รายงานวิจัย

การผลิตกุ้งส้มบรรจุในภาชนะปิดที่ผ่านการแปรรูปด้วยความร้อน

The production of sour fermented shrimp containing in sealed package with thermal processing

ชุตินุช	สุจริต	Chutinut	Sujarit
ไวกูณฐ์	ฤทธิรุฒม์	Wigoon	Rittirut

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัย จากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย
งบประมาณแผ่นดิน ปี พ.ศ. 2556

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัย ขอขอบพระคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง ที่ให้ทุนสนับสนุนการทำวิจัย ประจำปีงบประมาณ 2556 เพื่อทำวิจัยในครั้งนี้ งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จตามวัตถุประสงค์ได้ด้วยความอนุเคราะห์จากหลายฝ่าย และท้ายสุดขอขอบพระคุณคณาจารย์และนักศึกษาวิชาเอกอุตสาหกรรมประมงและวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร ที่ได้ให้ข้อแนะนำที่เป็นประโยชน์ในการพัฒนาการผลิตกุ้งส้มบรรจุในภาชนะปิดที่ผ่านการแปรรูปด้วยความร้อน ในการจัดทำเป็นรูปเล่มนี้ทางคณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านที่ได้อบรมสั่งสอนและผู้เขียนตำรา เอกสารทุกท่านที่ข้าพเจ้านำมาเป็นเอกสารอ้างอิงประกอบการเขียนรายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ชุตินุช สุจริต
พฤษภาคม 2556

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
บทนำ	1
วัตถุประสงค์	2
ตรวจเอกสาร	3
วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ	28
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	32
สรุปผลการทดลอง	49
ข้อเสนอแนะ	50
เอกสารอ้างอิง	51

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ชนิดของแบคทีเรียแลกติกที่แยกได้จากอาหารหมักไทย	10
2	การเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างแบคเทอริโอซินและสารปฏิชีวนะ	17
3	ข้อมูลทั่วไปของผู้บริโภค	32
4	พฤติกรรมการบริโภคกุ้งส้ม	34
5	ผลิตภัณฑ์กุ้งส้ม	36
6	คะแนนเฉลี่ยการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส ของผลิตภัณฑ์กุ้งส้มที่ผลิตโดยวิธีดั้งเดิม	37
7	คะแนนเฉลี่ยการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส ของผลิตภัณฑ์กุ้งส้มที่ผลิตโดยใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์	39
8	ผลการวิเคราะห์ทางด้านเคมี	40
9	การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กุ้งส้มที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็นในระยะเวลา 14 วัน	42
10	ผลของจุลินทรีย์ในกุ้งส้มที่ผ่านกระบวนการความร้อน ขวดแก้ว	43
11	ผลการส่งผ่านความร้อนในผลิตภัณฑ์กุ้งส้มบรรจุกระป๋อง	45
12	ผลการทดสอบทางการฆ่าเชื้อ (Sterility Test)	45
13	ผลการชิมกุ้งส้มที่ผ่านกระบวนการสเตอริไรเซชัน	46
14	ผลการวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์ทุก ๆ เดือนจนครบ 6 เดือน	46
15	ผลการทดสอบทางการฆ่าเชื้อ (Sterility Test)	47
16	ผลการวิเคราะห์ เถ้า ความชื้น ไขมัน และ โปรตีน	48
17	ผลการชิมปูดองเค็มที่ผ่านกระบวนการสเตอริไรเซชัน	48

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในกุ้งส้ม	41
2	กุ้งส้มที่ไม่ผ่านกระบวนการความร้อน และก้งส้มที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อน	43
3	กุ้งส้มบรรจุกระป๋อง	44

บทนำ

การหมักเป็นวิธีการเก่าแก่ของโลกในการถนอมอาหาร ซึ่งปัจจุบันอาหารหมักเข้ามามีบทบาทในชีวิตประจำวันของมนุษย์มากขึ้น จึงมีการผลิตอาหารหมักออกมาวางขายตามตลาดทั้งในประเทศกำลังพัฒนาและประเทศอุตสาหกรรม เนื่องจากการถนอมอาหารโดยการหมักนั้นเป็นการเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการและทำให้อาหารปลอดภัย การหมักอาหารเกิดขึ้นเมื่อ 6,000 ปีก่อนคริสตกาลโดยการหมักเริ่มต้นนั้นเกิดจากจุลินทรีย์จากธรรมชาติ (Holzapfel, 2002) อาหารหมักเป็นอาหารชนิดหนึ่งที่ได้รับความสนใจจากนักวิจัยเนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดอาหารหมักได้รับการยอมรับว่ามีความปลอดภัย เพราะมีการใช้มาเป็นระยะเวลานานในการผลิตอาหารหมักและเครื่องดื่ม เชื้อจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในอาหารหมักมีหลายชนิดโดยเฉพาะแบคทีเรียแลกติก (Ammor et al., 2006) ด้วยความแตกต่างของวัฒนธรรมและลักษณะทางภูมิศาสตร์ ทำให้อาหารมีความหลากหลายทั้งทางด้านรสชาติ และกลิ่นเฉพาะ ความรู้เรื่องจุลินทรีย์เป็นสิ่งจำเป็นในการผลิตอาหารหมักให้มีคุณภาพดีและสม่ำเสมอ การถนอมอาหารด้วยการหมัก ใช้ในการถนอมอาหารที่มีมากในฤดูกาลต่าง ๆ เช่น ผัก ผลไม้ และสัตว์น้ำ เป็นต้น เพื่อให้ความหลากหลาย ช่วยให้มีอาหารไว้บริโภคในฤดูที่ขาดแคลน และสามารถช่วยให้อาหารเก็บไว้ได้นานขึ้น

กุ้ง เป็นอาหารที่นิยมบริโภคกันมาก มีคุณค่าทางโภชนาการสูง จึงได้มีการแปรรูปกุ้งที่เป็นผลิตภัณฑ์กุ้งส้มเพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าและสร้างความหลากหลายให้แก่ผู้บริโภค อีกทั้งยังเป็นการถนอมอาหารช่วยให้กุ้งเสียได้ช้าลง กุ้งส้มเป็นอาหารคาวประเภทหมักดองทำจากกุ้งน้ำจืดหรือกุ้งน้ำเค็มที่มีขนาดเล็กถึงปานกลางโดยนำมาใส่ส่วนผสมต่าง ๆ แล้วหมักในระยะที่เหมาะสมจนมีรสเปรี้ยวและกลิ่นหอมชวนรับประทาน กุ้งส้มเป็นอาหารหมักดั้งเดิมของภาคใต้โดยเฉพาะในแถบจังหวัดนครศรีธรรมราช พัทลุง สงขลา และสตูล โดยทั่วไปการผลิตกุ้งส้มในปัจจุบันยังคงอาศัยเชื้อจุลินทรีย์ประจำถิ่นทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีคุณภาพไม่สม่ำเสมอและอาจจะไม่ปลอดภัยต่อผู้บริโภคด้วย เพื่อให้การผลิตกุ้งส้มมีคุณภาพสม่ำเสมอและมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคจึงมีการพัฒนาสูตรให้มีรสชาติกลมกล่อมเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค และมีการตรวจเชื้อ ซึ่งจำนวนเชื้อต้องอยู่ในระดับที่ยอมรับได้ตามมาตรการกำหนดของ มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีความสนใจที่จะศึกษาคุณค่าทางโภชนาการในกุ้งส้มและเพื่อต้องการปรับปรุงคุณภาพของกุ้งส้มให้มีคุณภาพดีกว่าในท้องตลาด สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้นานกว่า

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาการผลิตกุ้งส้มโดยวิธีดั้งเดิม
2. ศึกษาการผลิตกุ้งส้มโดยใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์
3. ศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของกุ้งส้มที่หมักได้ทั้ง 2 วิธี
4. ศึกษาการยืดอายุการเก็บรักษาของกุ้งส้ม
5. ศึกษาภาชนะในการเก็บรักษากุ้งส้ม เมื่อผ่านกระบวนการให้ความร้อน

ตรวจเอกสาร

1. อาหารหมักดอง

การหมักดอง เป็นการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของโมเลกุลของสาร ซึ่งเปลี่ยนทั้งสภาวะกายภาพ ชีวภาพ ของสารประกอบประเภทคาร์โบไฮเดรต หรือสารประกอบอื่นๆที่มีลักษณะคล้ายคลึงกัน สภาพดังกล่าวนี้จะเกิดได้ทั้งภายใต้ที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน (สมเพียร, 2542)

การหมักดอง หมายถึง กระบวนการที่เกิดขึ้นเนื่องจากจุลินทรีย์ย่อยสลายสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตหรือสารอื่นที่คล้ายกัน ภายใต้สภาพที่มีหรือไม่มีอากาศ (สุโขทัยธรรมาธิราช, มหาวิทยาลัย, 2533) และเมื่อกล่าวถึงอาหารหมักดองนั้นก็เข้าใจได้ทันทีว่าเป็นผลิตภัณฑ์อาหารชนิดหนึ่งที่มีจุลินทรีย์เข้ามาเกี่ยวข้อง ซึ่งปฏิกิริยาการหมักดองทำให้อาหารเปลี่ยนไปมากทั้งด้านเนื้อสัมผัส ลักษณะที่ปรากฏให้เห็น และกลิ่นรสของอาหาร อย่างไรก็ตาม อาหารที่ผ่านการหมักดองนั้นจะเป็นที่ยอมรับว่ามีกลิ่นรสดีซึ่งเป็นลักษณะของผลิตภัณฑ์นั้น เช่น ผักดอง เบียร์ และไวน์ อาหารบางชนิดอาจจะมีกลิ่นและรสดีมาก จนสามารถนำไปประกอบการปรุงอาหารได้ เช่น น้ำส้มสายชู น้ำปลา ซีอิ๊ว เป็นต้น

1.1 ประโยชน์ของการหมักดอง

การหมักดอง มีประโยชน์หลายประการดังนี้

1.1.1 ทำให้เกิดความปลอดภัยจากโรคอาหารเป็นพิษ เช่น อาหารหมักดองที่มี pH ต่ำกว่า 4.5 แบคทีเรียที่มีอันตรายร้ายแรงชนิดหนึ่ง คือ *Clostridium botulinum* ไม่สามารถเจริญสร้างสารพิษขึ้นได้อาหารหมักดองจึงมีความปลอดภัย

1.1.2 ทำให้เกิดพลังงานความร้อน และก๊าซบางชนิดที่อาจนำไปใช้ในการหุงต้มได้ เช่น การหมักมูลสัตว์

1.1.3 การหมักดองนำมาใช้ผลิตสารอาหารและสารปฏิชีวนะได้ ดังนี้

1) การผลิตวิตามิน เช่น วิตามิน บี 2 และ บี 12

2) การผลิตกรดอะมิโนบางชนิด เช่น ไลซีน ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่สำคัญมากและจำเป็นต่อร่างกาย

3) การผลิตเอนไซม์ เช่น อะไมเลส ซึ่งใช้ในการย่อยธัญพืชในกระบวนการทำเบียร์ และยังใช้ในการวิเคราะห์อาหารได้อีก

4) การผลิตสารปฏิชีวนะ เช่น เพนิซิลลิน

1.1.4 การหมักดองทำให้อาหารที่มีคุณค่าถูกนำไปใช้ได้สะดวก เช่น การสกัดสารคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนจากเมล็ดธัญพืช ในส่วนเอนโดสเปิร์มสามารถทำได้ง่ายขึ้นโดยการหมักกับเชื้อราบางชนิดที่มีสมบัติทำลายสารเซลลูโลสที่ล้อมรอบเอนโดสเปิร์ม และการหมักที่เกี่ยวข้องกับการย่อยในกระเพาะวัว เป็นต้น

1.1.5 ทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารมีรสชาติดีและกลิ่นรสเปลี่ยนไปในทางที่ดี เช่น ความหวานลดลง ความเปรี้ยวเพิ่มขึ้น และกลิ่นรสดีขึ้น

1.2 การควบคุมสภาพแวดล้อมในการหมักดอง

ในการหมักดองอาหารแต่ละชนิดถ้าต้องการให้เกิดอาหารหมักที่เป็นไปตามความมุ่งหมาย และประหยัดเวลา ต้องมีการควบคุมสภาพแวดล้อมในการหมักให้เหมาะสม ดังนี้ (วราวุฒิ, 2538)

1.2.1 ความเป็นกรด กรดอาจมีอยู่แล้วในอาหารที่นำมาหมัก เช่น ส้ม มะนาว มะขาม ถ้าไม่มีต้องเติมลงไปเพื่อช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ ทำให้การหมักดำเนินไปได้เร็ว ก่อนที่อาหารจะเน่าเสียหรือเกิดมีสารพิษ และจุลินทรีย์ที่เป็นอันตรายในระดับที่ไม่ปลอดภัย กรดในอาหารทำหน้าที่คล้ายกับเป็นวัตถุกันเสีย แต่ถ้ามีออกซิเจน เชื้อราจะเจริญได้ โดยเฉพาะบริเวณผิวหน้า ซึ่งเมื่อมีเชื้อราเกิดขึ้น ความเป็นกรดของอาหารจะน้อยลง ทำให้จุลินทรีย์ชนิดอื่นเจริญได้ เช่น จุลินทรีย์ชนิดที่ย่อยสลายสารโปรตีน และชนิดที่ย่อยสลายสารไขมัน เป็นต้น

1.2.2 แอลกอฮอล์ ปริมาณแอลกอฮอล์ในระดับหนึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้เหมือนกับในเรื่องของกรด ในการหมักไวน์ปริมาณแอลกอฮอล์เกิดขึ้นได้มากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปริมาณน้ำตาลในองุ่น ชนิดของยีสต์ อุณหภูมิ และระดับของออกซิเจนในสภาวะที่ทำการหมัก ยีสต์ไม่สามารถทนต่อสภาวะที่มีแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 12-15 โดยปริมาตรได้ แต่การหมักไวน์ตามธรรมชาติส่วนมากได้แอลกอฮอล์สูงสุดเพียงร้อยละ 9-13 โดยปริมาตรเท่านั้น ซึ่งอยู่ในระดับที่ไม่สามารถทำหน้าที่ในการถนอมอาหารได้ ดังนั้นถ้าไม่ต้องการให้ไวน์เสีย จึงต้องกระทำการฆ่าเชื้อโดยการพาสเจอร์ไรส์

1.2.3 การใช้หัวเชื้อ คำว่า หัวเชื้อ หมายถึง สิ่งที่ได้จากการหมักในครั้งก่อนใช้เป็นตัวกระตุ้นให้เกิดการหมักขึ้นได้อย่างรวดเร็วในการหมักต่อไป หัวเชื้อประกอบด้วยจุลินทรีย์ที่มีหน้าที่ทำกิจกรรมให้เกิดการหมักนั้นๆเป็นส่วนใหญ่ และอาจมีอาหารตลอดจนผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการหมักประกอบอยู่ด้วย เช่น ลูกแป้งที่ใช้ทำข้าวหมาก หัวเชื้อสำหรับทำน้ำส้มสายชู เป็นต้น ในปัจุบันมีการทำเชื้อบริสุทธิ์ขายเป็นการค้า โดยผ่านกรรมวิธีการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ชนิดที่ต้องการ

ในห้องปฏิบัติการก่อน แล้วจึงจะนำมาทำเป็นผงหรือถนอมไว้ในรูปของการแช่เยือกแข็ง หรือบรรจุกระป๋อง

1.2.4 อุณหภูมิ อุณหภูมิที่ทำการหมักเป็นสิ่งสำคัญอีกอย่างหนึ่ง ที่ควบคุมการหมักให้ดำเนินไปได้ด้วยดี ปริมาณของสารที่ต้องการจะเกิดขึ้นมากหรือน้อย นอกจากขึ้นอยู่กับชนิดและสายพันธุ์ของจุลินทรีย์แล้ว ยังขึ้นอยู่กับอุณหภูมิอีกด้วย เช่น การหมักเบียร์และไวน์จะดำเนินไปได้ดี ถ้าควบคุมอุณหภูมิของการหมักให้อยู่ระหว่าง 15-20 องศาเซลเซียส

1.2.5 ปริมาณของออกซิเจน การหมักบางชนิดต้องการออกซิเจน และบางชนิดไม่ต้องการ เช่น ในการทำน้ำส้มสายชูจากน้ำผลไม้ ในขั้นแรกยีสต์เปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ ในขั้นนี้ยีสต์ไม่ต้องการออกซิเจน จึงต้องควบคุมสภาวะที่ทำการหมักให้ปราศจากอากาศ ในขั้นต่อไปเชื้อน้ำส้มเปลี่ยนแอลกอฮอล์ให้เป็นกรดน้ำส้ม ในขั้นนี้ต้องเพิ่มอากาศหรือออกซิเจนให้มาก เพราะปริมาณของกรดน้ำส้มขึ้นอยู่กับปริมาณของออกซิเจนที่เพิ่มเข้าไป

1.2.6 เกลือ จุลินทรีย์สามารถทนต่อสภาพความเข้มข้นของเกลือมากน้อยต่างกัน แบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติกซึ่งนำมาใช้ในการดองผักหรือผลไม้ และทำไส้กรอกบางชนิดนั้นสามารถทนเกลือที่เข้มข้นร้อยละ 10-18 ได้ ในขณะที่แบคทีเรียที่ย่อยสลายโปรตีน และแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเสียบางชนิด ไม่อาจทนเกลือที่มีความเข้มข้นเกินร้อยละ 25 ได้โดยเฉพาะในสภาวะที่มีทั้งกรดและเกลือ

1.3 ประเภทของการหมักดอง

พิสมัย (2543) ได้แบ่งการหมักดองออกเป็น 3 ประเภท คือ การดองเค็มหรือการหมักเค็ม การดองเปรี้ยวและการดองสามรส และถ้าแบ่งประเภทของการหมักดอง ตามผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นก็จะแบ่งการหมักดองได้เป็น 3 ประเภท เช่นเดียวกัน (ศิริลักษณ์, 2525) คือ

1.3.1 การหมักดองที่ทำให้เกิดแอลกอฮอล์ เป็นการหมักดองที่นิยมใช้ยีสต์ที่สำคัญคือ *Saccharomyces cerrevisiae* เนื่องจากสามารถเจริญได้รวดเร็ว มีความคงทนต่อแอลกอฮอล์ในสภาพไม่มีอากาศ

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องในกระบวนการผลิตแอลกอฮอล์โดยการหมักดอง คือ

1) วัตถุดิบ วัตถุดิบที่ใช้เป็นพวกคาร์โบไฮเดรตที่สามารถหมักได้ ได้แก่ ข้าวโพด กากน้ำตาล บีท มันฝรั่ง และองุ่น ในกรณีที่ใช้วัตถุดิบเป็นพวกแป้ง เช่น แป้งข้าวโพด และคาร์โบไฮเดรตอื่นๆซึ่งมีโครงสร้างที่ซับซ้อน จำเป็นจะต้องย่อยก่อนเพื่อให้ได้น้ำตาลในรูปที่ง่ายและสามารถหมักได้ ทั้งนี้โดยอาศัยเอนไซม์ เช่น เอนไซม์จากข้าวมอลต์หรือจากเชื้อราหรืออาศัยความร้อนจากการเติมกรดแก่

2) จุลินทรีย์ที่นิยมใช้กันได้แก่ เชื้อ *Saccharomyces cerrevisiae* ทั้งนี้เนื่องจากว่าเชื้อนี้มีคุณสมบัติที่ดีคือ เจริญรวดเร็ว มีความคงทนต่อแอลกอฮอล์ได้สูง ให้แอลกอฮอล์ในปริมาณสูง

3) ปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงในปัจจุบันนี้เอทิลแอลกอฮอล์ที่ได้จากการหมัก นิยมใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องดื่มซึ่งเครื่องดื่มแอลกอฮอล์แบ่งเป็น 2 ประเภท คือ เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่ไม่ผ่านการกลั่นและเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่ผ่านการกลั่น ตัวอย่างผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ได้แก่ เบียร์ ไวน์ รัม วิสกี้ วอดก้า กระแช่ บรั่นดี เตกิลา และเหล้าสาเก เป็นต้น

1.3.2 การหมักดองที่ทำให้เกิดกรดแอซีติก เป็นการหมักดองโดยใช้เชื้อแบคทีเรียกลุ่ม acetic acid bacteria โดยแบคทีเรียกลุ่มนี้จะสร้างกรดแอซีติกจากแอลกอฮอล์โดยอาศัยปฏิกิริยาที่มีออกซิเจนเข้าไปเกี่ยวข้อง

กรดแอซีติกหรือน้ำส้มสายชู เป็นผลิตภัณฑ์ชนิดหนึ่งที่ผลิตขึ้นมาจากกระบวนการหมัก โดยเฉพาะอย่างยิ่งกระบวนการหมักในสภาพอาหารเหลว น้ำส้มสายชูนี้รู้จักกันมาตั้งแต่สมัยโบราณ ทั้งนี้เนื่องจากพบว่า น้ำส้มสายชูเกิดมาจากการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์ไวน์ โดยเกิดการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในสกุล Acetobacter ซึ่งก่อให้เกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงแอลกอฮอล์ที่มีอยู่ในไวน์ให้เป็นกรดแอซีติกในสภาพที่มีออกซิเจนทำให้ไวน์มีรสเปรี้ยว ดังนั้นจึงทำให้เรียกผลิตภัณฑ์นี้เรียกว่า น้ำส้มสายชู (vinegar) คำว่า “vinegar” มาจากภาษาฝรั่งเศสว่า “vinaigre” ซึ่งหมายถึงไวน์เปรี้ยว (sour wine)

กลไกการผลิตน้ำส้มสายชู กลไกการผลิตน้ำส้มสายชูจากวัตถุดิบประเภทน้ำตาลมี 2 ขั้นตอนด้วยกัน (วราวุฒิ และคณะ, 2532) คือ

1) การหมักน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ ซึ่งเป็นกระบวนการหมักแบบไม่ใช้อากาศและอาศัยเชื้อยีสต์ในสกุล *Saccharomyces cerrevisiae* อย่างไรก็ตามในความเป็นจริงแล้วการหมักเพื่อผลิตแอลกอฮอล์จากน้ำตาลนี้จะต้องอาศัยปฏิกิริยาหลายขั้นตอนประกอบกันอย่างต่อเนื่องรวมทั้งจะเกิดผลพลอยได้หลายชนิด เช่น กลีเซอรอลและกรดแอซีติกอีกด้วย แต่มีในปริมาณน้อย

2) การเปลี่ยนแปลงแอลกอฮอล์ให้เป็นกรดแอซีติก โดยอาศัยเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม acetic acid bacteria ทำการหมักในสภาพมีอากาศ สำหรับปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้น แบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน ดังนี้ ขั้นตอนแรก เป็นการเปลี่ยนแปลงแอลกอฮอล์ให้เป็นแอลซิตัลดีไฮด์ (acetaldehyde) โดยอาศัยเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส (alcohol dehydrogenase)

เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาขั้นตอนที่สองเป็นการเปลี่ยนแอซิตัลดีไฮด์ให้เป็นไฮเดรตแอซิตัลดีไฮด์ (hydrate acetaldehyde) โดยอาศัยเอนไซม์แอซตัลดีไฮด์ดีไฮโดรจีเนส(acetaldehyde dehydrogenase) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ขั้นตอนที่สาม เป็นขั้นตอนการสร้างกรดแอซีติก โดยที่เกิดปฏิกิริยาการส่งโปรตอน 2 ตัว ของไฮเดรต แอซิตัลดีไฮด์ ไปยังอะตอมออกซิเจนจนเกิดกรดแอซีติกออกมา ทั้งนี้โดยอาศัยเอนไซม์แอลดีไฮด์ ดีไฮโดรจีเนส (aldehyde dehydrogenase) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

3) การหมักดองที่ทำให้เกิดกรดแลกติก เป็นการหมักดองที่ใช้เชื้อแบคทีเรียกลุ่ม lactic acid bacteria เปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นกรดแลกติก ในสภาพที่มีอากาศเล็กน้อยซึ่งจะทำให้ pH ของอาหารลดลง และอาหารมีรสเปรี้ยวเพิ่มขึ้น การเปลี่ยนแปลงนี้ เกิดขึ้นในการทำผักและผลไม้หมักดอง การทำพวกเนื้อสัตว์ ปลาหมึกและนมเปรี้ยวก็ล้วนเกิดกรดแลกติกโดยวิธีนี้ทั้งสิ้น การเกิดกรดแลกติกนี้ไม่ต้องใช้ออกซิเจน กรดที่เกิดจากการหมักโดยวิธีนี้จะมีปริมาณร้อยละ 0.6-1.5 อย่างไรก็ตามพบว่ายังมีแบคทีเรียบางชนิด เช่น *Lactobacillus acidophilus* และ *Lactobacillus casei* ที่สามารถเจริญได้ดีในสภาพที่มีออกซิเจนและยังสามารถผลิตกรดได้สูง การหมักดองอาหารที่ทำให้เกิดกรดแลกติกนี้ที่สำคัญ ได้แก่ แหนม การดองเปรี้ยวผักและผลไม้ และโยเกิร์ต

2. กุ้งส้ม

กุ้งส้ม หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำกุ้งน้ำจืดหรือกุ้งน้ำเค็มขนาดเล็กถึงปานกลางมาล้างให้สะอาดโดยอาจใช้ทั้งตัวหรือตัดหัวออก แล้วผสมกับน้ำที่ได้จากการต้มข้าวหรือน้ำแป้งสุกและเครื่องปรุงรส เช่น เกลือ น้ำตาล น้ำตาลโตนด จากนั้นหมักในระยะเวลาที่เหมาะสมจนมีรสกลมกล่อมออกเปรี้ยวอมเค็มและกลิ่นหอมชวนรับประทานซึ่งก่อนการบริโภคต้องทำให้สุก (มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน, 2548) กุ้งส้มเป็นอาหารคาวประเภทหมักดอง มีคุณค่าทางโภชนาการให้สารอาหารประเภทโปรตีน และเกลือแร่ นิยมกินได้ตลอดทั้งปี

อรุณวรรณ (2516) ศึกษาแบคทีเรียที่มีบทบาทสำคัญในระหว่างการหมักกุ้งส้มโดยใช้เกลือ น้ำตาลทรายขาว และกุ้งฝอยน้ำจืดที่อยู่ในสกุล *Macrobrachium* spp. เป็นวัตถุดิบในการหมัก และใช้อัตราส่วนของน้ำตาลและเกลือทั้งหมด 20 ชุดการทดลอง เพื่อตัดสินว่าการใช้น้ำตาลต่อเกลือในอัตราส่วนเท่าใดจึงจัดได้ว่ากุ้งหมักนี้เป็นกุ้งส้ม พบว่าการใช้เกลือ 7.5 เปอร์เซ็นต์ และน้ำตาล 15 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักกุ้ง จะทำให้ได้กุ้งส้มที่มีลักษณะที่ดี และได้รับการยอมรับจากผู้ทดสอบมากที่สุด ซึ่งการหมักเป็นเวลา 10 วันโดยใช้เกลือและน้ำตาลในปริมาณดังกล่าว พบว่ากุ้งส้มมีค่าพีเอช 4.45 ปริมาณกรด 3.30 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณโซเดียมคลอไรด์ 7.27 เปอร์เซ็นต์

ปัญหาที่พบในการผลิตกุ้งส้มโดยส่วนใหญ่เกิดจากกระบวนการผลิต คุณภาพของวัตถุดิบ การปนเปื้อนของเชื้อก่อโรค การปนเปื้อนของสารพิษ ความสะอาดและการสุขาภิบาล การใช้วัตถุกันเสีย และการเกิดกรดแลคติกในระหว่างการหมัก ดังนั้นสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม จึงได้กำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนกุ้งส้ม เลขที่ 1032/2548 เพื่อให้กุ้งส้มมีลักษณะที่เหมาะสมต่อการบริโภคโดยคุณลักษณะของกุ้งส้มที่เหมาะสมต่อการบริโภคโดย

คุณลักษณะของกุ้งส้มที่เหมาะสมต่อการบริโภคควรมีลักษณะดังนี้ (มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน, 2548)

1) ลักษณะทั่วไป ต้องมีส่วนที่เป็นกุ้งและส่วนที่เป็นน้ำในสัดส่วนที่เหมาะสม

2) สี ต้องมีสีที่ดีตามธรรมชาติของกุ้งส้ม

3) กลิ่นรส ต้องมีกลิ่นรสที่ดีตามธรรมชาติของกุ้งส้ม มีรสเปรี้ยวพอเหมาะ ปราศจากกลิ่นรสอื่นที่ไม่พึงประสงค์ เช่น กลิ่นอับ กลิ่นหืน กลิ่นเน่า รสขม

4) ลักษณะเนื้อสัมผัส ต้องไม่เละหรือแข็งกระด้างเมื่อตรวจสอบโดยวิธีให้คะแนนตามข้อ 8.1 แล้ว ต้องได้คะแนนเฉลี่ยของแต่ละลักษณะจากผู้ตรวจสอบทุกคนไม่น้อยกว่า 3 คะแนน และไม่มีลักษณะใดได้ 1 คะแนนจากผู้ตรวจสอบคนใดคนหนึ่ง

5) สิ่งแปลกปลอม ต้องไม่พบสิ่งแปลกปลอมที่ไม่ใช่ส่วนประกอบที่ใช้ เช่น เส้นผม ดิน ทราย กรวด ชิ้นส่วนหรือสิ่งปฏิกูลจากสัตว์

6) สารปนเปื้อน

6.1) ตะกั่ว ต้องไม่เกิน 1 มิลลิกรัมต่อตัวอย่าง 1 กิโลกรัม

6.2) สารหนู ต้องไม่เกิน 2 มิลลิกรัมต่อตัวอย่าง 1 กิโลกรัม

6.3) ปรอท ต้องไม่เกิน 0.5 มิลลิกรัมต่อตัวอย่าง 1 กิโลกรัม

7) วัตถุเจือปนอาหาร ห้ามใช้สีสังเคราะห์และวัตถุกันเสียทุกชนิด

8) ความเป็นกรด-ด่าง ต้องไม่เกิน 4.6

9) เกลือ (โซเดียมคลอไรด์) ต้องไม่น้อยกว่าร้อยละ 3.5 โดยน้ำหนัก

10) จุลินทรีย์

10.1) ซาลโมเนลลา ต้องไม่พบในตัวอย่าง 25 กรัม

10.2) สตาฟิโลค็อกคัส ออเรียส ต้องน้อยกว่า 100 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม

10.3) คลอสตริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์ ต้องไม่พบในตัวอย่าง 0.01 กรัม

10.4) เอสเชอริเชีย โคไล โดยวิธีเอ็มพีเอ็น ต้องน้อยกว่า 10 ต่อตัวอย่าง 1กรัม

10.5) รา ต้องน้อยกว่า 500 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม

11) พยาธิ ต้องไม่พบ

3. แลคติกแอซิดแบคทีเรีย

แบคทีเรียแลคติกเป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีรูปร่างกลม หรือรูปร่างท่อนไม่สร้างเอนไซม์คะตะเลส (catalase) ไม่สร้างสปอร์ ไม่ต้องการอากาศหรือต้องการเพียงเล็กน้อย (microaerophilic) ในการเจริญ มีความสามารถในการสร้างกรดจากน้ำตาล แบ่งเป็นชนิดที่สร้างกรดแลคติกอย่างเดียว หรือกรดแลคติกกับกรดอะซิติก กรดฟอร์มิกและเอธิลแอลกอฮอล์

3.1 แลคติกแอซิดแบคทีเรียแบ่งตามลักษณะการใช้อาหาร และการสร้างสารได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ

3.1.1 โฮโมเฟอร์เมนเททีฟแบคทีเรีย (Homofermentative bacteria) จัดเป็นแบคทีเรียแลกติกที่สามารถผลิตกรดแลกติกได้ประมาณร้อยละ 85 หรือมากกว่าจากการหมักคาร์โบไฮเดรต ไม่ต้องการไธอะมีน (thiamine) ในการเจริญ ผลิตเอนไซม์อัลโดเรส (aldolase) และเอนไซม์เฮกโซสไอโซเมอเรส (hoxose isomerase) แต่ไม่ผลิตเอนไซม์ฟอสโฟคีโตเรส (phosphoketolase) และใช้ Embden – Meyerhof – Parnas (EMP) pathway ทำให้ได้แลกติก 2 โมเลกุลต่อกลูโคส 1 โมเลกุล ได้แก่ *Lactobacillus sake*, *L. acidilactici*, *L. casei*, *L. plantarum*, *Pediococcus pentosaceus*, *P. cerevisiac, P. dexteinicus และ Streptococcus เป็นต้น*

3.1.2 เฮทเทอร์โรเฟอร์เมนเททีฟแบคทีเรีย (heterofermenttative bacteria) จัดเป็นแบคเรียที่ผลิตกรดแบคเรีย กรดอะซีติก แอลกอฮอล์ และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จากการหมักคาร์โบไฮเดรต ต้องการไธอามีนในการเจริญและสร้างเอนไซม์ฟอสโฟคีโตเรส (phosphoketolase) แต่ไม่สร้างเอนไซม์อัลโดเลส (aldolase) และเอนไซม์เฮกไอโซเมอเรส และใช้ hoxose monophoshate หรือ pentose pathway ได้แก่ *Leuconostos, mesenteroides, Lactobacillus* และ *Lactobacillus fermentum* เป็นต้น

แบคเรียแลกติกมีบทบาทในอาหารหมักหลายชนิดได้แก่ ผลิตภัณฑ์นมหมัก เช่น ผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวและเนยแข็งชนิดต่างๆผัก เช่น แครอท (Rodrigo et al, 2001) และผลไม้ดอง ไส้กรอกและผลิตภัณฑ์เนื้อหมักอื่น ๆ อาหารที่ใช้ปลาเป็นวัตถุดิบ เช่น น้ำปลา บูดู ปลาเจ่า มีแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องคือ *Leuconostos mesenteroides, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus brevis, Pediococcus halophilus* และ *Micrecoccus sarcian* และพบว่าแบคทีเรียที่พบมากที่สุด คือ *Pediococcus halophilus* และ *, Lactobacillus plantarum*

แบคทีเรียแลกติก นอกจากทำให้เกิดการหมักขึ้นได้แล้วยังสามารถนำมาใช้เพื่อป้องกันการเน่าเสียและยืดอายุการเก็บอาหาร โดยใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้นในการหมักดองอาหาร แบคทีเรียจะผลิตสารหลายอย่างเช่น กรดอินทรีย์ ไดอะซิติล ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

และแบคเทอริโอซิน (bacteriocin) ซึ่งสารบางชนิดมีผลทำให้รสชาติอาหารดีขึ้นและบางชนิดมีผลยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสียและทำให้เกิดโทษอาหารเป็นพิษได้ (ทองคำ, 2538)

พันธุ์ณรงค์ และ ปราณี (2537) ได้ทำการศึกษาการตรึงรูปของจุลินทรีย์ในการหมักซีอิ๊วเพื่อลดระยะเวลาในการหมักลงและลดอัตราความเสี่ยงต่อการเกิดโรคต่างๆ

วิลาวัลย์ และ อุบลวรรณ (2540) ; Ludbrook (1997) ได้คัดแยกแบคทีเรียแลกติกจากอาหารหมักของไทยได้ 80 สายพันธุ์ เมื่อเทียบเคียงพบว่าเป็น *Lactobacillus plantarum* 16 สายพันธุ์ โดยคัดแยกจากแหนม หน่อไม้ดอง *L. bavaricus* แยกได้จากไส้กรอกเปรี้ยว แหนมปลา ปลาส้ม ข้าวหมาก สะตอดอง และผักกาดดอง *L. brevis* แยกได้จากไส้กรอกเปรี้ยว

<u>ตารางที่ 1</u> ชนิดของแบคทีเรียแลกติกที่แยกได้จากอาหารหมักของไทย

Genus and species	Source
Lactobacillus brevis	Fermented shell fish (Hoi - som)
Lactobacillus plantarum	Fermented fish (Jing - jung)
Lactobacillus plantarum	Fermented shrimp (Kung - som)
Lactobacillus plantarum	Fermented fish (Pla - pang - dang)
Lactobacillus plantarum	Fermented fish (Pla - som)
Lactobacillus plantarum	Fermented fruit (Luk - pla - dong)
Lactobacillus plantarum	Fermented Vegetable (Puk - sian -dong)
Lactobacillus bavaricus	Fermented Vegetable (Puk - sian - dong)
Lactobacillus plantarum	Fermented Vegetable (sa - tor - dong)
Lactobacillus bavaricus	Fermented Vegetable (sa - tor - dong)

ที่มา: ดัดแปลงจาก วิลาวัลย์ และ อุบลวรรณ (2540)

ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมัก แหนม มั้ม และหมูส้ม การหมักแหนมในช่วง 1-2 วันแรกจะพบ *Pediococcus* และ *Lactobacillus* จะเจริญและสร้างกรดขึ้นอย่างรวดเร็วและในช่วงหลังจะพบ *Lactobacillus brevis* เจริญต่อจากแบคทีเรียกลุ่มแรก โดยมากแหนมและหมูส้มที่หมักแล้วจะมี pH ประมาณ 4.45 – 4.55 และพบว่ามีวิตามินบี 1 บี 2 อยู่สูง

3.2 ผลิตภัณฑ์ที่ใช้แลคติคแอซิดแบคทีเรีย

แลคติกแอซิดแบคทีเรียได้ถูกนำมาใช้ในการผลิตอาหารหมักจากผลิตผลทางการเกษตรหลายชนิด ได้แก่ผลิตภัณฑ์นม (dairy products) เช่น นมเปรี้ยว โยเกิร์ต ผลิตภัณฑ์ผักและผลไม้ดอง เช่น กิมจิ ผักกาดดอง ใช้ในผลิตภัณฑ์ปลา เช่น ปลาร้า ปลาส้ม ปลาจ่อม ใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ เช่น แหนม ไส้กรอกเปรี้ยว นอกจากนั้นในการผลิตอาหารสัตว์บางชนิดยังมีการใช้แลคติกแอซิดแบคทีเรีย เช่น การทำหญ้าหมัก ซึ่งเชื่อว่าได้หญ้าหมักที่มีคุณภาพดี มีคุณค่าทางอาหารสูงเหมาะกับการเลี้ยงสัตว์ ตัวอย่างของการใช้แลคติกแอซิดแบคทีเรียในอาหารหมักดองบางชนิดมีรายละเอียดพอสังเขปดังต่อไปนี้

ผลิตภัณฑ์นม (Dairy products) ผลิตภัณฑ์นมหมักเตรียมได้จากนมหลายชนิด นำมาผ่านการโฮโมจีไนซ์เพื่อให้อนุภาคของไขมันเล็กลงหรือไม่ก็ได้ นำมาฆ่าเชื้อด้วยการสเตอริไลซ์แล้วหมักต่อด้วยจุลินทรีย์ที่ผ่านการคัดเลือกแล้ว ซึ่งอาจจะเป็นแบคทีเรียหรือยีสต์ หรือทั้งสองชนิดร่วมกัน ลักษณะของการหมักนมเกิดได้ 2 แบบ คือ acid type เป็นการหมักที่ให้กรดเพียงอย่างเดียว กับ kefir type ซึ่งเป็นการหมักที่ให้กรด ก๊าซและมีแอลกอฮอล์เกิดขึ้นเล็กน้อย หลักการของแลคติกแอสิดแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์นมหมักคือ การสร้างกรดแลคติคของกล้าเชื้อในระหว่างการหมักทำให้ค่าพีเอชของผลิตภัณฑ์ลดลงและเกิดการจับตัวของโปรตีนในนม เกิดเป็นเคิร์ด (curd) รสชาติของผลิตภัณฑ์มีรสเปรี้ยว ตัวอย่างของผลิตภัณฑ์นมที่ใช้แลคติคแอสิดแบคทีเรีย ได้แก่ นมเปรี้ยว โยเกิร์ตและเนยแข็ง เชื้อแลคติคแอสิดแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับการผลิตโยเกิร์ต ได้แก่ *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* และ *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*

ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ (Meat products) ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่ใช้แลคติกแอซิดแบคทีเรียในการผลิตส่วนใหญ่เป็นผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก เช่น แหนม รวมทั้งไส้กรอกแห้งและไส้กรอกกึ่งแห้ง เช่น ซาลามิ เปปเปอโรมิ เป็นต้น

ผลิตภัณฑ์ปลาหมัก (Fermented fish products) ผลิตภัณฑ์ปลาหมักหลายชนิดในแถบเอเชียและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ที่เกี่ยวข้องกับ แลคติกแอซิดแบคทีเรีย ได้แก่ ปลาร้า (Pla-ra) ปลาเจ่า (Pla-chao) ปลาส้ม (Pla-som) และส้มฟัก (Som-fak) ซึ่งผลิตภัณฑ์กลุ่มนี้จัดอยู่ในชนิด fermented fish/salt/carbohydrate products และยังมีผลิตภัณฑ์ชนิด fish sauce เช่น น้ำปลา (Nam-pla) และ Paste (kapi) ซึ่งส่วนผสมหลักในการผลิตประกอบด้วยปลา เกลือ ตัวอย่าง เช่น การผลิตน้ำปลาประกอบด้วยสัดส่วนของปลาต่อเกลือเท่ากับ 3:1 ผสมให้เข้ากัน จากนั้นบรรจุลงในโอ่งหรือไห ปล่อยให้เกิดการหมักเป็นเวลาประมาณ 18 เดือนหรือมากกว่า ในระหว่างการหมักปลามีการสลายตัวเองโดยกิจกรรมของเอนไซม์ในตัวปลาได้ผลผลิตเป็นของเหลวสีน้ำตาลออกมา ซึ่ง

ของเหลวนี้ประกอบด้วยกรดอะมิโน โปรตีนที่ละลายและนิวคลีโอไทด์ทำให้น้ำปลามีคุณค่าทางโภชนาการมากขึ้น และนิยมใช้เป็นเครื่องปรุงในการประกอบอาหารหลายประเภท แลคติกแอซิดแบคทีเรียที่พบในผลิตภัณฑ์ปลาหมัก ได้แก่ *Lactobacillus farciminis, L. pentosus*, *L. plantarum, Lactobacillus* sp. และ *Leuconostoc* sp. จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการหมักน้ำปลาเป็นกลุ่มที่ทนเกลือได้ดี และเจริญได้บ้างเล็กน้อยในระหว่างการหมัก จึงมีส่วนช่วยเสริมรสชาติของอาหารหมักได้เป็นอย่างดี

ผลิตภัณฑ์ผักดองเปรี้ยว (Fermented vegetable products) การทำผักดอง เป็นการแปรรูปผักอีกวิธีหนึ่งที่นำผักสดที่มากเกินการบริโภคมาแปรรูป ทำให้เก็บไว้บริโภคได้นานและยังรวมไปถึงการผลิตผลไม้ดองด้วย การดองส่วนใหญ่เกิดจากกิจกรรมของแลคติกแอซิดแบคทีเรีย ผักที่นิยมนำมาดอง ได้แก่ กะหล่ำปลี หอม แตงกวา หน่อไม้ ส่วนผลไม้ที่นิยมนำมาดอง ได้แก่ มะขาม มะม่วง มะกอก เป็นต้น ปัจจุบันการแปรรูปมีทั้งระดับครอบครัวและดองเป็นอุตสาหกรรมเพื่อการค้าในประเทศไทยผักดองในลักษณะนี้ซึ่งเป็นที่รู้จักกันทั่วไปได้แกผักเสี้ยนดอง (Pak-sian-dong) หน่อไม้ดอง (Naw-maidong) หอมดอง ผักกาดดอง(Pak-garddong) ซึ่งแลคติคแอสิดแบคทีเรียที่พบในการดองผักเสี้ยน ได้แก่ *Leuconostoc mesenteroides*, *L. plantarum*, *L. brevis*, *L. buchineri* , *L. fermentum* และ *Pediococcus cerevisiae*

ผลิตภัณฑ์จากถั่วและธัญพืช (Legume and cereal products) ผลิตภัณฑ์จากพืชที่นอกเหนือจากผักและผลไม้แล้ว ถั่วและธัญพืชนับเป็นอาหารอีกกลุ่มหนึ่งที่มีการศึกษา โดยเป็นการหมักที่ใช้ถั่วและธัญพืชเป็นสับสเตรท (substrate) เชื้อจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องมีหลายกลุ่มด้วยกัน ได้แก่ ยีสต์ รา และแบคทีเรีย ตัวอย่างได้แก่ ซีอิ๊ว (soy sauce) ซึ่งสับสเตรทในการหมักส่วนใหญ่ประกอบด้วยถั่วเหลืองและข้าวสาลี เชื้อจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการหมักได้แก่ *Aspergillus oryzae*, *P. halophillus* และ *L. delbrueckii* อาหารหมักชนิดนี้ใช้เป็นเครื่องปรุงรส ในอาหารหมักกลุ่มของ fermented bean เช่น hamanatto, tou-shin และ tao-si ซึ่งเป็นอาหารหมักของญี่ปุ่นใช้ถั่วเหลืองทั้งเมล็ดและแป้งข้าวสาลี เชื้อจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องได้แก่ *Aspergillus*, *Streptococcus* และ *Pediococcus* เต้าเจี้ยว เป็นอีกตัวอย่างหนึ่งของผลิตภัณฑ์จากถั่วที่ผ่านการหมัก เป็นอาหารหมักประเภท semi-solid นิยมบริโภคเช่นเดียวกับซีอิ๊ว เต้าเจี้ยวเป็นคำที่เรียกในประเทศไทย ส่วนประเทศอื่นก็มีชื่อเรียกต่างกันไป เช่น ประเทศจีน เรียก chiang ประเทศญี่ปุ่นเรียก miso อินโดนีเซียเรียกว่า tauco และฟิลิปปินส์เรียก tao-si เป็นต้น เต้าเจี้ยวเป็นอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงเช่นเดียวกับซีอิ๊ว

3.3 สารยับยั้งที่ได้จากแลคติคแอสิดแบคทีเรีย

แบคทีเรียแลคติก สามารถผลิตสารประกอบที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียหรือจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ ได้สารแบคทีเรียทีสร้างขึ้นมีดังนี้

3.3.1 กรดอินทรีย์ (organic acid)

กรดอินทรีย์ที่สร้างจากแลคติกแอซิดแบคทีเรีย คือ กรดแลคติกและกรดอะซิติก ในอาหารที่มีแลคติกแอซิดแบคทีเรียจะมีการสะสมของกรดอินทรีย์ ทำให้ค่า pH ของอาหารลดลง ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่สำคัญทำให้แลคติกแอซิดแบคทีเรียถูกนำมาใช้ในการถนอมอาหาร เนื่องจากสภาวะที่เป็นกรดจะสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้งแกรมลบและแกรมบวกได้ ความสามารถในการยับยั้งการเจริญต่อเชื้อจุลินทรีย์ของกรดอินทรีย์จะขึ้นอยู่กับค่า pH, pKa และความเข้มข้นของกรดอินทรีย์ กลไกการทำงานของกรดอินทรีย์เกิดจากกรดอินทรีย์ที่อยู่ในรูปไม่แตกตัวจะสามารถซึมผ่านผนังเซลล์ของแบคทีเรียและเกิดการสะสม ทำให้ pH ภายในเซลล์สูงกว่าภายนอกเซลล์ กรดอินทรีย์ที่สะสมภายในเซลล์จะแตกตัวให้ไฮโดรเจนอิออน (hydrogen ion) เป็นจำนวนมาก ไฮโดรเจนอิออนจะไปรบกวนกระบวนการเมทาบอลิซึมของเซลล์แบคทีเรีย แต่ยังมีจุลินทรีย์บางชนิดที่สามารถทนต่อกรดอินทรีย์ได้ เช่น ยีสต์ รา และแบคทีเรียบางชนิดที่สร้างกรด (acid producing bacteria)

แบคทีเรียที่ถูกยับยั้งการเจริญโดยกรดแลคติก จากเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย ได้แก่ *Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, Escherichia coli* และ *Pseudomonas fluorescens* ซึ่งกรดแลคติคดังกล่าวสร้างโดยเชื้อ *Lactobacillus* spp. ที่แยกได้จากโยเกิร์ต เป็นต้น ส่วนแบคทีเรียที่ถูกยับยั้งการเจริญจากกรดอะซิติก ได้แก่ *Salmonella* spp. นอกจากนี้ยังมีแบคทีเรียบางชนิดที่ถูกยับยั้งการเจริญโดยทั้งกรดแลคติกและกรดอะซิติกซึ่งสร้างจากแลคติกแอซิดแบคทีเรีย ได้แก่ *S. aureus*

3.3.2 ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogenperoxide)

แลคติกแอซิดแบคทีเรียสามารถสร้างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ในสภาวะที่มีออกซิเจน กระบวนการที่เกี่ยวข้องกับการสร้างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ของแลคติกแอซิดแบคทีเรียมีดังนี้

$$\text{pyruvate} + O_2 + PO_4^{3-} \longrightarrow \text{pyruvate oxidase} \longrightarrow \text{acetyl phosphate} + CO_2 + H_2O_2$$

$$\text{lactate} + O_2 \longrightarrow \text{L-lactate oxidase} \longrightarrow \text{pyruvate} + H_2O_2$$

$$\text{lactate} + O_2 \longrightarrow \text{NAD-independent} \longrightarrow \text{pyruvate} + H_2O_2$$

$$NADH + H^+ + O_2 \longrightarrow \text{NADH oxidase} \longrightarrow NAD + H_2O_2$$

ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์อื่นได้เนื่องจากไปทำให้เกิด peroxidation ของไขมันที่อยู่ในชั้นเยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรียแล้วทำให้ permeability ของเยื่อหุ้มเซลล์สูงขึ้นความสามารถในการซึมผ่านเข้าและออกจากเยื่อหุ้มเซลล์ของสารต่างๆ จึงเสียไป และยังมีผลทำให้เกิดการทำลายชีวโมเลกุลอื่นๆ ภายในเซลล์ด้วย เช่น โปรตีน และกรดนิวคลีอิก ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์นอกจากจะมีผลต่อเซลล์โดยตรงแล้วยังมีผลในทางอ้อมด้วย เช่นเมื่อรวมกับ thiocyanate ภายในเซลล์และมีเอนไซม์ lactoperoxidase เป็นคะตะลิส จะทำให้เกิดสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ เรียกกระบวนการดังกล่าวว่า lactoperoxidase antibacterial system

เนื่องจากแลคติกแอซิดแบคทีเรียไม่สามารถสร้างเอนไซม์คะตะเลสได้ ดังนั้นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ถูกสร้างและปล่อยออกมานอกเซลล์จึงสะสมอยู่ในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเป็นจำนวนมาก เมื่อมีการสะสมมากขึ้นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ก็อาจจะยับยั้งการเจริญของเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียได้ด้วย แต่บางครั้งแลคติกแอซิดแบคทีเรียก็มีการปรับตัวทำให้สามารถทนต่อฤทธิ์ของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้ โดยการกระตุ้นให้เซลล์สร้างโปรตีนชนิดหนึ่งที่เรียกว่า stress protein มายับยั้งการทำงานของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

จุลินทรีย์ที่ถูกยับยั้งการเจริญด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่มีอยู่หลายชนิด เช่น *S. aureus* ถูกยับยั้งการเจริญได้โดยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ผลิตโดย *L.delbrueckii* subsp. *bugaricus และ L. delbrueckii* subsp. *lactis* (Dahiya and Speck, 1968) *Pseudomonas* spp. ถูกยับยั้งการเจริญได้โดยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ผลิตโดย *L. plantarum* และ *Psuedomonas fragi* ถูกยับยั้งการเจริญได้โดยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ผลิตโดย *L. acidophilus* ซึ่งเป็นเชื้อที่พบอยู่ใน skim milk และ low fat milk เป็นต้น

3.3.3 ไดอะซิติล (diacetyl)

ไดอะซิติล หรือ 2,3-butanedione เป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้จากกระบวนการเมทาบอลิซึมของ pyruvate ทั้งแบบใช้ออกซิเจนและไม่ใช้ออกซิเจน แลคติกแอซิดแบคทีเรียที่สามารถสร้างไดอะซิติลได้จะต้องสามารถหมักซิเตรท (citrate) ได้ ไดอะซิติลเป็นสารที่สามารถยับยั้งการเจริญได้ทั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารและเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย ไดอะซิติลสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ ยีสต์ และรา ได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมบวก กลไกการทำงานของไดอะซิติลเกิดจากการไปรบกวนการใช้อาร์จินิน (arginine) ภายในเซลล์ โดยอะซิติลจะไปทำปฏิกิริยากับ arginine-binding protein ของแบคทีเรียแกรมลบ

ไดอะซิติลเป็นสารให้กลิ่นหอมซึ่งเป็นกลิ่นที่มีอยู่ในอาหารหมักหลายชนิด เช่น เนย ชีส ไวน์แดง ไวน์ขาว บรั่นดี และกาแฟ เป็นต้น ความเข้มข้นของไดอะซิติลที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารทั่วไปจะมากกว่า 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นของไดอะซิติลในการยับยั้งการเจริญต่อเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดจะแตกต่างกันออกไป เช่น ปริมาณ 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของยีสต์และแบคทีเรียแกรมลบได้ ปริมาณ 300 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของยีสต์และแบคทีเรียแกรมบวกอื่นๆ ที่ไม่ใช่แลคติคแอสิดแบคทีเรียได้ เป็นต้น ถึงแม้ว่าไดอะซิติลจะสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้ แต่การนำไปใช้ต้องใช้ในปริมาณค่อนข้างสูง อีกทั้งยังเป็นสารที่ให้กลิ่นหอม ดังนั้นจึงไม่นิยมนำไปใช้เป็นสารถนอมอาหาร (food preservative) เพื่อหวังผลในการฆ่าหรือยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ แต่มักจะนิยมใช้เป็น aseptic agent ในการทำความสะอาดภาชนะหรือเครื่องมือต่าง ๆ ในอุตสาหกรรมอาหารมากกว่า เนื่องจากไดอะซิติลเป็นสารที่ระเหยได้เร็ว

3.3.4 อะซิตัลดีไฮด์ (acetaldehyde)

อะซิตัลดีไฮด์เป็นสารที่เกิดขึ้นในกระบวนการเมทาบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตโดย heterofermentative lactic acid bacteria ซึ่งในที่สุดจะถูกเปลี่ยนไปเป็นเอทานอลโดยเอนไซม์ alcohol dehydrogenase ถ้าแลคติคแอสิดแบคทีเรียขาดเอนไซม์ alcohol dehydrogenase จะทำให้มีอะซิตัลดีไฮด์หลั่งออกมานอกเซลล์ อะซิตัลดีไฮด์ยังเป็นสารที่ให้กลิ่นเฉพาะในโยเกิร์ตอีกด้วย อะซิตัลดีไฮด์ที่สร้างจากแลคติคแอสิดแบคทีเรียบางชนิดที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 1 ถึง 100 ppm. สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคบางชนิดในอาหารได้ เช่น *E. coli, S. aureus* และ *Samonella typhimurium* เป็นต้น (Klushrestha and Martin, 1974) เนื่องจากปริมาณอะซิตัลดีไฮด์ที่พบในอาหารมีน้อยมาก เช่น ในโยเกิร์ตจะพบอะซิตัลดีไฮด์ประมาณ 25 ppm. เท่านั้น ดังนั้นบทบาทในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารของอะซิตัลดีไฮด์จึงนับว่าน้อยมาก

3.3.2 ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogenperoxide)

3.3.5 รูเทอริน (reuterin)

รูเทอรินที่มีการศึกษากันมาก ได้มาจากรูเทอรินที่สร้างจากแลคติคแอสิดแบคทีเรีย *Lactobacillus reuterin* รูเทอรินมีคุณสมบัติที่สำคัญ คือ มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ละลายน้ำ ไม่ใช่โปรตีนเนื่องจากไม่ถูกทำลายจาก proteolytic enzyme จึงทำให้รูเทอรินแตกต่างจากแบคเทอริโอซิน เมื่อศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของรูเทอริน พบว่าเป็น β-hydroxypropionaldehyde ซึ่งอาจอยู่ในรูป monomer หรือ dimer โดยเกิดขึ้นในกระบวนการออกซิไดซ์ของ glycerol ในสภาพที่มีอากาศ โดยทั่วไปแลคติคแอสิดแบคทีเรียจะไม่มี oxidative pathway สำหรับ glycerol ทำให้ไม่สามารถถูก

ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนได้ ดังนั้นวิธีการที่แลคติคแอสิดแบคทีเรียจะใช้ glycerol เป็นแหล่งคาร์บอนได้คือ การทำให้ glycerol ให้เข้าสู่ intermediate state ของ 3-hydroxypropionaldehyde

ความสามารถในการยับยั้งการเจริญต่อเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นของรูเทอรินค่อนข้างกว้าง สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ ยีสต์ รา และโปรโตซัว แบคทีเรียที่ถูกยับยั้งการเจริญจากรูเทอริน ได้แก่ *Samonella, Shigella, Clostridium, Staphylococcus* และ *Listeria* เป็นต้น กลไกการทำงานของรูเทอรินเชื่อว่าเกิดจากการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์บางชนิด เช่น ribonucleotide reductase จึงทำให้เกิดการสังเคราะห์ DNA เสียไป ดังนั้นรูเทอรินหรือแลคติคแอสิดแบคทีเรียที่สามารถสร้างรูเทอรินได้จึงน่าจะนำไปประยุกต์ใช้ในกระบวนการผลิตอาหารเพื่อถนอมอาหารหรือในอุตสาหกรรมอาหารอื่นๆ ที่ต้องการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค

3.3.6 แบคเทอริโอซิน (Bacteriocins)

แบคเทอริโอซินเป็นโปรตีนที่สร้างจากแบคทีเรียมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นได้ ปกติแบคทีเรียที่สร้างแบคเทอริโอซินจะมีภูมิคุ้มกันต่อแบคเทอริโอซินที่ตนสร้างออกมา ดังนั้นจึงทำให้ไม่ถูกยับยั้งจากแบคเทอริโอซินของตนเอง การสร้างแบคเทอริโอซิน ของเชื้อแบคทีเรียเชื่อว่าเกิดจากการปรับตัวเพื่อความอยู่รอดในสภาพแวดล้อมที่มีเชื้อหลายชนิดเจริญอยู่ร่วมกันทำให้เชื้อที่สร้างแบคเทอริโอซินสามารถแย่งอาหารและพื้นที่เพื่อใช้ในการเจริญเติบโต ส่วนเชื้อชนิดอื่นที่ไม่สามารถสร้างแบคเทอริโอซินได้ก็จะตายลงในที่สุด ในการศึกษาวิจัยทางด้านสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ โดยทั่วไปอาจจะมีความสับสนหรือไม่แน่ใจระหว่างแบคเทอริโอซินและสารปฏิชีวนะ ได้สรุปความต่างระหว่างแบคเทอริโอซินและสารปฏิชีวนะไว้ ดังแสดงในตารางที่ 2

<u>ตารางที่ 2</u> การเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างแบคเทอริโอซินและสารปฏิชีวนะ

ลักษณะและคุณสมบัติ	แบคเทอริโอซิน	สารปฏิชีวนะ
การนำไปใช้งาน	ทางอาหาร	ทางการแพทย์
กระบวนการสังเคราะห์	ผลิตจากไรโบโซม	ผลิตโดยผ่านกระบวนการที่เป็น secondary metabolite
ความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียเป้าหมายที่มีความหลากหลาย	น้อย	มาก
การสร้างระบบภูมิคุ้มกันตนเองของเซลล์ผู้ผลิต	มี	ไม่มี
กลไกในการต่อต้านของเซลล์เป้าหมาย	โดยปรับสภาพองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์	โดยการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม
ลักษณะของปฏิกิริยาบนเซลล์เป้าหมาย	ทำให้เกิดรูที่เยื่อหุ้มเซลล์	ทำลายเยื่อหุ้มเซลล์หรือโครงสร้างภายในเซลล์
ความเป็นพิษหรือผลข้างเคียง	ยังไม่มีรายงาน	มี

ที่มา: พงษ์เทพ (2546)

จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าแบคเทอริโอซินที่สร้างจากแบคทีเรียแกรมลบจะมีโมเลกุลขนาดใหญ่และมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียได้น้อยกว่าที่สร้างจากแบคทีเรียแกรมบวก โดยแบคเทอริโอซินที่สร้างจากแบคทีเรียแกรมลบได้มีการศึกษากันในด้านต่างๆ ได้แก่ โครงสร้างของโปรตีนกิจกรรมในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียเป้าหมายกระบวนการสังเคราะห์ภายในเซลล์ที่ผลิต กลไกการเข้าทำลายและตำแหน่งของการเข้าทำลายเซลล์เป้าหมาย รวมถึงระบบภูมิคุ้มกันของเซลล์เป้าหมาย ตัวอย่างเช่น colicins ซึ่งผลิตโดย *E. coli* และมีผลในการยับยั้งแบคทีเรียกลุ่ม Enterobacteriaceae ชนิดอื่นๆ หรือ microcins ซึ่งผลิตโดยแบคทีเรียในกลุ่ม Enterobacteriaceae และมีผลในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบชนิดต่างๆ ส่วนแบคเทอริโอซินที่ผลิตโดยแบคทีเรียแกรมบวก พบว่ามีคุณสมบัติที่น่าสนใจกว่าที่ผลิตจากแบคทีเรียแกรมลบ คือ มีคุณสมบัติในการทำลายแบคทีเรียที่แตกต่างกันได้หลายชนิดรวมทั้งเซลล์เป้าหมายจะมีการต้านทานน้อย และไม่ต้องการตำแหน่งเฉพาะเจาะจงบนเซลล์เป้าหมายเพื่อการเข้าทำลาย นอกจากนี้การควบคุมการผลิตภายใน

เซลล์ถูกควบคุมได้ทั้งจากพลาสมิดและโครโมโซมโดยในกลุ่มของแบคทีเรียแกรมบวก พบว่าแลคติคแอสิดแบคทีเรียมีบทบาทสำคัญในการสร้างสาร ซึ่งมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียกลุ่มต่างๆ ได้หลายชนิด โดยแบคเทอริโอซินซึ่งพบว่าสารดังกล่าวเป็นสารเปปไทด์หรือโปรตีนขนาดเล็ก และในบางครั้งอาจพบกรดอะมิโนที่ไม่ค่อยพบในโปรตีนปกติทั่วไป เช่น dehydroalanine, dehydrobutyrine ที่พบในไนซิน โดยแบคเทอริโอซินแต่ละชนิดจะมีจำนวนและชนิดของกรดอะมิโนภายในโมเลกุลที่แตกต่างกัน และสามารถถูกทำลายได้ด้วยเอนไซม์ย่อยสลายโปรตีน (proteolytic enzymes) ได้รวบรวมชนิดของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบที่สามารถสร้างแบคเทอริโอซินไว้ได้แก่ *Acetobacter*, *Actinobacillus*, *Bacillus*, *Brevibacterium, Clostridium, Enterococcus, Erwinia, Haloferax, Lactobacillus, Lactococcus, Listeria, Leuconostoc, Pseudomonas, Pediococcus, Salmonella, Propionibacterium, Serratia, Shigella, Staphylococcus, Streptococcus* และ *Yersinia sp.*

3.4 ประโยชน์ของแลคติคแอสิดแบคทีเรีย (Lactic acid Bacteria) ที่มีต่ออาหารหมัก

3.4.1 เพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ จากการศึกษาถึงข้อมูลในกลุ่มของธัญพืช พบว่าคุณค่าทางอาหารของผลิตภัณฑ์ที่เพิ่มขึ้นมาจากกิจกรรมการหมักที่เกิดขึ้นในกระบวนการผลิตโดยเฉพาะการเพิ่มองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่จำเป็น นอกจากนั้นคุณค่าทางด้านโปรตีนในอาหารที่มีส่วนของธัญพืช และถั่วยังเพิ่มขึ้นอีกด้วย องค์ประกอบของวิตามินบางชนิดยังพบได้ในระหว่างการหมักเพราะมีจุลินทรีย์บางชนิดสังเคราะห์วิตามินที่จำเป็นต่อการเจริญ จึงทำให้องค์ประกอบของวิตามินในอาหารที่ผ่านการหมักสูงกว่าอาหารที่ไม่ผ่านกระบวนการหมัก เช่น ในเทมเป้จากแป้งสาลี พบว่าปริมาณของไนอะซิน ไรโบฟลาวิน และไทอะมินก่อนการหมัก เท่ากับ 46.0, 0.4 และ 3.2 ไมโครกรัม/กรัม เพิ่มเป็น 135.0, 3.2 และ 3.2 ไมโครกรัม/กรัม ภายหลังการหมัก โดยส่วนใหญ่แล้วปริมาณของวิตามินมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น

3.4.2 การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ บทบาทของแบคทีเรียกรดแลคติคในอาหาร พบว่า สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค ทำให้ผลิตภัณฑ์มีความปลอดภัยสูงขึ้นตลอดจนเก็บรักษาได้นานขึ้น โดยปัจจุบันหลักที่เกี่ยวข้องกับการยับยั้ง คือ การสร้างกรด และการลดลงของค่าพีเอช กรดอินทรีย์ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการเมทาบอลิซึมของแบคทีเรียทั้งกรดแลคติคและกรดอะซิตริก นอกจากนั้นยังมีสารประกอบอินทรีย์ชนิดอื่นๆ ที่เกิดขึ้น และมีผลในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดอื่น เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ แบคเทอริโอซิน ซึ่งเป็นสารอินทรีย์ประเภทพอลีเปปไทด์ โครงสร้างทางเคมีเกิดจากการเรียงตัวของกรดอะมิโนเป็นสายยาว มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียกลุ่มที่ใกล้เคียงกัน แบคเทอริโอซินส่วนใหญ่ผลิตจากแบคทีเรียกรดแลคติค โดยแบคทีเรียกรดแลคติคแต่ละสายพันธุ์จะให้ คุณสมบัติของ

แบคเทอริโอซินที่แตกต่างกันไป ทั้งคุณสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรียชนิดอื่น น้ำหนักโมเลกุล โครงสร้าง โมเลกุลสมบัติทางพันธุกรรม และสมบัติทางชีวเคมี

3.4.3 แบคทีเรียกรดแลคติคมีกิจกรรมในการลดปริมาณคอเลสเทอรอลในกระแสเลือด มีรายงานว่า การบริโภคผลิตภัณฑ์นมหมักจะช่วยยับยั้งการเกิดคอเลสเทอรอลได้ นอกจากนั้นยังมีผลในการลดน้ำหนักได้ประมาณ 2.3-2.7 กิโลกรัม ภายใน 3 สัปดาห์ ซึ่งจะต้องบริโภคผลิตภัณฑ์พร้อมกับการออกกำลังกายอย่างสม่ำเสมอ นอกจากนั้นในโยเกิร์ตยังมีองค์ประกอบของสารที่ยับยั้งการสังเคราะห์คอเลสเทอรอล ดังนั้นการบริโภคผลิตภัณฑ์นมหมักที่มีเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* จะช่วยให้คอเลสเทอรอลในเลือดลดลงกว่าการบริโภคนมที่ไม่มีเชื้อดังกล่าว การบริโภคคีเฟอร์ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์นมหมักประเภทหนึ่งมีผลดีต่อสุขภาพหลายประการ เพราะมีคุณค่าทางโภชนาการหลายประการ และยังส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกันให้กับร่างกาย ช่วยให้ระบบการย่อยอาหารดีขึ้น โดยเฉพาะการย่อยแลคโทส

3.4.4 กิจกรรมในการป้องกันมะเร็ง แบคทีเรียกรดแลคติคโดยเฉพาะ *Lactobacillus acidophilus* เป็นแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับมะเร็งในลำไส้ใหญ่ การศึกษาถึงการบริโภคอาหารประเภทเนื้อแดง พบว่าทำให้ระดับของเอนไซม์ ß-lucuronidase, azoreductase และเอนไซม์ introreductase เพิ่มสูงขึ้นกว่าการบริโภคอาหารประเภทผัก และเอนไซม์เหล่านี้ยังความเกี่ยวข้องกับการเพิ่มความเปลี่ยนแปลงของ procarcinogen ไปเป็น carcinogen ในส่วนปลายของลำไส้ของลำไส้ ผลของ *L. acidophilus* สามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์เหล่านี้ได้ ทำให้โอกาสเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งของผู้ป่วยลดลง

3.4.5 ช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกัน มีการศึกษาที่พบว่าแบคทีเรียกรดแลคติคเป็นตัวกระตุ้นภูมิคุ้มกัน โดยมีความไวต่อ microphage และ lymcocyte ทำให้เพิ่มระดับของ immunoglobulin (IgA) และผลิต gamma interferon ซึ่งผลดังกล่าวทำให้มีความต้านทานต่อเชื้อก่อโรค (pathogens) และยังมีคุณสมบัติเป็น antitumor โดยเฉพาะ *L. acidophilus*

3.5 การใช้แลคติกแอซิดแบคทีเรียในอุตสาหกรรมอาหาร

สมบัติยับยั้งจุลินทรีย์ของแบคทีเรียแลคติก (LAB) ผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิดที่ได้จากการหมักกรดแลคติก เช่น นมเปรี้ยว ผัก – ผลไม้ดอง ผลิตภัณฑ์เนื้อและอาหารทะเลหมัก สามารถเก็บไว้ได้นานและปลอดภัยเมื่อนำไปบริโภค ทั้งนี้เป็นเพราะ LAB มีสมบัติยับยั้งจุลินทรีย์ดังนี้ ทำให้ pH ของอาหารลดลง เกิดกรดอินทรีย์ เกิดแบคทีริโอซินส์ เกิดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เกิดเอทานอล

การผลิตกรดแล็กติก ที่ใช้รักษาโรคขาดแคลเซียม ในรูปแคลเซียมแล็กเตต (calcium lactate) รักษาโรคโลหิตจาง โดยใช้ในรูปไอเอินแล็กเตต, (iron lactate) และใช้เป็นตัวทำละลาย

แลคเกอร์ในรูปเอ็นบิวทิลแล็กเตต (N-butyl lactate) การผลิตกรดแล็กติก ใช้วัตถุดิบพวกแป้ง ข้าวโพด มันฝรั่ง กากน้ำตาล หางนมที่ได้จากอุตสาหกรรมนม ถ้าวัตถุดิบเป็นแป้งจะถูกย่อยเป็นกลูโคสก่อนด้วยกรดหรือเอนไซม์ ชนิดของแบคทีเรีย ที่ใช้ขึ้นอยู่กับชนิดของวัตถุดิบ เช่น ใช้เชื้อ *L. bulgaricus* เมื่อใช้หางนมเป็นวัตถุดิบ บางครั้งอาจต้องเติมสารประกอบไนโตรเจนหรือสารอื่นเพื่อช่วยให้เชื้อเจริญได้ดี ระหว่างการหมักจะเติมแคลเซียมไฮดรอกไซด์ เพื่อทำปฏิกิริยากับกรดแล็กติกให้เป็นกลาง ได้แคลเซียมแล็กเลต หลังจากนั้นจึงแยกแคลเซียมแล็กเลตออกมาและทำให้เข้มข้นขึ้น

4. กล้าเชื้อจุลินทรีย์

สิ่งที่สำคัญของการหมักคือ ต้องทำให้แน่ใจว่าจุลินทรีย์ที่เจริญเป็นจุลินทรีย์ที่เราต้องการให้เจริญ จึงต้องพยายามยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่เราไม่ต้องการ ไม่ว่าจะเป็นกลุ่มที่ทำให้อาหารเน่าเสียหรือทำให้เกิดโรค ซึ่งสามารถทำได้โดยลดจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในวัตถุดิบเริ่มต้น เช่น การพาสเจอร์ไรส์ ร่วมกับการควบคุมสภาวะและปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการหมักดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น อย่างไรก็ตาม การหมักอาหารจะประสบความสำเร็จได้ ขึ้นอยู่กับปัจจัยสำคัญที่สุด คือจะต้องใช้จุลินทรีย์ ที่ถูกต้องเหมาะสมสำหรับการหมักนั้น ถ้าเป็นการหมักที่ใช้จุลินทรีย์ที่มีอยู่ในธรรมชาติของอาหารนั้น จะต้องใช้ปัจจัยหลายอย่างมาควบคุมไม่ให้จุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการสามารถเจริญเพิ่มจำนวนได้มาก ในขณะที่ต้องเอื้อให้จุลินทรีย์ที่ต้องการสามารถเจริญเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว ข้อดีของการหมักแบบนี้คือ ได้ผลิตภัณฑ์อาหารหมักที่มีกลิ่นรสที่ผสมผสานกันอย่างลงตัว เนื่องจากความหลากหลายของ จุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่ในการหมัก แต่ก็มีข้อเสีย คือจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่ไม่ต้องการอาจรบกวนการหมัก ทำให้ไม่สามารถควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์ได้ จึงทำให้มีการพัฒนาเทคโนโลยีเป็นการหมักแบบควบคุมที่มีการใช้กล้าเชื้อจุลินทรีย์เฉพาะ ซึ่งมีหลากหลายรูปแบบ ดังต่อไปนี้ กล้าเชื้อที่ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารหมักพื้นบ้าน ในกล้าเชื้อสำหรับอาหารหมักพื้นบ้านแต่ละชนิดจะมี จุลินทรีย์ที่หลากหลายและแตกต่างชนิดกันไป การเตรียมกล้าเชื้อ ส่วนผสมของกล้าเชื้อ ตลอดจนวิธีการเก็บรักษาและอายุการเก็บรักษากล้าเชื้อก็แตกต่างกันออกไปตามท้องถิ่น จัดเป็นภูมิปัญญาพื้นบ้านที่ใช้ในการเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์ไว้ใช้ได้นาน ๆ โดยไม่ต้องใช้เทคนิคที่มีราคาแพง กล้าเชื้อเหล่านี้ได้แก่

- ลูกแป้งเหล้า สำหรับทำสาโท
- ลูกแป้งข้าวหมาก สำหรับการทำข้าวหมาก
- โคจิ (Koji) คือกล้าเชื้อสำหรับการทำซีอิ๊ว

กล้าเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ เป็นกล้าเชื้อของจุลินทรีย์สายพันธุ์ที่คัดเลือกมาแล้ว และมักใช้ในอุตสาหกรรมการหมักที่มีมูลค่าสูง การหมักแต่ละครั้งกระทำในปริมาณมากและต้องการความแม่นยำ รวดเร็วและถูกต้อง การดูแลรักษาจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อบริสุทธิ์เหล่านี้ สามารถทำได้หลายวิธีขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ในการเก็บรักษา ได้แก่ แอคทีฟคัลเจอร์ (active culture)เป็นการเก็บจุลินทรีย์ไว้บนอาหารแข็ง ที่อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส การเก็บในลักษณะนี้จะต้องถ่ายเชื้อลงในอาหารใหม่ทุก 2-3 สัปดาห์ เพื่อรักษาเชื้อให้ยังคงพร้อมสำหรับการหมัก การเก็บจุลินทรีย์ด้วยวิธีนี้ไม่นิยมปฏิบัติในระดับอุตสาหกรรม เนื่องจากจุลินทรีย์จะมีความสามารถในการหมักต่ำลงหลังจากการถ่ายเชื้อหลาย ๆ ครั้งกล้าเชื้อผงเป็นผงแห้งของจุลินทรีย์ที่ยังมีชีวิตอยู่ การผลิตกล้าเชื้อประเภทนี้จะทำให้เก็บจุลินทรีย์ไว้เป็นเวลานาน ซึ่งอาจเก็บในรูปของเชื้อผงที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (lyophilize) และเก็บในภาชนะสุญญากาศ หรือทำแห้งแบบพ่นกระจาย (spray drying) กล้าเชื้อประเภทนี้มักจะผลิตสำหรับจำหน่ายทางการค้า เช่น แอคทีฟดรายยีสต์ (active dry yeast) ที่ใช้เป็นกล้าเชื้อยีสต์ในอุตสาหกรรมไวน์

4.1 การผลิตกล้าเชื้อ

หลักการผลิตกล้าเชื้อโดยทั่วไปคือ เลี้ยงเชื้อในอาหารและสภาวะที่เหมาะสมเพื่อให้ได้ปริมาณเซลล์ที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด กรณีที่จะผลิตกล้าเชื้อเข้มข้นต้องเลือกวิธีที่เหมาะสมในการทำเชื้อให้เข้มข้น เลือกรูปแบบและวิธีการในการเก็บรักษากล้าเชื้อตามความสะดวกที่จะนำไปใช้

4.1.1 คุณสมบัติของกล้าเชื้อ

กล้าเชื้อที่ผลิตเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหารหมัก (สมพร, 2538) ควรมีคุณสมบัติโดยทั่วไป คือ

1) อยู่ในรูปแบบที่ใช้ง่ายและเหมาะสมกับกรรมวิธีการหมักแต่ละชนิด

2) กล้าเชื้อที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารหมัก ควรมีอายุการเก็บนานได้พอดีพอสมควร โดยยังคงมีจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในปริมาณมากที่จะดำเนินกิจกรรมการหมัก

3) วัสดุที่ใช้เลี้ยงเชื้อและผสมในกล้าเชื้อ ต้องไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของกลิ่นรส และคุณสมบัติอื่น ๆ ของอาหารหมัก

4) ในกรณีที่มีกิจกรรมการหมักเกิดจากเชื้อผสม กล้าเชื้อต้องประกอบด้วยจุลินทรีย์แต่ละชนิดในอัตราส่วนที่เหมาะสม

5) กล้าเชื้อที่ผลิตขายเป็นอุตสาหกรรม จะต้องอยู่ในรูปแบบที่ง่ายต่อการขนส่ง บรรจุภัณฑ์ที่สามารถป้องกันแมลงได้ดี มีรายละเอียดกำหนดปริมาณการใช้และอายุของเชื้อที่แน่นอน

4.1.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตกล้าเชื้อ

1) อาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นหนึ่งในปัจจัยแรกที่ควรคำนึงถึง คือ การผลิตเซลล์สำหรับการผลิตกล้าเชื้อ อาหารเลี้ยงเชื้อควรมีสารอาหารที่จำเป็นอย่างครบถ้วน การเลือกอาหารเลี้ยงเชื้ออาจถูกควบคุมด้วยหลายปัจจัยเช่น ราคา ความสามารถในการผลิตเซลล์ให้ได้มากและมีกิจกรรมที่สูง ตลอดจนง่ายในการเก็บเกี่ยวเซลล์

2) อุณหภูมิ การควบคุมอุณหภูมิการหมักที่ 43 องศาเซลเซียส ในการผลิตกรดแลกติกโดยใช้เชื้อ *lactobacillus bulgaricus* สามารถยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการได้ อุณหภูมิในการเจริญ 2-53 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญอยู่ระหว่าง 30-40 องศาเซลเซียส

3) พีเอช ชนิดของสารที่ใช้รักษาระดับพีเอชให้คงที่มีอิทธิพลที่เหมาะสมในการเจริญของแบคทีเรียแลกติก มีการโซเดียมคาร์บอเนตร้อยละ 20 ในแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 20 ในการรักษาระดับพีเอชให้คงที่ เนื่องจากสามารถปลดปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์อย่างช้า ๆ ในขณะเชื้อมีการเจริญ (วัฒนา, 2522)

4.2 รูปแบบกล้าเชื้อ

กล้าเชื้อผง (Powder inoculum) ผลิตกล้าเชื้อผงแบคทีเรียแลกติกคือ *Lactobacillus casei* โดยเลี้ยงเชื้อในน้ำมะพร้าวที่เติมกากถั่วเหลืองร้อยละ 5 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเติมรำละเอียดสองส่วนในอาหารเหลวหนึ่งส่วน บ่มเชื้อที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะได้กล้าเชื้อประมาณ 10^8 เซลล์ต่อกรัม เมื่อนำเชื้อสดนี้มาคลุกกับรำละเอียดซึ่งเติมกรดโปรปิโอนิก ร้อยละ 0.3 โดยใช้รำสองส่วนต่อเชื้อหนึ่งส่วน จะได้ผงกล้าเชื้อที่มีความชื้นประมาณร้อยละ 18-20 เก็บรักษาเชื้อผงได้ประมาณ 3 เดือนในตู้เย็นโดยเชื้อลดลงประมาณ 2 log cycle

4.3 การเก็บรักษากล้าเชื้อ

ปัจจัยที่มีผลต่อการรอดชีวิตของกล้าเชื้อเช่น

4.3.1 ชนิดของแบคทีเรีย โดยทั่วไปการทำแห้งมีผลกระทบต่อแบคทีเรียแกรมลบมากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก

4.3.2 ระยะการเจริญของแบคทีเรียเป็นปัจจัยสำคัญต่อการรอดชีวิตของกล้าเชื้อ

4.3.3 อุณหภูมิการเก็บรักษากล้าเชื้อที่อุณหภูมิต่ำจะช่วยทำให้กล้าเชื้อมีอายุการเก็บนานขึ้น

4.3.4 ความชื้น การเก็บกล้าเชื้อฟลูอิไดซ์ของเชื้อ *Leuconostoc oenos* ที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส ปริมาณความชื้นร้อยละ 9-16 ไม่มีผลต่อการรอดชีวิตของกล้าเชื้อตลอดระยะเวลา 3 เดือน แต่ความชื้นร้อยละ 27 จำนวนเชื้อจะลดลงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับความชื้นร้อยละ 9-16 ปริมาณความชื้นเป็นสัดส่วนผกผันกับการรอดชีวิตของกล้าเชื้อ

4.3.5 วัสดุที่ใช้บรรจุกล้าเชื้อและสภาวะภายในวัสดุที่ใช้บรรจุกล้าเชื้อต้องไม่มีการแพร่ผ่านของทั้งความชื้นและออกซิเจน มีการใช้ถุงโพลีเอธิลีนฉาบด้วยอะลูมิเนียมฟอยด์เป็นวัสดุในการบรรจุกล้าเชื้อ

จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้นสามารถสรุปได้ว่าการใช้กล้าเชื้อในการแปรรูปผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์มีผลดีคือ

1) ลดระยะเวลาการหมัก Bacus (1984) ; Gibbs (1987) ได้ทำการพัฒนาสูตรการหมักซีอิ๊วโดยใช้เทคโนโลยีสมัยใหม่เข้ามาช่วยเพื่อลดระยะเวลาที่ใช้ในการหมักให้น้อยลงเพื่อใช้สำหรับการผลิตในขั้นอุตสาหกรรม

2) สามารถควบคุมการหมักและคุณภาพของผลิตภัณฑ์ได้ง่ายขึ้น

3) ลดการสะสมของไนโตรเจนซามีนซึ่งเป็นสารก่อมะเร็ง การเติมกล้าเชื้อทำให้การผลิตกรดเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็วขึ้นทำให้ไนไรท์ที่เติมลงไปในผลิตภัณฑ์หรือไนไตรท์ที่เกิดจากการริดิวส์ของไนเตรทสลายเป็นไนตริออกไซด์ ทำให้มีปริมาณไนไตรท์น้อยลง การเกิดไนไตรซามีนจึงลดลง

4) ยับยั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคหรือจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย

5. หลักการถนอมอาหารโดยใช้เกลือ

มนุษย์เริ่มใช้เกลือในการถนอมอาหารมาตั้งแต่สมัยที่มนุษย์เริ่มรู้จักการใช้โลหะบรอนซ์โดยชาวอียิปต์เป็นพวกแรกที่ใช้เกลือเป็นตัวช่วยรักษาเนื้อปลา โดยทำเป็นปลาเค็ม การถนอมอาหารโดยใช้เกลือถือเป็นวิธีที่เก่าแก่และเป็นวิธีที่ทำได้ง่าย ส่วนใหญ่จะใช้เกลือในอาหารประเภทโปรตีนเช่น เนื้อสัตว์ต่าง ๆ ปลา และอาหารที่มีรสหวานจัด เพื่อลดรสหวานที่มากเกินไป นอกจากนี้เกลือยังช่วยลดรสขมได้อีกด้วย ซึ่งมักจะเติมลงในเบียร์ที่มีแอลกอฮอล์สูง และกาแฟดำ (ชมภู่, 2543) เกลือเป็นสารที่ประกอบด้วยโซเดียม (Na) ร้อยละ 39.39 และคลอไรด์ (Cl) ร้อยละ 60.61 มีรูปร่างเป็นผลึกรูปลูกบาศก์สีขาว ละลายน้ำได้ประมาณร้อยละ 26.4 โดยน้ำหนัก เมื่อละลายน้ำจะมีรสขมเล็กน้อย มีปฏิกิริยาเป็นกลาง ดูดความชื้นได้ประมาณร้อยละ 1.5 ที่อุณหภูมิ

30 อาศาเซลเซียส มีจุดหลอมเหลวที่ 77.7 องศาเซลเซียส (พิภพ, 2507 ; ชมภู่, 2543) หน้าที่หลักในการถนอมอาหารของเกลือ คือ เกลือจะทำให้ค่า Water Activity ของอาหารลดลง (ไพบูลย์, 2532) เมื่อเกลือละลายในน้ำ โมเลกุลของน้ำจะมาจับเกาะกับเกลือ เกิดเป็น ion hydration มีผลทำให้ความเป็นอิสระของน้ำเปลี่ยนแปลงไป (กล้าณรงค์, 2521) นอกจากนี้เกลือยังเป็นสารที่มีค่าแรงออสโมติคสูง เมื่อใส่ในอาหารจะทำให้น้ำในอาหารถูกดึงออกมา และน้ำจากเซลของจุลินทรีย์ทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญเติบโตได้เนื่องจากเซลของจุลินทรีย์เกิดลักษณะเซลเหี่ยว (plasmolysis) (กล้าณรงค์, 2521)

5.1 ผลของเกลือต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

เกลือมีคุณสมบัติในการคัดเลือกชนิดของจุลินทรีย์ โดยอาหารเลี้ยงเชื้อของจุลินทรีย์บางชนิด เช่น จุลินทรีย์จำพวก Lactic acid bacteria สามารถปรับสภาพให้ทนต่อสภาวะความเข้มของเกลือได้ แต่แบคทีเรียบางชนิดไม่สามารถทนต่อสภาวะเช่นนี้ได้ ก็จะตายไป (ชมภู่, 2543) โดยทั่ว ๆไป แบคทีเรียเกือบทุกชนิดต้องการอาหารที่มีเกลือเจือปนอยู่เล็กน้อย แบคทีเรียที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีเกลือเจือปนอยู่ร้อยละ 1-2 จะเจริญเติบโตได้ดีกว่าพวกที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่มีเกลือเลย แต่ถ้าใช้เกลือสูงกว่าร้อยละ 1-2 เกลือจะมีผลไปยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้(ชมภู่, 2543) ได้กล่าวว่าเกลือที่มีความเข้มข้นต่ำ จะมีผลไปกระตุ้นความเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในขณะที่เกลือมีความเข้มข้นสูงจะไปยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ช่วงความเข้มข้นของเกลือที่มีผลไปยับยั้งจุลินทรีย์ จะแตกต่างกันตามชนิดของจุลินทรีย์ จึงแบ่งกลุ่มจุลินทรีย์ออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ไม่ทนเกลือ (Salt-intolerant) กลุ่มที่เติบโตได้ทั้งในสภาพที่มีเกลือและไม่มีเกลือ (Saltfacultative)และกลุ่มที่ทนเกลือได้ (Salt-tolerant:Halophlilc) (ชมภู่, 2543)

5.2 ประสิทธิภาพในการถนอมรักษาอาหารของเกลือ

ประสิทธิภาพในการถนอมรักษาอาหารของเกลือ ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ดังนี้

5.2.1 ความเข้มข้นของเกลือ จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค และจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเป็นพิษ จะถูกยับยั้งการเจริญเติบโตในอาหารที่มีสารละลายเกลือเข้มข้นร้อยละ 10 (ชมภู่, 2543) ซึ่งน้ำเกลือที่มีความเข้มข้นร้อยละ 10-15 สามารถยับยั้งจุลินทรย์ได้ แต่ถ้าเป็นสารละลายน้ำตาลต้องใช้ความเข้มข้นสูงถึงร้อยละ 50

5.2.2 อุณหภูมิ ประสิทธิภาพของการถนอมรักษาอาหารของเกลือ จะลดลงเมื่ออุณหภูมิต่ำ เช่นการป้องกันการเจริญของเชื้อ *E.Coli* ที่อุณหภูมิ 5-8 องศาเซลเซียส ต้องใช้เกลือเข้มข้นร้อยละ 25 แต่ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสจะใช้เกลือเข้มข้นเพียง ร้อยละ 10 เท่านั้น (ชมภู่, 2543)

5.2.3 ค่าความเป็นกรด ด่าง (pH) เมื่อค่าpH ลดลงจะช่วยให้ประสิทธิภาพในการถนอมอาหารของเกลือเพิ่มขึ้น การถนอมรักษาเนื้อสัตว์จะใช้เกลือน้อยกว่าการถนอมรักษาเนื้อปลา เพราะเนื้อปลามีค่า pH สูงกว่าเนื้อสัตว์ ความเข้มข้นของเกลือที่ใช้ในการทำลายเชื้อ Staphylococci จะลดลงร้อยละ 30 เมื่อใช้ร่วมกับกรด ในอัตราส่วน 1: 1 (ชมภู่, 2543)

5.3 เกลือจะแทรกซึมเข้าไปในอาหารได้เร็วหรือช้าขึ้นอยู่กับปัจจัยดังนี้

5.3.1 ชนิดของอาหาร อาหารต่างชนิดกัน มีปริมาณความชื้นต่างกัน ซึ่งความชื้นของอาหาร มีผลต่อการเกิดกระบวน การออสโมซีส ส่วนอาหารที่มีเปลือกหนา มีสารเคลือบผิวจะทำให้เกลือซึมเข้าไป ได้ยาก (กล้าณรงค์,2521)

5.3.2 ความเข้มข้นของเกลือ ถ้าใช้เกลือที่ความเข้มข้นสูง การแทรกซึมของเกลือ เข้าไปในอาหารจะมากขึ้น เช่น เมื่อความเข้มข้น ของเกลือที่ใช้หมักเนื้อหมู เพิ่มขึ้นจะทำให้ปริมาณของเกลือที่ซึมเข้าไป ในเนื้อหมูเพิ่มขึ้นด้วย เนื่องจากเกลือ ที่ความเข้มข้นสูง จะทำให้เกิดกระบวนการ ออสโมซีส และกำจัดน้ำออกจาก เนื้อสัตว์ได้เร็ว

5.3.3 ความบริสุทธิ์ของเกลือ อัตราการแทรกซึมของเกลือเข้าไปในเนื้อปลา ขึ้นอยู่กับความบริสุทธิ์ ของเกลือที่ใช้ (Borgstrom, 1968) เกลือที่มีแคลเซียม (Ca) และแมกนีเซียม (Mg) ปนอยู่ด้วยจะลด อัตราการแทรกซึม ของเกลืออย่างชัดเจน เช่น แคลเซียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.4 ที่มีอยู่ในเกลือ จะไปขัดขวางการแทรกซึม ของเกลือที่เข้าไปในเนื้อปลาซาลมอล (salmon) แต่ถ้าใช้เกลือป่น ที่มีความบริสุทธิ์มาก จะช่วยให้อัตราการ แทรกซึมของเกลือเข้าไป ในเนื้อปลาเกิดได้เร็วยิ่งขึ้น (พิภพ, 2507)

5.3.4 ระยะเวลา ยิ่งใช้เวลาในการหมัก ด้วยเกลือนานขึ้นเท่าไร เกลือจะแทรกซึมเข้าไปในอาหารได้มากขึ้น (กล้าณรงค์, 2521)

5.4 กระบวนการหมัก อาหารด้วยเกลือ มีขั้นตอนหลัก ๆ 3 ขั้นดังนี้

5.4.1 การเกิดแรงดันออสโมติค (Osmotis stage) เมื่อนำอาหารไปแช่ ในสารละลายเกลือ ความเข้มข้นของเกลือ ในอาหารจะน้อยกว่า ความเข้มข้น ของเกลือ ในสารละลายเกลือ ทำให้น้ำในอาหาร ถูกดึงออกสู่สาร ละลายเกลือ เนื่องจากเกิดแรงดัน ออสโมติค จะทำให้น้ำหนัก ของอาหารลดลง โปรตีนจะละลาย ปะปนกับน้ำออกจาก เซลล์ของอาหารด้วย

5.4.2 การเปลี่ยนคุณสมบัติของโปรตีน (Protein denatured) ในขณะที่น้ำออกมานอกเซลล์อาหาร เกลือจะซึมเข้าไป แทนที่จนกระทั่ว ความเข้มข้น ของเกลือ ในอาหารสูงขึ้นเรื่อยๆ จนถึงจุดหนึ่งโปรตีน ในอาหารจะหยุดละลาย และเสียรูปไป ช่องว่างภายในเซลล์อาหาร จะถูกแทนที่ด้วยเกลือ ทำให้ อาหารมีสีขุ่น

5.4.3 ขั้นสมดุล (Equilibrium stage) เกลือจะซึมเข้าไปในอาหาร จนถึงจุดสมดุล คือ ความเข้มข้นของเกลือ ในอาหารจะเท่ากับ ความเข้มข้น ของเกลือ ในสารละลายเกลือ น้ำหนักของอาหาร จะเพิ่มขึ้น เนื่องจากน้ำหนัก ของเกลือที่เข้าไป แทนอยู่ในอาหาร

6. แบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสียและก่อให้เกิดโรค

โรคอาหารเป็นพิษเป็นปัญหาที่สำคัญของโลกโดยเฉพาะในประเทศกำลังพัฒนา ถึงแม้ว่าจะมีสถิติของการเกิดโรคไม่สูงมากนัก แต่ก็พบโรคท้องร่วงได้ทั่วไปโดยเฉพาะในทารกและเด็ก ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ที่สำคัญของปัญหาความปลอดภัยในอาหาร

หอย ปู กุ้ง กุ้งจะมีพวก Achromobacter สูง ถึงแม้จะมีพวก pseudomonads, flavobacterium, micrococus และ bacillus ขึ้น ๆ ลง ๆ อยู่บ้าง เนื้อปูจะมี pseudomonas, Achromobacter ที่อุณภูมิห้องเย็น และที่อุณหภูมิสูงขึ้นจะมี proteus ในกุ้งก้ามกราม (Lopster) มี Pseudomonas, Achromobacter, lavobacterium และ Bacillus ส่วนพวกหอยนางรม จะยังมีสภาพดีถ้าเก็บไว้ในห้องเย็นทั้งเป็น แต่มันจะเน่าอย่างรวดเร็วถ้าตาย ที่อุณหภูมิใกล้จุดเยือกแข็งจะมี Pseudomonas หรือ Achromobacter มากที่สุดและจะพบ Flavobacterium และ Micrococcus บ้าง Souring และยีสต์ ferment น้ำตาลให้กลายเป็นกรด

การเน่าเสียหรือเสื่อมสภาพของอาหารมีด้วยกัน 3 แบบ ได้แก่ การเน่าเสียทางกายภาพ การเน่าเสียทางเคมี และการเน่าเสียโดยจุลินทรีย์ ดังนี้

1. การเน่าเสียทางกายภาพ เช่น เมื่อผักมีการสูญเสียน้ำผักจะเหี่ยว การช้ำของผักผลไม้ที่เกิดจากการโยน หรือการกระแทกในขั้นตอนการขนส่ง เป็นต้น

2. การเน่าเสียทางเคมี เช่น การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในไขมัน ทำให้ไขมันมีกลิ่นหืน การเกิดปฏิกิริยาบราวนิง (browning reaction) ทำให้ผักผลไม้เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล การย่อยสลายตัวเอง (autolysis) โดยเอนไซม์ที่อยู่ในอาหารนั้น ความกรอบของผักที่ลดลงเนื่องจากมีเอนไซม์เพคติเนส (pectinases) ย่อยสลายเพคติน (pectin) ซึ่งเป็นโครงสร้างที่ทำให้ผักคงความกรอบ หรือเนื้อปลาจะมีการเปื่อยยุ่ยภายหลังการตาย เนื่องจากมีเอนไซม์โปรติเนสออกมาย่อยสลายเนื้อปลา

3. การเน่าเสียโดยจุลินทรีย์ เมื่อจุลินทรีย์มีการปนเปื้อนและเพิ่มจำนวนได้ในอาหาร จากการที่จุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์ออกมาย่อยอาหารนั้น (microbial enzymes)

การเน่าเสียของอาหารมีหลายลักษณะ เช่น การเปลี่ยนสี มีกลิ่นรสผิดปกติ เนื้อสัมผัสเปลี่ยนไป มีการสร้างเมือก มีแก๊สสะสมทำให้อาหารมีฟอง หรืออาหารมีความขุ่นมากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบความเร็วในการทำให้อาหารเสียระหว่างการเสียของอาหารเมื่อมีจุลินทรีย์เติบโต กับการเสียของอาหารโดยมีแต่เอนไซม์ที่จุลินทรีย์ผลิตได้ อาหารจะเน่าเสียได้เร็วกว่า

จุลินทรีย์ทำให้อาหารเน่าเสียภายหลังการเติบโตในอาหาร โดยในระหว่างการเติบโตนั้น จุลินทรีย์จะสร้างเอนไซม์ออกมาย่อยสลายอาหาร ซึ่งอาจเป็นเอนไซม์ชนิดที่สร้างภายในเซลล์แล้วปล่อยออกนอกเซลล์ หรืออาจเป็นเอนไซม์ชนิดที่สร้างภายในเซลล์แล้วเก็บภายในเซลล์ โดยจะปล่อยออกนอกเซลล์ เมื่อเซลล์แตก ผลจากการย่อยสลายอาหาร ทำให้จุลินทรีย์เติบโตเพิ่มจำนวนในอาหารพร้อมๆ กับมีการปลดปล่อยสารบางชนิดออกมา ซึ่งสารที่ขับออกมานั้น บางชนิดมีประโยชน์ต่อมนุษย์ จึงทำให้เกิดผลิตภัณฑ์อาหารหมักหลายชนิดได้แก่ แหนมซึ่งมีรสเปรี้ยวที่มาจากแบคทีเรียแลคติดใช้น้ำตาลกลูโคสแล้วสร้างกรดแลคติกออกมาเป็นส่วนใหญ่ เป็นต้น ส่วนสารบางชนิดที่จุลินทรีย์ขับออกมา ภายหลังการเติบโตแล้วก่อโทษ เช่น การทำให้เกิดเมือกในอาหาร โดยเชื้อ *B. subtilis* ซึ่งทำให้ขนมปังเสียโดยมีเมือกเกิดขึ้น เป็นต้น

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

1. วัตถุดิบ

1. กุ้งทะเล จาก อ.สิเกา จ.ตรัง
2. เกลือ
3. น้ำตาลทราย
4. น้ำแป้งสุก
5. น้ำข้าว

2. อุปกรณ์

1. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง
2. กะละมัง
3. ขวดโหลแก้ว
4. ช้อน, ทัพพี
5. อุปกรณ์อื่น ๆ ที่จำเป็น
6. อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์ทางเคมี
   - วิเคราะห์หาปริมาณความชื้น (A.O.A.C., 2000)
   - วิเคราะห์หาปริมาณเถ้า (A.O.A.C., 2000)
   - วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน (A.O.A.C., 2000)
   - วิเคราะห์หาปริมาณไขมัน (A.O.A.C., 2000)

3. วิธีการทดลอง

3.1 ทำแบบสอบถามเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์กุ้งส้ม

ศึกษาพฤติกรรม การยอมรับ และความต้องการของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์กุ้งส้ม ซึ่งกลุ่มบริโภคที่ทดสอบได้แก่ ชาวบ้าน หรือผู้ที่เลือกซื้ออาหารเองที่มีอายุ 20 ปีขึ้นไป โดยจะใช้ผู้ทดสอบจำนวน 150 คน โดยได้สอบถามจากนักศึกษาและชาวบ้านในแถบบริเวณอำเภอสิเกา สถานที่ทดสอบ ได้แก่ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง แล้วนำข้อมูลที่ได้มาประมวลผลและวิเคราะห์ผลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS

3.2 การเตรียมกุ้งในการหมัก

3.2.1 วัตถุดิบ

ใช้กุ้งทะเล ขนาดเล็กถึงขนาดปานกลาง มีน้ำหนักตัวประมาณ 0 -1.5 กรัม ซื้อมาจากตลาดในอำเภอสิเกา นำมาล้างน้ำให้สะอาด

3.2.2 ศึกษาขนาดในการหมักกุ้งส้ม

ก. ขนาดเล็ก มีน้ำหนักตัวกุ้ง ตั้งแต่ 0 - 0.78 กรัม

ข. ขนาดกลาง มีน้ำหนักตัวกุ้ง ตั้งแต่ 0.79 - 1.48 กรัม

3.3 การศึกษาการหมักกุ้งส้มโดยวิธีดั้งเดิมและใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์

3.3.1 การผลิตกุ้งส้มโดยวิธีดั้งเดิม

นำกุ้งขนาดเล็กถึงขนาดปานกลาง มาล้างให้สะอาด เติมเกลือ 75 กรัม และน้ำตาลโตนด 300 กรัมลงไป เติมน้ำแป้งสุก หรือน้ำข้าว ผสมให้เข้ากัน จากนั้นบรรจุใส่ในขวดแก้วที่มีปริมาตร 300 มิลลิลิตรจำนวน 8 ขวด แล้วเติมน้ำลงไปในแต่ละขวด ๆ ละ 25 เปอร์เซ็นต์ (v/w) จากนั้นปิดฝาให้สนิท แล้วบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องที่ 37 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส นาน 20 วัน มีการสุ่มตัวอย่างทุก 5 วัน แล้วนำไปวิเคราะห์ ดังนี้

- การวิเคราะห์ทางด้านประสาทสัมผัส ได้แก่ สี กลิ่น รสชาติ รสเค็ม ลักษณะปรากฏ และความชอบรวม โดยวิธี Hedonic scale 9 point ใช้ผู้ทดสอบชิมที่ผ่านการฝึกฝน 10 คน
- การวิเคราะห์ทางด้านจุลชีววิทยา ได้แก่ การตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด โดยวิธี (A.O.A.C., 2000)
- การวิเคราะห์ทางด้านเคมี ได้แก่ ปริมาณเกลือ ความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณกรดทั้งหมด และ การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น เถ้า และ ไขมัน โดยวิธี (A.O.A.C, 2000)

3.3.2 การผลิตกุ้งส้มโดยใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์

การหมักกุ้งส้มโดยใช้กล้าเชื้อ ซึ่งได้จากการนำเชื้อ *Lactobacillus plantarum* เป็นกล้าเชื้อเริ่มต้นในการหมักโดยใช้เชื้อประมาณ 10^7 CFU/g นำมาเลี้ยงในอาหารเหลว MRS ปริมาตร 10 ml. เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเหวี่ยงแยกเซลล์ที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ล้างเซลล์ด้วยสารละลายน้ำเกลือเข้มข้น 0.85 % จำนวน 2 ครั้ง ทำให้เป็นซัสเพนชั่นเชื้อ นับจำนวนเชื้อเริ่มต้นก่อนที่จะนำไปเติมในกระบวนการผลิตกุ้งส้ม โดยเจือจางซัสเพนชั่นของเชื้อในอัตราส่วนที่เหมาะสม แล้วทำการ spread plate ด้วยอาหาร MRS agar โดยทำซ้ำ 3 ซ้ำ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 – 24 ชั่วโมง แล้วตรวจนับเชื้อ จากนั้นก็นำเชื้อที่ได้ไปเมในกระบวนการผลิตกุ้งส้ม แล้วบรรจุใส่ในขวดแก้วที่มีปริมาตร 300 มิลลิลิตรจำนวน 8 ขวด แล้วเติมน้ำลงไปในแต่ละขวด ๆ ละ 25 เปอร์เซ็นต์ (v/w) จากนั้นปิดฝาให้สนิท แล้วบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องที่ 37 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส นาน 20 วัน มีการสุ่มตัวอย่างทุก 5 วัน แล้วนำไปวิเคราะห์ ดังนี้

- การวิเคราะห์ทางด้านประสาทสัมผัส ได้แก่ สี กลิ่น รสชาติ รสเค็ม ลักษณะปรากฏ และความชอบรวม โดยวิธี Hedonic scale 9 point ใช้ผู้ทดสอบชิมที่ผ่านการฝึกฝน 10 คน
- การวิเคราะห์ทางด้านจุลชีววิทยา ได้แก่ การตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด โดยวิธี (A.O.A.C., 2000)
- การวิเคราะห์ทางด้านเคมี ได้แก่ ปริมาณเกลือ ความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณกรดทั้งหมด และ การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น เถ้า และ ไขมัน โดยวิธี (A.O.A.C, 2000)

3.4 ศึกษาสารที่เติมในระหว่างการหมัก

3.4.1 เกลือ ร้อยละ 6.5, 7.5 และ 8.5

3.4.2 น้ำตาลทราย ร้อยละ 20, 30 และ 40

3.4.3 น้ำ

- น้ำแป้งสุก
- น้ำข้าวสุก

3.5 บรรจุภัณฑ์ บรรจุลงในขวดแก้ว แล้วนำไปพาสเจอร์ไรส์

ใช้ขวดแก้วที่มีลักษณะเป็นขวดโหล การพาสเจอร์ไรส์ใช้อุณหภูมิ 60 – 80 องศาเซลเซียส และกระป๋องแบบสเตอร์ริไรเซชัน หลังจากนั้นทดสอบทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ การวิเคราะห์ทางด้านประสาทสัมผัส ได้แก่ สี กลิ่น รสชาติ รสเค็ม ลักษณะปรากฏ และความชอบรวม โดยวิธี Hedonic scale 9 point ใช้ผู้ทดสอบชิมที่ผ่านการฝึกฝน 10 คน

- การวิเคราะห์ทางด้านจุลชีววิทยา ได้แก่ การตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด โดยวิธี (A.O.A.C., 2000)
- การวิเคราะห์ทางด้านเคมี ได้แก่ ปริมาณเกลือ ความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณกรดทั้งหมด และ การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น เถ้า และ ไขมัน โดยวิธี (A.O.A.C, 2000)

3.6 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้ทั้งหมดมาวิเคราะห์ ANOVA และใช้ Ducan’s New Multiple Range Test (DMRT) เพื่อทดสอบความแตกต่างทางค่าเฉลี่ยโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ผลการศึกษาพฤติกรรมการยอมรับและความต้องการของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์กุ้งส้ม

จากการศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อกุ้งส้ม โดยการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคโดยใช้ Central Location Test โดยกลุ่มผู้ทดสอบคือ ประชาชนทั่วไปในอำเภอสิเกาและมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัยวิทยาเขตตรัง ลักษณะทางประชากรศาสตร์ของผู้บริโภคทั่วไปโดยจะทำการทดสอบพฤติกรรมการยอมรับจำนวน 150 คน แสดงดังตารางที่ 3

<u>ตารางที่ 3</u> ข้อมูลทั่วไปของผู้บริโภค

ข้อมูลทั่วไป	จำนวน	ร้อยละ
1. เพศ		
ชาย	51	34
หญิง	99	66
2. อายุ		
15 – 20 ปี	14	13
21 – 25 ปี	21	14
26 – 30 ปี	20	13.3
31 – 35 ปี	27	18
36 – 40 ปี	33	22
มากกว่า 40 ปี	35	23.3
3. การศึกษา		
ประถมศึกษา	54	36
มัธยมศึกษาตอนต้น	21	14
มัธยมศึกษาตอนปลาย/ปวช	25	16.7
อนุปริญญา/ปวส	15	10
ปริญญาตรี	35	23.3
ปริญญาโท		
อื่น ๆ		

ตารางที่ 3 (ต่อ)

ข้อมูลทั่วไป	จำนวน	ร้อยละ
4. อาชีพ		
รับราชการ	8	5.3
ค้าขาย/ธุรกิจส่วนตัว	28	18.7
ลูกจ้างหน่วยงานของรัฐ/เอกชน	12	8
แม่บ้าน	40	26.7
นักศึกษา	25	16.7
อื่น ๆ	37	24.7
5. รายได้ต่อเดือน		
ไม่มีรายได้ (ยังไม่ได้ทำงาน)	23	15.3
ต่ำกว่า 5,000 บาท	12	8
5,001-10,000 บาท	70	46.7
มากกว่า 10,001 บาทขึ้นไป	45	30

จากการศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อแป้งข้าวหมาก โดยการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคโดยใช้ Central Location Test โดยกลุ่มผู้ทดสอบคือ ประชาชนทั่วไปในอำเภอสิเกาและมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัยวิทยาเขตตรัง ลักษณะทางประชากรศาสตร์ของผู้บริโภคทั่วไป ประกอบด้วย เพศชาย ร้อยละ 34 และเพศหญิง ร้อยละ 66 ส่วนใหญ่มีอายุมากกว่า 40 ปีขึ้นไป ระดับการศึกษาระดับประถมศึกษา ร้อยละ 36 ระดับปริญญาตรี ร้อยละ 23.3 ระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย/ปวช. ร้อยละ 16.7 ระดับมัธยมศึกษาตอนต้น ร้อยละ 14 และระดับอนุปริญญา/ปวส. ร้อยละ 10 โดยผู้บริโภคมีรายได้ช่วง 5,001-10,000 บาท ร้อยละ 46.7 มีรายได้ช่วงมากกว่า 10,000 บาทขึ้นไป ร้อยละ 30 ไม่มีรายได้ ร้อยละ 15.3 และมีรายได้ต่ำกว่า 5,000 บาท ร้อยละ 8 อาชีพประกอบด้วย แม่บ้าน ร้อยละ 26.7 อื่น ๆ ร้อยละ 24.7 ค้าขาย/ธุรกิจส่วนตัว ร้อยละ 18.7 นักศึกษา ร้อยละ 16.7 ลูกจ้างหน่วยงานของรัฐ/เอกชน ร้อยละ 8 และ รับราชการ ร้อยละ 5.3

การสำรวจผู้บริโภคดำเนินการในพื้นที่จังหวัดตรัง โดยสุ่มผู้บริโภคจำนวน 150 คน จากพื้นที่ภายในอำเภอสิเกาและมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัยวิทยาเขตตรัง เพื่อศึกษาพฤติกรรมการบริโภคกุ้งส้มของประชาชนทั่วไป แสดงดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 พฤติกรรมการบริโภคกุ้งส้ม

ข้อมูล	จำนวน	ร้อยละ
1. ท่านบริโภคกุ้งส้มบ่อยแค่ไหน		
น้อยกว่า 2 ครั้ง/เดือน	116	77.3
2-3 ครั้ง/เดือน	34	22.7
มากกว่า 4-5 ครั้ง/เดือน		
อื่น ๆ		
2. ท่าเคยบริโภคกุ้งส้มในรูปแบบใดบ้าง		
ยำสด	69	46
ผสมลงในอาหารเพื่อปรุงสุก	70	46.7
หลนกุ้งส้ม	11	7.3
3. ปกติท่านซื้อกุ้งส้มด้วยตัวเองหรือไม่		
ซื้อเอง	54	36
ไม่ซื้อได้เอง	96	64
4, ปัจจัยสำคัญที่สุดที่ท่านตัดสินใจซื้อกุ้งส้ม		
ราคา	13	8.7
รสชาติ	9	6
คุณภาพ	26	17.3
คุณค่าทางอาหาร	6	4
ตราสินค้า (ยี่ห้อ)		
การโฆษณา		
ภาชนะบรรจุ	6	4

ตารางที่ 4 (ต่อ)

ข้อมูล	จำนวน	ร้อยละ
5. ปัญหาที่พบในการรับประทาน		
รสชาติเปรี้ยวน้อยเกินไป	14	9.3
รสชาติเปรี้ยวมากเกินไป	10	6.7
สินค้าคุณภาพไม่ดีมีราขึ้น	2	1.3
เก็บได้ไม่นาน	22	14.7
มีกลิ่นผิดปกติไปจากกุ้งส้มทั่วไป	7	4.7
อื่น ๆ	5	3.3

สำหรับข้อมูลเกี่ยวกับการสำรวจพฤติกรรมการบริโภคกุ้งส้มหมากพบว่า ผู้บริโภค บริโภคกุ้งส้มน้อยกว่าเดือนละ 2 ครั้ง (ร้อยละ 77.3) , เดือนละ 2 – 3 ครั้ง (ร้อยละ 22.7), มากกว่า โดยผู้บริโภคจะบริโภคกุ้งส้มในรูปแบบ ผสมลงไปในอาหารเพื่อปรุงสุก (ร้อยละ 46.7), ยำสด (ร้อยละ 46), หลนกุ้งส้ม (ร้อยละ 7.3) สำหรับการซื้อกุ้งส้มผู้บริโภคจะซื้อเอง (ร้อยละ 36) โดยส่วนใหญ่จะซื้อในรูปแบบบรรจุในถุง และนิยมซื้อกุ้งส้มในตลาดสด นอกจากนี้ที่ไม่ซื้อเอง (ร้อยละ 64) ในส่วนของปัจจัยที่สำคัญในการเลือกซื้อกุ้งส้มผู้บริโภคจะคำนึงถึงคุณภาพเป็น ลำดับแรก (ร้อยละ 17.3) รองลงมาคือ ราคา รสชาติ คุณค่าทางโภชนาการ และภาชนะบรรจุ (ร้อยละ 8.7 , 6 , 4 , 4 ตามลำดับ)

ปัญหาที่พบในการรับประทานกุ้งส้มส่วนใหญ่จะมีปัญหาเกี่ยวกับการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้ไม่นาน (ร้อยละ 14.7) รองลงมา คือ รสชาติเปรี้ยวน้อยเกินไปเกินไป (ร้อยละ 9.3) โดยอาจจะเกิดจากวิธีการหมักไม่เหมาะสม ทำให้กุ้งส้มรสชาติเปรี้ยวมากเกินไปหรือน้อยเกินไป

จากการศึกษาได้มีการปรับปรุงและพัฒนากุ้งส้มให้มีคุณภาพดีและสามารถเก็บได้นานกว่าในท้องตลาดโดยปกติแล้วกุ้งส้มที่ขายในท้องตลาดไม่ค่อยมีสะอาด มีสีเข้มเกินไป ดังนั้นในการพัฒนาผลิตภัณฑ์จึงควรใช้วัสดุ อุปกรณ์ที่สะอาดผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เนื่องจากอุปกรณ์ที่สะอาดผ่านการฆ่าเชื้อเบื้องต้นแล้วจะไม่มีสิ่งสกปรกปนเปื้อนทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้สะอาด ไม่เสื่อมเสียง่ายเนื่องจากสิ่งสกปรก จึงสามารถยืดอายุการเก็บรักษากุ้งส้มไว้ได้นานยิ่งขึ้น แสดงดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ผลิตภัณฑ์กุ้งส้ม

ข้อมูล	จำนวน	ร้อยละ
1. ถ้ามีการปรับปรุงและพัฒนากุ้งส้ม ให้มีคุณภาพดีและสามารถเก็บรักษาไว้ได้นานกว่าในท้องตลาดท่านจะซื้อหรือไม่		
ซื้อ	127	84.7
ไม่แน่ใจ	7	4.7
ไม่ซื้อ	16	10.7
2. เหตุผลที่ท่านเลือกซื้อ เพราะ		
สามารถเก็บรักษาได้นานกว่า	72	48
ปลอดภัยจากเชื้อจุลินทรีย์	54	36
อยากทดลองสินค้าตัวใหม่	54	36
3. เหตุผลที่ท่านไม่ซื้อ เพราะ		
ไม่แน่ใจในความปลอดภัย	12	8
เพราะว่ารสชาติไม่เหมือนเดิม มีกลิ่นเหม็นเปรี้ยว ๆ	2	1.3
สีมีความแตกต่างจากกุ้งส้มที่มีขายอยู่ตามท้องตลาด		
อื่น ๆ	3	2
4. ท่านเห็นว่าสถานที่ใดเหมาะสมที่สุดในการจำหน่ายผลิตภัณฑ์กุ้งส้ม		
ห้างสรรพสินค้า	8	5.3
ตลาดสด	105	70
ร้านค้าปลีก	37	24.7
อื่น ๆ		

ข้อมูลเกี่ยวกับการปรับปรุงและพัฒนากุ้งส้มให้มีคุณภาพดีและสามารถเก็บรักษาได้นานกว่าในท้องตลาดพบว่า ผู้บริโภคจะตัดสินใจซื้อกุ้งส้ม (ร้อยละ 84.7) เนื่องจากสามารถเก็บรักษาได้นานกว่าปกติ ปลอดภัยจากเชื้อจุลินทรีย์ และอยากทดลองสินค้าตัวใหม่ ผู้บริโภคตัดสินใจที่ไม่ซื้อกุ้งส้ม (ร้อยละ 10.7) เนื่องจาก ไม่แน่ใจในความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ มีกลิ่นเหม็นเปรี้ยว ๆ และอื่น ๆ สำหรับสถานที่ที่ผู้บริโภคสะดวกในการซื้อผลิตภัณฑ์กุ้งส้มคือ ตลาดสด (ร้อยละ 70) รองลงมาคือ ร้านค้าปลีก (ร้อยละ 24.7) การซื้อของผู้บริโภคในห้างสรรพสินค้ามีน้อยเพียงร้อยละ 5.3 เนื่องจากห้างสรรพสินค้าไม่ค่อยมีกุ้งส้มไปวางจำหน่าย

2. ผลการศึกษาการผลิตกุ้งส้มโดยวิธีดั้งเดิม

ตารางที่ 6 คะแนนเฉลี่ยการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กุ้งส้มที่ผลิตโดยวิธีดั้งเดิม

คุณลักษณะ	ปริมาณ (เกลือ/น้ำตาล) (ร้อยละ)								
	6.5:20	6.5:30	6.5:40	7.5:20	7.5:30	7.5:40	8.5:20	8.5:30	8.5:40
ลักษณะปรากฏ	4.3^{a}	7.2^{c}	4.8^{ab}	6.8^{c}	5.5^{b}	5.2^{ab}	4.7^{ab}	5.4^{b}	4.7^{ab}
สี	4.2^{a}	6.7^{d}	5.3^{bc}	6.1^{cd}	5.6^{bc}	5.2^{bc}	4.7^{ab}	5.5^{bc}	5.3^{bc}
กลิ่น	4.2^{ab}	6.9^{d}	4.8^{abc}	6.6^{d}	5.4^{c}	5.4^{c}	5.1^{bc}	5.3^{c}	4.1^{a}
รสชาติ	3.9^{a}	7.3^{e}	4.5^{abc}	6.0^{d}	5.1^{bcd}	5.1^{bcd}	4.5^{abc}	5.4^{cd}	4.2^{ab}
ลักษณะเนื้อสัมผัส	3.7^{a}	7.3^{d}	4.6^{abc}	5.6^{c}	5.4^{c}	4.8^{bc}	4.6^{abc}	5.3^{c}	4.1^{ab}
ความชอบรวม	4.2^{ab}	7.9^{e}	5.5^{c}	6.8^{d}	5.7^{c}	5.2^{c}	5.0^{bc}	5.7^{c}	3.8^{a}

หมายเหตุ : อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แสดงความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)

คะแนนการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กุ้งส้มที่ผลิตโดยวิธีดั้งเดิม โดยมี 9 สูตร ซึ่งใช้ปริมาณเกลือและน้ำตาลต่างกัน คือ สูตรที่ 1 ใช้เกลือ ร้อยละ 6.5 : น้ำตาล ร้อยละ 20, สูตรที่ 2 ใช้เกลือ ร้อยละ 6.5 : น้ำตาล ร้อยละ 30, สูตรที่ 3 ใช้เกลือ ร้อยละ 6.5 : น้ำตาล ร้อยละ 40, สูตรที่ 4 ใช้เกลือ ร้อยละ 7.5 : น้ำตาล ร้อยละ 20, สูตรที่ 5 ใช้เกลือ ร้อยละ 7.5 : น้ำตาล ร้อยละ 30, สูตรที่ 6 ใช้เกลือ ร้อยละ 7.5 : น้ำตาล ร้อยละ 40, สูตรที่ 7 ใช้เกลือ ร้อยละ 8.5 : น้ำตาล ร้อยละ 20, สูตรที่ 8 ใช้เกลือ ร้อยละ 8.5 : น้ำตาล ร้อยละ 30 และสูตรที่ 9 ใช้เกลือ ร้อยละ 8.5 : น้ำตาล ร้อยละ 40

เพื่อหาสูตรกุ้งส้มที่ดีที่สุดเพื่อให้ได้กุ้งส้มที่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค พบว่า ผู้บริโภคให้การยอมรับผลิตภัณฑ์กุ้งส้มในสูตรที่ 2 มากที่สุด โดยให้พบว่ากุ้งส้มที่ใช้ปริมาณเกลือร้อยละ 6.5 และน้ำตาลร้อยละ 30 มีลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ และลักษณะเนื้อสัมผัสดีที่สุด (ตารางที่ 6)

คุณลักษณะด้านลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์กุ้งส้มที่ผลิตโดยใช้สูตรทั้ง 9 สูตร มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

คุณลักษณะด้านสีของผลิตภัณฑ์กุ้งส้มที่ผลิตโดยใช้สูตรทั้ง 9 สูตร มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

คุณลักษณะด้านกลิ่นของผลิตภัณฑ์กุ้งส้มที่ผลิตโดยใช้สูตรทั้ง 9 สูตร มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

คุณลักษณะด้านรสชาติของผลิตภัณฑ์กุ้งส้มที่ผลิตโดยใช้สูตรทั้ง 9 สูตร มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

คุณลักษณะด้านเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์กุ้งส้มที่ผลิตโดยใช้สูตรทั้ง 9 สูตร มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

คุณลักษณะด้านความชอบรวมของผลิตภัณฑ์กุ้งส้มที่ผลิตโดยใช้สูตรทั้ง 9 สูตร มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

3. ผลการศึกษาการผลิตกุ้งส้มโดยใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์

ตารางที่ 7 คะแนนเฉลี่ยการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กุ้งส้มที่ผลิตโดยใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์

คุณลักษณะ	กล้าเชื้อบริสุทธิ์	
	Lactobacillus plantarum	*Pediococcus sp.*
ลักษณะปรากฏ	6.6[a]	5.4[a]
สี	7.6[a]	5.1[a]
กลิ่น	7.2[a]	5.7[a]
รสชาติ	7.8[a]	5.5[a]
ลักษณะเนื้อสัมผัส	7.0[a]	6.5[a]
ความชอบรวม	7.2[a]	6.0[a]

หมายเหตุ : อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แสดงความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)

คะแนนการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กุ้งส้มผลิตโดยใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ โดยเชื้อบริสุทธิ์ที่ใช้มี 2 ชนิด คือ *Lactobacillus plantarum* และ *Pediococcus sp.* เพื่อเปรียบเทียบกับสูตรดั้งเดิม และเพื่อหาเชื้อบริสุทธิ์ที่เหมาะสมที่สุดในการหมักกุ้งส้มเพื่อให้ได้กุ้งส้มที่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค พบว่า ผู้บริโภคให้การยอมรับผลิตภัณฑ์กุ้งส้มที่ใช้เชื้อ *Lactobacillus plantarum* มากที่สุด โดยให้พบว่า *Lactobacillus plantarum* เป็นเชื้อที่เหมาะสมในการใช้ในการหมักกุ้งส้มทำให้กุ้งส้ม มีลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ และลักษณะเนื้อสัมผัสดีที่สุด (ตารางที่ 7)

คุณลักษณะด้านลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์กุ้งส้มที่ผลิตโดยใช้เชื้อ *Lactobacillus plantarum* และ *Pediococcus sp.* ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$)

คุณลักษณะด้านสีของผลิตภัณฑ์กุ้งส้มที่ผลิตโดยใช้เชื้อ *Lactobacillus plantarum* และ *Pediococcus sp.* ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$)

คุณลักษณะด้านกลิ่นของผลิตภัณฑ์กุ้งส้มที่ผลิตโดยใช้เชื้อ *Lactobacillus plantarum* และ *Pediococcus sp.* ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$)

คุณลักษณะด้านรสชาติของผลิตภัณฑ์กุ้งส้มที่ผลิตโดยใช้เชื้อ *Lactobacillus plantarum* และ *Pediococcus sp.* ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (p>0.05)

คุณลักษณะด้านเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์กุ้งส้มที่ผลิตโดยใช้เชื้อ *Lactobacillus plantarum* และ *Pediococcus sp.* ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (p>0.05)

คุณลักษณะด้านความชอบรวมของผลิตภัณฑ์กุ้งส้มที่ผลิตโดยใช้เชื้อ *Lactobacillus plantarum* และ *Pediococcus sp.* ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (p>0.05)

4. ผลการศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของกุ้งส้มที่หมักได้ทั้ง 2 วิธี

ตารางที่ 8 ผลการวิเคราะห์ทางด้านเคมีและคุณค่าทางโภชนาการ

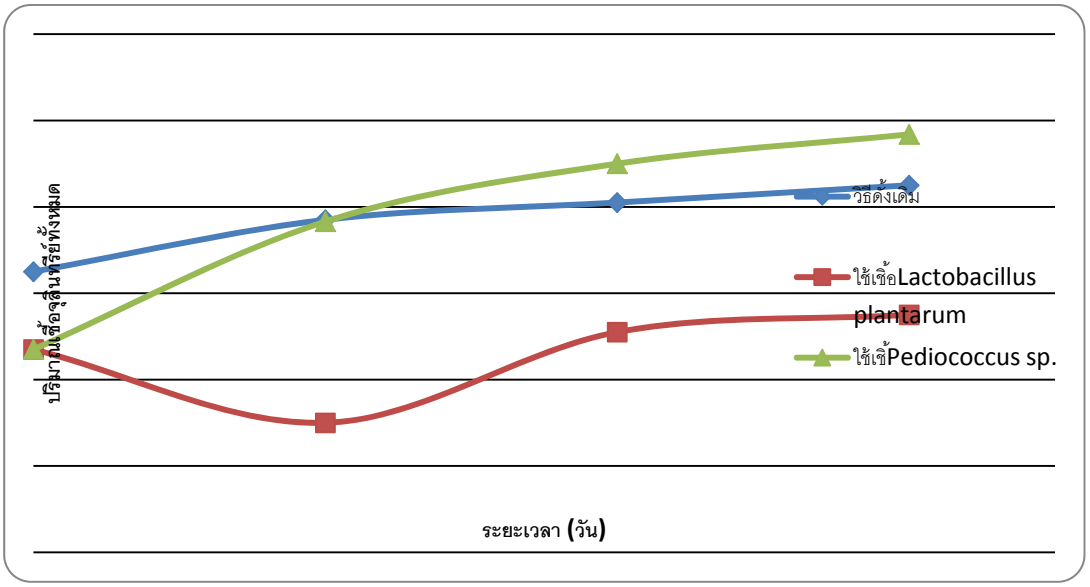
การวิเคราะห์ (ร้อยละ)	สูตร		
	วิธีดั้งเดิม	ใช้เชื้อ *Lactobacillus plantarum*	ใช้เชื้อ *Pediococcus sp.*
pH	3.84	3.81	3.79
ปริมาณเกลือ	3.53	3.74	3.12
ปริมาณกรดทั้งหมด	7.36	12.49	10.81
ความชื้น	75.46	81.08	78.45
เถ้า	2.94	6.08	5.42
ไขมัน	0.63	1.43	1.41

จากการวิเคราะห์ทางด้านเคมีของกุ้งส้มที่ผลิตโดยวิธีดั้งเดิมและใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ พบว่า กุ้งส้มที่ผลิตโดยวิธีดั้งเดิมมีค่า pH 3.84 อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของ มผช. 1032/2548 ซึ่งได้กำหนดไว้คือ ความเป็นกรด – ด่าง ต้องไม่เกิน 4.6 มีความเค็ม ร้อยละ 3.53 โดยมาตรฐาน มผช.1032/2548 ได้กำหนดปริมาณเกลือต้องไม่น้อยกว่าร้อยละ 3.5 โดยน้ำหนัก ปริมาณกรดแลกติก 14.87 ปริมาณความชื้นร้อยละ 75.46 กุ้งส้มที่ผลิตโดยใช้เชื้อ *Lactobacillus plantarum* มีค่า pH 3.81 โดยมาตรฐาน มผช.1032/2548 ได้กำหนดความเป็นกรดด่าง ต้องไม่เกิน 4.6 ความเค็มร้อยละ 3.74 โดยมาตรฐาน มผช.1032/2548 ได้กำหนดปริมาณเกลือต้องไม่น้อยกว่าร้อยละ 3.5 โดยน้ำหนัก ปริมาณกรดแลกติก 25.15 ปริมาณความชื้นร้อยละ 81.08 กุ้งส้มที่ผลิตโดยใช้เชื้อ *Pediococcus sp.* มีค่า pH 3.79 โดยมาตรฐาน มผช.1032/2548 ได้กำหนดความเป็นกรดด่าง ต้องไม่เกิน 4.6 ความเค็มร้อยละ 3.12 โดยมาตรฐาน มผช.1032/2548 ได้กำหนดปริมาณเกลือต้องไม่น้อยกว่าร้อยละ 3.5 โดยน้ำหนัก

ซึ่งกุ้งส้มที่ผลิตโดยใช้เชื้อ *Pediococcus sp.*มีความเค็มไม่อยู่ในมาตรฐานของ มผช.1032/2548 ปริมาณกรดแลกติก 21.75 ปริมาณความชื้นร้อยละ 78.45

จากการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของกุ้งส้มที่หมักได้ทั้ง 2 วิธี พบว่า กุ้งส้มที่ผลิตโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์มีปริมาณเถ้ามากกว่ากุ้งส้มที่ผลิตโดยวิธีดั้งเดิม กุ้งส้มที่ผลิตโดยวิธีดั้งเดิมมีปริมาณเถ้าร้อยละ 2.94 กุ้งส้มที่ผลิตโดยใช้ *Lactobacillus plantarum* มีปริมาณเถ้าร้อยละ 6.08 กุ้งส้มที่ผลิตโดยใช้เชื้อ *Pediococcus sp.* มีปริมาณเถ้าร้อยละ 5.42 และ กุ้งส้มที่ผลิตโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์มีปริมาณไขมันมากกว่ากุ้งส้มที่ผลิตโดยวิธีดั้งเดิม กุ้งส้มที่ผลิตโดยวิธีดั้งเดิมมีปริมาณไขมันร้อยละ 0.63 กุ้งส้มที่ผลิตโดยใช้เชื้อ *Lactobacillus plantarum* มีปริมาณไขมันร้อยละ 1.43 กุ้งส้มที่ผลิตโดยใช้เชื้อ *Pediococcus sp.* มีปริมาณไขมันร้อยละ 1.41

5. ผลการวิเคราะห์ทางด้านจุลินทรีย์



ภาพที่ 1 กราฟแสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดในกุ้งส้ม

จากการวิเคราะห์ทางด้านจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์กุ้งส้มที่ผลิตโดยวิธีดั้งเดิม และใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ พบว่า กุ้งส้มที่ผลิตโดยวิธีดั้งเดิมมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด 4.05×10^{8} CFU/g กุ้งส้มที่ผลิตโดยใช้เชื้อ *Lactobacillus plantarum* มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด 1.5×10^{8} CFU/g และกุ้งส้มที่ผลิตโดยใช้เชื้อ *Pediococcus sp.* มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด 3.85×10^{8} CFU/g ในระยะการบ่ม 24 ชั่วโมง ซึ่งปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดในกุ้งส้มไม่เกินเกณฑ์ตามมาตรฐาน มผช. 1032/2548 และ ปริมาณจุลินทรีย์จะเจริญเต็มที่ในระยะเวลา 48 ชั่วโมง

6. ผลการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กุ้งส้ม

ตารางที่ 9 ผลการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กุ้งส้มที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็นในระยะเวลา 14 วัน

สูตร	การเก็บรักษา	
	อุณหภูมิห้อง	อุณหภูมิตู้เย็น
วิธีดั้งเดิม	กุ้งส้มมีสีซีดเล็กน้อย น้ำมีสีขุ่นเล็กน้อย มีกลิ่นหอมเปรี้ยว มีรสชาติเปรี้ยว เค็ม หวาน	กุ้งส้มมีสีส้มสด ลักษณะตัวกุ้งเต่ง มีกลิ่นเปรี้ยวเล็กน้อย มีรสชาติเปรี้ยวน้อย
ใช้เชื้อ *Lactobacillus plantarum*	ตัวกุ้งมีสีคล้ำเล็กน้อย น้ำมีสีขุ่น มีกลิ่นหอมเปรี้ยว มีรสชาติเปรี้ยวกลมกล่อม	ตัวกุ้งมีสีคล้ำเล็กน้อย น้ำมีสีขุ่นข้น มีกลิ่นคาว มีรสชาติเปรี้ยวเล็กน้อย
ใช้เชื้อ *Pediococcus sp.*	ตัวกุ้งมีสีซีดเล็กน้อย น้ำมีสีขุ่น มีกลิ่นเปรี้ยว มีรสชาติเปรี้ยวกลมกล่อม	ตัวกุ้งมีสีส้มสด น้ำมีสีขุ่น มีกลิ่นฉุน รสชาติไม่เปรี้ยวออกคาว ๆ

จากการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กุ้งส้มที่อุณหภูมิห้อง และ อุณหภูมิตู้เย็น พบว่า กุ้งส้มที่เก็บที่อุณหภูมิตู้เย็นมีลักษณะภายนอกดีกว่ากุ้งส้มที่เก็บอุณหภูมิห้อง แต่กุ้งส้มที่เก็บไว้ในอุณหภูมิห้องมีกลิ่นและรสชาติดีกว่า และ กุ้งส้มที่ผลิตโดยวิธีดั้งเดิมมีคุณลักษณะที่ดีกว่ากุ้งส้มที่ผลิตโดยใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ใน ทั้ง 2 อุณหภูมิ

7. การยืดอายุของกุ้งส้ม โดยการใช้ความร้อน

7.1 ผลของอายุการเก็บรักษากุ้งส้ม (สูตรที่ได้รับการยอมรับจากผู้บริโภค)

โดยทดสอบการฆ่าเชื้อกุ้งส้มและบรรจุในภาชนะปิดที่เลือกใช้เช่นขวดแก้ว (หรือกระป๋อง หรืออย่างใดอย่างหนึ่ง)

เมื่อนำขวดแก้ว มาทำการฆ่าเชื้อ ที่อุณหภูมิควบคุม 100 องศาเซลเซียส ที่ 121 องศาเซลเซียส พบว่า กุ้งส้มมีลักษณะสีเข้มจากเดิม กลิ่นของกุ้งส้มที่ชวนรับประทาน มีกลิ่นเปรี้ยว

ของกรด มีกลิ่นหอมหวาน ลักษณะต่าง ๆ ยังคงเดิมไม่เปลี่ยนแปลงไปจากกุ้งส้มที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการความร้อน
ดังภาพที่ 2

ภาพที่ 2 กุ้งส้มที่ไม่ผ่านกระบวนการความร้อน และก้งส้มที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อน

นำกุ้งส้มที่ได้จากการฆ่าเชื้อแล้วนำมาทำการสุ่มเพื่อวิเคราะห์จุลินทรีย์ ขนาดบรรจุ 250 มิลลิลิตร

ตารางที่ 10 ผลของจุลินทรีย์ในกุ้งส้มที่ผ่านกระบวนการความร้อน

จุลินทรีย์	ผลการทดสอบ	มาตรฐานมผช 1032/2548
MPN *E. coli* ต่อกรัม	**น้อยกว่า 3**	**น้อยกว่า 10 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม**
***S. aureus* ต่อกรัม**	**น้อยกว่า 10**	**น้อยกว่า 100 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม**
***C. perfingens* ต่อกรัม**	**น้อยกว่า 10**	**ไม่พบ**
***Salmonella* spp. ต่อ 25 กรัม**	**ไม่พบ**	**ไม่พบ**

ผลการทดลองของกุ้งส้มที่บรรจุในขวดแก้วเมื่อวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์ ตามมาตรฐานมผช 1032/2548 พบว่า ผลิตภัณฑ์กุ้งส้มบรรจุในขวดแก้ว ไม่พบจุลินทรีย์ที่เกินมาตรฐาน

7.2 แบบสเตอร์ริไรเซชัน

ผลของอายุการเก็บรักษากุ้งส้ม (สูตรที่ได้รับการยอมรับจากผู้บริโภค) โดยทดสอบการฆ่าเชื้อกุ้งส้มบรรจุในภาชนะปิดที่เลือกใช้กระป๋อง

โดยนำกุ้งส้มที่ทำการหมักตามระยะเวลา 25 วัน นำกุ้งส้มนำกระป๋องขนาด 307 x 113 มาฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (retort) ที่อุณหภูมิควบคุม 100 องศาเซลเซียส ที่ 121 องศาเซลเซียสจนเชื้อจุลินทรีย์ลดลง 12 log cycle นำผลของอุณหภูมิในการฆ่าเชื้อและอุณหภูมิของอาหาร นำอุณหภูมิที่จุดร้อนช้ามาคำนวณ Fo ของกระบวนการเพื่อกำหนดเวลาและพารามิเตอร์ของการฆ่าเชื้อ พบว่า กุ้งส้มมีลักษณะสีเข้มจากเดิม กลิ่นของกุ้งส้มที่ชวนรับประทาน มีกลิ่นเปรี้ยวของกรด มีกลิ่นหอมหวาน ลักษณะต่าง ๆ ยังคงเดิมไม่เปลี่ยนแปลงไปจากกุ้งส้มที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการความร้อน ดังภาพที่ 3

ภาพที่ 3 กุ้งส้มบรรจุกระป๋อง

ตารางที่ 11 ผลการส่งผ่านความร้อนในผลิตภัณฑ์กุ้งส้มบรรจุกระป๋อง

ผลิตภัณฑ์	กุ้งส้มบรรจุกระป๋อง
ขนาดกระป๋อง	307 x 113
จำนวนกระป๋อง	12
รูปแบบการจัดเรียง	จัดเรียงแบบใช้ตาข่ายพลาสติกกั้นระหว่างชั้น
น้ำหนักเนื้อ (กรัม)	170
น้ำหนักสุทธิ (กรัม)	189
อุณหภูมิ/เวลาฆ่าเชื้อ	121 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 15 นาที
ความเป็นกรด-ด่าง	3.8
อุณหภูมิเริ่มต้นของผลิตภัณฑ์ (C)	32.2
เวลาที่ใช้ในการไล่อากาศ (Come-up-time) (นาที)	5
ปัจจัยทางความร้อนที่ใช้ในการคำนวณ F0	
(Heating parameter)	
fh	
F2	13.3
j	-
Xbh	0.833
Lethality (Fo)	-
	41.5 (F)

เมื่อนำทดสอบทางการฆ่าเชื้อ Sterility Test ไม่พบการเจริญของเชื้อ ดังตารางที่ 12

ตารางที่ 12 ผลการทดสอบทางการฆ่าเชื้อ (Sterility Test)

ชื่อตัวอย่าง	รายการทดสอบ	วิธีทดสอบ	ผลการทดสอบ (หน่วย)
กุ้งส้มบรรจุกระป๋อง			
	Aerobe จากการบ่ม 35 °C	BAM 2001	Negative
	Anaerobe จากการบ่ม 35 °C	BAM 2001	Negative
	Aerobe จากการบ่ม 55 °C	BAM 2001	Negative
	Anaerobe จากการบ่ม 55 °C	BAM 2001	Negative

ได้นำกุ้งส้มที่ผ่านการบรรจุกระป๋องนำมาทดสอบชิม พบว่า ผลการทดสอบชิมทางด้านประสาทสัมผัส ซึ่งจากนั้นนำมาทำการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสโดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 30 คนที่ได้รับการฝึกฝนมาแล้ว เป็นจำนวน 3 ครั้ง จากระยะเวลาการดอง 25 วัน และสุ่มตัวอย่างมาทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสในทุก ๆ สองเดือน โดยเปรียบเทียบเทียบการเก็บรักษาระหว่างอุณหภูมิ 32±2 องศาเซลเซียส พบว่า ผู้บริโภคให้การยอมรับ ผลิตภัณฑ์กุ้งส้มบรรจุกระป๋อง

ตารางที่ 13 ผลการชิมกุ้งส้มที่ผ่านกระบวนการสเตอริไรเซชัน

สภาวะการเก็บรักษา	ระยะเวลาเก็บรักษา (เดือน)	คุณลักษณะ					
		ลักษณะปรากฏ	สี	กลิ่น	รสชาติ	เนื้อสัมผัส	ความชอบรวม
อุณหภูมิห้อง	1	7.00±0.77	6.72±1.00	7.00±0.89	6.82±1.08	6.55±0.68	7.27±0.64
	3	7.30±0.83	7.10±1.22	7.53±0.40	7.77±0.54	7.33±0.81	7.50±0.54
	6	7.08±0.98	7.59±0.83	7.71±0.70	7.09±1.51	7.29±0.44	7.18±1.16

ผลการทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส

ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับ มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน กุ้งส้มดองเค็มที่ 1032/2548 และเมื่อไปวิเคราะห์โลหะหนัก ได้แก่ ตะกั่ว สารหนู ปรอท และ แคดเมียม น้อยกว่ามาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนกุ้งส้มที่ 1032/2548 เช่นเดียวกัน และเมื่อเก็บรักษาไว้นานประมาณ 6 เดือน เมื่อนำมาตรวจวิเคราะห์คุณสมบัติทางด้านจุลินทรีย์ได้แก่ Coliforms, *S. aureus* , *Salmonells* spp และ *V. parphaemolyticus* ผลการวิเคราะห์ไม่เกินมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน กุ้งส้มที่ 1032/2548 เช่นเดียวกัน (ดังตารางที่ 13)

ตารางที่ 14 ผลการทดสอบทางการฆ่าเชื้อ (Sterility Test)

ชื่อตัวอย่าง	**รายการทดสอบ**	**วิธีทดสอบ**	**ผลการทดสอบ (หน่วย)**
ปูดองบรรจุกระป๋อง			
Vac (inHg) = 0.78	Aerobe จากการบ่ม 35 °C	BAM 2001	Negative
HS (mm) = 26	Anaerobe จากการบ่ม 35 °C	BAM 2001	Negative
pH 6.81	Aerobe จากการบ่ม 55 °C	BAM 2001	Negative
	Anaerobe จากการบ่ม 55 °C	BAM 2001	Negative

ผลการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์

เมื่อนำกุ้งส้มบรรจุกระป๋องมาตรวจวิเคราะห์การทดสอบการฆ่าเชื้อ ได้แก่ เชื้อที่ต้องการอากาศและไม่ต้องการอากาศ โดยนำผลิตภัณฑ์กุ้งส้มไปบ่มที่ อุณหภูมิที่ 35 และ55 องศาเซลเซียส ได้ผลการตรวจวิเคราะห์ในเรื่องการฆ่าเชื้อ ผลปรากฏพบว่า นำชุดการทดลองดังกล่าว เมื่อมีการสุ่มตรวจผลการวิเคราะห์เชื้อได้แก่ Coliforms, *S. aureus* , *Salmonells* spp และ *V. parphaemolyticus* (ดังตารางที่ 10) ไม่เกินมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน กุ้งส้มที่ 1032/2549

ตารางที่ 15 ผลการวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์ทุก ๆ เดือนจนครบ 6 เดือน

เชื้อจุลินทรีย์	ผลการทดสอบเดือนที่ 1	ผลการทดสอบเดือนที่ 3	ผลการทดสอบเดือนที่ 6	มาตรฐานกำหนด
MPN Coliforms ต่อ กรัม	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	น้อยกว่า 20
S. aureus ต่อกรัม	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	น้อยกว่า 100
Salmonells spp. ต่อ 25 กรัม	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
V. parphaemolyticus ต่อกรัม	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	น้อยกว่า 100

ผลการวิเคราะห์ทางเคมี

เมื่อไปผลิตภัณฑ์ปูดองเค็มวิเคราะห์โลหะหนัก ได้แก่ ตะกั่ว สารหนู ปรอท และแคดเมียม สุ่มตรวจทุกเดือน ๆ ผลการวิเคราะห์ที่ได้พบว่า น้อยกว่ามาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนกุ้งส้มที่ 1032/2548 จากผลการวิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์กุ้งส้มมีองค์ประกอบทางเคมี คือ ปริมาณเถ้า ปริมาณความชื้น ปริมาณไขมัน และปริมาณโปรตีน เท่ากับร้อยละ 2.52, 5.21, 2.36 และ 45.81 (ตารางที่ 17) ซึ่งอยู่ในช่วงปริมาณร้อยละตามมาตรฐาน มผช. ๑๓๓๔/๒๕๔๙ หลังจากนี้นำไปทดสอบทางประสาทสัมผัสต่อไป

ตารางที่ 16 ผลการวิเคราะห์ เถ้า ความชื้น ไขมัน และ โปรตีน

องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณ (ร้อยละ)
เถ้า	2.03
ความชื้น	78.96
ไขมัน	1.47
โปรตีน	23.06

ตารางที่ 17 ผลการชิมปูดองเค็มที่ผ่านกระบวนการสเตอริไรเซชัน

สภาวะการเก็บรักษา	**ระยะเวลาเก็บรักษา (เดือน)**	**คุณลักษณะ**					
		ลักษณะปรากฏ	**สี**	**กลิ่น**	**รสชาติ**	**เนื้อสัมผัส**	**ความชอบรวม**
อุณหภูมิห้อง	1	$7.11^{a}\pm0.11$	$7.21^{a}\pm.23$	$7.45^{a}\pm0.42$	$7.03^{a}\pm0.8$	$7.35^{a}\pm0.78$	$8.27^{ab}\pm0.7$
	3	$7.16^{a}\pm0.83$	$7.50^{a}\pm0.20$	$7.83^{a}\pm0.4$	$7.16^{a}\pm0.5$	$7.23^{a}\pm0.8$	$8.65^{ab}\pm0.32$
	6	$7.88^{a}\pm0.98$	$7.39^{a}\pm0.31$	$7.68^{a}1\pm0.7$	$7.59^{a}\pm1.5$	$7.97^{a}\pm0.4$	$8.38^{a}\pm0.83$

<u>หมายเหตุ</u>

อักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

ผลการทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส

ได้นำกุ้งส้มที่ผ่านการบรรจุกระป๋องนำมาทดสอบประสาทสัมผัส พบว่า กุ้งส้มที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยสเตอริไรเซชัน มีคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสประสาทสัมผัสในด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส แลความชอบรวม มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($P<0.05$) กับกุ้งส้มที่ไม่ได้ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยสเตอริไรเซชัน

สรุปผลการทดลอง

1. จากการศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อกุ้งส้ม โดยการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคโดยใช้ Central Location Test โดยกลุ่มผู้ทดสอบคือ ประชาชนทั่วไปในอำเภอสิเกาและมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัยวิทยาเขตตรัง พบว่า โดยส่วนมากผู้บริโภคจะรับประทานกุ้งส้มแบบผสมลงไปในอาหารเพื่อปรุงสุก และยำสด

2. จากการศึกษาการผลิตกุ้งส้มโดยวิธีดั้งเดิมโดยใช้สูตรทั้ง 9 สูตร พบว่า สูตรที่ 2 เกลือ : น้ำตาล (ร้อยละ 6.5 : ร้อยละ30) ผู้บริโภคให้การยอมรับมากที่สุด รองลงมา คือ สูตรที่ 4 เกลือ : น้ำตาล (ร้อยละ 7.5 : ร้อยละ 20) โดยผู้บริโภคจะพิจารณา ลักษณะปรากฏ สี กลิ่น และรสชาติ

3. จากการศึกษาการผลิตกุ้งส้มโดยใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ ซึ่งเชื้อบริสุทธิ์ที่ใช้มี 2 ชนิด คือ *Lactobacillus plantarum* และ *Pediococcus sp.* พบว่ากุ้งส้มที่ผลิตโดยใช้เชื้อ *Lactobacillus plantarum* มีลักษณะปรากฏ สี กลิ่น และรสชาติ ที่ดีกว่ากุ้งส้มที่ผลิตโดยใช้เชื้อ *Pediococcus sp.* และกุ้งส้มที่ผลิตโดยใช้เชื้อ *Lactobacillus plantarum* เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคมากที่สุด

4. จากการศึกษาคุณภาพทางเคมีของผลิตภัณฑ์กุ้งส้มที่ผลิต พบว่า กุ้งส้มที่ผลิตโดยวิธีดั้งเดิมมี pH ปริมาณเกลือ ปริมาณกรดทั้งหมด และ ความชื้น (ร้อยละ) มีค่าเท่ากับ 3.84, 3.53, 7.36 และ 75.46 ตามลำดับ และกุ้งส้มที่ผลิตโดยใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ *Lactobacillus plantarum* มี pH ปริมาณเกลือ ปริมาณกรดทั้งหมด และ ความชื้น (ร้อยละ) มีค่าเท่ากับ 3.81, 3.74, 12.49 และ 81.08 ตามลำดับ

5. จากการศึกษาคุณค่าทางโภชนาของผลิตภัณฑ์กุ้งส้มที่ผลิตโดยทั้ง 2 วิธี พบว่า กุ้งส้มที่ผลิตโดยวิธีดั้งเดิมมีปริมาณเถ้า ร้อยละ 2.94 และไขมัน ร้อยละ0.63 กุ้งส้มที่ผลิตโดยใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ *Lactobacillus plantarum* มีปริมาณเถ้า ร้อยละ 6.08 และไขมัน ร้อยละ1.43 แสดงให้เห็นว่าเมื่อใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ในการผลิตกุ้งส้ม คุณค่าทางโภชนาการของกุ้งส้มจะเพิ่มขึ้น

6. จากการตรวจเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดในกุ้งส้มที่ผลิตโดยวิธีดั้งเดิม และใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ พบว่า กุ้งส้มที่ผลิตโดยวิธีดั้งเดิมมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด 4.05×10^8 CFU/g กุ้งส้มที่ผลิตโดยใช้เชื้อ *Lactobacillus plantarum* มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด 1.5×10^8 CFU/g และกุ้งส้มที่ผลิตโดย

ใช้เชื้อ *Pediococcus sp*. มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด 4.5×10^8 CFU/g ซึ่งปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดในกุ้งส้มไม่เกินเกณฑ์ตามมาตรฐาน มผช. 1032/2548

7. จากการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กุ้งส้มที่อุณหภูมิห้อง และ อุณหภูมิตู้เย็น พบว่า กุ้งส้มที่เก็บที่อุณภูมิตู้เย็นมีลักษณะภายนอกดีกว่ากุ้งส้มที่เก็บอุณหภูมิห้อง แต่กุ้งส้มที่เก็บไว้ในอุณหภูมิห้องมีกลิ่นและรสชาติดี และ กุ้งส้มที่ผลิตโดยวิธีดั้งเดิมมีคุณลักษณะที่ดีกว่ากุ้งส้มที่ผลิตโดยใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ใน ทั้ง 2 อุณหภูมิ

8. กุ้งส้มเมื่อนำมาผ่านกระบวนการความร้อนโดยบรรจุในภาชนะขวดแก้วและบรรจุกระป๋อง พบว่า เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางด้านจุลิทรีย์ ทางเคมี และทางกายภาพ อยู่ในจากเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนกุ้งส้ม 1032/2546 และ เมื่อนำมาทดสอบประสาทสัมผัสตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนกุ้งส้ม 1032/ 2546 เป็นที่ยอมรับโดยส่วนใหญ่ของผู้บริโภค

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาในเรื่องการผลิตกล้าเชื้อเพื่อการหมักกุ้งส้มในรูปแบบที่เหมาะสม
2. ในการทำกุ้งส้มให้มีสีเข้มขึ้น อาจมีการเติมสารในกลุ่มสารสี (แอตต้าแซนทีน)

เอกสารอ้างอิง

กล้ารณรงค์ ศรีรอด. 2521. **เกลือ : คุณสมบัติและการใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร**. ภาควิชาวิทยาศาสตร์. คณะเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร. 102 น.

ชมภู่ ยิ้มโต. 2550. **การถนอมอาหาร.** พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ. 206 น.

ฐิติมน ศิริวัฒน์. 2553. ศึกษาการยับยั้งจุลินทรีย์ในปูแสมดองเค็มโดยใช้สารสกัดหยาบจากต้นยอป่า. ปัญหาพิเศษปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาอุตสาหกรรมประมง

ทองคำ คิมหะมานนท์. 2538. การเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ในระหว่างการผลิตปลาหมัก. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

นรภัทร หวันเหล็ม. 2551. การคัดเลือกโปรไบโอติกแบคทีเรียแลคติกจากกุ้งส้มและการผลิตกุ้งส้มจากสายพันธุ์ที่คัดเลือกได้. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

นิสิต วัฒนศักดิ์ภูบาล ศิริพร เรียบร้อย สุทธวัฒน์ เบญจกุล และ ศุภศิลป์ มณีรัตน์. 2553. การคัดเลือกแบคทีเรียแลกติกที่ผลิตแบคเทอริโอซินจากกุ้งส้ม. **รายงานการประชุมทางวิชาการในครั้งที่ 48**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 70 น.

พิภพ อุดมรัตน์. 2507. ผลการใช้เกลือสมุทรและเกลือสินเธาว์ในการทำปลาเค็ม. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พงษ์เทพ วิไวพันธ์. 2546. คุณสมบัติของแบคทีเรียแลคติกในอุตสาหกรรมอาหาร. **วารสารอาหาร.** 33(3) : 173-180 น.

พรพล รมย์นุกูล. 2545. **การถนอมอาหาร.** พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์ โอ.เอส พริ้นติ้ง เฮ้าส์, กรุงเทพฯ. 232 น.

พันธ์ณรงค์ จันแสงสี และ ปราณี อ่านเปรื่อง. 2537. การตรึงรูปร่วมกันของเซลล์จุลินทรีย์สำหรับทดลองผลิตซีอิ๊ว:ตอนที่ 1: ภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตรึงรูปร่มกันของเซลล์จุลินทรีย์ในเจลแคลเซียมอัลจิเนต. **วิทยาสารธรรมศาสตร์**. 3(1): 42-50.

ไพบูลย์ ธรรมรัตน์วาสิก. 2532. **การแปรรูปอาหาร**. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ. 90 น.

วราวุฒิ ครูส่ง. 2538. **จุลชีววิทยาในกระบวนการแปรรูป.** พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์โอ.เอส.พริ้นติ้งเฮ้าส์, กรุงเทพฯ. 285 น.

วิลาวัลย์ เจริญจิระตระกลู. 2543. ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแลกติกที่แยกจากอาหารหมักพื้นบ้านภาคใต้ของไทย. **วารสารสงขลานครินทร์.** 22(2) : 177-189.

วิลาวัลย์ เจริญจิระตระกูล และ อุบลวรรณ รอดประดิษฐ์. 2540. การแยกเชื้อ คัดเชื้อและเทียบเคียงชนิดแบคทีเรียแลกติกจากอาหารหมัก. **วารสารสงขลานครินทร์.** 19(2) : 181-198.

วัฒนา ประทุมสิทธิ์. 2522. **การหมักดองในตำราวิชาการถนอมอาหาร.** ภาควิชาคหกรรมศาสตร์ คณะศึกษาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา 216 น.

ศิริลักษณ์ สินธวาลัย. 2525**. หลักการถนอมอาหารและการควบคุมคุณภาพอาหาร.** พิมพ์ครั้งที่ 3 สำนักพิมพ์ โอ.เอสพริ้นติ้งเฮ้าส์, กรุงเทพฯ. 247 น.

สมพร ตั้นสกุล. 2538. การเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์. **วารสารวิทยาศาสตร์.** 43(96) : 172-178.

สมเพียร จิรชัย. 2542**. หลักการแปรรูปและการถนอมอาหาร.** ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 232 น.

สุพรรณี เทพอรุณรัตน์. 2550. อาหารหมัก. **วารสารวิทยาศาสตร์.** 55(175) : 22-26

อรุณวรรณ หวังกอบเกียรติ. 2516. การศึกษาแบคทีเรียที่มีบทบาทสำคัญในระหว่างการหมักกุ้งส้ม. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Ammor, Tauveron., S, Dofour., G, E. and I., Chevallier. 2006. Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolatrd from the same meat small-scale facility **Food Control.** 17 : 454 - 461.

AOAC., 2000. **The Association of Official Analytical Chemists. 17th ed.** Verginia Arlington, USA : Tha Association of Official Analytical Chemists, Inc

Bacus, J. 1984. **Utilization of Microorganisium in Meat Processing.** Research Press, Ltd, England. 105-115.

Gibbs, P.A. 1987. Novel used for lactic acid fermentation in food preservation**. J. Appl. Bacteriol.** 51-58.

Holzapfel, W. H. 2002. Appropriate starter culture technologies for small-scale fermentation in developing countries. Int. **J. Food Microbiol.** 75 : 197-212.

Rodringo D., A Martinez., F, Harte., Barbosa- G, Canoves. and M, Rodrigo. 2001. Study of Inactivation of Lactobacillus plantarum in Orange-carrot Juice Means of Pulsed Electric Fields : Comparison of Inactivation Kinetic Models **Jornal of Food Protection**. 64(2) : 259-263.