

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่มีความสำคัญในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก

การนำเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียมาใช้กับอาหารประเภทเนื้อ ได้มีการนำเชื้อประเภทนี้มาใช้กับผลิตภัณฑ์นมหลายชนิด เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาโดยแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์นมหมัก และเพื่อปรับปรุงคุณภาพให้ดีขึ้น นอกจากนี้ยังใช้แบคทีเรียแลคติกเป็นอาหารเสริมแก่สัตว์เลี้ยง แทนยาปฏิชีวนะเนื่องจากแบคทีเรียแลคติกช่วยให้เกิดสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ ช่วยรักษาโรคเกี่ยวกับระบบทางเดินอาหารที่เกิดจากการติดเชื้อต่างๆในลำไส้ จึงจัดว่าเป็นพวก โปรไบโอติก (Probiotics) ชนิดหนึ่ง

ในสหรัฐอเมริกาได้ริเริ่มใช้เชื้อแบคทีเรียเริ่มต้น ในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตเนื้อเป็นครั้งแรกในปี ค.ศ. 1955 ซึ่งเชื้อที่ใช้เป็นเชื้อไลโอไฟไลส์ที่มีชื่อทางการค้าว่า ACCEL ในการหมักผลิตภัณฑ์ไส้กรอก (Semidry sausage) เช่น Thuringer, Cervelat, Summer sausage, Leabanon bologana และ Pepperoni โดยพบว่าการใช้เชื้อเริ่มต้น ACCEL จะช่วยลดระยะเวลาหมักไส้กรอกจากเดิมซึ่งใช้เวลา 150 ชั่วโมง เป็น 32 – 48 ชั่วโมง ซึ่งทำให้สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายน้อยลง นอกจากนี้ยังทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีคุณภาพรวมทั้งรสชาติที่ดีอีกด้วย

มีผู้วิจัยหลายท่านที่ศึกษาการนำแบคทีเรียแลคติกมาใช้เป็นเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น ในการผลิตไส้กรอกหมัก เช่น Hugas *et al.* (1993) ทำการแยกเชื้อแบคทีเรียแลคติกจากไส้กรอกหมักแบบแห้งของสเปนจากผู้ผลิต 15 ราย ได้เชื้อทั้งหมด 254 สายพันธุ์ พบ *L. sake* ร้อยละ 55 ตามด้วย *L. curvatus* ร้อยละ 26 *L. bavaricus* ร้อยละ 11 และ *L. plantarum* ร้อยละ 8 เชื้อ *L. sake* และ *L. curvatus* เป็นเชื้อที่เด่นและพบได้ในไส้กรอกซาลามิของกรีก โดย Hugas *et al.* (1993) แนะนำไว้ว่า เชื้อทั้งสองชนิดเป็นเชื้อที่เหมาะสมในการนำมาเป็นเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นในการทำไส้กรอกหมักแบบแห้ง เพราะว่าเชื้อทั้งสองชนิดมีความสามารถในการแข่งขันสูงระหว่างการหมัก ซึ่ง *L. sake* นั้นสร้างสารพวก Bacteriocin (Schillinger and Lucke, 1989 ; Sobrino *et al.*, 1991) ซึ่งสารนี้มีประสิทธิภาพในการป้องกันการเสื่อมเสียในเนื้อได้ (Meat preservative) (Stile and Hastings, 1991; Garriga *et al.*, 1996) ได้ทำการผลิตไส้กรอกหมักโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นได้แก่

L. sake 5 สายพันธุ์ *L. curvatus* 4 สายพันธุ์ *L. bavaricus* 2 สายพันธุ์ และ *L. plantarum* 1 สายพันธุ์ พบว่า *L. curvatus* CTC435T ทำให้ไส้กรอกมีค่าความเป็นกรดเป็นด่างต่ำที่สุด *L. plantarum* CTC305 สร้าง D-lactic acid สูงที่สุดซึ่งสอดคล้องกับการทดสอบทางประสาทสัมผัสที่พบว่ามิกลินกรดแรงที่สุด และจากการเปรียบเทียบระหว่างสายพันธุ์ของเชื้อ *L. curvatus* พบว่า *L. curvatus* CTC371 จะให้กลิ่นหมักและกลิ่นโดยรวมที่ดี และไม่มีกลิ่นผิดปกติ ดังนั้นในการเลือกใช้แบคทีเรียแลคติกที่แยกได้จากผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในการเป็นเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น ควรจะคำนึงถึงความจำเพาะของเชื้อแต่ละสายพันธุ์มากกว่าที่จะคำนึงถึงชนิดของแบคทีเรียแลคติกเท่านั้น

ความสำคัญของแลคติกแอซิดแบคทีเรียต่อผลิตภัณฑ์อาหารหมัก

ปัญหาที่พบในการผลิตไส้กรอกหมักทั่วไปได้แก่ ผู้ผลิตไม่สามารถควบคุมการผลิตผลิตภัณฑ์ให้มีคุณภาพที่สม่ำเสมอได้ทุกครั้ง เช่นการสร้างกรด การผลิตกลิ่นรสในผลิตภัณฑ์ที่ไม่มีความคงตัวแม้ว่าจะผลิตหรือเก็บรักษาในสภาวะเดียวกัน อีกทั้งการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิและความชื้นในแต่ละฤดูกาล ก็ส่งผลให้คุณภาพของไส้กรอกมีความแตกต่างกัน สาเหตุหนึ่งมาจากการที่ผู้ผลิตไม่สามารถควบคุมชนิด และปริมาณของจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในการผลิตกรดและสารให้กลิ่นรสในผลิตภัณฑ์ได้ ดังนั้นวิธีการที่จะสามารถนำมาใช้เพื่อควบคุม หรือแก้ไขปัญหาดังกล่าวที่เกิดขึ้นคือ การใช้เชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นเพื่อควบคุมการหมัก

จุลินทรีย์ที่มีความสำคัญต่อการหมัก ซึ่งจะใช้เป็นเชื้อบริสุทธิ์เพื่อเติมเป็นหัวเชื้อสำหรับการหมักจำเป็นต้องทำการคัดเลือกเชื้อที่มีความสามารถในการผลิตกรดแลคติกได้ โดยแบคทีเรียชนิดนี้สามารถที่จะดำรงชีวิต และทำให้เกิดกระบวนการเมตาบอลิซึม โดยที่ไม่ต้องการออกซิเจน กระบวนการทำงานจะเกิดจากการออกซิเดชัน และรีดักชันภายในโมเลกุล เนื่องจากว่ากระบวนการสลายของสารไม่ได้ใช้ออกซิเจน ดังนั้นผลผลิตสุดท้ายจึงไม่ใช่เป็นพวก คาร์บอนไดออกไซด์ น้ำไนเตรท และซัลเฟต แต่ผลผลิตที่ได้จากกระบวนการจะเป็นกรดแลคติก ซึ่งได้จากน้ำตาลความสามารถของจุลินทรีย์ที่เปลี่ยนสารอาหารพวกคาร์โบไฮเดรต ให้เป็นกรดแลคติก อะซิติก แอลกอฮอล์ และคาร์บอนไดออกไซด์ โดยทำให้สารอาหารประเภทอื่นในอาหารเปลี่ยนแปลงน้อยมาก ดังนั้นจุลินทรีย์พวกแลคติกแอซิดแบคทีเรีย จึงมีความสำคัญมากในการถนอมอาหาร เพราะว่ามันไม่ทำให้คุณค่าทางอาหารของผลิตภัณฑ์เสียไป และกรดแลคติกที่ผลิตขึ้นมานั้นยังสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้อีก (พิชรินทร์, 2538)

Gilliland and Speck (1975) ได้รวมคุณสมบัติของเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นที่ดีและรายงานว่าควรเป็นเชื้อที่เจริญในอุณหภูมิระหว่าง 26.7 – 43 องศาเซลเซียส มีความสามารถในการทนเกลือไนโตรที่เข้มข้น และเจริญได้ดีที่มีเกลือแกงร้อยละ 6 ต้องไม่เป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคหรือเป็นเชื้อที่ไม่สร้างสารพิษใดๆ เป็นเชื้อที่ไม่สร้างกลิ่นเน่าเหม็นให้แก่ผลิตภัณฑ์อาหารหมักไม่สร้างเอนไซม์ที่ย่อยโปรตีน และไขมัน ในกรณีที่เป็นเชื้อจุลินทรีย์แลคติกแอซิดแบคทีเรียจะต้องเป็นเชื้อชนิด Homofermentative ซึ่งจะสร้างกรดแลคติกเป็นส่วนใหญ่จากการใช้น้ำตาลกลูโคส โดยประโยชน์ที่สำคัญในการเติมเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียเริ่มต้นลงไปในระบบการหมัก คือ ลดระยะเวลาการหมัก และช่วยลดอันตรายจากสารพิษต่างๆ เช่น ฮิสตามีน ไนโตรซามีน และโบ툴ินัม เป็นต้น

Rice *et al.* (1975) รายงานว่า ระยะเวลาที่ใช้ในการหมักอาหารจะมีผลต่อการสะสมของฮิสตามีน โดยพบว่าไส้กรอกหมักชนิด Dry – sausage ที่หมักโดยวิธีธรรมชาติซึ่งจะใช้ระยะเวลาในการหมักนานจะพบฮิสตามีนสะสมในปริมาณมาก จากรายงานของ Gilliland (1985) พบว่าแลคติกแอซิดแบคทีเรียจะช่วยลดการสะสมของฮิสตามีน ในอาหารหมัก และพบว่าแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเป็นพิษจะเป็นตัวการผลิตสารนี้ออกมา โดยเกิดจากการสลายกลุ่ม คาร์บอกซิล ของสารฮิสตีดีน โดยมักพบสารฮิสตามีน ในอาหารหมักชนิดต่างๆ เช่น เนยแข็ง และไวน์ เป็นต้น

นอกจากนี้ยังพบว่า อาหารที่หมักโดยใช้เชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียเริ่มต้นจะปลอดภัยจากสารพิษ เช่น สารพิษจาก *Clostridium botulinum* และ Nitrosamine เนื่องจากแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่มีปริมาณมากจะผลิตกรดออกมาอย่างรวดเร็ว มีผลทำให้ระดับความเป็นกรดเป็นด่างลดลงอย่างรวดเร็วเช่นกัน ซึ่งจะเร่งให้ไนโตรที่ที่เหลือตกค้าง (Residual nitrite) ที่ได้จากการใส่ดินประสิวในอาหารหมักถูกสลายไปเป็นไนตรัสออกไซด์ จึงทำให้การสะสมของการไนโตรที่ลดลง เป็นเหตุให้การสะสมของสารพวก Nitrosamine ลดลงด้วย

การใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก จะช่วยให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพที่ดีขึ้น กล่าวคือ สามารถที่จะกำหนดให้เชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการเจริญได้ในผลิตภัณฑ์ (Garcia- Varona *et al.*, 2000) และป้องกันการเกิดจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการในผลิตภัณฑ์ (Sameshima *et al.*, 1998) ซึ่งส่งผลให้ผู้บริโภคมีความมั่นใจในด้านความปลอดภัยมากขึ้น ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความสม่ำเสมอ ระยะเวลาการหมักสั้นลง สามารถลดสารไนเตรท และสารไนโตรที่ที่เหลือในผลิตภัณฑ์ได้ และมีอายุการเก็บรักษาที่นานขึ้น (Hugas and Monfort, 1997; Luke, 2000)

จากรายงานของ Gilliland and Speck (1977) ซึ่งพบว่า *L. acidophilus* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, enteropathogenic *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens* โดยที่ *S. aureus* และ *C. perfringens* จะถูกยับยั้งได้ดีกว่า *S. typhimurium* และ *E. coli* จากการศึกษาพบว่า การยับยั้งเชื้อเหล่านี้มีผลจากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่สร้างขึ้นโดยเชื้อ *L. acidophilus*

การที่เชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียสามารถยับยั้งเชื้ออื่นได้นั้น เกิดจากการที่เชื่อนั้นสร้างสารบางชนิดออกมาซึ่งกลไกการยับยั้งที่แท้จริงยังสรุปได้ไม่ชัดเจน ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าการยับยั้งอาจเกิดจากสารเพียงชนิดเดียว หรือเกิดจากผลรวมของการทำงานของสารหลายชนิด (Dahiya and Speck, 1968; Branan *et al.*, 1975; Gilliland and Speck, 1975) สารที่แลคติกแอซิดแบคทีเรียผลิตออกมายับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น ได้แก่

1. สารปฏิชีวนะ เช่น Nisin และ Diplococcin ซึ่งผลิตโดยแบคทีเรียสกุล *Streptococcus* (Oxford, 1944; Hirsch, 1951) สารปฏิชีวนะที่สร้างโดย *L. acidophilus* (Vincent, *et al.*, 1957; Tramer, 1966; Hamden and Mikolajcik, 1975) สาร Lactolin ที่สร้างโดย *L. plantarum* (Kodama, 1952) สาร Bulgarican ที่สร้างโดย *L. bulgaricus* (Reddy and Shahani, 1971)
2. ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และสารที่ไม่ทนความร้อนอื่นๆ (Price and Lee, 1970; Gilliland and Speck, 1975; Gilliland and Speck, 1977; Haryono *et al.*, 1981; Abdel-Bar and Harris, 1984)
3. กรดแลคติก และกรดระเหยบางชนิดซึ่ง Mather and Babel (1959) รายงานว่า กรดระเหยหรือระดับความเป็นกรดเป็นด่าง เพียงอย่างใดอย่างหนึ่งไม่สามารถทำให้เกิดการยับยั้งการเจริญของเชื้ออื่นได้ ส่วน Lubis (1983) พบว่าเมื่อระดับความเป็นกรดเป็นด่างเพิ่มขึ้นจนเป็นกลาง จะทำให้คุณสมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้ออื่นหมดไปเช่นกัน
4. สารประเภทโปรตีน ซึ่งทนอุณหภูมิสูงได้ดี Hastings *et al.* (1991) กล่าวถึง กลุ่มของ Lantibiotics ซึ่งมี Lanthionine หรือ Methyllanthionine ประกอบขึ้นเป็นวงแหวนโดย Cysteine sulfhydryl group บน Dehydroalanine หรือ Dehydrobutyrine residues ซึ่งเป็น

อนุพันธ์ของ Serine หรือ และสามารถทนความร้อนได้สูง แสดงว่ากรดอะมิโนที่ชื่อว่า Lantionin เกี่ยวข้องกับคุณสมบัติในการทนความร้อนของสารแบคทีเรียโอซินบางชนิด

ไส้กรอกหมัก

ไส้กรอกหมักหมายถึง ไส้กรอกที่ปรับสภาวะต่างๆให้เหมาะแก่การเจริญของแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก โดยส่วนผสมของไส้กรอกหมักจะเตรียมโดยการผสมเนื้อและไขมันบดกับเกลือ สารประกอบไนไตรท์ หรือไนเตรท เครื่องเทศ และอื่นๆ ให้เข้ากันแล้วบรรจุลงในไส้หรือแบบบรรจุ ปล่อยให้เกิดการหมักและบ่ม จะทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ที่มีรสเปรี้ยว มีกลิ่นรสเฉพาะตัว โดยที่ในปัจจุบันไส้กรอกหมักเป็นที่รู้จักกันโดยทั่วไป และในแต่ละท้องถิ่นก็จะมีสูตรและกระบวนการผลิตที่แตกต่างกันออกไป เช่น Cervelat ซึ่งนิยมบริโภคกันในประเทศเนเธอร์แลนด์ เยอรมัน สวีเดน ออสเตรีย อเมริกา และไอซ์แลนด์ Salami หรือ Chorizo เป็นไส้กรอกหมักแบบแห้ง นิยมบริโภคกันในประเทศสเปน โปรตุเกส เม็กซิโก สเปน สวิสเซอร์แลนด์ สวีเดน อเมริกา อเมริกาใต้ อิตาลี อินเดีย และออสเตรีย เป็นต้น (วิเชียร, 2540)

ชนิดของไส้กรอกหมัก

Varnam and Sutberland (1995) กล่าวว่าไส้กรอกหมักแบ่งได้เป็น 2 ชนิดคือ ไส้กรอกหมักชนิดกึ่งแห้ง (Semi-dry fermented sausages) และไส้กรอกหมักชนิดแห้ง (Dry fermented sausages) โดยไส้กรอกหมักชนิดกึ่งแห้งเป็นไส้กรอกหมักที่มีระยะเวลาในการผลิตตั้งแต่ 3 วันจนถึง 4 สัปดาห์ มีปริมาณน้ำร้อยละ 30 – 42 ค่าปริมาณน้ำอิสระในอาหาร (a_w ; water activity) 0.92 – 0.96 ตัวอย่างเช่น Teewurst, Frische mettwurst, Summer sausage Thuringer เป็นต้น สำหรับไส้กรอกหมักแบบแห้งเป็นไส้กรอกหมักที่มีระยะเวลาในการผลิตตั้งแต่ 12 - 14 สัปดาห์ มีปริมาณความชื้นร้อยละ 20 – 30 ค่าปริมาณน้ำอิสระในอาหาร (a_w ; water activity) 0.82 – 0.86 ตัวอย่างเช่น Salami, Genoa, Saucisson และ Chorizo เป็นต้น Bacus (1984) กล่าวว่าไส้กรอกหมักแบบแห้งจะผ่านการทำแห้งโดยเอาน้ำออกไปร้อยละ 25 – 50 และสำหรับไส้กรอกหมักแบบกึ่งแห้งจะผ่านการทำแห้งโดยเอาน้ำออกไปร้อยละ 10 – 15 โดยจะต้องมีสัดส่วนของความชื้นต่อโปรตีนในผลิตภัณฑ์สุดท้ายไม่เกิน 2.3:1 สำหรับไส้กรอกหมักแบบแห้ง และ 3.7:1 สำหรับไส้กรอกหมักแบบกึ่งแห้ง

ในประเทศไทยไส้กรอกหมักที่เป็นที่รู้จักกันดีได้แก่ แหนม ไส้กรอกเปรี้ยว และมัม ซึ่งจัดเป็นไส้กรอกหมักชนิดกึ่งแห้ง โดยแหนมมีปริมาณน้ำร้อยละ 63.93 – 67.60 ไส้กรอกเปรี้ยวมีปริมาณน้ำร้อยละ 31.48 – 38.49 และมัมมีปริมาณน้ำร้อยละ 33.82 – 74.65 และมีระยะเวลาการผลิตประมาณ 2 – 5 วัน (Wongkhaluang and Boonyaratanakornkit, 1986)

การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมัก

การใช้เทคโนโลยีเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นควรตระหนักถึงปริมาณที่ใช้ว่าจะต้องเพียงพอ หรือมากพอที่จะแข่งขันกับเชื้อที่มีอยู่ในธรรมชาติ รวมถึงจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคด้วย ตลอดจนจะต้องคำนึงถึงการควบคุมกระบวนการหมักให้เหมาะสม ซึ่งถ้าหากมีการควบคุม และปฏิบัติการดังกล่าวอย่างดีที่สุดแล้วก็เป็นความมั่นใจได้ว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้น่าจะปลอดภัย และมีคุณภาพมาตรฐานที่ดี (Bacus and Brown, 1981)

วิธี“Back slopping”เป็นวิธีการดั้งเดิมที่ใช้ในการหมักไส้กรอก โดยนำบางส่วนของไส้กรอกหมักซึ่งผ่านการหมักที่มีคุณภาพที่ดีและมีความเหมาะสมมาเป็นส่วนผสม โดยจะนำมาใช้เป็นส่วนสนับสนุนเริ่มต้นของเชื้อที่ดีที่ต้องการให้เกิดการหมักในไส้กรอก ซึ่งในปัจจุบันการผลิตที่แพร่หลายคือการใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นหรือ “Starter cultures” (Smith and Polumbo, 1983) และเชื้อที่ใช้จะเป็นเชื้อกลุ่มแลคติกแอซิดแบคทีเรีย เช่น *Pediococcus* spp. , *Lactobacillus plantarum*, หรือ *Lactobacillus brevis* เป็นต้น และกลุ่มที่ใช้ หรือช่วยในการลดปริมาณไนเตรท หรือไนไตรท์ เช่น *Micrococcus* หรือ *Staphylococcus* spp.

ปี ค.ศ. 1940 Jensen and Paddock ได้ริเริ่มในการใช้แบคทีเรีย *Lactobacilli* สายพันธุ์ต่าง ๆ มาเป็นเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น โดยนำเชื้อดังกล่าวที่แยกได้จากผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักมาเติมลงในส่วนผสม พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้ไม่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม ซึ่งต่อมาได้มีการนำเอาเชื้อ *Pediococcus cerevisiae* เข้ามาใช้ด้วย (Gilliland, 1985; Campbell – platt and Cook, 1995)

การนำเอาเทคโนโลยีเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นมาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมัก มีการใช้ในรูปแบบเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นเดี่ยว และรูปแบบเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นผสม การเลือกใช้ทั้ง *Lactobacilli* และ *Pediococcus* เนื่องจากเป็นจุลินทรีย์ที่ผลิตกรดแลคติกได้ดี แบคทีเรียที่

สามารถสร้างกรดแลคติกได้ดียังสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Staphylococcus aureus* และ Enterobacteriaceae ได้เป็นอย่างดี (Sameshima *et al.*, 1998; Gonzalez and Diez, 2002) และในไส้กรอกหมักที่มีการใช้เชื้อ *Pediococcus acidilactici* โดยเชื้อนี้จะมีการผลิตสาร Pediocin ซึ่งพบว่าสามารถยับยั้งเชื้อชนิด *Listeria monocytogenes* ในระหว่างการลดความชื้นของไส้กรอก (Foegeding *et al.*, 1992)

ตาราง 2.1 เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นที่ใช้ในกระบวนการหมักไส้กรอกหมัก

Microbial group	Species available as starters	Desired metabolic activities	Benefits in sausage Ripening
Lactic acid bacteria	<i>L. plantarum</i> <i>L. pentosus</i> <i>L. sake</i> <i>L. curvatus</i> <i>P. pentosaceus</i> <i>P. acidilactici</i>	Formation of lactic acid	Inhibition of pathogenic and spoilage bacteria: Acceleration and drying
Catalase positive cocci	<i>St. carnosus</i> <i>St. xylosus</i> <i>M. varians</i>	Nitrate reduction Oxygen consumption, Peroxide destruction Formation of carbonyls and esters	Colour formation and Stabilization Removal of excess nitrite Delay of rancidity; colour Stabilization Aroma and flavour Development
Yeasts	<i>Deb. Hansenii</i> , <i>Candida famata</i>	Oxygen consumption Not know in detail	Delay of rancidity; colour Stabilization Aroma and flavour Development
Moulds	<i>Pen. Nalgiovense</i> <i>Biotypes 2,3,6;</i> <i>Pen. chrysogenum</i>	Surface colonization Oxygen consumption	Suppression of undesired Mould; facillitation of drying Delay of rancidity; colour Stabilization Flavour development
		Lactate oxidation Degradation of protein and amion acids	

หมายเหตุ L; *Lactobacillus* P; *Pediococcus* St; *Staphylococcus* M; *Micrococcus*

Deb; *Debaryomyces* Pen; *Penicillium*

ที่มา: Lucke (1998)

มัม

มัมเป็นผลิตภัณฑ์ประเภทไส้กรอกหมักแห้ง ผลิตจากเนื้อ ตับ กระเทียม ข้าวเหนียว ข้าวคั่วและเกลือ ผสมแล้วบรรจุในไส้ นิยมผลิตโดยใช้เนื้อโค หรือเนื้อกระบือ แต่ในบางแห่งมีการผลิตโดยใช้เนื้อหมู เป็นวัตถุดิบเช่นกัน โดยมัมที่ผ่านกระบวนการหมักแล้ว จะมีรสชาติเปรี้ยว เนื่องจากกรดแลคติก มีกลิ่นและรสที่เป็นลักษณะพิเศษเฉพาะของผลิตภัณฑ์ นิยมบริโภคกันในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ หรือภาคอีสาน

มัมสามารถแบ่งตามลักษณะการบรรจุออกได้เป็น 3 ชนิด (เขาวลัทธิ, 2536) คือ

1. มัมข้อ บรรจุในไส้หมูสดหรือไส้วัวสดที่ล้างสะอาดแล้วผูกมัดเป็นปล้องขนาด 4 - 5 นิ้ว ผึ่งแดดราให้ผิวนอกของไส้แห้ง แขนงผึ่งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 - 2 วัน มัมจะเริ่มแห้ง มัมข้อที่แห้งดีสามารถเก็บได้นาน
2. มัมพก บรรจุในไส้สุก หรือไส้ดั่งของวัว มีขนาดใหญ่ น้ำหนัก 1 - 4 กิโลกรัม ต่อพก แขนงผึ่งลมไว้ มัมจะเกิดการหมักให้รสเปรี้ยวภายใน 2 - 3 วัน และมัมจะแห้ง น้ำหนักจะลดลงไปเรื่อยๆ มัมพกที่แห้งได้ที่เหมาะสม สามารถเก็บไว้รับประทานได้นาน 1 - 3 เดือนโดยไม่เน่าเสีย และความเปรี้ยวไม่เพิ่มมากขึ้นมีปริมาณน้ำประมาณร้อยละ 30 - 40
3. มัมหม้อ บรรจุในหม้อ มีราคาถูกที่สุด เนื่องจากมีการเติมปอด ผสมรวมกับเนื้อม้าม และตับ บรรจุในหม้ออัดให้แน่น ต้มหมักไว้ 1 - 2 วันแล้วจึงนำมารับประทาน

ผลิตภัณฑ์ชนิดนี้ใช้รับประทานโดยตรงกับหัวหอมแดง พริกขี้หนูสด และขมิ้นขาว เป็นต้น รสชาติออกเปรี้ยว มีคุณค่าทางอาหารสูง การเก็บเพื่อรับประทานต่อไปมักจะเก็บในตู้เย็นเพื่อรักษารสชาติไม่ให้เปรี้ยวจัดเกินไป (ลักขณา, 2540) ซึ่งมัมที่ตากแห้งแล้วสามารถเก็บไว้ได้นานเป็นเดือน (ปรีชา, 2531)

ตาราง 2.2 องค์ประกอบทางเคมีของนม

องค์ประกอบทางเคมี	Bolan	Wongkhalaung and Boonyaratanakornkit
ปริมาณน้ำ(ร้อยละ)	33.8 – 74.7	33.82 - 74.65
โปรตีน(ร้อยละ)	11.3 – 39.3	11.39 – 39.28
ไขมัน(ร้อยละ)	1.4 – 18.3	1.40 – 4.50
เส้นใย(ร้อยละ)	0.1 – 1.5	0.10 – 1.44
เถ้า(ร้อยละ)	3.1 – 9.7	3.28 – 9.65
น้ำตาล(ร้อยละ)	Trace – 11.8	Trace - 11.74
กรดแลคติก(ร้อยละ)	0.7 – 4.4	1.10 – 4.31
ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH)	4.0 – 4.5	4.0 - 4.5
ค่าน้ำที่เป็นประโยชน์ (a_w)	0.90	-

ที่มา: Bolan *et al.*(1993) and Wongkhalaung and Boonyaratanakornkit (1986)

ส่วนประกอบและหน้าที่ของส่วนประกอบในนม

เนื้อสัตว์

เนื้อสัตว์เป็นส่วนผสมหลักของนม ซึ่งในเนื้อสัตว์จะมีโปรตีนอยู่ประมาณร้อยละ 18-20 ไขมัน ร้อยละ 0.9 และคาร์โบไฮเดรต ร้อยละ 1.2 (Lawrie,1979) ซึ่งทำให้แลคติกแอซิดแบคทีเรีย และแบคทีเรียอื่นๆเจริญได้ นอกจากนี้เนื้อสัตว์จะทำให้อาหารมีลักษณะเนื้อสัมผัส (Texture) ที่ดี เนื่องจากโปรตีนจะทำหน้าที่ห่อหุ้มไขมันและtringน้ำ ทำให้ส่วนผสมไม่แยกออกจากกันทั้งก่อน และหลังให้ความร้อน และโปรตีนจะจับกันเป็นก้อน (Coagulate) เมื่อถูกความร้อนทำให้มีลักษณะกึ่งแข็ง นอกจากนี้ในสัตว์ยังมีสารไมโอโกลบิน ซึ่งเป็นสารที่มีสีแดงจะทำให้อาหารมีสีแดง แต่เมื่ออยู่ในสภาวะที่มีคาร์บอนไดออกไซด์จะทำให้ไมโอโกลบินเปลี่ยนเป็นสีคล้ำ ดังนั้นจึงทำให้นมมีลักษณะที่เป็นสีคล้ำเช่นกัน (งามนิจ, 2539)

เนื้อที่ใช้ผลิตไส้กรอกหมักอาจใช้เนื้อหมู เนื้อแกะ เนื้อวัว หรือเนื้อไก่ ขึ้นอยู่กับชนิดของไส้กรอกหมักและท้องถิ่นที่ผลิต ในบางท้องถิ่นแถบยุโรปตะวันตกพบว่ามีการใช้เนื้อลา และเนื้อม้าในการผลิตไส้กรอกหมักด้วย เนื้อที่ใช้ต้องมีคุณภาพดี ไม่ปนเลือด เนื้อสัตว์เป็นองค์ประกอบหลักของผลิตภัณฑ์ อาจมีการใช้เนื้อ PSE (Pale Soft and Exudative) ซึ่งเป็นเนื้อที่มีลักษณะซิด

จางกว่าปกติ เนื้อสัมผัสนุ่มและมีน้ำเยิ้มได้ในบางผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักแบบแห้ง เพราะช่วยให้ผลิตภัณฑ์แห้งเร็วขึ้น แต่เนื้อ DFD (Dark Firm Dry) ซึ่งเป็นเนื้อที่มีลักษณะแข็ง เนื้อสัมผัสแน่น และแห้ง ไม่เหมาะในการนำมาทำไส้กรอกหมักแบบแห้ง เพราะจะทำให้ผลิตภัณฑ์เน่าเสียได้ง่าย (Varnam and Sutherland, 1995)

แลคติกแอซิดแบคทีเรีย (Lactic acid bacteria) และเชื้อเริ่มต้น (Starter cultures)

จุลินทรีย์ที่ผลิตกรดแลคติก แบ่งได้เป็น 2 ชนิดหลัก คือ Homofermentative lactic acid bacteria เป็นแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกเพียงอย่างเดียวในระหว่างกระบวนการหมัก ได้แก่ จินัส Streptococcus, Pediococcus, Lactococcus, Vagococcus และ Lactobacilli บางสายพันธุ์ ส่วน Heterofermentative lactic acid bacteria เป็นแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก ร่วมกับการผลิตกรดอะซิติก (Acetic acid) เอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol) และก๊าซ คาร์บอนไดออกไซด์ (Carbon dioxide) ได้แก่ จินัส Leuconostoc, Oenococcus, Weissella, Carnobacterium และ Lactobacilli บางสายพันธุ์ (Jay, 1996)

การใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น หมายถึง การเติมหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่กำลังเจริญเติบโตลงไปในส่วนผสม โดยอาจเติมลงไปในช่วงผสมกับเนื้อก่อนเพื่อให้มีการกระจายตัวอย่างทั่วถึง และการเติมเชื้อบริสุทธิ์ลงไปควรหลีกเลี่ยงการสัมผัสโดยตรงกับส่วนผสมเช่น เกลือ สารไนเตรท และสารไนไตรท์ เนื่องจากสารดังกล่าวอาจทำให้การทำงานของเชื้อจุลินทรีย์ลดลง เชื้อจุลินทรีย์ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปสารแขวนลอย (Suspension) ที่มีความเข้มข้นต่างกัน ดังนั้นในการใช้ควรเจือจางลงให้ได้ในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมก่อน เพื่อให้เกิดการกระจายตัวอย่างทั่วถึง หรือหากมีการเติมเชื้อจุลินทรีย์ในรูปของเชื้อแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dried) ก็ควรละลายน้ำให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการก่อนใช้งานเช่นกัน (Gilliland, 1985)

แหล่งของคาร์โบไฮเดรต

การเติมคาร์โบไฮเดรต มีวัตถุประสงค์เพื่อให้จุลินทรีย์ที่ผลิตกรดใช้เป็นแหล่งคาร์บอน ทำให้จุลินทรีย์เจริญอย่างรวดเร็วและผลิตกรดจำนวนมาก ส่งผลให้ความเป็นกรดเป็นด่างในผลิตภัณฑ์ลดลงอย่างรวดเร็ว ทำให้ผลิตภัณฑ์มีความปลอดภัยจากจุลินทรีย์ที่ทำให้โรคเช่น *Staphylococcus aureus* โดยทั่วไปมักใช้อยู่ในช่วงร้อยละ 0.4 - 0.8 (Varnam and Sutherland,

1995) การใช้แหล่งคาร์โบไฮเดรตที่มีปริมาณที่เหมาะสม เช่น กลูโคส จะเกิดการใช้คาร์โบไฮเดรตอย่างรวดเร็ว ทำให้ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของผลิตภัณฑ์ลดลงอย่างรวดเร็ว ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะดี ส่วนการใช้แหล่งคาร์โบไฮเดรตที่ไม่เหมาะสมเช่น โอลิโกแซคคาไรด์ (Oligosaccharides) ซึ่งย่อยสลายได้ยาก อาจส่งผลให้เกิดการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการได้ (Wood, 1985) นอกจากนี้การเติมคาร์โบไฮเดรตลงไปยังสามารถทำหน้าที่เป็นตัวเพิ่มปริมาณ หรือเป็นตัวช่วยลดต้นทุนในการผลิต และมีผลต่อเนื้อสัมผัส เนื่องจากแป้งซึ่งเป็นองค์ประกอบในข้าวเหนียว หรือข้าวคั่วจะทำหน้าที่คูดน้ำ เมื่ออาหารได้รับความร้อนจะทำให้แป้งเกิดเจด (Gelatinization) ทำให้มีความเหนียว ส่งผลให้ลักษณะอาหารเหนียวขึ้น (งามนิจ, 2539) ส่วนจุดประสงค์ในการเติมข้าวคั่วลงไปในผลิตภัณฑ์ เพื่อให้กลิ่นของข้าวคั่วไปดับกลิ่นคาวของเนื้อเป็นหลักไม่ได้ใช้เป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตของจุลินทรีย์ เนื่องจากข้าวที่นำมาทำข้าวคั่วไม่ได้ผ่านการทำให้สุก (Gelatinization) ดังนั้นจุลินทรีย์จะนำมาใช้ได้ยาก (สมทบ, 2531)

กระเทียม

กระเทียม มีชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Allium Sativum L.* ประกอบด้วย คาร์โบไฮเดรต ร้อยละ 26 โปรตีน ร้อยละ 7 และน้ำมันหอมระเหย ร้อยละ 0.1 นอกจากนี้ยังประกอบด้วย กลีโอฟรา แคลเซียม โซเดียม โพแทสเซียม ฟอสฟอรัส เหล็ก ไอโอดีน ซัลเฟอร์ และวิตามินต่างๆ เช่น วิตามินบีหนึ่ง วิตามินบีสอง วิตามินซี และไนอะซิน (De castro *et al.*, 1998)

กระเทียมมีสารประกอบกำมะถันชนิดหนึ่ง เรียกว่า อัลลิอิน (Alliin) ซึ่งเป็นสารที่มีความเสถียรภาพสูง ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น ละลายน้ำได้ ถ้าถูกขยี้จนเข้า สารนี้จะถูกย่อยโดยเอนไซม์ อัลลิอินเนส เปลี่ยนเป็นสารอัลลิซิน ไพรูเวท และแอมโมเนีย ซึ่งจะให้กลิ่นเฉพาะตัว และเกิดรสชาติของกระเทียมอย่างรุนแรง

ไพโรจีน และคณะ (2539) รายงานว่าเครื่องเทศที่เติมลงไป นอกจากจะเป็นส่วนประกอบที่ให้รสชาติ และกลิ่นตามธรรมชาติแก่ผลิตภัณฑ์แล้วยังพบว่าเป็นตัวกระตุ้นให้เกิดการผลิตกรดที่ดี โดยเฉพาะกระเทียมสด เครื่องเทศธรรมชาติที่ใช้ในสูตรการผลิตอย่างเหมาะสมจะมีผลโดยตรงต่ออัตราเร็วของการหมัก โดยจะเป็นตัวกระตุ้นให้แลคติกแบคทีเรียที่ผลิตกรดได้มีการสร้างกรดอย่างมีประสิทธิภาพ

ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักมักใช้กระเทียมเป็นส่วนประกอบ เนื่องจากกระเทียมที่เติมเข้าไปจะช่วยดับกลิ่นคาวของเนื้อสัตว์ ช่วยให้เกิดกลิ่นที่น่าบริโภค และป้องกันจุลินทรีย์ที่ไม่เกี่ยวข้องกับหมัก เช่น เชื้อรา (นันทนา, 2525)

การใช้กระเทียมในสูตรปริมาณสูงถึงร้อยละ 10 ของส่วนผสมทั้งหมด จะมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคได้ มีการทดลองพบว่า ผลิตภัณฑ์เนื้อหมักที่ไม่ผสมกระเทียมจะเกิดการผลิตกรดแลคติกในปริมาณค่อนข้างต่ำ แต่ถ้าผลิตภัณฑ์เนื้อหมักมีกระเทียมผสมอยู่จะทำให้เกิดการระบวมการหมักที่เร็วขึ้น และปริมาณกรดแลคติกที่เกิดขึ้นมีมากกว่าผลิตภัณฑ์เนื้อหมักที่ไม่มีกระเทียมเป็นส่วนประกอบ (ณรงค์ และทัศนีย์, 2526)

เกลือ

ปริมาณการเติมเกลือลงไปในส่วนประกอบของต่างประเทศจะอยู่ในช่วงร้อยละ 1 – 5 หน้าที่ของเกลือในส่วนประกอบ คือ (จันทร์สุดา, 2523)

1. ทำให้ผลิตภัณฑ์มีกลิ่นรสที่ดี
2. ช่วยในการเก็บรักษาเนื้อ โดยทำการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในทางที่ต้องการ คือ ทำให้ปริมาณน้ำที่เป็นประโยชน์ของจุลินทรีย์ลดลง
3. เป็นเครื่องกำหนดชนิดของจุลินทรีย์ที่เจริญได้ตามความปริมาณ และความเข้มข้นของเกลือ เช่น ใส่กรอกหมัก เชื้อที่เจริญได้ดี คือ แลคติกแอซิดแบคทีเรีย เพราะเชื้อชนิดนี้ทนเกลือและเชื้อบางตัวจะถูกเร่งการเจริญที่ความเข้มข้นของเกลือต่ำ นอกจากนี้อัตราความเข้มข้นของเกลือจะควบคุมการหมักของใส่กรอกโดยตรง โดยพบว่าความเข้มข้นของเกลือที่ดีที่สุด คือช่วงร้อยละ 2 – 3 ทำให้ลักษณะของเนื้อ สี และมีความน่ารับประทานมากที่สุด (Zaika *et al.*, 1978)

นอกจากนี้เกลือจะทำให้เกิดการเชื่อมติดของชิ้นเนื้อ จากหน้าที่ของโปรตีนสำคัญที่สามารถทำหน้าที่สกัดโปรตีนอื่นๆ เช่น แอคติน (Actin) และไมโอซิน (Myosin) โปรตีนเหล่านี้จะช่วยห่อหุ้มไขมันและตรึงน้ำในผลิตภัณฑ์ ทำให้ผลิตภัณฑ์เนื้อหมักสามารถคงตัวได้ดีโดยเฉพาะผลิตภัณฑ์ใส่กรอกหมัก เกลือจะช่วยยับยั้งการเจริญของพวกแบคทีเรียแกรมลบที่เป็นสาเหตุการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลโปไลติก (Lipolytic enzymes) ในเนื้อเยื่อไขมันสัตว์ ทำให้อาหารเกิดการหืนช้าลง (Aguirrezabal *et al.*, 2000)

เกลือที่เหมาะสมในการหมักเนื้อสัตว์ ควรเป็นเกลือที่สะอาดและผ่านการฆ่าเชื้อมาแล้ว นิยมใช้เกลือสินเธาว์มากกว่าเกลือสมุทร เนื่องจากเกลือสมุทรอาจมีแบคทีเรียที่ทนความเค็มสูง (Halophilic bacteria) และมีอนุมูลอิสระของสารพวกคลอโรฟิลล์ แมกนีเซียม ซึ่งมีผลต่อการดูดซึมของน้ำเกลือทำให้ความสามารถในการละลายของโปรตีนลดลง มีโลหะหนักเช่น ฟลูออโรเจนอยู่ ในเกลือที่ใช้หมักเนื้อจะมีผลต่อการเร่งปฏิกิริยาการหืนของไขมัน แต่ถ้าเกลือสมุทรได้ผ่านการกำจัดสิ่งที่ไม่พึงประสงค์ดังกล่าวข้างต้นแล้ว ก็สามารถนำมาใช้ในการหมักได้เช่นกัน

สารไนเตรท และสารไนไตรท์

ในด้านการใช้งานมักนิยมใช้ในรูปของเกลือโซเดียม หรือเกลือโปแตสเซียม หน้าที่ของเกลือไนเตรท และเกลือไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ ได้แก่ ทำให้ผลิตภัณฑ์เนื้อมีสีแดง และรักษาสีแดงของผลิตภัณฑ์ไว้ ช่วยเพิ่มรสชาติแก่ผลิตภัณฑ์ ทำให้มีกลิ่นรสเฉพาะตัวเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ และป้องกันการงอกของสปอร์แบคทีเรีย โดยเฉพาะ *Clostridium botulinum* และช่วยทำให้แบคทีเรียที่มีบทบาทสำคัญในการหมักเจริญเติบโตได้ดี โดยเฉพาะ Lactobacilli และ Micrococci นอกจากนี้ยังช่วยยับยั้งการหืนของไขมันในผลิตภัณฑ์เนื้อ โดยไปยับยั้งปฏิกิริยาการเติมออกซิเจนของไขมัน (ยาวลักษณ์, 2536 ; Wood, 1985 ; Goutefongea, 1992 ; Campbell-Platt and Cook, 1995; Fennema, 1996 ; Aguirrezabal et al., 2000)

สารไนเตรทไม่มีบทบาทโดยตรงในกระบวนการหมัก แบคทีเรียที่สามารถรีดิวส์สารไนเตรท (Nitrate reducing bacteria) ได้จะทำการเปลี่ยนสารไนเตรทเป็นไนไตรท์ ซึ่งมีบทบาทสำคัญในกระบวนการหมักเนื้อ อาจกล่าวได้ว่าไนเตรทเป็นแหล่งสำคัญต่อการเกิดไนไตรท์เมื่อไนเตรทถูกเปลี่ยนเป็นไนไตรท์โดยจุลินทรีย์ กระบวนการนี้จำเป็นต้องใช้จุลินทรีย์ในปริมาณที่มากพอด้วย อย่างไรก็ตาม การเจริญของจุลินทรีย์ดังกล่าวหากมีปริมาณมากในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักก็อาจไม่เป็นที่ต้องการเช่นกัน ปริมาณสารไนไตรท์ที่เกิดจากสารไนเตรทขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น อุณหภูมิ แบคทีเรีย และค่าความเป็นกรดเป็นด่าง เป็นต้น ซึ่งการที่จะควบคุมให้ได้สภาวะที่เหมาะสมทำได้ไม่ง่ายนัก (ลักขณา, 2540; Fennema, 1996)

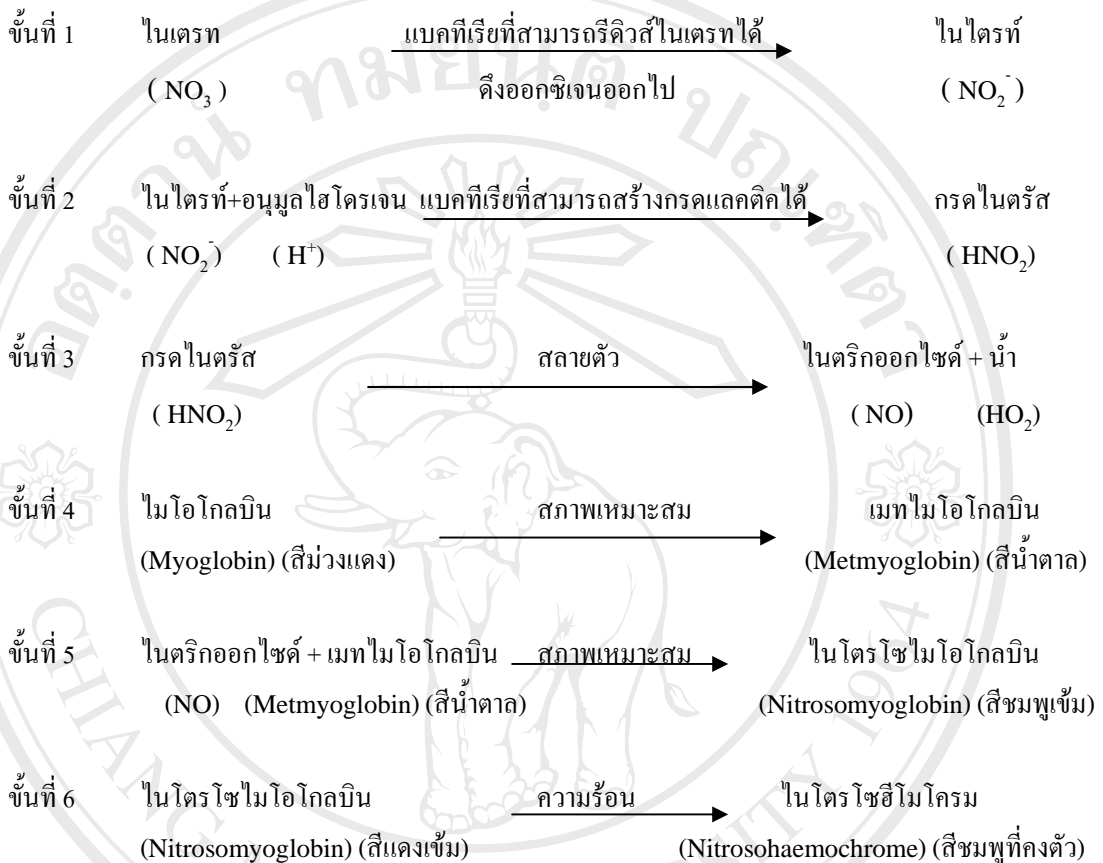
สารไนเตรทจะถูกรีดิวส์ให้เป็นสารไนไตรท์ โดยแบคทีเรียที่สามารถรีดิวส์สารไนเตรทได้ จากนั้นเมื่อไนไตรท์อยู่ในสภาวะที่มีแบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดแลคติกได้ และมีค่าความเป็น

กรดเป็นด่างที่เหมาะสมจะถูกเปลี่ยนเป็นกรดไนตริก และสลายตัวได้ในไนตริกออกไซด์ ส่วนไมโอโกลบิน (Myoglobin) ในเนื้อสัตว์นั้นส่วนใหญ่มักเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของเมทไมโอโกลบิน (Metmyoglobin) ในเนื้อสัตว์เกิดเป็นสารไนโตรโซไมโอโกลบิน (Nitrosomyoglobin) และเมื่อสารดังกล่าวได้รับความร้อนจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปไนโตรโซฮีโมโครม (Nitrosohemochrome) ที่มีสีชมพูคงตัว



ภาพ 2.1 แสดงความสัมพันธ์ของการเปลี่ยนแปลงสีของเนื้อที่เกิดขึ้นในเนื้อ(ลักษณะ, 2540)

บทบาทของสารไนเตรท และสารไนไตรท์ต่อการเกิดสีในผลิตภัณฑ์เนื้อ สามารถอธิบายได้ดังนี้



สารไนไตรท์เป็นสารประกอบพิเศษที่สร้างเอกลักษณ์ หรือก่อให้เกิดลักษณะเฉพาะในกระบวนการบ่มเนื้อโดยใช้เกลือ (Curing) เนื่องจากความสามารถในการให้ลักษณะพิเศษทางด้านสีของผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก และก่อให้เกิดกลิ่นที่มีลักษณะเฉพาะในผลิตภัณฑ์เนื้อที่หมักเกลือ (Cured-meat) (Campbell-Platt and Cook, 1995)

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 84 อนุญาตให้ใช้สารไนเตรทได้ในปริมาณไม่เกิน 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (โดยคำนวณเป็นโซเดียมไนเตรท) และสารไนไตรท์ใช้ได้ไม่เกิน 125 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (โดยคำนวณเป็นโซเดียมไนไตรท์) (ประกาศกระทรวงสาธารณสุขตามพระราชบัญญัติอาหาร, 2522)

ไส้บรรจุ

ชนิดของไส้บรรจุมีอยู่ 2 ชนิดดังนี้

ไส้แท้ (Natural casing) ได้จากไส้หมู และ วัว และควาย นำไปล้างทำความสะอาด แล้วนำเกลือมาคลุกให้ทั่ว จากนั้นล้างเกลือออกให้หมดแล้วแช่น้ำไว้จนกว่าจะใช้บรรจุ ไส้แท้ที่นำมาใช้เป็นไส้บรรจุควรสามารถขยายออกและหดตัวเข้าเมื่อทำการบรรจุส่วนผสม และยังสามารถหดตัวได้เมื่ออยู่ในสภาพแห้งลงหรือผ่านการให้ความร้อน ไส้แท้มีคุณสมบัติที่ปล่อยให้ความชื้นและควันไฟซึมเข้าไปในเนื้อไส้กรอกได้ง่าย แต่ไส้แท้มีข้อเสียคือ ขนาดของไส้ไม่สม่ำเสมอ ไส้ที่มีอายุต่างกันก็มีความแข็งแรงต่างกันด้วย การเก็บรักษาก่อนข้างยาก ไส้แท้อาจฉีกขาดได้ง่ายเนื่องจากอาจมีรูเล็กๆ มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการมากับไส้แท้เนื่องจากขั้นตอนการเตรียมไส้ก่อนการบรรจุไม่ดีพอ และจะสูญเสียความชื้นได้ง่ายกว่าไส้สังเคราะห์

ไส้เทียม (Artificial casing) นิยมนำมาใช้ในโรงงานทำไส้กรอก เนื่องจากผลิตได้ปริมาณมาก มีราคาถูก มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางให้เลือกได้ตามความต้องการ ขนาดมีความสม่ำเสมอ และเก็บรักษาได้ง่าย โดยไส้เทียมในปัจจุบันมีอยู่ 2 แบบคือ ไส้เทียมแบบรับประทานได้ (Edible artificial casing) ทำมาจากโปรตีนคอลลาเจน โดยได้จากการสกัดหนังสัตว์ด้วยสารละลายด่าง และล้างน้ำเพื่อแยกสารละลายที่ได้ และส่วนที่ไม่ใช่คอลลาเจนออก แล้วนำไปเข้าเครื่องบด จากนั้นนำไปทำปฏิกิริยากับกรดแลคติกชนิดเจือจางเพื่อให้เกิดการพองตัวและเหลวขึ้นเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วจึงนำไปเข้าแบบให้ได้ลักษณะเป็นหลอด และนำไปผ่านในภาชนะที่บรรจุแอมโมเนียมซัลเฟตเพื่อตกตะกอน นำหลอดที่ได้ไปล้าง ทำให้แข็งตัวและอบให้แห้ง (เขวลักษณะ, 2536 ; ลักขณา, 2540) ไส้เทียมแบบรับประทานไม่ได้ (Inedible artificial casing) ทำจากเซลลูโลสที่สกัดจากเมล็ดฝ้าย คอลลาเจนที่บริโภคไม่ได้และพลาสติก ไส้เทียมประเภทนี้มีตั้งแต่ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 – 15 เซนติเมตร มีความแข็งแรงทนทาน และยังป้องกันการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ได้

อย่างไรก็ตาม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของไส้บรรจุที่เลือกใช้ในการผลิตก็เป็นสิ่งที่ควรคำนึงถึงเช่นกัน ไส้บรรจุที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางมากจะส่งผลให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความเป็นกรดต่ำกว่าผลิตภัณฑ์ที่ใช้ไส้บรรจุขนาดเล็กกว่า เช่นเดียวกับระยะเวลาที่ใช้ในการหมักผลิตภัณฑ์ที่ใช้ไส้บรรจุขนาดใหญ่อาจต้องใช้เวลาในการหมักนานกว่าการใช้ไส้บรรจุขนาดเล็ก เนื่องจากการ

กระจายตัวของอุณหภูมิในการผลิตผลิตภัณฑ์ที่มีพื้นที่มากกว่าจะเป็นไปได้อย่างช้ากว่า ตลอดจนความร้อนที่ใช้ในการหยุดกระบวนการหมักก็เป็นไปอย่างช้าด้วยเหตุผลเดียวกัน

สารเคมีกันเสีย

กรดซอร์บิกและโปแตสเซียมซอร์เบท

กรดซอร์บิก เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายตรง ชื่อทางเคมีคือ 2,4 – Hexadienoic acid สูตรโมเลกุลคือ $\text{CH}_3\text{-CH=CH-CH=CH-COOH}$ มีน้ำหนักโมเลกุลเป็น 112.13 ผลึกมีลักษณะเป็นเกล็ดหรือเข็ม ไม่มีสี และอาจพบได้ในลักษณะผงหรือเม็ดสีขาว อ่อนนุ่ม แฉกหักง่าย ละลายน้ำได้น้อย เกลือซอร์เบทจะละลายน้ำได้ดีกว่ากรดซอร์บิก ในอุตสาหกรรมนิยมใช้เกลือซอร์เบทมากกว่ากรดซอร์บิก เกลือซอร์เบทที่มีจำหน่ายทางการค้า ได้แก่ แคลเซียมซอร์เบท โซเดียมซอร์เบท และโปแตสเซียมซอร์เบท โดยนิยมใช้โปแตสเซียมซอร์เบทมากที่สุดเนื่องจากสามารถละลายน้ำได้ดีที่สุด มีความคงตัวสูง และวิธีการผลิตไม่ยุ่งยาก (Davidson and Branen, 1993)

โปแตสเซียมซอร์เบท มีชื่อทางเคมีคือ 2,4 – Hexadienoic acid potassium salt สูตรโมเลกุลคือ $\text{CH}_3\text{-CH=CH-CH=CH-COOK}$ มีน้ำหนักโมเลกุลเป็น 150.22 โปแตสเซียมซอร์เบทมีลักษณะเป็นผงหรือเป็นเม็ดสีขาว สามารถละลายน้ำได้ดีกว่ากรดซอร์บิกมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดยเฉพาะเชื้อราและยีสต์ได้เป็นอย่างดี แต่ไม่มีผลต่อแบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดแลกติกได้ (Banwart, 1989 ;Davidson and Branen, 1993)

การนำกรดซอร์บิกและเกลือซอร์เบทมาใช้เพื่อเป็นสารเคมีกันเสีย ได้มีการนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์ต่างๆมากมายเช่น ผลิตภัณฑ์อาหารของมนุษย์และสัตว์ เครื่องสำอาง เวชภัณฑ์เป็นต้น ซึ่งวัตถุประสงค์หลักของการนำมาใช้ในอาหารก็เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราและยีสต์

ประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ของเกลือซอร์เบทจะเพิ่มขึ้น เมื่อค่าความเป็นกรดเป็นด่างลดลง ความสามารถในการแตกตัวของเกลือซอร์เบทขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรดเป็นด่าง กล่าวคือ ยิ่งค่าความเป็นกรดเป็นด่างลดลง เกลือซอร์เบทที่ยังแตกตัวได้น้อย ซึ่งเกลือซอร์เบทในรูปไม่แตกตัว (Undissociate form) จะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดีกว่ารูปที่แตกตัว (Dissociate form)

อย่างไรก็ตาม แม้ว่าเกลือซอร์เบทจะสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดีในสภาวะที่มีความเป็นกรดเป็นด่างต่ำๆ แต่เกลือซอร์เบทก็ยังมีประสิทธิภาพที่ค่าความเป็นกรดเป็นด่างอยู่ในช่วง 6.5 - 7.0 ซึ่งนับเป็นข้อดีของเกลือซอร์เบทอีกประการหนึ่งเมื่อเทียบกับวัตถุกันเสียอื่นๆ เช่น โพรพิโอเนท และเบนโซเอท (Deman, 1990 ; Fennema, 1996)

ปริมาณเกลือซอร์เบทในอาหารอาจจะสูญเสียไประหว่างการเก็บรักษา ปริมาณที่สูญเสียไปจะมากหรือน้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับปริมาณของซอร์เบทที่ใช้เติมลงไปในการผลิต ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง องค์ประกอบของอาหาร ความชื้น กระบวนการผลิต ภาชนะบรรจุ อุณหภูมิ และระยะเวลาในการเก็บรักษา และสารเจือปนอื่นๆที่มีอยู่ในอาหาร (Banwart, 1989) ดังนั้นเพื่อป้องกันการถูกทำลายจากปัจจัยดังกล่าว จึงควรเก็บรักษาสารนี้ในภาชนะบรรจุที่ป้องกันการซึมผ่านของความชื้นได้ดี พร้อมทั้งเก็บภาชนะดังกล่าวในบริเวณที่มีอุณหภูมิและความชื้นต่ำ ไม่มีแสงแดด (Sofos and Busta, 1993)

การแพร่ของซอร์เบทเข้าสู่อาหารจะเกิดมากหรือน้อยเพียงใดนั้น ขึ้นอยู่กับสมบัติต่างๆ ของอาหารด้วย ไม่ว่าจะเป็นส่วนประกอบ สมบัติทางกายภาพ โครงสร้าง ความชื้น หรือค่าน้ำที่เป็นประโยชน์ด้วย ดังนั้นควรทำการศึกษาลงถึงกลไกการแพร่ของกรดซอร์บิกในการเข้าสู่เนื้ออาหาร เพื่อที่จะสามารถควบคุมให้กรดซอร์บิกแพร่เข้าสู่เนื้ออาหารได้มากที่สุด ทั้งในระหว่างกระบวนการผลิต และในระหว่างการเก็บรักษา

การใช้เกลือซอร์เบทในอาหารมีหลายรูปแบบ ได้แก่ การใส่ในอาหารโดยตรง การจุ่มอาหารลงในสารละลายซอร์เบท การฉีดพ่นสารละลายซอร์เบท การคลุกพร้อมผงแป้ง การเติมในวัสดุเคลือบผิวอาหาร และการเติมลงในวัสดุหีบห่อ การเลือกใช้วิธีที่เหมาะสมนั้นควรพิจารณาจากชนิดของอาหาร วัตถุประสงค์ที่ต้องการ กระบวนการผลิต เครื่องมือ และความสะอาด (Banwart, 1989; Davidson and Branen, 1993)

กรดซอร์บิกและเกลือซอร์เบทได้รับการพิจารณาจาก GRAS (Generally Recognized As Safe) ว่าเป็นสารประกอบที่มีความปลอดภัยต่อมนุษย์ และอนุญาตให้ใช้เป็นสารเคมีกันเสียในผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิด ทั้งนี้เนื่องจากเกลือซอร์เบทมีความเป็นพิษต่ำ และมีสมบัติที่ดีกว่าสารเคมีกันเสียชนิดอื่น ประเทศไทยได้มีการประกาศของกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 84 ตามพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 อนุญาตให้ใช้โปแตสเซียมซอร์เบทในอาหารได้ในปริมาณสูงสุด

ไม่เกิน 1,000 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักอาหาร 1 กิโลกรัม (ประกาศกระทรวงสาธารณสุขตามพระราชบัญญัติอาหาร, 2522)

กรดซอร์บิก และโปแตสเซียมซอร์เบทเป็นสารประกอบที่ไวต่อความร้อน ความชื้น และแสงแดด ดังนั้นเพื่อป้องกันการถูกทำลายจากปัจจัยดังกล่าว จึงควรเก็บรักษาสารนี้ไว้ในภาชนะบรรจุที่สามารถป้องกันการซึมผ่านของความชื้นได้ พร้อมทั้งเก็บในบริเวณที่มีอุณหภูมิและมีความชื้นต่ำ รวมทั้งเก็บภาชนะดังกล่าวให้พ้นจากแสงแดด (Sofos and busta,1993) ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขระบุว่าให้เก็บกรดซอร์บิกในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท กันแสงได้ และเก็บที่อุณหภูมิไม่เกิน 38 องศาเซลเซียส (ประกาศกระทรวงสาธารณสุขตามพระราชบัญญัติอาหาร, 2522)

Germinder (1995) รายงานว่า ในงานวิจัยเกี่ยวกับการยืดอายุการเก็บผลิตภัณฑ์ปลาหมึกวันที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสด้วยการใช้โปแตสเซียมซอร์เบท โดยการฉีดพ่นหรือทำการจุ่มในสารละลายโปแตสเซียมซอร์เบทความเข้มข้นร้อยละ 5 บนปลาแล้วนำไปรมควันจะทำให้มีกรดซอร์บิกในผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.04 และสามารถเก็บผลิตภัณฑ์ได้ 20 วัน ในขณะที่ตัวอย่างควบคุม (ไม่มีการใช้โปแตสเซียมซอร์เบท) สามารถเก็บรักษาได้ 11 วัน ส่วนการจุ่มปลาที่รมควันแล้วลงในสารละลายโปแตสเซียมซอร์เบทจะทำให้มีกรดซอร์บิกอยู่ในผลิตภัณฑ์ร้อยละ 0.03 และสามารถเก็บผลิตภัณฑ์ได้ 24 วัน ในขณะที่ตัวอย่างควบคุม (ไม่มีการใช้โปแตสเซียมซอร์เบท) สามารถเก็บรักษาได้ 10 วัน

งานวิจัยของ Statham *et al.*(1995) พบว่า หากนำชิ้นปลาสดไปจุ่มในสารละลายโปแตสเซียมซอร์เบทความเข้มข้นร้อยละ 1.2 แล้วนำมาเก็บรักษาในสภาพสุญญากาศที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าการใช้โปแตสเซียมซอร์เบทจะลดจำนวนแบคทีเรียลงอย่างชัดเจน และเมื่อเทียบอายุการเก็บของชิ้นปลาที่ไม่ได้จุ่มสารละลายโปแตสเซียมซอร์เบทจะมีอายุการเก็บ 6 วัน ส่วนชิ้นปลาที่จุ่มสารละลายโปแตสเซียมซอร์เบทจะมีอายุการเก็บ 13 วัน และมีปริมาณโปแตสเซียมซอร์เบทเหลือในชิ้นปลาสดร้อยละ 0.08

การเสื่อมคุณภาพทางด้านเคมีในผลิตภัณฑ์เนื้อ

การเสื่อมคุณภาพทางด้านเคมีในผลิตภัณฑ์เนื้อ ส่วนใหญ่จะเกี่ยวกับการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation) ของไขมัน ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียคุณภาพทางด้านสี กลิ่นรส เนื้อสัมผัส และคุณค่าทางอาหาร (Kanner, 1994) เนื้อสัตว์ที่ถูกตัดออกมามีความไวในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันต่างกัน เนื่องจากระดับความไม่อิ่มตัวของไขมันที่แตกต่างกัน โดยออกซิเจนจะเข้าไปรวมกับไขมัน ส่วนการบดเนื้อให้เป็นชิ้นเล็กๆ จะทำให้ออกซิเจนพบกับไขมันได้มากขึ้น จึงเกิดการหืนเนื่องจากออกซิเจนเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ฟอสโฟลิปิด (Phospholipids) มีความไม่อิ่มตัวสูง จึงมีแนวโน้มที่จะเกิดออกซิเดชันได้มาก และตำแหน่งของฟอสโฟลิปิดไม่ว่าจะเป็นในเนื้อเยื่อ หรือบนผนังเซลล์ของเนื้อเยื่อไขมัน จะมีอิทธิพลต่อการเกิดออกซิเดชัน ดังนั้นปฏิกิริยาออกซิเดชันจะเกิดได้เมื่อเซลล์ถูกทำลาย (Ranken, 1994)

การวัดการเสื่อมเสียของไขมันในอาหาร สามารถใช้ได้ทั้งวิธีการทางประสาทสัมผัสและทางเคมี โดยวิธีการทางประสาทสัมผัสใช้ผู้บริโภคประเมินผลเป็นคะแนน ซึ่งสัมพันธ์กับกลิ่นหืน จึงจำเป็นต้องใช้ผู้ชิมที่มีความคุ้นเคยกับผลิตภัณฑ์ที่ทดสอบ วิธีนี้มีข้อเสีย คือ ผลที่ได้มีความแปรปรวนมากและเสียเวลา สำหรับการวิเคราะห์ทางเคมีวัดได้โดยใช้ค่า Thiobabaturic acid value (TBA) ซึ่งการหาค่า TBA เป็นวิธีที่นิยมใช้วัดระดับการเกิดออกซิเดชันของไขมันอย่างกว้างขวาง โดยวัดความเข้มของสีแดงที่เกิดจากปฏิกิริยาทางเคมีระหว่างกรดไทโอบาบิทูริก (2 - thiobabaturic acid) กับสารที่ได้จากการเกิดออกซิเดชันของไขมัน คือ มาโลนัลดีไฮด์ (Malonaldehyde) (Yu and Sinnhuber, 1957)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ปรีชา (2531) ได้มีการศึกษาจุลินทรีย์ในมัมที่หมักแบบพื้นบ้านในจังหวัดต่างๆของภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 6 จังหวัด จำนวน 8 ตัวอย่าง พบว่า แบคทีเรียกรดแลคติกทุกชนิดสามารถเจริญได้ดีในอาหาร MRS (de Man Rogosa Sharpe) เมื่อเปรียบเทียบกับอาหาร PCA (Plate Count Agar) และ GYP (Glucose Yeast Peptone) และพบแบคทีเรียกรดแลคติก 6 ชนิดระหว่างการหมักมัม คือ *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus brevis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Pediococcus cerevisiae* และ *Pediococcus homari* แบคทีเรียกรดแลคติกเหล่านี้พบเป็นจำนวนมากในวันที่ 1 – 4 ของการหมัก โดยเฉพาะสายพันธุ์ที่พบมากที่สุดได้แก่ *Pediococcus cerevisiae* และ *Lactobacillus plantarum* แต่ในวันที่ 5, 7 และ 14 ของการหมักจะมีจำนวนลดลง

งามนิช (2539) รายงานว่า การหมักมัมเป็นเวลา 14 วันพบว่าปริมาณน้ำในมัมลดลงจากวันที่เริ่มต้นการหมักร้อยละ 42.16 โดยในวันที่ 14 ของการหมักจะมีค่าความชื้นในมัมเพียงร้อยละ 29.99 ส่วนปริมาณกรดจะแปรผันตามจำนวนแบคทีเรียสร้างกรดในมัม ส่งผลให้มีปริมาณกรดสูงขึ้นในวันที่ 2 และ 3 สอดคล้องกับจำนวนแบคทีเรียที่พบมากในช่วงวันที่ 2 และ 3 ของการหมัก และจำนวนแบคทีเรียสร้างกรดจะลดลงเมื่อเวลาหมักนานขึ้น ส่วนค่าความเป็นกรดเป็นด่างในระหว่างการหมักไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก โดยในวันเริ่มต้นมีค่าความเป็นกรดเป็นด่าง 5.59 และลดลงต่ำที่สุดในวันที่ 2 และ 3 แบคทีเรียสร้างกรดจากมัม 3 ตัวอย่างที่เจริญบน MRS เป็นแบคทีเรียกรดแลคติก ร้อยละ 81.67 เป็นแบคทีเรียชนิดอื่นๆร้อยละ 18.33 จินัสที่พบตลอดเวลากการหมักมัม 14 วันได้แก่ *Pediococcus* ร้อยละ 31.67, *Enterococcus* ร้อยละ 24.0, *Lactobacillus* ร้อยละ 11.67 ส่วนจินัสอื่นๆที่พบในบางวันของการหมัก ได้แก่ *Leuconostoc* ร้อยละ 6.0, *Streptococcus* ร้อยละ 4.0, *Aerococcus* ร้อยละ 2.33 และ *Lactococcus* ร้อยละ 2.0

กิตติวรรณ (2546) ซึ่งศึกษาผลของการใช้โซเดียมไนไตรท์ และโซเดียมแอสคอร์เบทต่อคุณภาพของมัมระหว่างกระบวนการหมัก และทำแห้ง พบว่า การใช้โซเดียมไนไตรท์มีผลในการเพิ่มค่าสีแดง (a) และลดค่าที่บีเอ (TBA) ของผลิตภัณฑ์เมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุม มีผลเล็กน้อยในการลดลงของค่าสีเหลือง (b) และไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความชื้น ค่าน้ำที่เป็นประโยชน์ (a_w) ค่าความแน่นเนื้อ ค่าความสว่าง (L) การใช้โซเดียมแอสคอร์เบทไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของมัมไปจากตัวอย่างควบคุม แต่จะช่วยเสริมประสิทธิภาพเมื่อใช้ร่วมกับโซเดียมไนไตรท์

ในการศึกษาผลของการรวมวันต่อคุณภาพของนม พบว่าการรวมวันมีผลในการลดปริมาณความชื้น ค่าทีบีเอ (TBA) ค่าน้ำที่เป็นประโยชน์ (a_w) ค่าความสว่าง (L) แต่จะเพิ่มค่าความแน่นเนื้อ การเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) สามารถเก็บนมได้ 15 วัน และการเก็บที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส สามารถเก็บนมได้ประมาณ 30 วัน โดยการเก็บรักษานมที่อุณหภูมิต่ำไม่มีผลต่อการชะลอการหืนในผลิตภัณฑ์

Sanz *et al.* (1997) ได้ทำการศึกษาผลของการใช้สารไนเตรทและสารไนไตรท์ ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางจุลชีววิทยา และประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักที่ใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นประเภท *Lactobacilli* พบว่าการใช้สารเคมีทั้งสองไม่มีผลต่อปริมาณแบคทีเรียที่สามารถผลิตกรดแลคติกได้และ *Micrococci* ที่พบในผลิตภัณฑ์ ในทางกลับกันสารเคมีที่ใช้มีผลในการยับยั้งการเจริญของพวก *Enterobacteriaceae* ดังนั้นจึงมีการแนะนำให้ใช้สารเคมีทั้งสองชนิดนี้ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมัก เพื่อลดอัตราการเสี่ยงต่อจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการให้เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์

Sameshima *et al.* (1998) ทำการทดลองศึกษาผลของเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นประเภท *Lactobacilli* ต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารพิษของ *Staphylococcus aureus* ในไส้กรอกหมักพบว่าไส้กรอกหมักที่ไม่มีการเติมเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นประเภท *Lactobacilli* จะมีการเจริญเติบโตของ *Staphylococcus aureus* และการสร้างสารพิษ Enterotoxin เกิดขึ้น ส่วนในไส้กรอกหมักที่มีการเติมเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นประเภท *Lactobacilli* จะสามารถช่วยในการยับยั้งการสร้างสารพิษ Enterotoxin ของ *Staphylococcus aureus* ได้เป็นอย่างดีที่น่าพอใจและเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นประเภท *Lactobacilli* ที่คัดเลือกไว้แล้วนั้นน่าจะนำไปใช้ประโยชน์ในการผลิตไส้กรอกหมักแบบใหม่ซึ่งมีความปลอดภัยจากเชื้อจุลินทรีย์ได้

Petchsing and Woodburn (1990) ทำการศึกษา *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ในแฮมพบว่าในขั้นตอนการเติมเนื้อลงไปจะเป็นส่วนสำคัญในการทำให้เชื้อชนิด *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ถูกตรวจพบในแฮม ซึ่งการเติมเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นลงไปในแฮมร้อยละ 0.75, 1.5 และไม่เติมเชื้อลงไปในแฮม พบว่าการที่ไม่เติมเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นลงไปในแฮมจะทำให้จำนวนของ *E. coli* เปลี่ยนแปลงน้อยมาก แต่เชื้อชนิด *S. aureus* จะมีจำนวนเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ส่วนการเติมเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นลงไปในแฮมร้อยละ 0.75 ลงไปในแฮมจะพบเชื้อ *S. aureus* หลัง 48 ชั่วโมงไม่นาน และ *E. coli* จะมีจำนวนลดลง 1 log

หลังจาก 96 ชั่วโมง และการเติมเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นลงไปบนหม้อน้อยละ 1.5 พบว่าเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* จะไม่สามารถมีชีวิตอยู่ได้ แต่เชื้อทั้งสองชนิดนั้นจะถูกตรวจพบอีกครั้งหลังจาก 36 และ 96 ชั่วโมงตามลำดับ ดังนั้นในการผลิตหมอนจึงควรมีการเติมเชื้อบริสุทธิ์ลงไป

Coretti (1978) ทำการศึกษาการใช้ Starter cultures จะใช้ได้ผลดีหรือไม่ขึ้นอยู่กับปริมาณความเข้มข้นที่เหมาะสมเพื่อใช้ในหลังการทดลองคือ 4 log - 5 log cfu/g ส่วนการผลิตในระดับอุตสาหกรรมนั้นควรใช้ความเข้มข้น 6 log - 7 log cfu/g จึงจะได้ผลดีซึ่งมักจะใช้เชื้อ *Pediococcus cerevisiae*, *Lactobacillus* spp. และ *Micrococcus lactic* เป็น starter culture

Holzapel and Hall (1977) ทำการศึกษาจุลินทรีย์ที่พบในไส้กรอกแห้ง ได้แก่ *Lactobacillus* spp, *Leuconostoc* spp, *Pediococcus* spp, *Staphylococcus* spp, *Klebsiella* spp, *Enterobacter* spp, *Pseudomonas* spp และ *M. thermophactum* โดยมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดอยู่ในช่วง 6.0×10^4 - 6.9×10^8 cfu/g

Mugula et al. (1977) ทำการศึกษาการใช้เชื้อบริสุทธิ์ชนิดแลคติกแอซิดแบคทีเรียและยีสต์ในอาหารหมักของแทนซาเนียที่ชื่อ Togwa พบว่าเมื่อจำนวนของแลคติกแอซิดแบคทีเรียและยีสต์เพิ่มขึ้นในเวลาการหมักนั้น ขณะเดียวกันนั้นก็ทำให้จำนวนของ Enterobacteriaceae ลดลง

Hugas and Monfort (1997) ทำการศึกษาการใช้เชื้อแบคทีเรียแลคติกในการหมักเนื้อ พบว่าการเติมเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียลงในผลิตภัณฑ์ ทำให้มั่นใจได้ว่าจะทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีคุณภาพทางประสาทสัมผัสและองค์ประกอบของสีที่ดี และการใช้แลคติกแอซิดแบคทีเรียบางสายพันธุ์สามารถผลิตสารยับยั้งซึ่งมีความสำคัญ เช่นพวกสารปฏิชีวนะหรือสารต่อต้านจุลินทรีย์พวกที่ก่อให้เกิดโรค ดังนั้นในการประยุกต์ใช้สารยับยั้งจากแบคทีเรียแลคติกบางสายพันธุ์ โดยการใช้เป็นเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นในอาหารหมักด้วยการเติมลงไป เพื่อป้องกันการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในอาหาร