บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ไส้กรอกเปรี้ยวหรือไส้กรอกอีสาน

หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ทำจากเนื้อหมู มันหมู ข้าวสุก เครื่องปรุงแต่งกลิ่นและรส บรรจุในไส้หมูหรือไส้ชนิดอื่นที่บริโภคได้ แล้วผ่านกระบวนการหมักจนเปรี้ยว และต้องทำให้สุกก่อนรับประทาน (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2537)

ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยวมักนิยมผลิตในแบบอุตสาหกรรมในครัวเรือน สูตรและกระบวนการผลิตจึงมีความแตกต่างกันไปในแต่ละท้องถิ่น ซึ่งสามารถสรุปคร่าว ๆ ได้คือ นำเนื้อหมูที่บดละเอียดแล้วมาคลุกเคล้าให้เข้ากันกับเกลือ แล้วเติมเครื่องปรุงและเครื่องเทศต่าง ๆ ได้แก่ กระเทียม น้ำตาล พริกไทย และลูกผักชี เป็นต้น เมื่อส่วนผสมเข้ากันดีแล้วจึงเติมข้าวสุกและมันหมูลงไปผสมจนทั่ว จากนั้นนำส่วนผสมที่ได้ไปบรรจุในไส้หมู มัดเป็นข้อปล้อง นำไปหมักหรือตากจนผลิตภัณฑ์มีรสเปรี้ยวตามต้องการ โดยทั่วไปทำให้สุกโดยการทอด ปิ้ง หรืออย่างก่อนรับประทาน กระบวนการถนอมอาหารในผลิตภัณฑ์เกิดขึ้นเนื่องจากการลดลงของค่าความเป็นกรดเป็นด่างเนื่องจากการผลิตกรดแลคติคของแบคทีเรียและการลดลงของค่าน้ำที่เป็นประโยชน์เนื่องจากการเติมเกลือซึ่งเป็นส่วนประกอบในสูตรการผลิต (Campbell-Platt and Cook, 1995)

ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ตามธรรมชาติ

ในการหมักไส้กรอกหมักตามธรรมชาติ ขึ้นอยู่กับปริมาณของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการหมัก โดยจุลินทรีย์ดังกล่าวปนมากับวัตถุดิบและอุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตและมีกิจกรรมการใช้แหล่งคาร์โบไฮเดรตในส่วนผสม ทำให้เกิดการผลิตกรดแลคติคขึ้นในผลิตภัณฑ์และส่งผลให้ค่าความเป็นกรดเป็นด่างต่ำลง หากจุลินทรีย์ที่ปนมาในผลิตภัณฑ์มีเพียงบางชนิด ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีลักษณะกลิ่นรสและเนื้อสัมผัสไม่เป็นไปตามต้องการ (Hugas and Monfort, 1997)

ในการผลิตจะนำเนื้อหมูที่ผ่านการบดแล้วมาผสมกับเครื่องปรุงต่าง ๆ ได้แก่ เกลือไนเตรทหรือไนไตรท์ น้ำตาล และเครื่องเทศ แล้วนำไปบรรจุในไส้บรรจุ การหมักมักใช้วิธีดั้งเดิม คือ Back slopping ซึ่งนำส่วนผสมของไส้กรอกหมักที่มีคุณภาพดีและผ่านการหมักสมบูรณ์ที่ผลิตได้บางส่วนก่อนหน้านี้ (Mother batch) มาใส่ลงในส่วนผสมที่ทำการผลิตใหม่ เพื่อให้เกิดการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ต้องการในการหมัก แบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดแลคติคได้จะทำการผลิตกรดแลคติคขึ้นมาอีก ทำให้ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของผลิตภัณฑ์ลดต่ำลงและส่งผลให้โปรตีนเกิดการตกตะกอนจับตัวกันทำให้เนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์มีลักษณะดีขึ้น (Garcia-Varona *et al.*, 2000)

อย่างไรก็ตาม การหมักด้วยวิธีดังกล่าวมีข้อเสียหลายประการ ได้แก่ ใช้ระยะเวลาหมักนาน ทำให้สิ้นเปลืองเวลาและแรงงาน คุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่ได้แต่ละครั้งของการผลิตไม่เท่ากัน เพราะต้องขึ้นกับโอกาสในการปนของจุลินทรีย์ต่าง ๆ ในผลิตภัณฑ์ รวมทั้งจุลินทรีย์ที่ไม่เป็นที่ต้องการด้วย

การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมัก

ปี ค.ศ. 1940 Jensen and Paddock ได้ริเริ่มความคิดในการใช้แบคทีเรีย Lactobacilli สายพันธุ์ต่าง ๆ มาเป็นเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น โดยนำเชื้อดังกล่าวที่แยกได้จากผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักมาเติมลงในส่วนผสม พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้ไม่เปลี่ยนแปลงไปจากผลิตภัณฑ์เดิม ซึ่งต่อมาได้มีการนำ *Pediococcus cerevisiae* เข้ามาใช้ด้วย (Gilliland, 1985; Campbell-Platt and Cook, 1995)

Niinivaara (1955) ได้คำนึงถึงความสำคัญของการเกิดสีในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก พบว่าแบคทีเรีย Micrococci สามารถรีดิวส์สารไนเตรทเป็นสารไนไตรท์ที่ให้สีที่คงทนแก่ผลิตภัณฑ์และสามารถผลิตเอนไซม์คะตาเลสซึ่งสามารถกำจัดเปอร์ออกไซด์ที่มีผลในการทำลายสีของผลิตภัณฑ์ได้ Demeyer *et al.* (1974) รายงานว่า Micrococci สามารถควบคุมปฏิกิริยาการสลายไขมันและการเสริมให้เกิดสารคาร์บอนิล (Carbonyl) ได้ ดังนั้น Micrococci จึงช่วยทำให้เกิดกลิ่นเฉพาะของผลิตภัณฑ์เนื้อหมักด้วย

การนำเทคโนโลยีเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นมาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักในปัจจุบัน มีการใช้ทั้งในรูปของเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นสายพันธุ์เดี่ยวและเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นผสม ได้แก่ Lactobacilli, Pediococci และ Micrococci เป็นต้น (Campbell-Platt and Cook, 1995) ซึ่งในสูตรผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักที่มีสารไนเตรทเป็นส่วนประกอบอยู่นั้น Micrococci สามารถรีดิวส์ไนเตรทเป็นไนไตรท์ได้ ขณะที่มีการเลือกใช้ทั้ง Lactobacilli และ Pediococci เนื่องจากเป็นจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตกรดแลคติคได้ดี แบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดแลคติคได้ยังสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Staphylococcus aureus* และ Enterobacteriaceae ได้เป็นอย่างดี (Sameshima *et al.*, 1998; Gonzalez and Diez, 2002)

นอกจากนี้หากมีการใช้ร่วมกันระหว่าง *Lactobacillus* spp. และ *Micrococcus* จะเป็นการส่งเสริมซึ่งกันและกัน ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพดีทั้งในด้านกายภาพ ประสาทสัมผัส และความปลอดภัยต่อผู้บริโภค (Gonzalez and Diez, 2002) ซึ่งต่อมาได้มีการนำเชื้อทั้งสองชนิดนี้มาผลิตเป็นเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นเพื่อจำหน่ายอย่างกว้างขวาง

เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น

การใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น หมายถึง การเติมหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่กำลังมีการเจริญเติบโตลงในส่วนผสมของวัตถุดิบเริ่มต้นเพื่อการผลิต โดยเติมลงไปหลังจากที่มีการผสมส่วนที่เป็นของแห้งและเนื้อแล้ว หรืออาจเติมลงไปผสมกับเนื้อก่อนเพื่อให้มีการกระจายตัวอย่างทั่วถึง จากนั้นจึงเติมส่วนผสมอื่น ๆ ลงไป ข้อที่ควรตระหนักคือ ควรหลีกเลี่ยงการสัมผัสโดยตรงระหว่างเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นกับส่วนผสมที่ช่วยในการหมัก เช่น เกลือ สารไนเตรท และสารไนไตรท์ เนื่องจากสารดังกล่าวอาจทำให้การทำงานของเชื้อจุลินทรีย์ลดลง เชื้อจุลินทรีย์ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของสารแขวนลอย (Suspension) ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ดังนั้นในการใช้จึงควรเจือจางลงให้ได้ในระดับความเข้มข้นที่ต้องการเสียก่อนด้วยน้ำที่ปลอดเชื้อ เพื่อให้เกิดการกระจายตัวอย่างทั่วถึงในระหว่างผสม หรือหากใช้เชื้อจุลินทรีย์อยู่ในรูปของของแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dried) ก็ควรละลายน้ำให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการก่อนใช้งานเช่นกัน (Gilliland, 1985)

การใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักช่วยให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพที่ดีขึ้น กล่าวคือ สามารถกำหนดให้เชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการเจริญได้ในผลิตภัณฑ์ (Garcia-Varona *et al.*, 2000) และป้องกันการเกิดจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการในผลิตภัณฑ์ (Sameshima *et al.*, 1998) ซึ่งจะส่งผลให้ผู้บริโภคมีความมั่นใจในด้านความปลอดภัยมากขึ้น ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะทางประสาทสัมผัสที่ได้มาตรฐาน มีคุณภาพสม่ำเสมอ ระยะเวลาในการหมักสั้นลง สามารถลดสารไนเตรทและไนไตรท์ที่เหลือตกค้างในผลิตภัณฑ์ได้ และมีอายุการเก็บรักษาที่คงทน (Hugas and Monfort, 1997; Lucke, 2000)

การเพิ่มอุณหภูมิการหมักที่เหมาะสมเป็นปัจจัยให้เชื้อจุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตได้ดี อุณหภูมิดังกล่าวจะสูงกว่าอุณหภูมิที่กำหนดในกระบวนการผลิต ผลคือเกิดการหมักที่มีอัตราการสร้างกรดที่เร็วขึ้น หลังจากได้ค่าความเป็นกรดเป็นด่างตามต้องการแล้ว จะนำมาผ่านความร้อนหรือทำแห้ง ซึ่งจะได้ลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก ข้อเสียของการเร่งสภาวะการหมักคือ ทำให้เกิดปัญหาที่เรียกว่า Greasing problems ซึ่งเกิดกับไขมันของเนื้อหมูและอาจทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีกลิ่นรสรุนแรง นอกจากนี้อุณหภูมิและปริมาณเกลือที่สูงรวมถึงการไม่รมควันจะกระตุ้นให้อัตราการเจริญเติบโตและการสร้างสารพิษของ *Staphylococcus aureus* เร็วขึ้นได้ ดังนั้นการใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นที่มีอุณหภูมิในการเจริญเติบโตไม่สูงมากนัก (10-46 องศาเซลเซียส) จะช่วยลดปัญหาดังกล่าวได้ และการรมควันในปริมาณที่พอเหมาะจะช่วยลดปริมาณ *Staphylococcus aureus* ที่ผิวผลิตภัณฑ์ลงได้เช่นกัน

เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นที่ใช้ในการผลิตจะเป็นตัวบ่งบอกถึงโครงสร้างต่าง ๆ ที่จะเกิดขึ้นในกระบวนการหมัก การทราบถึงอุณหภูมิที่เหมาะสมและผลกระทบของปัจจัยต่าง ๆ ที่มีต่อการเจริญเติบโตของเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นนั้น ๆ จะทำให้เกิดความเข้าใจถึงการเปลี่ยนแปลงของผลิตภัณฑ์หรือปัญหาที่อาจเกิดขึ้นได้ อุณหภูมิและสภาวะการเก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นตลอดจนการกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอของเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นจึงเป็นสิ่งสำคัญ กล่าวคือ อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ไม่ควรมีการปนเปื้อนของสารที่อาจก่อให้เกิดอันตรายต่อเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น เช่น คลอรีน หรือโลหะ เป็นต้น (Gilliland, 1985)

จุลินทรีย์ที่เหมาะสมในการเป็นเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นสำหรับการผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อหมักควรมีคุณสมบัติดังนี้

- มีความสามารถในการทนเกลือ
- สามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะที่มีไนไตรท์เข้มข้นร้อยละ 80-100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
- สามารถเจริญเติบโตได้ในช่วงอุณหภูมิ 26.7-43.0 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตคือ 32.2 องศาเซลเซียส
- สร้างกรดแลคติคอย่างเดียว (Homofermentative) ในการหมัก
- ต้องไม่ย่อยสลายโปรตีน (Nonproteolytic)
- ต้องไม่ย่อยสลายไขมัน (Nonlipolytic)
- ไม่ผลิตกลิ่นที่ไม่เป็นที่ต้องการ (Off-flavors) ระหว่างการหมัก เช่น กลิ่นเอมีน (Amine) หรือ ซัลไฟด์ (Sulfides) เป็นต้น
- หยุดการเจริญเติบโตที่ 57-60 องศาเซลเซียส
- ไม่เป็นจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค (Food pathogens)

เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นประเภท *Lactobacillus plantarum*

Lactobacillus plantarum เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปแท่ง ไม่เคลื่อนที่ มีขนาดประมาณ 0.6-0.8x1.2-6.0 ไมครอน มีสีขาวหรือครีม อาจอยู่ในลักษณะเดี่ยวหรือสายโซ่สั้น ๆ ไม่มี Flagella และไม่สร้างเอนไซม์คะตาเลส

อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตคือ 30-35 องศาเซลเซียส สามารถถูกทำลายได้ด้วยความร้อนที่ 63 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที สร้างกรดแลคติคได้ ไม่สร้างก๊าซ ทนสภาพที่มีปริมาณเกลือสูงกว่าร้อยละ 9 สามารถใช้แหล่งคาร์โบไฮเดรตพวกฟรุกโตส กลูโคส กาแลคโตส ซูโครส มอลโตส แลคโตส เดกตริน ซอร์บิทอล แมนนิทอล และกลีเซอรอลได้ ส่วนไซโลส แมนโนส และซาลิซิน ไม่สามารถใช้เป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตได้ แบคทีเรียชนิดนี้สามารถเจริญได้ในที่ ๆ มีอากาศน้อยหรือไม่มีเลย (Facultative anaerobes) ไม่สามารถรีดิวส์สารไนเตรทเป็นสารไนไตรท์ได้ มักพบแบคทีเรียชนิดนี้ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักชนิดต่าง ๆ

เมื่อเติมแบคทีเรียชนิดนี้ลงไปในส่วนผสมของสูตรการผลิตที่สภาวะเหมาะสมจะมีการสร้างกรดแลคติคขึ้นส่งผลให้ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของผลิตภัณฑ์ลดลง ซึ่งถือเป็นการถนอม

อาหารให้ปราศจากการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการในผลิตภัณฑ์ เนื่องจากจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการเหล่านี้มักไม่สามารถทนสภาวะที่มีค่าความเป็นกรดเป็นด่างต่ำได้ โดยพบว่า *Lactobacillus plantarum* มีประสิทธิภาพในการป้องกันการเกิดและเพิ่มปริมาณของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการและก่อให้เกิดโรค (Food pathogens) เช่น *Clostridium botulinum*, *Staphylococcus aureus* และ Enterobacteriaceae (Gilliland, 1985; Gonzalez and Diez, 2002)

Lactobacillus plantarum มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติค (Probiotic) ที่มีประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์ ช่วยป้องกันการเกิดเนื้องอก และช่วยลดการสะสมคอเลสเตอรอลในร่างกาย อีกทั้งยังมีส่วนช่วยป้องกันอันตรายที่เกิดจากสารฮีสตามีน (Histamine) และไทรามีน (Tyramine) ซึ่งเป็นสารพิษที่มักพบในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก โดยพบว่า *Lactobacillus plantarum* จะช่วยลดการสะสมของสารไนโตรซามีน (Nitrosamine) อันเป็นสารก่อมะเร็ง กล่าวคือ เมื่อเติมแบคทีเรียนี้ลงไปจะทำให้การผลิตกรดเป็นไปอย่างรวดเร็วมีผลให้สารไนไตรท์ที่เติมลงไปหรือที่เกิดจากการรีดิวส์สารไนเตรทสลายเป็นไนตริสออกไซด์จึงทำให้ปริมาณสะสมของไนไตรท์ลดลง การเกิดเป็นสารไนโตรซามีน (Nitrosamine) จึงลดลงตามด้วย (นภา, 2534; Gilliland, 1985; Campbell-Platt and Cook, 1995; Sameshima *et al.*, 1998)

นอกจากนี้ยังส่งผลให้ผลิตภัณฑ์มีลักษณะที่ดี คือ เนื้อสัมผัสแน่นและสม่ำเสมอ เนื่องจากค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่ลดลงจะทำให้เกิดการปลดปล่อยน้ำออกจากผลิตภัณฑ์ ในขณะที่ปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้นจะส่งผลให้โปรตีนในเนื้อสัตว์เสียสภาพธรรมชาติจึงทำให้เนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์มีความแน่นขึ้นอย่างสม่ำเสมอนั่นเอง ทั้งนี้การสร้างกรดของแบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดแลคติคได้ในช่วงต้นของการหมักจะช่วยส่งเสริมการเปลี่ยนแปลงสารไนไตรท์ที่ได้จากการรีดิวส์สารไนเตรทด้วย *Micrococcus varians* ให้เกิดสีชมพูแดงในผลิตภัณฑ์เร็วขึ้น

เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นประเภท *Pediococcus cerevisiae*

Pediococcus cerevisiae อยู่ในตระกูล Streptococcaceae เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ลักษณะโคโลนีกลม สีขาวออกเหลืองปนน้ำตาล เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2-3 มิลลิเมตรบนอาหารเลี้ยงเชื้อ เคลื่อนไหวไม่ได้ และไม่สร้าง Endospore สร้างกรดแลคติคเพียงอย่างเดียวในการหมัก โดยเปลี่ยนมาจาก เดกซโตรส มอลโตส กาแลคโตส และซาลิซิน มีความสามารถทน

เกลือได้มากกว่าร้อยละ 5 ไม่สามารถเปลี่ยนสารไนเตรทเป็นสารไนไตรท์ได้ ไม่สามารถเจริญเติบโตที่ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง 7.0 หรือที่ 35 องศาเซลเซียส แต่สามารถเจริญได้ที่ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง 3.5-6.2 และเจริญได้ดีที่ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง 5.5 หรือที่ 25 องศาเซลเซียส ในสภาพไม่มีอากาศ สามารถถูกทำลายได้ด้วยความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที มักพบในเบียร์ที่เสียแล้ว ซึ่งทาง USDA (1973) อนุญาตให้ใช้แบคทีเรียนี้ในลักษณะของหัวเชื้อบริสุทธิ์ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก โดยใช้เป็นตัวให้กลิ่นรสและความเป็นกรดแก่ผลิตภัณฑ์ ปริมาณที่อนุญาตให้ใช้ได้คือ ร้อยละ 0.5 นอกจากนี้ยังมีการใช้ *Pediococcus acidilactici* และ *Pediococcus pentosaceus* ในรูปของหัวเชื้อบริสุทธิ์ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักด้วย (ไพโรจน์ และคณะ, 2539)

Gilliland (1985) รายงาน การใช้ *Pediococcus cerevisiae* เป็นเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักให้ผลดีโดยไม่ต้องกังวลเกี่ยวกับจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการที่อาจเกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์นั้น เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นที่ใช้ควรมีปริมาณ 10^6-10^7 cfu/g ของน้ำหนักวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิต นอกจากนี้ *Pediococcus cerevisiae* ยังมีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *Staphylococcus aureus* โดยพบว่า สัดส่วนระหว่างปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดต่อปริมาณ *Staphylococcus aureus* มีค่าเพิ่มขึ้น และไม่พบสารพิษที่เกิดจาก *Staphylococcus aureus* ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักที่มี *Pediococcus cerevisiae* ทั้งนี้เนื่องจากแบคทีเรียชนิดนี้จะไปเร่งให้เกิดการผลิตกรดในการหมักซึ่งจะส่งผลให้การเจริญเติบโตของ *Staphylococcus aureus* ช้าลงนั่นเอง อย่างไรก็ตามยังพบว่าการใช้ *Pediococcus cerevisiae* เป็นเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักสามารถป้องกันการเจริญเติบโตของ Salmonellae, *Clostridium botulinum*, แบคทีเรียแกรมลบที่ก่อให้เกิดโรคเกี่ยวกับทางเดินอาหาร และยีสต์ได้ ตลอดจนลดอันตรายที่อาจเกิดจากการสะสมของสารฮีสตามีน (Histamine) และสารไทรามีน (Tyramine) ด้วย

Pediococcus cerevisiae มีบทบาทในการป้องกันการเกิดจุลินทรีย์ที่อาจก่อให้เกิดโรคในผลิตภัณฑ์ที่ไม่ได้ผ่านการหมัก เช่น แฮม เนื้อบด และผลิตภัณฑ์จากสัตว์ปีกบางชนิดด้วย (Gilliland, 1985)

เชื้อบริสุทธิ์ประเภท *Micrococcus varians*

Micrococcus varians เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1.0-1.5 ไมครอน อาจอยู่เป็นโคโลนีเดี่ยว คู่ หรือปิรามิด โคโลนีมีสีเหลือง นูน และขอบเรียบ ไม่สร้างก๊าซ สามารถรีดิวส์ไนเตรทเป็นไนไตรท์ได้ ไม่ก่อให้เกิดโรคในอาหาร เจริญได้ที่อุณหภูมิ 22-37 องศาเซลเซียส

การทำงานของ Micrococci เมื่อใช้เป็นเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นค่อนข้างซับซ้อนและแตกต่างจากแบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดแลคติค โดยความเข้มข้นของเกลือในสูตรการผลิตไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของ Micrococci (Campbell-Platt and Cook, 1995)

Micrococci จะมีผลต่อการเปลี่ยนสารไนเตรทเป็นสารไนไตรท์ในช่วงแรกของการหมักอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งกิจกรรมดังกล่าวเกิดในระหว่าง 2-16 ชั่วโมงแรกของการหมักผลิตภัณฑ์ไส้กรอกทั่วไป ขณะที่การสร้างกรดจะเกิดขึ้นหลังจาก 8-16 ชั่วโมง ซึ่งแสดงให้เห็นว่า *Micrococcus varians* ควรมีกิจกรรมเกิดขึ้นก่อนที่จะถูกยับยั้ง เนื่องจากสภาพแวดล้อมที่เป็นกรดมากขึ้น สารไนไตรท์จะสลายตัวไปเป็นไนตริกออกไซด์ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับรงควัตถุเนื้อไมโอโกลบิน (Myoglobin) ทำให้ได้สารประกอบที่เรียกว่า ไนโตรโซไมโอโกลบิน (Nitrosomyoglobin) เกิดเป็นสีชมพูแดงในผลิตภัณฑ์เนื้อ อย่างไรก็ตาม มีบางรายงานด้านการทดลอง พบว่า ความเป็นกรดอันเนื่องมาจากการหมักผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักและสารไนไตรท์ที่เติมลงไปไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของ Micrococci (Gonzalez and Diez, 2002)

นอกจากนี้การใช้ *Micrococcus varians* ยังมีวัตถุประสงค์เพื่อควบคุมปริมาณของสารไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์ที่มีการเติมสารไนเตรท และการเกิดสีชมพูแดงในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกที่ใช้ *Micrococcus varians* ร่วมกับสารไนเตรทจะมีประสิทธิภาพและเสถียรภาพมากกว่าการใช้สารไนไตรท์โดยตรง ทั้งนี้ควรมีแบคทีเรียดังกล่าวในปริมาณอย่างน้อย 10^6 cfu/g เพื่อให้เกิดความสามารถในการรีดิวส์ไนเตรทเป็นไนไตรท์ได้เป็นอย่างดี ช่วยรักษาสีของผลิตภัณฑ์ เจริญเติบโตได้แม้สภาวะที่มีค่าน้ำที่เป็นประโยชน์ต่ำและไม่มีอากาศ สามารถผลิตเอนไซม์คะตาเลสได้ ซึ่งเอนไซม์ดังกล่าวจะช่วยกำจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่อาจเกิดจากแบคทีเรียที่สามารถสร้างกรด

แลคติคได้ซึ่งจะทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีสีเขียวเหลืองไม่เป็นที่ต้องการและป้องกันการเกิดปฏิกิริยาการหืน (Campbell-Platt and Cook, 1995)

Micrococci สามารถควบคุมการก่อสารคาร์บอนิล (Carbonyl) ปฏิกิริยาการสลายไขมันและการย่อยสลายสารประกอบโปรตีน ซึ่งช่วยกระตุ้นและปรับปรุงให้เกิดกลิ่นรสเฉพาะที่ดีของผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก โดยจะแตกต่างไปจากเนื้อที่ผ่านความร้อน (Campbell-Platt and Cook, 1995; Sameshima *et al.*, 1998; Gonzalez and Diez, 2002) และยังป้องกันการเกิดกลิ่นที่ไม่ต้องการในผลิตภัณฑ์ด้วย (Garcia-Varona *et al.*, 2000)

Micrococcus varians เป็นแบคทีเรียที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางในการผลิตไส้กรอกหมัก แต่ต้องใช้ร่วมกับแบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดแลคติคได้ เนื่องจากแบคทีเรียชนิดนี้เพียงชนิดเดียวไม่สามารถให้กลิ่นและรสชาติแก่ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักที่ผู้บริโภคยอมรับได้ (Campbell-Platt and Cook, 1995)

ส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์เนื้อหมักที่มีผลต่อระบบการหมัก

เนื้อสัตว์

เนื้อสัตว์เป็นส่วนประกอบหลักที่สำคัญต่อผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก กล่าวคือทำให้ผลิตภัณฑ์มีลักษณะเนื้อสัมผัสที่ดี โปรตีนในเนื้อสัตว์จะจับตัวกันเป็นก้อน (Coagulate) ที่มีลักษณะกึ่งแข็งเมื่อผ่านความร้อน มีความสามารถในการตรึงน้ำและห่อหุ้มไขมันซึ่งทำให้ส่วนผสมต่าง ๆ ของผลิตภัณฑ์ไม่แยกออกจากกันทั้งก่อนและหลังให้ความร้อน นอกจากนี้เนื้อสัตว์ยังมีไมโอโกลบิน (Myoglobin) เป็นสารสีแดงทำให้เกิดสีในผลิตภัณฑ์ แต่เมื่ออยู่ในสภาวะที่มีคาร์บอนไดออกไซด์จะทำให้เปลี่ยนเป็นสารที่มีสีคล้ำขึ้น (งามนิจ, 2539)

โดยทั่วไปแล้วผลิตภัณฑ์เนื้อหมักมักประกอบด้วยเนื้อแดงประมาณร้อยละ 50-70 ซึ่งองค์ประกอบของเนื้อแดงแสดงดังตาราง 2.1

ตาราง 2.1 องค์ประกอบของเนื้อแดง

องค์ประกอบ	ปริมาณ (กรัม/100 กรัมของน้ำหนักเนื้อสด)
น้ำ	75.0
โปรตีน	18.5
- ไมโอไฟบริลลา (Myofibrillar)	9.5
- ซาร์โคพลาสมาติค (Sarcoplasmatic)	6.0
- เอกซ์ตราเซลลูลา (Extracellular)	3.0
ไขมัน	3.0
ATP	0.2
ไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน	1.3
คาร์โบไฮเดรต	1.0
- ไกลโคเจน (Glycogen)	0.8
- กลูโคส (Glucose)	0.1
สารอนินทรีย์ (Inorganic constituents)	1.0

ที่มา : Wood (1985)

แบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดแลคติคได้ต้องการปริมาณน้ำที่เหมาะสมในการเจริญเติบโต ดังนั้นเนื้อสัตว์ที่ใช้ในการผลิตจึงควรมีน้ำเป็นองค์ประกอบอยู่ด้วย โดยปริมาณน้ำในเนื้อสัตว์ที่มีมากจะส่งผลให้อัตราการหมักเกิดได้มากขึ้น นอกจากนี้ปริมาณไขมันที่มีอยู่ในเนื้อสัตว์ก็เป็นสิ่งที่ควรพิจารณาด้วย กล่าวคือ ปริมาณไขมันที่มีจะเป็นสัดส่วนผกผันกับปริมาณเนื้อแดงที่มีอยู่ในเนื้อสัตว์ ซึ่งการที่มีสัดส่วนของเนื้อแดงในปริมาณสูงจะทำให้ในเนื้อสัตว์มีปริมาณน้ำสูง ซึ่งส่งผลให้ผลิตภัณฑ์มีค่าความเป็นกรดเป็นด่างลดลงได้อย่างรวดเร็วในระหว่างการหมัก ทั้งนี้เนื้อที่ผ่านการแช่แข็งก่อนการผลิตจะส่งผลให้กระบวนการหมักเกิดได้ช้าลง เนื่องจากปริมาณน้ำในเนื้อสัตว์ลดลงระหว่างการแช่แข็ง

ความสามารถในการเป็นบัฟเฟอร์ (Buffering capacity) หรือความสามารถในการดูดซึมกรดของเนื้อสัตว์ก็มีผลต่อการลดลงของค่าความเป็นกรดเป็นด่างในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเช่นกัน เนื้อสัตว์ที่มีความสามารถในการเป็นบัฟเฟอร์สูงจะต้องการกรดที่ผลิตจากแบคทีเรียที่สามารถ

สร้างกรดแลคติคได้ในปริมาณสูงเพื่อลดค่าความเป็นกรดเป็นด่างของผลิตภัณฑ์ให้ต่ำลงตามต้องการ ซึ่งส่งผลให้ระยะเวลาที่ใช้ในการหมักยาวนานขึ้น ดังนั้นค่าความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นของเนื้อสัตว์ที่ใช้ในการผลิตจึงมีบทบาทสำคัญต่อระยะเวลาที่ใช้ในการหมักและค่าความเป็นกรดเป็นด่างสุดท้ายของผลิตภัณฑ์ โดยเนื้อสัตว์ที่มีค่าความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นสูงจะมีความต้องการให้เกิดกรดขึ้นในผลิตภัณฑ์สูงขึ้นตามไปด้วย

เนื้อสัตว์ที่สดและเนื้อสัตว์ที่ผ่านการแช่แข็งก็มีผลต่อการหมักเช่นกัน กล่าวคือ นอกจากแบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดแลคติคได้จะมีอุณหภูมิในการเจริญเติบโตที่เหมาะสมแล้ว อุณหภูมิภายในเนื้อสัตว์ก็มีความสำคัญต่อเวลาที่ใช้ในการหมักด้วย เนื้อสัตว์ที่ผ่านการแช่แข็งจะทำให้ระยะเวลาในการหมักนานขึ้นกว่าการผลิตโดยใช้เนื้อสัตว์ที่สด นอกจากนี้เนื้อสัตว์ที่ผ่านการแช่แข็งยังมีลักษณะที่กระด้างเนื่องจากการสูญเสียน้ำออกจากเนื้อในระหว่างการแช่แข็ง ทั้งยังเกิดการสูญเสียน้ำหนักและคุณค่าทางอาหารอันเนื่องจากการละลายน้ำแข็ง (Thawing) ก่อนการนำมาทำการผลิตด้วย (Gilliland, 1985)

จุลินทรีย์ต่าง ๆ ที่ปนมากับเนื้อสัตว์ที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตจะมีผลต่อการหมักด้วย ปริมาณของแบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดแลคติคได้สูงในวัตถุดิบอาจช่วยให้การผลิตกรดมีอัตราเร็วขึ้นในขณะที่จุลินทรีย์ที่ไม่เป็นที่ต้องการ เช่น ยีสต์ และ Pseudomonas อาจผลิตสารอื่น ๆ ทั้งก่อนและหลังการหมักที่มีผลกระทบต่อกลิ่นของผลิตภัณฑ์ได้ ปริมาณยีสต์ที่มีมากในช่วงเริ่มต้นการผลิตอาจทำให้เกิดการแข่งขันและเป็นผลให้เกิดการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดแลคติคได้ ทำให้การหมักเกิดได้ช้าลงและผลิตสารประกอบอื่น ๆ เช่น แอลกอฮอล์ ยีสต์ส่วนมากจะสามารถทนสภาวะที่มีกรดได้ ดังนั้นอาจทำให้การหมักของกรดแลคติคเกิดได้ไม่ดีนัก ซึ่งจะทำให้ค่าความเป็นกรดเป็นด่างเพิ่มขึ้นและเกิดกลิ่นที่ไม่ต้องการในระหว่างการหมัก

ปริมาณออกซิเจนที่มีมากในเนื้อสัตว์อาจกระตุ้นให้จุลินทรีย์มีการใช้แหล่งคาร์โบไฮเดรตได้เป็นอย่างดี ผลผลิตที่ได้คือ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ น้ำ แอลกอฮอล์ และสารประกอบคาร์บอนิล (Carbonyl compounds)

ไขมัน

ไขมันเป็นส่วนประกอบที่มีจุดหลอมเหลวสูงและมีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวในปริมาณต่ำ ผลิตภัณฑ์เนื้อหมักโดยเฉพาะไส้กรอกหมักซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีอายุการเก็บรักษายาวนานนั้นมักใช้ไขมันหมูเป็นส่วนประกอบ เนื่องจากไขมันดังกล่าวทำให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพทางประสาทสัมผัสที่ดีกว่าการใช้ไขมันจากวัว ไขมันจากหมูประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่สามารถเกิดปฏิกิริยาออโตออกซิเดชัน (Autoxidation) ได้ คือ กรดไลโนเลอิคและกรดไลโนเลนิคในปริมาณร้อยละ 8.5 และ 1.0 ของปริมาณกรดไขมันทั้งหมด ตามลำดับ หากไขมันที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตไม่สดและมีกลิ่นหืน ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีคุณภาพด้านสีและกลิ่นที่ไม่ดี (Campbell-Platt and Cook, 1995)

เกลือ

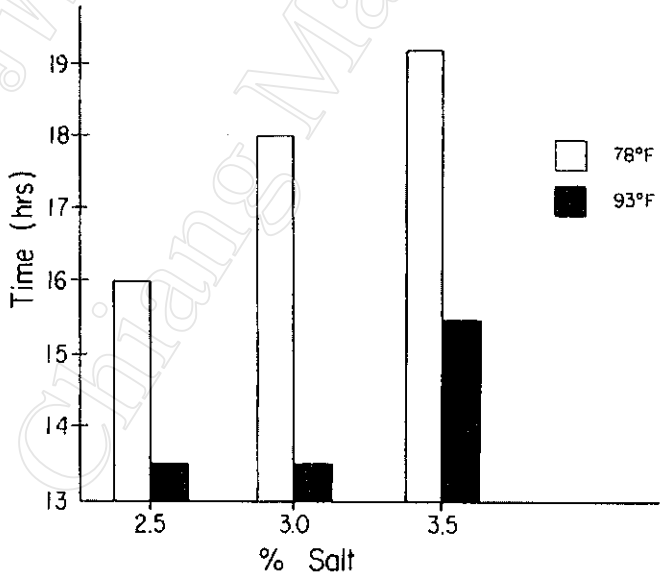
โดยทั่วไปการเติมเกลือลงไปในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ผลิตภัณฑ์มีลักษณะที่ดีตามต้องการ เช่น ทำให้เกิดรสเค็ม ช่วยปรับปรุงกลิ่นรสชาติของผลิตภัณฑ์ และมีสมบัติที่เหมาะสมต่ออายุการเก็บรักษา

นอกจากนี้เกลือยังทำให้เกิดการเชื่อมติดของชิ้นเนื้อจากหน้าที่ของโปรตีนสำคัญที่สามารถละลายได้ในเกลือ คือ แอคติน (Actin) และไมโอซิน (Myosin) โปรตีนเหล่านี้จะช่วยห่อหุ้มไขมันและตรึงน้ำในผลิตภัณฑ์ ทำให้ผลิตภัณฑ์เนื้อหมักสามารถคงตัวได้ดีโดยเฉพาะผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมัก เกลือจะช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแกรมลบที่เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลโปไลติค (Lipolytic enzymes) ในเนื้อเยื่อไขมันสัตว์ ทำให้อาหารเกิดการหืนช้าลง (Aguirrezabal *et al.*, 2000) และทำให้แบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดแลคติคได้สามารถเจริญเติบโตได้ดี (งามนิจ, 2539; Gilliland, 1985; Wood, 1985)

เกลือที่ใช้ในการผลิตควรเป็นเกลือที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์มาแล้ว (Refined salt) เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของจุลินทรีย์และสารอื่น ๆ ที่อาจทำให้คุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่ได้ด้อยลง

Wood (1985) รายงานว่า ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักที่มีค่าน้ำที่เป็นประโยชน์ 0.96-0.97 และเกลือในปริมาณร้อยละ 2.4-3.0 จะสามารถช่วยให้แบคทีเรียประเภท Lactobacilli และ Micrococci เจริญได้ดีและชะลอการเจริญของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการได้

สูตรการผลิตไส้กรอกหมักทั่วไปมักใช้เกลือในปริมาณร้อยละ 2.5-3.5 ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับลักษณะเฉพาะของแต่ละผลิตภัณฑ์ ถึงแม้ว่าแบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดแลคติคได้จะมีความสามารถในการทนเกลือได้สูง แต่ความเข้มข้นของปริมาณเกลือ (ร้อยละโดยน้ำหนัก) ก็มีผลโดยตรงต่อผลิตภัณฑ์เนื้อหมักด้วยเช่นกัน จากภาพ 2.1 พบว่า การใช้เกลือที่ระดับร้อยละ 2.5 จะเป็นปริมาณเกลือที่น้อยที่สุดที่ทำให้ผลิตภัณฑ์เนื้อหมักมีลักษณะเนื้อสัมผัสที่ดี และไม่พบความแตกต่างโดยทั่วไปอย่างชัดเจนของการหมักที่สังเกตได้เมื่อใช้เกลือในช่วงร้อยละ 2.5-3.0 อย่างไรก็ตามการใช้เกลือในปริมาณที่สูงกว่าร้อยละ 3 จะทำให้ระยะเวลาในการหมักเพิ่มขึ้น (Gilliland, 1985)



ภาพ 2.1 ผลของการใช้เกลือในปริมาณที่แตกต่างกันต่อระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก

ที่มา : Gilliland (1985)

แหล่งคาร์โบไฮเดรต

เมื่อนำเนื้อสัตว์มาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก ไกลโคเจนในเนื้อสัตว์จะถูกเปลี่ยนไปเป็นกลูโคสมากกว่ากรดแลคติค กลูโคสดังกล่าวจะถูกแบคทีเรียที่สำคัญที่มีอยู่ในเนื้อสัตว์ใช้เป็นแหล่งพลังงาน ซึ่งหากกลูโคสดังกล่าวมีปริมาณมากพอ กรดแลคติคที่แบคทีเรียผลิตได้ก็จะสามารถทำให้ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของผลิตภัณฑ์เนื้อหมักมีค่าลดลง ทำให้ผลิตภัณฑ์มีอายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม ปริมาณกลูโคสที่มักพบในเนื้อวัวและเนื้อหมูมีเพียง 4.5 และ 7.0 ไมโครโมลต่อกรัมของน้ำหนักเนื้อสด ตามลำดับ ซึ่งปริมาณกลูโคสดังกล่าวนี้ไม่มากพอที่จะส่งผลให้ผลิตภัณฑ์มีค่าความเป็นกรดเป็นด่างลดลง ดังนั้นจึงต้องมีการเติมส่วนประกอบที่สามารถเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตได้ลงในสูตรการผลิต

ชนิดและปริมาณของแหล่งคาร์โบไฮเดรตที่เติมลงในสูตรการผลิตมีความสำคัญมาก เนื่องจากจะเป็นสิ่งที่สามารถกำหนดอัตราและระยะเวลาของการหมักรวมทั้งจุลินทรีย์ที่อาจเกิดระหว่างการหมักด้วย การใช้แหล่งคาร์โบไฮเดรตที่มีปริมาณมากและเหมาะสม เช่น กลูโคส จะเกิดการใช้คาร์โบไฮเดรตอย่างรวดเร็ว ทำให้ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของผลิตภัณฑ์ลดลงอย่างรวดเร็ว ผลิตภัณฑ์ที่ได้เกิดลักษณะที่ดี ส่วนการใช้แหล่งคาร์โบไฮเดรตปริมาณน้อยและไม่เหมาะสม เช่น โอลิโกแซคคาไรด์ (Oligosaccharides) ซึ่งย่อยสลายได้ยาก อาจส่งผลให้เกิดการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการได้ (Wood, 1985) นอกจากนี้การเลือกใช้แหล่งคาร์โบไฮเดรตในสูตรการผลิตยังขึ้นอยู่กับเหตุผลทางเศรษฐศาสตร์ด้วย ซึ่งผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักในประเทศไทยนิยมใช้น้ำตาลและข้าวเหนียวสุก

น้ำตาล

น้ำตาลเป็นส่วนประกอบที่มีบทบาทสำคัญต่อผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก น้ำตาลที่สามารถนำมาใช้ในการผลิตมีหลายชนิด เช่น น้ำตาลเดกซโตรส น้ำตาลซูโครส และน้ำเชื่อมข้าวโพด (Corn syrup) เป็นต้น

น้ำตาลทำให้ผลิตภัณฑ์มีรสชาติกลมกล่อมขึ้น โดยน้ำตาลจะไปลดรสเค็มที่เกิดจากการเติมเกลือลงในผลิตภัณฑ์และป้องกันน้ำบางส่วนจากเนื้อสัตว์ถูกดึงออกมาทำให้ความชื้นบางส่วนไม่สูญเสียไป เนื้อจะมีรสชาติที่ดีขึ้น ไม่แห้งและแข็งกระด้าง

น้ำตาลจะทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนของโปรตีนเมื่อผ่านการให้ความร้อนเกิดมีสีน้ำตาลที่บริเวณผิวหน้าของชิ้นเนื้อทำให้อาหารน่ารับประทานยิ่งขึ้น อีกทั้งยังช่วยเร่งการเปลี่ยนแปลงของโซเดียมไนเตรทเป็นไนตริกออกไซด์ได้ ทำให้เหลือไนเตรทที่ตกค้างอยู่ในผลิตภัณฑ์น้อยลงและเกิดสีแดงเร็วขึ้น

นอกจากนี้น้ำตาลยังทำหน้าที่เป็นสารตั้งต้นในกระบวนการหมักเพื่อให้เกิดกรดแลคติค ซึ่งชนิดและปริมาณของน้ำตาลที่ใช้ก็มีผลต่อค่าความเป็นกรดเป็นด่างสุดท้ายของผลิตภัณฑ์ด้วย น้ำตาลเดกซโตรสสามารถใช้เป็นปัจจัยในการกำหนดกระบวนการหมักได้ โดยพบว่า น้ำตาลเดกซโตรสที่เพิ่มขึ้นร้อยละ 1 สามารถทำให้ผลิตภัณฑ์มีค่าความเป็นกรดเป็นด่างลดลง 1 หน่วย สำหรับน้ำอ้อยและน้ำตาลซูโครส พบว่า แบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดแลคติคได้สามารถใช้น้ำตาลดังกล่าวในระหว่างกระบวนการหมัก ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์เกิดรสเปรี้ยวขึ้นเล็กน้อยเมื่อเทียบกับน้ำตาลเดกซโตรสที่ระดับค่าความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากัน ทั้งนี้การใช้น้ำตาลในปริมาณที่มากเกินไปจะส่งผลให้ระยะเวลาที่ใช้ในการหมักเพิ่มขึ้นและเกิดการสูญเสียน้ำออกจากผลิตภัณฑ์ด้วย (Gilliland, 1985)

น้ำตาลที่นิยมใช้กันมากในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ คือ น้ำตาลซูโครส ทั้งฟอกสีและไม่ฟอกสี มีการใช้น้ำตาลในรูปของกลูโคสและฟรุกโตสบ้างแต่ผลด้อยกว่าซูโครส เนื่องจากจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในเนื้อสัตว์จะสามารถใช้น้ำตาล 2 ชนิดนี้ (กลูโคสและฟรุกโตส) ได้อย่างรวดเร็ว ทำให้ไมโอโกลบิน (Myoglobin) เปลี่ยนเป็นเมทไมโอโกลบิน (Metmyoglobin) ซึ่งมีผลต่อสีของเนื้อในระหว่างการหมัก ส่วนการใช้ในรูปของน้ำเชื่อม เช่น น้ำเชื่อมซูโครส น้ำเชื่อมกลูโคส และน้ำเชื่อมข้าวโพด (Corn syrup) มีราคาค่อนข้างแพงและไม่เป็นที่นิยม (เยาวลักษณ์, 2536)

สารไนเตรทและสารไนไตรท์

ส่วนใหญ่นิยมใช้ในรูปของเกลือโซเดียมหรือเกลือโปแตสเซียม หน้าที่ของเกลือไนเตรทและเกลือไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์มีหลายประการ ได้แก่ ช่วยเพิ่มกลิ่นรสชาติแก่ผลิตภัณฑ์ ทำให้มีกลิ่นรสเฉพาะตัวเป็นที่ยอมรับสำหรับผู้บริโภคมากกว่าการใช้เกลือในการหมักเพียงอย่างเดียว ทำให้ผลิตภัณฑ์เนื้อมีสีแดงและรักษาสีแดงของผลิตภัณฑ์ให้มีลักษณะน่าบริโภคเพิ่มขึ้น ช่วยยับยั้งการหืนของไขมันในผลิตภัณฑ์ โดยจะไปยับยั้งปฏิกิริยาการเติมออกซิเจนของไขมัน

(Oxidative rancidity) ช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์และป้องกันการงอกของสปอร์แบคทีเรียที่ไม่ต้องการอากาศโดยเฉพาะ *Clostridium botulinum* และช่วยให้แบคทีเรียที่มีบทบาทสำคัญในการหมักเจริญเติบโตได้ดีโดยเฉพาะ Lactobacilli และ Micrococci (เยาวลักษณ์, 2536; Wood, 1985; Campbell-Platt and Cook, 1995; Fennema, 1996; Aguirrezabal *et al.*, 2000)

สารไนเตรทไม่มีบทบาทโดยตรงในกระบวนการหมัก แบคทีเรียที่สามารถรีดิวซ์สารไนเตรท (Nitrate reducing bacteria) ได้จะเปลี่ยนสารไนเตรทไปเป็นสารไนไตรท์ ซึ่งมีบทบาทสำคัญในกระบวนการหมักเนื้อ อาจกล่าวได้ว่า ไนเตรทเป็นแหล่งสำคัญต่อการเกิดไนไตรท์เมื่อไนเตรทถูกเปลี่ยนไปเป็นไนไตรท์โดยจุลินทรีย์ กระบวนการนี้จำเป็นต้องใช้จุลินทรีย์ในปริมาณที่มากพอด้วย อย่างไรก็ตาม การเจริญของจุลินทรีย์ดังกล่าวหากมีมากในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักก็อาจไม่เป็นที่ต้องการเช่นกัน ปริมาณสารไนไตรท์ที่เกิดจากสารไนเตรทขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น อุณหภูมิ แบคทีเรีย และค่าความเป็นกรดเป็นด่าง เป็นต้น ซึ่งการที่จะควบคุมให้ได้สภาวะที่เหมาะสมทำได้ไม่ง่ายนัก (ลักขณา, 2540; Fennema, 1996)

บทบาทของสารไนเตรทและสารไนไตรท์ต่อการเกิดสีในผลิตภัณฑ์เนื้อ สามารถอธิบายได้ดังนี้

ขั้นที่ 1 ไนเตรท (NO_3^-) —แบคทีเรียที่สามารถรีดิวส์ไนเตรทได้ ดึงออกซิเจนออกไป→ ไนไตรท์ (NO_2^-)

ขั้นที่ 2 ไนไตรท์ (NO_2^-) + อนุมูลไฮโดรเจน (H^+) —แบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดแลคติคได้→ กรดไนตรัส (HNO_2)

ขั้นที่ 3 กรดไนตรัส (HNO_2) —สลายตัว→ ไนตริกออกไซด์ (NO) + น้ำ (H_2O)

ขั้นที่ 4 ไมโอโกลบิน (Myoglobin) (สีแดงม่วง) —สภาพเหมาะสม→ เมทไมโอโกลบิน (Metmyoglobin) (สีน้ำตาล)

ขั้นที่ 5 ไนตริกออกไซด์ (NO) + เมทไมโอโกลบิน (Metmyoglobin) (สีน้ำตาล) —สภาพเหมาะสม→ ไนโตรโซไมโอโกลบิน (Nitrosomyoglobin) (สีชมพูเข้ม)

ขั้นที่ 6 ไนโตรโซไมโอโกลบิน (Nitrosomyoglobin) (สีแดงเข้ม) —ความร้อน→ ไนโตรโซฮีโมโครม (Nitrosohaemochrome) (สีชมพูที่คงตัว)

สารไนเตรทจะถูกรีดิวส์เป็นไนไตรท์โดยแบคทีเรียที่สามารถรีดิวส์ไนเตรทได้ จากนั้นเมื่อไนไตรท์อยู่ในสภาวะที่มีแบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดแลคติคได้และมีค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่เหมาะสมจะถูกเปลี่ยนเป็นกรดไนตรัสและสลายตัวได้ไนตริกออกไซด์ ส่วนไมโอโกลบิน (Myoglobin) ในเนื้อสัตว์นั้นส่วนใหญ่มักเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของเมทไมโอโกลบิน (Metmyoglobin) ก่อนการผลิตเนื่องจากเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation) ไนตริกออกไซด์จะทำปฏิกิริยากับเมทไมโอโกลบิน (Metmyoglobin) ในเนื้อสัตว์เกิดเป็นสารไนโตรโซไมโอโกลบิน (Nitrosomyoglobin) และเมื่อสารดังกล่าวได้รับความร้อนจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของไนโตรโซฮีโมโครม (Nitrosohaemochrome) ที่มีสีชมพูที่คงตัว

การใช้สารพวกไนเตรทและไนไตรท์นั้นแต่เดิมใช้ดินประสิวซึ่งให้เกลือไนเตรท ต่อมาพบว่า การแตกตัวของสารไนเตรทให้ไนตริกออกไซด์เกิดได้ช้ามากและต้องอาศัยจุลินทรีย์บางชนิดในเนื้อสัตว์ช่วยในกระบวนการผลิต ดังนั้นการทำให้เกิดสีแดงในผลิตภัณฑ์ต้องใช้เวลานาน การใช้สารไนเตรทและสารไนไตรท์ร่วมกันมีผลในการเร่งการแตกตัวของสารไนเตรท ทำให้เกิดการแตกตัวให้ไนตริกออกไซด์เร็วและมากขึ้น ซึ่งเป็นผลให้เกิดสีแดงที่เร็วและมีไนเตรทเหลือตกค้างอยู่ในผลิตภัณฑ์น้อยลง

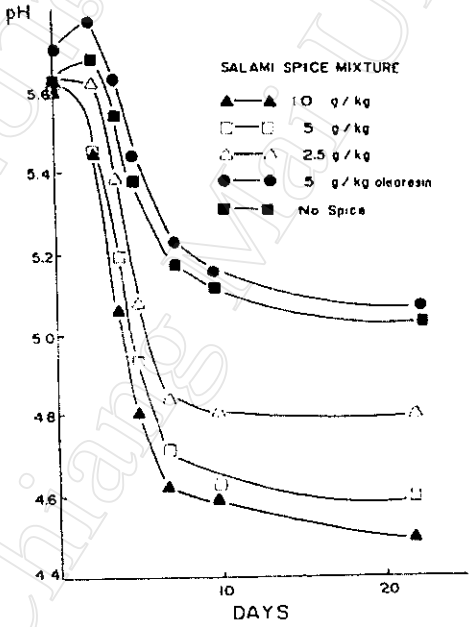
Izumi *et al.* (1989) รายงานว่า การใช้ไนไตรท์ร่วมกับกรดแอสคอร์บิคสามารถป้องกันการก่อตัวของสารไนโตรซามีนและช่วยลดไนไตรท์ที่เหลือตกค้างในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก

นักวิทยาศาสตร์เชื่อกันว่าไนโตรซามีนเป็นสารที่ก่อให้เกิดมะเร็งได้ และพบว่าการเกิดสารไนโตรซามีนนั้นอาจเกิดได้จากกรดไนตรัสที่เกิดจากการแตกตัวของไนเตรท ดังนั้นการใช้สารไนเตรทเติมลงในผลิตภัณฑ์เนื้ออาจก่อให้เกิดสารที่ทำให้เกิดมะเร็งได้ในผู้บริโภคถ้าใช้ในปริมาณที่มากเกินและไม่ถูกต้อง (เยาวลักษณ์, 2536) อย่างไรก็ตาม สถาบันเนื้อสัตว์ของอเมริกาโดย Nitrite Safe Council (1980) ได้ทำการเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารที่ทำจากเนื้อหมักในโรงงานต่าง ๆ ตรวจสอบพบว่า ถ้ามีการใช้สารไนเตรทและไนไตรท์ในปริมาณที่ไม่มากกว่ามาตรฐานกำหนดแล้วจะไม่พบสารไนโตรซามีนในผลิตภัณฑ์อาหารแทบทุกชนิด ดังนั้นการกล่าวถึงสารไนโตรซามีนที่อาจเกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์ที่มีการใช้สารไนเตรทและไนไตรท์ในการผลิต จึงเป็นเพียงการเตือนเพื่อให้ทราบถึงผลเสียถ้าหากมีการใช้ในปริมาณที่มากเกินกำหนด

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 84 อนุญาตให้ใช้สารไนเตรทได้ในปริมาณไม่เกิน 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (โดยคำนวณเป็นโซเดียมไนเตรท) และสารไนไตรท์ใช้ได้ไม่เกิน 125 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (โดยคำนวณเป็นโซเดียมไนไตรท์) (กระทรวงสาธารณสุข, 2527)

เครื่องเทศ

ภาพ 2.2 เป็นการศึกษาอัตราการหมักของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักชนิด Salami ที่มีปริมาณส่วนผสมของเครื่องเทศที่ต่างกัน พบว่า เครื่องเทศที่ใช้ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักมีผลโดยตรงต่ออัตราการหมักเนื่องจากเครื่องเทศดังกล่าวมีคุณสมบัติช่วยกระตุ้นการผลิตกรดแลคติคของแบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดแลคติคได้



ภาพ 2.2 ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักที่มีปริมาณการใช้เครื่องเทศต่างกัน

ที่มา : Gilliland (1985)

โดยปกติการกระตุ้นให้เกิดการผลิตกรดแลคติคที่เพิ่มขึ้นไม่ได้ขึ้นอยู่กับการเพิ่มขึ้นของปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดแลคติคได้หรือการปนของจุลินทรีย์อื่น ๆ ที่ติดมากับเครื่องเทศที่ใช้ ในเครื่องเทศมีสารบางอย่างที่สามารถกระตุ้นให้แบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดได้มีความสามารถในการผลิตกรดได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น โดยพบว่าแมงกานีสในเครื่องเทศเป็นปัจจัยสำคัญต่อการผลิตกรด กลไกทางชีวเคมีของแบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดแลคติคได้มีความต้องการแมงกานีสในการผลิตกรดโดยเฉพาะต่อเอนไซม์ในวิถีทางไกลโคไลซีส (Glycolysis)

การสกัดสารหอมระเหยพวก Oleoresin จากเครื่องเทศแล้วเติมลงในส่วนผสมการหมักผลิตภัณฑ์เนื้อไม่มีผลต่ออัตราเร็วของการหมัก ขณะที่การเติมเครื่องเทศตามธรรมชาติมีผลต่อการกระตุ้นดังกล่าว (Ingolf and Skjelkvale, 1982)

เครื่องเทศที่มีคุณสมบัติในการกระตุ้นการผลิตกรดแลคติคมีหลายชนิด ได้แก่ พริกไทยแดง พริกไทยดำ พริกไทยขาว มัสตาร์ด ลูกจันทน์ กระเทียม ขิง อบเชย และลูกผักชี เป็นต้น คุณสมบัติในการกระตุ้นของเครื่องเทศเหล่านี้จะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นและชนิดของแบคทีเรียที่ใช้ พบว่า แบคทีเรียประเภท Lactobacilli สามารถถูกกระตุ้นได้ดีกว่าแบคทีเรียประเภท Pediococci ซึ่งการใช้เครื่องเทศหลายชนิดยังช่วยให้ใช้ระยะเวลาในการหมักที่สั้นกว่าการใช้เครื่องเทศชนิดเดียว นอกจากนี้แหล่งผลิตของเครื่องเทศที่ใช้ก็เป็นสิ่งที่ควรตระหนักถึงในการผลิตไส้กรอกหมักด้วย

กระเทียม

กระเทียม มีชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Allium sativum* L. ประกอบด้วย น้ำมันหอมระเหยร้อยละ 0.1 โปรตีนร้อยละ 7 และคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 26 นอกจากนี้ยังประกอบด้วยเกลือแร่ แคลเซียม โซเดียม โปแตสเซียม ฟอสฟอรัส เหล็ก ไอโอดีน ซัลเฟอร์ และวิตามินต่างๆ เช่น วิตามินบีหนึ่ง วิตามินบีสอง วิตามินซี และไนอาซิน (De Castro *et al.*, 1998)

กระเทียมมีสารประกอบกำมะถันชนิดหนึ่ง เรียกว่า อัลลิอิน (Alliin) ซึ่งเป็นสารที่มีความเสถียรภาพสูง ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น ละลายน้ำได้ ถ้าบุบหรือขยี้จนช้ำ สารนี้จะถูกย่อยโดยเอนไซม์อัลลิเนสเปลี่ยนเป็นสารอัลลิซิน (Allicin) ไพรูเวท และแอมโมเนีย ซึ่งจะให้กลิ่นเฉพาะตัวและเกิดรสชาติของกระเทียมอย่างรุนแรง

กระเทียมมีคุณสมบัติทางยาและทางโภชนาการ นิยมใช้เป็นเครื่องชูรสและกลิ่นในการปรุงอาหาร ส่วนทางยานั้น กระเทียมมีสรรพคุณในการรักษาโรคหลายชนิด ได้แก่ สามารถขับลม แก้ท้องอืด ท้องเฟ้อ ขับเสมหะ ทำให้ไขมันในเส้นเลือดละลาย ลดความดันโลหิตสูง บรรเทาโรคหืด นอกจากนี้น้ำกระเทียมยังสามารถใช้ทาแก้โรคผิวหนัง กลากเกลื้อน และยับยั้งการเจริญของเชื้อรา เป็นต้น ถึงแม้ว่ากระเทียมจะไม่ใช่ยาที่สามารถรักษาให้หายขาดได้โดยตรง แต่ก็สามารถช่วยบรรเทาอาการของโรคต่าง ๆ ดังกล่าวได้เป็นอย่างดี และพร้อมที่จะสร้างภูมิต้านทานโรคให้แก่ร่างกายได้

ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักมักใช้กระเทียมเป็นส่วนประกอบ เนื่องจากกระเทียมที่เติมเข้าไปจะช่วยดับกลิ่นคาวของเนื้อสัตว์ ช่วยให้เกิดกลิ่นที่น่าบริโภค และป้องกันจุลินทรีย์ที่ไม่เกี่ยวข้องกับการหมัก เช่น เชื้อรา (นันทนา, 2525) และสามารถทำหน้าที่เป็นสารกันหืนในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักด้วย โดยพบว่า ส่วนผสมของกระเทียมและปาปริกามีความสามารถในการเป็นสารกันหืนมากกว่าส่วนผสมของไนเตรท ไนไตรท์ และกรดแอสคอร์บิค (Aguirrezabal *et al.*, 2000)

การใช้กระเทียมในสูตรปริมาณสูงถึงร้อยละ 10 ของส่วนผสมทั้งหมด จะมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคได้ มีการทดลองพบว่า ผลิตภัณฑ์เนื้อหมักที่ไม่ผสมกระเทียมจะเกิดการผลิตกรดแลคติคในปริมาณค่อนข้างต่ำ แต่ถ้าผลิตภัณฑ์เนื้อหมักมีกระเทียมผสมอยู่จะทำให้เกิดกระบวนการหมักที่เร็วขึ้น และปริมาณกรดแลคติคที่เกิดขึ้นจะมีมากกว่าผลิตภัณฑ์เนื้อหมักที่ไม่มีกระเทียมเป็นส่วนประกอบ (ณรงค์และทัศนีย์, 2526)

ลูกผักชี

ลูกผักชี เป็นผลของต้นผักชีซึ่งมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Coriandrum sativum* L. ลักษณะผลกลมและมีสันนูน สีน้ำตาลปนเหลือง มีกลิ่นหอมเฉพาะ มักใช้เป็นเครื่องเทศผสมในแกงผักดอง ไส้กรอก คุกกี้ ขนมปัง เค้ก และเหล้าจิน (Gin) ในประเทศแถบยุโรปและสหรัฐอเมริกา

ลูกผักชีมีฤทธิ์ขับลม ขับปัสสาวะ บำรุงธาตุ แก้อาการน้ำดีเป็นพิษ เมื่อนำลูกผักชีมาเคี้ยวทำให้ลมหายใจมีกลิ่นหอมและเชื่อกันว่าจะบรรเทาอาการเมาเหล้าได้ (Garland, 1993)

ไส้บรรจุ

ไส้บรรจุที่ใช้โดยทั่วไปมี 2 ชนิด คือ

ไส้แท้ (Natural casing) ได้จากไส้หมู แกะ วัว และควาย นำไปล้างทำความสะอาด แล้วนำเกลือมาคลุกให้ทั่ว จากนั้นล้างเกลือออกให้หมดแล้วแช่ไว้ในน้ำจนกว่าจะใช้บรรจุ ไส้แท้ที่นำมาใช้เป็นไส้บรรจุควรสามารถขยายออกและหดตัวเข้าเมื่อทำการบรรจุส่วนผสม และยังสามารถหดตัวได้เมื่ออยู่ในสภาพแห้งลงหรือผ่านการให้ความร้อน ไส้แท้มีข้อเสียคือ ขนาดของไส้ไม่สม่ำเสมอ ไส้ที่มีอายุต่างกันก็มีความแข็งแรงต่างกันด้วย การเก็บรักษาค่อนข้างยาก ไส้แท้อาจฉีกขาดได้ง่ายเนื่องจากอาจมีรูเล็ก ๆ กระจัดกระจายอยู่ตามผิวที่เกิดจากการดึงเอาผิวนอกและท่อเลือดออกด้วยความแรง ทั้งนี้อาจมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการมากับไส้แท้เนื่องจากขั้นตอนการเตรียมไส้ก่อนการนำมาบรรจุที่ไม่ดีพอ

ไส้เทียม (Artificial casing) เป็นไส้ที่นิยมมากในโรงงานอุตสาหกรรม เนื่องจากสามารถผลิตได้ปริมาณมาก ราคาถูก มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางให้เลือกได้ตามต้องการ ขนาดสม่ำเสมอ และเก็บรักษาได้ง่าย ไส้เทียมที่รับประทานได้ทำจากโปรตีนคอลลาเจน โดยสกัดหนังสัตว์ด้วยสารละลายด่างและล้างน้ำเพื่อแยกสารละลายที่ได้และส่วนที่ไม่ใช่คอลลาเจนออก แล้วนำไปเข้าเครื่องบด จากนั้นนำไปทำปฏิกิริยากับกรดแลคติคชนิดเจือจางให้เกิดการพองตัวและเหลวข้นเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วนำเข้าแบบพิมพ์เพื่อให้ได้ลักษณะเป็นหลอดและผ่านไปในภาชนะที่บรรจุแอมโมเนียมซัลเฟตเพื่อตกตะกอน นำหลอดที่ได้ไปล้าง ทำให้แข็งตัวและอบให้แห้ง ใช้มากกับไส้ที่มีขนาดเล็ก (เยาวลักษณ์, 2536; ลักขณา, 2540)

อย่างไรก็ตาม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของไส้บรรจุที่เลือกใช้ในการผลิตก็เป็นสิ่งที่ควรคำนึงถึงเช่นกัน ไส้บรรจุที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางมากจะส่งผลให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความเป็นกรดที่ต่ำกว่าผลิตภัณฑ์ที่ใช้ไส้บรรจุขนาดเล็กกว่า เช่นเดียวกับระยะเวลาที่ใช้ในการหมักผลิตภัณฑ์ที่ใช้ไส้บรรจุขนาดใหญ่อาจต้องใช้เวลาในการหมักนานกว่าการใช้ไส้บรรจุขนาดเล็กเนื่องจากการกระจายตัวของอุณหภูมิในการผลิตผลิตภัณฑ์ที่มีพื้นที่มากกว่าจะเป็นไปได้อย่างช้ากว่า ตลอดจนความร้อนที่ใช้ในการหยุดกระบวนการหมักก็เป็นไปอย่างเชื่องช้าด้วยเหตุผลเดียวกันนี้

ตัวแปรของกระบวนการผลิตที่มีผลต่อผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก

นอกจากส่วนประกอบในสูตรการผลิตแล้ว ตัวแปรของกระบวนการผลิตก็มีผลต่ออัตราการหมักและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของผลิตภัณฑ์เช่นกัน

กระบวนการหมักที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ สภาวะการหมักจะเป็นตัวกำหนดชนิดของจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตในผลิตภัณฑ์ ในขณะเดียวกันก็เป็นตัวกำหนดระยะเวลาและลักษณะต่าง ๆ ของผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้ด้วย สภาวะดังกล่าวได้แก่ อุณหภูมิ เวลา ความชื้น การผสม และสุขลักษณะในการผลิต เป็นต้น

อุณหภูมิ

โดยมากอุณหภูมิของผลิตภัณฑ์มักเป็นตัวกำหนดกิจกรรมต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นของจุลินทรีย์ในระบบของผลิตภัณฑ์นั้น ๆ เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นประเภท Lactobacilli และ Pediococci มีอุณหภูมิในการเจริญเติบโตที่เหมาะสมประมาณ 32 และ 37 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ซึ่งการทำให้ค่าความเป็นกรดเป็นด่างในช่วงแรกของการหมักลดลงนั้นขึ้นอยู่กับอุณหภูมิภายในของผลิตภัณฑ์และระยะเวลาที่อุณหภูมินี้คงอยู่ อัตราเร็วของการหมักอาจลดลงได้หากอุณหภูมิภายในผลิตภัณฑ์เกิดการเปลี่ยนแปลงไปจากอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดแลคติคได้ อย่างไรก็ตาม การหมักที่เกิดขึ้นอย่างช้า ๆ ที่อุณหภูมิไม่สูงนักจะช่วยควบคุมค่าความเป็นกรดเป็นด่าง การเกิดกลิ่นและรสชาติ และการเกิดลักษณะเฉพาะต่าง ๆ ของผลิตภัณฑ์ให้มีลักษณะที่ดีกว่า ทั้งยังสามารถช่วยยับยั้งการเกิดจุลินทรีย์ที่ไม่เป็นที่ต้องการและก่อให้เกิดโรค (Food pathogens) ด้วย

ได้มีการใช้อุณหภูมิสูงกับผลิตภัณฑ์หลายชนิดเพื่อทำลายแบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดแลคติคได้เมื่อผลิตภัณฑ์มีค่าความเป็นกรดเป็นด่างเป็นไปตามความต้องการแล้ว โดยอุณหภูมิที่ใช้อยู่ในช่วง 63-68 องศาเซลเซียส

นอกจากนี้ปัจจัยที่ควรคำนึงถึงก็คือ เวลาเบื้องต้นที่ทำให้อุณหภูมิของผลิตภัณฑ์เปลี่ยนไปอยู่ในช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการผลิต ซึ่งเป็นผลโดยตรงจากอุณหภูมิเริ่มต้นของผลิตภัณฑ์ อุณหภูมิที่ใช้ในการหมัก ความจุของตู้บ่ม การถ่ายเทของอากาศโดยรอบ และ

ความชื้น เป็นต้น อย่างไรก็ตาม สภาวะการหมักอาจมีการผันแปรได้ตามฤดูกาลที่ทำการผลิต ซึ่งมีผลต่อเวลาที่ใช้ในการหมักด้วย

ความชื้น

สภาวะที่มีความชื้นสูงจะช่วยเร่งอัตราการหมักของผลิตภัณฑ์ เนื่องจากสภาวะดังกล่าวจะทำให้ผลิตภัณฑ์มีการสูญเสียน้ำที่เป็นประโยชน์ต่อการเจริญของจุลินทรีย์ต่ำลง ดังนั้น ความชื้นที่เกิดขึ้นทั้งภายในและสภาวะโดยรอบของผลิตภัณฑ์จึงมีผลโดยตรงต่อระยะเวลาที่ใช้ในการผลิต (Campbell-Platt and Cook, 1995)

การผสม

สูตรและกระบวนการผลิตที่สม่ำเสมอจะเป็นดัชนีบ่งบอกความคงที่ของกระบวนการหมัก การกระจายตัวของส่วนประกอบในสูตรการผลิตจึงเป็นสิ่งสำคัญในการกำหนดสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่มีบทบาทในการหมักในแต่ละครั้งการผลิต หากส่วนประกอบในสูตรการผลิตดังกล่าวมีการกระจายตัวไม่สม่ำเสมอจะทำให้อัตราการหมักและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของผลิตภัณฑ์ไม่คงที่ ส่งผลให้กลิ่นและรสชาติ และลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ไม่สม่ำเสมอทั้งในชิ้นเดียวกันและในแต่ละครั้งของการผลิต (Gilliland, 1985)

สุขลักษณะในการผลิต

สุขลักษณะในการผลิตก็เป็นสิ่งที่ควรตระหนักอย่างยิ่ง การปนเปื้อนในระหว่างการผลิตอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้ต้องใช้เวลาในการหมักผลิตภัณฑ์ยาวนานขึ้น ถึงแม้ว่าส่วนประกอบต่าง ๆ ที่ใช้ในกระบวนการผลิตจะผ่านขั้นตอนการฆ่าเชื้อมาแล้ว ถ้ามีการใช้อย่างไม่ถูกต้องอาจทำให้เกิดการสัมผัสปนเปื้อนกับจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดสารพิษในอาหารได้หากขณะนั้นมีความชื้นที่สูงเพียงพอ

สารที่ใช้ในการทำความสะอาดเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้จุลินทรีย์ที่ใช้เป็นเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นถูกทำลายได้หากมีการสัมผัสกัน ดังนั้นอุปกรณ์ที่ใช้ในการทำให้เจือจางและบรรจุเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นควรล้างทำความสะอาดให้แน่ใจว่าไม่มีสารทำความสะอาดหลงเหลืออยู่ก่อนนำ

มาใช้ ทั้งนี้รวมถึงอุปกรณ์ต่าง ๆ ที่ใช้ในการผลิตด้วย (Gilliland, 1985 ; Campbell-Platt and Cook, 1995)

สารเคมีกันเสีย

กรดซอร์บิคและโปแตสเซียมซอร์เบท

กรดซอร์บิค เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายตรง ชื่อทางเคมีคือ 2,4-Hexadienoic acid สูตรโมเลกุลคือ CH_3-CH=CH-CH=CH-COOH มีน้ำหนักโมเลกุล 112.13 ผลึกมีลักษณะเป็นเกล็ดหรือเข็ม ไม่มีสี และอาจพบในลักษณะผงหรือเม็ดสีขาว อ่อนนุ่ม แตกหักง่าย ละลายน้ำได้น้อย เกลือซอร์เบทจะละลายน้ำได้ดีกว่ากรดซอร์บิค ในอุตสาหกรรมอาหารจึงนิยมใช้เกลือซอร์เบทมากกว่ากรดซอร์บิค เกลือซอร์เบทที่มีจำหน่ายทางการค้า ได้แก่ แคลเซียมซอร์เบท โซเดียมซอร์เบท และโปแตสเซียมซอร์เบท โดยนิยมใช้โปแตสเซียมซอร์เบทมากที่สุดเนื่องจากสามารถละลายน้ำได้ดีที่สุด มีความคงตัวสูง และวิธีการผลิตไม่ยุ่งยาก (Davidson and Branen, 1993)

โปแตสเซียมซอร์เบท มีชื่อทางเคมีคือ 2,4-Hexadienoic acid potassium salt สูตรโมเลกุลคือ CH_3-CH=CH-CH=CH-COOK น้ำหนักโมเลกุล 150.22 ลักษณะเป็นผงหรือเม็ดสีขาว สามารถละลายในน้ำได้ดีกว่ากรดซอร์บิค มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์โดยเฉพาะเชื้อราและยีสต์ได้เป็นอย่างดี แต่ไม่มีผลต่อแบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดแลคติคได้ (Banwart, 1989; Davidson and Branen, 1993)

การใช้กรดซอร์บิคและเกลือซอร์เบทเพื่อเป็นสารเคมีกันเสียนั้นได้มีการนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ มากมาย เช่น ผลิตภัณฑ์อาหารของมนุษย์และสัตว์ เครื่องสำอาง เวชภัณฑ์ เป็นต้น ซึ่งวัตถุประสงค์หลักของการใช้ในอาหารก็เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราและยีสต์

ประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ของเกลือซอร์เบทจะเพิ่มขึ้นเมื่อค่าความเป็นกรดเป็นด่างลดลง ความสามารถในการแตกตัวของเกลือซอร์เบทขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรดเป็นด่าง กล่าวคือ ยิ่งค่าความเป็นกรดเป็นด่างลดลง เกลือซอร์เบทก็ยิ่งแตกตัวได้น้อยลงด้วย ซึ่งเกลือ

ซอร์เบทในรูปไม่แตกตัว (Undissociated form) จะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดีกว่ารูปที่แตกตัว (Dissociated form)

อย่างไรก็ตาม แม้ว่าเกลือซอร์เบทจะสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดีในสภาวะที่ค่าความเป็นกรดเป็นด่างต่ำ ๆ แต่เกลือซอร์เบทก็ยังมีประสิทธิภาพที่ค่าความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 6.5-7.0 ซึ่งนับเป็นข้อดีของเกลือซอร์เบทอีกประการหนึ่งเมื่อเทียบกับวัตถุกันเสียอื่น ๆ เช่น โพรพิออเนทและเบนโซเอท (Deman, 1990; Fennema, 1996)

ปริมาณเกลือซอร์เบทในอาหารจะสูญเสียไประหว่างการเก็บรักษา ปริมาณที่สูญเสียจะมากน้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับปริมาณซอร์เบทที่ใช้ในอาหาร ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง องค์ประกอบของอาหาร ความชื้น กระบวนการผลิต ภาชนะบรรจุ อุณหภูมิ และระยะเวลาในการเก็บรักษา (Banwart, 1989)

การใช้เกลือซอร์เบทในอาหารมีหลายรูปแบบ ได้แก่ การใส่ในอาหารโดยตรง การจุ่มอาหารลงในสารละลายซอร์เบท การฉีดพ่นสารละลายซอร์เบท การคลุกพร้อมผงแป้ง การเติมในวัสดุเคลือบผิวอาหาร และการเติมลงในวัสดุหีบห่อ การเลือกใช้วิธีที่เหมาะสมนั้นควรพิจารณาจากชนิดของอาหาร วัตถุประสงค์ที่ต้องการ กระบวนการผลิต เครื่องมือ และความสะดวก (Banwart, 1989; Davidson and Branen, 1993; Bohme *et al.*, 1996)

กรดซอร์บิคและเกลือซอร์เบทได้รับการพิจารณาจาก GRAS (Generally Recognized As Safe) ว่าเป็นสารประกอบที่มีความปลอดภัยต่อมนุษย์และอนุญาตให้ใช้เป็นสารเคมีกันเสียในผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิด ทั้งนี้เนื่องจากเกลือซอร์เบทมีความเป็นพิษต่ำและมีสมบัติที่ดีกว่าสารเคมีกันเสียชนิดอื่น ประเทศไทยได้มีประกาศของกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 84 อนุญาตให้ใช้โปแตสเซียมซอร์เบทในอาหารได้ในปริมาณสูงสุดไม่เกิน 1,000 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักอาหาร 1 กิโลกรัม (กระทรวงสาธารณสุข, 2527)

ผลต่อกิจกรรมของจุลินทรีย์

โดยทั่วไปเกลือซอร์เบทมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราและยีสต์ได้ดีกว่าแบคทีเรีย ความเข้มข้นของเกลือซอร์เบทร้อยละ 0.05-0.30 จะให้ผลในการยับยั้งจุลินทรีย์ในอาหารมากที่สุด

ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อยีสต์ของเกลือซอร์เบทเริ่มครั้งแรกในผลิตภัณฑ์ผักดอง ต่อมาจึงได้นำไปใช้กับผลิตภัณฑ์อื่น ๆ อีก เช่น น้ำผลไม้ ไวน์ เนยแข็ง ผลไม้แห้ง และผลิตภัณฑ์เนื้อ เกลือซอร์เบทยังเป็นสารเคมีกันเสียที่นิยมใช้กันมากในอาหารที่มีค่าความเป็นกรดเป็นด่างต่ำ เช่น น้ำอัดลม น้ำสลัด แยม และผลิตภัณฑ์จากมะเขือเทศ

การใช้เกลือซอร์เบทเพื่อยับยั้งเชื้อราในอาหารจะนิยมใช้ในเนยแข็งมากที่สุด ส่วนอาหารอื่น ๆ ที่มีการใช้เพื่อจุดประสงค์นี้ ได้แก่ เนย ไส้กรอกหมัก ผลไม้ น้ำผลไม้ เค้ก และขนมปัง ความสามารถในการยับยั้งการสร้างสารพิษจากเชื้อรา (Mycotoxin) ในอาหารหลายชนิดของเกลือซอร์เบทขึ้นอยู่กับความเป็นกรดเป็นด่าง ปริมาณน้ำที่เป็นประโยชน์ ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น สารเคมีอื่น ๆ ที่เจือปน อุณหภูมิการเก็บรักษา และชนิดของภาชนะบรรจุ (Maga and Tu, 1995)

ในผลิตภัณฑ์เนื้อ เกลือซอร์เบทสามารถยับยั้งแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคและทำให้อาหารเกิดการเสื่อมเสียได้ แบคทีเรียดังกล่าวมีดังนี้ *Salmonella, Clostridium botulinum, Clostridium perfringens, Clostridium sporogenes, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Yersinia enterocolitica, Brochothrix thermosphacta, Serratia liquefaciens* และ *Pseudomonas* จากการศึกษาในผลิตภัณฑ์เนื้อต่าง ๆ เช่น เนื้อหมู เนื้อไก่ เนื้อวัว เนื้อหมัก และเบคอน พบว่าประสิทธิภาพการยับยั้งจะดีขึ้นหากใช้เกลือซอร์เบทร่วมกับโซเดียมไนไตรท์ โซเดียมคลอไรด์ ฟอสเฟต สารต้านการออกซิเดชัน สภาวะที่ค่าความเป็นกรดเป็นด่างต่ำ อุณหภูมิการเก็บรักษาต่ำ และสภาวะที่มีออกซิเจนน้อย

นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าเกลือซอร์เบทสามารถลดการสร้างสารไนโตรซามีน (Nitrosamine) ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็ง เมื่อมีการใช้ควบคู่กับโซเดียมไนไตรท์ในการผลิตเบคอนเพื่อป้องกันการเจริญเติบโตของ *Clostridium botulinum* (Maga and Tu, 1995)

ในสหรัฐอเมริกานิยมใช้เกลือซอร์เบทในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเพื่อยับยั้งการเกิดเชื้อราที่ผิวของผลิตภัณฑ์ในขั้นตอนการบ่ม และพบว่าการจุ่มผลิตภัณฑ์ไส้กรอกลงในสารละลายโปแตสเซียมซอร์เบทความเข้มข้นร้อยละ 10 จะช่วยให้ผลิตภัณฑ์มีอายุการเก็บรักษามากขึ้นแม้ไม่แช่เย็น ซึ่งเป็นที่นิยมในประเทศต่าง ๆ เช่น ญี่ปุ่นและเกาหลี (Sofos, 1989)

การจุ่มสเต็กเนื้อวัวลงในสารละลายโปแตสเซียมซอร์เบทความเข้มข้นร้อยละ 10 จะช่วยยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้นจากเดิมอีก 2 วัน (Banwart, 1989)

อย่างไรก็ตาม Vichiensanth (1982) ได้ทำการศึกษาการพัฒนาคุณภาพผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยวและการยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ดังกล่าว ซึ่งพบว่า การใช้กรดแลคติคหรือกลูโคโนเดลตาแลคโตน (GDL) ในการผลิตไส้กรอกเปรี้ยวทำให้คุณภาพผลิตภัณฑ์ไม่ดีเท่าที่ควร และพบว่าการยอมรับผลิตภัณฑ์ในด้านลักษณะเนื้อสัมผัสขึ้นอยู่กับเนื้อหมู มันหมู และส่วนประกอบของข้าวในสูตรการผลิต ลักษณะเนื้อสัมผัสจะดีขึ้นถ้ามีการเพิ่มเนื้อหมูและมันหมูและลดปริมาณข้าว ในแง่ของอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยว ซึ่งปกติจะมีอายุการเก็บประมาณ 3 วัน จากการศึกษาพบว่า หากมีการจุ่มผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยวในสารละลายโปแตสเซียมซอร์เบทร้อยละ 4 เป็นเวลา 1 นาที จะสามารถเก็บผลิตภัณฑ์ได้นาน 14 วัน และ 10 วัน ถ้ามีการเก็บในสภาพสุญญากาศ

จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดอันตรายในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก

Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus เป็นจุลินทรีย์ที่มีรูปร่างกลม แกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ สามารถเจริญได้ในที่มีอากาศเพียงเล็กน้อยหรือไม่มีอากาศ ทนต่อความแห้งได้สูงโดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อปนเปื้อนอยู่ในสารอินทรีย์ เช่น เลือดและน้ำเหลือง สามารถเจริญได้เมื่อมีค่าน้ำที่เป็นประโยชน์ระหว่าง 0.84-0.92 ทนเกลือและสารไนไตรท์ แต่เจริญเติบโตไม่ดีในสภาวะที่มีค่าความเป็นกรดเป็นด่างและอุณหภูมิต่ำ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญคือ 37-40 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่เหมาะสมคือ 4.8-9.4 (Campbell-Platt and Cook, 1995)

Staphylococcus aureus เป็นจุลินทรีย์สำคัญที่มักก่อให้เกิดพิษในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก โดยจะเจริญเติบโตและสร้างสารพิษในช่วงแรกของการหมักไส้กรอก (Sameshima *et al.*, 1998) สารพิษนี้เรียกว่า Enterotoxin ซึ่งจะเริ่มสร้างสารพิษเมื่อเจริญได้ปริมาณไม่น้อยกว่า 10^6 เซลล์ เซลล์ของ *Staphylococcus aureus* สามารถถูกทำลายด้วยความร้อน 60 องศาเซลเซียสขึ้นไป แต่สารพิษ Enterotoxin ไม่สามารถถูกทำลายด้วยความร้อนระดับพาสเจอร์ไรซ์ได้ ซึ่งแม้แต่อุณหภูมิที่ใช้ในการฆ่าเชื้ออาหารกระป๋องก็ไม่สามารถทำลายสารพิษนี้ได้ ดังนั้นควรมีการป้องกันการปนเปื้อนของ *Staphylococcus aureus* ในอาหาร โดยไม่ควรเก็บอาหารในช่วงอุณหภูมิเสี่ยงต่อการเจริญของจุลินทรีย์นี้คือ 5-63 องศาเซลเซียส

Staphylococcus aureus ในอาหารเป็นดัชนีบ่งชี้สุขวิทยาของอาหาร ซึ่งบ่งบอกถึงการประกอบอาหารว่าถูกสุขลักษณะหรือไม่ ถือเป็นสิ่งสำคัญมากที่จะช่วยป้องกันการแพร่ของจุลินทรีย์ชนิดนี้จากผู้ผลิตสู่ผลิตภัณฑ์

Salmonella

จุลินทรีย์ชนิดนี้จัดอยู่ในตระกูล Enterobacteriaceae สามารถเจริญได้ในที่มีอากาศเพียงเล็กน้อยหรือไม่มีอากาศ รูปร่างเป็นท่อน แกรมลบ ไม่มีสปอร์ เจริญได้ที่อุณหภูมิปานกลางประมาณ 37 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่เหมาะสมต่อการเจริญคือ 4.0-9.0 สามารถเจริญได้เมื่อมีค่าน้ำที่เป็นประโยชน์ระหว่าง 0.93-0.96 พบได้ในเนื้อสัตว์ สัตว์ปีก ปลา อาหารทะเล ผลิตภัณฑ์เนื้อ นมและผลิตภัณฑ์นม ไข่ สัตว์กัดแทะ และของเสียจากการขับถ่ายของมนุษย์และสัตว์ ซึ่ง *Salmonella* ทุกชนิดทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษได้โดยแต่ละชนิดมีความรุนแรงแตกต่างกันไป

แบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดแลคติคได้มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ประเภท Salmonellae ซึ่งขึ้นอยู่กับสายพันธุ์และอัตราส่วนของแบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดแลคติคได้ อุณหภูมิในการหมัก ระดับและสัดส่วนการผลิตกรด การใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นประเภทแบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดแลคติคได้จะเป็นการจำกัดการอยู่รอดของ Salmonellae ในขณะที่การหมักแบบดั้งเดิมจะมีการอยู่รอดของ Salmonellae มากกว่า

Clostridium botulinum

Clostridium botulinum เป็นจุลินทรีย์ที่มักพบในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์และผักผลไม้ที่บรรจุอยู่ในสภาวะที่มีอากาศน้อย เช่น บรรจุสุญญากาศหรือกระป๋อง เป็นต้น เนื่องจากจุลินทรีย์ชนิดนี้สามารถเจริญได้ดีในที่มีอากาศน้อยหรือไม่มีอากาศ สารพิษ (Toxin) ที่ผลิตจาก *Clostridium botulinum* นี้จะเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคอย่างยิ่ง การใช้แบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดแลคติคได้ในผลิตภัณฑ์จะช่วยยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษได้เนื่องจากมีการผลิตกรดขึ้นอย่างรวดเร็วถึงแม้ว่าจะไม่มีสารประกอบไนไตรท์ก็ตาม

Escherichia coli

Escherichia coli รูปร่างเป็นท่อน แกรมลบ ไม่มีสปอร์ เจริญได้ในที่มีอากาศเพียงเล็กน้อยหรือไม่มีอากาศ อุณหภูมิเหมาะสมในการเจริญคือ 37 องศาเซลเซียส ไม่ทนต่อสภาวะความเป็นกรดและความแห้ง (Gonzalez and Diez, 2002) ค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่เหมาะสมคือ 7.0-7.5 โดยค่าความเป็นกรดเป็นด่างต่ำสุดและสูงสุดที่สามารถเจริญได้คือ 4.0 และ 9.0 ตามลำดับ ค่าน้ำที่เป็นประโยชน์ที่สามารถเจริญได้อยู่ระหว่าง 0.94-0.97

จุลินทรีย์ชนิดนี้เป็นจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ พบได้ทั่วไปตามธรรมชาติโดยเฉพาะลำไส้ของมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่น อุจจาระ และสิ่งสกปรกต่าง ๆ ดังนั้นจุลินทรีย์ชนิดนี้จึงเป็นตัวบ่งชี้ถึงการปนเปื้อนของมูลสัตว์และความไม่ถูกสุขลักษณะของน้ำ อาหาร และการสุขาภิบาลสถานที่

เชื้อรา

เชื้อราเป็นจุลินทรีย์ที่มักพบในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักและมักสร้างสารพิษ (Mycotoxin) ขึ้นด้วยหากมีความชื้นและอาหารที่เหมาะสม เชื้อราจะเจริญในสภาวะที่มีอากาศ โดยจะทำให้เกิดลักษณะเป็นเมือกเหนียวขึ้นที่ผิวนอกของผลิตภัณฑ์และบางครั้งอาจพบลักษณะเป็นจุดดำหรือขาวขึ้นภายในเนื้อผลิตภัณฑ์ด้วย เชื้อราที่มักพบได้แก่ *Penicillium* และ *Aspergillus* เป็นต้น (เรณู, 2535)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Bohme *et al.* (1996) ได้ทดลองใช้เนื้อนกกระจอกเทศในการทำผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักอิตาเลียนชนิด Salami โดยใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น พบว่า การใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นประเภท Lactobacilli และ Micrococci จะช่วยให้ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของผลิตภัณฑ์ลดลงจาก 7.0 เป็นต่ำกว่า 5.0 อย่างรวดเร็ว ในขณะที่ผลิตภัณฑ์ที่ใช้สารกลูโคโนเดลตาแลคโตน (GDL) แทนเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นมีค่าความเป็นกรดเป็นด่างลดต่ำลงไม่ถึง 5.0 อีกทั้งยังพบว่าเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นที่ใช้ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพทางประสาทสัมผัสที่ดีกว่าการไม่ใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นด้วย

Garriga *et al.* (1996) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียประเภท Lactobacilli ที่แยกได้จากผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักของสเปนในการทำหน้าที่เป็นเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น พบว่า *Lactobacillus sake* จะทำให้ผลิตภัณฑ์มีการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นรสของกรดแลคติคต่ำเนื่องจากมีการผลิตกรดแลคติคในปริมาณที่ต่ำกว่าการใช้ *Lactobacillus plantarum* นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์ที่ไม่ใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นเลยจะเกิดกลิ่นที่ไม่ต้องการของไฮโดรเจนซัลไฟด์เนื่องจากมีการเจริญของ Enterobacteriaceae จำนวนมาก

Samoylenko *et al.* (1997) ได้นำเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นผสมระหว่าง *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei* และ *Micrococcus varians* มาใช้ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมัก พบว่า การใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นจะทำให้ระยะเวลาการหมักผลิตภัณฑ์ลดลงถึงร้อยละ 15-20 ผลิตภัณฑ์สำเร็จที่ได้มีปริมาณเพิ่มขึ้นร้อยละ 5-7 มีลักษณะกลิ่นรสที่ดี มีปริมาณกรดแลคติคร้อยละ 0.92-0.93 และผลการทดสอบจุลชีววิทยาแสดงให้เห็นว่า ผลิตภัณฑ์มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

Sanz *et al.* (1997) ศึกษาถึงผลการใช้สารไนเตรทและสารไนไตรท์ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางจุลชีววิทยาและประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักที่ใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นประเภท Lactobacilli พบว่า การใช้สารเคมีทั้งสองไม่มีผลต่อปริมาณแบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดแลคติคได้และ Micrococci ที่พบในผลิตภัณฑ์ ในทางกลับกันสารเคมีดังกล่าวมีผลยับยั้งการเจริญของ Enterobacteriaceae ดังนั้นจึงแนะนำให้มีการใช้สารเคมี

ทั้งสองในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักเพื่อลดอัตราการเสี่ยงต่อจุลินทรีย์ที่ไม่เป็นที่ต้องการให้เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์

Vural (1998) ศึกษาผลของการใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นสายพันธุ์ต่าง ๆ ต่อคุณภาพของไส้กรอกหมักชนิด Turkish โดยศึกษาเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นประเภท Lactobacilli, Pediococci และ Staphylococci พบว่า การใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นในการผลิตจะทำให้ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักมีค่าความเป็นกรดเป็นด่างลดลง ปริมาณกรดแลคติคเพิ่มขึ้น ปริมาณรงควัตถุที่ให้สีแดงในเนื้อสัตว์ (Heme) รวมทั้งลักษณะทางประสาทสัมผัส ได้แก่ สี ลักษณะปรากฏ กลิ่น และการยอมรับโดยรวมดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยเฉพาะการใช้ Pediococci

Sameshima *et al.* (1998) ทำการศึกษาผลของเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นประเภท Lactobacilli ต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารพิษของ *Staphylococcus aureus* ในไส้กรอกหมัก พบว่า ไส้กรอกหมักที่ไม่มีการใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นประเภท Lactobacilli จะมีการเจริญเติบโตของ *Staphylococcus aureus* และพบการสร้างสารพิษ Enterotoxin เกิดขึ้น ในทางตรงกันข้ามหากมีการใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นประเภท Lactobacilli จะช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตและการสร้างสารพิษ Enterotoxin ของ *Staphylococcus aureus* ได้อย่างเป็นที่น่าพอใจ จึงกล่าวได้ว่า เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นประเภท Lactobacilli เป็นแบคทีเรียที่เหมาะสมอย่างยิ่งในการนำมาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักเพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค

Bozkurt and Erkmen (2002) ศึกษาผลของการใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นและสารเคมีปรุงแต่งอาหาร (Food additives) ต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักชนิด Sucuk ในประเทศตุรกี พบว่า การใช้สารเคมีปรุงแต่งอาหาร ซึ่งได้แก่ สารไนเตรท สารไนไตรท์ α-โทโคฟีรอล (α-tocopherol) กรดแอสคอร์บิค โปแตสเซียมไพโรฟอสเฟต ไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต และโปแตสเซียมซอร์เบท จะสามารถยับยั้งการเกิดเชื้อราและลดปริมาณสารฮีสตามีนได้ดีกว่าผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักที่ไม่ใช้สารเคมีปรุงแต่งอาหาร การใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นทำให้ปริมาณสารฮีสตามีนในผลิตภัณฑ์ลดลง และหากมีการใช้ร่วมกันระหว่างสารเคมีปรุงแต่งอาหารและเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นจะยิ่งทำให้ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักมีความปลอดภัยมากขึ้นเนื่องจากทำให้ปริมาณสารประกอบเอมีน (Biogenic amine) ในผลิตภัณฑ์ เช่น ฮีสตามีน (Histamine) พิวทรีซีน (Putrescine) และสเปอร์มีน (Spermine) ลดลงไปได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

($p<0.05$) โดยแนะนำว่าควรใช้โปแตสเซียมซอร์เบทอย่างน้อย 1.25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เพื่อประสิทธิภาพที่ดียิ่งขึ้น

วัตถุดิบที่นำมาใช้ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักหากมีสารเคมีตกค้างหลงเหลืออยู่ สารเคมีดังกล่าวมักก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค Abou-Arab (2002) จึงได้ทำการศึกษาถึงผลของการใช้ *Lactobacillus plantarum* และ *Micrococcus varians* ต่อการสลายตัวของสารเคมีตกค้าง เช่น DDT และ Lindane ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมัก พบว่า การใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นทั้งสองในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักจะสามารถทำให้สาร DDT และ Lindane มีอัตราการสลายตัวได้ถึง ร้อยละ 10 และ 18 ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นดังกล่าวนอกจากจะช่วยลดระยะเวลาในการหมักผลิตภัณฑ์และป้องกันจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคแล้วยังสามารถลดอันตรายอันเนื่องจากสารเคมีตกค้างในวัตถุดิบได้อีกด้วย จึงสมควรอย่างยิ่งที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในระดับอุตสาหกรรมเพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค

Gonzalez and Diez (2002) ได้ศึกษาถึงผลของสารไนไตรท์และเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นประเภท Lactobacilli ต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักประเภท Chorizo พบว่า การใช้โซเดียมไนไตรท์ในปริมาณ 50 หรือ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ร่วมกับเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นประเภท Lactobacilli จะสามารถยับยั้งการเจริญของ Enterobacteriaceae ได้ โดยไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียประเภท Micrococci