2087

หองสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง

การใช้เชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 เพื่อเป็นกล้าเชื้อในการผลิตแหนมร่วมกับผงหมักแหนมทางการค้า

T097024

Potential use of .*Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 as starter culture collaborated with commercial Nham production powder.

นางสาวปุณยาพร มั่นหมาย รหัสประจำตัว 45040797

นางสาวพิชญา ย่างสุข รหัสประจำตัว 45040801

นางสาววศินี ล้อรัตนชน รหัสประจำตัว 45040811

ปพ.
ป 661 ก
2548

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 97024
วัน,เดือน,ปี 5 JUN 2009

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมัก
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นางสาวปุณยาพร มั่นหมาย นางสาวพิชญา ย่างสุข นางสาววศินี ล้อรัตนชน. การใช้เชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 เพื่อเป็นกล้าเชื้อในการผลิตแหนมร่วมกับผงหมักแหนมทางการค้า(Potential use of .*Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 as starter culture collaborated with commercial Nham production powder.) สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมัก โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อาจารย์ที่ปรึกษา : ผศ.ดร. อดิศร เสวตวิวัฒน์ , อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ดร. ศศิวิมล ชื่นอิ่ม อาเหม็ด 61 หน้า

บทคัดย่อ

การเก็บรักษากล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 ร่วมกับผงหมักแหนมที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็นเป็นระยะเวลาประมาณ 1 เดือน พบว่าที่อุณหภูมิตู้เย็นมีปริมาณเชื้อเหลือรอดมากกว่าการเก็บรักษากล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 ร่วมกับผงหมักแหนมที่อุณหภูมิห้องโดยอุณหภูมิตู้เย็นมีปริมาณเชื้อ 6.2×10^{7} cfu/g ส่วนอุณหภูมิห้องมีปริมาณเชื้อ 9.6×10^{2} cfu/g และไม่พบเชื้อเหลือรอดในวันที่ 21 ของการเก็บรักษา เมื่อทำการผลิตแหนมที่ได้จากผงหมักแหนมร่วมกับกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 ที่ผ่านการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำเป็นเวลา 28 วัน เทียบกับการหมักแหนมด้วยผงหมักแหนมที่ไม่มีการเติมกล้าเชื้อ เป็นระยะเวลา 0, 1, 2, 3 และ 4 วัน พบว่าแหนมที่ผลิตโดยการใช้กล้าเชื้อร่วมกับผงหมักแหนมให้ผลของเปอร์เซ็นต์ Acidity ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (โดยที่เปอร์เซ็นต์กรดสูงสุดของแหนมที่เติมกล้าเชื้อและไม่เติมกล้าเชื้อร่วมกับผงหมักแหนมมีค่า 0.48% และ 0.42 % ตามลำดับ)และค่า pH มีแนวโน้มลดลง แต่พบการเจริญของเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 สูงกว่าแหนมที่หมักร่วมกับผงหมักแหนมโดยไม่มีการเติมกล้าเชื้อ นอกจากนี้การยอมรับทางด้านประสาทสัมผัสของผู้บริโภคโดยทำการทดสอบทั้งผลิตภัณฑ์แหนมสดและแหนมสุก พบว่าแหนมสดผู้บริโภคมีการยอมรับทางด้านกลิ่นรส ในผลิตภัณฑ์แหนมที่ใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536 ร่วมกับผงหมักแหนมมากกว่าแหนมที่หมักร่วมกับผงหมักแหนมโดยไม่มีการเติมกล้าเชื้อ ส่วนแหนมสุกผู้บริโภคโดยมีการยอมรับทางด้านสี กลิ่นรส เนื้อสัมผัส และการยอมรับโดยรวม ดังนั้นจากข้อมูลดังกล่าวจึงสรุปได้ว่าการใช้ผงหมักแหนมทางการค้าร่วมกับ *P. pentosaceus* TISTR 536 น่าจะเป็นแนวทางเพื่อในการพัฒนาการผลิตแหนมให้มีคุณภาพและปลอดภัยที่ดีต่อผู้บริโภคแหนมในอนาคตต่อไป

ปุณยาพร มั่นหมาย
พิชญา ย่างสุข
วศินี ล้อรัตนชน ..... 26 / มี.ค. 49

ลายมือชื่อนักศึกษา ลายมืออาจารย์ที่ปรึกษา วัน เดือน ปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง พ.ศ.2548 โดยมี ผศ.ดร.อดิศร เสวตวิวัฒน์ เป็นอาจารย์ที่ปรึกษา

ปัญหาพิเศษฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณผศ.ดร.อดิศร เสวตวิวัฒน์ อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษและดร.ศศิวิมล ชื่นอิ่ม อาเหม็ด กรรมการที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำ และแก้ไขปัญหาพิเศษนี้ให้สมบูรณ์แบบยิ่งขึ้น และขอขอบพระคุณท่านอาจารย์ทุกท่านที่ช่วยประสิทธิ์ประสาทความรู้ ให้คำแนะนำต่างๆ ทำให้การศึกษาครั้งนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี

ขอขอบคุณเพื่อน น้อง นักศึกษาปริญญาตรี และพี่นักศึกษาปริญญาโท รวมถึงนักวิทยาศาสตร์และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือ คำแนะนำ และเป็นกำลังใจตลอดการศึกษานี้

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่สนับสนุนด้านกำลังทรัพย์และกำลังใจที่มีค่ายิ่ง สุดท้ายนี้ก็ขอขอบคุณตัวเองและคู่ปัญหาพิเศษที่รับผิดชอบ และช่วยกันทำให้ปัญหาพิเศษครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

คณะผู้จัดทำ
นางสาวปุณยาพร มั่นหมาย
นางสาวพิชญา ย่างสุข
นางสาววศินี ล้อรัตนชน
14 มีนาคม 2549

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ..... ก
กิตติกรรมประกาศ..... ข
สารบัญ..... ค
สารบัญตาราง..... จ
สารบัญตารางภาคผนวก..... ฉ
สารบัญภาพ..... ฌ
บทที่ 1 บทนำ..... 1
บทที่ 2 วารสารปริทัศน์..... 3
2.1 กล้าแบคทีเรียแลคติก..... 3
2.2 คุณสมบัติของกล้าเชื้อโดยทั่วๆ ไป..... 3
2.3 คุณสมบัติของแลคติกเอซิดแบคทีเรีย..... 4
2.4 การใช้แลคติกเอซิดแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก..... 5
2.5 *Pediococcus* spp..... 7
2.6 การใช้เทคโนโลยีเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นผสมในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก..... 13
2.7 การศึกษาและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้เชื้อ *Pediococcus* spp..... 14
2.8 ความรู้เกี่ยวกับแหนม..... 15
2.9 ส่วนประกอบในการผลิตแหนม..... 17
2.10 สภาพการหมัก..... 20
2.11 เกณฑ์คุณภาพของแหนม..... 23
2.12 ปัญหาของผลิตภัณฑ์แหนม..... 25
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง..... 27
3.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ..... 27
3.2 สารเคมี..... 27
3.3 เชื้อจุลินทรีย์..... 27
3.4 วัสดุอุปกรณ์..... 27
3.5 วัตถุดิบในการผลิต..... 28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.6 ขั้นตอนและวิธีทดลอง 28

3.6.1 การเตรียมกล้าเชื้อ lactic acid bacteria *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 28

3.6.2 การแยกเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 จากอาหารเหลว MRS broth 29

3.6.3 การเลี้ยงเชื้อในผงหมักแหนม 29

3.6.4 การวิเคราะห์ทางด้านจุลชีววิทยา 29

3.6.5 การผลิตแหนม 30

3.6.6 การวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัส 31

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ 32

4.1 ผลของการเก็บรักษาเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ในระยะประมาณ 1 เดือน 32

4.2 ผลของการใช้เชื้อแลคติกบริสุทธิ์ร่วมกับผงหมักแหนมในการผลิตแหนม 33

4.3 คุณสมบัติทางประสาทสัมผัสของแหนมของแหนมที่มีการใช้และไม่ใช้เชื้อบริสุทธิ์ร่วมกับผงหมักแหนม 38

บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ 40

บรรณานุกรม 41

ภาคผนวก 45

ภาคผนวก ก 46

ภาคผนวก ข 47

ภาคผนวก ค 50

ภาคผนวก ง 51

ภาคผนวก จ 52

ภาคผนวก ฉ 53

ภาคผนวก ช 54

ภาคผนวก ซ 55

ภาคผนวก ฌ 61

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
ตารางที่ 2.1	การประยุกต์ใช้กล้าเชื้อแบคทีเรีย	14
ตารางที่ 2.2	เกณฑ์คุณภาพของแหนมทางกายภาพและด้านประสาทสัมผัส	24
ตารางที่ 2.3	เกณฑ์คุณภาพของแหนมทางเคมี	24
ตารางที่ 2.4	เกณฑ์คุณภาพของแหนมทางจุลินทรีย์	24
ตารางที่ 4.1	แสดงค่าเฉลี่ยผลของการเจริญของ *P. pentosaceus* TISTR 536ในผงหมักแหนมที่อุณหภูมิต่างๆของการเก็บรักษา	32
ตารางที่ 4.2	ผลการเจริญของแบคทีเรียแลคติกร่วมกับผงหมักแหนมในระยะเวลาการหมัก 4 วัน	34
ตารางที่ 4.3	แสดงค่าเฉลี่ยของ% lactic acid และ pH ในตัวอย่างแหนมที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536 และแหนมที่ไม่เติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์	36
ตารางที่ 4.4	แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติกของผลิตภัณฑ์แหนม	37
ตารางที่ 4.5	แสดงผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภคต่อแหนมสดที่ทดสอบในลักษณะต่างๆหลังจากหมักครบ 3 วัน	38
ตารางที่ 4.6	แสดงผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภคต่อแหนมสุกที่ทดสอบในลักษณะต่างๆหลังจากหมักครบ 3 วัน	39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก

ตารางภาคผนวก **หน้า**

ค.1 : ผลการทดลองครั้งที่ 1 การตรวจนับเชื้อของผงหมักแหนมที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536และแหนมที่ไม่เติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ที่ระยะเวลาต่างๆ 50

ค.2 : ผลการทดลองครั้งที่ 2 การตรวจนับเชื้อของผงหมักแหนมที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536และแหนมที่ไม่เติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ที่ระยะเวลาต่างๆ 50

ค.3 : ผลการทดลองครั้งที่ 3 การตรวจนับเชื้อของผงหมักแหนมที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536และแหนมที่ไม่เติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ที่ระยะเวลาต่างๆ 50

ง.1 : ผลการทดลองครั้งที่ 1 การตรวจนับเชื้อของแหนมที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536 และแหนมที่ไม่เติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ที่ระยะเวลาต่างๆ 51

ง.2 : ผลการทดลองครั้งที่ 2 การตรวจนับเชื้อของแหนมที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536 และแหนมที่ไม่เติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ที่ระยะเวลาต่างๆ 51

ง.3 : ผลการทดลองครั้งที่ 3 การตรวจนับเชื้อของแหนมที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536 และแหนมที่ไม่เติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ที่ระยะเวลาต่างๆ 51

จ.1 : ผลการทดลองครั้งที่ 1 การวัดค่า pH ของแหนมที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536และแหนมที่ไม่เติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ที่ระยะเวลาต่างๆกัน 52

จ.2 : ผลการทดลองครั้งที่ 2 การวัดค่า pH ของแหนมที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536และแหนมที่ไม่เติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ที่ระยะเวลาต่างๆกัน 52

จ.3 : ผลการทดลองครั้งที่ 3 การวัดค่า pH ของแหนมที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536และแหนมที่ไม่เติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ที่ระยะเวลาต่างๆกัน 52

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก(ต่อ)

ตารางภาคผนวก **หน้า**

ฉ.1 : ผลการทดลองครั้งที่ 1 ปริมาณ NaOH ที่ไทเทรตได้จากแหนมที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536 และแหนมที่ไม่เติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ที่ระยะเวลาต่างๆกัน 53

ฉ.2 : ผลการทดลองครั้งที่ 2 ปริมาณ NaOH ที่ไทเทรตได้จากแหนมที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536 และแหนมที่ไม่เติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ที่ระยะเวลาต่างๆกัน 53

ฉ.3 : ผลการทดลองครั้งที่ 3 ปริมาณ NaOH ที่ไทเทรตได้จากแหนมที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536 และแหนมที่ไม่เติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ที่ระยะเวลาต่างๆกัน 53

ช.1 : แสดงผลการวิเคราะห์ผลการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านสีของแหนมสดทางสถิติใช้โปรแกรม SPSS V.10 55

ช.2 : แสดงผลการวิเคราะห์ผลการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านสีของแหนมสุกทางสถิติใช้โปรแกรม SPSS V.10 55

ช.3 : แสดงผลการวิเคราะห์ผลการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นรสของแหนมสดทางสถิติใช้โปรแกรม SPSS V.10 56

ช.4 : แสดงผลการวิเคราะห์ผลการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นรสของแหนมสุกทางสถิติใช้โปรแกรม SPSS V.10 56

ช.5 : แสดงผลการวิเคราะห์ผลการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านความเปรี้ยวของแหนมสุกทางสถิติใช้โปรแกรม SPSS V.10 57

ช.6 : แสดงผลการวิเคราะห์ผลการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านเนื้อสัมผัสของแหนมสุกทางสถิติใช้โปรแกรม SPSS V.10 57

ช.7 : แสดงผลการวิเคราะห์ผลการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านความยอมรับโดยรวมของแหนมสุกทางสถิติใช้โปรแกรม SPSS V.10 58

ช.8 : แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติกวันที่ 0 ของผลิตภัณฑ์แหนมทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS V.10 58

ช.9 : แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติกวันที่ 1 ของผลิตภัณฑ์แหนมทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS V.10 59

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก(ต่อ)

ตารางภาคผนวก **หน้า**

ซ.10 : แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติกวันที่ 2 ของผลิตภัณฑ์แหนมทางสถิติ โดยใช้โปรแกรม SPSS V.10 59

ซ.11 : แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติกวันที่ 3 ของผลิตภัณฑ์แหนมทางสถิติ โดยใช้โปรแกรม SPSS V.10 60

ซ.12 : แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติกวันที่ 4 ของผลิตภัณฑ์แหนมทางสถิติ โดยใช้โปรแกรม SPSS V.10 60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
ภาพที่ 2.1 :	กระบวนการเกิดกรดแลคติก	4
ภาพที่ 2.2 :	เชื้อ *Pediococcus pentosaceus*	7
ภาพที่ 4.1 :	แสดงการเจริญของ *P. pentosaceus* TISTR 536 ในผงหมักแหนมที่อุณหภูมิต่างๆของการเก็บรักษา	33
ภาพที่ 4.2 :	แสดงผลการเจริญของแบคทีเรียแลคติกร่วมกับผงหมักแหนมในระยะเวลาการหมัก 4 วัน	34
ภาพที่ 4.3 :	แสดงค่าเฉลี่ย % lactic acid ของแหนมที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536และแหนมที่ไม่เติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ	36
ภาพที่ 4.4 :	แสดงค่าเฉลี่ย pH ของแหนมที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536และแหนมที่ไม่เติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ	37
ภาพที่ ข.1 :	ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียแลคติก (*P.pentosaceus* TISTR 536) ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อMRS agar	48
ภาพที่ ข.2 :	ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อ (*P.pentosaceus* TISTR 536)	49
ภาพที่ ข.3 :	ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อแบคทีเรียแลคติกจากแหนมที่ผลิตโดยใช้เชื้อธรรมชาติ	49
ภาพที่ ฌ.4 :	ผลิตภัณฑ์แหนมที่หมักโดยผงหมักแหนมร่วมกับเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 ที่ระยะเวลา 3 วัน	61
ภาพที่ ฌ.5 :	ผลิตภัณฑ์แหนมที่หมักโดยผงหมักแหนมที่ระยะเวลา 3 วัน	61

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

แต่เดิมผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก เช่น แหนม มีการผลิตที่สืบทอดวิธีการมาตั้งแต่บรรพบุรุษซึ่งเป็นการผลิตในระดับครัวเรือน อาศัยการหมักที่เกิดขึ้นตามสภาพธรรมชาติ กิจกรรมการหมักเกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมาจากวัตถุดิบและอุปกรณ์ต่างๆ สามารถสร้างกรดได้และทำให้แหนมเปรี้ยว ซึ่งมีความไม่แน่นอนทั้งชนิดและปริมาณของเชื้อที่ต้องการหมัก ทำให้คุณภาพของผลิตภัณฑ์ไม่สม่ำเสมอ อายุการเก็บรักษาค่อนข้างสั้น โอกาสเสื่อมเสียค่อนข้างสูงและก่อให้เกิดความไม่ปลอดภัยต่อผู้บริโภคจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ดังนั้นการพัฒนาการผลิตแหนมจึงได้เริ่มศึกษาการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก สายพันธุ์ของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อประสบความสำเร็จได้แก่ *Lactobacillus*, *Pediococcus* และ *Micrococcus* เชื้อจุลินทรีย์ Micrococci ถูกเลือกใช้เป็นเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นด้วยเหตุผลที่ว่าเชื้อดังกล่าวมีกิจกรรมที่สามารถรีดิวซ์ไนเทรตไปเป็นไนไทรต์ และสามารถปรับปรุงคุณภาพในแง่สีที่ปรากฏและกลิ่นที่ดีต่อผลิตภัณฑ์ ขณะที่เชื้อ Lactobacilli และ Pediococci ถูกเลือกใช้ด้วยเหตุผลที่ว่าเป็นจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตกรดอินทรีย์ประเภทกรดแลคติกได้โดยแบคทีเรียแลคติกมีผลในการช่วยควบคุมกระบวนการหมักและพัฒนาคุณภาพ จึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่อาจจะช่วยแก้ปัญหานี้ได้ดังผลิตภัณฑ์เนื้อหมักอื่นๆ

ผลิตภัณฑ์แหนมได้มีผู้ทำการศึกษามากมาย โดยมีการพัฒนาการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกในการผลิตแหนม อาทิเช่น Swetwiwathana และ Lotong (1999) ได้ศึกษาถึงประสิทธิภาพในการนำเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR536 ที่สามารถผลิตแบคเทอริโอซินในกลุ่ม Pediocin PA-1 ในการหมักแหนมเทียบกับแหนมที่หมักโดยธรรมชาติไม่มีการเติมกล้าเชื้อและแหนมที่หมักด้วยเชื้อ*P. pentosaceus* JCM 5890 ที่ไม่สามารถผลิตสารแบคเทอริโอซิน รวมถึงศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งและทำลายเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ *Salmonella anatum* ควบคู่ไปด้วยในการทดลอง (Swetwiwathana และคณะ, 2001 และ 2002) ซึ่งพบว่าการใช้ *P. pentosaceus* TISTR536 เป็นกล้าเชื้อบริสุทธิ์ในการหมักแหนมนั้นจะทำให้แหนมที่ได้มีค่าพีเอชลดลงเร็วกว่าแหนมที่หมักแบบธรรมชาติโดยไม่เติมกล้าเชื้อเล็กน้อย แต่ค่าพีเอชเมื่อเทียบกับแหนมที่เติมเชื้อ JCM 5890 จะให้ผลไม่แตกต่างกันมาก แต่ผลในการยับยั้งการเจริญของ *S. anatum* ของแหนมที่หมักด้วย TISTR536 นั้นจะให้ผลดีกว่าแหนมที่หมักด้วย *P. pentosaceus* JCM 5890 และแหนมที่หมักแบบธรรมชาติที่ไม่เติมกล้าเชื้อ ซึ่งจากผลการทดลองดังกล่าว ทำให้ยิ่งมั่นใจว่าเชื้อในกลุ่มแบคทีเรียแลคติกสายพันธุ์ *P. pentosaceus* TISTR536 น่าจะเป็นทางเลือกที่จะใช้เป็นกล้าเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บริสุทธิ์ในการหมักแหนมเพื่อช่วยในการพัฒนาคุณภาพแหนมให้คงอยู่ในด้านรสชาติและลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์รวมถึงความเชื่อมั่นในด้านความปลอดภัยจากแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค เช่น *S. anatum*

ในปัจจุบันได้มีการผลิตผงหมักแหนมทางการค้ามาใช้ในการผลิตแหนม ซึ่งเป็นเทคโนโลยีใหม่ที่สามารถผลิตแหนมรับประทานได้ภายใน 1 วัน ด้วยเหตุนี้จึงได้มีการศึกษาการใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ร่วมกับผงหมักแหนมทางการค้าเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์แหนมที่มีคุณภาพและปลอดภัยเหมาะสมที่จะเป็นทางเลือกใหม่สำหรับผู้บริโภค

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาอายุการเก็บรักษาเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 ร่วมกับผงหมักแหนมทางการค้า (โลโบ)ในระยะเวลาประมาณ 1 เดือน

2. เพื่อศึกษาคุณสมบัติทางด้านเคมี ชีววิทยา ของแหนมที่ผลิตขึ้นโดยใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536 ที่ผลิตร่วมกับผงหมักแหนมทางการค้าและแหนมที่ผลิตด้วยผงหมักแหนมทางการค้าโดยไม่ใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536

3. เพื่อเปรียบเทียบคุณสมบัติทางด้านประสาทสัมผัสของแหนมที่ผลิตขึ้นโดยใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536 ที่ผลิตร่วมกับผงหมักแหนมทางการค้าและแหนมที่ผลิตด้วยผงหมักแหนมทางการค้าโดยไม่ใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
วารสารปริทัศน์

2.1 กล้าแบคทีเรียแลคติก

แบคทีเรียแลคติกมีบทบาทในการหมักอาหารหลายชนิดด้วยกัน เช่น นมเปรี้ยว เนยชนิดต่างๆ ผักและผลไม้ดอง ไส้กรอกและผลิตภัณฑ์เนื้อหมักชนิดอื่นๆ นอกจากนั้นยังมีกิจกรรมร่วมกับยีสต์ในการหมักเต้าเจี้ยว ซีอิ๊ว เมรัย และผลิตภัณฑ์แป้งหมัก แบคทีเรียกลุ่มนี้มีทั้งพวก homofermentative ซึ่งเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นกรดแลคติกด้วยวิถีไกลโคไลติก (Glycolytic pathway) และพวก heterofermentative ซึ่งเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นกรดแลคติก เอทธานอล กรดแอซีติก และคาร์บอนไดออกไซด์ ด้วยวิถีฟอสฟอคีโตเลส (Phosphoketolase pathway) นอกจากนั้นยังมีเชื้อหลายสายพันธุ์สามารถเมแทบอไลซ์กรดซิตริก หรือเกลือซิเตรทให้ได้สารพวกไดอะซีธิล (diacetyl) แอซิโตนอิน (acetoin) และบิวธิลลีนไกลคอล (2,3-butylene glycol) ดังนั้นบทบาทที่สำคัญในการหมักอาหารของแบคทีเรียแลคติก ได้แก่ การผลิตกรด ทำให้เกิดรสเปรี้ยว และมีกลิ่นหอมของสารต่างๆ และยังมีประโยชน์ในด้านอื่นๆ ที่แตกต่างกันออกไปตามประเภทของผลิตภัณฑ์

การหมักอาหารที่เกิดจากกิจกรรมของแบคทีเรียในยุคก่อนที่จะมีการพัฒนาการผลิตกล้าโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์ จึงอาศัยเชื้อจากธรรมชาติที่ติดมากับวัตถุดิบ โดยควบคุมสภาวะการหมักให้เหมาะสมเพื่อเอื้อให้แบคทีเรียชนิดที่ต้องการเจริญได้ดี สำหรับอาหารหมักบางชนิดการหมักในลักษณะเช่นนี้ยังคงมีอยู่จนถึงปัจจุบัน เช่น การดองผักและผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ในหลายๆประเทศ ส่วนผลิตภัณฑ์นมหมักที่ผลิตกันแต่เดิมนั้น ใช้วิธีเก็บบางส่วนจากการหมักในรุ่นก่อนไว้เป็นกล้าสำหรับการหมักรุ่นต่อไป

2.2 คุณสมบัติของกล้าเชื้อโดยทั่วๆ ไป

กล้าแบคทีเรียแลคติกที่ดีควรมีคุณสมบัติโดยทั่วๆ ไปดังนี้

1. สามารถใช้น้ำตาลที่มีอยู่ในวัตถุดิบ และผลิตกรดได้ในระยะเวลาและปริมาณที่เหมาะสมกับผลิตภัณฑ์ชนิดนั้นๆ
2. ผลิตสารที่ให้กลิ่นเฉพาะของอาหารหมักชนิดนั้นๆ
3. อยู่ในสภาพที่เมื่อนำไปเป็นกล้าจะสามารถเจริญแข่งขันกับจุลินทรีย์อื่นได้ดี
4. คุณสมบัติที่สำคัญมากที่สุดข้อหนึ่ง คือ การปลอดจากฝาจก์ (phage) ซึ่งสามารถหลีกเลี่ยงปัญหานี้ได้หลายวิธีด้วยกัน ได้แก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1 เตรียมกล้าในรูปเชื้อผสม โดยมีเหตุผลว่าในขณะนำไปใช้ หากเชื้อสายพันธุ์ใดสายพันธุ์หนึ่งถูกทำลาย จะยังคงเหลือสายพันธุ์อื่นๆ ที่ไม่มีความเฉพาะกับฝาจก์ชนิดนั้นพอที่จะดำเนินกิจกรรมการหมักต่อไปได้

4.2 ใช้เชื้อแต่ละสายพันธุ์สลับหมุนเวียนกันไป

4.3 คัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์ที่ต้านทานต่อฝาจก์ เช่น การใช้สายพันธุ์ผ่าเหล่า (phage resistant mutant)

4.4 เตรียมกล้าโดยเพาะเลี้ยงในอาหารที่ยับยั้งการเข้าสู่เซลของฝาจก์

4.5 ในกรณีที่มีการเพิ่มปริมาณกล้าก่อนใช้งาน (bulk starter) ต้องระมัดระวังการปนเปื้อนของฝาจก์ (นภา , 2535)

2.3 คุณสมบัติของแลคติกแอซิดแบคทีเรีย

แลคติกแอซิดแบคทีเรียเป็นแบคทีเรียแกรมบวกมีรูปร่างเป็นแท่ง สั้นและยาว ไม่มีสปอร์ และรูปร่างกลม เดี่ยว หรือเกาะกันเป็นคู่ หรือวางตัวเรียงกันเป็นสายและในบางกรณีอาจจะมีเซลเกาะติดกัน 4 เซล เนื่องจากแลคติกแอซิดแบคทีเรียมีรูปร่างกลมหรือรูปร่างแท่งขนาดสั้น ดังนั้นการจำแนกชนิดจึงทำได้ค่อนข้างยากรูปร่างของเซลจะเปลี่ยนแปลงไปตามสิ่งแวดล้อม เช่น อาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อ เป็นต้น ไม่สามารถสังเคราะห์ heme ไม่มีเอนไซม์แคตาเลส ต้องการสารอาหารในการเจริญเติบโต เช่น วิตามินบี และกรดอะมิโน แลคติกแอซิดแบคทีเรียมีคุณสมบัติในการหมักแป้งให้กลายเป็นกรดแลคติกได้ และบางชนิดสามารถผลิตสารอื่นได้ด้วย เช่น กรดแอซิติก เอทธานอล หรือคาร์บอนไดออกไซด์ (ปรียา , 2524)

แลคติกแอซิดแบคทีเรียได้พลังงานมาใช้ภายในเซลจากการเฟอร์เมนท์คาร์โบไฮเดรตไปเป็นกรดแลคติกโดยใช้วิถีชีวเคมี 1 ใน 2 วิถี ดังนี้

1) โฮโมเฟอร์เมนต์เทชั่น (Homofermentation) เป็นการเฟอร์เมนต์กลูโคสโดยโฮโมเฟอร์เมนต์เททีฟแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (homofermentative LAB) แล้วได้กรดแลคติกเพียงอย่างเดียว โดยใช้วิถี Emden-Meyerhof-parnas : EMP pathway หรือไกลโคไลซิส (Glycolysis) จะได้ 2 ATP ต่อ 1 โมเลกุลกลูโคส

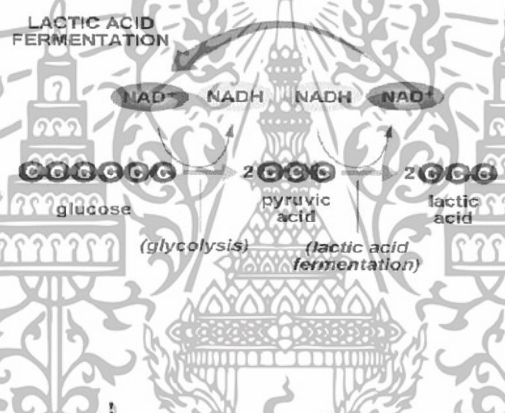
2) เฮทเทอโรเฟอร์เมนต์เทชั่น (Heterofermentation) เป็นการเฟอร์เมนต์กลูโคสโดยเฮทเทอโรเฟอร์เมนต์เททีฟแลคติกแอซิดแบคทีเรียแล้วได้สารหลายอย่าง คือ แลคเตท (lactate) , เอทานอล (ethanol) หรือ อะซิเตท (acetate) และคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) เนื่องจากแลคติกแอซิดแบคทีเรียพวกนี้จะขาดอัลโดเลส (aldolase) จึงต้องเปลี่ยนกลูโคสไปเป็นไรโบส (ribose) แล้วต่อไปเป็นไซลูโลสซิกฟอสเฟต (xylulose-6P) และคาร์บอนไดออกไซด์ โดยวิถีฟอสโฟคีโตเลส (phosphoketolase pathway)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในกระบวนการหมักกรดแลคติกที่มีความสำคัญต่ออาหารนั้น มี 2 กระบวนการ คือ

1. Homolactic fermentation เป็นกระบวนที่หมักแล้วเกิดกรดแลคติกเป็นส่วนประกอบในปริมาณมาก ดังภาพที่ 1 โดยอาศัยแบคทีเรีย homofermentative lactic acid เช่น *Lactobacillus plantarum*

2. Heterolactic fermentation เป็นกระบวนการหมักที่เกิดกรดแลคติกได้เพียง 50% เท่านั้น และมีสารประกอบอื่นๆเกิดขึ้นด้วย เช่น CH_2OH, CO_2 ซึ่งแบคทีเรียที่ทำให้เกิดสารประกอบเหล่านี้เป็นพวก heterofermentative lactic acid เช่น *Leuconostoc mesenteroides* (อรพิน, 2526)



ภาพที่ 1 : กระบวนการเกิดกรดแลคติก

ที่มา : http://fig.cox.miami.edu/~lfarmer/BIL265/BIL2001/img011.gif

2.4 การใช้แลคติกแอซิดแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก

ก. คุณสมบัติของแบคทีเรียกรดแลคติกในการผลิตสารจากกระบวนการเมแทบอลิซึม

แบคทีเรียกรดแลคติกได้ถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางในการผลิตอาหารหมักของมนุษย์และสัตว์หลายชนิด และพบว่าในผลิตภัณฑ์เหล่านี้ทำให้เกิดการพัฒนาด้านรสชาติ เนื้อสัมผัส นอกจากนั้นยังมีบทบาทในการยับยั้งจุลินทรีย์อื่นที่ไม่ต้องการโดยการยับยั้งเป็นผลมาจากการผลิตสารหลายชนิด เช่น กรดอินทรีย์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และไดอะซิทิล และมีแบคทีเรียกรดแลคติกหลายชนิดที่สามารถผลิตสารที่มีคุณสมบัติในการต่อต้านจุลินทรีย์ ซึ่งต่อมาเรียกว่า แบคเทอริโอซิน (bacteriocin) และยังจัดเป็นสารที่มีคุณสมบัติเป็น biopreservative การนำแบคทีเรียกรดแลคติกมาใช้ในการถนอมอาหาร โดยเฉพาะอาหารหมักระหว่างการหมักจะมีผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการเมแทบอลิซึมทั้งชนิดที่เป็นผลิตภัณฑ์ปฐมภูมิ (primary metabolite) และผลิตภัณฑ์ทุติย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภูมิ (secondary metabolite) และผลิตภัณฑ์เหล่านั้นมีคุณสมบัติในการต่อต้านจุลินทรีย์ ตัวอย่างของสารกลุ่มนี้ได้แก่

1. กรดอินทรีย์ (organic acid) กรดอินทรีย์ที่เกิดจากแบคทีเรียแลคติก คือ กรดแลคติกและกรดแอซิติก มีการศึกษาพบว่ากรดแอซิติกสามารถในการยับยั้งรา ยีสต์ และแบคทีเรียได้ดี ทั้งกรดแลคติกและกรดแอซิติกเมื่อทำงานร่วมกันจะมีผลในการลดการเจริญของ *Salmonella typhimurium* ได้เป็นอย่างดี ในอาหารหมักส่วนใหญ่ทั้งกรดแลคติกและกรดแอซิติกที่ผลิตจากแบคทีเรียกรดแลคติกมีผลทำให้ค่าพีเอชของผลิตภัณฑ์ลดลง กรดอินทรีย์ที่เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ส่วนใหญ่พบว่าเป็นกรดแลคติกและกรดแอซิติกเพียงเล็กน้อย

2. ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) ในภาวะที่มีออกซิเจน แบคทีเรียกรดแลคติกบางกลุ่มโดยเฉพาะ Lactobacilli สามารถสร้างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้ โดยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะทำลายเซลล์แบคทีเรียโดยส่วนหนึ่งของ sulphydryl group ของโปรตีนและลิปิดที่เมมเบรนจะถูกออกซิไดส์อย่างรุนแรง การสะสมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในผลิตภัณฑ์จะมีผลต่อการยับยั้ง *Staphylococcus aureus* และ *Pseudomonas* spp. นอกจากนั้นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ยังทำปฏิกิริยากับสารตัวอื่นๆ เกิดเป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์ขึ้นมา เช่น ในนมดิบ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จากแบคทีเรียแลคติกจะทำปฏิกิริยากับ endogenous thiocyanate ซึ่งถูกเร่งปฏิกิริยาโดย lactoperoxidase เกิดเป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์ (Daeschel, 1989)

3. คาร์บอนไดออกไซด์ (carbon dioxide) ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นผลผลิตส่วนใหญ่ที่เกิดจากกระบวนการหมักน้ำตาลแบบ heterofermentation โดยแบคทีเรียกรดแลคติก ซึ่งก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นจะไปแทนที่ก๊าซออกซิเจนในสภาวะแวดล้อมรอบๆ ทำให้เกิดสภาวะ anaerobe ซึ่งไม่เหมาะสมสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์ที่ต้องการใช้ออกซิเจน โดยเฉพาะในกลุ่มของเชื้อรา นอกจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ยังทำให้ค่าความเป็นกรดด่างภายในเซลล์และรอบๆ เซลล์ลดลง มีผลทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ถูกทำลาย

4. ไดอะซิทิล (diacetyl) ไดอะซิทิลหรือ 2,3-butanedione เป็นผลผลิตจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของไพรูเวต โดยแบคทีเรียกรดแลคติกในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน ซึ่งพบว่าเมื่อแบคทีเรียกรดแลคติกเจริญในสภาวะที่มีซิเตรตอยู่ด้วยจะสร้างไพรูเวตออกมาในปริมาณมาก สารนี้จะถูกเปลี่ยนต่อไปเป็น diacetyl และ acrtoin โดย diacetyl สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคและที่ทำให้อาหารเกิดเน่าเสียได้ ซึ่งผลของการยับยั้งของสารกลุ่มนี้จะมีต่อแบคทีเรียแกรมลบ ยีสต์ และรา มากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก เนื่องจาก diacetyl จะไปขัดขวางการใช้อาร์จีนีนของแบคทีเรียแกรมลบโดยไปแทนที่อาร์จีนีนในการรวมตัวกับ arginine-binding protein

5. อะซีทัลดีไฮน์ (acetaldehyde) สารนี้เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตแบบ heterofermentation ของแบคทีเรียกรดแลคติกในสภาวะที่ไม่มีเอนไซม์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

alcohol dehydrogenase ทำให้เกิดสารและขับ acetaldehyde ออกมาภายนอกเซลล์โดยผลของ acetaldehyde ต่อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆนั้นยังไม่มีรายงานการศึกษาวิจัยมากนัก

6. แบคเทอริโอซิน (bacteriocin) เป็นสารประกอบโปรตีนที่มีคุณสมบัติในการต่อต้านจุลินทรีย์ (proteinaceous antimicrobial substance) ชนิดหนึ่ง ซึ่งผลิตจากแบคทีเรียบางชนิดโดยมากเป็นแบคทีเรียในกลุ่มแบคทีเรียแลคติกมีคุณสมบัติในการยับยั้งหรือทำลายจุลินทรีย์ในสปีชีส์หรือสายพันธุ์ที่ใกล้เคียง กลไกการทำลายมีความจำเพาะต่อเซลล์เป้าหมายที่แน่นอน แบคเทอริโอซินบางชนิดทนความร้อนได้ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จึงใช้ร่วมกับการแปรรูปอาหารโดยใช้ความร้อนได้ แบคเทอริโอซินจะถูกยับยั้งด้วยเอนไซม์ที่ย่อยสลายโปรตีน เช่น ทริปซิน ตัวอย่างของแบคเทอริโอซินที่ผลิตจากแบคทีเรียกรดแลคติกและอนุญาตให้ใช้ผสมในอาหารได้แก่ ไนซิน

ข. คุณสมบัติของแบคทีเรียกรดแลคติกในการต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ

การต้านทานต่อสารปฏิชีวนะของแบคทีเรียอาจเนื่องมาจากเซลล์ไม่มีโครงสร้างที่จำเพาะต่อสารปฏิชีวนะนั้นๆ เช่น *Mycoplasma* ซึ่งไม่มีผนังเซลล์จึงไม่มีผลเมื่อใช้เพนนิซิลิน การทดสอบความต้านทานต่อสารปฏิชีวนะในแบคทีเรียกรดแลคติก โดยทั่วไปมักใช้วิธีการที่เรียกว่า agar diffusion method ซึ่งทดสอบในอาหารวุ้น(agar method) เป็นการวัดความอ่อนแอ (susceptibility) ของเชื้อที่ใช้ทดสอบเมื่อได้รับสารปฏิชีวนะนั้นๆ ตัวอย่างของสารปฏิชีวนะที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่

- คลอแรมฟีนิคอล (chloramphenical) เป็นสารปฏิชีวนะที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก ผลิตได้จาก *Streptomyces venezuelae* กลไกการยับยั้งพบว่ามีผลในการยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน การนำคลอแรมฟีนิคอล มาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ยังค่อนข้างจำกัดเพราะมีความเป็นพิษ ส่วนใหญ่นิยมใช้ทางสัตวแพทย์

- สเตรปโตมัยซิน (streptomycin) เป็นสารปฏิชีวนะที่ผลิตได้จาก *Streptomyces griseus* มีคุณสมบัติในการทำลาย *Mycobacterium tuberculosi* , streptococci บางชนิด *Brucella* sp. กลไกการยับยั้งจะน้อยลงหรือถูกยับยั้งภายใต้สภาวะไร้อากาศ

- เททราซัยคลิน (tetracycline) เป็นสารปฏิชีวนะที่ผลิตได้จาก *Streptomyces* หลายสปีชีส์ เช่น *S. rimosus* , *S. aureofaciens* และยังได้จากกระบวนการกึ่งสังเคราะห์ เป็นสารปฏิชีวนะตัวแรกที่ใช้ต้านแบคทีเรีย (ปิ่นมณี, 2546)

2.5 *Pediococcus* spp.

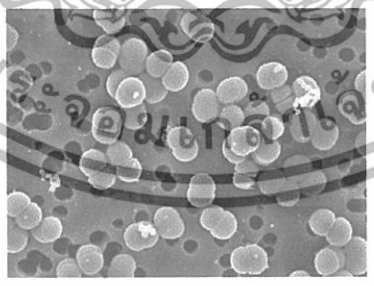
เซลล์รูปกลม มักเรียงตัวเป็นคู่หรือสี่เซลล์โดยแบ่งเป็น 2 ระนาบ บางครั้งอยู่เดี่ยวๆ หรือเป็นสายพบน้อย ไม่เคลื่อนที่ไม่สร้างสปอร์ ติดสีแกรมบวก เป็นพวกต้องการออกซิเจนเล็กน้อยในการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เติบโต (microaerophilic bacteria) ไม่ย่อยเจลาติน ไม่รีดิวส์ไนเตรท ไม่สร้างเอนไซม์คาตาเลส แต่บางสายพันธุ์มีคาตาเลสเทียม (pseudocatalase) การหมักเป็นโฮโมแลคติกหมักน้ำตาลให้กรด 0.5-0.9 เปอร์เซ็นต์ ส่วนใหญ่เป็นกรดแลคติก ต้องการอาหารซับซ้อนในการเติบโต พบทั่วไปในอาหารหมักจากพืช สามารถเจริญที่ช่วงอุณหภูมิประมาณ 7-45 องศาเซลเซียส แต่เจริญได้ดีที่สุดที่ 25-32 องศาเซลเซียส แบคทีเรียพวกนี้เติบโตได้ดีในที่มีเกลือ 5.5 เปอร์เซ็นต์ และการเติบโตจะลดลง เมื่อมีเกลือ 10 เปอร์เซ็นต์ แต่มีบางชนิด เช่น *P. halophilus* เติบโตได้ดีในที่มีเกลือ 6-8 เปอร์เซ็นต์ และทนเกลือได้สูงกว่า 15 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นจะพบในอาหารหมักดองที่มีเกลือสูงๆ เช่น ซีอิ๊ว เต้าเจี้ยว น้ำปลา บูดู ปลาร้า เป็นตัวการสำคัญในการทำให้เกิดกรด กลิ่น รส ในอาหารหมักเหล่านี้

Pediococcus ชนิดอื่นๆ ที่มีความสำคัญด้านอาหารได้แก่ *P. cerevisiae* ทำให้เบียร์เน่าเสียโดยมีรสเปรี้ยว ขุ่น เป็นเมือก เรียกการเสียของเบียร์ เนื่องจากแบคทีเรียชนิดนี้ว่า " ซาร์ซินา ซิกเนสส" ("sarcina sickness") เนื่องจากแบคทีเรียพวกนี้มักเรียงตัวเป็นสี่เซลล์ (tetrad) ครั้งแรกเลยคิดว่าเป็นพวกซาร์ซินา นอกจากนี้ยังทำให้ผักดองพวกกะหล่ำปลีดองเน่าเสีย โดยทำให้เกิดกลิ่นรสที่ไม่ต้องการ จะเกิดขึ้นในกรณีที่ใช้เกลือ 3.5 เปอร์เซ็นต์ แทนที่จะใช้ 2.25 – 2.5 เปอร์เซ็นต์ หรือหมักในที่อุณหภูมิสูง 32-37 องศาเซลเซียส แทนที่จะใช้อุณหภูมิต่ำกว่านั้น

ในปัจจุบันการหมักแตงกวาดองจะมีการควบคุมการหมัก แทนการหมักแบบดั้งเดิม โดยการใช้เชื้อ *P. cerevisiae* และ *L. plantarum* เติมเป็นหัวเชื้อในการหมัก (*P. cerevisiae* ตาม Bergey' s Manual of Systematic Bacteriology , Vol.2 1986) ไม่มี แต่ให้ชื่อชนิดเป็น *P. damnosus* พบในเบียร์ *P. pentosaceus* ใช้ในการหมักเนื้อ *P. Halophilus* พบในน้ำเกลือหมักแตงกวาดอง



ภาพที่ 2 : เชื้อ *Pediococcus pentosaceus*

ที่มา : www.bioweb.usu.edu/ microscopy/Research.htm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.1 การจำแนกบักเตรีในสกุล *Pediococcus*

Breed *et al.*, (1948) อ้างอิงโดยศิริโสภาและไอริณ, 2547 จัด *Pediococcus* ไว้เพียงสปีชีส์เดียว คือ *Pediococcus cerevisiae* ต่อมา Breed *et al.*,(1957) อ้างอิงโดย ศิริโสภาและไอริณ, 2547 จัดเป็น *Pediococcus* ออกเป็นสองชนิด โดยอาศัยอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญและความสามารถในการเจริญในเบียร์ คือ *Pediococcus cerevisiae* ซึ่งเป็นเชื้อที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25 และ 32 องศาเซลเซียส มีความสามารถเจริญได้ใน wort , hopped wort และในเบียร์กับ *Pediococcus acidilactici* ซึ่งเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และมีความสามารถเจริญใน unhopped wort แต่ไม่มีความสามารถเจริญในเบียร์

Nakagawa และ Kitahara (1959) อ้างอิงโดยศิริโสภาและไอริณ, 2547 ได้อาศัยความแตกต่างของ pH อุณหภูมิในการเจริญการสร้างเอนไซม์คาตาเลส ความต้องการออกซิเจน ความต้องการคาร์บอนไดออกไซด์ ความทนเกลือ ความทนต่อ hop ตลอดจนความสามารถในการใช้น้ำตาลแบ่ง *Pediococcus* ออกเป็น 5 ชนิด คือ *Pediococcus cerevisiae* , *Pediococcus acidilactici* , *Pediococcus pentosaceus* , *Pediococcus urinae-equi* และพวกที่ทนเกลือ คือ *Pediococcus halophilus* ซึ่งรวมเอา *Pediococcus halophilus* (Mess , 1934 อ้างอิงโดยศิริโสภาและไอริณ, 2547) ซึ่งแยกจาก anhovy pickles และ *Pediococcus soyae* (Sakaguchi , 1959) เข้าได้ด้วย

Deibel และ Niven (1960) อ้างอิงโดยศิริโสภาและไอริณ, 2547 ได้จัด Gaffkya homari และ *Pediococcus viridans* ที่แยกได้จาก curd meat และ meat curing brine ไว้ในพวก *Pediococcus homari* ซึ่งเป็นสปีชีส์ใหม่โดยให้เหตุผลว่าบักเตรีทั้งสองมีลักษณะคล้ายกันมาก และลักษณะไปทางสกุล *Pediococcus* คือ เป็นพวก homofermentative ไม่สามารถใช้ในเตรท เจริญได้เล็กน้อยบนพื้นผิวของอาหารวุ้น ไม่สามารถย่อยโปรตีน ส่วนมากเรียงตัวเป็นสี่เซลล์ คาตาเลสลบเป็นพวก facultative หรือ microaerophile มีความสามารถทนเกลือ สร้าง dextrorotatory lactic acid

Whittenbury (1965) อ้างอิงโดยศิริโสภาและไอริณ, 2547 อาศัยหลักการของ Nakagawa และ Kitahara (1959) อ้างอิงโดยศิริโสภาและไอริณ, 2547 จัดแบ่งบักเตรี *Pediococcus* ออกเป็น 4 ชนิด คือ *Pediococcus cerevisiae*, *Pediococcus acidilactici* , *Pediococcus pentosaceus* และ *Pediococcus halophilus* ส่วน *Pediococcus urinae-equi* จัดไว้ในพวก *Aerococcus viridans* โดยให้เหตุผลว่าบักเตรีนี้ชอบสภาพมีอากาศในการเจริญผลิตกรดได้น้อยใน glucose broth และเจริญได้ในอาหารที่ไม่มีน้ำตาล

Sakaguchi และ Mori (1969) อ้างอิงโดยศิริโสภาและไอริณ, 2547 พบว่า *Pediococcus halophilus* , *Pediococcus soyae* และ*Pediococcus homari* มีความคล้ายคลึงกันทางด้านสัณฐานวิทยา สรีระวิทยา และลักษณะความต้องการธาตุอาหาร ตลอดจนค่า T_m ของ DNA จึงควรจัดไว้เป็นชนิดเดียวกัน ส่วน *Pediococcus urinae-equi* นั้นมีความคล้ายคลึงกับสามสปีชีส์แรก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยเฉพาะเรื่องความต้องการธาตุอาหาร แต่มีข้อแตกต่างในด้านการทนเกลือและจัดรวม *Aerococcus viridans* ไว้ใน *Pediococcus urinae-equi* โดยให้เหตุผลว่าบักเตรีทั้งสองชนิดนี้มีลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีระวิทยา ตลอดจนความต้องการธาตุอาหารคล้ายคลึงกัน

ต่อมา Buchanan และคณะ (1974) อ้างอิงโดยศิริโสภาและไอริณ, 2547 ได้อาศัยหลักการจัดแบ่งของ Nakagawa และ Kitahara (1959) อ้างอิงโดยศิริโสภาและไอริณ, 2547 จัดแบ่งบักเตรี *Pediococcus* ออกเป็น 5 ชนิด โดยแบ่งได้เป็นพวกใหญ่ๆ 2 พวก คือ

1. พวกที่เจริญได้ที่ pH 5.0 แต่ไม่เจริญที่ pH 9.0 มีอยู่ด้วยกัน 3 ชนิด

   ก. พวกที่ไม่เจริญที่ pH 7.0 หรืออุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ชอบลักษณะที่เป็น anaerobic condition จัดไว้ใน *Pediococcus cerevisiae*

   ข. พวกที่สามารถเจริญได้ที่ pH 7.0 หรือที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และเป็น microaerophilic ซึ่งแบ่งออกได้เป็น 2 พวก

      1. สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จัดไว้ใน *Pediococcus acidilactici*
      2. ไม่สามารถเจริญที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จัดไว้ใน *Pediococcus pentosaceus*

2. พวกที่ไม่สามารถเจริญที่ pH 5.0 แต่ไม่สามารถเจริญที่ pH 9.0

   ก. ชอบเกลือ (halophilic) จัดไว้ใน *Pediococcus halophilus*

   ข. ไม่ชอบเกลือ (non halophilic) ได้แก่ *Pediococcus urinae-equi*

2.5.2 อาหารและสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของบักเตรีในสกุล *Pediococcus*

โดยทั่วไปบักเตรีที่ผลิตกรดและแลคติคนี้เป็นเชื้อที่เพาะเลี้ยงค่อนข้างยาก เนื่องจากมีความต้องการธาตุอาหารค่อนข้างสมบูรณ์ และสลับซับซ้อนในการเจริญ (Dunn และ Prescott, 1959 ; Tittsler *et al.*, 1952) มีความต้องการอาหาร เกลือแร่ กรดอะมิโน และไวตามินหลายชนิด โดยเฉพาะไวตามิน B-complex นอกจากนี้ยังต้องการพวก organic growth factor เช่น adenine guanine และ uracil อีกด้วย (Tittsler *et al.*, 1952 และ Rogasa *et al.*, 1961 อ้างอิงโดยศิริโสภาและไอริณ, 2547)

- แหล่งธาตุคาร์บอน

แหล่งธาตุคาร์บอน คือ สารประกอบที่ให้คาร์บอนไปใช้ประโยชน์ในการเสริมสร้างซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอของเซลล์จุลินทรีย์ ได้ (Martin และ Batt , 1957 อ้างอิงโดยศิริโสภาและไอริณ, 2547) แหล่งคาร์บอนและพลังงานในอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์พวก heterotrophs ทั่วๆไปมักจะมีสารเดียวกัน (Frobisher , *et al.*, 1974 อ้างอิงโดยศิริโสภาและไอริณ, 2547) สำหรับแหล่งพลังงานและธาตุคาร์บอนของบักเตรีแลคติกจะเป็นพวกคาร์โบไฮเดรตที่สามารถละลายน้ำได้ เช่น น้ำตาลกลูโคส แลคโตส ซูโครส เป็นต้น (Tittsler *et al.*, 1952) Buchanan *และคณะ* (1974) อ้างอิงโดยศิริโสภา และไอริณ, 2547 รายงานว่าบักเตรี *Pediococcus* สามารถเฟอร์เมนต์น้ำตาล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลูโคส ฟรุคโตส และแมนโนส แต่ไม่สามารถใช้ซอร์บิตอลและแป้ง Dolezil และ Kirsop (1977) อ้างอิงโดยศิริโสภาและไอริณ, 2547 พบว่าบักเตรี *Pediococcus* จะใช้น้ำตาลกลูโคส ฟรุคโตส กาแลคโตส แมนโนส เซลโอไบโอส ทรีฮาโลส และ เอ็น-อะเซททีล กลูโคซาไมน์ เป็นแหล่งธาตุคาร์บอนและพลังงานได้

- แหล่งธาตุไนโตรเจน

แหล่งธาตุไนโตรเจน คือ สารประกอบที่ให้ไนโตรเจนไปใช้ประโยชน์ในการเจริญและเสริมสร้างหรือซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอของเซลล์ (Date , 1971 อ้างอิงโดยศิริโสภาและไอริณ, 2547) แหล่งธาตุไนโตรเจนของบักเตรีแลคติคมักจะเป็นกรดอะมิโน ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็น essential amino acid แต่ก็มีบางชนิดสามารถใช้ peptide ได้ (Tittsler *et al.*, 1952) ส่วนเกลือแอมโมเนียนั้น พวก *Pediococcus* ใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนไม่ได้ (Gunther และ White 1961 อ้างอิงโดยศิริโสภาและไอริณ, 2547) แต่ก็มีพวก *Lactobacillus helveticus* ที่สามารถใช้เกลือแอมโมเนียเป็นแหล่งธาตุไนโตรเจนเพื่อนำไปสร้าง non-essential amino acid และ สารประกอบไนโตรเจนที่มีอยู่ในไซโตพลาสซึม

- แหล่งของ growth factor

จุลินทรีย์ต้องการ growth factor ที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิต จุลินทรีย์บางชนิดสามารถสังเคราะห์วิตามินต่างๆ ได้ แต่บางชนิดไม่สามารถสังเคราะห์วิตามินบางอย่างขึ้นใช้ได้ จึงจำเป็นต้องเติมไวตามินเหล่านั้นลงในอาหาร (Eddy, 1941 อ้างอิงโดยศิริโสภาและไอริณ, 2547) บักเตรีแลคติกต้องการวิตามิน และ growth factor ค่อนข้างเฉพาะลงไป แล้วแต่ชนิดของเชื้อ Jensen และ Seeley (1953) อ้างอิงโดยศิริโสภาและไอริณ, 2547 พบว่าบักเตรี *Pediococcus* มีความต้องการ citrovorum factor, niacin และ pantothenic acid ในการเจริญ ส่วน biotin และ pyridoxine นั้นเป็นเพียงตัวเร่งในการเจริญเท่านั้น นอกจากนี้เขายังได้ศึกษาถึงความต้องการธาตุอาหารของ *Pediococcus* Nakagawa และ Kitahara (1959) อ้างอิงโดยศิริโสภาและไอริณ, 2547 พบว่า *Pediococcus* โดยทั่วไปมีความต้องการพวก niacin , pantothenic acid และ biotin หรือ tween 80 บางสายพันธุ์ต้องการ organic base riboflavin และ peptide like substance (P-factor) ในการเจริญ

- เกลือแร่

บักเตรีแลคติกส่วนใหญ่ต้องการ K^{+}, Mn^{++} และ $PO^{=}_{4}$ ในปริมาณค่อนข้างมาก (Tittsler *et al.*, 1952) และบางชนิดยังต้องการ Mg^{++}, Sr^{++}, Ca^{++} , Rb^{+} ซึ่งความต้องการอนุมูลโลหะต่างๆ นี้จะแตกต่างกันระหว่างบักเตรีแต่ละชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.3 สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของบักเตรี *Pediococcus*

1. อิทธิพลของอุณหภูมิการเจริญของบักเตรี *Pediococcus sp.*

ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์จะเป็นลักษณะเฉพาะของจุลินทรีย์แต่ละชนิด (Davis, *et al.*, 1968) Buchanan และคณะ (1974) อ้างอิงโดยศิริโสภาและไอริณ, 2547 รายงานว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของ *Pediococcus cerevisiae* อยู่ที่ 25 องศาเซลเซียส และบักเตรีนี้ไม่เจริญที่ 35 องศาเซลเซียส *Pediococcus acidilactici* จะเจริญอยู่ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส *Pediococcus pentosaceus* จะเจริญอยู่ได้ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิสูงสุดที่เจริญได้อยู่ระหว่าง 40-45 องศาเซลเซียส ส่วน *Pediococcus urinae-equi* จะเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิสูงสุดที่เจริญได้ คือ 42 องศาเซลเซียส สำหรับ *Pediococcus halophilus* Nakagawa และ Kitahara (1959) อ้างอิงโดยศิริโสภาและไอริณ, 2547 พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญอยู่ที่ 25-30 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิสูงสุดที่เจริญได้จะอยู่ต่ำกว่า 45 องศาเซลเซียส Sakaguchi (1959) รายงานว่า *Pediococcus soyae* ซึ่งเป็นพวกเดียวกับ *Pediococcus halophilus* ที่แยกได้จากน้ำหมักซีอิ๊วญี่ปุ่นจะเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส แต่ไม่เจริญที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส Gunther และ White (1961) อ้างอิงโดยศิริโสภาและไอริณ, 2547 พบว่า *Pediococcus halophilus* สามารถเจริญที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส Coster และ White (1964) อ้างอิงโดยศิริโสภาและไอริณ, 2547 พบว่า *Pediococcus halophilus* มีช่วงอุณหภูมิการเจริญอยู่ระหว่าง 10 -40 องศาเซลเซียส Whittenbury (1965) อ้างอิงโดยศิริโสภาและไอริณ, 2547 พบว่า *Pediococcus halophilus* สามารถเจริญได้ที่ 40 องศาเซลเซียส แต่ไม่เจริญที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส Saisithi (1967) อ้างอิงโดยศิริโสภาและไอริณ, 2547 พบว่า *Pediococcus halophilus* ที่แยกได้จากน้ำปลาไทยจะเจริญดีที่สุดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และ Buchanan และคณะ (1974) อ้างอิงโดยศิริโสภาและไอริณ, 2547 รายงานว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของบักเตรี *Pediococcus halophilus* จะอยู่ระหว่าง 25-30 องศาเซลเซียสและอุณหภูมิสูงสุดที่เจริญได้ คือ 40 องศาเซลเซียส

2. ผลของความเป็นกรดเป็นด่างต่อการเจริญของบักเตรี *Pediococcus sp.*

ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) มีอิทธิพลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ จุลินทรีย์แต่ละชนิดจะมีช่วง pH ที่เหมาะสมสำหรับการเจริญ ถ้าต่ำกว่านั้นหรือสูงกว่านั้นจะไม่มีการเจริญเลยหรือเจริญก็เจริญไม่ดีเท่าในช่วง pH ที่เหมาะสม (Okinsky and Unmreit, 1959 อ้างอิงโดยศิริโสภาและไอริณ, 2547)

Buchanan และคณะ (1974) อ้างอิงโดยศิริโสภาและไอริณ, 2547 รายงานว่าบักเตรี *Pediococcus cerevisiae* จะเจริญได้ในช่วงpH 3.5-6.2 และจะเจริญได้ดีที่สุดที่ pH 5.5 Nakagawa และ Kitahara (1959) อ้างอิงโดยศิริโสภาและไอริณ, 2547 พบว่า *Pediococcus acidilactici* จะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เจริญได้ดีที่ pH 6.0 ส่วน pH ต่ำสุดที่สามารถเจริญได้อยู่ระหว่าง 3.5-3.8 และ pH สูงสุดที่เจริญอยู่ที่ 8.0 ส่วน pH ที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของ *Pediococcus pentosaceus* อยู่ที่ pH 7.0 และ pH 8.0 เป็น เป็น pH สูงสุดที่สามารถเจริญได้ *Pediococcus urinae-equi* จะเจริญได้ที่ pH 9.0 และ pH สูงสุดที่เจริญได้ คือ 9.6 ส่วน *Pediococcus halophilus* จะเจริญได้อยู่ที่ 9.2 Sakaguchi (1959) พบว่า *Pediococcus soyae* ในน้ำหมักซีอิ๊วญี่ปุ่นจะเจริญได้ในช่วง pH 5.5-9.0 Coster และ White (1964) อ้างอิงโดยศิริโสภาและไอริณ, 2547 พบว่า *Pediococcus halophilus* สามารถเจริญได้ดีที่ pH 8.6 แต่ไม่สามารถเจริญที่ pH 4.4 Whittenbury (1965) อ้างอิงโดยศิริโสภาและไอริณ, 2547 พบว่า *Pediococcus halophilus* สามารถเจริญได้ที่ pH 5.0 และ 8.0 แต่ไม่สามารถเจริญที่ pH 9.6

2.6 การใช้เทคโนโลยีเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นผสมในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก

สายพันธุ์ของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อประสบความสำเร็จได้แก่ Lactobacillus, Pediococcus และ Micrococcus เชื้อจุลินทรีย์ Micrococci ถูกเลือกใช้เป็นเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นด้วยเหตุผลที่ว่าเชื้อดังกล่าวมีกิจกรรมที่สามารถรีดิวซ์ไนเทรตไปเป็นไนไทรต์และสามารถปรับปรุงคุณภาพในแง่สีที่ปรากฏและกลิ่นที่ดีต่อผลิตภัณฑ์ ขณะที่เชื้อ Lactobacilli และ Pediococci ถูกเลือกใช้ด้วยเหตุผลที่ว่าเป็นจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตกรดอินทรีย์ประเภทกรดแลคติกได้ การใช้กล้าเชื้อในประเทสเยอรมันสำหรับผลิตภัณฑ์อาหารหมัก มีลักษณะการใช้เป็นเชื้อเดี่ยวและเชื้อผสม ในกลุ่มของ Lactobacillaceae ซึ่งประกอบด้วยหลายสายพันธุ์ได้แก่ *Lactobacillus sake, Lactobacillus plantarum, Pediococcus pentosaceus* และ *Pediococcus acidilacticiand* และในกลุ่มของ Micrococcaceae ได้แก่ *Micrococcus varians, Staphylococcus xylosus* และ *Staphylococcus carnosus* (Hammes , *et al*., 1994)

วัตถุประสงค์ของการเติมเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นลงไปในกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อนั้นเพื่อสร้างความมั่นใจในคุณภาพผลิตภัณฑ์ให้มีความปลอดภัยสูง มีระยะการหมักที่สั้นลงและให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพสม่ำเสมอ มีอายุการเก็บรักษาที่คงทน การศึกษาวิจัยและสนับสนุนว่าการใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นในผลิตภัณฑ์เนื้อแล้วทำให้คุณภาพสม่ำเสมอ และได้ลักษณะผลิตภัณฑ์ที่ดี ในด้านความปลอดภัยและอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ และทำให้คุณภาพผลิตภัณฑ์คงทนต่อการเสื่อมเสียอันเนื่องมาจากจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค

การใช้เทคโนโลยีเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น ควรตระหนักถึงปริมาณที่ใช้ว่าจะต้องเพียงพอหรือมากพอที่จะแข่งขันกับจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในธรรมชาติรวมถึงจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคด้วย ตลอดจนต้องคำนึงถึงการควบคุมกระบวนการหมักให้เหมาะสม ซึ่งหากมีการควบคุมและปฏิบัติการดังกล่าวอย่างดีที่สุดแล้วก็เป็นการประกันได้ว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้น่าจะปลอดภัย และมีคุณภาพมาตรฐานที่ดี (Bacus and Brown, 1981)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความสามารถของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคจะอยู่รอด หรือการเจริญเติบโตเบื้องต้น หรือความสามารถในการผลิตสารพิษของเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าว ขึ้นกับว่าเชื้อดังกล่าวมีความสามารถการแข่งขันหรือปรับตัวเข้ากับสิ่งแวดล้อมที่ถูกจำกัดขึ้นในสูตรการผลิต และกระบวนการผลิตมากหรือน้อยเพียงไร ส่วนประกอบที่สำคัญของสิ่งแวดล้อมที่ควรตระหนักเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ได้แก่

1) สูตรการผลิตเบื้องต้น การเปลี่ยนแปลงความเป็นกรดเป็นด่าง ความเข้มข้นของน้ำเกลือ ค่าน้ำที่เป็นประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ความต่างศักย์ในผลิตภัณฑ์ และสารประกอบไนเทรต
2) อุณหภูมิระหว่างการหมัก ความชื้นสัมพัทธ์ ชนิดของภาชนะบรรจุ อัตราเร็วของการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและกายภาพ
3) ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคเบื้องต้นที่มีในผลิตภัณฑ์
4) จำนวนของจุลินทรีย์ที่ต้องการ หรือมีประโยชน์ต่อกระบวนการหมักในสูตรการผลิตเบื้องต้นรวมถึงเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นที่เติมลงไปในสูตรการผลิตด้วย (อ้างอิงโดยปิ่นมณี, 2546)

2.7 การศึกษาและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้เชื้อ *Pediococcus* spp.

Swetwiwathana และ Lotong (1999) ได้ศึกษาถึงประสิทธิภาพในการนำเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR536 ในการหมักแหนมเทียบกับแหนมที่หมักโดยธรรมชาติไม่มีการเติมกล้าเชื้อและแหนมที่หมักด้วยเชื้อ *P. pentosaceus* JCM 5890 ที่ไม่สามารถผลิตสารแบคเทอริโอซิน รวมถึงศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งและทำลายเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ *Salmonella anatum* ควบคู่ไปด้วยในการทดลอง (Swetwiwathana และคณะ, 2001 และ 2002) ซึ่งพบว่าการใช้ *P. pentosaceus* TISTR536 เป็นกล้าเชื้อบริสุทธิ์ในการหมักแหนมนั้นจะทำให้แหนมที่ได้มีค่าพีเอช ลดลงเร็วกว่าแหนมที่หมักแบบธรรมชาติโดยไม่เติมกล้าเชื้อเล็กน้อย แต่ค่าพีเอชเมื่อเทียบกับแหนมที่เติมเชื้อ JCM 5890 จะให้ผลไม่แตกต่างกันมาก แต่ผลในการยับยั้งการเจริญของ *S. anatum* ของแหนมที่หมักด้วย TISTR536 นั้นจะให้ผลดีกว่าแหนมที่หมักด้วย *P. pentosaceus* JCM 5890 และแหนมที่หมักแบบธรรมชาติที่ไม่เติมกล้าเชื้อ ซึ่งจากผลการทดลองดังกล่าว ทำให้ยิ่งมั่นใจว่าเชื้อในกลุ่มแบคทีเรียแลคติกสายพันธุ์ *P. pentosaceus* TISTR536 น่าจะเป็นทางเลือกที่จะใช้เป็นกล้าเชื้อบริสุทธิ์ในการหมักแหนมเพื่อช่วยในการพัฒนาคุณภาพแหนมให้คงอยู่ในด้านรสชาติและลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์รวมถึงความเชื่อมั่นในด้านความปลอดภัยจากแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค เช่น *S. anatum*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 : การประยุกต์ใช้กล้าเชื้อแบคทีเรีย

Feature	Micrococcacea	Lactic acid bacteria
Colour development	Nitrate reductase activity	Acidification
Colour stability	Catalase activity	
Aroma development	Lipolysis and proteolysis	
Taste development		Acidification
Low redox potential	Oxygen consumption	
Delayed rancidity	Catalase activity	
Safety/preservation	Nitrate reductase activity Nitrite degradation	Acidification Competitive exclusion Bacteriocin production Nitrite degradation

ที่มา : www.saccosrl.it/.../ structure/sausages.html

2.8 ความรู้เกี่ยวกับแหนม

2.8.1 ความหมาย

แหนมเป็นผลิตภัณฑ์อาหารหมักพื้นบ้านในประเทศไทยประเภทหนึ่ง ที่นิยมบริโภคกันทางภาคเหนือโดยเฉพาะในเขตจังหวัดเชียงใหม่ ลำปาง ลำพูน เชียงราย เป็นต้น เป็นผลิตภัณฑ์เนื้อหมักที่มีลักษณะกึ่งแห้ง (Semi-dry sausage) โดยทำจากเนื้อหมูและหนังหมูเป็นหลัก แล้วผสมกับส่วนประกอบต่างๆ เช่น เกลือแกง ข้าวสุก และเครื่องเทศอื่นๆ บรรจุในถุงพลาสติกหลายรูปแบบหรือบรรจุในถุงพลาสติกธรรมดาและหุ้มด้วยใบกล้วยหลายๆชั้นมัดให้แน่น โดยให้มีอากาศน้อยที่สุด ทิ้งไว้ประมาณ 4-5 วัน ให้เกิดการหมักที่อุณหภูมิห้อง จะได้แหนมที่มีรสเปรี้ยวนิยมนำมาบริโภคโดยไม่ผ่านการทำให้สุก (บุษกร, 2530 อ้างอิงโดย สิรินดา)

2.8.2 การผลิตผลิตภัณฑ์แหนม

แหนมหรือที่เรียกกันโดยสากลว่า Fermented pork sausage เป็นผลิตภัณฑ์ที่ปกติผลิตมาจากเนื้อหมูสดที่ผ่านการคัดเลือกตรวจสอบมาแล้วจากโรงฆ่าสัตว์ ลอกเอาเนื้อเยื่อเกี่ยวพันออกรวมทั้งไขมันด้วย นำมาบดกับส่วนผสมต่างๆ เช่น เกลือแกง ข้าวสุก และเครื่องเทศอื่นๆ และบรรจุในถุงพลาสติกหลายรูปแบบ เช่น บรรจุในถุงพลาสติกรูปทรงกระบอก บรรจุในถุงพลาสติกในลักษณะเป็นตุ้ม บรรจุในถุงพลาสติกธรรมดาและหุ้มด้วยใบกล้วย จากมาตรฐานอุตสาหกรรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มอก. 1249-2537 ระบุว่าอาจมีการใช้หูหมู หรือจมูกหมูแทนส่วนของหนังหมูและอาจมีการฉายรังสีด้วยก็ได้ การผลิตแหนมจะขึ้นอยู่กับโอกาสที่เชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการสามารถปนเปื้อนเข้าสู่ระบบมากหรือน้อยเพียงไร ซึ่งมีผลทำให้ไม่สามารถควบคุมปริมาณได้เท่ากันทุกครั้งของการผลิต ระยะเวลาการผลิตจะใช้เวลานาน 3-5 วัน ทั้งนี้ขึ้นกับฤดูกาลผลิต ไพโรจน์ และคณะ (2538. ก) รายงานว่าจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในเนื้อหมูพวก *Lactobacillus* spp. ซึ่งจะผลิตกรดแลคติกทำให้เกิดรสเปรี้ยวขึ้น ผลิตภัณฑ์สุดท้ายหลังการเก็บนาน 3 วัน จะมีกรดแลคติกประมาณ 1-2 เปอร์เซ็นต์ และมีความเป็นกรดด่างประมาณ 4

2.8.3 วัตถุเจือปนอาหารที่ใช้ในแหนม

ในการผลิตแหนมผู้ประกอบจะมีการเติมสารประกอบประเภทไนเตรท ไนไตรท์ ในการผลิตทั้งนี้เพื่อให้สารดังกล่าวไปจับตัวกับรงควัตถุ(เม็ดสี)ในเนื้อแหนม ช่วยให้เนื้อยังมีสีชมพูแดง นอกจากนั้นไนไตรท์ยังมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโทษ (เช่น เชื้อ Clostridium) มีผลช่วยชะลอการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์ ซึ่งเมื่อนำมาทำเป็นผลิตภัณฑ์แล้ว ความเป็นกรดของแหนมจะทำให้สารประกอบดังกล่าวสลายตัวไป ดังนั้นจึงควรปรุงบริโภคแหนมเมื่อเปรี้ยวเท่านั้น

ในผลิตภัณฑ์แหนมตามมาตรฐาน มอก. 1219-2537 อนุญาตให้มีฟอสเฟตในรูปโมโน-, ได- และโพลีของเกลือโซเดียมและโพแทสเซียมอย่างใดอย่างหนึ่ง หรือรวมในผลิตภัณฑ์สำเร็จเมื่อคำนวณจากฟอสฟอรัสทั้งหมดในรูป P_2O_5 ไม่เกิน 3000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และอนุญาตให้มีโซเดียมหรือโพแทสเซียมไนเตรทไม่เกิน 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม หรือโซเดียมหรือโพแทสเซียมไนไตรท์ไม่เกิน 250 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และต้องไม่มีการเจือสีใดๆ วัตถุเจือปนอาหารอื่นๆที่ไม่ได้ระบุอนุญาตให้ใช้ (มอก. 1219-2537)

2.8.4 คุณลักษณะของแหนมที่ดี

คุณลักษณะของแหนมที่ดีต้องมีเนื้อแน่น คงรูป ส่วนประกอบต่างๆต้องผสมรวมกันอยู่อย่างทั่วถึง มีสีชมพูแดงตามธรรมชาติของแหนมที่พร้อมบริโภค อาจสังเกตจากสีของพริกหรือของแหนม ถ้าแหนมที่ผลิตเสร็จใหม่จะมีสีแดงสดเหมือนหมูสด ซึ่งลักษณะดังกล่าวแสดงว่าแหนมยังไม่เกิดการหมัก จะยังไม่มีรสเปรี้ยว ถ้าสีของหมูเปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อนและพริกมีสีซีดลง นั่นแสดงว่าเกิดการเปรี้ยวแล้ว แต่ถ้าแหนมมีการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอ่อนหรือเริ่มเขียวแสดงว่าแหนมเริ่มหมดอายุแล้ว กลิ่นรสของแหนมที่ดีต้องเปรี้ยว ปราศจากกลิ่นแปลกปลอม เช่น กลิ่นเหม็นอับ และต้องปราศจากสิ่งแปลกปลอมอื่นๆ เช่น ผม ขน กระดูก ยกเว้นขนที่อยู่ในหนังหมูและกระดูกอ่อนของใบหู แหนมควรมีโปรตีนไม่น้อยกว่า 22 และไขมันไม่เกินร้อยละ 8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8.5 สุขลักษณะ

แหนมที่มีสุขลักษณะที่ดีเมื่อนำมาวิเคราะห์ทางด้านจุลินทรีย์จะต้องไม่ตรวจพบเชื้อ Salmonella ในตัวอย่างแหนม 25 กรัม *Staphylococcus aureus* และ *Clostridium perfringens* ต้องไม่พบในตัวอย่าง 0.1 กรัม พยาธิ *Trichinella spiralas* ต้องไม่พบในตัวอย่าง 100 กรัม ส่วนเชื้อราต้องน้อยกว่า 10 โคโลนี/ตัวอย่างแหนม 1 กรัม (มอก. 1219-2537)

2.9 ส่วนประกอบในการผลิตแหนม

2.9.1 เนื้อหมู (Lean meat)

เนื้อหมูที่ใช้ควรเป็นหมูเนื้อแดงสด ควรชำแหละใหม่ๆ เป็นชิ้นส่วนต้นขาจะดีที่สุด เนื่องจากมีมันแทรกน้อย ส่วนของเนื้อที่เรียกว่าเนื้อแดงหรือเนื้อไขมันออกจนหมด (lean meat) มีไขมันอยู่ประมาณร้อยละ 4-11 และมีโปรตีนสูงร้อยละ 27-38 (เยาวลักษณ์ , 2536)

2.9.2 หนังหมู (Pork rid)

หนังหมูที่นำมาหั่นหรือบดใช้เป็นส่วนที่แยกออกจากเนื้อแล้ว การเตรียมหนังหมูจะต้องทำให้หนังหมูสุกก่อนแล้วนำไปหั่นหรือบด หนังที่ลอกออกจากซากโดยเครื่องจักรหรือโดยมือคนควรให้เนื้อมีไขมันติดอยู่น้อยที่สุดเท่าที่จะทำได้ นำชิ้นใหญ่มาต้มในน้ำเดือดประมาณ 15 นาที แล้วนำไปหั่นหรือบดเพื่อใช้แปรรูปต่อไป

2.9.3 เกลือ (Salt)

เกลือที่ใช้อยู่ในรูปของเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) หรือทราบกันในชื่อของเกลือแกง โดยเกลือที่เหมาะสมในการหมักเนื้อสัตว์ ควรเป็นเกลือที่สะอาดและผ่านการฆ่าเชื้อมาแล้ว นิยมใช้เกลือสินเธาว์ที่ปราศจากโลหะหนักมากกว่าเกลือสมุทร เนื่องจากเกลือสมุทรอาจมีแบคทีเรียที่ทนความเค็มสูง (halophilic bacteria) และมีอนุมูลของสารแคลเซียม แมกนีเซียม ซึ่งมีผลต่อการดูดซึมของน้ำเกลือทำให้ความสามารถในการละลายของโปรตีนลดลง โลหะหนัก เช่น ผลึกและทองแดง ถ้ามีอยู่ในเกลือที่ใช้หมักเนื้อจะมีผลเร่งปฏิกิริยาการหืนของไขมัน แต่ถ้าเกลือสมุทรได้ผ่านกระบวนการกำจัดสิ่งไม่พึงประสงค์ดังกล่าวข้างต้นแล้ว ก็สามารถนำมาใช้ในการหมักได้ นอกจากนี้เกลือที่เติมไอโอดีนไม่เหมาะที่จะใช้ในการหมักเนื้อซึ่งใช้ร่วมกับไนเตรท เนื่องจากไอโอดีนจะเป็นตัวยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ช่วยเร่งในการเปลี่ยนสารไนเตรทเป็นไนไตรท์ได้ เป็นผลให้สารไนเตรทตกค้างในผลิตภัณฑ์มาก

2.9.4. วัตถุเจือปนอาหาร ได้แก่

2.9.4.1 ไนไตรท์ (Nitrite)

ส่วนใหญ่นิยมใช้ในรูปเกลือโซเดียมหรือโปตัสเซียมไนไตรท์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
97024

หน้าที่ของเกลือไนโตรท์และเกลือไนเตรท เมื่อใช้กับผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ คือ

1. ทำให้ผลิตภัณฑ์เนื้อมีสีแดง และรักษาสีแดงของผลิตภัณฑ์ ทำให้น่ารับประทานขึ้น

2. ช่วยเพิ่มรสชาติ (taste) กลิ่นรส (flavor) แก่ผลิตภัณฑ์ ทำให้มีกลิ่นรสเฉพาะตัว เป็นที่นิยมสำหรับผู้บริโภคมากกว่าการใช้เกลือในการหมักเนื้อเพียงอย่างเดียว

3. ช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และป้องกันการงอกของสปอร์ของแบคทีเรียที่ไม่ต้องการอากาศโดยเฉพาะอย่างยิ่ง เชื้อโรคอาหารเป็นพิษในกลุ่ม Clostridium

4. ช่วยยับยั้งการเหม็นหืนของไขมันในผลิตภัณฑ์เนื้อ โดยจะยับยั้งปฏิกิริยาการเติมออกซิเจนของไขมัน (oxidative rancidity)

ปริมาณไนเตรทและไนไตรท์ ที่เหมาะสมในการใช้ ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 20 พ.ศ. 2517 อนุญาตให้ใช้ไนเตรทได้ในปริมาณไม่เกิน 500 ส่วนในล้านส่วน (โดยคิดคำนวณเป็นโซเดียมไนเตรท) และไนไตรท์ที่ใช้ได้ในปริมาณ 20 ส่วนในล้านส่วนส่วน (โดยคิดคำนวณเป็นโซเดียมไนไตรท์)

2.9.4.2 ฟอสเฟต

ฟอสเฟตเป็นสารประกอบ ที่ใช้เติมเพื่อวัตถุประสงค์ คือ ช่วยเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำ (water-binding capacity) ทำให้เนื้อไม่สูญเสียน้ำหนักมากเกินไปขณะร้อน เนื้อมีความนุ่มและชุ่มน้ำเพิ่มขึ้นและมีรสชาติดีขึ้น (เยาวลักษณ์ ,2536)

บทบาทของสารฟอสเฟตที่มีผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อ

1. การเพิ่มความนุ่ม โดยเป็นตัวทำให้ pH ของเนื้อเพิ่มขึ้นและช่วยให้โปรตีนของกล้ามเนื้อคลายตัว เนื่องจากสารแอคโตไมโอซินแยกออกจากกันเป็นแอคตินและไมโอซิน สารฟอสเฟตที่ใช้ในด้านนี้ คือ พวกไพโรฟอสเฟต (pyrophosphate)

2. การเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำ โดยทำให้เส้นใยของโปรตีนยืดตัวล้อมรอบโมเลกุลน้ำพบว่าเกลือของกรดอ่อนให้คุณสมบัติได้ดีในข้อนี้ คือ โซเดียมฟอสเฟต (sodium phosphate)

3. เพิ่มรสชาติ โดยการทำให้โมเลกุลของเนื้อสานกันเป็นตาข่าย สามารถกันไม่ให้เลือดและของเหลวในเนื้อไหลออกมา เนื้อจึงมีรสชาติดีขึ้น

4. ช่วยให้โมเลกุลเนื้อยึดเกาะกันดี โดยการดึงโมเลกุลโปรตีนที่ละลายน้ำได้มารวมตัวกัน ทำให้เนื้อเหนียวและยึดหยุ่นดีขึ้น นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอก

5. ช่วยให้สีคงทน โดยทำหน้าที่ควบคุม pH ให้อยู่ในช่วง pH 6.0-6.6 จึงทำให้เนื้อมีสีคงทนดีขึ้น ซึ่งเป็นผลให้การใช้ไนไตรท์และกรดแอสคอร์บิคคงตัวเพิ่มมากขึ้น แต่คุณสมบัติในด้านสีที่คงตัวของสารฟอสเฟตมีผลด้อยกว่าการใช้กรดแอสคอร์บิคและความสามารถนี้จะลดลงมากถ้ากระทบแสงสว่างจากไฟฟลูออเรสเซนต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กำหนดปริมาณของเกลือโซเดียมหรือโพแทสเซียมฟอสเฟต ในผลิตภัณฑ์ต้องไม่เกิน 3000 มิลลิกรัม (มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม , 2537)

2.9.4.3 เกลือของกรดแอสคอร์บิค

เกลือของกรดแอสคอร์บิค (ascorbic acid) และอีริโธรบิก (erythorbic acid) ที่ใช้ส่วนมากนิยมรูปของเกลือโซเดียม สำหรับแอสคอร์บิคและอีริโธรบิกไม่นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่เติมสารไนไตรท์ เพราะจะทำปฏิกิริยากับไนไตรท์ทำให้เกิดเป็นไนตรัสออกไซด์ ซึ่งเป็นอันตรายแก่ผู้บริโภคได้ (เยาวลักษณ์ ,2536)

บทบาทของเกลือแอสคอร์เบทต่อคุณภาพผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์

1. ทำให้สารเมทไมโอโกลบินที่มีอยู่ในเนื้อถูกรีดิวส์เป็นออกซิไมโอโกลบิน ดังนั้นจึงป้องกันมิให้ผลิตภัณฑ์มีสีซีดจางลงอย่างรวดเร็ว ขณะรอการจำหน่าย
2. ช่วยเร่งปฏิกิริยาการเกิดไนตริกออกไซด์ให้เร็วขึ้น จึงเร่งอัตราการหมักและการเกิดสีแดงในเนื้อ และทำให้ปริมาณสารไนเตรท และไนไตรท์เหลือตกค้างในผลิตภัณฑ์น้อยให้เร็วขึ้น
3. ช่วยลดให้เกิดสารไนโตรซามีนซึ่งอาจก่อให้เกิดมะเร็ง
4. ถ้าใช้มากจะทำหน้าที่เป็นสารป้องกันการหืนไขมัน จึงช่วยให้ผลิตภัณฑ์มีกลิ่นรสที่คงตัวดี

2.9.5. ข้าวสุก

ข้าวสุกใส่ลงไปเพื่อเป็นแหล่งอาหารให้กับแบคทีเรียแลคติกในการสร้างกรดอินทรีย์ต่างๆ การเตรียมข้าวสุกในการทดลองใช้อัตราส่วนข้าวต่อน้ำ เท่ากับ 1:2 ในการหุงต้มในหม้อหุงข้าวตัดไฟอัตโนมัติ

2.9.6. กระเทียม

กระเทียมเป็นเครื่องเทศสำคัญที่ใช้ในการประกอบอาหารรวมทั้งเป็นองค์ประกอบที่สำคัญในการเพิ่มรสชาติให้ผลิตภัณฑ์ กระเทียมยังมีส่วนสำคัญต่อการเจริญของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่ใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อ

โดยมีรายงานพบว่ากระเทียมมีส่วนในการเร่งกระบวนการหมักของเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่ใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อ โดยไปเร่งการผลิตกรดแลคติกในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักชนิด dried sausage รวมทั้งแหนม ซึ่งเป็นอาหารหมักพื้นเมืองของไทย (อดิศร , 2542)

2.9.7. กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก

แบคทีเรียแลคติกเป็นจุลินทรีย์ที่ยอมรับในอุตสาหกรรมอาหารหมัก เนื่องจากเป็นจุลินทรีย์ที่ไม่ก่อให้เกิดโรคต่อมนุษย์และสัตว์ แบคทีเรียแลคติกสามรถสร้างกรดอินทรีย์จำนวนมากได้อย่างรวดเร็วเป็นผลทำให้ pH ของอาหารลดลงทำให้ได้ผลิตภัณฑ์อาหารชนิดใหม่ที่มีกลิ่นรส และเนื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สัมผัสที่แตกต่างจากเดิม ทั้งยังช่วยป้องกันการเสื่อมเสียของอาหารจากจุลินทรีย์หรือเอนไซม์อื่นๆ ทั้งนี้เพราะค่าความเป็นกรดของอาหารเพิ่มขึ้น (เยาวลักษณ์ ,2536)

2.10 สภาพการหมัก

2.10.1 การหมักตามสภาพธรรมชาติ

การหมักตามสภาพธรรมชาติ เป็นการหมักที่ไม่มีการเติมกล้าเชื้อในสูตรการผลิตเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่ทำหน้าที่สร้างกรดได้มาจากการปนเปื้อนในเนื้อสัตว์และส่วนผสมในการผลิต ชนิดของแบคทีเรียกรดแลคติกที่พบมีจำนวนน้อย และยังพบแบคทีเรียชนิดอื่นๆ ทั้งที่ต้องการและไม่ต้องการรวมอยู่ด้วย ซึ่งมีทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ แบคทีเรียที่มีประโยชน์ ได้แก่ *Micrococcus* ความสำเร็จในการสร้างกรดแลคติกช่วงแรกของการหมักขึ้นอยู่กับชนิดของแบคทีเรียในกลุ่มของ *Enterococcus* เมื่อมีการหมักเกิดขึ้น เชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกจะมีการเจริญอย่างรวดเร็วและที่อายุการหมัก 2-5 วัน โดยพบจำนวนของแบคทีเรียกรดแลคติกจำนวน 106-108 โคโลนี/กรัม ค่าพีเอชที่ลดลงอย่างรวดเร็วส่งผลให้เชื้อ *Pseudomonas* และแบคทีเรียแกรมลบรูปร่างเป็นแท่งที่ไวต่อกรดตายภายในเวลา 2-3 วัน แต่มีเชื้อบางชนิด เช่น *Salmonella* อาจจะทนอยู่ได้ จำนวนของแบคทีเรียกรดแลคติกมีแนวโน้มที่จะลดลงหลังจากที่มีการสร้างกรดสูงสุด ในช่วงเวลาที่สองของการหมัก (15 วัน) อาจมีเชื้อราเกิดขึ้น การผลิตกรดและค่าพีเอชที่ลดลงเริ่มเป็นไปอย่างช้าๆ ซึ่งระยะนี้เป็นสภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *S. aureus* และอาจมีการผลิตสารพิษเกิดขึ้น แบคทีเรียกรดแลคติกที่พบตามธรรมชาติ ได้แก่ สกุล *Lactobacillus* ส่วนใหญ่ ได้แก่ สปีชีส์ *L. bavaricus, L. curvatus, L. farciminis, L. plantarum* และ *L. sake* โดยพบว่า *L. sake* มีความสำคัญต่อการหมักไส้กรอกที่สุดในสกุล *Lactobacillus* ทั้งหมด

กลุ่มของแบคทีเรียกรดแลคติกที่พบรองจาก *Lactobacillus* คือสกุล *Pediococcus* ได้แก่ *P. damnosus, P. acidilactici* และ *P. pentosaceus* ส่วน *Leuconostoc* จำนวนน้อยและพบในไส้กรอกที่มีคุณภาพต่ำ (Vernam and Sutberland, 1995)

Park *et al.*, (1997) ได้ศึกษาถึงผลของ *L. plantarum* ที่แยกได้จากอาหารหมักต่อคุณสมบัติของไส้กรอกหมักเปรียบเทียบกับการใช้กล้าเชื้อเชิงพานิชย์ (commercial starter) ว่า *L. plantarum* ที่แยกได้จากอาหารหมักมีความสามารถในการควบคุมคุณภาพของไส้กรอกหมักได้ดีกว่ากล้าเชื้อเชิงพานิชย์ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียที่แยกได้จากตัวอย่างของผลิตภัณฑ์ชนิดนั้นๆ มีศักยภาพพอที่จะพัฒนาเป็นกล้าเชื้อเชิงพานิชย์สำหรับใช้ในผลิตภัณฑ์ได้เป็นอย่างดี

2.10.2 การหมักด้วยกล้าเชื้อ

การหมักไส้กรอกที่เริ่มต้นด้วยการเติมกล้าเชื้อของแบคทีเรียกรดแลคติกลงในสูตรการผลิตมีความสำคัญเช่นเดียวกับการหมักตามสภาพธรรมชาติ โดยจะพบมากในช่วงแรกของการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

21087

ลักษณะของแบคทีเรียกรดแลคติกที่ใช้เป็นกล้าเชื้อในการหมักไส้กรอกจะต้องมีคุณสมบัติตามมาตรฐานที่กำหนดไว้ ได้แก่ สามารถแข่งขันกับแบคทีเรียที่พบในเนื้อสัตว์ได้เป็นอย่างดีและมีประสิทธิภาพ ต้องสร้างกรดแลคติกได้ในปริมาณที่เพียงพอ ต้องทนต่อโซเดียมคลอไรด์และสามารถเจริญได้ที่ความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์อย่างน้อย 6 เปอร์เซ็นต์ ต้องทนต่อโซเดียมไนไทรต์ และสามารถเจริญได้ที่ความเข้มข้นของโซเดียมไนไทรต์อย่างน้อย 100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 15-40 องศาเซลเซียส โดยมีอุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 30-37 องศาเซลเซียส เป็นกลุ่มที่มีวิถีการสร้างกรดแบบ homofermentative ต้องไม่มีการย่อยสลายโปรตีน ต้องไม่ผลิตไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในปริมาณที่มากเกินไป ควรเป็นแบคทีเรียชนิดที่ไม่สร้างแคตาเลส (catalase negative) ควรมีความสามารถในการรีดิวส์ไนเทรตได้ดี เมื่อผลิตไส้กรอกเสร็จแล้วควรมีผลในการเพิ่มรสชาติของผลิตภัณฑ์อันเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ไม่ควรมีการสร้างสารไบโอจินิกเอมีน (biogenic amines) เพราะเป็นสารที่อาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพ (Silla-Santos, 1998) ไม่ควรมีการสร้างเมือกในผลิตภัณฑ์ มีคุณสมบัติในการต่อต้านจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ ที่ทำให้เกิดโรค และสุดท้ายควรมีความทนต่อสภาวะของการหมัก และสามารถทำงานร่วมกับกล้าเชื้อชนิดอื่นๆ ได้เป็นอย่างดี

ปัจจัยที่มีผลในการแข่งขันของกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก ได้แก่ จำนวนกล้าเชื้อที่มีอยู่ในส่วนผสมของผลิตภัณฑ์ ธรรมชาติของแบคทีเรียที่มีอยู่ในส่วนผสม ปริมาณของกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่ใช้ สภาพทางสรีรวิทยาของกล้าเชื้อ และสูตรของส่วนผสมในการผลิตซึ่งกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่นิยมใช้มากคือ *L. plantarum, L. curvatus, P. pentosaceus* และ *P. acidilactici* ซึ่งส่วนใหญ่แล้วเป็นแบคทีเรียกรดแลคติกที่พบได้ตามสภาพธรรมชาติ (Hammes and Knauf, 1994)

การหมักที่มีการเติมกล้าเชื้อลงไปในส่วนผสม หรือที่เรียกว่า fermentation with starter culture เป็นการหมักที่มีการเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์เข้าไป กล้าเชื้อที่เติมต้องเป็นสายพันธุ์ที่ได้รับการคัดเลือกแล้วว่ามีคุณสมบัติเหมาะสมต่อการหมักเจริญเติบโตได้เร็ว สร้างกรดได้ในปริมาณสูง และมีความสามารถในการผลิตสารเพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์อื่นๆ ที่ไม่ต้องการได้เป็นอย่างดี เช่น แบคเทอริโอซิน ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และสารประกอบอื่นๆ ที่มีผลในการเพิ่มคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ ปัจจัยที่มีผลต่อความสามารถในการแข่งขันของกล้าเชื้อต่อจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ ได้แก่ จำนวนของกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่เติมลงไปในส่วนผสมกับแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีอยู่แล้วในส่วนผสม สภาพทางสรีรวิทยาของกล้าเชื้อ และสูตรผสมในการผลิตว่ามีแหล่งพลังงานที่เหมาะสมต่อการเจริญของกล้าเชื้อหรือไม่ โดยกล้าเชื้อบริสุทธิ์ของแบคทีเรียกรดแลคติกที่ใช้ ได้แก่ *L. plantarum, L. curvatus, P. pentosaceus , P. acidilactici* ซึ่งส่วนใหญ่เป็นเชื้อที่แยกได้จากการหมักตามสภาพธรรมชาติ (Vernam and Sutberland, 1995) นอกจากนี้ยังมีเชื้อในกลุ่มของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
หองสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง

staphylococci ชนิดที่ไม่ทำให้เกิดโรค (non-pathogenic) และ *Micrococcus* ซึ่งเชื้อทั้งสองชนิดมีผลต่อรสชาติของไส้กรอกโดยผ่านการผลิตกรดไขมันอิสระ (Montel *et al*., 1993)

ในการหมักผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์พื้นบ้านของไทย เช่น แหนมและไส้กรอกเปรี้ยว พบว่า กลิ่นและรสชาติเปลี่ยนแปลงตามสภาพของวัตถุดิบ สภาวะการบ่ม รวมถึงปัจจัยอย่างอื่นๆซึ่งจะมีผลต่อผู้บริโภค ดังนั้นการพัฒนาผลิตภัณฑ์ให้มีคุณภาพคงที่และเกิดประโยชน์ต่อผู้บริโภคมากที่สุด ควรมีการปรับปรุงการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกในกระบวนการผลิต แทนการใช้เชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีอยู่ในวัตถุดิบและองค์ประกอบอื่นๆ ในสภาพธรรมชาติ ซึ่งตามปกติเมื่อการตรวจสอบเชื้อในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักจะพบ *P. cerevisiae, L. plantarum, L. brevis* และ *L. leichannii* เป็นส่วนใหญ่ (Bacus and Brown, 1981)

2.10.3 การหมักแหนมที่เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์แหนม

ด้วยแหนมถูกบรรจุด้วยถุงพลาสติกปิดหัวท้าย ทำให้ภายในแหนมมีอากาศน้อย การกำหนดบรรยากาศเช่นนี้ทำให้จุลินทรีย์บางประเภทเท่านั้นที่สามารถเจริญเติบโตได้ นอกจากนี้ในสูตรการผลิตยังมีเกลือแกงเป็นองค์ประกอบ ซึ่งก็เป็นการคัดเลือกหรือกำหนดให้จุลินทรีย์บางประเภทที่ทนเกลือแกงและทนต่อสภาพการไม่มีอากาศสามารถเจริญเติบโตได้ โดยเฉพาะจุลินทรีย์ประเภทแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่เป็นแกรมบวก (สมบุญ, 2518) ในระหว่างการหมักช่วงแรกจุลินทรีย์ส่วนใหญ่จะมีรูปร่างทั้งที่เป็นแท่งและรูปทรงกลม ทั้งที่เป็นแกรมบวกและแกรมลบที่สามารถผลิตกรดได้ (สมบุญ,2518) แหล่งคาร์โบไฮเดรตที่สามารถนำไปใช้ได้ในกระบวนการหมักจะถูกใช้โดยเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียประเภท heterofermentative lactobacilli เช่น *Lactobacillus brevis* และประเภท homofermentative lactobacilli เช่น *Lactobacillus plantarum* และประเภท homofermentative cocci เช่น *Pediococcus cerevisiae* (สมบุญ, 2518) , *Pediococcus pentosaceus* และ *Pediococcus acidilactici* จุลินทรีย์ดังกล่าวข้างต้นสามารถใช้แหล่งคาร์โบไฮเดรตในการผลิตกรด ซึ่งส่วนใหญ่เป็นกรดแลคติกและมีผลทางอ้อมต่อกลิ่นรสชาติและลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ โดยผลิตภัณฑ์สุดท้ายจะมีปริมาณกรดแลคติกทั้งหมดเป็นร้อยละ 0.5-1.0 (คิดเทียบกรดแลคติก) และมีค่าความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 4.45-4.55 สุขใจ (2535) ได้รายงานว่าปริมาณโคลิฟอร์มในแหนมช่วงต้นของการผลิตและการหมักจะมีปริมาณสูงแต่จะลดลงโดยมีนัยสำคัญทางสถิติหลังจากผ่านการหมักไปได้ 5 วัน กระบวนการหมักแหนมแบบพื้นบ้านนี้ขึ้นอยู่กับจุลินทรีย์เริ่มต้นที่อยู่ในวัตถุดิบ เครื่องมือและสภาพแวดล้อมของกระบวนการผลิต ซึ่งมีผลทำให้เกิดความผันแปรไม่แน่นอนในชนิดและปริมาณจุลินทรีย์ที่มีผลกระทบต่อกระบวนการผลิตแหนมแบบพื้นบ้าน อย่างไรก็ตามการผลิตแหนมสุดท้ายจะมีลักษณะของกลิ่นเหมือนไส้กรอกแบบตะวันตกที่หมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ประเภท pediococcus

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.10.4 การเปลี่ยนแปลงทางเคมีในระหว่างการหมักผลิตภัณฑ์แหนม

แบคทีเรียแลคติกเป็นตัวการสำคัญที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีที่พึงประสงค์ เช่น รสเปรี้ยว การเกิดสีชมพู เนื้อแน่น และมีกลิ่นเฉพาะที่ไม่พบในอาหารชนิดอื่น ซึ่งการเกิดรสเปรี้ยวในผลิตภัณฑ์แหนม เกิดขึ้นเนื่องจากการผลิตกรดแลคติกของแบคทีเรียแลคติก ที่สามารถเจริญได้ดีในสภาพที่มีอากาศเล็กน้อย การผลิตกรดแลคติกออกมามากจะทำให้ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ลดลง ผลิตภัณฑ์สุดท้ายจะมีปริมาณกรดทั้งหมดคิดเทียบกับกรดแลคติกคิดเป็นร้อยละ 0.5-1.0 และมีค่าความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 4.45-4.55 (ไพโรจน์ , 2538. ข)

การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดเป็นด่างหรือความเป็นกรดทั้งหมดของแหนม จะเป็นดัชนีบ่งชี้ถึงระยะเวลาในการบริโภคแหนม ค่าดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับลักษณะเนื้อสัมผัส ทำให้โปรตีนเนื้อมีลักษณะเปลี่ยนไป และเนื้อแน่นขึ้น และสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงสีของผลิตภัณฑ์ โดยพบว่าแหนมที่มีค่าความเป็นกรดด่างที่ 4.3 และมีปริมาณกรดทั้งหมดร้อยละ 1.0 เป็นระดับที่ผู้บริโภคมีการยอมรับในลักษณะเนื้อสัมผัสและสีของผลิตภัณฑ์มากที่สุด(ไพโรจน์ , 2538. ข)

การเปลี่ยนแปลงในรสชาติของแหนมมีความสัมพันธ์กับค่าความเป็นกรดเป็นด่างและปริมาณแบคทีเรียแลคติกทั้งหมดของแหนม โดยพบว่าผู้บริโภคมีการยอมรับในรสชาติของแหนมที่หมักได้ 3-4 วัน ซึ่งมีค่าความเป็นกรดด่างประมาณ 4.55-4.72 และปริมารแบคทีเรียแลคติกทั้งหมดสูงที่สุด โดยจะมีการเจริญเติบโตอย่างช้าๆ เพิ่มขึ้นจนถึงวันที่ 3 ของการหมัก หลังจากนั้นจะลดลงเรื่อยๆ จนถึงวันที่ 6 ของการหมัก

การเปลี่ยนแปลงสีโดยธรรมชาติจะเกิดจากแบคทีเรียที่สามารถรีดิวส์ไนเตรทเป็นไนไตรท์ (Nitrate reducing micrococci) โดยในช่วงแรกของการหมักจะต้องมีเชื้อ *Micrococcus varians* อยู่ในปริมาณที่เหมาะสมที่จะเปลี่ยนไนเตรทไปเป็นไนไตรท์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ก่อนที่ตัวมันเองจะถูกทำลายโดยสภาพที่เป็นกรดที่เกิดจากการสร้างกรดแลคติกของแบคทีเรียแลคติก (Klettner and Baumgartner, 1980)

2.11 เกณฑ์คุณภาพของแหนม

ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ(2543)ได้ศึกษาการจัดทำเกณฑ์คุณภาพและมาตรฐานของผลิตภัณฑ์แหนม ซึ่งจำแนกเป็นด้านต่างๆ ได้ตามตารางที่ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 : เกณฑ์คุณภาพของแหนมทางกายภาพและด้านประสาทสัมผัส

คุณภาพทางกายภาพ	คุณลักษณะที่ต้องการ
ความเปรี้ยว	มีรสเปรี้ยว
สี	มีสีออกชมพู
ความแน่นเนื้อ	มีเนื้อสัมผัสค่อนข้างแน่น เกาะตัวกันดี ไม่ร่วน
กลิ่น	ไม่มีกลิ่นคาวของเนื้อหมูดิบ มีกลิ่นหอมเฉพาะของแหนมซึ่ง เกิดจากเครื่องเทศที่เติมและการหมักจากเชื้อจุลินทรีย์

ที่มา: ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ(2543)

ตารางที่ 2.3 : เกณฑ์คุณภาพของแหนมทางเคมี

คุณภาพทางเคมี	ปริมาณ
ปริมาณน้ำอิสระ(Aw)	0.80-0.95
ความเป็นกรดเป็นด่าง(pH)	น้อยกว่าหรือเท่ากับ 4.6
โปรตีน(protein)	มากกว่าหรือเท่ากับ 22 เปอร์เซ็นต์
ไขมัน(fat)	น้อยกว่าหรือเท่ากับ 8 เปอร์เซ็นต์
เกลือ(salt)	2-3 เปอร์เซ็นต์
ปริมาณของไนไตรท์	น้อยกว่า 125 ppm.

ที่มา: ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ(2543)

ตารางที่ 2.4 : เกณฑ์คุณภาพของแหนมทางจุลินทรีย์

คุณภาพทางจุลินทรีย์	ปริมาณที่พบ
Salmonella spp.	ต้องไม่พบในตัวอย่าง 25 กรัม
Escherichia coli O157:H7	ต้องไม่พบในตัวอย่าง 0.1 กรัม
Staphylococcus aureus	ต้องไม่พบในตัวอย่าง 0.1 กรัม
Yersinia enterocolitica	ต้องไม่พบในตัวอย่าง 0.1 กรัม
Clostridium perfringens	ต้องไม่พบในตัวอย่าง 0.1 กรัม
Fungi	ต้องน้อยกว่า 10โคโลนี ต่อตัวอย่าง 1 กรัม
พยาธิ *Trichinella spiralis*	ต้องไม่พบในตัวอย่าง 100 กรัม

ที่มา: ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ(2543)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.12 ปัญหาของผลิตภัณฑ์แหนม

1. คุณภาพของผลิตภัณฑ์ไม่สม่ำเสมอ

คุณภาพของผลิตภัณฑ์มีความแปรผันจากชุดหนึ่งไปยังอีกชุดหนึ่งและระยะเวลาที่ใช้ในการหมักไม่สามารถคาดคะเนได้เพราะการหมักของแหนมขึ้นอยู่กับเชื้อที่มีอยู่ในธรรมชาติ โดยเฉพาะแบคทีเรียแลคติกในวัตถุดิบแต่ละแห่งจะมีปริมาณเชื้อที่แตกต่างกันทั้งชนิดและปริมาณ นอกจากนี้อาจมีจุลินทรีย์ปนเปื้อนที่ไม่ต้องการซึ่งล้วนแต่มีผลต่อคุณภาพของแหนม แบคทีเรียแลคติกบางสายพันธุ์มีคุณสมบัติเด่นในการผลิตกรด บางสายพันธุ์ผลิตสารให้กลิ่นรส ซึ่งมีความแตกต่างของชนิดของเชื้อจะทำให้แหนมมีความแตกต่างด้านคุณภาพ ดังนั้นผู้ประกอบการอุตสาหกรรมการผลิตแหนมจึงมีความเสี่ยงต่อการผลิตและอาจจะไม่ได้ผลิตภัณฑ์ตามคุณภาพที่ต้องการในแต่ละรุ่นที่ผลิต

2. ความปลอดภัยของผู้บริโภคต่อการรับประทานแหนม

ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นในการหมักแหนมตามธรรมชาติอาจไม่เพียงพอที่จะทำให้การหมักเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ ซึ่งอาจจะทำให้เชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคสามารถเจริญเติบโตและสร้างสารพิษได้ก่อนที่แบคทีเรียแลคติกจะเจริญมาภายหลัง อีกทั้งส่วนใหญ่การบริโภคแหนมโดยไม่ผ่านความร้อน ดังนั้นการควบคุมคุณภาพเพื่อให้มีความปลอดภัยสูง จึงเป็นสิ่งจำเป็นต่อผู้นิยมบริโภคแหนมในลักษณะดังกล่าว

ก. แหล่งของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมาในผลิตภัณฑ์แหนม

- วัตถุดิบ จุลินทรีย์ที่ติดดินมากับวัตถุดิบมีทั้งจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์และเป็นโทษขึ้นอยู่กับว่าจะได้เชื้อจุลินทรีย์ชนิดใดและมีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์มากน้อยเพียงใด เช่น เนื้อหมูมีการปนเปื้อนแบคทีเรียชนิดเป็นพิษ เช่น Salmonella เป็นต้น
- ภาชนะเครื่องมือเครื่องใช้และอากาศและการผลิตแหนมในสภาพที่ไม่ถูกหลักสุขาภิบาลอาหาร
- ปริมาณของเชื้อเริ่มต้นในการหมักแทนธรรมชาติอาจจะไม่เพียงพอที่จะทำให้เกิดการหมักอย่างสมบูรณ์ได้ ซึ่งทำให้แบคทีเรียชนิดเป็นพิษที่ปนเปื้อนมากับวัตถุดิบนั้นสามารถเจริญและสร้างสารพิษก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษได้
- พนักงานผู้ผลิต
- พฤติกรรมการบริโภคแหม นิยมบริโภคแหนมในรูปแหนมดิบที่ไม่ผ่านความร้อนทำให้ไม่สามารถทำลายหรือลดจำนวนแบคทีเรียชนิดที่เป็นพิษปนเปื้อนในแหนมได้

ข. จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษจากการบริโภคแหนม

อดิศร (2533) ตรวจหาเชื้อ Salmonella ที่ปนเปื้อนในตัวอย่างแหนมตามธรรมชาติที่ทำการหมักโดยเติมและไม่เติมกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกผสม (LP) พบว่าแหนมที่ไม่เติมกล้าเชื้อก่อนทำการหมักจะตรวจไม่พบเชื้อ Salmonella ในวันที่ 6 ของการหมัก ส่วนแหนมที่เติมกล้าเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผสม LP จะตรวจไม่พบเชื้อ Salmonella ในวันที่ 5 ของการหมัก แสดงว่าแหนมที่หมักโดยเติมกล้าเชื้อจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งทำลายเชื้อ Salmonella ได้ดีกว่าแหนมที่ไม่เติมกล้าเชื้อ นอกจากนี้ยังพบว่า Salmonella ที่ตรวจพบในวันที่ 4 และ 5 ของการหมักจะเป็น *S. anatum* ซึ่งทนต่อการทำลายของสารยับยั้งต่างๆ ที่ผลิตโดยแบคทีเรียแลคติกได้ดีในขณะเกิดกระบวนการหมัก และจากการทดลองตรวจหาเชื้อ Salmonella ตามธรรมชาติในตัวอย่างแหนม พบว่าตรวจพบเชื้อ Salmonella ได้ถึง 16 เซเรไทป์ โดยที่ *S. derby* เป็นเซเรไทป์ ที่ตรวจพบมากที่สุด รองลงมาคือ *S. anatum* และ *S. krefeld* ตามลำดับ

3. อายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์

ผลิตภัณฑ์แหนมมีอายุการเก็บรักษาค่อนข้างสั้นประมาณ 1 สัปดาห์ที่อุณหภูมิห้อง เพราะมีความเหมาะสมต่อการเกิดกระบวนการหมัก หากเก็บไว้นานกว่านี้จะเกิดรสเปรี้ยวขึ้นจนไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค การเก็บแหนมไว้ในที่อุณหภูมิต่ำจะยืดอายุการเก็บรักษาได้ แต่โดยปกติผลิตภัณฑ์แหนมมักจะเก็บที่อุณหภูมิห้อง ดังนั้นตลาดของผลิตภัณฑ์นี้ต้องการผลิตภัณฑ์ที่มีอายุการเก็บรักษานานขึ้น

4. กระบวนการหมักแหนมที่ไม่สามารถควบคุมได้

เนื่องจากขาดความรู้และเทคโนโลยีการจัดการเกี่ยวกับกระบวนการหมัก ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาและปรับปรุงวิธีการควบคุมกระบวนการหมัก เพื่อให้มีค่าความเป็นกรด-ด่างเหมาะสม สามารถบริโภคได้และเพื่อให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพสม่ำเสมอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ

MRS broth (Merck , USA)

MRS agar (Merck , USA)

น้ำกลั่น

3.2 สารเคมี

$CaCO_3$

NaCl (Merck , USA)

สารละลายบัฟเฟอร์

สารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล (Merck , USA)

สารละลายฟีนอล์ฟทาลีน ความเข้มข้นร้อยละ 1 (Carlo Erba Reagent , Italy)

แอลกอฮอล์ร้อยละ 70 (องค์การสุรากรมสรรพสามิต , ประเทศไทย)

แอลกอฮอล์ร้อยละ 95 (องค์การสุรากรมสรรพสามิต , ประเทศไทย)

Potassium phatarate

3.3 เชื้อจุลินทรีย์

Pediococcus pentosaceus TISTR 536

3.4 วัสดุอุปกรณ์

เครื่องแก้วที่ใช้ในการวิเคราะห์

เครื่องเหวี่ยงแยก (High speed centrifuge T-42k)

หลอด centrifuge

เครื่องกรองสุญญากาศ (Vacuum pump system B-169)

Stomacher (AES , France)

เตาไฟฟ้า (Kando , Germany)

เครื่องบด

เตาอบอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง พิกัดชั่ง 3100 กรัม (Sartorius ; BP 3100s , Germany)

เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง พิกัดชั่ง 210 กรัม (A&D Company Ltd., Japan)

ตู้เขี่ยเชื้อ (Larmina Flow Clean AIR Type 460 EC , Belgium)

ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Memmert , Germany)

หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Tomy ss-325, Japan)

เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (Inolab pH Level I, Germany)

เครื่องผสมสารละลายในหลอดทดลอง (Vortex Mixer VM-300)

เครื่องไมโครเวฟ (LG intellowave , China)

ตู้อบ (Memmert , Germany)

กล้องจุลทรรศน์ (Olympus CH 30 , Japan)

candle jar

โถดูดความชื้น dessicator

เทอร์โมมิเตอร์

Aluminium can

3.5 วัตถุดิบในการผลิต

เนื้อหมู

หนังหมู

ข้าวสุก

กระเทียม

เกลือ

ผงหมักแหนม (ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท โกลโบ ฟู้ดส์ จำกัด)

3.6 ขั้นตอนและวิธีทดลอง

3.6.1 การเตรียมกล้าเชื้อ lactic acid bacteria *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536

3.6.1.1 เชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ถ่ายเชื้อที่เก็บไว้ลงในอาหารเหลว MRS broth 5 มล. บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

3.6.1.2 นำออกจากตู้บ่มเชื้อ และถ่ายเชื้อลงในฟลาส์กที่มีอาหารเหลว MRS broth ปริมาตร 200 มล. บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.2 . การแยกเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 จากอาหารเหลว MRS broth

3.6.2.1 นำเชื้อจากข้อ 1.2 มาเทใส่หลอด centrifuge ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วประมาณ 2/3 ของหลอด centrifuge จำนวน 2 หลอด โดยมีน้ำหนักเท่าๆกัน

3.6.2.2 นำหลอด centrifuge เข้าเครื่องเหวี่ยงแยกโดยตั้งอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 10 นาที ที่ความเร็วรอบ 5500 rpm

3.6.2.3 ชั่งผงหมักแหนมกับเกลือไนไตรท์ 300 กรัม ต่อแหนม 1 กิโลกรัม

3.6.2.4 เมื่อครบเวลาที่กำหนดทำการแยกส่วนใสที่ได้ไปวัดพีเอช โดยเครื่อง pH meter ส่วนที่เป็นตะกอนเชื้อใช้น้ำเกลือ 0.85 % 1.2 มล. ละลายตะกอน แล้วเทลงในสารเคมี (ผงหมักแหนม) ที่ชั่งเตรียมไว้เรียบร้อยแล้ว จากนั้นทำการคลุกเคล้าให้เข้ากัน

3.6.3 การเลี้ยงเชื้อในผงหมักแหนม

3.6.3.1 ทำการแบ่งเชื้อในข้อ 2.4 เป็น 2 ส่วน อย่างเท่าๆ กัน บรรจุในถุงพลาสติก 2 ชั้น รัดให้แน่น

3.6.3.2 ส่วนที่หนึ่งนำไปใส่ใน dessicator แล้วเก็บที่อุณหภูมิห้อง โดยบันทึกอุณหภูมิด้วยเครื่องเทอร์โมมิเตอร์

3.6.3.3 ส่วนที่ 2 นำไปใส่ในอุณหภูมิตู้เย็น

3.6.3.4 เก็บตัวอย่างทั้ง 2 ส่วนนำไปวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา โดยเก็บตัวอย่างวันที่ 0, 7, 14, 21 และ28

3.6.4 การวิเคราะห์ทางด้านจุลชีววิทยา

ตรวจหาปริมาณเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR536 ที่เลี้ยงในผงหมักแหนมโดยใช้วิธี spread plate

3.6.4.1 โดยนำตัวอย่างผงหมักแหนม 10 กรัม ใส่ลงในน้ำเกลือ 0.85% 90 มล. เขย่าให้เข้ากัน

3.6.4.2 ทำการเจือจางที่ระดับการเจือจางดังต่อไปนี้ 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5} และ 10^{-6}

3.6.4.3 ดูดสารละลายตัวอย่าง 0.1 ml. จากหลอดทดลองที่ระดับการเจือจางที่ 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3} อย่างละ 1 เพลท และที่ระดับการเจือจางที่ 10^{-4}, 10^{-5} , 10^{-6} อย่างละ 2 เพลท มาทำการ spread plate ลงบนอาหาร MRS Agar

3.6.4.4 นำเพลทที่ผ่านการ spread plate แล้ว ไปบ่มที่ candle jar ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24-48 ชม.

3.6.4.5 ทำการตรวจนับปริมาณโคโลนีเชื้อที่เจริญการเลี้ยงเชื้อในผงหมักแหนม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.4.6 สุ่มโคโลนีของเชื้อที่เจริญตัวอย่างละ 5 โคโลนี ไปย้อม Gram stain เพื่อดูลักษณะสัณฐานของเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์

3.6.5 การผลิตแหนม

การผลิตแหนม 1 กิโลกรัม

3.6.5.1 เนื้อหมูเอามันและพังผืดออกให้หมด แล้วจึงนำไปบด

3.6.5.2 หนังหมูนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที ยกขึ้นนำไปล้างในน้ำเย็น โกนขนออกและหั่นให้มีขนาดที่กำหนด

3.6.5.3 ข้าวหุงสุกใช้อัตราส่วนของข้าว 300 กรัม ต่อน้ำ 600 มล.

3.6.5.4 ปอกเปลือกกระเทียมและสับให้ละเอียด

3.6.5.5 ทำการแบ่งส่วนผสมทั้งหมดออกเป็น 2 ส่วน ส่วนละเท่าๆกัน

โดยนำส่วนผสมส่วนแรกทั้งหมดผสมกับผงหมักแหนมและเกลือไนไตรท์ 37.335 และ 9.335 กรัมตามลำดับ แล้วคลุกเคล้าให้เข้ากัน และนำส่วนผสมส่วนที่สองทั้งหมดผสมกับผงหมักแหนมและเกลือไนไตรท์ 37.335 และ 9.335 กรัมที่สามารถตรวจนับปริมาณเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR536 ที่ระดับการเจือจางตั้งแต่ 10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6}

3.6.5.6 ทำการตรวจหาปริมาณเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR536 ของแหนมที่ผลิตทั้งสองส่วนโดยใช้วิธี spread plate

3.6.5.6.1 โดยนำตัวอย่างแหนม 25 กรัม ใส่ลงในน้ำเกลือ 0.85% 225 มล. เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่อง stomacher

3.6.5.6.2 ทำการเจือจางที่ระดับการเจือจางดังต่อไปนี้ 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5} และ 10^{-6}

3.6.5.6.3 ดูดสารละลายตัวอย่าง 0.1 มล.จากหลอดทดลองโดยวันที่ 0 ทำที่ระดับการเจือจางที่ 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3} 10^{-4} อย่างละ 2 เพลททั้งสองส่วน และในวันที่ 1, 2, 3 และ 4 ทำที่ระดับการเจือจางที่ 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3} 10^{-4} อย่างละ 1 เพลท 10^{-5} , 10^{-6} อย่างละ 2 เพลท มาทำการ spread plate ลงบนอาหาร MRS Agar

3.6.5.6.4 นำเพลทที่ผ่านการ spread plate แล้วไปบ่มที่ candle jar ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24-48 ชม.

3.6.5.6.5 ทำการตรวจนับปริมาณโคโลนีเชื้อที่เจริญ

3.6.5.6.6 สุ่มโคโลนีของเชื้อที่เจริญตัวอย่างละ 5 โคโลนี ไปย้อม Gram stain เพื่อดูลักษณะสัณฐานของเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์

3.6.5.7 ทำการตรวจวิเคราะห์ปริมาณกรดและวัดค่าพีเอช (ภาคผนวก ก)

3.6.5.8 ทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสในหัวข้อที่ 3.6.6 ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.6 การวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัส

3.6.6.1 นำแหนมที่ผ่านการหมักครบ 3 วัน นำไปวิเคราะห์แบบดิบและวิเคราะห์แบบสุกโดยมาทำการอบให้สุก ที่อุณหภูมิ 180 ^{0}C เป็นเวลาประมาณ 30 นาที

3.6.6.2 นำมาหั่นเป็นชิ้นขนาดเท่าๆกัน

3.6.6.3 จากนั้นทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสแบบ Hedonic scale โดยการนำผลิตภัณฑ์ภายหลังการหมักไว้ 3 วันในผงหมักแหนม ใช้ผู้ทดสอบจำนวน 20 คน ดำเนินการทดสอบโดยใช้แผนการทดลอง RCBD (Randomized Complete Block Design) โดยการทดสอบผู้ชิมประเมินผลแบบสุกในด้านสี กลิ่นรส เนื้อสัมผัส และการยอมรับโดยรวม และโดยการทดสอบผู้ชิมประเมินผลแบบดิบในด้านสี กลิ่น ซึ่งแบ่งเป็น 5 ระดับ คือ 5 = ชอบมากที่สุด และ 1 = ไม่ชอบมากที่สุด (5-point hedonic scale) นำคะแนนที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิตินำผลไปวิเคราะห์ที่ระดับความเชื่อมั่น95% โดยใช้ Analysis of Variance (ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างของข้อมูลทางสถิติของค่าเฉลี่ยด้วย Ducan New's Multiple Range Test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

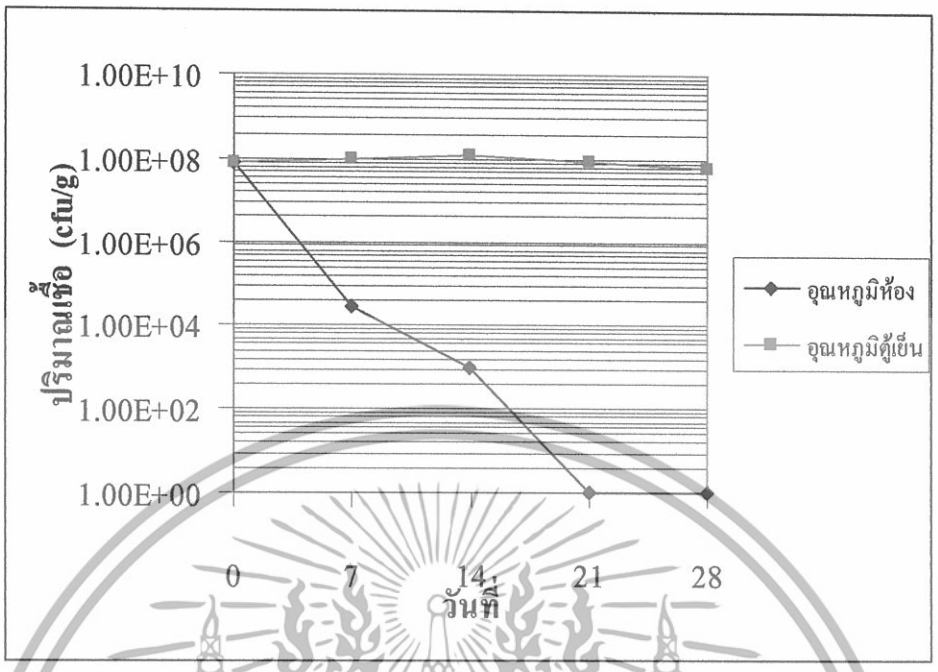
4.1 ผลของการเก็บรักษาเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ในระยะเวลาประมาณ 1 เดือน

ผลการเก็บรักษาเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 ร่วมกับผงหมักแหนมโดยเปรียบเทียบการเก็บที่อุณหภูมิห้อง (30-33 °C) และอุณหภูมิตู้เย็น (4-7 °C) เป็นเวลา 1 เดือน โดยมีเชื้อเริ่มต้นในปริมาณ 7.4 x 10^7 cfu/g พบว่าการใช้กล้าเชื้อร่วมกับผงหมักแหนม (ตารางและภาพที่ 4.1) ที่อุณหภูมิห้องมีปริมาณเชื้อลดน้อยลงเร็วกว่าและอุณหภูมิตู้เย็นมีปริมาณเชื้อลดลง ทั้งนี้เนื่องจากสภาพการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำมีผลทำให้กิจกรรมภายในเซลล์ลดต่ำลง ทำให้มีผลต่ออัตราการทำลายเชื้อหรือยับยั้งปริมาณเชื้อน้อยลง ส่วนกรณีการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องร่วมกับผงหมักแหนมมีผลทำให้กิจกรรมภายในเซลล์มีค่าสูงขึ้น ทั้งนี้เป็นผลเนื่องมาจากสภาพการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ ทำให้มีปริมาณเชื้อที่เหลือรอดน้อยลง ส่งผลให้ยิ่งมีระยะการเก็บรักษานานขึ้นจะมีปริมาณเชื้อเหลือรอดน้อยลง

ตารางที่ 4.1 แสดงค่าเฉลี่ยผลของการเจริญของ *P. pentosaceus* TISTR 536 ในผงหมักแหนมที่อุณหภูมิต่างๆของการเก็บรักษา

วันที่	อุณหภูมิในการเก็บตัวอย่าง	
	อุณหภูมิห้อง (cfu/g)	อุณหภูมิตู้เย็น(cfu/g)
0	7.4 x 10^7	7.4 x 10^7
7	3.0 x 10^4	9.3 x 10^7
14	9.6 x 10^2	1.22 x 10^8
21	0	8.5 x 10^7
28	0	6.2 x 10^7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.1 แสดงการเจริญของ *P. pentosaceus* TISTR 536 ในผงหมักแหนมที่อุณหภูมิต่างๆของการเก็บรักษา

4.2 ผลของการใช้เชื้อแลคติกบริสุทธิ์ร่วมกับผงหมักแหนมในการผลิตแหนม

4.2.1 ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติทางด้านจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์แหนม

เนื่องจากผงหมักแหนมเป็นส่วนประกอบที่ใช้ในการเปรียบเทียบการศึกษานี้ โดยแบ่งเป็น 2 ลักษณะ คือ แหนมที่เติมผงหมักแหนมที่ไม่มีการเติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 และแหนมที่มีการเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536 โดยเติมลงไปประมาณ 10^6 cell/g (ตารางและภาพที่ 4.2) พบว่า แหนมที่เติมผงหมักแหนมที่ไม่มีการเติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 ในระยะเวลาการหมัก 4 วัน เชื้อแบคทีเรียแลคติกที่พบในวันแรกของการหมักจะมีปริมาณน้อย เมื่อเทียบกับแหนมที่มีการเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536 เนื่องมาจากมีเชื้อกลุ่มดังกล่าวปนอยู่บ้างในวัตถุดิบที่ใช้ผลิตแหนม และมีแนวโน้มของการเจริญเพิ่มมากขึ้นเมื่อหมักไปได้ 1-3 วัน เชื้อแบคทีเรียแลคติกจะมีปริมาณลดลงในวันที่ 4 เมื่อเทียบกับวันที่ 3 ของการหมัก ทั้งนี้อาจเนื่องจากเพราะมีสภาพการหมักที่มีการสร้างกรดเพิ่มมากขึ้นส่งผลให้มีการทำลายเชื้อ ส่วนแหนมที่มีการเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536 มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นในปริมาณที่มากกว่าจึงส่งผลให้มีปริมาณเชื้อเพิ่มมากขึ้นกว่าแหนมที่หมักตามธรรมชาติในทุกวันของการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 ผลการเจริญของแบคทีเรียแลคติกร่วมกับผงหมักแหนมในระยะเวลาการหมัก 4 วัน

ระยะเวลาหมัก	การเจริญของเชื้อ	
	แหนมที่ไม่มีการเติมกล้าเชื้อ (cfu/g)	แหนมที่เติมกล้าเชื้อ TISTR 536 (cfu/g)
0	4.4×10^5	2.8×10^6
1	5.14×10^5	2.1×10^7
2	7.0×10^6	2.86×10^7
3	2.23×10^7	3.52×10^7
4	1.5×10^7	4.28×10^7

ภาพที่ 4.2 แสดงผลการเจริญของแบคทีเรียแลคติกร่วมกับผงหมักแหนมในระยะเวลาการหมัก 4 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

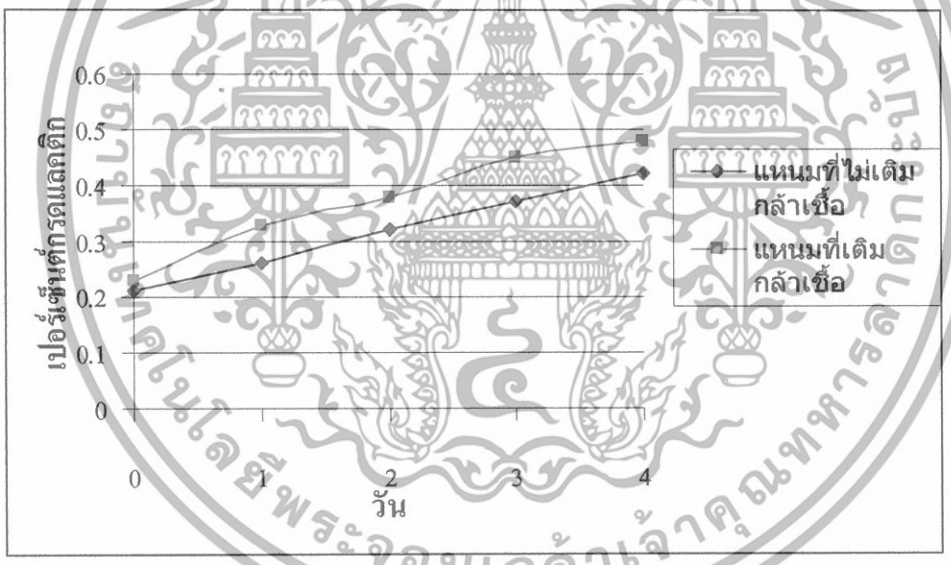
4.2.2 ค่าพีเอชและเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก ของผลิตภัณฑ์แหนม

กระบวนการหมักแหนมโดยธรรมชาตินั้นมักเกิดจากจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมาจากวัตถุดิบ ซึ่งมักจะมีทั้งที่สร้างกรดได้ และทำให้อาหารเน่าเสีย จุลินทรีย์ที่สร้างกรดได้ดี และพบในระยะแรกของการหมัก มักเป็นพวก homofermentative cocci เช่น *P. pentosaceus*, *P. cerevisiae* และ *P. acidilactici* ซึ่งเชื้อประเภทนี้จะใช้ในน้ำตาลกลูโคส แล้วสร้างเป็นกรดแลคติกออกมาเป็นส่วนใหญ่ ทำให้ค่าพีเอชของแหนมลดลง (บุษกร, 2545) และจากการทดลองผลิตแหนมโดยแบ่งเป็น 2 ลักษณะ คือ การใช้กล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 หมักแหนมร่วมกับผงหมักแหนม (มีเชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^6 cfu/g) และการหมักแหนมด้วยเชื้อที่มีตามธรรมชาติโดยใช้ผงหมักแหนมที่ไม่มีการเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536 พบว่าค่าพีเอช (ตารางและภาพที่ 4.3) และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก (ตารางและภาพที่ 4.4) ของแหนมแต่ละสูตรมีความแตกต่างกัน กล่าวคือในวันที่ 0 ของการหมักพีเอชและเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกไม่แตกต่างกันมากนัก เนื่องจากกระบวนการหมักยังไม่เกิดขึ้น แต่จะเห็นว่าค่าพีเอชเริ่มต้นของแหนมที่ทำการทดลองนี้ลดลงจากค่าพีเอชของเนื้อหมูดิบ (ประมาณ pH = 6.8) มาก (เยาวลักษณ์, 2536) ซึ่งค่าพีเอชเริ่มต้นของแหนมในระหว่างการหมักที่มีการศึกษามักจะอยู่ในช่วง 6.4-6.8 แต่เมื่อแบคทีเรียแลคติกเจริญและเพิ่มจำนวนไปเรื่อยๆ จะสร้างกรดแลคติกทำให้ค่าพีเอชของแหนมลดลงจาก 6.4 เป็น 4.57 (อดิศร, 2533) ซึ่งค่าพีเอชเริ่มต้นของการศึกษาต่างจากที่เคยมีการศึกษามาในอดีตกันอาจเนื่องมาจากทำการผลิตแหนมโดยเติมผงหมักแหนมซึ่งเป็นสารเคมีที่สามารถผลิตแหนมรับประทานได้ภายใน 1 วัน ค่าพีเอชของผงหมักแหนมที่ได้ทดลองทำการตรวจวัดค่าพีเอชมีค่าประมาณ 4.6 จึงมีผลทำให้ค่าพีเอชเริ่มต้นของแหนมก่อนหมักลดลงค่อนข้างต่ำมาก และหลังจากที่หมักแหนมได้ 1-4 วัน พบว่าการหมักแหนมที่มีการใช้กล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 หมักแหนมร่วมกับผงหมักแหนม จะทำให้เปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเพิ่มสูงขึ้น และค่าพีเอชก็ลดลงด้วย แต่จะพบว่าทั้งค่าเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกและค่าพีเอชของแหนมทั้งสองไม่มีความแตกต่างกันมากนัก ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากผงหมักแหนมที่ใช้อาจมีสารเคมีบางตัวที่เป็นองค์ประกอบที่เป็นตัวทำให้ค่า pH มีความเสถียร ถึงแม้ว่าจะมีการเติมกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติก *P. pentosaceus* TISTR 536 ที่สามารถผลิตกรดแลคติกได้ดีก็ตาม นอกจากนี้ผงหมักแหนมยังสามารถหมักให้เกิดเป็นผลิตภัณฑ์แหนมได้ภายในระยะเวลาสั้นมาก ซึ่งเป็นสภาพที่เชื้อแบคทีเรียแลคติกต่างๆที่จำเป็นในการหมักแหนมไม่สามารถสร้างกรดแลคติกออกมาได้มาก เพราะสภาพดังกล่าวเป็นสภาพที่เป็นกรดอยู่แล้วนั่นเอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

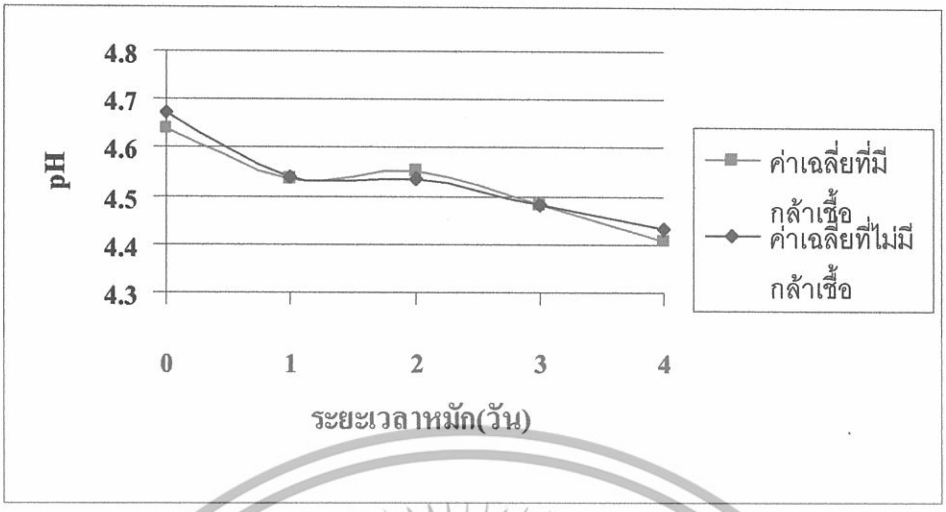
ตารางที่ 4.3 แสดงค่าเฉลี่ยของ% lactic acid และ pH ในตัวอย่างแหนมที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536และแหนมที่ไม่เติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์

วันที่	% lactic acid		pH	
	มีกล้าเชื้อ	ไม่มีกล้าเชื้อ	มีกล้าเชื้อ	ไม่มีกล้าเชื้อ
0	0.23	0.21	4.67	4.64
1	0.33	0.26	4.54	4.54
2	0.38	0.32	4.53	4.55
3	0.45	0.37	4.48	4.48
4	0.48	0.42	4.43	4.41



ภาพที่ 4.3 แสดงค่าเฉลี่ย % lactic acid ของแหนมที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536และแหนมที่ไม่เติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.4 แสดงค่าเฉลี่ย pH ของแหนมที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536 และแหนมที่ไม่เติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ

ตารางที่ 4.4 : แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติกของผลิตภัณฑ์แหนม

ระยะเวลาหมัก (วัน)	ปริมาณกรดแลคติก(เปอร์เซ็นต์)	
	N	P
0	0.21±0.01	0.23±0.03
1	0.26±0.02	0.33±0.03
2	0.32±0.02	0.38±0.05
3	0.37±0.04	0.45±0.05
4	0.42±0.05	0.48±0.10

หมายเหตุ N หมายถึง แหนมที่ผลิตด้วยผงหมักแหนมทางการค้าโดยไม่ใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536

P หมายถึง แหนมที่ผลิตขึ้นโดยใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536 ที่ผลิตร่วมกับผงหมักแหนมทางการค้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 คุณสมบัติทางประสาทสัมผัสของแหนมของแหนมที่มีการใช้และไม่ใช้เชื้อบริสุทธิ์ร่วมกับผงหมักแหนม

จากตารางการประเมินผลการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสของแหนมสดและแหนมสุก โดยใช้แผนการทดลองแบบ RCBD และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี DMRT โดยพิจารณาจากคะแนนค่าเฉลี่ยของผู้ทดสอบ 20 คน พบว่าในผลิตภัณฑ์แหนมสดผู้บริโภคมีการยอมรับด้านกลิ่นรสในผลิตภัณฑ์แหนมสดที่ผลิตขึ้นโดยใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536 ที่ผลิตร่วมกับผงหมักแหนมทางการค้ามากกว่าผลิตภัณฑ์แหนมที่ผลิตด้วยผงหมักแหนมทางการค้าโดยไม่ใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536 ร่วมกับส่วนประกอบในการผลิตแหนม ส่วนทางด้านสีผู้บริโภคไม่สามารถแยกความแตกต่างได้ ในส่วนของผลิตภัณฑ์แหนมสุกผู้บริโภคมีการยอมรับด้านสี กลิ่นรส เนื้อสัมผัสและความชอบโดยรวมในผลิตภัณฑ์แหนมที่ผลิตขึ้นโดยใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P.pentosaceus* TISTR 536 ที่ผลิตร่วมกับผงหมักแหนมทางการค้ามากกว่าผลิตภัณฑ์แหนมที่ผลิตด้วยผงหมักแหนมทางการค้าโดยไม่ใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536 ร่วมกับส่วนประกอบในการผลิตแหนม ส่วนทางด้านความเปรี้ยวผู้บริโภคไม่สามารถแยกความแตกต่างได้

ตารางที่ 4.5 : แสดงผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภคต่อแหนมสดที่ทดสอบในลักษณะต่างๆหลังจากหมักครบ 3 วัน

ตัวอย่าง	คะแนน±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	
	สี	กลิ่นรส
N_1	3.30±0.66	3.25±0.97[b]
N_2	3.25±0.79	3.85±0.67[a]

หมายเหตุ a , b หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย DMRT

N_1 หมายถึง แหนมที่ผลิตด้วยผงหมักแหนมทางการค้าโดยไม่ใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536 ร่วมกับส่วนประกอบในการผลิตแหนม

N_2 หมายถึง แหนมที่ผลิตขึ้นโดยใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536 ที่ผลิตร่วมกับผงหมักแหนมทางการค้าและส่วนประกอบในการผลิตแหนม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 : แสดงผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภคต่อแหนมสุกที่ทดสอบในลักษณะต่างๆหลังจากหมักครบ 3 วัน

ตัวอย่าง	คะแนน±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน				
	สี	กลิ่นรส	ความเปรี้ยว	เนื้อสัมผัส	ความชอบโดยรวม
N_1	3.50±0.69[b]	3.35±0.59[b]	3.15±1.09	3.35±0.67[b]	3.40±0.68[b]
N_2	3.85±0.81[a]	3.85±0.75[a]	3.05±1.15	3.80±0.70[a]	3.90±0.79[a]

หมายเหตุ a , b หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย DMRT

N_1 หมายถึง แหนมที่ผลิตด้วยผงหมักแหนมทางการค้าโดยไม่ใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536 ร่วมกับส่วนประกอบในการผลิตแหนม

N_2 หมายถึง แหนมที่ผลิตขึ้นโดยใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536 ที่ผลิตร่วมกับผงหมักแหนมทางการค้าและส่วนประกอบในการผลิตแหนม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

1. การผลิต *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 เพื่อเป็นกล้าเชื้อบริสุทธิ์ในการหมักแหนมร่วมกับผงหมักแหนม โดยผลิตและทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (30-33˚C) เทียบกับอุณหภูมิตู้เย็น (4-7˚C) ในระยะเวลาประมาณ 1 เดือน พบว่าการเก็บรักษากล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536 ร่วมกับผงหมักแหนมที่อุณหภูมิตู้เย็นมีอัตราการเหลือรอดมากกว่าอุณหภูมิห้อง โดยที่อุณหภูมิตู้เย็นมีเชื้อลดลงเพียงเล็กน้อย (จากเริ่มต้นปริมาณเชื้อประมาณ 7.4×10^7 cfu/g จนถึงวันสุดท้ายที่ทำการเก็บรักษามีปริมาณเชื้อเหลือประมาณ 6.2×10^7 cfu/g) แต่การเก็บที่อุณหภูมิห้องเชื้อลดลงและไม่พบเชื้อเมื่อเก็บนาน 21 วัน

2. จากการทดลองเมื่อนำกล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536 ร่วมกับผงหมักแหนมที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำเป็นเวลา 28 วัน (เชื้อเริ่มต้น 1.48×10^7 cfu/g ต่อแหนม 1 กรัม) มาหมักแหนมพบว่าเชื้อดังกล่าวมีกิจกรรมทางด้านการหมักที่ดีอยู่ โดยให้ผลเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกในปริมาณที่สูงกว่า (แหนมสูตรที่เติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 ร่วมกับผงหมักแหนมมีเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกสูงสุด 0.48 % และแหนมสูตรที่หมักร่วมกับผงหมักแหนมโดยไม่มีการเติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 มีเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกสูงสุด 0.42 %) และมีค่าพีเอชลดลงอย่างไม่มีความแตกต่างกัน แต่การเจริญของเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 ได้สูงกว่าแหนมที่หมักร่วมกับผงหมักแหนมโดยไม่มีการเติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 ในทุกวันของการหมัก

3. จากการทดลองทางด้านประสาทสัมผัส พบว่าผู้บริโภคให้การยอมรับแหนมที่เติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 ร่วมกับผงหมักแหนมมากกว่าแหนมที่หมักร่วมกับผงหมักแหนมโดยไม่มีการเติมกล้าเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 โดยในผลิตภัณฑ์แหนมสดผู้บริโภคจะให้ความยอมรับทางด้านกลิ่นรส ส่วนในผลิตภัณฑ์แหนมสุกผู้บริโภคจะให้ความยอมรับทางด้านกลิ่นรส สี เนื้อสัมผัส ความชอบโดยรวม

จากการศึกษาครั้งนี้ จึงพอสรุปได้ว่า ความเป็นไปได้ของการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกบริสุทธิ์ร่วมกับผงหมักแหนม ซึ่งเป็นการพัฒนากระบวนการผลิตแหนมในอนาคต อาจเป็นแนวทางหนึ่งให้กับโรงงานผลิตแหนม สามารถนำไปใช้ในการดัดแปลงผลิตภัณฑ์ให้เป็นแหนมที่มีคุณภาพแนวใหม่ เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค และเป็นการช่วยยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่ผลิตและมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

- นภา โล่ห์ทอง. 2535. *กล้าเชื้ออาหารหมักและเทคโนโลยีการผลิต*. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. พิมพ์ครั้งที่ 2 .
- นภา โล่ห์ทอง. 2539. *ปฏิบัติการวิชาจุลชีววิทยาทางอาหาร*. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- บุษกร อุตรภิชาติ. 2545. *จุลชีวิทยาอาหาร*. การผลิตเอกสารและตำรา มหาวิทยาลัยทักษิณ. สงขลา. 425 หน้า.
- ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 20 พ.ศ.2517
- ปิ่นมณี ขวัญเมือง. 2546. *การแยกเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกจากตัวอย่างแหนมของประเทศไทยเพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อ* วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ปรียา วิบูลย์เศรษฐ์. 2524. *จุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์เกษตร*. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ไพโรจน์ วิริยะจารี , ลักษณา รุจนะไกรกานต์ , สุธยา บุญถนอม , วิวรรธน์ วรรธนัจฉริยา และ อศรพงษ์ พงษ์ศิริกุล.2538. *ก.การพัฒนาผลิตภัณฑ์แหนมโดยใช้เทคโนโลยีเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นผสม 7. การพัฒนาลีชมพูในผลิตภัณฑ์แหนม* วารสารเกษตร . 11(2) : 147-185
- ไพโรจน์ วิริยะจารี , ลักษณา รุจนะไกรกานต์ , สุธยา บุญถนอม , วิวรรธน์ วรรธนัจฉริยา และ อศรพงษ์ พงษ์ศิริกุล.2538. *ข.การพัฒนาผลิตภัณฑ์แหนมโดยใช้เทคโนโลยีเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นผสม 8. ผลของสารปรกอบฟอสเฟตต่อการเจริญเติบโตของกล้าเชื้อบริสุทธิ์* วารสารเกษตร . 11(2) : 147-185
- มอก. 2537. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเรื่องผลิตภัณฑ์แหนมฉบับที่ 1219-2537. กระทรวงอุตสาหกรรม. กรุงเทพ : ม่ำกังการพิมพ์
- เยาวลักษณ์ สุรพันธ์พิศิษฐ์. 2536. *การแปรรูปและผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์. เทคโนโลยีเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์*. พิมพ์ครั้งที่ 2 , กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์สหมิตรออฟเซต.
- ศิริโสภา มณีธรรมศิริเพ็ญ , ไอริณ ธีรวัฒนอมร 2547. *ผลของกระเทียมต่อการเจริญของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลกติกสายพันธุ์ Lactobacillus Lactis N 190 , Pediococcus pentosaceus TISTR 536 ในอาหารเหลวที่จำลองสภาพเหมือนหารหมักแหนม.* ปัญหาพิเศษปริญญาตรี.สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ พ.ศ.2543

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- สิรินดา คันธจันทร์. *การพัฒนาผลิตภัณฑ์แหนมโดยใช้เทคโนโลยีการเติมเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นผสม*. สัมมนาปริญญาตรี. สาขาวิชาอุตสาหกรรมเกษตร ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.
- สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2518. *การศึกษาจุลินทรีย์ที่เป็นตัวการในระหว่างการทำแหนม*. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- สุขใจ โสมะฐิติ. 2531. *การศึกษาถึงชนิดและปริมาณแบคทีเรีย ที่แยกได้ในระหว่างการหมักมั่ม*. การวิจัยขั้นพื้นฐาน. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.
- อรพิน ภูมิภมร. 2526. *จุลินทรีย์ในเครื่องดื่มประเภทแอลกอฮอล์และอาหารหมักพื้นเมือง*. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- อดิศร เสวตวิวัฒน์. 2533. *ผลของการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติคต่อซาลโมเนลลาในการหมักแหนม*.วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ
- อดิศร เสวตวิวัฒน์. 2542. *ผลของน้ำสกัดกระเทียมต่อการเจริญของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกสำหรับผลิตภัณฑ์เนื้อและเชื้อโรคอาหารเป็นพิษที่พบมากในแหนม(ในหลอดทดลอง)*. วารสารอาหาร 29,2 : 107-114
- Axelsson, L. 1998. Lactic acid bacteria: classification and physiology, pp. 1-72. In, S. Salminen and A. Von Wright (eds). Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Functional Aspects, 2nd ed. Marcel Dekker, Inc. New York
- Bacus, J.N.1984. Utilization of Microbiology in Meat Processing. Researh stadies Preess,Ltd., England.
- Bacus, J.N. and Brown, W.L. 1981. Use of Microbial cultures : meat product. *Food technol.* 35(1) 74-83
- Daeschel, M.A. (1989). Antimicrobial substances from lactic acid bacteria for use as food preservatives. *Food Technology*, 164-167.
- Dunn, C.G. and Prescott, S.C. 1959. Industrial Microbiology. 3 rd ed New York: McGraw-Hill Book Company, Inc. 945pp.
- Hammes, W.P. and Knauf, H.J. (1994). Starter in the processing of meat products. *Meat Science*, 36, 155-168.
- Klettner, P.G. and Banmagartner, P.A.. 1980. The technology of raw dry sausage manufacture. *Food Technol.* In Australia, 32 (8) : 380-384.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Niinivaara, F.P. 1995. The influent of pure bacteria culture on aging and changes of the red Colour of dry sausage. Thesis, University of Helsinki, Finland, Acta Agralia,32(8) 380-384
- Niskanen, A. and Nurmi, E. (1976). Effect of starter culture on staphylococcal enterotoxin and thermonuclease production in dry sausage. *Applied and Environmental Microbiology*. 31, 11-20.
- Nurmi,.1966. Effect of Bacterial inoculation on chalacteristic and microbial flora of dry sausage Thesis, University of Helsinki, Finland, Acta Agralia Finnica No.108
- Sakaguchi, K. 1959. Study on the activities of bacteria in soysauce brewing. Part. Taxonomic studies on Pediococcus soyae. Nov sp. The soysauce lactic acid bacteria. Bull. Arg. Chem. Soc. Japan. 22(6):353-356.
- Simpson, W.J. and Taguchi, H. 1995. The genus *Pediococcus*, with notes on the genera *Tetratogenococcus* and *Aerococcus*, pp. 125-172. In, B.J.B. Wood and W.H. Holzapfel (eds). The Genera of Lactic Acid Bacteria. Chapman & Hall, London
- Swetwiwathana, A., Leutz, U., Lotong, N., and Fischer, A. 1999. Controlling the Growth of *Salmonella anatum* in Nham : Effect of Meat Starter Cultures, Nitrate, Nitrite and Garlic. Ficischwirtschaft. 79(9) : 124-128.
- Swetwiwathana, A., Lotong, N., Fischer, A., and Sonomoto K. 2001. Potential for Use of Isolated Bacteriocin-producing *Pediococcus pentosaceus* TISTR536 from Nham (Thai Fermented Meat) to Control the Growth of *Salmonella anatum* [An In-Vitro Study]. Proceeding of the 47th International Congress of Meat Science and Technology (ICoMST), Krakow, Poland. 26-31 August 2001.
- Swetwiwathana, A., Lotong, N., and Fischer, A. 2002. Use of Pediocin PA-1 (*Pediococcus pentosaceus* TISTR 536) to control *Salmonella anatum* in Nham (Thai Fermented Meat). Proceeding of the 48th International Congress of Meat Science and Technology (ICoMST), Rome, Italy. 25-30 August 2002.
- Tittsler, R.P. and Pederson, C.S. 1952. symposium on the lactic acid bacteria. Bact. Rey. 16:227-255.
- IQA.2548 "Lactic Acid Bacteria" (online). Available http://fig.cox.miami.edu/~lfarmer/BIL265/BIL2001/img011.gif
- IQA.2548 "Lactic Acid Bacteria" (online). Available www.saccosrl.it/.../ structure/sausages.html

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- IQA.2548 "*Pediococcus pentosaceus*" (online). Available
www.bioweb.usu.edu/ microscopy/Research.htm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

1. การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของตัวอย่างแหนม

1.1 วิเคราะห์หาปริมาณกรดแลคติค (ดัดแปลงจาก AOAC,1984 โดย นภา, 2539)

ชั่งตัวอย่างแหนม 3 กรัม บดให้ละเอียด เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร กรองด้วยกระดาษกรอง นำน้ำใสที่ได้ไปต้มไล่ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ เติมสารละลายฟีนอล์ฟธาลีน 2-3 หยด ไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐาน 0.1 N NaOH จนกระทั่งถึง end point เกิดสีชมพู คำนวณปริมาณกรดแลคติคตามสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์กรดแลคติค} = \frac{N \times V \times 90.01 \times 100}{1,000 \times \text{กรัมของตัวอย่าง}}$$

N = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน 0.1 N NaOH

V = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน 0.1 N NaOH ที่ใช้ในการไตเตรท(มิลลิลิตร)

1.2 การวัดค่าพีเอช (ดัดแปลงจาก AOAC,1984 โดย นภา, 2539)

นำตัวอย่างแหนม 20 กรัม มาบดให้ละเอียด เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน วัดด้วยเครื่องวัด pH meter

1.3 สารเคมี

- น้ำปลอดคาร์บอนไดออกไซด์ เตรียมโดยนำน้ำกลั่นมาต้มให้เดือด 20 นาที

- สารละลายมาตรฐาน 0.1 N NaOH เตรียมจาก NaOH 4 กรัม เติมน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร เก็บไว้ในขวดพลาสติก ก่อนนำมาใช้นำมาหาความเข้มข้นมาตรฐานก่อน

การหาความเข้มข้นมาตรฐานของ 0.1 N NaOH โดยชั่ง Acid potassium phathalate (อบ 2 ชั่งโมง ที่ 120 $^{\circ}$ C แล้วทำให้เย็นในโถอบแห้ง) อย่างละเอียดประมาณ 0.3 กรัม เติมลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำปลอดคาร์บอนไดออกไซด์ 50 มิลลิลิตร เมื่อ Acid potassium phathalate ($KHC_8H_4O_4$) ละลายจึงเติมฟีนอล์ฟทาลีน 3 หยดแล้วไทเทรตด้วยสารละลาย 0.1 N NaOH ความเข้มข้นมาตรฐานคำนวณได้จากสูตร

$$\text{ความเข้มข้นมาตรฐาน (N)} = \frac{\text{กรัม } KHC_8H_4O_4 \text{ (g)} \times 100}{\text{ปริมาตรของ NaOH (ml)} \times 204.229}$$

- สารละลายฟีนอล์ฟทาลีน (Phenolphthalein) ชั่ง 1 กรัม ฟีนอล์ฟทาลีนละลายในเอธานอล 95% ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

MRS Agar

proteose peptone	10.0	กรัม
beef extract	10.0	กรัม
yeast extract	5.0	กรัม
dextrose	20.0	กรัม
sorbitan monooleate complex	1.0	กรัม
ammonium citrate	2.0	กรัม
sodium acetate	5.0	กรัม
magnesium sulfate	0.1	กรัม
manganese sulfate	0.05	กรัม
disodium phosphate	2.0	กรัม
agar	15	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นโดยการต้มให้เดือด นึ่งฆ่าเชื้อ 118 องศาเซลเซียส 15 นาที

MRS Broth

proteose peptone	10.0	กรัม
beef extract	10.0	กรัม
yeast extract	5.0	กรัม
dextrose	20.0	กรัม
sorbitan monooleate complex	1.0	กรัม
ammonium citrate	2.0	กรัม
sodium acetate	5.0	กรัม
magnesium sulfate	0.1	กรัม
manganese sulfate	0.05	กรัม
disodium phosphate	2.0	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นโดยการต้มให้เดือด นึ่งฆ่าเชื้อ 118 องศาเซลเซียส 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

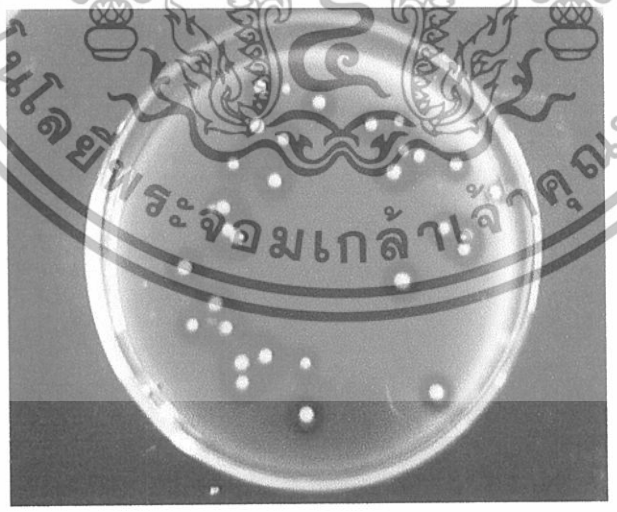
ส่วนประกอบของการผลิตแหนม

หมูเนื้อแดงไม่ติดมันบด	650	กรัม
หนังหมูหั่นฝอย	350	กรัม
ข้าวหุงสุก	60	กรัม
กระเทียมสับ	50	กรัม
ผงทำแหนม(ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท โกลโบ ฟู้ดส์ จำกัด)	93.33	กรัม

(โดยประกอบด้วยสารเคมี 76.67 กรัม และเกลือแหนม 18.67 กรัม)

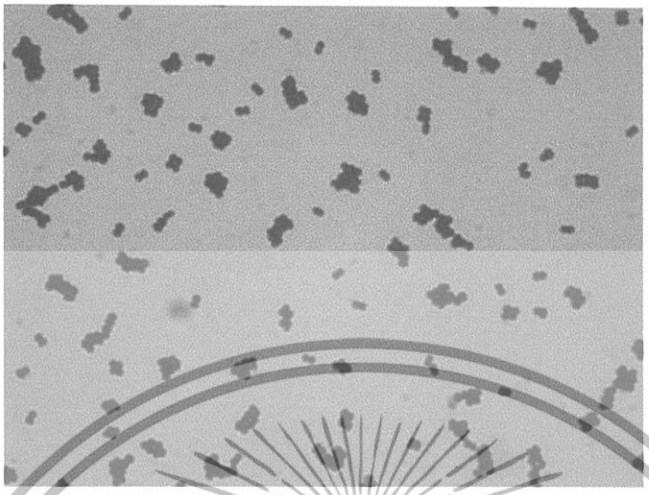
ส่วนประกอบโดยประมาณของผงทำแหนม

เด็กโทรส	38%	
แลคโตส	26%	
เกลือ	20%	
กลูโคโนเดลต้าแลคโทน	2%	
โซเดียมไนโตรต์	0.13%	(ใช้โมโนโซเดียมกลูตาเมตวัตถุปรุงแต่งรส อาหาร 4%)



ภาพที่ ข.1 : ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียแลคติก (*P.pentosaceus* TISTR 536) ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อMRS agar

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ข.2 : ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อ (*P.pentosaceus* TISTR 536)

ภาพที่ ข.3 : ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อแบคทีเรียแลคติกจากแหนมที่ผลิตโดยใช้เชื้อธรรมชาติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

ผลการทดลองการตรวจนับเชื้อของผงหมักแหนมที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536และแหนมที่ไม่เติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์

ตารางภาคผนวกที่ ค.1 : ผลการทดลองครั้งที่ 1 การตรวจนับเชื้อของผงหมักแหนมที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536และแหนมที่ไม่เติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ที่ระยะเวลาต่างๆ

เวลาที่ใช้ในหมัก / ตัวอย่าง	วันที่ 0 (cfu/g)	วันที่ 7 (cfu/g)	วันที่ 14 (cfu/g)	วันที่ 21 (cfu/g)	วันที่ 28 (cfu/g)
เก็บที่อุณหภูมิห้อง	9.95×10^{7}	7.3×10^{4}	2.87×10^{3}	$< 30 \times 10$	< 10
เก็บที่อุณหภูมิตู้เย็น	9.95×10^{7}	12.7×10^{7}	1.7×10^{8}	1.34×10^{8}	1.3×10^{8}

ตารางภาคผนวกที่ ค.2 : ผลการทดลองครั้งที่ 2 การตรวจนับเชื้อของผงหมักแหนมที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536และแหนมที่ไม่เติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ที่ระยะเวลาต่างๆ

เวลาที่ใช้ในหมัก / ตัวอย่าง	วันที่ 0 (cfu/g)	วันที่ 7 (cfu/g)	วันที่ 14 (cfu/g)	วันที่ 21 (cfu/g)	วันที่ 28 (cfu/g)
เก็บที่อุณหภูมิห้อง	5.4×10^{7}	5.8×10^{2}	$< 30 \times 10$	< 10	< 10
เก็บที่อุณหภูมิตู้เย็น	5.4×10^{7}	5.45×10^{5}	2.05×10^{6}	1.535×10^{6}	1.43×10^{5}

ตารางภาคผนวกที่ ค.3 : ผลการทดลองครั้งที่ 3 การตรวจนับเชื้อของผงหมักแหนมที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536และแหนมที่ไม่เติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ที่ระยะเวลาต่างๆ

เวลาที่ใช้ในหมัก / ตัวอย่าง	วันที่ 0 (cfu/g)	วันที่ 7 (cfu/g)	วันที่ 14 (cfu/g)	วันที่ 21 (cfu/g)	วันที่ 28 (cfu/g)
เก็บที่อุณหภูมิห้อง	6.85×10^{7}	1.55×10^{4}	$< 30 \times 10$	$< 30 \times 10$	< 10
เก็บที่อุณหภูมิตู้เย็น	2.24×10^{8}	1.51×10^{8}	1.93×10^{8}	1.21×10^{8}	5.5×10^{7}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

ผลการทดลองการตรวจนับเชื้อของแหนมที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536 และแหนมที่ไม่เติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์

ตารางภาคผนวกที่ ง.1 : ผลการทดลองครั้งที่ 1 การตรวจนับเชื้อของแหนมที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536 และแหนมที่ไม่เติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ที่ระยะเวลาต่างๆ

เวลาที่ใช้ในหมัก / ตัวอย่าง	วันที่ 0 (cfu/g)	วันที่ 1 (cfu/g)	วันที่ 2 (cfu/g)	วันที่ 3 (cfu/g)	วันที่ 4 (cfu/g)
แหนม + TISTR 536	1.525×10^{6}	7.1×10^{5}	2.41×10^{5}	7.55×10^{6}	2.05×10^{7}
แหนม	2.9×10^{5}	6.3×10^{5}	3.13×10^{6}	1.37×10^{7}	0.73×10^{7}

ตารางภาคผนวกที่ ง.2 : ผลการทดลองครั้งที่ 2 การตรวจนับเชื้อของแหนมที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536 และแหนมที่ไม่เติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ที่ระยะเวลาต่างๆ

เวลาที่ใช้ในหมัก / ตัวอย่าง	วันที่ 0 (cfu/g)	วันที่ 1 (cfu/g)	วันที่ 2 (cfu/g)	วันที่ 3 (cfu/g)	วันที่ 4 (cfu/g)
แหนม + TISTR 536	6.55×10^{6}	6.1×10^{7}	7.8×10^{7}	8.8×10^{7}	9.4×10^{7}
แหนม	5.2×10^{5}	7.5×10^{5}	9.3×10^{6}	2.1×10^{7}	1.51×10^{7}

ตารางภาคผนวกที่ ง.3 : ผลการทดลองครั้งที่ 3 การตรวจนับเชื้อของแหนมที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536 และแหนมที่ไม่เติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ที่ระยะเวลาต่างๆ

เวลาที่ใช้ในหมัก / ตัวอย่าง	วันที่ 0 (cfu/g)	วันที่ 1 (cfu/g)	วันที่ 2 (cfu/g)	วันที่ 3 (cfu/g)	วันที่ 4 (cfu/g)
แหนม + TISTR 536	3.5×10^{5}	1.2×10^{6}	7.65×10^{6}	1×10^{7}	1.4×10^{7}
แหนม	5.05×10^{5}	8.37×10^{5}	8.4×10^{6}	3.5×10^{7}	2.23×10^{7}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

ผลการทดลองการวัดค่า pH ของแหนมที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536 และแหนมที่ไม่เติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์

ตารางภาคผนวกที่ จ.1 : ผลการทดลองครั้งที่ 1 การวัดค่า pH ของแหนมที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536และแหนมที่ไม่เติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ที่ระยะเวลาต่างๆกัน

เวลาที่ใช้หมัก / ตัวอย่าง	0 วัน	1 วัน	2 วัน	3 วัน	4 วัน
แหนม	4.55	4.53	4.61	4.47	4.33
แหนม + TISTR 536	4.52	4.55	4.58	4.44	4.29

ตารางภาคผนวกที่ จ.2 : ผลการทดลองครั้งที่ 2 การวัดค่า pH ของแหนมที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536และแหนมที่ไม่เติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ที่ระยะเวลาต่างๆกัน

เวลาที่ใช้หมัก / ตัวอย่าง	0 วัน	1 วัน	2 วัน	3 วัน	4 วัน
แหนม	4.69	4.55	4.49	4.40	4.33
แหนม + TISTR 536	4.61	4.50	4.49	4.33	4.21

ตารางภาคผนวกที่ จ.3 : ผลการทดลองครั้งที่ 3 การวัดค่า pH ของแหนมที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536และแหนมที่ไม่เติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ที่ระยะเวลาต่างๆกัน

เวลาที่ใช้หมัก / ตัวอย่าง	0 วัน	1 วัน	2 วัน	3 วัน	4 วัน
แหนม	4.68	4.53	4.56	4.57	4.56
แหนม + TISTR 536	4.70	4.52	4.48	4.51	4.39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฉ

ผลการทดลองการหาปริมาณ NaOH ที่ไทเทรตจากแหนมที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536และแหนมที่ไม่เติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์

ตารางภาคผนวกที่ ฉ.1 : ผลการทดลองครั้งที่ 1 ปริมาณ NaOH ที่ไทเทรตได้จากแหนมที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536และแหนมที่ไม่เติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ที่ระยะเวลาต่างๆกัน

เวลาที่ใช้หมัก / ตัวอย่าง	0 วัน	1 วัน	2 วัน	3 วัน	4 วัน
แหนม	0.71	0.83	1.05	1.17	1.64
แหนม + TISTR 536	0.88	1.21	1.19	1.39	1.65

ตารางภาคผนวกที่ ฉ.2 : ผลการทดลองครั้งที่ 2 ปริมาณ NaOH ที่ไทเทรตได้จากแหนมที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536และแหนมที่ไม่เติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ที่ระยะเวลาต่างๆกัน

เวลาที่ใช้หมัก / ตัวอย่าง	0 วัน	1 วัน	2 วัน	3 วัน	4 วัน
แหนม	0.78	0.98	1.14	1.2	1.43
แหนม + TISTR 536	0.81	1.03	1.25	1.75	1.7

ตารางภาคผนวกที่ ฉ.3 : ผลการทดลองครั้งที่ 3 ปริมาณ NaOH ที่ไทเทรตได้จากแหนมที่ผลิตโดยเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ *P. pentosaceus* TISTR 536และแหนมที่ไม่เติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ที่ระยะเวลาต่างๆกัน

เวลาที่ใช้หมัก / ตัวอย่าง	0 วัน	1 วัน	2 วัน	3 วัน	4 วัน
แหนม	0.68	0.88	1.35	1.43	1.33
แหนม + TISTR 536	0.7	1.18	1.53	1.53	1.65

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ช

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

ผู้ทดสอบ..... เพศ..... วันที่.....

ผลิตภัณฑ์ แหนม

คำแนะนำ กรุณาทดสอบตัวอย่าง จากซ้ายไปขวา บ้วนปากระหว่างชิมตัวอย่าง และให้คะแนนตามตัวเลขให้ตรงตามรหัสตัวอย่าง

5 ชอบมาก

4 ชอบ

3 เฉยๆ

2 ไม่ชอบ

1 ไม่ชอบมาก

รหัสตัวอย่าง	สี	กลิ่น	รสชาติ	เนื้อสัมผัส	ความชอบรวม
.....	.....	.....	.....	.....	.....
.....	.....	.....	.....	.....	.....
.....	.....	.....	.....	.....	.....
.....	.....	.....	.....	.....	.....
.....	.....	.....	.....	.....	.....
.....	.....	.....	.....	.....	.....
.....	.....	.....	.....	.....	.....
.....	.....	.....	.....	.....	.....

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ซ.

ตารางภาคผนวกที่ ซ. 1 : แสดงผลการวิเคราะห์ผลการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านสีของแหนมสดทางสถิติใช้โปรแกรม SPSS V.10

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: COLOR

Source	Type II Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	12.500	20	.625	1.589	.159
Intercept	429.025	1	429.025	1090.498	.000
TREAT	2.500E-02	1	2.500E-02	.064	.804
BLOCK	12.475	19	.657	1.669	.137
Error	7.475	19	.393		
Total	449.000	40			
Corrected Total	19.975	39			

a R Squared = .626 (Adjusted R Squared = .232)

ตารางภาคผนวกที่ ซ. 2 : แสดงผลการวิเคราะห์ผลการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านสีของแหนมสุกทางสถิติใช้โปรแกรม SPSS V.10

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: COLOR

Source	Type II Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	19.500	20	.975	5.656	.000
Intercept	540.225	1	540.225	3134.130	.000
TREAT	1.225	1	1.225	7.107	.015
BLOCK	18.275	19	.962	5.580	.000
Error	3.275	19	.172		
Total	563.000	40			
Corrected Total	22.775	39			

a R Squared = .856 (Adjusted R Squared = .705)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ซ.3 : แสดงผลการวิเคราะห์ผลการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นรสของแหนมสดทางสถิติใช้โปรแกรม SPSS V.10

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: AROMA

Source	Type II Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	18.500	20	.925	1.542	.175
Intercept	504.100	1	504.100	840.167	.000
TREAT	3.600	1	3.600	6.000	.024
BLOCK	14.900	19	.784	1.307	.283
Error	11.400	19	.600		
Total	534.000	40			
Corrected Total	29.900	39			

a R Squared = .619 (Adjusted R Squared = .217)

ตารางภาคผนวกที่ ซ 4 : แสดงผลการวิเคราะห์ผลการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นรสของแหนมสุกทางสถิติใช้โปรแกรม SPSS V.10

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: AROMA

Source	Type II Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	11.100	20	.555	1.241	.321
Intercept	518.400	1	518.400	1158.776	.000
TREAT	2.500	1	2.500	5.588	.029
BLOCK	8.600	19	.453	1.012	.490
Error	8.500	19	.447		
Total	538.000	40			
Corrected Total	19.600	39			

a R Squared = .566 (Adjusted R Squared = .110)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ซ.5 : แสดงผลการวิเคราะห์ผลการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านความเปรี้ยว ของแหนมสุกทางสถิติใช้โปรแกรม SPSS V.10

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: SOUR

Source	Type II Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	20.700	20	1.035	.731	.754
Intercept	384.400	1	384.400	271.509	.000
TREAT	.100	1	.100	.071	.793
BLOCK	20.600	19	1.084	.766	.717
Error	26.900	19	1.416		
Total	432.000	40			
Corrected Total	47.600	39			

a R Squared = .435 (Adjusted R Squared = -.160)

ตารางภาคผนวกที่ ซ.6 : แสดงผลการวิเคราะห์ผลการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านเนื้อสัมผัส ของแหนมสุกทางสถิติใช้โปรแกรม SPSS V.10

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: TEXTURE

Source	Type II Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	12.300	20	.615	1.563	.168
Intercept	511.225	1	511.225	1299.435	.000
TREAT	2.025	1	2.025	5.147	.035
BLOCK	10.275	19	.541	1.375	.247
Error	7.475	19	.393		
Total	531.000	40			
Corrected Total	19.775	39			

a R Squared = .622 (Adjusted R Squared = .224)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ซ.7 : แสดงผลการวิเคราะห์ผลการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านความยอมรับโดยรวมของแหนมสุกทางสถิติใช้โปรแกรม SPSS V.10

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: ACCEPT

Source	Type II Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	14.600	20	.730	1.632	.146
Intercept	532.900	1	532.900	1191.188	.000
TREAT	2.500	1	2.500	5.588	.029
BLOCK	12.100	19	.637	1.424	.224
Error	8.500	19	.447		
Total	556.000	40			
Corrected Total	23.100	39			

a R Squared = .632 (Adjusted R Squared = .245)

ตารางภาคผนวกที่ ซ.8 : แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติกวันที่ 0 ของผลิตภัณฑ์แหนมทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS V.10

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: ACID

Source	Type II Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1.433E-03	3	4.778E-04	1.365	.449
Intercept	.282	1	.282	804.762	.001
TREAT	6.000E-04	1	6.000E-04	1.714	.321
BLOCK	8.333E-04	2	4.167E-04	1.190	.457
Error	7.000E-04	2	3.500E-04		
Total	.284	6			
Corrected Total	2.133E-03	5			

a R Squared = .672 (Adjusted R Squared = .180)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ซ.9 : แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติกวันที่ 1 ของผลิตภัณฑ์แหนมทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS V.10

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: ACID

Source	Type II Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	8.100E-03	3	2.700E-03	2.418	.306
Intercept	.516	1	.516	462.328	.002
TREAT	8.067E-03	1	8.067E-03	7.224	.115
BLOCK	3.333E-05	2	1.667E-05	.015	.985
Error	2.233E-03	2	1.117E-03		
Total	.527	6			
Corrected Total	1.033E-02	5			

a R Squared = .784 (Adjusted R Squared = .460)

ตารางภาคผนวกที่ ซ.10 : แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติกวันที่ 2 ของผลิตภัณฑ์แหนมทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS V.10

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: ACID

Source	Type II Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	9.850E-03	3	3.283E-03	4.581	.184
Intercept	.742	1	.742	1035.372	.001
TREAT	4.817E-03	1	4.817E-03	6.721	.122
BLOCK	5.033E-03	2	2.517E-03	3.512	.222
Error	1.433E-03	2	7.167E-04		
Total	.753	6			
Corrected Total	1.128E-02	5			

a R Squared = .873 (Adjusted R Squared = .682)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ซ.11 : แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติกวันที่ 3 ของผลิตภัณฑ์แหนมทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS V.10

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: ACID

Source	Type II Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1.412E-02	3	4.706E-03	2.031	.347
Intercept	.984	1	.984	424.813	.002
TREAT	1.042E-02	1	1.042E-02	4.496	.168
BLOCK	3.700E-03	2	1.850E-03	.799	.556
Error	4.633E-03	2	2.317E-03		
Total	1.003	6			
Corrected Total	1.875E-02	5			

a R Squared = .753 (Adjusted R Squared = .382)

ตารางภาคผนวกที่ ซ.12 : แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติกวันที่ 4 ของผลิตภัณฑ์แหนมทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS V.10

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: ACID

Source	Type II Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	7.000E-03	3	2.333E-03	1.667	.396
Intercept	1.215	1	1.215	867.857	.001
TREAT	5.400E-03	1	5.400E-03	3.857	.188
BLOCK	1.600E-03	2	8.000E-04	.571	.636
Error	2.800E-03	2	1.400E-03		
Total	1.225	6			
Corrected Total	9.800E-03	5			

a R Squared = .714 (Adjusted R Squared = .286)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฌ

ภาพที่ ฌ.4 : ผลิตภัณฑ์แหนมที่หมักโดยผงหมักแหนมร่วมกับเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 ที่ระยะเวลา 3 วัน

ภาพที่ ฌ.5 : ผลิตภัณฑ์แหนมที่หมักโดยผงหมักแหนมที่ระยะเวลา 3 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้