รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การเปรียบเทียบกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานต่อคุณภาพและความปลอดภัย

Comparison of Fermentation Process in Thai Fermented Pork Sausage (I-San Sausage) on Quality and Safety

รศ.ดร.คมแข พิลาสมบัติ

นายภานุพงษ์ ดวงขวัญ

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การเปรียบเทียบกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานต่อคุณภาพและความปลอดภัย

Comparison of Fermentation Process in Thai Fermented Pork Sausage (I-San Sausage) on Quality and Safety

รศ.ดร.คมแข พิลาสมบัติ

นายภานุพงษ์ ดวงขวัญ

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อโครงการ การเปรียบเทียบกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานต่อคุณภาพและความปลอดภัย
แหล่งเงินทุน งบประมาณเงินรายได้คณะเทคโนโลยีการเกษตร
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561 จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 70,000 บาท
ระยะเวลาทำวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2560 ถึง 30 กันยายน 2561
หัวหน้าโครงการวิจัย: รศ.ดร.คมแข พิลาสมบัติ
ผู้ร่วมวิจัย: นายภานุพงษ์ ดวงขวัญ
หน่วยงาน: ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทคัดย่อ

การเปรียบเทียบกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานที่แตกต่างกัน 5 วิธี ดังนี้ 1) แขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน 2) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน 3) บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน 4) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน และ 5) บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน ศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าปริมาณกรดทั้งหมด (%) ค่าการสูญเสียน้ำหนักระหว่างกระบวนการหมัก (%) จำนวนแบคทีเรียแลคติก จำนวนโคลิฟอร์ม/อีโคไล และจำนวนยีสต์และรา ผลการศึกษาพบว่าค่าความเป็นกรด-ด่าง ลดลงจาก 5.97-5.99 เป็น 4.35-5.16 ตลอดระยะเวลาการหมัก โดยค่าความเป็นกรด-ด่างจะแปรผกผันกับค่าปริมาณกรดทั้งหมด ทำให้มีค่าปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้น จาก 0.35-0.38% เป็น 0.73-1.17% โดยกระบวนการหมักแบบบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน มีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำสุด (4.35) และมีค่าปริมาณกรดทั้งหมดสูงสุด (1.17%) ค่าการสูญสียน้ำหนักระหว่างกระบวนการหมักมีค่าลดลงตามระยะเวลาการหมัก โดยกระบวนการหมักแบบแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน มีค่าสูงสุด (14.93%) ในขณะที่กระบวนการหมักแบบบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน และบรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน มีค่าต่ำสุด คือ 3.94 และ 3.22% ตามลำดับ จำนวนแบคทีเรียแลคติกมีค่าเพิ่มขึ้นในทุกกระบวนการหมัก มีค่าระหว่าง 7.31-7.81 log cfu/g ในวันที่ 3 ของกระบวนการหมัก โดยกระบวนการหมักแบบบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน มีจำนวนแบคทีเรียแลคติกสูงสุด (7.81 log cfu /g) จำนวนยีสต์และราของทุกกระบวนการหมักไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) มีค่าอยู่ในช่วง 2.85-3.93 log cfu /g จำนวนโคลิฟอร์ม มีค่าลดลงในวันที่ 1 และไม่ตรวจพบในวันที่ 2 ของทุกกระบวนการหมัก และจำนวนอีโคไลไม่ตรวจพบตลอดระยะเวลาการหมัก (P>0.05)

คำสำคัญ: ไส้กรอกอีสาน, กระบวนการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Research Title: Comparison of Fermentation Process in Thai Fermented Pork Sausage (I-San Sausage) on Quality and Safety

Researcher: Assoc.Prof.Dr.Komkhae Pilasombut and Mr.Panupong Doungkhwan

Faculty: of Agricultural Technology

Department: of Animal Production Technology and Fisheries King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

ABSTRACT

The comparison of different fermentation process for I-san sausage was demonstrated in 5 conditions as follow 1) Hang at room temperature for 3 day 2) incubation 37˚C for 3 day 3) vacuum 37˚C for 3 day 4) incubation 37˚C for 2 day with one day hanging at room temperature and 5) vacuum 37˚C for 2 day with one day hanging at room temperature. The pH value, total acidity percentage, weight loss percentage, lactic acid bacteria, coliform/*Escherichia coli* and yeast/mold were analyzed. The results showed that the pH value declined rapidly from 5.97-5.99 to 4.35-5.16 during fermentation for 3 day in all methods. The pH reduction corresponded to an increase in total acidity from 0.35-0.38% to 0.73-1.17%. The lowest pH value and the highest total acidity found in I-san sausage incubation 37˚C for 3 days. The weight loss of fermenting I-san sausage generally decrease as the fermentation time increased. As the fermentation process, I-san sausage hang at room temperature for 3 day had the greatest weight loss (14.93%) but I-san sausage with fermentation condition at incubation 37˚C for 3 day or vacuum 37˚C for 3 day displayed the lowest weight loss value as 3.94 and 3.22%, respectively. The lactic acid bacteria count at day 3 increased in all methods with value between 7.31-7.81 log cfu/g on day 3. The highest population of lactic acid bacteria was found in fermentation condition with 37˚C incubation for 3 days (7.81 log cfu /g). The count of yeast/mold in all methods had no differences ($P>0.05$) on day 1-3 of fermentation with value between. 2.85-3.93 log cfu /g. The coliform decreased on day 1 and displayed low limit of detection. The detection of *Escherichia coli* on day 0-3 of fermentation in all methods was no differences ($P>0.05$) with undetectable level.

Keywords: Thai fermented pork sausage (I-san sausages), fermentation process

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

รายงานวิจัยฉบับนี้ประสบความสำเร็จได้ด้วยดีข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ รศ.ดร.คมแข พิลาสมบัติ หัวหน้าโครงการวิจัยที่ได้กรุณาให้ความรู้ในการทำวิจัย และกรุณาแนะนำแนวทางช่วยชี้แนะให้คำปรึกษาและแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นในระหว่างการทำวิจัยทำให้ข้าพเจ้าสามารถดำเนินงานได้อย่างถูกต้องและแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นได้สำเร็จลุล่วง ตามเป้าหมายที่วางไว้ข้าพเจ้ารู้สึกซาบซึ้งในความอนุเคราะห์จากท่านและขอขอบคุณท่านเป็นอย่างสูง “การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ทุนสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณรายได้ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561 คณะเทคโนโลยีการเกษตร”

ขอขอบคุณที่เพื่อนนักศึกษาปริญญาโทและน้องน้องนักศึกษาปริญญาตรีสาขาวิชาสัตวศาสตร์ทุกคน คุณสุภาพรรณ ศฤงฆาร และบุคคลต่างๆที่เกี่ยวข้องทุกท่านที่ช่วยเหลือในการปฏิบัติงานคอยอำนวยความสะดวกในทุกๆเรื่องและให้กำลังใจเสมอจึงทำให้งานวิจัยฉบับนี้มีความสมบูรณ์

รศ.ดร.คมแข พิลาสมบัติ

นายภานุพงษ์ ดวงขวัญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ข
กิตติกรรมประกาศ ..... ค
สารบัญ ..... ง
สารบัญตาราง ..... ฉ

บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 1
1.3 ขอบเขตของการวิจัย 2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3
2.1 ผลิตภัณฑ์เนื้อแบบหมักเปรี้ยว 3
2.2 ไส้กรอกอีสานหรือไส้กรอกเปรี้ยว 4
2.3 ส่วนผสมที่ทำให้เกิดกระบวนการหมักไส้กรอกอีสาน 4
2.4 ไส้บรรจุ 9
2.5 จุลินทรีย์ที่พบในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสาน 10
2.6 กระบวนการหมักเนื้อหมักเปรี้ยว 11
2.7 มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน-ไส้กรอกอีสาน 12

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 14
3.1 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี 14
3.2 วัสดุ-อุปกรณ์และเครื่องมือ 14
3.3 การเตรียมตัวอย่างผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสาน 15
3.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ 19

บทที่ 4 ผลการวิจัย 20
4.1 การวิเคราะห์ด้านกายภาพและเคมี 20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.1.1 ค่าความเป็นกรด-ด่าง 20
4.1.2 ค่าปริมาณกรดทั้งหมด (%) 20
4.1.3 ค่าสี 21
4.1.4 ค่าความสดใสของสีและค่าองศาของสี 27
4.1.5 ค่าลักษณะเนื้อสัมผัสโดยรวม 27
4.1.6 ค่าการสูญเสียน้ำหนักระหว่างกระบวนการหมัก (%) 28
4.1.7 ค่าความชื้น 29
4.2 การวิเคราะห์ด้านจุลินทรีย์ 36
4.2.1 จำนวนแบคทีเรียแลคติค 36
4.2.2 จำนวนยีสต์และรา 36
4.2.3 จำนวนโคลิฟอร์มและอีโคไล 37

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย 42

บทที่ 6 สรุปผลผลิตงานวิจัย 43

เอกสารอ้างอิง 44

ภาคผนวก 49
ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี 50
ภาคผนวก ข ผลผลิตงานวิจัยที่ตีพิมพ์ 53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

3.1 สูตรการผลิตไส้กรอกอีสาน 4 กิโลกรัม 15
4.1 ค่าความเป็นกรด-ด่างของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานที่มีกระบวนการหมักแตกต่างกัน 23
4.2 ค่าปริมาณกรดทั้งหมดของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานที่มีกระบวนการหมักแตกต่างกัน 24
4.3 ค่าสี (L*, a*, b*) ของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานที่มีกระบวนการหมักแตกต่างกัน 25
4.4 ค่าความสดใส (chroma) และค่าองศาของสี (Hue angle) ของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานที่มีกระบวนการหมักแตกต่างกัน 30
4.5 ค่าลักษณะเนื้อสัมผัสโดยรวมของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานที่มีกระบวนการหมักแตกต่างกัน 31
4.6 ค่าการสูญเสียน้ำหนักระหว่างกระบวนการหมักของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานที่มีกระบวนการหมักแตกต่างกัน 34
4.7 ค่าความชื้นของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานที่มีกระบวนการหมักแตกต่างกัน 35
4.8 จำนวนแบคทีเรียแลคติคของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานที่มีกระบวนการหมักแตกต่างกัน 38
4.9 จำนวนยีสต์และราของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานที่มีกระบวนการหมักแตกต่างกัน 39
4.10 จำนวนโคลิฟอร์มของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานที่มีกระบวนการหมักแตกต่างกัน 40
4.11 จำนวนอีโคไลของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานที่มีกระบวนการหมักแตกต่างกัน 41

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ไส้กรอกอีสานเป็นผลิตภัณฑ์เนื้อหมักที่นิยมรับประทานกันอย่างแพร่หลายทำมาจากเนื้อสุกร ไขมันสุกร ข้าวสุก ปรุงรสด้วยเครื่องปรุง เครื่องเทศและสมุนไพร เช่น น้ำตาลทราย เกลือ กระเทียมบด พริกไทย ลูกผักชี ผสมให้เข้ากัน นวดจนเหนียว บรรจุไส้หมูหรือไส้ชนิดอื่นที่บริโภคได้ มัดเป็นท่อน ผึ่งไว้ในที่สะอาดจนเปรี้ยว และต้องทำให้สุกก่อนรับประทาน เป็นผลิตภัณฑ์เนื้อหมักที่ทำง่ายและได้รับความนิยมในการบริโภค (มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน. 2546) โดยทั่วไปในประเทศไทยการผลิตส่วนใหญ่เป็นการผลิตเองในครัวเรือน (Phromraksa *et al*. 2005; Sriphochanart *et al*. 2011) ซึ่งแบคทีเรียแลกติกที่ปนเปื้อนมาจากวัตถุดิบมีบทบาทสำคัญที่ทำให้เกิดกระบวนการหมักแล้วสร้างกรดทำให้เกิดรสเปรี้ยวในไส้กรอกอีสาน (อัจฉรา เพิ่ม. 2550) สำหรับชนิดที่พบมาก คือ *Lactobacillus plantarum* และ *Pediococcus cerevisiae* (Rantsiou and Cocolin. 2008; Vangpikul and Kansandee. 2014) โดยทั่วไปการผลิตไส้กรอกอีสานจะต้องมีข้าวเป็นส่วนประกอบเพื่อเป็นอาหารของแบคทีเรียกรดแลกติกซึ่งเป็นแบคทีเรียที่มีบทบาทสำคัญในการทำกระบวนการหมัก และควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคที่อาจปนเปื้อนมากับวัตถุดิบ (สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2545; อัจฉรา เพิ่ม. 2550)

การผลิตไส้กรอกอีสานสามารถทำเป็นอาชีพได้เนื่องจากมีผู้ให้ความสนใจเป็นอย่างมาก โดยการผลิตไส้กรอกอีสานส่วนใหญ่จะเป็นอุตสาหกรรมขนาดกลาง และขนาดย่อม กระบวนการหมักไส้กรอกอีสานโดยส่วนใหญ่มักปล่อยให้เกิดการหมักเองตามธรรมชาติโดยไม่มีกระบวนการควบคุมการหมัก ซึ่งการหมักส่วนใหญ่มักทำโดยแขวนไว้ที่อุณหภูมิห้อง และมีสภาวะแวดล้อมที่ไม่คงที่ นอกจากนี้ทำให้ผู้ผลิตบางรายมักประสบปัญหาในกระบวนการผลิตไส้กรอกอีสาน คือ มีคุณภาพไม่สม่ำเสมอทั้งในด้านรสชาติ และเกิดการปนเปื้อน รวมทั้งการเจริญของเชื้อราบนผิวของไส้กรอกเปรี้ยวในระหว่างการหมัก นอกจากจะไม่เป็นที่ยอมรับจากผู้บริโภคแล้วยังส่งผลให้เป็นอันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภค และในปัจจุบันผู้บริโภคมีความใส่ใจกับสุขภาพมากขึ้น จากปัญหาดังกล่าวทางผู้วิจัยจึงหาแนวทางในการปรับปรุงกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานเพื่อให้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพและเกิดความปลอดภัยต่อผู้บริโภคยิ่งขึ้น

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาการเปรียบเทียบกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานต่อคุณภาพและความปลอดภัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

ทำการศึกษาการเปรียบเทียบกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานต่อคุณภาพและความปลอดภัย โดยศึกษากระบวนการหมักที่แตกต่างกัน 5 วิธี ดังนี้ 1) แขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน 2) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน 3) บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน 4) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน และ 5) บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน โดยศึกษาการผลิตไส้กรอกอีสานต่อคุณสมบัติทางด้านกายภาพ เคมี ชีวภาพ และทางประสาทสัมผัส เป็นระยะเวลา 0, 1, 2 และ 3 วัน โดยมีรายละเอียดดังนี้ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ค่าปริมาณกรดทั้งหมด (Total acidity,%) ค่าสี (CIE L*,a* และ b*) ค่าความสดใส (Chroma) ค่าองศาของสี (Hue angle) ค่าการสูญเสียน้ำหนักระหว่างกระบวนการหมัก (weight loss,%) ค่าลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ด้วยรูปแบบ (Texture profile Analysis; TPA) ค่าความชื้น (Moisture content,%) จำนวนแบคทีเรียแลคติก (Lactic acid bacteria) จำนวนยีสต์และรา (Yeast/mold) จำนวนโคลิฟอร์ม และอีโคไลน์ (Coliform/*E. coli*)

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทราบถึงกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานต่อคุณภาพและความปลอดภัย

1.4.2 สามารถนำเสนอผลงานวิจัยและตีพิมพ์ในระดับชาติและนานาชาติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
แนวคิด ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ผลิตภัณฑ์เนื้อแบบหมักเปรี้ยว (Fermented Meat Products)

ผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวเป็นอาหารที่ได้รับนิยมและรับประทานกันอย่างแพร่หลาย โดยการนำเนื้อสัตว์มาทำการหมักเพื่อเป็นการถนอมอาหาร เนื่องจากเนื้อสัตว์เป็นแหล่งอาหารที่อุดมไปด้วยโปรตีน (คมแข พิลาสมบัติ. 2560) โดยทั่วไปผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์หมักจะมีการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารรวมทั้งในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ถือเป็นสิ่งไม่พึงประสงค์ โดยเฉพาะเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย (spoilage microoganism) หรือที่ก่อให้เกิดโรค (pathogenic microoganism) (Yılmaz and Murat Velioglu. 2009) ในทางตรงกันข้ามผลิตภัณฑ์เนื้อแบบหมักเปรี้ยวกลับต้องการให้มีการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เกิดขึ้น เพราะจุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถใช้คาร์โบไฮเดรตโดยเฉพาะน้ำตาลกลูโคสหรือเด็กซ์โตส (glucose or dextrose) ซึ่งเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเป็นแหล่งอาหารเพื่อสร้างเป็นกรดแลคติกเป็นผลให้ได้ผลิตภัณฑ์เนื้อที่มีรสออกเปรี้ยว (tangy) และการเสื่อมสภาพของโปรตีน (protein denaturation) (คมแข พิลาสมบัติ. 2560; Yılmaz and Murat Velioglu. 2009) ในวัตถุดิบโดยเฉพาะเนื้อสัตว์เกิดการทำงานของกรดแลคติกและมีผลทำให้ความชื้นลดลงส่งผลให้ผลิตภัณฑ์มีลักษณะเนื้อสัมผัสเฉพาะตัว นอกจากนี้ปริมาณกรดที่ถูกสร้างขึ้นนี้สามารถช่วยยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่พึงประสงค์ และช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ได้ (Cleveland *et al*. 2001; Rantsiou and Cocolin. 2008; Zakpaa *et al.* 2009)

ในอดีตการผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อแบบหมักเปรี้ยวเกิดขึ้นโดยธรรมชาติโดยภูมิปัญญาของชาวบ้านในแต่ละประเทศมาตั้งแต่สมัยโบราณเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาและนำมาใช้ประโยชน์เพื่อปรับปรุงอาหารทั้งในเนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อหมักให้มีคุณภาพดีขึ้น เช่น ไส้กรอกเปรี้ยว ปลาร้า และแหนม (Zhang *et al.* 2010) จุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในการหมักคือแบคทีเรียแลคติก (LAB; *Lactobacillus*) และ coagulase-negative cocci (CNC; *staphylococcus* และ *Kocuria* spp.) (Rantsiou and Cocolin. 2008; Vangpikul and Kansandee. 2014; Wanangkarn *et al.* 2014) จุลินทรีย์กลุ่มแลคติกนี้เกิดขึ้นโดยธรรมชาติโดยอาจมาจากตัวเนื้อสัตว์เองหรือมาจากอุปกรณ์และสิ่งแวดล้อม ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการผลิตแต่ละครั้งอาจมีรสชาติที่แตกต่างกันไม่คงที่ จึงมีการเก็บเนื้อหมักที่ได้จากการผลิตครั้งก่อน นำไปผสมกับเนื้อและส่วนผสมในการผลิตในครั้งถัดไป (back slopping) เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพเหมือนครั้งก่อนให้มากที่สุด แต่ในปัจจุบันความก้าวหน้าทางการวิจัยจึงมีกระบวนการคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ กลุ่มแลคติกที่ช่วยในการหมักเนื้อนำมาผลิตเป็นเชื้อจุลินทรีย์ตั้งต้น (starter culture) เพื่อใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยว ซึ่งการใช้เชื้อจุลินทรีย์ตั้งต้นจะช่วยให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความคงตัวมากขึ้น สามารถควบคุมกระบวนการหมักได้ดีขึ้น (รุจริน ลิ้มศุภวานิช และ จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2555; Rantsiou and Cocolin. 2008; Kumar *et al.* 2012)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การผลิตในอุตสาหกรรมโดยเฉพาะในต่างประเทศก็มักจะใช้เชื้อจุลินทรีย์ตั้งต้นด้วยเพราะนอกจากจะได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความคงตัวแล้ว ยังเพิ่มความปลอดภัยให้กับผลิตภัณฑ์ในระดับหนึ่ง เนื่องมาจากปริมาณกรดที่ถูกผลิตโดยเชื้อจุลินทรีย์ตั้งต้นนั้น (Yılmaz and Murat Velioglu. 2009) สำหรับเชื้อจุลินทรีย์ตั้งต้นอาจมาจากจุลินทรีย์บริสุทธิ์ประเภทเดียว (pure culture) หรือหลายประเภท (mixed culture) เช่น กลุ่ม *lactobacillus*, *pediococcus cerevisea* หรือ *micrococcus* ในทางการค้าจะมีเชื้อจุลินทรีย์ตั้งต้นจำหน่ายในรูปของเชื้อแช่แข็ง (frozen) หรือแบบแห้ง (freeze-dried) เชื้อจุลินทรีย์ตั้งต้นที่ใช้ต้องเป็นเชื้อที่ไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค สามารถสร้างกรดได้อย่างรวดเร็วเพื่อลดเวลาในการผลิตลง และควรมีความสม่ำเสมอในการสร้างกรดอีกด้วย (รุจริน ลิ้มศุภวานิช และ จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2555)

2.2 ไส้กรอกอีสานหรือไส้กรอกเปรี้ยว (Fermented Pork Sausage)

ไส้กรอกอีสานหรือไส้กรอกเปรี้ยวเป็นอาหารหมักประเภทเนื้อสัตว์มีต้นกำเนิดจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย บางครั้งจึงเรียกไส้กรอกอีสาน ไส้กรอกอีสาน หมายถึง ผลิตภัณฑ์ทำจากเนื้อหมู มันหมู ข้าวสุก ปรุงรสด้วยเครื่องปรุงรส เครื่องเทศ และสมุนไพร เช่น น้ำตาลทราย เกลือ กระเทียมบด พริกไทย ผสมให้เข้ากันดี บรรจุในไส้หมูหรือไส้ชนิดอื่นที่บริโภคได้ มัดเป็นท่อน ผึ่งไว้ในที่สะอาดและแห้งจนเปรี้ยว และต้องทำให้สุกก่อนรับประทาน (มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน. 2546) กระบวนการหมักจะใช้เวลา 3-4 วัน (กานต์ เหมวิหค และสุปรียา ห้องแซง. 2556; Vatanyoopaisarn *et al.* 2011) โดยส่วนประกอบของไส้กรอกอีสานคล้ายคลึงกับแหนม แต่มีข้อแตกต่างเล็กน้อยคือ เนื้อที่ใช้ไม่จำเป็นต้องเอาไขมันออก การผสมเนื้อแดงและไขมันขึ้นอยู่กับราคา ถ้าใช้ไขมันต่ำราคาจะสูงขึ้น อัตราส่วนของเนื้อแดง ต่อไขมัน ตั้งแต่ 80:20 จนถึง 50:50 อาจใช้หมูสามชั้นผสมหนังหมูต้มบดหยาบช่วยให้เกาะตัวและลดต้นทุนหรือหมูสามชั้นผสมเนื้อแดง (ประดิษฐ์ คำหนองไผ่ และคณะ. 2555)

2.3 ส่วนผสมที่ทำให้เกิดการหมักของไส้กรอกอีสาน

ตามประวัติศาสตร์ มนุษย์ได้เรียนรู้ว่าการเติมเกลือและน้ำตาลลงในเนื้อบดและปล่อยไว้ช่วงระยะเวลาหนึ่ง พบว่ามีการถนอมเนื้อสัตว์เกิดขึ้น และได้เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีรสชาติเป็นที่ยอมรับต่อการบริโภค ต่อมาได้มีการพัฒนาวิธีการต่างๆในการถนอมรักษา และได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความแตกต่างกันไปในเรื่องของขนาด รูปร่าง เนื้อสัมผัสและรสชาติ โดยพบว่ารสชาติและเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่แตกต่างกันเป็นผลมาจากปริมาณของเครื่องเทศ น้ำตาลและเกลือที่ใช้ในสูตรการผลิต อย่างไรก็ตามความคงตัวของผลิตภัณฑ์ตลอดจนคุณค่าทางโภชนาการของอาหารเหล่านี้ ขึ้นอยู่กับการควบคุมการเปลี่ยนแปลงน้ำตาลไปเป็นกรดแลคติกโดยแบคทีเรีย ซึ่งมีชื่อเรียกว่า แบคทีเรียกรดแลคติก (lactic acid bacteria) (ปิ่นมณี ขวัญเมือง. 2546) ส่วนผสมหลักที่สำคัญที่ทำให้ไส้กรอกอีสานมีลักษณะพิเศษในด้านกลิ่นรส และเนื้อสัมผัส มีดังนี้ ได้แก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.1 เนื้อสัตว์

เนื้อสัตว์เป็นส่วนผสมเริ่มต้นในการผลิตไส้กรอกหมัก สูตรโดยทั่วไปใช้เนื้อสัตว์ประมาณ 50-70 เปอร์เซ็นต์ เนื้อสัตว์ที่ใช้ในการผลิตอาจเป็นเนื้อสัตว์ชนิดต่างๆ เช่น เนื้อหมู เนื้อไก่ เนื้อหมูนิยมใช้มากในยุโรปตอนเหนือ ยุโรปตอนกลางและประเทศจีน นอกจากนั้นมีบางประเทศที่นิยมใช้เนื้อวัวหรือเนื้อแกะ เนื้อสัตว์ที่นำมาใช้ต้องมีคุณภาพดีและไม่มีรอยตำหนิต่างๆ เช่น ไม่มีรอยปนเปื้อนของเลือดหรือจุดที่มีลักษณะของเลือดคั่ง (blood splashes) สามารถอุ้มน้ำได้ดี มีค่า pH ประมาณ 5.6-6.0 ซึ่งจะช่วยให้การหมักในช่วงแรกได้ค่าพีเอชที่ลดลงจนพอเหมาะและสีที่ได้ไม่คล่ำ ไม่แห้งและมีความแน่น (มัลลิกา ไชยวุฒิ. 2556) เนื้อสัตว์ที่นำมาใช้ในการผลิตควรเป็นเนื้อไม่ติดมัน องค์ประกอบของเนื้อสัตว์โดยทั่วไป มีทั้งสารประกอบที่ไม่ใช่ไนโตรเจน (non-nitrogenous compound) ได้แก่ น้ำ ไขมัน แร่ธาตุ และคาร์โบไฮเดรต สารประกอบที่เป็นไนโตรเจน (nitrogenous compound) ซึ่งมีโปรตีนเป็นส่วนใหญ่ องค์ประกอบของโปรตีนมีความสำคัญในการผลิต เพราะปริมาณโปรตีนเป็นตัวบ่งชี้ถึงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนเป็น myofibrillar ที่มี myosin และ actin อยู่ โปรตีนเหล่านี้จัดเรียงตัวอยู่ในโครงสร้างที่เรียกว่า filament structure และเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการหดตัว (contraction) ในสูตรการผลิตยังมีการเติมเกลือประมาณ 2.5 เปอร์เซ็นต์ โดยประโยชน์ของเกลือ พบว่าช่วยในการสกัดโปรตีนให้ละลายน้ำ ทำให้ผลิตภัณฑ์มีความฉ่ำน้ำและมีเนื้อสัมผัสที่ดี เมื่อพิจารณาถึงสีของเนื้อสัตว์ที่ใช้ในการผลิต สีของเนื้อสัตว์เกิดขึ้นจากเม็ดสี myoglobin ซึ่งมีองค์ประกอบของฮีม สัตว์ที่มีอายุมากจะมีการสะสมของ myoglobin ในกล้ามเนื้อมากกว่าสัตว์ที่มีอายุน้อยจึงทำให้เนื้อสัตว์มีสีเข้ม นอกจากนี้สีของเนื้อสัตว์ยังมีความแตกต่างกันตามชนิดของเนื้อสัตว์ที่ใช้ โดยพบว่าเนื้อวัวมีปริมาณของ myoglobin มากกว่าเนื้อหมูทำให้มีสีเข้มกว่า ดังนั้นเนื้อสัตว์ที่ได้จากสัตว์ที่มีอายุมาก จึงมีความเหมาะสมในการผลิต ซึ่งให้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพสูงและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค (ปิ่นมณี ขวัญเมือง. 2546; Francis. 2000)

2.3.2 ไขมัน

ไขมันเป็นส่วนผสมที่สำคัญของการผลิตไส้กรอกโดยเฉพาะไส้กรอกหมักภายหลังจากการทำแห้ง อาจมีไขมันได้ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ ไขมันเมื่อถูกออกซิไดซ์ทำให้เกิดการเหม็นหืน (rancidity) และทำให้ผลิตภัณฑ์ที่หมักเสร็จแล้วมีอายุการเก็บสั้น ดังนั้นไขมันที่ใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตควรมีองค์ประกอบของไขมันไม่อิ่มตัวต่ำ ไขมันในเนื้อหมูที่บริเวณส่วนหลังนิยมใช้กันมากเพราะมีองค์ประกอบของ poly-unsaturated linoleic ต่ำ และมี linoleic acid 8.5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งยอมให้เกิด auto oxidation ได้สูง (ปิ่นมณี ขวัญเมือง. 2546)

2.3.3 คาร์โบไฮเดรต

คาร์โบไฮเดรตใช้เป็นส่วนผสมของการผลิตเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนให้กับเชื้อจุลินทรีย์ ทั้งนี้เพื่อให้แน่ใจได้ว่า กิจกรรมของแบคทีเรียกรดแลคติกในการหมักเกิดขึ้นอย่างเพียงพอ เป็นการส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียตลอดจนสร้างกรดอินทรีย์ ทั้งชนิดและปริมาณของคาร์โบไฮเดรตที่เติมลงไปทำให้เกิดความสมดุลย์ของการหมักระหว่างการสร้างกรดแลคติก และการลดลงของค่า pH ปริมาณของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คาร์โบไฮเดรตที่เติมลงไปอยู่ในช่วง 0.4-0.8 เปอร์เซ็นต์ การผลิตไส้กรอกกึ่งแห้งในประเทศสหรัฐอเมริกามีการเพิ่มปริมาณกลูโคสสูงถึง 2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพบว่ามีผลทำให้ค่าพีเอชลดลงอย่างรวดเร็ว

เชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกแต่ละชนิดมีความสามารถในการใช้น้ำตาลแต่ละชนิดได้ต่างกัน การศึกษาถึงการใช้น้ำตาลชนิดต่างๆ ในการผลิตแหนม (น้ำตาลกลูโคส ซูโครส มอลโตสแลคโตสและกาแลคโตส) ของเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก พบว่ากลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการสร้างกรดของแบคทีเรียกรดแลคติก นอกจากนั้นยังมีการศึกษาถึงการใช้โมลาสจากถั่วเหลือง (soy molasses) ซึ่งมีซูโครส 19 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิตกรดแลคติก พบว่าได้กรดแลคติกในปริมาณสูง ส่วนการผลิตแหนมที่มีการใช้ส่วนผสมของข้าวเจ้าและข้าวเหนียวเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าอัตราส่วนเท่ากับ 3:1 ให้ผลดีที่สุด ซึ่งการใช้คาร์บอนของแบคทีเรียกรดแลคติก พบว่าแบคทีเรียกรดแลคติกใช้ข้าวเจ้าในช่วงแรกของการหมักเพื่อสร้างกรดแลคติก และใช้ข้าวเหนียวในช่วงกลางของการสร้างกรดแลคติก (ไพโรจน์ วิริยจารี และคณะ. 2536)

2.3.4 เกลือ (Salt)

โดยปกติแล้วการผลิตไส้กรอกหมักใช้เกลือประมาณ 2.5-3.0 เปอร์เซ็นต์ บทบาทที่สำคัญของเกลือ คือช่วยในการถนอมรักษา (preservation) และยังช่วยในการสกัดโปรตีนให้ละลายออกมารวมตัวกับส่วนผสมอื่นๆ การละลายของโปรตีนทำให้เกิดแผ่นฟิล์มที่มีความเหนียว (sticky film) ขึ้นรอบๆ อนุภาคของเนื้อ ในผลิตภัณฑ์บางชนิดอาจใช้เกลือได้มากกว่า 2.5-3.0 เปอร์เซ็นต์ เช่นใน Italian salamis โดยอาจใช้เกลือได้สูงถึง 8 เปอร์เซ็นต์ (ปิ่นมณี ขวัญเมือง. 2546)

2.3.5 ฟอสเฟต (Phosphate)

ฟอสเฟตเป็นสารประกอบที่ใช้เติมในน้ำหมักเนื้อเพื่อวัตถุประสงค์ คือช่วยเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำ (water-binding capacity) ทำให้เนื้อไม่สูญเสียน้ำหนักมากเกินไปขณะร้อน เนื้อมีความนุ่มและชุ่มน้ำเพิ่มขึ้นและมีรสชาติดี บทบาทของสารฟอสเฟตที่มีต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อ คือ

2.3.5.1 การเพิ่มความนุ่ม โดยเป็นตัวทำให้ pH ของเนื้อเพิ่มขึ้นและช่วยให้โปรตีนของกล้ามเนื้อคลายตัว เนื่องจากสารเอคโตไมโอซินแยกออกจากกันเป็นเอคติน และไมโอซิน สารฟอสเฟตที่ใช้ในด้านนี้คือ พวกไพโรฟอสเฟต (pyrophosphate)

2.3.5.2 การเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำ โดยทำให้เส้นใยโปรตีนยืดตัวล้อมรอบโมเลกุลน้ำ พบว่าเกลือของกรดอ่อนให้คุณสมบัติได้ดีในข้อนี้คือโซเดียมฟอสเฟต (sodium phosphate)

2.3.5.3 เพิ่มรสชาติ โดยการทำให้โมเลกุลของเนื้อสานกันเป็นตาข่าย สามารถกันกั้นไม่ให้เลือดและของเหลวในเนื้อไหลออกมา เนื้อจึงมีรสชาติดีขึ้น

2.3.5.4 ช่วยให้โมเลกุลเนื้อยึดเกาะกันดี โดยการดึงโมเลกุลโปรตีนที่ละลายน้ำได้มารวมตัวกันทำให้เนื้อเหนียวและยืดหยุ่นดีขึ้น นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอก

2.3.5.5 ช่วยให้สีคงทน โดยทำหน้าที่ควบคุม pH ให้อยู่ในช่วง pH 6.0 - 6.6 จึงทำให้เนื้อมีสีแดงคงทนดีขึ้น ซึ่งเป็นผลทำให้การใช้ไนไตรท์และกรดแอสคอร์บิคคงตัวเพิ่มมากขึ้น (มัลลิกา ไชยวุฒิ. 2556; พรรณิภา ศิวะพิรุฬห์เทพ และศุภลักษณ์ สรภัคดี. 2560)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การใช้สารประกอบพอสเฟตในผลิตภัณฑ์เนื้อไม่ได้มีวัตถุประสงค์ที่จะใช้เป็นวัตถุกันเสียแต่สารประกอบฟอสเฟตมีคุณสมบัติในการเป็นวัตถุกันเสียได้แต่ประสิทธิภาพจะแตกต่างกันไปตามชนิดของสารประกอบฟอสเฟตที่ใช้และสารเคมีอื่นที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์เช่นเกลือสารประกอบไนไตรท์ความเป็นกรด-ด่างและอื่นๆ สารประกอบฟอสเฟตจะช่วยชลอปฏิกิริยาออกซิเดชั่นที่เกิดจากอนุมูลโลหะแล้วทำให้สี รส และกลิ่นไม่คงตัว เนื่องจากสารประกอบฟอสเฟต สามารถทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับอนุมูลโลหะในเนื้อสัตว์ซึ่งไปมีผลทำให้สี รส และกลิ่นของผลิตภัณฑ์คงตัว สำหรับกลไกของสารประกอบฟอสเฟตในการเป็นวัตถุกันเสียนั้นเนื่องมาจากสารประกอบฟอสเฟตมีคุณสมบัติในการเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับอนุมูลโลหะต่างๆได้ซึ่งจะไปมีผลต่อผนังเซลของจุลินทรีย์ทำให้การผ่านเข้าออกของสารต่างๆจากภายนอกเข้าไปสู่ภายในเซลของจุลินทรีย์เสียไปซึ่งทำให้กิจกรรมต่างๆของจุลินทรีย์สูญเสียไป (ภูธฤทธิ์ รักษาศิริ. 2555)

2.3.6 เกลืออิริโทรเบต (Erythrobate)

อิริโทรเบตที่นิยมใช้ คือ เกลือโซเดียมอิริโทรเบตซึ่งมีผลต่อผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์เช่นช่วยเร่งอัตราการหมักและการเกิดสีแดงในเนื้อสัตว์ให้เร็วขึ้นลดการเกิดสารไนโตรซามีนซึ่งเป็นสารที่ต่อให้เกิดมะเร็งป้องกันการหืนของไขมันป้องกันไม่ให้ผลิตภัณฑ์มีสีซีดจางอย่างรวดเร็วขณะรอจำหน่าย (ภูธฤทธิ์ รักษาศิริ. 2555)

2.3.7 เกลือไนเตรท (Nitrate) และไนไตรท์ (Nitrite)

เกลือไนเตรทและไนไตรท์ช่วยให้เกิดสีชมพูหรือชมพูแดง (reddish pink) ซึ่งมีลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์ ทั้งช่วยให้เกิดกลิ่นรสเฉพาะตัวให้แก่ผลิตภัณฑ์ ไนไตรท์ยังมีบทบาทเป็น antioxidant ช่วยลดการเกิดกลิ่นหืน (oxidative rancidity) ในผลิตภัณฑ์ และสามารถช่วยยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยเฉพาะเชื้อ *Clostridium botulinum* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่เจริญได้ดีในสภาวะไร้อากาศ สามารถสร้างสารพิษที่เป็นอันตรายถึงชีวิต (Botulisum) สำหรับการใช้เกลือไนไตรท์นั้นมักจะมีการใช้ร่วมกับเกลือไนเตรท เพราะไนเตรทมีผลโดยตรงในการสร้างสารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์หรือมีน้อยมาก (สิริพร พงษ์วุฒิประพันธ์. 2553) สำหรับประเทศไทยมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (2546) ระบุว่าโซเดียมไนไทรต์หรือโพแทสเซียมไนไทรต์ (คำนวณเป็นโซเดียมไนไทรต์) ต้องไม่เกิน 125 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม หรือถ้าใช้ในรูปของผงเพรก (เกลือ: เกลือไนไตรท์ ในสัดส่วนร้อยละ 94: 6) ต้องไม่เกิน 2 กรัมต่อเนื้อสัตว์ 1 กิโลกรัม หากใช้เกินกำหนดจะมีโอกาสเสี่ยงต่อปัญหาของการตกค้างในผลิตภัณฑ์ เนื่องจากไนไตรท์ที่ตกค้างจะทำปฏิกิริยากับกลุ่มเอมีน (amines) ในเนื้อสัตว์และการเปลี่ยนสารไนโตรซามีน (nitrosamine) ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็ง (พรรณิภา ศิวะพิรุฬห์เทพ และ ศุภลักษณ์ สรภัคดี. 2560)

2.3.8 กระเทียม (Garlic)

กระเทียมสดประกอบด้วยน้ำมันระเหยง่าย 0.2 เปอร์เซ็นต์ นอกนั้นเป็นอัลลิซิน (allicin) เอนไซม์ โปรตีน ไขมัน วิตามินบี1 วิตามินบี2 กรดอะมิโน แร่ธาตุ และสารอื่นๆ อีกหลายชนิด ในน้ำมันระเหยง่ายประกอบด้วยสารเคมีประเภทสารประกอบของกรดกำมะถันที่เป็นสารหลัก คือ อีลลิซิน diallyl disulphide, dially trisulphide และ allypropyl disulphide อัลลิซินเป็นสารสำคัญที่มีกลิ่น กลิ่นนั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกิดจากปฏิกิริยาของเอนไซม์อัลลิเนส (allinase) เปลี่ยนอะลิอิน (alliin) ให้เป็นอัลลิซิน ความร้อนและด่างทำให้อัลลิซินสลายได้ แต่กรดเจือจางไม่ทำให้อัลลิซินเปลี่ยนแปลงไป (กัลยา ภราไดย. 2548) สารอัลลิซินสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ต่างๆ เช่น เอนไซม์ซัคซินิคดีไฮโดรจีเนส (succinic dehydrogenase) และไตรโอสฟอสเฟตดีไฮโดรจีเนส (triosephosphate dehydrogenase) ซึ่งเอนไซม์ทั้งสองชนิดเกี่ยวข้องกับกระบวนการหายใจของเซลล์จุลินทรีย์ที่เจริญ โดยใช้ออกซิเจนมากกว่าจุลินทรีย์ที่เจริญโดยไม่ใช้ออกซิเจน สำหรับเอนไซม์ที่ถูกทำลายโดยอัลลิซิน ส่วนมากจะมี sulfhydryl group (SH) อยู่ด้วย โดยหมู่ SH สามารถรวมกลุ่มกับหมู่ thiosulfinate ในโครงสร้างของอัลลิซินได้อย่างรวดเร็ว เป็นผลให้กิจกรรมที่เกิดขึ้นโดยเอนไซม์ถูกทำลาย โดยหมู่ SH มีความสำคัญต่อเซลล์เป็นอย่างมาก เนื่องจากเป็นตัวกระตุ้นที่จำเพาะในการเพิ่มจำนวนของเซลล์และจำเป็นสำหรับการเจริญของเซลล์ด้วย (สิริพร พงษ์วุฒิประพันธ์. 2553)

2.3.9 ส่วนผสมอื่นๆ

สารประกอบหลายชนิดนอกเหนือจากที่กล่าวมาข้างต้น ใช้เติมลงในสูตรการผลิตเพื่อช่วยสนับสนุนกระบวนการผลิตและเพิ่มรสชาติของผลิตภัณฑ์ ส่วนผสมอื่นๆในสูตรการผลิต ได้แก่ น้ำ เติมลงเพื่อช่วยให้ส่วนผสมต่างๆ กระจายตัวได้อย่างทั่วถึง ช่วยในการสกัดโปรตีน นอกจากนั้นยังช่วยให้ผลิตภัณฑ์มีความชุ่มฉ่ำและมีเนื้อสัมผัสดี เครื่องเทศ เครื่องปรุงรส เป็นส่วนผสมอีกกลุ่มหนึ่งที่นิยมใช้ ได้แก่ กระเทียม พริกไทย ปาปริกา ไส้กรอกหมักของประเทศจีนหลายชนิดมีการเพิ่มรสชาติด้วยการเติมไวน์ ส่วนสารช่วยเพิ่มรสชาติที่ใช้ในส่วนผสม ได้แก่ ผงชูรส ทั้งนี้เชื่อว่าจะทำให้ผลิตภัณฑ์มีรสชาติที่ดี มีการใช้สารยับยั้งการเกิดออกซิเดชั่น มีการใช้สารยับยั้งเชื้อราเพื่อป้องกันการเจริญของเชื้อราที่ปนเปื้อนในระหว่างการผลิต เพราะอาจทำให้ผลิตภัณฑ์มีรสชาติที่ไม่พึงประสงค์ กลิ่นรสที่เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์ เป็นผลมาจากเนื้อสัตว์ที่ใช้เป็นวัตถุดิบและสารประกอบอื่นๆ ที่เติมลงไปในสูตรการผลิต เช่น คาร์โบไฮเดรต สารที่ช่วยในการถนอมอาหาร เครื่องเทศ สารประกอบอื่นๆที่เกิดจากกิจกรรมของจุลินทรีย์โดยผ่านกระบวนการไกลโคไลซีส การสลายโปรตีน การสลายไขมันและ ลิปิดออกซิเดชั่น โดยกระบวนการเหล่านี้ทำให้เกิดกลิ่นรส เริ่มจากเอนไซม์ในเนื้อสัตว์และจากการหมักของจุลินทรีย์ นอกจากนั้นยังขึ้นกับสภาวะแวดล้อมที่เกี่ยวข้องกับการผลิต ได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ ขนาดของบรรจุภัณฑ์ ขนาดอนุภาคของเนื้อสัตว์ (ปิ่นมณี ขวัญเมือง. 2546) เครื่องเทศที่ใช้ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสาน ประกอบด้วย

2.3.9.1 น้ำตาล (Sugar)

น้ำตาลที่ใส่ลงในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์เพื่อเพิ่มรสชาติความหวานช่วยลดความเค็มทำให้ผลิตภัณฑ์มีรสชาติกลมกล่อมขึ้นช่วยทำให้ผิวหน้าของผลิตภัณฑ์มีสีน้ำตาลทองเนื่องจากการเกิดคาราเมลเมื่อน้ำตาลโดนความร้อนช่วยเร่งการสลายตัวของเกลือไนเตรทให้เป็นไนตริกออกไซด์ช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้

2.3.9.2 พริกไทยขาวป่น

นิยมใส่ในผลิตภัณฑ์เนื้อทุกประเภท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.9.3 ผงชูรส (Monosodiumglntamate)

เป็นสารที่ช่วยดับกลิ่นคาวของอาหารและช่วยเพิ่มรสชาติของอาหารให้กลมกล่อมขึ้น (ภูธฤทธิ์ รักษาศิริ. 2555; พรรณิภา ศิวะพิรุฬห์เทพ และศุภลักษณ์ สรภัคดี. 2560)

2.4 ไส้บรรจุ

ไส้บรรจุไส้กรอกอีสานต้องเป็นไส้ที่สะอาด แห้ง และสามารถป้องกันการปนเปื้อนจากสิ่งสกปรกภายนอกได้ ไส้ที่ใช้บรรจุมี 2 แบบ (มัลลิกา ไชยวุฒิ. 2556)

2.4.1 ไส้ธรรมชาติ (Natural casing)

ไส้ธรรมชาติ หมายถึง ไส้บรรจุที่ได้จากลำไส้และกระเพาะของสุกร โค กระบือ แพะ แกะ ที่มีรูปร่างแน่นอน มีความคงทนตลอดทุกขั้นตอนของการทำผลิตภัณฑ์นั้นๆ ได้ ไส้บรรจุธรรมชาตินี้มีสมบัติที่ปล่อยให้ความชื้นและควันไฟซึมเข้าภายในเนื้อไส้กรอกได้ง่ายมาก และนอกจากนั้นมันยังสามารถหดตัวได้ จึงทำให้ไส้รัดแนบเข้ากับเนื้อได้อย่างสนิท (จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2560)

2.4.2 ไส้เทียม (Artificial casing หรือ Synthetic casing)

ไส้เทียม หมายถึง ไส้ที่ผลิตขึ้นมาจำหน่ายซึ่งไม่ใช่ไส้บรรจุธรรมชาติโดยแบ่งออกได้เป็น 4 ชนิดได้แก่ ไส้บรรจุเซลลูโลส ไส้บรรจุคอลลาเจนที่บริโภคได้และไม่ได้และไส้บรรจุพลาสติก (สุจิตรา เลิศพฤกษ์. 2535; วัฒนี บุญวิทยา. 2542)

ดวงพร คันธโชติ (2536) รายงานว่าส่วนผสมในการทำไส้กรอกอีสานประกอบด้วย (1) เนื้อสัตว์และไขมันซึ่งเนื้อสัตว์ต้องเป็นโปรตีนที่มีคุณภาพสูงเนื่องจากประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย อีกทั้งให้ลักษณะเนื้อสัมผัส เนื่องจากโปรตีนจะจับกันเป็นก้อน ส่วนโปรตีนไมโอโกลบินซึ่งเป็นสีแดงในเนื้อสัตว์จะเป็นตัวให้สีที่สำคัญในการทำไส้กรอก (2) กรดไขมันเป็นตัวที่ทำให้เกิดความนุ่ม ฉ่ำและให้รสชาติ รวมทั้งทำให้ไส้กรอกมีสีดีขึ้น (3) ข้าว เป็นแหล่งคาร์บอนโดยให้จุลินทรีย์ แต่ต้องใช้เวลาในการย่อยสลายรวมทั้งให้คุณค่าทางอาหาร (4) น้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับจุลินทรีย์ (5) ผงชูรส เป็นแหล่งให้ไนโตรเจน (6) เกลือ กระเทียม และพริกไท ส่งผลต่อการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้ออื่นๆไม่ให้เจริญแข่งกับแบคทีเรียแลคติค (7) ไนเตรตและไนไตรท์ ซึ่งจะให้สีกับผลิตภัณฑ์ เนื่องจากการรวมตัวของไมโอโกลบินซึ่งเป็นสารให้สีให้กับในเนื้อกับไนตริกออกไซด์ซึ่งแตกตัวมาจากไนไตรท์เป็น nitrosomyoglobin ซึ่งมีสีแดงเมื่อโดนความร้อนจะเปลี่ยนเป็น nitrosohemochrome ซึ่งเป็นสีแดงอมชมพูน่ารับประทาน อีกทั้งยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *clostridium botulinum* และพวกก่อโรคในตระกูล enterobacteriacaea หลายตัว และสามารถยับยั้งการหืนของไขมันได้ (8) glucono-delta-lactone (GdL) ในการทำไส้กรอกเปรี้ยวมักเติมลงในส่วนผสมด้วย เพื่อลดอัตราการเน่าเสียของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมา โดยเฉพาะในช่วงแรกของการหมัก สาเหตุที่ทำให้ GdL มีคุณสมบัติดังกล่าวเนื่องจากเมื่อ GdL สัมผัสกับน้ำในส่วนผสมจะทำให้กรด gluconic ทำให้ pH ของส่วนผสมค่อยๆลดลง โดยไม่ทำให้เนื้อสัมผัสเสีย เนื่องจากการลดลงของ pH เหมือนกับการเติมกรดอื่นๆ เช่น กรดแลคติค กรดน้ำส้ม เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณิต วิชิตพันธุ์ และลักขณา เหล่าไพบูลย์ (2551) ศึกษาการบรรจุและวิธีการเก็บรักษาไส้กรอกอีสานที่ถูกวิธีตลอดจนการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเคมี กายภาพ และจุลชีววิทยา ที่เกิดขึ้นในระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ การศึกษาผลของอุณหภูมิห้องต่อการเก็บรักษาไส้กรอกอีสาน พบว่า ทั้งไส้กรอกอีสาน และไส้กรอกอีสานทอดเก็บได้ไม่เกิน 1 วัน เนื่องจากลักษณะทางกายภาพเปลี่ยนแปลงไปมาก โดยไส้กรอกอีสานที่ไม่ได้แปรรูปมีปริมารกรดเพิ่มขึ้นจาก 0.36 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนัก) เป็น 0.62 เปอร์เซ็นต์ หลังจากการหมักไว้ 8 วัน และพบจุลินทรีย์ก่อโรคในทางเดินอาหารทุกชนิดโดยเฉพาะ *C. perfringens* ที่ผลิตสารพิษตกค้างในผลิตภัณฑ์ ยกเว้น *S.aureus* ไม่พบจุลินทรีย์ที่ก่อโรคในไส้กรอกอีสาน เมื่อบรรจุไส้กรอกอีสานใส่ถุงแล้วควรทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12-24 ชั่วโมง เพื่อให้ไส้กรอกอีสานผลิตกรดให้มีความเปรี้ยวในระดับหนึ่ง เนื่องจากความเปรี้ยวที่เกิดขึ้นจะทำให้จุลินทรีย์ที่โรคบางชนิดมีจำนวนลดลงและจากการศึกษาผลของอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสต่อการเก็บรักษาไส้กรอกอีสาน พบว่า สามารถเก็บรักษาไส้กรอกอีสาน และไส้กรอกอีสานทอดได้ไม่เกิน 14 และ 28 วัน โดยมีปริมาณกรด 0.39 เปอร์เซ็นต์ และ 14 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

2.5 จุลินทรีย์ที่พบในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสาน

จุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในการหมักไส้กรอกอีสานเพื่อให้เกิดกรดแลคติค (lactic acid fermentaion) โดย lactic acid bacteria ที่มีอยู่ตามธรรมชาติ รสเปรี้ยวจากกรดแลคติค (lactic acid) ที่แบคทีเรียสร้างขึ้นในช่วงแรกของการหมัก เกิดจากเชื้อในกลุ่ม *Lactobacillus* และ *Pediococcus* ได้แก่ *Lactobacillus plantarum* ส่วนจุลินทรีย์ในช่วงระยะหลัง คือแบคทรีเรียในกลุ่ม *Lactobacillus* เช่น *Lactobacillus plantarum* และ *Lactobacillus brevis* ซึ่งแบคทีเรียเหล่านี้มีบทบาทสำคัญในการหมัก (มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน. 2546; Phalakornkule and Tanasupawat. 2006; Wanangkarn *et al.* 2014) ในระแรกของการหมักพบเชื้อ *Pediococcus cerevisiae* ที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37-45 องศาเซลเซียส pH อยู่ในช่วง 4.5-5.6 หรือการหมักระยะต่อมาเนื่องจากอยู่ในสภาพปราศจากอากาศ ทำให้จุลินทรีย์สร้างกรดเพิ่มขึ้น จนเหลือจุลินทรีย์ที่ทนกรดได้ไม่กี่ชนิด เมื่อนำตัวอย่างมาตรวจสอบเชื้อ *Lactobacillus* sp. มาก ในช่วงที่มี pH ประมาณ 5 หรือต่ำกว่านี้ ความชื้นเฉลี่ยร้อยละ 51-74 เปอร์เซ็นต์ (ประดิษฐ์ คำหนองไผ่ และคณะ. 2555)

นอกจากนี้ได้มีรายงานการตรวจพบเชื้อ *Salmonella* sp., *Listeria monocytogenes* และ *Staphylococcus aureus* ในแหนมและไส้กรอกอีสาน (Chokesajjawatee *et al*. 2009; Visessanguan *et al*. 2006) โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อ *Staphylococcus aureus* เป็นเชื้อที่ทนต่อเกลือไนไตร์ สามารถสร้างสารพิษที่ทนความร้อนออกมาในอาหารในระหว่างการเจริญเติบโต (คมแข พิลาสมบัติ. 2550) ในขณะเดียวกันข้อกำหนดของมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (2546) กำหนดว่าไส้กรอกอีสานต้องตรวจไม่พบเชื้อ *Salmonella* sp. และ *Staphylococcus aureus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 กระบวนการหมักเนื้อหมักเปรี้ยว

ในกระบวนการหมักแหนมและไส้กรอกอีสานเกิดจากกิจกรรมของแบคทีเรียแลคติกโดยระยะแรกของการหมักจะมีแบคทีเรียกรดแลคติกเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วโดยเฉพาะสายพันธุ์ที่สร้างกรดได้ดีและเจริญได้ดีในสภาวะที่ไม่มีอากาศหรือมีอากาศน้อย ได้แก่ กลุ่ม homofermentative cocci เช่น *Pediococus cerevisiae*, *P. pentosaceus* และ *P. acidilactici* เติบโตไปพร้อมกับ heterofermentative lactobacilli ได้แก่ *Lactobacillus bravis* และ *Lactobacillus plantarum* เมื่อจุลินทรีย์เกิดการหมักจะทำให้เนื้อหมักมีค่า pH ลดลง สามารถยับยั้งการเจริญและการงอกของสปอร์ของจุลินทรีย์ก่อโรคได้ (วารุณี ประดิษฐ์ศรีกุล. 2545; คมแข พิลาสมบัติ. 2560) ในปี พ.ศ. 2556 คมแข พิลาสมบัติ รายงานว่าพบเชื้อ *Lactobacillus curvatus* ในแหนมโคเนื้อในระหว่างการหมัก แบคทีเรียแลคติกในกลุ่ม homofermentative lactobacilli จะใช้น้ำตาลกลูโคสเปลี่ยนเป็นกรดแลคติก ทำให้ค่าความเป็นกรดในการผลิตแหนมมากขึ้น (ค่า pH ต่ำลง) ขณะเดียวกันกลุ่ม *Pediococus* sp. ซึ่งทนกรดได้น้อยจะเจริญช้าลง ในระยะนี้ ค่า pH ต่ำกว่า 4.5 มีผลทำให้เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคบางชนิด เช่น Coliform, *E.coli* และ *salmonella* spp. ไม่สามารถทนสภาวะความเป็นกรดและตายไปในที่สุด

ในกระบวนการหมักเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกจะส่งผลให้ค่า pH ลดลง ทำให้เนื้อผลิตภัณฑ์เปลี่ยนไปเนื่องจากโปรตีนตกตะกอน ทำให้เกิดรสชาติกรด การเกิดสีแดงของเนื้อของสารประกอบไนโตรโซไมโอโกลบิน (nitrosomyoglobin) (Cleveland *et al.* 2001) นอกจากนี้ยังช่วยทำให้เกิดการย่อยสลายไขมัน (lipolysis) มีบทบาทด้านการทำให้เกิดกลิ่นรวมทั้งแบคทีเรียกรดแลคติคบางตัว สามารถผลิตสารยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดอื่นโดยสารที่ผลิตได้นี้ถือว่ามีความปลอดภัยต่อการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ ที่ไม่พึงประสงค์ เช่น Lactobacillus sake สามารถผลิตสารแบคเทอริโอซิน sakacin A เพื่อยังยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค (คมแข พิลาสมบัติ. 2556) นอกจากนี้มีสารยับยั้งที่สร้างโดยแบคทีเรียแลคติคได้ถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางในการผลิตอาหารหมักของมนุษย์และสัตว์หลายชนิดในแง่ของการถนอมอาหารซึ่งเป็นผลมาจากการสร้างกรดอินทรีย์ ได้แก่กรดแลคติคและอะซิติกที่ทำให้ค่า pH ลดลง และการสร้างสารยับยั้งจุลินทรีย์อื่น เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ไดอะซิทิล และแบคเทอริโอซิน (ศศิวิมล ชื่นอิ่ม อาเหม็ด และ อดิศร เสวตวิวัฒน์. 2555) Kelly *et al.* (1996) อ้างโดย สุมณฑา วัฒนสินธุ์ (2545) รายงานว่าผลิตภัณฑ์เหล่านี้ทำให้เกิดการพัฒนาด้านรสชาติ เนื้อสัมผัสนอกจากนั้นยังมีบทบาทในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่ไม่ต้องการอีกด้วย

Vangpikul and Kansandee (2014) รายงานว่าในการหมักผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์พื้นบ้านของไทย เช่น แหนม ไส้กรอกเปรี้ยว มีกลิ่นและรสชาติจะเปลี่ยนแปลงตามสภาพของวัตถุดิบ สภาวะการบ่ม รวมถึงปัจจัยอื่นๆ ซึ่งจะมีผลต่อผู้บริโภคดังนั้นการพัฒนาผลิตภัณฑ์ให้มีคุณภาพคงที่และเกิดประโยชน์ต่อผู้บริโภคมากที่สุดควรมีการปรับปรุง การใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกในกระบวนการผลิตแทนการใช้แบคทีเรียกรดแลคติกที่มีอยู่ในวัตถุดิบและองค์ประกอบอื่นๆ ในสภาพธรรมชาติ ซึ่งตามปกติเมื่อการตรวจสอบเชื้อในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักจะพบเชื้อ *P. cerevisiae*, *L. plantarum*, *L. brevis* และ *L. leichannii* เป็นส่วนใหญ่ Swetwiwathana *et al.* (2003) ศึกษาการใช้จุลินทรีย์ที่ใช้เป็นหัวเชื้อช่วยให้แหนมมีความปลอดภัยต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การบริโภคและเก็บไว้ได้นานขึ้น แบคทีเรียกรดแลคติกที่เกี่ยวข้องกับการหมักแหนนมที่พบ ได้แก่ *Lactobacillus* sp. และ *Pediococcus* sp. ซึ่งทั้งสองสายพันธุ์ใช้เป็นกล้าเชื้อในทางการค้าของผลิตภัณฑ์เนื้อหมักในต่างประเทศ นอกนั้นบางผลิตภัณฑ์ยังใช้ *Micrococcus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่รีดิวซ์ไนเทรตเป็นไนไทรต์มีผลทำให้สีของผลิตภัณฑ์มีความคงทนยิ่งขึ้น

2.7 มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน - ไส้กรอกอีสาน (มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน. 2546)

มีข้อกำหนดของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานมีดังนี้

2.7.1 บทนิยาม

1) ไส้กรอกอีสาน หมายถึง ผลิตภัณฑ์ทำจากเนื้อหมู มันหมู ข้าวสุก ปรุงรสด้วยเครื่องปรุงรส เครื่องเทศและสมุนไพร เช่น น้ำตาลทราย เกลือ กระเทียมบด พริกไทย ลูกผักชี ผสมให้เข้ากันดี นวดจนเหนียว บรรจุในไส้หมูหรือไส้ชนิดอื่นที่บริโภคได้ มัดเป็นท่อน ผึ่งไว้ในที่สะอาดและแห้งจนเปรี้ยว และต้องทำให้สุกก่อนรับประทาน

2.7.2 คุณลักษณะที่ต้องการ

1) ลักษณะทั่วไป - ในภาชนะบรรจุเดียวกัน ต้องมีรูปทรงเดียวกัน และมีขนาดใกล้ เคียงกัน มีการกระจายตัวของส่วนประกอบที่ใช้อย่างสม่ำเสมอ มีผิวเรียบ ไม่ฉีกขาด

2) สี - ต้องมีสีที่ดีตามธรรมชาติของส่วนประกอบที่ใช้

3) กลิ่นรส - ต้องมีกลิ่นรสที่ดีตามธรรมชาติที่เกิดจากการหมักและของส่วนประกอบที่ใช้ มีรสเปรี้ยวพอเหมาะ ปราศจากกลิ่นอื่นที่ไม่พึงประสงค์ เช่น กลิ่นอับ กลิ่นเหม็น

4) ลักษณะเนื้อ - ต้องนุ่มและไม่ร่วน

5) สิ่งแปลกปลอม - ต้องไม่พบสิ่งแปลกปลอมที่ไม่ใช่ส่วนประกอบที่ใช้ เช่น เส้นผม ขนสัตว์ ดิน ทราย กรวด ชิ้นส่วน หรือสิ่งปฏิกูลจากสัตว์

6) วัตถุเจือปนอาหาร

6.1) ห้ามใช้สีทุกชนิด

6.2) หากมีการใช้วัตถุเจือปนอาหารให้ใช้ได้ตามชนิดและปริมาณที่กำหนดดัง ต่อไปนี้

6.3) โซเดียมไนไทรต์หรือโพแทสเซียมไนไทรต์ (คำนวณเป็นโซเดียมไนไทรต์) ต้องไม่เกิน 125 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม หรือถ้าใช้ในรูปของผงเพรก (เกลือ: เกลือไนไตรท์ ในสัดส่วนร้อยละ 94: 6) ต้องไม่เกิน 2 กรัมต่อเนื้อสัตว์ 1 กิโลกรัม

6.4) ฟอสเฟตในรูปของโมโน- ได- และโพลิของเกลือโซเดียมหรือโพแทส เซียม อย่างใดอย่างหนึ่งหรือรวมกัน (คำนวณเป็น P_2O_5 จากฟอสฟอรัสทั้งหมด) ต้องไม่เกิน 3000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

6.5) โปรตีนต้องไม่น้อยกว่า ร้อยละ 12 โดยน้ำหนักไขมันต้องไม่เกิน ร้อยละ 30 โดยน้ำหนัก

7) การบรรจุ - ให้บรรจุไส้กรอกอีสานในภาชนะบรรจุที่สะอาด แห้ง ผนึกได้เรียบร้อย และสามารถป้องกันการปนเปื้อนจากสิ่งสกปรกภายนอกได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8) โปรตีน - ต้องไม่น้อยกว่าร้อยละ 12 โดยน้ำหนัก

9) ไขมัน - ต้องไม่เกินร้อยละ 30 โดยน้ำหนัก

2.7.3 จุลินทรีย์

1) *Salmonella* spp. ต้องไม่พบในตัวอย่าง 25 กรัม

2) *Staphylococcus aureus* ต้องไม่พบในตัวอย่าง 0.1 กรัม

3) *Escherichia coli* โดยวิธีเอ็มพีเอ็น (MPN) ต้องน้อยกว่า 3 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม

4) ยีสต์และราต้องน้อยกว่า 10 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ และสารเคมี

1) Agar	(Criterion, USA)
2) Chromocult	(Merck, Germany)
3) Malt extract	(Merck, Germany)
4) MRS broth	(Merck, Germany)
5) $CaCO_3$	(Merck, Germany)
6) Kovac's indole reagent	(Merck, Germany)
7) NaCl 85 %	(Merck, Germany)

3.2 วัสดุ – อุปกรณ์ และเครื่องมือ

1) เครื่องบดเนื้อ	(Biro medel 346-3, USA)
2) ตู้อบลมร้อน	(Binder, Model FD 115, Germany)
3) เครื่องชั่งชนิดหยาบ	(Tanita model 1144, Tanita Corporation, Japan)
4) เครื่องชั่งชนิดละเอียด	(Sartorius, Basic, Germany)
5) ตู้เขี่ยเชื้อแบบ Laminar Flow	(Dwyer model merk II, USA)
6) ตู้บ่มเพาะเชื้อจุลินทรีย์	(WTB Binder model BD, Germany)
7) ตู้อบเครื่องแก้ว	(Hot-air oven, Memmert model CM500, Germany)
8) หม้อนึ่งความดันสำหรับฆ่าเชื้อ	(Hirayama model HVE 50, Japan)
9) อ่างควบคุมอุณหภูมิ	(Water Bath, Memmert, Germany)
10) เครื่องผสมสารละลายในหลอดทดลอง	(Vortex Mixer KMC-1300V, Korea)
11) เครื่องตีป่นไฟฟ้า	(Stomacher Bag Mixer 400 model VW, France)
12) ไมโครเวฟ	(Toshiba model ER-G8C, Thailand)
13) เครื่องวัดค่าสีของเนื้อ	(Hunterlab Mini Scan EZ)
14) เครื่อง Homogenizer	(Ultra tarrax, Germany)
15) เครื่อง Centrifuge	(Beckman Coulter model Avanti J-E, USA)
16) เครื่องวัดค่า กรด-ด่าง	(Mettler Toledo medel SG-2, Switzerland)
17) ถุงสุญญากาศชนิด PE หนา	
18) เครื่องแก้วพร้อมอุปกรณ์อื่น ๆ ที่จำเป็น	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 การเตรียมตัวอย่างผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสาน

วัตถุดิบเนื้อสัตว์และส่วนผสมอื่นๆ ที่ใช้ในการผลิตไส้กรอกอีสานตามวิธีการดัดแปลงของจุฑารัตน์ เศรษฐกุล และพรรณิภา ศิวะพิรุฬห์เทพ. (2555) โดยมีส่วนผสมหลักดังตารางที่ 3.1 คือ เนื้อสุกรส่วนสะโพกร้อยละ 50 มันสุกรร้อยละ 35 (วัตถุดิบ เนื้อสุกรและไขมันที่ใช้ศึกษา ซื้อจากบริษัทสยามแม็คโคร จำกัด สาขาศรีนครินทร์ 2) และข้าวสุกร้อยละ 15 (ข้าวหอมมะลิตราฉัตร สีแดง) ซึ่งขั้นตอนการผลิตไส้กรอกอีสานมีลำดับขั้นตอนดังต่อไปนี้โดยนำเนื้อสุกรและมันแข็งสุกรมาบดหยาบ นวดกับผงเพรก เกลือแกงให้เข้ากันแล้ว ผสมมันหมูกับข้าวสุกนวดให้เข้ากันเติมเครื่องปรุงอื่นแล้วนวดผสมให้เข้ากัน บรรจุส่วนผสมลงในไส้สุกรมัดเป็นท่อนๆ โดยศึกษาวิธีการหมักไส้กรอกอีสาน และแบ่งการทดลองออกเป็น 5 กลุ่มการทดลอง ดังนี้

1) แขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน
2) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเ ป็นเวลา 3 วัน
3) บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน
4) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน
5) บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน โดยศึกษากระบวนการหมักไส้กรอกอีสานต่อคุณสมบัติทางด้านกายภาพ เคมี และชีวภาพ เป็นระยะเวลา 0, 1, 2 และ 3 วัน โดยมีรายละเอียดดังนี้

ตารางที่ 3.1 สูตรการผลิตไส้กรอกอีสาน 4 กิโลกรัม

วัตถุดิบ	**ปริมาณ (กรัม)**
สะโพกหมู	2,000
มันหมู	1,400
ข้าวสุก	600
ผงเพรก	60
ฟอสเฟส (K7)	12
อิริโทรเบต	4
น้ำตาลทราย	20
ผงชูรส	10
กระเทียม	200
พริกไท	16

ที่มา : ดัดแปลงจากจุฑารัตน์ เศรษฐกุล และพรรณิภา ศิวะพิรุฬห์เทพ (2555)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. วิเคราะห์คุณสมบัติทางด้านกายภาพ ได้แก่

- ค่าสี (CIE L*a*b*)

สุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานกลุ่มการทดลองละ 3 ชิ้น มาวัดค่าสีด้วยระบบ CIE (L*a*b*) ด้วยเครื่องวัดสี HunterLab Mini Scan EZ 4000L (Hunter Lab Inc, Reston, VA, USA) ซึ่งแต่ละตัวอย่างทดลองจะทำการวัดค่า 3 จุด และแสดงผลเป็นค่า L* (Lightness), a* (Redness), b* (Yellowness) ทำการวัดค่า 3 ครั้ง และบันทึกผล 3 ซ้ำ

- ค่าความสดใส (Chroma) ค่าองศาของสี (Hue angle)

การวิเคราะห์ค่าความสดใส (Chroma) ค่าองศาของสี (Hue angle) ตามวิธีการคำนวณจาก Saricoban *et al.* (2010) โดยนำค่า L* (Lightness), a* (Redness) และ b* (Yellowness) ที่ทำการวัดด้วยเครื่องวัดสี Colorimeter Mini Scan EZ 4000L (Hunter Lab Inc, Reston, VA, USA) นำมาใช้สำหรับคำนวณหาค่าความสดใส (Chroma) (1) และ Hue angle (2) จากสูตร ดังนี้

$$\text{Chroma} = (a^{*2}/b^{*2}) \quad (1)$$

$$\text{Hue angle} = \tan^{-1}(b^*/a^*) \quad (2)$$

- ค่าการสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา (Weight loss, %)

การสูญเสียน้ำหนักระหว่างกระบวนการหมักของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานถูกคำนวณเป็นร้อยละของแต่ละกลุ่มตัวอย่าง โดยชั่งน้ำหนักตัวอย่างผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานก่อนเก็บรักษาเป็นน้ำหนักเริ่มต้น (A) และชั่งน้ำหนักสุดท้ายของกระบวนการหมัก (B) ตามวิธีการของ Nakao *et al.* (1991) ทำการบันทึกผล 3 ซ้ำ คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาได้จากสูตรต่อไปนี้

$$\text{ค่าการสูญเสียน้ำหนัก (ร้อยละ)} = \frac{(A-B) \times 100}{A}$$

- ค่าลักษณะเนื้อสัมผัสโดยรวม (Texture Profile Analysis, TPA)

การประเมินลักษณะเนื้อสัมผัสโดยรวมของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสาน Texture Profile Analysis (TPA) ด้วยเครื่อง Instron model 1011 (Calibration Laboratory, USA) โดยทำการบีบไส้กรอกอีสานที่จะทำการประเมินเป็นแท่งทรงกระบอก ตัดไส้กรอกอีสานขนาด 1×1×1 เซนติเมตร จำนวน 10 ชิ้น ทำการวัดค่าตัวอย่างด้วยหัวหัววัดแบบกด (compression) ขนาดเส้นผ่านศูนย์ กลาง 15.5 เซนติเมตร โหลดเซลล์ที่ใช้ในการวัดค่า 500 นิวตัน โดยกำหนดการวัดค่าของตัวอย่างจะถูกกดลงไปเป็นระยะทางร้อยละ 40 ของความสูงตัวอย่าง แต่ละตัวอย่างทดลองจะทำการวัดค่า 10 ครั้ง บันทึกค่าความแข็ง (hardness, N) ค่าความเหนียวคล้ายยาง (gumminess, N) ค่าความยากในการเคี้ยว (chewiness, Nmm) ค่าความยืดหยุ่น (springiness, ratio) และค่าการเกาะตัวกัน (cohesiveness, ratio)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. วิเคราะห์คุณสมบัติทางด้านเคมี ได้แก่

- ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)

ทำการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสาน ตามวิธีการของAOAC (1984)โดยใช้หัวโพรบทิ่มลงบนผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานโดยตรงด้วยเครื่องวัดค่า pH ด้วยเครื่อง pH meter (Mettler Toledo model SG-2, Switzerland) ทำการวัดค่า 3 ครั้ง และบันทึกผล 3 ซ้ำ

- ค่าปริมาณกรดทั้งหมด (Total acidity)

โดยสุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานที่ทำการหมักเป็นเวลาที่ 0, 1, 2 และ 3 วัน ทำการชั่งน้ำหนักตัวอย่างละ 2 กรัม ใส่น้ำกลั่นปริมาตร 20 มิลลิลิตร นำไปปั่นด้วยเครื่องฮอโมจิไนเซอร์ (Untra tarrax model T25 digital, Germany) จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (Jouan, CR3i, France) ที่ความเร็วรอบ 4,000 รอบต่อวินาที เป็นเวลา 15 นาที นำไปกรองใส่ด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 ใส่ขวดลูกชมพู่ ขนาด 125 มิลลิลิตร นำส่วนใสที่ได้มาไทเตรทด้วย 0.1 N NaOH โดยหยดสารละลายฟีนอฟทาลีนลงไปตัวอย่างละ 3-5 หยด ตามวิธีดัดแปลงจาก Friedrich. (2001) และนำมาคำนวณหาปริมาณกรดทั้งหมดจากสมการ

$$\text{เปอร์เซ็นต์กรดทั้งหมด} = \frac{N \times V \times 90.01 \times 100}{1000 \times \text{น้ำหนักของตัวอย่าง}}$$

N = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน 0.1 N NaOH

V = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน 0.1 N NaOH ที่ใช้

- ค่าความชื้น (Moisture content)

การวัดค่าความชื้นของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานโดยนำตัวอย่างไส้กรอกอีสานตัดเป็นชิ้นเล็กๆปริมาณ 2.7±0.05 กรัม ใส่ลงในถาดฟอยจากนั้นเกลี่ยอาหารให้บางๆแล้วทำการวัดด้วยเครื่องวัดความชื้น (Analyzer, Hobart, USA) ทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ และบันทึกผลค่าที่ได้

3. วิเคราะห์คุณสมบัติทางด้านชีวภาพ ได้แก่

- แบคทีเรียกรดแลคติก

ตรวจวิเคราะห์หาเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกโดยวิธีการที่อ้างอิงจาก AOAC (2006) โดยนำตัวอย่างผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานจำนวน 25±0.01 กรัม ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อใส่ในสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 225 มิลลิลิตร นำตัวอย่างไปตีด้วยเครื่อง Stomacher เป็นเวลา 60 วินาที จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 1:10 จากนั้นเจือจางตัวอย่างให้ได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม (1:100, 1:1000, 1:10000 และ 1:100000 เป็นต้น) ใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลายเจือจาง 0.1 มิลลิลิตร และถ่ายลงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร MRS Agar ที่ระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ ใช้แท่งแก้วรูปสามเหลี่ยมที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วนั้น spread plate technique ที่ผิวหน้าอาหารแล้วคว่ำจานเพาะเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะที่ไม่มีอากาศ จากนั้นนับจำนวนโคโลนีที่มีบริเวณใส (clear zone) รอบๆโคโลนี รายงานผลจำนวนเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกเฉพาะจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนระหว่าง 30 – 300 โคโลนี หน่วยเป็น log cfu/g

- ยีสต์และรา

ตรวจวิเคราะห์หายีสต์ และราโดยวิธีการที่อ้างอิงจาก AOAC (2005) โดยนำตัวอย่างผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานจำนวน 25±0.01 กรัม ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อใส่ในสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 225 มิลลิลิตร นำตัวอย่างไปตีด้วยเครื่อง Stomacher เป็นเวลา 60 วินาที จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 1:10 จากนั้นเจือจางตัวอย่างให้ได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม (1:100, 1:1000, 1:10000 และ 1:100000 เป็นต้น) ใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลายเจือจาง 1 มิลลิลิตร ถ่ายลงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร Malt agar ที่เติมกรดแลกติก 80 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตรจานละ 15-20 มิลลิลิตรโดยวิธี Pour plate technique ที่ระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 วัน จากนั้นนับจำนวนยีสต์และรา รายงานผลจำนวนยีสต์และรา เฉพาะจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนระหว่าง 30-300 โคโลนีหน่วยเป็น log cfu/g

- Coliform และ *E.coli*

ตรวจวิเคราะห์หาเชื้อ Coliform และ *E. coli* โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Chromocult agar โดยวิธีการที่อ้างอิงจาก AOAC (2006) โดยนำตัวอย่างผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานจำนวน 25±0.01กรัม ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อใส่ในสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 225 มิลลิลิตร นำตัวอย่างไปตีด้วยเครื่อง Stomacher เป็นเวลา 60 วินาที จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 1:10 จากนั้นเจือจางตัวอย่างให้ได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม (1:100, 1:1000, 1:10000 และ 1:100000 เป็นต้น) ใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลายเจือจาง 0.1 มิลลิลิตร และถ่ายลงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร Chomocult agar ที่ระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ ใช้แท่งแก้วรูปสามเหลี่ยมที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วนั้น spread plate technique ที่ผิวหน้าอาหารแล้วคว่ำจานเพาะเชื้อ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โคโลนีที่มีสีชมพูแสดงว่าเป็น Coliform Bacteria ส่วนโคโลนีสีม่วงน้ำเงินแสดงว่าเป็นเชื้อ *E. coli* รายงานผลจำนวน Total Coliform Bacteria เฉพาะจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนระหว่าง 30-300 โคโลนีหน่วยเป็น log cfu/g จากนั้นทดสอบเพื่อยืนยันว่าเป็นเชื้อ *E. coli* โดยทำการสุ่มโคโลนีสีม่วงน้ำเงิน เขี่ยลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptophan Broth บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเติมสารละลาย Kovac จำนวน 0.2-0.3 มิลลิลิตร ถ้าให้ผล + จะปรากฏสีแดงที่ส่วนบนของ Tryptophan Broth

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design, RCBD) และวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของข้อมูลโดยใช้ Analysis of Variance (ANOVA) วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SAS (Statistical Analysis Systems Institute, 1998)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัย

4.1 การวิเคราะห์ด้านกายภาพและด้านเคมี

4.1.1 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)

การศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่างของกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานที่แตกต่างกัน 5 วิธี 1) แขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน 2) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเ ป็นเวลา 3 วัน 3) บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน 4) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน และ 5) บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน พบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่าง ณ วันที่ 0 ของทุกกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) มีค่าเท่ากับ 5.97, 5.98, 5.96, 5.99 และ 5.98 ตามลำดับ โดยภายหลังกระบวนการหมักไส้กรอกอีสาน 3 วัน พบว่า กระบวนการหมักไส้กรอกอีสานแบบแขวนที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน มีค่าความเป็นกรด-ด่างสูงสุด (5.16) ในขณะที่กระบวนการหมักที่ 2, 3, 4 และ 5 มีค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงและมีค่าใกล้เคียงกัน (ไม่แตกต่าง) เมื่อสิ้นสุดการหมัก คือ 4.35, 4.47, 4.48 และ 4.56 ($P>0.05$) และกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานแบบบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน มีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำสุด (4.35) แสดงดังตารางที่ 4.1

4.1.2 ค่าปริมาณกรดทั้งหมด (%)

การศึกษาค่าปริมาณกรดทั้งหมดของกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานที่แตกต่างกัน 5 วิธี 1) แขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน 2) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเ ป็นเวลา 3 วัน 3) บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน 4) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน และ 5) บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน พบว่า ค่าปริมาณกรดทั้งหมดมีปริมาณกรดเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการหมัก และ ณ วันที่ 0 ของทุกกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P >0.05$) มีค่าเท่ากับ 0.35, 0.36, 0.35, 0.36 และ 0.38% ตามลำดับ โดยวันที่ 3 ของกระบวนการหมักที่ 3, 4 และ 5 มีค่าเท่ากับ 1.00, 0.96 และ 0.91% ตามลำดับ ($P >0.05$) โดยกระบวนการหมักแบบแขวนที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน มีค่าต่ำสุด คือ 0.73% และกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานแบบบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน มีค่าปริมาณกรดสูงสุด (1.17%) แสดงดังตารางที่ 4.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่างเป็นผลมาจากผลผลิตที่ได้จากกระบวนการหมักไส้กรอกอีสาน คือ กรดอินทรีย์ กรดแลคติค และกรดอะซิติก เพื่อให้เกิดกรดแลคติค (Komperda *et al.* 2004; Bozkurt and Bayram. 2006; Saithong *et al.* 2010) ซึ่งเกิดจากจุลินทรีย์พวกแบคทีเรียแลกติกที่ย่อยวัตถุดิบ คือ ข้าว ซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตหลักในการเปลี่ยนเป็นไพรูเวต (pyruvate) และกรดแลกติก โดยใช้เอนไซม์แลกเตตดีไฮโดรจีเนส (Lactate Dehydrogenase) (ดวงพร คันธโชติ. 2536) สอดคล้องกับกฤษณา ประภัสสรวัฒนา และคณะ (2552) พบว่ากระบวนการหมักไส้กรอกอีสานมีค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงอย่างต่อเนื่องในวันที่ 0, 1 และ 2 มีค่าเท่ากับ 5.95, 4.93 และ 4.67 ตามลำดับ และ Tosukhowong *et al.* (2011) กล่าวว่าในผลิตภัณฑ์แหนมีค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงโดยในวันที่ 3 ของการหมักมีค่าเท่ากับ 4.50 และมีปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นจาก 0.58 เป็น 1.59% นอกจากนี้การศึกษาของ Jindaprasert *et al.* (2014) ที่กล่าวว่าค่าความเป็นกรด-ด่างในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานลดลงจาก 4.81 เป็น 4.22 และสอดคล้องกับปริมาณกรดทั้งหมดที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจาก 0.16 เป็น 0.79% ภายหลังระยะการหมัก 48 ชั่วโมง โดยการลดลงของค่าความเป็นกรดด่างทำให้เปอร์เซ็นต์กรดเพิ่มขึ้นเนื่องจากเกิดการสร้างกรดจากแบคทีเรียแลคติกที่ปนเปื้อนมากับวัตถุดิบ ทำให้มีค่าความเป็นกรดด่างต่ำลงประมาณ 4.4-4.5 มีผลทำให้เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคบางชนิด เช่น Coliform, *E.coli*, *S.aureus* และ *Salmonella* spp. ไม่สามารถทนสภาวะความเป็นกรดและตายไปในที่สุด (สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2545; Chokesajjawatee *et al.* 2009; Holck *et al.* 2017; Loypimai *et al.* 2017) และ Phalakornkule and Tanasupawat (2007) รายงานว่าไส้กรอกหมักที่มีค่าความเป็นกรดต่ำ (pH<4.6) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรค เช่น *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes, Clostridium botulinum* และ *Staphylococcus aureus*

4.1.3 ค่าสี (L*, a*และ b*)

การศึกษาค่าสีของกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานที่แตกต่างกัน 5 วิธี 1) แขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน 2) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเ ป็นเวลา 3 วัน 3) บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน 4) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน และ 5) บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน แสดงดังตารางที่ 4.3 พบว่า ค่าความสว่าง (L*) ของกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานแบบแขวนที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน ลดลงจากวันที่ 0 (62.80 เป็น 46.20) ส่วนกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานวิธีอื่นมีค่าความสว่างมากกว่าและมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกวัน โดยวันที่ 2 ของทุกกระบวนการหมักไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) โดยวันที่ 3 ของกระบวนการหมักที่ 3 มีค่าความสว่างสูงที่สุด (L* = 54.93) นอกจากนี้พบว่ากระบวนการหมักที่ 4 และ 5 มีค่าความสว่างใกล้เคียงกัน (L*= 51.73 และ 48.99) สอดคล้องกับ Loypimai *et al.* (2017) กล่าวว่าไส้กรอกอีสานที่เสริมรำข้าวมีค่าความสว่างลดลงตามระยะเวลาการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าสีแดง (a*) พบว่ากระบวนการหมักไส้กรอกอีสานแบบแขวนที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน มีค่าสูงขึ้นจากวันเริ่มต้น (2.10 เป็น 9.15) ส่วนกระบวนการหมักที่ 2 และ 3 มีค่าสีแดงค่อนข้างคงที่ตลอดระยะเวลาการหมัก ส่วนกระบวนการหมักที่ 4 และ 5 เมื่อนำไส้กรอกอีสานไปแขวนส่งผลให้ค่าสีแดงสูงขึ้น (a*= 6.39 และ 9.63) ซึ่งผลการทดลองเป็นไปในทิศทางเดียวกับการรายงานของคมแข พิลาสมบัติ และ อังคนา ทุมดี. (2558) ที่กล่าวว่าไส้กรอกอีสานที่มีกระบวนการหมักแบบแขวนที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 วัน มีค่าสีแดงลดลงตลอดระยะเวลาการหมัก

ค่าสีเหลือง (b*) พบว่าทุกกระบวนการหมักมีค่าสีเหลืองลดลงตลอดระยะเวลาการหมัก โดยวันที่ 3 ของกระบวนการหมักที่ 1 และ 5 มีค่าสีเหลืองสูงที่สุด (มีค่าใกล้เคียงกัน) เท่ากับ 18.81 และ 18.31 ($P>0.05$) ผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัยของคมแข พิลาสมบัติ และ อังคนา ทุมดี. (2558) ที่ได้รายงานว่าค่าสีเหลืองลดลงตลอดระยะเวลาการหมัก โดยกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานแบบแขวนที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 วัน (16.05 เป็น 13.88) และการหมักแบบบรรจุถุงสุญญากาศเป็นเวลา 4 วัน (11.91 เป็น 6.54) ในกลุ่มควบคุมที่ไม่มีการเติมกรดแลคติคและสารแบคเทอริโอซิน นอกจากนี้ Phromraksa *et al.* (2005) และ Akcan *et al.* (2017) พบว่า ค่าความสว่างของไส้กรอกอีสานมีค่าลดลง ส่วนค่าสีแดงและค่าสีเหลืองค่อนข้างคงที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 ค่าความเป็นกรด-ด่างของไส้กรอกอีสานที่มีกระบวนการหมักที่แตกต่างกัน (Mean ± SD)

กระบวนการหมักไส้กรอกอีสาน	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3
แขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน	5.97±0.05^{a,A,†}	5.83±0.18^{a,A}	5.55±0.18^{b,A}	5.16±0.29^{c,A}
บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน	5.98±0.04^{a,A}	5.66±0.16^{b,A}	4.68±0.03^{c,B}	4.35±0.12^{d,B}
บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน	5.96±0.05^{a,A}	5.74±0.22^{b,A}	4.77±0.10^{c,B}	4.47±0.11^{d,B}
บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน	5.99±0.05^{a,A}	5.73±0.12^{b,A}	4.73±0.07^{c,B}	4.48±0.09^{d,B}
บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน	5.98±0.04^{a,A}	5.78±0.15^{b,A}	4.79±0.04^{c,B}	4.56±0.05^{d,B}

† คือ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่างจำนวน 3 รุ่นการผลิต

^{a,b,c,d} ตัวอักษรที่แตกต่างกันกันในแนวนอนมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

^{A,B} ตัวอักษรที่แตกต่างกันกันในแนวตั้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

ตารางที่ 4.2 ค่าปริมาณกรดทั้งหมดของไส้กรอกอีสานที่มีกระบวนการหมักที่แตกต่างกัน (Mean ± SD)

กระบวนการหมักไส้กรอกอีสาน	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3
แขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน	$0.35\pm0.06^{c,A,\dagger}$	$0.51\pm0.04^{b,B}$	$0.62\pm0.08^{ab,B}$	$0.73\pm0.02^{a,C}$
บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน	$0.36\pm0.05^{d,A}$	$0.59\pm0.07^{c,A}$	$0.87\pm0.09^{b,A}$	$1.17\pm0.12^{a,A}$
บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน	$0.35\pm0.04^{d,A}$	$0.64\pm0.07^{c,A}$	$0.82\pm0.02^{b,A}$	$1.00\pm0.11^{a,B}$
บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน	$0.36\pm0.02^{c,A}$	$0.60\pm0.10^{b,A}$	$0.84\pm0.05^{a,A}$	$0.96\pm0.05^{a,B}$
บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน	$0.38\pm0.11^{c,A}$	$0.60\pm0.07^{b,A}$	$0.81\pm0.06^{a,A}$	$0.91\pm0.04^{a,B}$

† คือ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่างจำนวน 3 รุ่นการผลิต

^{a,b,c,d} ตัวอักษรที่แตกต่างกันกันในแนวนอนมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

^{A,B,C} ตัวอักษรที่แตกต่างกันกันในแนวตั้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

ตารางที่ 4.3 ค่าสี (L*, a* และ b*) ของไส้กรอกอีสานที่มีกระบวนการหมักที่แตกต่างกัน (Mean ± SD)

ค่าความสว่าง Lightness (L*)				
กระบวนการหมักไส้กรอกอีสาน	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3
แขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน	62.80±0.30 ^{a,A,†}	47.25±0.05^{b,B}	47.02±0.83^{b,B}	46.62±0.38^{b,E}
บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน	60.82±0.21^{a,B}	55.37±0.47^{b,A}	51.95±0.75^{c,A}	50.64±0.11^{d,C}
บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน	60.56±0.20^{a,B}	55.43±0.30^{b,A}	52.56±0.03^{c,A}	54.93±0.37^{d,A}
บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน	60.60±0.29^{a,B}	54.94±0.95^{b,A}	52.50±0.08^{c,A}	51.73±0.09^{c,B}
บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน	60.45±0.21^{a,B}	54.68±0.15^{b,A}	52.63±0.16^{c,A}	48.99±0.16^{d,D}
ค่าสีแดง Redness (a*)				
กระบวนการหมักไส้กรอกอีสาน	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3
แขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน	2.10±0.15^{c,B}	7.80±0.59^{b,A}	7.72±0.37^{b,A}	9.15±0.21^{a,A}
บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน	2.32±0.15^{d,AB}	4.64±0.46^{c,B}	5.79±0.30^{b,B}	6.65±0.15^{a,B}
บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน	2.40±0.32^{c,AB}	4.06±0.43^{b,B}	3.98±0.46^{b,C}	5.19±0.21^{a,C}
บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน	2.70±0.18^{c,A}	4.46±0.63^{b,B}	6.50±0.50^{a,B}	6.39±0.78^{a,B}
บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน	2.45±0.35^{d,AB}	4.68±0.25^{c,B}	7.38±0.35^{b,A}	9.63±0.15^{a,A}

† คือ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่างจำนวน 3 รุ่นการผลิต

^{a,b,c,d} ตัวอักษรที่แตกต่างกันกันในแนวนอนมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

^{A,B,C,D,E} ตัวอักษรที่แตกต่างกันกันในแนวตั้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

ตารางที่ 4.3 (ต่อ) ค่าสี (L*, a* และ b*) ของไส้กรอกอีสานที่มีกระบวนการหมักที่แตกต่างกัน (Mean ± SD)

ค่าสีเหลือง Yellowness (b*)				
กระบวนการหมักไส้กรอกอีสาน	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3
แขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน	$11.89\pm0.71^{c,A,\dagger}$	$17.34\pm0.61^{b,A}$	$17.20\pm0.10^{b,A}$	$18.81\pm0.58^{a,A}$
บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน	$11.95\pm0.70^{b,A}$	$13.83\pm0.21^{a,B}$	$12.39\pm0.36^{b,BC}$	$10.97\pm0.42^{c,D}$
บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน	$11.20\pm0.96^{c,A}$	$12.54\pm0.68^{b,C}$	$12.03\pm0.84^{bc,C}$	$13.84\pm0.39^{a,C}$
บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน	$12.13\pm0.10^{c,A}$	$13.80\pm0.19^{b,B}$	$12.86\pm0.08^{c,B}$	$15.68\pm0.68^{a,B}$
บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน	$11.35\pm1.03^{b,A}$	$11.39\pm0.37^{b,D}$	$12.14\pm0.62^{b,BC}$	$18.31\pm0.15^{a,A}$

† คือ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่างจำนวน 3 รุ่นการผลิต

^{a,b,c} ตัวอักษรที่แตกต่างกันกันในแนวนอนมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

^{A,B,C,D} ตัวอักษรที่แตกต่างกันกันในแนวตั้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

4.1.4 ค่าความสดใสของสี (Chroma) และค่าองศาของสี (Hue angle)

การศึกษาค่าความสดใสของสี และค่าองศาของสี ของกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานที่แตกต่างกัน 5 วิธี 1) แขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน 2) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน 3) บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน 4) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน และ 5) บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน พบว่า ค่าความสดใสมีค่าลดลงตามระยะเวลาการหมัก โดยวันที่ 0 ของกระบวนการหมักมีค่าเท่ากับ 2.38, 2.27, 2.17, 2.12 และ 2.16 ตามลำดับ (P>0.05) และวันที่ 3 ของกระบวนการหมักมีค่าเท่ากับ 1.44, 1.29, 1.64, 1.57 และ 1.38 ตามลำดับ โดยกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานแบบบรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน มีค่าสูงสุด (1.64) และเมื่อนำไส้กรอกอีสานไปแขวนเป็นเวลา 1 วัน ของกระบวนการหมักที่ 4 และ 5 ทำให้มีค่าความสดใสของสีเพิ่มขึ้น (P>0.05) มีค่าใกล้เคียงกัน (1.57 และ 1.38) ผลการทดลองสอดคล้องกับการศึกษาของ Bowser *et al.* (2014) ที่กล่าวว่าเมื่อระยะการเก็บรักษานานขึ้นทำให้ไส้กรอกเนื้อแกะมีค่าความสดใสลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษาและสอดคล้องกับการศึกษาของ ธนาภา เชตวัน (2559) ที่กล่าวว่าในผลิตภัณฑ์แหนมเนื้อแม่สุกรปลดระวางกึ่งแห้งมีค่าความสดใสลดลงตามระยะเวลาการหมัก

ส่วนค่าองศาของสี (Hue angle) พบว่า ทุกกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานมีค่าลดลงตามระยะเวลาการหมัก โดยวันที่ 0 ของกระบวนการหมักไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) มีค่าอยู่ในช่วง 77.45-79.91 และวันที่ 3 ของกระบวนการหมักมีค่าเท่ากับ 64.08, 58.70, 69.45, 67.91 และ 62.25 ตามลำดับ โดยกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานแบบบรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน มีค่าองศาของสีสูงสุด (69.45) แสดงดังตารางที่ 4.4 สอดคล้องกับการศึกษาของ Bowser *et al.* (2014) ที่กล่าวว่าค่าองศาของสีของไส้กรอกเนื้อแกะมีค่าลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาโดยมีมุมอยู่ในช่วง 57-64 ซึ่งโทนสีของไส้กรอกเนื้อแกะเปลี่ยนแปลงจากสีเหลืองเป็นสีส้มแดง นอกจากนี้ Loypimai *et al.* (2017) กล่าวว่าไส้กรอกอีสานที่เสริมรำข้าวมีค่าองศาของสีลดลงตามระยะเวลาการหมัก มีค่าอยู่ในช่วง 45-60

4.1.5 ค่าลักษณะเนื้อสัมผัสโดยรวม (Texture profile analysis, TPA)

การศึกษาค่าลักษณะเนื้อสัมผัสโดยรวมของกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานที่แตกต่างกัน 5 วิธี 1) แขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน 2) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน 3) บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน 4) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน และ 5) บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน พบว่า ค่าความแข็ง (Hardness) มีค่าเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการหมัก มีค่าเท่ากับ 11.44, 9.73, 14.01, 16.17 และ 16.03 ตามลำดับ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าความสามารถในการเกาะตัวกัน (Cohesiveness) ของทุกกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานมีค่าคงที่ (P>0.05) มีค่าเท่ากับ 0.43, 0.50, 0.43, 0.49 และ 0.47 ตามลำดับ โดยกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานแบบบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน มีค่าสูงสุด (0.50)

ค่าความเหนียวเป็นกาวหรือยาง (Gumminess) ทุกกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานมีค่าเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการหมักที่เพิ่ม โดยวันที่ 0 ของทุกกระบวนการหมักค่าความเหนียวเป็นกาวหรือยางไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) มีค่าเท่ากับ 2.86, 2.44, 2.75, 2.59 และ 2.91 ตามลำดับ แต่เมื่อระยะเวลาการหมักที่นานขึ้นทำให้มีค่าสูงขึ้น โดยวันที่ 3 ของทุกกระบวนการหมักไส้กรอกอีสาน (P>0.05) มีค่าเท่ากับ 4.84, 4.95, 6.08, 7.79, และ 7.44 ตามลำดับ โดยวิธีการหมักไส้กรอกอีสานที่ 4 และ 5 มีค่าความเหนียวเป็นกาวหรือยางสูงที่สุด เท่ากับ 7.79 และ 7.44 ตามลำดับ

ค่าความยืดหยุ่น (Springiness) ของกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานแต่ละวิธีมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาการหมักโดยวันที่ 3 ของการหมัก มีค่าเท่ากับ 0.56, 0.63, 0.50, 0.55 และ 0.55 ตามลำดับ (P>0.05)

ค่าความยากในการเคี้ยว (Chewiness) ของทุกกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานแต่ละวิธีมีค่าเพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาการหมักที่เพิ่มโดยวันที่ 3 มีค่าเท่ากับ 4.84, 4.95, 6.08, 7.78 และ 7.43 ตามลำดับ (P>0.05) แสดงดังตารางที่ 4.5

4.1.6 ค่าการสูญเสียน้ำหนักระหว่างกระบวนการหมัก (weight loss, %)

การศึกษาค่าการสูญเสียน้ำหนักระหว่างกระบวนการหมักของกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานที่แตกต่างกัน 5 วิธี 1) แขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน 2) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน 3) บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน 4) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน และ 5) บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน แสดงดังตารางที่ 4.6 พบว่า ค่าการสูญเสียน้ำหนักระหว่างกระบวนการหมักของกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานแบบแขวนที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักมากที่สุด คือ 8.20, 11.28 และ 14.93% ตามลำดับ ในวันที่ 1, 2 และ 3 โดยกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานแบบบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน และกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานแบบบรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน มีค่าการสูญเสียน้ำหนักระหว่างกระบวนการหมักน้อยที่สุด คือ 3.94 และ 3.22% (P>0.05) ในขณะที่กระบวนการหมักที่ 4 และ 5 มีค่าการสูญเสียน้ำหนักระหว่างกระบวนการหมักเพิ่มขึ้นเมื่อนำไส้กรอกไปแขวน มีค่าเท่ากับ 8.38 และ 11.90% และมีค่าใกล้เคียงกับกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานแบบแขวนที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน มีค่าเท่ากับ 14.93% จากผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับผลการทดลองของ Visessanguan *et al.* (2005) ที่รายงานว่า เมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้น แหนมมีการสูญเสียน้ำมากขึ้น ซึ่งการสูญเสียน้ำในระหว่างกระบวนการหมักมีสาเหตุมาจากการสลายโปรตีน และการสูญเสียสภาพของโปรตีนในแหนมระหว่างกระบวนการหมัก ซึ่งกลไกดังกล่าวยังไม่เป็นที่แน่ชัด ซึ่งอาจ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรด และค่าความเป็นกรด-ด่าง และ Visessanguan *et al.* (2004) รายงานว่าค่าความเป็นกรด-ด่างที่ต่ำมีผลต่อการย่อยสลายของโปรตีนในเนื้อจึงไม่สามารถอุ้มน้ำไว้ได้เป็นผลทำให้น้ำเยิ้มออกมาเป็นปริมาณมาก

4.1.7 ค่าความชื้น

การศึกษาค่าความชื้นของกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานที่แตกต่างกัน กัน 5 วิธี 1) แขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน 2) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน 3) บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน 4) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน และ 5) บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน แสดงดังตารางที่ 4.7 พบว่า ค่าความชื้นในวันที่ 0 ของทุกกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานค่าใกล้เคียงกัน ($P>0.05$) มีค่าเท่ากับ 50.10, 50.27, 49.89, 50.57 และ 50.59 ตามลำดับ แต่เมื่อระยะเวลาการหมักนานขึ้นทำให้ค่าความชื้นมีค่าลดลงโดยกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานแบบแขวนที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน มีค่าความชื้นต่ำสุด (33.48) ซึ่งใกล้เคียงกับกระบวนการหมักที่ 4 และ 5 มีค่าเท่ากับ 38.82 และ 47.39 โดยกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานแบบบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน และกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานแบบบรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน มีค่าความชื้นสูงสุดคือ 53.36 และ 52.99 ($P>0.05$) สอดคล้องกับการศึกษาของมัลลิกา ไชยวุฒิ (2556) ได้ทำการหมักไส้กรอกอีสานที่ใช้ไส้หมูและไส้คอลลาเจนโดยทำการหมักสภาวะแบบสด (บรรจุถุงสุญญากาศ) และทำการหมักแบบกึ่งแห้ง พบว่าความชื้นของไส้กรอกอีสานอยู่ที่ 50%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 ค่าความสดใสของสี (Chroma) และค่าองศาของสี (Hue angle) ของไส้กรอกอีสานที่มีกระบวนการหมักที่แตกต่างกัน (Mean ± SD)

ค่าความสดใสของสี (Chroma)				
กระบวนการหมักไส้กรอกอีสาน	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3
แขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน	$2.38\pm0.05^{a,A,\dagger}$	$1.49\pm0.03^{b,B}$	$1.50\pm0.03^{b,B}$	$1.44\pm0.01^{b,C}$
บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน	$2.27\pm0.09^{a,AB}$	$1.74\pm0.08^{b,A}$	$1.47\pm0.06^{c,B}$	$1.29\pm0.01^{d,E}$
บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน	$2.17\pm0.05^{a,BC}$	$1.76\pm0.14^{b,A}$	$1.75\pm0.07^{b,A}$	$1.64\pm0.05^{b,A}$
บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน	$2.12\pm0.07^{a,C}$	$1.79\pm0.10^{b,A}$	$1.41\pm0.05^{d,B}$	$1.57\pm0.06^{c,B}$
บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน	$2.16\pm0.06^{a,BC}$	$1.57\pm0.04^{b,B}$	$1.29\pm0.07^{d,C}$	$1.38\pm0.00^{c,D}$
ค่าองศาของสี (Hue angle)				
กระบวนการหมักไส้กรอกอีสาน	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3
แขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน	$79.91\pm0.45^{a,A}$	$65.37\pm0.74^{b,B}$	$65.84\pm0.93^{b,B}$	$64.08\pm0.24^{c,C}$
บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน	$79.01\pm0.96^{a,AB}$	$71.50\pm1.60^{b,A}$	$64.94\pm1.76^{c,B}$	$58.70\pm0.48^{d,E}$
บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน	$77.92\pm0.60^{a,BC}$	$71.97\pm2.71^{b,A}$	$71.72\pm1.14^{b,A}$	$69.45\pm1.13^{b,A}$
บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน	$77.45\pm0.77^{a,BC}$	$72.16\pm2.36^{b,A}$	$63.20\pm1.74^{d,B}$	$67.91\pm1.56^{c,B}$
บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน	$77.86\pm0.69^{a,C}$	$67.56\pm1.10^{b,B}$	$58.56\pm2.62^{d,C}$	$62.25\pm0.16^{c,D}$

† คือ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่างจำนวน 3 รุ่นการผลิต

^{a,b,c,d} ตัวอักษรที่แตกต่างกันกันในแนวนอนมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

^{A,B,C,D,E} ตัวอักษรที่แตกต่างกันกันในแนวตั้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

ตารางที่ 4.5 ค่าลักษณะเนื้อสัมผัสโดยรวมของไส้กรอกอีสานที่มีกระบวนการหมักที่แตกต่างกัน (Mean ± SD)

ค่าความแข็ง (Hardness, N)			
กระบวนการหมักไส้กรอกอีสาน	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3
แขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน	$9.23\pm0.19^{c,A,\dagger}$	$9.69\pm0.32^{b,A}$	$11.44\pm0.22^{a,A}$
บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน	$6.95\pm0.70^{a,A}$	$8.46\pm0.11^{a,AB}$	$9.73\pm2.45^{a,A}$
บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน	$7.39\pm0.17^{b,A}$	$9.36\pm1.58^{b,A}$	$14.01\pm0.47^{a,A}$
บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน	$6.80\pm0.15^{a,A}$	$7.09\pm0.07^{a,B}$	$16.17\pm1.33^{a,A}$
บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน	$6.78\pm0.17^{a,A}$	$8.52\pm1.13^{a,AB}$	$16.03\pm0.82^{a,A}$
ค่าการแกะตัวกัน (Cohesiveness, ratio)			
กระบวนการหมักไส้กรอกอีสาน	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3
แขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน	$0.31\pm0.05^{b,B,\dagger}$	$0.38\pm0.05^{ab,C}$	$0.43\pm0.02^{a,B}$
บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน	$0.35\pm0.01^{b,AB}$	$0.55\pm0.08^{a,A}$	$0.50\pm0.09^{a,A}$
บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน	$0.37\pm0.01^{b,AB}$	$0.51\pm0.07^{a,AB}$	$0.43\pm0.06^{ab,B}$
บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน	$0.39\pm0.01^{a,A}$	$0.47\pm0.09^{a,B}$	$0.47\pm0.03^{a,AB}$
บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน	$0.39\pm0.05^{b,AA}$	$0.47\pm0.07^{a,B}$	$0.45\pm0.04^{a,AB}$

† คือ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่างจำนวน 3 รุ่นการผลิต

^{a,b,c} ตัวอักษรที่แตกต่างกันกันในแนวนอนมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

^{A,B,C} ตัวอักษรที่แตกต่างกันกันในแนวตั้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

ตารางที่ 4.5 (ต่อ) ค่าลักษณะเนื้อสัมผัสโดยรวมของไส้กรอกอีสานที่มีกระบวนการหมักที่แตกต่างกัน (Mean ± SD)

ค่าความเหนียวเป็นกาวหรือยาง (Gumminess, N)			
กระบวนการหมักไส้กรอกอีสาน	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3
แขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน	$2.86\pm0.47^{b,A,\dagger}$	$3.53\pm0.39^{b,B}$	$4.84\pm0.16^{a,A}$
บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน	$2.44\pm0.21^{b,A}$	$4.65\pm0.68^{a,A}$	$4.95\pm1.71^{a,A}$
บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน	$2.75\pm0.06^{b,A}$	$4.83\pm0.90^{a,A}$	$6.08\pm1.09^{a,A}$
บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน	$2.59\pm0.06^{a,A}$	$3.36\pm0.53^{a,B}$	$7.79\pm0.58^{b,A}$
บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน	$2.91\pm0.48^{b,A}$	$4.07\pm0.98^{ab,AB}$	$7.44\pm0.62^{a,A}$
ค่าความยืดหยุ่น (Springiness, ratio)			
กระบวนการหมักไส้กรอกอีสาน	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3
แขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน	$0.38\pm0.05^{b,B}$	$0.41\pm0.03^{b,B}$	$0.56\pm0.11^{a,A}$
บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน	$0.44\pm0.01^{b,AB}$	$0.63\pm0.08^{a,A}$	$0.63\pm0.14^{a,A}$
บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน	$0.44\pm0.01^{b,AB}$	$0.59\pm0.08^{a,A}$	$0.50\pm0.11^{ab,A}$
บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน	$0.43\pm0.03^{b,AB}$	$0.55\pm0.09^{a,A}$	$0.55\pm0.01^{a,A}$
บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน	$0.48\pm0.04^{b,A}$	$0.56\pm0.09^{a,A}$	$0.55\pm0.08^{a,A}$

† คือ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่างจำนวน 3 รุ่นการผลิต

^{a,b} ตัวอักษรที่แตกต่างกันกันในแนวนอนมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

^{A,B} ตัวอักษรที่แตกต่างกันกันในแนวตั้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

ตารางที่ 4.5 (ต่อ) ค่าลักษณะเนื้อสัมผัสโดยรวมของไส้กรอกอีสานที่มีกระบวนการหมักที่แตกต่างกัน (Mean ± SD)

ค่าความยากในการเคี้ยว (Chewiness, Nmm)			
กระบวนการหมักไส้กรอกอีสาน	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3
แขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน	$2.86\pm0.47^{b,A,\dagger}$	$3.53\pm0.39^{b,B}$	$4.84\pm0.17^{a,A}$
บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน	$2.44\pm0.21^{b,A}$	$4.63\pm0.69^{a,A}$	$4.95\pm1.70^{a,A}$
บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน	$2.69\pm0.02^{b,A}$	$4.82\pm0.90^{a,A}$	$6.08\pm1.07^{a,A}$
บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน	$2.57\pm0.09^{a,A}$	$3.37\pm0.53^{a,B}$	$7.78\pm0.56^{a,A}$
บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน	$2.87\pm0.43^{b,A}$	$4.05\pm0.98^{ab,AB}$	$7.43\pm0.64^{a,A}$

† คือ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่างจำนวน 3 รุ่นการผลิต

^{a,b} ตัวอักษรที่แตกต่างกันกันในแนวนอนมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

^{A,B} ตัวอักษรที่แตกต่างกันกันในแนวตั้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

ตารางที่ 4.6 ค่าการสูญเสียน้ำหนักระหว่างกระบวนการหมักของไส้กรอกอีสานที่มีกระบวนการหมักที่แตกต่างกัน (Mean ± SD)

กระบวนการหมักไส้กรอกอีสาน	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3
แขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน	$8.20\pm0.97^{a,A,\dagger}$	$11.28\pm0.41^{b,A}$	$14.93\pm0.51^{c,A}$
บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน	$0.50\pm0.13^{b,B}$	$1.81\pm1.00^{b,B}$	$3.94\pm0.14^{a,D}$
บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน	$1.09\pm0.53^{b,B}$	$3.15\pm0.84^{a,B}$	$3.22\pm0.23^{a,D}$
บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน	$0.71\pm0.16^{b,B}$	$1.15\pm0.26^{b,B}$	$8.38\pm1.61^{a,C}$
บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน	$1.52\pm0.13^{b,B}$	$2.50\pm0.62^{b,B}$	$11.90\pm0.28^{a,B}$

† คือ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่างจำนวน 3 รุ่นการผลิต

^{a,b} ตัวอักษรที่แตกต่างกันกันในแนวนอนมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

^{A,B,C,D} ตัวอักษรที่แตกต่างกันกันในแนวตั้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

ตารางที่ 4.7 ค่าความชื้นของไส้กรอกอีสานที่มีกระบวนการหมักที่แตกต่างกัน (Mean ± SD)

กระบวนการหมักไส้กรอกอีสาน	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3
แขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน	$50.10\pm0.78^{a,AB,\dagger}$	$48.83\pm0.50^{a,B}$	$45.11\pm0.62^{a,B}$	$33.48\pm0.49^{b,C}$
บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน	$50.27\pm0.08^{c,AB}$	$51.42\pm0.41^{bc,A}$	$52.16\pm0.27^{ab,A}$	$53.36\pm0.87^{a,A}$
บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน	$49.89\pm0.82^{d,B}$	$51.08\pm0.16^{bc,A}$	$52.04\pm0.81^{ab,A}$	$52.99\pm0.48^{a,A}$
บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน	$50.57\pm0.08^{a,AB}$	$51.67\pm0.21^{a,A}$	$52.36\pm0.71^{a,A}$	$38.82\pm1.05^{b,BC}$
บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน	$50.79\pm0.30^{a,B}$	$51.50\pm0.56^{a,A}$	$52.66\pm0.74^{a,A}$	$47.39\pm1.01^{b,AB}$

† คือ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่างจำนวน 3 รุ่นการผลิต

^{a,b,c} ตัวอักษรที่แตกต่างกันกันในแนวนอนมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

^{A,B,C} ตัวอักษรที่แตกต่างกันกันในแนวตั้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

4.2 การวิเคราะห์ด้านจุลินทรีย์

4.2.1 จำนวนแบคทีเรียแลคติก

การศึกษาจำนวนแบคทีเรียแลคติกของกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานที่แตกต่างกันกัน 5 วิธี 1) แขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน 2) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน 3) บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน 4) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน และ 5) บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน แสดงดังตารางที่ 4.8 พบว่า จำนวนแบคทีเรียแลคติคในวันที่ 0 ของทุกกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานมีจำนวนแบคทีเรียแลคติกไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) อยู่ระหว่าง 4.16-4.28 log cfu/g จากนั้นเมื่อระยะเวลาผ่านไป ณ วันที่ 1 ของกระบวนการหมัก แสดงให้เห็นว่ามีจำนวนแบคทีเรียแลคติกเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว อย่างน้อย 2 log cfu/g ในกระบวนการหมักแต่ละวิธี และค่อยๆมีอัตราการเพิ่มช้าลงหลังจากวันที่ 2 ของการหมัก และในวันที่ 3 จำนวนแบคทีเรียแลคติกมีค่าใกล้เคียงกันในทุกกระบวนการหมัก (7.31-7.81 log cfu/g) โดยกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานแบบบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน มีจำนวนแบคทีเรียแลคติกสูงสุด 7.81 log cfu/g โดยผลการทดลองนี้สอดคล้องกับผลของค่าความเป็นกรด-ด่างที่ลดลงในระหว่างกระบวนการหมัก (ตารางที่ 4.1) และสอดคล้องกับ Sriphochanart and Skolpap. (2011) ที่กล่าวว่าในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานมีจำนวนแบคทีเรียแลคติคเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการหมักจาก 0-60 ชั่วโมง (4.40 เป็น 8.45 log cfu/g) โดยทั่วไปอาหารหมักหลายชนิดแบคทีเรียแลคติคนั้นมีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการหมัก เนื่องจากกรดแลคติคที่สร้างขึ้นทำให้เกิดสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในผลิตภัณฑ์จึงช่วยชะลอการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์ได้ ทำให้ผลิตภัณฑ์มีกลิ่นเปรี้ยว (Pringsulaka *et al.* 2010)

4.2.2 จำนวนยีสต์และรา

การศึกษาจำนวนยีสต์และราของกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานที่แตกต่างกัน 5 วิธี 1) แขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน 2) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน 3) บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน 4) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน และ 5) บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน แสดงดังตารางที่ 4.9 พบว่าจำนวนยีสต์และราในวันที่ 0 ของทุกกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) มีค่าระหว่าง 2.95-3.05 log cfu/g โดยกระบวนการหมักที่ 1 และ 2 มีจำนวนยีสต์และราเพิ่มขึ้นต่อเนื่องตลอดระยะเวลาการหมัก ($P>0.05$) จาก 3.05 เป็น 3.93 log cfu/g และ 3.03 เป็น 4.15 log cfu/g ในขณะที่กระบวนการหมักที่ 3 มีจำนวนยีสต์และราลดลงจาก 3.01 เป็น 2.85 log cfu/g ในวันที่ 3 ชี้ให้เห็นว่าจำนวนยีสต์และราที่พบในกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานที่ 1 และ 2 มีจำนวนมากกว่าไส้กรอกอีสานที่ทำให้เกิดกระบวนการหมักโดยการบรรจุถุงสุญญากาศ เหตุผลหลัก คือ ยีสต์และราชอบเจริญในสภาวะที่มีออกซิเจน (ผุสดี ตังวัชรินทร์. 2558)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 จำนวนโคลิฟอร์ม และอีโคไล (Coliform and *E. coli*)

การศึกษาจำนวนโคลิฟอร์มและอีโคไลของกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานที่แตกต่างกัน 5 วิธี 1) แขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน 2) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน 3) บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน 4) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน และ 5) บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน พบว่า จำนวนโคลิฟอร์ม (Coliform) ในวันที่ 0 ของกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานแต่ละวิธีมีจำนวนโคลิฟอร์ม อยู่ระหว่าง 3.31-3.42 log cfu/g ($P>0.05$) จากนั้นเมื่อระยะเวลาการหมักผ่านไปวันที่ 1 จะเห็นได้ว่ามีจำนวนลดลงในทุกกระบวนการหมัก ($P>0.05$) และไม่ตรวจพบในวันที่ 2 และ 3 ซึ่งมีจำนวนน้อยกว่า 10 cfu/g ต่ำกว่าระดับที่ตรวจนับได้ แสดงดังตารางที่ 4.10 ส่วนอีโคไล (*E. coli*) ไม่ตรวจพบของทุกกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานตลอดระยะเวลาการหมักซึ่งมีจำนวนต่ำกว่ากำหนดที่สามารถตรวจวัดได้ (10 cfu/g) แสดงดังตารางที่ 4.11โดยกระบวนการหมักไส้กรอกอีสานเกิดจากกิจกรรมของแบคทีเรียแลคติค เมื่อจุลินทรีย์เกิดการหมักจะทำให้เนื้อหมักมีค่าค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง สามารถยับยั้งการเจริญและการงอกของสปอร์ของจุลินทรีย์ก่อโรคได้ (วารุณี ประดิษฐ์ศรีกุล. 2545; Azam *et al.* 2017)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 จำนวนแบคทีเรียแลคติกของไส้กรอกอีสานที่มีกระบวนการหมักที่แตกต่างกัน (log cfu/g) (Mean ± SD)

กระบวนการหมักไส้กรอกอีสาน	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3
แขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน	$4.22\pm0.59^{c,A,\dagger}$	$5.70\pm0.58^{b,A}$	$6.70\pm0.31^{a,B}$	$7.31\pm0.35^{a,B}$
บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน	$4.28\pm0.63^{c,A}$	$6.91\pm0.12^{b,A}$	$7.53\pm0.19^{a,A}$	$7.81\pm0.38^{a,A}$
บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน	$4.17\pm0.50^{c,A}$	$6.36\pm0.96^{b,A}$	$7.12\pm0.47^{a,AB}$	$7.66\pm0.51^{a,AB}$
บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน	$4.18\pm0.51^{c,A}$	$6.83\pm0.59^{b,A}$	$7.22\pm0.39^{ab,A}$	$7.65\pm0.53^{a,AB}$
บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน	$4.16\pm0.48^{c,A}$	$6.47\pm1.10^{b,A}$	$7.40\pm0.69^{a,A}$	$7.59\pm0.45^{a,AB}$

† คือ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่างจำนวน 3 รุ่นการผลิต

^{a,b,c} ตัวอักษรที่แตกต่างกันกันในแนวนอนมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

^{A,B,C} ตัวอักษรที่แตกต่างกันกันในแนวตั้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

ตารางที่ 4.9 จำนวนยีสต์และราของไส้กรอกอีสานที่มีกระบวนการหมักที่แตกต่างกัน (log cfu/g) (Mean ± SD)

กระบวนการหมักไส้กรอกอีสาน	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3
แขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน	3.05±0.41[b,†]	3.45±0.61[ab]	3.88±0.80[a]	3.93±0.81[a]
บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน	3.03±0.49[a]	3.84±1.10[a]	4.05±1.22[a]	4.15±0.96[a]
บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน	3.01±0.51[a]	3.28±1.82[a]	3.31±1.55[a]	2.85±1.48[a]
บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน	3.04±0.49[a]	3.40±1.31[a]	3.74±0.60[a]	3.43±1.29[a]
บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน	2.95±0.57[a]	3.14±0.68[a]	3.51±1.00[a]	2.98±0.67[a]

[†] คือ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่างจำนวน 3 รุ่นการผลิต

[a,b] ตัวอักษรที่แตกต่างกันกันในแนวนอนมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

ตารางที่ 4.10 จำนวนโคลิฟอร์มของไส้กรอกอีสานที่มีกระบวนการหมักที่แตกต่างกัน (Mean ± SD)

กระบวนการหมักไส้กรอกอีสาน	วันที่ 0 (log cfu/g)	วันที่ 1 (log cfu/g)	วันที่ 2 (cfu/g)	วันที่ 3 (cfu/g)
แขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน	3.40±0.77[NS,†,§]	2.55±0.09	<1[‡]	<1
บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน	3.33±0.66	2.90±0.94	<1	<1
บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน	3.31±0.63	2.25±0.66	<1	<1
บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน	3.34±0.72	3.24±1.14	<1	<1
บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน	3.42±0.84	2.38±0.56	<1	<1

[†] คือ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวอย่างจำนวน 3 รุ่นการผลิต

[NS] ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

[§] <1 log cfu/g (ต่ำกว่าระดับที่ตรวจนับได้)

ตารางที่ 4.11 จำนวนอีโคไลของไส้กรอกอีสานที่มีกระบวนการหมักที่แตกต่างกัน (cfu/g) (Mean ± SD)

กระบวนการหมักไส้กรอกอีสาน	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3
แขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน	<1[§]	<1	<1	<1
บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน	<1	<1	<1	<1
บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน	<1	<1	<1	<1
บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน	<1	<1	<1	<1
บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน	<1	<1	<1	<1

[§] <1 log cfu/g (ต่ำกว่าระดับที่ตรวจนับได้)

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัย

ในการผลิตไส้กรอกอีสานการควบคุมสภาวะการหมักเป็นสิ่งจำเป็นต่อการส่งเสริมการหมัก จากการศึกษามีกระบวนการหมัก 5 วิธี 1) แขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน 2) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน 3) บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน 4) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน และ 5) บรรจุถุงสุญญากาศและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และแขวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน พบว่า กระบวนการหมักที่แตกต่างมีผลต่อจำนวนเชื้อจุลินทรีย์และคุณลักษณะต่างๆ ในไส้กรอกอีสาน โดยกระบวนการหมักแบบแขวนที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วันและบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน มีจำนวนยีสต์และราสูงขึ้น ในขณะที่กระบวนการหมักแบบบรรจุถุงสุญญากาศที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน มีจำนวนลดลง โดยค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงสอดคล้องกับจำนวนแบคทีเรียแลคติคและปริมาณกรดที่เพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาการหมักในกระบวนการหมักทุกวิธี ส่วนค่าสี พบว่า ค่าความสว่าง (L*) ลดลง ค่าสีแดง (a*) ค่าสีเหลือง (b*) ค่อนค่างคงที่ ค่าความสดใสของสี (Chroma) และค่าองศาของสี (Hue angle) ลดลง ซึ่งผลดังกล่าวเป็นไปในทางเดียวกันในสภาวะการหมักทั้ง 5 แบบ แต่กระบวนการหมักแบบแขวนที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน มีค่าสีแดงที่สูงขึ้นตลอดระยะเวลาการหมัก ดังนั้นกระบวนการหมักในแต่ละวิธีมีข้อเด่นและข้อด้อยที่แตกต่างกัน ซึ่งกระบวนการหมักที่แนะนำในการผลิตไส้กรอกอีสาน คือ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน และบรรจุถุงสุญญากาศที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน เนื่องจากใช้ระยะเวลาในการหมักที่สั้น และกระบวนการหมักดังกล่าวสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการผลิตไส้กรอกอีสานในระดับอุตสาหกรรมขนาดเล็กหรือผู้ประกอบการรายย่อยต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 6
สรุปผลผลิตที่ได้จากงานวิจัย

ตีพิมพ์งานวิจัยในหัวข้อเรื่อง “Comparison of Fermentation Process in Thai Fermented Pork Sausage (I-San Sausage) on Quality and Safety” ในวารสาร International Journal of Agricultural Technology 2017 Vol. 13(7.3) Available online http://www.ijat-aatsea.com ISSN 1686-9141 (แสดงดังภาคผนวก ข)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กัลยา ภราไดย. 2548. “กระเทียม.” **อนุกรมวิธานพืช ฉบับบราชบัณฑิตยสถาน อักษร ก.** หน้า 100-101.

กานต์ เหมวิหค และสุปรียา ห้องแซง. 2556. **อาหารอีสาน**. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร. แสงแดด.

คณิต วิชิตพันธุ์ และลักขณา เหล่าไพบูลย์. 2551. **การศึกษาวิธีการเก็บรักษาและการบรรจุหม่ำและไส้กรอกอีสานเพื่อขยายเวลาในการเก็บและคงคุณภาพหม่ำและไส้กรอกอีสาน.** ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น.

คมแข พิลาสมบัติ และอังคนา ทุมดี. 2558. การใช้สารแบคเทอริโอซินและกรดแลกติกร่วมกับการบรรจุสุญญากาศเพื่อเพิ่มความปลอดภัยในการผลิตไส้กรอกอีสาน. **รายงานการวิจัย.** คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

คมแข พิลาสมบัติ. 2556. “จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับอาหารหมักเนื้อพื้นเมืองของไทย” ใน **เอกสารการอบรมการแปรรูปเนื้อสัตว์ครั้งที่ 5.** กรุงเทพมหานคร. สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยี การเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

คมแข พิลาสมบัติ. 2560. “ผลิตภัณฑ์เนื้อหมักเปรี้ยวของไทยและจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้อง”. หน้า 94. ใน **เอกสารการอบรมการสร้างมูลค่าเพิ่มเนื้อสุกร.** กรุงเทพมหานคร. คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

คมแข พิลาสมบัติ. 2550. **จุลินทรีย์เนื้อสัตว์.** เอกสารประกอบการสอน. ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

จุฑารัตน์ เศรษฐกุล และพรรณิภา ศิวะพิรุฬห์เทพ. 2555. “การผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ชนิดอื่นๆ” ใน **เอกสารประกอบการอบรมการแปรรูปเนื้อสัตว์ครั้งที่ 4.** กรุงเทพมหานคร. ศูนย์เครือข่ายการวิจัยเทคโนโลยีเนื้อสัตว์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2560. “ไส้บรรจุ”. หน้า 88. ใน **เอกสารการอบรมการสร้างมูลค่าเพิ่มเนื้อสุกร.** กรุงเทพมหานคร. คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ดวงพร คันธโชติ. 2536. **การเปรียบเทียบวิธีการผลิตไส้กรอกอีสานด้วยวิธีธรรมชาติและการเติมสารเร่งการหมัก.** รายงานการวิจัย. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. สงขลา.

ประดิษฐ์ คำหนองไผ่, สุภาพร ร่มโพธิ์ไทร และ จิระเดช มณีรัตน์. 2555. **แนวทางใหม่ในการลดปริมาณมันหมูแข็งในไส้กรอกเปรี้ยว.** รายงานการวิจัย. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี. ปทุมธานี.

ปิ่นมณี ขวัญเมือง. 2546. **“การแยกเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติคจากตัวอย่างแหนมของประเทศไทยเพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อ.”** วิทยานิพนธ์ปริญญาเอก มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผุสดี ตังวัชรินทร์. 2558. **จุลินทรีย์ในเนื้อและผลิตภัณฑ์.** พิมพ์ครั้งที่ 1 กรุงเทพมหานคร : ห้างหุ้นส่วนจำกัด มีน เซอร์วิส ซัพพลาย.

พรรณิภา ศิวะพิรุฬห์เทพ และ ศุภลักษณ์ สรภัคดี. 2560. “ส่วนผสมและวัตถุเจือปนอาหารที่ใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์.” หน้า 68-71 ใน **เอกสารการอบรมการสร้างมูลค่าเพิ่มเนื้อสุกร.** กรุงเทพมหานคร. คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ไพโรจน์ วิรยจารี, ลักษณา รุจนะไกรกานต์ และ ปานจิตต์ คุญชะวลี. 2536. การผลิตแหนมโดยใช้เทคโนโลยีกล้าเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นผสม: ผลของข้าวเจ้าและข้าวเหนียวต่อการผลิตกรดแลคติคในผลิตภัณฑ์. **วารสารเกษตร.** 9(1): 61-74.

ภูธฤทธิ์ รักษาศิริ. 2555. “ผลิตภัณฑ์เพิ่มมูลค่าจากเนื้อสัตว์”. หน้า 23-26. ใน **โครงการการเพิ่มศักยภาพทางด้านทักษะการแปรรูปผลิตภัณฑ์จากสัตว์เพื่อการพัฒนาทางด้านวิชาการไปสู่การพัฒนาเชิงพาณิชย์.** คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตรมหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตสารสนเทศเพชรบุรี.

มัลลิกา ไชยวุฒิ. 2556. **“ผลของส่วนผสมในการผลิตไส้กรอกอีสานและการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลกติคที่ผลิตแบคเทอริโอซิน *Lactobacillus plantarum* RS49 ต่อ *Salmonella* Anatum ในระหว่างการหมัก”.** วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาสุขาภิบาลอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพมหานคร.

มัลลิกา ไชยวุฒิ กิตติชัย บรรจง จุฑารัตน์ เศรษฐกุล และ อดิศร เสวตวิวัฒน์. 2554. “ผลของการหมักต่อคุณภาพและการยอมรับของไส้กรอกอีสานจากเนื้อโคพื้นเมืองไทยที่หมักในไส้หมูและไส้คอลลาเจน.” **วารสารเกษตรพระจอมเกล้า.** 29 (3-2): 18-27.

เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์. 2536. การแปรรูปและผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์. เทคโนโลยีเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์. สหมิตรออฟเซต. กรุงเทพมหานคร.

รุจริน ลิ้มศุภวานิช และ จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2555. **ผลิตภัณฑ์เนื้อประเภทต่าง ๆ.** [Online]. Available:http://extension.dld.go.th/th1/index.php?option=com_content&view=article&Id=219:2012-03-12-08-54-01&catid=49:2012-03-05-10-24-38&Itemid=40. [สืบค้นวันที่ 8 กันยายน 2559].

วารุณี ประดิษฐ์ศรีกลุ. 2545. **เทคโนโลยีการหมักดอง.** คณะวิชาเทคโนโลยีการอาหาร วิทยาเขตพระนครศรีอยธุยาหนัตรา สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล. พระนครศรีอยธุยา.

ศศิวิมล ชื่นอิ่ม อาเหม็ด และ อดิศร เสวตวิวัฒน์. 2555. การใช้ประโยชน์และการตรวจหาแบคทีเรียแลคติคในอาหาร. **วารสารเกษตรพระจอมเกล้า**. 23(1): 88-101.

มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน. 2546. **ไส้กรอกอีสานหมู.** กรุงเทพมหานคร. สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. กระทรวงอุตสาหกรรม.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน. 2555. **ไส้กรอกอีสานหมู.** กรุงเทพมหานคร. สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. กระทรวงอุตสาหกรรม.

สิริพร พงษ์วุฒิประพันธ์. 2553. **ผลของเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ต่อคุณภาพแหนมที่ผลิตจากเนื้อจากเนื้อโคไทย.** วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาสุขาภิบาลอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพมหานคร.

สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2545. **จุลชีววิทยาทางอาหาร.** กรุงเทพมหานคร. โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

ธนาภา เชตวัน. 2559. **ผลของกลีเซอรอลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์แหนมเนื้อแม่สุกรปลดระวางกึ่งแห้ง.** วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพมหานคร.

กฤษณา ประภัสสรวัฒนา, สาวิตรี วทัญญูไพศาล และจันทร์พร ผลากรกุล. 2552. การใช้แบคทีเรียกรดแลกติกที่สร้างสารแบคเทอริโอซินเป็นหัวเชื้อในการทำไส้กรอกเปรี้ยว. ใน**การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47. 17-20 มีนาคม 2552**. หน้า 516-523. กรุงเทพฯ.

Akcan, T., Mario, E.E. and Serdaroglu, M. 2017. "Antioxidant protection of cooked meatballs during frozen storage by whey protein edible films with phytochemicals from *Laurus nobilis L.* and *Salvia officinalis*." **Food Sci. Tech.** 77:323-331.

AOAC. 2005. AOAC Official Methods of Analysis. **Association of Official Analytical Chemists. Assoccal Chemistry.** 18th Ed. Maryland, USA: AOAC international.

AOAC. 2006. AOAC Official Methods: Chapter 17. In Horwitz, W. and Latimer, G.W. **Official methods of analysis of AOAC international.** Maryland: AOAC international.

AOAC. 1984. AOAC Official Methods of Analysis. **Association of Official Analytical Chemists. AOAC international.** 14th Ed. Wasington DC: AOAC international.

Bozkurt, H. and Bayram, M. 2006. Color and textural attributes of sucuk during ripening. **Meat Sci.** 73(2): 344-350.

Chokesajjawatee, N., Pornaem, S., Zo, Y.G., Kamdee, S., Luxananil, P., Wanasen, S., Valyasevi, R. 2009. Incidence of *Staphylococcus aureus* and associated risk factors in Nham, a Thai fermented pork product. **Food Microbiol.** 26(5): 547-551.

Cleveland, J., Montville, T.J., Nes, I.F. and Chikindas, M.L. 2001. "Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation." **Int. J. Food Microbiol.** 71: 1-20.

Cleveland, J., Montville, T.J., Nes, I.F. and Chikindas, M.L. 2001. "Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation." **Int. J. Food Microbiol.** 71: 1-20.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Friedrich, J.E. 2001. **"Tritratable Activity of Acid Tastants."** Current Protocols in Food Analytical Chemistry. John Wiley and sons, Tnc, Cargill Incorporated Minneapolis, Minesota.

Holck, A., Axelsson, L., McLeod, A., Mari Rode, T. and Heir E. 2017. Health and Safety Considerations of Fermented Sausages. Journal of Food Quality. Article ID 9753894.

Komprda, T., Smelá, D., Pechová, P., Kalhotka, L., Štencl, J. and Klejdus, B. 2004. Effect of starter culture, spice mix and storage time and temperature on biogenic amine content of dry fermented sausages. **Meat Sci.** 67(4): 607-616.

Kumar, R.S., Kanmani, P., Yuvaraj, N., Paari, K. A., Pattukumar, V.and A rul, V. 2005. "Traditional Indian fermented foods: a rich source of lactic acid bacteria" **In. J. Food Sci. Nutri.** Early Online: 1-14.

Loypimai, P., Moongngarm, A. and Naksawat, S. 2017. Application of natural colorant from black rice bran for fermented Thai pork sausage–Sai Krok Isan. **Int. Food Res. J.** 24(4): 1529-1537.

Meilgaard, M., Civille, G.V. and Carr, B.T. 1987. **Sensory evaluation techniques.** Florida. CRC Press.

Nakao, Y., Konno, A., Taguchi, T., Tawada, T., Kasai, H., Toda, J. and Terasaki, M. 1991. "Curdlan: Properties and application to foods." **J.Food Sci.** 56: 769–772.

Okater, O., and Liu, R. H. 2010. "Health benefits of whole grain phytochemicals." **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.** 50(3): 193-208.

Phalakornkule, C. and Tanasupawat, S. 2006. "Characterization of lactic acid bacteria from traditional Thai fermented sausages." **J.Cult. Coll.** 5: 46-56.

Phromraksa, P., Wiriyacharee, P., Rujanakraikarn, L. and Pathomrungsiyungkul, P. 2005. "Optimizing formulation and fermentation time of Thai fermented pork sausage (Sai Krok Prew) using starter cultures." **CMU Journal.** 3(2): 133-145.

Phromraksa, P., Wiriyacharee, P., Rujanakraikarn, L. and Pathomrungsiyungkul, P. 2005. "Using Potasium Sorbate and Vaccuum Packageing to Extend Shelf Life of Thai Fermented Pork Sausages (Sai Krok Prew)." **CMU Journal.** 4(1): 27-38.

Rantsiou, K. and Cocolin, L. 2008. "Fermented meat products." 91-118 pp. In Cocolin, L. and Ercolini, D. (ed.). **Molecular techniques in the microbial ecology of fermented foods.** Italy. Springer New York.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Saithong, P., Panthavee, W., Boonyaratanakornkit, M. and Sikkhamondhol, C. 2010. Use of a starter culture of lactic acid bacteria in plaa-som, a Thai fermented fish. **J. Biosci. Bioeng.** 110(5): 553-557.

Saricoban, C. and Yilmaz, M.T. 2010. "Modelling the effects of processing factors on the changes in colour parameters of cooked meatballs using response surface methodology." **World Appl. Sci. J.** 9 (1): 14-22.

Swetwiwathana, A., Zendo, T., Lotong, N., Nakayama, J. and Sonomoto, K. 2003. **Screening of Bacteriocin-producing Bacteria Associated in Nham (Traditional Thai Fermented Meat).** The 49th International Congress of Meat Science and Technology (ICoMST) Proceedings. pp. 322 - 324. August 31– September 5, 2003. Sao Paulo, Brazil.

Vangpikul, S. and Kansandee, W. 2014. "Screening of lactic acid bacteria from Nham het for production of Nham het adding prebiotics." Research and Development Institute, Rajamangala University of Technology Suvarnabhumi. Nonthaburi.

Vatanyoopaisarn, S., Prapatsornwattana, K., Kuhakongkeat, T. and Phalakornkule, C. 2011. "Potential use of lactic acid bacteria with bacteriocin-like activity against *Staphylococcus aureus* as dual starter cultures in Thai fermented sausage "Sai Krok Prew"." **Int. Food. Rese. J.** 18: 697-704

Visessanguan, W., Benjakul, S., Riebroy, S. and Thepkasikul, P. 2004. Changes in composition and functional properties of proteins and their contributions to Nham characteristics. **Meat Sci.** 66(3): 579-588

Visessanguan, W., Benjakul, S., Smitinonta, T., Kittikuna, C., Thepkasikula, P. and Panya, A. 2006. "Changes in microbiological, biochemical and physico-chemical properties of Nham inoculated with different inoculums levels of *Lactobacillus curvatus*." **LWT**. 39: 814-826.

Wanangkarn, A., Liu, D.C., Swetwiwathana, A., Jindaprasert, A., Phraephaisarn, C., Chumnqoen, W. and Tan, F.J. 2014. "Lactic acid bacterial population dynamics during fermentation and storage of Thai fermented sausage according to restriction fragment length polymorphism analysis." **Int. J. Food. Microbiol.** 186: 61–67.

Yilmaz, I. and Murat Velioglu., H. 2009. **Fermented meat products.** Trivandrum: Keraia India.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Zakpaa, H.D., Lmbeah, C.M. and Mensah, M.E.E. 2009. "Microbial characterization of fermented meat products on some selected markets in the Kumasi metropolis, Ghana." **AFR. J. Food Sci.** 3(1): 340-346.

Zhang, W., Xiao, S., Samaraweera, H. Lee, E.J. and Ahn, D. 2010. "Improving functional value of meat products." **Meat Sci.** 86: 15-31.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
การเตรียมสารคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

ก1. สารละลายเกลือแกงร้อยละ 0.85 ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

SodiumChloride	8.5 กรัม

ละลายส่วนผสมในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปทำให้ปลอดจุลินทรีย์ด้วยเครื่องฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

ก2. MRS agar ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

MRS	52.2 กรัม
Agar	15 กรัม
CaCO3	5 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมในน้ำกลั่นให้เข้ากันจากนั้นนำไปทำให้ปลอดจุลินทรีย์ด้วยเครื่องฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

ก3. สารละลาย Kovac's Indole Reagent

Amylose iso-amylalcohol	150 มิลลิลิตร
P-Dimethyl aminobenzaldehyde	10 กรัม
Conc. HCl	50 มิลลิลิตร

ละลาย Aldehyde ลงใน Alcohol แล้วค่อยๆ เติมกรดลงไปเก็บในขวดสีชาเก็บในตู้เย็น

ก4. สารละลายเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 70

95% ethanol	737 มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	233 มิลลิลิตร

สารละลายเอทานอลผสมกับน้ำกลั่นและเขย่าให้เข้ากัน เก้บในขวดสีชาปิดฝาสนิท

ก5. Chromocult agar ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

Chromocult agar	26.5 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

เตรียมอาหาร chromocult agar โดยการนำอาหารมาผสมกับน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วจากนั้นนำอาหารไปผ่านความร้อนให้สารละลายละลาย โดยห้ามนำไปฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที เพราะจะทำให้ประสิทธิภาพของอาหารเปลี่ยนแปลงไป

ก6. Malt agar ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

Malt agar	30 กรัม
Agar	15 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมในน้ำกลั่นให้เข้ากันจากนั้นนำไปทำให้ปลอดจุลินทรีย์ด้วยเครื่องฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

ก7.การวัดสีระบบ CIE

โดยกำหนดให้ L* เป็นค่าความสว่าง (Lightness) มีค่าอยู่ระหว่าง 0-100

L* = 0 สีจะเป็นไปในทิศทางมืดเป็นสีดำ

L* = 100 สีจะเป็นไปในทิศทางสว่างเป็นสีขาว

a* ใช้กำหนดความเป็นสีแดงหรือสีเขียว

a* เป็น + สีจะเป็นไปในทิศทางสีแดง

a* เป็น – สีจะเป็ นไปในทิศทางสีเขียว

b* ใช้กำหนดความเป็นสีเหลืองหรือสีน้ำเงิน

b* เป็น + สีจะเป็นไปในทิศทางสีเหลือง

b* เป็น – สีจะเป็นไปในทิศทางสีน้ำเงิน

Chroma ค่าแสดงความบริสุทธิ์ของสี

ถ้าความสดใสของสีเข้าใกล้ 0 หมายถึง ผลิตภัณฑ์มีสีซีดจาง (เทา) และถ้าเข้าใกล้ 60 หมายถึง ผลิตภัณฑ์มีสีเข้ม

Hue angle เป็นตัวเลขที่ระบุตำแหน่งของสี มีหน่วยเป็นองศาเซลเซียส

ถ้า Hue angle = 0 องศาเซลเซียส แสดงว่าเป็นสีแดง

Hue angle = 90 องศาเซลเซียส แสดงว่าเป็นสีเหลือง

Hue angle = 180 องศาเซลเซียส แสดงว่าเป็นสีเขียว

Hue angle = 270 องศาเซลเซียส แสดงว่าเป็นสีน้ำเงิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
ผลผลิตงานวิจัยที่ตีพิมพ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

International Journal of Agricultural Technology 2017 Vol. 13(7.3): 2205-2217
Available online http://www.ijat-aatsea.com
ISSN 1686-9141

Comparison of Fermentation Process in Thai Fermented Pork Sausage (I-San Sausage) on Quality and Safety

Panupong Doungkhwan[1], Piyada Tavitchasri[2], Chamroon Laosinwattana[3], Nualphan Ngamyeesoon[3] and Komkhae Pilasombut[1*]

[1]Department of Animal Production Technology and Fisheries, Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand; [2]Department of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Prince of Chumphon Campus, Chumphon province, Chumphon 86160, Thailand; [3]Department of Plant Production Technology, Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand.

Doungkhwan, P., Tavitchasri, P., Laosinwattana, C., Ngamyeesoon, N. and Pilasombut, K. (2017). Comparison of Fermentation Process in Thai Fermented Pork Sausage (I-San Sausage) on Quality and Safety. International Journal of Agricultural Technology 13(7.3): 2205-2217.

The comparison of different fermentation process for I-san sausage was demonstrated in 5 conditions as follow 1) Hang at room temperature for 3 day 2) incubation 37˚C for 3 day 3) vacuum 37˚C for 3 day 4) incubation 37˚C for 2 day with one day hanging at room temperature and 5) vacuum 37˚C for 2 day with one day hanging at room temperature. The pH value, total acidity percentage, weight loss percentage, lactic acid bacteria, coliform/*Escherichia coli* and yeast/mold were analyzed. The results showed that the pH value declined rapidly from 5.97-5.99 to 4.35-5.16 during fermentation for 3 day in all methods. The pH reduction corresponded to an increase in total acidity from 0.35-0.38% to 0.73-1.17%. The lowest pH value and the highest total acidity found in I-san sausage incubation 37˚C for 3 days. The weight loss of fermenting I-san sausage generally decrease as the fermentation time increased. As the fermentation process, I-san sausage hang at room temperature for 3 day had the greatest weight loss (14.93%) but I-san sausage with fermentation condition at incubation 37˚C for 3 day or vacuum 37˚C for 3 day displayed the lowest weight loss value as 3.94 and 3.22%, respectively. The lactic acid bacteria count at day 3 increased in all methods with value between 7.31-7.81 log cfu/g on day 3. The highest population of lactic acid bacteria was found in fermentation condition with 37˚C incubation for 3 days (7.81 log cfu /g). The count of yeast/mold in all methods had no differences ($P>0.05$) on day 1-3 of fermentation. The coliform decreased on day 1 and displayed low limit of detection. The detection of *Escherichia coli* on day 0-3 of fermentation in all methods was no differences ($P>0.05$) with undetectable level.

Keywords: Thai fermented pork sausage (I-san sausages), fermentation process

[*] **Coressponding Author:** Komkhae Pilasombut; **E-mail address:** Komkhae.pi@kmitl.ac.th

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Introduction

I-san sausage or Sai krok Prew (Traditional, Thai fermented meat-rice sausages) is a very popular meat product in Thailand (Vatanyoopaisarn *et al*., 2011; Sriphochanart and Skolpap, 2011). I-san sausage is usually made of pork 50%, pork lard 30%, cooked rice 20% and food additives, mixed well and stuffed tightly in edible casing. It is fermented in room temperature at normally 30˚C for 2-3 days and cooked before eating (Phromraksa *et al.*, 2004; Phalakornkule and Tanasupawat, 2006). In Thailand, most of the production is in the household itself (Phromraksa *et al.,* 2004; Sriphochanart *et al.*, 2011). Generally, the fermentation process of Thai fermented sausages with rice as food ingredient induce lactic acid bacteria which helps to control pathogen as it may come from raw materials (Azam *et al*., 2017). The most important microorganisms during the spontaneous fermentation are lactic acid bacteria such as *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus cerevisiae* with have been shown to become the dominant microorganisms (Malti and Amarouch, 2008; Rantsiou and Cocolin, 2008; Axelsson *et al.*, 2012; Vangpikul and Kansandee, 2014; Tamang *et al*., 2016). Unfortunately, the conventional process of Thai fermentation sausage production has difficulties with unstable product quality and health risks on pathogenic disease (Sriphochanart and Skolpap, 2011). The occurrence of pathogen such as *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157:H7, *Clostridium botulinum* and *Listeria monocytogenes* were found in fermented pork sausage (Visessanguan *et al*., 2006; Chokesajjawatee *et al.,* 2009; Yörük and Güner, 2017). The bacterium, *S. aureus*, a salt-and nitrite-tolerant microorganism, is also able to grow under anaerobic conditions and produce toxins (González-Fandos *et al.*, 1999; Hui *et al.*, 2004; Schelin *et al.*, 2011; Holck *et al.*, 2017). Therefore, a novel process of sausage fermentation has been developed in I-san sausage. There are several ways for I-san sausage production. Especially, in fermentation stage such as hanging at room temperature, vacuum and incubation process (Phalakornkule and Tanasupawat, 2006). However, some manufacturers were experiencing problems in producing of process, or quality in consistent taste, contamination and mold growth surface on I-san sausage during fermented (Holck *et al.*, 2017).

The purpose of this study was to compare different methods during I-san sausage fermentation for better product acceptable both in quality and safety.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Materials and Methods

Formulations and processing in I-sausage

The preparation procedures used to make I-san sausage are described in Phromraksa *et al*., (2004) and Vatanyoopaisarn *et al*., (2011) with slight modification. Freshly-manufactured I-san sausages, prepared using conventional techniques by mixing (46.27%) (w/w) of minced lean pork, (32.39%) (w/w) of minced pork lard and (13.88%) (w/w) of steamed rice with 4.63% (w/w) of finely chopped garlic, 0.38% (w/w) of pepper powder, 0.46% (w/w) of sugar, 0.09% (w/w) of sodium erythrobate, 0.23% (w/w) of monosodium glutamate, 0.28% (w/w) of trisodium polyphosphate, 0.93% (w/w) of sodium nitrate and 0.46% (w/w) of salt. The mixture was then stuffed into 2.5 cm diameter natural casing and tied with thread. Each piece of fresh sausages was of 3 cm in length. Fresh sausages were fermented 1) hang at room temperature for 3 day 2) incubation 37˚C for 3 day 3) vacuum 37˚C for 3 day 4) incubation 37˚C for 2 day with one day hanging at room temperature and 5) vacuum 37˚C for 2 day with one day hanging at room temperature. Samples were taken at day 0, 1, 2 and 3 for chemical, physical and microbial analysis.

Physical and chemical analysis

pH

Direct pH measurement was taken using a standard pH meter Mettler Toledo 320 (Mettler Toledo, Greifensee, Switzerland)

Total acidity

Total acidity of I-san sausage was determined according to the method of (Friedrich, 2001). 2 g of samples were homogenized with 20 ml distilled water. The homogenate was centrifuged at 4000g for 5 min. The supernatant was filtered through filter paper (Whatman No. 1). The filtrate was titrated with standardised 0.1N Sodiumhydroxide (NaOH) (Sigma, Germany) with Phenolph- thalein (Sigma, Germany) as the indicator.

Weight loss

Weight loss was determined as described by Nakao *et al.*, (1991). I-san sausage with casing was accurately weighed before fermentation. During fermentation process, I-san sausage was taken and then reweighed. Difference in weight of I-san sausage before (A) and after (B) fermentation was referred to as weight loss.

$$\text{Weight loss (\%)} = (A-B) \times 100 / A$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Microbial analysis

Twenty-five grams of each I-san sausage sample was aseptically transferred to a sterile plastic bag containing 225 ml of 0.85% sodium chloride (NaCl) (Merck, Germany) for 1 min and homogenized in a stomacher bag mixer (400 model VW, France) to get the 10^{-1} dilutions. Then, 1 ml of these 10^{-1} dilutions was pipetted into a test tube containing 9 ml of 0.85% sodium chloride to get a 10^{-2} dilution. This step was repeated to get 10^{-3}, 10^{-4} and 10^{-5} dilutions. Appropriate dilutions were used for microbial enumeration. The following media and incubation conditions were used: lactic acid bacteria was determined by the spread plate method 0.1 ml of each dilution was counted on MRS agar (Merck, Germany) containing 0.5% calcium carbonate ($CaCO_3$) (Merck, Germany) and then bacteria were anaerobically incubated at 30°C for 24-48 h. While coliform/*Escherichia coli* were counted on Chromocult agar (Merck, Germany) incubation at 37°C for 24-48 h. This was done according to the method presented by AOAC (2006). For determination of yeast/mold, method of AOAC (2005) was followed. 1 ml of dilution was poured plate which contained malt agar (Merck, Germany) pH 3.5 and incubation at 26°C for 3-5 days. Colonies froming units (CFU) between 30-300 colonies were selected from each plate. Select the plate with counts forming. Microbial colonies were counted and expressed as $\log_{10}$ cfu/g meat sample.

Statistical analyses

All experiments in this study was carried out by Randomized Complete Block Design. Mean values were compared by the Duncan's multiple range test. Statistical analysis was performed using SAS software (SAS Institute Inc., Cary, N.C.).

Results and Discussion

pH and total acidity (%)

Changes in pH and total acidity of I-san sausage during the fermentation by comparison five fermentation processes 1) Hang at room temperature for 3 day 2) incubation 37˚C for 3 day 3) vacuum 37˚C for 3 day 4) incubation 37˚C for 2 day with one day hanging at room temperature and 5) vacuum 37˚C for 2 day with one day hanging at room temperature were determined. The initial pH of I-san sausage was 5.97, 5.98, 5.96, 5.99 and 5.98, respectively at day 0 ($P>0.05$). The decrease in pH could be mainly due to the production of acid such as lactic acid of the lactic acid bacteria present in the I-san sausage. A

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

rapid decrease in pH was observed in fermentation method 2, 3 and 4, while pH value of I-san sausage fermentation process by hanging at room temperature was not much decline after hanging for 3 day. The lowest pH value of I-san sausage at day 3 found in fermentation by incubation 37˚C for 3 day (4.35). However, It was not different (P>0.05) with fermentation process 3, 4 and 5 which showed pH value 4.47, 4.48 and 4.56, respectively. However, It was observed that pH value in I-san sausage of fermentation process 2, 3, 4 and 5 were significent lower than pH value in sausage which fermented by process 1 (hang at room temperature for 3 day). The data show in table 1.

For total acidity value of I-san sausage, after fermentation for 2-3 day, the lowest pH value of I-san sausage was corresponding to the highest total acidity in I-san sausage. The lowest pH value and the highest of total acidity was displayed in I-san sausage fermentation by incubation 37˚C for 3 day 3. The total acidity in I-san sausage at the first day of all methods, was not significant different (P>0.05) as shown 0.35, 0.36, 0.35, 0.36 and 0.38%, respectively. The total acidity of all process increased after 2-3 day fermentation. The highest total acidity at 3 day fermentation was observed in fermentation process 2 (1.17%) different form after fermentation process (P>0.05) which showed value at 0.73, 1.00, 0.96 and 0.91% for process 1, 3, 4 and 5, respectively. The data show in table 2.

The results were in agreement with the literature that pH values of fermented sausages decreased sharply at the first 3 days of fermentation (Bozkurt and Bayram, 2006; Baka *et al.*, 2011). The decrease in pH values of the fermented sausages correspond to the production of organic acids such as lactic acid and acetic acid by lactic acid bacteria (Komperda *et al.,* 2004; Bozkurt and Bayram, 2006; Saithong *et al.*, 2010). The pH fall could be related to an accumulation of organic acids, mainly lactic, present in this type of sausages as a result of carbohydrate breakdown during fermentation (Baka *et al.*, 2011; Zaho *et al.,* 2011; Esmaeilzaden *et al.*, 2013). *Lactobacilli* are the major producers of lactic acid responsible for the decrease in pH and the increase in acidity during the fermentation (Valyasevi *et al.,* 2002; Thongruck *et al.,* 2017). The pH of the sausage should be lowered to 4.6 after fermentation, there by preventing the growth of other microbes, particularly foodborne bacterial pathogens such as *Staphylococcus aureus* (Chokesajjawatee *et al.,* 2009; Holck *et al.*, 2017; Loypimai *et al*., 2017). A pH change pattern, which consisted of a rapid decrease at first, followed by a steady or slow decrease, and then finally a rise during the processing and storage time, was observed in a Spanish dry-cured sausage (González-Fernández *et al.*, 2006)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Table 1. Change in pH value of I-san sausage during fermentation

Fermentation process*	pH value			
	Day 0	Day 1	Day 2	Day 3
1	5.97±0.05^{a,A,†,§,‡}	5.83±0.18^{a,A}	5.55±0.18^{b,A}	5.16±0.29^{c,A}
2	5.98±0.04^{a,A}	5.66±0.16^{b,A}	4.68±0.03^{c,B}	4.35±0.12^{d,B}
3	5.96±0.05^{a,A}	5.74±0.22^{b,A}	4.77±0.10^{c,B}	4.47±0.11^{d,B}
4	5.99±0.05^{a,A}	5.73±0.12^{b,A}	4.73±0.07^{c,B}	4.48±0.09^{d,B}
5	5.98±0.04^{a,A}	5.78±0.15^{b,A}	4.79±0.04^{c,B}	4.56±0.05^{d,B}

* 1) Hang at room temperature for 3 day 2) incubation 37˚C for 3 day 3) vacuum 37˚C for 3 day 4) incubation 37˚C for 2 day with one day hanging at room temperature and 5) vacuum 37˚C for 2 day with one day hanging at room temperature.
‡ Mean values and standard deviations obtained from three independent experiments.
§ Different letters in the same row are significantly different (P<0.05).
† Different letters within a column significant difference (P<0.05).

Table 2. Change in total acidity of I-san sausage during fermentation

Fermentation process*	Total acidity (% as lactic acid)			
	Day 0	Day 1	Day 2	Day 3
1	0.35±0.06^{c,A,†,§,‡}	0.51±0.04^{b,B}	0.62±0.08^{ab,B}	0.73±0.02^{a,C}
2	0.36±0.05^{d,A}	0.59±0.07^{c,A}	0.87±0.09^{b,A}	1.17±0.12^{a,A}
3	0.35±0.04^{d,A}	0.64±0.07^{c,A}	0.82±0.02^{b,A}	1.00±0.11^{a,B}
4	0.36±0.02^{c,A}	0.60±0.10^{b,A}	0.84±0.05^{a,A}	0.96±0.05^{a,B}
5	0.38±0.11^{c,A}	0.60±0.07^{b,A}	0.81±0.06^{a,A}	0.91±0.04^{a,B}

* 1) Hang at room temperature for 3 day 2) incubation 37˚C for 3 day 3) vacuum 37˚C for 3 day 4) incubation 37˚C for 2 day with one day hanging at room temperature and 5) vacuum 37˚C for 2 day with one day hanging at room temperature.
‡ Mean values and standard deviations obtained from three independent experiments.
§ Different letters in the same row are significantly different (P<0.05).
† Different letters within a column significant difference (P<0.05).

Weight loss (%)

The results in table 3 showed that the average weight loss (%) in I-san sausage by comparison five fermentation processes 1) Hang at room temperature for 3 day 2) incubation 37˚C for 3 day 3) vacuum 37˚C for 3 day 4) incubation 37˚C for 2 day with one day hanging at room temperature and 5) vacuum 37˚C for 2 day with one day hanging at room temperature were determined. Weight of fermented sausage generally decreases as the fermentation time increased. The highest % weight loss in fermentation process 1 for 8.20, 11.28 and 14.53 after hanging day 1, 2 and 3, respectively. The lowest % weight loss was fermented in process 2 and 3 (3.94 and 3.22) which was not different significant (P>0.05), when compared to process 1, 4 and 5 (14.93, 8.38 and 11.90%).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Similar results had been reported by Visessanguan *et al.*, (2006). The result showed that the lowest % weight loss were fermentation process by incubation at 30˚C for 84 h (3.14%) of Thai fermented pork sausage (Nham). Weight loss in meat products is mainly associated with loss in water and water-holding capacity (WHC) of meat. Increasing amounts of released and expressible water are possibly responsible for an increase in weight loss (Visessanguan *et al.,* 2004). Denaturation of sarcoplasmic proteins contributes to the decrease water-binding capacity of pork myofibrils (Wilson and Laack, 1999; De Luca *et al.,* 2016). Released water is generally refer to as the water retained in the casing and at the surface (Visessanguan *et al*., 2015). In contrast, expressible water is the water remaining in the sample which can be released when pressure is applied (Funami *et al.,* 1998; Visessanguan *et al*., 2015). An increase in expressible and released water presumably caused by denaturation of proteins during fermentation (Visessanguan *et al.,* 2004; Sİrİken *et al.*, 2009).

Table 3. Change in weight loss of I-san sausage during fermentation

Fermentation process*	Weight loss (%)		
	Day 1	Day 2	Day 3
1	$8.20\pm0.97^{a,A,\dagger,\S,\ddagger}$	$11.28\pm0.41^{b,A}$	$14.93\pm0.51^{c,A}$
2	$0.50\pm0.13^{b,B}$	$1.81\pm1.00^{b,B}$	$3.94\pm0.14^{a,D}$
3	$1.09\pm0.53^{b,B}$	$3.15\pm0.84^{a,B}$	$3.22\pm0.23^{a,D}$
4	$0.71\pm0.16^{b,B}$	$1.15\pm0.26^{b,B}$	$8.38\pm1.61^{a,C}$
5	$1.52\pm0.13^{b,B}$	$2.50\pm0.62^{b,B}$	$11.90\pm0.28^{a,B}$

* 1) Hang at room temperature for 3 day 2) incubation 37˚C for 3 day 3) vacuum 37˚C for 3 day 4) incubation 37˚C for 2 day with one day hanging at room temperature and 5) vacuum 37˚C for 2 day with one day hanging at room temperature.
‡ Mean values and standard deviations obtained from three independent experiments.
§ Different letters in the same row are significantly different ($P<0.05$).
† Different letters within a column significant difference ($P<0.05$).

Microbiological analysis

The microbiological analysis in I-san sausage during the fermentation by comparison five fermentation processes 1) Hang at room temperature for 3 day 2) incubation 37˚C for 3 day 3) vacuum 37˚C for 3 day 4) incubation 37˚C for 2 day with one day hanging at room temperature and 5) vacuum 37˚C for 2 day with one day hanging at room temperature were determined.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lactic acid bacteria

Number of lactic acid bacteria increased during fermentation process 1-3 day. The initial number of lactic acid bacteria in I-san sausage of all fermentation process 1-5 were not significant different (P>0.05) as 4.22, 4.28, 4.17, 4.28 and 4.60 log cfu/g, respectively. The shorter fermentation period, the highest of number of lactic acid bacteria was observed. It was found that the lowest number of lactic acid bacteria displayed in I-san sausage with fermentation process 1 with significant difference when compare to process 2-5. The highest number of lactic acid bacteria after 3 day fermentation period demonstrated in I-san sausage with fermentation process 2 (7.81 log cfu/g). However, it was not significant different (P>0.05) when compared to process 3, 4 and 5 (7.66, 7.65 and 7.59 log cfu/g).

The microbiological changes during fermentation as a result of the combined effects of lowering the pH, resulting in high populations of lactic acid bacteria (Jatupornpipat and Keatikumjorn, 2007; Simion *et al.,* 2014; Yim *et al.,* 2015). The lactic acid bacteria constituted the major microflora of the sausages (7.7-8.5 log cfu/g). Because of the good adaptation to the meat condition and their faster growth rates which displayed during fermentation (Zdolec *et al.,* 2008; Zaho *et al.,* 2011). During this spontaneous fermentation, lactic acid bacteria such as *lactobacilli* and *pediococci* have been shown to become the dominant microorganisms (Malti and Amarouch, 2008).

Table 4. Number of lactic acid bacterial in I-san sausages during fermentation

Fermentation process*	Lactic acid bacterial (log cfu/g)			
	Day 0	Day 1	Day 2	Day 3
1	$4.22\pm0.59^{c,A,\dagger,\S,\ddagger}$	$5.70\pm0.58^{b,A}$	$6.70\pm0.31^{a,B}$	$7.31\pm0.35^{a,B}$
2	$4.28\pm0.63^{c,A}$	$6.91\pm0.12^{b,A}$	$7.53\pm0.19^{a,A}$	$7.81\pm0.38^{a,A}$
3	$4.17\pm0.50^{c,A}$	$6.36\pm0.96^{b,A}$	$7.12\pm0.47^{a,AB}$	$7.66\pm0.51^{a,AB}$
4	$4.18\pm0.51^{c,A}$	$6.83\pm0.59^{b,A}$	$7.22\pm0.39^{ab,A}$	$7.65\pm0.53^{a,AB}$
5	$4.16\pm0.48^{c,A}$	$6.47\pm1.10^{b,A}$	$7.40\pm0.69^{a,A}$	$7.59\pm0.45^{a,AB}$

*1) Hang at room temperature for 3 day 2) incubation 37˚C for 3 day 3) vacuum 37˚C for 3 day 4) incubation 37˚C for 2 day with one day hanging at room temperature and 5) vacuum 37˚C for 2 day with one day hanging at room temperature.

‡ Mean values and standard deviations obtained from three independent experiments.

§ Different letters in the same row are significantly different (P<0.05).

† Different letters within a column significant difference (P<0.05).

Yeast/mold, Coliform and *Escherichia coli*

Number of yeast/mold and coliform in I-san sausage were not significant differences (P>0.05) in all methods. However, the coliform was not found in all methods after 2 day fermentation process. In addition, in this study *Escherichia*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

coli displayed lower limit of detection in I-san sausage. The data show in table 5, 6 and 7.

This indicated that vacuum packaging decreased mold growth but did not completely inhibit during I-san sausage storage. Mold increase was probably due to the fact that they consumed residual oxygen in vacuum packaging (Phromraksa *et al.*, 2004). The fermentation process by vacuum 37˚C for 3 day show the reduction of yeast/mold growth to 2.85 log cfu/g at day 3. Similar results have been reported by other researchers Casaburi *et al.,* (2007) who considered acidification to be the main cause of yeast/mold inhibition in dry fermented sausages. The pH drop below 4.5, which was well above the tolerance level of many yeast/mold (Malti and Amarouch, 2008).

The domination of lactic acid bacteria and the inhibition of gram negative bacteria in fermented sausages during fermentation are necessary for successful production of fermented sausages (Baka *et al.*, 2011; Esmaeilzadeh *et al.*, 2013). Enterobacteriaceae and gram negative bacteria, in general, are considered as undesirable microflora in fermented sausages (Esmaeilzadeh *et al.*, 2013). These reduction of Enterobacteriaceae are probably due to the rapid reduction of pH, acid production. The results are consistent with Roig-Sagués *et al.,* (1999) who reported that the enterobacteria counts in Spanish sausages (fuet) decreased steadily during ripening and were undetectable after ripening for 12 days. Although growth of pathogenic *Escherichia coli* during initial phases of fermented sausage production can occur, combinations of low pH and high total acidity an inhibit growth of *Escherichia coli* at the end of fermentation (Holck *et al*., 2017).

Table 5. Number of yeast/mold in I-san sausages during fermentation.

Fermentation process*	Yeast/Mold (log cfu/g)			
	Day 0	Day 1	Day 2	Day 3
1	$3.05\pm0.41^{b,A,\dagger,\S,\ddagger}$	$3.45\pm0.61^{ab,A}$	$3.88\pm0.80^{a,A}$	$3.93\pm0.81^{a,A}$
2	$3.03\pm0.49^{a,A}$	$3.84\pm1.10^{a,A}$	$4.05\pm1.22^{a,A}$	$4.15\pm0.96^{a,A}$
3	$3.01\pm0.51^{a,A}$	$3.28\pm1.82^{a,A}$	$3.31\pm1.55^{a,A}$	$2.85\pm1.48^{a,A}$
4	$3.04\pm0.49^{a,A}$	$3.40\pm1.31^{a,A}$	$3.74\pm0.60^{a,A}$	$3.43\pm1.29^{a,A}$
5	$2.95\pm0.57^{a,A}$	$3.14\pm0.68^{a,A}$	$3.51\pm1.00^{a,A}$	$2.98\pm0.67^{a,A}$

*1) Hang at room temperature for 3 day 2) incubation 37˚C for 3 day 3) vacuum 37˚C for 3 day 4) incubation 37˚C for 2 day with one day hanging at room temperature and 5) vacuum 37˚C for 2 day with one day hanging at room temperature.

‡ Mean values and standard deviations obtained from three independent experiments.

§ Different letters in the same row are significantly different ($P<0.05$).

† Different letters within a column significant difference ($P<0.05$).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Table 6. Number of coliform in I-san sausages during fermentation

Fermentation process*	Coliform			
	Day 0 (log cfu/g)	Day 1 (log cfu/g)	Day 2 (cfu/g)	Day 3 (cfu/g)
1	3.40±0.77[NS, ‡,†]	2.55±0.09	<1[¥]	<1
2	3.33±0.66	2.90±0.94	<1	<1
3	3.31±0.63	2.25±0.66	<1	<1
4	3.34±0.72	3.24±1.14	<1	<1
5	3.42±0.84	2.38±0.56	<1	<1

*1) Hang at room temperature for 3 day 2) incubation 37˚C for 3 day 3) vacuum 37˚C for 3 day 4) incubation 37˚C for 2 day with one day hanging at room temperature and 5) vacuum 37˚C for 2 day with one day hanging at room temperature.
‡ Mean values and standard deviations obtained from three independent experiments.
† Different letters in the same column and row are significantly different.
¥ <10 cfu/g.

Table 7. Number of *Escherichia coli* in I-san sausages during fermentation.

Fermentation process*	*Escherichia coli* (cfu/g)			
	Day 0	Day 1	Day 2	Day 3
1	<1[¥]	<1	<1	<1
2	<1	<1	<1	<1
3	<1	<1	<1	<1
4	<1	<1	<1	<1
5	<1	<1	<1	<1

*1) Hang at room temperature for 3 day 2) incubation 37˚C for 3 day 3) vacuum 37˚C for 3 day 4) incubation 37˚C for 2 day with one day hanging at room temperature and 5) vacuum 37˚C for 2 day with one day hanging at room temperature.
¥ <10 cfu/g.

Conclusion

Present study was to compare different methods during I-san sausage fermentation for better product acceptable both in quality and safety. There method were analysed including the pH value, total acidity percentage, weight loss percentage, lactic acid bacteria, coliform/*Escherichia coli* and yeast/mold. It was found that the fermentation process by incubation 37˚C for 3 day and vacuum 37˚C for 3 day gave the good quality I-san sausage, because of its shorter fermentation period. With these preliminary results, it is possible to apply both optimal condition fermentation process of I-san sausage for small entrepreneurs and industrials.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Acknowledgement

The authors gratefully acknowledge funding for this research form Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Thailand.

References

AOAC. (2005). AOAC official methods of analysis. Association of official analytical chemists. Assoccal Chemistry. 18th Ed. Maryland, USA: AOAC international.

AOAC. (2006). AOAC official methods: Chapter 17. *In* Horwitz, W. and Latimer, G.W. Official methods of analysis of AOAC international. Maryland: AOAC international.

Axelsson, L., Rud, I., Naterstad, K., Blom, H., Renckens, B., Boekhorst, J., Kleerebezem, M., Hijum, H.V. and Siezen, R.J. (2012). Genome sequence of the naturally plasmid-free *Lactobacillus plantarum* strain NC8 (CCUG61730). Journal of Bacteriology 194(9): 2391-2392.

Azam, M. Mohsin, M., Ijaz, H., Tulain, U.R., Ashraf, M.A., Fayyaz, A., Abadeen, Z. and Kamran, Q. (2017). Lactic acid bacteria in traditional fermented Asian foods. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences 30(5): 1803-1814.

Baka, A.M., Papavergou, E.J., Pragalaki, T., Bloukas, J.G. and Kotzekidou, P. (2011). Effect of selected autochthonous starter cultures on processing and quality characteristics of Greek fermented sausages. LWT - Food Science and Technology 44(1): 54-61.

Bozkurt, H. and Bayram, M. (2006). Color and textural attributes of sucuk during ripening. Meat Science 73(2): 344-350.

Casaburi, A., Aristoy, M.C., Ercolini, D., Toldrá, F. and Villani, F. (2007). Biochemical and sensory characteristics of traditional fermented sausages of Vallo di Diano (southern Italy) as affected by the use of starter cultures. Meat Science 76(2): 295-307.

Chokesajjawatee, N., Pornaem, S., Zo, Y.G., Kamdee, S., Luxananil, P., Wanasen, S., Valyasevi, R. (2009). Incidence of *Staphylococcus aureus* and associated risk factors in Nham, a Thai fermented pork product. Food Microbiol 26(5): 547-551.

De Luca, A., Hamill1, R.M., Mullen1, A.M., Slavov, N. and Elia, G. (2016). Comparative proteomic profiling of divergent phenotypes for water holding capacity across the post mortem ageing period in porcine muscle exudate. PLoS ONE 11(3): 1-25.

Esmaeilzadeh, P., Darvishi, S., Assadi, M.M., Mirahmadi, F. and Arashrad, F. (2013). Effect of lactic acid bacteria inoculation on nitrite concentration of fermented sausage in fermentation and ripening periods. Middle East Journal of Scientific Research 13(11): 1455-1464.

Friedrich, J.E. (2001). Tritratable activity of acid tastants. Current Protocols in Food Analytical Chemistry. John Wiley and sons, Tnc, Cargill Incorporated Minneapolis, Minesota.

Funami, T., Yada, H. and Nakao, Y. (1998). Thermal and rheological properties of curdlan gel in minced pork gel. Food Hydrocolloids 12(1): 55-64.

González-Fandos, M.E., Sierra, M., García-lopez, M.L., García-fernández, M.C. and Otero, A. (1999). The influence of manufacturing and drying conditions on the survival and toxinogenesis of *Staphylococcus aureus* in two Spanish dry sausages (chorizo and salchichón). Meat Science 52(4): 411-419.

González-Fernández, C., Santos, E. M., Rovira, J. and Jaime, I. (2006). The effect of sugar concentration and starter culture on instrumental and sensory textural properties of *chorizo*-Spanish dry-cured sausage. Meat Science 74(3): 467-475.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Holck, A., Axelsson, L., McLeod, A., Mari Rode, T. and Heir E. (2017). Health and Safety Considerations of Fermented Sausages. Journal of Food Quality Article ID 9753894.

Hui, Y. H., Meunier-Goddik, L., Josephsen, J., Nip, W.K., and Stanfield, P.S. (2004). Handbook of Food and Beverage Fermentation Technology. New York: Marcel Dekker.

Jatupornpipat, M. and Keatikumjorn, P. (2007). The effect of kefir starter on Thai fermented sausage product. Songklanakarin Journal of Science and Technology 29(4): 1145-1152.

Komprda, T., Smelá, D., Pechová, P., Kalhotka, L., Štencl, J. and Klejdus, B. (2004). Effect of starter culture, spice mix and storage time and temperature on biogenic amine content of dry fermented sausages. Meat Science 67(4): 607-616.

Loypimai, P., Moongngarm, A. and Naksawat, S. (2017). Application of natural colorant from black rice bran for fermented Thai pork sausage–Sai Krok Isan. International Food Research Journal 24(4): 1529-1537.

Malti, J.E. and Amarouch, H. (2008). Microbiological and physicochemical characterization of natural fermented camel meat sausage. Journal of Food Processing and Preservation 32(2): 159-177.

Nakao, Y., Konno, A., Taguchi, T., Tawada, T., Kasai, H., Toda, J. and Terasaki, M. (1991). Curdlan: Properties and application to foods. Journal of Food Science 56(3): 769-772.

Phalakornkule, C. and Tanasupawat, S. (2006). Characterization of lactic acid bacteria from traditional Thai fermented sausages. Journal of Culture Collections 5: 46-57.

Phromraksa, P., Wiriyacharee, P., Rujanakraikarn, L. and Pathomrungsiyungkul, P. (2004). Optimizing formulation and fermentation time of Thai fermented pork sausage (Sai Krok Prew) using starter cultures. Chiang Mai University Journal of Natural Sciences 3(2): 133- 145.

Rantsiou, K. and Cocolin, L. (2008). Fermented meat products. 91-118 pp. *In* Cocolin, L. and Ercolini, D. (Ed.). Molecular techniques in the microbial ecology of fermented foods. Italy. Springer New York.

Roig-Sagués, A. X., Hernández-Herrero, M. M., López-Sabater, E. I., Rodríguez-Jerez,J. J. and Mora-Ventura, M. T. (1999). Microbiological events during the elaboration of "fuet", a Spanish ripened sausage Relationships between the development of histidine- and tyrosine-decarboxylase-containing bacteria and pH and water activity. European Food Research and Technology 209(2): 108-112.

Saithong, P., Panthavee, W., Boonyaratanakornkit, M. and Sikkhamondhol, C. (2010). Use of a starter culture of lactic acid bacteria in plaa-som, a Thai fermented fish. Journal of Bioscience and Bioengineering 110(5): 553-557.

Schelin, J., Wallin-Carlquist, N., Cohn, M.T., Lindqvist, R., Barker, G.C. and Rådström, P. (2011). The formation of *Staphylococcus aureus* enterotoxin in food environments and advances in risk assessment. Virulence 2(6): 580-592.

Simion, A.M.C., Vizireanu, C., Alexe, P., Franco, I. and Carballo, J. (2014). Effect of the use of selected starter cultures on some quality, safety and sensorial properties of Dacia sausage, a traditional Romanian dry-sausage variety. Food Control 35(1): 123-131.

Sİrİken, B., Cadİrcİ, O., Inat, G., Yenİsey, C., Serter, M. and Ozdemİr, M. (2009). Some microbiologial and pysico-chemical quality of Turkish sucak (Sausage). Journal of animal and Veterinary Advances 8(10): 2027-2032.

Sriphochanart, W. and Skolpap, W. (2011). The use of selected lactic acid bacteria starter cultures for improved Thai sausage fermentation. Journal of Food Processing and Preservation 35(3): 291-298.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Sriphochanart, W., Skolpap, W., Scharer, J.M., Moo-Young, M. and Douglas, P.L. (2011). Effect of amino acid requriements on the growth and lactic acid production of *Pediococcus acidilatici* cultre. African Journal of Microbiology Research 5(22): 3831-3822.

Tamang, J.P., Shin, D.H., Jung, S.J. and Chae, S.W. (2016). Functional Properties of Microorganisms in Fermented Foods. Functional properties of food 7: 1-13.

Thongruck, K., Saelao1, S., Sumpavapol, P., Benjakul, S. and Maneerat, S. (2017). Monitoring of changes in lactic acid bacteria during production of Thai traditional fermented shrimp (*Kung-Som*) by culturing method and PCR-DGGE technique. Songklanakarin Journal of Science and Technology 39(1): 41-47.

Valyasevi, R., Jungsiriwat, P., Smitinont, T., Praphailong, W. and Chowalitnitithum, C. (2002). Improvement of starter culture for Nham fermentation. National Science and Technology Development Agency. http://www1a.biotec.or.th/rdereport/prjbioteceng.asp?Id=225.

Vangpikul, S. and Kansandee, W. (2014). Screening of lactic acid bacteria from Nham het for production of Nham het adding prebiotics. Research and Development Institute, Rajamangala University of Technology Suvarnabhumi. Nonthaburi.

Vatanyoopaisarn, S., Prapatsornwattana, K., Kuhakongkeat, T. and Phalakornkule, C. (2011). Potential use of lactic acid bacteria with bacteriocin-like activity against *Staphylococcus aureus* as dual starter cultures in Thai fermented sausage "Sai Krok Prew". International Food Research Journal 18(2): 697-704.

Visessanguan, W., Benjakul, S., Riebroy, S. and Thepkasikul, P. (2004). Changes in composition and functional properties of proteins and their contributions to Nham characteristics. Meat Science 66(3): 579-588.

Visessanguan, W., Benjakul, S., Smitinont, T., Kittikun, C., Thepkasikul, P. and Panya, A. (2006). Changes in microbiological, biochemical and physicochemical properties of Nham inoculated with different inoculum levels of *Lactobacillus curvatus*. LWT- Food Science and Technology 39(7): 814-826.

Visessanguan, W., Plengvidhya, V., Chokesjjawatee, C. and Bakar, J.A. (2015). Lactic meat fermentation. 313-358 pp. *In* Owens, J.D. (Ed.). Indigenous Fermented Foods of Southeast Asia. USA: CRC Press.

Wilson, G. G. and Laack, R. L. V. (1999). Sarcoplasmic proteins influence water-holding capacity of pork myofibrils. Journal of the Science of Food and Agriculture 79(13): 1939- 1942.

Yim, D.G., Jang, K.H. and Chung, K.Y. (2015). Effect of GdL addition on physico-chemical properties of fermented sausages during ripening. Korean Journal for Food Science of Animal Resources 35(3): 322-329.

Yörük, N.G. and Güner, A. (2017). Control of fermented sausage, salami, sausage, and hamburger meatballs produced inmeat production facilities applying the ISO Food Security System for food pathogens. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences 41(3): 337-344.

Zaho, L., Jin, Y., Ma, C., Song, H., Li, H., Wang, Z. and Xiao, S. (2011). Physio-chemical characteristics and free fatty acid composition of dry fermented mutton sausages as affected by the use of various combinations of starter cultures and spices. Meat Science 88(4): 761-766.

Zdolec, N., Hadžiosmanović, M., Kozačinski, L., Cvrtila, Ž., Filipović, I., Škrivanko, M. and Leskovar, K. (2008). Microbial and physicochemical succession in fermented sausages produced with bacteriocinogenic culture of *Lactobacillus sakei* and semi-purified bacteriocin mesenterocin Y. Meat Science 80(2): 480-487.

(Received 25 October 2017; accepted 25 November 2017)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้