วารสารเกษตร 4,3 183-196 (2531)
Journal of Agriculture 4,3 : 183-196 (1988)

ผลของเชื้อบริสุทธิ์ต่อคุณภาพของแหนมที่ผลิตในฤดูร้อน

ลักขณา รุจนะไกรกานต์ , อรัญ หันพงศ์กิตติกุล และ ไพโรจน์ วิริยจารี

EFFECT OF PURE STARTER CULTURES ON QUALITY OF FERMENTED PORK (NHAM) PRODUCTION IN THE SUMMER TIME

Lakkana Rujanakraikarn, Aran H. Kittikun and Pairote W. Charee

ABSTRACT : Two sources of Nham (fermented pork) sold in Chiang Mai were bacterilogically and chemically studied. The criteria used to selected lactic acid bacteria from these products for preparation of starter cultures are : fast growing within 24 hours, good production of lactic acid and capable of reducing nitrate. Thirteen isolates were obtained and used in combination of 4-8 isolates as Nham starter cultures in four treatments of Nham produced in summer. Results from chemical, bacterialogical and sensory analysis of these treatments compared with control showed that the colour, flavous, taste, texture and overall characteristics of Nham procuced from starter cultures comparable to that of control Nham. The nitrate, nitrite and nitrosamine contents of these Nham were much below the standard limits. The pH content decreased and the amount of lactic acid increased very rapidly even on the first day of production when stored at 25 degree celcius. Salmonella were detectable in three treatments at the beginning of production. It should be born in mind not to consume Nham when the pH is higher than 4.3. Row materials for preparing Nham must be in good condition so as to the quality control in every step must be taken into account throughout processing. Nham produced from starter cuttures were sensorial evaluated and well accepted.

บทคัดย่อ : ได้ทำการแยกเชื้อแลคติคแอสิคแบคทีเรียจากแหนมที่ผลิตแบบพื้นเมือง ในท้องที่จังหวัดเชียงใหม่

ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50002
Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50002.

สองแหล่งจำนวน 13 สายพันธุ์ที่มีคุณสมบัติสามประการคือ เจริญเติบโตได้รวดเร็วใน 24 ชั่วโมง, สร้างกรดแลคติคได้ดีและสลายสารไนเตรทได้อย่างมีประสิทธิภาพ ได้นำเชื้อทั้ง 13 สายพันธุ์ดังกล่าวมาทำการผลิตแหนมในฤดูร้อนจำนวน 4 การทดลอง โดยสลับเชื้อทั้ง 13 สายพันธุ์นั้น แล้วเปรียบเทียบผลกับตัวอย่างควบคุมที่ผลิตแบบพื้นบ้าน ผลการศึกษาทางเคมี จุลชีววิทยา และด้านประสาทสัมผัส พบว่าแหนมที่ทดลองใช้เชื้อบริสุทธิ์และแหนมตัวอย่างควบคุมมีองค์ประกอบของอาหารใกล้เคียงกัน ปริมาณสารไนเตรท ไนไตรท และไนโตรซามีน ต่ำกว่าปริมาณสูงสุดที่กฎหมายอนุญาตให้มีในอาหารประเภทเนื้อ ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของแหนมทดลองใช้เชื้อบริสุทธิ์ลดลงรวดเร็วและกรดแลคติคเพิ่มขึ้นรวดเร็วมาก แม้วันแรกของการผลิตรวมทั้งตลอดช่วงการเก็บรักษาที่ 25 องศาเซลเซียส พบซาลโมเนลลา (Salmonella) ในบางตัวอย่าง แม้ในช่วงแรกของการผลิต จึงไม่ควรบริโภคแหนมขณะที่ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ยังไม่ลดต่ำกว่า 4.3 วัตถุดิบที่ใช้ทำแหนมควรมีคุณภาพดี และมีการควบคุมการผลิตให้มีสุขาภิบาลที่ดีไปทุกขั้นตอน แหนมที่ใช้เชื้อบริสุทธิ์ทั้ง 4 การทดลอง ให้สี กลิ่น รสชาติ ลักษณะเนื้อสัมผัส และลักษณะรวมที่ดีเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคเช่นเดียวกับตัวอย่างควบคุมที่ผลิตแบบพื้นบ้าน

คำนำ

แหนมเป็นผลิตภัณฑ์จากเนื้อสุกรและเป็นอาหารหมักพื้นบ้าน โดยเฉพาะในแถบจังหวัดภาคเหนือ แหนมได้จากการนำเนื้อหมูมาสับหรือบดให้ละเอียดผสมกับหนังหมูที่ต้มพอสุก และหั่นเป็นชิ้นบาง ๆ รวมทั้งเครื่องเทศพวกกระเทียม พริกไทย พริกขี้หนูสด สารเคมีกันเสียที่ใช้คือ ดินประสิว เกลือ และสารประกอบประเภทฟอสเฟต นอกจากนี้มีการเพิ่มข้าวเหนียวนึ่งสุกเพื่อเป็นแหล่งอาหารคาร์บอนสำหรับเชื้อจุลินทรีย์ในการหมักแหนมดังกล่าว นำส่วนผสมนี้ห่อให้แน่นในสภาพปราศจากอากาศ แล้วบ่มในห้องประมาณ 3-4 วัน ก็สามารถนำมารับประทานได้ การบริโภคแหนมอาจบริโภคโดยตรงหรือทำให้สุกโดยการทอดหรือนึ่ง แหนมที่ได้มีรสเปรี้ยว ซึ่งเกิดจากจุลินทรีย์ซึ่งสร้างกรดแลคติค (Lactic acid bacteria) ขึ้นมา จุลินทรีย์ที่พบส่วนใหญ่ เป็นพวก *Pediococcus sp., Lactobacillus plantarum, Lactobacillus brevis* เป็นต้น การผลิตแหนมในปัจจุบันเป็นแบบอุตสาหกรรมในครัวเรือน มีการใช้สูตรเฉพาะในแต่ละแห่ง การหมักเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ ซึ่งมีผลให้คุณภาพด้านกลิ่น รส และลักษณะเนื้อสัมผัสของแต่ละแหล่งแตกต่างกันออกไป ทั้งนี้เนื่องจากจุลินทรีย์พวกแลคติคนั้นมีมากมายหลายสายพันธุ์ในช่วงการเจริญและระหว่างการหมักแหนม ซึ่งมีผลต่อคุณภาพของแหนมที่ผลิตขึ้นนั้น

ในระยะแรกของการหมักแหนม จะมีจุลินทรีย์พวก *Pediococcus sp.* เจริญขึ้นมาก ทำให้เปอร์เซนต์ความเป็นกรดสูงขึ้น และต่อมาจะพบจุลินทรีย์พวก *Lactobacillus sp.* เปอร์เซนต์กรดจะเพิ่มขึ้นและ pH จะลดต่ำลงอีก(คำนวนตา, 2509) การศึกษาถึงจุลินทรีย์ที่เกิดระหว่างการทำแหนม และพบพวกแลคติคแอสิคแบคทีเรียในสามวันแรกของการหมักได้แก่ *Pediococcus sp.* และ *P. cerevisiae* เจริญอย่างรวดเร็ว ในวันที่สี่ของการหมักพบว่ามีกรดสูงกว่า 0.5 เปอร์เซนต์ ในระยะหลังของการทดลองจะมีจุลินทรีย์น้อยมาก และตรวจพบ *L. plantarum* กับ *L. brevis* เป็นส่วนใหญ่ ส่วนยีสต์ที่พบเมื่อนำแหนมที่เสียแล้วจากตลาดมาศึกษาพบยีสต์พวก *Candida sp.* (เตชะ ภิญญาวัฒน์, 2518) ในการศึกษาเกี่ยวกับแหนมที่ผ่านการฉายรังสี พบว่ารังสี 0.4 ล้านแรด (rad)สามารถทำลายเชื้อ Salmonella ได้ทุกชนิด สำหรับแหนมที่วางขายในท้องตลาดจะพบ Sal-

monella ไม่เกิน 100 โคโลนีต่อกรัม การใช้รังสีแกมม่าในการถนอมอาหารพวกแหนมพบว่า 0.2 ล้านแรดก็เพียงพอ ส่วนการใช้ 0.3 ล้านแรดไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงด้านสี กลิ่น และรสของแหนมแต่อย่างใด (เลาห์เรณู และ นุชประมูล, 2515)

การศึกษาโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ในรูปเชื้อบริสุทธิ์ อาจเป็นแนวทางในการพัฒนาคุณภาพแหนมให้มีความสม่ำเสมอทั้งด้านกลิ่น รสชาติ ลักษณะเนื้อสัมผัส ซึ่งจะเป็นแนวทางนำไปสู่อุตสาหกรรมการผลิตแหนมขนาดใหญ่ในอนาคตได้ หากมีการควบคุมคุณภาพและวิธีการผลิตทุกขั้นตอนเป็นอย่างดี

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. ได้ทำการทดลองโดยการสุ่มตัวอย่างแหนมจากตลาดเชียงใหม่สองแห่ง นำมาเก็บที่อุณหภูมิห้อง แล้วศึกษาทั้งด้านจุลชีววิทยา และเคมีในวันที่ 0, 1, 2, 3, 4, 6 และ 10 กับ 0, 2, 4, 6 และ 10 ตามลำดับ แล้วทำการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์จากตัวอย่างแหนมทั้งสองแห่งนั้น ซึ่งเป็นแลคติคแอลิคแบคทีเรีย การคัดเลือกเชื้อดูจากคุณสมบัติสามประการ ได้แก่
   ก. สามารถเจริญเติบโตได้ใน 24 ชั่วโมง
   ข. สร้างกรดแลคติคได้รวดเร็ว
   ค. สลายไนเตรทได้ดี

2. นำเชื้อที่คัดเลือกได้แล้วนั้นมาเพาะในอาหาร MRS ซึ่งมีส่วนประกอบต่างๆ ดังต่อไปนี้ (ปริมาณต่อลิตร)

Peptane	10.00	กรัม
Meat extract	5.00	กรัม
Yeast extract	5.00	กรัม
D (+) glucose	20.00	กรัม
Di-potassium hydrogen phosphate	2.00	กรัม
Polyoxyethylene sorbitan mono-oleate	1.00	กรัม
Di-amnonium hydrogen citrate	2.00	กรัม
Sodium acetate	5.00	กรัม
Magnesium sulphate	0.10	กรัม
Manganese sulphate	0.05	กรัม

ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 24 ชั่วโมงที่ 30° ซ. จึงเตรียมเชื้อที่เพาะไว้นี้ โดยการนำไปปั่นที่ 7,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที

3. เตรียมทำแหนมหน้าร้อนตามวิธีพื้นบ้าน ดังสูตรต่อไปนี้

เนื้อหมูส่วนเนื้อแดง (บด)	1,000.0	กรัม
หนังหมูต้มและหั่นบาง	1,000.0	กรัม
เกลือป่น	30.0	กรัม
กระเทียม	100.0	กรัม
ดินประสิว (KNO_3)	0.2	กรัม
ข้าวเหนียว (นึ่งสุก)	70.0	กรัม
พริกไทย	0.5	กรัม
สารประกอบฟอสเฟต	3.0	กรัม

เมื่อเตรียมแหนมตามสูตรข้างต้นนี้แล้วใส่เชื้อที่เตรียมจากกรรมวิธีในข้อ 1 และ 2 ที่กล่าวมาแล้ว โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์จาก 13 สายพันธุ์ที่คัดเลือกไว้ โดยสลับเชื้อกันในแหนมแต่ละ Treatment ในปริมาณ 10^8 ต่อกรัมของเนื้อ ในการทดลองทำ 4 Treatments รวมกับแหนมที่ผลิตแบบพื้นบ้าน (Control) รวมเป็น 5 Treatments เมื่อใส่เชื้อแล้วทำการคลุกเคล้าเครื่องปรุง ต่าง ๆ ให้ดี ต่อจากนั้นบรรจุในหลอดพลาสติกปิดให้แน่นปราศจากอากาศ นำไปเก็บในอุณหภูมิห้อง 3 วัน ก่อนจะนำไปรับประทาน

แหนมที่ผลิตแบบพื้นบ้านและใช้เชื้อบริสุทธิ์ (Starter culture) ทั้ง 5 การทดลองนั้นได้แก่

T_1 = แหนมที่ผลิตแบบพื้นบ้าน (ตัวอย่างควบคุม = Control)

T_2 = แหนมที่ผลิตโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์ผสม 5 สายพันธุ์ได้แก่ จุลินทรีย์เบอร์ 1232, 1202 A, 1202 B, 1333 A และ 1333 B

T_3 = แหนมที่ผลิตโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์ผสม 8 สายพันธุ์ได้แก่ จุลินทรีย์เบอร์ 2228, 2214, 2233 A, 2233 B, 2325 A, 2325 B, 2337 และ 2333

T_4 = แหนมที่ผลิตโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์ผสม 5 สายพันธุ์ ได้แก่จุลินทรีย์เบอร์ 1232, 1202 A, 1202 B, 2233 A และ 2233 B

T_5 = แหนมที่ผลิตโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์ผสม 4 สายพันธุ์ได้แก่ จุลินทรีย์เบอร์ 2228, 2214, 1333 A และ 1333 B

4. ทำการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทั้งด้านเคมีและจุลชีววิทยาที่เกิดขึ้นในช่วงการหมักในอุณหภูมิห้องจนได้ที่ (3-4 วัน) และครบ 10 วัน

5. ทำการทดสอบด้านประสาทสัมผัส (Sensory evatuation) ด้านสี, กลิ่น, รสชาติ ลักษณะเนื้อสัมผัส และลักษณะรวมของแหนมทั้งสองชนิด แล้วนำข้อมูลมาสรุปผล

ผลการคัดเลือกจุลินทรีย์เพื่อใช้ในการเตรียมแหนมมีลักษณะต่าง ๆ ดังนี้

Lactic acid bacteria (No.)	gram + bacteria	growth rate by measuring O.D. at 550 nm.	pH	ability of starter culture to reduce NO_3 - NO_2
1232	rod	8.5	4.00	+ + +
1202 A	rod	5.4	4.15	-
1202 B	coccus			
1333 A	rod	9.0	3.39	+ +
1333 B	coccus			
2214	coccus	7.2	4.13	-
2228	rod	9.5	3.95	+ + +
2233 A	rod	9.0	3.83	+ + + +
2233 B	coccus			
2325 A	rod	6.6	4.04	-
2325 B	coccus			
2333	coccus	7.0	4.14	+
2337	rod	8.5	3.94	+

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการศึกษาทางเคมีและจุลชีววิทยาของแหนมฤดูร้อนที่ผลิตในท้องที่จ.เชียงใหม่สองแห่ง แล้วทำการแยกเชื้อบริสุทธิ์จำนวน 13 สายพันธุ์ดังกล่าวข้างต้น เพื่อใช้ในการเตรียมแหนมทดลองหน้าร้อน 4 การทดลอง (T2, T3, T4 และ T5) กับตัวอย่างควบคุมที่ผลิตแบบพื้นบ้าน (T1 = Control) แล้วศึกษาการเปลี่ยนแปลงทั้งด้านเคมี, จุลชีววิทยา ในแหนมทดลองทั้ง 4 การทดลอง โดยเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ผลิตแบบพื้นบ้าน ผลปรากฏว่าองค์ประกอบทางเคมีของแหนมฤดูร้อนที่ผลิตในท้อง ตลาดเชียงใหม่ทั้งสองแห่ง (ตารางที่ 1 และ 2) มีค่าใกล้เคียงกัน กล่าวคือ มีน้ำอยู่ร้อยละ 63.5-70.3, ไขมัน 3.1-3.45, โปรตีน 18.65-19.5 และเถ้า 3.1-3.45 ตามลำดับ ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่มีในเนื้อและจากข้าวซึ่งเพิ่มเข้าไปเพื่อเป็นแหลงคาร์บอนในแหนมตัวอย่าง A มีสูงกว่า B ถึง สองเท่าเศษ ส่วนค่าวิเคราะห์ที่ได้จากแหนมทดลองทั้งสี่และตัวอย่างควบคุมมีค่าใกล้เคียงกันมาก (ตารางที่ 3) แม้ปริมาณไขมันในแหนมทดลองและตัวอย่างควบคุมมีค่าสูงกว่าแหนมจากท้องตลาดแต่ปริมาณคาร์โบไฮเดรตหรือ Filler ที่เพิ่มไปในแหนมเพื่อเป็นการลดต้นทุนการผลิตมีในปริมาณ สูงกว่าแหนมทดลองใส่เชื้อบริสุทธิ์และตัวอย่างควบคุม ค่าความเป็นกรดและด่าง และค่าร้อยละของกรดแลคติคในแหนมจากท้องตลาด ในวันแรกของการผลิต (0 วัน) เมื่อเทียบกับค่าที่ได้จากแหนมทดลองใส่เชื้อและตัวอย่างควบคุม จะเห็นว่าค่าทั้งสองที่

Table 1. Proximate Compositions of the two references of Nham sold in Chiang Mai.

Samples	Water (%)	Protein (%) (NX6.25)	Fat (%)	Ash (%)	Carbohydrates (%)
A	63.50	18.65	3.45	3.45	10.95
B	70.30	19.48	3.10	3.10	4.02

Table 2. pH and acidity (as lactic acid) of the two references of Nham sold in Chiang Mai.

Samples	pH and acidity \ days of storage	0	2	4	6	10
A	pH	6.35	4.63	4.05	4.00	3.90
	Acidity (% lactic acid)	0.74	1.00	1.90	1.98	2.00
B	pH	6.06	4.28	4.03	3.96	3.95
	Acidity (% lactic acid)	0.90	1.84	1.90	1.96	1.98

Table 3. Proximate Compositions of Nham made by using mixed starter cultures isolated from local market Nham.

Samples	Water (%)	Protein (%) (NX6.25)	Fat (%)	Ash (%)	Carbohydrates (%)
T_1 (Control)	67.92	23.19	5.92	2.13	0.84
T_2	68.15	23.59	5.74	2.40	0.12
T_3	68.56	22.66	5.12	2.24	1.42
T_4	68.63	22.86	5.56	2.16	0.79
T_5	69.25	22.20	5.26	2.05	1.24

ได้จากการวิเคราะห์ในแหนมทดลองใส่เชื่อมีค่าลดลงเร็วมากหรือกรดแลคติคมีปริมาณมากกว่าค่าที่ได้จากแหนมตัวอย่างควบคุม และแหนมจากท้องตลาดอย่างเห็นได้ชัด

แต่ตลอดช่วงการเก็บจนครบ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °ซ นั้นค่าความเป็นกรดเป็นด่างลดลงอย่างสม่ำเสมอในทุกตัวอย่างและค่าใกล้เคียงกัน (ตารางที่ 5) จากตารางที่ 4 จะเห็นว่าปริมาณไนเตรท (คำนวณจากปริมาณโซเดียมไนเตรท) ในตัวอย่างแหนมควบคุมมีมากกว่าตัวอย่างที่ใส่เชื้อ ทั้งนี้เมื่อพิจารณาจากค่าวิเคราะห์ใน 0 และ 2 วัน ซึ่งก็เป็นผลจากเชื้อบริสุทธิ์ที่เพิ่มไปในแหนมทดลอง โดยเชื้อจะไปทำให้สารไนเตรทเปลี่ยนไปนั่นเอง แต่ค่าดังกล่าวไม่พบในตัวอย่างแหนมทดลองที่ 3 และ 4 แม้ในวันแรกของการผลิตไม่พบสารไนไตรท (คำนวณจากปริมาณโซเดียมไนไตรท) ในทุกตัวอย่าง แหนมทดลองรวมทั้งตัวอย่างควบคุมแม้ในวันแรกของการผลิต แต่ในแหนมทดลองที่ 3 (T4) พบโซเดียมไนไตรท 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม อย่างไรก็ตามค่าทั้งสองที่พบมีค่าต่ำกว่าปริมาณสูงสุดที่กฎหมายอนุญาตให้มีอยู่ในอาหารประเภทเนื้อ สารไนเตรทจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์ในสภาพปราศจากอากาศ ส่วนสารไนไตรทนั้นจะไปรวมกับรงควัตถุในเนื้อหรือมัยโอโกลบิน ให้ได้สีที่ดูน่ารับประทาน สำหรับปริมาณไนโตรซามีนในทุกตัวอย่างที่ผลิตในวันแรกนั้นไม่พบในตัวอย่างแหนมควบคุม, แหนมทดลองที่หนึ่ง, สอง และสี่ แต่พบในปริมาณ 0, 11 ppb. ในแหนมทดลองที่ 3 แต่เมื่อตรวจในวันที่ 2 พบว่าแหนมทุกตัวอย่างที่ผลิตมีค่าไนโตรซามีนในช่วง 0.95-2.19 ppb. ซึ่งนับว่าต่ำกว่าปริมาณสูงสุดที่กฎหมายอนุญาตให้มีในอาหารประเภทเนื้อที่หมักด้วยสารเคมี การบริโภคแหนมดังกล่าวจึงนับว่าน่าจะอยู่ในระดับที่ปลอดภัย

การตรวจคุณภาพทางจุลชีววิทยาในแหนมฤดูร้อนที่ผลิตขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างจากท้องตลาดเชียงใหม่ จะเห็นว่าปริมาณ Mesophilic aerobic bacteria ต่อกรัม ในแหนมตัวอย่างจากตลาดเชียงใหม่มีค่า 2.87×10^8 และ 8.4×10^7 ในวันแรกของการผลิต ทั้งนี้จากการเก็บที่ 30 ซ. แต่ในแหนมควบคุมและใส่เชื้อบริสุทธิ์ทั้ง 5 ตัวอย่างมีปริมาณ 1.1×10^9, 7.3×10^8, 3.8×10^8, 5.1×10^8 และ 6.9×10^8 ตามลำดับ (ตารางที่ 6, 7) ปริมาณจุลินทรีย์ดังกล่าวมีแนวโน้มลดลงเมื่อเก็บแหนมนานขึ้น ปริมาณแลคติคแอสิคแบคทีเรียในแหนมตัวอย่างจากตลาดเชียงใหม่เมื่อเก็บที่ 30 °ซ ครบสามวันมีปริมาณ 7.3×10^8 และ 8.03×10^8 ตามลำดับ ส่วนแหนมทดลองซึ่งมีแหนมตัวอย่างควบคุมและตัวอย่างที่ใส่เชื้อบริสุทธิ์ทั้ง 4 ตัวอย่างมีปริมาณ 3.2×10^8, 2.00×10^8, 3.0×10^8, 2.02×10^8 และ 9.0×10^8 ตามลำดับซึ่งเป็นปริมาณสูงสุดในช่วงตลอดเวลาการเก็บ ซึ่งแหนมทดลองจะใช้รับประทานได้รสชาติดีในช่วงนี้ หลังจากนั้นปริมาณจะลดลง เมื่อเก็บแหนมนานขึ้น นอกจากนี้ได้ตรวจพบแบคทีเรียที่เป็นดัชนีทางสุขาภิบาลอาหารได้แก่ *E. Coli* และ *Cl. perfringens* ในแหนมทดลองทุกตัวอย่าง ทั้งนี้จากการตรวจที่ 0 และ 2 วัน (ตารางที่ 7) และพบ Food poisoning bacteria พวก Salmonella จำนวน 3 Species ที่แตกต่างกันในวันที่ 0 ในตัวอย่างแหนมทดลองที่ 2, 3 (T3, T4) และตัวอย่างควบคุม (T1) ซึ่งมี *S. binga, S. London* และ *S. anatum* ตามลำดับ จุลินทรีย์ทั้งสามดังกล่าวน่าจะมาจากแหล่งที่แตกต่างกันด้วย

จากตารางที่ 8 ได้ทำการทดลองซ้ำเพื่อศึกษาถึงอายุการเก็บของแหนมโดยที่ขณะค่าความ

Table 4. Nitrite ($NaNO_2$), nitrate ($NaNO_3$) and nitrosamines in Nham made by using mixed starter cultures.

Samples	days of storage	$NaNO_2$ ppm	$NaNO_3$ ppm	nitrosamines (ppb)					
				NDMA	NDEA	NDBA	NPIP	NPYR	Total
T1 (control)	0	undetectable	17.44	-	-	-	-	-	undetectable
	2	"	33.83	-	-	-	-	1.23	1.23
T2	0	"	5.59	-	-	-	-	-	-
	2	"	26.54	-	-	-	-	0.95	0.95
T3	0	"	8.26	-	-	-	-	-	undetectable
	2	"	21.98	-	-	-	-	1.15	1.15
T4	0	"	undetectable	-	-	-	0.11	-	0.11
	2	0.20	10.75	-	-	-	-	1.39	1.39
T5	0	undetectable	undetectable	-	-	-	-	-	undetectable
	2	-	-	-	-	-	-	2.19	2.19

NDMA = N - Nitroso dinethylamine
NDEA = N - Nitroso diethylamine
NDBA = N - Nitroso dibuthylamine
NPIP = N - Nitroso piperidine
NPYR = N - Nitroso pynolimine

เป็นกรดเป็นด่างลดลงเรื่อย ๆ นั้น จะมีผลต่อปริมาณจุลินทรีย์ต่าง ๆ อย่างไรบ้าง ซึ่งพบว่าทุกตัวอย่างมีจุลินทรีย์พวก *E. Coli* และ *Cl. perfringens* ซึ่งพวกแรกมีตั้งแต่ 4.6 x 10^2 ถึงมากกว่า 1.1 x 10^5 , ชนิดหลังมีตั้งแต่ 3 ถึง 530 แสดงถึงแนวโน้มลดลงจากเมื่อแรกผลิตจนถึงเมื่อเก็บครบสามวัน สำหรับ Salmomella นั้นพบในทุกตัวอย่างที่ผลิต โดยเฉพาะในช่วงแรกของการผลิต

ตัวอย่างแหนมทดลองที่ 1, 2 และ 3 (T2, T3 และ T4) มี *S. agona* แต่แหนมตัวอย่างควบคุมตรวจพบ *S. agona* และ *S. derby* แต่เมื่อเก็บแหนมถึงวันที่ 3 และ 7 จะไม่พบ *S. agona* ในตัวอย่างแหนมทดลองยกเว้นในตัวอย่างแหนมควบคุมที่พบ *S. agona* ในวันที่ 3 ของการผลิต จะเห็นได้ว่า ตัวอย่างแหนมที่ไม่พบ Salmonella ล้วนมีค่าความเป็นกรดเป็นด่าง น้อยกว่า 4.3 ทั้งสิ้น แสดงว่าขณะที่ค่าความเป็นกรดเป็นด่างลดต่ำลง หรือปริมาณกรดแลคติคในขณะเพิ่มขึ้นนั้น แต่ปริมาณแลคติคแอสิคแบคทีเรียจะไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก หลังการผลิตแหนมได้ 1 ถึง 10 วัน จะเห็นว่าแลคติคแอสิคแบคทีเรียมีการเปลี่ยนแปลงประมาณ 1 log. count และค่าความเป็นกรดเป็นด่างจะลดลงโดยเฉลี่ย 0.34

Table 5. pH and acidity (as lactic acid) of Nham made by using mixed starter cultures.

Samples \ days of storage	pH and acidity	0	1	2	6	10
T1 (control)	pH	6.31	4.66	4.26	4.2	4.1
	Acidity (%) (as lactic acid)	0.41	0.90	1.62	1.6	1.98
T2	pH	6.18	4.68	4.34	4.2	3.9
	Acidity (%) (as lactic acid)	0.54	0.72	1.26	1.3	1.9
T3	pH	5.65	4.52	4.52	4.1	3.9
	Acidity (%) (as lactic acid)	0.63	0.91	1.31	1.3	1.9
T4	pH	5.91	4.65	4.52	4.0	3.9
	Acidity (%) (as lactic acid)	0.585	0.75	1.53	1.6	1.98
T5	pH	5.08	4.28	4.29	4.25	4.0
	Acidity (%) (as lactic acid)	0.72	1.20	1.62	1.9	1.9

ผลการทดสอบด้านประสาทสัมผัส (ตารางที่ 9) จากผู้ทดสอบชิมจำนวน 30 คน ในแหนมทดลองทั้งสี่การทดลองโดยเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ผลิตแบบพื้นบ้าน โดยให้ผู้ทดสอบชิมให้คะแนนการยอมรับจาก 1-5 คะแนน ในด้านของสี กลิ่น รสชาติ ลักษณะเนื้อสัมผัส และลักษณะรวมผลปรากฏว่า แหนมทดลองใส่เชื้อบริสุทธิ์ทั้งสามการทดลองนั้น (T2, T3 และ T4) ผลการยอมรับในทุกด้านไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) แต่แหนมที่ใส่เชื้อเบอร์ 2228, 2214, 1333 A และ 1333 B นั้นให้ผลทางด้านประสาทสัมผัสทุกด้านแตกต่างจากแหนมใส่เชื้อ 3 การทดลองข้างต้น แต่เมื่อเปรียบเทียบกับแหนมควบคุมที่ผลิตแบบพื้นบ้าน (T 1) นั้นพบว่าการยอมรับไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P>0.01$)สรุปคือ แหนมทดลองที่ใส่เชื้อบริสุทธิ์ให้แหนมที่ให้ลักษณะทั้งสี, กลิ่น, รสชาติ, ลักษณะเนื้อสัมผัส และลักษณะรวมเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค โดยเฉพาะแหนมที่ใช้เชื้อบริสุทธิ์ในตัวอย่างแหนมทดลองที่ 4 (T5) นั้นจำเป็นต้องปรับปรุงด้านสีให้ดีขึ้น ซึ่งน่าจะเป็นผลจากการคัดเลือกเชื้อ

สรุปผลการทดลอง

แหนมทดลองที่ผลิตในฤดูร้อนโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์จำนวน 13 สายพันธุ์ที่แยกได้จากแหนมใน

Table 6. Mesophilic aesobic bacteria, Lactic acid bacteria and types of Lactic acid bacteria isolated from the two references of Nham sold in Chiang Mai.

Samples	Days of storage	Mesophilic aerobic bacteria per gram	Lactic acid bacteria per gram	gram +ve bacteria	
				rod	coccus
A	0	2.87×10^8	1.55×10^8	94.0	6.0
	1	1.39×10^9	--	-	-
	2	2.43×10^9	1.44×10^9	78.0	22.0
	3	2.64×10^9	1.12×10^9	67.0	33.0
	4	9.35×10^8	7.53×10^8	50.0	50.0
	6	1.16×10^9	9.17×10^8	76.0	24.0
	10	2.97×10^8	2.80×10^8	70.0	30.0
B	1	4.07×10^7	-	-	-
	2	2.14×10^9	8.80×10^8	85.0	15.0
	3	1.09×10^9	1.20×10^9	33.0	67.0
	4	8.60×10^8	8.03×10^8	76.0	24.0
	6	7.23×10^8	7.90×10^8	91.0	9.0
	10	3.39×10^8	3.63×10^8	96.0	4.0

ท้องตลาด โดยสลับเชื้อทั้ง 13 สายพันธุ์ในการเตรียมแหนม 4 การทดลอง และเปรียบเทียบกับแหนมที่ผลิตแบบพื้นบ้าน การศึกษาทางเคมี จุลชีววิทยา และการทดสอบด้านประสาทสัมผัส พบว่าแหนมทดลองใช้เชื้อบริสุทธิ์ให้คุณค่าทางอาหารใกล้เคียงกับแหนมที่ผลิตแบบพื้นบ้าน ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ลดต่ำลงรวดเร็วมากแม้ในวันแรกของการผลิต ปริมาณไนเตรท ไนไตรท และไนโตรซามีน ต่ำกว่าค่าสูงสุดที่กฎหมายอนุญาตให้มีในอาหารหมักด้วยสารเคมี ปริมาณแลคติคแอสิคแบคทีเรียมีสูงสุดในทุกตัวอย่างแหนมทดลองเมื่อผลิตครบสามวัน นอกจากนี้ยังตรวจพบจุลินทรีย์ที่เป็นดัชนีทางสุขาภิบาลอาหาร รวมทั้ง Salmonelle (food poisoning bacteria) อย่างไรก็ตาม ผู้บริโภคแหนมดิบที่มีค่าความเป็นกรดเป็นด่างสูงกว่า 4.3 ย่อมเสี่ยงต่อการเจ็บป่วยเนื่องจากเชื้อ Salmonella เนื้อหมูที่ใช้ในการผลิตแหนมควรได้จากโรงฆ่าสัตว์ที่ถูกสุขลักษณะ ผ่านการตรวจซากและควรระมัดระวังการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในทุกขั้นตอนการผลิต แหนมทดลองใส่เชื้อ บริสุทธิ์ส่วนใหญ่ให้สี กลิ่น รสชาติ ลักษณะเนื้อสัมผัส และลักษณะรวม เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค มีบางตัวอย่างที่ต้องปรับปรุง ซึ่งคณะผู้วิจัยได้ศึกษาการผลิตแหนมโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์ในฤดูหนาวด้วย เพื่อเปรียบเทียบกับแหนมที่ผลิตในฤดูร้อน ผลการวิจัยจะได้นำเสนอในโอกาสต่อไป

Table 7. Bacteriological analysis of Nham made by using mixed starter cultures.

Samples	days of storage	Mesophilic aerobic bacteria per gram	Lacic acid bacteria per gram	% gram stained		MPN:g *E.coli*	MPN:g *C.per-fringens*	*Staph aureus.g*	Salmonella in 25 g	Ye + Vc in 25 g
				+ve rod	+ve coccus					
T1 (control)	0	1.10×10^9	5.80×10^8	100	-	1100	200	<100	*S.anatum*	undetectable
	2	3.60×10^8	7.60×10^8	72	28	1100	1100	<100		-
	4	1.00×10^8	3.20×10^8	100	-	-	-	-	-	-
	6	2.00×10^8	2.33×10^8	100	-	-	-	-	-	-
	10	9.00×10^7	8.00×10^7	100	-	-	-	-	-	-
T2	0	7.30×10^8	2.90×10^8	50	50	1100	1100	<100	undetectable	undetectable
	2	5.00×10^8	4.60×10^7	46	54	1100	460	<100	-	-
	4	6.50×10^8	2.00×10^8	84	16	-	-	-	-	-
	6	1.07×10^8	1.20×10^8	100	-	-	-	-	-	-
	10	1.37×10^8	1.50×10^8	93	7	-	-	-	-	-
T3	0	3.80×10^8	1.50×10^7	67	33	1100	1100	<100	*S.binga*	undetectable
	2	4.20×10^8	5.50×10^6	100	-	1100	1100	<100		-
	4	1.50×10^8	3.00×10^8	100	-	-	-	-		-
	6	2.10×10^8	1.80×10^8	86	14	-	-	-	-	-
	10	1.70×10^8	1.50×10^8	100	-	-		-	-	-

Table 7. Bacteriological analysis of Nham made by using mixed starter cultures. (cont.)

Samples	days of storage	Mesophilic aerobic bacteria per gram	Lacic acid bacteria per gram	% gram stained		MPN:g *E.coli*	MPN:g *C.per-fringens*	*Staph aureus.g*	Salmonella in 25 g	Ye + Vc in 25 g
				+ve rod	+ve coccus					
T4	0	5.10×10^8	8.00×10^6	100	-	1100	1100	<100	*S.london*	undetectable
	2	1.00×10^9	6.40×10^6	100	-	1100	1100	<100	-	-
	4	2.00×10^8	2.02×10^8	-	-	-	-	-	-	-
	6	1.80×10^8	1.70×10^8	100	-	-	-	-	-	-
	10	1.90×10^7	1.70×10^7	100	-	-	-	-	-	-
T5	0	6.90×10^8	2.70×10^7	100	-	1100	1100	<100	undetectable	undetectable
	2	3.90×10^8	4.90×10^6	89	11	1100	7.3	<100	-	-
	4	6.70×10^8	9.00×10^8	100	-	-	-	-	-	-
	6	2.87×10^8	3.10×10^8	90	10	-	-	-	-	-
		2.37×10^8	1.90×10^8	100	-	-	-	-	-	-

Table 8. Bacteriological analysis of Nham made by using mixed starter cultures.

Samples	days of storage	Mesophilic aerobic bact:g	lactic acid bact:g	*E.coli* MPN : g	*Staph aureus* per gram	*C.per-fringens* MPN : g	Salmonella in 25 g	Ye & Vc in 25 g	pH
T1 (control)	0	2.0×10^8	2.0×10^8	1.1×10^4	4.2×10^3	5.3×10^2	*S.agona*	undetectable	-
	1	-	3.3×10^8						
	3	-	2.6×10^8	1.5×10^4	100	2.4×10^2	*S.agona*	undetectable	4.30
	7	1.2×10^8	3.1×10^7	4.6×10^4	100	3	undetectable	"	4.20
	10	-	2.0×10^8	-	-	-	-	-	4.25
T2	0	5.6×10^8	3.6×10^8	1.1×10^4	100	9.3 x 10	*S.agona*	undetectable	-
	1		4.0×10^8						4.55
	3		2.5×10^7	9.3×10^4	100	3.6	undetectable	undetectable	4.15
	7	2.1×10^8	6.7×10^7	1.1×10^5	100	9.1	"	"	4.15
	10		4.0×10^8	-					4.15
T3	0	$9{,}7 \times 10^8$	1.1×10^9	2.9×10^3	100	9.3 x 10		undetectable	
	1		5.2×10^8	-			*S.agona*		4.50
	3		3.4×10^8	2.1×10^4	100	3.6		"	4.15
	7	3.7×10^8	2.0×10^7	4.4×10^3	100	3.6	undetectable	"	4.15
	10		4.8×10^8	-					4.20
T4	0	3.9×10^8	2.5×10^8	1.1×10^4	100	4.6×10^2	*S.agona*	undetectable	-
	1		4.4×10^8	-					4.50
	3		2.1×10^8	2.4×10^4	100	3.6	undetectable	undetectable	4.25
	7	6.7×10^8	3.3×10^8	9.3×10^3	100	9.1	"	"	4.15
	10		4.2×10^8	-					4.15

Table 9. Mean values of sensory evaluation of Nham made by using mixed starter cultures. (from 30 panels.)

Samples	Color	Flavor	Taste	Texture	Overall acceptability	
T1 (control)	3.29	2.61	2.87	3.19	2.96	5 = very good
T2	3.80	3.38	3.42	3.58	3.61	4 = good
T3	3.71	3.06	3.45	3.52	3.35	3 = acceptable
T4	3.10	3.26	3.32	3.45	3.61	2 = not v. good
T5	2.35	2.90	2.87	2.93	2.90	1 = very poor

เอกสารอ้างอิง

คำนวนตา, จรูญ. (2509). การค้นคว้าเรื่องแหนมไทยตอนที่หนึ่งว่าด้วยจุลินทรีย์ที่เป็นตัวการในแหนม วิทยานิพนธ์ปริญญาตรี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร.

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 84 (2527). เรื่องวัตถุเจือปนอาหาร.

เลาห์เรณู, ไพศาล และโกวิทย์ นุชประมูล. (2515). การถนอมอาหารพวกแหนมโดยการฉายรังสี. รวมบทคัดย่อการประชุมทางวิชาการเกษตรศาสตร์และชีววิทยา สาขาพืช ครั้งที่ 11. กรุงเทพมหานคร.

รุจนะไกรกานต์, ลักขณา. อรัญ หันพงศ์กิตติกูล และไพโรจน์ วิลัยจารี. (2527). การพัฒนาผลิตภัณฑ์แปรรูปอาหารพื้นบ้านและอาหารหมักจากเนื้อสุกรเพื่อส่งออก. งานวิจัยประเภทเร่งด่วน สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ประจำปี พ.ศ.2527.

เตชะภิญญาวัฒน์, สมบุญ. (2518). การศึกษาจุลินทรีย์ที่เป็นตัวการในระหว่างการทำแหนม. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร.

A. O. A. C. (1980). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical chemists. William Horwitz. (Editor.) 12th edition. Association of official Analytical Chemists., Washington.

Brchanan, E.R.E., Gibbon, N.E., Cowan, S.T. Hott, J.G., Liston, J., Murray, R.G.G., Niven, C.E., Ravin, A.W. and Stamler, R.V. (1974). Bergey's Manual of Determinative Bacterilogy. William and Wilkins Co. Balkins Co. Baltimore, U.S.A.

Ockerman, W.H. (1973). Chemistry of Meat Tissue. Dept. of Animal Science. The Ohio State Univ. and the Ohio Agricuttural Research and Development Centre.

Oldfield, S. (1984). Meat Processing, Manufactind Meatse, Dept. of Biotechnology, Massey University.

Pearson, D. (1973). Laboratary Techniques in Food Analysis. Butterworth & Co. Ltd.