

การพัฒนาผลิตภัณฑ์แหนมโดยใช้เทคโนโลยี เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นผสม

2. ผลของข้าวเจ้าและข้าวเหนียวต่อ การผลิตกรดแลคติกในผลิตภัณฑ์

ไพโรจน์ วิริยจาร¹, ลักขณา รุจนะไกรภานต์¹ และ ปานจิตต์ คุญชะวดี¹

NHAM PRODUCT DEVELOPMENT USING MIXED BACTERIAL STARTER CULTURES

2. EFFECT OF COOKED RICE AND STICKY RICE ON LACTIC ACID PRODUCTION

Pairote Wriyacharee¹, Lakkana Rujanakraikarn¹, and Panjit Kunchavaree¹

ABSTRACT : 1-3% of cooked rice and sticky rice was used as carbohydrate source for Nham production using mixed bacterial starter cultures. It was used by the cultures for lactic acid production affecting the good quality of Nham. For this experiment, it was found that 3% of cooked rice and 1% of sticky rice were suitable for Nham production. The carbohydrate was changed into reducing sugars rapidly at 6 hours of fermentation. The reducing sugars then decreased later since they were used to produce lactic acid. As a result of this, the Nham was composed of total acidity as lactic acid (1.03%), pH (4.36), and residual carbohydrate (1.203%) after 48 hours of fermentation. Additionally, the product was accepted with the mean ideal ratio score of 0.86±0.17. It was also to be high quality in terms of many attributes except colour and saltiness which was higher mean ideal ratio score.

บทคัดย่อ : ข้าวเจ้าและข้าวเหนียวร้อยละ 1-3 นำมาใช้เป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรต ร่วมในสูตรการผลิตแหนมโดยใช้เทคโนโลยีเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นผสม เพื่อให้เชื้อสามารถนำไปผลิตเป็นกรดแลคติกให้กับผลิตภัณฑ์ ซึ่งมีผลต่อคุณภาพที่ดีของผลิตภัณฑ์ จากการทดลองพบว่าการใช้ข้าวเจ้า ร้อยละ 3 ร่วมกับข้าวเหนียวร้อยละ 1 ในสูตรการผลิตแหนมจะเป็นสูตรที่เหมาะสมต่อการ

¹ คณะอุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่ 50002.

¹ Faculty of Agro-Industry, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50002.

ผลิต โดยเชื้อสามารถเปลี่ยนแปลงคาร์โบไฮเดรตให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ค่อนข้างมากใน 6 ชั่วโมงแรกของการหมักและเปลี่ยนเป็นกรดแลกติกในระยะเวลาถัดมา คิดเป็นปริมาณกรดทั้งหมดคิดเทียบกรดแลกติกร้อยละ 1.03 ความเป็นกรดเป็นด่าง 4.36 และปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่เหลืออยู่ร้อยละ 1.203 หลังจาก 48 ชั่วโมงของการหมัก ผลิตภัณฑ์แห้งเห็ดควรตั้งกล่าว มีค่า Mean ideal ratio score ของการยอมรับรวมเท่ากับ 0.85 ± 0.17 แทนจะมีลักษณะต่าง ๆ ที่ใกล้เคียงกับค่าที่ควรจะเป็น (Ideal) ยกเว้นลักษณะของสีที่ปรากฏ และความเค็มของผลิตภัณฑ์ที่มีค่าค่อนข้างสูง.

คำนำ

แห้วหรือหมี่ส้มเป็นอาหารหมักประเภทเนื้อประเภทหนึ่งของไทย โดยทั่วไปการผลิตแห้วในปัจจุบันยังคงพึ่งพาเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตกรดได้ตามธรรมชาติ ซึ่งมีทั้งจุลินทรีย์ประเภท Homofermentative lactic acid bacteria และ Heterofermentative lactic acid bacteria ในการหมักแห้ว โดยทั่วไปพบว่าในระยะ 4 วันแรกของการหมัก แห้วจะมีปริมาณกรดสูงขึ้น มีความสัมพันธ์กับค่าการลดลงของ pH หลังจากระยะดังกล่าวแล้วค่า pH จะคงที่โดยยังคงมีการสร้างกรดเพิ่มขึ้น การเพิ่มปริมาณกรดนอกจากจะสัมพันธ์กับค่า pH แล้วยังมีความสัมพันธ์กับจำนวนและชนิดของจุลินทรีย์ในระหว่างหมักด้วย เนื่องจากการหมักแห้วที่ยังขึ้นกับเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติ จากสาเหตุดังกล่าวจึงทำให้ผู้ผลิตมีความเสี่ยงต่อการผลิตค่อนข้างสูง การผลิตแต่ละครั้งมีคุณภาพไม่สม่ำเสมอ คุณภาพและกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์มีความแปรผันค่อนข้างมาก และไม่สามารถควบคุมเวลาที่ใช้ในการผลิต ซึ่งขึ้นกับฤดูกาลที่ทำการผลิต รวมถึงเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิดในธรรมชาติที่ปนเปื้อนมากับวัตถุดิบ ซึ่งทำให้เกิดการแข่งขันการเจริญเติบโต ทำให้เชื้อที่จำเป็นในการหมักมีการเจริญเติบโตไม่ดีเท่าที่ควร อีกทั้งการหมักแบบพื้นบ้านมีความเสี่ยงต่อความปลอดภัยของผู้บริโภคในการรับประทานแห้ว เนื่องจากส่วนมากนิยมรับประทานในลักษณะดิบ.

การใช้เทคโนโลยีการเติมเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น ซึ่งได้เข้ามามีบทบาทต่อการผลิตอาหารหมักของโดยเฉพาะในผลิตภัณฑ์แห้ว โดยเริ่มจากการใช้เชื้อบริสุทธิ์สายพันธุ์เดี่ยว คือ *Lactobacillus* sp. หรือ *Pediococcus* sp. ในผลิตภัณฑ์แห้ว โดยได้ทำการทดลองในปี 2528 (H-kittikun et al., 1988) ต่อมาได้มีวิวัฒนาการในการนำเชื้อบริสุทธิ์ผสมเริ่มต้นมาใช้ในการหมักแห้ว ซึ่ง Wiriyacharee et al. (1990) ได้ทดลองใช้เชื้อผสม เริ่มต้นระหว่าง *Lactobacillus plantarum* (NHI 110) *Pediococcus cerevisiae* (NZDRI) และ *Micrococcus varians* (ATCC 15306) พบว่าสามารถปรับปรุงคุณภาพแห้วได้ โดยผลิตภัณฑ์มีการผลิตกรดที่ดี แห้วมีคุณภาพดีมากในแง่ลักษณะเนื้อสัมผัสและสี และผลิตภัณฑ์มีความปลอดภัยสูง กรดแลกติกที่เกิดขึ้นนั้นเนื่องมาจาก Lactic acid bacteria ใช้แหล่งคาร์โบไฮเดรตที่เติมลงไปเพื่อทำให้ pH ลดลงอย่างรวดเร็ว (Pezacki, 1978).

การทดลองครั้งนี้ต้องการที่จะทราบว่าผลของแหล่งคาร์โบไฮเดรตที่ใช้กันทั่วไปคือ ข้าวเหนียวและ/หรือ ข้าวเจ้า มีผลต่อการผลิตกรดแลกติก โดยเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นผสมในผลิตภัณฑ์แห้วอย่างไร? ซึ่งมีผลต่อคุณภาพแห้วและความนิยมของผู้บริโภคมากน้อยเพียงไร? ซึ่งเป็นแนวทางในการพัฒนาสูตรการผลิตแห้วโดยใช้เทคโนโลยีเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นผสมต่อไป.

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

แผนการทดลอง การวิจัยครั้งนี้ได้วางแผนการทดลองแบบ 2^2 Factorial design โดยมีข้าวเจ้า และข้าวเหนียวเป็นปัจจัยหลักในการศึกษา ดังนี้ :

ปัจจัย A	= ข้าวเจ้า	(Cooked rice; CR)
a_1	= ร้อยละ 1	(ระดับต่ำ)
a_2	= ร้อยละ 3	(ระดับสูง)
ปัจจัย B	= ข้าวเหนียว	(Sticky rice; SR)
b_1	= ร้อยละ 1	(ระดับต่ำ)
b_2	= ร้อยละ 3	(ระดับสูง)

ดังนั้นการทดลองครั้งนี้จึงประกอบด้วย 4 สิ่งทดลอง (ตารางที่ 1) และจะประกอบด้วย สิ่งทดลอง ณ ระดับกึ่งกลางของแต่ละปัจจัย อีก 2 สิ่งทดลอง รวมเป็น 6 สิ่งทดลอง.

Table 1. 2^2 Factorial design and 2 center points with cooked rice and sticky rice as carbohydrate source at 3 different levels using mixed bacterial starter cultures.

Treatment	Coded level	Factors	
		Cooked rice (%)	Sticky rice (%)
	+	3	3
	0	2	2
	-	1	1
(1)		-	-
a		+	-
b		-	+
ab		+	+
CP ₁		0	0
CP ₂		0	0

a = cooked rice ; b = sticky rice ; (1) = control ; cp = centerpoint

กระบวนการผลิตขนมโดยใช้เทคโนโลยีเชื้อยีสต์เริ่มต้นผสม

นำเนื้อหมูแดงมาละลายเอามันหมูออก ล้าง และทำให้สะอาด นำเนื้อหมูแดงมาบดด้วยเครื่องบดเนื้อนำไปเก็บในหีองเย็นอุณหภูมิประมาณ 5 องศาเซลเซียส ส่วนหนังหมูนำมาละลายเอาส่วนมันออกให้มากที่สุด นำมาต้มและหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาด 0.1 x 2-4 เซนติเมตร เก็บในหีองเย็นเช่นกัน ทำการเตรียมกระเทียมสับคป พริกไทยป่น พริกขี้หนูบด ข้าวเหนียว หรือข้าวเจ้าบด กุ้งโคส เกลือแกง โซเดียมไนเตรท โซเดียมไนไตรท์ โซเดียมฮิสโซเบท ผงชูรส และโซเดียมไตรฟอสเฟต โดยเตรียมในสัดส่วนดังแสดงในตารางที่ 1 และที่ 2.

ผสมส่วนผสมเข้าด้วยกันด้วยเครื่องผสมที่ความเร็ว 40 รอบต่อนาที ประมาณ 1 นาที จึงเติมเชื้อยีสต์เริ่มต้นผสมที่เตรียมขึ้นในสัดส่วนดังตารางที่ 2 ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมความเร็ว 40 รอบต่อนาที ประมาณ 2 นาที นำส่วนผสมทั้งหมดใส่ในเครื่อง Stuffer และอัดเข้าสู่ถุงพลาสติกกรุปรงกระบอก ริดปลายให้แน่นด้วยยาง หรือ Clips เหล็ก เก็บที่อุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส.

การเตรียมเชื้อยีสต์เริ่มต้นผสม

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

Table 2. Ingredients and quantity for Nham production made with mixed bacterial starter cultures (cooked rice and sticky rice as the main 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
<i>Lactobacillus plantarum</i>	10^7
<i>Pediococcus cerevisiae</i>	10^6
<i>Micrococcus varians</i>	10^3
Carbohydrate source:	% of meat system
Glucose	0.5
Cooked rice or sticky rice	1-3
Seasonings :	% of meat system
Minced garlic	4
White pepper (powder)	0.05
Minced bird chilli	2
MSG	0.2

ก่อนที่จะนำไปเค็มลงในแหนม เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นข้างต้นจะถูกนำมาเจือจางในสัดส่วนที่เหมาะสม และตรวจนับจำนวนในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar สำหรับเชื้อ *Lactobacillus plantarum* ที่สามารถผลิตกรดแลคติกได้ และในอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI agar สำหรับเชื้อ *Micrococcus varians* อย่างไรก็ตาม เชื้อเริ่มต้นทั้งสามจะถูกเตรียมขึ้นก่อนการผลิตแหนมตามเวลา และอุณหภูมิที่กำหนดข้างต้นเสมอเพื่อให้เชื้อมีกิจกรรมที่ดี จึงจะนำมาเค็มลงในกระบวนการโดยมีการคำนวณดังนี้

ถ้าแหนมต้องการเชื้อ *P. cerevisiae* 10^6 cfu/g ดังนั้น ปริมาณของแหนม ต้องการเชื้อถึง 10^9 cfu แต่ใน Stock culture ของ *P. cerevisiae* มี 10^{10} cfu/ml ดังนั้น ใน 0.1 ml ของ Stock culture จะมีเชื้อ *P. cerevisiae* 10^9 cfu เป็นต้น อย่างไรก็ตาม 0.1 ml ของ Stock culture ยากต่อการเติมและผสมผสานให้เข้ากันในกระบวนการ ดังนั้นจึงเติมน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วลงไปอีกประมาณ 2 ml ก่อนเค็มลงในกระบวนการผลิต

การวิเคราะห์ทางด้านเคมี

แหนมที่เตรียมได้ตามขั้นตอนดังกล่าวข้างต้นของทุก ๆ สิ่งทดลองจะเก็บไว้ในตู้เย็น (Incubator) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และสุ่มตัวอย่างออกมาวิเคราะห์ค่าทางเคมี คือ ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ค่าความเป็นกรดทั้งหมดที่คิดเทียบกรดแลคติก (Total acidity as lactic acid) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugars) และปริมาณคาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate) ตามวิธีของ AOAC (1984), Miller (1959), Pearson (1976), Wriyacharee (1990) และ วิริยจาวี กับ หันพงศ์ศักดิ์กุล (2533, 2535) ในช่วงเวลาที่ทำการบ่มไว้ 0, 6, 12, 18, 24 และ 48 ชั่วโมง

การทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส

การทดสอบครั้งนี้จะเป็นการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสของผู้บริโภคที่มีคุณลักษณะต่าง ๆ ของผลิตภัณฑ์ ในด้านสีของผลิตภัณฑ์ (Colour) ลักษณะเนื้อที่ปรากฏ (Visual texture) ความแน่นเนื้อ (Firmness) ความนุ่มเนื้อ (Juiciness) ความเนียนเนื้อ (Smoothness) ความเปรี้ยว (Sourness) ความเค็ม (Saltiness) ความมีกลิ่นเครื่องเทศ (Spiciness) และการยอมรับรวมต่อผลิตภัณฑ์ (Overall acceptability) โดยการทดสอบจะนำตัวอย่างที่หมักได้ 48 ชั่วโมง มาทำการทดสอบชิม โดยใช้วิธีการ Ideal ratio profile ซึ่งให้ผู้ทดสอบชิมทั่วไป จำนวน 8 ท่าน ทำการทดสอบและประเมินค่าดังกล่าว (Wriyacharee, 1990 และ วริยจารี, 2535).

การวิเคราะห์และแปลผล

ข้อมูลที่ได้จากการทดสอบจะนำมาหาค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และทำการวิเคราะห์ทางคณิตศาสตร์ เช่น Analysis of variance และ Stepwise regression analysis โดยใช้ Stat-Packets Package (Waltonick, 1987) ซึ่งปัจจัยที่ใช้ในการวิเคราะห์ Stepwise regression analysis จะทำการ coding ดังนี้ ปัจจัยที่มีระดับค่า กลาง และสูง ให้รหัสว่า -1, 0 และ +1 ตามลำดับ อีกทั้งข้อมูลในระหว่างการหมักต่าง ๆ จะถูกนำมาสร้างกราฟ เพื่อศึกษาแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงในสิ่งทดลองต่างๆ.

ผลการทดลองและวิจารณ์

แฮมที่ผลิตโดยใช้เทคโนโลยีเชื้อบิริสุทธิเริ่มต้นผสมระหว่าง Lactic acid bacteria 2 สายพันธุ์ และ Nitrate reducing bacteria 1 สายพันธุ์ พบว่าจากการใช้แหล่งคาร์โบไฮเดรต 2 ประเภท คือ ข้าวเจ้า และข้าวเหนียว ทำให้เชื้อดังกล่าวโดยเฉพาะเชื้อจุลินทรีย์ประเภท Lactic acid bacteria สามารถใช้แหล่งคาร์โบไฮเดรตผลิตเป็นกรดแลคติกได้ จากการทดลองผลิตภัณฑ์จะมีค่าความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้น (pH) ประมาณ 6.01-6.12 และมีค่าความเป็นกรดทั้งหมดคิดเทียบกรดแลคติกร้อยละ 0.54-0.56 ในระหว่างการหมักช่วง 6 ชั่วโมงแรก การเปลี่ยนแปลงของค่าดังกล่าวทั้งสองจะเกิดขึ้นไม่มากนัก และค่า pH จะลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงหลัง 6-18 ชั่วโมง และลดลงอย่างช้า ๆ จนกระทั่ง 48 ชั่วโมงของการหมัก ซึ่งพบว่าค่า pH ที่ 48 ชั่วโมง มีค่า 4.36-4.52 ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของค่าความเป็นกรดทั้งหมด โดยควรจับค่าความเป็นกรดทั้งหมดคิดเทียบกรดแลคติก คิดเป็นร้อยละ 0.90-1.09 ในชั่วโมงที่ 48 (ดังแสดงในภาพที่ 1) ซึ่งจากการทดลองของ Wriyacharee et al. (1990) โดยใช้เชื้อบิริสุทธิเริ่มต้นผสม พบว่าผลิตภัณฑ์มีการผลิตกรดได้อย่างดีเยี่ยม เชื้อบิริสุทธิเริ่มต้นประเภท *Lactobacillus plantarum* จะมีผลต่อการลดลงของ pH อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในช่วงแรกของการหมักแฮม โดยการเปลี่ยนแหล่งคาร์โบไฮเดรตให้เกิดเป็นกรดแลคติก เมื่อ pH ลดลงเรื่อย ๆ จะทำให้โปรตีนถูกทำลายไป มีการเกิดเจดขึ้น ทำให้เนื้อผลิตภัณฑ์เริ่มแน่นแข็งและเหนียวขึ้น อีกทั้งพบว่าเชื้อ *Pediococcus cerevisiae* มีผลต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของแฮมในช่วงหลังของการหมัก ซึ่งการเจริญเหมาะสมที่สุดของเชื้อนี้จะอยู่ที่ pH ประมาณ 5.0 (Buchanan and Gibbons, 1974) ดังนั้นสภาพสิ่งแวดล้อมของการหมักช่วงท้ายจึงเหมาะสมที่เชื้อดังกล่าวจะเจริญเติบโต เพราะช่วงหลังของการหมัก pH ของแฮมมีค่าใกล้เคียงกับค่า pH ที่เชื้อสามารถเจริญเติบโตได้ดี และทำให้ผลิตภัณฑ์แฮมเหนียวมากขึ้น ด้วยเหตุนี้การใช้เชื้อบิริสุทธิเริ่มต้นผสมระหว่าง *Lactobacillus plantarum* และ *Pediococcus cerevisiae* จึงมีผลต่อการลดลงของ pH หรือการเพิ่มขึ้นของค่าความเป็นกรด และมีผลกระทบต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของแฮมได้.

การลดลงของค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ของผลิตภัณฑ์แฮมจะขึ้นอยู่กับเวลาที่ใช้ในการหมักอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.01$ กล่าวคือ ถ้ายิ่งเพิ่มระยะเวลาการหมักมากขึ้นค่าความเป็นกรดเป็นด่างจะยิ่งลดลง ดังแสดงตามสมการ (Coding equation) ดังนี้ :

$$\frac{1}{\text{pH}} = 0.1653 + 0.0014 (\text{Time}) ; R^2 = 0.8756$$

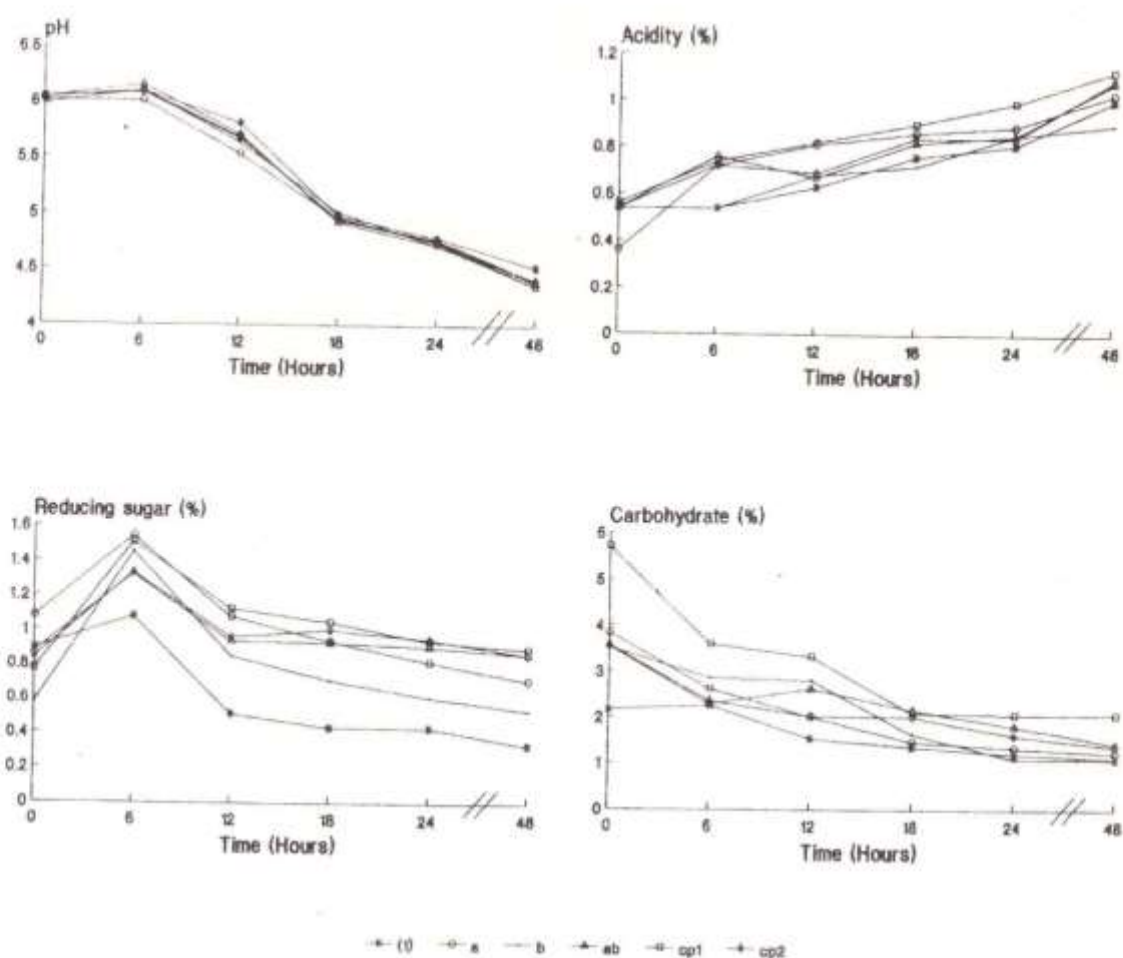


Figure 1. Chemical changes during 48 hours of Nham fermentation by use of mixed bacterial starter cultures (Carbohydrate source as main factors).

และพบว่าค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ยังขึ้นกับแหล่งคาร์โบไฮเดรต คือ ข้าวเจ้า และข้าวเหนียวในระหว่างการหมัก 48 ชั่วโมง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.05$ ดังแสดงในตารางที่ 3 และพบว่าข้าวเจ้ามีผลต่อการลดลงของ pH ค่อนข้างมากในช่วงแรกของการหมัก ส่วนข้าวเหนียวจะการลดลงของ pH ในช่วงกลางและช่วงท้ายของการหมัก แต่จะหน่วงเหนี่ยวการลดลงของ pH ในช่วงต้นของการหมัก.

Table 3. Coded equation of pH during 48 hours of Nham fermentation with different carbohydrate source using mixed bacterial starter cultures.

Response variable	Coded equation	R ²
pH (6 hours)	$= 6.0850 - 0.0075 (CR)$ $+ 0.0375 (SR) + 0.0375 (CRSR)$	0.9892
pH (12 hours)	$= 5.6750 - 0.0500 (CR)$ $+ 0.0850 (CRSR) - 0.01000 (CR)^2$	0.9974
pH (18 hours)	$= 4.9550 - 0.0275 (CR)$ $- 0.0175 (CRSR) + 0.0225 (CR)^2$	0.9768
pH (24 hours)	$= 4.7650 - 0.0250 (SR)$ $- 0.0200 (CR)^2$	0.7857
pH (48 hours)	$= 4.3950 - 0.0275 (CR)$ $- 0.0275 (SR) + 0.0525 (CRSR)$ $+ 0.0175 (CR)^2 -$	0.9944

CR = cooked rice ; SR = sticky rice

จากการทดลองพบว่า การลดลงของ pH จะเป็นไปอย่างรวดเร็วที่ 18 ชั่วโมงของการหมัก (ดังภาพที่ 1) และจากการสร้างภาพสามมิติพบว่า ถ้าหากมีการใช้ข้าวเจ้าที่ระดับสูง (ร้อยละ 3) และข้าวเหนียวระดับต่ำ (ร้อยละ 1) จะมีค่า pH 4.97 ในทางตรงกันข้ามถ้าใช้ข้าวเจ้าร้อยละ 1 และข้าวเหนียวร้อยละ 3 จะมีค่า pH 5.02 (ภาพที่ 2) ดังนั้นมีความเป็นไปได้ที่จะใช้ข้าวเจ้าในระดับที่สูงร้อยละ 3 และข้าวเหนียวที่ระดับต่ำร้อยละ 1 ในสูตรการผลิตแหนมเพื่อให้มีค่า pH ลดลงในระดับที่เหมาะสม.

การเพิ่มขึ้นของความเป็นกรดมีความสัมพันธ์กับการลดลงของ pH ในระหว่างการหมักแหนมโดยใช้เทคโนโลยีเชื้อบิสุทซ์เริ่มต้นผสม กล่าวคือ ความเป็นกรดทั้งหมดที่เพิ่มขึ้น ขึ้นอยู่กับการเพิ่มระยะเวลาของการหมักให้มากขึ้น อีกทั้งยังขึ้นกับปริมาณข้าวเจ้าที่เติมลงไป ในสูตรการผลิตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.01$ ดังสมการ (coded equation) ดังนี้ :

$$\text{Acidity (\%)} = 0.4497 + 0.0625 (\text{Cooked rice}) + 0.0831 (\text{Time} + 1)^{1/2}$$

$$R^2 = 0.9294$$

นอกจากนี้แหล่งของคาร์โบไฮเดรตที่เป็นข้าวเจ้าจะมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของกรดแลคติก โดยเชื้อบิสุทซ์เริ่มต้นผสมในช่วงแรกของการหมัก ส่วนข้าวเหนียวจะมีผลในช่วงกลาง และช่วงท้ายของการหมักแหนม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.05$ (ดังตารางที่ 4) ซึ่งผลที่ได้มีทิศทางตรงกันข้ามกับการลดลงของความเป็นกรดเป็นด่างของผลิตภัณฑ์.

จากผลการทดลองการผลิตกรดแลคติก โดยใช้เชื้อบิสุทซ์เริ่มต้นผสมที่ 18 ชั่วโมง พบว่าถ้าหากใช้ข้าวเจ้าในปริมาณร้อยละ 3 และข้าวเหนียวร้อยละ 1 จะมีค่าความเป็นกรดทั้งหมดร้อยละ 0.86 ซึ่งไม่แตกต่างมากนักจากการใช้ข้าวเจ้า และข้าวเหนียวร้อยละ 3 รวมกัน ในสูตรการผลิต ส่วนถ้าหากใช้ข้าวเจ้าร้อยละ 1 และข้าวเหนียวร้อยละ 3 จะมีค่าความเป็นกรดทั้งหมดที่ต่ำกว่า คือ ร้อยละ 0.72 (ดังแสดงในภาพที่ 2).

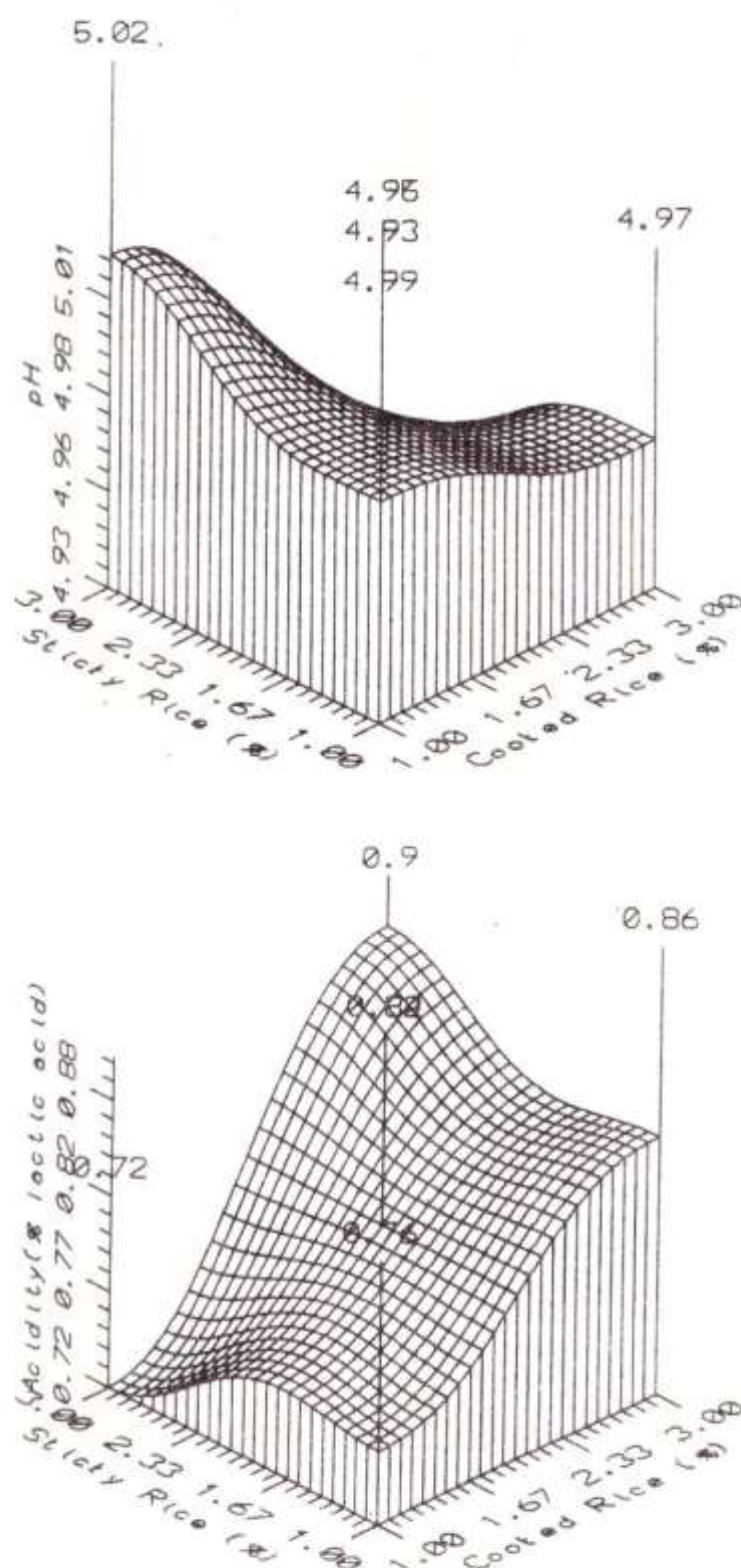


Figure 2. pH and total acidity as lactic acid at 18 hours of Nham fermentation by use of mixed bacterial starter cultures (Carbohydrate as main factors).

Table 4. Coded equation of total acidity (%) during 48 hours of Nham fermentation with different carbohydrate source using mixed bacterial starter cultures.

Response variable	Coded equation	R ²
Acidity (6 hours)	$= 0.7400 + 0.0950(\text{CR}) - 0.1050(\text{CR})^2$	0.9700
Acidity (12 hours)	$= 0.6800 + 0.0800(\text{CR}) + 0.0150(\text{SR}) + 0.0550(\text{CR})^2$	0.9760
Acidity (18 hours)	$= 0.8300 + 0.0700(\text{CR}) + 0.0200(\text{CRSR}) - 0.0250(\text{CR})^2$	0.9821
Acidity (24 hours)	$= 0.8450 + 0.0550(\text{CR}) + 0.0350(\text{SR}) + 0.0150(\text{CRSR}) + 0.0400(\text{CR})^2$	0.9953
Acidity (48 hours)	$= 1.0850 + 0.0650(\text{CR}) + 0.0500(\text{CRSR}) - 0.0700(\text{CR})^2$	0.9973

CR = cooked rice ; SR = sticky rice

การที่เชื้อ Lactic acid bacteria ใช้แหล่งคาร์โบไฮเดรตในการผลิตกรดแลคติกนั้น เชื้อดังกล่าวจะมีการเปลี่ยนแปลงแหล่งคาร์โบไฮเดรตเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ก่อนที่จะใช้น้ำตาลรีดิวซ์เปลี่ยนเป็นการผลิตกรดแลคติกอีกครั้งหนึ่ง ซึ่งมีผลทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 6 ชั่วโมงแรกของการหมัก คิดเป็นร้อยละ 1.078-1.540 และจะลดลงอย่างมากในช่วง 12 ชั่วโมงของการหมักเหลือร้อยละ 0.506-1.122 และลดลงเรื่อยๆ จนกระทั่ง 48 ชั่วโมง เหลือน้ำตาลรีดิวซ์ในผลิตภัณฑ์ ประมาณ 0.330-0.891 (ดังแสดงในภาพที่ 1) จากสาเหตุดังกล่าวมีผลทำให้การไบโอเคตรลดลงเรื่อย ๆ จากร้อยละ 2.157-5.705 ลดลงเหลือร้อยละ 1.096-2.042 หลังจาก 48 ชั่วโมงของการหมัก (ภาพที่ 1).

จากการวิเคราะห์พบว่า เมื่อเวลาการหมักเพิ่มขึ้น ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลงเรื่อยๆ อีกทั้งข้าวเจ้ามีผลต่อการเพิ่มขึ้นของน้ำตาลรีดิวซ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.01$ ดังแสดงในสมการ (Coded equation) ดังนี้ :

$$\frac{1}{\text{Reducing sugars}(\%)} = 0.3559 + 0.0133 (\text{Time}) + \frac{1.0750}{\text{cooked rice} + 2}$$

$R^2 = 0.5226$

อย่างไรก็ตามในระหว่าง 48 ชั่วโมงของการหมักข้าวเจ้าและข้าวเหนียว จะมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของน้ำตาลรีดิวซ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.05$ (ดังตารางที่ 5).

และพบว่าในช่วง 18 ชั่วโมงของการหมัก ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะเกิดขึ้นในระบบ ร้อยละ 1.045 ถ้าหากมีการใช้ข้าวเจ้าและข้าวเหนียวร้อยละ 3 รวมในสูตรของนหม และจะมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ประมาณร้อยละ 0.704 ถ้าหากมีการใช้ข้าวเหนียวในระดับสูงร้อยละ 3 และข้าวเจ้าร้อยละ 1 นอกจากนั้นถ้ามีการใช้ข้าวเจ้าร้อยละ 3 และข้าวเหนียวร้อยละ 1 จะทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในช่วง 18 ชั่วโมงของการหมัก ประมาณร้อยละ 0.935 (ดังแสดงในภาพที่ 3).

Table 5. Coded equation of reducing sugars (%) during 48 hours of Nham fermentation with different carbohydrate source using mixed bacterial starter cultures.

Response variable	Coded equation	R ²
RS (6 hours)	= 1,3255 + 0,1292(CR) + 0,0852(SR) - 0,1018(CRSR) + 0,0687(CR) ²	0,9992
RS (12 hours)	= 0,9460 + 0,2118(CR) + 0,0963(SR) - 0,0743(CRSR) - 0,0578(CR) ²	0,9980
RS (18 hours)	= 0,9625 + 0,2118(CR) + 0,0963(SR) - 0,1842(CR) ²	0,9571
RS (24 hours)	= 0,9240 - 0,1788(CR) + 0,0742(SR) - 0,2283 (CR) ²	0,9895
RS (48 hours)	= 0,8580 + 0,1843(CR) + 0,0963(SR) - 0,2448(CR) ²	0,9999

RS = Reducing sugars ; CR = Cooked rice ; SR = Sticky rice

อย่างไรก็ตามในระหว่างการทำหมักได้ 18 ชั่วโมง การใช้แหล่งคาร์โบไฮเดรตทั้งสองในระดับที่สูงร้อยละ 3 ร่วมกันในสูตร จะยังคงมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตเหลืออยู่ค่อนข้างสูงประมาณร้อยละ 2,086 และ การใช้ข้าวเหนียวร้อยละ 3 และข้าวเจ้าร้อยละ 1 ทำให้มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตเหลืออยู่มากกว่าการใช้ข้าวเหนียวเพียงร้อยละ 1 ร่วมกับข้าวเจ้าร้อยละ 3 กล่าวคือ มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตเหลืออยู่ร้อยละ 1,624 และ 1,453 ตามลำดับ (ภาพที่ 3) สาเหตุที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากการที่โครงสร้างของข้าวเหนียวและข้าวเจ้ามีความแตกต่างกัน และข้าวเหนียวมีโครงสร้างที่ซับซ้อนกว่าข้าวเจ้า กล่าวคือ ข้าวเหนียวมีโครงสร้างและการเกาะตัวของกลูโคสแบบ α -1,6-glucosidic linkage ขณะที่ข้าวเจ้ามีการเกาะตัวของกลูโคสแบบ α -1,4-glucosidic linkage มากกว่า จึงทำให้เชื้อสร้างเอนไซม์มาย่อยสลายได้มีประสิทธิภาพที่แตกต่างกัน มีผลทำให้ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่เหลืออยู่แตกต่างกันด้วย.

ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่เหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์จะลดลงเรื่อย ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ $P < 0.01$ ตามการเพิ่มขึ้นของระยะเวลาการหมักทั้งหมด แต่แหล่งข้าวเจ้าและข้าวเหนียวมีผลต่อการคงเหลือปริมาณคาร์โบไฮเดรตในระบบเช่นกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.01$ ดังแสดงในสมการ (Coded equation) และตารางที่ 6.

$$\begin{aligned} \text{Log (Carbohydrate \%)} &= 0,8229 + 0,0524 (\text{Cooked rice}) + 0,0854 (\text{Sticky rice}) \\ &= 0,2650 (\text{Time} + 1)^{1/4} \\ R^2 &= 0,9088 \end{aligned}$$

จากการทดลองปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่เค็มลงไปในสูตรจะถูกเชื้อบิวตทรีน่าไปใช้ในการสร้างกรด ซึ่งสุดท้ายหลัง 48 ชั่วโมงของการหมัก ปริมาณคาร์โบไฮเดรตจะลดลง คงเหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์ ซึ่งไม่ควรเหลืออยู่มากนัก เพราะเชื้อจุลินทรีย์ประเภทอื่นๆ อาจนำไปใช้เป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตเพื่อการเจริญเติบโต โดยเฉพาะเชื้อยีสต์และแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโทษ.

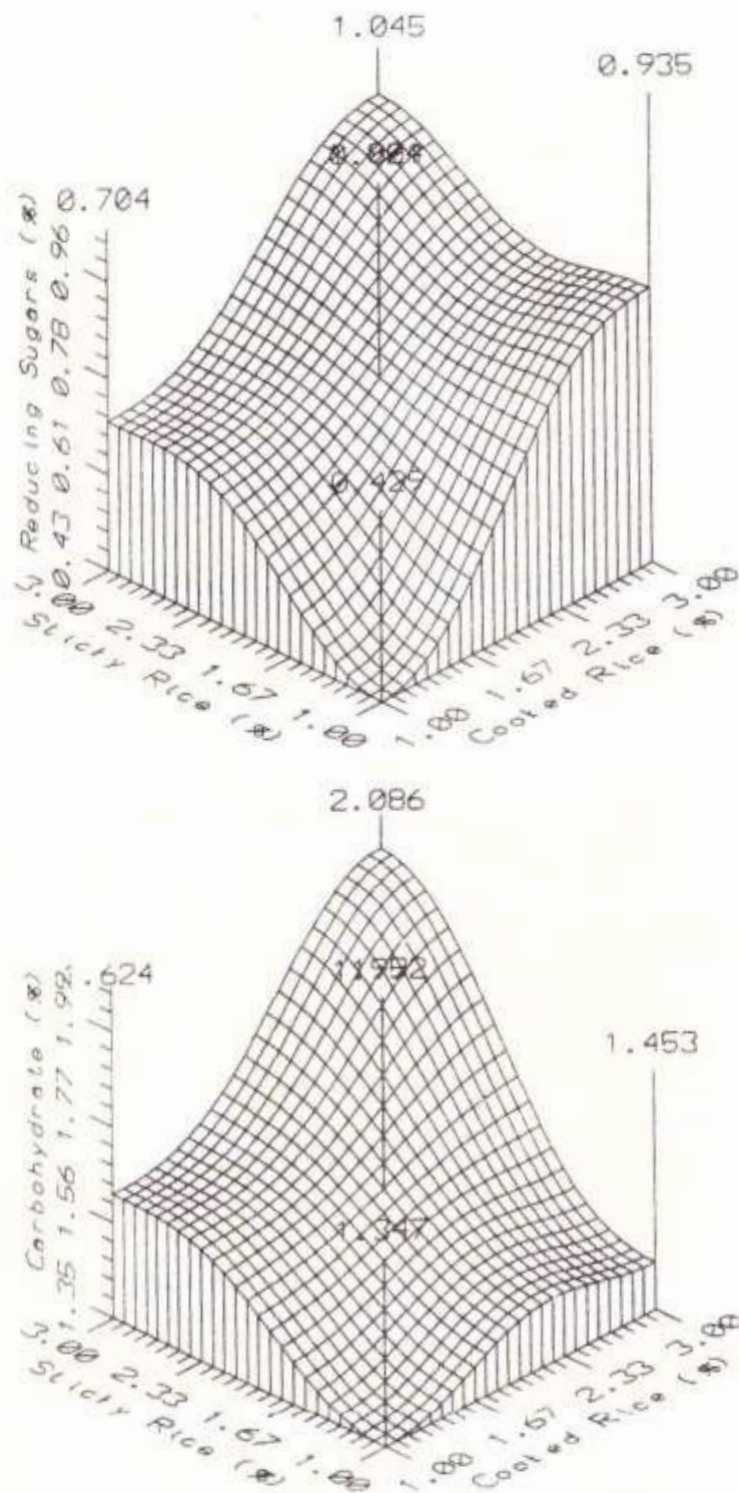


Figure 3 Reducing sugars and carbohydrate content at 18 hours of Nham fermentation by use of mixed bacterial starter cultures (Carbohydrate as main factors).

Table 6. Coded equation of carbohydrate (%) during 48 hours of Nham fermentation with different carbohydrate source using mixed bacterial starter cultures.

Response variable	Coded equation	R ²
CHO (6 hours)	$= 2.3115 + 0.2713(\text{CR}) + 0.3918(\text{SR})$ $+ 0.0933(\text{CRSR}) + 0.5112(\text{CR})^2$	0.9969
CHO (12 hours)	$= 2.0125 + 0.2455(\text{CR}) + 0.6445(\text{SR})$ $+ 0.3940(\text{CR})^2$	0.9998
CHO (18 hours)	$= 1.9260 + 0.1420(\text{CR}) + 0.2275(\text{SR})$ $+ 0.0890(\text{CRSR}) - 0.2985(\text{CR})^2$	0.9946
CHO (24 hours)	$= 1.6194 + 0.2808(\text{SR})$	0.8061
CHO (48 hours)	$= 1.3730 + 0.1407(\text{CR}) + 0.3322(\text{SR})$ $+ 0.0873(\text{CRSR}) + 0.1088(\text{CR})^2$	0.9953

CHO = Residual carbohydrate; CR = Cooked rice; SR = Sticky rice

Table 7. Mean ideal ratio score of Nham after 48 hours of fermentation with different carbohydrate source using mixed bacterial starter cultures.

Attributes	Mean ideal ratio score $\pm$ Standard deviation
Colour	1.15 $\pm$ 0.28
Visual texture	0.94 $\pm$ 0.27
Firmness	0.98 $\pm$ 0.21
Juiciness	0.94 $\pm$ 0.14
Smoothness	0.96 $\pm$ 0.25
Spiciness	0.97 $\pm$ 0.23
Sourness	0.87 $\pm$ 0.19
Saltiness	1.10 $\pm$ 0.32
Overall acceptability	0.86 $\pm$ 0.17

จากการทดสอบทางค่านประสาธน์ของผู้บริโภคที่มีคุณลักษณะต่างๆ ของผลิตภัณฑ์พบว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในลักษณะต่าง ๆ ของแฮมแต่อย่างใด เมื่อมีการใช้แหล่งคาร์โบไฮเดรต ข้าวเจ้า และข้าวเหนียวที่แตกต่างกัน ซึ่งพบว่าทางค่านประสาธน์ของความเปรี้ยวของผลิตภัณฑ์ จะมีค่า Mean ideal ratio score เท่ากับ 0.87 $\pm$ 0.19 และค่าความแน่นเนื้อมีค่าเท่ากับ 0.98 $\pm$ 0.21 ส่วนค่าอื่นๆ ดังแสดงในตารางที่ 7 จะเห็นว่าลักษณะต่างๆ ของผลิตภัณฑ์แฮมมีค่าใกล้เคียงกับลักษณะที่ดีเลิศของผลิตภัณฑ์ คือ 1.00 ในลักษณะเนื้อที่ปรากฏ ความแน่นเนื้อ ความนุ่มเนื้อ ความเ็นเนื้อ นึกลิ้นเครื่องเทศ ความเปรี้ยว ส่วนลักษณะที่ค่อนข้างสูงของลักษณะที่ควรจะเป็นคือ ทางค่านสี และความเค็มของแฮม จากการทดลองครั้งนี้การยอมรับของผู้บริโภครวมต่อผลิตภัณฑ์แฮมมีค่า Mean ideal ratio score ค่อนข้างดี คือ 0.86 $\pm$ 0.17

สรุปผลการทดลอง

แฮมที่ผลิตโดยใช้เทคโนโลยีเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นผสม แหล่งคาร์โบไฮเดรตนับว่ามีความสำคัญต่อการผลิตกรดแลกติกโดยเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าว การใช้ข้าวเจ้าในระดับร้อยละ 3 ร่วมกับการใช้ข้าวเหนียวร้อยละ 1 ในสูตรการผลิตแฮมจะเป็นสูตรที่ค่อนข้างดี ซึ่งมีผลต่อการผลิตกรดแลกติกได้ประมาณร้อยละ 1.03 และ pH ประมาณ 4.36 หลังจากการหมักได้ 48 ชั่วโมงทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพ มีการยอมรับรวมที่ค่อนข้างสูง และมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตเหลืออยู่ค่อนข้างน้อยในผลิตภัณฑ์แฮม.

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ สถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ ที่ได้สนับสนุนการวิจัย มา ณ โอกาสนี้ด้วย.

เอกสารอ้างอิง

- วิจัยาริ, ไพโรจน์. (2535). การวางแผนและการวิเคราะห์ทางค่านประสาทสัมผัส. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- วิจัยาริ, ไพโรจน์ และ หันพงศ์กิตติกุล, อรุณ. (2533, 2535). ปฏิบัติการอุตสาหกรรมการหมัก. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- AOAC. (1984). Official Methods of Analysis (13th ed.) Association of official Analytical Chemists, Washington, D.C.
- Buchanan, R.E., and Gibbons, N.E. (1974). Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. The Williams and Wilkins Compang, Baltimore.
- H-kittikun, A, Wriyacharee, P., and Rujanakraikarn, L. (1988). Nham (Thai fermented pork) making with starter cultures, p. 427-429. In : Proceedings 34th International Congress of Meat Science and Technology. Brisbane, Australia.
- Miller, G.L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Analytical Chemistry, 31:426-428.
- Pearson, D. (1976). The Chemical Analysis of Foods. Churchill Livingstone. London and New York.
- Pezacki, W. (1978). Technological control of dry sausage ripening. VIII. Effect of predrying on the dynamics of carbohydrate changes taking place at the beginning of ripening. Fleischwirtschaft, 58:124-126, 129-132, 135.

Walonick, D.S. (1987). Stat-Packets. Walonick Associates Inc., Minneapolis, MN.

Wriyacharee, 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.

Wriyacharee, P., Brooks, J.D., Earle, M.D., and Page, G. (1990). The improvement of a traditional Thai fermented pork sausage by use of mixed starter cultures. In : Fermentation Technologies: Industrial Applications Conference, Massey University, Palmerston North, New Zealand.
