

การศึกษาคุณภาพและจุลินทรีย์ของแฮมเนื้อโคโดยใช้เชื้อ
Lactococcus lactis subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 เป็นกล้าเชื้อในการหมักแฮม
A Study on Quality and Microbiology of Beef Nham using *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* P
2 and Sb 2 as a Starter Culture for Fermentation

ปรมาภรณ์ เจ็ดวรรณะ¹ คมแข พิลาสสมบัติ¹ รุจริน ลิ้มศุภวานิช² อติศร เสวตวิวัฒน์³ และ จุฑารัตน์ เศรษฐกุล¹

บทคัดย่อ

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้กล้าเชื้อสายพันธุ์ต่างๆ ได้แก่ *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 ที่มีต่อคุณภาพและการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ในแฮมเนื้อโค โดยแบ่งออกเป็น 4 กลุ่มทดลอง ได้แก่ กลุ่มควบคุม (ไม่เติมกล้าเชื้อ) กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อทางการค้า (*Pacovis* RCI - 47) และกลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 ระยะเวลาการหมักแฮม 3 วัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมาเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลาอีก 4 วัน วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ทำการศึกษาทางด้านจุลชีววิทยาโดยตรวจหา Coliforms, *Escherichia coli*, Yeast/Mold, *Salmonella* spp. และ *Staphylococcus aureus* สุ่มเก็บตัวอย่างวันที่ 0 และ 3 ของระยะเวลาการหมัก และแบคทีเรียกรดแลคติก สุ่มเก็บตัวอย่างทุกวันของการหมัก (วันที่ 0, 1, 2 และ 3) ส่วนการศึกษาทางด้านคุณภาพ สุ่มเก็บตัวอย่างทุกวัน (วันที่ 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 และ 7) เพื่อทำการวิเคราะห์ค่าความเป็นกรดต่าง (pH) และปริมาณกรดทั้งหมด (Total acid) สำหรับการวัดค่าสีที่ผิวสัมผัสด้านนอก ($L^* a^*$ และ b^*) สุ่มเก็บตัวอย่างวันที่ 3 และ 7 ผลการทดลองพบว่า การใช้กล้าเชื้อที่มีผลต่อจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติก โดยในวันที่ 0 ถึง 2 ของการผลิต กลุ่มควบคุมมีจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกน้อยที่สุด ส่วนในวันที่ 3 ของการหมักพบว่า Yeast/Mold และ Coliforms มีจำนวนลดลง นอกจากนี้ยังตรวจไม่พบ *E. coli*, *Salmonella* spp. และ *S. aureus* ในแฮมเนื้อโคทุกกลุ่ม ส่วนการศึกษาทางด้านคุณภาพ ในระหว่างกระบวนการหมักและการเก็บรักษาต่อที่อุณหภูมิแช่เย็นพบว่า กลุ่มควบคุมมีปริมาณกรดทั้งหมดต่ำสุดและมีค่า pH สูงสุด ($P < 0.05$) ซึ่งการเติมกล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 ทำให้ค่า pH ลดลงมากที่สุด ส่วนค่าสีที่ผิวสัมผัสด้านนอกของกลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Pacovis* RCI - 47 มีค่าความสว่าง (L^*) และสีเหลือง (b^*) มากกว่ากลุ่มอื่น ในขณะที่กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 มีค่าสีแดงสูงสุด ($P < 0.05$)

คำสำคัญ: กล้าเชื้อ แบคทีเรียกรดแลคติก แบคทีเรียก่อโรค คุณภาพของแฮมเนื้อโค

Abstract

This study aimed to investigate the effect of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* P 2 or Sb 2 on quality and microbiological changes in beef Nham. The study consisted of four treatments including control group (Nham without starter culture), Nham inoculated with commercial starter culture (*Pacovis* RCI - 47), and Nham inoculated with *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2, and Sb 2 respectively. Each treatment was fermented at 30 °C for 3 days and stored at 4 °C for 4 days. The experiment was designed as a Completely Randomized Design (CRD). At 0 and 3 days of fermentation, Coliforms, *Escherichia coli*, Yeast/Mold, *Salmonella* spp. and *Staphylococcus aureus* were examined, while lactic acid bacteria (LAB) were examined everyday during fermentation (day 0, 1, 2, and 3). The pH values and total acidity were

¹คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

²คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

³คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

examined everyday (day 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, and 7). The outside color values of Nham (L^* , a^* and b^*) were examined at day 3 of fermentation and after 4 days of storage (day 7). Results showed that the use of different strains of starter cultures affected the number of LAB on day 0 to 2, whereas control group has the lowest LAB. But on day 3, the number of Yeast/Mold and Coliforms had decreased in all groups. *E. coli*, *Salmonella* spp. and *S. aureus* could not be detected in all groups of beef Nham. The study of quality showed that during fermentation and storage time, the control group had the lowest total acidity, but had the highest pH value ($P < 0.05$). Nham inoculated with *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 had pH value decreased the most. The outside color L^* and b^* values of Nham inoculated with *Pacovis* RCI – 47 were higher (lighter and more yellow) than those of other groups. But Nham inoculated with *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 and Sb 2 were the reddest ($P < 0.05$).

Keywords: starter culture, Lactic acid bacteria, pathogenic bacteria, quality of beef Nham

บทนำ

แหนมเป็นผลิตภัณฑ์อาหารหมักพื้นบ้านที่นิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลายในประเทศไทย ช่วยยืดอายุการเก็บรักษาและยังเพิ่มรสชาติและคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์ กระบวนการหมักแหนมโดยทั่วไปใช้เวลา 3 - 5 วัน ซึ่งอาศัยการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่มีการปนเปื้อนตามธรรมชาติ แหนมควรมี pH อยู่ระหว่าง 4.4-4.8 ปริมาณกรดทั้งหมด 0.77-1.6% (Visessanguan *et al.*, 2004) ผู้บริโภคนิยมบริโภคแหนมโดยไม่ผ่านความร้อนหรือทำให้สุกก่อน จุดนี้จึงเป็นสิ่งสำคัญในการกำหนดคุณภาพและความปลอดภัยในการบริโภคแหนม ทั้งนี้ยังขึ้นอยู่กับปริมาณเชื้อก่อโรคที่ปนเปื้อนมา เช่น *Salmonella* spp., *S. aureus* และ *Listeria monocytogenes* ซึ่งพบมากในแหนมที่มีค่า pH ต่ำกว่า 4.6 เนื่องจากการหมักที่อาศัยแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีอยู่ในธรรมชาติเพียงอย่างเดียวเท่านั้น ทำให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพไม่สม่ำเสมอและไม่มีความปลอดภัย (Visessanguan *et al.*, 2006) การใช้เกลือที่สามารรถผลิตแบคทีเรียโอซินได้ไม่เพียงแต่จะส่งเสริมการรักษาคุณภาพของอาหาร แต่ยังช่วยป้องกันอาหารเน่าเสีย และยังใช้เพื่อลดระดับไนโตรเจนและไนโตรที่ที่ใช้ในกระบวนการหมัก ซึ่งเป็นเทคโนโลยีการเก็บรักษาเพื่อให้จุลินทรีย์มีความสม่ำเสมอและเกิดการสร้างสีในผลิตภัณฑ์ (Leroy *et al.*, 2006) แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ได้รับการคัดเลือกใช้ในอุตสาหกรรม ได้แก่ แบคทีเรียกลุ่ม homofermentative, Lactobacilli, Pediococci, Gram-positive catalase-positive cocci (GCC), และ coagulase-negative staphylococci (CNS) แบคทีเรียเหล่านี้สามารถผลิตกรดแลคติกได้อย่างรวดเร็วและทำให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพและมีความปลอดภัย (Zhang *et al.*, 2010) ทั้งนี้จากการศึกษาเบื้องต้นของศูนย์เครือข่ายวิจัยเทคโนโลยีเนื้อสัตว์และ Rumjuankiat *et al.* (2009) รายงานว่า *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 แยกได้จากระบบทางเดินอาหารของปลาสวายและปลากระพง สามารถผลิตแบคทีเรียโอซินชนิด nisin Z และ A ได้ตามลำดับ แบคทีเรียโอซินที่สร้างจากเชื้อดังกล่าวมีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ ได้แก่ *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917^T, *Lb. sakei* subsp. *sakei* JCM 1157^T, *Lb. sakei* TISTR 890, *Lc. lactis* subsp. *cremoris* TISTR 1344, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* JCM 6124, *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides* TISTR 942, *Enterococcus faecalis* JCM 5803^T, *E. faecalis* TISTR 888, *Streptococcus* sp. TISTR 1030, *Bacillus coagulans* JCM 2257^T, *Listeria innocua* ATCC 33090^T, *Brochotrix campestris* NBRC 11547^T, *Staphylococcus aureus* TISTR 118, *Pseudomonas fluorescens* TISTR 358 และ *P. fluorescens* JCM 5963^T ยกเว้น *P. fluorescens* TISTR 358, *S. aureus* TISTR 118 และ *Streptococcus* sp. TISTR 1030 ที่ P 2 ไม่สามารถยับยั้งได้ ส่วนคุณสมบัติเบื้องต้นในการเป็นโปรไบโอติกของ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 คือสามารถทนต่อค่า pH 3 - 10 ทนโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1 - 5 เปอร์เซ็นต์ ทนความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เข้มข้นของเกลือน้ำดี (Bile salts) 0.3 เปอร์เซ็นต์ ยกเว้น P 2 ที่ไม่สามารถทนอยู่ได้ และเชื้อทั้งสองสายพันธุ์สามารถทนไนโตรเจนความเข้มข้น 100 ppm สามารถมีชีวิตอยู่ในสภาวะกระเพาะลำไส้จำลองที่มีค่า pH 2.5, 3, 4 และ 7 ยกเว้น pH 2.5 ซึ่ง Sb 2 ไม่สามารถเจริญในลำไส้ได้ ทั้งนี้ นมพ. 470/2548 โดยมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (2548) ระบุว่าทางด้านจุลินทรีย์ต้องไม่ตรวจพบ *Salmonella* ในตัวอย่าง 25 กรัม *S. aureus* ต้องไม่เกิน 100 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม ยีสต์และราต้องน้อยกว่า 100 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม ดังนั้นการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้เกลือสายพันธุ์ต่างๆ ได้แก่ *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 ที่มีต่อคุณภาพและการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ในนมเนื่อโค

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก

นำเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส มาละลายน้ำแข็งเพื่อทำการบ่มเพาะเลี้ยงเชื้อก่อนใช้เป็นกล้าเชื้อบริสุทธิ์ โดยการดูเชื้อปริมาณ 100 ไมโครลิตร ลงในอาหารเหลว MRS (Merck, Germany) + 1% NaCl 5 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 - 18 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อจากหลอดอาหารที่เลี้ยงเชื้อไว้ปริมาตร 1 มิลลิลิตร (2%) ลงในอาหารเหลว MRS + 1% NaCl 50 มิลลิลิตร แล้วนำมาเพาะเลี้ยงเชื้ออีกครั้งตามวิธีการดังกล่าว จึงนำเชื้อใส่ลงในนมเนื่อโคปริมาณ 10^6 cfu/g ส่วนกล้าเชื้อทางการค้า *Pacovis* RCI - 47 (*Pacovis*, Germany) เตรียมโดยชั่งกล้าเชื้อปริมาณ 1 กรัม ละลายในน้ำอุ่น 5 มิลลิลิตร เขย่าให้ละลายแล้วจึงใส่ลงในนมเนื่อโค โดยใส่เชื้อปริมาตร 1 มิลลิลิตรต่อนมเนื่อโค 1 กิโลกรัม

2. ตัวอย่างนมเนื่อโค

นมเนื่อโคน้ำหนักรวม 6 กิโลกรัม มีส่วนผสมดังนี้ คือ เนื่อโคสด 3.8 กิโลกรัม เนื่อโคสุก 1.2 กิโลกรัม ข้าวสาลี 400 กรัม กระเทียมสด 400 กรัม ผงเพรก 110 กรัม ฟอสเฟต 20 กรัม น้ำตาลทราย 20 กรัม โมโนโซเดียมกลูตาเมต 10 กรัม นวดให้เข้ากันเป็นเวลา 10 นาที จนเหนียว ส่วนผสมของนมเนื่อโคที่ได้แบ่งเป็น 4 กลุ่มเพื่อใช้ในการทดลอง คือ กลุ่มควบคุมที่ไม่เติมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก (control) กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อทางการค้า *Pacovis* RCI - 47 และกลุ่มที่เติมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก คือ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 ตามลำดับ ใส่เชื้อปริมาณ 10^6 cfu/g ลงในส่วนผสมของนมเนื่อโค นวดให้ทั่วแล้วอัดเป็นแท่งๆ ละ 100 กรัม นำเข้าตู้บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาการหมักเป็นเวลา 3 วัน ทำการวิเคราะห์ทางด้านจุลชีววิทยา ยกเว้นการศึกษาทางด้านคุณภาพจะทำการเก็บตัวอย่างภายหลังจากการหมัก 3 วัน และภายหลังจากเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอีก 4 วัน หลังจากสิ้นสุดการหมัก

3. การศึกษาคุณภาพของนมเนื่อโค

3.1 ด้านจุลินทรีย์ โดยวิเคราะห์แบคทีเรียกรดแลคติก (MRS, Merck, Germany, AOAC, 2006) เก็บตัวอย่างวันที่ 0, 1, 2 และ 3 ของการหมัก สำหรับการวิเคราะห์ Coliforms, *E. coli* (Chromocult, Merck, Germany, AOAC, 2006), Yeast/Mold (Malt agar, Merck, Germany, AOAC, 2005), *S. aureus* (Baird-parker, Merck, Germany, BAM, 2001), *Salmonella* spp. (Salmosyst broth base, Salmosyst selective supplement tablet, Xylose-Lysine-Deoxycholate agar, Salmonella-Shigella agar, Merck, Germany, AOAC, 1995) ทำการเก็บตัวอย่างในวันที่ 0 และ 3 ของกระบวนการหมัก

3.2 ด้านคุณภาพ โดยวิเคราะห์ความเป็นกรดต่าง (Mettler Toledo model SG-2, China) และปริมาณกรดทั้งหมด (ดัดแปลงจากนภ, 2529) เก็บตัวอย่างทุกวัน และการวิเคราะห์ค่าสี L^* (lightness) a^* (redness) และ b^* (yellowness) ที่ผิวสัมผัสด้านนอกของนมเนื่อโคด้วย Minolta Chromameter (CR-300, Japan) โดยเก็บตัวอย่างวันที่ 3

ของการหมัก (วันที่ 3) และ ภายหลังนำมาเก็บรักษาต่อที่อุณหภูมิแช่เย็นเป็นเวลา 4 วัน (วันที่ 7) ตรวจโดยวิธีการของ AMSA (1991)

4. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ Analysis of Variance วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการศึกษาผลของการใช้กล้าเชื้อทางการค้า (*Pacovis* RCI – 47) กล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 ต่อจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติก Yeast/Mold และ Coliforms (Table 1, 2 และ 3) พบว่าในวันที่ 0 ของการหมัก กลุ่มควบคุมมีจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกน้อยที่สุดมีค่าเท่ากับ 4.78 log cfu/g ในขณะที่กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Pacovis* RCI – 47, *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 มีค่าเท่ากับ 5.74, 6.16 และ 5.85 log cfu/g ตามลำดับ ในวันที่ 1 และ 2 ของการหมัก พบว่ากลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* Sb 2 มีจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกมากที่สุดมีค่าเท่ากับ 8.23 และ 8.43 log cfu/g ตามลำดับ และในขณะเดียวกันกลุ่มควบคุมยังคงมีจำนวนน้อยที่สุดมีค่าเท่ากับ 7.56 และ 7.93 log cfu/g ตามลำดับ ส่วนในวันที่ 0 ของการหมัก Yeast/Mold ของกลุ่มควบคุมมีจำนวนน้อยที่สุด มีค่าเท่ากับ 5.49 log cfu/g ในขณะที่กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Pacovis* RCI – 47 กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 มีค่าเท่ากับ 6.14, 6.43 และ 6.26 log cfu/g ตามลำดับ ($P < 0.05$) ส่วนในวันที่ 3 ของการหมักพบว่าจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติก (Table 1) ทุกกลุ่มมีค่าใกล้เคียงกัน ส่วนจำนวน Yeast/Mold (Table 2) ของกลุ่มควบคุมมีแนวโน้มลดลงน้อยที่สุดมีค่าเท่ากับ 3.86 log cfu/g โดยปริมาณเชื้อเริ่มต้นของกลุ่มควบคุมมีค่าเท่ากับ 5.49 log cfu/g ซึ่งน้อยกว่ากลุ่มอื่นที่มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นมากกว่า และจำนวน Coliforms (Table 3) ของกลุ่มควบคุมมีแนวโน้มลดลงน้อยที่สุดมีค่าเท่ากับ 4.71 log cfu/g โดยปริมาณเชื้อเริ่มต้นของกลุ่มควบคุมมีค่าเท่ากับ 4.94 log cfu/g ซึ่งน้อยกว่ากลุ่มอื่นที่มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นมากกว่า ทั้งนี้จากการศึกษาเบื้องต้นของศูนย์เครือข่ายการวิจัยเทคโนโลยีเนื้อสัตว์และ Rumjuankiat *et al.* (2009) รายงานว่า *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 สามารถผลิตแบคทีเรียโพรไบโอติกและเจริญได้ดีในสภาวะที่ค่า pH ต่ำ ซึ่งแบคทีเรียโพรไบโอติกที่สร้างจากกล้าเชื้อดังกล่าวมีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ โดยภายหลังกระบวนการหมัก 3 วันพบว่า Yeast/Mold และ Coliforms มีจำนวนลดลงซึ่งสอดคล้องกับจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกที่เพิ่มขึ้นในวันที่ 1 และ 2 ของการหมักเนื่องจากการสร้างกรดออกมามากขึ้น ทำให้ค่า pH ของหมักลดลง ส่งผลให้เกิดการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อดังกล่าวได้ ซึ่งการทดลองของ Erkkilä *et al.* (2001) ได้ศึกษาความสามารถในการหมักของโปรไบโอติก ได้แก่ *Lb. rhamnosus* GG, LC-705 และ E-97800, *P. pentosaceus* E-90390 และ *Lb. plantarum* E-98098 ในกระบวนการผลิตไส้กรอกแห้งพบว่าโปรไบโอติกสายพันธุ์ดังกล่าวสามารถสร้างกรดแลคติกได้สูงกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งในระหว่างการหมักไส้กรอกแห้งมีจำนวนของแบคทีเรียเพิ่มขึ้นจาก 6.5-7.0 log cfu/g ถึง 8.0-9.0 log cfu/g โดย *P. pentosaceus* เจริญได้ดีที่สุดโดยค่า pH ของไส้กรอกหมักลดลงจาก 5.6 เป็น 4.9-5.0 และ Fontana *et al.* (2005) ได้ศึกษาความหลากหลายของแบคทีเรียในระหว่างการหมักตามธรรมชาติ พบว่าภายหลังจาก 5 วันของการหมักมีจำนวน Coliforms และ Yeast/Mold ลดลง โดยจุลินทรีย์ในไส้กรอกหมักส่วนใหญ่มาจากการปนเปื้อนของเนื้อสัตว์ เครื่องเทศ วัตถุดิบ และสิ่งแวดล้อมในระหว่างการผลิตซึ่งส่งผลกระทบต่อผลิตภัณฑ์ทำให้เกิดการเน่าเสียได้ อย่างไรก็ตามจากการทดลองนี้ตรวจไม่พบ *Salmonella* spp., *S. aureus* และ *E. coli* ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานของ มพช. 470/2548 โดยสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (2548) ระบุว่าต้องตรวจไม่พบเชื้อ *Salmonella* ในตัวอย่างหมักเนื้อโค 25 กรัม และสำหรับ *S. aureus* ต้องไม่เกิน 100 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Table 1 Effect of starter cultures on the number of lactic acid bacteria (log cfu/g) in beef Nham (mean±SD) at each fermentation time

| Treatment | Fermentation time (day) | | | |
|-------------------------|-------------------------|-----------|------------------------|-----------|
| | 0 | 1 | 2 | 3 |
| Control | 4.78±0.45 ^b | 7.56±0.48 | 7.93±0.07 ^b | 8.53±0.30 |
| <i>Pacovis</i> RCI - 47 | 5.74±0.33 ^a | 8.01±0.46 | 8.49±0.06 ^a | 8.52±0.46 |
| P 2 | 6.16±0.14 ^a | 7.85±0.14 | 8.10±0.13 ^b | 8.31±0.25 |
| Sb 2 | 5.85±0.25 ^a | 8.23±0.44 | 8.43±0.31 ^a | 8.48±0.32 |

^{a, b} Means in the same column with different superscripts differ significantly (P<0.05)

Control = Nham without starter culture; *Pacovis* RCI - 47 = Nham inoculated with commercial starter culture (*Pacovis* RCI - 47)

P 2 = Nham inoculated with *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* P 2; Sb 2 = Nham inoculated with *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* Sb 2

Table 2 Effect of starter cultures time on the number of Yeast/Mold (log cfu/g) in beef Nham (mean±SD) at each fermentation time

| Treatment | Fermentation time (day) | |
|-------------------------|-------------------------|-----------|
| | 0 | 3 |
| Control | 5.49±0.31 ^b | 3.86±0.45 |
| <i>Pacovis</i> RCI - 47 | 6.14±0.32 ^a | 3.86±0.12 |
| P 2 | 6.43±0.54 ^a | 3.80±0.12 |
| Sb 2 | 6.26±0.38 ^a | 3.86±0.13 |

^{a, b} Means in the same column with different superscripts differ significantly (P<0.05)

Control = Nham without starter culture; *Pacovis* RCI - 47 = Nham inoculated with commercial starter culture (*Pacovis* RCI - 47)

P 2 = Nham inoculated with *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* P 2; Sb 2 = Nham inoculated with *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* Sb 2

Table 3 Effect of starter cultures on the number of Coliforms (log cfu/g) in beef Nham (mean±SD) at each fermentation time

| Treatment | Fermentation time (day) | |
|-------------------------|-------------------------|-----------|
| | 0 | 3 |
| Control | 4.94±0.06 | 4.71±0.14 |
| <i>Pacovis</i> RCI - 47 | 4.85±0.26 | 4.17±0.71 |
| P 2 | 5.13±0.53 | 4.50±1.13 |
| Sb 2 | 5.41±0.47 | 4.09±0.62 |

Means in the same column without superscripts are not significantly different (P>0.05)

Control = Nham without starter culture; *Pacovis* RCI - 47 = Nham inoculated with commercial starter culture (*Pacovis* RCI - 47)

P 2 = Nham inoculated with *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* P 2; Sb 2 = Nham inoculated with *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* Sb 2

การใช้กล้าเชื้อสายพันธุ์ต่าง ๆ มีผลต่อปริมาณกรดทั้งหมด (Table 4) โดยพบว่า ในวันที่ 0 กลุ่มควบคุมมีปริมาณกรดทั้งหมดต่ำสุดมีค่าเท่ากับ 0.51 เนื่องจากมีจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกเริ่มต้นน้อยที่สุด (Table 1) เมื่อระยะเวลาในการหมักนานขึ้น ทำให้จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกของทุกกลุ่มเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นปริมาณกรดทั้งหมดจึงสูงขึ้นเมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มมากขึ้น ในขณะที่กลุ่มควบคุมมีปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นต่ำที่สุด และในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็นพบว่าปริมาณกรดทั้งหมดของทุกกลุ่มเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการระหว่างการเก็บรักษามีผลให้กิจกรรมของแบคทีเรียกรดแลคติกมีการทำงานน้อยลงโดยมีผลมาจากอุณหภูมิของการเก็บรักษา แต่อย่างไรก็ตามพบว่า กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 มีปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มมากที่สุดตลอดระยะเวลาการหมักและการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น สำหรับค่า pH พบว่าในระหว่างกระบวนการหมัก 3 วัน กลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Pacovis* RCI - 47 มีค่า pH ลดลงต่ำกว่ากลุ่มอื่น มีค่าเท่ากับ 4.99 และ 4.98 ตามลำดับ ในขณะที่กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 มีค่าเท่ากับ 4.81 และ 4.87 ตามลำดับ โดยในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็นพบว่า ในวันที่ 7 ค่า pH ของกลุ่มควบคุมยังคงอยู่ที่ 5.06 ในขณะที่กลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 มีค่า pH ลดลงมากกว่าซึ่งมีค่าเท่ากับ 4.81 และ 4.82 ตามลำดับ โดยการลดลงของค่า pH จะสอดคล้องกับจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกที่เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งจะบ่งบอกถึงความปลอดภัยของผู้บริโภค และส่งผลในการยับยั้งการเจริญของ *Salmonella* (อดิศร, 2533) และ *S. aureus* (Kaban and Kaya, 2005) สำหรับผลการวัดค่าสีที่ผิวสัมผัสด้านนอก ในวันที่ 3 และ 7 พบว่ากลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Pacovis* RCI - 47 มีค่าความสว่าง (L^* , Table 6) และสีเหลือง (b^* , Table 8) สูงสุด ในขณะที่ค่าสีแดงต่ำสุด ($p < 0.05$, Table 7) และกลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 มีค่าสีแดงสูงสุด ทั้งนี้เนื่องมาจากการกระบวนการหมักกลุ่มที่เติมกล้าเชื้อ *Pacovis* RCI-47 ซึ่งเป็นกล้าเชื้อจากต่างประเทศ มีแบคทีเรียกรดแลคติกเพิ่มจำนวนมากขึ้น เกิดการสร้างกรดจึงทำให้มีค่า pH ลดลง และมีปริมาณกรดสูงซึ่งมีผลทำให้ค่าความสว่างและค่าสีเหลืองของแฮมมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม มีผลทำให้แฮมมีสีซีดมากขึ้น ซึ่งสภาวะการเจริญของกล้าเชื้อต่างประเทศนั้นอาจไม่เหมาะกับการนำมาใช้กับแฮมเนื้อโค ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะปรากฏภายนอกไม่เป็นที่ต้องการ โดย Visessanguan *et al.* (2006) รายงานว่าการเปลี่ยนแปลงของแบคทีเรียกรดแลคติกในแฮมที่เติมกล้าเชื้อ *Lb. curvatus* และกลุ่มที่ไม่เติมกล้าเชื้อ *Lb. curvatus* ซึ่งหมักไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 84 ชั่วโมง จะเพิ่มขึ้นจนถึง 10^8 cfu/g ภายใน 12 และ 72 ชั่วโมงตามลำดับ และมีค่า pH ลดลงอย่างรวดเร็วเนื่องจากการผลิตกรดอินทรีย์ของกล้าเชื้อ และทำให้จำนวน Yeast/Mold ลดลงอย่างรวดเร็วจนถึง 10^2 cfu/g ภายใน 24-36 ชั่วโมง และจุลินทรีย์ในกระบวนการหมักมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าสีของแฮมซึ่งเกี่ยวข้องกับการผลิตกรด และการเสื่อมสภาพของโปรตีน และผลการวิจัยของ Visessanguan *et al.* (2004) รายงานว่าในการหมักแฮมไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 84 ชั่วโมง มีผลให้ค่า pH ของแฮมลดลงอย่างรวดเร็วใน 24 ชั่วโมงแรก และมีค่าลดลงจนถึง 4.8 ภายใน 72 ชั่วโมง เนื่องจากสารอินทรีย์ซึ่งส่วนใหญ่เป็นกรดแลคติกที่ผลิตได้จากแบคทีเรียกรดแลคติกมีปริมาณเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับปริมาณกรดแลคติกที่เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตามระยะเวลาการหมักที่เพิ่มขึ้น และผู้วิจัยยังพบว่าค่าความสว่างที่ผิวสัมผัสด้านนอกมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ส่วนค่าสีแดงมีค่าเพิ่มขึ้นใน 12 ชั่วโมงแรกและมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาการหมัก ซึ่งแฮมเนื้อโคจากการศึกษาครั้งนี้พบว่าค่า pH มีแนวโน้มสูงกว่าเล็กน้อย อาจเป็นเพราะการใช้เนื้อโคในการผลิตแฮมมักจะมีค่า pH สูงกว่าเนื้อสุกรเป็นวัตถุดิบในการผลิต

Table 4 Effect of starter cultures on the total acid of beef Nham (mean±SD) during 3 days of fermentation at 30 °C and 4 days of storage at 4 °C

| Treatment | Fermentation and storage time (day) | | | | | | | |
|-----------------------|-------------------------------------|-----------|-----------|-----------|------------------------|-------------------------|-----------|------------------------|
| | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| Control | 0.51±0.11 ^b | 0.66±0.11 | 0.89±0.25 | 0.89±0.20 | 0.94±0.06 ^b | 0.92±0.09 ^b | 0.95±0.29 | 1.01±0.06 ^b |
| <i>Pacovis</i> RCI-47 | 0.62±0.09 ^{ab} | 0.71±0.02 | 0.83±0.14 | 0.81±0.21 | 0.93±0.12 ^b | 1.07±0.07 ^a | 1.08±0.13 | 1.04±0.10 ^b |
| P 2 | 0.62±0.14 ^{ab} | 0.79±0.12 | 0.86±0.17 | 0.97±0.16 | 1.14±0.06 ^a | 1.05±0.08 ^{ab} | 1.07±0.06 | 1.25±0.12 ^a |
| Sb 2 | 0.69±0.06 ^a | 0.74±0.12 | 0.87±0.16 | 0.95±0.05 | 0.98±0.04 ^b | 1.00±0.09 ^{ab} | 1.07±0.04 | 1.07±0.06 ^b |

^{a, b} Means in the same column with different superscripts differ significantly (P<0.05)

Control = Nham without starter culture; *Pacovis* RCI - 47 = Nham inoculated with commercial starter culture (*Pacovis* RCI - 47)

P 2 = Nham inoculated with *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* P 2; Sb 2 = Nham inoculated with *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* Sb 2

Table 5 Effect of starter cultures on the pH of beef Nham (mean±SD) during 3 days of fermentation at 30 °C and 4 days of storage at 4 °C

| Treatment | Fermentation and storage time (day) | | | | | | | |
|-----------------------|-------------------------------------|-----------|-------------------------|-------------------------|-----------|-----------|-----------|------------------------|
| | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| Control | 6.26±0.08 | 5.64±0.56 | 5.17±0.18 ^a | 4.99±0.14 ^a | 5.01±0.19 | 4.96±0.17 | 5.00±0.17 | 5.06±0.13 ^a |
| <i>Pacovis</i> RCI-47 | 6.21±0.09 | 5.20±0.06 | 5.07±0.10 ^{ab} | 4.98±0.06 ^a | 4.89±0.15 | 4.85±0.14 | 4.86±0.21 | 4.87±0.16 ^b |
| P 2 | 6.23±0.11 | 5.35±0.31 | 4.97±0.05 ^b | 4.81±0.08 ^b | 4.83±0.05 | 4.82±0.04 | 4.83±0.01 | 4.81±0.06 ^b |
| Sb 2 | 6.21±0.08 | 5.42±0.40 | 4.94±0.04 ^b | 4.87±0.02 ^{ab} | 4.84±0.02 | 4.86±0.04 | 4.82±0.04 | 4.82±0.04 ^b |

^{a, b} Means in the same column with different superscripts differ significantly (P<0.05)

Control = Nham without starter culture; *Pacovis* RCI - 47 = Nham inoculated with commercial starter culture (*Pacovis* RCI - 47)

P 2 = Nham inoculated with *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* P 2; Sb 2 = Nham inoculated with *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* Sb 2

Table 6 Effect of starter cultures on outside color value (L*, lightness) of beef Nham (mean±SD) on day 3 of fermentation at 30 °C and after 4 days of storage at 4 °C (day 7)

| Treatment | Fermentation and storage time (day) | |
|-----------------------|-------------------------------------|-------------------------|
| | 3 | 7 |
| Control | 48.68±1.66 ^b | 47.38±1.43 ^c |
| <i>Pacovis</i> RCI-47 | 50.60±1.54 ^a | 50.49±1.20 ^a |
| P 2 | 50.09±1.18 ^a | 48.73±1.19 ^b |
| Sb 2 | 50.28±0.86 ^a | 49.51±0.79 ^b |

^{a, b, c} Means in the same column with different superscripts differ significantly (P<0.05)

Control = Nham without starter culture; *Pacovis* RCI - 47 = Nham inoculated with commercial starter culture (*Pacovis* RCI - 47)

P 2 = Nham inoculated with *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* P 2; Sb 2 = Nham inoculated with *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* Sb 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Table 7 Effect of starter cultures on outside color value (a^* , redness) of beef Nham (mean \pm SD) on day 3 of fermentation at 30 °C and after 4 days of storage time at 4 °C (day 7)

| Treatment | Fermentation and storage time (day) | |
|------------------------|-------------------------------------|-------------------------------|
| | 3 | 7 |
| Control | 16.17 \pm 1.68 ^b | 15.84 \pm 1.94 ^b |
| <i>Parcovis</i> RCI-47 | 15.62 \pm 0.34 ^b | 15.61 \pm 0.34 ^b |
| P 2 | 18.07 \pm 0.98 ^a | 17.44 \pm 1.17 ^a |
| Sb 2 | 17.90 \pm 1.06 ^a | 17.95 \pm 1.02 ^a |

^{a, b} Means in the same column with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$)

Control = Nham without starter culture; *Pacovis* RCI - 47 = Nham inoculated with commercial starter culture (*Pacovis* RCI - 47)

P 2 = Nham inoculated with *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* P 2; Sb 2 = Nham inoculated with *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* Sb 2

Table 8 Effect of starter cultures on outside color value (b^* , yellowness) of beef Nham (mean \pm SD) on day 3 of fermentation at 30 °C and after 4 days of storage time at 4 °C (day 7)

| Treatment | Fermentation and storage time (day) | |
|------------------------|-------------------------------------|------------------------------|
| | 3 | 7 |
| Control | 3.32 \pm 0.84 ^b | 3.71 \pm 0.86 ^b |
| <i>Parcovis</i> RCI-47 | 3.97 \pm 0.55 ^a | 4.40 \pm 0.68 ^a |
| P 2 | 2.89 \pm 0.36 ^c | 3.52 \pm 0.62 ^b |
| Sb 2 | 2.91 \pm 0.58 ^c | 3.37 \pm 0.51 ^b |

^{a, b, c} Means in the same column with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$)

Control = Nham without starter culture; *Pacovis* RCI - 47 = Nham inoculated with commercial starter culture (*Pacovis* RCI - 47)

P 2 = Nham inoculated with *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* P 2; Sb 2 = Nham inoculated with *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* Sb 2

สรุปผลการทดลอง

การใช้ก๊าล้าเชื้อทางการค้า (*Pacovis* RCI - 47) ก๊าล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 ในการหมักแฮมเนื้อโคมีผลต่อปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติก Yeast/Mold และ Coliforms โดยพบว่า การใช้ก๊าล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ Yeast/Mold และ Coliforms ตามลำดับได้ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และยังตรวจไม่พบเชื้อ *E. coli*, *Salmonella* spp. และ *S. aureus* ส่วนด้านคุณภาพ พบว่าการใช้ก๊าล้าเชื้อสายพันธุ์ต่างๆ มีผลต่อปริมาณกรดทั้งหมด ค่า pH และค่าสี (L^* a^* และ b^*) โดยการใช้ก๊าล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 มีปริมาณกรดทั้งหมดสูงสุดและมีค่า pH ต่ำสุด และยังพบว่าการใช้ก๊าล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 มีผลให้แฮมเนื้อโคสีแดงเพิ่มมากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ดังนั้นสามารถกล่าวได้ว่า ก๊าล้าเชื้อ *Lc. lactis* subsp. *lactis* P 2 และ Sb 2 สามารถนำมาใช้เป็นก๊าล้าเชื้อโปรไบโอติกในแฮมเนื้อโคได้ ทำให้มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคและผลิตภัณฑ์ที่ได้มีสีที่น่ารับประทานมากขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณศูนย์เครือข่ายการวิจัยเทคโนโลยีเนื้อสัตว์โดยความร่วมมือของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังร่วมกับสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ที่ได้ให้เงินสนับสนุนเพื่อทำการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- นภา โฉมทอง. 2529. ปฏิบัติการวิชาจุลชีววิทยาทางอาหาร. ภาควิชาจุลชีววิทยาและวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน. 2548. แหนมเนื้อ มผช. 470/2548. 5 หน้า.
- อดิศร เสวตวิวัฒน์. 2533. ผลของการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกต่อซาลโมเนลลาในการหมักแหนม. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- AMSA. 1991. Guideline for meat color evaluation. American Meat Science Association. Illinois. USA.
- AOAC. 1995. Chapter 17 AOAC Official Method 17.9.01. p. 55. In Cunniff, P. Official methods of analysis of AOAC International. Virginia: AOAC International.
- AOAC. 2005. Chapter 17 AOAC Official Method 940.36B. p. 2. In Horwitz, W. and Latimer, G.W. Official methods of analysis of AOAC International. U.S.A.
- AOAC. 2006. Chapter 17 AOAC Official Method 966.23c-24. p.5-6. In Horwitz, W. and Latimer, G.W. Official methods of analysis of AOAC International. Maryland: AOAC International.
- BAM. 2001. Bacteriological Analytical Manual online, Chapter 12 on *Staphylococcus aureus*. U.S. Food and Drug Administration. January 2001. <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM>.
- Erkkilä, S., E. Petäjä, S. Eerola, L. Lilleberg, T. Mattila-Sandholm and M.L. Suihkö. 2001. Flavour profiles of dry sausages fermented by selected novel meat starter cultures. *Meat Sci.* 58 : 111-116.
- Fontana, C., P.S. Cocconelli and G. Vignolo. 2005. Monitoring the bacterial population dynamics during fermentation of artisanal Argentinean sausages. *Int. J. Food Microbiol.* 103 : 131-142.
- Kaban, G. and M. Kaya. 2005. Effect of starter culture on growth of *Staphylococcus aureus* in sucuk. *Meat Sci.* 17 : 797-801.
- Leroy, F., J. Verluyten and L. De Vuyst. 2006. Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation. *Int. J. Food Microbiol.* 106 : 270 - 285.
- Rumjuankiat, K., K. Pilasombut, S. Wangwibulkit and A. Swetwathana. 2009. Screening and partial characterization of bacteriocin from lactic acid bacteria in fish gastrointestinal tract. In book of Abstract of the 3rd International Conference on Fermentation Technology for Value Added Agricultural Products. August 26 - 28, 2009. Khon kaen, Thailand.
- Visessanguan, W., S. Benjakul, S. Riebroy and P. Thepkasikul. 2004. Changes in composition and functional properties of proteins and their contributions to Nham characteristics. *Meat Sci.* 66 : 579-588.
- Visessanguan, W., S. Benjakul, T. Smitinonta, C. Kittikuna, P. Thepkasikula and A. Panya. 2006. Changes in microbiological, biochemical and physico-chemical properties of Nham inoculated with different inoculum levels of *Lactobacillus curvatus*. *LWT.* 39 : 814-826.
- Zhang, W., S. Xiao, H. Samaraweera, E.J. Lee and D.U. Ahn. 2010. Improving functional value of meat products. *Meat Sci.* 86 : 15-31.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้