บทที่ 2
ทฤษฎีและผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ไส้กรอก (Sausage)

ไส้กรอก (Sausage) เป็นผลิตภัณฑ์แปรรูปที่รู้จักกันอย่างแพร่หลายมานาน และมีชื่อเรียกแตกต่างกันในแต่ละประเทศ ซึ่งคำว่า Sausage มีรากศัพท์มาจากภาษาลาตินว่า Salsus หมายถึง การใส่เกลือ หรือการเก็บรักษาเนื้อโดยใช้เกลือ (Roman, 1977) ความแตกต่างของไส้กรอกเกิดจากการใช้เครื่องเทศ และเครื่องปรุงรสตามความนิยมของแต่ละท้องถิ่น

โดยสามารถแบ่งชนิดของไส้กรอกตามกรรมวิธีการผลิตได้ดังนี้ (จุฑารัตน์ เศรษฐกุล, 2545)

1) ไส้กรอกสด (Fresh sausage) ไส้กรอกที่ผู้บริโภคจะต้องนำไปทำให้สุกก่อนการบริโภค ไส้กรอกชนิดนี้เน่าเสียง่ายต้องเก็บรักษาที่อุณหภูมิไม่เกิน 4 °C และไม่ควรเก็บนานเกิน 2 – 3 วัน เนื่องจากผลิตภัณฑ์ยังไม่ผ่านกระบวนการให้ความร้อน ดังนั้นจึงมีโอกาสที่จุลินทรีย์ที่คงเหลืออยู่จากการปนเปื้อนในกระบวนการผลิตเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วเมื่อเจอสภาวะที่เหมาะสม

2) ไส้กรอกเปรี้ยว (Fermented sausage) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ต้องผ่านกระบวนการหมักโดยจุลินทรีย์เพื่อให้เกิดรสเปรี้ยว แล้วจึงนำมาผ่านกระบวนการทำให้แห้งเพื่อลดค่า Aw ในผลิตภัณฑ์ ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ เช่น ซาลามิ (Salami) เป็นผลิตภัณฑ์ที่สามารถเก็บไว้ได้นาน โดยไม่ต้องเก็บในตู้เย็น เมื่อจะบริโภคก็ไม่ต้องทำให้สุก และผลิตภัณฑ์ที่คนไทยรู้จักดี คือ ไส้กรอกอีสาน (ไส้กรอกเปรี้ยว) ก็เป็นผลิตภัณฑ์ที่อาศัยการหมักจากจุลินทรีย์เพื่อทำให้เกิดรสเปรี้ยว แต่เมื่อจะบริโภคต้องนำไปทำให้สุกก่อน

3) ไส้กรอกสุก (Cooked sausage) เป็นผลิตภัณฑ์ไส้กรอกที่ใช้เนื้อสัตว์บดผสมกับเครื่องปรุงรสบรรจุใส่ไส้ แล้วหลังจากนั้นนำไปทำให้สุกโดยการต้ม เช่น ไส้กรอกตับ (Liver sausage) ไส้กรอกเลือด (Blood sausage) เป็นต้น

4) ผลิตภัณฑ์ฉีดน้ำเกลือ และต้มสุก (Cooked cured products) ได้แก่ ผลิตภัณฑ์ในกลุ่มไม่ลดรูป เช่น เบคอน (Bacon) แฮมหมัก (Cured ham)

5) ผลิตภัณฑ์หมักเกลือ และดิบ (Dry cured meat products) ได้แก่ ผลิตภัณฑ์ในกลุ่มไม่ลดรูป แต่จะไม่ผ่านการทำให้สุก เช่น เบคอนรมควันเย็น (Black forest bacon) แฮมดองเค็มรมควันเย็น (Dry cured ham) แต่ผลิตภัณฑ์ที่รู้จักกันแพร่หลายคือ Pama ham

6) ผลิตภัณฑ์ในกลุ่มอิมัลชั่น (Emulsion meat products) เป็นผลิตภัณฑ์อาศัยการรวมตัวของโปรตีนจากเนื้อสัตว์ ไขมันสัตว์ และน้ำ โดยโปรตีนที่เหมาะสมจะเป็นพวกโปรตีนของเส้นใยกล้ามเนื้อ (Myofibrillar protein) ซึ่งจะทำหน้าที่เป็น อิมัลซิไฟเออร์ (Emulsifier) ระหว่างไขมัน และน้ำ ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ในกลุ่มนี้ ได้แก่ แฟรงเฟอร์เตอร์ (Frankfurter) เวียนนา (Vienna) เป็นต้น

2.2 ชนิด ปริมาณและการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิตไส้กรอกอิมัลชั่น

วัตถุดิบหลักที่ใช้ในการผลิตไส้กรอกคือ เนื้อสัตว์ซึ่งเป็นอาหารที่เน่าเสียได้ง่าย ทั้งนี้เนื่องจากเนื้อสัตว์เป็นแหล่งอาหารที่ดีของจุลินทรีย์มีความชื้นสูง มีพีเอชเกือบเป็นกลาง (สุมาลี เหลืองสกุล, 2541) โดยทั่วไปจุลินทรีย์ที่พบในเนื้อสัตว์ ได้แก่ *Pseudomonas* spp., *Micrococcus* spp., *Enterobacteria* spp., *Flavobacterium* spp., *Microbacterium* spp., *Acinetobacter* spp. และ *Lactobacillus* spp. (จุฑารัตน์ เศรษฐกุล, 2545) ดังนั้นไส้กรอกซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์แปรรูปจากเนื้อสัตว์จำเป็นต้องเก็บรักษาในอุณหภูมิต่ำ (4°C) เพื่อชะลอการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่หลงเหลือจากกระบวนการผลิตและที่ปนเปื้อนกลับมาภายหลัง ถ้าเก็บที่อุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิตู้เย็น (4°C) จะทำให้จุลินทรีย์เพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว เป็นผลให้ลักษณะทางกายภาพของไส้กรอกเปลี่ยนไป เช่น สีของผลิตภัณฑ์ กลิ่นรส เป็นต้น (โอรส รักชาติ, 2537) รวมทั้งอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์สั้นลง

จำนวนและชนิดของจุลินทรีย์ จะเป็นตัวบ่งชี้ถึงสุขลักษณะของกระบวนการผลิตภายในโรงงานอุตสาหกรรม การเก็บรักษา การขนส่ง และที่จุดจำหน่าย Metaxopoulos และคณะ (2002) ตรวจหาจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total viable counts) ในโรงงานผลิตไส้กรอกของประเทศกรีซ จุดที่เก็บตัวอย่างคือ วัตถุดิบ ผลิตภัณฑ์สุดท้าย น้ำที่ใช้ในกระบวนการผลิต และเครื่องมือ ซึ่งพบเชื้อจำนวน 5.0×10^5 cfu/g, 1.0×10^4 cfu/g, 100 cfu/g และ 1.0×10^3 cfu/cm^3 ตามลำดับ

Mrema และคณะ (2006) ทำการเก็บตัวอย่างไส้กรอกจำนวน 120 ตัวอย่าง เพื่อตรวจหา *Salmonella* spp. และพบว่ามีไส้กรอกจำนวน 31 ตัวอย่างที่ตรวจพบ *Salmonella* spp. ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 25.8 ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมด อดิศร เสวตวิวัฒน์และคณะ (2537) ทำการเก็บตัวอย่างไส้กรอกที่จำหน่ายในตลาด และห้างสรรพสินค้าในเขตกรุงเทพมหานครในช่วงเดือน มกราคม ถึงเมษายน 2536 รวม 27 ตัวอย่าง พบว่าผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ไม่เข้าเกณฑ์กำหนดคุณภาพทางจุลชีววิทยา ของ

อาหารและภาชนะสัมผัสอาหารของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในช่วง 300 - 27 x 10^{7} cfu/ml, MPN *E. coli* / g. มากกว่า 3 พบ 3 ตัวอย่างใน 27 ตัวอย่าง *Staph. aureus* / g. มากกว่า 100 พบ 2 ตัวอย่างใน 27 ตัวอย่าง Salmonellae ต่อ 25 g. พบ 2 ตัวอย่างใน 27 ตัวอย่าง

ในประเทศไทย โดยสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช) ได้กำหนดมาตรฐานของสินค้าประเภทไส้กรอกไว้ว่า ต้องมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่เกิน 1.0 x 10^{6} cfu/g, Coliforms ไม่เกิน 500 cfu/g, *E. coli* ไม่เกิน 3 cfu/g, ไม่พบ *Salmonella* spp. ในตัวอย่าง 25 g, *Staph. aureus* ต้องไม่พบต่อตัวอย่าง 1 g และ *Clostridium perfringens* ต้องไม่พบ ต่อตัวอย่าง 0.01 g ตามลำดับ

กระบวนการผลิตไส้กรอกอิมัลชั่นเริ่มตั้งแต่ การเตรียมวัตถุดิบ การบดเนื้อ (Grinding) การสับผสม (Chopping) การห่อบรรจุไส้ (Stuffing) การทำให้สุก (Heating) การรมควัน (Smoking) การลดอุณหภูมิ (Showering) การตัดเป็นแท่ง (Cutting) การบรรจุ (Packing) และสุดท้ายการเก็บเพื่อรอการจำหน่าย (จุฑารัตน์ เศรษฐกุล, 2545) ในปัจจุบันขั้นตอนการทำให้สุกเป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นพร้อมกับการรมควันในตู้อบ (Smoking chamber) มี 3 ขั้นตอนคือ 1) เริ่มอบไส้กรอกที่อุณหภูมิ 80-90 °C เพื่อให้ไส้กรอกเกิดการเซ็ทตัว 2) การรมควันที่อุณหภูมิ 60-70 °C 3) การต้มไส้กรอกที่อุณหภูมิ 70 °C (เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์, 2536) กระบวนการทำให้สุกมีจุดประสงค์หลายประการ คือ การเกิดสีของตัวผลิตภัณฑ์ ทำให้ผลิตภัณฑ์มีสีสันน่ารับประทาน ทำให้ผลิตภัณฑ์คงรูปร่างไม่เหลวและการต้มยังถือเป็นกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์ (Pasteurization) เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ให้ยาวนานขึ้น Surkiewize และคณะ (1977) รายงานว่าไส้กรอกแฟรงเฟอร์เตอร์ ที่อบเสร็จมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดอยู่ในช่วง 10^{4} cfu/g ซึ่งเป็นปริมาณที่ต่ำกว่าในส่วนผสมดิบที่มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดอยู่ในช่วง 5.0 x 10^{4} – 1.0 x 10^{7} cfu/g Sachindra และคณะ (2005) ทำการศึกษาปริมาณจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิตไส้กรอกจากเนื้อกระบือ โดยเริ่มจากวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิต พบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด 5.4 x 10^{5} cfu / g, Coliforms (MPN) 23.2, *Staph. aureus* 157 cfu / g, ยีสต์และรา 2.29 x 10^{2} cfu / g แต่เมื่อผ่านกระบวนการทำให้สุกมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดลดลงเหลือ 3.7 x 10^{3} cfu / g, Coliforms (MPN) 0.2, ยีสต์และรา 0.72 cfu / g, ตรวจไม่พบ *Staph. aureus* และ *Cl. perfringens*

2.2.1 ***Aeromonas caviae*** เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อน สามารถเคลื่อนที่ได้โดยใช้ Polar Flagella บางชนิดเคลื่อนที่ไม่ได้ metabolism มีทั้งแบบ respiration และ fermentation ให้ผล oxidase และ catalase เป็นบวก เป็นพวก facultative anaerobe ที่ผ่านมามีการจัดให้ Genus *Aeromonas* อยู่ใน Family Vibrionaceae (Popoff, 1984) แต่มีงานวิจัยบางชิ้นเสนอให้ Genus *Aeromonas* มี Family เป็นของตัวเอง คือ Family Aeromonadaceae (Colwell และคณะ , 1986) *Aeromonas* มีลักษณะทางชีวเคมีที่คล้ายกับ *Enterobacteriaceae*

Genus *Aeromonas* ประกอบด้วยสมาชิกอย่างน้อย 13 genospecies เช่น *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. sobria*, *A. veronii*, *A. schubertii* และ *A. salmonicida*. (ตารางที่ 2.1)

ตารางที่ 2.1 Genospecies และ Phenospecies ของ genus *Aeromonas*

DNA Hybridization Group	Reference strain (T = type strain)	Genospecies	Phenospecies
1	ATCC 7966^{T}	*A. hydrophila*	*A. hydrophila*
2	ATCC 51108^{T}	*A. bestiarum*	*A. hydrophila*
3	ATCC 33658^{T}	*A. salmonicida*	*A. salmonicida*
3	CDC 0434-84	*A. salmonicida*	*A. hydrophila*
4	ATCC 15468^{T}	*A. caviae*	*A. caviae*
5	A CDC 0862-83	*A. media*	*A. caviae*
5B	CDC 0435-84	*A. media*	*A. media*
6	ATCC 23309^{T}	*A. eucrenophila*	*A. eucrenophila*
7	CIP 7433^{T}	*A. sobria*	*A. sobria*
8	ATCC 9071	*A. veronii*	*A. veronii* biovar sobria
9	ATCC 49568^{T}	*A. jandaei*	*A. jandaei*
10	ATCC 35624^{T}	*A. veronii*	*A. veronii*
11	ATCC 35941	Unnamed	*Aeromonas* sp. (ornithine positive)
12	ATCC 43700^{T}	*A. schubertii*	*A. schubertii*
13	ATCC 43946	Unnamed	*Aeromonas* Group 501
14	ATCC 49657^{T}	*A. trota*	*A. trota*
15	CECT 4199^{T}	*A. allosaccharophila*	*A.allosaccharophilab*
16	CECT 4342^{T}	*A. encheleia*b	*A. encheleia*b

ที่มา : ดัดแปลงจาก Carnahan และ Altwegg (1996)

เชื้อในกลุ่มของ *Aeromonas* spp. สามารถคัดแยกสายพันธุ์ ได้โดยการทดสอบทางชีวเคมี เพื่อทำการยืนยันชนิดสายพันธุ์ ตามตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ผลการทดสอบทางชีวเคมีที่ใช้ในการคัดแยกเชื้อ *Aeromonas* spp.

Test[b]	Aeromonas species[a]								
	Ah	Ab	Asa	Ac	Am	Aeu	Aso	Avs	Aj
Ldc	+	±	±	-	-	-	+	+	+
Odc	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Adh	+	(+)	±	+	(+)	(+)	-	+	+
Esc	+	+	+	(+)	(+)	+	-	-	-
Gas-Gl	(+)	±	±	-	-	+	±	(+)	+
V-P	(+)	±	±	-	-	-	-	(+)	(+)
Ara-A	(+)	+	+	+	+	(+)	-	(-)	(-)
Man-A	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Suc-A	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Cephs	-	-	-	-	/	/	/	+	-

[a] : Ah, *A. hydrophila*; Ab, *A. bestiarum*; Asa, *A. salmonicidae*; Ac, *A. caviae*; Am, *A. media*; Aeu, *A.eucrenophila*; Aso, *A. sobria*; Avs, *A. veronii* biovar sobria และ Aj, *A. jandeii*

Symbols: +, ≥95% of isolates were positive; -, ≥95% of isolates were negative; (+), 85 to 94% of isolates were positive ; (-), 85 to 94% of isolates were negative; ±, 14 to 84% of isolates were positive; /, no data.

[b] : Ldc, lysine decarboxylase; Odc, ornithine decarboxylase; Adh, aldehyde decarboxylase; Esc, esculin hydrolysis; Gas-Gl, gas from glucose; V-P, Voges power test; Ara-A, acid from arabinose; Man-A, acid from mannose; Suc-A, acid from succinate; Cephs, cephalothin (30 mg) sensitivity.

ที่มา : Graf และคณะ (1994)

โดยปกติแบคทีเรียใน Genus *Aeromonas* สามารถพบได้ทั่วไปในสภาพแวดล้อม และในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ เป็นเชื้อที่ก่อโรคเกี่ยวกับทางเดินอาหาร (ตารางที่ 2.3)

ตารางที่ 2.3 ความสัมพันธ์ของลักษณะอาการ และความถี่ของการติดเชื้อ *Aeromonas* spp. ในมนุษย์

Type of infection	Characteristics	Relative frequency
Diarrhoea		
Secretory	Acute watery diarrhoea, vomiting	Very common
Dysenteric	Acute diarrhoea with blood and mucus	Common
Chronic	Diarrhoea lasting more than 10 days	Common
Choleraic	“Rice water” stools	Rare
Systemic		
Cellulitis	Inflammation of connective tissue	Common
Myonecrosis	Haemorrhage, necrosis with/without gas gangrene	Rare
Erythema gangrenosum	Skin lesions with necrotic centre, sepsis	Uncommon
Septicaemia	Fever, chills, hypotension, high mortality	Fairly common
Peritonitis	Inflammation of peritoneum	Uncommon
Pneumonia	Pneumonia with septicaemia, sometimes necrosis	Rare
Osteomyelitis	Bone infection following soft-tissue infection	Rare
Cholecystitis	Acute infection of gallbladder	Rare
Eye infections	Conjunctivitis, corneal ulcer, endophthalmitis	Rare

ที่มา : ดัดแปลงจาก Janda และ Duffey (1988) ; Nichols และคณะ (1996)

โดยที่ *A. caviae* เป็นเชื้อที่ทำให้เกิดปัญหาในอุตสาหกรรมอาหารชนิดหนึ่งเนื่องจากเป็นเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเจ็บป่วยจากการรับประทานอาหาร ที่ปนเปื้อนสารพิษจากเชื้อชนิดนี้ ส่งผลให้เกิดอาการลำไส้อักเสบ ท้องเสียในผู้ใหญ่ แต่สำหรับเด็กจะมีอาการที่รุนแรงกว่าผู้ใหญ่ซึ่ง Vila และคณะ (2003) ทำการคัดแยก *Aeromonas* spp. ในอุจจาระของนักท่องเที่ยวที่ท้องเสีย จำนวน 18 คน พบเชื้อ *A. caviae* ในอุจจาระผู้ป่วย 7 คน คิดเป็นร้อยละ 39 จากทั้งหมด 18 คน

สำหรับ Gill และ Jones (1995) ทำการศึกษาการปนเปื้อนของ *Aeromonas* spp. ที่ซากสุกรในโรงงานชำแหละ จากการ swabs ตัวอย่างซากสุกร ทั้งหมด 24 ซาก พบเชื้อ *A. caviae* 6 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 25 ของตัวอย่างทั้งหมด จะเห็นว่าในเนื้อสุกรก็สามารถพบเชื้อชนิดนี้ได้ ซึ่งอาจจะเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เชื้อชนิดนี้ปนเปื้อนมายังวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตไส้กรอกได

2.2.2 *Klebsiella pneumoniae* จัดอยู่ใน Family Enterobacteriaceae เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อน ไม่เคลื่อนที่ สร้าง Capsule ได้ เป็นพวก facultative anaerobe หมักกลูโคสได้กรดและแก๊ส (ดวงพร คันธโชติ, 2537) เชื้อในกลุ่มของ *Klebsiella* spp. สามารถคัดแยกสายพันธุ์ได้โดยการทดสอบทางชีวเคมี เพื่อทำการยืนยันชนิดสายพันธุ์ ตามตารางที่ 2.4 โดยเชื้อ *K. pneumoniae* เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคปอดอักเสบ สามารถพบเชื้อชนิดนี้ได้ทั่วไปในสภาพแวดล้อม และเป็น normal flora ในระบบทางเดินหายใจ ภายในลำคอ และผิวหนังของมนุษย์ (Podschun และ Ullmann, 1998)

ตารางที่ 2.4 ผลการทดสอบทางชีวเคมีที่ใช้ในการคัดแยกเชื้อ *Klebsiella* spp.

Biochemical test	*Result for Klebsiella species*[a]						
	Kp	Koz	Krh	Kox	Kt	Kpl	Kor
Lysine decarboxylase	+	d	-	+	+	+	+
Orithine decarboxylase	-	-	-	-	-		+
Indole	-	-	-	+	-	d	+
Methly red	d	d	+	d	+	+	+
Voges-Proskauer	+	-	-	+	+	+	d
Growth at 10°C	-	-	-	d	+	+	+
Gas from lactose	d	-	-	-	-	-	-
Malonate	+	-	+	+	+	+	+
Fermentation of:							
D-Arabinose	d	d	d	+	-	d	d
ß-Gentiobiose	+	+	-	+	+	+	+
D-Melizitose	-	-	-	d	+	-	-
2-Deoxy-D-ribose	d	-	d	d	+	+	+
L-Sorbose	d	d	d	+	+	+	+
D-tagatose	d	-	d	+	d	-	d

[a]: Kp, *K. pneumoniae*; Koz, *K. ozaenae*; Krh, *K. rhinoscleromatis*; Kox, *K. oxytoca*; Kt, *K. terrigena*; Kpl, *K. planticola*; Kor, *K. ornithinolytica*

Symbols: -, 0 to 10% positive; d, 11 to 89% positive; +, 90 to 100% positive.

ที่มา : ดัดแปลงจาก Dennis และคณะ (2004)

ดังนั้นเมื่อไส้กรอกผ่านกระบวนการต้ม และรมควัน ผลิตภัณฑ์ยังต้องผ่านกระบวนการผลิตอีกหลายขั้นตอนก่อนการนำไปบรรจุ ไส้กรอกมีโอกาสเกิดการปนเปื้อนกลับมาอีกครั้งได้จากน้ำที่ใช้ในการทำให้เย็น เครื่องมือและอุปกรณ์ในการผลิต รวมทั้งพนักงานที่มีสุขลักษณะนิสัยที่ไม่ดี (สุมาลี เหลืองสกุล, 2541)

2.3 การเน่าเสียของไส้กรอก

การเน่าเสียของไส้กรอกแบ่งได้เป็น 3 ลักษณะ คือ (โอรส รักชาติ, 2537)

2.3.1 การเกิดเมือก

การเกิดเมือกจะเกิดบริเวณผิวด้านนอกของไส้บรรจุ ที่ชั้นนอกของไส้จะมีการเจริญของจุลินทรีย์ได้ก็ต่อเมื่อมีความชื้นที่เหมาะสม ถ้าความชื้นสูงเชื้อ *Micrococcus* กับยีสต์จะเจริญ ถ้าความชื้นต่ำเชื้อราก็เจริญ (สุมาลี เหลืองสกุล, 2541) เริ่มแรกอาจเกิดเป็นโคโลนีเดี่ยวก่อน ต่อมาก็จะรวมตัวกันเป็นเมือกสีเทา แต่ก็สามารถแก้ไขได้โดยการนำไส้กรอกมาล้างด้วยน้ำร้อน

2.3.2 การเกิดรสเปรี้ยว

การเกิดรสเปรี้ยวจะเกิดขึ้นภายในตัวผลิตภัณฑ์ จากเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตกรดแลคติคได้ โดยแหล่งที่มาของเชื้อได้แก่ ผลิตภัณฑ์นมที่ใช้เป็นส่วนผสมในไส้กรอก การเปรี้ยวของไส้กรอกเกิดจากการใช้น้ำตาลแลคโตส และน้ำตาลชนิดอื่นๆ แล้วได้กรดแลคติคออกมา

2.3.3 การเกิดสีเขียวของไส้กรอก

การเกิดสีเขียวในไส้กรอกเนื่องจากแบคทีเรียในกลุ่ม *Lactobacillus* ซึ่งสามารถเจริญบนผิวผลิตภัณฑ์ โดยใช้แก๊สออกซิเจน หรือ Nitric – oxide myoglobin ได้สาร oxidized porphyrin ซึ่งมีสีเขียว

$$\text{Nitrosohemochromogen + bacteria} \longrightarrow R - O_2 - SH \text{ (Green pigment)}$$

การเกิดสีเขียว (greening) มี 3 แบบ (เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์, 2536)

1) Core greening การเปลี่ยนเป็นสีเขียวที่เริ่มจากจุดเล็ก ๆ ทั่วไปมักเกิดขึ้นที่จุดกึ่งกลางของชิ้นเนื้อ แล้วขยายวงกว้างขึ้นเรื่อย ๆ

2) Surface greening เป็นการเปลี่ยนสีที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ *Lactobacillus viridescens* ที่เจริญบนผิวหน้าของไส้กรอกที่มีการปนเปื้อนเชื้อนี้ภายหลังจากที่ผลิตภัณฑ์ทำการอบและรมควันแล้ว ส่งผลให้ไส้กรอกเปลี่ยนเป็นสีเขียวที่ผิวหน้า

3) Green ring การเปลี่ยนสีแบบนี้จะพบได้ไม่บ่อยนัก การเกิดเป็นวงแหวนสีเขียวเกิดขึ้นภายในไส้กรอก ซึ่งวงแหวนนี้จะเกิดขึ้นที่ความลึก 2 – 3 มิลลิเมตร จากผิวของผลิตภัณฑ์

Borch และคณะ (1988) พบว่าจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุที่ทำให้ไส้กรอกเปลี่ยนเป็นสีเขียว คือ *L. viridescens, Leuconostoc, Weissella* spp., *Carnobacterium divergens*, *Enterococcus* และ *Pediococcus* spp. การเกิดสีเขียวจะเกิดได้ง่ายขึ้นถ้าไส้กรอกมี pH ค่อนข้างเป็นกรดและมีออกซิเจนเพียงเล็กน้อย (สุมาลี เหลืองสกุล, 2541)

2.4 อายุการเก็บรักษาของเนื้อ และผลิตภัณฑ์

อายุการเก็บรักษาของเนื้อ และผลิตภัณฑ์ ขึ้นอยู่กับปริมาณ และชนิดของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน ถ้ามีมากก็จะส่งผลให้อายุการเก็บรักษาสั้นลง ทั้งนี้ลักษณะทางเคมี และทางกายภาพของตัวผลิตภัณฑ์ การเก็บรักษา รวมทั้งการบรรจุล้วนมีผลต่ออายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์เช่นกัน Shay และคณะ (1978) ทำการตรวจนับปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในผลิตภัณฑ์แฮม และไส้กรอก เมื่อเก็บไว้ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 5 $^{\circ}$C พบว่ามีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ 10^{8} cfu / g และผลิตภัณฑ์เริ่มมีกลิ่นผิดปกติ โดยมีแนวโน้มว่าอายุการเก็บรักษาจะขึ้นอยู่กับความชื้น และปริมาณจุลินทรีย์ตั้งต้น

2.5 สารยับยั้งจุลินทรีย์

2.5.1 เกลือ (Salt) เป็นส่วนผสมพื้นฐานในการทำไส้กรอก โดยเกลือมีบทบาทเกี่ยวกับการถนอมรักษาผลิตภัณฑ์ คือ 1) ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ถ้าใช้เกลือในปริมาณร้อยละ 5.0 – 7.0 2) เพิ่มรสชาติ ถ้าใช้ในปริมาณร้อยละ 1.5 – 3.0 3) เป็นตัวช่วยละลายโปรตีนมายโอซิน (myosin) และ แอคติน (actin) ในเนื้อ นอกจากนั้นยังช่วยในเรื่องของเนื้อสัมผัส ทำให้เนื้อนุ่ม และอุ้มน้ำได้ดี (เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์, 2536)

2.5.2 น้ำตาล (Sugar) เติมลงในผลิตภัณฑ์เพื่อเพิ่มรสชาติ ให้ความหวานแก่ผลิตภัณฑ์ น้ำตาลที่นิยมใช้ได้แก่ น้ำตาลซูโคลส กลูโคส และฟรุกโตส น้ำตาลมีบทบาทต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ดังนี้

1) น้ำตาลช่วยลดความเค็มในผลิตภัณฑ์ ทำให้ผลิตภัณฑ์มีรสชาติที่อ่อนนุ่มลง ช่วยป้องกันไม่ให้เนื้อสัตว์สูญเสียน้ำส่งผลให้ผลิตภัณฑ์เนื้อไม่แห้ง และแข็งกระด้าง

2) ช่วยในเรื่องสีของผลิตภัณฑ์ เมื่อผ่านกระบวนการให้ความร้อนทำให้ผลิตภัณฑ์เกิดสีน้ำตาลที่บริเวณผิวหน้า เพิ่มความน่ารับประทานให้กับผลิตภัณฑ์มากยิ่งขึ้น

3) เป็นตัวช่วยเร่งการเปลี่ยนแปลงของโซเดียมไนเตรทเป็นไนตริกออกไซด์ ส่งผลให้ปริมาณของสารไนเตรทที่เหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์น้อยลง และเกิดสีแดงได้เร็วขึ้น

4) ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดยน้ำตาลมีผลไปลดค่า Aw ของผลิตภัณฑ์

2.5.3 เกลือไนไตรท์ (Nitrite) และไนเตรท (Nitrate) เกลือทั้ง 2 ชนิดนี้ใช้ได้เฉพาะรูปเกลือโซเดียม และโปแตสเซียมเท่านั้น โซเดียมไนไตรท์มีลักษณะเป็นผง มีสีเหลืองซีด โปแตสเซียมไนไตรท์ มีลักษณะเป็นเม็ดขนาดเล็ก โซเดียมไนเตรทมีลักษณะเป็นผง หรือเม็ดสีขาว และโปแตสเซียมไนเตรทมีลักษณะเป็นเม็ดสีขาวละเอียด (ศิวาพร ศิวเวชช, 2535) บทบาทของเกลือไนไตรท์ และเกลือไนเตรทกับผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ มีดังนี้ (เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์, 2536)

1) ช่วยเพิ่มรสชาติ (Taste) และกลิ่นรส (Flavor) ทำให้มีกลิ่นรสเฉพาะตัวของผลิตภัณฑ์

2) ช่วยยับยั้งการหืนของไขมันในผลิตภัณฑ์เนื้อโดยจะไปยับยั้งปฏิกิริยาการเติมออกซิเจนของไขมัน (Oxidative rancidity)

3) ช่วยให้ผลิตภัณฑ์เนื้อมีสีแดง มีผลเนื่องจากการแตกตัวให้สารไนตริกออกไซด์ เพื่อเข้าทำปฏิกิริยากับไมโอโกลบิน ตามขั้นตอนต่อไปนี้

ขั้นตอนที่ 1 $NO_3^- \xrightarrow[\text{ดึงออกซิเจนออกไป}]{\text{แบคทีเรียที่รีดิวซ์ไนเตรทได้}} NO_2^-$

ขั้นตอนที่ 2 $NO_2^- + H^+ \xrightarrow{\text{แบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติค}} HNO_2$

ขั้นตอนที่ 3 $HNO_2 \xrightarrow{\text{สลายตัว}} NO + H_2O$

ขั้นตอนที่ 4 Mb(ไมโอโกลบิน) $\xrightarrow{\text{สภาพเหมาะสม}}$ MMb(เมทไมโอโกลบิน)

ขั้นตอนที่ 5 $NO + MMb \xrightarrow{\text{สภาพเหมาะสม}}$ NOMb (ไนโตรโซไมโอโกลบิน)

ขั้นตอนที่ 6 NOMb $\xrightarrow[\text{รมควัน}]{\text{ความร้อนในการอบและการ}}$ NO –Homochome

ไนโตรโซฮีโมโครม : สารให้สีชมพู

ที่มา : Kramlich และคณะ (1973) ; เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์ (2536)

จากขั้นตอนดังกล่าวทำให้ผลิตภัณฑ์เนื้อมีสีแดง และรักษาสีแดงของผลิตภัณฑ์ได้นานสม่ำเสมอ

4) ช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ในส่วนของการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ไนไตรท์ จะทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโน ซึ่งมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงขึ้นที่ผนังเซลและเอนไซม์ไฮโดรจิเนสของเชื้อจุลินทรีย์ ระบบการทำงานของไซโตโครมจะผิดปกติไปด้วย เนื่องจากปฏิกิริยาของไนไตรท์กับรงควัตถุในฮีม และประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จะดีขึ้นที่ความเป็นกรด-ด่างต่ำ

สารประกอบไนไตรท์นอกจากจะยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์อื่น ๆ แล้ว ยังสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Clostridium botulinum* ได้ด้วย (Price และ Greene, 1978 ; ศิวาพร ศิวเวชช, 2535)

สำหรับการใช้ไนไตรท์มีปัญหาเกี่ยวกับการเกิดสารประกอบไนโทรซามีน (Nitrosamine) โดยเฉพาะในสภาพที่เป็นกรด ดังนั้นในการใช้ต้องคำนึงถึงความปลอดภัยของผู้บริโภคในแง่ของปริมาณตกค้างในผลิตภัณฑ์ เพราะสารดังกล่าวได้พิสูจน์แล้วว่าเป็นสารก่อมะเร็ง (Carcinogen) ซึ่งประเทศไทยมีการควบคุมการใช้สารไนเตรท - ไนไตรท์ในอาหารโดยพระราชบัญญัติอาหารและยา พ.ศ. 2522 ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 84(2527) เรื่องวัตถุเจือปนในอาหาร ได้อนุญาตให้ใช้สารประกอบไนไตรท์ ในผลิตภัณฑ์เนื้อได้ไม่เกิน 200 ส่วนในล้านส่วน โดยคำนวณในรูปของโซเดียมไนไตรท์ ส่วนสารประกอบไนเตรทให้ใช้ได้ไม่เกิน 500 ส่วนในล้านส่วน

2.5.4 กรดซอร์บิคและเกลือซอร์เบท เป็นวัตถุกันเสียที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย เป็นสารประเภทกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัว กรดซอร์บิค (2,4 - hexadienoic) มีสูตรโมเลกุล CH_3- CH = CH – CH = CH - COOH ใช้ในการทำลายเชื้อยีสต์ และราได้ดีกว่าพวกแบคทีเรีย และมีความสามารถในการทำลายได้ดีที่ pH ไม่เกิน 6.5 โดยที่กรดซอร์บิคและเกลือซอร์เบทจะไปขัดขวางการทำงานของ Sulfhydryl enzyme ได้แก่ Fumalase aspartase และ Succinic dehydrogenase และขัดขวางการทำงานของ Catalase ซึ่งมีผลทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถใช้สารประกอบคาร์บอน เพื่อการดำรงชีวิต ทำให้จุลินทรีย์ตายในที่สุด จุดประสงค์ของการใช้เกลือซอร์เบท ก็เพื่อลดการใช้เกลือไนไตรท์ลงส่วนหนึ่งเพื่อผลในการยับยั้งจุลินทรีย์ และใช้เกลือไนไตรท์เป็นสารทำให้เกิดสีเพียงอย่างเดียว (โอรส รักชาติ, 2537)

2.5.5 เกลือของกรดแอสคอร์บิค และ อีริโธรบิก (Ascorbate and Erythorbate) นิยมใช้ในรูปของเกลือโซเดียม บทบาทของเกลือแอสคอร์เบทและ อีริโธรเบทต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อคือ

1) เป็นสารรีดิวซ์ (Reducing agent) ทำให้สารเมทไมโอโกลบินที่มีในเนื้อสัตว์ ถูกรีดิวซ์เป็นออกซิไมโอโกลบบิน ทำให้สีของผลิตภัณฑ์มีความคงตัว ไม่ซีดจาง

2) ช่วยเร่งปฏิกิริยาการเกิดไนตริกออกไซด์ โดยเร่งอัตราการหมักและการเกิดสีแดงในเนื้อให้เร็วขึ้น

3) เป็นสารกันหืน (Antioxidant)

4) การใช้กรดแอสคอร์บิคร่วมกับสารประกอบไนไตรท และไนเตรทสามารถลดปริมาณสารไนโตรซามีนที่เกิดขึ้นได้ (ศิวาพร ศิวเวชช, 2535)

2.5.6 การรมควัน (Smoking) การรมควันเป็นการใช้ความร้อน และควันไฟเพื่อถนอมอาหาร เพิ่มกลิ่นรส และสีให้กับอาหาร ทำให้ผลิตภัณฑ์แห้ง การรมควันเป็นการถนอมโดยการเคลือบสารเคมีจากเขม่าควันที่ผิวของอาหาร เขม่าควันที่เกิดจากการเผาไหม้จากวัสดุพวก ไม้ ขี้เลื่อย แกลบ หรือชานอ้อย (สุมาลี เหลืองสกุล, 2541) องค์ประกอบที่สำคัญในควันไฟที่มีผลต่อการถนอมรักษา และทำให้เกิดกลิ่นรสกับผลิตภัณฑ์ คือ ฟีนอล (Phenols) และฟอร์มัลดีไฮด์ (Formealdehyde) โดยสารฟอร์มัลดีไฮด์เป็นสารประกอบที่มีประสิทธิภาพที่ดีสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์, 2535) รองลงมาคือ ฟีนอล สารประกอบอื่นๆ ที่พบในควันจะเป็นพวกกรดอะลิฟาทิก (Aliphatic acid) เช่น กรดฟอร์มิก (Formic acid) กรดคาโปรอิก (Carproic acid) แอลกอฮอล์ชนิดปฐมภูมิและทุติยภูมิ (Primary and secondary alcohol) อะเซทาลดีไฮน์ (Acetaldehyde) และอัลดีไฮน์ (Aldehyde) เป็นต้น

การรมควันเป็นกระบวนการที่ทำให้ผลิตภัณฑ์สัมผัสกับแก๊สที่ได้จาก การเผาไหม้วัสดุประเภทไม้บางชนิด ซึ่งบทบาทของสารประกอบของควันต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ คือ (จุฑารัตน์ เศรษฐกุล, 2545)

1) ยืดอายุการเก็บรักษา ด้วยสารประกอบพวกฟีนอล ทำหน้าที่เป็นสารกันหืน และสารประกอบพวกอัลดีไฮด์ กรดอะซิติก กรดฟอร์มิก ทำหน้าที่เป็นตัวยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์
2) เพิ่มกลิ่น และรสชาติจากสารประกอบพวกฟีนอล อัลดีไฮด์ คาร์บอนิลแลคโตน
3) ปรับปรุงสีสันจากสารประกอบคาร์บอนิล ฟีนอล อัลดีไฮด์
4) เพิ่มความแข็งของผิวผลิตภัณฑ์จากสารประกอบฟอร์มาลดีไฮด์

2.6 การใช้กรดอินทรีย์ในอุตสาหกรรมอาหาร

กรดมีการใช้ในการประกอบอาหารมาช้านานแล้ว เพื่อเพิ่มรสชาติของอาหาร เช่น น้ำมะนาว น้ำส้มสายชู น้ำมะขามเปียก ต่อมาก็มีการนำกรดมาใช้ประโยชน์ในทางการถนอมอาหาร เช่น การดองผลไม้ เนื้อสัตว์ เป็นต้น เรื่อยมาจนถึงปัจจุบันก็นำกรดมาใช้ประโยชน์ในทางอุตสาหกรรมอาหารกันอย่างกว้างขวาง ดังตารางที่ 2.5

ตารางที่ 2.5 กรดอินทรีย์และเกลือของกรดที่ใช้มากในอุตสาหกรรมอาหาร

	วัตถุกันเสีย	ใช้กับอาหาร	ปริมาณที่ใช้ (mg/kg)
E200	กรดซอร์บิค	น้ำสลัด	<200
E201	เกลือโซเดียม	ขนมอบ	
E202	เกลือโพแทสเซียม	ของหวานจากผลไม้	
E203	เกลือแคลเซียม		
E210	กรดเบนโซอิค	ไซเดอร์ น้ำอัดลม	<3000
E211	เกลือโซเดียม	ผลิตภัณฑ์จากผลไม้	
E212	เกลือโพแทสเซียม	ซอสบรรจุขวด	
E213	เกลือแคลเซียม		
E260	กรดอะซิติก	ผักดอง ซอส	ใช้ได้ตาม%ที่ต้องการ
E270	กรดแลคติค	อาหารหมัก ซอส น้ำสลัด เครื่องดื่ม	ใช้ได้ตาม%ที่ต้องการ
E280	กรดโพรพิโอนิก	ผลิตภัณฑ์ขนมอบ	1000-5000
E281	เกลือโซเดียม	cheese spread	

ที่มา : Adams และ Moss (1995) ; สุมณฑา วัฒนสินธุ์ (2545 ก)

หน้าที่ของกรดอินทรีย์ในอุตสาหกรรมอาหารได้แก่ ได้แก่ (Vreeman, 1985 ; โอรส รักชาติ, 2537)

1. Flavouring : ใช้เพื่อปรับปรุงรสชาติของอาหาร และผลิตภัณฑ์อาหาร
2. Preservation : ใช้ในการถนอมและยืดอายุการเก็บรักษาอาหาร
3. pH regulation : ใช้ควบคุมสภาพความเป็นกรด-ด่างของอาหาร
4. Colour retention/control : ช่วยในการรักษา หรือควบคุมสีของผลิตภัณฑ์
5. Digestibility improvement : ปรับปรุงคุณสมบัติด้านการย่อย เช่น กระบวนการย่อยโปรตีน

ปัจจุบันมีการใช้กรดอินทรีย์เพื่อเป็นสารถนอมรักษาผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ ในการลดจำนวนจุลินทรีย์ โดยกรดอินทรีย์มีคุณสมบัติทั้งทำลายแบคทีเรีย (Bactericidal) และยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (Bacteriostatic) ปัจจัยที่มีผลต่อการทำลายจุลินทรีย์ของกรดอินทรีย์ขึ้นอยู่กับ ระดับ pH ความสามารถในการแตกตัวของกรด และความจำเพาะเจาะจงของกรดใน

การทำลายจุลินทรีย์ (จุฑารัตน์ เลี่ยนกัตวา, 2545) สำหรับกรดอินทรีย์และเกลือของกรดเหล่านี้ที่นิยมนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร โดยเป็นสารที่ไม่กำหนดปริมาณที่ใช้เติมในอาหาร ได้แก่ กรดแลคติค กรดซิทริก กรดมาลิก กรดอะซิติก กรดทาร์ทาริก เป็นต้น (สุมาลี เหลืองสกุล, 2541)

2.7 กลไกการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยกรดอินทรีย์

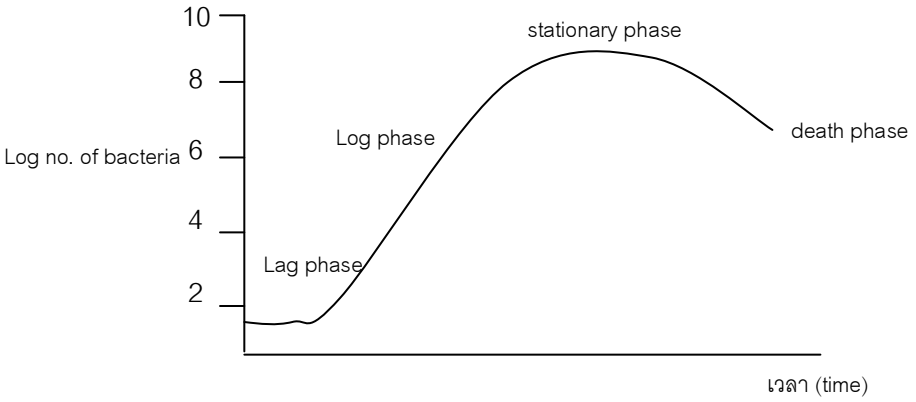
การยับยั้งจุลินทรีย์ของกรดอินทรีย์ ขึ้นอยู่กับค่า pH ความเข้มข้น ชนิดความยาวพันธะของกรด และค่า degree of branching ของกรด ประสิทธิภาพของกรดขึ้นอยู่กับค่าคงที่ของการแตกตัว (pK_a) หรือ ค่า pH ที่ 50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งค่า pK_a ของกรดอินทรีย์ส่วนใหญ่อยู่ในช่วง pH เท่ากับ 3 – 5 (จุฑารัตน์ เลี่ยนกัตวา, 2545) ดังตารางที่ 2.6

ตารางที่ 2.6 ค่าคงที่ของการแตกตัว (pK_a) ของกรดอินทรีย์

Acids	pK_1	pK_2	pK_3
Acetic acid	4.75		
Dehydroacetic acid	5.27		
Sodium diacetate	4.75		
Adipic acid	4.43	5.41	
Caprylic acid	4.89		
Citric acid	3.14	4.77	6.39
Fumaric acid	3.03	4.44	
Lactic acid	3.08		
Malic acid	3.40	5.11	
Propionic acid	4.87		
Succinic acid	4.16	5.61	
Tartaric acid	2.98	4.34	

ที่มา : Doores (1993)

การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ แสดงได้จากเส้นแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า log จำนวนจุลินทรีย์ กับเวลา (นาที) ของการเจริญเติบโต ซึ่งมีลักษณะเป็นเส้นโค้ง เรียกว่า Growth curve ตามภาพที่ 2.1



ภาพที่ 2.1 กราฟการเจริญเติบโตของจุลินนทรี

ที่มา : สุมณฑา วัฒนสินธุ์ (2545 ข)

การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์แบ่งได้เป็น 4 ระยะ (phase) (ภาพที่ 2.1) ระยะที่ 1 เรียกว่า Lag phases เป็นระยะที่จุลินทรีย์ปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อม จำนวนของจุลินทรีย์ยังไม่เพิ่มขึ้น แต่จะมีการสะสมสารภายในเซลและเอนไซม์บางชนิด เพื่อให้เพียงพอต่อกระบวนการทางชีวเคมีของเซลล์ ระยะที่ 2 เรียกว่า Logarithmic phase เป็นระยะที่จุลินทรีย์มีการแบ่งตัวอย่างรวดเร็ว ในการแบ่งตัวแต่ละครั้งจะใช้เวลาเท่าๆ กัน โดยระยะนี้อัตราการเจริญจะมากที่สุด สารอาหารที่สะสมจากระยะที่ 1 จะถูกใช้ไปในระยะนี้อย่างมากและรวดเร็ว ระยะที่ 3 เรียกว่า Stationary phase ระยะนี้ จุลินทรีย์จะมีจำนวนสูงสุดคงที่ การแบ่งตัวเพิ่มจะเท่ากับอัตราการตาย ในช่วงปลายระยะนี้จะเริ่มมีการขับของเสียที่เป็นพิษออกมา และระยะสุดท้ายคือระยะที่ 4 เรียกว่า Death phase เป็นระยะที่จุลินทรีย์จะตายอย่างรวดเร็ว สาเหตุการตายเกิดจากสารอาหารหมดและเกิดการสะสมของของเสียและสารพิษที่เกิดจากกระบวนการเมตาบอลิซึม (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ, 2539) ดังนั้นสามารถควบคุมจุลินทรีย์เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาอาหารได้โดยการยืดระยะเวลาในช่วง lag phase ออกไปให้นานที่สุด โดยพยายามทำให้เกิดสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมกับการเจริญของจุลินทรีย์ เช่น การเปลี่ยนแปลงความชื้น สภาพความเป็นกรด - ด่างในอาหาร หรือการเติมสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหาร (ชัยณรงค์, 2529 ; โอรส รักชาติ, 2537)

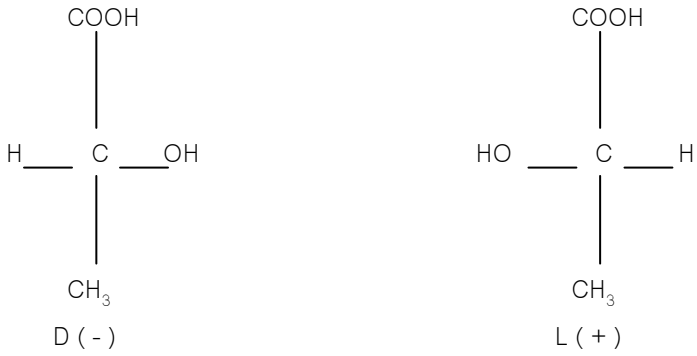
กรดอินทรีย์มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ เพราะกรดเป็นตัวที่ทำให้เกิดสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญ โดย pH ที่ลดต่ำลง กรดแต่ละชนิดมีคุณสมบัติในการแตกตัว และค่า pK_a ที่ต่างกัน แต่กลไกในการทำลายจุลินทรีย์จะคล้ายกัน โดยทั่วไป กรดซึ่งอยู่ในรูปของกรดที่ไม่แตกตัวจะเข้าไปจับกับผนังเซลของจุลินทรีย์ เป็นผลให้กรดที่อยู่ในรูปที่แตกตัวได้สามารถแพร่เข้าสู่เซลของจุลินทรีย์ และเกิดการรวมตัวกันกับสารภายในเซลทำให้ภายในเซลของจุลินทรีย์มีความเป็นกรดเกิดขึ้น ปกติแล้วเซลจุลินทรีย์จะพยายามรักษาสมดุลกรด-เบสภายในเซลให้มี pH เป็นกลาง แต่ pH ของสภาพแวดล้อมลดลง เนื่องจากกรดทำให้โครงสร้างภายในเซล เช่น โปรตีน กรดนิวคลีอิก และเซลเมมเบรน เปลี่ยนไป จุลินทรีย์ที่พยายามรักษาสมดุลภายในเซลทำให้เกิดการผ่านเข้าออกของการนำสารอาหารเข้าสู่เซล และเกิดการรั่วไหลของเมตาบอลิซึมภายในเซลออกสู่ภายนอก มีผลยับยั้งการเมตาบอลิซึมของเซลจุลินทรีย์ทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญได้และตายในที่สุด (Doores, 1993)

กรดอินทรีย์โดยทั่วไปมีความปลอดภัยต่อการบริโภค ผลของการใช้กรดในระยะยาวพบว่าไม่เป็นอันตรายต่อการบริโภค เนื่องจากกรดส่วนใหญ่จะถูกเมตาบอลิซึมได้ในร่างกาย โดยผ่านกระบวนการลิปิดออกซิเดชั่น และวัฏจักรของกรดไตรคาร์บอซิลิก (Tricarboxylic acid cycle)

กรดอินทรีย์ที่ใช้เป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์ในเนื้อ และผลิตภัณฑ์เนื้อ เช่น กรดอะซิติก กรดแลคติค กรดซิตริก กรดฟอร์มิก กรดซอร์บิก หรือกรดแอสคอร์บิก เป็นต้น แต่ที่นิยมมากที่สุด คือ กรดแลคติค และกรดอะซิติก

2.8 กรดแลคติคที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

กรดแลคติคเป็นกรดอินทรีย์ที่เกิดตามธรรมชาติ เป็นกรดที่พบในนมเปรี้ยว ผักดอง และผลิตภัณฑ์อื่นๆ ที่เกิดการหมัก เกลือของกรดแลคติคและกรดแลคติคนับเป็นวัตถุกันเสียอีกชนิดหนึ่งที่นิยมใช้ (ตารางที่ 2.7) เนื่องจากสามารถช่วยลดค่า Water activity และความเป็นกรด-ด่างของผลิตภัณฑ์ตามลำดับ ทำให้เก็บผลิตภัณฑ์ได้นานขึ้น (ศิวาพร ศิวเวชช, 2535)



ภาพที่ 2.2 โครงสร้างของกรดแลคติค D (-) และ L (+)
ที่มา : โอรส รักชาติ, (2537)

โครงสร้างของกรดแลคติค (ภาพที่ 2.2) แบ่งตามสมบัติการบิดระนาบแสงโพลาร์ไรซ์ได้ 2 แบบ คือ D (-) และ L (+) (ภาพที่ 2.2) L (+) เป็นรูปแบบที่เกิดแล้วใช้ได้ในร่างกายมนุษย์ (เยาวลักษณ์ สุรพันธ์พิศิษฐ์, 2536) รวมทั้งยังพบในจุลินทรีย์ที่สร้างกรดแลคติค (Lactic acid bacteria) ดังนั้น L (+) จึงเรียกได้ว่าเป็น natural or physiological lactic acid ส่วน D (-) นี้จะได้มาจากการสังเคราะห์ (Krusch, 1978 อ้างถึงโดย โอรส รักชาติ, 2537)

กรดแลคติคที่ใช้ในทางการค้ามี 3 ประเภท (Holten, 1971) คือ

1. Pure dry form (2-hydroxy propanoic acid) ลักษณะเป็นผงสีขาว มีจุดหลอมเหลวเท่ากับ 18°C (racemic dl-form) และ 26°C [(lactic acid isomer0,L(+)] ปกติใช้ในรูปสารละลาย เตรียมได้ที่ความเข้มข้นต่างๆ
2. Edible grade L (+) lactic acid เป็นของเหลวสีค่อนข้างเหลือง ปกติแล้วเป็นสารละลายเข้มข้น 50-80 %
3. Pharmaceutical grade เป็นของเหลวใส ไม่มีสี มีความเข้มข้น 88-90 %

ตารางที่ 2.7 ปริมาณกรดแลคติคในอาหารบางประเภท

FOOD	Lactic acid content (g / kg)	Per capita consumption (kg)	Per capita Lactic acid ingestion (g)
Pork	9	41.9	375.3
Beef	9	18.6	167.4
Cheese (Gouda)	13	12.5	162.5
Butter milk	10	9.3	93.0
Poultry	10	9.0	90.0
Yoghurt	10	6.9	69.0
Edible Slaughter offals	9	3.9	35.1
Dry fermented sausage	17	1.3	22.1
Sauerkraut	11	2.0	22.0
Horse meat	9	1.8	16.2
Veal	9	1.4	12.6
Mutton	9	0.5	4.5

ที่มา : Vreeman (1985)

กรดแลคติคมีคุณสมบัติ คือ เป็นกรดอินทรีย์ที่มีรสกรดอ่อน จึงไม่กลบกลิ่นรสของอาหาร ในประเทศไทยอุญาติให้ใช้กรดแลคติคเป็นวัตถุเจือปนอาหารได้ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 84 (2527) เรื่องวัตถุเจือปนในอาหาร และได้กำหนดมาตรฐานของกรดแลคติคไว้ว่า เป็นของเหลว ข้น เหนียว ไม่มีสี หรือสีเหลืองอ่อน เกือบไม่มีกลิ่น สมบัติของกรดแลคติคเมื่อเปรียบเทียบกับกรดซิตริก นั้นมีความแตกต่างกันเล็กน้อย ตรงที่รสชาติ ซึ่งกรดแลคติคมีรสอ่อนและนุ่มกว่ากรดซิตริกที่จะมีรสที่เข้มกว่าและอยู่ในรูปที่เป็นผลึกหรือผง แต่กรดแลคติคจะอยู่ในรูปของเหลว (Vreeman, 1985 ;โอรส รักชาติ, 2537)

2.9 การใช้กรดแลคติคในเนื้อสัตว์ และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์

กรดแลคติคที่ใช้ในเนื้อสัตว์ และผลิตภัณฑ์ก็เพื่อช่วยให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพได้มาตรฐาน ช่วยให้สีของผลิตภัณฑ์คงตัว ช่วยลดค่า Water activity ช่วยยืดอายุการเก็บรักษาเพราะสามารถลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในเนื้อเนื้อวัว เป็ด ไก่ และซากหมูในโรงฆ่าสัตว์ (เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์, 2536)

ในทางปฏิบัติการนำกรดแลคติคมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อจุดประสงค์ในการยืดอายุการเก็บรักษา ซึ่งมีปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพของกรดได้แก่ (โอรส รักชาติ, 2537)

2.9.1 ธรรมชาติของเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ Dickson (1992) รายงานว่าการใช้สารละลายกรดจะมีประสิทธิภาพในการลดเชื้อ *S.* Typhimurium*, Listeria monocytogenes* และ *E. coli* 0157 : H7 ในเนื้อที่มีไขมันมาก ดีกว่าในเนื้อที่มีไขมันน้อย

2.9.2 ปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น เนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ที่มีปริมาณ การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์สูง การใช้สารละลายกรดที่มีความเข้มข้นต่ำอาจไม่เพียงพอต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ แต่ทั้งนี้ก็ขึ้นกับชนิดของจุลินทรีย์ ที่มีต่อสารละลายกรด Greer และ Dilts (1992) เปรียบเทียบความไวของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคกับเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย ต่อกรดแลคติคและกรดอะซิติก ที่ ความเข้มข้น 1 – 3 % ที่อุณหภูมิ 20 และ 55 °C พบว่า *Staph. aureus* มีความไวต่อกรดสูงโดยสามารถลดจำนวนลงได้ 1.4 log cfu/g และเชื้อ *S.* Typhimurium สามารถทนกรดได้ดีที่สุดโดยสามารถลดจำนวนเชื้อลงได้เพียง 0.4 log cfu/g

2.9.3 วิธีการใช้สารละลายกรด จะขึ้นอยู่กับลักษณะ หรือชนิดของผลิตภัณฑ์ โดยวิธีทั่วไปในการใช้กรดจะทำ 2 ลักษณะ คือ การฉีดพ่น (Spray) และการแช่ (Dip) สำหรับการผสมกรดลงในผลิตภัณฑ์นั้นไม่นิยมปฏิบัติ เพราะถ้าใช้กับผลิตภัณฑ์ที่ต้องการให้เกิดอิมัลชั่น (Emulsion) แล้วจะทำให้การรวมตัวของอิมัลชั่นไม่ดี ดังนั้นในการเลือกว่าจะใช้วิธีใดก็พิจารณาจาก ผลิตภัณฑ์เป็น

หลัก คือ ถ้าเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีขนาดใหญ่ หรือผลิตภัณฑ์ที่มีจำนวนมากๆ และการซึมผ่านของกรดเป็นไปได้ดี ก็เลือกใช้วิธีการฉีดพ่น เพื่อลดปัญหาการสิ้นเปลือง แต่ถ้าผลิตภัณฑ์เป็นชิ้นขนาดเล็กก็ใช้วิธีการแช่ลงในสารละลายกรด (Freese และคณะ, 1973 ; Snijder และคณะ, 1985) ทั้งนี้ก็ควรคำนึงถึงความเหมาะสมของขั้นตอนการผลิต

2.9.4 ระดับความเข้มข้นของสารละลายกรด ไม่มีข้อกำหนดแต่จะใช้เกณฑ์การยอมรับทางประสาทสัมผัส และผลทางด้านการยับยั้งจุลินทรีย์ในการตัดสินใจ ซึ่งประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์นั้นเมื่อใช้กรดที่ระดับความเข้มข้นสูงจะมีประสิทธิภาพดีกว่า และยังขึ้นอยู่กับวิธีการนำสารละลายกรดไปใช้ด้วย โอรส รักชาติ (2537) ทำการศึกษาผลของกรดแลคติคในการยับยั้งจุลินทรีย์ในไส้กรอกเวียนนา โดยแปรปริมาณความเข้มข้นของกรดแลคติคโดยวิธีการแช่ที่ระดับ 0 1.0 1.5 และ 2.0% ปริมาตรโดยปริมาตร ระดับความเข้มข้นของกรดแลคติคที่เหมาะสมที่สุดด้วยวิธีการแช่คือ 1.5 % แต่สำหรับวิธีการฉีดพ่นแปรระดับความเข้มข้นของกรดแลคติคที่ 0 1.5 2.0% ระดับความเข้มข้นของกรดแลคติคที่เหมาะสมที่สุดด้วยวิธีการฉีดพ่นที่สุดคือ 2.0% แต่ถ้าความเข้มข้นของกรดแลคติคสูงเกินไปก็จะส่งผลกระทบต่อผลิตภัณฑ์ โดยสีของผลิตภัณฑ์จะซีดและมีกลิ่นของกรดติดกับผลิตภัณฑ์ (จุฑารัตน์ เลี่ยนกัตวา, 2545)

2.9.5 ระยะเวลาและอุณหภูมิของสารละลายกรดที่สัมผัสกับเนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อ

Anderson (1990) ทดลองใช้วิธีการแช่ชิ้นเนื้อวัวลงในสารละลายกรดแลคติคเข้มข้น 0 1 2 และ 3% ปริมาตรโดยปริมาตร และที่อุณหภูมิ 25 40 55 และ 70 °C เป็นเวลา 15 วินาที พบว่าผลในการลดจำนวนจุลินทรีย์แปรผันโดยตรงกับระดับความเข้มข้นของกรด และอุณหภูมิของสารละลายกรดแลคติคที่ใช้ คือ ถ้ากรดที่มีความเข้มข้นสูงสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ได้ดีกว่าความเข้มข้นต่ำ และถ้าใช้สารละลายกรดที่อุณหภูมิสูงก็จะให้ผลในการลดเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่าที่อุณหภูมิต่ำ

2.9.6 อุณหภูมิในการเก็บรักษาและสภาวะการบรรจุ ปกติแล้วเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ เช่น ไส้กรอก แฮม และเบคอน เป็นต้น ต้องเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่ำ เพื่อยืดอายุการเก็บรักษา Pipek และคณะ (2005) ใช้ L-(+)-lactic acid ความเข้มข้น 2% ฉีดพ่นลงบนซากวัว ทำการเก็บตัวอย่างมาตรวจ Total plate counts ตามช่วงเวลา 24 96 และ 120 ชั่วโมงตามลำดับ ภายหลังการเก็บในห้องเย็น เชื้อจุลินทรีย์ลดลงโดยเฉลี่ยจาก 4×10^2 เหลือ 2×10^1 cfu / g Barmpalia และคณะ (2004) ได้ทำการถ่ายเชื้อ *Listeria monocytogenes* 2-3 log cfu / cm^2 ลงใน Frankfurters แล้วทำการจุ่มไส้กรอกลงในสารละลายกรดแลคติคความเข้มข้น 2.5% แล้วบรรจุ

สุญญากาศ เก็บที่ 10 °C เป็นเวลานาน 40 วัน กรดแลคติคสามารถลดปริมาณเชื้อ *L. monocytogenes* ลงได้ 0.7-2.1 log cfu / cm^2

โอรส รักชาติ (2537) นำไส้กรอกเวียนนาแช่ในสารละลายกรดแลคติคความเข้มข้น 2.0% นำมาบรรจุสุญญากาศ แปรอุณหภูมิในการเก็บรักษาเป็น 4 $\pm$ 1 °C และ 10 $\pm$ 1 °C เป็นเวลา 21 วัน แล้วทำการตรวจนับปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดปรากฏว่า ที่อุณหภูมิ 4 $\pm$ 1 °C จะเก็บได้นานกว่าที่ 10 $\pm$ 1°C โดยปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเกินมาตรฐาน เมื่อวันที่ 15 และ 12 ของการเก็บตามลำดับ