

ชนิดและปริมาณสารเคมีที่ทำให้ความเป็นกรดที่มีต่อ เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นสำหรับการผลิตแหนม

Types and Quantity of Chemical Acidulants Affecting on Starter Cultures for Nham Production

สุรยา บุญอนันต^{1/} ไพโรจน์ วิริยจารี^{2/} และ นินนาท จินประห์ชัย^{3/}

Suthaya Boonthanom^{1/}, Pairote Wiriyacharee^{2/}, and Ninnart Chinprahast^{3/}

Abstract : Chemical acidulants, glucono-delta-lactone (GDL) and lactic acid, were varied to different levels such as 0.25%, 0.50%, 0.75% and 1.00% compared with each control to study their effects on Nham's starter cultures in model system. The fermentation time is 48 hours for *Micrococcus varians* (ATCC 15306) and 24 hours for *Lactobacillus plantarum* (NHI 1100) and *Pediococcus cerevisiae* (NZ DRI). It was found that the effect of lactic acid was higher than GDL's. Not only to their growths but their activities also, especially to *M. varians*. Furthermore, these effects depended on chemical acidulant concentration in fact that 0.25% GDL had the least effect. So, it should be the most suitable treatment for Nham as it lead to more safty for consumption.

^{1/}ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีการเกษตรแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ 50290

^{2/}Food Technology Department, Faculty of Agro-Industry, Maejo Institute of Agricultural Technology, Chiangmai 50290.

^{3/}ภาควิชาเทคโนโลยีการพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

^{4/}Product Development Technology Department, Faculty of Agro-Industry, Chiangmai University, Chiangmai 50200.

^{5/}ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

^{6/}Food Technology Department, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330.

บทคัดย่อ : สารเคมีที่ให้ความเป็นกรด 2 ชนิด คือ กลูโคโนเดลตาแลคโตน (GDL) และกรดแลคติก ได้นำมาใช้ในการศึกษาถึงผลของสารดังกล่าวที่มีต่อเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นที่ใช้ในการผลิตแฮม โดยศึกษาในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Model system) และแปรรูปที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.25 0.50 0.75 และ 1.00 เปรียบเทียบกับชุดควบคุม ในระยะเวลาการหมัก 48 ชั่วโมงสำหรับ *Micrococcus varians* (ATCC 15306) และ 24 ชั่วโมงสำหรับ *Lactobacillus plantarum* (NHI 1100) และ *Pediococcus cerevisiae* (NZ DRI) จากการทดลองพบว่ากรดแลคติกมีผลกระทบต่อ การเจริญเติบโตและการทำกิจกรรมของเชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์มากกว่า GDL โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *M. varians* นอกจากนี้ยังพบว่า GDL ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 เป็นระดับที่มีผลกระทบต่อเชื้อดังกล่าวน้อยที่สุด และเหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการ ผลิตผลิตภัณฑ์แฮมเพื่อเพิ่มความปลอดภัยในการบริโภคต่อไป

Index words : แฮม, เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น, Nham, Starter culture

บทนำ

แฮมเป็นผลิตภัณฑ์จากเนื้อสุกรที่นำมา หมักให้เกิดรสเปรี้ยว และรับประทานในลักษณะ ที่ไม่ผ่านความร้อนนับเป็นอาหารทางพื้นบ้านทาง ภาคเหนือของประเทศไทยประเภทหนึ่งที่นิยม บริโภคควบคู่กับเครื่องเคียงประเภทอัลกอแคในปัจจุบัน ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวที่ผลิตกัน โดยทั่วไปยังมี คุณภาพไม่สม่ำเสมอโดยเฉพาะในด้านรสชาติที่ อาจมีความเปรี้ยวไม่คงที่ในแต่ละครั้งของการผลิต ซึ่งผู้บริโภคสามารถรับรู้ได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัย ในการผลิต อาทิ อุณหภูมิในการหมักส่วนผสม รวมถึงประเภทและปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ปน เปื้อนในผลิตภัณฑ์ซึ่งผู้ผลิตไม่สามารถควบคุมได้ เป็นต้น เพื่อแก้ไขปัญหาดังกล่าว และเป็นการ ปรับปรุงคุณภาพแฮมให้ดีขึ้น จึงมีงานวิจัย เกี่ยวกับการใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นผสมในผลิตภัณฑ์ แฮมขึ้น งานวิจัยดังกล่าวพบว่าการใช้เชื้อบริสุทธิ์ แลคติกแอซิดแบคทีเรีย 2 สายพันธุ์ คือ *Lactoba- cillus plantarum* และ *Pediococcus cerevisiae* สามารถผลิตกรดแลคติกซึ่งให้รสเปรี้ยวแก่ผลิตภัณฑ์ ได้ในช่วงเวลาการหมัก 48 ชั่วโมงและให้ค่า ความเป็นกรดต่าง (pH) ในผลิตภัณฑ์สุดท้าย ประมาณ 4.1-4.5 ประกอบกับการใช้ร่วมกับ

ไนเตรทรีดิวซิงแบคทีเรีย คือ *Micrococcus varians* ซึ่งจะช่วยควบคุมในด้านสีของผลิตภัณฑ์อีกด้วย (Wiriyacharee, 1990)

เมื่อพิจารณาถึงความปลอดภัยในการ บริโภคของผลิตภัณฑ์ดังกล่าวพบว่ายังคงมีการ ปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคอยู่บ้าง เช่น *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp. เชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้สามารถทำให้เกิดอาการท้องร่วง ได้ซึ่งถ้าในกระบวนการผลิตสามารถควบคุมเชื้อ เหล่านี้ให้อยู่ในระดับต่ำที่สุดหรือตรวจไม่พบเลยก็จะ เป็นการผลิตแฮมยุคใหม่ที่มีความปลอดภัยในการ บริโภคได้

จากการศึกษาทางด้านเนื้อสัตว์ในปัจจุบัน พบว่า ได้มีการใช้สารเคมีที่ให้ความเป็นกรด เช่น กลูโคโนเดลตาแลคโตน (Glucodeltalactone, GDL) และกรดแลคติก เป็นต้น โดย GDL สามารถยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ให้ยาวนานขึ้น และสามารถยับยั้งการเจริญของ *Staphylococci* และ *Clostridium botulinum* (Riemann, Lee and Genigeorgis, 1972) สามารถลดระดับของ Fecal streptococci, total aerobic bacteria และ Coliforms ในเนื้อบดลงได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ด้วยเช่นกัน (Maijala et al., 1993) จากการศึกษาของ Kotter, Palitzsch และ Geiger ในปี 1969 พบว่า GDL ที่ใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักนี้ไม่มีผลกระทบต่อระดับของแลคติกแอซิดแบคทีเรียในเนื้อบด ซึ่งเป็นข้อได้เปรียบของการใช้ GDL ร่วมกับเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นอย่างหนึ่ง GDL ที่ใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักนี้ยังมีส่วนช่วยเร่งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ช่วยให้เกิดปฏิกิริยาการหมักและชะลอการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเป็นพิษได้ด้วย สำหรับการใส่กรดแลคติกในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักพบว่าสามารถชะลอการสร้างสปอร์ของ *Clostridium botulinum* และลดปริมาณการใช้สารไนเตรทและสารไนไตรท์ลงได้ ซึ่งจะช่วยลดปัญหาการเกิดไนโตรซามีนในผลิตภัณฑ์เนื้อและลดปริมาณแบคทีเรียลงได้ด้วย (Klettner and Baumgartner, 1980) แต่จากการทดลองของ Vichiensanth (1982) พบว่าการใช้กรดแลคติกในไส้กรอกเปรี้ยวของไทยจะทำให้ส่วนผสมและ ยากต่อการอัดใส่ Casing และมีการแตกของไส้กรอกเปรี้ยวขณะให้ความร้อนในการทำใหสุก ซึ่งก็เป็นข้อเสียอย่างหนึ่งที่ควรคำนึงถึง

อย่างไรก็ตามในการพัฒนาให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพดีขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งในด้านความปลอดภัยในการบริโภคจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ให้อาหาร ตัวอย่างเช่น *Staphylococcus aureus* ได้มีการทดลองของ Daly และคณะ (1973) พบว่าการใช้สารเคมีที่ให้ความเป็นกรดเช่น GDL ร่วมกับเชื้อบริสุทธิ์ *L. plantarum* และ *P. cerevisiae* ในไส้กรอกหมักจะช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของ *S. aureus* ได้ เพราะช่วยลดค่า pH ในช่วงต้นของการหมักลงได้ จึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจในการนำมาประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์หมัก แต่เนื่องจากผลิตภัณฑ์หมักที่ศึกษาทดลองนี้อาศัยเชื้อบริสุทธิ์

ชนิดและปริมาณสารเคมีที่ให้ความเป็นกรดที่มีต่อเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นสำหรับการผลิตหมัก

เริ่มต้นถึง 3 สายพันธุ์ จึงจำเป็นต้องศึกษาถึงผลกระทบของสารเคมีที่ให้ความเป็นกรดที่มีต่อเชื้อบริสุทธิ์ทั้ง 3 สายพันธุ์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (model system) ก่อน เพื่อต้องการทราบชนิดและปริมาณที่เหมาะสมของสารเคมีดังกล่าวที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์หมักต่อไป สำหรับในที่นี้จะศึกษาสารเคมีที่ให้ความเป็นกรด 2 ชนิด คือ GDL และ กรดแลคติก โดยพิจารณาความสามารถในการเจริญเติบโตและรอดชีวิต ตลอดจนความสามารถในการทำกิจกรรมของเชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การเตรียมเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น

เตรียมเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* และ *Pediococcus cerevisiae* ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MRS จำนวน 50 มิลลิลิตร โดยบ่มในตู้บ่มอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และเพาะเลี้ยงเชื้อ *Micrococcus varians* ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว BHI (Brain Heart Infusion) จำนวน 50 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิการบ่มเดียวกันเป็นเวลา 48 ชั่วโมง

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว

เนื่องจากในงานวิจัยนี้ศึกษาผลกระทบของสารเคมีที่ให้ความเป็นกรด 2 ชนิด คือ กรดแลคติกและ GDL และ กรดแลคติก ที่มีต่อเชื้อบริสุทธิ์ทั้ง 3 ชนิดในระบบจำลอง (Model system) จึงจำเป็นต้องให้อาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดมีส่วนผสมของสารเคมีที่ให้ความเป็นกรดเหล่านี้ในระดับที่แตกต่างกันดังนี้

1. ใช้ปริมาณสารเคมีที่ทำให้ความเป็นกรดร้อยละ 0.00 ของอาหารเลี้ยงเชื้อโดยน้ำหนัก (ชุดควบคุม)
2. ใช้ปริมาณสารเคมีที่ทำให้ความเป็นกรดร้อยละ 0.25 ของอาหารเลี้ยงเชื้อโดยน้ำหนัก
3. ใช้ปริมาณสารเคมีที่ทำให้ความเป็นกรดร้อยละ 0.50 ของอาหารเลี้ยงเชื้อโดยน้ำหนัก
4. ใช้ปริมาณสารเคมีที่ทำให้ความเป็นกรดร้อยละ 0.75 ของอาหารเลี้ยงเชื้อโดยน้ำหนัก
5. ใช้ปริมาณสารเคมีที่ทำให้ความเป็นกรดร้อยละ 1.00 ของอาหารเลี้ยงเชื้อโดยน้ำหนัก โดยในอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI จะเติมโซเดียมไนเตรทปริมาณ 1,500 ppm ลงไปด้วยเพื่อติดตามกิจกรรมของเชื้อพวกไนเตรทรีดิวซิงแบคทีเรีย

แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) ขนาด 3x2x5 (เชื้อจุลินทรีย์ 3 สายพันธุ์ สารเคมีที่ทำให้ความเป็นกรด 2 ชนิด และความเข้มข้นของสารเคมีที่ทำให้ความเป็นกรด 5 ระดับ) โดยแบ่งเป็น 6 Blocks (Block ละ 5 สิ่งทดลอง) ผลที่ได้จะนำมาเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยและวิเคราะห์ค่าทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$ โดยอาศัยโปรแกรมสำเร็จรูปของ Walonick (1987)

การวิเคราะห์ทางเคมีและจุลชีววิทยา

สิ่งทดลองทั้งหมดจะถูกสุ่มตัวอย่างออกมาวิเคราะห์ทางเคมีคือ ค่าความเป็นกรดค่า (pH) ค่าความเป็นกรดทั้งหมดคิดเทียบกรดแลคติก (Total acidity as lactic acid) สำหรับแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (*L. plantarum* และ *P. cerevisiae*)

ตามวิธีของ AOAC (1984) หรือปริมาณสารไนไตรท์ที่เหลือ (Residual nitrite) สำหรับไนเตรทรีดิวซิงแบคทีเรีย (*M. varians*) โดยวิธี Colorimetric method (AOAC, 1984) และถูกนำมาวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยาโดยตรวจหาปริมาณแบคทีเรียที่มีชีวิตอยู่ในขณะนั้นโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมกับเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิด

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการทดลองศึกษาผลของสารเคมีที่ทำให้ความเป็นกรดซึ่งในที่นี้คือ GDL และกรดแลคติก พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ GDL ให้มากกว่าร้อยละ 0.25 ขึ้นไปจะมีผลกระทบต่อ การเจริญเติบโตของเชื้อ *M. varians* อย่างเห็นได้ชัด (Fig. 1) และจากการวิเคราะห์ทางสถิติสามารถแบ่งระดับความเข้มข้นของ GDL ที่มีผลกระทบต่อ การเจริญเติบโตของ *M. varians* ออกได้เป็น 3 กลุ่ม (อย่างมีระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$) ได้แก่ กลุ่มระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.25 กับชุดควบคุม กลุ่มระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.50 และกลุ่มระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.75 และ 1.00 ซึ่งพบเชื้อ *M. varians* ที่รอดชีวิตประมาณ $\log N$ เท่ากับ 8, 7 และ 6.2 ตามลำดับ ในขณะที่เชื้อเริ่มต้นมีประมาณ $\log N$ เท่ากับ 6.5 นั่นคือ เชื้อ *M. varians* ไม่สามารถเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนได้ ในสิ่งทดลองที่มี GDL ในปริมาณความเข้มข้นร้อยละ 0.75 และ 1.00 และพบว่า การเติม GDL ในปริมาณร้อยละ 0.25 ลงในระบบไม่มีผลกระทบต่อ การเจริญของเชื้อดังกล่าวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมประกอบกับเมื่อพิจารณาความสามารถในการเปลี่ยนสารไนเตรทเป็นสารไนไตรท์ (Fig. 1) พบว่าประสิทธิภาพในการทำกิจกรรมดังกล่าวจะแปร

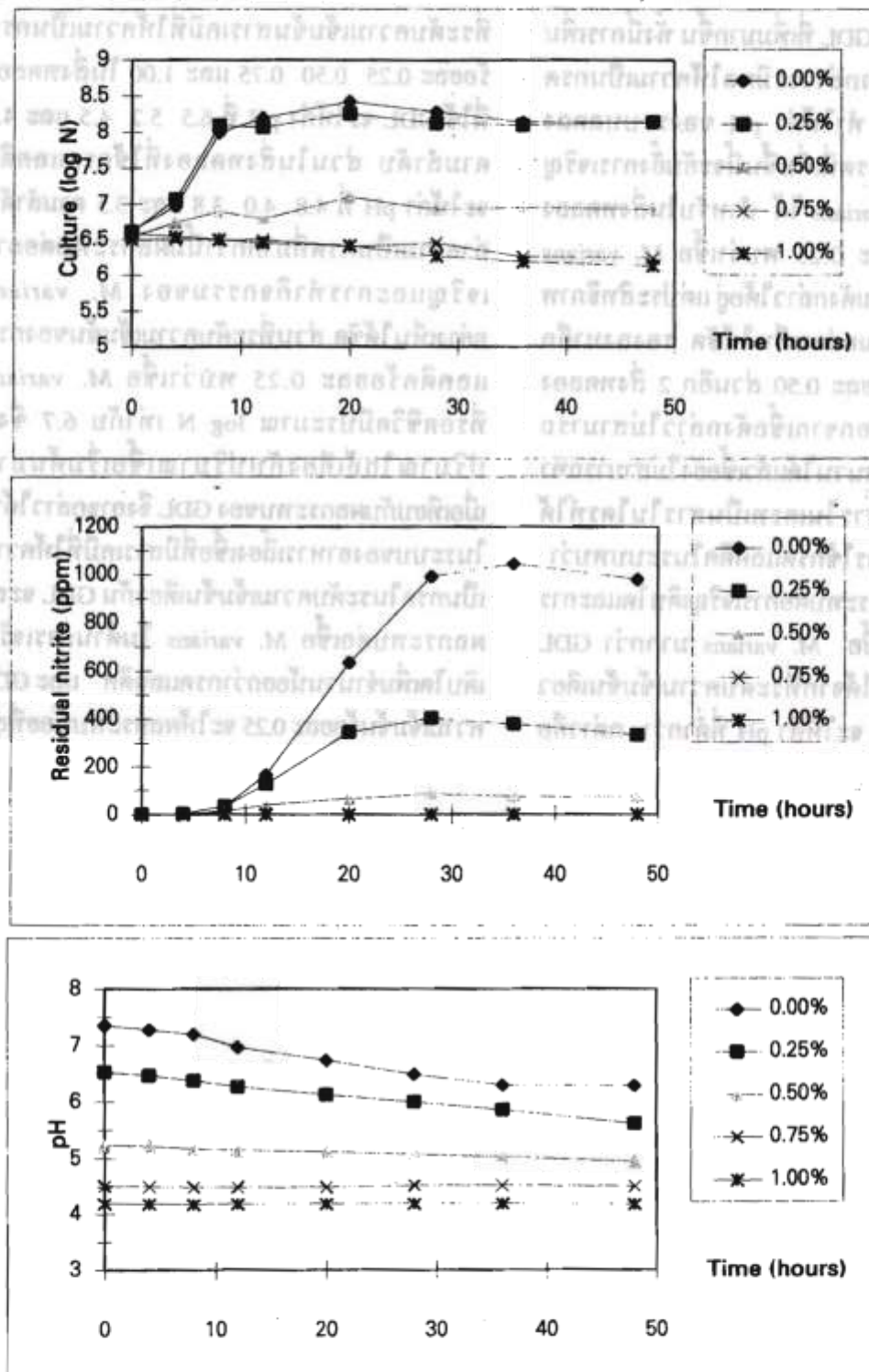


Fig. 1 The Change of *Micrococcus varians*, residual nitrite and pH during 48 hours of fermentation in model system of different concentration of GDL

ผลผันกับปริมาณ GDL ที่เพิ่มมากขึ้น ทั้งนี้การเพิ่มปริมาณ GDL ดังกล่าวจะมีผลให้ความเป็นกรดในระบบเพิ่มขึ้น ทำให้ค่า pH ของระบบลดลง สภาพความเป็นกรดที่เพิ่มขึ้นนี้จะยับยั้งการเจริญเติบโตของ *M. varians* ได้ สำหรับในสิ่งทดลองที่มี GDL ร้อยละ 0.25 พบว่าเชื้อ *M. varians* สามารถทำกิจกรรมดังกล่าวได้อยู่แต่ประสิทธิภาพต่ำกว่าชุดควบคุมอย่างเห็นได้ชัด รองลงมาคือที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.50 ส่วนอีก 2 สิ่งทดลองที่เหลือพบว่า นอกจากเชื้อดังกล่าวไม่สามารถเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนได้แล้วเชื้อยังไม่สามารถทำกิจกรรมเปลี่ยนสารไนเตรทเป็นสารไนไตรท์ได้อีกด้วยสำหรับการใช้กรดแลกติกในระบบพบว่ากรดแลกติกมีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตและการทำกิจกรรมของเชื้อ *M. varians* มากกว่า GDL (Fig. 2) สังเกตได้จากที่ระดับความเข้มข้นเดียวกันกับ GDL นั้น จะให้ค่า pH ที่ต่ำกว่า กล่าวคือ

ที่ระดับความเข้มข้นสารเคมีที่ให้ความเป็นกรดร้อยละ 0.25 0.50 0.75 และ 1.00 ในสิ่งทดลองที่ใช้ GDL จะให้ค่า pH ที่ 6.5 5.2 4.5 และ 4.2 ตามลำดับ ส่วนในสิ่งทดลองที่ใช้กรดแลกติกจะให้ค่า pH ที่ 4.8 4.0 3.8 และ 3.5 ตามลำดับ ค่าความเป็นกรดที่มากกว่านี้มีผลกระทบต่อการเจริญและการทำกิจกรรมของ *M. varians* อย่างเห็นได้ชัด ส่วนที่ระดับความเข้มข้นของกรดแลกติกร้อยละ 0.25 พบว่าเชื้อ *M. varians* ที่รอดชีวิตมีประมาณ $\log N$ เท่ากับ 6.7 ซึ่งมีปริมาณใกล้เคียงกับปริมาณเชื้อเริ่มต้นมากเมื่อเทียบกับผลกระทบของ GDL จึงอาจกล่าวได้ว่าในระบบของอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารเคมีที่ให้ความเป็นกรดในระดับความเข้มข้นเดียวกัน GDL จะส่งผลกระทบต่อเชื้อ *M. varians* ในด้านการเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนน้อยกว่ากรดแลกติก และ GDL ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 จะให้ผลกระทบน้อยที่สุด

ชนิดและปริมาณสารเคมีที่ใช้ความสปีนกรดที่มีต่อเชื้อจุลินทรีย์
สำหรับการหมักนม

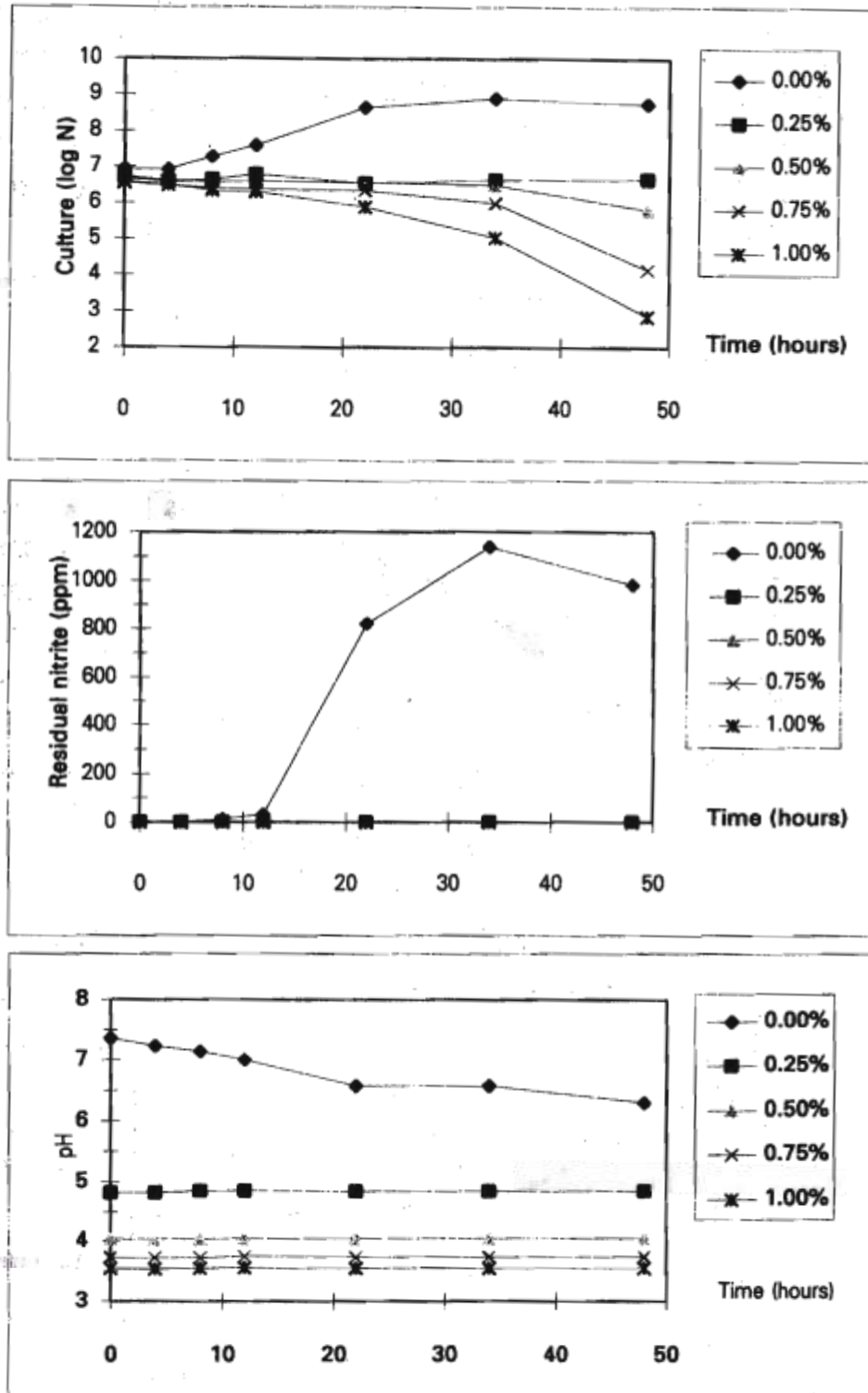


Fig. 2 The Change of *Micrococcus varians*, residual nitrite and pH during 48 hours of fermentation in model system of different concentration of lactic acid.

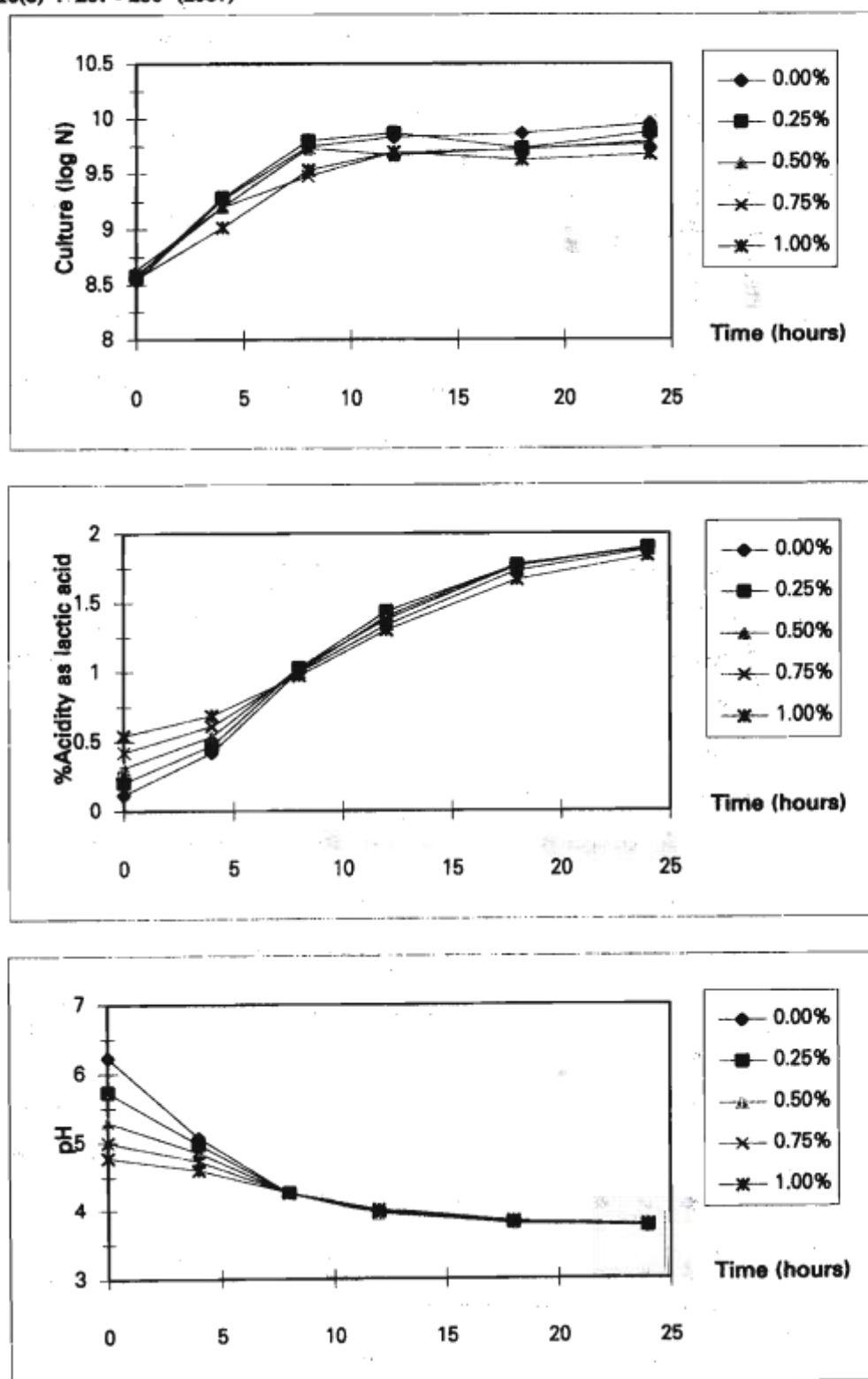


Fig. 3 *Lactobacillus plantarum*, total acidity as lactic acid, and pH during 24 hours of model system with different concentration of GDL.

ชนิดและปริมาณสารเคมีที่ทำให้ความเป็นกรดที่มีต่อเชื้อไวรัสเริ่มต้น
สำหรับการผลิตแทน

สำหรับผลกระทบของ GDL ที่มีต่อ *L. plantarum* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS พบว่าเมื่อความเข้มข้นของ GDL เพิ่มขึ้นจะทำให้อัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์มีแนวโน้มลดลง (Fig. 3) โดยเชื้อเริ่มต้นอาจตรวจพบประมาณ $\log N$ เท่ากับ 8.6 และเพิ่มขึ้นในช่วง 8 ชั่วโมงแรกของการหมักจนอยู่ในช่วง $\log N$ เท่ากับ 9.5 - 9.8 จากนั้นจะค่อนข้างคงที่ไปจนถึงสิ้นสุดเวลาที่ 24 ชั่วโมง ซึ่งในสิ่งทดลองที่มีปริมาณความเข้มข้นของ GDL สูงจะตรวจพบปริมาณเชื้อ *L. plantarum* ที่รอดชีวิตน้อยกว่าสิ่งทดลองที่มีความเข้มข้นของสารดังกล่าวต่ำกว่า แต่ทั้งนี้ไม่มีผลกระทบต่อกิจกรรมการสร้างกรดของเชื้อดังจะเห็นได้จากความเป็นกรดทั้งหมดคิดเทียบกรดแลคติกที่เพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการหมัก 24 ชั่วโมง โดยใน 12 ชั่วโมงแรกค่าดังกล่าวจะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$ ซึ่งอาจเป็นผลมาจากปริมาณสารเคมีที่ทำให้ความเป็นกรด (GDL) ที่เติมลงในแต่ละสิ่งทดลองมีค่าไม่เท่ากัน เหตุการณ์ดังกล่าวสอดคล้องกับค่า pH ที่ลดลงของระบบ ทั้งนี้พบว่าในทุกสิ่งทดลองให้ค่า pH ที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) เมื่อเวลาการหมักผ่านไป 24 ชั่วโมงเมื่อพิจารณาการเจริญเติบโตของ *L. plantarum* ในระบบที่มีกรดแลคติกระดับความเข้มข้นเดียวกันกับ GDL พบว่าเมื่อปริมาณความเข้มข้นของกรดแลคติกเพิ่มมากขึ้นจะส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *L. plantarum* เมื่อเทียบกับชุดควบคุม (Fig. 4) โดยตรวจพบเชื้อในปริมาณ

$\log N$ เท่ากับ 8.3 จากนั้นอัตราการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนเซลล์จะลดลงตามค่าความเข้มข้นของกรดที่เพิ่มขึ้น จนที่เวลาสุดท้ายของการหมัก (24 ชั่วโมง) ตรวจพบเชื้อ *L. plantarum* ที่รอดชีวิต $\log N$ เท่ากับ 9.8 9.7 9.3 9.0 และ 8.6 สำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับความเข้มข้นของกรดแลคติกที่ร้อยละ 0.00 0.25 0.50 0.75 และ 1.00 ตามลำดับ นอกจากนี้กิจกรรมการสร้างกรดของเชื้อก็จะลดลงด้วยอย่างเห็นได้ชัด โดยในสิ่งทดลองที่มีปริมาณความเข้มข้นกรดแลคติกร้อยละ 0.25 เชื้อ *L. plantarum* สามารถสร้างกรดแลคติกได้มากที่สุดถึงร้อยละ 1.70 เมื่อเทียบกับที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.50 0.75 และ 1.00 เมื่อเวลาการหมักผ่านไป 24 ชั่วโมง ซึ่งสามารถสร้างกรดได้เพิ่มขึ้นถึงร้อยละ 1.35 ขณะที่ในสิ่งทดลองอื่น เชื้อสามารถสร้างกรดเพิ่มขึ้นเพียงร้อยละ 0.75 0.40 และ 0.05 เท่านั้น เมื่อเทียบกับปริมาณกรดเริ่มต้นของแต่ละสิ่งทดลอง ปริมาณความเป็นกรดคิดเทียบกรดแลคติกนี้สอดคล้องกับค่า pH ที่ลดลง ยกเว้นในชั่วโมงสุดท้ายของการหมักซึ่งพบว่ามีค่า pH ที่ใกล้เคียงกันในทุกระดับความเข้มข้น ทั้งนี้เป็นเพราะในระบบมีความเป็นบัฟเฟอร์อยู่ที่ pH ประมาณ 4.0 แต่อย่างไรก็ตาม จากผลการทดลองที่กล่าวมา พบว่ากรดแลคติกจะมีผลกระทบต่อ *L. plantarum* ทั้งในด้านของการเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนเซลล์และการทำกิจกรรมของเชื้อมากกว่า GDL ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน

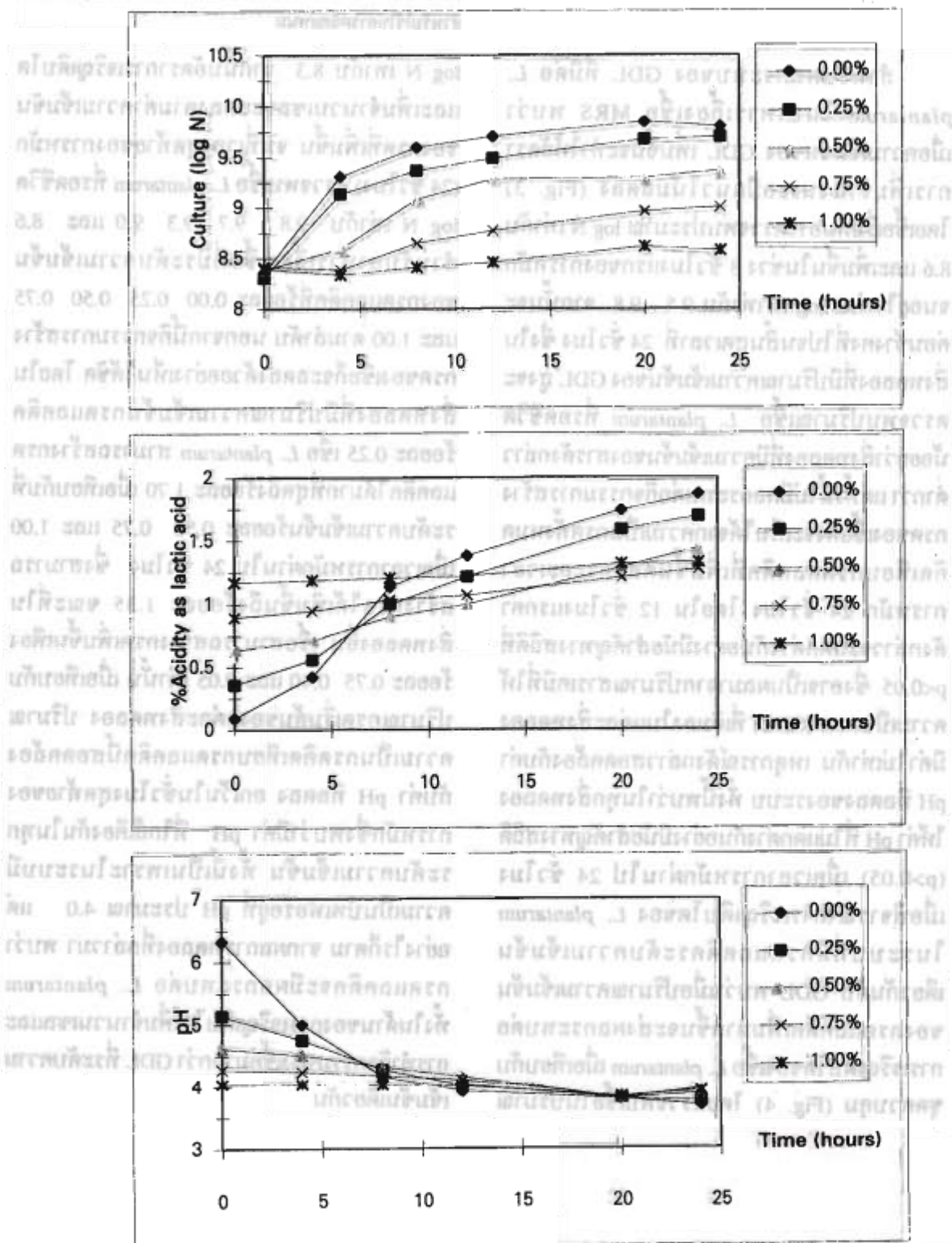


Fig. 4 *Lactobacillus plantarum*, total acidity as lactic acid, and pH during 24 hours of model system with different concentration of lactic acid.

เมื่อพิจารณาผลกระทบของ GDL ที่มีต่อการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนเซลล์ของเชื้อ *P. cerevisiae* (Fig. 5) พบว่าที่เวลาสุดท้ายของการหมัก (24 ชั่วโมง) ตรวจพบเชื้อดังกล่าวที่รอดชีวิตในช่วง $\log N$ เท่ากับ 9.1 - 9.5 จากปริมาณเชื้อเริ่มต้นประมาณ $\log N$ เท่ากับ 8.1 และการเปลี่ยนแปลงในทุกสิ่งทดลองจะใกล้เคียงกัน โดยมีการเพิ่มจำนวนเซลล์ของเชื้ออย่างรวดเร็วในช่วง 20 ชั่วโมงแรกของการหมัก แต่หลังจากนั้นอัตราการเพิ่มจะค่อนข้างคงที่ แต่ทั้งนี้ปริมาณเชื้อดังกล่าวที่รอดชีวิตในระบบที่มีกรดแลกติกที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.25 0.50 0.75 1.00 และชุดควบคุมจะมีค่าต่ำกว่า (Fig. 6) ในระบบที่มี GDL ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน กล่าวคือ ตรวจพบในปริมาณ $\log N$ เท่ากับ 9.2 8.7 7.8 7.7 และ 9.6 ตามลำดับ ในขณะที่มีเชื้อเริ่มต้นประมาณ $\log N$ เท่ากับ 7.7 นั่นคือในระดับความเข้มข้นกรดแลกติกร้อยละ 0.75 และ 1.00 จะมีการเพิ่มจำนวนของเชื้อดังกล่าวน้อยมากซึ่งสามารถเห็นผลกระทบดังกล่าวได้อย่างชัดเจน หรืออาจกล่าวได้ว่ากรดแลกติกมีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนเซลล์ของเชื้อ *P. cerevisiae* มากกว่า GDL ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน สำหรับกิจกรรมของเชื้อในการสร้างกรดแลกติกพบว่า ในระบบที่มี GDL นั้น เชื้อยังคงสร้างกรดได้ โดยถ้าความเข้มข้นของ GDL เพิ่มขึ้น ความสามารถในการ

ชนิดและปริมาณสารเคมีที่ทำให้ความเป็นกรดที่มีต่อเชื้อยีสต์เริ่มต้นสำหรับการหมักแทน

สร้างกรดก็จะลดลง ทั้งนี้ที่ระดับความเข้มข้น GDL ร้อยละ 0.25 เชื้อสามารถผลิตกรดได้มากที่สุด เมื่อเทียบกับที่ระดับความเข้มข้นอื่นรองจากชุดควบคุม คือสามารถผลิตได้ถึงร้อยละ 1.3 ในช่วงเวลาการหมัก 24 ชั่วโมง (เทียบกับที่ชั่วโมงเริ่มต้น) ซึ่งสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงของค่า pH แต่เมื่อเวลาการหมักผ่านไป 12 ชั่วโมงพบว่าในทุกสิ่งทดลองมีค่า pH ที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p > 0.05$ ทั้งนี้เพราะในระบบมีความเป็นบัฟเฟอร์อยู่ที่ pH ประมาณ 4.0 เมื่อพิจารณากิจกรรมของเชื้อดังกล่าวในระบบที่มีกรดแลกติกพบว่าสิ่งทดลองที่มีความเข้มข้นของกรดแลกติกร้อยละ 0.75 และ 1.00 ไม่มีการเพิ่มขึ้นของกรดหรือการเปลี่ยนแปลงของ pH เลย ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณเชื้อที่มีการเพิ่มจำนวนน้อยมากดังกล่าวในตอนต้น ส่วนระดับความเข้มข้นที่เชื้อยังสามารถทำกิจกรรมได้มากที่สุดคือ ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.25 นอกจากนี้ยังพบว่ากรดแลกติกจะให้ค่าความเป็นกรดที่สูงกว่า GDL ในระดับความเข้มข้นเท่ากัน สังเกตได้จากค่าความเป็นกรดและค่า pH ที่ชั่วโมงเริ่มต้นของการหมัก ซึ่งในระบบที่มีกรดแลกติกจะมีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 0.4 - 1.3 และ 3.75 - 4.75 ตามลำดับ ขณะที่ในระบบที่มี GDL มีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 0.2 - 0.6 และ 4.75 - 5.75 ตามลำดับ

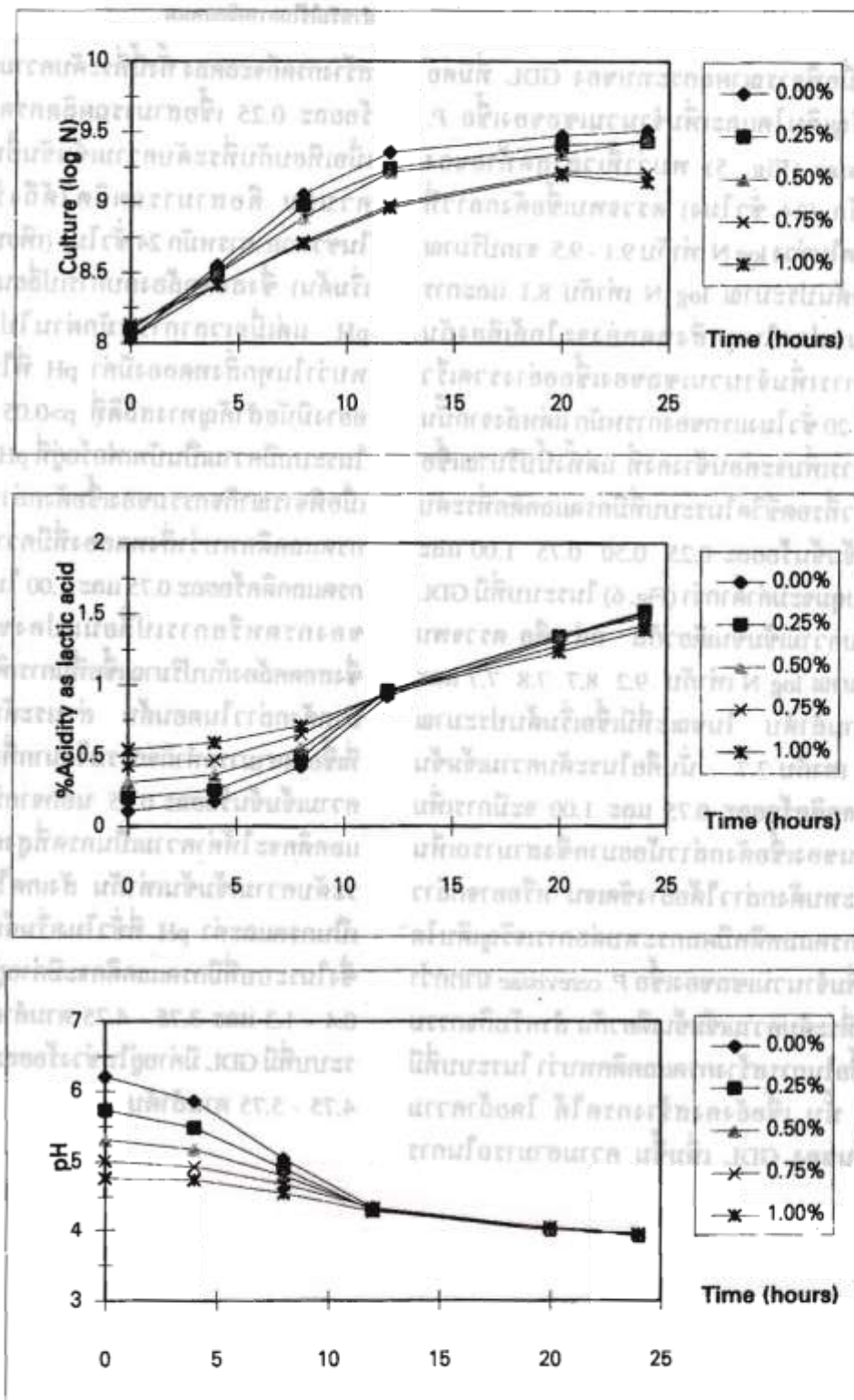


Fig. 5 *Pediococcus cerevisiae*, total acidity as lactic acid, and pH during 24 hours of model system with different concentration of GDL.

ชนิดและปริมาณสารเคมีที่ให้ความเป็นกรดที่มีต่อเชื้อยีสต์เริ่มต้น
สำหรับการหมักเนย

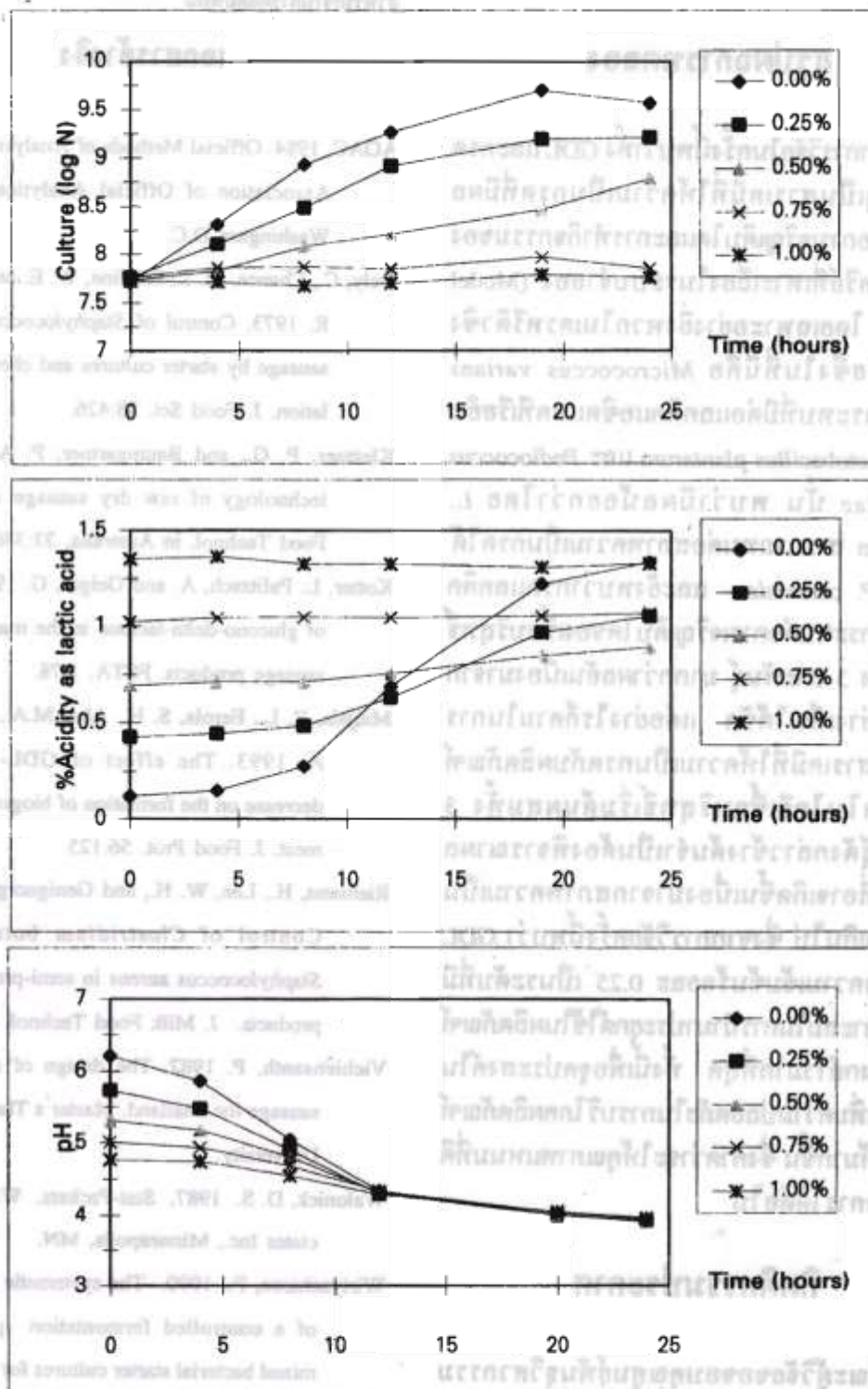


Fig. 6 *Pediococcus cerevisiae*, total acidity as lactic acid, and pH during 24 hours of model system with different concentration of lactic acid.

สรุปผลการทดลอง

จากการวิจัยในครั้งนี้พบว่าทั้ง GDL และกรดแลคติกเป็นสารเคมีที่ให้ความเป็นกรดที่มีผลกระทบต่อกระบวนการเจริญเติบโตและการทำกิจกรรมของเชื้อจุลินทรีย์ที่เพาะเลี้ยงในระบบจำลอง (Model system) โดยเฉพาะอย่างยิ่งพวกในตระกูลลิวซิงแบคทีเรียซึ่งในที่นี้คือ *Micrococcus varians* ส่วนผลกระทบที่มีต่อแลคติกแอซิดแบคทีเรียอื่นได้แก่ *Lactobacillus plantarum* และ *Pediococcus cerevisiae* นั้น พบว่ามีผลน้อยกว่าโดย *L. plantarum* สามารถทนต่อสภาพความเป็นกรดได้สูงกว่า *P. cerevisiae* และยังพบว่ากรดแลคติกจะส่งผลกระทบต่อกระบวนการเจริญเติบโตของเชื้อบริสุทธีเริ่มต้นทั้ง 3 สายพันธุ์ มากกว่าผลอันเนื่องมาจาก GDL อย่างเห็นได้ชัด แต่อย่างไรก็ตามในการเลือกใช้สารเคมีที่ให้ความเป็นกรดกับผลิตภัณฑ์ที่ใช้เทคโนโลยีเชื้อบริสุทธีเริ่มต้นผสมทั้ง 3 สายพันธุ์ดังกล่าวข้างต้นจำเป็นต้องพิจารณาผลกระทบที่อาจเกิดขึ้นเนื่องจากสภาพความเป็นกรดที่สูงเกินไป ซึ่งจากการวิจัยครั้งนี้พบว่า GDL ในระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.25 เป็นระดับที่มีความเหมาะสมในการนำมาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์แหนมดังกล่าวมากที่สุด ทั้งนี้เพื่อจุดประสงค์ในด้านการเพิ่มความปลอดภัยในการบริโภคผลิตภัณฑ์ชนิดนี้ให้มากขึ้น ซึ่งคาดว่าจะให้คุณภาพแหนมที่ดีตามต้องการได้ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณศูนย์พันธุ์วิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ ที่ได้สนับสนุนงานวิจัยมา ณ โอกาสนี้ด้วย

เอกสารอ้างอิง

- AOAC. 1984. Official Methods of Analysis. (13rd ed.) Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C.
- Daly, C., Chance, M. L., Sandine, W. E. and Elliker, P. R. 1973. Control of *Staphylococcus aureus* in sausage by starter cultures and chemical acidulation. J. Food Sci. 38:426.
- Klettner, P. G., and Baumgartner, P. A. 1980. The technology of raw dry sausage manufacture. Food Technol. in Australia, 32:380.
- Kotter, L. Palitzsch, A. and Geiger, G. 1969. The use of glucono-delta-lactone in the manufacture of sausage products. FSTA. 1:78.
- Maijala, R. L., Eerola, S. H., Aho, M.A., and Hirn, J. A. 1993. The effect of GDL-induced pH decrease on the formation of biogenic amines in meat. J. Food Prot. 56:125.
- Riemann, H., Lee, W. H., and Genigeorgis, C. 1972. Control of *Clostridium botulinum* and *Staphylococcus aureus* in semi-preserved meat products. J. Milk Food Technol. 35:514.
- Vichiensanth, P. 1982. The design of a shelf-stable sausage for Thailand. Master's Thesis, Massey University.
- Walonick, D. S. 1987. Stat-Packets. Walonick Associates Inc., Minneapolis, MN.
- Wiriyacharee, P. 1990. The systematic development of a controlled fermentation process using mixed bacterial starter cultures for Nham, a Thai semi-dry sausage. In Doctoral dissertation, Massey University.