

น้ำตาลที่เหมาะสมต่อการผลิตเนหม โดยใช้เทคโนโลยีเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นผสม

Suitable Type of Sugar for Nham Production Using Mixed Bacterial Starter Cultures

ไพโรจน์ วิริยเจริญ* ลักขณา รุจนะไกรกานต์* อิศรพงษ์ พงษ์ศิริกุล*
วิวรรณ วรณัจฉริยา* และ สุทธยา บุญอนันต*

Pairote Wiryacharee, Lakkana Rujanakraikarn*, Issarapong Pongsirikul*,
Wiwat Wattanatchariya* and Suthaya Boonthanom**

Abstract: Five types of sugar; sucrose, lactose, maltose, glucose and saccharose; were used for this study. This experiment is to investigate a suitable type of sugar with carbohydrate source (cooked rice and sticky rice) for Nham production using mixed bacterial starter cultures. For this experiment, it was found that 0.5 % of glucose used in Nham formulation made the good quality of the product. The Nham is also composed of high reducing sugars (0.9130 ± 0.0183 %) which was suitable for the growth of nitrate reducing bacteria. Additionally, the lactic acid bacteria used the residual reducing sugars to produce lactic acid. After 48 hours of fermentation, the product had total acidity as lactic acid (1.0392 ± 0.0205 %), pH (4.23 ± 0.00) and residual carbohydrate (1.6354 ± 0.1068 %). The mean ideal ratio scores of colour, visual texture, firmness, juiciness, smoothness, sourness, saltiness, spiciness and overall acceptability were 1.25 ± 0.27 , 0.79 ± 0.18 , 0.93 ± 0.13 , 1.03 ± 0.14 , 0.82 ± 0.17 , 0.96 ± 0.12 , 1.03 ± 0.11 , 0.82 ± 0.21 and 0.71 ± 0.17 respectively.

* คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

* Faculty of Agro - Industry, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

บทคัดย่อ : น้ำคาล 5 ประเภท ได้แก่ ซูโครส แลคโตส มอลโตส กลูโคส และแซคคาโลซานามาให้เป็นปัจจัยของการศึกษาถึงชนิดของน้ำคาลที่เหมาะสมต่อการผลิตแหนม ร่วมกับแหล่งคาร์โบไฮเดรต คือ ข้าวเจ้า และข้าวเหนียว โดยใช้เทคโนโลยีเชื้อบิริสุทรีเริ่มต้นผสม จากการทดลองพบว่าการใช้กลูโคส ร้อยละ 0.5 ในสูตรการผลิตทำให้ได้ผลิตภัณฑ์แหนมที่มีคุณภาพที่ดี ในสูตรดังกล่าวมีปริมาณน้ำคาลรีดิวส์ค่อนข้างสูง คิดเป็นร้อยละ 0.9130 ± 0.0183 ซึ่งเหมาะสมพอที่จะให้เชื้อแบคทีเรียประเภทที่สามารถรีดิวส์ไนเตรท เป็นไนโตรเจนเจือปนโคและมิกิจกรรมที่ดี นอกจากนี้ปริมาณน้ำคาลรีดิวส์ที่เหลือ สามารถให้เชื้อแบคทีเรียประเภทที่สร้างกรดแลคติกใช้ในการผลิตกรดแลคติกได้สูงถึงร้อยละ 1.0392 ± 0.0205 มีค่าความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 4.23 ± 0.00 และปริมาณคาร์โบไฮเดรตคงเหลืออยู่คิดเป็นร้อยละ 1.6354 ± 0.1068 หลังจากเสร็จสิ้นการหมัก 48 ชั่วโมงแล้วผลิตภัณฑ์แหนมที่ได้มีการยอมรับที่ดีของผู้บริโภค โดยมีค่า mean ideal ratio scores ของสีที่ปรากฏลักษณะเนื้อที่มองเห็น ความแน่นเนื้อ ความฉ่ำเนื้อ ความเนียนเนื้อ ความเปรี้ยว ความเค็ม กลิ่นเครื่องเทศ และการยอมรับรวมเท่ากับ 1.25 ± 0.27 , 0.79 ± 0.18 , 0.93 ± 0.13 , 1.03 ± 0.14 , 0.82 ± 0.17 , 0.96 ± 0.12 , 1.03 ± 0.11 , 0.82 ± 0.21 และ 0.71 ± 0.17 ตามลำดับ

Index words : การผลิตแหนม Nham formulation, Nitrate reducing bacteria

คำนำ

แหนมเป็นผลิตภัณฑ์เนื้อหมักพื้นบ้าน ซึ่งมีการบริโภคกันอย่างกว้างขวางในเขตภาคเหนือ โดยเฉพาะในจังหวัดเชียงใหม่ ลำปาง ลำพูน เป็นต้น การผลิตเป็นแบบอุตสาหกรรมครัวเรือนซึ่งในปัจจุบันก็ยังประสบปัญหาต่าง ๆ มากมาย เช่น อายุการเก็บที่ค่อนข้างสั้นเมื่อวางในท้องตลาด โอกาสการเสื่อมเสียสูงและมีการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโทษค่อนข้างสูง ทั้งนี้เนื่องมาจากการผลิตยังไม่ได้มีการควบคุมที่ดีพอ สุขลักษณะของการผลิตยังไม่ดีเท่าที่ควร การหมักยังขึ้นอยู่กับเชื้อจุลินทรีย์ในธรรมชาติ โอกาสที่จะเสี่ยงต่อการล้มเหลวในการผลิตของผู้ประกอบการมีมากการผลิตแหนมในแต่ละชุดมีคุณภาพที่ไม่สม่ำเสมอบางครั้งก็ดี บางครั้งก็ไม่ดี ดังนั้นการปรับปรุงคุณภาพแหนมจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพที่สม่ำเสมอ และปลอดภัยต่อผู้บริโภค

การพัฒนาสูตรในการผลิตและควบคุมกระบวนการผลิตแหนมจึงมีความสำคัญอย่างมากในปัจจุบัน มีการทดลองนำเชื้อบิริสุทรีเริ่มต้นผสมมาใช้เพื่อปรับปรุงคุณภาพแหนมให้ดีขึ้น มีความปลอดภัยสูงอีกทั้งมีลักษณะสีที่ปรากฏและลักษณะเนื้อสัมผัสที่ดี มีอายุการเก็บที่ดีขึ้น (Bacus, 1941; Gibbs, 1987; Wiriyacharee, 1990)

โดยเชื้อบิริสุทรีเริ่มต้นผสมที่นำมาใช้มี 2 ประเภทคือเชื้อแบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดแลคติกได้ส่วนอีกประเภทหนึ่งจะเป็นแบคทีเรียที่สามารถรีดิวส์ไนเตรทเป็นไนโตรเจนได้ก่อให้เกิดลักษณะที่ดีของผลิตภัณฑ์ในแง่สีที่ปรากฏและการมีสภาพเป็นกรดเกิดขึ้นจะทำให้สีที่ปรากฏมีการพัฒนาที่เร็วขึ้น อีกทั้งทำให้มีลักษณะเนื้อสัมผัสที่ดีด้วย อย่างไรก็ตามการใช้เทคโนโลยีเชื้อบิริสุทรีเริ่มต้นผสมน้ำคาลนับว่ามีบทบาทสำคัญมาก ต่อการที่เชื้อบิริสุทรีเริ่มต้นผสมดังกล่าวนี้ สามารถ

ใช้เพื่อผลิตกรดแลกติกทำให้มีผลต่อคุณภาพผลิตภัณฑ์ทั้งในแง่ลักษณะเนื้อสัมผัสและสีที่ปรากฏของผลิตภัณฑ์ได้งานวิจัยนี้จึงมีจุดประสงค์ที่จะศึกษาหาชนิดของน้ำตาลที่เหมาะสมต่อการผลิตแทนมโดยใช้เทคโนโลยีเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นผสมเพื่อให้เชื้อแบคทีเรียดังกล่าว สามารถสร้างกรดแลกติกได้อย่างมีประสิทธิภาพและทำให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพที่ดี

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การวิจัยครั้งนี้ แบ่งการทดลองเป็น 6 สิ่งทดลองโดยมีประเภทของน้ำตาลที่แตกต่างกันเป็นปัจจัยในการทดลอง ดังนี้

สิ่งทดลองที่ 1	ไม่ใช้น้ำตาล
สิ่งทดลองที่ 2	ไรซูโครส ร้อยละ 0.5 เป็นแหล่งน้ำตาล
สิ่งทดลองที่ 3	ไรแลคโตส ร้อยละ 0.5 เป็นแหล่งน้ำตาล
สิ่งทดลองที่ 4	ไรมอลโตส ร้อยละ 0.5 เป็นแหล่งน้ำตาล
สิ่งทดลองที่ 5	ไรกลูโคส ร้อยละ 0.5 เป็นแหล่งน้ำตาล
สิ่งทดลองที่ 6	ไรแซคคาไรส ร้อยละ 0.5 เป็นแหล่งน้ำตาล

กระบวนการผลิตแทนมโดยใช้เทคโนโลยีเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นผสม

นำเนื้อหมูแดงมาละลายเอามันหมูออกให้มากที่สุด ล้างด้วยน้ำสะอาด และสะเด็ดน้ำเช็ดด้วยผ้าแห้งสะอาดนำมาบดด้วยเครื่องบดเนื้อ และนำไปเก็บในห้องเย็นอุณหภูมิต่ำ (5 องศาเซลเซียส) ส่วนหนังหมูนำมาละลายส่วนมันออกให้มากที่สุด นำมาต้ม และหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาด 0.1x2-4 เซนติเมตร เก็บในห้องเย็นเช่นกัน ทำการเตรียมกระเทียมสดบด พริกไทยป่น พริกขี้หนูบด ข้าวเจ้า ข้าวเหนียว เกลือแกง

โซเดียมไนเตรท โซเดียมไนไตรท์ โซเดียมอิริธเรต ผงชูรส โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต และน้ำตาล ตามที่กำหนดของแต่ละสิ่งทดลอง (แสดงในตารางที่ 1) ผสมส่วนประกอบทั้งหมดเข้าด้วยกันด้วยเครื่องผสมที่ความเร็ว 40 รอบต่อนาที ประมาณ 1 นาที จึงเติมเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นผสมที่เตรียมขึ้นในสัดส่วนดังตารางที่ 1 ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมความเร็ว 40 รอบต่อนาที ประมาณ 2 นาทีนำส่วนผสมทั้งหมดใส่ในเครื่อง stuffer และอัดส่วนผสมเข้าสู่ถุงพลาสติกรูปทรงกระบอก รัดปลายให้แน่นด้วยยาง หรือ clips เหล็กนำไปเก็บที่ตู้เย็นอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

การเตรียมเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นผสม

Lactobacillus plantarum และ *Pediococcus cerevisiae* ถูกเตรียมขึ้นเป็นเชื้อเริ่มต้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS โดยเก็บบ่มในตู้เย็นที่ 30 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ส่วน *Micrococcus varians* ได้เตรียมเป็นเชื้อเริ่มต้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI (Brain Heart Infusion Broth) โดยบ่มเพาะเชื้อในตู้เย็น 30 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง

ก่อนที่จะนำไปเติมในกระบวนการผลิตแทนมเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นข้างต้นจะถูกนำมาเจือจางในสัดส่วนที่เหมาะสม และตรวจนับจำนวนในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar สำหรับเชื้อแบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดได้และในอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI agar สำหรับ *M. varians* อย่างไรก็ตาม เชื้อเริ่มต้นทั้งสามประเภทจะถูกเตรียมขึ้นก่อนการผลิตแทนมตามเวลาและอุณหภูมิที่กำหนดข้างต้นเสมอเพื่อให้เชื้อมีกิจกรรมที่ดีจึงจะนำไปเติมในกระบวนการตามสัดส่วนที่กำหนดในตารางที่ 1

Table 1 Ingredients and quantity for Nham production made with mixed bacterial starter cultures (Sugar as the main studied factors).

Ingredients	Quantity
Meat system :	
Ground lean pork (%)	80
Sliced pork skin (%)	20
Curing agents :	% of meat system
Sodium chloride (NaCl)	3
Sodium nitrate (NaNO_3)	0.03
Sodium nitrite (NaNO_2)	0.02
Sodium tripolyphosphate ($\text{Na}_3\text{P}_3\text{O}_{10}$)	0.3
Sodium erythobate	0.05
Starter cultures :	cfu/g of meat system
Lactobacillus plantarum	10 ⁶
Pedococcus cerevisiae	10 ⁶
Micrococcus varians	10 ⁶
Carbohydrate source :	% of meat system
Cooked rice	3
Sticky rice	1
Sucrose, lactose, maltose, glucose and saccharose ¹⁾	0.5
Seasonings :	% of meat system
Minced garlic	4
White peper (powder)	0.05
Minced bird chilli	2
MSG	0.2

¹⁾ Studied factors.

การวิเคราะห์ทางเคมี

ແໜ່ນທີ່เตรียมได้จากสิ่งทดลองต่าง ๆ ข้างต้น จะเก็บไว้ในตู้อบ (incubator) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสและสุ่มตัวอย่างออกมาวิเคราะห์ทางเคมี คือ ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ค่าความเป็นกรดทั้งหมดคิดเทียบกรดแลคติก (Total acidity as lactic acid) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugars) และปริมาณคาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate) ตามวิธีของไฟโรจน์ กับ อริญ (2533,2535) AOAC (1984), Miller (1959), Pearson (1976), และ Wiriacharee (1990) ที่เวลา 0, 6, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง

การทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส

การทดสอบครั้งนี้จะเป็นการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสของผู้บริโภคที่มีต่อลักษณะต่างๆ ของผลิตภัณฑ์ ในด้านสีของผลิตภัณฑ์ (colour) ลักษณะเนื้อที่มองเห็น (visual texture) ความแน่นเนื้อ (firmness) ความฉ่ำเนื้อ (juiciness) ความเนียนเนื้อ (smoothness) ความเปรี้ยว (sourness) ความเค็ม (saltiness) ความมีกลิ่นเครื่องเทศ (spiciness) และการยอมรับรวม (overall acceptability) โดยนำตัวอย่างทั้ง 6 ตัวอย่างมาทำการทดสอบชิมครั้งนี้ใช้ผู้บริโภคทั่วไป 14 ท่านทำการทดสอบและประเมินค่าดังกล่าว (ไฟโรจน์ 2535) (Wiriacharee, 1990)

การวิเคราะห์และแปรผล

ข้อมูลที่ได้จากการทดลองจะนำมาหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานและทำการวิเคราะห์ Analysis of variance โดยใช้ Stat-Packets

Package (Waltonick, 1987)

ผลการทดลองและวิจารณ์

การผลิตแหม่มโดยใช้เทคโนโลยีเชื้อบริสุทธิ์ผสม เป็นการใช้เชื้อแบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดแลคติกได้เติมลงไปในระบบระหว่างการผลิต เพื่อให้เชื้อสามารถเปลี่ยนแปลงคาร์โบไฮเดรต ให้เป็นน้ำตาลรีดิวซ์และผลิตเป็นกรดแลคติกในที่สุดแต่อย่างไรก็ตามจะต้องมีการเติมน้ำตาลลงในส่วนผสมของแหม่ม เพื่อให้เชื้อสามารถใช้น้ำตาลในช่วงแรกของการหมักในการเจริญเติบโตของเซลล์และสร้างกรดบางส่วนเนื่องจากในช่วงแรกของการหมักเชื้อยังไม่ได้เปลี่ยนแหล่งคาร์โบไฮเดรตเป็นน้ำตาลรีดิวซ์จากการทดลองครั้งนี้ การใช้ชนิดของน้ำตาลที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.05$ (ตารางที่ 2) โดยการใช้กลูโคสในการผลิตจะให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์หลังจากการผลิตเสร็จมากที่สุด (ร้อยละ 0.9130 ± 0.0183) และยังให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุดทุกช่วงเวลาตลอดการหมัก ส่วนการใช้ซูโครสในการผลิตจะให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์หลังจากการผลิตเสร็จน้อยที่สุด (ร้อยละ 0.4684 ± 0.0080) และให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์น้อยที่สุดทุกช่วงเวลาตลอดการหมัก (ตารางที่ 2)

น้ำตาลรีดิวซ์ถูกเปลี่ยนเป็นกรดแลคติกมีผลทำให้ความเป็นกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้น ในช่วงแรกของการหมัก (6 ชั่วโมง) สิ่งทดลองที่ไม่ได้ใช้น้ำตาล และสิ่งทดลองที่ใช้กลูโคสมีความเป็นกรดสูงกว่าสิ่งทดลองอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.05$ อย่างไรก็ตาม หลังจากหมักได้ 48 ชั่วโมง การใช้ชนิดของน้ำตาลที่แตกต่างกันจะไม่มีความแตกต่างของการเพิ่มขึ้นของกรดทั้งหมดอย่างมีนัย

สำคัญทางสถิติที่ $P < 0.05$ (ตารางที่ 3) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเชื้อแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติกได้มีความสามารถใช้น้ำตาลรีคิวส์ เพื่อเปลี่ยนเป็นกรดแลคติกได้ในระดับหนึ่งมีใช้หมายความว่าถ้ามีน้ำตาลรีคิวส์มากจะผลิตกรดได้มากขึ้นแต่จากข้อมูลแนวโน้มการเพิ่มของกรดทั้งหมดในสิ่งทดลองที่ไม่ใส่น้ำตาลแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของกรดทั้งหมดในอัตราที่ช้ากว่าสิ่งทดลองอื่น ๆ ใน 24 ชั่วโมงแรกของการหมักอย่างไรก็ตามเมื่อครบ 48 ชั่วโมงปริมาณกรดทั้งหมด ก็ไม่มีความแตกต่างกันเลยในทุกสิ่งทดลองจากข้อมูลนี้ทำให้มีประโยชน์ต่อการนำกลูโคสมาใช้ในสูตรการผลิต เพื่อมิให้

อัตราการผลิตกรดเร็วเกินไป ซึ่งอาจจะยับยั้งกิจกรรมการรีคิวส์ในเตรทของเชื้อบริสุทธิ์ที่เติมลงไป โดยเฉพาะ *M. varians*

ส่วนค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ผลิต-ภัณฑ์แหมม การใช้ชนิดของน้ำตาลที่แตกต่างกัน มีผลทำให้การลดลงของ pH มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.05$ ค่า pH ของสิ่งทดลองที่ไม่ใส่น้ำตาลและใช้ซูโคส มีค่าต่ำกว่า pH ของสิ่งทดลองอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.05$ ในเกือบทุกช่วงของการหมักคือตั้งแต่ 12-48 ชั่วโมง (ตารางที่ 4) ซึ่งสอดคล้องกับอัตราการผลิตกรดที่เร็วกว่าสิ่งทดลองอื่น ๆ (ตารางที่ 3)

Table 2 Reducing sugars content during Nham fermentation using mixed bacterial starter cultures (sugar as main studied factors).

Treatment	Reducing sugars (%) + Standard deviation ^{1/}					
	0 hours	6 hours	12 hours	18 hours	24 hours	48 hours
1	0.6470+0.0219 ^a	0.5747+0.0278 ^a	0.1284+0.0062 ^a	0.1364+0.0040 ^a	0.0547+0.0005 ^a	0.0532+0.0000 ^a
2	0.4684+0.0080 ^b	0.4261+0.0097 ^b	0.0916+0.0015 ^b	0.0506+0.0011 ^b	0.0557+0.0000 ^a	0.0525+0.0000 ^a
3	0.8434+0.1144 ^c	0.9625+0.0164 ^c	0.4111+0.0087 ^c	0.3962+0.0054 ^c	0.3757+0.0051 ^b	0.2619+0.0189 ^b
4	0.8252+0.0313 ^c	0.8893+0.0164 ^d	0.6215+0.0134 ^d	0.3413+0.0029 ^d	0.3945+0.0197 ^c	0.2014+0.0074 ^b
5	0.9130+0.0183 ^c	0.9991+0.0179 ^c	0.9691+0.0013 ^c	0.5434+0.0093 ^c	0.3956+0.0036 ^c	0.2947+0.0032 ^c
6	0.5617+0.0389 ^d	0.5922+0.0229 ^a	0.4463+0.0026 ^f	0.2325+0.0041 ^f	0.1948+0.0087 ^d	0.0497+0.0005 ^c

^{1/} mean within column with different superscripts differ significantly at $P < 0.05$

Table 3 Total acidity as lactic acid during Nham fermentation using mixed bacterial starter cultures (Sugar as main studied factors).

Treatment	Total acidity as lactic acid (%) + Standard deviation ¹¹					
	0 hours	6 hours	12 hours	18 hours	24 hours	48 hours
1	0.3714+0.0079 ^a	0.4504+0.0262 ^a	0.6085+0.0079 ^{ab}	0.7389+0.0205 ^a	0.8732+0.0172 ^a	0.9799+0.0194
2	0.3477+0.0112 ^{bc}	0.3556+0.0137 ^{bc}	0.6243+0.0137 ^a	0.7349+0.0177 ^a	0.8258+0.0131 ^b	0.9799+0.0112
3	0.3635+0.0112 ^{bc}	0.3714+0.0177 ^c	0.5413+0.1452 ^c	0.7033+0.0411 ^a	0.8021+0.0068 ^{bc}	0.9878+0.0326
4	0.3398+0.0079 ^b	0.3596+0.0068 ^b	0.5611+0.0395 ^{bc}	0.5828+0.0276 ^b	0.8772+0.0395 ^a	0.9720+0.0481
5	0.3359+0.0205 ^b	0.4307+0.0205 ^a	0.6164+0.0112 ^a	0.6579+0.0197 ^c	0.7863+0.0131 ^c	1.0392+0.0205
6	0.3003+0.0000 ^d	0.3359+0.0205 ^b	0.5532+0.0250 ^c	0.6282+0.0119 ^c	0.8100+0.0131 ^{bc}	0.9349+0.0595

¹¹ mean within column with different superscripts differ significantly at P<0.05

Table 4 pH of Nham during fermentation using mixed bacterial starter cultures. (Sugar as main studied factors).

Treatment	pH + Standard deviation ¹¹					
	0 hours	6 hours	12 hours	18 hours	24 hours	48 hours
1	6.24+0.01 ^a	6.05+0.01	5.03+0.00 ^a	4.56+0.02 ^a	4.46+0.00 ^a	4.13+0.01 ^a
2	6.17+0.01 ^{ab}	6.10+0.00	5.01+0.00 ^a	4.52+0.00 ^a	4.43+0.03 ^a	4.17+0.03 ^{ab}
3	6.11+0.01 ^{bc}	6.00+0.01	5.28+0.00 ^b	4.72+0.00 ^b	4.62+0.01 ^c	4.28+0.00 ^c
4	6.12+0.00 ^{bc}	6.05+0.05	5.42+0.00 ^c	4.67+0.00 ^c	4.53+0.00 ^d	4.20+0.00 ^b
5	6.12+0.01 ^{bc}	6.03+0.03	5.76+0.02 ^a	4.71+0.01 ^b	4.55+0.03 ^d	4.23+0.00 ^b
6	6.04+0.06 ^c	6.17+0.01	5.80+0.01 ^c	4.82+0.00 ^d	4.63+0.00 ^c	4.28+0.02 ^c

¹¹ mean within column with different superscripts differ significantly at P<0.05

จากการทดลองเติมชนิดของน้ำตาลที่แตกต่างกันลงไปพร้อมกับแหล่งคาร์โบไฮเดรตคือ ข้าวเจ้า และข้าวเหนียวก็เพื่อให้เชื้อบริสุทธิ์ที่เติมลงไปมีการเจริญเติบโตและมีกิจกรรมตามที่ต้องการระดับหนึ่ง แต่หากไม่มีแหล่งน้ำตาลเชื้อบริสุทธิ์ที่เติมก็อาจจะใช้แหล่งคาร์โบไฮเดรตข้าวเจ้า และข้าวเหนียวเพื่อผลิตเป็นน้ำตาลรีดิวส์ใช้ในการเจริญเติบโตและมีกิจกรรมอื่น ๆ แทน จากข้อมูลจะเห็นว่า ในสิ่งทดลองที่ไม้มันน้ำตาลจะเหลือปริมาณคาร์โบไฮเดรตน้อยที่สุดเมื่อสิ้นสุดการหมัก (48 ชั่วโมง) คือ เหลือร้อยละ $0.5022 + 0.1908$ ในขณะที่สิ่งทดลองที่ใช้น้ำตาล

ด้วยจะมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่มากกว่าเมื่อสิ้นสุดการหมัก กล่าวคือมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตในช่วงร้อยละ 1.3923 - 2.3100 (ตารางที่ 5)

จากผลการทดลองทางด้านประสาทสัมผัสโดยใช้ผู้ทดสอบชิมทั่วไป 14 ท่าน ทำการสอบผลิตภัณฑ์แหนมที่ผลิตโดยใช้เทคโนโลยีเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นผสมรวมกับการใช้น้ำตาลที่แตกต่างกันจะมีผลแตกต่างทางด้านประสาทสัมผัสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.05$ เฉพาะในแง่สี ข้อมูลดังแสดงในตารางที่ 6

Table 5 Carbohydrate content during Nham fermentation using mixed bacterial starter cultures (Sugar as main studied factors).

Treatment	Carbohydrate (%) + Standard deviation ^{1/}					
	0 hours	6 hours	12 hours	18 hours	24 hours	48 hours
1	3.5029 + 0.3517	3.0842 + 0.2578 ^a	2.1334 + 0.1267 ^a	1.2441 + 0.2057 ^a	1.6443 + 0.3619 ^a	0.5022 + 0.1908 ^a
2	3.3720 + 0.4841	2.1043 + 0.0836 ^b	2.1357 + 0.1306 ^b	1.5635 + 0.1348 ^b	1.6705 + 0.2836 ^b	1.9380 + 0.2392 ^b
3	3.3954 + 0.8926	3.9931 + 0.2445 ^c	2.8140 + 0.1096 ^b	1.5658 + 0.1885 ^b	1.9421 + 0.4347 ^a	1.3923 + 0.1175 ^c
4	3.7694 + 0.0655	3.6752 + 0.1240 ^c	2.5008 + 0.2769 ^c	2.2404 + 0.0680 ^c	1.6504 + 0.2415 ^b	1.6593 + 0.2949 ^c
5	3.9003 + 0.2600	3.1142 + 0.1907 ^c	3.0506 + 0.0936 ^b	1.8425 + 0.0686 ^d	1.3713 + 0.0925 ^b	1.6354 + 0.1068 ^c
6	4.2696 + 0.1109	3.2151 + 0.4372 ^c	2.2726 + 0.1235 ^c	2.1642 + 0.0656 ^c	2.3213 + 0.5170 ^b	2.3100 + 0.3425 ^b

^{1/} mean within column with different superscripts differ significantly at $p < 0.05$

Table 6 Sensory evaluation of Nham made with mixed bacterial starter cultures and different sugar.

Treatment	Colour	Visual Texture	Firmness	Juiciness	Smoothness
1	1.18 ± 0.18	0.89 ± 0.14	0.88 ± 0.18	1.12 ± 0.18	0.84 ± 0.17
2	1.38 ± 0.25	0.91 ± 0.11	0.84 ± 0.13	1.03 ± 0.17	0.90 ± 0.12
3	1.35 ± 0.29	0.91 ± 0.16	0.86 ± 0.12	1.02 ± 0.26	0.82 ± 0.17
4	1.31 ± 0.26	0.91 ± 0.10	0.81 ± 0.12	1.02 ± 0.26	0.82 ± 0.14
5	1.25 ± 0.27	0.79 ± 0.18	0.93 ± 0.13	1.03 ± 0.14	0.82 ± 0.17
6	1.13 ± 0.28	0.89 ± 0.12	0.93 ± 0.13	1.09 ± 0.16	0.87 ± 0.11

Table 6 (continue)

Treatment	Sourness	Saltiness	Spiciness	Overall acceptability
1	1.01 ± 0.12	1.08 ± 0.16	0.89 ± 0.22	0.73 ± 0.14
2	0.95 ± 0.11	1.66 ± 2.40	0.80 ± 0.22	0.69 ± 0.19
3	0.97 ± 0.10	1.04 ± 0.17	0.80 ± 0.21	0.74 ± 0.17
4	0.95 ± 0.11	1.00 ± 0.19	0.85 ± 0.22	0.71 ± 0.16
5	0.96 ± 0.12	1.03 ± 0.11	0.82 ± 0.21	0.71 ± 0.17
6	1.02 ± 0.09	1.07 ± 0.18	0.83 ± 0.20	0.76 ± 0.13

Note : 1. use 14 general panelists

2. mean within column with different superscripts differ significantly at $P < 0.05$

3. ratio near or equal 1.00 better attribute than the others

จากการทดสอบชิมผลิตภัณฑ์แฮมที่ผลิตโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นผสมร่วมกับน้ำตาลมอลโตสกลูโคสแซคคาไรสและไม้น้ำตาลเลซมีลักษณะสีที่ปรากฏดีกว่าสีทอดลงซูโครส และแลคโตส กล่าวคือ มี ratio ในแง่สีที่ปรากฏเท่ากับ 1.13 - 1.31 (ตารางที่ 6) ส่วนลักษณะทางประสาทสัมผัสอื่นๆ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ทางสถิติที่ $P < 0.05$

จากลักษณะทางประสาทสัมผัสต่าง ๆ ของผลิตภัณฑ์แฮมทั้ง 6 ตัวอย่างจะเห็นได้ว่าแฮมที่ใช้น้ำตาลต่างชนิดกัน มีลักษณะรวมต่าง ๆ ไม่แตกต่างกันแต่ถ้าพิจารณาประกอบกับค่าทางเคมีข้างต้น น้ำตาลที่เหมาะสมน่าจะเป็น

กลูโคสที่สามารถใช้ร่วมกับการผลิตโดยใช้เทคโนโลยีเชื้อบริสุทธิ์ผสมแล้วจะได้ผลิตภัณฑ์แหมมที่มีคุณภาพดี ทั้งในแง่การผลิตกรดแลคติก การสร้างสีที่ดีของผลิตภัณฑ์ เนื่องจากแหมมที่ใช้น้ำตาลกลูโคสมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ค่อนข้างมากในช่วงแรก ๆ ของการหมัก มีผลช่วยให้เชื้อ *Micrococcus varians* เจริญได้ดีและเปลี่ยนไนเตรทเป็นไนไตรท์ได้ดี จากการทดลองของไพโรจน์ และคณะ (2535) พบว่า ในสิ่งทดลองที่มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มาก จะทำให้เชื้อ *Micrococcus varians* สามารถใช้น้ำตาลรีดิวซ์ในการเจริญเติบโต และมีประสิทธิภาพในการเปลี่ยนไนเตรทไปเป็นไนไตรท์ได้มากกว่า สิ่งทดลองที่มีน้ำตาลรีดิวซ์น้อยนอกจากนี้แหมมที่ใช้น้ำตาลกลูโคสยังมีอัตราการลดลงของ pH ไม่เร็วจนเกินไป เพราะถ้า pH ลดลงเร็วเกินไป ในช่วงแรกของการหมักจะทำให้เชื้อ *Micrococcus varians* ซึ่งไม่ทนต่อสภาพที่เป็นกรดถูกยับยั้ง ซึ่งจากการทดลองของ Wiriyaacharee (1990) ได้รายงานว่าเชื้อ *Micrococcus varians* จะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงไนเตรทไปเป็นไนไตรท์ในช่วงแรกของการหมัก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.05$ กิจกรรมของเชื้อในการเปลี่ยนไนเตรทเป็นไนไตรท์นั้นควรเกิดขึ้นระหว่าง 2-16 ชั่วโมงแรกของการหมักได้กรอกทั่วไป (Deidel et al., 1961) ซึ่งเป็นการแสดงให้เห็นว่า *Micrococcus varians* ควรจะมีกิจกรรมเกิดขึ้นก่อนที่จะถูกยับยั้งเนื่องมาจากสภาพสิ่งแวดล้อมที่เป็นกรดมากขึ้น การเกิดสีชมพูของแหมมเนื่องมาจาก *Micrococcus varians* ในสภาพที่มี Lactic acid bacteria ร่วมด้วยจะทำให้เกิดการเปลี่ยนสีของแหมมได้เร็วขึ้นด้วยเหตุนี้การใช้น้ำตาลกลูโคสร่วมกับข้าวเจ้าและข้าวเหนียวจะทำให้มีน้ำตาลรีดิวซ์มีมากพอ เพื่อให้เชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 2 ประเภท มีกิจกรรมที่ดีต่อไป

สรุปผลการทดลอง

น้ำตาลที่เหมาะสมต่อการผลิตแหมม โดยใช้เทคโนโลยีเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นผสม คือ กลูโคส ซึ่งสูตรการใช้กลูโคสดังกล่าวในการผลิตจะมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ค่อนข้างสูง เพื่อให้เชื้อแบคทีเรียประเภท nitrate reducing bacteria เจริญเติบโตและเปลี่ยนไนเตรทเป็นไนไตรท์ และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือสามารถให้ lactic acid bacteria นำไปสร้างเซลล์ และบางส่วนนำไปสร้างกรดได้ค่อนข้างดีและมีผลทำให้ผลิตภัณฑ์มีความแน่นเนื้อที่ดี และมีผลต่อการพัฒนาสีที่ปรากฏที่ดีด้วยอีกทั้งมีการยอมรับของผู้บริโภคที่ดีเช่นกัน

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ ที่ได้สนับสนุนการวิจัยมา ณ โอกาสนี้ด้วย

เอกสารอ้างอิง

- ไพโรจน์ วิริยจารี และอรุณ หันพงษ์ศักดิ์กุล. (2533, 2535). ปฏิบัติการอุตสาหกรรมอาหารหมัก. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- ไพโรจน์ วิริยจารี. (2533). การวางแผนและการวิเคราะห์ทางด้านประสาทสัมผัส. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- AOAC. (1984). Official Methods of Analysis (13th edition) Association of official Analytical Chemists, Washington, D.C.
- Bacus, J. (1984). Utilization of Microorganisms in Meat Processing. Research Studies Press, Ltd., England.
- Deibel, R.H., C.F. Niven. Jr., and G.D. Wilson. (1961). Microbiology of meat curing III. Some microbiological and related technological

- aspects in the manufacture of fermented sausages. Appl. Microbiol., 9:156-165.
- Gibbs, P.A. 1987. Novel uses for lactic acid fermentation in food preservation. J. Appl. Bacteriol. Symposium Supplement, 51S-58S.
- Miller, G.L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars. Analytical Chemistry 31:426-428.
- Pearson, D. (1987). The Chemical Analysis of Food. Churchill Livingstone. London and New York.
- 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. Ph.D. Thesis in Product Development in Food Fermentation, Massey University, New Zealand.