

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก (fermented meat products) เป็นผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์อีกประเภทหนึ่งที่ได้จากการนำเนื้อสัตว์ชนิดต่างๆ เช่น เนื้อแพะ เนื้อแกะ เนื้อหมู เนื้อวัว และเนื้อไก่ ที่ผ่านการบดให้ละเอียด นำมาคลุกเคล้ากับส่วนผสมอื่นๆ ได้แก่ เกลือบริโกล (โซเดียมคลอไรด์) ไนไตรท์ หรือไนเตรท กระเทียม พริกไทย และเครื่องเทศอื่นๆ จนเข้ากันดี จากนั้นนำส่วนผสมดังกล่าวมาบรรจุลงในภาชนะ ซึ่งอาจจะเป็นไส้ หลอด หรือถุงพลาสติก บางแห่งหุ้มทับด้วยใบตอง จากนั้นปล่อยให้เกิดการหมักจนผลิตภัณฑ์ที่ได้มีรสเปรี้ยว เพราะมีการสร้างกรดเกิดขึ้นในระหว่างการหมัก ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง (ค่า pH) ลดต่ำลง

ปัจจุบันผลิตภัณฑ์เนื้อหมักนับว่ามีบทบาทอย่างมากในอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากมีความหลากหลายทั้งรูปแบบและสูตรของการผลิตตามความนิยมในแต่ละภูมิภาค ซึ่งผลิตภัณฑ์เนื้อหมักที่มีชื่อเสียงและเป็นที่รู้จักในประเทศไทยนั้น ได้แก่ ไส้กรอกอีสานหรือไส้กรอกเปรี้ยว แหนม หมูส้ม และหม่า โดยส่วนใหญ่แล้วผลิตภัณฑ์เหล่านี้มีต้นกำเนิดในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศ ซึ่งผลิตภัณฑ์แต่ละชนิดนั้นจะมีความแตกต่างกันในสูตรการผลิตและรูปแบบของการบรรจุ สำหรับผลิตภัณฑ์เนื้อหมักนี้ต้องมีการบ่มเพื่อทำให้เกิดการหมักในระหว่างกระบวนการผลิต ในระหว่างการหมักนั้นจะเกิดกิจกรรมที่เหมาะสมของจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในวัตถุดิบ และมีการสร้างสารที่ทำให้ผลิตภัณฑ์มีรสชาติเฉพาะตัว โดยจุลินทรีย์ผลิตกรดแลคติกบางชนิดที่พบเจริญเติบโตในระหว่างกระบวนการผลิตยังสามารถผลิตสารที่มีผลดีต่อสุขภาพของผู้บริโภค ได้แก่ สารแกมมาอะมิโนบิวทิริกแอซิด (กาบา) ที่เป็นสารออกฤทธิ์มีผลดีต่อระบบการสื่อสารภายในสมอง และสารกลุ่มแบคทีริโอซินที่มีผลในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคที่เจริญเติบโตในระหว่างกระบวนการผลิตทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพทำให้ผู้บริโภคมีสุขภาพดี แต่อย่างไรก็ตามวัตถุดิบที่นำมาใช้ในการผลิตแต่ละครั้งนั้นส่งผลให้พบจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในกลุ่มนี้ในปริมาณน้อยมากหรือไม่พบเลยในระหว่างการผลิต

ไส้กรอกอีสานและหม่านับว่าเป็นผลิตภัณฑ์เนื้อหมักที่ผลิตกันมากในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จัดเป็นอาหารหมักจากเนื้อที่มีคุณค่าทางโภชนาการค่อนข้างสูง โดยประกอบด้วยโปรตีน 11-40% เถ้า (ซึ่งรวมถึงวิตามินและเกลือแร่) 3.1-9.7% สำหรับไส้กรอกหมัก (fermented sausage) นี้เกิดจากการนำส่วนของเนื้อสัตว์ ไขมัน ผสมให้เข้ากับน้ำตาล เครื่องเทศ เกลือและสารช่วยในการถนอมรักษา (curing agent) จากนั้นนำส่วนผสมทั้งหมดมาบรรจุลงในภาชนะและปล่อยให้เกิดการหมัก โดยไส้กรอกหมักในแต่ละภูมิภาคจะมีความแตกต่างกัน ซึ่งพบว่าการพัฒนาของไส้กรอกหมักขึ้นอยู่กับท้องถิ่นและความต้องการของประชาชนในภูมิภาคนั้น ลักษณะที่สำคัญของการผลิตไส้กรอกหมักมีการใช้แบคทีเรียกรดแลคติกที่มีอยู่แล้วในวัตถุดิบร่วมกับการใช้เกลือ การทำแห้ง ซึ่งภายหลังการผลิตได้มีการบรรจุส่วนผสมได้หลายรูปแบบตามลักษณะการจำหน่าย การผลิตไส้กรอกหมักโดยทั่วไปนิยมผลิตที่อุณหภูมิห้อง โดยสำนักงานมาตรฐาน

ผลิตภัณฑ์ชุมชน (มพช. 144/2546) ได้กำหนดบทนิยามของไส้กรอกอีสานและหม่าว่า หมายถึง ผลิตภัณฑ์ทำจากเนื้อหมู มันหมู ข้าวสุก ปรุงรส ด้วยเครื่องปรุงรส เครื่องเทศและสมุนไพร เช่น น้ำตาลทราย เกลือ กระเทียมบด พริกไทย ถูบคั่ว ผสมให้เข้ากันดี นวดจนเหนียว บรรจุในไส้หมูหรือไส้ชนิดอื่นที่บริโภคได้มัดเป็นท่อน ผึ่งไว้ในที่สะอาดและแห้งจนเปรี้ยว และต้องทำให้สุกก่อนรับประทาน

สำหรับจุลินทรีย์ที่มีบทบาทและมีความสำคัญในกระบวนการหมักไส้กรอกอีสาน คือ แบคทีเรียกรดแลคติก (Lactic Acid Bacteria) ซึ่งได้แก่ *Lactobacillus* spp. (*L. brevis*, *L. plantarum*, *L. fermentum*) และ *Pediococcus* spp. เช่น *P. pentosacus* เป็นต้น สำหรับหน้าที่สำคัญในการหมักอาหารของแบคทีเรียกรดแลคติก คือ สามารถเปลี่ยนน้ำตาลให้ได้กรดแลคติกซึ่งเป็นกรดอินทรีย์ชนิดหนึ่ง ทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารนั้นเกิดรสเปรี้ยวและมีค่าความเป็นกรดต่ำ (pH) ลดลง อยู่ระหว่าง 4.0–5.0 ลักษณะเนื้อสัมผัสเปลี่ยนไป และเป็นตัวการสำคัญในการเกิดกลิ่นรสที่เป็นลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์เนื้อหมักนี้ โดยที่ข้าวและกระเทียมที่ใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตไส้กรอกอีสานจะเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตสำหรับแบคทีเรียกรดแลคติก ซึ่งการสร้างกรดแลคติกแล้วทำให้ค่า pH ลดลงนั้นนับว่าเป็นกลไกหนึ่งในการป้องกันการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่เป็นพิษและมีผลที่จะทำให้ผลิตภัณฑ์เน่าเสีย

การผลิตไส้กรอกอีสานและหม่าในภาคตะวันออกเฉียงเหนือหรือการผลิตในประเทศไทยนั้น เป็นการผลิตโดยใช้ภูมิปัญญาชาวบ้านมาพัฒนาสู่ระดับอุตสาหกรรม ดังนั้นกรรมวิธีหรือสูตรที่ใช้ก็จะแตกต่างกันไปตามแหล่งต่างๆ ที่ผลิต สำหรับการผลิตไส้กรอกอีสานและหม่าในปัจจุบันนี้นั้นยังเป็นการผลิตโดยให้การหมักเกิดขึ้นจากเชื้อจุลินทรีย์ในธรรมชาติที่ติดมากับวัตถุดิบหรือเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในอากาศ เช่นเดียวกับอาหารหมักดองพื้นบ้านชนิดอื่นๆ จึงทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานและหม่าที่ผลิตได้ในแต่ละชุดของการผลิตนั้นมีคุณสมบัติไม่คงที่ เนื่องจากชนิดและปริมาณของแบคทีเรียกรดแลคติกที่ติดมากับวัตถุดิบนั้นมีความแตกต่างกันและบางครั้งอาจมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคในจำนวนที่มากซึ่งเป็นผลเสียต่อผู้บริโภค โครงการวิจัยนี้จึงมีแนวคิดในการเพิ่มคุณค่าของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสาน โดยการคัดแยกและเลือกแบคทีเรียกรดแลคติกจากผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานและหม่าที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการผลิต จากนั้นนำมาเพิ่มจำนวนและเติมลงไปปริมาณที่เหมาะสมเพื่อให้มีการหมักร่วมกับจุลินทรีย์ธรรมชาติที่มีอยู่แล้วในวัตถุดิบ โดยคาดหวังว่าจะได้ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานที่มีคุณภาพทางด้านรสชาติไม่เปลี่ยนแปลงมีความสม่ำเสมอในกระบวนการผลิตทุกครั้งและเป็นไส้กรอกอีสานสุภาพที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภค

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อคัดแยกแบคทีเรียกรดแลคติกที่สัภาพในกระบวนการผลิตไส้กรอกอีสานและหม่ำ จากผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานและหม่ำ
2. เพื่อศึกษาการผลิตไส้กรอกอีสานและหม่ำโดยเติมจุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์ที่คัดเลือกได้เปรียบเทียบกับวิธีการผลิตแบบดั้งเดิม
3. เพื่อศึกษาคุณสมบัติ ทางกายภาพ และเคมี ของไส้กรอกอีสานและหม่ำที่ผลิตได้ เช่น ลักษณะเนื้อสัมผัส, สี, pH, ร้อยละของปริมาณกรด
4. เพื่อทดสอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ใหม่ที่เติมจุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์เปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ที่ได้จากวิธีดั้งเดิม

บทที่ 2

ทบทวนเอกสารที่เกี่ยวข้อง

2.1 บทนำ

ชาวอีสานในอดีตรู้จักวิธีการถนอมอาหารและแปรรูปอาหารโดยกระบวนการหมัก (fermentation) มาเป็นเวลานานแล้ว พบว่าอาหารหมักดองพื้นเมืองมีทั้งที่เป็นประเภทผัก เช่น ส้มผักเสี้ยน ส้มผักกาด ส้มผักหอม ประเภทธัญพืช ได้แก่ ข้าวหมาก สาโท ข้าวปุ้น (ขนมจีน) ประเภทปลากุ้ง ได้แก่ ปลาแดก (ปลาร้า) มั้มปลา ปลาแจ่ว ส้มปลา ส้มปลาน้อย เต็มบักนัด ส้มปลาน้อยกุ้ง ประเภทเนื้อ ได้แก่ หม่า (มั้ม) ส้มหมู ส้มวัว ไส้กรอกอีสานซึ่งเป็นไส้กรอกเนื้อหมู และไส้กรอกเนื้อวัว

วิธีทำอาหารหมักดองที่มีรสเปรี้ยวทำได้โดยการนำวัตถุดิบมาเติมเกลือ และสารคาร์โบไฮเดรต เช่น น้ำข้าวข้าว ข้าวสุก ข้าวคั่ว น้ำตาล หรืออาหารบางประเภทก็เติมกระเทียม จากนั้นจึงจัดสภาพแวดล้อมให้เหมาะสมกับกระบวนการหมัก โดยการอัดวัตถุดิบให้แน่นเพื่อให้มีอากาศน้อยที่สุด หรือลดความชื้นในวัตถุดิบโดยการนำมาผึ่งแดด เช่น การนำผักมาผึ่งแดดก่อนนำไปหมัก หรือการนำหม่าหรือไส้กรอกที่บรรจุให้แน่นแล้วนำมาผึ่งแดดในระหว่างการหมัก เมื่อเวลาหมักผ่านไปเมื่อเวลาหมักผ่านไปเป็นเวลากันขึ้นกับชนิดของผลิตภัณฑ์อาหารหมัก พบว่าอาหารจะถูกแปรรูป มีการเปลี่ยนแปลงทางด้านเนื้อสัมผัส (texture) เปลี่ยนแปลงทางลักษณะที่ปรากฏให้เห็น (appearance) และมีกลิ่นรสเฉพาะที่เป็นเอกลักษณ์ของแต่ละชนิดของผลิตภัณฑ์ การเปลี่ยนแปลงเช่นนี้เกิดจากเอนไซม์ของจุลินทรีย์ท้องถิ่น (normal flora) ที่ปนเปื้อนมากับอาหาร และเอนไซม์ที่มีอยู่ในอาหารจะทำการเปลี่ยนสารคาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน สารอินทรีย์อื่นๆ ไปเป็นกรดแลคติก กรดอะซิติก และแอลกอฮอล์ ทำให้จุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุการเสื่อมเสียของอาหารไม่สามารถเจริญเติบโตได้ในอาหารหมักซึ่งมีสภาพเป็นกรด จึงเก็บอาหารหมักดองได้เป็นเวลานาน นอกจากนี้ยังพบว่าจุลินทรีย์บางชนิดในอาหารหมักยังสร้างวิตามินเอ วิตามินต่างๆ ในกลุ่มบีซึ่งเป็นการเพิ่มคุณค่าของอาหารด้วย (งานนิจ, 2539)

ไส้กรอกอีสานหรือไส้กรอกเปรี้ยว คือ ผลิตภัณฑ์พื้นบ้านของภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ผลิตจากเนื้อหมูติดมันที่มีคุณภาพปานกลางในช่วงแรกของการหมักพบแบคทีเรียพวก *Pediococcus* sp. ทำให้เกิดกรด pH ช่วง 4.5-5.6 ต่อมาพบแบคทีเรียพวก *Lactobacillus* sp. เจริญในช่วงหลัง

หม่าหรือมั้ม คือ ผลิตภัณฑ์เนื้อหมักพื้นบ้านของภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ทำจากเนื้อวัวหรือเนื้อควาย บดละเอียดผสมกับตับหรือม้ามบดละเอียดเช่นกัน แล้วผสมกับเครื่องปรุงอื่นๆ หมักทิ้งไว้จนมีรสเปรี้ยว เมื่อนำมารับประทานต้องปิ้งหรือย่างให้สุก

การผลิตไส้กรอกอีสาน มีส่วนผสมและกรรมวิธีการผลิต ดังนี้

ส่วนผสม ประกอบด้วย

เนื้อหมู	1	กิโลกรัม
มันหมู	200	กรัม
หนังหมูสุก	200	กรัม
ข้าวข้าวสุก	1	กิโลกรัม
กระเทียม	150	กรัม
พริกไทย	30	กรัม
น้ำตาล	6	กรัม

กรรมวิธีการผลิต คือ ใช้เนื้อหมูติดมันบดละเอียดพอประมาณผสมกับเครื่องปรุง คือ ข้าวข้าวสุก หนังหมู กระเทียม และเกลือ อาจมีการเติมมันแข็งบดละเอียด เพิ่มทำให้ไส้กรอกนุ่ม นวดผสมให้เข้ากันแล้วบรรจุในไส้หมูสด ผัดด้วยเชือกเป็นปล้องขนาด 1-3 นิ้ว แขนงราวหมักไว้ที่อุณหภูมิห้อง 2-3 วัน ควรเก็บรักษา ไว้ในตู้เย็น นำมาปิ้ง ทอด หรืออบ ก่อนรับประทาน

การผลิตหมำ มีส่วนผสมและกรรมวิธีการผลิต ดังนี้

ส่วนผสม ประกอบด้วย

เนื้อบด	3	กิโลกรัม
ตับโคหั่นบางๆ	3	กิโลกรัม
กระเทียม	200	กรัม
โซเดียมไนเตรด	1.2	กรัม
เกลือป่น	700	กรัม
ข้าวคั่วบดและข้าวเหนียวสุก (เล็กน้อย)		

กรรมวิธีการผลิต คือ นำเนื้อบดละเอียดผสมกับตับหรือม้ามซึ่งบดละเอียดเช่นกัน แล้วผสมกับเครื่องปรุงอื่น หมักทิ้งไว้จนมีรสเปรี้ยว นวดผสมกันจนได้เนื้อเหนียวเป็นก้อนเหนียว จึงบรรจุลงในไส้ ผัดปลาย ให้แน่นแขวนราวไว้ผึ่งให้แห้ง หมักที่อุณหภูมิห้องนาน 1-3 วัน มั้จะมีรสเปรี้ยวและแห้งลงสามารถเก็บไว้ได้นานเป็นเดือน เมื่อจะนำมารับประทานต้องปิ้งหรือย่าง ให้สุก

2.2 ส่วนผสมหลักในการผลิตไส้กรอกหมัก

ตามประวัติศาสตร์ มนุษย์ได้เรียนรู้ว่าการเติมเกลือและน้ำตาลลงในเนื้อบดและปล่อยไว้ช่วงระยะเวลาหนึ่ง พบว่ามีการถนอมเนื้อสัตว์เกิดขึ้น และได้เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีรสชาติเป็นที่ยอมรับต่อการบริโภค ต่อมาได้มีการพัฒนาวิธีการต่างๆ ในการถนอมรักษา และได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความแตกต่างกันไปในเรื่องของขนาด รูปร่าง เนื้อสัมผัสและรสชาติ โดยพบว่ารสชาติและเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่แตกต่างกันเป็นผลมาจากปริมาณของเครื่องเทศ น้ำตาลและเกลือที่ใช้ในสูตรการผลิต อย่างไรก็ตามความคง

ตัวของผลิตภัณฑ์ตลอดจนคุณค่าทางโภชนาการของอาหารเหล่านี้ ขึ้นอยู่กับการควบคุมการเปลี่ยนแปลงน้ำตาลไปเป็นกรดแลคติกโดยแบคทีเรีย ซึ่งมีชื่อเรียกว่า แบคทีเรียกรดแลคติก (lactic acid bacteria) (Hong and Pyun, 1999) ส่วนผสมหลักของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมัก (ปีนมณี, 2546) ได้แก่

2.2.1 เนื้อสัตว์

เนื้อสัตว์เป็นส่วนผสมเริ่มต้นในการผลิตไส้กรอกหมัก สูตรโดยทั่วไปใช้เนื้อสัตว์ประมาณ 50-70 เปอร์เซ็นต์ เนื้อสัตว์ที่ใช้ในการผลิตอาจเป็นเนื้อสัตว์ชนิดต่างๆ เช่น เนื้อหมู เนื้อไก่ เนื้อหมูนิยมใช้มากในยุโรปตอนเหนือ ยุโรปตอนกลางและประเทศจีน นอกจากนั้นมีบางประเทศที่นิยมใช้เนื้อวัวหรือเนื้อแกะ เนื้อสัตว์ที่นำมาใช้ต้องมีคุณภาพดีและไม่มีรอยตำหนิต่างๆ เช่น ไม่มีรอยปนเปื้อนของเลือดหรือจุดที่มีลักษณะของเลือดคั่ง (blood splashes) สามารถอุ้มน้ำได้ดี มีค่าพีเอชประมาณ 5.6-6.0 ซึ่งจะช่วยให้การหมักในช่วงแรกได้ค่าพีเอชที่ลดลงจนพอเหมาะและสีที่ได้ไม่คล้ำ ไม่แห้งและมีความแน่น เนื้อสัตว์ที่นำมาใช้ในการผลิตควรเป็นเนื้อไม่ติดมัน องค์ประกอบของเนื้อสัตว์โดยทั่วไป มีทั้งสารประกอบที่ไม่ใช่ไนโตรเจน (non-nitrogenous compound) ได้แก่ น้ำ ไขมัน แร่ธาตุและคาร์โบไฮเดรต 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 ทำให้ผลิตภัณฑ์มีความฉ่ำน้ำ และมีเนื้อสัมผัสที่ดี เมื่อพิจารณาถึงสีของเนื้อสัตว์ที่ใช้ในการผลิต สีของเนื้อสัตว์เกิดขึ้นจากเม็ดสี myoglobin ซึ่งมีองค์ประกอบของฮีม สัตว์ที่มีอายุมากจะมีการสะสมของ myoglobin ในกล้ามเนื้อมากกว่า สัตว์ที่มีอายุน้อยจึงทำให้เนื้อสัตว์มีสีเข้ม นอกจากนี้สีของเนื้อสัตว์ยังมีความแตกต่างกันตามชนิดของเนื้อสัตว์ที่ใช้ โดยพบว่าเนื้อวัวมีปริมาณของ myoglobin มากกว่าเนื้อหมูทำให้มีสีเข้มกว่า ดังนั้นเนื้อสัตว์ที่ได้จากสัตว์ที่มีอายุมาก จึงมีความเหมาะสมในการผลิต ซึ่งให้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพสูงและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

2.2.2 ไขมัน

ไขมันเป็นส่วนผสมที่สำคัญของการผลิตไส้กรอก โดยเฉพาะไส้กรอกหมักภายหลังจากการทำแห้ง อาจมีไขมันได้ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ ไขมันเมื่อถูกออกซิไดซ์ทำให้เกิดการเหม็นหืน (rancidity) และทำให้ผลิตภัณฑ์ที่หมักเสร็จแล้วมีอายุการเก็บสั้น ดังนั้นไขมันที่ใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตควรมีองค์ประกอบของไขมันไม่อิ่มตัวต่ำ ไขมันในเนื้อหมูที่บริเวณส่วนหลังนิยมใช้กันมากเพราะมีองค์ประกอบของ polyunsaturated linoleic ต่ำและมี linoleic acid 8.5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งยอมให้เกิด auto oxidation ได้สูง

2.2.3 เกลือ

โดยปกติแล้วการผลิตไส้กรอกหมักใช้เกลือประมาณ 2.5-3.0 เปอร์เซ็นต์ บทบาทที่สำคัญของเกลือ คือ ช่วยในการถนอมรักษา (preservation) และยังช่วยในการสกัดโปรตีนให้ละลายออกมารวมตัวกับ

ส่วนผสมอื่นๆ การละลายของโปรตีนทำให้เกิดแผ่นฟิล์มที่มีความเหนียว (sticky film) ขึ้นรอบๆ อนุภาคของเนื้อ ในผลิตภัณฑ์บางชนิดอาจใช้เกลือได้มากกว่า 2.5-3.0 เปอร์เซ็นต์ เช่นใน Italian salamis โดยอาจใช้เกลือได้สูงถึง 8 เปอร์เซ็นต์

2.2.4 คาร์โบไฮเดรต

คาร์โบไฮเดรตใช้เป็นส่วนผสมของการผลิตเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนให้กับเชื้อจุลินทรีย์ ทั้งนี้เพื่อให้แน่ใจได้ว่า กิจกรรมของแบคทีเรียกรดแลคติกในการหมักเกิดขึ้นอย่างเพียงพอ เป็นการส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียตลอดจนสร้างกรดอินทรีย์ ทั้งชนิดและปริมาณของคาร์โบไฮเดรตที่เติมลงไปทำให้เกิดความสมดุลของการหมักระหว่างการสร้างกรดแลคติก และการลดลงของค่าพีเอช ปริมาณของคาร์โบไฮเดรตที่เติมลงไปอยู่ในช่วง 0.4-0.8 เปอร์เซ็นต์ การผลิตไส้กรอกกึ่งแห้งในประเทศสหรัฐอเมริกามีการเพิ่มปริมาณกลูโคสสูงถึง 2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพบว่ามีผลทำให้ค่าพีเอชลดลงอย่างรวดเร็ว

เชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกแต่ละชนิดมีความสามารถในการใช้น้ำตาลแต่ละชนิดได้ต่างกัน การศึกษาถึงการใช้น้ำตาลชนิดต่างๆ ในการผลิตแฮม (น้ำตาลกลูโคส ซูโครส มอลโตสแลคโตสและกาแลคโตส) ของเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก พบว่ากลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการสร้างกรดของแบคทีเรียกรดแลคติก นอกจากนั้นยังมีการศึกษาถึงการใช้อยูนิฟิเคชันจากถั่วเหลือง (soy molasses) ซึ่งมีซูโครส 19 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิตกรดแลคติก พบว่าได้กรดแลคติกในปริมาณสูง ส่วนการผลิตแฮมที่มีการใช้ส่วนผสมของข้าวเจ้าและข้าวเหนียวเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าอัตราส่วนเท่ากับ 3:1 ให้ผลดีที่สุด ซึ่งการใช้คาร์บอนของแบคทีเรียกรดแลคติก พบว่าแบคทีเรียกรดแลคติกใช้ข้าวเจ้าในช่วงแรกของการหมักเพื่อสร้างกรดแลคติก และใช้ข้าวเหนียวในช่วงกลางของการสร้างกรดแลคติก (ไพโรจน์และคณะ, 2536)

2.2.5 ส่วนผสมอื่นๆ

สารประกอบหลายชนิดนอกเหนือจากที่กล่าวมาข้างต้น ใช้เติมลงในสูตรการผลิตเพื่อช่วยสนับสนุนกระบวนการผลิตและเพิ่มรสชาติของผลิตภัณฑ์ ส่วนผสมอื่นๆ ในสูตรการผลิต ได้แก่ น้ำ เติมน้ำเพื่อช่วยให้ส่วนผสมต่างๆ กระจายตัวได้อย่างทั่วถึง ช่วยในการสกัดโปรตีน นอกจากนั้นยังช่วยให้ผลิตภัณฑ์มีความชุ่มฉ่ำและมีเนื้อสัมผัสดี เครื่องเทศ เครื่องปรุงรส เป็นส่วนผสมอีกกลุ่มหนึ่งที่นิยมใช้ได้แก่ กระเทียม พริกไทย ปาปริกา ไส้กรอกหมักของประเทศจีนหลายชนิดมีการเพิ่มรสชาติด้วยการเติมไวน์ ส่วนสารช่วยเพิ่มรสชาติที่ใช้ในส่วนผสม ได้แก่ ผงชูรส ทั้งนี้เชื่อว่าจะทำให้ผลิตภัณฑ์มีรสชาติที่ดี มีการใช้สารยับยั้งการเกิดออกซิเดชัน มีการใช้สารยับยั้งเชื้อราเพื่อป้องกันการเจริญของเชื้อราที่ปนเปื้อนในระหว่างการผลิต เพราะอาจทำให้ผลิตภัณฑ์มีรสชาติที่ไม่พึงประสงค์

กลิ่นรสที่เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์ เป็นผลมาจากเนื้อสัตว์ที่ใช้เป็นวัตถุดิบและสารประกอบอื่นๆ ที่เติมลงไปในการผลิต เช่น คาร์โบไฮเดรต สารที่ช่วยในการถนอมอาหาร เครื่องเทศ สารประกอบอื่นๆ ที่เกิดจากกิจกรรมของจุลินทรีย์โดยผ่านกระบวนการไกลโคไลซิส การสลายโปรตีน การสลายไขมันและลิพิดออกซิเดชัน โดยกระบวนการเหล่านี้ทำให้เกิดกลิ่นรส เริ่มจากเอนไซม์ในเนื้อสัตว์และจากการหมักของ

จุลินทรีย์ นอกจากนั้นยังขึ้นกับสภาวะแวดล้อมที่เกี่ยวข้องกับการผลิต ได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ ขนาดของบรรจุภัณฑ์ ขนาดอนุภาคของเนื้อสัตว์

2.3 จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการหมักไส้กรอก

อาหารหมักคองส่วนใหญ่ที่ผลิตในปัจจุบันนี้ยังใช้จุลินทรีย์เริ่มต้น (starter) เป็นจุลินทรีย์ซึ่งมีอยู่แล้วในธรรมชาติ เนื่องจากสภาพแวดล้อมในอาหารหมักมีความเหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกและจุลินทรีย์อื่น ๆ ที่มีความสำคัญต่อการหมัก จึงทำให้มีการเจริญได้ดีกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ที่ไม่สำคัญต่อการหมัก จุลินทรีย์ที่มีอยู่แล้วในธรรมชาตินี้ปนเปื้อนมากับอุปกรณ์ต่างๆ ที่ใช้ในการเตรียมอาหาร หรือมาจากอุปกรณ์ที่เคยใช้ในการหมัก เช่น การผลิตไส้กรอกในห้องที่เคยผลิตมานานแล้วและใช้อุปกรณ์ต่างๆ ที่เป็นของเดิม ย่อมทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่ดีเช่นเดิม เมื่อความเจริญทางวิชาการของอาหารหมักคองมีมากขึ้น จึงมีความเป็นไปได้ที่จะใช้เชื้อบริสุทธิ์เป็นเชื้อเริ่มต้น ปัจจุบันได้มีการคัดแยกและเลือกแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก มาพัฒนาเป็นเชื้อบริสุทธิ์ของแบคทีเรียสำหรับผลิตไส้กรอกเปรี้ยว เพื่อจะได้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มาตรฐานมีคุณภาพสม่ำเสมอ และปรับปรุงคุณภาพของอาหารหมักคองเหล่านี้ได้ดีขึ้น

2.3.1 แบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดแลคติกในระหว่างการหมักเนื้อสัตว์

แบคทีเรียพวกนี้อยู่ตามผิวหนังของเนื้อ ต้องการอากาศในการเจริญเติบโตน้อยมาก ส่วนมากเป็นพวกที่ต้องการออกซิเจนต่ำกว่าความเข้มข้นที่บรรยากาศปกติ (microaerophilic condition) สามารถใช้น้ำตาลได้โดยการออกซิโดซ์ ทำให้ได้คาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ แต่ถ้ามีปริมาณออกซิเจนจำกัดหรือถ้าการออกซิโดซ์ของน้ำตาลไม่สมบูรณ์จะทำให้เกิดกรดอินทรีย์ โดยส่วนใหญ่การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักอาหารหมัก คือการเปลี่ยนแปลงน้ำตาลไปเป็นกรดแลคติก มีหลักฐานดังนี้คือ มีรสเปรี้ยวขึ้นเนื่องจากการเพิ่มขึ้นของปริมาณกรดทั้งหมดประมาณ 1 เปอร์เซ็นต์หรือมากกว่า และการลดลงของ pH จากระหว่าง 6.2-6.6 ไปเป็น 4.2-5.0 ระดับของความเป็นกรดนี้ยังขึ้นกับระยะเวลาของการหมักการผสมกลมกลืนกันของเนื้อ และอัตราการเปลี่ยนแปลงความชื้น ในบางสปีชีส์ของแบคทีเรียกรดแลคติกจะสร้างอะซิโตน ซึ่งจะมีส่วนเรืองกลิ่นและรสของผลิตภัณฑ์อาหารหมัก แบคทีเรียพวกนี้มีบทบาทสำคัญต่อผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้จากการหมัก (fermentation products) ซึ่งแบ่งเป็น 2 ชนิดคือ

1.แบคทีเรียอื่นที่ไม่ใช่แบคทีเรียกรดแลคติก ได้แก่

1.1) *Bacillus* sp. แบคทีเรียพวกนี้จะพบเฉพาะในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่เดิมสารในเตรตเท่านั้น จะทำให้เกิดกรดแลคติก กรดอะซิติกและคาร์บอนไดออกไซด์

1.2) *Clostridium* sp. แบคทีเรียพวกนี้จะหมักให้เกิดกรดแลคติก กรดอะซิติก อะซิโตน บิวทิลแอลกอฮอล์ คาร์บอนไดออกไซด์และก๊าซไฮโดรเจน

2.แบคทีเรียกรดแลคติก

แบคทีเรียกรดแลคติก เป็นกลุ่มของแบคทีเรียแกรมบวก (gram positive) มีรูปร่างกลมหรือเป็นแท่ง (cocci or rods) ไม่มีการสร้างสปอร์ (non sporeforming) ไม่ต้องการออกซิเจนในการเจริญ ซึ่งจัดเป็น

facultative anaerobic สามารถผลิตกรดแลคติกได้โดยใช้คาร์บอนเป็นสารอาหาร น้ำตาลที่ใช้ ได้แก่ กลูโคส และแลคโตส ตัวอย่างของแบคทีเรียกรดแลคติก ได้แก่ *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* และ *Streptococcus* เป็นต้น

2.3.2 การจำแนกแบคทีเรียกรดแลคติก

การสร้างกรดแลคติกของแบคทีเรียกรดแลคติก เกิดจากการใช้สารประกอบคาร์โบไฮเดรตในกระบวนการเมแทบอลิซึมได้กรดแลคติกเป็นผลิตภัณฑ์ ดังนั้นเมื่อพิจารณาถึงผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากกระบวนการเมแทบอลิซึม สามารถจำแนกแบคทีเรียกรดแลคติกได้เป็นสองกลุ่ม คือ homofermentative และ heterofermentative

2.3.2.1 Homofermentation

Homofermentation หรือ homolactic fermentation เป็นการหมักให้เกิดกรดแลคติก โดยแบคทีเรียกรดแลคติกผลิตกรดแลคติกออกมาจากการหมักน้ำตาลกลูโคส ผ่านกระบวนการที่เรียกว่า Emden-Meyerhof-Parnas (EMP) หรือ glycolytic pathway ซึ่งแบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถผลิตกรดแลคติกได้ประมาณ 95 เปอร์เซ็นต์ จากการหมักกลูโคสหรือกาแลคโทส โดยกลูโคส 1 โมเลกุลเมื่อเข้าสู่ EMP จะได้ไพรูเวต 2 โมเลกุล จากนั้นไพรูเวตจะถูกเปลี่ยนไปเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายคือกรดแลคติก ซึ่งกรดแลคติกที่เกิดขึ้นพบทั้ง D-Lactic และ L-Lactic

2.3.2.2 Heterofermentation

Heterofermentation หรือ heterolactic fermentation เป็นการหมักให้เกิดกรดแลคติกโดยแบคทีเรียกรดแลคติก ซึ่งหมักน้ำตาลกลูโคสและแลคโทสไปเป็นผลิตภัณฑ์หลายชนิด ได้แก่ กรดแลคติก กรดแอซีติก กรดฟอร์มิก เอทานอลและคาร์บอนไดออกไซด์ ตัวอย่างแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีวิธีการหมักแบบนี้ ได้แก่ สกุล *Lactobacillus* บางสปีชีส์ และสกุล *Leuconostoc*

2.3.3 แบคทีเรียที่จัดอยู่ในกลุ่มของแบคทีเรียกรดแลคติก (ปิ่นมณี, 2546)

การจำแนกแบคทีเรียกรดแลคติกในปัจจุบัน สามารถจัดจำแนกได้เป็น 12 สกุลคือ *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* และ *Weissella* ซึ่งแต่ละสกุลมีลักษณะดังนี้

2.3.3.1 *Aerococcus*

เป็นกลุ่มของแบคทีเรียแกรมบวกตระกูล streptococcaceae เซลล์มีรูปร่างกลม ไม่มีการเคลื่อนที่ มีการแบ่งตัวแบบ 2 ระนาบ โดยทั่วไปจึงพบเซลล์อยู่เป็นคู่หรือ 4 เซลล์ สามารถเจริญได้ดีในสภาพที่มีอากาศเพียงเล็กน้อย เป็นพวก homofermentative ไม่สร้างแคตาเลส แต่มีบางสายพันธุ์ที่สร้าง แคตาเลสเทียม (pseudocatalase) แบคทีเรียที่พบในสกุลนี้มี 2 ชนิดคือ *A. urinae* และ *A. viridans* ซึ่งเปลี่ยนมาจาก *Pediococcus urinae-equi* และ *P. homari* ตามลำดับ

2.3.3.2 *Carnobacterium*

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีรูปร่างเป็นแท่งคล้าย *lactobacilli* ซึ่งก่อนหน้านี้เคยจำแนกไว้ใน *lactobacilli* ไม่มีการสร้างแคตาเลส เป็นกลุ่ม heterofermentative ส่วนใหญ่เจริญได้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส แต่ไม่เจริญที่ 45 องศาเซลเซียส มีบางสายพันธุ์ที่สร้างแก๊สจากการใช้น้ำตาลกลูโคส ไม่สามารถเจริญบนอาหารที่มีเอซิเตทและไม่สร้างกรดโอลิอิก มี GC content ประมาณ 33.0-37.2 โมลเปอร์เซ็นต์ พบได้ตามเนื้อสัตว์ที่บรรจุในสภาพสุญญากาศ ปลาและผลิตภัณฑ์จากสัตว์ปีก

2.3.3.3 *Enterococcus*

เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่มีเซลล์เป็นรูปไข่ พบการจัดเรียงตัวของเซลล์เป็นเซลล์เดี่ยวหรือเซลล์คู่ หรืออาจพบเป็นโซ่สายสั้นๆ สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 10 และ 45 องศาเซลเซียส เจริญได้ในสภาพที่มี โซเดียมคลอไรด์ 6.5 เปอร์เซ็นต์และน้ำดี (bile) 40 เปอร์เซ็นต์ เจริญได้ที่ความเป็นกรดต่าง 9.6 มีกระบวนการทางชีวเคมีเป็นแบบการหมัก มี GC content ประมาณ 37-45 โมลเปอร์เซ็นต์

2.3.3.4 *Lactobacillus*

เป็นกลุ่มของแบคทีเรียกรดแลคติกกลุ่มใหญ่ที่สุด มีความหลากหลายของลักษณะทางฟีโนไทป์ ลักษณะทางชีวเคมีและลักษณะทางสรีรวิทยา อันเนื่องมาจากมีความแตกต่างของ GC content ภายในสกุลค่อนข้างสูง โดยอยู่ระหว่าง 32-53 โมลเปอร์เซ็นต์ เซลล์มีรูปร่างเป็นแท่งหรือเป็นรูปทรงรี มีการจัดเรียงตัวเป็นเซลล์เดี่ยวๆหรือเป็นโซ่ ไม่เคลื่อนที่ ไม่มีการสร้างแคตาเลส มีบางสายพันธุ์เป็นแคตาเลสเทียม มีคุณสมบัติในการใช้เป็นโพรไบโอติกได้เป็นอย่างดี พบได้ทั่วไปในมนุษย์และสัตว์ ในนมและผลิตภัณฑ์นม อาหารหมักชนิดต่างๆและเครื่องดื่ม พบในพืชเพียงเล็กน้อย เช่น ในหญ้าหมักและผักดอง

2.3.3.5 *Lactococcus*

เป็นแบคทีเรียที่พบได้ในผลิตภัณฑ์นมหลายชนิด มีเซลล์รูปไข่ ขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5-1.0 ไมครอน ไม่มีการเคลื่อนที่ มีการจัดเรียงตัวเป็นเซลล์เดี่ยว เป็นคู่หรือต่อกันเป็นสายโซ่ กระบวนการทางชีวเคมีเป็นแบบการหมัก ได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดแลคติก (L-Lactic acid) เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส แต่ไม่เจริญที่ 45 องศาเซลเซียส มี GC content ประมาณ 34-43 โมลเปอร์เซ็นต์

2.3.3.6 *Leuconostoc*

เป็นแบคทีเรียที่พบได้ในผลิตภัณฑ์นมหลายชนิด เครื่องดื่มที่ได้จากการหมักและผักดองหลายชนิด ลักษณะของเซลล์มีรูปร่างกลม มีการจัดเรียงตัวเป็นคู่หรือเป็นโซ่ จัดเป็นพวก heterofermentative อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตอยู่ระหว่าง 20-30 องศาเซลเซียส เป็นกลุ่มที่ไม่สร้างแคตาเลส มักพบอยู่ร่วมกับ *lactobacilli* มี GC content ประมาณ 38-44 โมลเปอร์เซ็นต์

2.3.3.7 *Oenococcus*

มีรูปร่างทรงกลม ซึ่งถูกเปลี่ยนมาจาก *Leuconostoc oenus* เดิม เนื่องจากมีลักษณะทางพันธุกรรมแตกต่างจาก *Leuconostoc* และทนต่อกรดได้ดีกว่า

2.3.3.8 *Pediococcus*

มีรูปร่างกลม มีการแบ่งตัวแบบ 2 ทิศบนระนาบเดียวกัน พบการจัดเรียงตัวอยู่เป็นคู่หรืออยู่เป็น 4 เซลล์ติดกัน เป็นพวก homofermentative ต้องการสารอาหารที่มีความซับซ้อน มักพบร่วมกับพืชที่นำมาหมัก เช่น ผักดองเค็ม นอกจากนั้นยังพบว่ามีการปนเปื้อนในเครื่องคั้นหมักด้วยยีสต์ มี GC content ประมาณ 34-44 โมลเปอร์เซ็นต์

2.3.3.9 *Streptococcus*

เป็นแบคทีเรียรูปร่างกลมหรือรูปไข่ มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.8-1.2 ไมครอน มีการจัดเรียงตัวเป็นคู่หรือเป็นโซ่ ต้องการสารอาหารหลายชนิด เจริญได้ที่อุณหภูมิ 20-40 องศาเซลเซียส เป็นได้ทั้ง homofermentative และ heterofermentative พบได้ในอาหารเป็นส่วนใหญ่ นิยมใช้เป็นกล่าเชื้อในอุตสาหกรรมนมหมัก

2.3.3.10 *Tetragenococcus*

เป็นสกุลที่เปลี่ยนมาจาก *P. halophilus* เดิม ลักษณะส่วนใหญ่จึงเหมือนกัน มีรูปร่างทรงกลม ต้องการโซเดียมคลอไรด์ในการเจริญและสามารถเจริญได้ในอาหารที่มีโซเดียมคลอไรด์สูงถึง 18 เปอร์เซ็นต์ และมีลำดับของ 16 rDNA ต่างจาก *Pediococcus*

2.3.3.11 *Vagococcus*

เป็นแบคทีเรียที่แยกมาจาก *Streptococcus* กลุ่ม N เนื่องจากสามารถเคลื่อนที่ได้

2.3.3.12 *Weissella*

เป็นแบคทีเรียกรดแลคติกสกุลเดียวที่มีทั้งรูปร่างทรงกลมและเป็นท่อน ประกอบด้วย 7 สปีชีส์ ซึ่งเดิมจำแนกอยู่ในสกุล *Leuconostoc* และ *Lactobacillus* คือ *Weissella paramenteroides* (*Leuconostoc paramenteroides*), *W. cofusus* (*Lactobacillus cofusus*), *W. halotolerans* (*L. halotolerans*), *W. kandleri* (*L. kandleri*), *W. minor* (*L. minor*), *W. viridescens* (*L. viridescens*), และสปีชีส์ใหม่ที่แยกได้จากไส้กรอกเปรี้ยวคือ *W. hellenica*

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้เชื้อบริสุทธิ์ เพื่อพัฒนาคุณภาพและกระบวนการผลิตของไส้กรอกหมัก ได้แก่

Bohme (1996) ทดลองใช้เนื้อมันกระจอกเทศในการทำผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักชนิด salami โดยใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น พบว่าการใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นกลุ่ม *Lactobacilli* และ *Micrococci* จะช่วยให้ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของผลิตภัณฑ์ลดลงจาก 7.0 เป็นต่ำกว่า 5.0 อย่างรวดเร็ว ในขณะที่ผลิตภัณฑ์ที่ใช้สารกลูโคโนแลคตาแลคโตนแทนการใช้เชื้อบริสุทธิ์ทำให้ค่าความเป็นกรดเป็นด่างลดลงไม่ถึง 5.0 รวมทั้งยังพบว่าเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นที่ใช้ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพทางประสาทสัมผัสดีกว่าการไม่ใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น

Garriga (1996) ศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียกลุ่ม *Lactobacilli* ที่แยกได้จากผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักของสเปนซึ่งทำหน้าที่เป็นเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น พบว่า *Lactobacillus sake* จะทำให้ผลิตภัณฑ์ได้รับการ

ยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นรสของกรดแลคติกต่ำ เนื่องจากการผลิตกรดแลคติกในปริมาณที่ต่ำกว่าการใช้ *Lactobacillus plantarum* นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์ที่ไม่ใช่เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ผลิตได้มีกลิ่นที่ไม่ต้องการของไฮโดรเจนซัลไฟด์ เนื่องจากการเจริญเติบโตของแบคทีเรียกลุ่ม Enterobacteriaceae จำนวนมาก

Samoylenko(1997) ศึกษาการใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นผสมระหว่าง *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei* และ *Micrococcus varians* มาผลิตไส้กรอกหมัก พบว่าทำให้ระยะเวลาการหมักผลิตภัณฑ์ลดลงถึงร้อยละ 15-20 ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีปริมาณเพิ่มขึ้นร้อยละ 5-7 มีกลิ่นและรสชาติดี มีปริมาณกรดแลคติก ร้อยละ 0.92 และผลการทดสอบทางจุลชีววิทยาแสดงให้เห็นว่า ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

Vural (1998) รายงานผลของการใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นสายพันธุ์ต่าง ๆ ต่อคุณภาพของไส้กรอกหมักชนิด Turkish โดยศึกษาเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นกลุ่ม Lactobacilli, Pediococci และ Staphylococci พบว่าการใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นในการผลิตจะทำให้ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักมีค่าความเป็นกรดเป็นด่างลดลง มีปริมาณกรดแลคติกเพิ่มขึ้น และพบว่าไส้กรอกมีสีแดงเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ลักษณะทางประสาทสัมผัสต่าง ๆ ของผลิตภัณฑ์ เช่น สี กลิ่น และการยอมรับ โดยรวมแล้วดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยเฉพาะการใช้เชื้อบริสุทธิ์กลุ่ม Pediococci

Gonzalez และ Diez (2002) ศึกษาผลของสารไนไตรท์และเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นกลุ่ม Lactobacilli ต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักชนิด Chorizo พบว่าการใช้โซเดียมไนไตรท์ในปริมาณ 50 หรือ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ร่วมกับเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นประเภท Lactobacilli จะสามารถยับยั้งการเจริญของ Enterobacteriaceae ได้โดยไม่มีผลกระทบต่อการใช้การเจริญเติบโตของแบคทีเรียกลุ่ม Micrococci

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 ตัวอย่างได้กรอกอีสานและหม่าที่นำมาคัดแยกแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก

ได้กรอกอีสานและหม่าที่นำมาใช้ในการทดลอง ซื้อมาจากร้านผลิตและจำหน่ายผลิตภัณฑ์ทั้งสองชนิด ที่มีชื่อเสียงและจำหน่ายในจังหวัดขอนแก่น (ภาพที่ 1 และ 2) ซึ่งรายละเอียดแสดงในตารางที่ 1 และ 2

ตารางที่ 1 ผลิตภัณฑ์ได้กรอกอีสานที่จำหน่ายในจังหวัดขอนแก่นที่เลือกมาคัดแยกแบคทีเรีย

ที่	ยี่ห้อผลิตภัณฑ์	ที่อยู่ของผู้ผลิต
1.	เฮง่วนเฮียง	เฮง่วนเฮียงบ้านไผ่ 211 ม.11 ต.เมืองเก่า อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40000
2.	ແໜ່ມລັບແລ	ແໜ່ມລັບແລ 301 ม. 9 ต.เมืองเก่า อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40000
3.	เจริญ	บ.เจริญขอนแก่น จำกัด 54/22-24 ถ.กลางเมือง ต.ในเมือง อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40000
4.	เจียม	ร้านเจียม ถ. กลางเมือง อ. เมือง จ. ขอนแก่น
5.	ແໜ່ມປຣິຢູນູ	ร้านແໜ່ມປຣິຢູນູ 287/2 ถ.หลังเมือง อ. เมือง จ. ขอนแก่น

ตารางที่ 2 ผลิตภัณฑ์หม่าที่จำหน่ายในจังหวัดขอนแก่นที่เลือกมาคัดแยกแบคทีเรีย

ที่	ยี่ห้อผลิตภัณฑ์	ที่อยู่ของผู้ผลิต
1.	ครัวแม่คำพอง	ร้านครัวแม่คำพอง ถ.หลังศูนย์ราชการ ต.ในเมือง อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40000
2.	ครัวอีสาน	ร้านครัวอีสาน ถ.หลังศูนย์ราชการ ต.ในเมือง อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40000
3.	คำหล้า 2	ร้านคำหล้า 2 บขส.จังหวัดขอนแก่น ต.ในเมือง อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40000
4.	ก๊วกมี ลาบก้อย	ร้านก๊วกมี ลาบก้อย ถ.หลังศูนย์ราชการ ต.ในเมือง อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40000



ภาพที่ 1 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานที่จำหน่ายในจังหวัดขอนแก่นที่เลือกมาคัดแยกแบคทีเรีย



ภาพที่ 2 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์หม่าเนื้อที่จำหน่ายในจังหวัดขอนแก่นที่เลือกมาคัดแยกแบคทีเรีย

3.2 วิธีการคัดแยกแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกจากตัวอย่างผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานและหม่า

นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานและหม่า มาตัดแบ่งและชั่งตัวอย่างมา 20 กรัม เติม 0.85% NaCl ปริมาตร 180 มิลลิลิตร บดผสมเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นนำส่วนที่เป็นสารละลายมาทำ Serial dilution โดยเจือจางสารละลายตัวอย่างที่ต้องการในช่วงความเข้มข้นที่ $10^{-1} - 10^{-6}$ เท่า นำตัวอย่างที่เจือจางแล้วมาทำการคัดแยกแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก โดยเปิดสารละลายตัวอย่างปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหาร MRS agar ที่มี 1% CaCO_3 จากนั้นนำแท่งแก้วที่ปลอดเชื้อกระจายสารละลายตัวอย่างบนอาหาร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ตรวจสอบลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหาร โดยสังเกตโคโลนีที่มีบริเวณใส (clear zone) และเลือกโคโลนีที่มีลักษณะต่างกัน เพื่อนำมาข้อมสีแบบแกรม (Gram's staining) และตรวจสอบแคตาเลส (Catalase Test) โดยมีรายละเอียดดังนี้

3.2.1 การข้อมสีแบบแกรม (Gram's staining)

การข้อมสีแบบแกรมเริ่มจากการทำความสะอาดแผ่นสไลด์ โดยใช้ น้ำยาทำความสะอาดหยดลงสไลด์ที่เปื้อก จึงใช้กระดาษทิชชูเช็ดออกให้หมดโดยไม่ต้องล้างน้ำ จากนั้นจึงนำไปผ่านเปลวไฟเพื่อกำจัดคราบไขมันตกค้าง ใช้ปากกาเมจิกชนิดทนเขียนวงกลมขนาดเท่าเหรียญบาทที่ปลายสไลด์ กลับด้านสไลด์ แล้วใช้ loop แตะน้ำกลั่นหยดลงในวงกลม จากนั้นใช้ loop แตะโคโลนีแบคทีเรียที่คัดแยกได้ เติมน้ำในวงกลมบนสไลด์ที่มีหยดน้ำ ทิ้งไว้ให้รอยเสมียร์แห้งในอากาศ (air dry) แล้วตรึงรอยเซลล์ให้ติดแน่นด้วยการผ่านเปลวไฟ (heat fix) จากนั้นหยดสี crystal violet ให้ทั่วรอยเสมียร์ทิ้งไว้ 1 นาที ล้างออกด้วยน้ำกลั่น หยดสี Gram's Iodine ลงให้ทั่วรอยเสมียร์ ทิ้งไว้ 1 นาที ล้างออกด้วยน้ำกลั่น จากนั้นล้างด้วย 95% ethyl alcohol จนสังเกตว่าไม่มีสีม่วงหลุดออกมาอีกแต่ไม่ควรนานเกิน 30 วินาที แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่นอีกครั้ง หยดสี safranin ทิ้งไว้ 30 วินาที ล้างออกด้วยน้ำกลั่น รอให้รอยเสมียร์แห้งเล็กน้อย จากนั้นศึกษาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 100 เท่า สังเกตการมียีสแกรมและดูรูปร่างการจัดเรียงตัวของเซลล์

3.2.2 การทดสอบแคตาเลส (Catalase Test)

เตรียมโคโลนีของแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกในอาหารแข็ง MRS ที่บ่มเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นนำสไลด์มาทำความสะอาดและหยดสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 3 เปอร์เซ็นต์ 1-2 หยด นำ loop เชียโคโลนีแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกที่เตรียมไว้เสมียร์ลงบนแผ่นสไลด์ หากเกิดฟองอากาศขึ้นแสดงว่าการทดสอบให้ผลเป็นบวก (catalase positive) ถ้าไม่มีฟองอากาศเกิดขึ้น ให้ผลเป็นลบ (catalase negative) นำเซลล์ที่ให้ผลเป็นลบไปศึกษาต่อไป

นำโคโลนีที่พบบริเวณโซนใสที่ให้ผลการติดสีเป็นบวก และทดสอบแคตาเลสให้ผลเป็นลบ มาทำการเพิ่มจำนวนเซลล์โดยใช้ลูปเชี่ยเชื้อลงในอาหารเหลว MRS เข้าให้กระจายตัว นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 24-48 ชั่วโมง จากนั้นเปิดเซลล์ที่เติบโตในอาหารเหลว ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงหลอด

ไมโครทิว (microtube) ไอโซเลตละ 2 หลอด ทำการปั่นเหวี่ยงให้เซลล์ตกตะกอนที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เทอาหารทิ้ง จากนั้นเติม 50% glycerol ผสมให้เข้ากัน แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสจนกว่าจะนำมาใช้ในการทดลองในขั้นตอนต่อไป

3.3 วิธีการบ่งชี้สายพันธุ์ของแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกที่คัดแยกได้

นำจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ ส่งไปบ่งชี้สายพันธุ์ (Identification) และเก็บรักษาในลักษณะเก็บแห้งแบบเยือกแข็ง (lyophilization) ที่ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ โดยใช้เทคนิคทางอนุชีววิทยา โดยวิธีการเพิ่มปริมาณ 16S rDNA โดยวิธี Polymerase Chain Reaction (PCR) จากนั้นนำ PCR products ที่ได้มาตรวจหาการเรียงตัวของลำดับเบส นำลำดับเบสที่ได้ไปเปรียบเทียบกับลำดับเบส 16S rDNA ของจุลินทรีย์ในฐานข้อมูลเพื่อบ่งชี้สายพันธุ์

3.4 ผลิตไส้กรอกอีสานและหม่าโดยการเติมแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกที่คัดเลือกได้

การผลิตผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานและหม่า การทดลองนี้ได้รับความร่วมมือจากร้านหม่อมปริญญา โดยทางร้านได้เตรียมเนื้อหมูบดที่ผสมเครื่องเทศและปรุงรสตามสูตรการผลิตไส้กรอกอีสานหรือหม่าหมูของทางร้านนำมาแบ่งออกเป็น 4 ส่วน ส่วนละ 5 กิโลกรัม (ภาพที่ 3) และมีการเติมแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกบริสุทธิ์ที่คัดเลือกได้ โดยแบ่งการทดลองแบ่งออกเป็น 4 ชุดการทดลอง โดย **ชุดการทดลองที่ 1** กำหนดให้เป็นชุดการทดลองควบคุม ที่ไม่มีการเติมจุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์ **ชุดการทดลองที่ 2** (ภาพที่ 4e) เติมแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกกรดห่อ SKKP5 โดยกำหนดให้มีจำนวนเชื้อเริ่มต้น 1×10^8 เซลล์ต่อกรัมของตัวอย่าง โดย **ชุดการทดลองที่ 3** (ภาพที่ 4f) เติมแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกกรดห่อ SKKE3 โดยกำหนดให้มีจำนวนเชื้อเริ่มต้น 1×10^8 เซลล์ต่อกรัมของตัวอย่าง และ **ชุดการทดลองที่ 4** (ภาพที่ 4g) เติมแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกกรดห่อ SKKP5 และ SKKE3 ในอัตราส่วน 1:1 โดยกำหนดให้มีจำนวนเชื้อเริ่มต้นรวม 1×10^8 เซลล์ต่อกรัมของตัวอย่าง

เมื่อเติมแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกลงไปแล้ว ผสมจนเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นยัดส่วนผสมลงในไส้หมูที่ล้างจนสะอาด (ภาพที่ 3D) ใช้เชือกมัดแบ่งเป็นข้อและแบ่งเก็บใส่ถุงแยกเพื่อเริ่มกระบวนการหมัก โดยการหมักเริ่มต้นนับจากบรรจุเนื้อหมูลงในไส้เป็นต้นไปเป็นเวลา 4 วัน โดยเก็บตัวอย่างใน วันที่ 0, 2 และ 4 มาวิเคราะห์ ทางกายภาพ ทางเคมีและประสาทสัมผัสต่อไป



ภาพที่ 3 เนื้อหมูบดที่ผสมเครื่องเทศปรุงรสแล้ว (C) และไส้หมูใช้บรรจุ (D)



ภาพที่ 4 ชุดการทดลองเติมแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกในวัตถุดิบ e) ชุดการทดลองที่ 2 เติมแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกรหัส SKKP5 f) ชุดการทดลองที่ 3 เติมแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกรหัส SKKE3 และ g) ชุดการทดลองที่ 4 เติมแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกผสมรหัส SKKP5 และ SKKE3 ตามลำดับ

3.5 การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของไส้กรอกอีสานและหม่า ทางกายภาพ ทางเคมี และจุลินทรีย์

ติดตามการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ ทางเคมี และทางจุลชีววิทยาของไส้กรอกอีสานและหม่า โดยมีการวิเคราะห์ดังต่อไปนี้

3.5.1 การวิเคราะห์ทางกายภาพ

สังเกตการเปลี่ยนแปลงของสีภายนอก และสภาพการเปลี่ยนแปลงของลักษณะของผลิตภัณฑ์

3.5.2 การวิเคราะห์ทางเคมี

(1) วิเคราะห์ความเป็นกรด-ด่าง

การทดสอบความเป็นกรด-ด่างจาก โดยทำการสุ่มตัวอย่างไส้กรอกอีสาน 10 กรัม จาก 3 จุด ผสมกับน้ำกลั่นที่ต้มไล่ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์แล้ว ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จากนั้นกรองด้วยผ้าขาวบาง นำสารละลายตัวอย่างไส้กรอกมาวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยเครื่องพีเอชมิเตอร์

(2) วิเคราะห์ปริมาณกรดรวม ตามวิธี AOAC(2000)

การทดสอบปริมาณกรดรวมทำเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ความเป็นกรด-ด่าง โดยทำการสุ่มตัวอย่างไส้กรอกอีสาน 10 กรัม จาก 3 จุด ผสมกับน้ำกลั่นที่ต้มไล่ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์แล้ว ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จากนั้นกรองด้วยผ้าขาวบาง นำสารละลายตัวอย่างแบ่งใส่ขวดพลาสติกรูปชมพู่ จำนวน 3 ขวด (ทำ 3 ซ้ำ) ปริมาตรขวดละ 40 มิลลิลิตร หยดสารละลาย 1% phenolphthalein 2-3 หยด นำสารละลายที่เตรียมได้มาไทเทรตกับสารละลาย 0.1 N NaOH จนถึงจุดยุติ (สารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อน) บันทึกปริมาตรสารละลาย 0.1 N NaOH ที่ใช้ คำนวณหาปริมาณกรดรวมโดยเทียบกับกรดแลกติก ตามสูตร ดังนี้

$$\text{ปริมาณกรดแลกติก (\% โดยน้ำหนัก)} = \frac{V \times N \times MW \times 100 \times 2.5}{1000 \times A}$$

(กรัมของกรดแลกติก/100 กรัมของตัวอย่าง)

V = ปริมาตร 0.1 N NaOH ที่ใช้ในการไทเทรต(มิลลิลิตร)

N = normality ของ NaOH (0.1 N)

MW = น้ำหนักโมเลกุลของกรดแลกติก (90.08)

A = น้ำหนักของตัวอย่างไส้กรอกอีสานหรือหม่าที่ใช้ (กรัม)

3.5.3 การวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา

(1) การหาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count)

ซั่งตัวอย่าง 20 กรัม เติมลงใน 0.85 % NaCl ปริมาตร 180 มิลลิลิตรทำ serial dilution โดยเจือจางสารละลายตัวอย่างที่ต้องการตรวจอยู่ในช่วงความเข้มข้นที่ 10^{-1} - 10^{-8} เท่า จากนั้นเปิดแต่ละความเข้มข้น ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร ลงบน plate แล้วเทอาหาร PCA ที่หลอมเหลวอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ปริมาณ 15-20 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันรอให้เย็น และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เวลา 48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีที่เจริญบนอาหาร รายงานผลเป็นโคโลนีฟอร์มมิ่งยูนิตต่อมิลลิลิตรหรือ cfu.mL⁻¹

(2) การหาปริมาณจุลินทรีย์ที่ผลิตกรด

ซั่งตัวอย่าง 20 กรัม เติมลงใน 0.85 % NaCl ปริมาตร 180 มิลลิลิตร ทำ serial dilution โดยเจือจางสารละลายตัวอย่างที่ต้องการตรวจอยู่ในช่วงความเข้มข้นที่ 10^{-1} - 10^{-8} เท่า จากนั้นนำแต่ละความเข้มข้น ปริมาตร 100 ไมโครลิตร หยดลงบนอาหาร MRS agar (1.0 % CaCO₃) นำแท่งแก้วที่ปลอดเชื้อ spread บนอาหารบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เวลา 24-48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีที่เกิดบริเวณใสรอบโคโลนี รายงานผลเป็นโคโลนีฟอร์มมิ่งยูนิตต่อมิลลิลิตรหรือ cfu.mL⁻¹

3.6 การทดสอบทางประสาทสัมผัส

นำตัวอย่างไส้กรอกอีสานและหม่าที่ผลิตได้ทั้ง 4 ชุดการทดลอง ที่หมักเป็นเวลา 2 วัน ร่วมกับผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานและหม่าที่ผลิตขายในตลาดผลิตภัณฑ์ละ 2 ราย มาทำการทดสอบทางประสาทสัมผัส โดยมีขั้นตอนดังนี้คือ การทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างสำหรับการประเมินทางประสาทสัมผัส หลังจากนั้นทำการสร้างคำอธิบายทางประสาทสัมผัสโดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 10 คน และขั้นตอน Check All That Apply (CATA) เพื่อทดสอบการรับรู้ลักษณะทางประสาทสัมผัสของไส้กรอกอีสานและหม่า โดยประเมินพร้อมกับการประเมินความชอบ โดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 48 คน

3.6.1 การทดลองหาสภาวะในการเตรียมตัวอย่างสำหรับการประเมินทางประสาทสัมผัส

จากการทดลองเบื้องต้น ผู้วิจัยกำหนดปัจจัยที่ต้องการศึกษาเพื่อหาสภาวะในการเตรียมตัวอย่างไส้กรอกจำนวน 3 ปัจจัย ปัจจัยละ 2 ระดับ ได้แก่ 1) เวลาในการนึ่งไส้กรอก คือ 10 และ 15 นาที 2) อุณหภูมิในการทอด คือ 160 และ 170 องศาเซลเซียส และ 3) ระยะเวลาในการทอด คือ 5 และ 7 นาที รวมถึงทดลองทั้งหมดที่ศึกษา 8 สิ่งทดลอง ใช้ผู้ประเมินจำนวน 4 คน ในการประเมินความชอบโดยรวม สี และการแตกตัวหลังทอดของไส้กรอก โดยใช้สเกลแบบ hedonic จำนวน 9 ระดับ (9 point-hedonic category scale)

3.6.2 การสร้างคำอธิบายลักษณะทางประสาทสัมผัส

การสร้างคำอธิบายลักษณะทางประสาทสัมผัสใช้วิธีที่ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Repertory Grid Technique เพื่อช่วยให้ผู้เข้าร่วมการประเมินสามารถคิดคำอธิบายลักษณะทางประสาทสัมผัสได้ง่ายขึ้น โดยการนำเสนอตัวอย่างไส้กรอกเพื่อใช้เป็นตัวกระตุ้น (stimuli) ให้ผู้ร่วมทดสอบสามารถคิดคำอธิบายลักษณะทางประสาทสัมผัสได้ง่าย โดยนำเสนอเป็นคู่ แล้วให้ผู้ประเมินจดบันทึกลักษณะทางประสาทสัมผัสของตัวอย่างแต่ละตัว ให้บันทึกลักษณะที่เห็นว่ามีความเหมือนกันและต่างกันลงในแบบบันทึก (ตัวอย่างแบบบันทึกแสดงในภาคผนวก ก) นอกจากนี้ผู้เข้าร่วมการประเมินได้รับคำแนะนำให้คิดคำอธิบายลักษณะทางประสาทสัมผัสโดยให้ความสำคัญไปที่ลักษณะปรากฏ เนื้อสัมผัส กลิ่น และรสชาติของตัวอย่าง โดยเมื่อชิมตัวอย่างแรกเสร็จแล้ว ให้ผู้ประเมินใช้ขนมปังจืดและจิบน้ำสะอาดเพื่อชะล้างกลิ่นรสตกค้างในปาก แล้วทดสอบตัวอย่างถัดไป ทำการเตรียมตัวอย่างไส้กรอกอีสานและหม่าก่อนการทดสอบ 30 นาที และหั่นไส้กรอกอีสานและหม่าเป็นชิ้นหนาพอประมาณ และใส่เตรียมไว้ในถ้วยพลาสติกสีขาวด้วยละ 3 ชิ้น เชิญผู้ร่วมทดสอบจำนวน 10 คน ซึ่งเป็นผู้รับประทานไส้กรอกอีสานและหม่า กำหนดให้เขียนคำอธิบายลักษณะทางประสาทสัมผัสที่คิดขึ้น ถูกสัมภาษณ์โดยนักวิจัย ให้คำอธิบายและทำความเข้าใจลักษณะคำตอบเพื่อให้คำตอบที่ชัดเจนตามแบบสอบถามที่ 1

แบบสอบถามที่ 1 แบบทดสอบการให้คำอธิบายคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของหม่า

ชื่อ.....

รหัสตัวอย่าง

คำอธิบายคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส

.....

.....

ความหมายของคำ

.....

.....

3.6.3 Check All That Apply (CATA)

คำอธิบายลักษณะทางประสาทสัมผัสที่ถูกสร้างขึ้นในการทดลองที่ 2 จะถูกนำมาใช้ในการประเมินการรับรู้ของผู้บริโภคที่มีต่อตัวอย่างไส้กรอกอีสานด้วยเทคนิค CATA คำถามที่ระบุในแบบสอบถามประกอบไปด้วยรายการของคำอธิบายลักษณะทางประสาทสัมผัส โดยผู้บริโภคเลือกคำอธิบายเหล่านี้เพื่ออธิบายลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่กำลังทดสอบที่รับรู้ได้ (Ares และคณะ, 2010) ทั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบกับวิธี just-about-right หรือ intensity questions พบว่าวิธี CATA เป็นวิธีที่ง่ายกว่า (Adams และคณะ, 2007) โดยคำอธิบายที่ถูกสร้างขึ้นจะถูกบรรจุในแบบสอบถาม ซึ่งจะถูกใช้พร้อมกับการทดสอบความชอบ

ผู้บริโภคจำนวน 48 คน ประเมินตัวอย่างไส้กรอกจำนวน 6 ตัวอย่าง และกำหนดให้ระบุลักษณะทางประสาทสัมผัสที่รับรู้ได้ โดยการเลือกทำเครื่องหมาย ✓ หน้าคำอธิบายลักษณะทางประสาทสัมผัสนั้นตามแบบสอบถามที่ 2

3.6.4 การทดสอบความชอบ (Preference Test)

ทดสอบความชอบของผู้บริโภค โดยคัดเลือกผู้บริโภคที่รับประทานผลิตภัณฑ์ไส้กรอก และยินดีเข้าร่วมการทดสอบจำนวน 48 คน โดยผู้บริโภคแต่ละคนจะได้รับตัวอย่างไส้กรอกจำนวน 6 ตัวอย่าง ซึ่งถูกนำเสนอแบบ Balance first-order and carry-over effects (MacFie และคณะ 1989) เพื่อป้องกันความคลาดเคลื่อนที่อาจเกิดจากลำดับการนำเสนอตัวอย่าง ประเมินความชอบโดยรวม ความชอบต่อสี ลักษณะเนื้อสัมผัส และรสชาติ โดยใช้สเกลแบบ hedonic จำนวน 9 ระดับ โดยระดับความชอบ 1 หมายถึง ไม่ชอบมาก และ 9 หมายถึง ชอบมาก ตามแบบสอบถามที่ 2

เมื่อชิมตัวอย่างแรกเสร็จแล้ว ให้ผู้ประเมินใช้ขนมปังจืดและจิบน้ำสะอาดเพื่อชะล้างกลิ่นรสตกค้างในปาก แล้วทดสอบตัวอย่างถัดไป ตัวอย่างไส้กรอกจะถูกเตรียมก่อนการทดสอบ 30 นาที และหั่นเป็นชิ้นหนาประมาณ 0.5 ซม. และใส่เตรียมไว้ในถ้วยพลาสติกสีขาวที่มีรหัสเป็นเลขสุ่ม 3 ตำแหน่ง ถ้วยละ 2 ชิ้น

คะแนนความชอบของผู้บริโภคถูกนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ใช้โปรแกรม SPSS Version 12.0 เพื่อประเมินความชอบที่มีต่อตัวอย่างไส้กรอกอีสาน เปรียบเทียบความแตกต่างของคะแนนเฉลี่ยโดยวิธี Duncan New Multiple Rang Test ประเมินที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

แบบสอบถามที่ 2 แบบสอบถามความชอบและ CATA

ID.....

รหัสตัวอย่าง ...

ส่วนที่ 1 คำชี้แจง ; โปรดพิมพ์ไส้กรอกหรือหม่าและระบุระดับความชอบต่อลักษณะต่อไปนี้ โดยการทำเครื่องหมาย ✓ ในช่อง ☐ ที่ตรงกับที่ท่านรู้สึกของท่านมากที่สุด กรุณาเขียนชมนมบังคับและจับน้ำที่เตรียมไว้ให้เพื่อชะล้างรสชาติตกค้างภายในปากทุกครั้งก่อนชิมตัวอย่างถัดไป

	ไม่ชอบมาก	ไม่ชอบ	ค่อนข้างไม่ชอบ	ไม่ชอบเล็กน้อย	เฉยๆ	ชอบเล็กน้อย	ค่อนข้างชอบ	ชอบ	ชอบมาก
ความชอบโดยรวม	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
ความชอบต่อสี	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
ความชอบต่อลักษณะเนื้อสัมผัส	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
ความชอบต่อรสชาติ	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐

ส่วนที่ 2 คำแนะนำ; กรุณาทำเครื่องหมาย ✓ เฉพาะในช่อง ☐ ที่แสดงลักษณะทางประสาทสัมผัสที่ท่านรับรู้ได้จากการชิมตัวอย่าง

- | | |
|---|---|
| ☐ เนื้อมีสีแดงเข้ม | ☐ เนื้อสัมผัสนุ่ม |
| ☐ เนื้อมีสีแดงอ่อน | ☐ เนื้อสัมผัสแข็ง |
| ☐ ผิวนอกมีสีน้ำตาลเข้ม | ☐ เนื้อไม่เกาะตัวกัน |
| ☐ ผิวนอกมีสีน้ำตาลอ่อน | ☐ เนื้อเกาะตัวกัน |
| ☐ ลักษณะที่เห็นกลมกลืนเป็นเนื้อเดียวกัน | ☐ ผิวนอกกรอบ |
| ☐ ลักษณะที่เห็นไม่กลมกลืนเป็นเนื้อเดียวกัน | ☐ ผิวนอกเหนียว |
| ☐ มีกลิ่นกระเทียมแรง | ☐ เนื้อนุ่มน้ำมัน |
| ☐ มีกลิ่นกระเทียมอ่อน | ☐ เนื้อไม่นุ่มน้ำมัน |
| ☐ มีกลิ่นเปรี้ยวแรง | ☐ รสเปรี้ยวมาก |
| ☐ มีกลิ่นเปรี้ยวอ่อน | ☐ รสเปรี้ยวน้อย |
| ☐ มีกลิ่นไหม้แรง | ☐ รสเค็มมาก |
| ☐ มีกลิ่นไหม้อ่อน | ☐ รสเค็มน้อย |
| ☐ ความแน่นของเนื้อมาก | ☐ รสเผ็ดมาก |
| ☐ ความแน่นของเนื้อน้อย | ☐ รสเผ็ดน้อย |
| | ☐ รสจืด |

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 การคัดแยกแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกจากตัวอย่างผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานและหม่ำ

การคัดเลือกแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกจากผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานและหม่ำ จำนวน 13 ตัวอย่างจากร้านค้าที่จำหน่ายผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานและหม่ำที่มีชื่อเสียงในจังหวัดขอนแก่นมีดังนี้

(1) ร้านค้าที่จำหน่ายผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสาน ได้แก่ เสง่วนเฮียง แหนมลับแล เจี๊รัช เจ็อม และ แหนมปริญญา

(2) ร้านค้าที่จำหน่ายผลิตภัณฑ์หม่ำเนื้อและหม่ำหมู ได้แก่ ครัวแม่คำพอง ครัวอีสาน คำหล้า2 กุ๊กมีลาบก้อย

โดยนำผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานและหม่ำจากร้านค้าดังกล่าว มาคัดแยกแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกพบว่า ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานสามารถคัดแยกแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก ทั้งหมด 71 ไอโซเลต และผลิตภัณฑ์หม่ำสามารถคัดแยกแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกทั้งหมด 26 ไอโซเลต ซึ่งรายละเอียดการคัดเลือกแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกที่ได้จากผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานและผลิตภัณฑ์หม่ำแสดงในตารางที่ 3 และตารางที่ 4 ซึ่งแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกที่คัดแยกได้นั้น ได้นำไปทดสอบขั้นตอนต่างๆต่อไป

ตารางที่ 3 แหล่งตัวอย่าง รหัสตัวอย่าง จำนวนไอโซเลตที่เกิดโซนใส ที่คัดแยกได้จากผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสาน

ลำดับ	แหล่งตัวอย่าง	รหัสตัวอย่าง	จำนวนไอโซเลต	วันที่ตรวจเก็บ
1.	เสง่วนเฮียง (20 มิ.ย. 2554)	SSHPI	11	20/06/54
2.	เสง่วนเฮียง (27 มิ.ย. 2554)	SSHPII	14	27/06/54
3.	แหนมลับแล	SSNH	15	27/06/54
4.	เจี๊รัช	SSJR	8	27/06/54
5.	เจ็อม	SSJA	6	27/06/54
6.	แหนมปริญญา (1 ม.ค.2555)	SKN	12	01/10/54
7.	แหนมปริญญา (27ม.ค.2555)	SKP, SKPI	5	27/11/54
รวม			71	

ตารางที่ 4 แหล่งตัวอย่าง รหัสตัวอย่าง จำนวนไอโซเลตที่เกิดโซนใส ที่คัดแยกได้จากผลิตภัณฑ์หม่ำ

ลำดับ	แหล่งตัวอย่าง	รหัสตัวอย่าง	จำนวนไอโซเลต	วันที่ตรวจนับ
1.	ครัวแม่คำพอง	SKKP	4	09/08/54

2.	ครวแม่คำพอง	SBP	7	27/11/54
3.	ครวอีสาน	SKKE	6	09/08/54
4.	ครวอีสาน	SBE	6	27/11/54
5.	คำหล้า 2	SKKL	1	09/08/54
6.	กูกมี ลาบก้อย	SKKM	2	09/08/54
รวม			26	

จากผลการแยกเบื่องต้นพบจุลินทรีย์ที่เกิดโซนาในสบนอาหาร MRS ที่มี 1% CaCO_3 ที่มีลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกัน ในกรณีตัวอย่างได้กรอกอีสานจำนวน 71 ไอโซเลต ตัวอย่างหม่าจำนวน 26 ไอโซเลต รวม 97 ไอโซเลต นำ 97 ไอโซเลตไปย้อมแกรมและทดสอบแคตาเลส เพื่อทดสอบจำแนกแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกเบื้องต้น จากนั้นเลือกเฉพาะไอโซเลตที่สามารถผลิตสารกาบา เพื่อนำไปบ่งชี้สายพันธุ์ ผลการทดลองพบว่า มี 7 ไอโซเลต ได้แก่ SSNH28, SKKE2, SKKE3, SKKL1, SKKP1, SKKP2, และ SKKP5 ซึ่งแยกได้จากหม่าเป็นส่วนใหญ่

4.2 ผลการบ่งชี้สายพันธุ์ของแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก

จากการคัดเลือกแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก จำนวน 7 ไอโซเลต ได้แก่ SSNH28, SKKE2, SKKE3, SKKL1, SKKP1, SKKP2, และ SKKP5 เพื่อนำมาบ่งชี้สายพันธุ์โดยใช้เทคนิคทางอนุชีววิทยา ผลการบ่งชี้สายพันธุ์แบคทีเรียผลิตกรดแลกติกแสดงดัง ตารางที่ 5 สรุปผลการบ่งชี้สายพันธุ์ได้ว่าทั้ง 7 ไอโซเลต เป็นแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก ในกลุ่ม ซึ่ง *Lactobacillus* sp. ที่พบมี 2 กลุ่ม ได้แก่ *Lactobacillus plantarum* 5 สายพันธุ์ และ *Lactobacillus pentosus* 2 สายพันธุ์

ตารางที่ 5 ผลการบ่งชี้สายพันธุ์ของแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกโดยใช้เทคนิคทางอนุชีววิทยา

ลำดับ	รหัสตัวอย่างแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก	สายพันธุ์แบคทีเรียผลิตกรดแลกติก
1.	SSNH28	<i>Lactobacillus plantarum</i> supsp. <i>plantarum</i>
2.	SKKE2	<i>Lactobacillus plantarum</i> supsp. <i>plantarum</i>
3.	SKKE3	<i>Lactobacillus pentosus</i>
4.	SKKL1	<i>Lactobacillus plantarum</i> supsp. <i>plantarum</i>
5.	SKKP1	<i>Lactobacillus plantarum</i> supsp. <i>plantarum</i>

6.	SKKP2	<i>Lactobacillus pentosus</i>
7.	SKKP5	<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>supsp. plantarum</i>

จากผลการบ่งชี้สายพันธุ์แบคทีเรียผลิตกรดแลคติกในเบื้องต้นได้เลือกแบคทีเรียกรดแลคติก 2 สายพันธุ์ ที่แตกต่างกันคือ *Lactobacillus pentosus* SKKE3 และ *Lactobacillus plantarum* SKKP5 ที่มีคุณสมบัติเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว แยกได้จากผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก ที่มีความปลอดภัย และเป็นสายพันธุ์ที่แตกต่างกัน โดยนำแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกทั้งสองสายพันธุ์นี้มาเลี้ยงเพิ่มจำนวนและเติมลงในผลิตไส้กรอกอีสานและหม่าในขั้นตอนต่อไป

4.3 ผลการผลิตไส้กรอกอีสานโดยการเติมแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก 2 สายพันธุ์ที่คัดเลือกได้

จากกระบวนการผลิตไส้กรอกอีสาน ได้เติมแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกที่คัดแยกได้ 2 สายพันธุ์ ได้แก่ คือ *Lactobacillus pentosus* SKKE3 และ *Lactobacillus plantarum* SKKP5 ในปริมาณ 1×10^8 เซลล์ต่อกรัมไส้กรอก ลงในเนื้อหมบที่ผ่านกระบวนการผลิตจากร้านค้าแล้ว โดยผสมให้เข้ากับเนื้อหมู จากนั้นนำไปบรรจุเป็นผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสาน ซึ่งแบ่งการทดลองเป็น 4 ชุดการทดลองคือ ชุดการทดลองที่ 1 กำหนดให้เป็นชุดการทดลองควบคุม (ไม่เติมแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก) ชุดการทดลองที่ 2 เติมแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก *Lactobacillus plantarum* SKKP5 ชุดการทดลองที่ 3 เติมแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก *Lactobacillus pentosus* SKKE3 และชุดการทดลองที่ 4 เติม *L. plantarum* SKKP5 และ *L. pentosus* SKKE3 ในอัตราส่วน 1:1 ดังแสดงในภาพที่ 5



ภาพที่ 5 ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานที่เติมแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก 4 ชุดการทดลอง

เก็บตัวอย่างไส้กรอกอีสานที่หมักเป็นระยะเวลา 0, 2 และ 4 วัน นำมาวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ ทางเคมี และ จุลินทรีย์ ส่วนการประเมินทางประสาทสัมผัสใช้ไส้กรอกอีสานที่หมักเป็นระยะเวลา 2 วัน โดยมีผลการทดลองดังนี้

4.3.1 ผลการวิเคราะห์ทางกายภาพ

จากการตรวจลักษณะผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานทางกายภาพโดยคุณลักษณะปรากฏและกลิ่นของตัวอย่างที่เก็บในวันที่ 0 วันที่ 2 และวันที่ 4 พบว่า โดยวันที่ 0 ไส้กรอกมีกลิ่นฉุนของเครื่องเทศค่อนข้างแรง ลักษณะของเนื้อหมูก่อนข้างขาวอมชมพู เนื้อสดชุ่มน้ำ หลังจากนั้นตากผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานในที่ที่มีลมผ่านสะดวก ในวันที่ 2 พบว่า ไส้กรอกมีกลิ่นฉุนของเครื่องเทศลดลง เนื้อหมูเริ่มมีสีชมพู บริเวณผิวภายนอกไส้กรอกแห้งไม่มีน้ำออกจากผลิตภัณฑ์ไส้กรอก แต่ไส้กรอกเริ่มมีกลิ่นเปรี้ยวเกิดจากการหมัก

ลักษณะเนื้อหุ้มอดตัวกันแต่ไม่แข็งมาก ในวันที่ 4 ไส้กรอกมีกลิ่นเปรี้ยวเกิดจากการหมักแรงมากขึ้น ผิวไส้กรอกแห้งมากเกาะตัวกันแน่นพอสมควร ไม่มีน้ำออกจากไส้กรอก ลักษณะการเปลี่ยนแปลงของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานแสดงดัง ตารางที่ 6

ตารางที่ 6 การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพที่เวลาต่าง ๆ กันของไส้กรอกอีสานหมักที่อุณหภูมิห้อง

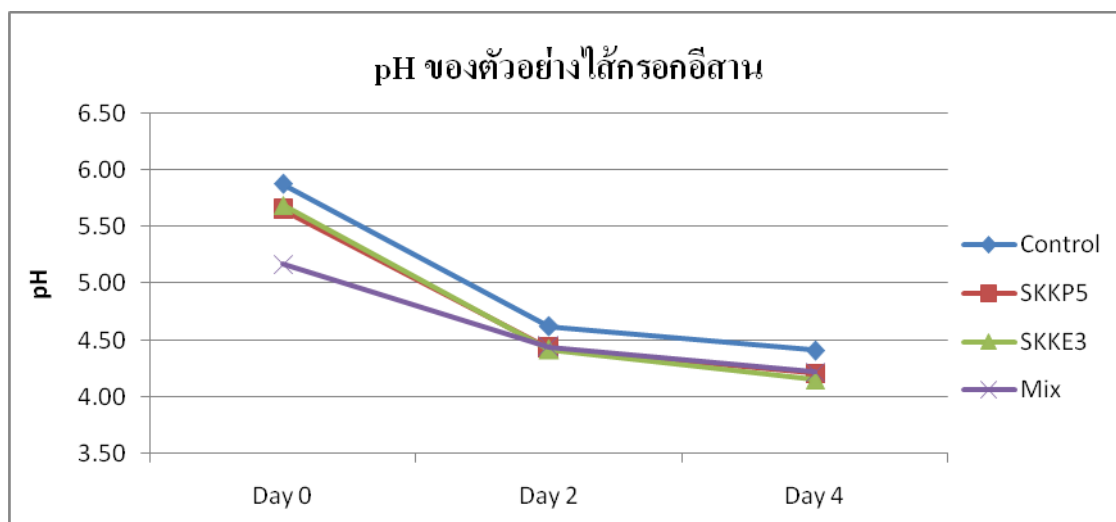
วันที่	ลักษณะทางกายภาพ
0	มีกลิ่นคาวเนื้อหมูและกลิ่นเครื่องเทศค่อนข้างแรง สีเนื้อหมูขาวอมชมพู และผิวของไส้กรอกมีความชุ่มน้ำ
2	เริ่มมีกลิ่นเปรี้ยวจากการหมัก ผิวไส้กรอกแห้งแต่ไม่แข็งมากนัก เนื้อภายในจับตัวเป็นก้อนสีซีด
4	มีกลิ่นเปรี้ยวเกิดจากการหมักที่รุนแรง และมีกลิ่นเนื้อเริ่มเสื่อมเสีย ผิวไส้กรอกแห้งมาก เนื้ออัดตัวกันแน่นพอสมควร

4.3.2. ผลการวิเคราะห์ทางเคมี

การวิเคราะห์ทางเคมี ได้มีการวิเคราะห์ความเป็นกรด-ด่าง (pH) วิเคราะห์ปริมาณกรดรวม ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานที่หมักเป็นระยะเวลา 0, 2 และ 4 วัน ผลการวิเคราะห์มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

1) ผลการวิเคราะห์ความเป็นกรด-ด่าง (pH)

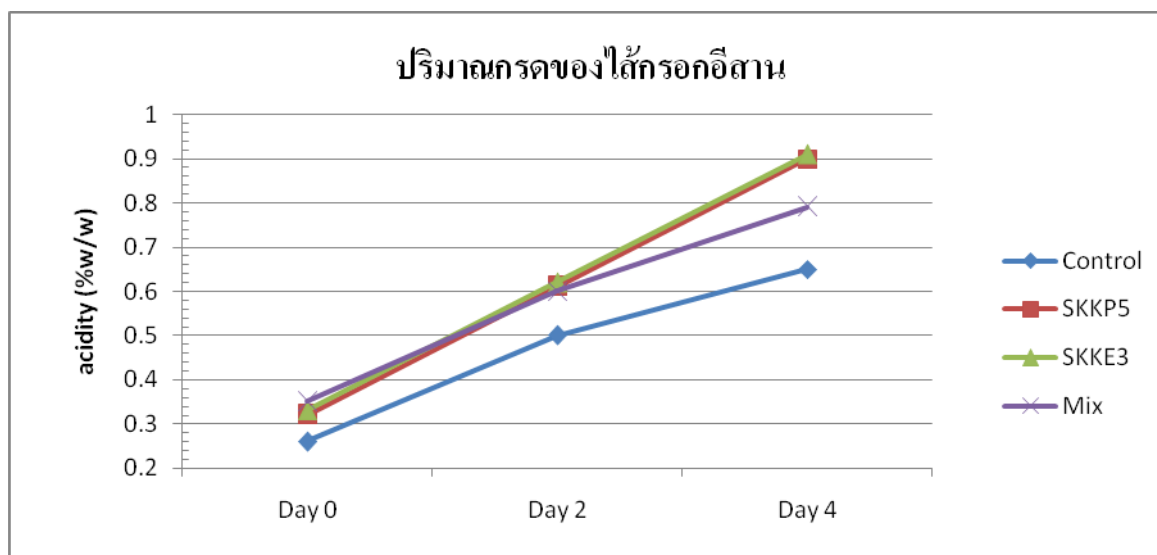
ผลการวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่างแสดงในภาพที่ 6 พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างของตัวอย่างไส้กรอกอีสานทั้ง 4 สภาวะการทดลอง มีค่าลดลงจากวันที่ 0 จนถึงวันที่ 2 อย่างชัดเจน และมีค่าลดลงเล็กน้อยหลังจากวันที่ 2 จนถึงวันที่ 4 แนวโน้มที่ลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง พบสภาวะการทดลองที่มีการเติมแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกมีค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงมากกว่าสภาวะควบคุม สรุปได้ว่าตัวอย่างไส้กรอกอีสานในระหว่างการหมักมีปริมาณกรดเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณกรดรวมที่เพิ่มขึ้นของตัวอย่างไส้กรอกอีสาน โดยปริมาณกรดที่เพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของตัวอย่างไส้กรอกอีสานลดลงด้วยเช่นกัน แต่อย่างไรก็ตามจากวันที่ 2 ถึง 4 ของการหมักค่าความเป็นกรดเป็นด่างไม่ลดลงตามปริมาณกรดแลคติกที่เพิ่มขึ้น อาจเนื่องจากว่าค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่ประมาณ 4-5 เป็นช่วงของการเป็นบัฟเฟอร์ของกรดแลคติกจึงทำให้ค่าความเป็นกรดเป็นด่างเปลี่ยนแปลงน้อยมากถึงแม้จะมีกรดแลคติกในตัวอย่างสูงขึ้นก็ตาม



ภาพที่ 6 ค่าความเป็นกรดต่างของตัวอย่างไส้กรอกอีสานที่หมักเป็นเวลา 0, 2 และ 4 วัน

2) ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดรวม

การเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดรวมจากการหมักไส้กรอกอีสานทั้ง 4 สถานะการทดลอง แสดงในภาพที่ 7 ผลการทดลองพบว่าปริมาณกรดรวม จากตัวอย่างไส้กรอกอีสานทั้ง 4 ชุดการทดลอง มีปริมาณเพิ่มขึ้น ในวันที่ 2 และวันที่ 4 ของการหมักตามลำดับ แต่สถานะการทดลองที่มีการเติมแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกมีปริมาณกรดรวมสูงกว่าสถานะควบคุมซึ่งสอดคล้องกับค่าความเป็นกรด-ด่างที่ลดลง



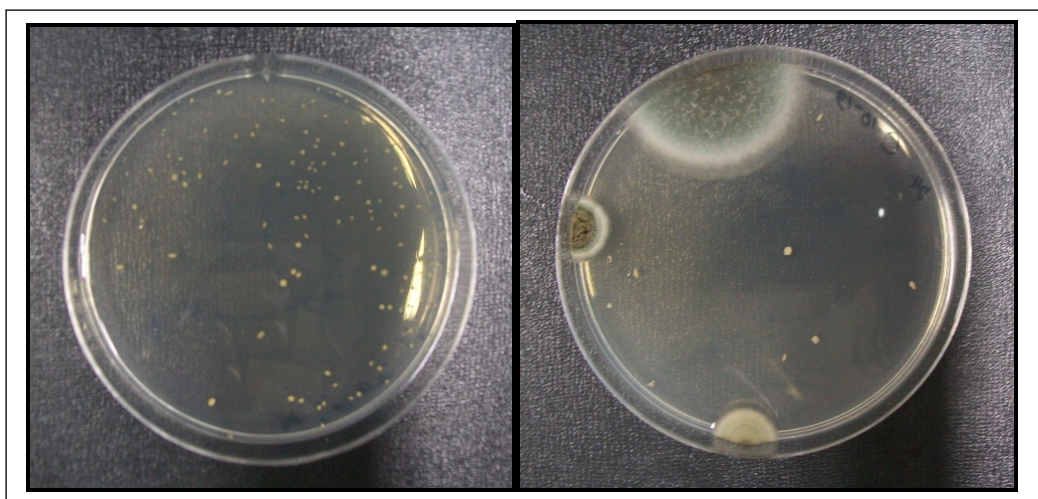
ภาพที่ 7 ปริมาณกรดรวมของตัวอย่างไส้กรอกอีสานที่หมักเป็นเวลา 0, 2 และ 4 วัน

4.3.3 ผลการวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา

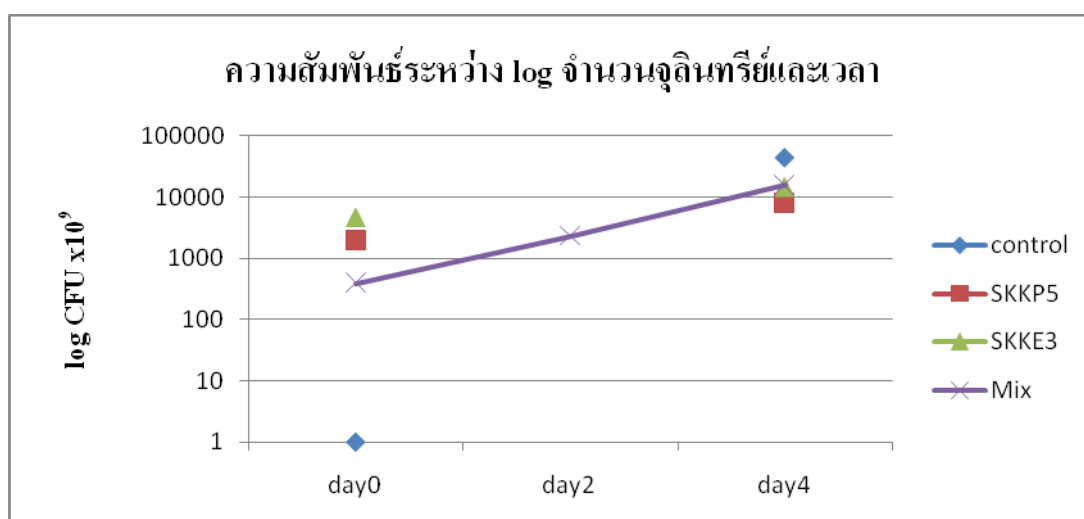
การวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา นำตัวอย่างไส้กรอกอีสานที่เจือจางตั้งแต่ 1×10^{-1} ถึง 1×10^{-8} เท่า มาหาปริมาณจุลินทรีย์ ซึ่งแบ่งออกเป็น การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด โดยตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่พบบนอาหาร PCA และการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ผลิตกรด โดยทำการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ผลิตกรดที่พบบริเวณใส บนอาหารแข็ง MRS นำข้อมูลที่ได้รายงานเป็นกราฟ แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณจุลินทรีย์ที่ตรวจนับ (CFU) และระยะเวลาในการเก็บตัวอย่างไส้กรอกอีสาน (วัน) โดยผลการวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์ มีดังต่อไปนี้

1) ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด

การตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่พบบนอาหาร PCA จากตัวอย่างไส้กรอกอีสานที่หมักเป็นเวลา 0, 2 และ 4 วัน โดยนับจำนวนโคโลนีของจุลินทรีย์ที่ขึ้นบนอาหาร PCA แสดงในภาพที่ 8



ภาพที่ 8 จุลินทรีย์ที่ตรวจนับได้บนอาหาร PCA

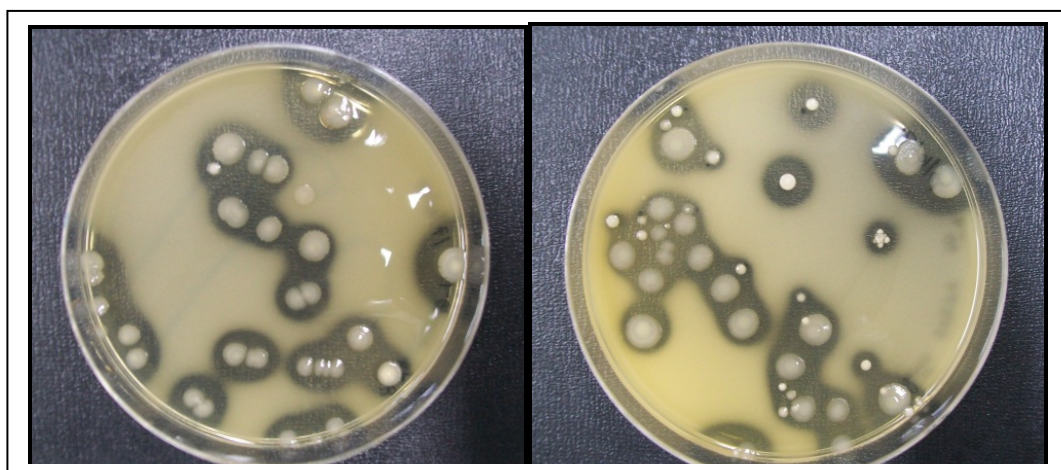


ภาพที่ 9 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ตรวจนับได้ ตัวอย่างไส้กรอกอีสานที่หมักเป็นเวลา 0, 2 และ 4 วัน

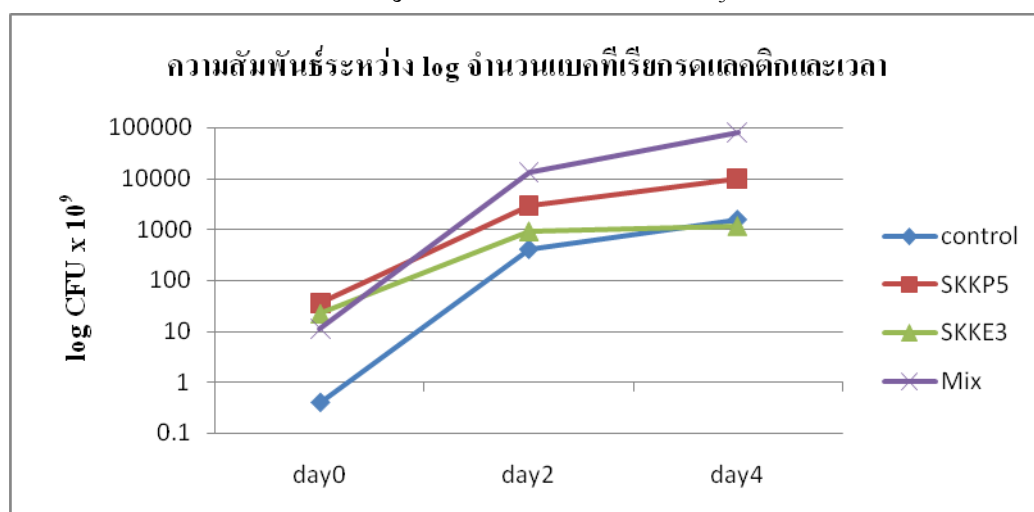
ผลการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดบนอาหาร PCA แสดงในภาพที่ 9 พบว่า การตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ในวันที่ 2 มีความผิดพลาดในการเก็บข้อมูลของตัวอย่างไส้กรอกอีสานชุดการทดลองควบคุม (Control) ชุดการทดลองที่ 2 (SKKP5) และชุดการทดลองที่ 3 (SKKE3) ส่วนชุดการทดลองที่ 4 (SKKP5 : SKKE3) สามารถตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ได้ เมื่อนำข้อมูลที่ได้มาเขียนเป็นกราฟพบว่าจุลินทรีย์มีแนวโน้มการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นจากวันที่ 0 จนถึงวันที่ 4 ตามลำดับ

2) ปริมาณจุลินทรีย์ผลิตกรด

การตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ผลิตกรด ที่พบบนอาหารแข็ง MRS จากตัวอย่างไส้กรอกอีสานที่หมักเป็นเวลา 0, 2 และ 4 วัน โดยนับจำนวนจุลินทรีย์ผลิตกรดที่มีบริเวณโซนใส ดังแสดงในภาพที่ 10 ผลการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ผลิตกรดต่อมิลลิตร แสดงดังภาพที่ 11 สรุปได้ว่าจำนวนแบคทีเรียผลิตกรดชุดที่เดิมแบคทีเรียมีปริมาณมากกว่าชุดควบคุมในวันที่ 0 และทุกชุดการทดลองมีจำนวนเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ในวันที่ 0 จนถึงวันที่ 2 แต่หลังจากวันที่ 2 ถึงวันที่ 4 ของการหมักมีจำนวนเพิ่มขึ้นที่ลดลง ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับปริมาณกรดรวมที่เพิ่มขึ้นจากการผลิตกรดของแบคทีเรียผลิตกรดที่มีจำนวนเพิ่มขึ้น และส่งผลให้ค่าความเป็นกรดต่างลดลง



ภาพที่ 10 แบคทีเรียกรดแลคติกที่เจริญบนอาหาร MRS (1% CaCO_3) และบริเวณโซนใสรอบโคโลนี



ภาพที่ 11 จำนวนจุลินทรีย์ผลิตกรดจากตัวอย่างไส้กรอกอีสานที่หมักเป็นเวลา 0, 2 และ 4 วัน

4.3.4 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส

เพื่อต้องการทราบการยอมรับในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานหลังจากการเดิมเบคที่เรียผลิตกรดแลคติกที่คัดแยกได้ จึงทำการทดสอบทางประสาทสัมผัส โดยมีการเปรียบเทียบข้อมูลการทดสอบทางประสาทสัมผัสระหว่างตัวอย่างผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานที่ได้จากการเดิมเบคที่เรียผลิตกรดแลคติกดังกล่าว และผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานที่วางจำหน่ายในร้านที่มีชื่อเสียงของจังหวัดขอนแก่น ซึ่งเชิญผู้ทดสอบชิมทั้งหมด 48 คน ที่บริโภคผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสาน มาทำการทดสอบทางประสาทสัมผัส มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

1. ผลการทดสอบหาสภาวะในการเตรียมตัวอย่างสำหรับการทดสอบทางประสาทสัมผัส

ปัจจัยที่ศึกษาในการเตรียมตัวอย่างสำหรับการทดสอบทางประสาทสัมผัส ประกอบด้วยเวลาในการนึ่ง เวลาในการทอด และอุณหภูมิในการทอดตัวอย่างไส้กรอกอีสาน ซึ่งกำหนดปัจจัยต่างกัน 2 ระดับ มีทั้งหมด 8 สิ่งทดลอง คือ ใช้เวลาในการนึ่งที่ 10 และ 15 นาที ใช้เวลาในการทอดที่ 5 และ 7 นาที และอุณหภูมิที่ใช้ทอดตัวอย่างไส้กรอกอีสานที่ 160 และ 170 องศาเซลเซียส ตามลำดับ โดยสิ่งทดลองทั้งหมดแสดงใน ตารางที่ 7

ตารางที่ 7 สิ่งทดลองที่ศึกษาเพื่อหาสภาวะในการเตรียมตัวอย่าง

สิ่งทดลอง	เวลานึ่ง (นาที)	เวลาทอด (นาที)	อุณหภูมิ (°C)
1.	15	5	170
2.	10	5	170
3.	10	5	160
4.	15	5	160
5.	15	7	170
6.	10	7	170
7.	15	7	160
8.	10	7	160

จากการประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัสของตัวอย่างไส้กรอกอีสานที่เตรียมในสภาวะที่แตกต่างกันทั้งหมด 8 สิ่งทดลอง (ตารางที่ 7) ผลการประเมินพบว่า ด้านสีของไส้กรอกอีสาน มีค่าอยู่ในช่วง 6.25 – 9.00 ซึ่งสิ่งทดลองที่มีค่าด้านสีต่ำที่สุดคือ สิ่งทดลองที่ 2 มีค่า 6.25 และสิ่งทดลองที่มีค่าด้านสีสูงที่สุดคือ สิ่งทดลองที่ 7 มีค่า 9.00 ด้านการแตกตัว ที่ค่าอยู่ในช่วง 1.00 – 8.00 สิ่งทดลองที่มีค่าด้านการแตกตัวต่ำที่สุดคือ สิ่งทดลองที่ 5 สิ่งทดลองที่ 7 และสิ่งทดลองที่ 8 และสิ่งทดลองที่มีค่าด้านการแตกตัวสูงที่สุดคือ สิ่งทดลองที่ 2 มีค่า 8.00 ด้านความชอบโดยรวม มีค่าอยู่ในช่วง 5.25 – 8.25 ซึ่งสิ่งทดลองที่มีค่าด้านความชอบ

โดยรวมต่ำที่สุดคือ สิ่งทดลองที่ 2 มีค่า 5.25 และสิ่งทดลองที่มีค่าด้านความชอบโดยรวมสูงที่สุดคือ สิ่งทดลองที่ 4 และ 7 มีค่า 8.25

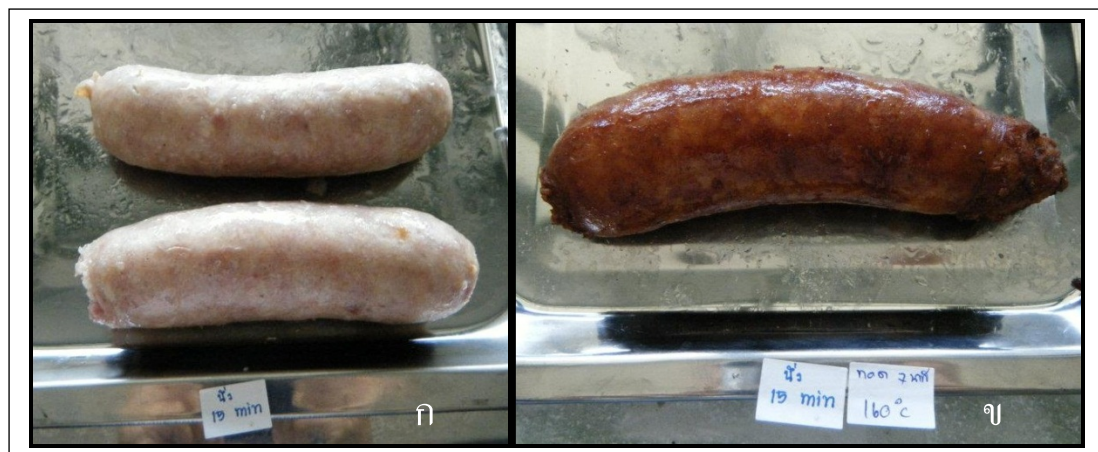
ทั้งนี้เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยด้านความชอบโดยรวมพบว่าสิ่งทดลองที่ 4 และสิ่งทดลองที่ 7 มีค่าเฉลี่ยสูงที่สุด จึงนำมาพิจารณาด้านสีและการแตกตัวร่วมด้วย พบว่าด้านสีของสิ่งทดลองที่ 7 มีค่าสูงกว่าสิ่งทดลองที่ 4 อย่างไรก็ตามในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างสามารถคัดส่วนที่แตกตัวของตัวอย่างไส้กรอกอีสานออกได้ ดังนั้นจากการทดสอบสภาวะในการเตรียมตัวอย่างไส้กรอกอีสานสำหรับการทดสอบทางประสาทสัมผัส จึงเลือกสิ่งทดลองที่ 7 คือ สภาวะใช้เวลาในการนึ่งที่ 15 นาที ใช้เวลาในการทอดที่ 7 นาที อุณหภูมิที่ใช้ทอดตัวอย่างไส้กรอกอีสานที่ 160 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 12) โดยค่าเฉลี่ยลักษณะทางประสาทสัมผัสดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 คะแนนลักษณะทางประสาทสัมผัสเฉลี่ยของการศึกษาหาสภาวะในการเตรียมตัวอย่าง

สิ่งทดลอง	ลักษณะทางประสาทสัมผัส		
	สี	การแตกตัว	ความชอบโดยรวม
1.	7.25±0.96ab	6.00±2.00b	6.75±1.26b
2.	6.25±1.50a	8.00±0.82c	5.25±0.96a
3.	8.00±0.00bcd	2.50±0.58a	8.00±0.82b
4.	8.75±0.50cd	1.50±0.58a	8.25±0.96b
5.	8.25±0.50bcd	1.00±0.00a	7.75±0.96b
6.	7.50±1.00bc	2.50±1.29a	7.25±1.26b
7.	9.00±0.00d	1.00±0.00a	8.25±0.96b
8.	8.75±0.50cd	1.00±0.00a	8.00±0.82b

หมายเหตุ 1) Mean ± Standard deviation

2) ในแถวเดียวกัน ตัวอักษรภาษาอังกฤษต่างกันหมายถึงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($\alpha \leq 0.05$)



ภาพที่ 12 ไส้กรอกอีสานหนึ่งเป็นเวลา 15 นาที (ก) และทอดที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส เวลา 7 นาที (ข)

2. ผลการสร้างคำอธิบายลักษณะทางประสาทสัมผัส

เมื่อได้สภาวะในการเตรียมตัวอย่างสำหรับการทดสอบทางประสาทสัมผัสและเตรียมตัวอย่างไส้กรอกอีสานแล้ว จึงเชิญผู้ทดสอบจำนวน 10 คน ซึ่งเป็นผู้บริโภควิถีไส้กรอกอีสานมาทำการทดสอบชิมเพื่อสร้างคำอธิบายลักษณะทางประสาทสัมผัสที่ได้หลังจากการทดสอบชิมตัวอย่างไส้กรอกอีสาน สามารถสร้างคำได้จำนวน 19 คำ โดยเป็นคำที่อธิบายลักษณะภายนอกของผิวตัวอย่างไส้กรอกอีสาน ลักษณะเนื้อของไส้กรอกอีสาน รวมทั้งกลิ่นและรสชาติของไส้กรอกอีสาน แสดงดัง ตารางที่ 9

ตารางที่ 9 คำอธิบายลักษณะทางประสาทสัมผัสของไส้กรอกอีสาน

คำอธิบายลักษณะทางประสาทสัมผัส	
เนื้อมีสีแดง	เนื้อไม่เกาะตัวกัน
ผิวนอกมีสีน้ำตาล	เนื้อเกาะตัวกัน
ลักษณะที่เห็นกลมกลืนเป็นเนื้อเดียวกัน	ผิวนอกกรอบ
ลักษณะที่เห็นไม่กลมกลืนเป็นเนื้อเดียวกัน	ผิวนอกเหนียว
มีกลิ่นกระเทียม	เนื้ออมน้ำมัน
มีกลิ่นเปรี้ยว	รสเปรี้ยว
มีกลิ่นไหม้	รสเค็ม
ความแน่นของเนื้อ	รสเผ็ด
เนื้อสัมผัสนุ่ม	รสจืด
เนื้อสัมผัสแข็ง	

3. ผลจากการทดสอบผู้บริโภคโดยเทคนิค Check All That Apply (CATA)

หลังจากขั้นตอนการสร้างคำอธิบายลักษณะทางประสาทสัมผัสได้สร้างคำเกี่ยวกับลักษณะของไส้กรอกอีสานจำนวน 19 คำ จากนั้นนำมาสร้างเป็นแบบสอบถามโดยเทคนิค CATA และเชิญผู้บริโภคจำนวน 48 คน มาทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสและระบุลักษณะทางประสาทสัมผัสที่รับรู้ได้ วิธีการทดสอบดังแสดงใน ภาพที่ 13 ส่วนผลการระบุลักษณะทางประสาทสัมผัสแสดงในตารางที่ 10

ตารางที่ 10 ความถี่ของคำอธิบายลักษณะทางประสาทสัมผัสของไส้กรอกอีสานที่ผู้บริโภคระบุ

คำอธิบายลักษณะทางประสาทสัมผัส	ความถี่ของคำอธิบายแต่ละตัวอย่าง					
	Mix	SKKE3	SKKP5	เจ้าราช	control	เอ็มโอด
เนื้อมีสีแดงเข้ม	12	11	10	31	17	16
เนื้อมีสีแดงอ่อน	23	29	27	7	22	22
ผิวนอกมีสีน้ำตาลเข้ม	24	8	10	39	32	21
ผิวนอกมีสีน้ำตาลอ่อน	14	30	24	1	5	17
ลักษณะที่เห็นกลมกลืนเป็นเนื้อเดียวกัน	7	14	10	22	19	18
ลักษณะที่เห็น ไม่กลมกลืนเป็นเนื้อเดียวกัน	23	19	23	11	14	17
มีกลิ่นกระเทียมแรง	8	19	19	10	13	15
มีกลิ่นกระเทียมอ่อน	21	12	12	23	23	17
มีกลิ่นเปรี้ยวแรง	10	19	18	1	12	19
มีกลิ่นเปรี้ยวอ่อน	19	17	16	27	21	15
มีกลิ่นไหม้แรง	2	2	1	2	6	1
มีกลิ่นไหม้อ่อน	16	17	18	15	16	17
ความแน่นของเนื้อมาก	21	12	15	28	23	18
ความแน่นของเนื้อน้อย	16	27	27	10	14	15
เนื้อสัมผัสนุ่ม	21	31	30	15	21	24
เนื้อสัมผัสแข็ง	17	6	8	23	15	11
เนื้อไม่เกาะตัวกัน	22	23	29	13	16	21
เนื้อเกาะตัวกัน	15	15	10	24	21	16
ผิวนอกกรอบ	8	6	6	11	12	11
ผิวนอกเหนียว	22	16	17	12	10	14
เนื้ออมน้ำมัน	29	23	14	12	13	14

เนื้อไม่อมน้ำมัน	6	12	15	23	19	17
รสเปรี้ยวมาก	16	31	30	2	27	31
รสเปรี้ยวน้อย	22	13	14	35	15	9
รสเค็มมาก	10	4	6	9	7	9
รสเค็มน้อย	19	20	18	20	21	17
รสเผ็ดมาก	1	1	1	0	1	1
รสเผ็ดน้อย	16	21	14	16	17	18
รสจืด	4	4	4	12	5	5

โดยผลการทดสอบมีดังนี้ ตัวอย่างไส้กรอกอีสานชุดการทดลองควบคุม(Control) ผู้บริโภคส่วนใหญ่รับรู้ว่ามีเนื้อไส้กรอกมีสีแดงอ่อน ผิวนอกสีน้ำตาลเข้ม ส่วนประกอบต่างๆ ที่มองเห็นมีความเป็นเนื้อเดียวกัน มีกลิ่นกระเทียม กลิ่นเปรี้ยว และกลิ่นหอมอ่อน มีความแน่นเนื้อมากแต่เนื้อสัมผัสนุ่ม เนื้อเกาะตัวกัน ผิวนอกกรอบ เนื้อไม่อมน้ำมัน มีรสเปรี้ยวมาก แต่มีรสเค็มและเผ็ดน้อย

ตัวอย่างไส้กรอกอีสาน SKKP5 : SKKE3 (Mix) ผู้บริโภคส่วนใหญ่ระบุว่าเนื้อไส้กรอกมีสีแดงอ่อน ผิวนอกมีสีน้ำตาลเข้ม ลักษณะเนื้อไส้กรอกไม่เป็นเนื้อเดียวกัน มองเห็นส่วนประกอบแยกจากกัน ชัดเจน มีกลิ่นกระเทียม กลิ่นเปรี้ยว และกลิ่นหอมอ่อน มีความแน่นเนื้อมากแต่เนื้อสัมผัสนุ่ม เนื้อสัมผัสไม่เกาะตัวกัน โดยผิวนอกมีความเหนียว เนื้ออมน้ำมัน มีรสเปรี้ยว รสเค็ม และรสเผ็ดน้อย

ตัวอย่างไส้กรอกอีสาน SKKE3 ผู้บริโภคส่วนใหญ่รับรู้ว่ามีเนื้อไส้กรอกมีสีแดงอ่อน ผิวนอกมีสีน้ำตาลอ่อน ลักษณะเนื้อไส้กรอกไม่เป็นเนื้อเดียวกัน มองเห็นส่วนประกอบแยกจากกันชัดเจน มีกลิ่นกระเทียม และกลิ่นเปรี้ยวแรง มีกลิ่นหอมอ่อน มีความแน่นเนื้อน้อยและเนื้อสัมผัสนุ่ม เนื้อสัมผัสไม่เกาะตัวกัน ผิวนอกมีความเหนียว เนื้ออมน้ำมัน มีรสเปรี้ยวมาก แต่มีรสเค็มและเผ็ดน้อย

ตัวอย่างไส้กรอกอีสาน SKKP5 ผู้บริโภคส่วนใหญ่รับรู้ว่ามีเนื้อไส้กรอกมีสีแดงอ่อน ผิวนอกมีสีน้ำตาลอ่อน ลักษณะเนื้อไส้กรอกไม่เป็นเนื้อเดียวกัน มองเห็นส่วนประกอบแยกจากกันชัดเจน มีกลิ่นกระเทียม และกลิ่นเปรี้ยวแรง มีกลิ่นหอมอ่อน มีความแน่นเนื้อน้อยและเนื้อสัมผัสนุ่ม เนื้อสัมผัสไม่เกาะตัวกัน ผิวนอกมีความเหนียว เนื้อไส้กรอกไม่อมน้ำมัน มีรสเปรี้ยวมาก แต่มีรสเค็มและเผ็ดน้อย

ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานร้านเจริญ ผู้บริโภคส่วนใหญ่รับรู้ว่ามีเนื้อไส้กรอกมีสีแดงเข้ม ผิวนอกมีสีน้ำตาลเข้ม ส่วนประกอบต่างๆ ที่มองเห็นมีความเป็นเนื้อเดียวกัน มีกลิ่นกระเทียม กลิ่นเปรี้ยว และกลิ่นหอมอ่อน มีความแน่นเนื้อมากและเนื้อสัมผัสแข็ง เนื้อสัมผัสเกาะตัวกัน ผิวนอกเหนียว เนื้อไม่อมน้ำมัน มีรสเปรี้ยว รสเค็ม และเผ็ดน้อย

ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานร้านเอนโธ ผู้บริโภคส่วนใหญ่รับรู้ว่ามีเนื้อไส้กรอกมีสีแดงอ่อน ผิวนอกมีสีน้ำตาลเข้ม มองเห็นส่วนประกอบเป็นเนื้อเดียวกัน มีกลิ่นกระเทียมและกลิ่นหอมอ่อน แต่มีกลิ่นเปรี้ยวแรง

มีความแน่นเนื้อมากแต่เนื้อสัมผัสนุ่ม เนื้อไม่เกาะตัวกัน ผิวนอกเหนียว เนื้อไส้กรอกไม่อมน้ำมัน มีรสเปรี้ยวมาก แต่รสเค็มและเผ็ดน้อย



ภาพที่ 13 การเตรียมตัวอย่างและการทดสอบทางประสาทสัมผัสเพื่อระบุลักษณะทางประสาทสัมผัสของไส้กรอกอีสานและหม่า

4. ผลการทดสอบความชอบ (Preference Test)

เมื่อทำการทดสอบสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างไส้กรอกอีสาน สภาวะที่เหมาะสมคือใช้เวลาหนึ่งที่ 15 นาที เวลาในการทอดที่ 7 นาทีและอุณหภูมิในการทอด 160 องศาเซลเซียส นำมาทำการสร้างคำอธิบายลักษณะทางประสาทสัมผัส ได้ทั้งหมด 19 คำ หลังจากนั้นสร้างแบบสอบถามเพื่อทำการทดสอบความชอบของผู้บริโภคทั้งหมด 48 คน ที่มีต่อตัวอย่างไส้กรอกอีสานทั้งหมด 6 ตัวอย่างโดยลักษณะทางประสาทสัมผัสที่ทดสอบคือ ความชอบโดยรวม ความชอบสี ความชอบต่อเนื้อสัมผัสและความชอบต่อรสชาติของไส้กรอกอีสาน ผลการทดสอบแสดงดัง ตารางที่ 11

ตารางที่ 11 คะแนนความชอบต่อลักษณะทางประสาทสัมผัสเฉลี่ยของไส้กรอกอีสาน

ตัวอย่าง	ลักษณะทางประสาทสัมผัส			
	ความชอบโดยรวม	ความชอบต่อสี	ความชอบต่อเนื้อสัมผัส	ความชอบต่อรสชาติ
Mix	5.52±2.13 ns	6.04±1.83b	5.00±2.34 ns	5.90±2.15 ns
SKKE3	5.71±2.25 ns	6.27±1.66b	6.04±1.79 ns	5.83±2.12 ns
SKKP5	5.90±1.82 ns	6.02±1.63b	5.92±1.82 ns	6.00±2.06 ns
เจ้าราช	5.77±2.03 ns	5.21±2.05a	5.79±1.89 ns	5.65±1.95 ns
Control	5.83±1.92 ns	5.92±1.76ab	5.63±1.92 ns	5.63±1.95 ns
เอ็มโอช	6.17±1.73 ns	6.23±1.61b	5.94±1.87 ns	6.04±1.79 ns

หมายเหตุ 1) Mean ± Standard deviation

2) ในแถวเดียวกัน ตัวอักษรภาษาอังกฤษต่างกันหมายถึงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($\alpha \leq 0.05$)

3) ns หมายถึง คะแนนเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($\alpha \leq 0.05$)

จากผลการทดสอบความชอบต่อลักษณะทางประสาทสัมผัส ด้านความชอบโดยรวม พบว่าคะแนนความชอบต่อลักษณะทางประสาทสัมผัสของไส้กรอกอีสานมีคะแนนเฉลี่ยไม่แตกต่าง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยไส้กรอกอีสานร้านเอ็มโอช มีคะแนนเฉลี่ยสูงที่สุดคือ 6.17 และตัวอย่างไส้กรอกอีสานชุดการทดลองที่เดิมแบบที่เรียผลิตกรดแลคติกรหัส SKKP5 : SKKE3(Mix) มีคะแนนเฉลี่ยต่ำที่สุดคือ 5.52

ด้านความชอบต่อสี พบว่า ตัวอย่างไส้กรอกอีสานชุดการทดลองที่เดิมแบบที่เรียผลิตกรดแลคติกรหัส SKKE3 มีคะแนนเฉลี่ยสูงที่สุดคือ 6.27 และไส้กรอกอีสานร้านเจ้าราช มีคะแนนเฉลี่ยต่ำที่สุดคือ 5.12 เป็นคะแนนเฉลี่ยที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้านความชอบด้านเนื้อสัมผัส พบว่าตัวอย่างไส้กรอกอีสานชุดทดลองที่เดิมแบบที่เรียผลิตกรดแลคติกรหัส SKKE3 มีคะแนนเฉลี่ยสูงที่สุดคือ 6.04 และตัวอย่างไส้กรอกอีสานที่เดิมแบบที่เรียผลิตกรดแลคติกรหัส SKKP5 : SKKE3 มีคะแนนเฉลี่ยต่ำที่สุดคือ 5.00 เป็นคะแนนเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ด้านความชอบต่อรสชาติ พบว่าไส้กรอกอีสานร้านเอ็มโอชมีคะแนนเฉลี่ยสูงที่สุดคือ 6.04 และไส้กรอกอีสานชุดทดลองควบคุม มีคะแนนเฉลี่ยต่ำที่สุดคือ 5.63 เป็นคะแนนเฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

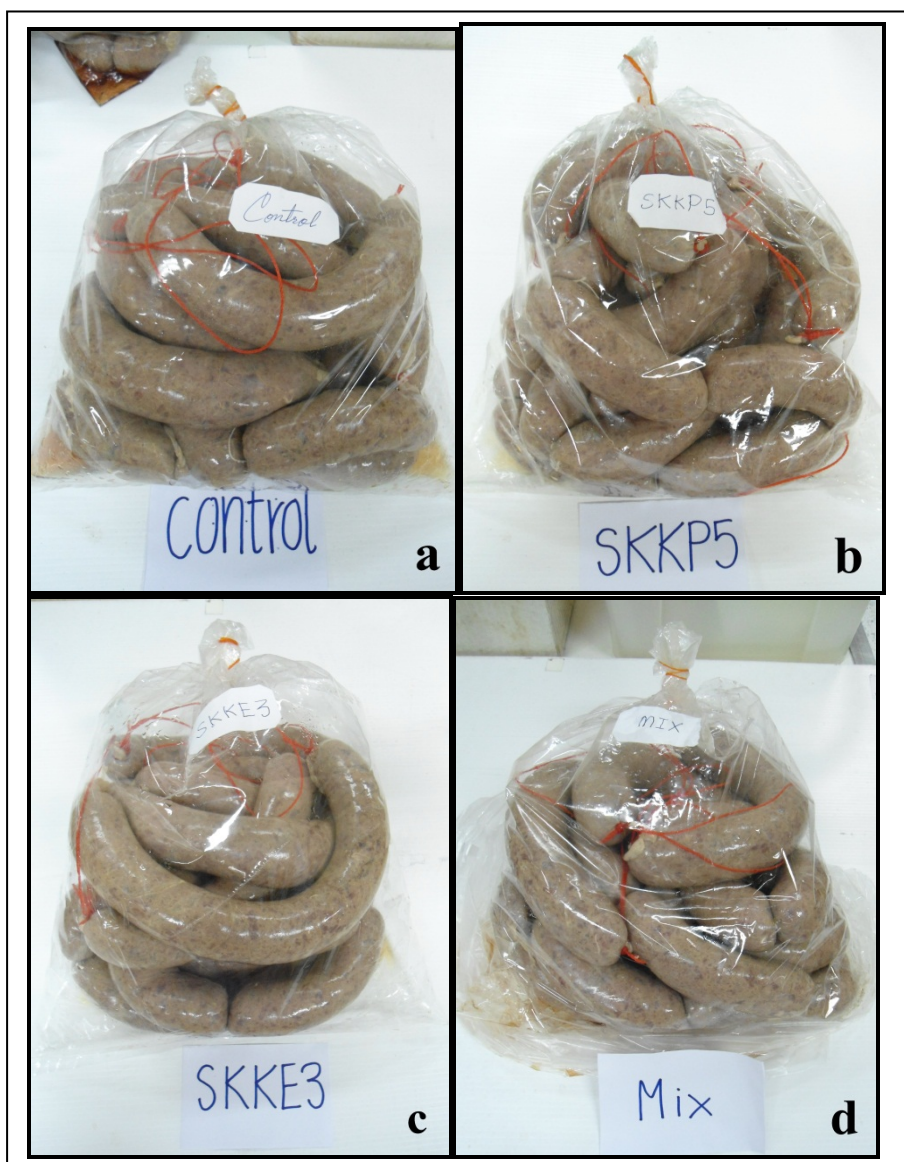
เมื่อพิจารณาผลการทดสอบความชอบต่อลักษณะทางประสาทสัมผัสในด้านต่างๆแล้ว ตัวอย่างไส้กรอกอีสานทั้ง 4 ชุดการทดลอง มีคะแนนเฉลี่ยความชอบโดยรวม ความชอบต่อเนื้อสัมผัสและความชอบต่อรสชาติไม่แตกต่างเมื่อเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานที่วางจำหน่ายในร้านที่มีชื่อเสียงของจังหวัด

ขอนแก่นคือ ร้านเจริญและร้านเอมโอด ส่วนคะแนนเฉลี่ยความชอบต่อสี มีคะแนนเฉลี่ยค่อนข้างสูงทั้ง 4 ชุดการทดลอง ซึ่งมีการยอมรับจากผู้บริโภคในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานสูงกว่าผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานร้านเจริญ ทำให้ทราบว่าผู้บริโภคมีการยอมรับในตัวอย่างไส้กรอกอีสานทุกชุดการทดลอง โดยการเติมแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกที่คัดแยกได้ลงในตัวอย่างไส้กรอกอีสาน ไม่มีผลต่อเนื้อสัมผัส สีและรสชาติของไส้กรอกอีสาน

4.4 ผลการผลิตหมำโดยการเติมแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก 2 สายพันธุ์ที่คัดเลือกได้

จากกระบวนการผลิตหมำหมู โดยการเติมแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกที่คัดแยกได้ 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *Lactobacillus pentosus* SKKE3 และ *Lactobacillus plantarum* SKKP5 ในปริมาณ 1×10^6 เซลล์ต่อกรัมหมำหมู ลงในเนื้อหมูปดที่ผ่านกระบวนการผลิตจากร้านค้าแล้ว โดยผสมให้เข้ากับเนื้อหมู นำไปบรรจุเป็นผลิตภัณฑ์หมำหมูเพื่อจะทำการเก็บตัวอย่างวิเคราะห์ ซึ่งแบ่งเป็น 4 ชุดการทดลองคือ ชุดการทดลองที่ 1 กำหนดให้เป็นชุดการทดลองควบคุม ชุดการทดลองที่ 2 กำหนดเติมแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกรหัส SKKP5 ชุดการทดลองที่ 3 กำหนดเติมแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกรหัส SKKE3 และชุดการทดลองที่ 4 กำหนดเติมแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกรหัส SKKP5 และ SKKE3 ในอัตราส่วน 1:1 ดัง ภาพที่ 14

เมื่อได้ผลิตภัณฑ์หมำหมูที่ทำการเติมแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกแล้ว จากนั้นตัวอย่างหมำหมูดังกล่าว นำตัวอย่างมาวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของหมำหมูทางกายภาพ ทางเคมี ทางจุลชีววิทยา และวิเคราะห์การประเมินทางประสาทสัมผัส โดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้



ภาพที่ 14 ผลผลิตภัณฑ์หมำหมูที่เดิมแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก 4 ชุดการทดลอง

4.4.1 ผลการวิเคราะห์ทางกายภาพ

จากการตรวจลักษณะผลิตภัณฑ์หมำหมูทางกายภาพโดยคุณลักษณะปรากฏและกลิ่นของตัวอย่างที่เก็บในวันที่ 0 วันที่ 2 และวันที่ 4 พบว่า วันที่ 0 มีกลิ่นคาวเนื้อหมูและกลิ่นเครื่องเทศค่อนข้างแรง สีผลิตภัณฑ์น้ำตาลอ่อน และผิวของผลิตภัณฑ์มีความชุ่มน้ำมาก หลังจากนั้นตากผลิตภัณฑ์หมำหมูในที่ที่มีลมผ่านสะดวก ในวันที่ 2 พบว่า หมำหมูมีกลิ่นฉุนของเครื่องเทศลดลง เนื้อหมูเริ่มมีสีน้ำตาลเข้มขึ้น บริเวณผิวภายนอกหมำหมูแห้ง ไม่มีน้ำออกจากผลิตภัณฑ์หมำหมูแต่หมำหมูเริ่มมีกลิ่นเปรี้ยวเกิดจากการหมัก ลักษณะเนื้อหมูอัดตัวกันแต่ยังนุ่มยืดหยุ่นดี ไม่แข็งในวันที่ 4 หมำหมูมีกลิ่นเปรี้ยวเกิดจากการหมักแรงมากขึ้น ผิวหมำหมูแห้งมากเกาะตัวกันแน่นพอสมควร ไม่มีน้ำออกจากไส้กรอก ลักษณะการเปลี่ยนแปลงของผลิตภัณฑ์หมำหมูแสดงดัง ตารางที่ 12

ตารางที่12 การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพที่เวลาต่าง ๆ กันของหม่ำหมูหมักที่อุณหภูมิห้อง

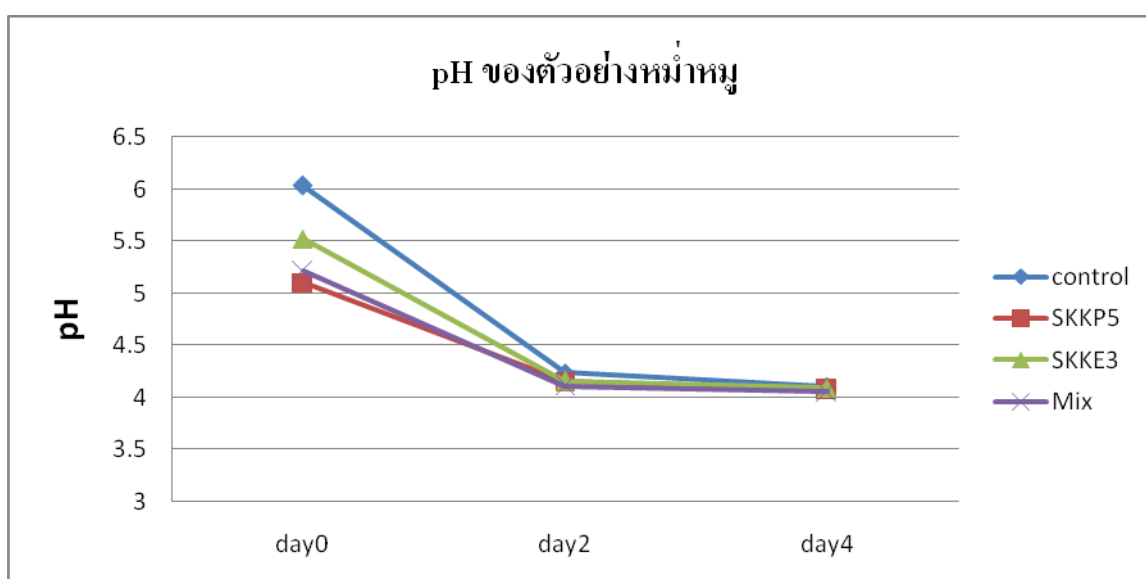
วันที่	ลักษณะทางกายภาพ
0	มีกลิ่นคาวเนื้อหมูและกลิ่นเครื่องเทศค่อนข้างแรง สีผลิตภัณฑ์น้ำตาลอ่อน และผิวของผลิตภัณฑ์มีความชุ่มน้ำมาก
2	เริ่มมีกลิ่นเปรี้ยวจากการหมักผิวหม่ำหมูแห้งแต่ยังนุ่มยืดหยุ่นดี ไม่แข็งเนื้อภายใน จับตัวเป็นก้อนสีน้ำตาลเข้มขึ้น
4	มีกลิ่นเปรี้ยวเกิดจากการหมักที่รุนแรง และมีกลิ่นเนื้อเริ่มเสื่อมเสีย ผิวหม่ำหมูแห้ง มาก เนื้ออัดตัวกันแน่นพอสมควรสีน้ำตาลออกคล้ำ

4.4.2 ผลการวิเคราะห์ทางเคมี

การวิเคราะห์ทางเคมี ได้มีการวิเคราะห์ความเป็นกรด-ด่าง (pH) และวิเคราะห์ปริมาณกรดรวม ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์หม่ำหมูที่หมักเป็นระยะเวลา 0, 2 และ 4 วัน ผลการวิเคราะห์มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

1) ผลการวิเคราะห์ความเป็นกรด-ด่าง (pH)

การวิเคราะห์ความเป็นกรด-ด่างหรือค่า pH ของตัวอย่างผลิตภัณฑ์หม่ำหมูได้ทำการเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์หม่ำหมูมาทำการวัดค่าความเป็นกรด-ด่างเป็นเวลาทั้งหมด 3 วันคือ วันที่ 0 วันที่ 2 และวันที่ 4 เมื่อได้ข้อมูลความเป็นกรด-ด่างของหม่ำหมูแล้วนำมารายงานเป็นกราฟ แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และระยะเวลาในการเก็บตัวอย่าง (วัน) ผลการวิเคราะห์ความเป็นกรด-ด่างดัง ภาพที่ 15

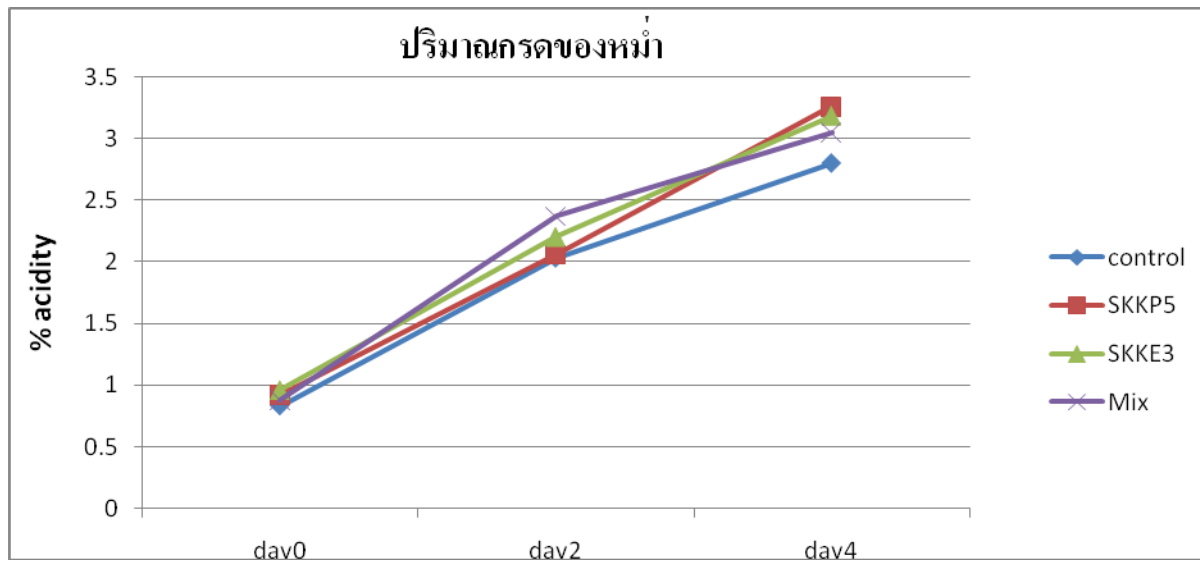


ภาพที่ 15 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของตัวอย่างหม่ำหมูที่หมักเป็นเวลา 0, 2, 4 วัน

จากภาพที่ 15 เมื่อทำการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของตัวอย่างหมำหมูทั้ง 4 ชุดการทดลอง พบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่างของตัวอย่างหมำหมูที่วัดได้มีค่าลดลงจากวันที่ 0 จนถึงวันที่ 2 อย่างชัดเจน และมีค่าลดลงเล็กน้อยหลังจากวันที่ 2 จนถึงวันที่ 4 แนวโน้มที่ลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง ทำให้ทราบว่า ตัวอย่างหมำหมูมีปริมาณความเป็นกรดที่สูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการวัดปริมาณกรดรวม ของตัวอย่างหมำหมูโดยปริมาณกรดที่เพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของตัวอย่างหมำหมูลดลงด้วยเช่นกัน แต่อย่างไรก็ตามจากวันที่ 2 ถึง 4 ของการหมักค่าความเป็นกรดเป็นด่างไม่ลดลงตามปริมาณกรดแลคติกที่เพิ่มขึ้น อาจเนื่องมาจากค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่ประมาณ 4-5 เป็นช่วงของการเป็นบัฟเฟอร์ของกรดแลคติกจึงทำให้ค่าความเป็นกรดเป็นด่างเปลี่ยนแปลงน้อยมากถึงแม้จะมีกรดแลคติกเพิ่มสูงมากในตัวอย่าง

2) ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดรวม

การวิเคราะห์ปริมาณปริมาณกรดรวมของตัวอย่างผลิตภัณฑ์หมำหมู โดยปริมาณกรดรวมที่เก็บข้อมูลได้รายงานเป็นร้อยละปริมาณกรดแลคติกเป็นกรัมในหมำหมู 100 กรัม (%w/w) และรายงานผลที่ได้เป็นกราฟ ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดทั้งหมดและระยะเวลาในการเก็บตัวอย่าง (วัน) ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดรวมดัง ภาพที่16



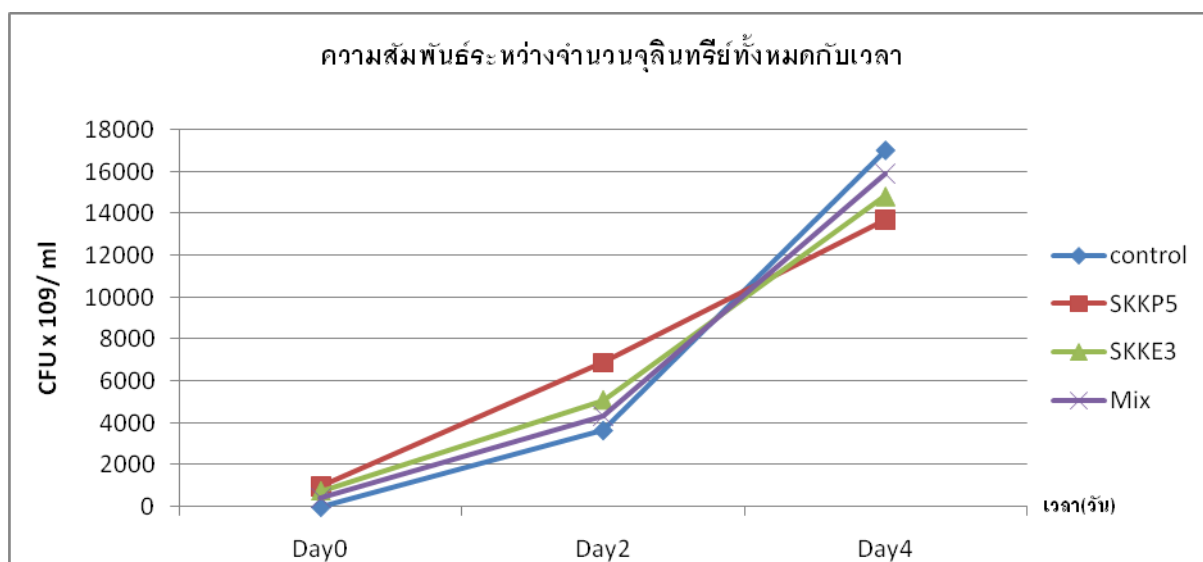
ภาพที่ 16 ปริมาณกรดรวมของตัวอย่างหมำหมูที่หมักเป็นเวลา 0, 2, 4 วัน

จากภาพที่ 16 การวัดปริมาณกรดรวมในรูปของกรดแลคติก จากตัวอย่างหมำหมูทั้ง 4 ชุดการทดลอง สรุปได้ว่าวันที่ 0 ตัวอย่างหมำหมูมีปริมาณกรดต่ำ และเพิ่มปริมาณขึ้น ใน วันที่ 2 และวันที่ 4 ตามลำดับ ปริมาณกรดที่เพิ่มมากขึ้น ทุกชุดการทดลองของตัวอย่างหมำหมูสอดคล้องกับภาพกราฟของค่าความเป็นกรด-ด่าง เมื่อค่าความเป็นกรดในผลิตภัณฑ์มีมาก จะทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง

4.4.3 ผลการวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา

การวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา นำตัวอย่างหม่ำหมูที่เจอจากให้มีปริมาณจุลินทรีย์ต่างกัน มาวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ ซึ่งแบ่งออกเป็น การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด โดยตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่พบบนอาหาร PCA และการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ผลิตภัณฑ์ โดยทำการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ผลิตภัณฑ์ที่พบบริเวณไส้ บนอาหารแข็ง MRS นำข้อมูลที่ได้รายงานเป็นกราฟ แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณจุลินทรีย์ที่ตรวจนับ (CFU) ต่อมิลลิลิตร และระยะเวลาในการเก็บตัวอย่างหม่ำหมู(วัน) โดยผลการวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์ มีดังต่อไปนี้

ผลจากการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่พบบนอาหาร PCA โดยการนำตัวอย่างหม่ำหมูมาทำการวิเคราะห์ ซึ่งตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด เป็นเวลา 3 วันคือ วันที่ 0 วันที่ 2 และวันที่ 4 ซึ่งผลการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดแสดงดัง ภาพที่ 17

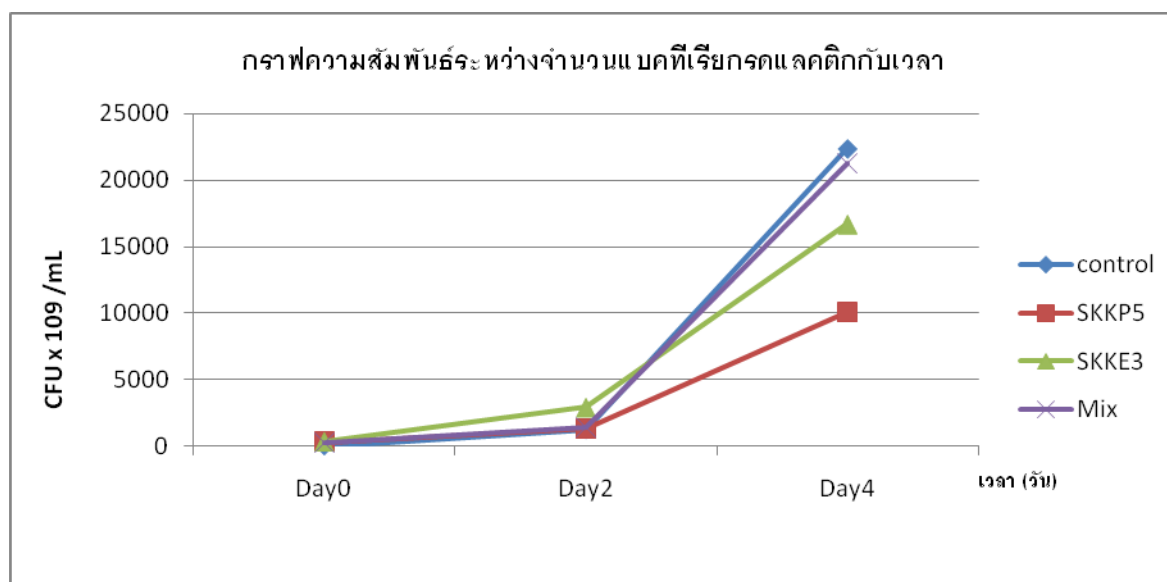


ภาพที่ 17 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ตรวจนับได้ เป็นเวลา 4 วัน

ผลการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดบนอาหาร PCA พบว่า ปริมาณจำนวนจุลินทรีย์ของตัวอย่างหม่ำหมูชุดการทดลองควบคุม (Control) ชุดการทดลองที่ 2 (SKKP5) และชุดการทดลองที่ 3 (SKKE3) และชุดการทดลองที่ 4 (SKKP5 : SKKE3) พบว่ามีจำนวนจุลินทรีย์ในหม่ำหมูมีปริมาณเพิ่มมากขึ้น โดยในวันที่ 0 และวันที่ 2 มีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นเล็กน้อยสามารถตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ได้มากขึ้นชัดเจนในวันที่ 4

2) ปริมาณจุลินทรีย์ผลิตกรด

ผลจากการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ผลิตกรด ที่พบบนอาหารแข็ง MRS ซึ่งทำการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ผลิตกรดที่มีบริเวณโซนใส เป็นเวลาทั้งหมด 3 วันคือ วันที่ 0 วันที่ 2 และวันที่ 4 ซึ่งผลการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ผลิตกรดแสดงดังภาพที่ 18



ภาพที่ 18 จำนวนจุลินทรีย์ผลิตกรดที่ตรวจนับได้ เป็นเวลา 4 วัน

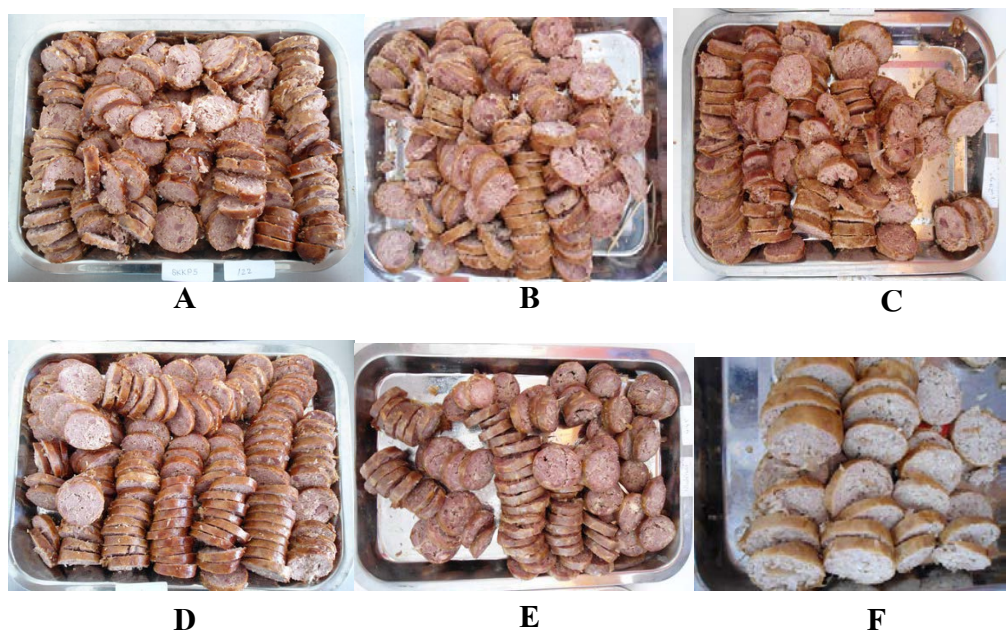
การตรวจนับจำนวนแบคทีเรียกรดอาหารแข็ง MRS ที่มี 1% CaCO_3 พบว่าการตรวจนับจำนวนแบคทีเรียผลิตกรดที่พบมีจำนวนเพิ่มขึ้นในวันที่ 0 จนถึงวันที่ 2 และเพิ่มขึ้นมากอย่างชัดเจนในช่วงวันที่ 2 ถึงวันที่ 4 เนื่องจากหมามีความชื้นน้อยกว่าไส้กรอกอีสาน แบคทีเรียผลิตกรดจึงใช้เวลาในการปรับตัวนานกว่า ทำให้การเจริญเติบโตของแบคทีเรียผลิตกรดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงหลังของการหมัก

4.4.4 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส

เพื่อต้องการทราบการยอมรับในตัวอย่างผลิตภัณฑ์หม่าหมูหลังจากการเติมแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกที่คัดแยกได้ จึงทำการทดสอบทางประสาทสัมผัส โดยมีการเปรียบเทียบข้อมูลการทดสอบทางประสาทสัมผัสระหว่างตัวอย่างผลิตภัณฑ์หม่าที่ได้จากการเติมแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกดังกล่าว และผลิตภัณฑ์หม่าหมูที่วางจำหน่ายในร้านที่มีชื่อเสียงของจังหวัดขอนแก่น ซึ่งเชิญผู้ทดสอบชิมทั้งหมด 48 คน ที่บริโภคผลิตภัณฑ์หม่า มาทำการทดสอบทางประสาทสัมผัส มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

จากผลการทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมของการเตรียมตัวอย่างไส้กรอกอีสาน ได้ทราบสภาวะเบื้องต้นของการเตรียมตัวอย่างไส้กรอกอีสาน ดังนั้นการหาสภาวะที่เหมาะสมของการเตรียมตัวอย่างหม่าจึงใช้แนวทางเดียวกัน แต่ในกรณีของหม่าหมูนั้นลักษณะของหม่าหมูจะแห้งกว่าไส้กรอกอีสาน การเตรียมจึงไม่ต้องผ่านขั้นตอนการนึ่ง สามารถนำไปทอดได้เลย และจากการทดลองทอดที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กัน

พบว่าหม่ำหมูจะใช้อุณหภูมิต่ำกว่าและใช้เวลาน้อยกว่า โดยสรุปสถานะที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างหม่ำ โดยการทอดที่อุณหภูมิ 150°C เวลา 10 นาที โดยอัตราส่วนของน้ำมันทอดต่อหม่ำคือ น้ำมัน 1 ลิตรต่อหม่ำ 1 กิโลกรัม เนื่องจากเป็นสถานะที่ตัวอย่างหม่ำสุกพอดีและมีกลิ่นเครื่องเทศ โดยเมื่อทอดอุณหภูมิสูงขึ้นและระยะเวลาเพิ่มขึ้นทำให้สูญเสียกลิ่นเครื่องเทศ โดยหม่ำหมูที่ทอดและหั่นเป็นชิ้นพร้อมทดสอบทางประสาทสัมผัส แสดงใน ภาพที่ 19



ภาพที่ 19 แสดงหม่ำหมู 6 ตัวอย่าง ที่ทอดและหั่นเป็นชิ้นพร้อมทดสอบทางประสาทสัมผัส โดย A) เดิม SKKP5 B) เดิม SKKE3 C) เดิม SKKP5 + SKKE3 D) ไม่เติม (control) E) คราวแม่คำพอง F) คราวอีสาน

1) ผลการสร้างคำอธิบายลักษณะทางประสาทสัมผัส

ผู้เข้าร่วมทดสอบจำนวน 10 คน ซึ่งเป็นผู้รับประทานหม่ำหมู จะถูกขอให้เขียนคำอธิบายลักษณะทางประสาทสัมผัสที่คิดขึ้น และถูกสัมภาษณ์โดยนักวิจัยเพื่อทำความเข้าใจคำอธิบายนั้นๆ ตัวอย่างหม่ำจะถูกเตรียมก่อนการทดสอบ 30 นาที และถูกหั่นเป็นชิ้นหนาประมาณ 0.5 ซม. และใส่เตรียมไว้ในถาดพลาสติกสีขาวด้วยละ 3 ชิ้น สรุปคำอธิบายลักษณะทางประสาทสัมผัสที่ถูกสร้างขึ้นโดยผู้ทดสอบจำนวน 10 คน มีจำนวน 26 คำ ดังระบุใน ตารางที่ 13

ตารางที่ 13 คำอธิบายลักษณะทางประสาทสัมผัสของหม่ำหมู

ลักษณะทางประสาทสัมผัส	คำอธิบาย
เนื้อมีสีแดง	เนื้อมีสีแดง
ลักษณะที่เห็นกลมกลืนเป็นเนื้อเดียวกัน	ลักษณะปรากฏที่เป็นเนื้อเดียวกัน

ขนาดของชิ้นเนื้อ	ขนาดของชิ้นเนื้อใหญ่-เล็ก
ความสม่ำเสมอของขนาดชิ้นเนื้อ	ความสม่ำเสมอของชิ้นเนื้อ
ความแน่นเนื้อ	ความแน่นของเนื้อจากการใช้มือกดทั้งหมด
ความนุ่มของเนื้อ	เมื่อเคี้ยวแล้ว เนื้อมีความนุ่ม
ความแข็งของเนื้อ	เมื่อเคี้ยวแล้ว เนื้อมีความแข็ง
เนื้อไม่เกาะตัวกัน	ใช้มือเฉียหรือเคี้ยวแล้วชิ้นเนื้อไม่เกาะตัวกัน
ความหยาบของเนื้อ	ความสากของเนื้อสัมผัสจากการใช้มือสัมผัสเนื้อ
ความเหนียวของเนื้อ	เคี้ยวแล้วเนื้อเหนียว ดัดฟัน เคี้ยวยาก
ความแห้งของเนื้อ	เนื้อแห้ง ไม่นำน้ำ
ปริมาณไขมัน	ปริมาณไขมันที่ผสมในเนื้อห่ม
ความนุ่มของผิวหนัง	ความนุ่มของผิวหนังจากการใช้มือสัมผัส
ความฉ่ำน้ำของผิวหนัง	ผิวหนังมีความฉ่ำน้ำ
ความหยาบของผิวหนัง	ความสากของผิวหนังจากการใช้มือสัมผัส
ความเหนียวของผิวหนัง	เคี้ยวแล้วผิวหนังเหนียว ดัดฟัน เคี้ยวยาก
กลิ่นกระเทียม	กลิ่นกระเทียม
กลิ่นกระเทียมในระหว่างการชิมตัวอย่าง	กลิ่นกระเทียมในระหว่างการเคี้ยวตัวอย่าง
กลิ่นเปรี้ยว	กลิ่นเปรี้ยว
กลิ่นซอส	กลิ่นของน้ำปลา ซอส
กลิ่นคาวเนื้อ	กลิ่นคาวเนื้อ
กลิ่นเนื้อสุก	กลิ่นเนื้อสุก
กลิ่นตะไคร้	กลิ่นตะไคร้
ลักษณะทางประสาทสัมผัส	คำอธิบาย
รสเค็ม	รสเค็ม
รสเปรี้ยว	รสเปรี้ยว
รสผงชูรส	รสผงชูรส

2) ผลจากการทดสอบผู้บริโภคโดยเทคนิค Check All That Apply (CATA)

คำอธิบายลักษณะทางประสาทสัมผัสที่ถูกคิดขึ้นจำนวน 26 คำ จากการทดลองที่ 2 ถูกนำมาสร้างเป็นแบบสอบถาม

ผู้บริโภคนจำนวน 48 คน ระบุลักษณะทางประสาทสัมผัสที่รับรู้ได้ตามที่แสดงในตารางที่ 14 โดยตัวอย่าง SKKP5 ผู้บริโภคส่วนใหญ่ระบุว่าเนื้อห่านไม่เกาะตัวกัน มีความแห้งของเนื้อและผิวหนัง ได้กลิ่นกระเทียมอ่อน แต่มักกลิ่นเปรี้ยวและรสเปรี้ยวมาก

ตัวอย่าง SKKE3 ผู้บริโภคส่วนใหญ่ระบุว่าขนาดชิ้นเนื้อมีขนาดเล็ก ผิวหนังมีความแห้ง ได้กลิ่นกระเทียมอ่อน แต่มักกลิ่นเปรี้ยวและรสเปรี้ยวมาก

ตัวอย่าง Mix ผู้บริโภคส่วนใหญ่ระบุว่าขนาดชิ้นเนื้อมีขนาดเล็ก มีความแห้งของเนื้อและผิวหนังสูง มักกลิ่นเปรี้ยวและรสเปรี้ยวมาก

ตัวอย่างครัวแม่คำฟอง ผู้บริโภคส่วนใหญ่ระบุว่าไม่มีความเป็นเนื้อเดียวกัน ขนาดของชิ้นเนื้อใหญ่ มีความไม่สม่ำเสมอ เนื้อสัมผัสและผิวหนังมีความหยาบและความแข็ง เนื้อไม่เกาะตัวกัน เนื้อห่านและผิวหนังแห้ง มักกลิ่นความเป็นเนื้อแรง

ตัวอย่างครัวอีสาน ผู้บริโภคส่วนใหญ่ระบุว่าเนื้อมีสีแดงอ่อน มีลักษณะไม่เป็นเนื้อเดียวกัน ชิ้นเนื้อใหญ่และไม่เกาะตัวกัน มีรสเปรี้ยวน้อย

ตัวอย่างควบคุม ผู้บริโภคส่วนใหญ่ระบุว่าไม่มีความเป็นเนื้อเดียวกัน ชิ้นเนื้อไม่สม่ำเสมอ และมีความแน่นเนื้อสูง ผิวหนังแห้ง อย่างไรก็ตาม ผู้บริโภคจำนวน 20 คน ระบุว่าตัวอย่างมีรสเปรี้ยวน้อย แต่อีก 21 คน ระบุว่าตัวอย่างมีรสเปรี้ยวมาก

ตารางที่ 14 ความถี่ของคำอธิบายลักษณะทางประสาทสัมผัสที่ของห่านหมูผู้บริโภครุ่น

คำอธิบายลักษณะทางประสาทสัมผัส	ความถี่ของคำอธิบายแต่ละตัวอย่าง					
	SKKP5 (122)	SKKE3 (198)	Mix (297)	ครัวแม่ คำฟอง (445)	ครัว อีสาน (667)	Control (869)
เนื้อสีแดงอ่อน	16	13	14	15	25	18
ลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน	12	15	17	6	8	20
ลักษณะไม่เป็นเนื้อเดียวกัน	19	12	10	23	22	10
ขนาดของชิ้นเนื้อใหญ่	7	5	5	25	20	7
ขนาดของชิ้นเนื้อเล็ก	14	21	21	1	8	17
ความสม่ำเสมอของขนาดชิ้นเนื้อ	12	16	17	4	12	20
ความไม่สม่ำเสมอของขนาดชิ้นเนื้อ	13	8	6	20	11	6
ความหยาบของเนื้อ	13	12	9	25	13	11
ความเนียนของเนื้อ	10	9	8	3	5	10
ความแน่นของเนื้อสูง	13	17	19	11	13	23

ความแน่นของเนื้อต่ำ	18	10	8	11	13	7
ความนุ่มของเนื้อ	12	13	11	6	17	14
ความแข็งของเนื้อ	8	15	13	31	12	16
เนื้อไม่เกาะตัวกัน	24	19	15	20	22	12
เนื้อเกาะตัวกัน	7	13	11	7	9	19
ความเหนียวของเนื้อ	6	3	6	12	4	4
ความยุ่ยของเนื้อ	17	19	17	4	14	11
ความแห้งของเนื้อ	20	19	22	26	14	i
ความฉ่ำน้ำของเนื้อ	4	1	1	5	12	3
มีไขมันในเนื้อสูง	4	1	0	11	11	3
มีไขมันในเนื้อต่ำ	12	16	15	5	9	14
ความเหนียวของผิว	5	9	6	15	13	7
ความนุ่มของผิว	8	8	11	1	10	9
ความแห้งของผิว	24	25	28	27	17	24
ความฉ่ำน้ำของผิว	4	4	2	6	14	4
ความหยาบของผิว	8	12	13	22	13	9
ความเนียนของผิว	11	12	7	0	7	11
กลิ่นกระเทียมแรง	9	7	10	14	13	7
กลิ่นกระเทียมอ่อน	20	20	18	11	17	18
กลิ่นกระเทียมในระหว่างการชิมตัวอย่างแรง	7	5	7	10	9	5
กลิ่นกระเทียมในระหว่างการชิมตัวอย่างอ่อน	15	18	13	9	15	15
กลิ่นเปรี้ยวแรง	23	21	23	16	10	15
กลิ่นเปรี้ยวอ่อน	12	12	11	11	20	19
กลิ่นเค็มแรง	10	2	6	14	8	7
กลิ่นเค็มอ่อน	8	17	12	6	19	16
กลิ่นคาวเนื้อแรง	6	4	5	24	4	6
กลิ่นคาวเนื้ออ่อน	14	17	15	7	17	13
กลิ่นเนื้อสุกแรง	8	7	7	5	7	4
กลิ่นเนื้อสุกอ่อน	6	8	5	10	11	8

กลิ่นตะไคร้แรง	3	7	6	2	2	2
กลิ่นตะไคร้อ่อน	13	14	11	12	12	14
รสเค็มมาก	8	6	6	15	8	5
รสเค็มน้อย	14	17	18	9	17	18
รสเปรี้ยวมาก	33	30	33	10	7	20
รสเปรี้ยวน้อย	10	11	9	14	24	21
รสผงชูรสมาก	3	2	4	4	5	4
รสผงชูรสน้อย	9	11	9	6	10	10

3) ผลการทดสอบความชอบ

คะแนนความชอบโดยรวม ความชอบต่อสี ความชอบต่อเนื้อสัมผัส และความชอบต่อรสชาติของผู้บริโภคทั้ง 48 คน ที่มีต่อตัวอย่างหม่าทั้ง 6 ตัวอย่าง แสดงใน ตารางที่ 15 พบว่าตัวอย่างหม่าครัวอีสานมีคะแนนสูงสุดในทุกลักษณะอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนตัวอย่างหม่าครัวแม่คำพองมีคะแนนต่ำสุดในทุกลักษณะอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนตัวอย่างควบคุม(ผลิตจากร้านแหนมปริญญา) และที่เติมแบคทีเรียกรดแลคติก SKKP5, SKKE3 และ Mix มีคะแนนความชอบโดยรวม ความชอบต่อสี ความชอบต่อเนื้อสัมผัส และความชอบต่อรสชาติ ไม่แตกต่างจากค่าคะแนนของครัวอีสานมากนัก จึงสรุปได้ว่าคะแนนความชอบหม่าหมูของร้านแหนมปริญญาไม่ต่างจากร้านค้าที่เป็นที่นิยมคือครัวอีสานมากนัก และการเติมแบคทีเรียกรดแลคติก SKKP5, SKKE3 และ Mix ไม่ได้ทำให้คะแนนความชอบด้านต่างๆแตกต่างจากตัวอย่างควบคุมมากนัก

ตารางที่ 15 คะแนนความชอบต่อลักษณะทางประสาทสัมผัสเฉลี่ยของหม่าหมู

ตัวอย่าง	ลักษณะทางประสาทสัมผัส			
	ความชอบโดยรวม	ความชอบต่อสี	ความชอบต่อเนื้อสัมผัส	ความชอบต่อรสชาติ
SKKP5 (122)	5.60±1.91b	5.98±1.50b	5.54±2.10b	5.44±2.11b
SKKE3 (198)	5.92±1.66bc	6.14±1.51b	5.63±1.54b	5.71±1.68bc
Mix (297)	5.88±1.89bc	6.06±1.57b	5.61±1.92b	5.69±2.05bc
ครัวแม่คำพอง(445)	4.50±2.12a	4.78±2.14a	4.18±2.14a	4.64±2.22a
ครัวอีสาน(667)	6.52±1.66c	5.74±1.89b	6.12±1.84b	6.54±1.75c
Control (869)	6.28±1.80bc	6.16±1.67b	6.02±1.71b	6.14±2.05bc

หมายเหตุ 1) Mean ± Standard deviation 2) ในแถวเดียวกัน ตัวอักษรภาษาอังกฤษต่างกันหมายถึงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($\alpha \leq 0.05$)

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาการผลิตไส้กรอกอีสานและหม่าโดยใช้แบคทีเรียผลิตกรดแลคติกสายพันธุ์บริสุทธิ์ที่คัดเลือกได้จากผลิตภัณฑ์ไส้กรอกที่ผลิตและหม่า ที่มีชื่อเสียงและจำหน่ายในจังหวัดขอนแก่น ผลการทดลองสรุปได้ว่าสามารถแยกแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกที่สามารถผลิตสารกาบาได้ 7 ไอโซเลท เมื่อนำมาบ่มซี่สายพันธุ์โดยใช้เทคนิคทางอนุชีววิทยา พบว่าเป็นแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก *Lactobacillus plantarum* 5 สายพันธุ์ ได้แก่ SSNH28, SKKE2, SKKL1, SKKP1, และ SKKP5 *Lactobacillus pentosus* 2 สายพันธุ์ ได้แก่ SKKE3 และ SKKP2 ได้คัดเลือกแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกอย่างละ 1 สายพันธุ์ ได้แก่ *Lactobacillus plantarum* SKKP5 และ *Lactobacillus pentosus* SKKE3 มาใช้เป็นแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกสายพันธุ์บริสุทธิ์ในการผลิตไส้กรอกอีสานและหม่า พบว่าได้ผลิตภัณฑ์ที่ไม่มีความแตกต่างทางด้านกายภาพ ทางเคมี และทางประสาทสัมผัส เมื่อเปรียบเทียบกับการผลิตที่ไม่เติมแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกสายพันธุ์บริสุทธิ์ ผลิตภัณฑ์ที่ได้ไม่แตกต่างจากผลิตภัณฑ์ดั้งเดิม ซึ่งผลงานวิจัยการผลิตไส้กรอกอีสานและหม่าใช้แบคทีเรียผลิตกรดแลคติกสายพันธุ์บริสุทธิ์นี้สามารถใช้เป็นแนวทางในการผลิตไส้กรอกอีสานและหม่าในเชิงการค้าต่อไป

5.2 ข้อเสนอแนะ

ในการผลิตไส้กรอกอีสานและหม่าโดยใช้แบคทีเรียผลิตกรดแลคติกสายพันธุ์บริสุทธิ์นั้น ประเด็นที่สำคัญที่เน้นในงานวิจัยนี้คือความสม่ำเสมอของผลิตภัณฑ์ในทุกครั้งที่มีการผลิต และต้องคงรสชาติเฉพาะของแต่ละสูตรของร้านค้าที่ผลิตออกจำหน่าย ซึ่งผลจากงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นถึงผลทางประสาทสัมผัสที่ไม่แตกต่างจากชุดควบคุมและผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานและหม่าที่วางจำหน่ายในร้านที่มีชื่อเสียงของจังหวัดขอนแก่น โดยคาดว่าผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานและหม่าจะมีคุณภาพสม่ำเสมอจากแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกสายพันธุ์บริสุทธิ์ที่เติมลงไปนั้นมีบทบาทมากกว่าแบคทีเรียธรรมชาติที่ติดมากับวัตถุดิบ แต่อย่างไรก็ตามยังมีงานที่ต้องทำวิจัยต่อยอดต่อไปเพื่อหาแนวทางในการเพิ่มคุณค่าของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานและหม่า โดยใช้แบคทีเรียกรดแลคติกจากผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานหรือหม่าที่คัดแยกได้มาทดสอบหาความสามารถในการผลิตสารกาบา และ/หรือแบคทีเรียโอซิน โดยนำมาเพิ่มจำนวน และเติมลงไปในกระบวนการผลิตไส้กรอกอีสานและหม่า ในปริมาณที่เหมาะสมเพื่อให้มีการหมักร่วมกับจุลินทรีย์ธรรมชาติที่มีอยู่แล้วในวัตถุดิบ โดยคาดหวังว่าจะได้ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานและหม่าที่มีคุณภาพทางด้านรสชาติไม่เปลี่ยนแปลงจากการผลิตโดยใช้จุลินทรีย์จากธรรมชาติ (สูตรเดิม) แต่เป็นไส้กรอกอีสานและหม่าเพื่อสุขภาพ ที่มีสารกาบาและ/หรือแบคทีเรียโอซินที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภค

บรรณานุกรม

- กิตติวรรณ ขอดรัักษ์. 2545. ผลของโซเดียมไนไตรท์ โซเดียมแอสคอร์เบต และการรมควันต่อคุณภาพ และอายุการเก็บของหมำ. กรุงเทพฯ: วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- คณิต วิจิตพันธุ์และคณะผู้วิจัยภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ. 2550. การศึกษาปัจจัยคุณภาพและการเก็บรักษาของหมำและไส้กรอกอีสานในกลุ่มจังหวัดร้อย-แก่น-สาร. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- งามนิจ นนทโส. 2539. การศึกษาชนิดปริมาณแบคทีเรียและการเปลี่ยนแปลงทางเคมีในระหว่างการหมักหมม. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- นก อยู่วนา. 2551. ข้าวกล้องงอก...พลังชีวิตในเมล็ดข้าว. วารสารฉลาดซื้อ . 15 (93): 67.
- ปิ่นมณี ขวัญเมือง. 2542. การแยกเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกจากตัวอย่างเนหมของประเทศไทยเพื่อใช้เป็นกล้ำเชื้อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.
- สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2537. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม : ไส้กรอกอีสาน มอก. 1266-2537. กระทรวงอุตสาหกรรม.
- สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2546. มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน : ไส้กรอกอีสานมผช. 144-2546. กระทรวงอุตสาหกรรม.
- สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2546. มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน : หมำมผช. 146-2546. กระทรวงอุตสาหกรรม.
- อรวัลภ์ สุขสุเดช. 2540. การพัฒนาไส้กรอกเปรี้ยวไทย และการยืดอายุการเก็บโดยการ ฉายรังสีแกมมา. กรุงเทพฯ: วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- Adams, J., Williams, A., Lancaster, B., และ Foley, M. 2007. **Advantages and uses of check-all-that-apply response compared to traditional scaling of attributes for salty snacks.** In 7th Pangborn sensory science symposium, 12–16 August 2007, Minneapolis, USA.
- Ares, G., Deliza, R., Barreiro, C., Gimenez, A., และ Gambaro, A. 2010. **Comparison of two sensory profiling techniques based on consumer perception.** *Food Quality and Preference*. 21: 417-426.
- Bohme, H.M., Mellett, F.D., Dicks, L.M.T. and Basson, D.S. 1996. **Production of salami from ostrich meat with strains of *Lactobacillus sake*, *Lactobacillus curvatus* and *Micrococcus* sp.** *Meat Sci.*, 44:173-180.

- Callewaert, R., Hugas, M. and De Vuyst, L. 2000. **Competitiveness and bacteriocin production of *Enterococci* in the production Spanish-style dry fermented sausages.** *Int. J. Food Microbiol.*, 57:33-42.
- Garriga, M., Hugas, M., Gou, P., Aymerich, M.T., Arnau, J. and Monfort, J.M. 1996. **Technological and sensorial evaluation of *Lactobacillus* strains as starter cultures in fermented sausages.** *Int. J. Food Microbiol.*, 32: 173-183.
- Gonzalez, B. and Diez, V. 2002. **The effect of nitrite and starter culture on microbiological quality of “Chorizo-a Spanish dry cured sausage.** *Meat Sci.*, 60: 295-298.
- Huang, J., Mei, L., Wu, H. and Lin, D. 2007. **Biosynthesis of gamma-aminobutyric acid (GABA) using immobilized whole cells of *Lactobacillus brevis*.** *World J. Microbiol.Biot.*, 23:865-871.
- Ito, K., Tanaka, K., Nishibe, Y., Hasegawa, J. and Ueno, H. 2007. **GABA-synthesizing enzyme, GAD 67, from dermal fibroblasts:evidence for a new skin function.** *Biochim.Biophys. Acta*,1770: 291-296.
- Kim,J.Y., Lee, M.Y., Ji, G.E., Lee, Y. S. and Hwang, K.T. 2009. **Production of gamma-aminobutyric acid in black raspberry juice of *Lactobacillus brevis* GABA100.** *Int.J. Food Microbiol.*,130:12-16.
- MacFie, H.J.H., Bratchell, N., Greenhoff, K., and Vallis, V.L. 1989. **Designs to balance the effect of order of presentation and first-order carry-over effects in hall tests.** *Journal of sensory studies.* 4: 128-148.
- Nomura, M., Kimoto, H., Someya, Y., Furukawa, S. and Suzuki, I. 1998. **Production of gamma-aminobutyric acid by cheese starters during cheese ripening.** *J. Dairy Sci.*, 81:1486-1491.
- Park, K.B., and Og,S.H. 2007. **Production of yogurt with enhanced levels of gamma-aminobutyric acid and valuable nutrients using lactic acid bacteria and germinated soybean extract.** *Biores. Tech.*,98:1675-1679.
- Leroy, F., Degeest, B. and De Vuyst, L. 2002. **A novel area of modeling: describing the functionality of beneficial microorganisms in foods.** *Int. J. Food Microbiol.*, 73: 251-259.
- Minervini,F., Bilancia, M. T., Siragusa, S., Gobbetti, M. and Caponio, F. 2009. **Fermented goats’ milk produced with selected multiple starters as a potentially functional food.** *Food Microb.*26:559-564.

- Sameshima, T., Magome, C., Takeshita, K., Arihara, K., Itoh, M. and Kondo, Y. 1998. **Effect of intestinal *Lactobacillus* starter cultures on the behavior of *Staphylococcus aureus* in fermented sausages.** *Int. J. Food Microbiol.* 41: 1-7.
- Samoylenko, V.A., Yakshina, T.V., Oleynikov, R.R., Kostenko, Y.G., Spicyna, D.N., Solodovnikova, G.I. and Kuznetsova, G.A. 1997. **Development of pilot-scale cultures for intensive manufacture of high quality meat products.** *Process Biochemistry*, 32: 191-194.
- Su, Y.C., Wang, J.J., Lin, T.T. and Pan, T.M. 2008. **Production of secondary metabolites gamma-aminobutyric acid and monacolin K by *Monascus*.** *J. Indust. Biot.*, 30:41-46.
- Ueno, Y., Hiraga, K., Mori, Y. and Oda, K. 2007. **Isolation and utilization of a lactic acid bacterium, producing a high level of gamma-aminobutyric acid (GABA).** *Seibutu-kougaku Kaishi* (in Japanese), 85:109-114.
- Vural, H. 1998. **The use of commercial starter cultures in the production of Turkish semi-dry fermented sausages.** *Z LebensmUntersForsch*, 207: 410-412.
- Yang, S.Y., Lu, F. X., Lu, Z.X., Bie, X.M., Jiao, Y., Sun, J. and Yu, B. 2008. **Production of gamma-aminobutyric acid by *Streptococcus salivarius* subsp. *Thermophilus* Y2 under submerged fermentation.** *Amino Acids*, 34: 473-478.
- Yokoyama, S., Hiramatsu, J. and Hayakawa, K. 2002. **Production of γ -amino butyric acid from alcohol distillery lees by *Lactobacillus brevis* IFO-12005.** *J. Biosci. Bioeng.*, 93: 95-97