชื้นทำให้ค่า L^* ลดลงอย่างมีนัยสำคัญตั้งแต่ภายใน 1 วันแรกที่ผ่านมาการบ่ม ($p<0.05$) และลดลงอย่างต่อเนื่องตลอดการผลิต นั่นคือผลิตภัณฑ์มีสีคล้ำลงอย่างต่อเนื่องหลังผ่านความร้อนเมื่อเข้าสู่กระบวนการลดความชื้น

สำหรับค่า a^* (สีแดงหรือสีเขียว) พบว่าเมื่อเริ่มต้นผลิต หมำ้แต่ละกลุ่มทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) จนกระทั่งในวันที่ 1 หลังการให้ความร้อน (D1AH) ที่หมำ้ที่ใช้กล้าเชื้อทางการค้า (Commercial) จะมีค่า a^* มากกว่ากลุ่มที่ไม่เติมกล้าเชื้อ (Control) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ขณะที่ทั้งสองกลุ่มทดลองมีค่า a^* มากกว่ากลุ่ม P536 และกลุ่ม P2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ซึ่งในวันที่บ่มหมำ้ต่อจากนั้นตลอดการผลิต กลุ่ม Commercial มีสีแดงกว่ากลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) จนกระทั่งวันที่ 7 ที่พบว่าค่าสีแดง หรือ a^* ของทุกกลุ่มทดลองไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ทั้งนี้พบว่าโดยรวม หมำ้จะมีสีแดงเพิ่มขึ้นในประมาณ 2 วันภายหลังการให้ความร้อน (D3) จากนั้นจะมีค่าสีแดงลดลงตลอดการบ่ม โดยมีค่าไม่แตกต่างทางสถิติจากเมื่อวันเริ่มผลิต ($p>0.05$) เนื่องปริมาณความชื้นที่ลดลงอย่างต่อเนื่องระหว่างการบ่ม

ตารางที่ 3.1.2.13 ค่า L* ที่วัดจากผิวนอกของหม้อแท่งกึ่งแห้งจากเนื้อโคที่ผลิตโดยไม่เติมและเติมกล้ำเชื้อเริ่มต้น ในระหว่าง 7 วันของการผลิต

Day	Mum Stick L*			
	Control	Commercial	P536	P2
D0	37.78 ± 2.07 bc	38.27 ± 3.80 b	39.35 ± 2.02 b	38.01 ± 2.00 b
D1BH	40.82 ± 2.16 ab	42.46 ± 1.32 a	42.61 ± 1.32 a	42.69 ± 0.71 a
D1AH	41.81 ± 2.95 a	43.03 ± 1.37 a	43.05 ± 2.12 a	43.41 ± 0.82 a
D2	37.22 ± 3.83 c	38.68 ± 0.69 b	39.44 ± 3.46 b	39.32 ± 2.23 b
D3	29.83 ± 4.80 d	30.27 ± 1.71 c	31.14 ± 0.62 c	32.19 ± 0.48 c
D4	26.67 ± 1.92 de	26.55 ± 0.88 d	25.46 ± 1.87 d	27.90 ± 0.85 d
D5	24.35 ± 1.64 ef	23.28 ± 1.19 e	23.54 ± 0.42 de	24.45 ± 0.96 e
D6	21.83 ± 2.01 f	22.88 ± 0.95 e	22.74 ± 1.64 e	21.36 ± 1.32 f
D7	21.70 ± 2.08 f	22.07 ± 1.67 e	21.47 ± 1.14 e	21.37 ± 1.29 f

Control = หม้อแท่งที่ผลิตโดยไม่เติมกล้ำเชื้อ

Commercial = หม้อแท่งที่ผลิตโดยเติมกล้ำเชื้อทางการค้า Pacovis RCI-47

P 536 = หม้อแท่งที่ผลิตโดยเติมกล้ำเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ประมาณ 10^6 cfu/g

P 2 = หม้อแท่งที่ผลิตโดยเติมกล้ำเชื้อ *Lactococcus lactis* spp. *lactis* P 2 ประมาณ 10^6 cfu/g

BH = ก่อนให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

AH = หลังจากให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

a-f ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่มีอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางที่ 3.1.2.14 ค่า a^* ที่วัดจากผิวนอกของหม้อแท่งกึ่งแห้งจากเนื้อโคที่ผลิตโดยไม่เติมและเติมกล้าเชื้อเริ่มต้น ในระหว่าง 7 วันของการผลิต

Day	Mum Stick a^*			
	Control	Commercial	P536	P2
D0	8.13 $\pm$ 1.21 c	7.55 $\pm$ 1.57 d	7.20 $\pm$ 1.46 b	6.95 $\pm$ 0.85 ab
D1BH	7.69 $\pm$ 0.25 cd	7.86 $\pm$ 1.13 d	6.31 $\pm$ 1.19 bc	7.03 $\pm$ 2.70 ab
D1AH	8.17 $\pm$ 0.38 cx	9.51 $\pm$ 0.66 bcw	5.60 $\pm$ 0.50 cy	5.54 $\pm$ 1.35 by
D2	9.34 $\pm$ 0.60 abw	10.06 $\pm$ 0.82 abcw	6.47 $\pm$ 0.20 bcx	6.68 $\pm$ 0.75 abx
D3	9.61 $\pm$ 0.62 ax	11.42 $\pm$ 1.91 aw	7.52 $\pm$ 1.02 ab y	8.15 $\pm$ 1.04 a xy
D4	9.12 $\pm$ 0.47 abx	11.05 $\pm$ 1.57 abw	8.59 $\pm$ 0.39 ax	7.84 $\pm$ 1.49 ax
D5	8.52 $\pm$ 0.74 bcx	10.16 $\pm$ 1.53 abcw	7.28 $\pm$ 1.33 b x	7.31 $\pm$ 0.94 abx
D6	7.01 $\pm$ 0.90 dx	9.37 $\pm$ 0.87 cw	6.63 $\pm$ 1.07 bc x	6.88 $\pm$ 1.21 ab x
D7	7.53 $\pm$ 0.30 cd	7.74 $\pm$ 0.23 d	6.37 $\pm$ 1.34 bc	6.54 $\pm$ 1.58 ab

Control = หม้อแท่งที่ผลิตโดยไม่เติมกล้าเชื้อ

Commercial = หม้อแท่งที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อทางการค้า Pacovis RCI-47

P 536 = หม้อแท่งที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ประมาณ 10^6 cfu/g

P 2 = หม้อแท่งที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อ *Lactococcus lactis* spp. *lactis* P 2 ประมาณ 10^6 cfu/g

BH = ก่อนให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

AH = หลังจากให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

a-d ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่มีอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

w,x,y ค่าเฉลี่ยในแถวเดียวกันที่มีอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

สำหรับค่า b^* (สีเหลืองหรือสีน้ำเงิน) ซึ่งแสดงในตารางที่ 3.1.2.15 พบว่าเมื่อเริ่มต้นผลิต หม้อจากกล้าเชื้อ P2 มีสีเหลืองหรือ b^* น้อยกว่ากลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) อย่างไรก็ตามค่าที่วัดได้มีค่าน้อยกว่ากลุ่มทดลองอื่นๆ เพียงเล็กน้อย (ประมาณ 1 หน่วย) จึงอาจไม่ใช่เป็นผลเพราะความแตกต่างที่เกิดขึ้นจากกล้าเชื้อ แม้อาจเป็นไปได้หากความขุ่นหรือสีของกล้าเชื้อมีสีออกเหลืองมากกว่า ซึ่งภายหลังการหมัก 1 วันที่ 30 องศาเซลเซียสพบว่าหม้อจากกลุ่ม P2 ยังคงมีค่าสีเหลืองต่ำกว่ากลุ่ม Control และ P536 ($p < 0.05$) แต่ไม่แตกต่างจากกลุ่ม Commercial ($p > 0.05$) อย่างไรก็ตามความแตกต่างของค่า b^* ในแต่ละกลุ่มทดลองมีค่าเพียงประมาณ 1 หน่วยเช่นกัน ทั้งนี้พบว่าผลของการหมักทำให้ค่า b^* ลดลงโดยเฉพาะในกลุ่ม Control และ Commercial ที่ค่า b^* ลดลงจากเมื่อเริ่มผลิตอย่างมี

นัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ซึ่งตลอดระยะเวลาการบ่มเพื่อลดความชื้น พบว่าค่าสีเหลืองของหม้ามี่
แนวโน้มนลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ตารางที่ 3.1.2.15 ค่า b* ที่วัดจากผิวนอกของหม้อแห้งกึ่งแห้งจากเนื้อโคที่ผลิตโดยไม่เติมและเติมกล้า
เชื้อเริ่มต้น ในระหว่าง 7 วันของการผลิต

Day	Mum Stick b*			
	Control	Commercial	P536	P2
D0	14.24 ± 0.83 a w	14.16 ± 0.51 a w	14.41 ± 0.83 a w	13.17 ± 0.40 a x
D1BH	12.99 ± 0.54 bc w	12.20 ± 1.06 b wx	12.99 ± 0.49 ab w	11.92 ± 0.71 ab x
D1AH	13.53 ± 1.80 ab	12.98 ± 2.35 ab	13.05 ± 1.45 ab	12.64 ± 2.12 ab
D2	12.62 ± 1.94 bc	12.44 ± 2.47 ab	13.30 ± 2.56 ab	13.01 ± 3.25 ab
D3	12.09 ± 2.66 c	11.38 ± 1.53 bc	11.53 ± 1.34 b	11.71 ± 2.29 ab
D4	10.17 ± 1.60 d	10.04 ± 1.62 cd	9.24 ± 1.92 c	10.53 ± 2.16 bc
D5	9.04 ± 1.86 d	8.31 ± 0.87 de	8.09 ± 1.05 cd	8.74 ± 1.87 cd
D6	7.46 ± 1.28 e	7.85 ± 0.35 e	7.64 ± 1.18 cd	7.21 ± 1.45 d
D7	7.38 ± 1.36 e	7.44 ± 1.30 e	7.33 ± 1.32 d	7.08 ± 1.60 d

Control = หม้อแห้งที่ผลิตโดยไม่เติมกล้าเชื้อ

Commercial = หม้อแห้งที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อทางการค้า Pacovis RCI-47

P 536 = หม้อแห้งที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ประมาณ 10^6 cfu/g

P 2 = หม้อแห้งที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อ *Lactococcus lactis* spp. *lactis* P 2 ประมาณ 10^6 cfu/g

BH = ก่อนให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

AH = หลังจากให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

a-d ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่มีอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

w,x ค่าเฉลี่ยในแถวเดียวกันที่มีอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ตารางที่ 3.1.2.16 แสดงผลการประเมินความชอบของผู้ทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของ
หม้อแห้งที่พัฒนาขึ้น โดยเป็นผู้ที่รู้จักและเคยรับประทานหม้อและทานเนื้อโคได้จำนวน 25 คน พบว่า
จากทั้งหมด 7 คะแนน (ชอบมากที่สุด) ผู้ทดสอบชิมให้คะแนนความชอบแก่หม้อแห้งจากทุกกลุ่ม
ทดลองในด้านสี รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) โดยพบว่า
ผู้ทดสอบรู้สึกเฉยๆ ต่อคุณภาพสีของหม้อจากกลุ่ม Control P536 และ P2 (คะแนน 4.24 4.12 และ 4.16
จาก 7 คะแนน ตามลำดับ) ขณะที่ผู้ทดสอบให้คะแนนกลุ่ม Commercial เท่ากับ 4.80 อาจเป็นเพราะกลุ่ม

ที่ใช้กล้ำเชื้อทางการค้าจะมีสีที่ออกแดงมากกว่ากลุ่มอื่นๆ เล็กน้อย ส่วนด้านรสชาติพบว่าผู้ทดสอบรู้สึกชอบหมำจากทุกกลุ่มทดลอง (5.04-5.12) ขณะที่ด้านลักษณะเนื้อสัมผัส ผู้ทดสอบให้คะแนน 4.60-4.92 คือรู้สึกชอบ และเมื่อพิจารณาคุณภาพโดยรวมพบว่ามีคะแนน 4.96-5.16 คือรู้สึกชอบ

ตารางที่ 3.1.2.16 คะแนนความชอบของผู้ทดสอบจำนวน 25 คน ที่มีต่อคุณลักษณะหมำแห้งกึ่งแห้ง

หมำแห้ง	คะแนนความชอบเฉลี่ย ^{1/} ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน			
	สี ^{NS}	รสชาติ ^{NS}	เนื้อสัมผัส ^{NS}	คุณภาพโดยรวม ^{NS}
Control	4.24±0.93	5.08±1.04	4.68±0.80	4.96±0.79
Commercial	4.80±0.96	5.12±0.88	4.92±0.76	5.16±1.07
P536	4.12±1.01	5.04±1.10	4.60±0.58	5.00±0.82
P2	4.16±1.03	5.08±1.22	4.80±0.87	5.08±0.86

Control = หมำแห้งที่ผลิตโดยไม่เติมกล้ำเชื้อ

Commercial = หมำแห้งที่ผลิตโดยเติมกล้ำเชื้อทางการค้า Pacovis RCI-47

P 536 = หมำแห้งที่ผลิตโดยเติมกล้ำเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ประมาณ 10^6 cfu/g

P 2 = หมำแห้งที่ผลิตโดยเติมกล้ำเชื้อ *Lactococcus lactis* spp. *lactis* P 2 ประมาณ 10^6 cfu/g

^{NS} ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

^{1/} มาจากระดับคะแนนความชอบชนิด 1-7 Hedonic Scale ระดับ 1 หมายถึงไม่ชอบมากที่สุด ระดับ 2 หมายถึงไม่ชอบมาก ระดับ 3 หมายถึงไม่ชอบ ระดับ 4 หมายถึงเฉยๆ ระดับ 5 หมายถึงชอบ ระดับ 6 หมายถึงชอบมาก และระดับ 7 หมายถึงชอบมากที่สุด

สรุปผลการทดลอง

1. หมำแห้งที่พัฒนาขึ้นโดยใช้วิธีผลิตแบบตะวันตกมีคุณสมบัติจัดเป็นหมำแห้งหรือกึ่งแห้งเนื่องจากมีค่า pH น้อยกว่า 5.3 ค่า A_w ประมาณ 0.82-0.83 ซึ่งต่ำกว่า 0.91 ปริมาณความชื้นประมาณ 35 เปอร์เซ็นต์ โดยสูญเสียความชื้นไปมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ หลังการผลิต ซึ่งคุณสมบัติที่ได้อาจจะจัดเป็นกลุ่ม Shelf-stable meat product หากเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสม อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงคุณภาพด้านอื่นๆ อายุการเก็บรักษา และการยอมรับของผู้บริโภคทั่วไปในจำนวนมากขึ้น

2. การผลิตโดยใช้กล้ำเชื้อ ร่วมกับการให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง สามารถเพิ่มความปลอดภัยโดยช่วยควบคุมปริมาณ Coliforms และยีสต์ได้ โดยพบว่ากล้ำเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 อาจจะสามารถเจริญได้ดีกว่า *Lactococcus lactis* spp. *lactis* P 2 เล็กน้อย หากมีการให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง สำหรับผลของการใช้กล้ำเชื้อ

ร่วมกับการให้ความร้อนต่อการควบคุมจุลินทรีย์ที่ก่อโรคเพื่อเพิ่มความปลอดภัยในการบริโภค ควรศึกษายืนยันด้วย Microbial challenge ต่อไป

3. กล้าเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ให้ผลด้านจุลินทรีย์และเคมีไม่แตกต่างจากการใช้กล้าเชื้อทางการค้ามากนัก แต่การใช้กล้าเชื้อทางการค้าอาจจะให้ผลิตภัณฑ์ที่มีสีแดงกว่าเล็กน้อย ซึ่งคุณภาพด้านสีเป็นข้อที่ควรปรับปรุงสำหรับการผลิตหม่าแท่งที่ผลิตโดยใช้กล้าเชื้อซึ่งค้นพบโดยนักวิจัยของศูนย์เครือข่ายการวิจัยเทคโนโลยีเนื้อสัตว์ แม้ว่าสีกล้าเข้มของผลิตภัณฑ์ที่ได้ค่อนข้างเป็นสีปกติของหม่าโดยทั่วไป นอกจากนี้ผลในการเป็นโปรไบโอติกยังต้องมีการยืนยันด้วยการศึกษาเพิ่มเติม สำหรับเบื้องต้นกำลังอยู่ในระหว่างการศึกษาเพื่อยืนยันว่ากล้าเชื้อที่ใช้ยังคงมีชีวิตอยู่ในระหว่างกระบวนการผลิต ซึ่งไม่ได้รวมอยู่ในรายงานส่วนนี้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนสนับสนุนการวิจัยจากศูนย์เครือข่ายการวิจัยเทคโนโลยีเนื้อสัตว์ โดยความร่วมมือของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) กับสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ขอขอบคุณ ดร. อพัชชา จินดาประเสริฐ คณะอุตสาหกรรมเกษตร สจล. ที่กรุณาช่วยนำตัวอย่างไปศึกษาต่อเพื่อยืนยันการอยู่รอดของกล้าเชื้อในระหว่างกระบวนการผลิต นอกจากนี้ขอขอบคุณ นักศึกษาผู้ช่วยวิจัยของโครงการคือ นางสาวดาวใจ ตันธุ์สุระ และนางสาวปรมาภรณ์ เจ็ดวรรณะ รวมทั้ง นายเฉลิมชัย ทิพย์ค และเจ้าหน้าที่และนักศึกษาของศูนย์เครือข่ายการวิจัยเทคโนโลยีเนื้อสัตว์ ที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการดำเนินงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- กิตติวรรณ ขอดรักษ์. 2546. ผลของการใช้โซเดียมไนไตรท์ โซเดียมแอสคอร์เบต และการรมควันต่ออายุการเก็บของหม่า. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- งามนิจ นนทโส. 2539. การศึกษาชนิด ปริมาณแบคทีเรียและการเปลี่ยนแปลงทางเคมีในระหว่างการผลิตหมักมัม. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- วิรัตน์ สุมณ และณัฐยาพร สุมณ. 2552. ผลิตภัณฑ์พื้นบ้านจากเนื้อโคไทย. ใน คุณค่าเนื้อโคไทย (จุฑารัตน์ เศรษฐกุล และ พรรณีภา ศิวะพิรุณห์เทพ, บรรณาธิการ). บริษัทอมรินทร์พริ้นติ้ง แอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด (มหาชน), กรุงเทพฯ, น. 87-94.

- สิริพร พงษ์วุฒิประพันธ์. 2553. “ผลของเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ต่อคุณภาพ แหนมที่ผลิตจากเนื้อโคไทย” วิทยานิพนธ์วิทยาศาตรมหาบัณฑิต สาขาสุขาภิบาลอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพมหานคร.
- สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2546. หน้า. มผช. 146/2546. กระทรวงอุตสาหกรรม.
Available: <http://library.tisi.go.th/T/fulltext/CPS/alphabetical/P1.htm>, 20 มีนาคม 2553, 5 น.
- อรรถพล สุจริตรักษ์. 2549. การพัฒนาผลิตภัณฑ์หมักโดยใช้เทคโนโลยีเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น. วิทยานิพนธ์ มหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- AOAC International. 2005. Official Methods of Analysis of AOAC International, 18th Ed., Microbiological Methods No. 966.24. AOAC INTERNATIONAL, USA.
- Campbell-Platt, G. 1995. Fermented meats-a world perspective. In Fermented Meat, (G. Campbell-Platt and P.E. Cook., Eds.), Blackie Academic & Professional, London, UK. p. 39-52.
- Cooked, P.E. 1995. Fungal ripened meats and meat products. In Fermented Meat, (G. Campbell-Platt and P.E. Cook., Eds.), Blackie Academic & Professional, London, UK. p. 110-129.
- Dalma, U. and Soyer, D. 2008. Effect of processing methods and starter culture (*Staphylococcus xylosus* and *Pediococcus pentosaceus*) on proteolytic changes in Turkish sausage (sucuk) during ripening and storage. Meat Sci. 80: 345-354.
- Ensoy, U., N. Kolsarici, K. Candogan, and B. Karslioglu. 2009. Changes in biochemical and microbiological characteristics of turkey sucuks as affected by processing and starter culture utilization. J. Muscle Foods., 21: 142-165.
- Getty, K.J.K., R.K. Phebus, J.L. Marsden, J.R., Schwenke, and C.L. Kastner. 1999. Control of *Escherichia coli* 0157:H7 in large (115 mm) and intermediate (90 mm). diameter Lebanon-style bologna. J Food Sci., 64 (6):1100-1107.
- Getty, K.K. 2010. Dry and semi-dry fermented and direct acidified sausage validation. National Pork Board, American Meat Science Association Fact Sheet.
- Ramirez-chavarin, N.L., C., Wachter-Rodarte, and M. L., Perez-Chabela. 2010. Characterization and identification of thermotolerant lactic acid bacteria isolated from cooked sausages as biopreservative cultures. J. Muscle Foods, 21: 585-596.
- Ricke, S.C. and Keeton, J.T. 1997. Fermented meat, poultry, and fish products. In Food Microbiology:

- Fundamentals and Frontiers, Chapter 33, Doyle, M.P., Beuchat, L.R., and Montville, T.J. (Eds.), ASM Press, USA. p. 610-628.
- Roncales, P., Aguilera, M., Beltran, J.A., Jaime, I., and Peiro, J.M. 1991. The effect of natural or artificial casing on the ripening and sensory quality of a mould-covered dry sausage. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 26:83-89.
- Runjuankiat, K., Pilasombut, K., Wangwibulkit, S., and Swetwathana, A. 2009. "Screening and partial characterization of bacteriocin from lactic acid bacteria in fish gastrointestinal tract." In book of Abstract of The 3rd International Conference on Fermentation Technology for Value Added Agricultural Products. 26-28 August, Khon kaen, Thailand.
- Rust, R.E. 2004. Ethnic Meat Products: North America. In *Encyclopedia of Meat Sciences*. 1st Ed. W.K. Jensen, C. Devine, and M. Dikeman, Editors. Elsevier Ltd., UK. p. 455-457.
- Rust, R.E. 2007. U.S. Products. In *Handbook of Fermented Meat and Poultry*. Toldra, F., Hui, Y.H., Nip, W.-K., Sebranek, J.G., Silveira, E-T. F., Stahnke, L.H., and Talon, R. (Eds.). Blackwell Publishing, USA. 303-306.
- Incze, K. 1998. Dry fermented sausages. *Meat Sci*, 49 (Suppl. I): S169-S177.
- Kutus, R. 1999. Dried sausage sticks (Slim Jims). Chapter XII Cured Sausage Semi-Dry, In *Great Sausage Recipes and Meat Curing*, B. Kutus, Editor. The Sausage Maker Inc., USA. p. 343-408.
- Toldra, F., Hui, Y.H., Nip, W.-K. 2007. Dry-fermented sausages. In *Handbook of Fermented Meat and Poultry*. Toldra, F., Hui, Y.H., Nip, W.-K., Sebranek, J.G., Silveira, E-T. F., Stahnke, L.H., and Talon, R. (Eds.). Blackwell Publishing, USA. p. 321-327.
- Swetwathana, A., Leutz, U., Lotong, N., and Fischer, A. 1999. Controlling the Growth of *Salmonella anatum* in Nham. *Fleischwirtschaft*. 79(9) : 124-128.
- Swetwathana, A. 2005. Microbiological quality enhancement of Thai fermented meat product (Nham) using Nham-associated pediocin-producing lactic acid bacteria (*Pediococcus pentosaceus* TISTR 536). Philosophy Degree thesis, Kyushu University, Japan.
- Swetwathana, A., Lotong, N., Nakayama, J., and Sonomoto, K. 2007. Maturation of Nham – a Thai Fermented Meat Product : Effect of Pediocin PA-1 Producer (*Pediococcus pentosaceus* TISTR 536) as Starter Culture, Nitrite and Garlic on *Salmonella anatum* during Nham Fermentation. *Fleischwirtschaft International*. 22(3) : 46 – 49.
- Wikipedia. 2010. Slim Jim (Snack Food). Wikipedia Foundation, Inc. Available: [http://en.wikipedia.org/wiki/Slim_Jim_\(snack_food\)](http://en.wikipedia.org/wiki/Slim_Jim_(snack_food)), October 15, 2010.

3.2 พัฒนาเนื้อหมักเปรี้ยวกึ่งแห้งชาลามิผสมชาเขียว

หลักการและเหตุผล

ผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวแบบตะวันตกที่เป็นที่รู้จักดี คือ ชาลามิ ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์กึ่งแห้งถึงแห้ง มีอายุของการเก็บรักษานาน เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความเป็นกรดและมีค่า Water Activity, A_w ต่ำ เป็นผลิตภัณฑ์ที่สร้างมูลค่าเพิ่มได้มาก สามารถใช้วัตถุดิบเนื่องจากสัตว์ที่มีความเหนียวจากเนื้อโคที่มีอายุมากมาใช้เป็นวัตถุดิบหลัก ซึ่งเนื้อโคพื้นเมืองมีความเหมาะสมอย่างมากในการที่จะผลิตเนื่องจากเนื้อโคไทยที่มีไขมันน้อย เนื้อแห้งและมีสีเข้มและสามารถใช้เนื้อจากชิ้นส่วนรอง เช่น เนื้อคอ และเนื้อพื้นท้องมาเป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตได้ แต่เนื่องจากผลิตภัณฑ์นี้ใช้ไขมันสูงเป็นส่วนประกอบสูงถึง 20-30 เปอร์เซ็นต์ โอกาสที่อายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์จะสั้นลงเนื่องจากการหืนของไขมันโดยปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันรวมกับการทำงานของเอนไซม์ไลเปสมีสูงมากเช่นกัน และโดยเฉพาะอากาศร้อนแบบบ้านเราจะทำให้เร่งปฏิกิริยาการทำงานของเอนไซม์ การใช้สารสกัดจากชาเขียวมาเป็นส่วนผสมในการทำผลิตภัณฑ์ดังกล่าวจึงมีโอกาที่จะช่วยทำให้อายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์นานขึ้น เนื่องจาก ชาเขียวมีสารคาเทชินซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญของสารโพลีฟีนอล มีคุณสมบัติที่ดีหลายประการซึ่งมีในรายงานนักวิจัยเป็นจำนวนมาก เช่น เป็นสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) เป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (antimicrobial) ป้องกันการเกิดมะเร็ง (anticarcinogenic) เป็นต้น ดังนั้นการรักษาคุณภาพให้อายุการเก็บรักษายาวนานขึ้น โดยใช้สารสกัดจากธรรมชาติ เช่น ชาเขียว ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวชาลามิจึงเป็นเรื่องน่าจะได้มีการศึกษา

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากชาเขียวในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์และคุณภาพของผลิตภัณฑ์จากเนื้อหมักเปรี้ยวชาลามิ
2. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากชาเขียวในการยืดการเก็บรักษาเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากเนื้อหมักเปรี้ยวชาลามิ
3. เพื่อศึกษากระบวนการหมักและบ่มที่เหมาะสมสำหรับผลิตเนื้อโคหมักเปรี้ยวกึ่งแห้ง (ชาลามิ)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

วัตถุดิบที่เหมาะสมในการผลิตซาลามิ

Feiner (2006) ได้รายงานถึงเนื้อที่นำมาใช้ในการผลิตซาลามิว่าเป็นเนื้อที่ไม่มีมัน (lean meat) อาจจะใช้ได้ตั้งแต่เนื้อกวาง เนื้อกระบือ เนื้อจิ้งจอก แต่ที่นิยมคือเนื้อสุกร ทั้งนี้ปัญหาหลักของการจะใช้เนื้อชนิดใดนั้นขึ้นอยู่กับความเร็วหรือช้าของการสร้างกรด (acidification) ในระหว่างกระบวนการหมัก ทั้งนี้เนื้อม้า และเนื้อกวางมีปริมาณไกลโคเจนในเนื้อสูงกว่าเนื้อโคและเนื้อสุกร ดังนั้นผลิตภัณฑ์จะมีความเป็นกรดที่สูงกว่า

เนื้อที่จะนำมาทำซาลามิจะต้องแต่งเอาต่อม ฟังผัด จุดเลือด หลอดเลือดออก การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ควรน้อยที่สุดที่เหมาะสมคือ มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ Enterobacteriaceae สูงสุดไม่เกิน $10^4/g$ เนื้อสด pH ในเนื้ออยู่ที่ 5.7-5.8 เนื้อ DFD ไม่เหมาะสมที่จะนำมาผลิตทั้งนี้เพราะเนื้อมีค่า pH สูง ความเป็นกรดจะช้าประกอบกับความสามารถของการอุ้มน้ำของโปรตีนในเนื้อสูง (WHC) จะทำให้กระบวนการดองน้ำออกจากผลิตภัณฑ์ (ripening) เป็นไปได้ช้า เนื้อ PSE มีข้อได้เปรียบมากกว่าเนื้อ DFD ในการที่จะนำมาทำซาลามิเนื่องจากผลิตภัณฑ์จะแห้งเร็วกว่า อย่างไรก็ตามไม่ควรใช้ปริมาณเกินกว่า 20-25 เปอร์เซ็นต์ ของวัตถุดิบเนื้อ

เนื้อจากแม่โคเหมาะสมที่จะนำมาทำซาลามิมากกว่าเนื้อโคหนุ่ม เนื่องจากเนื้อมีสีแดงเข้ม เพราะมีปริมาณเม็ดสีในเลือด (myoglobin) สูงกว่า นอกจากนี้ยังมีปริมาณไกลโคเจนในเนื้อสูงกว่า เนื้อมีความชื้นต่ำกว่าทำให้ระยะเวลาในการบ่มผลิตภัณฑ์สั้นกว่า

ไขมันที่เหมาะสมในการนำมาทำซาลามิ คือไขมันสุกรที่มาจากส่วนไขมันสันหลัง (back fat) และไขมันต้นคอ (neck fat) เนื่องจากเป็นไขมันที่มีกรดไขมันอิ่มตัวสูงกว่าไขมันส่วนอื่น ซึ่งจะทำให้ไขมันไม่ละลายในช่วงระยะการบ่ม แต่ไขมันวัวไม่นิยมนำมาใช้เนื่องจากมีปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวสูงมากเกินไป แต่ถ้าจะใช้ไขมันวัวทำซาลามิในบางชนิดจะใช้ไขมันจากส่วนเสีร้องให้ (brisket) การใช้ไขมันในส่วนผสมมากจะทำให้ค่า pH ลดลงช้า เนื่องจากไขมันมีค่า pH สูงและความชื้นต่ำ ทำให้ผลิตภัณฑ์ซาลามิที่มีไขมันสูงจะมีค่า A_w ต่ำ

ในการเตรียมวัตถุดิบเนื้อและไขมันจะต้องผ่านกระบวนการลดอุณหภูมิถึงจุดเยือกแข็ง (-18 ถึง -20 °C) เพื่อป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella* spp. ในขณะทำการสับผสมเนื้อและไขมันในอ่างสับผสมความเร็วสูง (high speed bowl cutter) ไม่ควรใช้เนื้อแช่เยือกแข็งทั้งหมด ควรมีเนื้อกึ่งแช่แข็ง (semi-frozen) ประมาณ 20-25 เปอร์เซ็นต์ เพราะจะช่วยทำให้อุณหภูมิสุดท้ายไม่ต่ำเกินไป อุณหภูมิสุดท้ายควรอยู่ที่ 0 °C ซึ่งจะทำให้กระบวนการหมัก (fermentation) โดยเชื้อจุลินทรีย์ทำงานอย่างมีประสิทธิภาพ

คุณภาพของผลิตภัณฑ์ชาลามิและปัจจัยที่เกี่ยวข้อง (Feiner. 2006)

ผลิตภัณฑ์ชาลามิที่มีคุณภาพดี ควรมีคุณลักษณะดังนี้

1. strong & stable curing color
2. excellent sliceability
3. typical flavor
4. microbiological stability

ทั้งนี้ปัจจัยที่เกี่ยวข้องสรุปได้ดังนี้

ปัจจัยภายนอก

1. อุณหภูมิ (temperature) หมายถึง อุณหภูมิภายในตู้ที่ใช้หมัก (fermentation) และอุณหภูมิภายในตู้บ่ม (ripening)
2. ความชื้นสัมพัทธ์ (Relative humidity) ของสภาพอากาศภายในตู้บ่มและหมัก
3. ความเร็วลมใต้ตู้หมักและตู้บ่ม (air velocity)
4. ระยะเวลาในการบ่ม (ripening time)
5. การรมควันหรือไม่รมควัน (application of smoke or not smoke)
6. การเติมเชื้อรา (addition of mould)

ปัจจัยภายใน

1. สัดส่วนของเนื้อต่อไขมัน
2. ค่า pH และค่า A_w ของเนื้อและไขมันเนื้อเริ่มต้น
3. ชนิดและจำนวนของน้ำตาลที่ใส่ในส่วนผสม
4. ปริมาณของเกลือและชนิดของเครื่องเทศที่ใช้
5. ชนิดและการอยู่รอดของเชื้อบริสุทธิ์ที่เติมลงในส่วนผสม
6. ขนาดของเนื้อและไขมันภายหลังสิ้นสุดการสับผสม
7. ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของไส้บรรจุและชนิดของไส้บรรจุ

เชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์

กระบวนการหมักเปรี้ยวในผลิตภัณฑ์เนื้อเกิดจากเชื้อที่มีอยู่ในส่วนผสมทั้งหมดในการทำผลิตภัณฑ์ ซึ่งประกอบด้วยเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ ได้แก่ กลุ่ม CNC, LAB, yeast/moulds นอกจากนี้ ยังอาจพบเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเน่าเสีย (กลุ่ม *Pseudomonas* และ *Enterobacteria*) และ

กลุ่ม Enterococci ดังนั้นการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในวัตถุดิบผสมของการทำไส้กรอก (batter) มาจากวัตถุดิบเนื้อสัตว์และไส้บรรจุมากที่สุด ทั้งนี้ Chevallier *et al.* (2006) พบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์กลุ่ม CNC, yeasts/moulds, coliforms และ *Pseudomonas* ในวัตถุดิบเนื้อสัตว์และไขมันที่ใช้ในการทำผลิตภัณฑ์ Comi *et al.* (2005) พบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (total aerobic counts) ในวัตถุดิบเนื้อสัตว์ประมาณ $5.8 \log \text{ cfu/g}$ และในไส้บรรจุประมาณ $3.8\text{-}6.1 \log \text{ cfu/g}$

ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ที่พบอยู่ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวแบบดั้งเดิมขึ้นอยู่กับสูตรในการผลิตและกระบวนการบ่มเนื้อ ซึ่งเกี่ยวข้องกับอุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ และระยะเวลาในการบ่ม (Lebert *et al.*, 2007) ทั้งนี้ในยุโรปกระบวนการหมักและบ่มผลิตภัณฑ์มีความแตกต่างกัน ดังนี้

กระบวนการ fermentation เริ่มที่ 18-24 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-2 วัน หรือที่ 10-12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 อาทิตย์ กระบวนการบ่ม (ripening) อยู่ที่ 10-14 องศาเซลเซียส (ฝรั่งเศส อิตาลี) นานเป็นระยะเวลา 4-12 สัปดาห์ ทั้งนี้ความชื้นสัมพัทธ์ควรอยู่ที่ระดับใดนั้นขึ้นอยู่กับค่า A_w ที่กำหนดให้เป็นไปตามแต่ละชนิดของผลิตภัณฑ์

การเพิ่มขึ้นของเชื้อจุลินทรีย์ในวันแรกของการหมัก คือ เชื้อ LAB ซึ่งจะสัมพันธ์กับค่า pH ที่ลดลง เชื้อจุลินทรีย์กลุ่ม LAB และ CNC อาจเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึงสิ้นสุดระยะการบ่ม แต่พบว่าเชื้อในกลุ่ม *Pseudomonas* และ Enterobacteriaceae จะลดลงในช่วงระยะการบ่ม Lebert *et al.* (2007) สำรวจข้อมูลการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ กลุ่ม *Pseudomonas* และ Enterobacteriaceae ในโรงงานของประเทศฝรั่งเศส 10 แห่ง พบว่า เชื้อในกลุ่ม *Pseudomonas* และ Enterobacteriaceae เริ่มต้นที่พบในวัตถุดิบผสมในการทำไส้กรอกเท่ากับ $1.7\text{-}4.4 \log \text{ cfu/g}$ และ $1.8\text{-}5.2 \log \text{ cfu/g}$ ตามลำดับ ทั้งนี้ในช่วงระยะของการ fermentation ปริมาณเชืวดังกล่าวจะอยู่ในระดับคงที่ แต่เมื่ออยู่ในระยะการบ่ม ปริมาณเชืวดังกล่าวจะลดลง อย่างไรก็ตาม Comi *et al.* (2005) พบการเพิ่มขึ้นของเชืวดังกล่าวในระยะของการหมัก และจะอยู่คงที่ไปจนถึงสิ้นสุดระยะการบ่ม ทั้งนี้เชื้อ *Pseudomonas* จะหายไปเมื่อสิ้นสุดระยะการบ่ม

เชื้อจุลินทรีย์กลุ่ม Enterococci พบมีปริมาณเริ่มต้นในวัตถุดิบผสมของไส้กรอกอยู่ที่ระดับ $2.0\text{-}4.5 \log \text{ cfu/g}$ และจะเพิ่มขึ้นในช่วงระยะการหมัก จากนั้นจะอยู่ในระดับคงที่จนถึงสิ้นสุดระยะการบ่ม (Comi *et al.*, 2005) ในทำนองเดียวกัน Yeasts และ Moulds พบปนเปื้อนอยู่ในวัตถุดิบผสมเริ่มต้นที่ระดับ $2.0\text{-}4.5 \log \text{ cfu/g}$ (Lebert *et al.*, 2007) และพบว่าจะมีการเพิ่มขึ้นในช่วงระยะการหมักและในช่วงระยะการบ่มจะคงที่จนถึงสิ้นสุดการบ่ม สำหรับเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคพบว่าการปนเปื้อนของ *Salmonella* ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักเปรี้ยว 54 ชนิด ของกลุ่มประเทศ EU ประมาณ 5.6 เปอร์เซ็นต์

และการปนเปื้อนของ *Staphylococcus aureus* 7.4 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเกินระดับมาตรฐานของ Commission Regulation EC ที่กำหนดว่าต้องไม่เกิน 2.0 log cfu/g

สารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ได้จากชาเขียว

คาเทชิน (catechins) ซึ่งเป็นสารพอลิฟีนอลที่สกัดได้จากชาเขียวมีความสามารถในการเป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในชาที่ไม่ผ่านการหมักจะสูงกว่าชาที่ผ่านการหมักบางส่วนหรือชาที่ผ่านการหมัก และประสิทธิภาพในการยับยั้งยังขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารสกัดที่ใช้ด้วย (Almajano *et al.*, 2008) ความต้านทานต่อสารพอลิฟีนอลของแบคทีเรียแกรมลบนั้นมีมากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก อาจเนื่องมาจากการมีผนังเซลล์ที่ต่างกัน (Negi *et al.*, 2003) ซึ่งคล้ายคลึงกับการวิจัยของ Ikigai *et al.* (1993) ว่าการที่เชื้อแบคทีเรียชนิดแกรมลบมีความต้านทานต่อคาเทชินมากกว่าเชื้อแบคทีเรียชนิดแกรมบวก เนื่องจากมี lipopolysaccharide ชนิดประจุลบอยู่ด้วย และการที่คาเทชินแสดงผลฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ โดยมีผลทำลายเมมเบรนของเชื้อแบคทีเรียนั่นเอง

ปัจจุบันมีงานวิจัยจำนวนมากที่แสดงให้เห็นว่าคาเทชินซึ่งเป็นสารพอลิฟีนอลที่พบในชาเขียวมีความสามารถในการเป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ อาทิเช่น

Yoda *et al.* (2004) ได้ทำการศึกษาถึงฤทธิ์ของ อีพิกอลโลคาเทชินกอลเกต (epigallocatechingallate, EGCG) ในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus* spp. และแบคทีเรียแกรมลบ ประกอบด้วย *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* และ *S. Typhimurium* พบว่าระดับความเข้มข้น 50 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus* spp. ได้ และระดับความเข้มข้นที่มากกว่า 800 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบได้ สารสกัดจากชาเขียว ได้แก่ proanthocyanidins (catechin), epigallocatechin epicatechin, และ epigallocatechingallate ของมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *E. coli* K 12 (Amarowicz *et al.*, 2000)

Mbata *et al.* (2008) ศึกษาความสามารถของสารสกัดจากชาเขียวที่สกัดด้วยน้ำและสกัดด้วยเมทานอลในการยับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes* และพบว่า สารสกัดชาเขียวที่สกัดด้วยเมทานอลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อมากกว่าสารสกัดชาเขียวที่สกัดด้วยน้ำ โดยความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารสกัดชาเขียวที่สกัดด้วยเมทานอล คือ 0.26 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดชาเขียวที่สกัดด้วยน้ำ 0.68 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

นิพนธ์ ลิ้มสงวน (2547) ทำการศึกษาความสามารถของคาเทชินที่สกัดได้จากชาเขียวของไทยในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ โดยวิธีแพร่ผ่านกระดาศกลมที่ระดับความเข้มข้น 100,

200, 300, 400 และ 500 ไมโครกรัมต่อแผ่น พบว่าคาเทชินที่สกัดได้นั้นมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อจุลินทรีย์และประสิทธิภาพ ในการยับยั้งขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของคาเทชินที่ใช้ และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นประสิทธิภาพในการยับยั้งก็เพิ่มมากขึ้นด้วย โดยสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus subtilis* มากกว่า *Salmonella typhi* มากกว่า *Pseudomonas fluorescens* มากกว่า *Staphylococcus aureus* มากกว่า *Streptococcus faecalis* แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Escherichia coli* ได้

การศึกษาอิทธิพลของคาเทชินต่อระบบทางเดินอาหาร พบว่าคาเทชินสามารถยับยั้งการทำงานของแอลฟา-อะไมเลส (α -amylase) ในลำไส้เล็ก และยังพบว่าคาเทชินมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ในระบบทางเดินอาหาร แต่ไม่ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติก (lactic acid bacteria) แต่อย่างใด (Hara, 1997) นอกจากนี้ Ishihara *et al.* (2001) ศึกษาถึงผลของการเสริมสารสกัดชาเขียวในอาหารสัตว์ต่อปริมาณแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่ (microflora) พบว่าสารสกัดชาเขียวเมื่อผสมในอาหารสัตว์ (โค) มีผลให้ปริมาณแบคทีเรียที่ดีคือ *Bifidobacterium* spp. และ *Lactobacillus* spp. เพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับการศึกษาในสุกร เมื่อเลี้ยงด้วยอาหารซึ่งเสริมด้วย สารพอลิฟีนอลจากชา 0.2 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้ปริมาณ *Lactobacilli* เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในวันที่ 7 และ 14 (Hara *et al.*, 1995) ในส่วนของแบคทีเรียที่ไม่ดีพบว่าปริมาณ *C. perfringens* จะลดลง (Hara *et al.*, 1995 ;Ishihara *et al.*, 2001)

สารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากชาเขียว

คาเทชิน (catechins) เป็นสารพอลิฟีนอลที่สกัดได้จากชาเขียวมีความสามารถในการเป็นสารต้านการออกซิเดชัน ในเนื้อสัตว์ที่มีปริมาณไขมันสูงมักพบการเกิดออกซิไดซ์ของไขมัน โดยปริมาณไขมันของเนื้อสัตว์ขึ้นอยู่กับอิทธิพลหลายประการ เช่น ชนิดของสัตว์ เพศและอายุสัตว์ ปัจจุบันมีการศึกษาถึงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของคาเทชินในเนื้อสัตว์ เช่นเนื้อโค เนื้อสุกร และเนื้อปลารวมถึงในน้ำมันและผลิตภัณฑ์ที่มีเนื้อเป็นส่วนประกอบ ตัวอย่างการวิจัยที่แสดงให้เห็นว่าคาเทชินมีความสามารถในการเป็นสารต้านการออกซิเดชัน ที่ได้จากธรรมชาติ (antioxidant) (Higdon and Frei, 2003) อาทิเช่น

He and Shahidi. (1997) รายงานว่าสามารถใช้คาเทชินเป็นสารต้านการออกซิเดชัน ยับยั้งการเกิดออกซิไดซ์ของไขมันในเนื้อปลาและน้ำมันตับปลาได้ และให้ผลดีกว่าสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ เช่น วิตามินอี (α -tocopherol)

Bozkurt (2006) ทดลองใช้สารสกัดจากชาเขียวในความเข้มข้น 300 ppm ในการผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวแบบแห้งของตุรกี (Sucuk) เพื่อปรับปรุงคุณภาพและความปลอดภัยด้านอาหารของ

ผลิตภัณฑ์โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ใช้สารกันหืน (butylated hydroxytoluene, BHT) 300 ppm เช่นเดียวกัน โดยมีขั้นตอนของกระบวนการบ่ม (ripening) รวม 15 วัน ดังนี้ 2 วินาที 90 เปอร์เซ็นต์ RH และ 26 องศาเซลเซียส; 2 วัน ที่ 85 เปอร์เซ็นต์ RH และ 24 องศาเซลเซียส; 2 วัน ที่ 80 เปอร์เซ็นต์ RH และ 22 องศาเซลเซียส; 2 วัน ที่ 75 เปอร์เซ็นต์ RH และ 20 องศาเซลเซียส; 2 วัน ที่ 70 เปอร์เซ็นต์ RH และ 18 องศาเซลเซียส ผลการทดลองพบว่า ผลิตภัณฑ์ *sucuk* ที่เติมชาเขียวมีความปลอดภัยทางด้านอาหารสูงกว่าสามารถลดปริมาณการสร้างสาร TBARS ได้มากกว่าการใช้สาร BHT และกลุ่ม control ($P < 0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่าสามารถลดปริมาณการสร้าง biogenic amine ได้แก่ putrescine และ tyramine ในระหว่างกระบวนการบ่มได้มากกว่าการใช้สาร BHT และกลุ่ม control ($P < 0.05$)

การตรวจสอบคุณภาพของผลิตภัณฑ์โดยการวัดการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ในระหว่างการบ่ม ไม่พบความแตกต่างระหว่างการใช้ชาเขียวและการใช้สาร BHT และกลุ่ม control โดยใน 2 วันแรกของการบ่มค่า pH ลดลงอย่างรวดเร็ว (น้อยกว่า 4.5) จากนั้นค่า pH จะเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตลอดระยะเวลาการบ่ม 15 วัน ด้านสีของผลิตภัณฑ์ที่วัดโดยค่า L^* , a^* , b^* ไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่ทดลอง โดยพบว่า ค่า L^* จะลดลงจากค่าประมาณ 45-38 ในระหว่างกระบวนการบ่มค่า a^* ในช่วง 2 วันแรกของการบ่มจะเพิ่มขึ้นจาก 11.46-16.47 ภายหลังจากนั้นจนถึงสิ้นสุดระยะการบ่ม ค่าจะลดลงถึง 12 สำหรับค่า b^* พบว่า จะมีค่าลดลงตลอดช่วงระยะเวลาของการบ่มเช่นกัน โดยมีค่าเริ่มต้นประมาณ 13.1

ผลจากการทดสอบการตรวจชิมโดยผู้ชิมที่ได้รับการฝึกฝนจำนวน 10 คน พบว่ากลุ่มที่ใช้สารสกัดชาเขียวได้รับการยอมรับโดยรวมดีที่สุด รองลงมาคือกลุ่มที่ใช้สาร BHT และที่มีการยอมรับต่ำสุดคือ กลุ่ม control

Tang *et al.* (2006) ศึกษาความสามารถของคาเทชินในการยับยั้งการเกิดออกซิไดซ์ของไขมันในเนื้อโคบด โดยทำการผสมสารคาเทชินลงในเนื้อสันนอกโคที่ผ่านการบดแล้วที่ระดับความเข้มข้น 0, 200, 400, 600, 800 และ 1000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของเนื้อ จากนั้นเก็บรักษาเนื้อโคบดแบบแช่เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส โดยการบรรจุแบบมีอากาศและแบบสุญญากาศ พบว่าการเติมคาเทชินที่ระดับความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สามารถยับยั้งการเกิดออกซิไดซ์ของไขมันในเนื้อโคได้ โดยมีค่าทีบีเอ = 0.5 มิลลิกรัมมาโลนอลดีไฮด์ต่อเนื้อ 1 กิโลกรัม ตลอดระยะการเก็บรักษาทั้งการบรรจุแบบมีอากาศและแบบสุญญากาศซึ่งมีค่าน้อยกว่าเนื้อโคที่ไม่เติมคาเทชิน โดยในวันที่ 0 จะมีค่า TBARS = มิลลิกรัมมาโลนอลดีไฮด์ต่อเนื้อ 1 กิโลกรัม และในวันที่ 7 จะมีค่าทีบีเอ = 5 mg มิลลิกรัมมาโลนอลดีไฮด์ต่อเนื้อ 1 กิโลกรัม นอกจากนี้ยังไม่พบความแตกต่างกันทางนัยสำคัญทางสถิติของค่าทีบีเอที่ระดับ 200, 400, 600, 800 และ 1000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของเนื้อในการบรรจุแบบมีอากาศและแบบสุญญากาศ

Chongcharoen and Pinrungsrot (2007) ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากชาเขียวในการยับยั้งกลิ่นหืนในน้ำมันหมู โดยใส่สารกันหืนสังเคราะห์บีเอชที (BHT) ที่ระดับความเข้มข้น 0.02 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ซึ่งเป็นปริมาณที่อนุญาตให้ใส่ในไขมันสัตว์ เปรียบเทียบกับสารคาเทชินบริสุทธิ์ และสารคาเทชินที่สกัดได้จากชาเขียวที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน พบว่าสารบีเอชทีที่เติมลงในน้ำมันหมูสามารถยับยั้งการเกิดกลิ่นหืนได้ดีที่สุดในวันที่ 8 ของการทดลอง รองลงมาคือสารสกัดจากชาเขียว และสารคาเทชินบริสุทธิ์ อย่างไรก็ตาม เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารคาเทชินที่สกัดได้จากชาเขียว (0.1, 0.2 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์(w/v)) ในน้ำมันหมูสามารถยับยั้งการเกิดเปอร์ออกไซด์ได้เพิ่มขึ้น

Brozkurt (2006) ทำการเปรียบเทียบความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการสังเคราะห์ (บิวทิลไฮดรอกซีโทลูอีน (butylated hydroxytoluene, BHT)) และสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากธรรมชาติ (สารสกัดจากชาเขียว และน้ำมันของ *Thymbra spicata*) ใน Turkish dry-fermented sausage ซึ่งใส่สารต้านอนุมูลอิสระที่ระดับความเข้มข้นเดียวกันคือ 300 ส่วนในล้านส่วน พบว่าสารสกัดจากชาเขียวสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด รองลงมาคือน้ำมันของ *Thymbra spicata* และ BHT ตามลำดับ

ในการศึกษาของนิพนธ์ ลิ้มสงวน (2547) เกี่ยวกับความสามารถของคาเทชินที่สกัดได้จากชาเขียวของไทยในการต้านอนุมูลอิสระ และการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในเนื้อไก่แยกกระดูกด้วยเครื่อง โดยใช้คาเทชินที่มีระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน 4 ระดับ ได้แก่ 100, 200, 400 และ 800 ส่วนในล้านส่วน พบว่าคาเทชินที่ระดับความเข้มข้น 200 ส่วนในล้านส่วน มีประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และสารยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาพในการเก็บ โดยการเก็บแบบแช่แข็งให้ประสิทธิภาพดีกว่าการเก็บแบบแช่เย็น ระยะเวลาในการเก็บที่มากขึ้นทำให้ประสิทธิภาพทั้งสองด้านลดลง และระดับความเข้มข้นของคาเทชินที่เพิ่มขึ้นส่งเสริมประสิทธิภาพของคุณสมบัติทั้งสองด้านให้เพิ่มขึ้น

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากชาเขียวในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์และคุณภาพของผลิตภัณฑ์จากเนื้อหมักเปรี้ยวกึ่งแห้ง (ชาลามี)
2. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากชาเขียวในการยืดการเก็บรักษาเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากเนื้อหมักเปรี้ยวกึ่งแห้ง (ชาลามี)
3. เพื่อศึกษากระบวนการหมักและบ่มที่เหมาะสมสำหรับผลิตเนื้อโคหมักเปรี้ยวกึ่งแห้ง (ชาลามี)

ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงคุณภาพเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์ ทางด้านกายภาพ และเชื้อจุลินทรีย์
2. ได้ทราบถึงกระบวนการผลิตและการบ่มของผลิตภัณฑ์เนื้อโคหมักเปรี้ยวแบบแห้งที่เหมาะสม เพื่อใช้สำหรับพัฒนาผลิตภัณฑ์
3. ได้ทราบอิทธิพลของสารสกัดจากชาเขียวที่มีผลต่อผลิตภัณฑ์ทั้งทางด้านกายภาพ และเชื้อจุลินทรีย์

วัสดุอุปกรณ์ และเครื่องมือในการผลิต Salami

- 1) ไม้บรรจุกระดาชขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 เซนติเมตร
- 2) เครื่องอัดไส้กรอก (TALSA #0542MODELH 26PA 380/50/3, EU)
- 3) เครื่องมัดไส้กรอก (MAX SEALING MACHINE รุ่น HR – PSII, MAX Co., LTD, JAPAN)
- 4) Type KA 50 air- conditioned maturing cabinet (SUDTRONIC M. SchaaCo., Germany)

อุปกรณ์และเครื่องมือในการวิเคราะห์เชื้อ

- 1) ตู้เขี่ยเชื้อ (DWYER instruments INC, U.S.A.)
- 2) ตู้บ่มเพาะเชื้อ (BD, Scientific promotion CO., LTD, U.S.A.)
- 3) เครื่องเขย่า (Shaking Incubator: VS-8408 SFN, Korea)
- 4) เครื่องตีบดตัวอย่าง (Stomacher Bag Mixer 400 interscience, France)
- 5) ตู้อบเครื่องแก้ว (Hot air oven: Memmert, Belgium)
- 6) เครื่องซังไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Fx-2000i, Japan)
- 7) เครื่องผสมสารละลายในหลอดทดลอง (KMC-1300V, Korea)
- 8) ไมโครเวฟ (TRX-249M, Korea)
- 9) หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (High-Pressure Steam Sterilizer ES-315, Japan)
- 10) ไมโครปิเปต (Biopipette autoclavable, Labnet)
- 11) ตู้แช่แข็ง -20 องศาเซลเซียส (Angle Technology CO., Ltd., Thailand)

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

- 1) MRS broth (Merck, Germany)
- 2) Agar (Criterion, U.S.A.)
- 3) Tryptic soy broth (Merck, Germany)

- 4) Agglutinating antiserum (polyvalent) A-67
- 5) Triple sugar iron agar (Merck, Germany)
- 6) Tryptone (BIO BASIC INC, Canada)
- 7) Peptone (Merck, Germany)
- 8) XLD agar (Merck, Germany)
- 9) Salmosyst broth base, SB (Merck, Germany)
- 10) Salmosyst selective supplement tablet, SBST (Merck, Germany)
- 11) CaCO_3 (Scharlau Chemie S.A., Spain)
- 12) โซเดียมคลอไรด์ (Ajax Finechem, Australia)
- 13) 1 - octanal ความเข้มข้น 99 เปอร์เซ็นต์ (Panreac, Spain)
- 14) น้ำมันพาราฟิน (Metha Group Trading Ltd., Part., Thailand)
- 16) แอลกอฮอล์ 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์
- 17) Plate Count Agar (Merck, Germany)
- 18) Acetic acid glacial (J. T. Backer, Thailand)
- 19) Ethanol 95 เปอร์เซ็นต์
- 20) Lauryl Sulphate Broth (Criterion, U.S.A)
- 21) Brilliant Green Bile Broth (Criterion, U.S.A)
- 22) *Escherichia coli* Broth (EC Broth) (Criterion, U.S.A)
- 23) Eosin Methylene Blue Agar (EMB Agar) (Criterion, U.S.A)
- 24) Tryptophan Broth (Merck, Germany)
- 25) สารละลาย Kovac (Merck, Germany)
- 26) Methyl Red Voges Proskawer Broth (MR-VP) (Merck, Germany)
- 27) α -Naphthol ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ (Merck, Germany)
- 28) Potassiumhydroxide (KOH) ความเข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์ (Merck, Germany)
- 29) Simmon's Citrate Agar (Merck, Germany)
- 30) Baird – Parker 's media with egg yolk telluite (Merck, Germany)
- 31) Salmonella-Shigella (SS) agar (Merck, Germany)
- 32) Salmosyst broth base (SB) (Merck, Germany)
- 33) Triple Sugar iron (TSI) agar slant (Merck, Germany)

- 34) Lysine indole motility (LIM) medium (Merck, Germany)
- 35) 2 - Thiobarbituric acid (TBA) (Sigma, Germany)
- 36) 1,1,3,3 – Tetraethoxypropane (Sigma, Germany)
- 37) Butylated Hydroxytoluene (Fluka, Japan)
- 38) Hydrochloric acid (Merck, Germany)
- 39) di-Potassium Dihydrogen Orthophosphate, K_2HPO_4 (Univer, New Zealand)
- 40) Potassium Dihydrogen Orthophosphate, KH_2PO_4 (Univer, New Zealand)

อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์ลักษณะทางเคมีและกายภาพ

- 1) เครื่อง Homogenizer (Ultra tarrax, Germany)
- 2) ตู้อบเพาะเชื้อ (WTB Binder model BD, Germany)
- 3) เครื่องมือวัดอุณหภูมิ (Ebro model TTX100, Germany)
- 4) เครื่องมือวัดสีของเนื้อ (Minolta Chromameter CR-300, Japan)
- 5) เครื่องมือวัดค่าความเป็นกรด-ด่างในเนื้อ (Mettler Toledo model SG-2, China)
- 6) เครื่องวัดค่า water activity (Novasina, Switzerland)
- 7) เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Fx-2000i, Japan)
- 8) ตู้อบเครื่องแก้ว (Hot air oven: Memmert, Belgium)
- 9) เครื่องเขย่าสาร (Vortex, Vision Scientific co., ltd. model KMC-1300V, Korea)
- 10) ไมโครเวฟ (TRX-249M, Korea)
- 11) หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Auto clave, Tomy, Japan)
- 12) ไมโครปิเปต ขนาด 200-1000 ไมโครลิตร (Eppendorf, U.S.A)
- 13) อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Mettmert, Germany)
- 14) เครื่องแก้วพร้อมอุปกรณ์ต่างๆ ที่จำเป็น
- 15) เครื่องบรรจุสุญญากาศ (Ramon, Germany)
- 16) เครื่องกลั่นโปรตีน (Gerhardt model Vapodest 30, Germany)
- 17) เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Shimadzu model UV-1601, Japan)

วิธีดำเนินการทดลอง

1. การเตรียมวัตถุดิบสำหรับทำซาลามิ คัดแปลงมาจาก Fischer (2008)

เนื้อพบนอกโคพื้นเมือง (Bottom Round)	1.5	กิโลกรัม
เนื้อซี่ข้างโคพื้นเมือง (Plate)	2	กิโลกรัม
มันหมู (Back Fat)	1.5	กิโลกรัม
เกลือไนไตรท์ (0.5 เปอร์เซ็นต์ nitrite)	120	กรัม
เกลืออีริโทรเบท (Erythorbate)	5	กรัม
กลูโคส	15	กรัม
Mixed spices (Finnski Salami)	55	กรัม
กลัเชื้อจุลินทรีย์	2.5	กรัม

1) เนื้อสะโพกและเนื้อซี่ข้างจากโคพื้นเมืองของจังหวัดอุบลราชธานี ที่เลี้ยงแบบปล่อยตามธรรมชาติ อายุประมาณ 2 ปี น้ำหนักเข้าฆ่าประมาณ 140-150 กิโลกรัม ที่ผ่านการบ่มเนื้อ 7-10 วัน

2) นำเนื้อดังกล่าวมาหั่นเป็นชิ้นขนาดประมาณ 2×2 ตร.นิ้ว วางเรียงบนถาด นำไปแช่แข็งที่ -20°C เพื่อให้เนื้อมีอุณหภูมิใจกลางเนื้อไม่สูงกว่า -18°C

3) มันแข็งสุกรนำมาตัดเป็นชิ้นเนื้อและนำไปแช่แข็งเช่นเดียวกันซึ่ง จะได้ซาลามิออกมา

3 กลุ่มๆละ 5 กิโลกรัม คือ

กลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุม (ไม่เติมสารสกัดชาเขียว)

กลุ่มที่ 2 กลุ่มที่เติมสารสกัดชาเขียวผง 0.2 เปอร์เซ็นต์ ของวัตถุดิบเนื้อและไขมัน

กลุ่มที่ 3 กลุ่มที่เติมสารสกัดชาเขียวผง 0.4 เปอร์เซ็นต์ ของวัตถุดิบเนื้อและไขมัน

วิธีการทำซาลามิ

1) ลดอุณหภูมิในอ่างสับผสมโดยใช้น้ำแข็งแช่ไว้อย่างน้อย 1 ชั่วโมง ก่อนการทำ จากนั้นนำเอน้ำแข็งออกและเขี่ยอ่างสับผสมให้แห้ง

2) ใส่วัตถุดิบเนื้อสับด้วยความเร็วรอบต่ำ 2-3 รอบ จากนั้นตามด้วยความเร็วรอบสูงจนครบประมาณ 10 รอบ

3) ใส่มันแข็งสับด้วยความเร็วรอบสูงอีกประมาณ 5 รอบ พร้อมกับเติมกลัเชื้อจุลินทรีย์ Starter culture ซึ่งนำไปละลายในน้ำกลั่น (15 มิลลิลิตร) ก่อนเติมลงในอ่าง

4) เติม Mixed spices สารสกัดชาเขียวในรูปของผงตามปริมาณที่กำหนดไว้ในแต่ละกลุ่ม และเกลือไนไตรท์ สับต่อด้วยความเร็วรอบต่ำ สังเกตดูให้เม็ดไขมันกระจายทั่วๆในส่วนผสมทั้งหมด

- 5) วัดอุณหภูมิส่วนผสมเมื่อกระบวนการสับผสมสิ้นสุดมีค่าประมาณ -3°C ถึง -1°C
- 6) นำลงใส่ในเครื่องอัดไส้ที่หล่อน้ำแข็งให้เย็นก่อนเติมส่วนผสมของชาลามิ
- 7) อัดในไส้บรรจุ (Fibrous casing) สำหรับชาลามิ
- 8) นำไปแขวนไว้ในตู้บ่ม (Ripening Chamber) โดยปรับอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ใน

กระบวนการผลิตดังนี้ Fischer (2008)

(1) กระบวนการหมักเปรี้ยว (fermentation)

- ขั้นตอน 1: อุณหภูมิ 24°C ความชื้นสัมพัทธ์ 96 เปอร์เซ็นต์ 36 ชั่วโมง
 ขั้นตอน 2: อุณหภูมิ 22°C ความชื้นสัมพัทธ์ 90 เปอร์เซ็นต์ 24 ชั่วโมง
 ขั้นตอน 3: อุณหภูมิ 20°C ความชื้นสัมพัทธ์ 85 เปอร์เซ็นต์ 30 ชั่วโมง

(2) กระบวนการบ่ม (ripening)

- ขั้นตอน 4: อุณหภูมิ 14°C ความชื้นสัมพัทธ์ 74 เปอร์เซ็นต์ จนครบ 4 สัปดาห์
 ขั้นตอน 5: อุณหภูมิ 14°C ความชื้นสัมพัทธ์ 65 เปอร์เซ็นต์ จนครบ 6 สัปดาห์

2. การวิเคราะห์ทางด้านจุลินทรีย์ของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชาลามิ

1) สุ่มตัวอย่างชาลามิแต่ละสูตรจำนวน 25 กรัมในวันผลิตที่ 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42 วัน เพื่อตรวจวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ *Coliforms* และ *E. coli*, Yeast/Mold, *S. aureus* แบคทีเรียกรดแลคติกและ *Salmonella* spp.

(1.1) การตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Coliforms* และ *E. coli* AOAC (2006) ซั่งตัวอย่าง ชาลามิ 25 กรัม แล้วเจือจางให้มีความเข้มข้น 1:10 เจือจางต่อให้เป็น 1:10², 1: 10³ นำไปเปิด 1 มิลลิลิตร ดูดตัวอย่างอาหารที่เจือจางที่ 1:10, 1: 10² และ 1: 10³ ใส่ลงในหลอดแก้วที่มี Lauryl sulphate tryptose broth (LST) ระดับความเจือจางละ 3 หลอด นำหลอดดังกล่าวไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ตรวจผลโดยดูหลอดที่เกิดฟองแก๊สใน fermentation tube ถ่ายเชื้อเฉพาะหลอดที่เกิดฟองแก๊ส โดยใช้ loop จุ่มลงใน Brilliant green lactose bile broth (BGLB) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ตรวจผลโดยดูหลอด BGLB ที่มีฟองแก๊สเกิดขึ้นนำผลที่ได้ไปเปิดตาราง MPN รายงานผลเป็น MPN coliforms bacteria/g เขียนเชื้อ 1 loop จากหลอด EC-broth ที่มีฟองแก๊ส แล้ว streak บน Levine's eosin methylene blue (EMB) agar นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35°C เป็นเวลา 24 ± 2 ชั่วโมง โคโลนีของ *E. coli* จะมีลักษณะสีดำตรงกลางหรืออาจไม่มีก็ได้ นำไปจัดจำแนก (indentification) Biochemical tests โดยเขียนเชื้ออย่างน้อย 2 โคโลนี (isolate colony) ถ่ายใส่ Plate Count Agar (PCA) บ่มที่อุณหภูมิ 35°C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ประเมินค่า MPN ของ *E. coli* จากจำนวนหลอดของ EC-broth ที่มีโคโลนีให้ผลเป็น +++ หรือ ++

(1.2) การตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Salmonella* sp. AOAC (2006) นำตัวอย่างซาลาไม จำนวน 25 กรัม ใส่ลงใน Salmosyst broth base (SB) 225 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 6-8 ชั่วโมง ถ่ายเชื้อจาก SB 10 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เติม Salmosyst selective supplement table (SBST) 1 เม็ด เข้าให้เม็ด SBST ละลายใน SB จนหมด นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง แล้วนำไปเชื้อเพาะเชื้อลงบนอาหารแข็ง โดยใช้ XLD agar และ SS agar บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง นำโคโลนีที่สงสัยว่าเป็นเชื้อ *Salmonella* sp. มาทดสอบทางชีวเคมีโดยการถ่ายโคโลนีต้องสงสัยลงในอาหาร TSI และ LIM

การทดสอบปฏิกิริยาชีวเคมี

ดูปฏิกิริยาทางชีวเคมีในหลอด TSI agar slant และ LIM medium เชื้อ *Salmonella* spp. จะให้คุณสมบัติทางชีวเคมีดังนี้

K = alkaline ปลายหลอด (slant) ของอาหาร TSI จะมีสีสีแดง

A = acid ก้นหลอด (butt) ของ TSI จะมีสีเหลือง

H_2S^+ = ในหลอด TSI จะเกิดตะกอนสีดำของไฮโดรเจนซัลไฟด์ ซึ่ง *Salmonella* spp. ส่วนใหญ่จะให้ผล +

H_2S^- = ในหลอด TSI จะไม่เกิดตะกอนสีดำของไฮโดรเจนซัลไฟด์

Gas^+ = มีฟองอากาศดันขึ้นของ TSI เนื่องจาก *Salmonella* spp. ส่วนใหญ่สามารถหมักย่อยน้ำตาลกลูโคสแล้วได้กรดและแก๊สเพียงเล็กน้อย

Gas^- = ไม่มีฟองอากาศดันขึ้นของ TSI

$Lysine^+$ = จะมีสีม่วงทั้งหลอดเนื่องจากเชื้อ *Salmonella* spp. มีเอนไซม์ lysine decarboxylase ไปย่อย lysine ทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าวมีความเป็นด่างมากขึ้น มีผลทำให้ brom cresol purple ซึ่งใช้เป็น indicator ในอาหารดังกล่าวและมี pH เป็นกลาง มีสีม่วงเข้มมากยิ่งขึ้นซึ่ง *Salmonella* spp. จะมีเอนไซม์นี้

$Lysine^-$ = หลอดอาหารจะมีสีเหลืองเนื่องจากเชื้อ *Salmonella* spp. ไม่มีเอนไซม์ lysine decarboxylase ไปย่อย lysine ทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าวมีค่า pH ต่ำมากขึ้น มีผลทำให้สีม่วงของ brom cresol purple เปลี่ยนไปเป็นสีเหลือง

$Indole^+$ = จะมีสีแดงบนหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อหลังหยดน้ำยา Kovac

$Indole^-$ = จะไม่มีสีแดงบนหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อหลังหยดน้ำยา Kovac ซึ่ง *Salmonella* spp. ไม่มีเอนไซม์ tryptophanase จึงไม่เกิดปฏิกิริยากับ Kovac

Motile⁺ = หลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ LIM จะขุ่นทั้งหมด ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อ *Salmonella* spp. ส่วนมากจะมีแฟลกเจลลาในการเคลื่อนที่ ดังนั้น เมื่อทำการ stab เชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อจะเกิดการเคลื่อนที่จากรอย stab ไปทุกทิศทางจึงทำให้หลอดขุ่น

Motile⁻ = หลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ LIM จะมีการเจริญบริเวณรอย stab เท่านั้น ส่วนบริเวณอาหารรอบรอย stab จะใส ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อไม่มีแฟลกเจลลาในการเคลื่อนที่ จึงเจริญบริเวณรอย stab เท่านั้น

(1.3) การตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Staphylococcus aureus* คัดแปลงมาจากวิธีของ AOAC (2006)

ชั่งตัวอย่างซาลามี 25 กรัม ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อใส่ในถุงพลาสติกปราชจากเชื้อเท่านั้น ใสเจือจางปริมาตร 225 มิลลิลิตร ตีปั่นให้เข้ากันด้วยเครื่อง Stomacher ทำการเจือจางตัวอย่างเพิ่มขึ้นอีก 1-2 ระดับ ตามความเหมาะสม โดยใช้ปิเปตเชื้อมูตัวอย่างเจือจาง 1:10 ในขั้นต้น 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดหรือขวดบรรจุน้ำยาเจือจางเปปโตน 0.1 เปอร์เซนต์ ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ปิดฝาแล้วเขย่าหลอดหรือขวดด้วยเครื่องเขย่าไฟฟ้า (mixer) หรือใช้มือเขย่าขึ้นลงอย่างแรง 25 ครั้ง ให้เข้ากันดี จะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจางเท่ากับ 10^{-2} (1:100) ถ้าต้องการเตรียมตัวอย่างให้เจือจางในระดับต่อไปนี้ คือ 10^{-3} (1:1,000) และ 10^{-4} (1:10,000) เรื่อยไปตามลำดับ ถ่ายตัวอย่างแต่ละความเจือจางลงบนอาหาร Baird-Parker ระดับความเจือจางละ 3 จาน จานละ 0.1 มิลลิลิตร ใช้แท่งแก้วรูปตัว L ทำการเกลี่ยเชื้อมบนอาหารเลี้ยงเชื้อให้ทั่ว ตามวิธี spread plate นำเชื้อเข้าตู้บ่มอุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 45-48 ชั่วโมง ตรวจนับเฉพาะโคโลนีที่สงสัยว่าเป็น *S. aureus* โดยโคโลนีของเชื้อ *S. aureus* มีลักษณะกลมมน สีดำเป็นมัน ผิวเรียบ ขอบขาว มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2-3 มิลลิลิตร มีตะกอนขุ่นรอบๆ โคโลนี ซึ่งเกิดจากเอนไซม์ lecithinase ทำให้เกิดปฏิกิริยากับเลซิทินในไข่แดงที่เติมในอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำให้เกิดตะกอนของเกลือฟอสเฟต เห็นเป็นตะกอนขุ่น ที่เรียกว่า opaque หรือ creamy zone และมักพบโซนใสในอาหารเลี้ยงเชื้อถัดจาก opaque zone ในตัวอย่างอาหารแช่แข็งและอาหารแห้ง โคโลนีของเชื้ออาจเกิดสีดำช้ากว่าปกติและขอบไม่เรียบได้

การทดสอบการสร้างเอนไซม์ของ *Staphylococcus aureus* คัดแปลงมาจากวิธีของ AOAC (2006)

Subculture เชื้อลงใน Brain heart infusion broth (BHI broth) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ลงในหลอดทดลองขนาด 13x100 มิลลิลิตร หลอดละ 0.3 มิลลิลิตร นำไปบ่มเพาะเชื้อไว้ 48 ชั่วโมง ใช้เข็มเขี่ยเชื้อที่ปราศจากเชื้อเขี่ยโคโลนีที่สงสัยว่าเป็น *S. aureus* เพาะเชื้อในหลอดที่มี BHI broth และหลอดอาหาร TSA slant (สำหรับการทดสอบซ้ำ) บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ดูด Coagulase plasma with EDTA ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร ลงในหลอดเพาะเชื้อที่มี BHI broth บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 4 - 6 ชั่วโมง อ่านผลโดยดูการแข็งตัวของ plasma อันเนื่องมาจากเอนไซม์

Coagulase (Coagulase positive) ที่เชื้อ *S. aureus* สร้างขึ้น ซึ่งอาจจะมีลักษณะต่างๆ กัน สำหรับเชื้อที่ให้ Coagulase มากน้อยไม่เท่ากันดังนี้คือ

(1.4) การตรวจวิเคราะห์เชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก AOAC (2006) สุ่มตัวอย่างซาลาமி ตัวอย่างละ 25 กรัม ผสมด้วยน้ำยาเจือจางปริมาตร 225 มิลลิลิตร จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 1:100 ทำจนได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม จากนั้นดูดสารละลายที่เจือจางแล้ว ทั้ง 3 ระดับความเจือจาง สุกด้วยความเจือจางละ 1 มิลลิลิตร และถ่ายลงในจานเพาะเชื้อ เทอาหาร MRS Agar ที่เติม CaCO_3 (0.5 เปอร์เซ็นต์) ลงจานเพาะเชื้อปริมาณจานละ 15–20 มิลลิลิตร ที่ระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ รอจนอาหารแข็งแล้วคว่ำจานเพาะเชื้อ จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะที่ไม่มีอากาศ นับจำนวนโคโลนีที่มีบริเวณใส (clear zone) รอบ ๆ โคโลนี และรายงานผลเฉพาะจานเพาะเชื้อ ที่มีจำนวนระหว่าง 30-300 โคโลนี

(1.5) การตรวจวิเคราะห์เชื้อ Yeast/Mold AOAC (2006) สุ่มตัวอย่างซาลาமி 25 กรัม ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อใส่ในถุงพลาสติกปราชจากเชื้อหน้ายาเจือจางปริมาตร 225 มิลลิลิตร ตีปั่นให้เข้ากัน ด้วยเครื่อง Stomacher ทำการเจือจางตัวอย่างเพิ่มขึ้นอีก 1-2 ระดับ ตามความเหมาะสมโดยใช้ปิเปตดูด ตัวอย่างเจือจาง 1:10 ในขั้นต้น 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดหรือขวดบรรจุน้ำยาเจือจางเปปโตน 0.1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ปิดฝาแล้วเขย่าหลอดหรือขวดด้วยเครื่องเขย่าไฟฟ้า (mixer) หรือใช้มือ เขย่าขึ้นลงอย่างแรง 25 ครั้ง ให้เข้ากันดี จะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจางเท่ากับ 10^{-2} (1:100) ถ้า ต้องการเตรียมตัวอย่างให้เจือจางในระดับต่อไปนี้ คือ 10^{-3} (1:1,000) และ 10^{-4} (1:10,000) เรื่อยไป ตามลำดับ ถ่ายตัวอย่างแต่ละความเจือจางลงบนอาหารโดยวิธี Pour plate เทอาหาร Malt agar เมื่อ อาหารแข็งแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 20 °C เป็นเวลา 120 ชั่วโมง จึงตรวจนับเชื้อที่ขึ้น

(1.6) การศึกษาจำนวนจุลินทรีย์รวมทั้งหมด (Total plate count) ดัดแปลงมาจากวิธีการของ AOAC (2006) สุ่มตัวอย่างขึ้นเนื้อที่บ่มในระยะเวลาต่างๆที่กำหนดมาตัวอย่างละ 25 กรัม ใน สารละลายเปปโตนปริมาตร 225 มิลลิลิตร จะได้สารละลายเปปโตนที่มีความเข้มข้น 1:10 ทำจนได้ ระดับความเจือจางที่เหมาะสมในแต่ละช่วงเวลากการบ่มเนื้อ จากนั้นดูดสารละลายเปปโตนที่ 3 ระดับ ความเจือจางสุดท้ายความเจือจางละ 1 มิลลิลิตร และถ่ายลงในจานเพาะเชื้อ เทอาหาร Plate Count Agar ลงจานเพาะเชื้อปริมาณจานละ 15 – 20 มิลลิลิตรที่ระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ รอจนอาหารแข็งแล้ว คว่ำจานเพาะเชื้อ นำจานเพาะเชื้อทั้งหมดไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำมานับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด และรายงานผลเฉพาะจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนระหว่าง 30-300 โคโลนี

3. การตรวจวิเคราะห์ทางเคมีและกายภาพของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชาลามิ

1) การหาการออกซิเดชันผลิตภัณฑ์ชาลามิ การหาการออกซิเดชันของเนื้อโดยวิธี

2-Thiobarbituric Acid Reactive Substance (TBARS) โดยค่า TBARS value เป็นค่าที่บ่งชี้ถึงการเกิดกลั่นของเนื้อสัตว์ โดยชั่งเนื้อ 10 กรัมใส่บีกเกอร์ เติม 50 mM potassium phosphate buffer 9 มิลลิลิตร ตามด้วย Butylated hydroxytoluene (BHT) 1 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 40 มิลลิลิตร ปั่นด้วยเครื่อง homogenizer (13,000 rev./min) นาน 30-40 วินาที จากนั้นเทตัวอย่างทั้งหมดในบีกเกอร์ลงในหลอดกลั่น ก่อนกลั่นเติม HCL 4 N 1.25 มิลลิลิตร และ anti-form 6 หยดลงในตัวอย่าง โดยใช้เวลาในการกลั่น 190 วินาที จากนั้นดูดสารละลายที่ได้จากการกลั่นมา 5 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดลอง จากนั้นเติม 0.069 M Thiobarbituric acid 5 มิลลิลิตร แล้วผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปต้มในน้ำเดือด 100 °C เป็นเวลา 35 นาที เขย่าทุกๆ 5 นาที เมื่อครบเวลาทำให้เย็นในทันที แล้วจึงนำออกมาวางไว้ในที่อุณหภูมิห้อง เพื่อวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 532 นาโนเมตร จากนั้นนำค่าที่ได้ไปคำนวณหาค่า TBARS value ซึ่งมีหน่วยเป็น มิลลิกรัมมาโลนอลดีไฮด์ต่อเนื้อ 1 กิโลกรัม (ดัดแปลงจาก Castellini *et al.*, 2002)

การวิเคราะห์หาความเข้มข้นของ malonaldehyde (MDA)

ทำกราฟมาตรฐานของสารละลาย MDA ในเนื้อ โดยนำ stock MDA มาเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 ไมโครโมลต่อไมโครลิตร จากนั้นนำสารละลาย stock MDA ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 532 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐานและคำนวณสมการถดถอย $y = ax + b$ โดยค่า y เป็นค่าการดูดกลืนแสง และค่า x เป็นค่าความเข้มข้นของสารละลาย stock MDA แล้วนำไปคำนวณค่า TBARS Value จากสูตร

$$\text{TBARS Value (mg MDA / kg sample)} = \frac{(X \cdot 10 \cdot 72)}{\text{น้ำหนักเนื้อตัวอย่าง}}$$

เมื่อ X = ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร

10 = dilution

72 = น้ำหนักโมเลกุลของ MDA

2) วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยใช้ probe วางลงในชิ้นชาลามิด้วยเครื่องมือวัดค่าความเป็นกรด-ด่างในเนื้อ (Mettler Toledo, model SG-2)

3) การวัดค่า water activity (A_w) คัดแปลงมาจากวิธีการของนภา โล่ทอง (2529) นำตัวอย่างชาลามีที่จะทำการวัดค่า water activity (A_w) ปริมาณ 3 กรัม บดชาลามีให้ละเอียด ใส่ลงในภาชนะสำหรับใช้วิเคราะห์ ตัวอย่างละ 2 ซ้ำ ทำการวัดด้วยเครื่องวัดค่า water activity (A_w) แล้วบันทึกผลที่ได้

4) การวัดค่าสี คัดแปลงจากวิธีการของ Visessanguan *et al.* (2004) นำตัวอย่างชาลามีที่จะทำการวัดค่าสีจำนวน 1 แท่ง โดยวัดสีผิวด้านในชาลามี ด้วยการตัดผิวสัมผัสหน้าตัดของชาลามีที่แบ่งไว้ทำการวัดด้วยเครื่องวัดสีของเนื้อ แล้วบันทึกค่า lightness (L^*), redness (a^*) และ yellow ness(b^*) จำนวน 3 ครั้ง ทำการวัดค่าสีในวันที่ 0, 7, 14, 21, 28, 35 และ 42 ของการหมักชาลามี

5) วัดค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้น (เปอร์เซ็นต์MC) ด้วยเครื่องวัด (Moisture analyzer, Hobart, USA.)

6) การทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของชาลามี นำตัวอย่างมาทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสโดยทำการทดสอบทาง ด้านสี (color) กลิ่นแปลกปลอม (off odor) การยอมรับรวม (overall acceptability) ใช้การทดสอบแบบ Different-from-Control Test

4. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

จัดกลุ่มการทดลองแบบ factorial in RCBD วางแผนการทดลองแบบ 3 x 7 factorial in RCBD ปัจจัยแรกคือการเสริมสารสกัดชาเขียว และปัจจัยที่สองคือ ระยะการบ่ม จากนั้นนำปริมาณจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ตรวจนับได้จะถูกนำมาแปลงข้อมูลให้อยู่ในค่าลอการิทึม ($y = \log x$) นำข้อมูลจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมทั้งหมด ค่าความเป็นกรดต่างของเนื้อ ค่าสีของเนื้อ เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก ระหว่างการเก็บรักษา ค่าการออกซิเดชันของชาลามี และค่าการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ได้จากการศึกษามาวิเคราะห์หาความแปรปรวนของกลุ่มด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูปและเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธีการวิเคราะห์ความแตกต่างโดยใช้ Analysis of Variance และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดย Least Significant Difference Test โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลของสารสกัดชาเขียวและระยะการบ่มต่อจำนวนจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ชาลามี

1.1 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อจำนวนเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก (LAB)

ผลจากการเสริมสารสกัดชาเขียวมีผลต่อจำนวนเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกในผลิตภัณฑ์ชาลามีจากตารางที่ 3.2.1 พบว่าในกลุ่มที่เสริมชาเขียวมีปริมาณเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่เมื่อเทียบระหว่าง สองกลุ่มที่เสริมชาที่ระดับ 10 กรัมและ 20 กรัม แล้วพบว่าจำนวนเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติคือ 6.92 และ 6.63 log

cfu/g ตามลำดับ ในขณะที่กลุ่มที่ไม่เสริมชาเขียวนั้นมีเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกเฉลี่ยต่ำที่สุดอยู่ที่ 6.61 log cfu/g ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ishihara *et al.* (2001) ศึกษาถึงผลของการเสริมสารสกัดชาเขียว ในอาหารสัตว์ต่อปริมาณแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่ (microflora) พบว่าสารสกัดชาเขียวเมื่อผสม ในอาหารสัตว์ (โค) มีผลให้ปริมาณแบคทีเรียที่ดีคือ *Bifidobacterium* spp. และ *Lactobacillus* spp. เพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับการศึกษาในสุกร เมื่อเลี้ยงด้วยอาหารซึ่งเสริมด้วย สารพอลิฟีนอลจากชา 0.2 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้ปริมาณ *Lactobacilli* เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในวันที่ 7 และ 14 (Hara *et al.* 1995) ในส่วนของแบคทีเรียที่ไม่ดีพบว่าปริมาณ *C. perfringens* จะลดลง (Hara *et al.* 1995; Ishihara *et al.* 2001)

เมื่อระยะเวลาการบ่มผลิตภัณฑ์ชาลามีเพิ่มขึ้นจำนวนเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งสามกลุ่ม จะสูงขึ้นในช่วง 7-14 ของการบ่ม หลังจากนั้นจะค่อยลดลง ตามระยะเวลาการบ่มที่นานขึ้นด้วย โดย จำนวนเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก ในวันที่ 42 ของการบ่ม ในกลุ่มที่ไม่เสริมชาเขียวจะมีค่าเท่ากับ 4.81 log cfu/g ซึ่งต่ำกว่าสองกลุ่มที่เสริมชาเขียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบระหว่าง สอง กลุ่มที่เสริมชาที่ระดับ 10 กรัมและ 20 กรัมแล้วพบว่าจำนวนเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกในวันที่ 42 มี ค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติคือ 6.07 และ 5.64 log cfu/g ตามลำดับ

นอกจากนี้ยังพบอิทธิพลร่วมของการใช้สารสกัดชาเขียวและระยะเวลาในการบ่มต่อ จำนวนเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกของผลิตภัณฑ์ชาลามี โดยพบว่าจำนวนเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกจะ เพิ่มขึ้นจากวันที่ 0 ที่มีค่าเท่ากับ 5.14, 5.20 และ 5.15 log cfu/g ตามลำดับ ของระดับการเสริมชา ซึ่งไม่มี ความแตกต่างกันในทางสถิติ ($P > 0.05$) มีค่าสูงที่สุดในวันที่ 14 ด้วย

ตารางที่ 3.2.1 ผลของการใช้สารสกัดชาเขียวและระยะเวลาการบ่มต่อปริมาณเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก

(log cfu/g)								
ระดับชา	Day							
	0	7	14	21	28	35	42	LSM±SE
0 g/kg	5.14±0.14 ^h	7.19±0.14 ^d	8.58±0.14 ^a	7.66±0.14 ^c	7.04±0.14 ^{de}	5.86±0.14 ^{fg}	4.81±0.14 ^h	6.61±0.05 ^Y
10 g/kg	5.20±0.14 ^h	7.16±0.14 ^d	8.56±0.14 ^a	8.07±0.14 ^b	7.16±0.14 ^d	6.23±0.14 ^f	6.07±0.14 ^f	6.92±0.05 ^X
20 g/kg	5.15±0.14 ^h	7.08±0.14 ^d	8.63±0.14 ^a	7.67±0.14 ^{bc}	6.74±0.14 ^c	5.48±0.14 ^{gh}	5.64±0.14 ^g	6.63±0.05 ^X
LSM±SE	5.16±0.08 ^F	7.14±0.08 ^C	8.59±0.08 ^A	7.80±0.08 ^B	6.98±0.08 ^C	5.86±0.08 ^D	5.51±0.08 ^E	

^{a-b} ตัวอักษรที่แตกต่างกันภายใต้อิทธิพลของระดับความเข้มข้นสารสกัดชาเขียวมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

^{A-F} ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละวันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

^{X-Y} ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละวันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

LAB = Lactic acid bacteria

1.2 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวม (Total Plate Count, TPC)

พบว่าสารสกัดชาเขียวไม่มีผลต่อจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมของผลิตภัณฑ์ชาลามีโดยพบว่าจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) และพบว่าจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมจะเพิ่มขึ้นจากวันที่ 0 และมีปริมาณสูงที่สุดในวันที่ 7 ของการบ่มซึ่งมีค่าเท่ากับเฉลี่ยเท่ากับ 8.34 log cfu/g หลังจากนั้นจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมก็จะลดลงอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งมีค่าต่ำที่สุดในวันที่ 42 ของการบ่มจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมจะมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 5.27 log cfu/g นอกจากนี้ยังไม่พบอิทธิพลร่วมของการใช้สารสกัดชาเขียวและระยะเวลาในการบ่มต่อจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมของผลิตภัณฑ์ชาลามีในการที่เสริมสารสกัดจากชาเขียวแล้วยังพบเชื้อจุลินทรีย์ได้นั้นเนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ที่พบได้ในเนื้อสัตว์นั้นมีหลายชนิด บางชนิดสารสกัดชาเขียวสามารถยับยั้งได้ บางชนิดสารสกัดชาเขียวไม่สามารถยับยั้งได้ ซึ่งถ้าปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ที่สารสกัดชาเขียวไม่สามารถยับยั้งได้มีมากกว่าปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ที่สารสกัดชาเขียว สามารถยับยั้งได้ ทำให้ไม่พบการลดลงของเชื้อจุลินทรีย์ และการทดลอง *In vitro* สารสกัดชาเขียวได้สัมผัสกับเชื้อโดยตรง แต่ในการทดลองใน เนื้อสัตว์ (*In vivo*) สารสกัดชาเขียวไม่ได้สัมผัสกับเชื้อเพียงอย่างเดียว แต่สารส่วนหนึ่งจะไปจับกับ organic matter โปรตีน

ไขมันต่าง ๆ ที่อยู่ในเนื้อ ทำให้สารที่จะจับกับเชื้อจุลินทรีย์มีจำนวนน้อยลง สารสกัดจึงไม่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ เพราะเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ได้ถูกสารจับจะมีชีวิตรอด และอาจเพิ่มปริมาณขึ้นอีกเมื่อเชื้อสามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมต่างๆ ได้ (คมแข พิลาสสมบัติ. 2540)

ตารางที่ 3.2.2 ผลของการใช้สารสกัดชาเขียวและระยะเวลาการบ่มต่อ Total plate counts (log cfu/g)

ระดับชา	ระยะเวลาการบ่ม							
	0	7	14	21	28	35	42	LSM±SE
0 g/kg	6.94±0.21	8.39±0.21	8.11±0.21	7.12±0.21	7.02±0.21	6.24±0.21	5.59±0.21	7.10±0.08
10 g/kg	6.67±0.21	8.33±0.21	8.13±0.21	7.40±0.21	6.30±0.21	6.15±0.21	5.02±0.21	6.86±0.08
20 g/kg	6.74±0.21	8.31±0.21	8.14±0.21	7.10±0.21	6.26±0.21	6.10±0.21	5.19±0.21	6.83±0.08
LSM±SE	6.78±0.12 ^C	8.34±0.12 ^A	8.13±0.12 ^A	7.20±0.12 ^B	6.53±0.12 ^C	6.16±0.12 ^D	5.27±0.12 ^E	

^{A-C} ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.001)

1.3 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อจำนวนยีสต์ (YEAST)

การเสริมสารสกัดชาเขียวมีผลต่อจำนวนเชื้อยีสต์ในผลิตภัณฑ์ชาลามี จากตารางที่ 2 พบว่าในกลุ่มที่เสริมชาเขียวมีจำนวนยีสต์ต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เสริมสารสกัดชาเขียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) แต่เมื่อเทียบระหว่าง สองกลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียวที่ระดับ 10 กรัมและ 20 กรัม แล้วพบว่าจำนวนยีสต์ที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติคือ 4.21 และ 4.21 log cfu/g ตามลำดับ เนื่องจากสารคาเทชินในชาเขียวมีความสามารถในการยับยั้งยีสต์ได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ku, KJ *et al.* (2008) ที่ทำการทดลองนำสารสกัดชาเขียวและสารคาเทชินเคลือบที่กระดาษห่อขนมปังเพื่อชะลดการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ โดยแบ่งขนมปังออกเป็น 3 กลุ่ม คือ 1 กลุ่มควบคุม 2 กลุ่มที่เคลือบกระดาษห่อขนมปังด้วยสารคาเทชิน 3 กลุ่มที่เคลือบกระดาษห่อขนมปังด้วยสารสกัดชาเขียว และทำการตรวจเชื้อจุลินทรีย์ทุกวันที่ 0, 1, 2, และ 3 ของการเก็บ พบว่าปริมาณของสารคาเทชินที่ระดับ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดชาเขียวที่ระดับ 2.83 และ 5.60 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 1, 2, และ 3 ของการตรวจเชื้อจุลินทรีย์มีจำนวนยีสต์และต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)

เมื่อระยะเวลาการบ่มผลิตภัณฑ์ชาลามีเพิ่มขึ้นจำนวนยีสต์จะมีค่าสูงที่สุดในวันที่ 21 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 5.29 log cfu/g หลังจากนั้นค่าจะค่อยลดลงอีกครั้งตามระยะเวลาบ่มที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากยีสต์เจริญได้ดีที่มีค่าความเป็นกรดค่าที่ 4.5 และอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 25 องศาเซลเซียส และมีค่า Aw

สูงกว่า 0.880 (Feiner ,2006)ซึ่งในช่วงวันที่ 21- 28 ของการบ่มผลิตภัณฑ์ชาลามี จะมีค่าความเป็นกรดต่างอยู่ที่ 4.48 -4.50 และมีค่า Aw อยู่ที่ ประมาณ 0.910-0.880 จึงทำให้ช่วงเวลาดังกล่าวพบปริมาณยีสต์ที่สูง และหลังจากนั้นยีสต์จะลดลงตามจำนวนวันที่เพิ่มขึ้น และค่า Aw ที่ต่ำลงด้วย นอกจากนี้ยังไม่พบอิทธิพลร่วมของการใช้สารสกัดชาเขียวและระยะเวลาในการบ่มต่อจำนวนยีสต์ในผลิตภัณฑ์ชาลามี

ตารางที่ 3.2.3 ผลของการใช้สารสกัดชาเขียวและระยะเวลาการบ่มต่อจำนวนยีสต์ (log cfu/g)

ระดับชา	ระยะเวลาการบ่ม							LSM±SE
	0	7	14	21	28	35	42	
0 g/kg	3.42±0.09	3.73±0.09	4.46±0.09	5.52±0.09	4.94±0.09	4.36±0.09	3.85±0.09	4.33±0.03 ^x
10 g/kg	3.48±0.09	3.65±0.09	4.34±0.09	5.17±0.09	4.99±0.09	4.31±0.09	3.51±0.09	4.21±0.03 ^y
20 g/kg	3.45±0.09	3.57±0.09	4.30±0.09	5.18±0.09	5.06±0.09	4.27±0.09	3.69±0.09	4.21±0.03 ^y
LSM±SE	3.45±0.05 ^E	3.65±0.05 ^D	4.36±0.05 ^C	5.29±0.05 ^A	5.00±0.05 ^B	4.31±0.05 ^C	3.68±0.05 ^D	

^{a-b} ตัวอักษรที่แตกต่างกันภายใต้อิทธิพลของระดับความเข้มข้นสารสกัดชาเขียวมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

^{A-C} ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละระดับมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

^{x-y} ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละระดับมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

1.4 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อจำนวนเชื้อรา (Mold)

การเสริมสารสกัดชาเขียวมีผลต่อจำนวนเชื้อราในผลิตภัณฑ์ชาลามีจากตารางที่ 3.2.3 พบว่าในกลุ่มที่เสริมชาเขียวทั้งสองระดับมีปริมาณเชื้อราต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) แต่เมื่อเทียบระหว่าง สองกลุ่มที่เสริมชาที่ระดับ 10 กรัมและ 20 กรัมแล้วพบว่าไม่มีจำนวนเชื้อรา มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติคือ 1.96 และ 1.95 log cfu/g ตามลำดับ ในขณะที่กลุ่มที่ไม่เสริมชาเขียวนั้นมีเชื้อราสูงที่สุดอยู่ที่ 2.39 log cfu/g ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ku, KJ *et al.* (2008) ที่ทำการทดลองนำสารสกัดชาเขียวและสารคาเทชินเคลือบที่กระดาษห่อขนมปังเพื่อชะลดการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ โดยแบ่งขนมปังออกเป็น 3 กลุ่ม คือ 1 กลุ่มควบคุม 2 กลุ่มที่เคลือบกระดาษห่อขนมปังด้วยสารคาเทชิน 3 กลุ่มที่เคลือบกระดาษห่อขนมปังด้วยสารสกัดชาเขียว และทำการตรวจเชื้อจุลินทรีย์ทุกวันวันที่ 0, 1, 2, และ 3 ของการเก็บ พบว่าปริมาณของสารคาเทชินที่ระดับ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

และสารสกัดชาเขียวที่ระดับ 2.83 และ 5.60 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 1, 2, และ 3 ของการตรวจเชื้อจุลินทรีย์ มีจำนวนยีสต์และราต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)

ตารางที่ 3.2.4 ผลของการใช้สารสกัดชาเขียวและระยะเวลาการบ่มต่อปริมาณเชื้อรา (log cfu/g)

ระดับชา	ระยะเวลาการบ่ม							LSM±SE
	0	7	14	21	28	35	42	
0 g/kg	0.00±0.18 ^d	1.33±0.18 ^d	2.72±0.18 ^{bcd}	3.08±0.18 ^{abc}	3.00±0.18 ^{abc}	3.36±0.18 ^a	3.22±0.18 ^{ab}	2.39±0.07 ^X
10 g/kg	0.00±0.18 ^d	0.00±0.18 ^d	2.39±0.18 ^d	2.63±0.18 ^{cd}	2.62±0.18 ^{cd}	3.01±0.18 ^{abc}	3.09±0.18 ^{abc}	1.96±0.07 ^Y
20 g/kg	0.00±0.18 ^d	0.00±0.18 ^d	2.48±0.18 ^d	2.66±0.18 ^{cd}	2.69±0.18 ^{cd}	2.77±0.18 ^{bcd}	3.02±0.18 ^{abc}	1.95±0.07 ^Y
LSM±SE	0.00±0.103 ^E	0.44±0.103 ^D	2.53±0.103 ^C	2.79±0.103 ^{BC}	2.77±0.103 ^{BC}	3.05±0.103 ^{AB}	3.11±0.103 ^A	

^{a-b} ตัวอักษรที่แตกต่างกันภายใต้อิทธิพลของระดับความเข้มข้นสารสกัดชาเขียวมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

^{A-C} ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

^{X-Y} ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

เมื่อระยะเวลาการบ่มผลิตภัณฑ์ชาalami เพิ่มขึ้นจำนวนเชื้อราทั้งสามกลุ่มจะสูงขึ้นในช่วงวันที่ 7-21 ของการบ่ม หลังจากนั้นจะมีจำนวนคงที่และเพิ่มขึ้นเล็กน้อยตามระยะเวลาการบ่มที่นานขึ้นโดยจำนวนเชื้อรา ในวันที่ 42 ของการบ่ม ในกลุ่มที่ไม่เสริมชาเขียวจะมีค่าเท่ากับ 2.39 log cfu/g ซึ่งสูงกว่าสองกลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อเทียบระหว่างสองกลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียวที่ระดับ 10 กรัมและ 20 กรัมแล้วพบว่าจำนวนเชื้อรามีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติคือ 1.96 และ 1.95 log cfu/g ตามลำดับ

นอกจากนี้ยังพบอิทธิพลร่วมของการใช้สารสกัดชาเขียวและระยะเวลาในการบ่มต่อจำนวนเชื้อราในผลิตภัณฑ์ชาalami โดยพบว่าจำนวนเชื้อราจะเพิ่มขึ้นจากวันที่ 0 ที่มีค่าเท่ากับ 5.14, 5.20 และ 5.15 log cfu/g ตามลำดับ ของระดับการเสริมชา ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ($P>0.05$) มีค่าสูงที่สุดในวันที่ 14 ด้วย

1.5 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อเชื้อ *S. aureus*, *E. coli* และ *Salmonella* spp

ผลจากการทดลองจากตารางที่ 3.2.4 ไม่พบ *S. aureus*, *E. coli* และ *Salmonella* spp. ใน 25 กรัมของผลิตภัณฑ์ชาลามีในทุกระยะเวลาของการตรวจ เนื่องจากในขั้นตอนการผลิตผลิตภัณฑ์ชาลามีเริ่มต้นตั้งแต่วัตถุดิบที่ไม่มีการปนเปื้อน และขั้นตอนการนำเนื้อไปแช่แข็งก่อนตีที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ก่อนนำมาผลิต Feiner.(2006) กล่าวว่า การแช่แข็งเนื้อสามารถฆ่าและลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ได้ และพบว่า *S. aureus* และ เชื้อ *Salmonella* spp. สามารถเจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิต่ำสุดที่ 7 และ 5 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เพราะฉะนั้น เชื้อดังกล่าวจึงถูกทำลายไปตั้งแต่ขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบ แสดงให้เห็นว่ามีสัญลักษณ์ที่ดีในขั้นตอนการผลิต ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Aquilanti *et al.* (2007) ที่ทำการศึกษาระบบนิเวศวิทยาของเชื้อจุลินทรีย์ใน Ciauscolo ผลิตภัณฑ์ชาลามี ที่ 0, 1, 3, 10, 20, 30 และ 45 วันของการบ่ม พบเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* $<2 \log \text{ cfu/g}$ และ $<1 \log \text{ cfu/g}$ ตามลำดับ ส่วน *Salmonella* spp. นั้นไม่พบในทุกช่วงเวลาของการตรวจ นอกจากนี้ยังพบว่าจำนวนเชื้อโคลิฟอร์ม (Coliform) เชื้อชนิดนี้เป็นแบคทีเรียดิสแกรมลบ จะพบว่าในวันเดียวกันของการตรวจวัดเชื้อจุลินทรีย์ จะพบจำนวนเชื้อโคลิฟอร์มในกลุ่มที่ไม่เสริมสารสกัดจากชาเขียวในปริมาณที่สูงกว่ากลุ่มที่เสริมสารสกัดจากชาเขียวทั้งสองระดับ เนื่องจากสารคาเทชินจากชาเขียวนั้นมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ ซึ่งสอดคล้องกับ Yoda *et al.* (2004) ได้ทำการศึกษาถึงฤทธิ์ของ อีพิกัลโลคาเทชินกอลเกต (epigallocatechingallate, EGCG) ในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus* spp. และแบคทีเรียแกรมลบประกอบด้วย *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* และ *S. Typhimurium* พบว่าระดับความเข้มข้น 50 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus* spp. ได้ และระดับความเข้มข้นที่มากกว่า 800 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร จะสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบได้ สารสกัดจากชาเขียว ได้แก่ proanthocyanidins (catechin), epigallocatechin epicatechin, และ epigallocatechingallate ของมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *E. coli* K 12 (Amarowicz *et al.* 2000)

ตารางที่ 3.2.5 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ Total Coliform, *E.coli*, *S. aureus*, *Salmonella* spp. ในผลิตภัณฑ์ชาลามี

ระดับชา	เชื้อจุลินทรีย์	ระยะเวลาการบ่ม						
		0	7	14	21	28	35	42
0 g/kg	Total Coliform (MPN/g)	11700	1950	1950	<3	<3	<3	<3
	<i>E.coli</i> (MPN/g)	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3
	<i>S. aureus</i>	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld
	<i>Salmonella</i> spp.	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld
10 g/kg	Total Coliform (MPN/g)	1500	100	750	<3	<3	<3	<3
	<i>E.coli</i> (MPN/g)	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3
	<i>S. aureus</i>	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld
	<i>Salmonella</i> spp.	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld
20 g/kg	Total Coliform (MPN/g)	1000	550	<3	<3	<3	<3	<3
	<i>E.coli</i> (MPN/g)	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3
	<i>S. aureus</i>	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld
	<i>Salmonella</i> spp.	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld

<ld = < limit of detection

2. ผลของสารสกัดชาเขียวและระยะเวลาการบ่มต่อคุณภาพผลิตภัณฑ์ชาลามี

2.1 ค่า pH

การใช้สารสกัดชาเขียว (10 และ 20 กรัมต่อกิโลกรัม) หรือไม่ใช้ (0 กรัมต่อกิโลกรัม) ไม่มีผลต่อค่า pH ในผลิตภัณฑ์ชาลามี ดังแสดงในตารางที่ 3.2.5 แต่พบว่าค่า pH ลดลงต่ำสุดในวันที่ 7 ของการหมักทั้งนี้ เป็นผลเนื่องจากการสร้างกรดแลกติกโดยกลไกเชื้อจุลินทรีย์ทางการค้าที่เติมลงในผลิตภัณฑ์ ซึ่งสอดคล้องกับผลการตรวจวิเคราะห์ Lactic Acid Bacteria ที่พบว่าที่ระยะการบ่ม 14 วันมีปริมาณสูงที่สุด เนื่องจากแบคทีเรียดังกล่าวใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นอาหาร และปริมาณจุลินทรีย์รวมจะสูงสุดที่ระยะการบ่ม 7 วัน ในวันที่ 14 ของการบ่มค่า pH จะสูงขึ้นและคงที่ไปจนถึงวันที่ 21 ของการบ่ม ภายหลังการบ่ม 28 และ 35 วัน ค่า pH จะสูงขึ้นเล็กน้อยแต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่พบว่าภายหลังการบ่มที่ 42 วัน ค่า pH จะสูงขึ้นแตกต่างจากค่า pH ของการบ่มที่ 21 วัน แต่ไม่แตกต่างจากค่า pH ของการบ่มที่ 28 และ 35 วัน ผลการศึกษาสอดคล้องกับ Bozkurt and Karabacak. (2007) ที่ทำการทดลองในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยว Sucuk ซึ่งพบการลดลงของค่า pH อย่างรวดเร็วในสัปดาห์แรกของกรบ่ม

การที่ค่า pH มีแนวโน้มสูงขึ้นภายหลังการบ่มที่นานขึ้นเป็นผลเนื่องมาจากการสูญเสีย น้ำออกจากผลิตภัณฑ์มีผลทำให้ค่า A_w ของผลิตภัณฑ์ชาลามีลดลงตามระยะเวลาการบ่มที่เพิ่มขึ้น การศึกษาครั้งนี้ไม่พบปัจจัยร่วมระหว่างการใช้และไม่ใช้สารสกัดชาเขียวต่อระยะเวลาในการบ่ม

ตารางที่ 3.2.6 ผลของการใช้สารสกัดชาเขียวและระยะเวลาการบ่มต่อค่าความเป็นกรดต่าง (pH)

ระดับชา	ระยะเวลาการบ่ม							LSM±SE
	0	7	14	21	28	35	42	
0 g/kg	5.67±0.02	4.36±0.02	4.46±0.02	4.48±0.02	4.56±0.02	4.64±0.02	4.67±0.02	4.65±0.01
10 g/kg	5.66±0.02	4.39±0.02	4.49±0.02	4.51±0.02	4.51±0.02	4.59±0.02	4.57±0.02	4.65±0.01
20 g/kg	5.68±0.02	4.36±0.02	4.46±0.02	4.51±0.02	4.52±0.02	4.57±0.02	4.64±0.02	4.64±0.01
LSM±SE	5.67±0.01 ^A	4.35±0.01 ^D	4.48±0.01 ^C	4.48±0.01 ^C	4.50±0.01 ^{BC}	4.52±0.01 ^{BC}	4.53±0.01 ^B	

LSM = Least Squares Means; SE = Standard Error

^{A-C} ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.001$)

2.2 ค่า A_w และค่าความชื้นในผลิตภัณฑ์

การใช้สารสกัดชาเขียวมีผลทำให้ค่า A_w สูงกว่ากลุ่มที่ไม่ใช้ ทั้งนี้เนื่องจากสารสกัดชาเขียวไปเคลือบผิวสัมผัสของเนื้อทำให้การระเหยน้ำเป็นไปได้ยาก แต่พบว่าที่ระดับ 10 และ 20 กรัมต่อกิโลกรัม มีผลไม่ต่างกัน ค่า A_w สัมพันธ์กับค่าความชื้นในผลิตภัณฑ์ที่พบว่า การเติมสารสกัดชาเขียวทำให้ผลิตภัณฑ์มีความชื้นสูงกว่ากลุ่มที่ไม่เติมสารสกัดชาเขียวและการใช้สารสกัดชาเขียวที่ระดับ 10 และ 20 กรัมต่อกิโลกรัม มีเปอร์เซ็นต์ความชื้นในผลิตภัณฑ์ไม่ต่างกัน

ระยะเวลาในการบ่มมีผลต่อการลดลงของค่า A_w อย่างต่อเนื่อง โดยพบว่าค่า A_w ที่ระยะการบ่ม 28 วันมีค่า A_w น้อยกว่า 0.89 ซึ่งสามารถควบคุมการเจริญและสร้างสารพิษ โดยเชื้อ *Staphylococcus aureus* (Feiner, 2006) ทั้งนี้เปอร์เซ็นต์ความชื้นของผลิตภัณฑ์ชาลามีลดลงจากวันเริ่มต้น 55.17 เปอร์เซ็นต์ เหลือ 30.68 เปอร์เซ็นต์ คิดเป็นปริมาณการสูญเสียน้ำหนักประมาณ 44 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 3.2.7 ผลของการใช้สารสกัดชาเขียวและระยะเวลาการบ่มต่อค่า Water activity (A_w)

ระดับชา	ระยะเวลาการบ่ม							LSM±SE
	0	7	14	21	28	35	42	
0 g/kg	0.969±0.005	0.954±0.005	0.937±0.005	0.907±0.005	0.870±0.005	0.840±0.005	0.809±0.005	0.898±0.002 ^x
10 g/kg	0.967±0.005	0.956±0.005	0.938±0.005	0.907±0.005	0.884±0.005	0.860±0.005	0.832±0.005	0.907±0.002 ^y
20 g/kg	0.969±0.005	0.958±0.005	0.934±0.005	0.914±0.005	0.887±0.005	0.851±0.005	0.830±0.005	0.906±0.002 ^y
LSM±SE	0.968±0.003 ^A	0.956±0.003 ^B	0.936±0.003 ^C	0.910±0.003 ^D	0.880±0.003 ^E	0.850±0.003 ^F	0.824±0.003 ^G	

LSM = Least Squares Means; SE = Standard Error

^{A-G} ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.001$)

^{x-y} ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ตารางที่ 3.2.8 ผลของการใช้สารสกัดชาเขียวและระยะเวลาการบ่มต่อค่าความชื้น (เปอร์เซ็นต์ MC)

ระดับชา	ระยะเวลาการบ่ม							LSM±SE
	0	7	14	21	28	35	42	
0 g/kg	55.59±0.66	48.45±0.66	39.09±0.66	33.73±0.66	29.69±0.66	25.76±0.66	22.37±0.66	36.38±0.25 ^y
10 g/kg	54.58±0.66	48.10±0.66	41.83±0.66	34.68±0.66	31.21±0.66	26.71±0.66	24.05±0.66	37.31±0.25 ^x
20 g/kg	55.34±0.66	48.17±0.66	41.48±0.66	35.14±0.66	31.15±0.66	26.31±0.66	25.07±0.66	37.52±0.25 ^x
LSM±SE	55.17±0.38 ^A	48.24±0.38 ^B	40.80±0.38 ^C	34.52±0.38 ^D	30.68±0.38 ^E	26.26±0.38 ^F	23.83±0.38 ^G	

LSM = Least Squares Means; SE = Standard Error

^{A-G} ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.001$)

^{x-y} ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

2.3 ค่าสีของผลิตภัณฑ์ชาลามี

2.3.1 ค่าความสว่าง (Lightness, L*)

ค่าความสว่าง (Lightness, L*) ของผลิตภัณฑ์ชาลามีพบว่ากลุ่มที่ไม่ใช้สารสกัดชาเขียวมีค่าความสว่างสูงกว่ากลุ่มที่ใช้สารสกัดชาเขียว 10 และ 20 กรัมต่อกิโลกรัมของผลิตภัณฑ์ชาลามี ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ส่วนกลุ่มที่ใช้สารสกัดชาเขียวที่ระดับความเข้มข้น 10 และ 20 กรัมต่อกิโลกรัม พบว่าค่าความสว่างของผลิตภัณฑ์ชาลามีในแต่ละกลุ่มมีค่าไม่แตกต่างกันเท่ากับ 46.92 และ 47.31 ตามลำดับ ซึ่งพบว่าค่าความสว่างของผลิตภัณฑ์ชาลามีมีค่าเพิ่มเมื่อเพิ่มระดับของสารสกัดชาเขียว

ด้านอิทธิพลของระยะเวลาในการบ่มต่อค่า L* ของผลิตภัณฑ์ชาลามี พบว่าในช่วงระยะการบ่ม 7 วันแรก ค่า L* มีค่าสูงขึ้นซึ่งเป็นผลเนื่องมาจากการที่ค่า pH ในผลิตภัณฑ์ชาลามีลดลง จากนั้นเมื่อบ่มต่อพบว่าค่า L* ลดลงตามระยะเวลาในการบ่มที่เพิ่มขึ้น โดยมีค่าดังตารางที่ 3.2.8 การที่ค่า L* ลดลงตามระยะเวลาในการบ่มอาจเป็นผลเนื่องมาจากปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลโดยไม่ใช้เอนไซม์ (non-enzymatic browning reaction) ซึ่งเกิดเนื่องจากน้ำตาลรีดิวซ์ทำปฏิกิริยากับสารประกอบไนโตรเจนจากเนื้อสัตว์ ค่าความสว่างของผลิตภัณฑ์ชาลามี มีค่าเท่ากับ 49.73, 53.06, 49.70, 46.34, 45.85, 40.43 และ 39.87 ที่ระยะเวลาการบ่ม 0, 7, 14, 21, 28, 35 และ 42 วัน ตามลำดับ

พบอิทธิพลร่วมของการใช้สารสกัดชาเขียวและระยะเวลาในการบ่มผลิตภัณฑ์ชาลามีต่อค่าความสว่างของชาลามีในกลุ่มที่เติมสารสกัดชาเขียวพบว่าที่ระยะการบ่มที่ 28 วันค่า L* สูงขึ้นหลังจากนั้นลดลงในเวลาต่อมา

ตารางที่ 3.2.9 ผลของการใช้สารสกัดชาเขียวและระยะเวลาการบ่มต่อค่าความสว่าง (Lightness, L*)

ระดับชา	ระยะเวลาการบ่ม							
	0	7	14	21	28	35	42	LSM±SE
0 g/kg	49.42±0.65 ^{dc}	51.62±0.65 ^{bc}	47.93±0.65 ^{ef}	45.34±0.65 ^g	42.69±0.65 ^h	40.32±0.65 ⁱ	38.07±0.65 ⁱ	45.05±0.24 ^Y
10 g/kg	49.56±0.65 ^{de}	52.90±0.65 ^{ab}	49.42±0.65 ^{de}	46.82±0.65 ^{fg}	48.16±0.65 ^{ef}	40.16±0.65 ⁱ	41.40±0.65 ^{hi}	46.92±0.24 ^X
20 g/kg	50.22±0.65 ^{cd}	54.68±0.65 ^a	51.75±0.65 ^b	46.87±0.65 ^{fg}	46.70±0.65 ^{fg}	40.83±0.65 ⁱ	40.14±0.65 ⁱ	47.31±0.24 ^X
LSM±SE	49.73±0.37 ^B	53.07±0.37 ^A	49.70±0.37 ^B	46.43±0.37 ^C	45.85±0.37 ^C	40.43±0.37 ^D	39.87±0.37 ^D	

LSM = Least Squares Means; SE = Standard Error

^{a-i} ตัวอักษรที่แตกต่างกันภายในตารางเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

^{A-C} ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

^{X-Y} ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

2.3.2 ค่าสีแดง (Redness, a*)

เป็นค่าที่บ่งบอกถึงความแดงของผลิตภัณฑ์ชาลามี จากการทดลองพบว่า ค่า a* ในกลุ่มที่ไม่ใช้สารสกัดชาเขียวมีค่าน้อยกว่าและมีค่า a* แตกต่างกับกลุ่มที่ใช้สารสกัดชาเขียว 10, และ 20 กรัมต่อกิโลกรัมของผลิตภัณฑ์ชาลามี อีกทั้งกลุ่มที่ใช้สารสกัดชาเขียวที่ระดับ 10, และ 20 กรัมต่อกิโลกรัมของผลิตภัณฑ์ชาลามีก็มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) เช่นกัน มีค่าเท่ากับ 13.24, 12.54, 11.90 ตามลำดับ โดยพบว่า ค่าความแดงจะลดลงเมื่อระดับชาเขียวเพิ่มขึ้น

ด้านอิทธิพลของระยะเวลาในการบ่มต่อค่าความแดงของผลิตภัณฑ์ชาลามี พบว่าค่า a* เพิ่มขึ้นอย่างมากในวันที่ 7 ของการบ่มเป็นผลเนื่องจากไนโตรที่เข้าทำปฏิกิริยากับเม็ดสี (myoglobin) เกิดเป็น ไนโตรโซฮีโมโครม (nitrosyl hemochrome) ผลิตภัณฑ์มีสีแดงขึ้น (Bozkurt, 2006) เมื่อระยะเวลาในการบ่มผลิตภัณฑ์ชาลามีที่นานขึ้นการสูญเสียจากผลิตภัณฑ์มากขึ้น ค่า A_w ลดลงจะทำให้ผลิตภัณฑ์ชาลามีมีค่าความแดงเพิ่มขึ้น ค่าความแดงของผลิตภัณฑ์ชาลามี มีค่าเท่ากับ 5.87, 11.87, 12.58, 13.71, 14.12, 15.04 และ 14.72 ที่ระยะเวลาการบ่ม 0, 7, 14, 21, 28, 35 และ 42 วัน ตามลำดับ

พบอิทธิพลร่วมของการใช้สารสกัดชาเขียวและระยะเวลาในการบ่มผลิตภัณฑ์ชาลามีต่อค่า a* ของผลิตภัณฑ์ชาลามี โดยพบว่า การเสริมสารสกัดชาเขียวนั้น มีผลทำให้ค่าความแดงของผลิตภัณฑ์ชาลามีลดลงในวันที่ 28 และเพิ่มขึ้นในเวลาต่อมา แต่พบกลุ่มที่ๆไม่เติมสารสกัดชาเขียวพบการเพิ่มขึ้นของค่า a* ตลอดระยะเวลาในการบ่ม

ตารางที่ 3.2.10 ผลของการใช้สารสกัดชาเขียวและระยะเวลาการบ่มต่อค่าสีแดง (Redness, a*)

ระดับชา	ระยะเวลาการบ่ม							LSM±SE
	0	7	14	21	28	35	42	
0 g/kg	5.88±0.23 ⁱ	13.19±0.23 ^{fg}	13.44±0.23 ^{fg}	14.33±0.23 ^{de}	15.50±0.23 ^{ab}	14.52±0.23 ^{cd}	15.83±0.23 ^a	13.25±0.09 ^x
10 g/kg	5.96±0.23 ⁱ	11.55±0.23 ^h	12.85±0.23 ^g	13.70±0.23 ^{ef}	13.41±0.23 ^{fg}	15.50±0.23 ^{ab}	14.80±0.23 ^{cd}	12.54±0.09 ^y
20 g/kg	5.78±0.23 ⁱ	10.89±0.23 ⁱ	11.46±0.23 ^{hi}	13.10±0.23 ^{fg}	13.44±0.23 ^{fg}	15.11±0.23 ^{bc}	13.55±0.23 ^f	11.90±0.09 ^z
LSM±SE	5.87±0.13 ^F	11.87±0.13 ^E	12.58±0.13 ^D	13.71±0.13 ^C	14.12±0.13 ^B	15.04±0.13 ^A	14.72±0.13 ^A	

LSM = Least Squares Means; SE = Standard Error

^{a-i} ตัวอักษรที่แตกต่างกันภายในตารางเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

^{A-F} ตัวอักษรที่ต่างกันแนวนอนมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

^{x-z} ตัวอักษรที่ต่างกันแนวตั้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.0)

2.3.3 ค่าสีเหลือง (Yellowness, b*)

ค่าสีเหลือง (Yellowness, b*) ของผลิตภัณฑ์ชาลามิพบว่ากลุ่มที่ไม่ได้เพิ่มสารสกัดชาเขียวจะมีค่า b* ต่ำกว่ากลุ่มที่ใช้ชาเขียว และพบว่ากลุ่มที่ใช้ชาเขียวระดับสูงที่สุด (20 กรัม ต่อ กิโลกรัม) มีค่า b* สูงที่สุด ทั้งนี้เนื่องจากตัวสารสกัดชาเขียวมีสีค่อนข้างไปทางเขียวออกน้ำตาลซึ่งจะเคลือบผิวสัมผัสของผลิตภัณฑ์ชาลามิจึงทำให้มีค่าสีเหลืองเพิ่มขึ้น

ด้านอิทธิพลของระยะเวลาในการบ่มต่อค่าความเหลืองของผลิตภัณฑ์ชาลามิพบว่าค่า b* ลดลงอย่างมากภายหลังการบ่มได้ 7 วัน หลังจากนั้นค่า b* จะคงที่ไม่เปลี่ยนแปลงแต่จะพบว่าที่ระยะการบ่ม 42 วัน ค่า b* จะสูงขึ้นและมีความแตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05) การที่ค่า b* ลดลงเป็นผลเนื่องจากปฏิกิริยา browning reaction ที่ทำให้เกิด melanoidins ซึ่งมีสีน้ำตาล (Bozkurt, 2006) ในกลุ่มที่ไม่ได้เติมสารสกัดชาเขียวในวันที่ 7 ของการบ่มจะมีค่าการออกซิเดชันของไขมันสูงมาก ซึ่งมีผลทำให้ค่า b* ต่ำ โดยอาจสรุปได้ว่า การที่ค่า b* ที่ลดลงในกลุ่มที่เติมชาเขียวเกิดจากปฏิกิริยา browning reaction ในส่วนค่า b* ที่ลดลงในกลุ่มที่ไม่เติมชาเขียวเกิดจากการหืนของไขมัน (rancidity) และปฏิกิริยา browning reaction

นอกจากนี้ยังพบอิทธิพลร่วมของการใช้สารสกัดชาเขียวที่ ระดับ 20 กรัม จะทำให้ค่าความเหลืองของผลิตภัณฑ์ชาลามิวันที่ 35 ของการบ่มเริ่มเพิ่มขึ้น และที่ระดับชา 10 กรัม นั้นพบว่า ณ วันที่ 35 ของการบ่มจะมีค่าความเหลืองสูงที่สุดคือ 11.50 และหลังจากนั้นค่าความเหลืองจะเริ่มลดลง

ตารางที่ 3.2.11 ผลของการใช้สารสกัดชาเขียวและระยะเวลาการบ่มต่อค่าความเหลือง
(Yellowness, b*)

ระดับชา	ระยะเวลาการบ่ม							
	0	7	14	21	28	35	42	LSM±SE
0 g/kg	13.83±0.23 ^a	9.69±0.23 ^f	10.27±0.23 ^{ef}	9.80±0.23 ^f	10.32±0.23 ^{ef}	10.41±0.23 ^{def}	10.25±0.23 ^{ef}	10.65±0.09 ^z
10 g/kg	13.99±0.23 ^a	10.89±0.23 ^{cde}	10.85±0.23 ^{cde}	11.26±0.23 ^{bc}	10.90±0.23 ^{cde}	11.50±0.23 ^{bc}	11.02±0.23 ^{bcd}	11.49±0.09 ^y
20 g/kg	14.16±0.23 ^a	11.42±0.23 ^{bc}	11.32±0.23 ^{bc}	11.67±0.23 ^b	11.43±0.23 ^{bc}	11.24±0.23 ^{bc}	12.52±0.23 ^a	11.96±0.09 ^x
LSM±SE	13.99±0.13 ^A	10.67±0.13 ^C	10.81±0.13 ^C	10.91±0.13 ^{BC}	10.89±0.13 ^{BC}	11.05±0.13 ^{BC}	11.26±0.13 ^B	

LSM = Least Squares Means; SE = Standard Error

^{a-f} ตัวอักษรที่แตกต่างกันภายในตารางเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

^{A-C} ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

^{x-z} ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

2.4 ค่าการออกซิเดชันของไขมันในผลิตภัณฑ์ซาลามิ (TBARS)

กลุ่มที่เสริมชาเขียว กับกลุ่มไม่ใส่สารสกัดจะมีค่าการออกซิเดชันต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) แต่เมื่อเพิ่มเทียบระหว่าง สองกลุ่มที่เสริมชาที่ระดับ 10 กรัมและ 20 กรัมแล้วพบว่าค่าการออกซิเดชันเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติคือ 0.273 และ 0.294 mgMDA/kg salami ตามลำดับ ในขณะที่กลุ่มที่ไม่เสริมชาเขียวนั้นมีค่าการออกซิเดชันเฉลี่ยสูงที่สุดอยู่ที่ 0.782 mgMDA/kg salami

เมื่อระยะเวลาการบ่มผลิตภัณฑ์ซาลามิเพิ่มขึ้นค่าการออกซิเดชันของไขมันในเนื้อจะเพิ่มสูงขึ้น ในกลุ่มที่ไม่เสริมสารสกัดชาเขียว โดยค่าการออกซิเดชันของผลิตภัณฑ์ซาลามิของวันที่ 0 มีค่าเท่ากับ 0.192 mgMDA/kg salami และเพิ่มขึ้นในวันที่ 14 มีค่าเท่ากับ 1.056 mgMDA/kg salami จากนั้นจะมีค่าที่ระยะการบ่ม 28 และ 42 วันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีค่าเท่ากับ 0.864 และ 1.016 mgMDA/kg salami ตามลำดับ แต่ในกลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียวทั้ง 2 กลุ่มพบว่า ค่าการออกซิเดชันของผลิตภัณฑ์ซาลามิจะไม่แตกต่างทางสถิติในวันที่ 0, 14, 28 และ 42 ของการบ่ม แสดงว่าสารสกัดชาเขียวสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันได้ เนื่องจากสารสกัดชาเขียวมีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Higdon and Frei. 2003; Chen *et al.* 1998) ที่ช่วยชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในเนื้อได้

และการที่กลุ่มไม่เสริมสารสกัดชาเขียวมีค่าการออกซิเดชันไม่เปลี่ยนแปลงภายหลังการหมัก 28 และ 42 เป็นผลเนื่องจากเปอร์เซ็นต์ความชื้นในผลิตภัณฑ์และค่า A_w ลดลงอย่างต่อเนื่องจึงมีผลในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันได้ (นิธิยา รัตนปนนท์. 2545)

ตารางที่ 3.2.12 ผลของการใช้สารสกัดชาเขียวและระยะเวลาการบ่มต่อค่าการออกซิเดชันของซาลามิ (TBARS)

ระดับชา	ระยะเวลาการบ่ม				
	0	14	28	42	LSM±SE
0 g/kg	0.192±0.103 ^b	1.056±0.103 ^a	0.864±0.103 ^a	1.016±0.103 ^a	0.782±0.056 ^x
10 g/kg	0.199±0.103 ^b	0.264±0.103 ^b	0.217±0.103 ^b	0.411±0.103 ^b	0.273±0.05 ^{6y}
20 g/kg	0.200±0.103 ^b	0.291±0.103 ^b	0.270±0.103 ^b	0.418±0.103 ^b	0.294±0.056 ^y
LSM±SE	0.197±0.060 ^B	0.537±0.060 ^A	0.451±0.060 ^A	0.615±0.060 ^A	

LSM = Least Squares Means; SE = Standard Error

^{a-b} ตัวอักษรที่แตกต่างกันภายในตารางเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

^{A-B} ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

^{x-y} ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

สรุปผลการทดลอง

การเติมสารสกัดชาเขียว 0, 10 และ 20 กรัมต่อกิโลกรัม ในผลิตภัณฑ์ซาลามิ ที่ระยะเวลาการบ่ม 0, 7, 14, 21, 28, 35 และ 42 วัน ปรากฏผลดังนี้

1. การใช้สารสกัดชาเขียวเติมลงในผลิตภัณฑ์ซาลามิสามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (TBARS) ได้ โดยพบว่าค่าการออกซิเดชันมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาในการบ่มโดยมีค่า (LSM) เท่ากับ 0.273 mgMDA/kg salami ในขณะที่กลุ่มที่ไม่เสริมสารสกัดชาเขียวมีค่า (LSM) เท่ากับ 0.782 mgMDA/kg salami ทั้งนี้ Feiner. (2006) รายงานว่าค่าการออกซิเดชันที่ทำให้ผู้บริโภคสามารถรับรู้ถึงการหืนของไขมันในผลิตภัณฑ์อยู่ที่ 0.4-0.6 mgMDA/kg

2. การเสริมสารสกัดชาเขียวมีจำนวนเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกมากกว่าในกลุ่มที่ไม่เสริมสารสกัดชาเขียว ซึ่งเป็นแบคทีเรียกลุ่มที่มีประโยชน์ ในส่วนเชื้อโคลิฟอร์มซึ่งเป็นเชื้อก่อโรคจะพบว่ากลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียวจะมีจำนวนน้อยกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมสารสกัดชาเขียว นอกจากนี้การเติมสารสกัดชาเขียวจะลดปริมาณยีสต์และราที่บริเวณผิวไส้บรรจุได้

3. ผลิตภัณฑ์ชาลามีที่เสริมและไม่เสริมสารสกัดชาเขียว มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่า pH ตลอดระยะเวลาในการบ่มไม่ต่างกัน แต่พบว่ากลุ่มที่ไม่เสริมสารสกัดชาเขียวมีค่า A_w และ เปอร์เซ็นต์ความชื้นของผลิตภัณฑ์ชาลามีตลอดระยะเวลาในการบ่มเท่ากับ 0.898 และ 36.38 เปอร์เซ็นต์ ต่างจากกลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียวทั้งสองกลุ่ม ($P < 0.0001$) ขณะที่กลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียวด้วยกันมีค่า A_w และ เปอร์เซ็นต์ความชื้นไม่แตกต่างกันแต่จะมีค่าต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมสารสกัดชาเขียว

4. ระยะเวลาในการบ่มผลิตภัณฑ์ชาลามีที่เหมาะสมคือ 28 วัน โดยพิจารณาจากข้อกำหนดคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ชาลามีควรมีค่า A_w ไม่เกิน 0.91 มีเปอร์เซ็นต์ความชื้นน้อยกว่า 35 เปอร์เซ็นต์ และมีค่า pH น้อยกว่า 5.2 (Getty. 2010) ทั้งนี้พบว่าผลิตภัณฑ์ชาลามีที่ระยะเวลาบ่ม 28 วันในกลุ่มที่เสริมสารสกัดชาเขียว 0, 10 และ 20 กรัมต่อกิโลกรัม มีค่า A_w เท่ากับ 0.870, 0.884 และ 0.887 มีค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้นเท่ากับ 29.69, 31.21 และ 31.15 เปอร์เซ็นต์ และมีค่า pH เท่ากับ 4.56, 4.51 และ 4.52 ตามลำดับ

5. เมื่อพิจารณาถึงคุณสมบัติที่เกี่ยวข้องของกับลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์ คือ สีของผลิตภัณฑ์ชาลามีที่เสริมสารสกัดชาเขียว 20 กรัมต่อกิโลกรัม จะมีสีแดงของผลิตภัณฑ์ที่ลดลงมากกว่ากลุ่มอื่นๆ ซึ่งการมีลักษณะสีแดงของผลิตภัณฑ์ชาลามีเป็นลักษณะที่พึงประสงค์ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า การเติมสารสกัดชาเขียว 10 กรัมต่อกิโลกรัมเพียงพอที่จะช่วยทำให้เพิ่มคุณภาพทางด้านความปลอดภัยอาหารของผลิตภัณฑ์ชาลามี ซึ่งใช้เนื้อโคไทยธรรมชาติเป็นส่วนประกอบหลัก โดยไม่ทำให้คุณภาพทางด้านสีของผลิตภัณฑ์ชาลามีด้อยลง นอกจากนี้ยังใช้ระยะเวลาบ่มไม่ต่างกัน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนสนับสนุนการวิจัยจากศูนย์เครือข่ายการวิจัยเทคโนโลยีเนื้อสัตว์ โดยความร่วมมือของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) กับสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ขอขอบคุณ นักศึกษาผู้ช่วยวิจัยของโครงการคือ นางสาวดาวใจ ตันท์สุระ และ รวมทั้ง นายเฉลิมชัย ทิพย์ค และเจ้าหน้าที่และนักศึกษาของศูนย์เครือข่ายการวิจัยเทคโนโลยีเนื้อสัตว์ ที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการดำเนินงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- นิพนธ์ ลิ้มสงวน. 2547. การศึกษากระบวนการสกัด คุณสมบัติในการเป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์ และ สารต้านอนุมูลอิสระของคาเทชินจากชาเขียวของไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยศิลปากร, กรุงเทพมหานคร.
- AOAC. 2006. Chapter 17 AOAC official Method 966.23c-24. 5-6. In Horwitz, W. and Latimer, G. W.. Official methods of analysis of AOAC International. Maryland: AOAC International.
- Almajano, M. P., Rosa C., J. Angel L. J. and Michael H. G. 2008. Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions. Food Chem. 108:55–63.
- Amarowicz, R., Pegg, R. B., and Bautista, D. A. 2000. Antibacterial activity of green tea polyphenols against Escherichia coli K12. Die Nahrung. 44:60–62.
- Ammor, S., Rachman, C., Chaillou, S., Pre'vost, H., Dousset, X., Zagorec, M., and Talon, R. 2005. Phenotypic and genotypic identification of lactic acid bacteria isolated from a small-scale facility producing traditional dry sausages. Food Micro. 22: 373–382.
- Aymerich, T., Martí'n, B., Garriga, M., Vidal-Carou, M. C., Bover-Cid, S., and Hugas, M. 2006. Safety properties and molecular strain typing of lactic acid bacteria from slightly fermented sausages. J. Appl. Micro. 100: 40–49.
- Chevallier, I., Ammor, S., Laguet, A., Labayle, S., Castanet, V., Dufour, E., and Talon, R. 2006. Microbial ecology of a small-scale facility producing traditional dry sausage. Food Control. 17(6): 446–453.
- Comi, G., Urso, R., Lacumin, L., Rantsiou, K., Cattaneo, P., Cantoni, C., and Cocolin, L. 2005. Characterisation of naturally fermented sausages produced in the North East of Italy. Meat Sci. 69: 381-392.
- Drosinos, E. H., Mataragas, M., Xiraphi, N., Moschonas, G., Gaitis, F., and Metaxopoulos, J. 2005. Characterization of the microbial flora from a traditional Greek fermented sausage. Meat Sci. 69: 307–317.
- Hara, Y. 1997. Influence of tea catechins on the digestive tract. J Cell Biochem. 27: 52-58.
- Hara, H., Orita, N., Hatono, S., Ichikawa, H., Matsumoto, N., Kimura, Y., Terada, A. and Mitsuoka, T. 1995. Effect of the tea polyphenols on faecal flora and faecal metabolic products of pigs. J. Vet. Med. Sci. 57: 45–49.
- Ikigai, H., Nakae, T., Hara, Y. and Shimamura, T. 1993. Bactericidal catechins damage the lipid bilayer . Biochi. Biophy. Acta. 11(47):132-136.

- Ishihara, N., Chu, D., Akachi, S. and Juneja, L. 2001. Improvement of intestinal microflora balance and prevention of digestive and respiratory organ diseases in calves by green tea extracts. *Livest. Prod. Sci.* 68: 217-29.
- Lebert, I., Leroy, S., Giammarinaro, P., Lebert, A., Chacornac, J. P., Bover-Cid, S. 2007. Diversity of micro-organisms in environments and dry fermented sausages of French traditional small units. *Meat Sci.* 76: 112–122.
- Mbata, T. I., Debiao, L. U. and Saikia, A. 2008. Antibacterial activity of the crude extract of Chinese green tea (*Camellia sinensis*) on *Listeria monocytogenes*. *African J. Biotechnol.* 7:1571-1573.
- Negi, P. S., Jayaprakasha, G. K. and Jena B. S. 2003. Antioxidant and antimutagenic activities of pomegranate peel extracts. *Food. Chem.* 80 : 393–397.
- Yoda, Y., Hu, Z. Q., Zhao, W. H. and Shimamura, T. 2004 . Different susceptibilities of *Staphylococcus* and Gram-negative rods to epigallocatechin gallate. *J. Infect. Chemot.* 10:55–58.

ผลที่ได้รับจากงานวิจัย (Output)

1. ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์ 6 เรื่อง

1.1 คุณสมบัติทางจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์หมักเนื้อโคเมื่อใช้เชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR536 และ *Lactobacillus salivarius* D4 เป็นกล้ำเชื้อ : การประชุมวิชาการเทคโนโลยีเนื้อสัตว์ ครั้งที่ 2 ประจำปี 2553 17-18 ธันวาคม 2553

1.2 ผลของการใช้เชื้อ *Lactococcus lactis* ssp. *Lactis* P2 และ Sb2 ที่มีต่อคุณสมบัติทางจุลินทรีย์ของหมักเนื้อโค : การประชุมวิชาการเทคโนโลยีเนื้อสัตว์ ครั้งที่ 2 ประจำปี 2553 17-18 ธันวาคม 2553

1.3 การศึกษาความชอบของผู้บริโภคต่อคุณภาพของไส้กรอกอีสานจากเนื้อโคพื้นเมืองที่ใช้ไส้คอลลาเจนและไส้หมูสด : การประชุมวิชาการเทคโนโลยีเนื้อสัตว์ ครั้งที่ 2 ประจำปี 2553 17-18 ธันวาคม 2553

1.4 การใช้กล้ำเชื้อโปรไบโอติก *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 และ *Lactobacillus salivarius* D 4 ในหมักเนื้อโค : รอดิพิมพ์ในวารสารเกษตรพระจอมเกล้า ปีที่ 29 ฉบับที่ 3

1.5 การศึกษาคุณภาพและจุลินทรีย์ของหมักเนื้อโคโดยใช้เชื้อ *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 เป็นกล้ำเชื้อในการหมักหมัก : รอดิพิมพ์ในวารสารเกษตรพระจอมเกล้า ปีที่ 29 ฉบับที่ 3

1.6 ผลของการหมักต่อคุณภาพและการยอมรับของไส้กรอกอีสานจากเนื้อโคพื้นเมืองไทยที่หมักในไส้หมูสดและไส้คอลลาเจน : รอดิพิมพ์ในวารสารเกษตรพระจอมเกล้า ปีที่ 29 ฉบับที่ 3

2. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิตจำนวน 5 เรื่อง

2.1 ผลของเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ต่อคุณภาพหมักที่ผลิตจากเนื้อโคไทย

2.2 ความปลอดภัยทางด้านอาหารต่อการผลิตไส้กรอกอีสานจากเนื้อโคพื้นเมืองไทย

2.3 คุณสมบัติทางด้านจุลินทรีย์และทางกายภาพของผลิตภัณฑ์หมักเนื้อโคเมื่อใช้เชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 และ *Lactobacillus salivarius* D 4 เป็นกล้ำเชื้อ

2.4 ผลของการใช้เชื้อ *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 ต่อคุณสมบัติทางจุลินทรีย์และทางกายภาพของหมักเนื้อโค

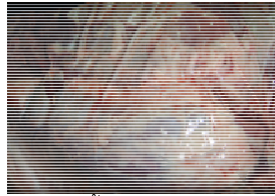
2.5 ผลของสารสกัดชาเขียวต่อคุณภาพชาลามีเนื้อโคพื้นเมือง

3. นักวิจัยรุ่นใหม่จำนวน 5 คน
 - 3.1 นางสาวสิริพร พงษ์วุฒิประพันธ์
 - 3.2 นางสาวมัลลิกา ไชยวุฒิ
 - 3.3 นางสาวอรุณวรรณ อินทร์ช่วย
 - 3.4 นางสาวปรมาภรณ์ เจ็ดวรรณะ
 - 3.5 นางสาวดาวใจ ตันท์สุระ

4. ผลิตภัณฑ์เนื้อโคไทยธรรมชาติที่วางจำหน่ายที่ร้านเครือข่าย
 - 4.1 ไส้กรอกอิมัลชันรมควัน
 - 4.2 บีฟโลฟ
 - 4.3 เบคอนเนื้อ
 - 4.4 แฮมเนื้อ
 - 4.5 เนื้อกระเจก
 - 4.6 เนื้อเจอร์กี
 - 4.7 ไส้กรอกเปรี้ยว
 - 4.8 แหนมเนื้อ

ภาคผนวก

กระบวนการผลิตไส้กรอกเปรี้ยว



เศษเนื้อป่นมัน



เศษเนื้อป่นมันผสมไขมัน



บด



เครื่องปรุง



ผสม



ก่อนยัดไส้



เครื่องยัดไส้



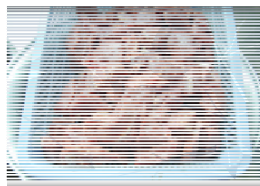
ไส้กรอกเปรี้ยว



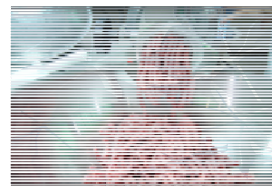
กระบวนการผลิตแหนม



เนื้อสะโพก



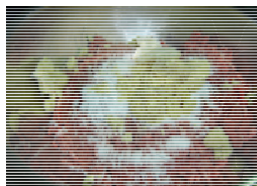
หนัง



บด



เครื่องปรุง



ผสม



นวด



อัดบรรจุ



แหนมเนื้อโค



กระบวนการผลิตหม่ำ



เนื้อโค



ตัด-ม้ามย่าง



บด



เครื่องปรุง



ผสม



อัดไส้



ผึ่ง



หม่ำ

กระบวนการผลิตซาลามิชาเขียว

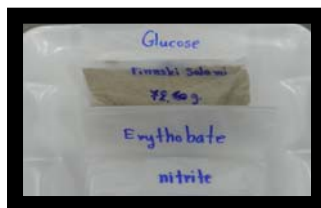
ขั้นตอนการเตรียมเนื้อและเครื่องปรุง



เนื้อสะโพก



Back



ส่วนผสม



ชาเขียว

ขั้นตอนการทำ

