เอกสารประกอบการสอน

วิชา 305411

เทคโนโลยีอาหารหมักดอง

(Food Fermentation Technology)

เรียบเรียงโดย

ผศ.ดร.ปิยะวรรณ กาสลัก

สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร

สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

คำนำ

เอกสารประกอบการสอนเล่มนี้ได้เรียบเรียงขึ้น เพื่อใช้ในการประกอบการเรียนการสอนในรายวิชา 315411 เทคโนโลยีการหมักดองอาหาร สำหรับนักศึกษาปริญญาตรีสาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร ซึ่งจำเป็นจะต้องมีความรู้พื้นฐานทางด้านจุลชีววิทยาอาหาร ขอบเขตของเนื้อหาได้เน้นถึงวิวัฒนาการของเทคโนโลยีการหมักดองอาหารในอุตสาหกรรม คุณสมบัติของกล้าเชื้อ การใช้กล้าเชื้อในการผลิตอาหารหมักประเภทต่างๆ รวมถึงผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่ผ่านกระบวนการหมัก การควบคุมคุณภาพและความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์อาหารหมัก

ผู้เขียนหวังเป็นอย่างยิ่งว่า เอกสารประกอบการสอนฉบับนี้จะเป็นประโยชน์ต่อนักศึกษาที่มีความสนใจงานทางด้านการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารหมักไม่มากก็น้อย หากมีบกพร่องเกี่ยวข้องกับเนื้อหาประการใด ผู้เขียนขอน้อมรับไว้ เพื่อการปรับปรุงในครั้งต่อไป

ผศ.ดร.ปิยะวรรณ กาสลัก

เมษายน 2552

สารบัญ

บทที่		หน้า
1	**บทนำ**	1
	ความหมายของอาหารหมัก	1
	ประวัติและวิวัฒนาการของจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม	2
	การจำแนกชนิดของอาหารหมัก	9
	ประโยชน์ของอาหารหมัก	14
2	**กล้าเชื้อในอาหารหมัก**	17
	กล้าเชื้อแบคทีเรีย	19
	กล้าเชื้อยีสต์	24
	กล้าเชื้อรา	26
3	**จุลินทรีย์ในอาหารหมัก**	29
	แบคทีเรียที่มีความสำคัญในอาหารหมัก	29
	ยีสต์ที่มีความสำคัญในอาหารหมัก	46
	เชื้อราที่มีความสำคัญในอาหารหมัก	47
	เอนไซม์ที่มีความสำคัญในอาหารหมัก	48
4	**ผลิตภัณฑ์หมักจากเนื้อสัตว์**	51
	กล้าเชื้อสำหรับผลิตภัณฑ์หมักเนื้อสัตว์	51
	ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมัก	53
	ผลิตภัณฑ์แหนม	58
5	**ผลิตภัณฑ์ปลาหมัก**	62
	ชนิดของผลิตภัณฑ์ปลาหมัก	62
	การผลิตน้ำปลา	63
	การผลิตบูดู	67
	การผลิตไตปลา	69
	การผลิตกะปิ	69
	การผลิตปลาร้า	70
6	**ผลิตภัณฑ์หมักจากผักและผลไม้**	72
	การหมักกะหล่ำปลี	75
	การหมักกิมจิ	79

บทที่		หน้า
6	**ผลิตภัณฑ์หมักจากผักและผลไม้ (ต่อ)**	
	การหมัก Pickle	80
	การหมักมะกอกดอง	83
7	**ผลิตภัณฑ์หมักจากธัญพืช**	86
	การหมักขนมปัง	86
	การหมักซีอิ้ว	94
8	**ผลิตภัณฑ์นมหมัก**	99
	นมหมักจากบัตเตอร์มิลล์	100
	Sour cream	103
	นมหมักของชาวบัลแกเรีย	104
	ยาคูลท์	104
	โยเกิร์ต	105
	คีเฟอร์	108
	เนยแข็ง	111
9	**การผลิตกรดอินทรีย์โดยกระบวนการหมักจากจุลินทรีย์**	116
	การผลิตกรดซิตริก	116
	การผลิตกรดอะซิติก	124
	การผลิตกรดแลคติก	130
	การผลิตเอทธานอล	133
	อุตสาหกรรมการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ ได้แก่ เบียร์ ไวน์ สุรากลั่นและสาเก	134
10	**อาหารหมักพื้นเมือง**	143
	การผลิตเต้าเจี้ยว	143
	การผลิตนัตโตะ	145
	การผลิตถั่วเน่า	146
	การผลิตเทมเป้	148
	การผลิตข้าวหมาก	149
	การผลิตสาโท	150
	การผลิตอุ	154

บทที่		หน้า
11	**ความปลอดภัยของอาหารหมัก**	155
	การควบคุมการแปรรูปอาหารด้วยวิธีหมัก	155
	การควบคุมอันตรายจากเชื้อแบคทีเรีย	160
	การควบคุมอันตรายจากปรสิต	166
	แบคทีเรียโพรไบโอติก	168
	แบคทีเรียพรีไบโอติก	168
เอกสารอ้างอิง		170

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1.1	ตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารหมัก	7
1.2	ผลิตภัณฑ์อาหารหมักชนิดต่างๆ	10
1.3	ตัวอย่างของสารเมแทบอไลท์ปฐมภูมิที่มีความสำคัญทางการค้า	12
1.4	ตัวอย่างของสารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิที่มีความสำคัญทางการค้า	12
1.5	ประโยชน์ของอาหารหมัก	16
2.1	นิยามของกล้าเชื้อ	17
2.2	กล้าเชื้อแบคทีเรียที่นำมาใช้ในอาหารหมัก	18
2.3	ชนิดของกล้าเชื้อ	20
2.4	กล้าเชื้อ Lactic Acid Bacteria จาก Taxonomic Revisions	20
2.5	กล้าเชื้อ Lactic Acid Bacteria ที่พบโดยทั่วไป	21
2.6	ตัวอย่างชนิดของกล้าเชื้อประเภท mesophilic ที่เติมในผลิตภัณฑ์	22
2.7	ตัวอย่างของกล้าเชื้อ LAB ที่เกิดจากการหมักโดยธรรมชาติ	23
2.8	ตัวอย่างของกล้าเชื้อจุลินทรีย์ที่เติมในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก	24
2.9	ตัวอย่างของกล้าเชื้อยีสต์ที่นำมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารหมัก	25
2.10	ตัวอย่างของกล้าเชื้อราที่นำมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารหมัก	26
3.1	สันฐานวิทยาและคุณลักษณะทางสรีรวิทยาของแบคทีเรียกรดแลคติก	32
3.2	คุณลักษณะของแบคทีเรีย *Leuconostoc* และ *Oenococcus*	36
3.3	คุณลักษณะของแบคทีเรีย *Pediococcus*	37
3.4	ลักษณะการหมักของแบคทีเรีย *Lactobacillus*	40
3.5	ลักษณะเด่นของ species *Saccharomyces*	47
3.6	การใช้เอนไซม์ในอุตสาหกรรม	49
4.1	ตัวอย่างของผลิตภัณฑ์เนื้อหมักและไส้กรอกหมัก	51
4.2	คุณสมบัติของกล้าเชื้อที่นำมาผลิตเนื้อหมัก	52
4.3	คุณสมบัติที่ต้องการของกล้าเชื้อที่นำมาหมักเนื้อ	52
5.1	ชนิดของน้ำปลาและกะปิในประเทศแถบเอเชีย	62
6.1	ตัวอย่างอาหารหมักที่ได้จากผักและผลไม้ ของทวีปต่างๆ ทั่วโลก	72
6.2	องค์ประกอบของกะหล่ำปลี แตงกวาและมะกอก	74
6.3	ตัวอย่างของจุลินทรีย์ตามธรรมชาติ (microflora) ที่พบในผัก	74
6.4	กลุ่มแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีความเกี่ยวข้องกับการหมักผัก	75

สารบัญตาราง (ต่อ)

		หน้า
ตารางที่ 6.5	จุลินทรีย์ที่มีผลต่อการเสื่อมเสียของการหมักผัก	79
7.1	ชนิดของแป้งสาลีและการนำไปใช้ประโยชน์	87
7.2	คุณสมบัติทางด้านกายภาพและเคมีของอะไมโลสและอะไมโลเพกติน	88
7.3	คุณสมบัติที่ต้องการของ bakers' yeast	88
7.4	จุลินทรีย์ที่แยกได้จาก sourdough	93
7.5	จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียของขนมปัง	93
7.6	ชนิดของซีอิ้ว	94
7.7	จุลินทรีย์ที่มีความสำคัญในซีอิ้ว	98
8.1	จุลินทรีย์ที่นำมาใช้เป็นกล้าเชื้อสำหรับผลิตภัณฑ์นมหมัก	99
8.2	กล้าเชื้อสำหรับผลิตภัณฑ์นมที่ได้รับความนิยมจากทั่วโลก	110
8.3	คุณสมบัติของเนยแข็งชนิดต่างๆ	113
8.4	แหล่งขององค์ประกอบรสชาติ (flavor) ที่พบในเนยแข็ง	115
9.1	ตัวอย่างการควบคุมพารามิเตอร์ต่างๆ ในกระบวนการหมักกรดซิตริกในอุตสาหกรรม	117
9.2	ส่วนประกอบของอาหารเหลวสำหรับกระบวนการหมักกรดซิตริกแบบ surface culture	121
9.3	Species ของ *Acetobacter* และ *Gluconoacetobacter* ที่แยกได้จากน้ำส้มสายชู	125
9.4	คุณสมบัติทาง biochemical และ physiological ของ species แบคทีเรียกรดอะซิติก	125
9.5	สารอาหารที่จำเป็นสำหรับกระบวนการหมักกรดอะซิติก	127
10.1	ประเภทและคุณสมบัติแตกต่างกันของเต้าเจี้ยว	143
10.2	องค์ประกอบของถั่วเหลืองและเทมเป้	148
11.1	ชนิดของอาหารหมักและวัตถุดิบที่ใช้ในการหมัก	158
11.2	ตัวอย่างอันตรายที่มีผลต่อความปลอดภัยของผู้บริโภค	159
11.3	ประเภทของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ที่พบในอาหารหมัก	159
11.4	ตัวอย่างของกระบวนการแปรรูปอาหารหมัก	160
11.5	สภาวะการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค	161
11.6	วัตถุดิบที่มีความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์	166
11.7	แหล่งกำเนิดของปรสิตหนอนพยาธิ Food-Borne helminth	167

สารบัญรูปภาพ

			หน้า
รูปที่	1.1	วิวัฒนาการของอาหารหมักและการถนอมอาหาร	2
	2.1	การใช้ประโยชน์จากแบคทีเรียกรดแลคติกในการผลิตอาหารหมักชนิดต่างๆ	20
	3.1	Phylogenetic tree ของสิ่งมีชีวิต โดยอาศัยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16S rRNA	30
	3.2	Phylogeny ของแบคทีเรียกรดแลคติกและแบคทีเรียแกรมบวกต่างๆ โดยอาศัยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16S rRNA	32
	3.3	Phylogeny ของ *Lactococcus* โดยอาศัยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16S rRNA	33
	3.4	Phylogeny ของ *Leuconostoc* โดยอาศัยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16S rRNA	35
	3.5	Phylogeny ของ *Pediococcus* โดยอาศัยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16S rRNA	37
	3.6	Phylogeny ของ *Lactobacillus* บาง species โดยอาศัยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16S rRNA	39
	3.7	Phylogeny ของ *Bifidobacterium* โดยอาศัยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16S rRNA	43
	3.8	Phylogeny ของ *Brevibacterium* โดยอาศัยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16S rRNA	45
	3.9	ลักษณะของเชื้อราที่นำมาใช้ในอาหารหมัก แสดงโครงสร้างสปอร์ของ (A) *penicillium* (B) *Aspergillus* และ (C) *Rhizopus*	48
	4.1	ขั้นตอนการผลิตไส้กรอกหมัก	58
	5.1	กระบวนการผลิตน้ำปลา	64
	6.1	ขั้นตอนการหมักกะหล่ำปลี	75
	6.2	การหมักแบบต่อเนื่องกันโดยแบคทีเรียกรดแลคติกในระหว่างการหมักกะหล่ำปลี	76
	6.3	กระบวนการเกิดแมนนิทอลด้วย *Leuconostoc* โดยปฏิกิริยาการเมทาโบไลท์กลูโคสและฟรุกโตสใน heterofermentative pathway	78
	6.4	ขั้นตอนการผลิตกิมจิ	80
	6.5	ขั้นตอนการผลิต pickles โดยไม่ผ่านกระบวนการหมักดอง	81

สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

			หน้า
รูปที่	6.6	ขั้นตอนการผลิตผักดอง	82
	6.7	โครงสร้างของ oleuropein ที่ได้มาจากมะกอก	84
	6.8	ขั้นตอนการหมักมะกอกดองชนิดต่างๆ	84
	7.1	โครงสร้างของเม็ดข้าวสาลี (wheat kernels)	87
	7.2	อุตสาหกรรมการผลิต bakers' yeast	89
	7.3	กระบวนการหมักขนมปัง	90
	7.4	ปฏิกิริยาทางชีวเคมีของ *Saccharomyces cerevisiae*	91
	7.5	การขนส่งและ metabolism ของ glucose, fructose, maltose และ sucrose โดย *S. cerevisiae*	92
	7.6	กระบวนการผลิตซีอิ้ว	96
	7.7	ความสัมพันธ์ของการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกและยีสต์ ในระหว่างการหมักซีอิ้ว	97
	8.1	ขั้นตอนการผลิตบัตเตอร์มิลล์	101
	8.2	วิถีการหมักซิเตรท (citrate) โดยแบคทีเรียกรดแลคติก	102
	8.3	ขั้นตอนการผลิต sour cream	103
	8.4	ขั้นตอนการผลิตโยเกิร์ต	105
	8.5	องค์ประกอบของ acetaldehyde โดยแบคทีเรียในโยเกิร์ต เปลี่ยนมาจาก pyruvate และ threonine	107
	8.6	ขั้นตอนการผลิตคีเฟอร์แบบพื้นบ้านและแบบปัจจุบัน	109
	8.7	ขั้นตอนการผลิตเนยแข็ง	114
	9.1	วิถีการสังเคราะห์และการควบคุมการสังเคราะห์กรดซิตริก	119
	9.2	ขั้นตอนการผลิตกรดซิตริกโดยกระบวนการหมักบนผิวหน้าอาหารเหลว	121
	9.3	การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักกรดซิตริก submerged fermentation โดยกล้าเชื้อ *A. niger*	122
	9.4	ปฏิกิริยาการออกซิไดส์เอทธานอลไปเป็นกรดอะซิติก	126
	9.5	ลักษณะของ trickling generator ที่ใช้ในการผลิตกรดอะซิติก	128
	9.6	ลักษณะของ submerged fermenter ที่ใช้ในการผลิตกรดอะซิติก	129

สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

			หน้า
รูปที่	9.7	แสดง Embden-Meyerhoff pathway โดยใช้ Homofermentative lactic acid bacteria	131
	9.8	แสดง phosphoketolase pathway โดยใช้ Heterofermentative lactic acid bacteria	132
	9.9	วิถีการสังเคราะห์เอทธานอล	133
	9.10	ขั้นตอนกระบวนการผลิตเบียร์	135
	9.11	ขั้นตอนกระบวนการผลิตไวน์ขาวและไวน์แดง	139
	9.12	ขั้นตอนกระบวนการผลิตสาเก	142
	10.1	ขั้นตอนการผลิตเต้าเจี้ยว	144
	10.2	ขั้นตอนการผลิตนัตโตะ	145
	10.3	ขั้นตอนการผลิตถั่วเน่า	147
	10.4	ขั้นตอนการผลิตเทมเป้	148
	10.5	ขั้นตอนการผลิตข้าวหมาก	149
	10.6	ขั้นตอนการผลิตสาโท	151
	10.7	ขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงแป้งเป็นแอลกอฮอล์	152
	10.8	ปฏิกิริยาเคมีที่เกิดขึ้นในขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงแป้งเป็นแอลกอฮอล์ในการหมักสาโท	152
	10.9	กระบวนการผลิตอุ	154

บทที่ 1
บทนำ

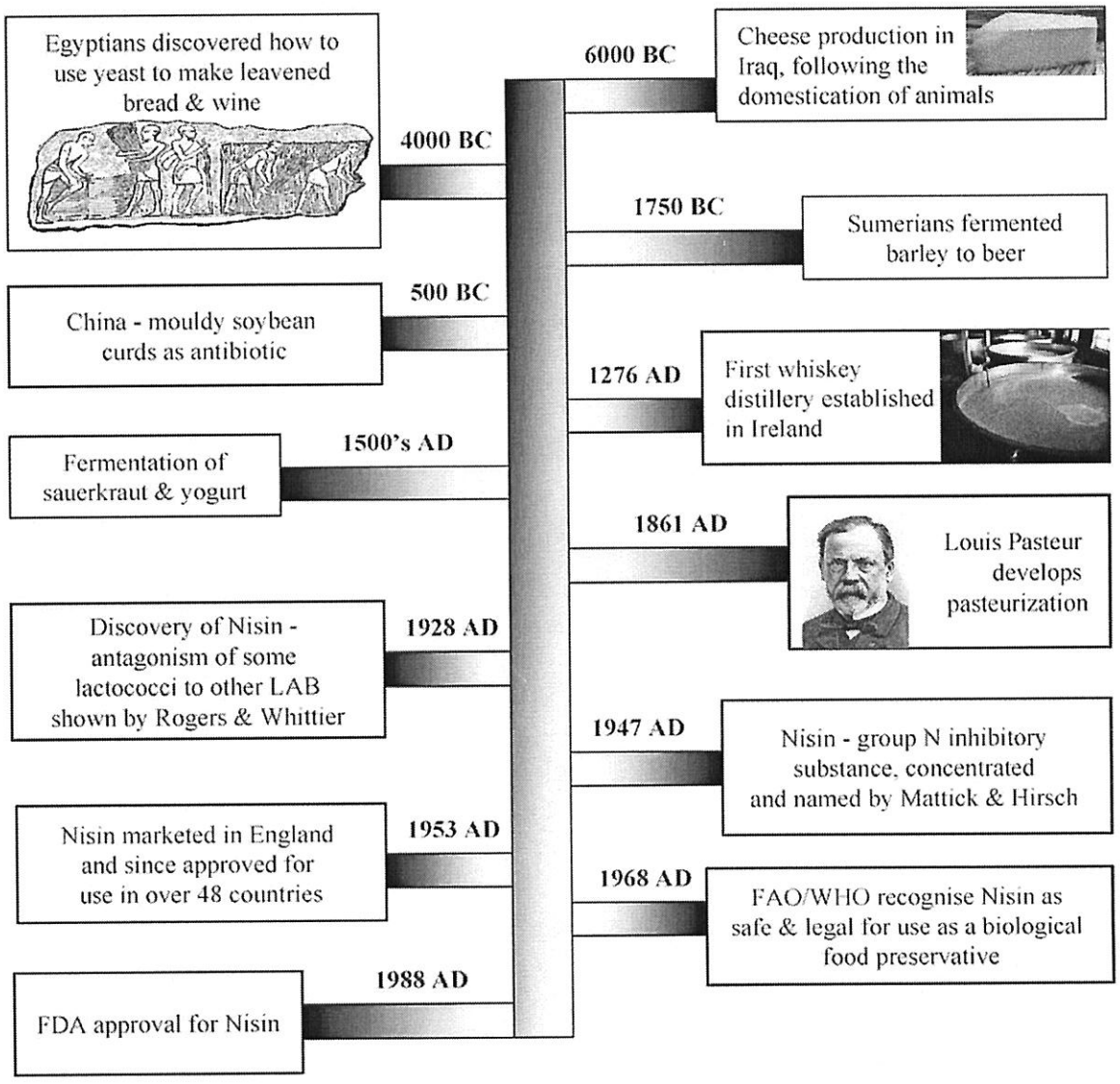
การหมักเป็นวิธีการดั้งเดิมที่ทั่วโลกใช้ในการถนอมอาหารมาเป็นเวลานาน เพราะสามารถทำได้ง่ายโดยอาศัยภูมิปัญญาที่มีมาแต่โบราณของแต่ละท้องถิ่น ไม่จำเป็นต้องใช้เครื่องมือหรืออุปกรณ์ราคาแพงเหมือนการบรรจุกระป๋องหรือการแช่แข็ง ใช้พลังงานต่ำ ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีอายุการเก็บนานขึ้นโดยไม่ต้องใช้ความเย็น มีคุณค่าทางโภชนาการสูงเพียงพอ จึงเป็นวิธีการที่เหมาะสมกับประเทศกำลังพัฒนาหรือท้องถิ่นชนบทที่ห่างไกล นอกจากนี้ยังทำให้ได้ผลิตภัณฑ์อาหารหลากหลายจากวัตถุดิบที่มีอยู่ในท้องถิ่น แต่อาหารหมักประจำชาติได้ลดความสำคัญลงไปเนื่องจากกระแสความนิยมบริโภคอาหารตะวันตก โดยเชื่อว่าจะมีคุณค่าและมีความปลอดภัยมากกว่าอาหารหมักพื้นบ้าน ซึ่งเป็นความเข้าใจที่คลาดเคลื่อน เป็นเหตุให้มีผู้รับประทานและผลิตอาหารหมักพื้นบ้านน้อยลง ดังนั้นการให้ความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับอาหารหมักว่ามีคุณค่าและประโยชน์ต่อสุขภาพและสังคมอย่างไร จึงเป็นสิ่งที่จำเป็นเพื่อธำรงภูมิปัญญาและวัฒนธรรมของชาติไว้ โดยเฉพาะในยุคปัจจุบันที่กำลังมีกระแสของอาหารสุขภาพ ทำให้อาหารหมักกลับมาเป็นที่น่าสนใจใหม่และเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นการหมักจึงเป็นเทคนิคที่มีการพัฒนาเพื่อใช้ในการเก็บรักษาอาหารอย่างต่อเนื่อง ดังรูปที่ 1.1

ความหมายของอาหารหมัก

คำว่า "การหมัก" มาจากภาษาละติน คือ "Fervere" หมายถึงการเดือด (Boil) ซึ่งสื่อถึงลักษณะของฟองก๊าซที่เกิดขึ้นในการหมักผลไม้และข้าวมอลต์โดยยีสต์ น้ำหมักที่ได้มีลักษณะเป็นฟองเนื่องจากยีสต์ใช้น้ำตาลในผลไม้เป็นแหล่งอาหาร (แหล่งอาหารของยีสต์ นักวิชาการเรียกว่าแหล่งพลังงานและแหล่งคาร์บอน) ทำให้ได้คาร์บอนไดออกไซด์และแอลกอฮอล์ ซึ่งก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ทำให้น้ำหมักที่ได้มีลักษณะเป็นฟอง ปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์ได้ให้คำจำกัดความของการหมักกว้างขึ้น โดยเน้นว่าการหมักเป็นกระบวนการแปรสภาพทางชีวเคมี เพื่อให้มีการเปลี่ยนแปลงวัตถุดิบเป็นผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ โดยกระบวนการดังกล่าวต้องอาศัยการผลิตเอนไซม์ของจุลินทรีย์

ผลิตภัณฑ์อาหารหมัก จึงหมายถึง อาหารแปรรูปที่ได้จากกิจกรรมการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบในวัตถุดิบ (substrate) เป็นสารเมตาบอไลท์ที่ก่อให้เกิดกลิ่นรส หรือเนื้อสัมผัสที่พึงประสงค์ อีกทั้งเป็นการยืดอายุการเก็บรักษาให้ได้นานกว่าอาหารสด ความรู้เกี่ยวกับจุลินทรีย์และโดยเฉพาะอย่างยิ่งปัจจัยที่มีผลต่อการควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการหมักเป็นสิ่งจำเป็นในการผลิตอาหารหมักให้มีคุณภาพดีและสม่ำเสมอ ปัจจัยดังกล่าว เช่น ชนิดของจุลินทรีย์และการใช้หัวเชื้อ (starter) อุณหภูมิ สภาวะความเป็นกรด-ด่างในสิ่งแวดล้อมของการหมัก แอลกอฮอล์ ปริมาณออกซิเจนและเกลือ เป็นต้น โดยทั่วไปในช่วงแรกของการหมักจะเกิดจากกิจกรรมของจุลินทรีย์หลายชนิดที่มีอยู่ในธรรมชาติของวัตถุดิบ ภายใต้สภาวะแวดล้อมของการหมักนั้น ซึ่งบางครั้งอาจมี

โอกาสที่จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคในอาหาร (food pathogens) ปนเปื้อนมาได้ แต่ในระยะการหมักช่วงต่อมาเชื้อแบคทีเรียชนิดที่สามารถทนต่อสภาวะแวดล้อมของการหมักนี้ จะเป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเด่นที่จะเป็นกล้าเชื้อในการหมักอาหารดังกล่าว และทำให้จุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ ลดน้อยลงไป และรวมถึงจุลินทรีย์ที่ก่อโรคทางเดินอาหารด้วย เนื่องจากจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารไม่สามารถทนต่อกรด หรือแอลกอฮอล์ที่เป็นสารเมตาบอไลท์ที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักได้ กระบวนการหมักก็จะดำเนินไปเรื่อยๆ จนกว่าจะได้อาหารหมักที่มีรสชาติและคุณภาพตามต้องการ และมีการหยุดกระบวนการหมักโดยการให้ความร้อน หรือ แช่เย็น เพื่อหยุดกิจกรรมของจุลินทรีย์หรือเอนไซม์



รูปที่ 1.1 วิวัฒนาการของอาหารหมักและการถนอมอาหาร

ที่มา : Ross et al. (2002)

ประวัติและวิวัฒนาการของจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

วิวัฒนาการของจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม มีพื้นฐานการเรียนรู้และปรับปรุงมาจากอาหารหมักในสมัยโบราณ ซึ่งการหมักในสมัยนั้นเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ เนื่องจากจุลินทรีย์ที่มีในอากาศหรือจุลินทรีย์ที่ติดมากับวัตถุดิบที่ใช้ในการทำอาหารหมักนั้น

ประวัติการใช้จุลินทรีย์ในกระบวนการหมัก เริ่มต้นมาเป็นเวลานานกว่า 10,000 ปีก่อนคริสตศักราช ตั้งแต่มนุษย์ยังไม่รู้จักจุลินทรีย์ มีหลักฐานว่าชาวสุเมเรียน (Sumerians) และชาวบาบิโลเนียน (Babylonians) ผลิตเบียร์ได้ตั้งแต่ 6,000 ปีก่อนคริสตศักราช ซึ่งในปัจจุบันเป็นที่ทราบกันดีว่าเกิดจากยีสต์เปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นแอลกอฮอล์ และประมาณ 5,000 ปีก่อนคริสตศักราช ได้เริ่มมีการผลิตน้ำส้มสายชู และการผลิตชีส (cheese) ชนิดต่างๆ จากนมวัว แพะ และแกะ ต่อมาประมาณ 4,000 ปีก่อนคริสตศักราชชาวอียิปต์ (Egyptians) รู้จักใช้ยีสต์ในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์เป็นส่วนผสมในการทำขนมปังให้ขึ้นฟู เนื่องจากยีสต์สร้างแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ขึ้นมา

ในศตวรรษที่ 14 การผลิตเหล้าโดยการกลั่นแอลกอฮอล์จากเมล็ดธัญพืชหมัก ซึ่งเชื่อกันว่ามีต้นกำเนิดมานานตั้งแต่ 1,000 ปีก่อนคริสตศักราช จากประเทศจีนหรือประเทศในแถบตะวันออกกลาง ได้เริ่มเป็นที่รู้จักกันอย่างแพร่หลายตามส่วนต่างๆ ของโลก

ในศตวรรษที่ 17 (ค.ศ. 1676) Antony van Leeuwenhoek ได้รายงานการค้นพบจุลินทรีย์ จึงทำให้มีผู้สนใจศึกษาเกี่ยวกับจุลินทรีย์กันมากขึ้น

เมื่อมนุษย์มีความรู้เกี่ยวกับจุลินทรีย์และบทบาทของจุลินทรีย์ในกระบวนการหมักมากขึ้น จึงทำให้มีการนำจุลินทรีย์มาใช้ประโยชน์ในการผลิตสารต่างๆ ในระดับอุตสาหกรรม โดยมีวิวัฒนาการซึ่งอาจแบ่งได้เป็น 5 ระยะดังนี้คือ

ระยะที่ 1 เป็นระยะก่อนปี ค.ศ. 1900 ซึ่งมีผลผลิตจำกัดอยู่เพียงเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ และน้ำส้มสายชู เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่มีการพัฒนากันมาตั้งแต่สมัยอียิปต์โบราณ ได้แก่ เบียร์ แต่การผลิตในระดับอุตสาหกรรมอย่างจริงจังนั้น เริ่มต้นครั้งแรกในช่วงต้นศตวรรษที่ 18 โดยหมักในถังไม้ขนาด 1,500 บาร์เรล การหมักเบียร์ในระยะแรกนี้ มีการควบคุมการผลิตโดยเริ่มใช้เทอร์โมมิเตอร์ในปี ค.ศ. 1757 และเริ่มใช้ primitive heat exchanger ในปี ค.ศ. 1801 สำหรับการศึกษาบทบาทของจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการหมักนั้น ในช่วงกลางศตวรรษที่ 19 มีนักวิทยาศาสตร์หลายท่านได้ทำการทดลองพบว่ายีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่มีบทบาทในการหมัก ในบรรดานักวิทยาศาสตร์เหล่านี้ Pasteur เป็นบุคคลที่ได้รับการยกย่องว่าเป็นผู้แสดงให้เห็นบทบาทที่แท้จริงของยีสต์ในการหมักแอลกอฮอล์ ต่อมาในช่วงปลายศตวรรษที่ 19 Hansen ได้พัฒนาวิธีการแยกเชื้อยีสต์ออกมาเป็นเซลล์เดี่ยวๆ และนำเซลล์เดี่ยวของยีสต์นี้มาเพิ่มจำนวนได้เป็นเชื้อบริสุทธิ์ นอกจากนี้ยังได้พัฒนาเทคนิคต่างๆ ในการผลิตเชื้อเริ่มต้น (starter culture) เพื่อใช้ในการหมักอีกด้วย อย่างไรก็ตามในระยะนั้นโรงงานเบียร์ในประเทศอังกฤษยังไม่นิยมใช้เชื้อบริสุทธิ์ในการผลิต และแม้ในปัจจุบันก็ยังมีโรงงานขนาดเล็กก่อตั้งมานานแล้วอีกหลายแห่ง ที่ยังคงใช้เชื้อผสมของยีสต์หลายชนิดในกระบวนการผลิตเบียร์

สำหรับการผลิตน้ำส้มสายชูนั้น เดิมผลิตได้จากการใส่ไวน์ไว้ในชามตื้นๆ หรือใส่ไวน์ลงในถังบาร์เรลเพียงบางส่วน เมื่อตั้งทิ้งไว้นานๆ จะมีจุลินทรีย์จากธรรมชาติเจริญขึ้นมา ทำให้ไวน์เกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็นน้ำส้มสายชู และต่อมาเมื่อมีการค้นพบว่าอากาศมีความสำคัญต่อกระบวนการหมักน้ำส้มสายชู จึงทำให้มีการพัฒนาสร้างถังหมักที่เรียกว่า "เจเนอเรเตอร์" (generator) ซึ่งประกอบด้วยภาชนะที่ภายในบรรจุด้วยสารเฉื่อย (inert material) เช่น ถ่านไม้ ถ่านหิน หรือเศษไม้ เพื่อใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชู โดยให้ไวน์หรือเบียร์เข้าสู่เจเนอเรเตอร์ทางด้านบน เจเนอเรเตอร์ที่ใช้ในการหมักน้ำส้มสายชูนี้ นับเป็นถังหมักแบบให้อากาศ (aerobic fermenter) ชนิดแรกที่ได้พัฒนาขึ้น ต่อมาในช่วงศตวรรษที่ 19 ถึงต้นศตวรรษที่ 20 ได้มีการพัฒนาการผลิตโดยพาสเจอร์ไรส์อาหารเลี้ยงเชื้อก่อนแล้วจึงเติมน้ำส้มสายชูคุณภาพดีลงไปร้อยละ 10 เพื่อให้เกิดสภาวะที่เป็นกรด ซึ่งจะช่วยป้องกันการปนเปื้อนที่อาจเกิดจากจุลินทรีย์ชนิดอื่น และใช้เป็นแหล่งเชื้อเริ่มต้นที่ดีในการผลิตน้ำส้มสายชูได้อีกด้วย

ระยะที่ 2 เป็นระยะระหว่างปี ค.ศ. 1900-1940 ซึ่งมีผลผลิตใหม่ที่สำคัญคือยีสต์ที่ใช้ทำขนมปัง กลีเซอรอล กรดซิตริก กรดแลคติก อะซิโตนและบิวทานอล สำหรับอุตสาหกรรมการหมักที่มีการพัฒนาไปก้าวหน้ามากที่สุดในระยะนี้ ได้แก่ การผลิตยีสต์ขนมปัง และตัวทำละลายอินทรีย์

การผลิตยีสต์ขนมปัง เป็นกระบวนการหมักที่ต้องการออกซิเจน ถ้าเลี้ยงเชื้อในอาหารที่มีสารอาหารอุดมสมบูรณ์ ยีสต์จะเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ทำให้มีปัญหาการขาดแคลนออกซิเจน และมีผลทำให้ยีสต์ผลิตเอทธานอลแทนที่จะแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวน การแก้ปัญหานี้ทำได้โดยการใช้อาหารที่จำกัดความเข้มข้นของสารอาหารเริ่มต้น โดยเฉพาะแหล่งคาร์บอน เพื่อให้ยีสต์เจริญได้ในอัตราเร็วพอสมควรโดยไม่ทำให้เกิดปัญหาออกซิเจนไม่เพียงพอ หลังจากนั้นถ้าต้องการให้ยีสต์เพิ่มจำนวนมากขึ้นอีกก็สามารถทำได้โดยการเติมสารอาหารเพิ่มเข้าไปทีละน้อย เทคนิคนี้ในปัจจุบันเรียกว่า fed-batch culture ซึ่งใช้ในอุตสาหกรรมการหมักหลายชนิด เพื่อป้องกันการเกิดสภาวะการขาดแคลนออกซิเจน นอกจากนี้ยังมีการปรับปรุงการเพาะเลี้ยงยีสต์โดยการให้อากาศผ่าน sparging tube ซึ่งมีลักษณะเป็นท่อที่ปลายมีรูขนาดเล็ก เพื่อให้อากาศเข้าไปในถังหมักในลักษณะที่เป็นฟองขนาดเล็ก ทำให้จุลินทรีย์สามารถดูดซึมอากาศไปใช้ได้ดีขึ้น และสามารถฆ่าเชื้อในท่อให้อากาศได้ด้วยไอน้ำ

การผลิตตัวทำละลายอินทรีย์ ในระหว่างสงครามโลกครั้งที่ 1 Weizmann ได้พัฒนาการผลิตอะซิโตนและบิวทานอล โดยใช้เทคนิคปราศจากเชื้อในกระบวนการหมัก (aseptic fermentation) แม้ว่าในระยะนั้นกระบวนการหมักโดยทั่วไปที่มีอยู่ มักไม่มีปัญหาการปนเปื้อนจากเชื้ออื่น ถ้าใช้เชื้อเริ่มต้นคุณภาพดีและระมัดระวังในเรื่องความสะอาดดีพอ แต่กระบวนการหมักอะซิโตนและบิวทานอล ซึ่งเป็นกระบวนการหมักแบบไม่ต้องการอากาศ (anaerobic fermentation) มักมีปัญหาการปนเปื้อนโดยเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการอากาศ (aerobic fermentation) ในระยะแรกของการหมัก หรือมีปัญหาการปนเปื้อนโดยแบคทีเรียที่ไม่ต้องการอากาศซึ่งสามารถสร้างกรดได้ (acid-producing bacteria) ในระยะหลังจากเกิดสภาวะไม่มีอากาศขึ้นภายในถังหมัก ดังนั้นเพื่อแก้ปัญหานี้ Weizmann จึงต้องออกแบบถังหมักที่สามารถป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อชนิดอื่น และสามารถทำให้ปราศจากเชื้อได้โดยใช้ไอน้ำภายใต้

ความดัน ถังหมักที่ Weizmann พัฒนาขึ้นนี้มีลักษณะเป็นถังรูปทรงกระบอกตั้ง สร้างจากเหล็กกล้าชนิดอ่อน (mild steel) มีฝาและก้นถังเป็นรูปครึ่งวงกลม ความจุ 200,000 ลิตร แต่การใช้ถังหมักใหญ่ขนาดนี้ในสมัยนั้น ก็ได้ทำให้เกิดปัญหาเกี่ยวกับการเตรียมเชื้อเริ่มต้น และการใส่เชื้อเริ่มต้นเข้าสู่ถังหมักโดยไม่ให้เกิดการปนเปื้อนจากเชื้ออื่น รวมทั้งแบคทีริโอเฟจ (bacteriophage) จึงได้มีการพัฒนาวิธีการเตรียมเชื้อเริ่มต้นที่บริสุทธิ์ขึ้นเพื่อใช้ในการหมัก และ aseptic fermentation ที่พัฒนาขึ้นในระยะนี้ก็เป็นพื้นฐานสำคัญในการพัฒนาการใช้เทคนิคปราศจากเชื้อ ในกระบวนการหมักแบบที่ต้องการอากาศในเวลาต่อมา

ระยะที่ 3 เริ่มต้นตั้งแต่ปี ค.ศ. 1940 การพัฒนาอุตสาหกรรมการหมักในระยะนี้เป็นผลมาจากสงคราม ทำให้ต้องการใช้เพนนิซิลินปริมาณมาก จึงได้มีการพัฒนาการผลิตเพนนิซิลินด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว (submerged culture) ภายใต้สภาวะปราศจากเชื้อ โดยอาศัยความรู้จากการพัฒนากระบวนการหมักอะซิโตนและบิวทานอล เนื่องจากกระบวนการหมักเพนนิซิลินมีปัญหาจากการปนเปื้อนได้ง่ายเช่นเดียวกับกระบวนการหมักอะซิโตนและบิวทานอล อย่างไรก็ตามกระบวนการหมักเพนนิซิลิน ก็มีความแตกต่างจากกระบวนการหมักอะซิโตนและบิวทานอลคือ ต้องการออกซิเจน ดังนั้นจึงได้ปรับปรุงถังหมักให้มีระบบให้อากาศที่ปราศจากเชื้อ และมีระบบกวนผสม (mixing) อาหารเหลวที่มีความหนืดสูง นอกจากนี้จุลินทรีย์ที่ใช้ในกระบวนการหมักในระยะแรกนั้นให้ผลผลิตเพนนิซิลินต่ำมาก จึงได้มีการศึกษาเพื่อปรับปรุงสายพันธุ์ ซึ่งกลายมาเป็นงานสำคัญในอุตสาหกรรมในระยะต่อมา มีการสร้างโรงงานนำร่อง (pilot plant) ซึ่งทำให้สามารถทดสอบเทคนิคใหม่ๆ ในระดับกึ่งอุตสาหกรรมได้ และพัฒนาวิธีการสกัดเพนนิซิลินจากของเหลวปริมาณมากได้เป็นผลสำเร็จ

การพัฒนาเทคโนโลยีการหมักในระยะนี้ นับว่าเป็นระยะที่สำคัญที่สุด และเป็นผลทำให้มีการพัฒนาการผลิตสารปฏิชีวนะชนิดอื่นๆ วิตามิน จิบเบอเรลลิน (gibberellin) กรดอะมิโน เอนไซม์และการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสเตอรอยด์ ในเวลาต่อมา

ระยะที่ 4 เริ่มต้นในปี ค.ศ. 1960 การพัฒนาอุตสาหกรรมการหมักในระยะนี้ เกิดขึ้นจากความพยายามที่จะผลิตเซลล์จุลินทรีย์เพื่อใช้เป็นแหล่งโปรตีนในอาหารสัตว์ แม้ว่าในระยะที่ 3 ของการพัฒนาอุตสาหกรรมการหมัก ได้มีการสร้างถังหมักขนาดใหญ่ 80,000-150,000 ลิตร ซึ่งมีระบบการกวนผสมโดยใช้พลังงานกลจากมอเตอร์ไปหมุนใบพัด แต่เนื่องจากจุลินทรีย์ที่ผลิตขึ้นเพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์ มีราคาขายค่อนข้างต่ำ จึงต้องผลิตในปริมาณมากกว่าผลผลิตอื่นๆ เพื่อให้คุ้มค่าการลงทุน ดังนั้นจึงจำเป็นต้องใช้ถังหมักขนาดใหญ่กว่าเดิม และในระยะนี้สารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่ได้จากอุตสาหกรรมปิโตรเลียมมีราคาถูกมาก จึงได้มีการนำมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับจุลินทรีย์ในอุตสาหกรรมการหมัก แต่จะมีผลทำให้ความต้องการออกซิเจนในกระบวนการหมักสูงขึ้น การให้ออกซิเจนโดยใช้ระบบใบพัดช่วยในการกวนผสมจึงไม่เพียงพอ ทำให้มีการพัฒนาถังหมักแบบใหม่ ซึ่งใช้ระบบความดันหมุนเวียน (pressure jet และ pressure cycle fermenter) ขึ้นมาแทนการใช้ระบบใบพัด นอกจากนี้ยังได้มีการพัฒนากระบวนการหมักแบบต่อเนื่องขึ้นด้วย เพื่อให้การผลิตเป็นไปได้อย่างคุ้มค่า

ทางเศรษฐกิจ ในระยะนี้กระบวนการหมักในอุตสาหกรรมโดยทั่วไปเป็นแบบไม่ต่อเนื่อง (batch) หรือแบบ fed-batch การใช้ระบบต่อเนื่องในอุตสาหกรรมขนาดใหญ่มีจำกัดมาก ตัวอย่างเช่น อุตสาหกรรมเบียร์ ซึ่งได้ทำการทดลองใช้กระบวนการหมักแบบต่อเนื่อง แต่ปรากฏว่ามีอายุการใช้งานสั้น สำหรับการผลิตเซลล์จุลินทรีย์นั้น มีหลายบริษัทที่พยายามทำการทดลองพัฒนากระบวนการผลิตโดยใช้ระบบต่อเนื่อง และในที่สุดก็มีบางบริษัทที่ประสบความสำเร็จ สามารถใช้กระบวนการหมักแบบต่อเนื่องในการผลิตเซลล์จุลินทรีย์ได้ เช่น บริษัท ไอซีไอ (ICI, Imperial Chemical Industries) ซึ่งใช้ถังหมักแบบ continuous pressure cycle ความจุ 3,000,000 ลิตร อย่างไรก็ตามการหมักแบบต่อเนื่องในถังหมักใหญ่ขนาดนี้ ถ้าหมักเกิน 100 วัน มักจะมีปัญหาในการรักษาสภาพปลอดเชื้อและปัญหาที่เกิดขึ้นนี้ มีความรุนแรงมากกว่าที่เคยพบในอุตสาหกรรมการผลิตสารปฏิชีวนะ ความต้องการรักษาสภาพปลอดเชื้อระหว่างการหมักในถังหมักแบบต่อเนื่องนี้ เป็นผลทำให้มีการพัฒนาการออกแบบและการก่อสร้างถังหมักที่มีมาตรฐานสูงขึ้น ทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อที่ส่งเข้าสู่ถังหมักปราศจากเชื้อได้อย่างต่อเนื่อง และมีการพัฒนาใช้ระบบคอมพิวเตอร์ในการควบคุมกระบวนการหมักและการทำให้ปราศจากเชื้อ เพื่อป้องกันข้อผิดพลาดที่อาจเกิดขึ้นจากมนุษย์

ระยะที่ 5 เริ่มต้นในปี ค.ศ. 1979 การพัฒนาอุตสาหกรรมการหมักในระยะนี้เกิดจากความก้าวหน้าทางด้านพันธุวิศกรรม (genetic engineering) ซึ่งสามารถตัดต่อยีนระหว่างจุลินทรีย์ต่างชนิดกันและตัดต่อยีนของสิ่งมีชีวิตชั้นสูงเข้าไปในเซลล์จุลินทรีย์ได้ ทำให้ขยายขอบเขตการผลิตสารจากจุลินทรีย์เพิ่มมากขึ้นกว่าเดิม กล่าวคือสามารถใช้จุลินทรีย์ผลิตสารที่ตามปกติแล้วจุลินทรีย์ไม่สามารถผลิตได้ เช่น อินซูลิน (insulin) และอินเตอร์ฟีรอน (interferon) นอกจากนี้ยังมีการใ ช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรมปรับปรุงจุลินทรีย์เพื่อเพิ่มผลผลิตตามปกติของจุลินทรีย์อีกด้วย ในปัจจุบันเชื่อกันว่าความก้าวหน้าทางด้านพันธุวิศวกรรม จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างมากในอุตสาหกรรมการหมักในอนาคต และทำให้เกิดผลผลิตใหม่ๆ จากจุลินทรีย์ได้อีกมากมาย

ปัจจุบันมีการนำเทคโนโลยีการหมักมาใช้เพื่อผลิตผลิตภัณฑ์หลากหลายชนิด ในระดับอุตสาหกรรม ดังตารางที่ 1.1 ซึ่งเป็นประโยชน์และเป็นที่ต้องการของมนุษย์ เช่น เอนไซม์ วิตามิน ไวน์ เบียร์ กรดอะมิโน กรดอินทรีย์ ยาปฏิชีวนะและวัคซีน

ตารางที่ 1.1 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารหมัก

Product	Country	Microorganism (s)	Substrate
Bread	International	*Saccharomyces cerevisiae*, other yeasts, lactic acid bacteria	Wheat, rye, other grains
Bongkrek	Indonesia	*Rhizopus oligosporus*	Coconut press cake
Gari	West Africa	*Corynebacterium manihot*, other yeasts, lactic acid bacteria (*Lb. plantarum*, *Streptococcus* spp.)	Cassava root
Idli	Southern India	Lactic bacteria (*Ln. mesenteroides*, *E. faecalis*) *Torulopsis*, *Candida*, *Trichosporon pullulans*	Rice and black gram dhal
Kenkey	Ghana	Unknown	Maize
Kimchi	Korea	Lactic acid bacteria	Cabbage, vegetables, sometimes seafood, nuts
Mahewu	South Africa	Lactic acid bacteria	Maize
Ogi	Nigeria, West Africa	Lactic bacteria *Cephalosporium*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium* spp., *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida mycoderma*, *C. valida*, *or C. vini*	Maize
Oncom	Indonesia	*Neurospora intermedia*, or *Rhizopus oligosporus*	Peanut press cake
Soy sauce	The Orient (Japan, China, Philippines)	*Aspergillus oryzae* or *A. soyae*, *Lactobacillus*, *Zygosaccharomyces rouxii*	Soybeans and wheat
Tempeh	Indonesia Surinam	*Rhizopus oligosporus*	Soybeans
Nan	India	*Saccharomyces cerevisiae* Lactic acid bacteria	White wheat flour

ตารางที่ 1.1 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารหมัก (ต่อ)

Product	Country	Microorganism (s)	Substrate
Cheese	International	Lactic acid bacteria, (*L. lactis*, *S. thermophilus*, *Lb.shermanii*) *bulgaricus*, *Propionibacterium shermanii*) sometimes moulds, (*Penicillium* spp.)	Milk
Yoghurt	International	*S. thermophilus*, *Lb. bulgaricus*	Milk, milk solids
Fermented sausages	Southern and Central Europe, U.S.A.	Lactic acid bacteria (lactobacilli, pediococci), Catalase positive cocci(*S. carnosus*,) *S. xylosus*, *M. varians*) sometimes yeasts and/or moulds	Mammalian meat, generally pork and/or beef, less often poultry
Sauerkraut	International	Lactic acid bacteria *Ln. mesenteroides*, *Lb. brevis*, *Lb. plantarum*, *Lb. curvatus*, *Lb. sake*	Cabbage
Pickles	International	*P. cerevisiae*, *Lb. plantarum*	Cucumber
Olives	Mediterranean	*Ln. mesenteroides*, *Lb. plantarum*	Green olives

ที่มา : Caplice and Fitzgerald (1999)

โดยภาพรวม กระบวนการหมักในระดับอุตสาหกรรมประกอบด้วยขั้นตอนหลายขั้นตอน

ขั้นตอนแรกเกี่ยวข้องกับการแยกและคัดเลือกจุลินทรีย์จากแหล่งต่างๆ ให้บริสุทธิ์ การทดสอบคุณสมบัติและความสามารถด้านต่างๆ ของจุลินทรีย์ รวมถึงการดัดแปลงพันธุกรรมจุลินทรีย์เพื่อให้ได้ลักษณะที่ต้องการ ซึ่งในขั้นตอนนี้ต้องอาศัยวิธีการที่เหมาะสมและจำเพาะแตกต่างกันไปตามชนิดของวัตถุดิบ จุลินทรีย์ และผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ

เมื่อได้จุลินทรีย์ที่ต้องการแล้ว ขั้นตอนที่สองเป็นการเตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์ (Inoculum) ซึ่งคือการเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ให้แข็งแรงและมีปริมาณมากเพียงพอต่อการหมัก และการเตรียมวัตถุดิบ (Raw Material หรือ Substrate) สำหรับนำมาถ่ายลงในถังหมัก เพื่อให้เป็นแหล่งอาหารและพลังงานของจุลินทรีย์ สำหรับภาชนะสำหรับเลี้ยงจุลินทรีย์เพื่อให้เกิดการหมัก เรียกว่า ถังหมัก (Fermenter) หรือ

ถังปฏิกรณ์ทางชีวภาพ (Bioreactor) สิ่งสำคัญในขั้นตอนนี้ คือการปรับสภาพแวดล้อมในการเลี้ยงจุลินทรีย์เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการในปริมาณสูงในห้องปฏิบัติการ (Laboratory scale) โดยทั่วไปนิยมใช้ถังหมักขนาดเล็ก หรือในบางกรณีอาจใช้ขวดรูปชมพู่ (Flask) หากขั้นตอนนี้ประสบความสำเร็จได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพและปริมาณสูง (Quality & Quantity of end product) ก็ดำเนินการในขั้นตอนต่อไป

ขั้นตอนที่สาม เป็นการขยายถังหมักและปรับปรุงกระบวนการผลิตในขนาดที่ใหญ่ขึ้นในระดับต้นแบบ (Pilot scale) และขยายไปสู่กระบวนการผลิตในระดับอุตสาหกรรม (Large scale หรือ Industrial scale) ซึ่งถังหมักที่ใช้มีขนาด รูปร่าง วัสดุที่ใช้แตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับความเหมาะสมของการใช้งานและผลิตภัณฑ์ที่ได้ ปฏิกิริยาระหว่างกระบวนการหมักค่อนข้างซับซ้อนและมีปัจจัยหลายอย่างที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ ส่วนผสมต่างๆ สำหรับเลี้ยงจุลินทรีย์ และสภาวะในการหมัก (Parameter) เช่น อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง การให้อากาศ อัตราการไหลของสารเข้าสู่ถังหมัก เป็นต้น

ขั้นตอนที่สี่ เป็นขั้นตอนการแยกผลิตภัณฑ์ที่จุลินทรีย์สังเคราะห์ขึ้นและการทำให้บริสุทธิ์ วิธีการยุ่งยากซับซ้อนเพียงใดนั้นขึ้นอยู่กับชนิดผลิตภัณฑ์ เช่น ผลิตภัณฑ์ที่ใช้เป็นยารักษาโรคต้องอาศัยวิธีการทำให้บริสุทธิ์มากกว่าผลิตภัณฑ์อื่นๆ

กระบวนการหมักในอุตสาหกรรมส่วนใหญ่ต้องใช้เทคโนโลยีสูงในการควบคุมปัจจัยต่างๆ ในกระบวนการผลิต ตลอดจนการจัดการคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ซึ่งเทคโนโลยีการหมักต้องอาศัยความรู้จากหลายสาขาวิชา ได้แก่ จุลชีววิทยา ชีวเคมี พันธุศาสตร์ วิศวกรรมศาสตร์ เคมีฟิสิกส์ คอมพิวเตอร์ และเศรษฐศาสตร์ เพื่อนำมาดำเนินการในการเลี้ยงจุลินทรีย์ในสภาวะที่เหมาะสม

พัฒนาการทางด้านอุตสาหกรรมการหมักยังมีขอบเขตกว้างมากในอนาคต ถือเป็นเทคโนโลยีหนึ่งที่มีศักยภาพเปลี่ยนวัตถุดิบที่เป็นผลิตผลทางการเกษตร ให้เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูงขึ้นได้ ซึ่งเป็นเป้าหมายหนึ่งในการพัฒนาประเทศ

การจำแนกชนิดของอาหารหมัก

อาหารหมักสามารถจำแนกได้หลายวิธี ประเทศทางเอเชียตะวันออกเฉียงใต้มักจะจำแนกอาหารหมักตามชนิดของจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในขบวนการหมัก เช่น อาหารหมักจากแบคทีเรีย จากเชื้อรา จากเชื้อยีสต์ จากเอนไซม์ บางท้องถิ่นก็จำแนกตามชนิดของวัตถุดิบที่ใช้หมัก เช่น อาหารหมักจากพืชผักและผลไม้ จากปลา จากเนื้อสัตว์ จากนม จากแป้งและธัญพืช บางครั้งก็จำแนกตามชนิดของผลิตภัณฑ์ที่ได้ เช่น ผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์ น้ำส้มสายชู ผักและผลไม้ดอง ปลาและเนื้อหมัก ผลิตภัณฑ์นมหมัก

การจำแนกชนิดของอาหารหมักในแต่ละท้องถิ่นนั้นมักจะเหมาะสมกับถิ่นนั้น แต่อาจจะไม่สามารถใช้จำแนกอาหารหมักของอีกท้องถิ่นได้ เนื่องจากความแตกต่างของชนิดอาหารหมักและวิธีการที่ใช้ในการหมัก สำหรับประเทศไทยนิยมจำแนกอาหารหมักได้ 2 วิธี คือ การแบ่งโดยใช้วัตถุดิบเป็น

หลัก หรือการแบ่งตามชนิดและ/หรือประเภทของอาหาร ซึ่งมีรายละเอียดแตกต่างกันดังนี้ การแบ่งโดยใช้วัตถุดิบเป็นหลักสามารถแบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม (ตารางที่ 1.2) คือ

1. อาหารหมักจากเนื้อสัตว์และสัตว์น้ำ ตัวอย่างเช่น แหนม ปลาร้า และส้มฟัก เป็นต้น
2. อาหารหมักจากธัญพืช ตัวอย่างเช่น เบียร์ อุ และสาโท เป็นต้น
3. อาหารหมักจากผักและผลไม้ เช่น กะหล่ำปลีดอง ผักเสี้ยนดอง และไวน์ เป็นต้น
4. อาหารหมักจากน้ำนม เช่น โยเกิร์ต น้ำนมเปรี้ยว (acidophilus milk) และเนย เป็นต้น
5. อาหารหมักจากวัตถุดิบอื่นๆ ซึ่งได้แก่ แป้ง น้ำตาล และแอลกอฮอล์ อาหารหมักประเภทนี้ เช่น น้ำส้มสายชูและขนมจีน เป็นต้น

ตารางที่ 1.2 ผลิตภัณฑ์อาหารหมักชนิดต่าง ๆ

วัตถุดิบหลักที่ใช้ในการผลิตอาหารหมัก	ผลิตภัณฑ์อาหารหมัก
ปลาและสัตว์น้ำ	น้ำปลา บูดู ปลาร้า ปลาเจ่า ปลาส้ม ส้มฟัก ปลาแป้งแดง กุ้งส้ม หอยดอง ไตปลา และกะปิ เป็นต้น
เนื้อสัตว์	แหนม ไส้กรอกเปรี้ยว เป็นต้น
ธัญพืชและผลิตภัณฑ์จากธัญพืช	ซีอิ้ว เต้าเจี้ยว ถั่วเน่า เทมเป้ ขนมจีนแป้งหมัก ข้าวหมาก ขนมตาล แป้งซาลาเปา ขนมปัง เบียร์ สาเก วิสกี้ และอุ เป็นต้น
น้ำนม	โยเกิร์ต ยาคูลท์ คีเฟอร์ คิวมิสล์ และนมบัลแกเรียล เป็นต้น
ผัก	ชาวเคราท์ (กะหล่ำปลีดองของเยอรมัน) กิมจิ ผักกาดดอง แตงกวาดอง หน่อไม้ดอง ผักเสี้ยนดอง และสะตอดอง เป็นต้น
ผลไม้	ไวน์ บรั่นดี ไซเดอร์ และน้ำส้มสายชู เป็นต้น

ที่มา : สุพรรณี (2550)

สำหรับการแบ่งตามชนิดและ/หรือประเภทของอาหาร จะแบ่งตามลักษณะการใช้งานของอาหารนั้นๆ ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มด้วยกันคือ

1. อาหารหมักที่ใช้บริโภคเป็นอาหาร เช่น แหนม ปลาร้า ส้มฟัก กะหล่ำปลีดอง ผักเสี้ยนดอง ขนมจีน เป็นต้น
2. เครื่องดื่มที่เกิดจากการหมัก เช่น ไวน์ เบียร์ สาโท อุ สาเก เป็นต้น
3. อาหารหมักที่ใช้เป็นเครื่องปรุงแต่งรสชาติ เช่น ซีอิ้ว น้ำปลา กะปิ น้ำส้มสายชู กรดซิตริก ผงฟู (monosodium glutamate) เป็นต้น

การหมักที่มีความสำคัญทางการค้าสามารถแบ่งได้เป็น 4 ประเภทใหญ่ๆ คือ

1. การหมักที่ให้ผลผลิตเป็นตัวเซลล์ (Microbial cell or biomass) การผลิตเซลล์ที่มีความสำคัญทางการค้า ได้แก่ การผลิตเซลล์ยีสต์เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมขนมปัง (baker's yeast) ซึ่งเริ่มผลิตในระดับอุตสาหกรรมครั้งแรกตั้งแต่ต้นศตวรรษที่ 19 และการผลิตเซลล์จุลินทรีย์เพื่อใช้เป็นอาหารมนุษย์หรือสัตว์ (single cell protein, SCP) ซึ่งเริ่มผลิตครั้งแรกในระหว่างสงครามโลกครั้งที่ 1 ในประเทศเยอรมนี

2. การหมักที่ให้ผลผลิตเป็นเอนไซม์ (Microbial enzyme) การผลิตเอนไซม์สามารถผลิตได้ทั้งจากพืช สัตว์และจุลินทรีย์ อย่างไรก็ตามจุลินทรีย์ได้รับการยอมรับว่าเป็นแหล่งผลิตเอนไซม์ที่มีความสำคัญมากที่สุด เนื่องจากสามารถผลิตปริมาณมากได้ในระยะเวลาสั้น โดยใช้เทคนิคการหมักและสามารถปรับปรุงให้ผลผลิตสูงขึ้นได้ง่ายกว่าการผลิตจากพืชหรือสัตว์

3. การหมักที่ให้ผลผลิตเป็นสารเมแทบอไลท์ (Microbial metabolite) สารเมแทบอไลท์ที่ผลิตจากจุลินทรีย์อาจแบ่งได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ คือ

สารเมแทบอไลท์ปฐมภูมิ (Primary metabolite) เป็นสารที่มีความจำเป็นต่อการเจริญของจุลินทรีย์ ตัวอย่างเช่น โปรตีน กรดอะมิโน นิวคลีโอไทด์ กรดนิวคลีอิก ลิปิด และคาร์โบไฮเดรต จุลินทรีย์จะผลิตสารเหล่านี้ขึ้นในช่วง trophophase (log phase) ของการเจริญ ดังตารางที่ 1.3 ตัวอย่างของสารเมแทบอไลท์ปฐมภูมิที่มีความสำคัญทางการค้าและผลิตขึ้นโดยการหมัก เช่น เอทธานอล กรดซิตริก กรดกลูตามิก ไลซีน อะซิโตน บิวทานอล นิวคลีโอไทด์ โพลีแซคคาไรด์ และวิตามิน

สารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิ (Secondary metabolite) เป็นสารที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของสารมัธยันตร์ (intermediate) หรือผลผลิตจากกระบวนการเมแทบอลิซึมปฐมภูมิ (Primary metabolism) ดังตารางที่ 1.4 ซึ่งพบในจุลินทรีย์บางชนิดในช่วง idiophase (stationary phase) ของการเจริญ และอาจพบในการเพาะเลี้ยงเชื้อแบบต่อเนื่อง (continuous culture) ที่มีอัตราการเจริญต่ำ จุลินทรีย์ที่พบว่ามีการสังเคราะห์สารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิ ได้แก่ แบคทีเรียที่มีลักษณะเป็นเส้นสาย (filamentous bacteria) แบคทีเรียที่สร้างสปอร์ได้ (spore forming bacteria) และฟังไจ (fungi) จุลินทรีย์ที่ยังไม่พบว่ามีการสังเคราะห์สารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิ ได้แก่ แบคทีเรียในแฟมิลี่ Enterobactereaceae สำหรับบทบาททางสรีรวิทยาของสารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิในเซลล์จุลินทรีย์ที่ผลิตสารนี้ขึ้นมานั้น ยังไม่ทราบแน่ชัด แต่ไม่พบว่ามีหน้าที่ในกระบวนการเมทแทบอลิซึมของเซลล์ อย่างไรก็ตามสารเหล่านี้ก็มีความสำคัญในอุตสาหกรรมการหมักมาก เนื่องจากมีผลต่อจุลินทรีย์ชนิดอื่น เช่น ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้ ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์บางชนิด เป็นสารส่งเสริมการเจริญ (growth promoter) หรือมีคุณสมบัติเป็นยารักษาโรค เป็นต้น

ตารางที่ 1.3 ตัวอย่างของสารเมแทบอไลท์ปฐมภูมิที่มีความสำคัญทางการค้า

Primary Metabolite	Organism	Significance
Ethanol	*Saccharomyces cerevisiae*	alcoholic beverages
	Kluyveromyces fragilis	Bio-Fuel
Citric acid	*Aspergillus niger*	food industry
Acetone	*Clostridium*	
and butanol	*Acetobutyricum*	solvents
Lysine	*Corynebacterium*	nutritional additive
Glutamic acid	*Glutamacium*	flavour enhancer
Riboflavin	*Ashbya gossipii*	nutritional
	Eremothecium ashbyi	
Vitamin B12	*Pseudomonas denitrificans*	nutritional
	Propionibacteriom shermanii	
Dextran	*Leuconostoc mesenteroides*	industrial
Xanthan gum	*Xanthomonas campestris*	industrial

ที่มา : http://www.ensymm.com/pdf/ensymm_fermentation_abstract.pdf

ตารางที่ 1.4 ตัวอย่างของสารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิที่มีความสำคัญทางการค้า

Metabolite	Species	Significance
Penicillin	*Penicillium chrysogenum*	antibiotic
Erythromycin	*Streptomyces erythreus*	antibiotic
Streptomycin	*Streptomyces griseus*	antibiotic
Cephalosporin	*Cephalosporium acrimonium*	antibiotic
Griseofulvin	*Penicillium griseofulvin*	antifungal antibiotic
Cyclosporin A	*Tolypocladium inflatum*	immunosuppressant
Gibberellin	*Gibberella fujikuroi*	plant growth regulator

ที่มา : http://www.ensymm.com/pdf/ensymm_fermentation_abstract.pdf

4. การหมักเพื่อเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารประกอบ (Transformation process) เป็นกระบวนการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารประกอบให้อยู่ในรูปที่คล้ายกัน แต่มีราคาสูงขึ้น ซึ่งสามารถทำได้โดยใช้เอนไซม์จากจุลินทรีย์ หรือสารเคมีเป็นตัวเร่งทำให้เกิดปฏิกิริยา dehydrogenation,

dehydroxylation, dehydration, decarboxylation, deamination, oxidation, amination, condensation หรือ isomerization การใช้เอนไซม์จากจุลินทรีย์มีข้อดีกว่าการใช้สารเคมีคือ มีความจำเพาะมากกว่าและสามารถทำได้ที่อุณหภูมิต่ำ โดยไม่ต้องใช้โลหะหนักซึ่งเป็นสารมลพิษเป็นตัวเร่ง transformation process ที่ใช้จุลินทรีย์ที่รู้จักกันดี ได้แก่ กระบวนการผลิตน้ำส้มสายชู (การเปลี่ยนเอทธานอลไปเป็นกรดอะซิติก) อย่างไรก็ตาม transformation process ส่วนใหญ่จะเกี่ยวข้องกับการผลิตสารที่มีราคาแพง เช่น สารปฏิชีวนะ สเตรอยด์ (steroid) และพรอสตาแกลนดิน (prostaglandin) เป็นต้น

เนื่องจาก transformation process มีความแตกต่างจากกระบวนการหมักแบบอื่นๆ คือ ใช้เซลล์จุลินทรีย์จำนวนมาก เพื่อเร่งการเปลี่ยนแปลงปฏิกิริยาเพียงขั้นตอนเดียว ดังนั้นโดยทั่วไปจึงนิยมใช้ระบบเซลล์หรือเอนไซม์ที่ถูกตรึง เพราะสามารถนำมาใช้ซ้ำได้หลายครั้ง ทำให้ประหยัดต้นทุน

นอกจากนี้การหมักยังอาจแบ่งตามความต้องการอากาศหรือออกซิเจนได้เป็น 2 ชนิดคือ

1. Aerobic fermentation เป็นการหมักที่ต้องการออกซิเจน เช่น การหมักกรดซิตริกและกรดอะซิติก

2. Anaerobic fermentation เป็นการหมักที่ไม่ต้องการออกซิเจน เช่น การหมักอะซิโตนและบิวทานอล

หรืออาจแบ่งตามสภาพการควบคุมการปนเปื้อนของเชื้อได้เป็น 3 ชนิด คือ

1. Septic fermentation เป็นการหมักในสภาพเปิดซึ่งไม่จำเป็นต้องฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่อาจปนเปื้อนมากับวัตถุดิบที่ใช้ในการหมักหรือปนเปื้อนเข้ามาในระหว่างการหมัก แต่ใช้วิธีการปรับสภาพต่างๆ ให้เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ เช่น การเติมเกลือในการหมักน้ำปลาและซีอิ๊ว

2. Semi-septic fermentation เป็นการหมักในสภาพปิดเพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อจากภายนอก แต่ไม่จำเป็นต้องฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับวัตถุดิบที่ใช้ในการหมัก และใช้วิธีการปรับสภาพต่างๆ ให้เหมาะสมต่อการเจริญจุลินทรีย์ที่ต้องการ แต่ไม่เหมาะสมหรือยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ เช่น การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล (molasses) ไม่จำเป็นต้องฆ่าเชื้อในกากน้ำตาลและน้ำที่ใช้หมัก แต่ใช้วิธีการปรับ pH เป็น 3.5 เพื่อยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์อื่น แต่ยีสต์ที่ใช้ในการหมักสามารถเจริญได้ดี

3. Aseptic fermentation เป็นการหมักในสภาพปิดซึ่งต้องทำให้วัตถุดิบที่ใช้ในการหมักปราศจากเชื้อปนเปื้อน และต้องระมัดระวัง ไม่ให้มีการปนเปื้อนของเชื้ออื่นในระหว่างการหมักด้วย มิฉะนั้นจะทำให้เกิดความเสียหายอย่างมาก เช่น การหมักสารปฏิชีวนะ

หรือแบ่งตามลักษณะหรือปริมาณน้ำในอาหารเลี้ยงเชื้อได้เป็น 2 ชนิด คือ

1. Solid state fermentation เป็นการหมักบนอาหารแข็ง ซึ่งมีการเติมน้ำเล็กน้อย เพียงเพื่อให้เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่ต้องการเท่านั้น เช่น การหมักกรดซิตริกโดยใช้เชื้อรา

2. Submerged fermentation เป็นการหมักที่ทำได้โดยการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในอาหารที่มีลักษณะเหลว เช่น การหมักแอลกอฮอล์ และน้ำส้มสายชู

หรือแบ่งตามลักษณะของกระบวนการที่ใช้ได้เป็น 3 ชนิด คือ

1. Batch fermentation เป็นการหมักแบบไม่ต่อเนื่อง ซึ่งทำในระบบปิดที่มีสารอาหารเริ่มต้นปริมาณจำกัด เมื่อใส่จุลินทรีย์ที่ต้องการเพาะเลี้ยงลงไปในระบบแล้ว จะไม่มีการเติมสารอาหารใดๆ เพิ่มลงไปอีก

2. Continuous fermentation เป็นการหมักแบบต่อเนื่อง โดยมีการเติมอาหารใหม่และถ่ายอาหารเก่าออกจากระบบในอัตราเดียวกันตลอดเวลา จึงทำให้จุลินทรีย์สามารถเจริญเพิ่มจำนวนได้อย่างต่อเนื่อง โดยไม่มีข้อจำกัดในเรื่องอาหาร

3. Fed-batch fermentation เป็นการหมักที่มีการเติมสารอาหารบางอย่างเพิ่มลงไปในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงจุลินทรีย์เป็นระยะๆ เพื่อให้จุลินทรีย์เจริญและใช้อาหารได้อย่างเต็มที่ โดยไม่มีการถ่ายอาหารเก่าออก การหมักแบบนี้ส่วนใหญ่ใช้เพื่อแก้ปัญหาเกี่ยวกับข้อจำกัดในเรื่องความเข้มข้นของสารอาหารเริ่มต้น ซึ่งถ้าใช้มากไปอาจมีผลยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ หรืออาจทำให้มีปัญหาในการให้ออกซิเจนในปริมาณที่เพียงพอได้ยาก

ประโยชน์ของอาหารหมัก

1. การถนอมอาหาร

การหมักอาหารเป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นเนื่องจากจุลินทรีย์ย่อยสลายคาร์โบไฮเดรต หรือสารอื่น ภายใต้สภาวะที่มีหรือไม่มีอากาศ ซึ่งจะแตกต่างจากการถนอมอาหารอื่น ที่มีวัตถุประสงค์ในการทำลายจุลินทรีย์และเอนไซม์ธรรมชาติในอาหาร การหมักดองจะทำให้ pH ของอาหารลดต่ำลง ซึ่งจะเป็นการป้องกันไม่ให้เชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคเจริญได้ และเป็นเทคโนโลยีแต่โบราณที่ใช้ในการถนอมอาหารที่เน่าเสียง่าย ทำให้มีอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการไว้บริโภคในยามขาดแคลน เช่น ในฤดูแล้งหรือฤดูหนาว แม้ว่าจะมีวิธีถนอมอาหารอีกหลายวิธีที่ได้รับการพัฒนาจนสามารถถนอมอาหารได้นานขึ้น เช่น การทำแห้ง การแช่เย็น การแช่เยือกแข็ง การบรรจุกระป๋อง แต่เทคโนโลยีบางอย่างต้องใช้ความรู้สมัยใหม่ อุปกรณ์ราคาแพงและพลังงานสูง จึงไม่เหมาะสมกับการถนอมอาหารในครัวเรือนหรือชุมชนขนาดเล็ก ในประเทศกำลังพัฒนา หรือชุมชนที่ห่างไกล แต่การหมักอาหารมักจะมีการถ่ายทอดความรู้จากรุ่นสู่รุ่นในครอบครัวหรือชุมชน

2. ลดปริมาณของเสีย

การหมักช่วยทำให้อาหารสดที่มีมากในแต่ละฤดู การผลิตไม่เน่าเสียเป็นขยะ ช่วยลดปัญหาของเสีย กลิ่นเหม็น และค่าใช้จ่ายในการกำจัดขยะ ช่วยเพิ่มความหลากหลายของอาหารจากวัตถุดิบเดียวกัน เช่น จากถั่วเหลือง ก็สามารถผลิตเป็นซีอิ๊ว เต้าเจี้ยว นัตโตะ (natto) ถั่วเน่า เป็นต้น นอกจากนี้ยังสามารถนำของเหลือทิ้งจากขบวนการผลิตอาหารมาหมักเป็นผลิตภัณฑ์อาหารอื่นได้อีก เช่น การนำเปลือกสับปะรดมาหมักเป็นน้ำส้มสายชู การผลิตวุ้นมะพร้าวจากน้ำมะพร้าว ซึ่งเป็นการเพิ่มมูลค่าของวัสดุ

เหลือทิ้งทางการเกษตร กากน้ำตาลก็เป็นวัตถุดิบสำคัญในอุตสาหกรรมการหมักหลายชนิด เช่น การผลิตผงชูรส กรดมะนาวหรือกรดซิตริก

3. ปรับปรุงคุณค่าทางอาหาร

การหมักช่วยเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการให้แก่อาหาร ทั้งในด้านองค์ประกอบของกรดอะมิโนและวิตามิน เช่น บี 1 ไทอามีน ไรโบเฟลวินและกรดนิโคตินิก และทำให้อาหารย่อยง่ายขึ้น จุลินทรีย์หลายชนิดสามารถสะสมวิตามินในเซลล์ บางชนิดก็ผลิตและปล่อยออกสู่อาหาร เช่น เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* จะสะสมไทอามีน กรดนิโคตินิกและไบโอติน แบคทีเรียแลคติกจะเปลี่ยนน้ำตาลแลคโตสในนมให้เป็นกรดแลคติก ทำให้ผู้ที่ไม่มีเอนไซม์แลคเทส สามารถได้ประโยชน์จากนมโดยไม่มีอาการท้องอืดหรือท้องเดินด้วยการบริโภคนมเปรี้ยวหรือนมหมัก นอกจากนี้ยังมีการศึกษาที่จะใช้เอนไซม์แลคเตสในการลดน้ำตาลแลคโตสในนม จุลินทรีย์ที่ใช้ผลิตเอนไซม์แลคเตสได้ในระดับอุตสาหกรรม ได้แก่ เชื้อรา *Aspergillus niger* และเชื้อยีสต์ *Kluyvermyces maxianus* var. *lactis* นอกจากนี้การหมักยังสามารถลดสารพิษบางอย่างได้ เช่น ช่วยลดปริมาณไซยาไนด์ในมันสำปะหลังหมัก

4. ประโยชน์ทางการแพทย์

อาหารหมักหลายชนิดเป็นที่ยอมรับกันมานานว่าเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพของมนุษย์ (ตารางที่ 1.5) โดยเฉพาะอาหารหมักที่มีแบคทีเรียจำพวกโปรไบโอติก (probiotics) ซึ่งได้แก่ แบคทีเรียกรดแลคติก และ *Bifidobacterium* spp. ในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวหรือนมหมักที่มีแบคทีเรียมีชีวิต นมหมักเหล่านี้จะให้ประโยชน์ดังนี้ คือ

1. เพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยและคุณค่าทางโภชนาการของนม
2. ลดปริมาณของน้ำตาลแลคโตส
3. เพิ่มการดูดซึมเกลือแคลเซียมและธาตุเหล็ก
4. ควบคุมชนิดของจุลินทรีย์ในลำไส้
5. ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในทางเดินอาหาร
6. แสดงให้เห็นว่ามีการยับยั้งการเกิดเซลล์มะเร็งบางชนิด
7. ลดระดับของโคเลสเตอรอลในเลือด
8. กระตุ้นให้เกิดระบบคุ้มกันขึ้น

5. ปรับปรุงความเป็นอยู่ทางสังคมและวัฒนธรรมให้ดีขึ้น

อาหารหมักเป็นที่นิยมทั่วโลก มีการผลิตอาหารหมักหลากหลายชนิด ทั้งในระดับครัวเรือนและอุตสาหกรรม การหมักทำให้อาหารมีรสชาติและกลิ่นแตกต่างไปจากเดิม ช่วยชูรสอาหาร ทำให้อาหารน่ารับประทาน อาหารหมักที่ได้จะมีความแตกต่างและเป็นเอกลักษณ์ของท้องถิ่น หลายครั้งจะเห็นว่าการถ่ายทอดวัฒนธรรมจากที่หนึ่งไปอีกที่หนึ่งเริ่มต้นด้วยอาหาร ยิ่งในยุคปัจจุบันจะยิ่งเห็นชัด มีอาหาร

หลายชนิดที่เป็นที่นิยมและเหมือนเป็นตัวแทนของประเทศและวัฒนธรรมของประเทศนั้นๆ เช่น เมื่อพูดถึงกิมจิ ก็จะนึกถึงประเทศเกาหลี หรือน้ำปลาก็จะนึกถึงประเทศไทย

การผลิตอาหารหมักมีหลายระดับ ตั้งแต่ระดับครัวเรือนจนถึงระดับอุตสาหกรรม ทำให้เพิ่มรายได้และการจ้างงาน มีการจ้างงานในอุตสาหกรรมการผลิตอาหารหมักหลายล้านคน อุตสาหกรรมอาหารหมักในประเทศไทย เช่น การผลิตสุรา น้ำปลา ซีอิ๊ว แหนม ทำรายได้ให้แก่ประเทศหลายพันล้านบาทต่อปี

ตารางที่ 1.5 ประโยชน์ของอาหารหมัก

วัตถุดิบ	การถนอมอาหาร	ความปลอดภัย	เพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ	การยอมรับ
เนื้อสัตว์	++	+	-	(+)
ปลา	++	+	-	(+)
นม	++	+	(+)	(+)
ผัก	+	(+)	-	(+)
ผลไม้	+	-	-	++
เมล็ดพืช	-	(+)	(+)	+
ธัญพืช	-	-	(+)	+
++ definite improvement		+ usually some improvement		
(+) some cases of improvement		- no improvement		

ที่มา : Sahlin (1999)

บทที่ 2
กล้าเชื้อในอาหารหมัก

การหมักสามารถเกิดขึ้นได้เองโดยใช้จุลินทรีย์จากธรรมชาติ ทั้งนี้สามารถนำจุลินทรีย์ที่หมักแล้วให้ผลเป็นที่ต้องการในการหมักครั้งก่อนมาเติมในวัตถุดิบ เพื่อผลิตอาหารหมักขึ้นมาใหม่โดยให้ผลเช่นเดิม เรียกว่า back-slopping กระบวนการหมักในปัจจุบันเป็นวิธีที่ทำให้อาหารมีคุณค่าทางโภชนาการสูงขึ้นและทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ที่หลากหลายมากขึ้น โดยกล้าเชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาใช้หมักอาหารประเภทต่างๆ จะแบ่งตามชนิดดังตารางที่ 2.1 จึงนำมาศึกษาปฏิกิริยาการหมักทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความสม่ำเสมอ เรียกจุลินทรีย์เหล่านี้ว่า สตาร์ทเตอร์ (starter culture หรือ starter) เพื่อให้ได้คุณสมบัติของกล้าเชื้อตามความต้องการดังตารางที่ 2.2 ซึ่งในปัจจุบันกระบวนการหมักโดยใช้สตาร์ทเตอร์นิยมนำมาใช้ในอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ ที่มีการควบคุมปัจจัยต่างๆ ที่ผลมีต่อการหมัก ทำให้ได้ผลิตผลที่ต้องการในปริมาณสูงและมีคุณภาพสม่ำเสมอ จึงมีการนำกล้าเชื้อมาใช้ให้เกิดประโยชน์สำหรับผลิตอาหารหมัก ได้แก่ ขนมปัง เบียร์ ผลิตภัณฑ์นมหมัก เนยแข็ง ผลิตภัณฑ์ไส้กรอก เป็นต้น

ตารางที่ 2.1 นิยามของกล้าเชื้อ

Name	Contents
Single-strain starter	A single well-defined strain with known technological properties
Multiple strain starter	2-6 well-defined strain with known technological properties
Mixed-strain starter	An unknown number of undefined strains

ที่มา : Josephsen and Jespersen (2004)

โดย Single-strain starter ส่วนใหญ่จะใช้ยีสต์และราสำหรับผลิตภัณฑ์ เบียร์ ไวน์ และ LAB สำหรับผลิตภัณฑ์นม ไส้กรอกและกะหล่ำปลีดอง Multiple strain starter ใช้สำหรับผลิตภัณฑ์นม sourdough ไส้กรอกและไวน์ Mixed-strain starter นิยมใช้ในอุตสาหกรรมนมและ sourdough

ตารางที่ 2.2 กล้าเชื้อแบคทีเรียที่นำมาใช้ในอาหารหมัก

Genus	Species	Application
Acetobacter	*aceti*	Vinegar production
Bifidobacterium	*adolescentis*	Probiotics
Bifidobacterium	*animalis*[a]	Cheese, fermented milks, probiotics
Bifidobacterium	*bifidum*	Cheese, fermented milks, probiotics
Bifidobacterium	*breve*	Probiotics
Bifidobacterium	*infantis*	Probiotics
Bifidobacterium	*longum*	Probiotics
Brevibacterium	*casei*	Cheese
Brevibacterium	*linens*	Cheese, bioprotection
Carnobacterium	*divergens*	Meat, bioprotection
Carnobacterium	*piscicola*	Meat, bioprotection
Enterococcus	*faecium*	Cheese, fermented milks, meat, vegetables, probiotics, bioprotection
Kocuria	*varians*[b]	Meat
Lactobacillus	*acidophilus*	Probiotics, cheese, fermented milks, meat, vegetables
Lactobacillus	*alimentarius*	Meat
Lactobacillus	*brevis*	Probiotics, vegetables, bioprotection
Lactobacillus	*casei*	Probiotics, cheese, fermented milks, meat, vegetables
Lactobacillus	*coryniformis*	Cheese
Lactobacillus	*crispatus*	
Lactobacillus	*curvatus*	Meat
Lactobacillus	*delbrueckii* subsp. *bulgaricus*	Fermented milks, cheese, probiotics
Lactobacillus	*delbrueckii* subsp. *delbrueckii*	Cheese, vegetables
Lactobacillus	*Delbrueckii* subsp. *lactis*	Fermented milks, cheese
Lactobacillus	*farciminis*	Meat
Lactobacillus	*fermentum*	Cheese, probiotics
Lactobacillus	*gasseri*	Fermented milks, probiotics
Lactobacillus	*helveticus*	Cheese, fermented milks, probiotics, vegetables
Lactobacillus	*johnsonii*	Fermented milks, probiotics, probiotics
Lactobacillus	*kefiri*	Fermented milks
Lactobacillus	*panis*	Sourdough, bread
Lactobacillus	*pentosus*	Meat
Lactobacillus	*plantarum*	Bread, meat, wine, vegetables, bioprotection
Lactobacillus	*reuteri*	Bioprotection, probiotics
Lactobacillus	*rhamnosus*	Probiotics
Lactobacillus	*sakei* subsp. *carnosus*	Meat
Lactobacillus	*sakei* subsp. *sakei*[c]	Meat, vegetables, bioprotection
Lactobacillus	*sanfranciscensis*	Bread
Lactococcus	*lactis* subsp. *cremoris*	Cheese, fermented milks, bread, meat, vegetables, probiotics, bioprotection
Lactococcus	*lactis* subsp. *lactis*	Cheese, fermented milks, bread, meat, vegetables, probiotics, bioprotection

ตารางที่ 2.2 กล้าเชื้อแบคทีเรียที่นำมาใช้ในอาหารหมัก (ต่อ)

Genus	Species	Application
Lactococcus	*lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*	Cheese, fermented milks, bread, meat, vegetables, probiotics, bioprotection
Leuconostoc	*carnosum*	Meat, bioprotection
Leuconostoc	*lactis*	Cheese, fermented milks
Leuconostoc	*mesenteroides* subsp. *cremoris*	Cheese, fermented milks, vegetables
Leuconostoc	*mesenteroides* subsp. *dextranicum*	Probiotics
Leuconostoc	*mesenteroides* subsp. *mesenteroides*	Cheese, fermented milks, vegetables
Leuconostoc	*pseudomesenteroides*	
Micrococcus	*luteus*	Meat
Oenococcus	*oeni*	Wine
Pediococcus	*acidilactici*	Meat, probiotics, bioprotection
Pediococcus	*damnosus*	Meat, bioprotection
Pediococcus	*pentosaceus*	Meat
Propionibacterium	*acidipropionici*	Cheese
Propionibacterium	*freudenreichii* subsp. *freudenreichii*	Cheese, probiotics
Propionibacterium	*freudenreichii* subsp. *shermanii*	Cheese
Staphylococcus	*carnosus* subsp. *carnosus*	Meat
Staphylococcus	*carnosus* subsp. *utilis*	Meat
Staphylococcus	*equorum*	Meat
Staphylococcus	*xylosus*	Meat
Streptococcus	*thermophilus*	Cheese, fermented milks, bread, meat, vegetables, probiotics
Weissella	*confusa*	Meat
Weissella	*halotolerans*	Meat

[a] *Bifidobacterium lactis* is not a separate species but included in *B. animalis*.
[b] *Micrococcus varians* has been renamed *Kocuria varians*.
[c] *Lactobacillus bavaricus* has been included in *L. sakei* subsp. *sakei*.

ที่มา : Hansen (2004)

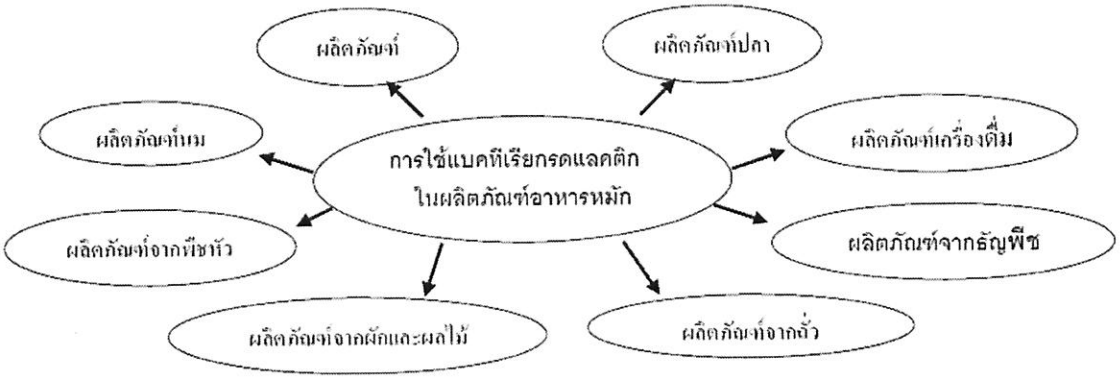
กล้าเชื้อแบคทีเรีย

กล้าเชื้อที่นำมาใช้ในอาหารหมัก สามารถแบ่งตามอุณหภูมิที่เจริญเติบโตได้ดี ดังตารางที่ 2.3 โดยส่วนใหญ่แล้วแบคทีเรียที่มีความสำคัญต่ออาหารหมักจะอยู่ในกลุ่มของ แบคทีเรียกรดแลคติก (Lactic acid bacteria : LAB) ดังรูปที่ 2.1 เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่เคลื่อนที่ (nonmotile) ไม่สร้างเอนไซม์แคตาเลส (catalase negative) ไม่สร้างสปอร์ (non-spore froming) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่ามีทั้งรูปร่างแท่งและรูปร่างกลม ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของแบคทีเรียกลุ่มนี้ได้จากการใช้น้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลแลคโตสเป็นแหล่งคาร์บอน ได้ผลิตภัณฑ์หลักเป็นกรดแลคติก ตัวอย่างของแบคทีเรียกรดแลคติคที่พบโดยส่วนใหญ่ ดังตารางที่ 2.4 และตารางที่ 2.5

ตารางที่ 2.3 ชนิดของกล้าเชื้อ

Type	Optimum temperature	Typical growth temperature
Mesophilic	25-34 °C	18-30 °C
Thermophilic	37-44 °C	40-44 °C

ที่มา : Josephsen and Jespersen (2004)



รูปที่ 2.1 การใช้ประโยชน์จากแบคทีเรียกรดแลคติกในการผลิตอาหารหมักชนิดต่างๆ
ที่มา : ปิ่นมณี (2547)

ตารางที่ 2.4 กล้าเชื้อ Lactic Acid Bacteria จาก Taxonomic Revisions

New names	Old names
Carnobacterium divergens	*Lactobacillus divergens*
Carnobacterium piscicola	*Lactobacillus carnis*
Lactobacillus delbrueckii subsp. *bulgaricus*	*Lactobacillus bulgaricus*
Lactobacillus delbrueckii subsp. *lactis*	*Lactobacillus lactis*
Lactobacillus rhamnosus	*Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus*
Lactobacillus sakei	*Lactobacillus sake* and most strains of *Lactobacillus bavaricus*
Lactobacillus sanfranciscensis	*Lactobacillus sanfrancisco*
Lactococcus lactis subsp. *cremoris*	*Streptococcus cremoris*
Lactococcus lactis subsp. *lactis*	*Streptococcus lactis*
Lactococcus lactis subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*	*Streptococcus diacetylactis*
Leuconostoc mesenteroides subsp. *cremoris*	*Leuconostoc citrovorum*
Leuconostoc mesenteroides subsp. *dextranicum*	*Leuconostoc dextranicum*
Oenococcus oeni	*Leuconostoc oeni*
Streptococcus thermophilus	*Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*
Tetragenococcus halophilus	*Pediococcus halophilus*
Weissella confusa	*Lactobacillus confusus*
Weissella paramesenteroides	*Leuconostoc paramesenteroides*

[a] Not all listed bacteria are used as starter or adjunct cultures; some have only been isolated from fermented food and beverage products. An updated list is present on http://www.bacterio.cict.fr.

ที่มา : Josephsen and Jespersen (2004)

ตารางที่ 2.5 กล้าเชื้อ Lactic Acid Bacteria ที่พบโดยทั่วไป

Name	Old name	Number of species	Sugar fermentation
Lactococcus	Lactic or group N *Streptococcus*	5	Homo
Enterococcus[a]	Fecal *Streptococcus*	14	Homo
Streptococcus[b]		39	Homo
Leuconostoc	*Betacoccus*	9	Hetero
Oenococcus	*Leuconostoc*	1	Hetero
Pediococcus		6	Homo
Tetragenococcus	*Pediococcus*	1	Homo
Lactobacillus		>60	Group I: Homo Group II: Facultative hetero[c] Group III: Hetero
Carnobacterium	*Lactobacillus*	6	Homo
Weisella	1 previously *Leuconostoc*, 5 previously *Lactobacillus*	7	Hetero

Homo = homofermentative; hetero = heterofermentative.
[a] Several are pathogenic.
[b] Many are pathogenic.
[c] Ferment glucose by the homofermentative pathway and pentoses and 6-P-glyconate by the heterofermentative pathway.

ที่มา : Josephsen and Jespersen (2004)

1. กล้าเชื้อสำหรับนมหมัก (Cultures for Milk Fermentation)

การนำกล้าเชื้อไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมนมหมักอย่างกว้างขวาง ส่วนใหญ่กล้าเชื้อที่สำคัญจะอยู่ในกลุ่ม LAB ประกอบด้วยพวก mesophilic หรือ Thermophilic เท่านั้น อย่างไรก็ตาม สามารถนำกล้าเชื้อมาใช้รวมกันได้ โดยกล้าเชื้อในกลุ่ม mesophilic เริ่มแรกค้นพบจากทางตอนเหนือและยุโรปตะวันออก ส่วนมากประกอบด้วย *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* (*L. cremoris*), *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (*L. lactis*), *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* (*L. diacetylactis*), *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* และ *Leuconostoc lactis* โดยเฉพาะ *L. cremoris* มีความสามารถในการทำให้เกิดกรดอย่างรวดเร็วในนม *L. diacetylactis, Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* และ *Leuconostoc lactis* สามารถ catabolize citrate ให้กลายเป็น CO_2 กับ diacetyl โดย CO_2 จะทำให้ผลิตภัณฑ์เนยแข็ง (cheeses) มีลักษณะเป็นรูโหว่ (holes) สำหรับ diacetyl จะให้กลิ่นของเนย (butter) ซึ่งมีความสำคัญต่อการเกิดกลิ่นของเนยแข็ง (cheeses) และผลิตภัณฑ์นมหมัก โดย *Lactobacillus paracasei* และ *Lactobacillus casei* ส่วนใหญ่จัดอยู่ในกลุ่ม mesophilic ซึ่งพบ Lactobacilli ในเนยแข็งหลายชนิดและบางกรณีจะมีการเติมกล้าเชื้อลงไปด้วย ทั้งนี้กล้าเชื้อผสมจะมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของกล้าเชื้อ mesophilic ดังตารางที่ 2.6

ตารางที่ 2.6 ตัวอย่างชนิดของกล้าเชื้อประเภท mesophilic ที่เติมในผลิตภัณฑ์

Type	Organisms	Composition	Products
O	*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*	5–10%	Cheddar
	Lactococcus lactis subsp. *cremoris*	90–95%	Cottage cheese Feta Quarg
L	*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*	5–10%	Lactic butter
	Lactococcus lactis subsp. *cremoris*	80–90%	Feta
	Leuconostoc mesenteroides subsp. *cremoris* *Leuconostoc lactis*	5–10%	Cheddar
D	*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*	5–10%	Lactic butter
	Lactococcus lactis subsp. *cremoris*	70–85%	
	Lactococcus lactis subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*	10–20%	
DL	*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*	5–10%	Continental cheese (with eyes)
	Lactococcus lactis subsp. *cremoris*	60–80%	Mold-ripened cheese
	Lactococcus lactis subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*	10–20%	Lactic butter Cultured buttermilk
	Leuconostoc mesenteroides subsp. *cremoris* *Leuconostoc lactis*	5–10%	Creme fraiche, ymer

ที่มา : Josephsen and Jespersen (2004)

สำหรับกล้าเชื้อในกลุ่ม Thermophilic เริ่มแรกค้นพบจากทางตอนใต้และยุโรปตะวันออก ส่วนมากประกอบด้วย *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* และ *lactis* รวมถึง *Lactobacillus helveticus* มีการใช้กล้าเชื้อ LAB ในกลุ่ม thermophilic เพื่อทำให้กรดอย่างรวดเร็วหรือมีการเติมเข้าไปในเนยแข็ง โดย *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* และ *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* บางสายพันธุ์สามารถ catabolize lactose ให้กลายเป็น lactate และ galactose ทำให้กากที่เหลือของ galactose เป็นปัญหาในเนยแข็ง (เช่น การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ) และมีผลต่อการเกิดสีน้ำตาลของ pizza cheese ทั้งนี้ *Lactobacillus helveticus* สามารถใช้ galactose เป็นของแหล่งคาร์บอน ดังนั้นจึงสามารถกำจัดกากที่เหลือของ galactose ได้ นอกจากนี้ *Lactobacillus helveticus* บางสายพันธุ์สามารถสร้าง proteolytic ได้มาก ซึ่งมีผลต่อรสชาติและเนื้อสัมผัสของเนยแข็งด้วย

2. กล้าเชื้อสำหรับหมักผัก ผลไม้และธัญพืช (Cultures for Fermentation of Vegetables, Fruit, and Grains)

การหมักพืชจะมีผลต่อการเกิด lactic acid, acetic acid หรือการหมักแล้วได้แอลกอฮอล์หรือชนิดของการหมักที่แตกต่างกัน ในการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์ส่วนใหญ่จะใช้ยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*) และรา (*Aspergillus oryzae*) อย่างไรก็ตามอาจมีจุลินทรีย์จำพวก Lactobacilli และ

Pediococcus เกี่ยวข้องกับกระบวนการหมักด้วย โดยการหมัก acetic acid จะใช้กับผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชู (vinegar) ซึ่งมีขั้นตอนการหมัก 2 ขั้นตอน การหมักผักจะมีการควบคุมยาก เพราะขึ้นอยู่กับคุณภาพของวัตถุดิบ สภาวะการเก็บรักษาและอุณหภูมิ ซึ่งสำคัญในการหาสภาวะที่เหมาะสมของจุลินทรีย์ที่ต้องการ ปัญหาของวัตถุดิบก็คือไม่สามารถนำมา pasteurized ได้ เพราะมีผลกระทบต่อเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์

ในปัจจุบันนี้มีการหมักจากผลมะกอก (olives) แตงกวาดอง (pickled cucumber) กะหล่ำปลีดอง (sauerkraut) และ กิมจิ (kimchi) ซึ่งสามารถนำมาผลิตเป็นอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ ปกติแล้วกระบวนการหมักจะเกิดขึ้นเองโดยธรรมชาติ หรือ back-slopping ในกรณีนี้มีการนำกล้าเชื้อ LAB มาใช้ให้เกิดประโยชน์และประสบความสำเร็จในการทดลอง สำหรับผลิตภัณฑ์กะหล่ำปลีดองจะใช้กล้าเชื้อ *Lactobacillus plantarum, Lactobacillus curvatus* และ *Leuconostoc mesenteroides* เพียงอย่างเดียว หรืออาจใช้รวมกับกล้าเชื้อ *Lactococcus lactis* การหมักมะกอกจะใช้กล้าเชื้อ *Lactobacillus plantarum* และ *Lactobacillus pentosus* สำหรับการทำแตงกวาดองจะใช้กล้าเชื้อ *Lactobacillus plantarum, Lactobacillus pentosus* และ *Pediococcus pentosaceus* ดังตารางที่ 2.7 เป็นตัวอย่างของผลิตภัณฑ์หมักจากพืชโดยใช้กล้าเชื้อ

ตารางที่ 2.7 ตัวอย่างของกล้าเชื้อ LAB ที่เกิดจากการหมักโดยธรรมชาติ

Raw material	Dominating microorganisms or starter culture	Products
Cabbage	*Leuconostoc mesenteroides*,[a] *Lb. plantarum*,[a] *Lb. curvatus*,[a] *Lb. brevis*, *P.cerevisiae*	Sauerkraut
Cucumber	*Lb. brevis*, *P. cerevisiae*, *Lb. plantarum*,[a] *Lb. pentosus*,[a] *P. pentosaceus*, yeast	Salted/pickled cucumber
Olives	*Lb. brevis*, *P. pentosaceus*, *Lb. plantarum*,[a] *Lb. pentosus*, yeast	Olives
Fruit juice	*Lb. casei*, *Lb. plantarum*, *Lb. xylosus*, *Lb. sakei*	Fruit juice
Wheat and rye	*Lb. sanfranciscensis*,[a] *Lb. brevis*,[a] *Lb. plantarum*,[a] *Lb. fermentum*,[a] *Lb. fructivorans*,[a] *Lb. delbrueckii*[a]	Sourdough

[a] Have been used as starter culture.

ที่มา : Josephsen and Jespersen (2004)

3. กล้าเชื้อสำหรับหมักเนื้อ (Cultures for Meat Fermentation)

กล้าเชื้อที่นำมาใช้ในการหมักเนื้อส่วนใหญ่จะใช้หมักผลิตภัณฑ์ไส้กรอก (sausages) กล้าเชื้อจะเป็นประเภท Single-strain หรือ Multiple-strain ของ LAB และ/หรือ Staphylococci แม้ว่าการผลิตไส้กรอกไม่มีการเติมกล้าเชื้อ แต่จะอาศัยเชื้อจุลินทรีย์ประจำถิ่นที่มีอยู่ในเนื้อทำหน้าที่ในการหมักแทน อย่างไรก็ตามข้อดีของการใช้กล้าเชื้อคือ ทำให้เกิดกรดอย่างรวดเร็ว เนื้อสัมผัสดีและ slice-ability

ผลิตภัณฑ์มีกลิ่นรสตามความต้องการ มีความปลอดภัยมากกว่า มีสีสวยและคงตัว ซึ่งทำให้สามารถควบคุมกระบวนการหมักได้ สำหรับ Staphylococci จะมีความสำคัญต่อการให้กลิ่นและสีที่คงตัวของผลิตภัณฑ์ ดังตารางที่ 2.8 แสดงกล้าเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้สำหรับผลิตไส้กรอก

ตารางที่ 2.8 ตัวอย่างของกล้าเชื้อจุลินทรีย์ที่เติมในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก

Products	Microorganisms	Comments
Semidry sausages	*Staphylococcus carnosus*	
	+/− *Lactobacillus pentosus*	
	+/− *Pediococcus pentosaceus*	
Dry sausages	*Staphylococcus xylosus*	
	± *Pediococcus pentosaceus*	
Special cultures	*Lactobacillus pentosus*	
	Lactobacillus sakei	Bioprotection
	Pediococcus pentosaceus	
	Pediococcus acidilactici	High temperature
	Pediococcus acidilactici	Enhanced safety
	Lactobacillus curvatus	
	Lactobacillus plantarum	
	Lactobacillus sakei	
	Lactobacillus curvatus	

+/−, with or without.

ที่มา : ดัดแปลงจาก Josephsen and Jespersen (2004)

กล้าเชื้อยีสต์ (Yeasts used as starter cultures)

ยีสต์ เป็นจุลินทรีย์ที่ใช้หมักน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ ยีสต์ที่ใช้คือ *Saccharomyces cerevisiae* ซึ่งเป็นยีสต์ที่มีหลายสายพันธุ์มาก แต่ละสายพันธุ์มีคุณสมบัติแตกต่างกัน เช่น ยีสต์ที่ใช้ทำขนมปัง (Bakers' yeast) จะผลิตก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มาก แต่ผลิตแอลกอฮอล์ได้น้อย และให้กลิ่นรสที่ไม่ดีเท่ากับยีสต์ที่ใช้ทำไวน์โดยเฉพาะ ส่วนยีสต์ที่ใช้หมักกากน้ำตาลสำหรับผลิตสุราขาว หรือเหล้ารัม จะมีคุณสมบัติที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตในกากน้ำตาลได้อย่างรวดเร็ว และผลิตแอลกอฮอล์ได้ก่อนที่น้ำหมักจะถูกแบคทีเรียปนเปื้อนเสียก่อน ดังนั้นในการผลิตสุราแต่ละชนิด จึงควรเลือกยีสต์ให้เหมาะกับชนิดของสุรานั้นๆ ดังตารางที่ 2.9 แสดงตัวอย่างของยีสต์แต่ละสายพันธุ์ที่นำมาเป็นกล้าเชื้อในอาหารหมัก

สำหรับผู้ผลิตที่ต้องการลดต้นทุนการผลิต โดยใช้ยีสต์ที่เพาะเลี้ยงเองในโรงงาน ก็สามารถทำได้ โดยเลี้ยงยีสต์บนอาหารวุ้นเอียง ที่เรียกกันว่ายีสต์สด และคอยต่อเชื้อทุกๆ 6 เดือน เพื่อไม่ให้เชื้อเกิดกลายพันธุ์หรือปนเปื้อนเชื้ออื่น

ตารางที่ 2.9 ตัวอย่างของกล้าเชื้อยีสต์ที่นำมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารหมัก

Fermented foods and beverages	Yeast species[a]	Products
Beer	*Saccharomyces cerevisiae*[b] *Saccharomyces pastorianus*[b]	Ale, stout, porter, Pilsner
Wine	*Saccharomyces cerevisiae*[b] *Saccharomyces bayanus*[b] *Candida* spp. *Hanseniaspora* spp. *Kloeckera* spp. *Metschnikowia* spp. *Pichia* spp.	Red and white wine, sherry,
Indigenous fermented beverages	*Saccharomyces cerevisiae*[b] *Candida* spp. *Galactomyces geotrichum* (*G. candidum*) *Hanseniaspora uvarum* (*K. apiculata*) *Kluyveromyces africanus* *Pichia* spp. *Rhodotorula* spp. *Saccharomyces* spp. *Schizosaccharomyces pombe* *Schizosaccharomyces japonicus* *Torulaspora delbrueckii* (*C. colliculosa*)	Kafir beer, plantain beer, palm wine, sugar cane wine, sake
Distilled alcohol	*Saccharomyces cerevisiae*[b] *Schizosaccharomyces pombe*	Whisky, rum, aquavit
Bread	*Saccharomyces cerevisiae*[b] *Saccharomyces exiguous* (*C. holmii*)	Wheat bread, rye bread
Cheese	*Debaryomyces hansenii* (*C. famata*)[b] *Galactomyces geotrichum* (*G. candidum*)[b] *Saccharomyces cerevisiae*[b] *Candida zeylanoides* *Yarrowia lipolytica* (*C. lipolytica*) *Kluyveromyces lactis* (*C. spherica*) *Kluyveromyces marxianus* (*C. kefyr*)	Surface-ripened cheeses, Camembert, Gorgonzola, and other blue-veined cheeses
Fermented milk	*Galactomyces geotrichum* (*G. candidum*)[b] *Candida* spp. *Kluyveromyces marxianus* (*C. kefyr*) *Saccharomyces unisporus* *Saccharomyces* spp. *Torulaspora* spp.	Viili, kefir, indigenous sour milk
Meat products	*Debaryomyces hansenii* (*C. famata*)[b] *Candida zeylanoides* *Debaryomyces polymorphus* *Pichia guilliermondii* (*C. guilliermondii*) *Pichia membranifaciens* (*C. valida*) *Cryptococcus* spp.	Sausages, cured ham, bacon

[a] Anamorph form is given in parenthesis.
[b] Commercial starter cultures are available.

ที่มา : Josephsen and Jespersen (2004)

กล้าเชื้อรา (Molds used as starter cultures)

กล้าเชื้อราสามารถนำมาใช้สำหรับผลิตภัณฑ์เนยแข็งและผลิตภัณฑ์เนื้อ มีการนำมาใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารพื้นเมืองอย่างหลากหลาย ซึ่งเกิดจากการหมักโดยธรรมชาติ ดังตารางที่ 2.10

ตารางที่ 2.10 ตัวอย่างของกล้าเชื้อราที่นำมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารหมัก

Fermented foods and beverages	Mold species	Products
Cheese	*Penicillium roqueforti*[a]	Roquefort, gorgonzola,
	Penicillium camemberti[a]	Danish blue, Camembert
Meat	*Penicillium camemberti*[a]	Meat sausage, dry-cured ham
	Penicillium chrysogenum[a]	
	Penicillium nalgiovense[a]	
	Penicillium aurantiogriseum	
	Penicillium commune	
	Penicillium olsonii	
	Penicillium solitum	
	Eurotium rubrum	
Wine	*Botrytis cinerea*	Sauternes, Tokay
Indigenous fermented foods	*Aspergillus oryzae*[a]	Soy sauce, tempeh, Chinese
	Aspergillus sojae[a]	soybean paste (sufu or furu),
	Actinomucor spp.	Japanese miso and shoyu
	Mucor spp.	
	Rhizopus oligosporus	
	Rhizopus oryzea	
	Rhizopus spp.	
Fermented fish	*Aspergillus penicillioides*	Indonesian dried salted fish
	Aspergillus wentii	
	Eurotium rubrum	
Indigenous fermented beverages	*Aspergillus oryzae*	Sake, Chinese, Indian and
	Aspergillus spp.	Thai spirits, wines and beers
	Mucor spp.	
	Rhizopus spp.	

[a] Commercial starter cultures are available.

ที่มา : Josephsen and Jespersen (2004)

เชื้อราที่ใช้หมักข้าว

การผลิตสาโทหรือสุรากลั่นที่ผลิตจากข้าว จะต้องมีการย่อยข้าวให้เปลี่ยนเป็นน้ำตาลเสียก่อน ยีสต์จึงจะหมักน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ ภูมิปัญญาไทยใช้การหมักข้าวด้วยลูกแป้ง ซึ่งมีเชื้อราอยู่ตามธรรมชาติ เช่น *Amylomyces rouxii*, *Rhizopus oryzae* เป็นต้น การผลิตสุราจากข้าวในเชิงอุตสาหกรรมมีความจำเป็นต้องใช้เชื้อราแทนการใช้ลูกแป้ง เพื่อให้สามารถผลิตสุราที่มีคุณภาพสม่ำเสมอ การผลิตเชื้อราเพื่อใช้ในการหมักข้าว จึงต้องคัดเลือกเชื้อราจากลูกแป้ง ที่มีคุณสมบัติเหมาะสมในการหมัก แล้วนำมาเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มจำนวนสปอร์ของรา โดยอาจเลี้ยงบนปลายข้าว หรือแป้ง ผสมกับรำข้าว เพื่อเพิ่มสารอาหารให้กับรา เมื่อราสร้างสปอร์แล้ว จึงนำไปอบแห้ง เพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อต่อไป

การผลิตลูกแป้ง

ลูกแป้ง คือ กล้าเชื้อจุลินทรีย์ที่เก็บในรูปเชื้อแห้งเป็นลูกกลมแบน ๆ เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3-4 ซ.ม. ลูกแป้งใช้ในการผลิตอาหารหมักหลายชนิดในประเทศแถบเอเชียเทคโนโลยีการผลิตและการใช้ลูกแป้งมีมาแต่โบราณก่อนที่มนุษย์จะเข้าใจถึงศาสตร์ทางจุลชีววิทยา โดยเข้ากันว่ามีต้นกำเนิดจากประเทศจีน และถ่ายถอดไปยังประเทศเพื่อนบ้าน สำหรับประเทศไทยลูกแป้งที่ใช้มาแต่โบราณถึงปัจจุบัน ได้แก่ ลูกแป้งข้าวหมาก ลูกแป้งสุราซึ่งใช้หมักสุรา กระแช่ น้ำข้าว สาโท และอุ และลูกแป้งน้ำส้มสายชูหรือที่เรียกว่าส่าน้ำส้ม

ชนิดของลูกแป้ง

ลูกแป้งสุรามี 3 ประเภท ได้แก่

1. ชนิดเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลเพียงอย่างเดียว
2. ชนิดที่ทำหน้าที่ 2 อย่าง
3. ชนิดที่เปลี่ยนแต่น้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์

ลูกแป้งทั้ง 3 ชนิดประกอบด้วยจุลินทรีย์หลายชนิดที่สำคัญคือเชื้อรา ซึ่งสามารถย่อยสลายแป้งเป็นน้ำตาล โดยใช้เอนไซม์กลุ่มอะไมเลส ประกอบด้วย อัลฟาอะไมเลส เบต้าอะไมเลส และ กลูโคอะไมเลส ย่อยโมเลกุลของแป้งให้เป็นน้ำตาลหลายโมเลกุล โมเลกุลคู่และโมเลกุลเดี่ยว ยีสต์ ซึ่งเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ โดยที่ยีสต์ในลูกแป้งข้าวหมากเป็นยีสต์ที่เปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ได้ไม่ดีนักแต่มีคุณสมบัติผลิตสารระเหยที่ให้กลิ่นหอม ในขณะที่มียีสต์ในลูกแป้งสุรา และลูกแป้งน้ำส้มสายชูมีประสิทธิภาพการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ได้สูงมาก

1. ลูกแป้งชนิดเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลเพียงอย่างเดียว

ลูกแป้งประเภทนี้ได้แก่ลูกแป้งหวานหรือลูกแป้งข้าวหมาก เชื้อที่ได้จากแป้งประเภทนี้คือ รา *Mucor* sp. มีหน้าที่ย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล ที่เรียกว่า น้ำต้อยในข้าวหมาก น้ำตาลที่ได้นั้นส่วนใหญ่จะเป็นน้ำตาลมอลโตส น้ำต้อยนี้จะมีรสหวานจัดและซ่านิด ๆ เนื่องจากคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดระหว่างการหมัก

2. ลูกแป้งชนิดที่ทำหน้าที่ 2 อย่าง

ลูกแป้งชนิดนี้ทำหน้าที่เปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล แล้วเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ไปด้วย โดยทั่วไปเรียกลูกแป้งชนิดนี้ว่า ลูกแป้งเล็กหรือลูกแป้งกลาง ตามขนาดของลูกแป้ง แต่ชาวบ้านมักจะเรียกว่า ลูกแป้งเหล้า ลูกแป้งชนิดนี้มีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมสุราพื้นบ้านเป็นอย่างมาก เพราะสามารถเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล และเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ได้โดยที่มีการเติมเชื้อเพียงครั้งเดียว สุราที่ใช้ข้าวเป็นวัตถุดิบผลิตมักใช้ลูกแป้งชนิดนี้เช่นกัน

3. ลูกแป้งชนิดที่เปลี่ยนแต่น้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์

ลูกแป้งชนิดนี้ทำหน้าที่เปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์เพียงอย่างเดียว ไม่สามารถเปลี่ยนแป้งให้เป็นแอลกอฮอล์ในขั้นตอนเดียว เรียกว่า ลูกแป้งใหญ่ เนื่องจากมีขนาดใหญ่ที่สุดในบรรดาลูกแป้งด้วยกัน

การที่ทำลูกแป้งชนิดนี้ให้มีขนาดใหญ่ก็เพื่อให้ลูกแป้งมีพื้นที่ผิวมาก เพื่อให้ยีสต์มีปริมาณมากขึ้น ลูกแป้งชนิดนี้ใช้ผสมน้ำตาลเพียงอย่างเดียว โดยยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ หากผสมกับแป้งหรือข้าวจะไม่ได้ผล จะใช้ผลิตสุราที่ใช้น้ำเหลืองอ้อยหรือกากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบในการหมัก

หัวเชื้อสำหรับผลิตสุรานั้นแบ่งเป็น 2 แบบ คือ

1. แบบพื้นบ้านที่ใช้สมุนไพรทั้งชนิดที่ยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ที่ไม่พึงประสงค์ และเร่งการทำงานของจุลินทรีย์ที่ต้องการ

2. จุลินทรีย์ที่ได้จากการคัดแยกและนำมาเพาะเลี้ยงตามกระบวนการทางวิทยาศาสตร์

องค์ประกอบหลักของลูกแป้งสุรา

1. ข้าวหรือแป้ง สามารถใช้ได้ทั้งข้าวเหนียวและข้าวเจ้า โดยที่ข้าวที่นำมาใช้ควรเป็นข้าวที่ไม่อับราหรือผ่านการแช่น้ำมาก่อน มีขนาดสม่ำเสมอ ไม่เป็นข้าวป่นหรือมีมอด เวลาแช่ต้องซาวเข้าเอาสิ่งสกปรกออกให้หมด

2. สมุนไพร มีสูตรการผลิตหลายตำหรับที่มักจะเก็บเป็นความลับ และถ่ายทอดให้ทราบภายในครอบครัว สมุนไพรที่ใช้มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน โดยไม่ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลลินทรีย์ที่จำเป็นต่อการหมัก สมุนไพรที่ใช้ต้องตากให้แห้ง สะอาดและไม่เก่าเกินไป

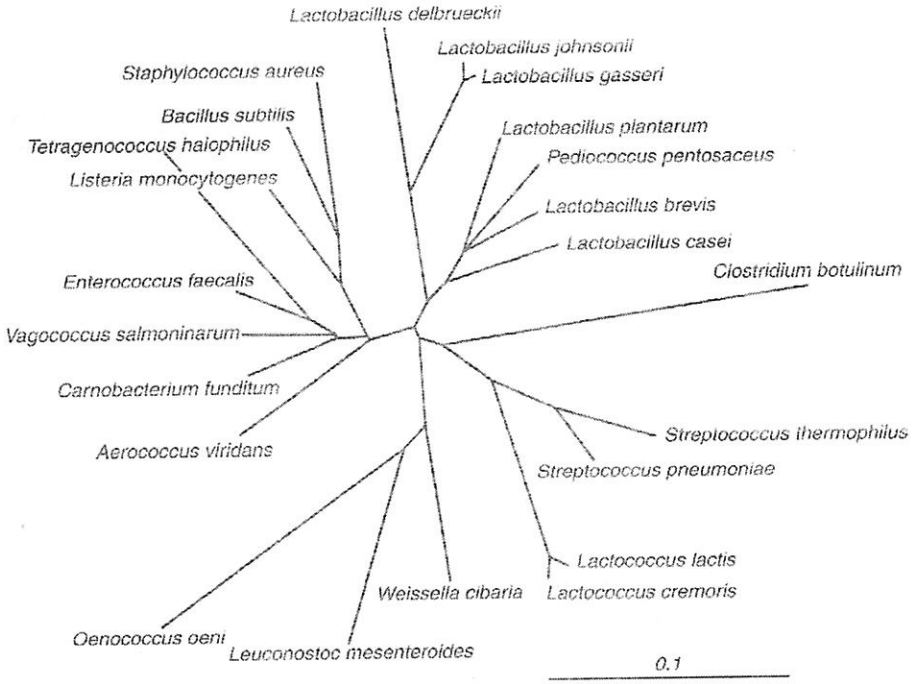
3. จุลินทรีย์ ที่เกี่ยวข้องในลูกแป้งเป็นกล้าเชื้อในการหมักในลูกแป้งมีส่วนผสมของเชื้อราและยีสต์ โดย รา ทำหน้าที่ย่อยแป้งได้มีหลายสายพันธุ์ได้แก่รามีเส้นใยสีขาวฟู รามีเส้นใยสีเทาดำ รามีเส้นใยสีเทาเหลือง รามีเส้นใยสีเหลืองเขียว และบางชนิดมีสีดำ ยีสต์ทำหน้าที่ทำการหมักน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์

บทที่ 3
จุลินทรีย์ในอาหารหมัก

อาหารหมักเป็นที่รู้จักของมนุษย์มานานและบริโภคกันทั่วทุกทวีป โดยมีลักษณะของอาหารแตกต่างกันไปตามวัฒนธรรมการบริโภคของพื้นที่นั้นๆ ที่รู้จักกันทั่วไปเช่น ผลิตภัณฑ์นมหมัก เนยชนิดต่างๆ นมเปรี้ยว หรือผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากผักผลไม้ เช่น ผัก ผลไม้ดอง ไวน์ บรั่นดี รวมถึงอาหารหมักพื้นเมือง แต่ทั้งนี้คุณภาพและกระบวนการหมักยังไม่สามารถควบคุมให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพสม่ำเสมอและปลอดภัยได้ จึงได้มีการศึกษาและพัฒนามาจนถึงปัจจุบัน ซึ่งพบว่าบทบาทสำคัญที่ทำให้เกิดคุณลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์มาจากจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในวัตถุดิบที่นำมาหมัก และรวมถึงปัจจัยแวดล้อมในกระบวนการหมักด้วย การจำแนกสิ่งมีชีวิตตามลักษณะลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16S rRNA แบ่งได้ 3 กลุ่มใหญ่ ได้แก่ *Eukarya*, *Bacteria* และ *Archaea* (ดังรูปที่ 3.1) ซึ่งจุลินทรีย์ในกระบวนการหมักอาหารชนิดหนึ่งๆ จะมีหลายชนิดเข้ามาที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ แบคทีเรีย ยีสต์ เชื้อรา และเอนไซม์ที่ผลิตจากจุลินทรีย์

1. กลุ่มแบคทีเรียที่มีความสำคัญในอาหารหมัก

แบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์ที่จัดอยู่ในกลุ่มโปรคาริโอต (procaryote) ไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส (nuclear membrane) มีขนาดเล็กมากตั้งแต่ 0.5-5 ไมโครเมตร รูปร่างมีหลายแบบ เช่น รูปกลม (coccus) รูปแท่ง (bacillus) และรูปเกลียว (spirillum) เป็นต้น สำหรับการเรียงตัวแตกต่างกัน เช่น โซ่ยาว (chain) คู่ (diplococci) คู่สี่ (tetrad) และเป็นกลุ่มไม่แน่นอน (diplococci) แต่เดิมแบคทีเรียหลายชนิดที่พบได้ในอาหารส่วนใหญ่เป็นสาเหตุให้การปนเปื้อนและทำให้อาหารเน่าเสียได้ง่าย เนื่องจากการเก็บรักษาไม่เหมาะสม จึงทำให้ผู้บริโภคหรือผู้ผลิตไม่ได้ให้ความสำคัญต่อกลุ่มของแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ในการควบคุมการผลิตอาหารหมักมากนัก ปัจจุบันมีการศึกษาและพัฒนามากขึ้นเป็นลำดับและพบว่าแบคทีเรียกลุ่มที่มีบทบาทสำคัญและได้รับความสนใจมากที่สุดคือ แบคทีเรียกรดแลคติก ซึ่งจัดอยู่ใน Domain Bacteria มีความสามารถในการใช้น้ำตาลกลูโคสแล้วเปลี่ยนเป็นกรดแลคติก (lactic acid) และแบคเทอริโอซิน (bacteriocin) เป็นต้น ซึ่งจะมีผลต่อกลิ่นและรสชาติของผลิตภัณฑ์ แบคทีเรียกรดแลคติกสามารถจำแนกได้เป็นหลายกลุ่ม ซึ่งสัมพันธ์กับหน้าที่การทำงานหรือสรีรวิทยา โดยที่การจำแนกแบบเก่า (old classification) พิจารณาจากลักษณะรูปร่าง การเรียงตัว การเจริญเติบโตที่อุณหภูมิที่เหมาะสม และพีเอชต่างๆ เป็นต้น ส่วนการจำแนกแบบใหม่ (new classification) จะศึกษารายละเอียดลึกลงไปโดยพิจารณาจากความสัมพันธ์ของดีเอ็นเอ และการศึกษาจาก 16s RNA ซึ่งผลลัพธ์ที่ได้จะแม่นยำกว่าการจำแนกแบบแรก



รูปที่ 3.1 Phylogenetic tree ของสิ่งมีชีวิต โดยอาศัยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16S rRNA
ที่มา : Hutkins (2006)

แบคทีเรียกรดแลคติก (Lactic acid bacteria)

แบคทีเรียกรดแลคติกเป็นแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับอาหารหมักที่พบทั่วไปในธรรมชาติ เช่น ในน้ำนม เนื้อสัตว์ ส่วนในพืชผักพบบ้างเล็กน้อย แบคทีเรียกรดแลคติกนอกจากจะมีบทบาทในการแปรรูปอาหารหมักดองแล้ว ยังมีผลให้เกิดการยับยั้งการเจริญและทำลายจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสียรวมทั้งจุลินทรีย์ที่ก่อโรคในอาหาร ด้วยธรรมชาติของการสร้างสารยับยั้งจุลินทรีย์นี้ เป็นข้อดีที่สามารถหลีกเลี่ยงการใช้สารกันเสียที่เป็นสารเคมีหรือสารสังเคราะห์ที่อาจส่งผลเสียต่อสุขภาพของผู้บริโภค ดังนั้นการคัดเลือกจุลินทรีย์ที่สามารถสร้างสารยับยั้งได้มากและมีประสิทธิภาพจึงเป็นที่สนใจขึ้นมากในปัจจุบัน

แบคทีเรียกรดแลคติกส่วนใหญ่ปนเปื้อนมาจากผลิตผลทางการเกษตร หรือเครื่องมือที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการหมัก จากที่กล่าวมาแล้วปัจจุบันได้มีการพัฒนาถึงการใช้ประโยชน์ของแบคทีเรียกลุ่มนี้เพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อในกระบวนการผลิตอาหารหมักหลากหลายชนิด เช่น ผลิตภัณฑ์นมหมัก ไส้กรอกหมัก ผักผลไม้ดอง ฯลฯ การปรับปรุงเทคนิคการผลิตและการใช้กล้าเชื้อจุลินทรีย์ในกระบวนการหมักส่งผลให้เกิดการพัฒนากระบวนการหมักและผลิตภัณฑ์อาหารหมักที่มีคุณภาพและเก็บรักษาได้นานขึ้น บทบาทและกิจกรรมหลักของแบคทีเรียกรดแลคติกต่อผลิตภัณฑ์อาหารคือ เปลี่ยนแปลงคาร์โบไฮเดรตในอาหารให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเล็กๆ ขณะเดียวกันมีการสร้างสารต่อต้านสารจุลินทรีย์ เช่น แบคเทอริโอซิน ในปริมาณและประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์แต่ละชนิดแตกต่างกัน ประโยชน์ของคุณสมบัติกล้าเชื้อจุลินทรีย์ทั้งในด้านการปรับปรุงคุณภาพผลิตภัณฑ์หรือด้านความปลอดภัยของอาหาร ทำให้

อุตสาหกรรมการผลิตอาหารหมักโดยใช้กล้าเชื้อขยายวงกว้างขึ้นและมีการแข่งขันกันสูง การใช้กล้าเชื้อต้องเป็นไปตามข้อกำหนด กล่าวคือต้องเป็นกล้าเชื้อที่บริสุทธิ์ไม่เป็นพิษ ไม่ทำให้เกิดโรคอาหาร หรือผลิตพิษที่ส่งผลให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพ กล้าเชื้อที่ดีต้องมีกิจกรรมการหมักที่ดี เช่น การสร้างกรดซึ่งมีผลต่อกลิ่นรส มีผลต่อสีต่างๆ ที่ต้องการ มีความคงตัวของผลิตภัณฑ์สูง มีคุณสมบัติที่ทนต่อฟาจก์ และไม่สร้างสารที่มีผลต่อการยับยั้งกิจกรรมการหมัก

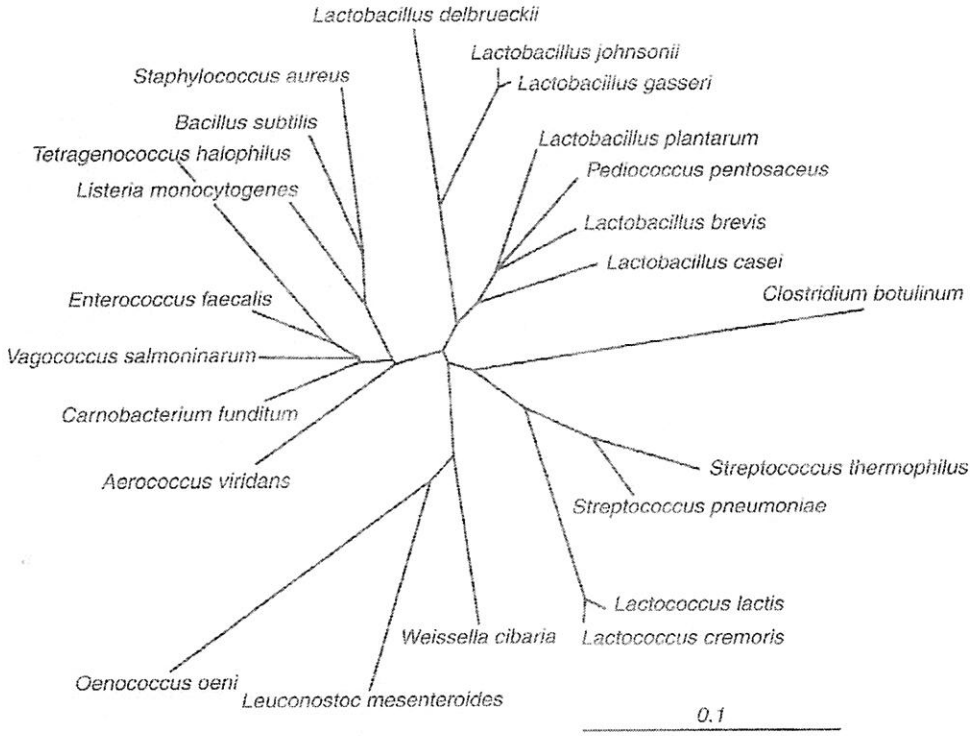
คุณลักษณะของแบคทีเรียกรดแลคติก

แบคทีเรียกรดแลคติกเป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างเอนไซม์แคตาเลส ไม่ต้องการอากาศ ลักษณะสัณฐานวิทยา พบว่า มีทั้งรูปร่างแท่งและรูปร่างกลม การจัดเรียงกลุ่มแบคทีเรียแลคติกในสกุลต่างๆ ขึ้นอยู่กับรูปร่างลักษณะรูปแบบของการหมักน้ำตาลกลูโคส การใช้น้ำตาลชนิดต่างๆ และการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ การผลิตเกลือแลคติกเจริญในที่มีเกลือความเข้มข้นสูงและการทนต่อกรดหรือด่าง ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของแบคทีเรียกลุ่มนี้ได้จากการใช้น้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลแลคโตสเป็นแหล่งคาร์บอน แบคทีเรียกรดแลคติกมีทั้งหมด 12 Genera ดังตารางที่ 3.1 จัดอยู่ใน phylum *Firmicutes*, Order Lactobacillales โดยอาศัยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16S rRNA แบคทีเรียกรดแลคติกมีวิวัฒนาการกว้างมาก ดังรูปที่ 3.2 ซึ่งกลุ่มที่มีลักษณะเด่นชัดจะประกอบด้วย 5 sub-clusters ได้แก่ (1) *Streptococcus-Lactococcus* branch (Family *Lactobacillaceae*), (2) *Lactobacillus* branch (Family *Lactobacillaceae*), (3) *Lactobacillus-Pediococcus* branch (Family *Lactobacillaceae*), (4) *Oenococcus-Leuconostoc-Weisella* branch (Family *Leuconostocaceae*) และ (5) *Carnobacterium-Aerococcus-Enterococcus-Tetragenococcus-Vagococcus* branch (Families *Carnobacteriaceae-Aerococcaceae-Enterococcaceae*) โดยแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีความสำคัญเกี่ยวข้องกับการหมักอาหารมีอยู่ 7 สกุล จากทั้งหมด 12 สกุล ได้แก่ *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus,* *Tetragenococcus* และ *Lactobacillus*

ตารางที่ 3.1 สันฐานวิทยาและคุณลักษณะทางสรีรวิทยาของแบคทีเรียกรดแลคติก

Genus	Cell Morphology	Fermentation route	Growth at: 10°C	Growth at: 45°C	Growth in NaClat: 6.5%	Growth in NaClat: 18%	Growth at pH: 4.4	Growth at pH: 9.6	Lactic acid isomer
Lactobacillus	rods	homo/hetero	±	±	±	−	±	−	D, L, DL
Lactococcus	cocci	homo	+	−	−	−	±	−	L
Leuconostoc	cocci	hetero	+	−	±	−	±	−	D
Oenococcus	cocci	hetero	+	+	±	−	±	−	D
Pediococcus	cocci (tetrads)	homo	±	±	±	−	+	−	D, L, DL
Streptococcus	cocci	homo	−	+	−	−	−	−	L
Tetragenococcus	cocci (tetrads)	homo	+	−	+	+	−	+	L
Aerococcus	cocci (tetrads)	homo	+	−	+	−	−	+	L
Carnobacterium	rods	hetero	+	−	−	−	−	−	L
Enterococcus	cocci	homo	+	+	+	−	+	+	L
Vagococcus	cocci	homo	+	−	−	−	±	−	L
Weissella	coccoid	hetero	+	−	±	−	±	−	D, L, DL

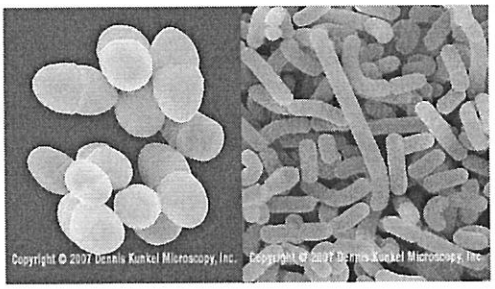
ที่มา : Hutkins (2006)



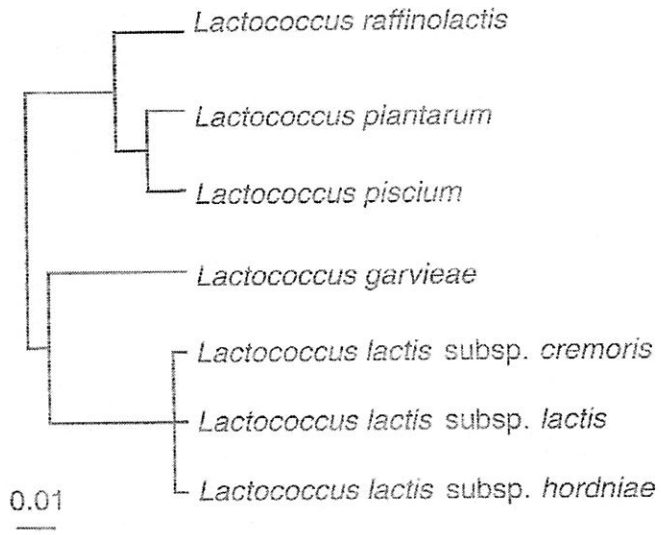
รูปที่ 3.2 Phylogeny ของแบคทีเรียกรดแลคติกและแบคทีเรียแกรมบวกต่างๆ โดยอาศัยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16S rRNA

ที่มา : Hutkins (2006)

(1) สกุล *Lactococcus*

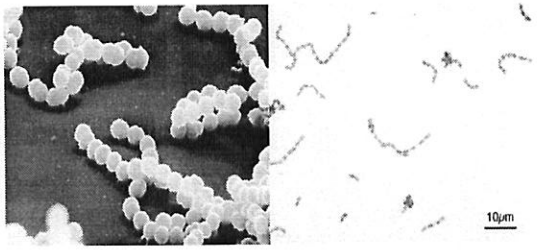


แบคทีเรียในสกุล *Lactococcus* ประกอบด้วย 5 phylogenetically-distinct species ได้แก่ *Lactococcus lactis*, *Lactococcus garviae, Lactococcus piscium, Lactococcus plantarum* และ *Lactococcus raffinolactis* ดังรูปที่ 3.3 เซลล์มีรูปร่างกลมหรือรูปไข่ (Ovoid) เรียงตัวเป็นคู่หรือสายสั้นๆ ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนที่ จัดเป็น Facultative anaerobes (แต่ไม่ผลิต Catalase และ Oxidase) และเป็น Chemoorganotrophs ที่ย่อยสลายสารประกอบคาร์โบไฮเดรตได้หลายชนิดและให้ผลผลิตเป็น L(+)-Lactic acid เป็นหลัก แต่ไม่สร้างแก๊ส มีความต้องการสารอาหารที่สมบูรณ์ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญคือ 30°C สามารถเจริญได้ที่ 10°C แต่ไม่เจริญที่ 45°C ไม่ต้องอาศัยเกลือโซเดียมคลอไรด์ในการเจริญ มักพบแบคทีเรียสกุลนี้ในผลิตภัณฑ์นมหมักและผลิตภัณฑ์จากพืช



รูปที่ 3.3 Phylogeny ของ *Lactococcus* โดยอาศัยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16S rRNA
ที่มา : Hutkins R.W. (2006)

(2) สกุล *Streptococcus*

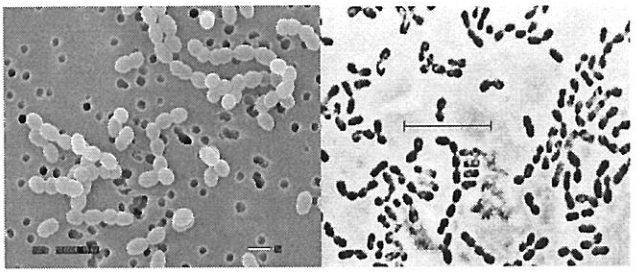


เซลล์มีรูปร่างกลมหรือรูปไข่ มักอยู่เป็นคู่หรือสายเซลล์ ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนที่ บาง Species สร้างแคปซูล (Capsule) จัดเป็น Facultative anaerobes ที่ไม่สร้าง Catalase และเป็น Chemoorganotrophs ต้องการสารอาหารที่สมบูรณ์ในการเจริญ บางครั้งต้องการคาร์บอนไดออกไซด์ 5% ในการเจริญ ย่อยสลายสารประกอบ

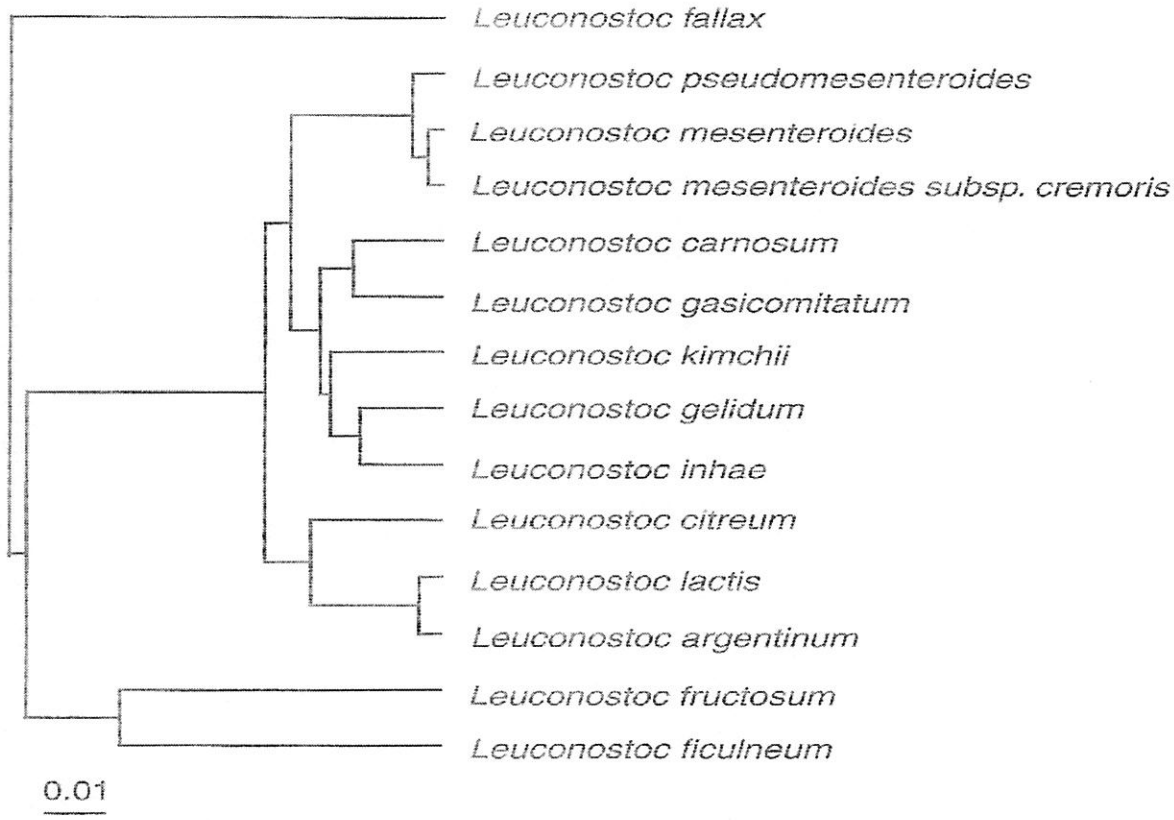
คาร์โบไฮเดรตได้หลายชนิดและให้ผลผลิตเป็น Lactic acid เป็นหลัก ไม่สร้างแก๊ส ช่วงอุณหภูมิที่เจริญได้ดีคือ 25-45°C ปัจจุบันมีเพียง Species เดียวเท่านั้นที่จัดเป็นแบคทีเรียปลอดภัยในกลุ่มแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีการใช้ประโยชน์ คือ *Streptococcus thermophilus* หลาย Species ที่เป็นสาเหตุของเชื้อก่อโรคที่เกิดกับคนและสัตว์

Streptococcus thermophilus นิยมใช้เป็นกล้าเชื้อในการหมักผลิตภัณฑ์นม มีรูปร่างเซลล์กลมถึงรูปไข่ พบอยู่เป็นคู่หรือสายเซลล์ยาว เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37-40°C แต่ไม่เจริญที่ 52°C เป็น Facultative anaerobes เมื่อเจริญในอาหารเหลวที่มี Glucose เป็นส่วนประกอบแล้ว ทำให้ pH ลดลงถึง 4.0 และผลิต L(+)-Lactic acid สามารถย่อยสลาย Glucose, Mannose และ Lactose ต่ำไม่สามารถใช้ Galactose และ Sucrose เซลล์อยู่รอดที่อุณหภูมิ 60°C ได้นาน 30 นาที

(3) สกุล *Leuconostoc*

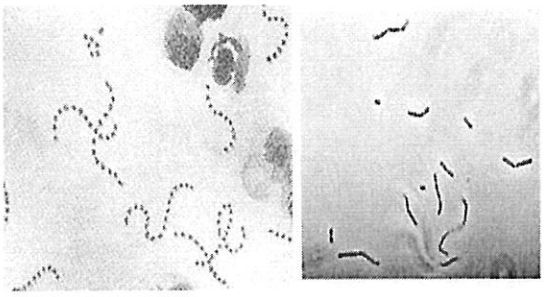


แบคทีเรียในสกุล *Leuconostoc* ประกอบด้วย 13 species ดังรูปที่ 3.4 เซลล์มีรูปร่างกลมหรือมักมีความยาวมากกว่าความกว้าง เหมือนกับท่อนสั้นๆ ที่มีหลายเซลล์กลม ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนที่ การเจริญช้า มักสร้างโคโลนีที่มีสารเมือก (Slimy colony) บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี Sucrose เป็นส่วนประกอบ มีความสามารถในการหมัก (Fermentation) น้ำตาล Mono- และ Disaccharides และเมื่อหมัก Glucose จะเกิดทั้งกรดและแก๊ส ผลผลิตหลักจากกระบวนการหมักคือ D(-)-Lactic acid และเอทานอล pH สุดท้ายในอาหารที่มี Glucose อยู่ในช่วง 4.5-5.0 จัดเป็น Facultative anaerobes และเป็น Chemoorganotrophs ต้องการสารอาหารสมบูรณ์ในการเจริญ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญอยู่ในช่วง 18-25 °C บาง species เจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 10 °C ไม่สร้าง Catalase ไม่ไฮโดรไลซ์ Arginine ไม่สร้าง indole ไม่รีดิวส์ไนเตรท ซึ่งลักษณะของแบคทีเรีย *Leuconostoc* แสดงดังตารางที่ 3.2 สามารถพบแบคทีเรียในสกุล *Leuconostoc* ได้ทั่วไปในกะหล่ำปลีดอง (sauerkraut) ผลิตภัณฑ์นมและผลิตภัณฑ์อาหารอื่นๆ ไม่ก่อให้เกิดโรคทั้งกับพืชและสัตว์ Type species คือ *Leuconostoc mesenteroides*



รูปที่ 3.4 Phylogeny ของ *Leuconostoc* โดยอาศัยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16S rRNA
ที่มา : Hutkins (2006)

(4) สกุล *Oenococcus*



แบคทีเรียสกุลนี้ถูกกำหนดขึ้นในปี 1995 มีเพียง species เดียวเท่านั้นคือ *Oenococcus oeni* เป็นแบคทีเรียที่อยู่ในกลุ่ม *Leuconostocaceae* ซึ่งมีลักษณะโดยทั่วไปเช่นเดียวกับ *Leuconostoc* spp. มักพบ *O. oeni* ในกระบวนการหมักไวน์เท่านั้น สามารถเจริญเติบโตในอาหารที่มี pH ต่ำกว่า 5.0 และสามารถเจริญได้ดีในอาหารที่มีการเติม 10% ethanol บางครั้งใช้ *O. oeni* เพื่อเร่งกระบวนการ Malolactic fermentation ในไวน์ โดยการใช้ Malate ในไวน์เกิดเป็น Lactic acid และคาร์บอนไดออกไซด์ เพื่อลดความเป็นกรดของไวน์

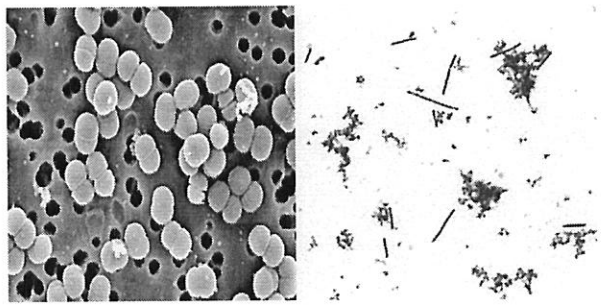
ตารางที่ 3.2 คุณลักษณะของแบคทีเรีย *Leuconostoc* และ *Oenococcus*

Property	*Leuconostoc mesenteroides* subsp.			*Leuconostoc*	*Oenococcus*
	cremoris	*mesenteroides*	*dextranicum*	*lactis*	*oeni*
% G+C	38–44	28–32	28–32	37–42	37–42
Growth at 37°C	−	±	+	+	±
Growth at pH 4.8	−	−	−	−	+
Dextran from sucrose	−	+	+	−	−
Growth in 10% ethanol	−	−	−	+	+
Acid from:					
arabinose	−	+	−	−	±
fructose	−	+	+	+	+
maltose	±	+	+	+	−
melibiose	±	+	+	±	±
salicin	−	±	±	±	+
sucrose	−	+	+	+	−
trehalose	−	+	+	−	+

ที่มา : Hutkins (2006)

(5) สกุล *Pediococcus*

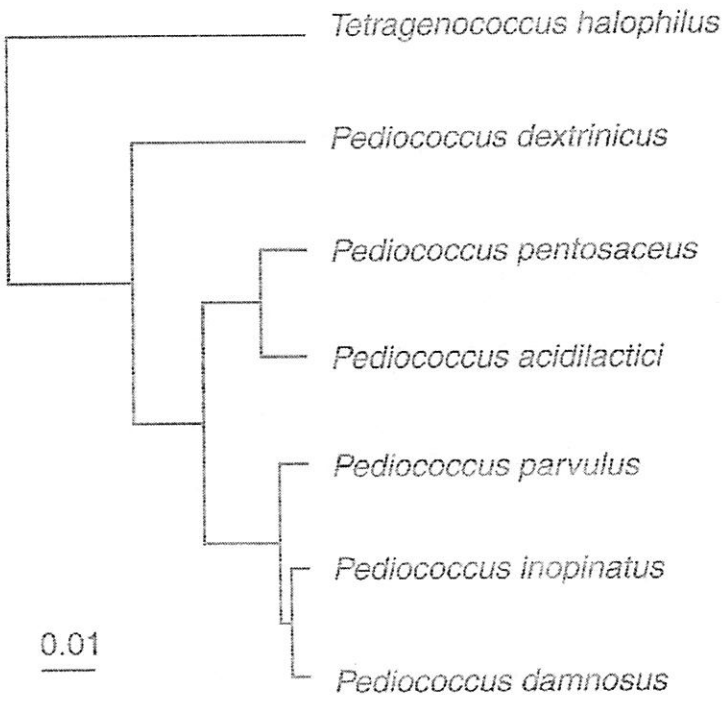
แบคทีเรียในสกุล *Pediococcus* ประกอบด้วย 6 species ดังรูปที่ 3.5 เซลล์มีรูปร่างกลม มีการแบ่งเซลล์ได้สองระนาบทำให้เกิดการสร้างเซลล์แบบสี่เซลล์ที่เรียกว่า Tetrads ภายใต้สภาวะการเจริญที่ดี แต่บางครั้งก็พบเซลล์อยู่เป็นคู่ มักไม่พบอยู่เดี่ยวหรือเป็นสาย ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ จัดเป็น Facultative anaerobes, Microaerophiles และบางสายพันธุ์เป็น Anaerobes และเป็น Chemoorganotrophs มีความต้องการสารอาหารที่สมบูรณ์ สามารถใช้สารคาร์โบไฮเดรตประเภท Mono- และ Disaccharides ได้เป็นหลัก เมื่อหมัก Glucose จะเกิดกรดที่เป็น DL หรือ L(+)-Lactic acid ต่ำ ไม่เกิดแก๊ส ไม่สร้าง Catalase ไม่มี Cytochromes ไม่รีดิวส์ไนเตรท อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญอยู่ในช่วง 25-40°C บาง species เจริญได้ที่อุณหภูมิสูงถึง 50°C ทนต่อความเป็นกรดสูง (เจริญได้ดีที่ pH 4.2) เจริญได้ที่ 6.5% NaCl ซึ่งลักษณะของ *Pediococcus* แสดงดังตารางที่ 3.3 นิยมใช้เป็นกล้าเชื้อสำหรับหมักไส้กรอก (sausage) พบแบคทีเรียในสกุลนี้ได้ทั่วไปในพืชผัก นม น้ำทะเลและเบียร์ ไม่พบว่าเป็นสาเหตุของโรคทั้งพืชและสัตว์ แต่ทำให้เกิดการเน่าเสียในเบียร์ ไวน์และไซเดอร์ (cider) *Pediococcus* ที่มีความสำคัญต่อการผลิตอาหารหมัก 2 species คือ *Pediococcus acidilactici* และ *Pediococcus pentosaceus*



ตารางที่ 3.3 คุณลักษณะของแบคทีเรีย *Pediococcus*

Property	*Pediococcus acidilactici*	*Pediococcus pentosaceus*	*Pediococcus damnosus*
% G+C	38–44	37	37–42
Growth at:			
35°C	+	+	−
40°C	+	+	−
50°C	+	−	−
Optimum growth temperature (°C)	40	28–32	28–32
Growth at:			
pH 4.2	+	+	+
pH 7.0	+	+	−
Growth in:			
4.0% NaCl	+	+	−
6.5% NaCl	+	+	−
Arginine hydrolysis	+	+	−

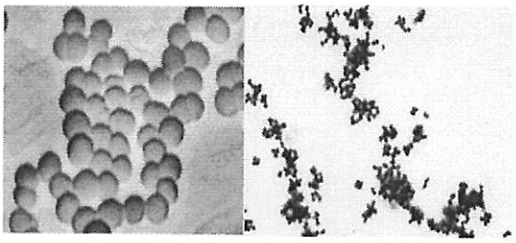
ที่มา : Hutkins (2006)



รูปที่ 3.5 Phylogeny ของ *Pediococcus* โดยอาศัยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16S rRNA

ที่มา : Hutkins (2006)

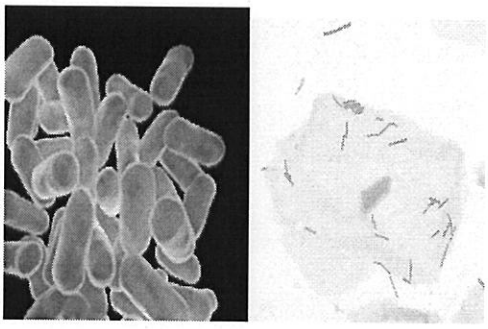
(6) สกุล *Tetragenococcus*



แบคทีเรียในสกุล *Tetragenococcus* มีลักษณะโดยทั่วไปคล้าย pediococci จัดเป็น homofermentative การเรียงตัวของเซลล์แบบ Tetrads การเจริญแบบ Facultative anaerobes อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตอยู่ระหว่าง 25-30°C และ pH ระหว่าง 6.5-8.0 Genus นี้มีเพียง 3 species เท่านั้น ได้แก่ *Tetragenococcus halophilus, Tetragenococcus muriaticus* และ *Tetragenococcus solitarius* โดยอาศัยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16S rRNA โดยแบคทีเรีย *Tetragenococcus* สามารถเจริญได้ดีที่ 3%-10% NaCl ไม่สามารถเจริญได้ในอาหารที่ไม่มีเกลือ นอกจากนี้ยังสามารถเจริญได้เมื่อค่า Aw (water activity) ต่ำ

(7) สกุล *Lactobacillus*

แบคทีเรียในสกุล *Lactobacillus* มีมากกว่า 80 species ดังรูปที่ 3.6 เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่มีลักษณะทางสัณฐานของเซลล์ตั้งแต่เป็นท่อนยาวจนถึงท่อนสั้น ชนิด Coccobacilli ซึ่งมักมีการเรียงตัวเป็นสาย ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนที่แต่อาจพบการเคลื่อนที่ได้บ้างโดย Peritrichous flagella เจริญได้ทั้งสภาวะ Facultative anaerobes และ Microaerophiles บาง species มีความทนทานต่อออกซิเจน (Aerotolerant) ซึ่งอาจมีการใช้ออกซิเจน Flavoprotein oxidase หลาย species เป็น Anaerobes ซึ่งปกติสามารถกระตุ้นการเจริญได้ด้วยการให้คาร์บอนไดออกไซด์ 5% ไม่สร้าง Catalase *Lactobacillus* จัดเป็น Chemoorganotrophs มีการเจริญที่ pH 5.5-5.8 ต้องการสารอาหารที่สมบูรณ์ทั้งกรดอะมิโน (Amino acid) เพปไทด์ (Peptides) นิวคลีโอไทด์เบส (Nucleotide base) วิตามิน (Vitamins) แร่ธาตุ (Minerals) กรดไขมัน (Fatty acids) สามารถย่อยสลายกลูโคสและคาร์โบไฮเดรตอื่นๆ เป็น Lactic acid (อย่างน้อย 50%) ไม่รีดิวส์ไนเตรท ไม่ย่อยเจลาติน อุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเจริญอยู่ในช่วง 30-45°C

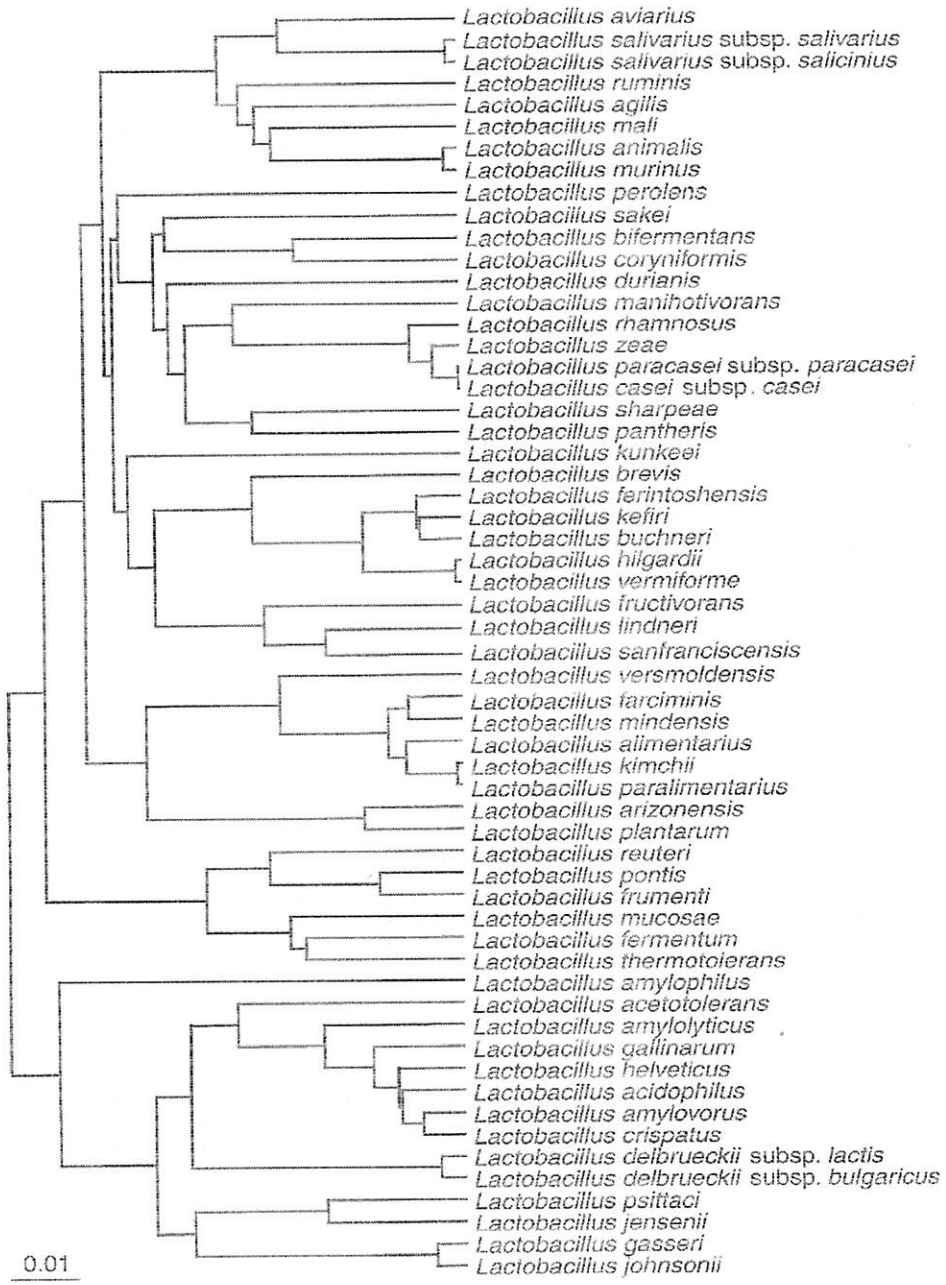


Species ซึ่งเป็นสมาชิกของแบคทีเรียในสกุล *Lactobacillus* นี้ยังจัดจำแนกได้เป็น 3 กลุ่ม (แสดงรายละเอียดดังตารางที่ 3.4) คือ

กลุ่มที่ 1 Homofermentative species กลุ่มที่ให้ผลผลิตเป็น Lactic acid มากกว่า 85% จากกลูโคสหรือน้ำตาลชนิด Hexoses และ Disaccharides เช่น Lactose และ Sucrose และไม่เฟอร์เมนต์น้ำตาล Pentoses เช่น Ribose, Xylose หรือ Arabinose

กลุ่มที่ 2 Heterofermentative species กลุ่มที่ให้ผลผลิตเป็น Lactic acid 50% และสารอื่นในปริมาณที่สมดุลขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณของคาร์โบไฮเดรตที่มีในสภาพที่เจริญ แบคทีเรียกลุ่มนี้อาจจะผลิตกรดผสมที่มีทั้ง Lactic acid, Acetic acid, Formic acid, Ethanol และคาร์บอนไดออกไซด์

กลุ่มที่ 3 Heterofermentative species กลุ่มที่ให้ผลผลิตเป็น Lactic acid ที่เป็น DL-Lactic acid, Acetic acid, Ethanol และคาร์บอนไดออกไซด์



รูปที่ 3.6 Phylogeny ของ *Lactobacillus* บาง species โดยอาศัยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16S rRNA

ที่มา : Hutkins (2006)

ตารางที่ 3.4 ลักษณะการหมักของแบคทีเรีย *Lactobacillus*

Representative strains	% G+C	Growth at 15°C	Fermentation of: Cel	Fru	Gal	Lac	Mal	Starch	Suc	Arginine Hydrolysis
Group I										
Obligate homofermentative										
Lactobacillus acidophilus	34-37	−	+	+	+	+	+	nd	+	−
Lactobacillus delbrueckii	49-51	−	±	+	−	+	±	nd	±	±
Lactobacillus helveticus	38-40	−	+	±	+	+	±	nd	−	−
Lactobacillus amylophilus	44-46	−	−	+	+	−	+	+	−	nd
Lactobacillus amylovorus	40-41	−	+	+	−	−	+	+	+	nd
Lactobacillus crispatus	35-38	−	+	+	+	+	+	nd	+	−
Lactobacillus gasseri	33-35	−	+	+	+	±	±	nd	+	−
Lactobacillus jensenii	35-37	−	+	+	+	−	±	nd	+	+
Group II										
Facultative heterofermentative										
Lactobacillus paracasei	46	nd	+	−	−	±	+	nd	+	−
Lactobacillus curvatus	43	nd	+	+	+	±	−	nd	−	−
Lactobacillus plantarum	45	+	+	+	+	+	−	nd	+	−
Lactobacillus sakei	43	nd	+	+	+	+	−	nd	+	−
Lactobacillus bavaricus	43	nd	+	−	+	+	+	nd	+	−
Lactobacillus homohiochii	36	+	±	−	−	−	+	nd	−	−
Lactobacillus coryniformis	36	+	−	−	+	±	+	nd	+	−
Lactobacillus alimentarius	36	nd	+	−	+	−	+	nd	−	−
Group III										
Obligate heterofermentative										
Lactobacillus fermentum	53	+	±	±	+	+	+	nd	+	+
Lactobacillus sanfranciscensis	37	nd	−	−	+	−	+	nd	−	−
Lactobacillus reuteri	41	nd	−	+	+	+	+	nd	+	+
Lactobacillus buchneri	45	nd	−	+	±	±	+	nd	±	+
Lactobacillus brevis	45	nd	−	+	±	±	+	nd	±	+
Lactobacillus kimchii	35	−	+	+	W	−	+	−	+	−
Lactobacillus kefiri	41	nd	−	+	−	±	+	nd	−	+
Lactobacillus divergens	34	+	−	+	±	−	±	nd	+	+

nd = Not determines

W = Weak positive reaction

Cel = cellulose; Fru = fructose; Gal = galactose; Lac = lactose; Mal = maltose; Suc = sucrose

ที่มา : Hutkins (2006)

ประโยชน์ของแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีต่ออาหารหมัก

1. เพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ ในกลุ่มของธัญพืชคุณค่าทางอาหารของผลิตภัณฑ์ที่เพิ่มขึ้นมาเกิดจากกิจกรรมที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการผลิต เช่น กรดอะมีโนที่จำเป็น โปรตีน วิตามิน จุลินทรีย์บางชนิดสังเคราะห์วิตามินที่จำเป็นต่อการเจริญ ทำให้องค์ประกอบของวิตามินในอาหารที่ผ่านกระบวนการหมักสูงกว่าอาหารที่ไม่ผ่านกระบวนการหมัก เช่น เทมเป้จากข้าวสาลีพบว่าปริมาณของไนอะซิน ไรโบฟลาวิน และไทอะมินก่อนการหมักเท่ากับ 46.0, 3.2 และ 3.2 ไมโครกรัม/กรัม เพิ่มเป็น 135, 3.2 และ3.2 ไมโครกรัม/กรัม ภายหลังการหมัก โดยส่วนใหญ่จะมีปริมาณของวิตามินเพิ่มขึ้น

2. ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อโรคในอาหารในอาหารหมัก ทำให้ผลิตภัณฑ์มีความปลอดภัยสูงขึ้นและเก็บรักษาได้นาน ปัจจัยหลักที่เกี่ยวข้องกับการยับยั้งคือ การสร้างกรดหรือการลดลงของค่าพีเอช เช่น กรดแลคติก กรดอะซิติก นอกจากนี้ยังมีสารประกอบอื่นๆ ที่เกิดขึ้นและยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆได้ เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ แบคเทอริโอซิน ซึ่งเป็นสารอินทรีย์ประเภทพอลีเปปไทด์ โครงสร้างทางเคมีเกิดจากการเรียงตัวของกรดอะมิโนเป็นสายยาว มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียกลุ่มนี้ที่ใกล้เคียงกัน แบคทีเรียกรดแลคติกแต่ละสายพันธุ์จะให้คุณสมบัติของแบคเทอริโอซินที่แตกต่างกันไป ทั้งคุณสมบัติในการยับยั้งของแบคทีเรียชนิดอื่น โครงสร้างโมเลกุล สมบัติทางพันธุกรรมและสมบัติทางชีวเคมี

3. ลดปริมาณคอเลสเตอรอลในกระเลือด การบริโภคผลิตภัณฑ์นมหมักจะช่วยในการยับยั้งการเกิดคอเลสเตอรอลในร่างกายได้ นอกจากนี้อาจมีผลในการลดน้ำหนักได้ ภายในสัปดาห์จะต้องบริโภคผลิตภัณฑ์ควบกับการออกกำลังกายอย่างสม่ำเสมอ นอกจากนี้ในการทำโยเกิร์ตยังมีองค์ประกอบของสารในการยับยั้งการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล ดังนั้นการบริโภคผลิตภัณฑ์นมหมักที่มีเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* จะช่วยให้คอเลสเตอรอลในเลือดลดลง การบริโภคคีเฟอร์ ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์นมหมักประเภทหนึ่งที่มีผลดีต่อสุขภาพหลายประการ เพราะมีคุณค่าทางโภชนาการหลายอย่างและยังส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกันให้กับร่างกาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งการย่อยแลคโตส

4. **ช่วยในการป้องกันการเกิดมะเร็ง** *Lactobacillus acidophilus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับมะเร็งในลำไส้ใหญ่ ในการศึกษาการบริโภคอาหารประเภทเนื้อแดง พบว่าระดับของเอนไซม์เบต้า-lucuroniase, azoreductase เอนไซม์ introreductase เพิ่มสูงกว่าการบริโภคอาหารประเภทผัก เอนไซม์เหล่านี้ยังมีความเกี่ยวข้องกับการเพิ่มการเปลี่ยนแปลงของ procacinogen ไปเป็น carcinogen ในส่วนปลายของลำไส้ สิ่งเหล่านี้ทำให้มีโอกาสในการเกิดโรคมะเร็งของผู้บริโภคลดลง

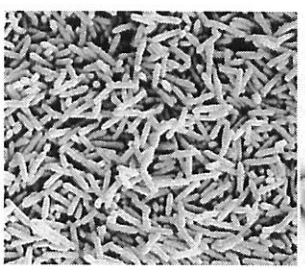
5. ช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกัน มีการศึกษาพบว่าแบคทีเรียกรดแลคติกเป็นตัวกระตุ้นภูมิคุ้มกัน โดยมีความไวต่อ microphage lymcocyte ทำให้เพิ่มระดับของ immunogiobulin (lgA) และผลิต gamma interferon ซึ่งผลดังกล่าวทำให้มีความต้านทานต่อความให้เกิดโรค (pathogens) และยังมีคุณสมบัติเป็น antitumor โดยเฉพาะ *lactobacillus acidophilus*

แบคทีเรียชนิดอื่นที่มีความสำคัญในอาหารหมัก

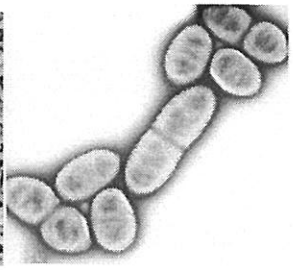
นอกจากแบคทีเรียกรดแลคติกแล้ว ยังมีแบคทีเรียชนิดอื่นๆ ที่มีความสามารถในกระบวนการหมักอาหารอีกหลายชนิด ได้แก่ *Acetobacter, Gluconobacter, Gluconoacetobacter, Bacillus, Bifidobacterium, Brevibacterium, Kocuria, Micrococcus, Staphylococcus* และ *Propionibacterium* ซึ่งมีความสำคัญดังต่อไปนี้

(1) แบคทีเรียในสกุล *Acetobacter, Gluconobacter* และ *Gluconoacetobacter*

แบคทีเรียในสกุลนี้เป็นแบคทีเรียแกรมบวก เซลล์มีรูปร่างเป็นท่อน เมื่อนำมาหมักอาหารจะมีการผลิตกรดอะซีติก โดยกระบวนการออกซิเดชั่นของเอทานอล เจริญได้ดีในสภาวะที่มีออกซิเจน บาง species มีความสามารถในการออกซิไดส์กรดอะซีติก กลายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ แบคทีเรียกลุ่มนี้เจริญได้ดีที่อุณหภูมิระหว่าง 25-30 °C แม้ว่ากลุ่ม acetobacteria จะทนต่อความเป็นกรด (acid-tolerant) แต่โดยทั่วไปจะเจริญได้ดีที่ pH ระหว่าง 5.3-6.3 แบคทีเรียกลุ่มนี้นำมาใช้ประโยชน์ในการหมักน้ำส้มสายชู (vinegar) สำหรับ species อื่นที่นำมาหมักน้ำส้มสายชูเช่นเดียวกันประกอบด้วย *Acetobacter orleanensis, Acetobacter pasteurianus* subsp. *pasteurianus, Gluconoacetobacter europaeus* และ *Gluconoacetobacter xylinus*



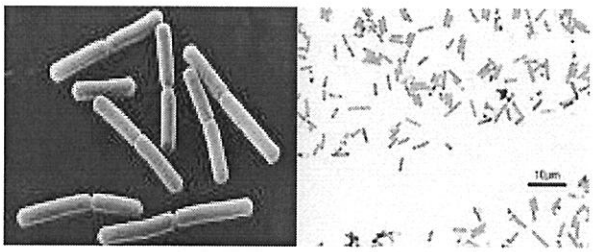
Acetobacter



Gluconobacter

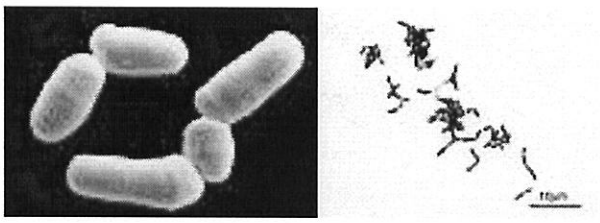
(2) แบคทีเรียในสกุล *Bacillus*

แบคทีเรียในสกุล *Bacillus* สามารถพบได้โดยทั่วไปในอาหาร เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่มีความแตกต่างของคุณสมบัติในจีนัสอย่างมาก เช่น สารอาหารและอุณหภูมิที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต และความทนต่อปริมาณเกลือ เป็นต้น เชื้อ *Bacillus* มีทั้ง aerobes และ Facultative anaerobes นอกจากนี้บาง species ก่อให้เกิดโรคในอาหาร เช่น *B. cereus* แต่สำหรับ *Bacillus subtilis* นำมาใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองในแถบเอเชีย เรียกว่า natto ซึ่งทำให้ผลิตภัณฑ์ natto มีลักษณะเนื้อสัมผัสและรสชาติเฉพาะตัว

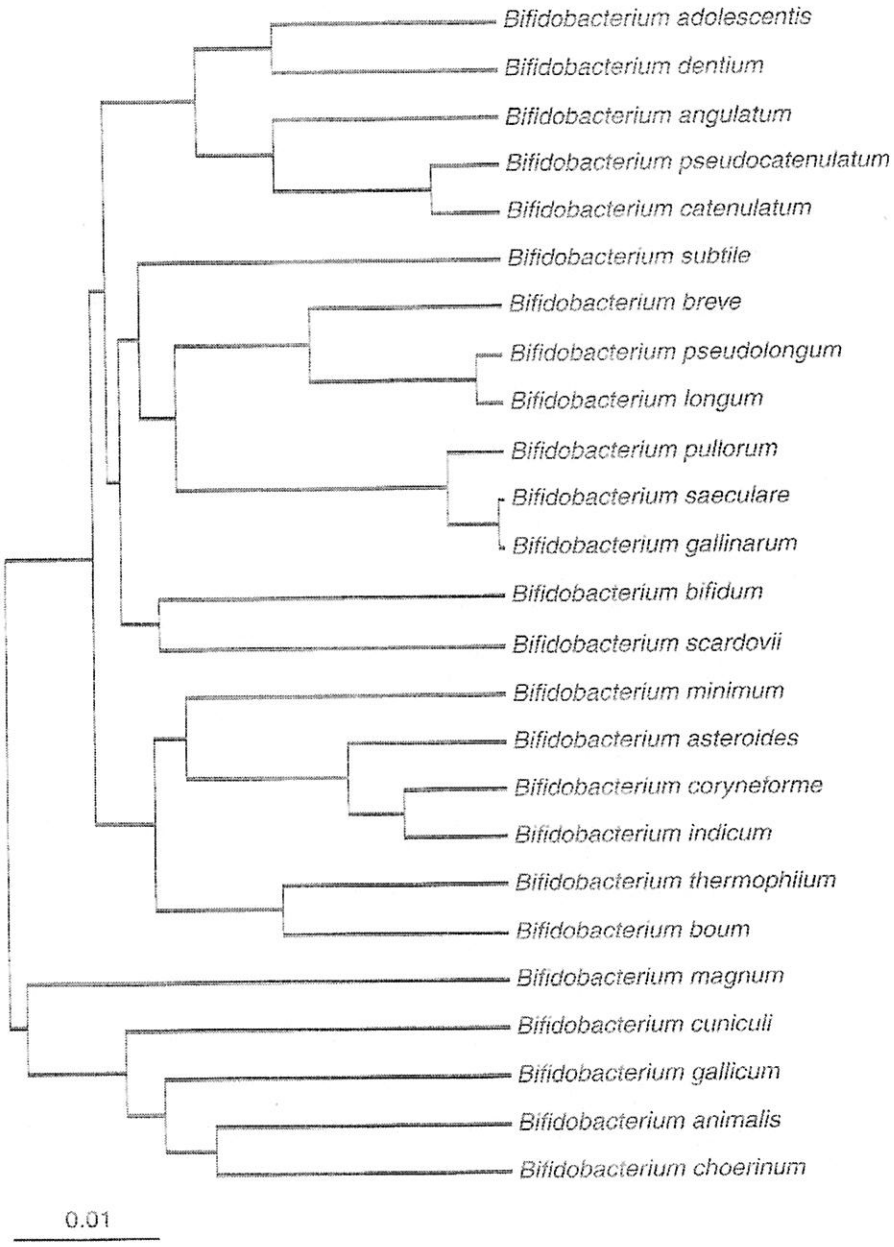


(3) แบคทีเรียในสกุล *Bifidobacterium*

แบคทีเรียในสกุล *Bifidobacterium* มีมากกว่า 25 species ดังรูปที่ 3.7 เป็นแบคทีเรียที่มีลักษณะใกล้เคียงกับแบคทีเรียกรดแลคติก เซลล์มีรูปร่างเป็นท่อน ที่มีหลายหลายรูปร่างทั้งรูปโค้ง รูปทรงกระบอก และที่แตกแขนงเซลล์อาจอยู่เดี่ยวๆ เป็นคู่หรือเรียงแบบรูปตัววี บางครั้งพบเป็นสาย ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ เจริญในที่ที่มีออกซิเจน (Anaerobes) บาง species สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ 10% มีการเจริญ

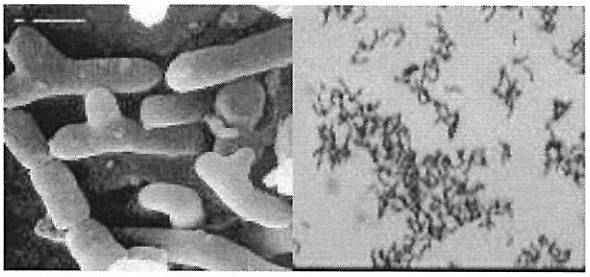


ที่ pH ระหว่าง 6.5-7.0 จัดเป็น Chemoorganotrophs ที่มีความว่องไวในการหมักคาร์โบไฮเดรตและได้ผลผลิตเป็น Acetic acid ต่อ Lactic acid เท่ากับ 3:2 (Molar ratio) ไม่ผลิตคาร์บอนไดออกไซด์ รวมทั้งไม่ผลิต Butyric acid และ Propionic acid โดยปกติต้องการวิตามินหลายชนิดในการเจริญ ไม่สร้าง Catalase แต่อาจพบการสร้าง Catalase เมื่อเจริญในอากาศที่เติมคาร์บอนไดออกไซด์ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญคือช่วง 37-41°C ปัจจุบันมีการใช้ *Bifidobacterium* เป็น probiotic ใน yogurt และผลิตภัณฑ์นม ซึ่งเป็นกล้าเชื้อที่มีความสำคัญในทางการค้ามาก



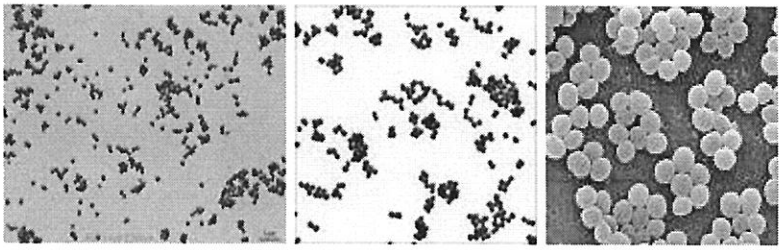
รูปที่ 3.7 Phylogeny ของ *Bifidobacterium* โดยอาศัยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16S rRNA
ที่มา : Hutkins (2006)

(4) แบคทีเรียในสกุล *Brevibacterium*



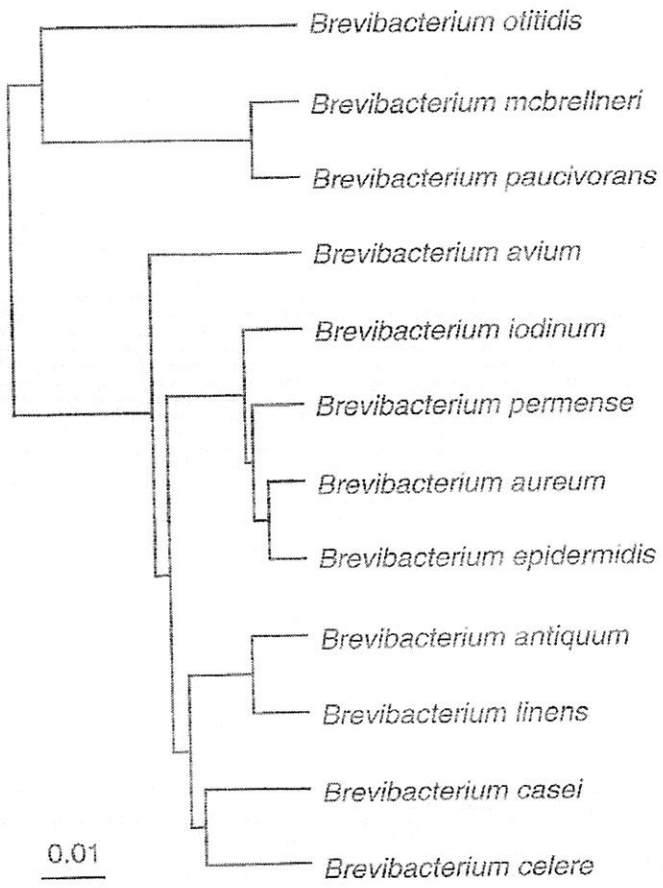
แบคทีเรียในสกุล *Brevibacterium* เซลล์มีรูปร่างเป็นท่อน ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ เซลล์มีรูปร่างที่ไม่แน่นอน สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิระหว่าง 20-35 °C ส่วนใหญ่มีความสามารถในการทนเกลือ (>10%) เจริญได้ดีในช่วงที่ pH กว้าง ปัจจุบันมีทั้งหมด 18 species แต่ที่แสดงดังรูปที่ 3.8 มีเพียง 12 species ซึ่งมีเพียง species เดียวที่มีความสำคัญในอาหารหมัก คือ *Brevibacterium linens* ซึ่งทำให้ผลิตภัณฑ์ชีสมีลักษณะเฉพาะ

(5) แบคทีเรียในสกุล *Kocuria, Micrococcus* และ *Staphylococcus*



Kocuria *Micrococcus* *Staphylococcus*

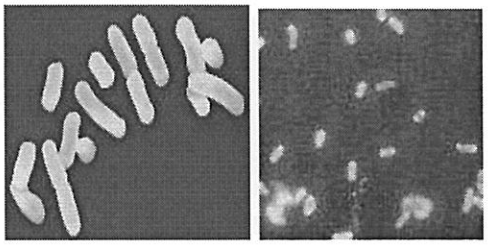
แบคทีเรียในสกุลนี้ เซลล์มีรูปร่างเป็นท่อน สร้าง catalase ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ มีประโยชน์ต่อกระบวนการหมักไส้กรอก (sausage) species ที่สำคัญประกอบด้วย *Kocuria varians, Micrococcus luteus, Staphylococcus xylosus* และ *Staphylococcus carnosus* ในกระบวนการหมักเนื้อ แบคทีเรียกลุ่มนี้จะช่วยเพิ่มรสชาติและสีของผลิตภัณฑ์ มีการ hydrolyze ไขมันและโปรตีน



รูปที่ 3.8 Phylogeny ของ *Brevibacterium* โดยอาศัยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16S rRNA
ที่มา : Hutkins (2006)

(6) แบคทีเรียในสกุล *Propionibacterium*

Propionibacterium มีรูปร่างเป็นท่อนหรือหลายแบบไม่แน่นอน อาจมีรูปร่างแบบ diptheroid หรือรูปร่างทรงกระบองด้วยปลายข้างหนึ่งกลมและอีกปลายเป็นจุด หรือสอบ หรือเรียว เซลล์อาจมีรูปร่างกลม bifid หรือแตกกิ่งก้านและอาจอยู่เป็นเซลล์เดี่ยว เป็นคู่หรือสายสั้นๆ หรือแบบวี แบบวาย หรือเป็นกลุ่ม (Clumps) ไม่เคลื่อนไหว เจริญในที่ที่ไม่มีออกซิเจนได้ Anaerobic ถึง aerotolerant อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญในนมคือช่วง 30-32 °C การเจริญได้ช้าที่ pH ระหว่าง 5.0-5.2 อาจสร้างเม็ดสี ผลิตผลของการหมักส่วนมากเป็นกรดโพรปีโอนิค กรดอะซีติก อาจมีการผลิตเมือกด้วย



แบคทีเรียแลคติกสามารถแบ่งตามการใช้อาหารและการสร้างอาหารได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่

1. Homofermentative เป็นแบคทีเรียพวกที่หมักน้ำตาลกลูโคส (hexose) โดยทำการเปลี่ยนกลูโคสเป็นไพรูเวตอาศัยเอนไซม์อัลโดเลส (aldolase) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ผลิตกรดแลคติกได้ในปริมาณ ร้อยละ 85 หรือมากกว่าจากการหมักคาร์โบไฮเดรต โดยไม่ต้องการไธมีนในการเจริญเติบโต สร้างเอนไซม์อัลโดเลส แต่ไม่สร้างเอนไซม์ฟอสโฟคีโตเลส ได้แก่ *Lactobacillus sake, Lacidilactici, L. casei* เป็นต้น

2. Heterofermentative เป็นแบคทีเรียพวกที่หมักน้ำตาลกลูโคส (hexose) แล้วให้ผลผลิตเป็นกรดแลคติก กรดอะซิติก แอลกอฮอล์จากการหมักคาร์โบไฮเดรต ต้องการใช้ไธมีนในการเจริญเติบโต เจริญและสร้างเอนไซม์ฟอสโฟคีโตเลส แต่ไม่สร้างเอนไซม์อัลโดเลส ได้แก่ *Lactobacillus plantarum, L. fermentum, L. brevis* เป็นต้น

2. กลุ่มของยีสต์ที่มีความสำคัญในอาหารหมัก

ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่อยู่เป็นเซลล์เดี่ยว ซึ่งต่างจากราที่มักอยู่ร่วมกันหลายๆ เซลล์ ยีสต์ต่างจากแบคทีเรียคือ เซลล์มีขนาดโตกว่า รูปร่างเป็นรูปไข่ (oval) ยาว (elongate) กลมรี (elliptical) หรือกลม (spherical) มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการแตกหน่อ (budding) เมื่อหน่อขยายขึ้นจะแตกออกเป็นสองเซลล์ (fission) ยีสต์สามารถเจริญได้ดีในช่วง pH ที่กว้าง มีแอลกอฮอล์สูง เจริญได้ในที่ที่มีน้ำตาลซูโครส ลักษณะโคโลนีของยีสต์มีสีต่างๆ จากสีครีมจนถึงสีชมพูและแดง กลุ่มของยีสต์ที่มีความสำคัญประกอบด้วย *Saccharomyces, Kluyveromyces* และ *ZygoSaccharomyces*

ยีสต์ที่มีบทบาทสำคัญในอาหารหมักอยู่จีนัส *Saccharomyces* ประกอบด้วย 7 species ดังตารางที่ 3.5 *Saccharomyces* มีลักษณะเซลล์กลม รูปรีทรงกระบอก หรือยาว สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยการแตกหน่อรอบเซลล์ อาจสร้างซูโดไมซีเลียม แต่ไม่พบไมซีเลียมจริง สร้างแอสโคสปอร์รูปกลมหรือรูปไข่ ส่วนใหญ่ผนังเรียบ มีบางชนิดที่ผนังสปอร์อาจมีปุ่ม โดยปกติมีจำนวน 1-4 สปอร์ต่อแอสคัส สปอร์หลุดออกจากแอสคัสได้ยาก ทุกชนิดหมักได้รวดเร็ว ไม่ใช้ไนเตรท โดย species หลักที่นำมาใช้มากที่สุดคือ *Saccharomyces cerevisiae* ยีสต์เป็นจุลินทรีย์หลักในการผลิตเบียร์ ไวน์ เครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ สุรา และอาหารหมักที่มีแป้งและน้ำตาลสูง เช่น ข้าวหมาก ขนมปัง อย่างไรก็ตามยีสต์บาง species ทำให้อาหารหมักเสื่อมคุณภาพ เช่น การสร้างเม็ดสีชมพู (pink pigment) ในผลิตภัณฑ์กะหล่ำปลีดอง (sauerkraut) ได้แก่ *Rhodorula*

ตารางที่ 3.5 ลักษณะเด่นของ species *Saccharomyces*

	Fermentation of:				Assimilation of:								Growth on
	Gal	Mal	Mel	Me-glu	Gal	Mal	Tre	Mel	Inu	Rib	Gtl	Me-glu	10% NaCl/5% Glu
Species													
S. bayanus	–	–	–	–	+	+	+	–	–	+	–	+	–
S. cariocanus	+	–	–	–	+	–	–	–	L	–	–	–	L
S. cerevisiae	–	–	–	–	+	+	+	–	–	+	–	+	–
S. kudriavzevii	–	s	–	+	–	–	–	–	+	L	+	+	–
S. mikatae	+	–	+	+	+	+	L	L	–	+	+	+	–
S. paradoxus	–	–	–	–	+	+	+	–	–	+	–	+	–
S. pastorianus	–	–	–	–	+	+	+	–	–	+	–	+	+

Gal = galactose; Mal = maltose; Mel = melibiose; Me-glu = methyl glucoside; Tre = trehalose; Inu = inulin; Rib = ribitol;

Gtl = galactitol; Glu = glucose

L = Latent (delayed positive)

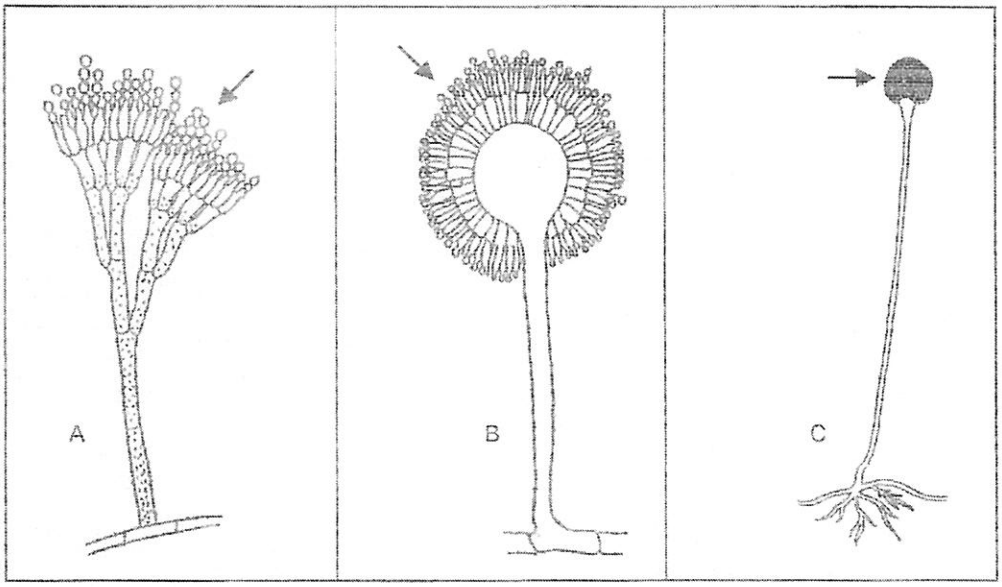
S = Slow

ที่มา : ดัดแปลง Hutkins (2006)

3. กลุ่มของเชื้อราที่มีความสำคัญในอาหารหมัก

เชื้อราจะทำให้อาหารหลายชนิดเน่าเสียและสร้างสารพิษในอาหาร เช่น *penicillium* และ *Aspergillus* แต่ก็มีเชื้อราหลายชนิดที่มีการใช้ในการผลิตอาหารหมัก โดยเฉพาะพวกที่มีเกลือและน้ำตาลสูง มีการใช้เชื้อราในการผลิตเป็นเอนไซม์อะไมเลส สำหรับใช้ในการผลิตขนมปัง ใช้เชื้อราในการหมักเนยแข็ง การทำโคจิเพื่อใช้หมักเป็นเต้าเจี้ยวและซีอิ้ว

เชื้อราบาง species ที่มีการใช้ในการผลิตอาหารหมัก ได้แก่ *penicillium roqueforti* ซึ่งทำให้ชีสมีลักษณะสี รสชาติและกลิ่นเฉพาะผลิตภัณฑ์ เช่นเดียวกับ *penicillium camemberti* ที่มีความสำคัญต่อการผลิตของ Camembert และ Brie cheeses สำหรับ *Aspergillus* จะมีบทบาทความสำคัญในอาหารหมักน้อย แต่ก็ได้รับความนิยมจากผู้บริโภคอาหารหมักทั่วโลก ซึ่งมี 2 species คือ *Aspergillus oryzae* และ *Aspergillus sojae* โดยนำมาใช้สำหรับการผลิต soy sauces, soy pastes และ sake ซึ่งทั้ง *penicillium* และ *Aspergillus* จะมีความแตกต่างกันตามลักษณะของโครงสร้างและการสร้างสปอร์ ดังรูปที่ 3.9 นอกจากนี้ *Rhizopus oligosporus* ที่นำมาใช้ในการหมักถั่วเหลือง ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่เรียกว่า เทมเป้ (tempeh) ซึ่งได้รับความ นิยมจากผู้บริโภคในอินโดนีเซียและประเทศอื่นๆ ในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้



รูปที่ 3.9 ลักษณะของเชื้อราที่นำมาใช้ในอาหารหมัก แสดงโครงสร้างสปอร์ของ (A) *penicillium* (B) *Aspergillus* และ (C) *Rhizopus*

ที่มา : Hutkins (2006)

4. กลุ่มของเอนไซม์ที่มีความสำคัญในอาหารหมัก

โดยทั่วไปเอนไซม์สามารถสกัดได้จากเนื้อเยื่อของพืชและสัตว์ หรือผลิตได้จากแหล่งของจุลินทรีย์ ซึ่งในกรณีจากแหล่งของจุลินทรีย์นั้นสามารถผลิตได้ในปริมาณที่มากโดยที่ผลิตผลสามารถเพิ่มขึ้น จากการคัดเลือกสายพันธุ์ที่เหมาะสมหรือการปรับปรุงสายพันธุ์ด้วยการผ่าเหล่าและเทคนิคทางพันธุวิศวกรรม การใช้เอนไซม์ในอุตสาหกรรมมีอยู่มากมายทั้งในอุตสาหกรรมประเภทอาหาร กึ่งอาหารและไม่ใช่อาหาร ดังที่ได้สรุปเอาไว้ในตารางที่ 3.6 ซึ่งจะพบว่าเอนไซม์เหล่านี้ ได้แก่ อะมัยเลส โปรตีเอส เพกติเนส เซลลูเลส ไอโซเมอเรส อินเวอร์เทสและออกซิเดส เป็นต้น โดยเอนไซม์ส่วนใหญ่ผลิตได้จากเชื้อราและแบคทีเรีย

ตารางที่ 3.6 การใช้เอนไซม์ในอุตสาหกรรม

อุตสาหกรรม	การประยุกต์ใช้	เอนไซม์	แหล่งจุลินทรีย์
ขนมอบและแป้ง	ลดความหนืดของแป้งหมัก เร่งการหมัก คงความสดและความนุ่ม เพิ่มความนุ่ม	อะมัยเลส	เชื้อรา
เบียร์	ปรับปรุงเนื้อสัมผัสของแป้งหมัก ลดเวลาที่ใช้ในการผสม การย่อยแป้ง (Mashing)	โปรตีเอส อะมัยเลส	เชื้อรา/แบคทีเรีย
ธัญพืช	Chillproofing	โปรตีเอส	เชื้อรา/แบคทีเรีย
ช็อคโกแล็ต โกโก้ และกาแฟ	ช่วยในการกรอง อาหารเด็กอ่อน อาหารเช้า การเตรียมน้ำเชื่อม	บีตา-กลูคาเนส อะมัยเลส อะมัยเลส	เชื้อรา/แบคทีเรีย เชื้อรา เชื้อรา/แบคทีเรีย
ผลิตภัณฑ์นม	การกำจัด H_2O_2 ที่ตกค้างจากการ สเตอริไลซ์ การผลิตโปรตีนสกัด (Protein hydrolysates) การทำให้นมระเหยมีความคงตัว การผลิตนมแท้ชนิดเข้มข้น หางนมเข้มข้นและไอศกรีม Curdling milk	แคตาเลส โปรตีเอส โปรตีเอส แลกเทส โปรตีเอส	เชื้อรา เชื้อรา/แบคทีเรีย เชื้อรา/แบคทีเรีย ยีสต์ เชื้อรา/แบคทีเรีย
สุรากลั่น	การย่อยแป้ง (Mashing)	อะมัยเลส	เชื้อรา/แบคทีเรีย
น้ำผลไม้	การทำให้ใส การป้องกันการเกิดเจล การเพิ่มผลได้ของการสกัด	เพกตีเนส กลูโคสออกซิเดส	เชื้อรา
ผัก	การเตรียมไฮโดรไลเสต การทำให้เนื้อเยื่อยุ่ยและอ่อนตัวลง	เพกตีเนส เซลลูเลส อะมัยเลส	เชื้อรา
ไวน์	การทำให้น้ำองุ่นใส	เพกตีเนส	เชื้อรา

การเปลี่ยนแปลงของอาหารในระหว่างการหมักเกิดจากปฏิกิริยาของเอนไซม์ จุลินทรีย์บางชนิดสามารถผลิตเอนไซม์บางชนิดได้มากจนสามารถผลิตในระดับการค้าได้ เช่น การผลิตเอนไซม์อะไมเลส และเซลลูเลส จากเชื้อรา นอกจากนี้ด้วยความก้าวหน้าของเทคโนโลยีชีวภาพทำให้สามารถผลิตเอนไซม์หลายชนิดได้โดยการใส่ยีสต์ลงในจุลินทรีย์ เช่น เอนไซม์ไคโมซิน ซึ่งใช้ในการตกตะกอนนม ในการผลิตเนยแข็ง ก็สามารถผลิตได้จากเชื้อยีสต์และแบคทีเรีย

บทที่ 4
ผลิตภัณฑ์หมักจากเนื้อสัตว์

ผลิตภัณฑ์เนื้อหมักหลายชนิดได้รับความนิยมจากผู้บริโภคทั่วโลกเช่นเดียวกับชีส (cheese) ตัวอย่างเช่น ในประเทศสเปนมีผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักแตกต่างกันอย่างน้อย 50 ชนิด และในประเทศเยอรมันมีมากกว่า 350 ชนิด ไม่เพียงเท่านั้นความหลายหลายของเนื้อสัตว์ได้มาจากเนื้อวัว เนื้อหมู เนื้อแพะ และเนื้อแกะ เป็นต้น แต่ปริมาณและความหยาบของไขมัน รูปร่าง ขนาดของลำไส้จะมีผลต่อผลิตภัณฑ์สุดท้าย ระดับความแห้งและการไม่รมควันอาจเปิดโอกาสให้เชื้อราเจริญขึ้นได้ ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการแบ่งประเภทของไส้กรอกหมัก (ตารางที่ 4.1)

ตารางที่ 4.1 ตัวอย่างของผลิตภัณฑ์เนื้อหมักและไส้กรอกหมัก

Product	Meat	Areas Produced	Features
Moist sausages ($a_w > 0.94$)			
Lebanon bologna	Beef	North America	Low pH (<4.9) Smoked
Mortadella	Pork	Italy, France, USA	Low pH Un-smoked Cooked
Semi-dry sausages ($a_w = 0.90 - 0.95$)			
Summer sausage	Beef/Pork	USA	Moderate pH (4.9 – 5.0) Smoked
Thuringer cervelat	Pork	Italy, France, USA	Low pH Un-smoked Cooked
Dry sausages ($a_w < 0.90$)			
Pepperoni	Beef/Pork	Italy, North America	Low pH Un-smoked Spiced
Salami	Pork	Europe, USA, Mexico	Low a_w (<0.85) Un-smoked Cooked
Chorizo	Pork/Beef	Italy	Highly spiced Low acid
Whole meats			
Country-cured hams	Pork	North America	Heavily salted
Parma hams	Pork	Italy	Heavily salted

ที่มา : Hutkins (2006)

กล้าเชื้อสำหรับเนื้อสัตว์

ในปี 1940 จึงได้มีการเริ่มต้นศึกษาเกี่ยวกับจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมัก แบคทีเรียที่ทำหน้าที่ในการหมักคือแบคทีเรียกรดแลคติก species *Lactobacillus* และ species *Pediococcus* เพราะเป็นกล้าเชื้อที่ทำให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพสม่ำเสมอ สามารถนำมาผลิตในระดับอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ได้

ถึงแม้ว่ากล้าเชื้อ *Lactobacillus* และ *Pediococcus* จะมีความแตกต่างกัน แต่ทั้งคู่ก็มีบทบาทในการหมักน้ำตาลและผลิตกรดอินทรีย์ได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติทางด้าน physiological และ biochemical ดังตารางที่ 4.2 ในประเทศสหรัฐอเมริกานิยมนำกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกเท่านั้นในการหมักไส้กรอกจะหมักในสภาวะที่อุณหภูมิสูงใช้ระยะเวลาการหมักสั้นและใช้ nitrite salt เป็น curing agent ในทางตรงกันข้ามผลิตภัณฑ์ของประเทศแถบยุโรปจะใช้จุลินทรีย์ที่มีอยู่ในธรรมชาติ (microbial flora) เป็นกล้าเชื้อได้แก่ species *Staphylococcus, Micrococcus* และ *Kocuria* อยู่ใน Family Micrococcaceae ซึ่งในการหมักจะใช้อุณหภูมิต่ำแต่ระยะเวลานานและใช้ nitrate salt เป็น curing agent

ตารางที่ 4.2 คุณสมบัติของกล้าเชื้อที่นำมาผลิตเนื้อหมัก

Organism	Minimum Temperature	Temperature Optimum	Acid from Glucose[1]	Nitrate Reductase	Primary Function
Lactobacillus sakei	4°C	32°C — 35°C	+	−	acid
Lactobacillus curvatus	4°C	32°C — 35°C	+	−	acid
Lactobacillus plantarum	10°C	42°C	+	−[2]	acid
Pediococcus pentosaceus	15°C	28°C — 32°C	+	−	acid
Pediococcus acidilactici	15°C	40°C	+	−	acid
Kocuria varians[3]	10°C	25°C — 37°C	−	+	flavor, aroma
Staphylococcus carnosus	10°C	30°C — 40°C	−	+	flavor, aroma
Staphylococcus xylosus	10°C	25°C — 35°C	−	+	flavor, aroma

[1] Under anaerobic conditions

[2] Some strains reduce nitrate under low glucose, high pH conditions

[3] Formerly *Micrococcus varians*

ที่มา : Hutkins (2006)

สิ่งสำคัญที่สุดของกล้าเชื้อสำหรับนำมาหมักเนื้อคือ สามารถผลิตกรดแลคติกและเจริญที่ pH ต่ำได้ ให้กลิ่นและรสชาติที่ต้องการ ไม่ทำให้เกิดการเน่าเสีย มีค่า Eh ต่ำ ดังตารางที่ 4.3 สำหรับกล้าเชื้อที่อยู่ใน Family Micrococcaceae จะช่วยพัฒนาสีและกลิ่นรส โดยการเกิดปฏิกิริยา reduction ของ nitrate

ตารางที่ 4.3 คุณสมบัติที่ต้องการของกล้าเชื้อที่นำมาหมักเนื้อ

Bacteria	Fungi
Non-pathogenic	Non-pathogenic
No toxins produced	No toxins produced
Grows well in meat	Competitive at the surface
Stable	Firm surface mycelium
Produces good flavor	Proteolytic and lipolytic
Nitrate/nitrite resistant	Moldy aroma
Salt-tolerant	
Bioprotective	
Easy to identify	

ที่มา : Hutkins (2006)

จุลินทรีย์ที่พบในเนื้อสัตว์และมีบทบาทสำคัญคือ แบคทีเรียที่สามารถหมักกรดแลคติกได้ ซึ่งแบคทีเรียกลุ่มนี้จะอยู่ตามผิวหน้าของเนื้อ ต้องการอากาศในการเจริญเติบโต (Facultative anaerobic bacteria) สามารถใช้น้ำตาลได้ โดยการออกซิไดซ์ทำให้ได้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ แต่ถ้ามีปริมาณออกซิเจนจำกัดหรือเกิดการออกซิไดซ์ของน้ำตาลไม่สมบูรณ์ จะทำให้เกิดกรดอินทรีย์ขึ้นได้ จุลินทรีย์ที่มีความสำคัญต่อผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก แบ่งเป็น 4 ชนิด คือ

1. Homofermentative lactic acid bacteria ได้แก่ *Streptococci* และ *Lactobacilli* บางชนิด แบคทีเรียเมื่อเกิดการหมักจะให้กรดแลคติกเพียงชนิดเดียว

2. Heterofermentative lactic acid bacteria ได้แก่ *Leuconostoc* และ *Lactobacilli* บางชนิด ในการหมักแบคทีเรียกลุ่มนี้จะให้กรดแลคติก เอทธิลแอลกอฮอล์ และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

3. *Bacillus* species แบคทีเรียพวกนี้จะพบเฉพาะในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่มีการเติมสารไนเตรทเท่านั้น จะทำให้เกิดกรดแลคติก กรดอะซิติก และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

4. *Clostridium* species แบคทีเรียพวกนี้จะหมักให้เกิดกรดแลคติก กรดอะซิติก กรดบิวทีริก อะซิโตน บิวทิลแอลกอฮอล์ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และก๊าซไฮโดรเจน

นอกจากนี้การใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก ยังทำให้การเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนรวมถึงจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคลดลงด้วย ซึ่งผลการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์เกิดจากสารที่ผลิตขึ้นของกล้าเชื้อ เช่น กล้าเชื้อพบในแหนม ซึ่งเป็นแบคเทอริโอซิน โดยจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นกล้าเชื้อสำหรับหมักเนื้อจะทำให้มีความปลอดภัยต่อการบริโภคและเก็บไว้ได้นานขึ้น

1. ผลิตภัณฑ์ไส้กรอก

ไส้กรอก (sausages) หมายถึงเนื้อที่บดให้ละเอียดผสมกับเกลือ ในอดีตนั้นส่วนผสมของไส้กรอกถูกบรรจุในลำไส้ หรือกระเพาะอาหารของสัตว์เพื่อทำให้มีรูปร่างเป็นรูปทรงกระบอก แต่เมื่อมีการผลิตไส้สังเคราะห์ขึ้นมา เพื่อใช้ทดแทนไส้จากสัตว์ก็มักจะทำให้ไส้กรอกมีลักษณะทรงกระบอกคล้ายไส้กรอกจากธรรมชาติ ซึ่งสามารถแบ่งเป็นประเภทใหญ่ๆ ได้ 5 ประเภท ดังนี้

(1) ไส้กรอกสด (Fresh sausage) ทำจากเนื้อสด โดยเฉพาะอย่างยิ่งเนื้อหมูบดและผสมเครื่องปรุงบรรจุในไส้เก็บไว้ในตู้เย็น ซึ่งไส้กรอกชนิดนี้ รสชาติ เนื้อสัมผัส ความนุ่ม และสี เกี่ยวข้องโดยตรงกับอัตราส่วนของไขมันและเนื้อแดง ตัวอย่าง ได้แก่

1.1 ไส้กรอกหมูสด (Fresh pork sausage) ผลิตจากเนื้อหมูสดหรือเนื้อหมูแช่แข็ง หรือทั้งสองอย่างรวมกัน รวมทั้งเนื้อหมูที่ผ่านการเอากระดูกออก (deboned pork) แต่ไม่รวมผลพลอยได้จากเนื้อหมู (Beef by product) ผลิตภัณฑ์จะต้องมีไขมันไม่เกิน 50.5 เติมน้ำหรือน้ำแข็งได้ถึง 3%

1.2 ไส้กรอกอาหารเช้า (Breakfast sausage) อาจทำจากเนื้อหมูหรือเนื้อวัวสด หรือทำจากผลพลอยได้จากเนื้อสัตว์ (meat by product) ก็ได้ อาจเติมสารที่ช่วยการรวมตัว (binder) ได้ถึง 3% ของผลผลิตที่ได้ ไขมันไม่เกิน 50.5 และเติมน้ำเกลือหรือน้ำแข็งได้ถึง 3%

1.3 บราทเวอร์สต (Bratwurst) ทำจากเนื้อลูกวัวหรือเนื้อหมู ใช้ผิวหรือน้ำมะนาวในการปรุงรสนิยมลวกก่อนจำหน่าย

(2) ไส้กรอกรมควันแต่ไม่สุก มีลักษณะคล้ายกับไส้กรอกสด แต่ผ่านการรมควัน จึงทำให้สีและรสชาติเปลี่ยนแปลงไปจากไส้กรอกสด เมื่อจะรับประทานต้องนำมาทำให้สุกเสียก่อน สามารถเก็บรักษาได้นานกว่าไส้กรอกสดได้ 1-2 วัน แต่ควรเก็บไว้ในตู้เย็น ตัวอย่างเช่น ไส้กรอกหมูสดรมควัน (Fresh smoke pork sausage)

(3) ไส้กรอกสุก (Cooked sausage) ทำจากเนื้อสัตว์ชนิดเดียวหรือหลายชนิดก็ได้ ไม่ว่าเนื้อ วัว เนื้อหมู หรือเนื้อสัตว์ปีก อาจรมควันหรือไม่รมควันก็ได้ ทำให้สุกพร้อมที่จะรับประทานได้ทันที แบ่งเป็น

3.1 กลุ่มแฟรงก์เฟอร์เตอร์ (Frankfurter) แนกเวอร์สต์ (Knackwurst) โบโลญ่า (Bologna) และอื่นๆ ที่คล้ายคลึง แฟรงเฟอร์เตอร์ ทำจากเนื้อหมูและเนื้อวัวผสมกัน หมักด้วยส่วนผสมและเครื่องเทศ บรรจุในไส้แกะ หากบรรจุในไส้พลาสติกเรียกว่า เวียนนา (Vienna) หากบรรจุในไส้หมูเรียกว่า แนกเวอร์สต์

3.2 กลุ่มไส้กรอกตับและไส้กรอกเลือด ไส้กรอกตับ (Liver sausage) ทำจากการบดมันหมูแข็งตับหมู ผสมเจลาตินปรุงรสด้วยหัวหอมและเครื่องเทศ บรรจุในไส้และทำให้สุก ส่วนไส้กรอกเลือด (Blood sausage) ทำจากมันหมูแข็งต้มสุก หั่นเป็นชิ้นสี่เหลี่ยม และเนื้อบดละเอียด ผสมเจลาตินรวมกับเลือดวัวและเครื่องเทศบรรจุในไส้และทำให้สุก

(4) ไส้กรอกแห้งและไส้กรอกกึ่งแห้ง (Dry and semidry sausage) ผลิตจากการหมักด้วยเชื้อที่มีตามธรรมชาติ หรือเชื้อบริสุทธิ์ที่เติมลงไป หลังจากที่ผสมเนื้อผ่านการบดแล้วกับส่วนผสมต่างๆ เช่น เกลือ เครื่องเทศ และเชื้อบริสุทธิ์แล้วจะเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำ จนกระทั่งมีปริมาณกรดตามต้องการจากนั้นจึงบรรจุในไส้และทำให้แห้งในอากาศ ผลิตภัณฑ์บางชนิดผ่านการรมควันเล็กน้อยมาก่อน ส่วนไส้กรอกกึ่งแห้ง ทำให้สุกโดยการรมควัน โดยทั่วไปผลผลิตที่ได้มีน้ำหนักเป็น 70-80% ของน้ำหนักเดิม และมีลักษณะค่อนข้างนุ่ม ตัวอย่างเช่น ทูริงเจอร์ (Thuringer) และซัมเมอร์ (Summer sausage) สำหรับไส้กรอกแห้ง ผ่านการรมควันเล็กน้อย หรือไม่ผ่านเลย ทำให้แห้งในอากาศ ผลผลิตที่ได้มีน้ำหนักเป็น 60-70% ของน้ำหนักเดิม มีลักษณะแห้งกว่า แน่นกว่า ตัวอย่างเช่น ซาลามิ (Salami)

(5) ผลิตภัณฑ์ที่คล้ายคลึงไส้กรอก เป็นผลิตภัณฑ์ที่หมักเนื้อที่ผ่านการบดคล้ายกับไส้กรอก แต่อาจมีขั้นตอนบางขั้นตอนที่ไม่เหมือนการทำไส้กรอก เช่น ไม่ได้บรรจุในไส้ ตัวอย่างเช่น

5.1 ลันเชียนมีต (Luncheon meat) เป็นผลิตภัณฑ์เนื้อบดละเอียด หรืออาจสับให้เข้ากัน บรรจุกระป๋อง ผ่านกระบวนการให้ความร้อน

5.2 มีตโลฟ (Meat laoves) ทำจากเนื้อบด ผสมเครื่องปรุงต่างๆ เช่น หัวหอมใหญ่ ไข่ เครื่องเทศแป้งและนมผง บรรจุในแบบหรือพิมพ์ นำไปอบให้สุก หรือบรรจุกระป๋อง

ส่วนประกอบในการผลิตไส้กรอกหมัก

1. เนื้อสัตว์ จะมีส่วนประกอบทางเคมีแตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับสภาพของสัตว์ก่อนนำมาฆ่า สัตว์ต่างชนิดกันหรืออายุต่างกัน โดยทั่วไปกล้ามเนื้อของสัตว์จะมีส่วนประกอบทางเคมี ได้แก่ น้ำ โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต วิตามิน เอนไซม์ สี และแร่ธาตุต่างๆ เป็นต้น จึงควรใช้เนื้อแดงเพื่อให้โปรตีนที่ทำหน้าที่ประสานน้ำกับน้ำมันให้เข้ากันได้ดี ในส่วนผสมที่เป็นมวลเหนียว โดยทั่วไปโปรตีนในเนื้อที่สามารถละลายได้ดีในเกลือ มีประสิทธิภาพในการเป็นตัวช่วยการรวมตัว (emulsifier) ที่ดี และโปรตีนเหล่านี้มีอยู่ในเนื้อแตกต่างกันไป เนื้อที่มีไขมันสูง โปรตีนจะมีความสามารถในการรวมตัวกับน้ำและไขมัน (binding index) สูง นอกจากนี้ไขมันยังเป็นส่วนผสมที่ช่วยลดต้นทุนในการผลิต ใช้ได้ทั้งไขมันพืชและสัตว์ เพราะว่าการใช้ไขมันเป็นส่วนผสมจะทำให้ไส้กรอกมีลักษณะกลิ่น สี และการยอมรับที่ดีที่สุด โดยทำให้ไส้กรอกมีความนุ่ม ความชุ่มฉ่ำและรสชาติดี แต่ผลิตภัณฑ์จะมีสีจางลง

2. น้ำตาล หรือสารให้ความหวานที่เติมลงในผลิตภัณฑ์ เพื่อให้เกิดรสชาติในการถนอมรักษาผลิตภัณฑ์อาหารบางชนิด น้ำตาลมีความสำคัญต่อการป้องกันและยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ แต่ปริมาณน้ำตาลที่ใช้ในการหมักเนื้อต่ำจนบางครั้งอาจเป็นส่วนช่วยทำให้จุลินทรีย์เจริญได้ดี และสามารถสร้างสรรค์ให้กลิ่นรสแก่ผลิตภัณฑ์ บทบาทของน้ำตาลที่มีต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์คือ น้ำตาลทำให้ผลิตภัณฑ์มีรสอ่อนนุ่มขึ้น โดยที่น้ำตาลจะไปลดรสเค็มที่มีผลมาจากเกลือและป้องกันน้ำบางส่วนจากเนื้อสัตว์ที่จะถูกดึงออกมา ทำให้ความชื้นบางส่วนไม่สูญเสียไป เนื้อมีรสชาติดีขึ้นและไม่แห้งแข็งกระด้าง น้ำตาลจะทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนของโปรตีน เมื่อผ่านการให้ความร้อน ทำให้ผลิตภัณฑ์มีสีน้ำตาลที่บริเวณผิวหน้าของชิ้นเนื้อและน่ารับประทานเพิ่มขึ้น นอกจากนี้น้ำตาลยังช่วยเร่งการเปลี่ยนแปลงของโซเดียมไนเตรทเป็นไนตริกออกไซด์ ทำให้ปริมาณสารไนเตรทที่เหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์มีน้อยและเกิดสีแดงเร็วขึ้น

3. เกลือ ที่ใช้สำหรับหมักไส้กรอกมักอยู่ในรูปของเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) หรือทราบกันในชื่อของเกลือแกง ความเข้มข้นของเกลือที่เหมาะสมคือ 2.4-3% เกลือมีผลต่อการลดน้ำในผลิตภัณฑ์และทำให้แรงดันออสโมติค (osmotic pressure) ของผลิตภัณฑ์เปลี่ยนไป ค่า water activity ลดลง จึงมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และป้องกันการเน่าเสีย นอกจากนี้เกลือที่เติมไอโอดีนไม่เหมาะที่จะนำมาใช้ในการหมักเนื้อซึ่งใช้ร่วมกับไนเตรท เนื่องจากไอโอดีนจะเป็นตัวยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ช่วยเร่งการเปลี่ยนสารไนเตรทให้เป็นไตรทได้ เป็นผลทำให้มีสารไนเตรทตกค้างอยู่ในผลิตภัณฑ์มาก

4. กล้าเชื้อ ในทางการค้ากล้าเชื้อที่นำมาใช้สำหรับไส้กรอกจะอยู่ในรูปของการแช่แข็ง (frozen) หรือในรูปแบบเป็นผง (lyophilized) กล้าเชื้อที่แช่แข็งจะมีปริมาณตั้งแต่ 20 ถึง 250 มิลลิลิตร มีความหนาแน่น 10^8-10^9 เซลล์ต่อมิลลิลิตร กล้าเชื้อที่มีปริมาณ 70 มิลลิลิตร นำมาทำไส้กรอกได้ 150 กิโลกรัม และควรเก็บรักษากล้าเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ -40°C หรือต่ำกว่า สำหรับการใช้กล้าเชื้อในรูปผงยังได้รับความนิยมน้อย มีข้อดีคือไม่ต้องเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำก็ได้ สามารถเก็บไว้ในอุณหภูมิเย็น (refrigeration) หรือ

อุณหภูมิตามสภาพแวดล้อม (ambient temperature) ได้ เซลล์มีความหนาแน่น 10^{10} เซลล์ต่อกรัม แต่ราคาแพงกว่ากล้าเชื้อในรูปแช่เย็น

5. ไนไตรท์ (Nitrite) และ/หรือ ไนเตรท (Nitrate) ส่วนใหญ่นิยมใช้ในรูปของเกลือโซเดียมไนไตรท์หรือโปตัสเซียมไนไตรท์ และเกลือโซเดียมไนเตรทหรือโปตัสเซียมไนเตรท หน้าที่ของเกลือไนไตรท์และเกลือไนเตรท เมื่อนำมาใช้กับผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ จะทำให้ผลิตภัณฑ์เนื้อมีสีแดง ช่วยเพิ่มรสชาติ (taste) และกลิ่นรส (flavor) แก่ผลิตภัณฑ์ ทำให้มีกลิ่นเฉพาะตัว เป็นที่ยอมรับสำหรับผู้บริโภคมากกว่าการใช้เกลือในการหมักเนื้อเพียงอย่างเดียว ช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และป้องกันการงอกของสปอร์จากแบคทีเรียที่ไม่ต้องการอากาศ คือพวก *Clostridium botulinum* นอกจากนี้ยังช่วยยับยั้งการหืนของไขมันในผลิตภัณฑ์เนื้อ โดยจะไปยับยั้งปฏิกิริยาการเติมออกซิเจนของไขมัน (oxidative rancidity)

บทบาทของเกลือไนไตรท์และไนเตรทต่อการเกิดสีในผลิตภัณฑ์เนื้อ มีผลเนื่องจากการแตกตัวให้สารไนตริกออกไซด์ เพื่อเข้าทำปฏิกิริยากับไมโอโกลบินดังปฏิกิริยา ตามขั้นตอนดังต่อไปนี้

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

ขั้นตอนที่ 2 $\underset{\text{ไนไตรท์}}{NO_2^-} + \underset{\text{อนุมูลไฮโดรเจน}}{H^+} \xrightarrow{\text{แบคทีเรียพวกที่ผลิตกรดแลคติก}} \underset{\text{กรดไนตรัส}}{HNO_2}$

ขั้นตอนที่ 3 $\underset{\text{กรดไนตรัส}}{HNO_2} \xrightarrow{\text{สลายตัว}} \underset{\text{ไนตริกออกไซด์}}{NO} + \underset{\text{น้ำ}}{H_2O}$

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

ขั้นตอนที่ 5 $\underset{\text{ไนตริกออกไซด์}}{NO} + \underset{\text{เมทไมโอโกลบิน}}{MMb} \xrightarrow{\text{สภาพเหมาะสม}} \underset{\text{ไนโตรโซไมโอโกลบิน}}{NOMb}$

ขั้นตอนที่ 6 $\underset{\text{ไนโตรโซไมโอโกลบิน}}{NOMb} \xrightarrow[\text{การรมควัน}]{\text{ความร้อนในการอบและ}} \underset{\text{ไนโตรโซฮีโมโครม สารให้สีชมพูที่คงตัว}}{NO\text{—Homochome}}$

การใช้สารพวกไนไตรท์และไนเตรท เดิมใช้เฉพาะดินประสิวซึ่งให้เกลือไนเตรท แต่การแตกตัวของไนเตรทให้เป็นไนตริกออกไซด์ช้ามาก และต้องอาศัยจุลินทรีย์บางชนิดในเนื้อสัตว์ช่วยในกระบวนการผลิต ผลิตภัณฑ์จะเกิดสีแดงต้องใช้เวลานาน ถ้าใช้ไนไตรท์และไนเตรทร่วมกันมีผลต่อการเร่งการแตกตัวของไนเตรท ทำให้เกิดการแตกตัวให้ไนตริกออกไซด์เร็วและมากขึ้น จึงทำให้เกิดสีเร็วและมีไนเตรทเหลือตกค้างอยู่ในผลิตภัณฑ์น้อยลง

6. เครื่องเทศ (Spices) ใช้เป็นสารให้กลิ่นรสและช่วยชูรส สามารถแบ่งได้เป็น 3 ประเภท คือ

6.1 เครื่องเทศชูรส (Stimulated) ได้แก่ ขิง (ginger) พริกขี้หนู (chilli) พริกไทยดำและขาว (black and white pepper) พริกสีแดงสด (peprika) หอม (onion) กระเทียม (garlic) และผงมัสตาร์ด (mustard powder)

6.2 เครื่องเทศหอม (Aromatic spices) ได้แก่ เครื่องเทศรวม (all spices) อบเชย (cinnamon) ยี่หร่า (caraway) กานพลู (cloves) ลูกผักชี (coriander) ดอกจันทน์ (mace) ลูกจันทน์ (nutmeg) ลูกกระวาน (cadamon) และโป๊ยกั๊ก (starseed)

6.3 ใบและต้นผักต่างๆ (Herbs) ได้แก่ ใบโหระพา (sweet basil) ใบกระวาน (bay leaves หรือ laurel leaves) ใบหูเสือ (sage) ใบสะระแหน่ (mint) และตะไคร้ (lemon grass)

ขั้นตอนการผลิตไส้กรอกหมัก

กระบวนการที่เกี่ยวข้องกับการผลิตไส้กรอกหมักแสดงดังรูปที่ 4.1 ประกอบด้วย

1. การบดเนื้อ (Grinding) เพื่อลดขนาดเนื้อลง โดยนำเนื้อที่ผ่านการหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ เข้าเครื่องบดเนื้อ (meat grinder) ทำให้เนื้อมีขนาดเล็กลง เพิ่มพื้นที่ผิวในการสกัดโปรตีนที่ละลายได้ในเกลือ

2. การผสมในเครื่องผสม (Mixing) ไส้กรอกชนิดบดหยาบหลังจากการบดแล้วจะนำเครื่องปรุงมาคลุกเคล้าผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน (ส่วนผสมประกอบด้วย เนื้อแดง น้ำแข็งหรือน้ำ เกลือ เครื่องปรุงรส และส่วนประกอบที่ช่วยในการหมัก ได้แก่ โซเดียมไนเตรท โซเดียมไนไตรท์ และโซเดียมอีริโทเบต)

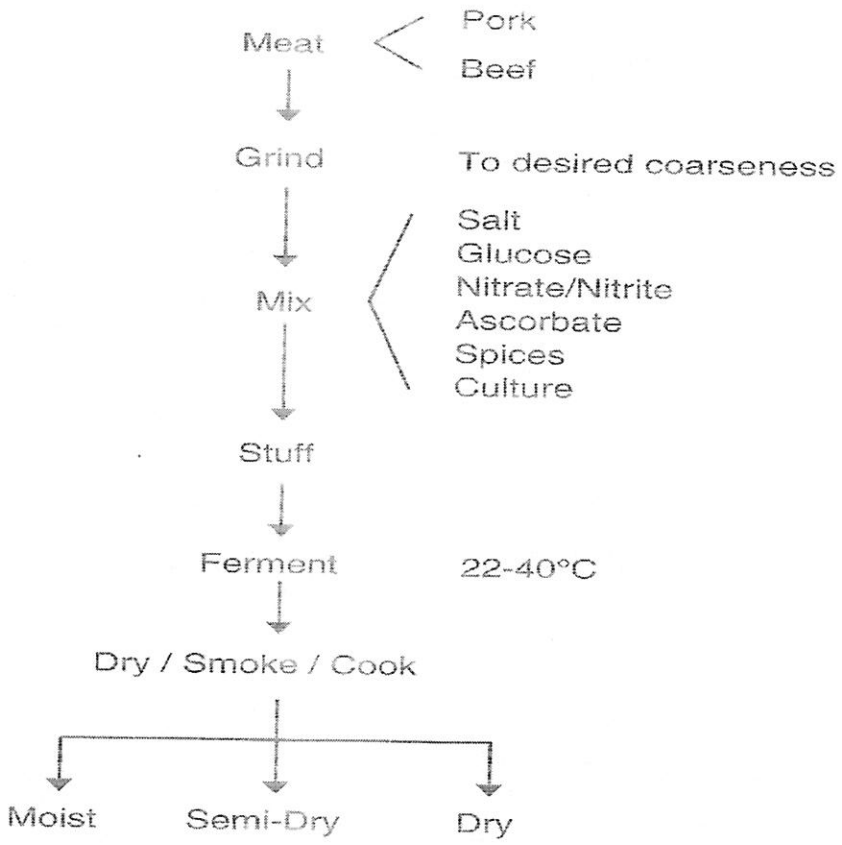
3. การสับละเอียด (Chopping) และการทำอิมัลชัน (Emulsifying) ไส้กรอกประเภทบดละเอียดเป็นอิมัลชันจะนำสับละเอียดโดยเครื่องสับละเอียดโดยเครื่องสับ (chopper หรือ silent cutter) เพื่อลดขนาดลงไปอีกในขณะเดียวกันก็สร้างอิมัลชันของเนื้อและไขมัน อุณหภูมิท้ายควรอยู่ในช่วง 10-16°C

4. การบรรจุและผูกไส้ ส่วนผสมจะถูกนำมาเข้าเครื่องบรรจุและผูกไส้ เครื่องบรรจุที่ดีควรมีที่กำจัดอากาศออก ทำให้ไส้กรอกแน่นปราศจากอากาศ

5. การรมควันและการทำให้สุก นิยมรมควันในตู้รมควัน (smoke house) โดยเอาผลิตภัณฑ์ไปแขวนไว้ในตู้รมควัน แล้วปิดให้สนิท ควันไฟจากการเผาขี้เลื่อยไม้เนื้อแข็งจะไปรมผลิตภัณฑ์โดยทั่วไป แล้วไส้กรอกที่ถูกรมควันจนสุกนั้นจะต้องให้ได้รับความร้อนในตู้อบรมควัน จนอุณหภูมิภายในไส้กรอกสูงประมาณ 68-72°C ส่วนไส้กรอกที่ไม่ได้ผ่านการรมควันหรือรมควันไม่ถึงระดับการทำให้สุก เช่น รมควันจนอุณหภูมิภายในประมาณ 50-60°C นาน 30-50 นาที จะต้องนำมาต้มในน้ำร้อนอุณหภูมิประมาณ 70°C นาน 20-25 นาที เพื่อทำลายจุลินทรีย์บางส่วนที่เหลืออยู่ที่จะเป็นสาเหตุให้ไส้กรอกเน่าเสีย

6. การทำให้เย็น นำไส้กรอกมาแช่ในน้ำเย็นที่สะอาด เพื่อช่วยลดความร้อนที่สะสมในชิ้นไส้กรอก ทำให้เนื้อภายในหดตัวอย่างรวดเร็ว และลอกเปลือกออกง่าย

7. การเก็บรักษา ควรบรรจุไส้กรอกในภาชนะที่เหมาะสมในห้องที่สะอาดและเย็น เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ และเก็บไว้ในห้องเย็นตลอดเวลา



รูปที่ 4.1 ขั้นตอนการผลิตไส้กรอกหมัก

ที่มา : Hutkins (2006)

2. ผลิตภัณฑ์แหนม

แหนมเป็นอาหารหมักพื้นเมืองประเภทเนื้อสัตว์ที่นิยมบริโภคกันทั่วประเทศ การหมักแหนมเกิดจากกิจกรรมของแบคทีเรียกรดแลคติก โดยในระยะแรกของการหมักจะมีจุลินทรีย์เพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็วโดยเฉพาะพวกที่สร้างกรดได้ดีและเจริญเติบโตในที่มีอากาศน้อย ได้แก่ homofermentative cocci เช่น *Pediococcus cerevisiae, P. pentosaceus* และ *P. acidilactci* เจริญเติบโตไปพร้อมกับ heterofermentative lactobacilli ได้แก่ *Lactobacillus brevis* หลังจากการหมัก 3 วัน homofermentative cocci จะใช้น้ำตาลกลูโคสเปลี่ยนเป็นกรดแลคติกทำให้พีเอชลดลง ต่อมาการหมักในวันที่ 4 จะพบเชื้อ heterofermentative lactobacilli คือ *L. plantarum* สร้างกรดออกมา ในขณะที่ *Pediococcus* ซึ่งทนกรดได้น้อยจะเจริญช้าลงและหยุดการเจริญในที่สุด ในระยะนี้พีเอชต่ำกว่า 4.5 มีผลทำให้จุลินทรีย์บางชนิดคือแบคทีเรียโคลิฟอร์มและ *Salmonella* ตายเกือบหมด

ขั้นตอนการผลิตแหนม

1. การเตรียมวัตถุดิบ

เนื้อที่ใช้ควรเป็นหมูเนื้อแดงสดที่ชำแหละใหม่ๆ เนื้อส่วนต้นขาเป็นส่วนที่ดีที่สุด เนื่องจากมีมันแทรกน้อย และเมื่อนำมานวดกับเครื่องปรุงต่างๆ จะได้ส่วนผสมที่เหนียวมือ มีส่วนผสมอื่นๆ คือ

เกลือ การเติมเกลือประมาณ 2 - 3 % ของน้ำหนักอาหาร จะช่วยทำหน้าที่ป้องกันไม่ให้จุลินทรีย์อื่น ๆ เจริญได้ และช่วยดึงน้ำและน้ำตาลจากเนื้อ สามารถทำหน้าที่เป็นสารกันบูดได้ วัตถุประสงค์ของการใส่เกลือ ในแหนมคือ ทำให้เกิดรสเค็ม และทำให้แหนมเก็บไว้ได้นาน ปริมาณเกลือที่ใส่ถ้าน้อยเกินไป จะทำให้แหนมเน่าเสียได้ และถ้าใส่เกลือมากเกินไป แหนมที่ได้จะมีรสเปรี้ยว น้อยกว่ารสเค็ม

ข้าว ที่ใส่ลงในแหนมเป็นข้าวที่ผ่านการหุงต้มจนสุกแล้ว ใช้ได้ทั้งข้าวเจ้า และข้าวเหนียว การใส่ข้าวลงไป ก็เพื่อเป็นแหล่งคาร์โบดฮเดรต แก่แบคทีเรีย ที่สร้างกรดแลคติก ซึ่งเป็นตัวที่ทำให้แหนม มีรสเปรี้ยว

กระเทียม ตามปกติมักจะบดกระเทียมให้ละเอียดก่อน แล้วจึงใส่ลงในผลิตภัณฑ์ การใส่กระเทียมจะให้ผลทั้งในแง่เพิ่มกลิ่นหอมและรสชาติของแหนม และยังช่วยเป็นสารกันบูดได้ด้วย โดยจะใส่ประมาณ 10 % ของน้ำหนักอาหาร

รีกัลเบส เป็นเกลืออิริธอเบทที่จะช่วยให้สีแดง ของผลิตภัณฑ์เนื้อมีสีสันสวยงาม และอยู่คงทน สีจะไม่ซีดจาง เมื่อวางขาย ในตู้โชว์ รีกัลเบสอย่างเดียว ไม่มีประสิทธิภาพทำงานได้อย่างเต็มที่ ต้องใช้ร่วมกับผงเพรก

พริกขี้หนู การทำแหนมอาจจะมีการเติมพริกขี้หนูเป็นเม็ด ๆ พริกขี้หนูที่เติมนั้น นอกจากจะให้รสเผ็ดเมื่อบริโภคแล้ว ยังช่วยเพิ่มสีสันที่สวยงามให้กับแหนมอีกด้วย

2. การนวดผสม

เนื้อหมูที่ใช้ทำแหนมไม่นิยมล้าง เนื่องจากเนื้อหมูจะดูดซึมน้ำ ทำให้มีความชื้นสูงและอาจเน่าเสียง่ายระหว่างการหมัก นำเนื้อมาหั่นและบดละเอียดผสมเครื่องปรุงคือ เกลือ โซเดียมไนเตรท/ไนไตรท์ กระเทียมและข้าวเหนียว นวดจนกระทั่งเนื้อเหนียวหนืดเป็นก้อนไม่ติดมือ เติมหนังหมูและนวดต่อให้เข้ากัน อาจมีการเติมพริกขี้หนูเพื่อให้รสเผ็ด

3. การบรรจุและการหมัก

แหนมเมื่อนวดได้ที่แล้ว นำเข้าเครื่องบรรจุที่มีกรวยขนาดใหญ่เส้นผ่าศูนย์กลาง 1-1.5 นิ้ว อัดให้เป็นท่อนยาวและตัดแบ่งเป็นก้อนขนาด1.5-2 นิ้ว ปั้นเป็นก้อนและห่อด้วยใบตอง รนไฟ มัดให้แน่นด้วยตอกเพื่อไล่อากาศภายในและแขวนหมักไว้ 2-3 วัน รับประทานได้

4. การเก็บรักษา

แหนมเมื่อหมักทิ้งไว้จนมีรสเปรี้ยวตามต้องการแล้ว ควบเก็บไว้ในตู้เย็น เพื่อไม่ให้ผลิตภัณฑ์มีรสเปรี้ยวเพิ่มขึ้น และสามารถเก็บรักษาไว้ได้นานพอสมควร

ลักษณะการเสื่อมเสียของเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์

การเสื่อมเสียของเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์สามารถแยกได้เป็น 2 ลักษณะคือ ลักษณะการเสียเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของรสชาติ และลักษณะการเสียเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของลักษณะปรากฏ (eye appearence)

1. การเสื่อมเสียเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงรสชาติ เกิดขึ้นจากการเหม็นหืน (rancidity) การเหม็นเน่า (putrefactive) และการเกิดแก๊สและรสเปรี้ยวเกิดขึ้น

ก. การเหม็นหืน (rancidity)

การเหม็นหืนเกิดขึ้นได้ เนื่องจากปฏิกิริยาของเอนไซม์จากแบคทีเรียและจากปฏิกิริยาของการออกซิไดซ์ของกรดไขมันไม่อิ่มตัว เอนไซม์จากแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดการเหม็นหืน ได้แก่ เอนไซม์ไลเปส (Lipase) จะไฮโดรไลซีสโมเลกุลของไขมันให้แตกออกเป็นกรดไขมันอิสระ และเอนไซม์ออกซิเดส (Oxidase) จะเข้าทำปฏิกิริยา oxidation กับกรดไขมันในองค์ประกอบที่เป็นไขมันในเนื้อสัตว์ ทำให้เกิดสารที่มีกลิ่นและรสชาติผิดปกติไป โดยแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของไขมัน เป็นแบคทีเรียพวก Pseudomonas และ Achromobactor

ข. การเหม็นเน่า (putrefactive)

การเหม็นเน่าเกิดขึ้นเนื่องจากแบคทีเรียพวก *Proteus* และ *Clostridium perfringens* เจริญอยู่ในเนื้อสัตว์และสามารถสร้างเอนไซม์ที่สามารถย่อยโปรตีน (Proteolitic enzyme) ขึ้นและย่อยสลายโมเลกุลของโปรตีน สายเพปไทด์หรือกรดอะมิโนอิสระได้ สิ่งที่เกิดจากการย่อยสลายสารประกอบพวกโปรตีน ทำให้เกิดสารที่ทำให้เนื้อมีกลิ่นเหม็นเน่าขึ้น ได้แก่ hydrogen sulphide, mercaptans, indole, ammonia, amine และอื่นๆ

ค. การเกิดแก๊สและรสเปรี้ยว (gassing and souring)

การย่อยสลายสารพวกคาร์โบไฮเดรทในเนื้อสัตว์ของแบคทีเรียประเภทที่ไม่ต้องการอากาศ เช่น พวก Lactic acid bacteria ชนิดต่างๆ เป็นผลให้เกิดกรดอินทรีย์ต่างๆ เกิดขึ้นทำให้เนื้อมี pH ลดลง และเกิดแก๊สขึ้นในเวลาเดียวกัน แบคทีเรียพวกนี้สามารถเจริญได้ภายในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกขนาดใหญ่ หรือในผลิตภัณฑ์ที่บรรจุแบบสุญญากาศ

2. การเสื่อมเสียเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงลักษณะปรากฏ เช่น การเกิดผิวหน้าเป็นเมือก (surface slime) การเกิดสีต่างๆ บนผิวหน้าของชิ้นเนื้อ และเกิดการเปลี่ยนแปลงสี (change in colour of meat pigments)

ก. ผิวหน้าเป็นเมือก (surface slime) มีสาเหตุเนื่องจากแบคทีเรียพวก *Pseudomonas* และ *Achromobactor* พบในเนื้อสัตว์ที่แขวนไว้ในห้องเย็นที่มีความชื้นสูง แต่ถ้ามีความชื้นต่ำในห้องเย็นจะพบพวก *Micrococcus* หรือ Yeast ปะปน เป็นสาเหตุให้เกิดเมือกขึ้นในผลิตภัณฑ์พวกไส้กรอก

เนื้อที่มีการปนเปื้อนด้วยแบคทีเรียหรือยีสต์หรือทั้ง 2 อย่างในปริมาณมากๆ จะปรากฏเห็นเป็นเมือกสีขาวๆ หรือบางครั้งเป็นเมือกสีเหลืองเกิดขึ้นบนผิวหน้าของชิ้นเนื้อ เมือก (microbiological slime) เป็นสารที่จุลินทรีย์ผลิตขึ้นในเซลล์ ไม่สามารถย่อยสลายได้เกิดสะสมขึ้นในเซลล์ แต่เมื่อปริมาณของจุลินทรีย์เพิ่มมากขึ้นจนสามารถมองเห็นเป็นโคโลนีด้วยตาเปล่าได้ มักจะปรากฏให้เห็นเป็นเมือกเกิดขึ้น ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่บรรจุแบบสุญญากาศจะไม่พบการเน่าเสียในลักษณะนี้ เพราะการปนเปื้อนของ anaerobic bacteria ในธรรมชาติมีน้อยกว่าพวก aerobic bacteria และพวก anaerobic bacteria โดยปกติจะผลิตกรดอินทรีย์ขึ้นระหว่างการเจริญเติบโต ปริมาณกรดที่เกิดขึ้นจากแบคทีเรียจะมีผลยับยั้งการเจริญของพวก aerobic bacteria ด้วย แต่ถ้าผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาในสภาพสุญญากาศมีการปนเปื้อนจาก anaerobic bacteria ขึ้นและเก็บรักษาไว้ช่วงระยะเวลาหนึ่ง ก็อาจเกิดการเน่าเสียที่สังเกตเห็นได้เป็นเมือกสีขาวคล้ายน้ำนม (whitish liquid) นอกจากนี้ในผลิตภัณฑ์ที่บรรจุแบบธรรมดา เมือกของแบคทีเรียจะปรากฏเห็นเป็นในรูปของเม็ดลูกปัดเล็กๆ ละเอียด แตะดูจะเป็นยางเหนียวและมีกลิ่นเหม็น (off-odour) บางครั้งมองเห็นคล้ายกับยีสต์

ข. การเกิดสีต่างๆ บนผิวหน้าของชิ้นเนื้อและผลิตภัณฑ์ เนื่องจากแบคทีเรียที่ปนเปื้อนอยู่สามารถสร้างรงควัตถุที่มีสีเกิดขึ้นในระหว่างการเจริญเติบโต ทำให้มองเห็นเป็นจุดต่างๆ เกิดขึ้นบนผิวหน้า เช่น จุดสีแดง (red spot) อาจมีสาเหตุมาจาก *Serratia marcescens* จุดสีเหลือง (yellow spot) จากแบคทีเรียพวก *Pseudomonas syncyanea* และจุดสีน้ำเงินแกมเขียวกับสีดำแกมน้ำตาล จากแบคทีเรียพวก *Chromobacterium lividum*

ค. การเปลี่ยนแปลงสี (change in colour of meat pigments) ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์เนื่องจากแบคทีเรียพวก *Lactobacillus viridescens* ซึ่งปนเปื้อนเข้ามาในส่วนผสมของเนื้อในขณะเตรียมส่วนประกอบ ในการอบและการรมควัน ผลิตภัณฑ์ใช้ความร้อนไม่เพียงพอต่อการทำลายแบคทีเรียที่ปนเปื้อนได้หมด แบคทีเรียที่เหลือรอดอยู่จะเจริญเติบโตและผลิตสาร hydrogen peroxide ซึ่งเป็น strong oxidizing agent สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลเฟอร์รัส (ferrous ion) ในโครงสร้างวงแหวนโพรไพริน (porphyrin ring) ของเม็ดสีไมโอโกลบิน ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีในรูปของ Verdoheme หรือ Choleglobin ทำให้เกิดสีเขียวขึ้น

บทที่ 5
ผลิตภัณฑ์ปลาหมัก

การดองเค็มปลาเป็นวิธีถนอมอาหารอย่างง่ายและต้นทุนต่ำ ซึ่งวิธีการแปรรูปปลาด้วยการดองเป็นวิธีการดำเนินชีวิตซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงที่อยู่แบบเร่ร่อนมาเป็นรูปแบบของการยึดถิ่นโดยการยังชีพจากธรรมยากรท้องถิ่น และเน้นเศรษฐกิจแบบการเกษตร ซึ่งเกิดขึ้นในแถบเอเชียอาคเนย์เป็นส่วนใหญ่ เนื่องจากมีฝั่งทะเลยาวและเอื้ออำนวยให้มีวัตถุดิบปลาสดและเกลือสมุทรล้นเหลือ แต่จากการที่มีอากาศร้อนและชื้นทำให้ปลาสดเน่าอย่างรวดเร็ว ส่วนเกลือนั้นไม่เพียงแต่ยับยั้งการเน่าเสียของปลาสดเท่านั้น หากยังเอื้อให้เกิดการหมักดองเป็นผลิตภัณฑ์ปลาหลากหลายชนิดของเอเชียอีกด้วย (ตารางที่ 5.1)

ตารางที่ 5.1 ชนิดของน้ำปลาและกะปีในประเทศแถบเอเชีย

Product	Country	Description
Nam-pla	Thailand	Fish sauce
Budu	Malaysia	Fish sauce
Patis	Philippines	Fish or shrimp sauce
Ishiru	Japan	Fish sauce
Nouc-mam	Vietnam	Fish sauce
Nam-pa	Laos	Fish sauce
Bagoong	Philippines	Fish or shrimp paste
Mam	Vietnam	Fish paste
Trassi	Indonesia	Shrimp or fish paste
Belachan	Malaysia	Shrimp paste

ที่มา : Hutkins (2006)

ชนิดของผลิตภัณฑ์ปลาหมัก

ผลิตภัณฑ์ปลาหมักของประเทศเอเชียและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ สามารถจัดกลุ่มตามวิธีการหมักได้ออกเป็น 3 ประเภท

1. Fermented fish sauce ผลิตภัณฑ์ปลาหมักที่มีลักษณะเป็นของเหลว ได้แก่ น้ำปลา บูดู
2. Fermented fish paste ผลิตภัณฑ์ปลาหมักที่มีลักษณะเนื้อละเอียด ได้แก่ กะปี
3. Fermented fish ผลิตภัณฑ์ปลาหมักที่มีลักษณะเป็นตัวปลาหมัก ได้แก่ ปลาร้า ส้มผัก ปลาส้ม

กะปีปลาและกะปีกุ้งของไทย จะมีเนื้อสัมผัสเรียบและละเอียด ค่อนข้างแห้งและมีเกลือมาก ส่วนปลาหมักที่เป็นชิ้นจะมีเนื้อซึ่งอาจจะเป็นปลาทั้งตัวหรือเป็นเพียงบางส่วน บางชนิดก็เป็นเนื้อปลาขนาดกลางที่บดผสมเกลือในปริมาณที่ต่ำกว่ากะปีคือ 6-18% และเป็นจำพวกอาหารหมักนานาชนิดที่มีปริมาณของกรดแลคติกอยู่มากกว่ากะปีและน้ำปลา หรือการเติมคาร์โบไฮเดรตชนิดต่างๆ ที่ใช้ผสมใน

การหมัก เช่น ข้าวสุก ข้าวคั่ว รำข้าวหรืออังกัก เป็นต้น ปัจจัยต่างๆ ที่มีอิทธิพลต่อคุณภาพผลิตภัณฑ์ เช่น ชนิดและปริมาณของคาร์โบไฮเดรทที่ใช้เติม วิธีการทำหรือตัดแต่งปลา เช่น การควักไส้ออก การแล่เอาเฉพาะเนื้อหรือการบดตัวปลา ตลอดจนสภาวะของการหมัก เช่น อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรด-ด่าง อากาศ ฯลฯ ล้วนแต่มีผลโดยตรงต่อเนื้อสัมผัส กลิ่นเอกลักษณ์และรสชาติของผลิตภัณฑ์นั้นๆ

1. การผลิตน้ำปลา

กระบวนการผลิตน้ำปลาต่างกับกระบวนการผลิตกะปิ ปลาที่หมักเกลือในปริมาณสูงนั้น มักไม่นำไปตากแดดให้แห้งเหมือนในการทำกะปิ แต่จะปล่อยให้เนื้อปลาละลายออกมาเองตามธรรมชาติ จนกลายเป็นของเหลวในสภาวะที่อากาศเข้าถึงได้น้อย ในกระบวนการหมักน้ำปลาวิธีดั้งเดิมนั้น ปลาคลุกเกลือจะถูกบรรจุแบบอัดแน่นในบ่อและทับหน้าบ่อด้วยเกลือ ฟองอากาศภายในบ่อจะถูกแทนที่ด้วยน้ำเกลือและการหมักจะปล่อยให้เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ

ระยะเวลาที่เกี่ยวข้องในกระบวนการหมักผลิตภัณฑ์หมักดองปลาทั้งสามประเภทนี้ แตกต่างกันอย่างชัดเจน การทำผลิตภัณฑ์ปลาหมักเป็นตัวหรือชิ้นของเนื้อปลานั้นใช้ระยะเวลาสั้นที่สุดคือ จากหลายวันจนถึงหลายสัปดาห์ กะปิใช้เวลาหมักหลายสัปดาห์จนถึงหลายเดือน ส่วนการทำน้ำปลาตามวิธีดั้งเดิมนั้นใช้ระยะเวลานานที่สุดคือ ใช้ระยะเวลาจากหลายเดือนจนถึงหนึ่งปีหรือมากกว่านั้น เพื่อให้ได้กลิ่นและรสชาติที่เป็นเอกลักษณ์ของน้ำปลา

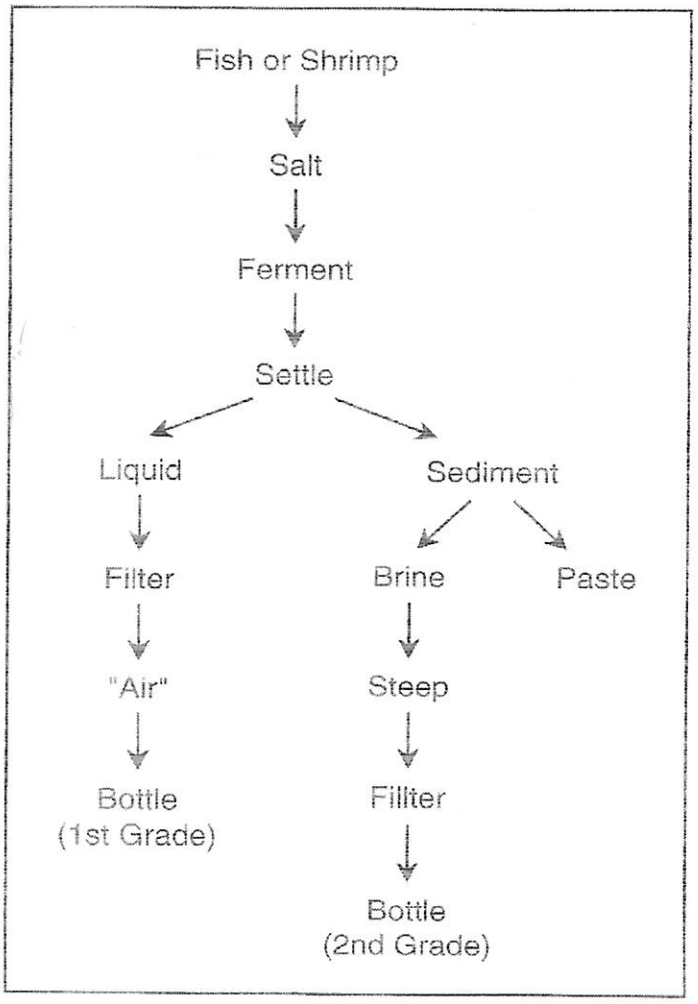
ขั้นตอนการหมักผลิตภัณฑ์น้ำปลา

ในประเทศไทยนิยมทำน้ำปลาจากปลาทะเล โดยปลาทะเลที่นำมาทำน้ำปลาได้แก่ ปลาไส้ตัน (*Stolepharus indicus* V. Hassett) ปลามะลิ (*S. comersonii*) ปลากะตัก ปลาหลังเขียว ปลาอบแล (*Sardinella perforate* และ *S. gigosa*) ปลาทู (*Rastnelliger kanagerta*) หากใช้ปลาน้ำจืดส่วนใหญ่จะเป็นปลาสร้อย ซึ่งมักจะเป็นผลพลอยได้จากการหมักปลาร้า ปลาไส้ตันจัดเป็นปลาที่ให้น้ำปลาที่มีคุณภาพดีที่สุด เพราะปลาไส้ตันเป็นปลาที่มีไขมันมาก เมื่อนำทำน้ำปลาจะได้น้ำปลาที่มีกลิ่นหอมน่ารับประทาน

นอกจากปลาแล้ววัตถุดิบที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งคือ เกลือ เกลือที่ใช้ทำน้ำปลาส่วนมากคือ เกลือทะเล ควรใช้เกลือที่มีคุณภาพดี เกลือที่บริสุทธิ์มากๆ จะแทรกซึมเข้าไปในเนื้อปลาได้เร็ว ทำให้น้ำในตัวปลาถูกสกัดออกมาภายนอก ปริมาณเกลือที่ใช้หากใช้น้อยเกินไปปลาจะเน่าเสียได้ หากทำให้น้ำปลามีกลิ่นคล้ายปลาร้า ถ้าใส่มากเกินไปปฏิกิริยาการเกิดน้ำปลาจะช้า ดังนั้นปริมาณเกลือที่ใช้ผสมต้องเหมาะสม โดยอาจพิจาณาจากสูตรดังนี้

$$\% \text{ เกลือที่ใช้} = \frac{50 \times (\% \text{ ความชื้นของปลา} - 35)}{100}$$

ปลาที่ใช้ในการหมักน้ำปลาควรเป็นปลาที่มีสภาพสด นำมาพักไว้บนลานซีเมนต์ 1-2 ชั่วโมง หลังจากนั้นผสมปลา 2 ส่วนกับเกลือ 1 ส่วน และให้มั่นใจว่าส่วนผสมของปลากับเกลือเคล้ากันอย่างทั่วถึง แล้วจึงนำใส่ถังหมักที่มีเกลือรองอยู่ก้นถัง ถังหมักน้ำปลาโดยทั่วไปจะมีลักษณะเป็นบ่อซีเมนต์ที่มีการเจาะรูเพื่อระบายส่วนที่เป็นของเหลวที่ได้จากการย่อยสลายเนื้อปลาหรือที่เรียกว่าน้ำปลา ปลาที่ใส่ถังหมักจะต้องใส่ให้ต่ำจากขอบบ่อประมาณ 50 ซ.ม. ชั้นบนโรยเกลือทับไปอีกชั้นหนึ่ง หมักทิ้งไว้ประมาณหนึ่งสัปดาห์จะเริ่มมีน้ำเยิ้มออกจากตัวปลา จึงต้องใช้ตะแกรงหรือหินหนักทับปลาให้จมอยู่เสมอ หมักทิ้งไว้ประมาณ 1 ปี จะได้หัวน้ำปลาประมาณ 40-50% ของปลาและเกลือทั้งหมด ขั้นตอนการผลิตน้ำปลาแสดงดังรูปที่ 5.1



รูปที่ 5.1 กระบวนการผลิตน้ำปลา

ที่มา : Hutkins (2006)

การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นระหว่างการผลิตน้ำปลา

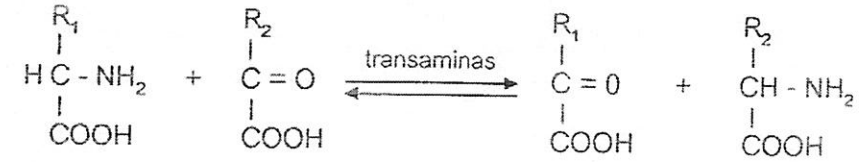
ในกระบวนการหมักน้ำปลาวิธีดั้งเดิมนั้น การเริ่มด้วยวิธีคลุกปลาสดขนาดตัวเล็กๆเข้ากับเกลือนั้นมีผลต่อแบคทีเรียที่มีอยู่กับปลาตามธรรมชาติ กลุ่มแบคทีเรียที่ไม่ชอบเกลือหรือพวก Non-halophiles จะถูกทำลายและตายไปอย่างรวดเร็วภายในช่วงสองสามวันแรก กลุ่มแบคทีเรียทนเกลือหรือพวก Halotolerant จะยังคงมีชีวิตอยู่รอดได้เป็นสัปดาห์ ส่วนพวกที่ชอบเกลือหรือพวก halophiles จะอยู่รอดได้เป็นเดือนหรือนานกว่า เฉพาะพวกที่มีความสามารถพิเศษจะสร้างสปอร์ซึ่งคล้ายเกราะหนาหุ้มตัวเองนั้น แม้ว่าจะมีอยู่เป็นจำนวนน้อยแต่จะทนอยู่ได้นานกว่าแบคทีเรียชนิดอื่นๆ แบคทีเรียหลายชนิดจะค่อยๆวิวัฒนาการจนสามารถปรับสภาวะให้คุ้นเคยกับสภาวะที่มีเกลือมากอย่างเช่นที่เป็นอยู่ในบ่อหมักน้ำปลา สภาวะดังกล่าวคือ สภาวะที่มีค่าพีเอช 5-6 มีอุณหภูมิของแถบเขตเส้นศูนย์สูตรคือระหว่าง 29-32 ^{o}C และสภาวะที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์อิ่มตัว ดังนั้นจุลินทรีย์เหล่านี้จะเจริญได้ในระยะเวลาต่างๆในระหว่างกระบวนการหมักน้ำปลา

ปฏิกิริยาเคมีที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมักน้ำปลา แบ่งเป็น 3 ขั้นตอน ดังนี้

(1) การเกิดไฮโดรไลซิส

1.1 การย่อยสลายโปรตีน เมื่อปลาตายเอนไซม์โปรติเอสจากตัวปลาและจุลินทรีย์จะย่อยสลายโปรตีนไปเป็นเพปไทด์และกรดอะมิโน แล้วกรดอะมิโนจะถูกย่อยสลายต่อไปอีกเป็น amine, keto acid, ammonia และ CO_2 กรดอะมิโนในน้ำปลาได้จากกรดอะมิโนอิสระในปลาและเกิดจากการย่อยสลายโปรตีน กรดอะมิโนเหล่านี้ยังเกิดการเปลี่ยนแปลงโดยปฏิกิริยา transamination และ oxidative deamination

เอนไซม์ transaminase เป็นเอนไซม์เร่งการเกิด transamination จะทำให้เกิดกรดอะมิโนชนิดใหม่โดยมีปฏิกิริยาดังนี้



amino â α - keto acid

กลุ่ม α-amino acid ของกรดอะมิโนที่สามารถเปลี่ยนแปลงได้โดยกระบวนการ transamination ได้แก่ alanine, arginine, aspartic acid, asparagines, isoleucine, cysteine, phenylalanine, tryptophane, tyrosine, valine และ lysine

oxidative deamination คือปฏิกิริยาการเพิ่มออกซิเจนเข้าไปในกรดอะมิโนและขับแอมโมเนียออก แบคทีเรียทุกชนิดสามารถทำให้เกิดปฏิกิริยานี้ได้ดังสมการ

กรดอะมิโนที่เป็นสารตั้งต้นของการเปลี่ยนแปลงโดยปฏิกิริยา oxidative deamination ได้ดี ได้แก่ tyrosine, methionine และ proline

การสลายโปรตีนส่วนใหญ่จะเกิดจากเอนไซม์ของแบคทีเรีย ได้แก่ *Micrococccus*, *Staphylococcus*, *Bacillus* และ Corynefom แบคทีเรียจะมีการเจริญสูงสุดในระยะแรกของการหมักเท่านั้น และจะปล่อยเอนไซม์ออกมาย่อยสารประกอบอินทรีย์ในตัวปลา หลังจากนั้นแบคทีเรียบางส่วนจะตายไปแต่ยังคงเหลือเอนไซม์ในอาหารหมัก เอนไซม์ทั้งจากปลาและแบคทีเรียจะมีประสิทธิภาพลดลงเมื่อเกลือมีความเข้มข้นสูงขึ้น นอกจากนี้ยังมีจุลินทรีย์ที่ชอบเกลือปานกลางและสร้างสปอร์ได้ชนิดหนึ่งคือ *Halobacillus thailandensis* sp.Nov. เป็นจุลินทรีย์สายพันธุ์ใหม่ที่แยกได้จากตัวอย่างน้ำปลาของไทย ซึ่งสามารถผลิตโปรติเอสในปริมาณสูง 3 ชนิด ได้แก่เซรีนโปรติเอส 2 สายพันธุ์ และเมทัลโลโปรติเอส 1 สายพันธุ์ จุลินทรีย์ชนิดนี้มีความใกล้เคียงทางพันธุกรรมกับ *Halobacillus litoralis* และ *Halobacillus halophilus* โดยการเปรียบเทียบลำดับเบสของ 16s RNA ซึ่งลักษณะทางพันธุกรรมบ่งบอกถึงคุณสมบัติการย่อยสลายโปรตีนในการทำน้ำปลา และการเกิดกลิ่นรสอันเป็นเอกลักษณ์ของน้ำปลาด้วย

1.2 การย่อยสลายไขมัน เกิดจากเอนไซม์ของตัวปลาและแบคทีเรียทำให้เกิดกรดไขมันชนิดที่ระเหยได้และระเหยไม่ได้ รวมทั้งคีโตน (ketone) และอัลดีไฮด์ (aldehyde) กรดไขมันนี้มีบทบาทสำคัญให้เกิดกลิ่นรสของน้ำปลา โดยกรดไขมันเกิดจากปฏิกิริยา oxidation ของไขมันและ oxidative deamination ของกรดอะมิโน

เมื่อเวลาหมักปลาเพิ่มมากขึ้นปริมาณด่างและกรดระเหยได้จะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ และจะหยุดการเพิ่มเมื่อสิ้นสุดการหมักได้ 9 เดือน กรดระเหยที่พบได้แก่ กรดฟอร์มิก กรดอะซีติก กรดโพรพิโอนิกและกรดไอโซบิวไทริก ส่วนกรดที่ไม่ระเหยได้แก่ กรดแลคติก พบมากในน้ำปลาผลิตจาก *Pediococcus halophilus* และ *Pediococcus* sp.

(2) การเกิดสีของน้ำปลา

การเกิดสีน้ำตาลในผลิตภัณฑ์ปลาหมักเกิดจากปฏิกิริยา millard reaction โดยการทำปฏิกิริยาของน้ำตาลและกรดอะมิโนและปฏิกิริยาของไขมันกับกรดอะมิโน อุณหภูมิและปริมาณออกซิเจนที่เพิ่มขึ้นจะทำให้สีน้ำตาลเข้มมากขึ้น และการเปลี่ยนแปลงของกรดไขมันไม่อิ่มตัว โดยการย่อยสลายได้เป็นสารประกอบคีโตนและอัลดีไฮด์ สารประกอบที่ได้จะทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนได้เป็นสารประกอบคาร์บอนิล (carbonyl) ที่จะเกิดปฏิกิริยาต่อไปเป็นสีน้ำตาล

(3) การเกิดกลิ่นรสของน้ำปลา

กลิ่นของน้ำปลาเกิดจาก *Pediococcus halophilus* ส่วนรสชาติเกิดจากกรดอะมิโนหลายชนิดที่ละลายอยู่ในน้ำปลา เมื่อหมักครบ 11 เดือนจะเหลือกรดอะมิโนเพียง 13 ชนิด ได้แก่ กรดกลูตามิค ไฮดรอกซี่โพรลีน กรดแอสพาติก เซอรีน อะลานีน ไกลซีน ฟีนิลอะลานีน ฮีลติดีน ฮีสตามีน วาลีน เมทไทโอนีนและลิวซีน

คุณภาพของน้ำปลาในประเทศไทย

- น้ำปลาที่มีคุณภาพดีต้องมีปริมาณไนโตรเจนรวมอยู่ระหว่าง 20-28 กรัมต่อลิตร น้ำปลาคุณภาพปานกลางนั้นมี 10-20 กรัมต่อลิตร น้ำปลาคุณภาพต่ำมีค่าต่ำกว่า 10 กรัมต่อลิตร
- ค่าพีเอชของน้ำปลาทั่วๆ ไปคือ 5.4-5.9 ถ้ามีพีเอชใกล้เคียง 7 จะเกิดตะกอนน้ำปลาขึ้นได้
- ความถ่วงจำเพาะของน้ำปลาส่วนใหญ่มีค่า 1.19-1.22 ปริมาณเกลือ 270-300 กรัมต่อลิตร น้ำปลาคุณภาพต่ำจะมีรสเค็มมากกว่าน้ำปลาอื่นๆ เนื่องจากมีโปรตีนละลายอยู่น้อยแต่มีเกลือละลายอยู่มาก (290-310 กรัมต่อลิตร)

2. การผลิตบูดู

บูดูเป็นอาหารหมักพื้นเมืองของประชาชนที่อาศัยอยู่ในภาคใต้ของประเทศไทย มาเลเซีย ซึ่งมีลักษณะกลิ่นรสคล้ายน้ำปลา แต่ต่างจากน้ำปลาที่ขั้นตอนการผลิตเพียงเล็กน้อยเท่านั้น การหมักน้ำบูดูจะเป็นการอัดปลาให้แน่นโดยมีไม้ไผ่ขัดไว้ที่ปากภาชนะ แต่กระบวนการผลิตน้ำปลาจะไม่มีการอัดปลาให้แน่นส่วนขั้นตอนอื่นๆจะเหมือนกัน

การเปลี่ยนแปลงทางจุลชีววิทยาในการผลิตบูดู

แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับการหมักบูดูจำแนกออกเป็น 3 กลุ่ม คือ

1.แบคทีเรียที่ย่อยโปรตีน แบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถสร้างเอนไซม์ที่สามารถย่อยโปรตีนให้เป็นกรดอะมิโนชนิดต่างๆ ได้แก่ *Bacillus* spp. และ *Micrococcus* spp.

2. แบคทีเรียที่ย่อยไขมัน แบคทีเรียหลายชนิดที่สามารถผลิตเอนไซม์ไลเปส (lipase) ย่อยอาหารพวกไขมัน และน้ำมันให้เป็นกรดไขมัน และกลีเซอรอล (glycerol) ลักษณะการย่อยไขมันอาจเป็นแบบไฮโดรไลซิส (hydrolysis) หรือออกซิเดชัน (oxidation) แบคทีเรียเหล่านี้ ได้แก่ *Lactobacillus* spp., *Bacillus* spp. และ *Achromobacter* spp.

3.แบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติก แบคทีเรียในกลุ่มนี้มีความสำคัญกับอาหารหมักดองต่างๆ แบคทีเรียชนิดนี้จะสร้างกรดแลคติกลงไปในอาหาร ทำให้แบคทีเรียชนิดอื่นที่เป็นอันตรายต่ออาหารและคนเจริญไม่ได้ แบคทีเรียกลุ่มนี้ ได้แก่ *Lactobacillus* spp. และ *Pediococcus* spp.

ระหว่างการหมักบูดู ปริมาณแบคทีเรียจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในวันที่ 3 ถึงวันที่ 10 ปริมาณแบคทีเรียที่เพิ่มขึ้นจะสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของกรดแลคติก ในขณะที่พีเอชจะลดลง การบรรจุปลาที่ผสมเกลือในบ่อบูดูจนแน่น ทำให้มีอากาศน้อยเหมาะแก่การเจริญของแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติก ส่วน

แบคทีเรียชนิดอื่นที่ต้องการอากาศ และแบคทีเรียที่ไม่ทนเกลือจะลดลง ในระยะแรกของการหมักช่วงวันที่ 3 ถึงวันที่ 10 แบคทีเรียที่มีบทบาท คือ แบคทีเรียชนิดที่ทนเกลือสูงและสร้างกรด ได้แก่ *Pediococcus halophilus* มีประมาณ 40% แบคทีเรีย *Staphylococcus* spp. มีประมาณ 40% ส่วนแบคทีเรีย *Bacillus* spp. และ Corynefom มีเล็กน้อย เมื่อหมักบูดูเป็นระยะเวลา 60 วัน ปริมาณแบคทีเรียจะลดลงเรื่อยๆ โดยจะมีกรดแลคติกเกิดขึ้น 1.1-1.3% สภาพของอาหารหมักที่เป็นกรดจะไปทำลายแบคทีเรียชนิดที่ไม่ทนกรด ความเป็นกรดจะลดลงอย่างช้าๆ หรือคงที่ เนื่องจากกรดอะมิโนที่เกิดขึ้นในอาหารหมักจะทำหน้าที่เป็นบัฟเฟอร์ได้อย่างดี น้ำบูดูที่มีอายุการหมัก 90 วันจะพบแบคทีเรีย *Pediococcus halophilus* ประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ และ Corynefom ประมาณ 10%

แบคทีเรียที่พบในระยะแรกของการหมักอาจเป็นแบคทีเรียที่ติดมากับส่วนต่างๆ ของปลา ซึ่งมีปริมาณไม่เท่ากันขึ้นกับความสดของปลา ขนาดปลา สภาพแวดล้อมที่ปลานั้นอยู่ ตลอดจนกระบวนการขนส่งจากท่าเรือจนถึงผู้ผลิตบูดู หรืออาจติดมากับเกลือที่ใช้หมักซึ่งส่งผลต่อคุณภาพของบูดู อย่างไรก็ตามในการหมักบูดูนั้น ความเข้มข้นของเกลือ ความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ และปริมาณสารอาหารของแบคทีเรียมีผลต่อจำนวนแบคทีเรียแต่ละชนิด ซึ่งแบคทีเรียที่ไม่สามารถทนสภาวะแวดล้อมในบ่อบูดูได้จะตายลง แต่เอนไซม์ที่ถูกสร้างขึ้นก่อนหน้าที่แบคทีเรียตายยังสามารถย่อยสลายต่อไปได้ ถ้าสภาวะแวดล้อมนั้นเอื้อต่อการทำงานของเอนไซม์

การเกิดสีของบูดู

การเกิดสีน้ำตาลแดงในบูดูนั้น เกิดขึ้นได้ 2 วิธี คือ

1. เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างน้ำตาลกับสารประกอบอะมิโน เช่น น้ำตาลไลโบส และไรโบฟอสเฟส ซึ่งได้จากการย่อยสลายของกรดไรโบนิวคลีอิก (ribonucleic acid) นอกจากการเกิดปฏิกิริยาดังกล่าวแล้วยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นอีก เช่น อุณหภูมิ ปริมาณออกซิเจน รวมทั้งสารเคมีที่มีคุณสมบัติในการเร่งปฏิกิริยา เป็นต้น

2. เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างไขมันกับสารประกอบอะมิโน เช่น ฟอสโฟลิปิด (phospholipid) และไลโปโปรตีน (lipoprotein) เมื่อมีน้ำตาลและออกซิเจนอยู่จะเกิดปฏิกิริยาระหว่างกลุ่มอะมิโนกับอัลดีไฮด์ทำให้เกิดสีน้ำตาล เป็นต้น

การเกิดกลิ่นของบูดู

การเกิดกลิ่นของบูดู เกิดจากสารที่ระเหยได้ในบูดู แบ่งกลุ่มสารระเหยได้ต่างๆ ที่ให้กลิ่นในบูดู ดังนี้

1. สารที่ให้กลิ่นแอมโมเนีย ได้แก่ สารประกอบพวกแอมโมเนีย และไตรเมธิลานีน

2. สารที่ให้กลิ่นเนยแข็ง ได้แก่ กรดไขมันที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ โดยเฉพาะกรดเอทาโนอิก และกรดบิวทาโนอิก

3. สารที่ให้กลิ่นเนื้อ สารประกอบที่ทำให้เกิดกลิ่นนี้ยังไม่แน่ชัดว่าเป็นสารใด แต่เชื่อว่าสารประกอบพวกคีโตน และกรดคีโต (keto acid) เป็นตัวสำคัญที่ก่อให้เกิดกลิ่นนี้

3. การผลิตไตปลา

ไตปลาเป็นอาหารปลาหมักประเภทหนึ่งได้จากการหมักกระเพาะและลำไส้ของปลาทะเลทุกชนิด แต่ส่วนใหญ่นิยมใช้ไส้ปลาทู (*Rastrelliger negectus*) และปลาจรวด (*Johnius birtwistlei*) เนื่องจากเป็นปลาที่จับได้จำนวนมาก คนไทยที่นิยมนำไตปลามาปรุงเป็นแกงไตปลา

ขั้นตอนการผลิตไตปลา

กระบวนการผลิตไตปลา เริ่มจากการนำกระเพาะและไส้ของปลาทะเลมารีดเอาสิ่งสกปรกออก จากนั้นล้างทิ้งให้สะเด็ดน้ำ จากนั้นเติมเกลือในอัตราส่วนเกลือ 1 ส่วนต่อกระเพาะและไส้ปลา 10 ส่วน โดยน้ำหนัก เติมผงเพรกหรือเกลือไนไตรท์และไนเตรทเล็กน้อย บรรจุลงในภาชนะปิดฝาให้สนิท หมักไว้นาน 12-14 วัน

บทบาทของจุลินทรีย์ในระหว่างการหมักไตปลา

กระบวนการหมักไตปลาเกิดจากการย่อยสลายกระเพาะและลำไส้ของปลา โดยเอนไซม์ในกระเพาะ ลำไส้ของปลาและเอนไซม์จากจุลินทรีย์ เมื่อหมักไตปลาไปได้ 3-6 วัน จะพบ *Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis* เป็นจำนวนมาก รวมถึง *Bacillus subtilis*, *Bacillus polymyxa* และ *Vibrio fishcheri* ที่มีความสามารถในการย่อยสลายโปรตีน นอกจากนี้อวัยวะของปลาทูจะพบ *Micrococcus* 19%, *Bacillus* 48%, Coryneform 15%, *Staphylococcus* 6% และอื่นๆ อีก 5% เมื่อหมัก 10 วันแรก การเปลี่ยนแปลงจะเกิดน้อยยังคงมีกลิ่นคาวของปลาทู หลังจากหมัก 10 วัน จะเริ่มมีฟองก๊าซเล็กๆ ประมาณวันที่ 12-13 ฟองก๊าซจะมีขนาดใหญ่ขึ้นและดันส่วนของไส้และกระเพาะปลาให้ลอย ไส้และกระเพาะที่ลอยจะมีสีน้ำตาลเข้มและไส้ปลาเริ่มเปื่อยยุ่ย ในการหมักไตปลานี้จะมีกลิ่นเปรี้ยวเล็กน้อย เมื่อหมักครบ 12-13 วัน ปริมาณกรดจะเพิ่มขึ้นเป็น 1.18-1.25% และมีพีเอช 5.5 แบคทีเรียที่มีบทบาทในการสร้างกลิ่นรสคือ *Pediococcus halophilus* Mees ซึ่งสร้างกรดแลคติก

4. การผลิตกะปิ

กะปิจัดเป็นผลิตภัณฑ์อาหารปลาหมักประเภทหนึ่งที่มีกรรมวิธีการผลิตโดยทั่วไปคือ นำปลาหรือเคยหรือกุ้งฝอยมาบดผสมกับเกลือในอัตราส่วนที่เหมาะสมและทิ้งให้เกิดการหมักนาน 3-6 เดือน กรรมวิธีการหมักในแต่ละประเทศมีปัจจัยที่แตกต่างกันในด้านวัตถุดิบ การชะลอเวลาเติมเกลือ ปริมาณเกลือ จำนวนครั้งของการบด และระยะเวลาในการหมัก

ขั้นตอนการผลิตกะปิ

กะปิที่นิยมบริโภคกันมากทำมาจากเคยซึ่งเป็นสัตว์น้ำเค็ม มีรูปร่างคล้ายกุ้งแต่ตัวเล็กกว่ามีขนาดยาว 1-2 เซนติเมตร ชอบหากินเป็นฝูงใกล้ชายฝั่งทะเล ชอบลอยตัวขึ้นมาบนผิวน้ำ นิยมใช้เคยตาดำมาทำกะปิเพราะเป็นเคยที่มีเปลือกอ่อน การย่อยสลายเร็วและเบาแรงในการบด

ปฏิกิริยาเคมีที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมัก

เอนไซม์โปรติเอสจากจุลินทรีย์ ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Micrococcus morrhuae* และ *Bacillus* sp. มีบทบาทในการย่อยสลายเคย ทำให้ปริมาณไนโตรเจนในรูปของด่างที่ระเหยได้ แอมโมเนีย ปริมาณไนโตรเจนในรูปกรดอะมิโน ปริมาณไตรเมทซิลเอมีน และปริมาณกรดไขมันเพิ่มมากขึ้นจากเดิม การย่อยสลายนี้ยังไม่สมบูรณ์เท่าในน้ำปลาเพราะปริมาณไนโตรเจนที่สลายได้น้อยกว่า 50%

กะปิเคยมีสีม่วง ชมพู เกิดจากปฏิกิริยาการออกซิเดชั่นของแอสตาซานทีน (astaxanthine) ได้เป็น แอลตาซีน (astacene) ซึ่งให้สีแดง กลิ่นรสของกะปิได้จากกรดอะมิโนและสารประกอบที่ระเหยได้ เช่น แอมโมเนีย เอมีน

5. ปลาร้า

ปลาร้าเป็นอาหารหมักพื้นเมืองที่ประชาชนในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือและภาคกลาง นิยมบริโภคโดยเฉลี่ย 10.5 กรัม/คน/วัน และมีคุณค่าทางอาหารสูง ประกอบด้วยโปรตีน 16% ไขมัน 6.1% วิตามินบีสิบสองประมาณ 2.17 มิลลิกรัม ไอโอดีน 1.18 มิลลิกรัม แคลเซียม 1505.16 มิลลิกรัม ลักษณะของปลาร้าคือเนื้อปลาจะนิ่มยุ่ยเมื่อต้มจะละลายได้หมด มีสีตั้งแต่สีเหลืองเข้มจนถึงสีน้ำตาล ขึ้นอยู่กับสีของข้าวคั่วหรือรำ รสเค็มปนเปรี้ยวเล็กน้อย มีกลิ่นรุนแรง ใช้ประกอบอาหารคาวหรือปรุงรสจัดกินเป็นแจ่ว

ปลาร้าโดยทั่วไปจำแนกได้ 2 ชนิดดังนี้ คือ

(1) ปลาร้าข้าวคั่ว เป็นปลาหมักเกลือที่ใส่ข้าวคั่ว เช่น ปลาร้าปลากระดี่ ปลาร้าปลาเบญจพรรณ ปลาร้าปลาช่อน ฯลฯ ซึ่งจะมีลักษณะตัวปลานิ่ม มีกลิ่นเฉพาะตัว มีสีเหลืองเข้ม ผลิตมากในจังหวัดอยุธยา อ่างทอง เป็นต้น

(2) ปลาร้ารำ เป็นปลาหมักเกลือที่ใส่รำปนข้าวคั่ว มักทำจากปลาขนาดเล็ก เช่น ปลาสร้อย ปลาซิว ปลากระดี่ ฯลฯ ซึ่งมีลักษณะเป็นน้ำใสสีดำคล้ำ ปลายังคงเป็นตัวปลา เนื้อไม่นิ่มมาก มีกลิ่นเฉพาะตัวมากกว่าปลาร้าข้าวคั่ว ผลิตมากในจังหวัดนครราชสีมา ขอนแก่น อุบลราชธานีและยโสธร นิยมนำไปทำเป็นแจ่วสำหรับเอาข้าวเหนียวจิ้มรับประทาน

ขั้นตอนการทำปลาร้า

ปลาที่นำมาหมักทำปลาร้าสามารถใช้ปลาสดหรือไม่สดก็ได้ ขั้นตอนในการทำปลาร้าแบ่งเป็น 2 ขั้นตอนใหญ่ๆ ดังนี้คือ

(1) ผสมปลาและเกลือเข้าด้วยกัน หมักทิ้งไว้ 3 เดือน เพื่อให้ปลามีลักษณะอ่อนนุ่ม

(2) นำปลาที่หมักได้ที่แล้วมาผสมกับข้าวคั่วหรือรำ เพื่อให้ปลาหมักมีรสหวาน รสเปรี้ยว และมีกลิ่นหอม

ปฏิกิริยาเคมีที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมัก

ขั้นตอนที่ 1 ปฏิกิริยาเคมีที่เกิดจะเหมือนในการหมักเพื่อทำน้ำปลาในระยะแรก ในขั้นตอนที่ 2 เมื่อเติมข้าวคั่ว ค่าพีเอชจะค่อยๆ ลดลง ปริมาณกรดจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วซึ่งเป็นกรดแลคติกที่เกิดจาก *Pediococcus halophilus* และ *Pediococcus* sp. เปลี่ยนแป้งให้เป็นกรดแลคติก โดยผ่านกระบวนการ glycolysis ทำให้มีกรดแลคติกเพิ่มขึ้นประมาณ 7% และมีกรดไขมันที่เกิดจาก deamination

6. ปลาส้ม

ปลาส้มมักจะทำมาจากปลาตัวเล็ก มีลักษณะนิ่มและมีน้ำออกมาจากตัวปลา ข้าวสุกเละจนละลายรวมไปกับน้ำ มีรสเปรี้ยวนำ รสเค็มและรสหวานพร้อมกลิ่นระเหย รับประทานเป็นเครื่องจิ้มกับผัก

ขั้นตอนการทำปลาส้ม

(1) นำปลาตัวเล็กมาตัดหัว เอาเกล็ดและไส้ออก

(2) ล้างน้ำให้สะอาดและทิ้งให้สะเด็ดน้ำ

(3) หมักด้วยเกลือในอัตราส่วน ปลา:เกลือ = 7:3 (เกลือ 40% ของน้ำหนักปลา)

(4) อัดใส่ไหให้แน่นโดยมีไม้ไผ่ขัดปากไหให้ปลาจมอยู่ใต้น้ำเกลือ และหมักไว้ 2 วัน

(5) นำปลาออกจากน้ำเกลือมาผสมกับข้าวสุกในอัตราส่วน ปลา:ข้าวสุก = 5:1 (ข้าวสุก 20% ของน้ำหนักปลา)

(6) อัดใส่ไห ใช้ไม้ไผ่ขัดปากไหใส่น้ำเกลือที่เหลือจากข้อ (4) ให้ท่วมตัวปลา หมักไว้ 3-5 วัน

บทที่ 6
ผลิตภัณฑ์หมักจากผักและผลไม้

ผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากผักและผลไม้ มีอยู่หลากหลายทั่วโลก แต่ละประเทศก็จะมีกรรมวิธีในการหมักแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับวัตถุดิบที่มีในแต่ละท้องถิ่นและวัฒนธรรมการบริโภค อย่างไรก็ตามผลผลิตที่ได้ส่วนใหญ่เกิดจากการหมักของแบคทีเรียกรดแลคติก ดังตารางที่ 6.1

ตารางที่ 6.1 ตัวอย่างอาหารหมักที่ได้จากผักและผลไม้ ของทวีปต่างๆ ทั่วโลก

ชื่อหรือขอบเขตของทวีป	ชนิดของผลิตภัณฑ์
Indian sub-continent	
Acar, Achar, Tandal achar, Garam nimboo achar	Pickled fruit and vegetables
Gundruk	Fermented dried vegetable
Lemon pickle, Lime pickle, Mango pickle	
South East Asia	
Asinan, Burong mangga, Dalok, Jeruk, Kiam-chai, Kiam-cheyi, Kong-chai, Naw-mai-dong, Pak-siam-dong, Paw-tsay, Phak-dong, Phonlami-dong, Sajur asin, Sambal tempo-jak, Santol, Si-sek-chai, Sunki, Tang-chai, Tempoyak, Vanilla,	Pickled fruit and vegetables
Bai-ming, Leppet-so, Miang	Fermented tea leaves
Nata de coco, Nata de pina	Fermented fruit juice
East Asia	
Bossam-kimchi, Chonggak-kimchi, Dan moogi, Dongchimi, Kachdoo kigactuki, Kakduggi, Kimchi, Mootsanji, Muchung-kimchi, Oigee, Oiji, Oiso baegi, Tongbaechu-kimchi, Tongkimchi, Totkal kimchi,	Fermented in brine

ตารางที่ 6.1 ตัวอย่างอาหารหมักที่ได้จากผักและผลไม้ ของทวีปต่างๆ ทั่วโลก (ต่อ)

ชื่อหรือขอบเขตของทวีป	ชนิดของผลิตภัณฑ์
East Asia	
Cha-ts'ai, Hiroshimana, Jangagee, Nara senkei, Narazuke, Nozawana, Nukamiso-zuke, Omizuke, Pow tsai, Red in snow, Seokbakji, Shiozuke, Szechwan cabbage, Tai-tan tsoi, Takana, Takuan, Tsa Tzai, Tsu, Umeboshi, Wasabi-zuke, Yen tsai	Pickled fruit and vegetables
Hot pepper sauce	
Africa	
Fruit vinegar	Vinegar
Hot pepper sauce	
Lamoun makbouss, Mauoloh, Msir, Mslalla, Olive	Pickled fruit and vegetables
Oilseeds, Ogili, Ogiri, Hibiscus seed	Fermented fruit and vegetable seeds
Wines	Fermented fruits
Americas	
Cucumber pickles, Dill pickles, Olives, Sauerkraut,	Pickled fruit and vegetables
Lupin seed, Oilseeds,	Pickled oilseed
Vanilla, Wines	Fermented fruit and vegetable
Middle East	
Kushuk	Fermented fruit and vegetables
Lamoun makbouss, Mekhalel, Olives, Torshi, Tursu	Pickled fruit and vegetables
Wines	Fermented fruits
Europe and World	
Mushrooms, Yeast	Moulds
Olives, Sauerkohl, Sauerruben	Pickled fruit and vegetables
Grape vinegar, Wine vinegar	Vinegar
Wines, Citron	Fermented fruits

ที่มา : Battcock and Azam-Ali (1998)

ผลิตภัณฑ์หมักผักและผลไม้ที่นิยมแพร่หลาย ได้แก่ กะหล่ำปลีดอง (sauerkraut) ผักผลไม้ดอง (pickles) และมะกอกดอง (pickled olive) วัตถุดิบที่ใช้มีทั้งกะหล่ำปลี (cabbage) แตงกวา (cucumber) และมะกอก (olive) ซึ่งมีปริมาณและชนิดขององค์ประกอบแตกต่างกัน (ตารางที่ 6.2)

ตารางที่ 6.2 องค์ประกอบของกะหล่ำปลี แตงกวาและมะกอก

Vegetable	H_2O	Carbohydrate	Protein	Fat
Cabbage	92% - 94%	5% - 6%	1%	—
Cucumbers	95%	2% - 3 %	1%	—
Olives	78% - 80%	2% - 4%	1% - 2%	12% - 14%

ที่มา : Hutkins (2006)

ในกระบวนการหมักผัก จะเป็นผลมาจากการเปลี่ยนน้ำตาลในผักและในน้ำเกลือไปเป็นกรดแลคติกซึ่งทำหน้าที่เป็นสารกันเสีย รวมทั้งสารอินทรีย์อื่นๆ ที่เกิดขึ้น เป็นองค์ประกอบของกลิ่นรสและรสชาติของผลิตภัณฑ์สุดท้าย แบคทีเรียกรดแลคติกที่เกี่ยวข้องกับการหมักผัก ได้แก่ *Leuconostoc mesenteroids Lactobacillus brevis, L. plantarum* และ *Pediococcus pentacaseus* ซึ่งอัตราส่วนของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมัก ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของเกลือ อุณหภูมิของการหมักและความต้องการอากาศของจุลินทรีย์สำหรับใช้ในการเจริญเติบโต กระบวนการหมักผักโดยทั่วไปเกิดจากการหมักโดยแบคทีเรียแลคติกซึ่งมีอยู่ตามธรรมชาติในวัตถุดิบ (microflora) รวมทั้งกลุ่มของจุลินทรีย์จำพวก ยีสต์ รา แบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ (ตารางที่ 6.3) มีการทดลองการหมักด้วยวิธีการเติมกล้าเชื้อในการหมักแตงกวาดองเพื่อหลีกเลี่ยงการเสื่อมเสียเนื่องมาจากแบคทีเรียชนิดเฮทเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ (heterofermentative bacteria) โดยจุลินทรีย์กลุ่มนี้จะแทรกตัวเข้าไปในไส้แตงกวา และสร้างแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ขึ้น เป็นผลให้เกิดช่องว่างภายในผลแตงกวาดอง

ตารางที่ 6.3 ตัวอย่างของจุลินทรีย์ตามธรรมชาติ (microflora) ที่พบในผัก

Organisms	Log CFU/g
Aerobic bacteria	4 — 6
Pseudomonas	
Flavobacterium	
Micrococcus	
Staphylococcus	
Bacillus	
Lactic acid bacteria	0.7 — 4
Lactobacillus	
Pediococcus	
Streptococcus	
Tetragenococcus	
Leuconostoc	
Enteric bacteria	3 — 3.5
Enterococcus	
Enterobacter	
Klebsiella	
Escherichia	
Yeasts and Mold	0.3 — 4.6
Fusarium	
Ascochyta	
Aspergillus	
Penicillium	
Rhodotorula	

ที่มา : Hutkins (2006)

แต่การหมักโดยใช้กล้าเชื้อในเชิงอุตสาหกรรมยังไม่เป็นที่นิยม ด้วยเหตุที่การหมักกรดแลคติกที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักไม่ได้ขึ้นอยู่กับจุลินทรีย์เพียงชนิดเดียว แต่จะมีความหลากหลายของแบคทีเรียใน species ต่างๆ (ตารางที่ 6.4)

ตารางที่ 6.4 กลุ่มแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีความเกี่ยวข้องกับการหมักผัก

Sauerkraut	Kimchi	Pickles	Olives
Leuconostoc mesenteroides	*Leuconostoc mesenteroides*	*Leuconostoc mesenteroides*	*Leuconostoc mesenteroides*
Leuconostoc fallax	*Leuconostoc kimchii*	*Lactobacillus plantarum*	*Lactobacillus plantarum*
Lactobacillus plantarum	*Leuconostoc gelidum*	*Lactobacillus brevis*	*Lactobacillus brevis*
Lactobacillus brevis	*Leuconostoc inhae*	*Pediococcus pentosaceus*	
Pediococcus pentosaceus	*Leuconostoc citreum*		
	Lactobacillus plantarum		
	Lactobacillus brevis		
	Lactococcus lactis		
	Weissella kimchii		

ที่มา : Hutkins (2006)

1. กะหล่ำปลี

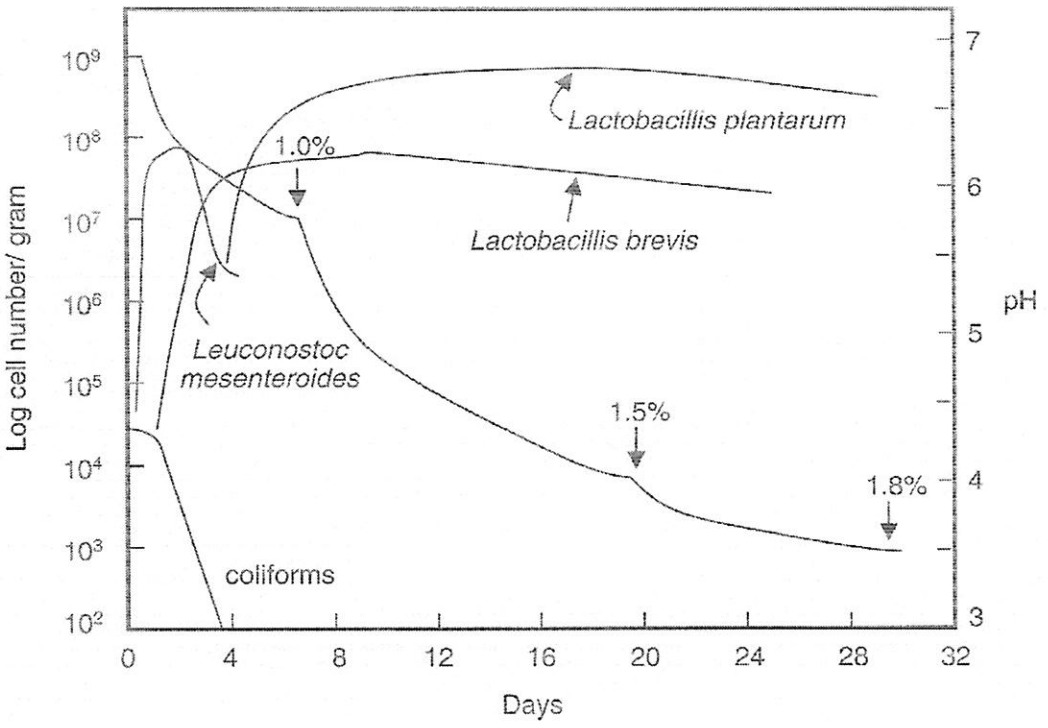
การหมักกะหล่ำปลี (รูปที่ 6.1) จะมีส่วนประกอบเพียง 2 ชนิดเท่านั้นคือ กะหล่ำปลีและเกลือ เมื่อมีการผสมส่วนประกอบอย่างถูกต้องและเหมาะสม จะทำให้ใช้ระยะเวลาในการหมักสั้น ได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายตามความต้องการที่มีกลิ่นของกรดแลคติกที่ได้มาจากกระบวนการหมัก ไม่ควรน้อยกว่า 1.5%

รูปที่ 6.1 ขั้นตอนการหมักกะหล่ำปลี

ที่มา : Hutkins (2006)

กระบวนการหมักกะหล่ำปลี

การหมักกะหล่ำปลีเป็นตัวอย่างของการหมัก โดยใช้จุลินทรีย์หลายชนิดเจริญแทนที่ต่อเนื่องกัน (microbial succession) โดยกลุ่มจุลินทรีย์หรือจุลินทรีย์ชนิดแรกเจริญขึ้นแล้วเปลี่ยนสภาวะในอาหาร ทำให้เหมาะต่อการเจริญของจุลินทรีย์หรือกลุ่มของจุลินทรีย์ชนิดที่สองที่เจริญขึ้นเป็นลำดับ (รูปที่ 6.2) กระบวนการหมักกระหล่ำปลีดองแบ่งได้เป็น 3 ระยะ ได้แก่



รูปที่ 6.2 การหมักแบบต่อเนื่องกันโดยแบคทีเรียกรดแลคติกในระหว่างการหมักกะหล่ำปลี
ที่มา : Hutkins (2006)

(1) ระยะเริ่มต้น ระยะนี้จุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศคือ *Leuconostoc mesenteroids* จะเจริญโดยใช้แหล่งคาร์บอนจากน้ำตาลจากผักที่แช่ในน้ำเกลือ แล้วให้ผลผลิตเป็นกรดแลคติก กรดอะซิติก เอธานอลและคาร์บอนไดออกไซด์ บทบาทของเชื้อ *Leuconostoc mesenteroids* ในการผลิตกระหล่ำปลีดอง มีความซับซ้อนและมีผลต่อคุณภาพที่ดีของผลิตภัณฑ์สุดท้ายดังนี้

1.1) ทำให้เกิดกรดแลคติกและอะซิติกอย่างรวดเร็วและลดค่า pH ในน้ำเกลือให้ต่ำกว่า 4.0 ภายใน 2 วันแรกของการหมัก ซึ่งจะช่วยยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียชนิดอื่นๆ รวมทั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ทำให้กระหล่ำปลีอ่อนตัวลง

1.2) การเกิดคาร์บอนไดออกไซด์ ทำให้ปริมาณออกซิเจนในน้ำเกลือลดลง เกิดสภาวะไร้อากาศเพิ่มขึ้น นอกจากนั้นคาร์บอนไดออกไซด์ยังช่วยยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบบางชนิดและกระตุ้นการเจริญของแบคทีเรียแลคติกชนิดอื่นๆ

1.3) สภาวะไร้อากาศทำให้วิตามินซีในกระหล่ำปลีมีความคงตัวและปริมาณวิตามินต่างๆ จะยังคงอยู่

1.4) น้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดจากการย่อยสลายซูโครสในน้ำเกลือ อาจทำให้ผลิตภัณฑ์เกิดสีคล้ำเนื่องจากไปรวมตัวกับกรดอะมิโนที่มีอยู่ (ปฏิกิริยาเมลลาร์ด) เชื้อ *Leuconostoc* จะยับยั้งปฏิกิริยานี้โดยเปลี่ยนน้ำตาลฟรุคโตสไปเป็นแมนนิทอล (mannitol) และเปลี่ยนกลูโคสไปเป็นเด็กซ์แตรน (dextran) ซึ่งสารทั้งสองชนิดที่เกิดขึ้นใช้เป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตของแบคทีเรียแลกติกอื่นๆ

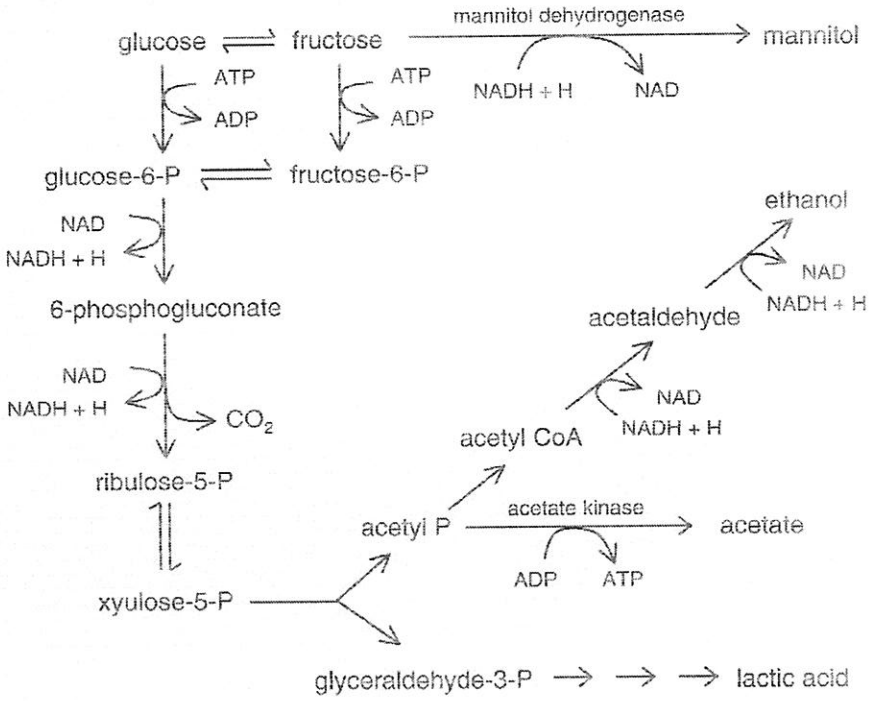
1.5) *Leuconostoc* อาจสร้างสารกระตุ้นการเจริญบางชนิด ซึ่งช่วยให้แบคทีเรียกรดแลคติกชนิดอื่นๆ เจริญได้ดีขึ้น

1.6) *Leuconostoc* ช่วยทำให้กลิ่นรสและรสชาติของผลิตภัณฑ์สุดท้ายดีขึ้นในช่วงระยะเวลา 15 ชั่วโมงแรกของการหมัก มักพบว่ามีการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบ โดยเฉพาะโคลิฟอร์ม ซึ่งจะช่วยใช้ออกซิเจนที่มีอยู่ในน้ำเกลือ แต่เชื้อเหล่านี้จะถูกทำลายภายในเวลา 1 - 2 วัน

(2) ระยะที่สอง เมื่อมีการสะสมของกรดแลคติกมากขึ้นซึ่งทำให้ค่า pH ลดลง *Lactobacillus brevis* ซึ่งเป็นแบคทีเรียเฮทเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ และ *L. plantarum* ซึ่งเป็นโฮโมเฟอร์เมนเททีฟและทนกรดได้ดีกว่า เริ่มมีการเจริญและเพิ่มจำนวนมากขึ้นเป็นลำดับ แบคทีเรียทั้งสองชนิดจะสร้างกรดแลคติกเพิ่มสูงขึ้น โดยจะมีจำนวนจุลินทรีย์สูงมากในช่วงระยะเวลาของวันที่ 6 – 8 นับจากเริ่มต้น

(3) ระยะที่สาม หลังจากที่การหมักผ่านไป 16 – 18 วัน พบว่า *L. brevis* จะลดจำนวนลง ส่วน *L. plantarum* จะยังคงมีจำนวนเพิ่มขึ้น และการหมักยังคงดำเนินต่อไปจนกระทั่งน้ำตาลทั้งหมดที่มีอยู่ถูกเปลี่ยนไปเป็นกรดแลคติก

ผลิตภัณฑ์กะหล่ำปลีดองที่ได้มีความเป็นกรดอยู่ประมาณ 1.7% และ pH อยู่ระหว่าง 3.4-3.6 และยังพบสารอื่นๆ อีก ได้แก่ แมนนิทอล (mannitol) ที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักกะหล่ำปลีเช่นเดียวกัน ซึ่งเกิดจากน้ำตาลฟรุกโตสถูก heterofermentative โดย *Leuconostoc* และ *Lactobacilli* ผ่านทาง NADH ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับเอนไซม์ mannitol dehydrogenase ดังรูปที่ 6.3 การเกิด NAD ขึ้นอีกครั้งหนึ่งใน heterofermentative pathway โดยปกติแล้วจะเกิดขึ้น 2 ครั้ง ครั้งแรกเมื่อ acetyl CoA reduced acetaldehyde และหลังจากนั้นเมื่อ acetaldehyde reduced ethanol นอกจากนี้สารในกลุ่มไดอะเซทิล อะซิตัลดีไฮด์และเอสเทอร์ เป็นสารที่ให้กลิ่นรสแก่ผลิตภัณฑ์



รูปที่ 6.3 กระบวนการเกิดแมนนิทอลด้วย *Leuconostoc* โดยปฏิกิริยาการเมทาโบไลท์กลูโคสและฟรุกโตสใน heterofermentative pathway

ที่มา : Hutkins (2006)

การเสื่อมเสียของการหมักกะหล่ำปลี

ในบางกรณีการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีหรือกายภาพ ทำให้กะหล่ำปลีดองเกิดการเสื่อมเสียได้ สาเหตุส่วนใหญ่มาจากกลุ่มของจุลินทรีย์ดังตารางที่ 6.5 การเสื่อมเสียเกิดขึ้นจากการควบคุมสภาวะการหมักไม่เหมาะสม ซึ่งปัจจัยที่มีผลกระทบต่อการหมักและคุณภาพของผลิตภัณฑ์คือ อุณหภูมิและความเข้มข้นของเกลือ ยกตัวอย่างเช่น กรณีที่อุณหภูมิสูง (>30°C) หรือความเข้มข้นของเกลือสูงเกินไป (>3%) ทำให้เกิดการยับยั้งการทำงานของแบคทีเรีย *Leuconostoc mesenteroids* จึงไม่เกิดการหมักแบบ heterofermentative มีผลทำให้เกิดเม็ดสีชมพูขึ้นเนื่องจากเกิดการเจริญของเชื้อยีสต์ *Rhodotorula* sp. ในทางตรงกันข้ามกรณีที่อุณหภูมิต่ำ (<10°C) หรือความเข้มข้นของเกลือต่ำ (<2%) ทำให้แบคทีเรียแกรมลบในกลุ่ม *Enterobacter, Flavobacterium* และ *Pseudomonas* เจริญเติบโตขึ้น แบคทีเรียบาง species มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ pectinolytic ซึ่งเป็นสาเหตุให้เนื้อกะหล่ำปลีดองนิ่ม “soft kraut” มีผลมาจากการไฮโดรไลซีสเพกติน (pectin) นอกจากนี้ *L. mesenteroids* บางสายพันธุ์ ยังผลิต dextrans และ polysaccharides อื่นๆ ทำห้ผลิตภัณฑ์มีลักษณะเนื้อสัมผัสเหนียว แบคทีเรียกรดแลคติกกลุ่มอื่นๆ เช่น *L. plantarum* อาจจะผลิตสารที่มีส่วนประกอบของแคปซูลขึ้นมา ซึ่งมีผลกระทบต่อลักษณะเนื้อสัมผัสเช่นเดียวกัน

ตารางที่ 6.5 จุลินทรีย์ที่มีผลต่อการเสื่อมเสียของการหมักผัก

Product	Defect	Causative organisms
Sauerkraut	Pinking	*Rhodotorula*
	Ropy/slimy	*Leuconostoc, Lactobacillus*
	Softening	*Enterobacter, Flavobacterium, Pseudomonas*
Pickles	Bloating/floating	*Bacillus, Aeromonas, Achromobacter, Aerobacter, Fusarium, Penicillium*
	Softening	*Fusarium, Penicillium, Ascochyta*
Olives	Gassy/floater/fish eyes	*Enterobacter, Citrobacter, Klebsiella, Escherichia, Aeromonas, Hansenula, Saccharomyces*
	Softening	*Bacillus, Aeromonas, Achromobacter, Aerobacter, Fusarium, Penicillium*
	Zapatera/malodorous	*Clostridium, Propionibacteria*

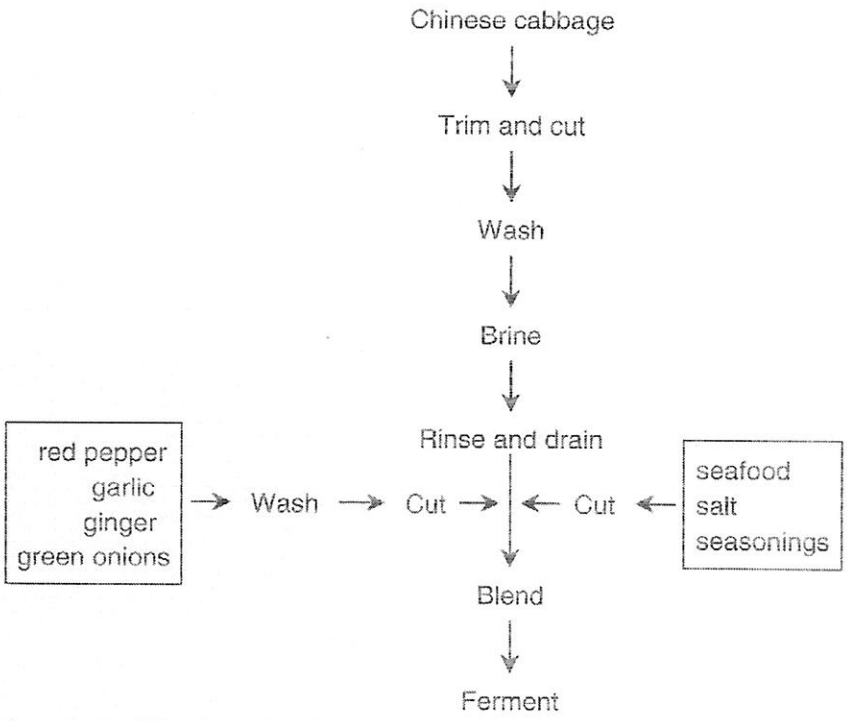
ที่มา : Hutkins (2006)

2. กิมจิ (Kimchi)

กิมจิเป็นอาหารเกาหลีประเภทผักดองที่อาศัยภูมิปัญญาก้นครัวของชาวเกาหลี ด้วยการหมักพริกสีแดงและผักต่างๆ ในเกาหลีจะเรียก sauerkraut ว่า "kimchi" แม้ว่ากรรมวิธีการผลิตกิมจิและกะหล่ำปลีดองจะคล้ายคลึงกันมาก แต่ลักษณะของผลิตภัณฑ์สุดท้ายจะแตกต่างกันโดยสิ้นเชิง ความแตกต่างระหว่างกิมจิกับกะหล่ำปลีดองอยู่ที่ส่วนประกอบ กะหล่ำปลีดองจะมีเพียงกะหล่ำปลีและเกลือเท่านั้น ส่วนวัตถุดิบในการทำกิมจิโดยทั่วไปแล้วจะเป็นผักกาดขาว หัวผักกาด กระเทียม พริกแดง หัวหอมใหญ่ ปลาหมึก กุ้ง หอยนางรม หรืออาหารทะเลอื่นๆ ขิง เกลือ และน้ำตาล ดังวิธีการผลิตรูปที่ 6.4 ซึ่งผักกาดขาวควรจะเป็นผักกาดขาวจีน (Chinese cabbage) จึงจะได้กิมจิที่มีรสชาติดีและจัด หากทำจากผักกาดขาวชนิดอื่นจะทำให้กิมจิมีรสชาติที่อ่อนลง

ประโยชน์ของกิมจิต่อสุขภาพ

กิมจิถูกจัดเป็นหนึ่งในห้าอาหารสุขภาพโดยเฮลท์แม็กกาซีน (Health Magazine) โดยให้เหตุผลว่ากิมจิอุดมด้วยวิตามิน ช่วยในการย่อยอาหาร และอาจจะช่วยรักษาโรคมะเร็ง สรรพคุณในกิมจิได้มาจากหลายปัจจัยเพราะว่ากิมจิทำมาจากผักกาดขาว หัวหอม และกระเทียม ผักทั้งสามอย่างนี้ก็เป็นที่ทราบกันดีอยู่แล้วว่ามีประโยชน์ต่อสุขภาพ กิมจิยังมีโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสที่ให้กรดแลคติกภายหลังจากการหมักเหมือนในโยเกิร์ตด้วย อีกทั้งกิมจิมีพริกแดงเป็นส่วนผสมหลักซึ่งก็มีประโยชน์ต่อสุขภาพเช่นกัน



รูปที่ 6.4 ขั้นตอนการผลิตกิมจิ

ที่มา : Hutkins (2006)

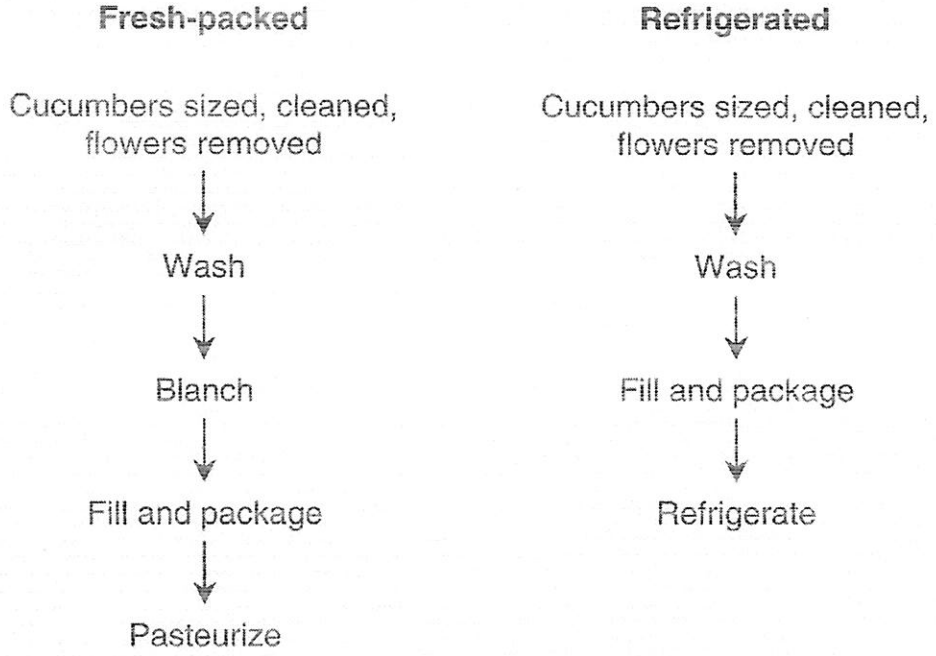
3. Pickle

Pickle ผลิตภัณฑ์อาหารหมักดองในน้ำเกลือ วัตถุดิบที่ใช้หมักมีทั้งประเภทปลา ผัก หรือผลไม้ แต่ที่นิยมส่วนใหญ่จะเป็นประเภทผักและผลไม้ ผักที่นิยมมาดองส่วนมากจะเป็นกะหล่ำปลี หอม แตงกวา หน่อไม้ เป็นต้น ส่วนผลไม้ที่นิยมใช้ในการดอง ได้แก่ มะขาม มะม่วง เป็นต้น ปัจจุบันการดองเป็นอุตสาหกรรมการค้าในประเทศไทยที่เป็นที่รู้จักของคนทั่วไป

วิธีการถนอมอาหารโดยการดองเกลือเป็นวิธีที่ใช้กันมานาน ซึ่งสามารถยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้หลายเดือนโดยไม่ต้องอาศัยห้องเย็น ลงทุนน้อย ใช้เครื่องจักรน้อย ไม่ต้องอาศัยเทคโนโลยีชั้นสูงในการผลิต กระบวนการดองเริ่มมีขึ้นจากความต้องการยืดอายุการเก็บอาหารเพื่อใช้ในระหว่างที่ไม่ใช่ฤดูกาลของผลิตผลนั้นๆ หรือเพื่อไว้บริโภคในระหว่างเดินทางไกล โดยเฉพาะการเดินเรือ นอกจากเหตุผลในการยืดอายุแล้ว การดองยังทำให้เกิดลักษณะเฉพาะในด้านกลิ่นรสที่เป็นที่ชื่นชอบของผู้บริโภคอีกด้วย เชื่อกันว่าแตงกวาเป็นผลิตภัณฑ์ผักดองชนิดแรกที่ได้มีการผลิตขึ้นเมื่อ 4,500 ปี ก่อนในเมโสโปเตเมีย ปัจจุบันการบริโภคผักดองยังคงเป็นที่นิยมในประเทศสหรัฐอเมริกา ผักดองที่มียอดจำหน่ายสูงสุดได้แก่ แตงกวาดอง ในอังกฤษนิยมใช้หัวหอมดองในอาหารและหัวบีทดองปรุงรสเป็นเครื่องเคียง สำหรับประเทศจีนมีผลิตภัณฑ์ผักดองมากมาย อาทิ หัวผักกาด กะหล่ำปลี พริก แตงกวา ฯลฯ ไต้หวันนิยมท้อดอง แตงกวาดอง กะหล่ำปลีดองและหัวผักกาดดอง ญี่ปุ่นนิยมหัวไชเท้า ท้อ ดอก

กะหล่ำและผักกาดดอง เกาหลีนิยม ใช้กะหล่ำปลีในการทำกิมจิ ส่วนอินเดียจะนิยมดองผักหลายชนิดร่วมกัน

ในสหรัฐอเมริกาแบ่งการดองผักออกเป็น 3 กลุ่ม ขึ้นอยู่กับความแตกต่างของวิธีการดอง กลุ่มแรกคือ Fresh-packed pickles ผลิตโดยการบรรจุแตงกวาลงในโถ เติมน้ำส้มสายชูและเครื่องปรุงรสอื่นๆ หลังจากนั้นนำไปพาสเจอร์ไรซ์ ผลิตภัณฑ์จะมีอายุการเก็บนานที่อุณหภูมิห้อง กลุ่มที่ 2 ที่ได้รับความนิยมมากคือ Refrigerated pickles มีส่วนประกอบเหมือนกับ Fresh-packed pickles แต่ไม่ต้องนำมาผ่านความร้อน ดังนั้นอายุการรักษาจะสั้น ขั้นตอนการผลิตแสดงดังรูปที่ 6.5 อีกกลุ่มหนึ่งคือ การดองผักได้กับความนิยมเช่นเดียวกับ Fresh-packed pickles แต่ผลิตภัณฑ์มีความแตกต่างกันอย่างชัดเจนทางด้านของกลิ่นรสและลักษณะเนื้อสัมผัส ซึ่งผักดองจะมีอายุการเก็บนานมากประมาณ 2 ปี

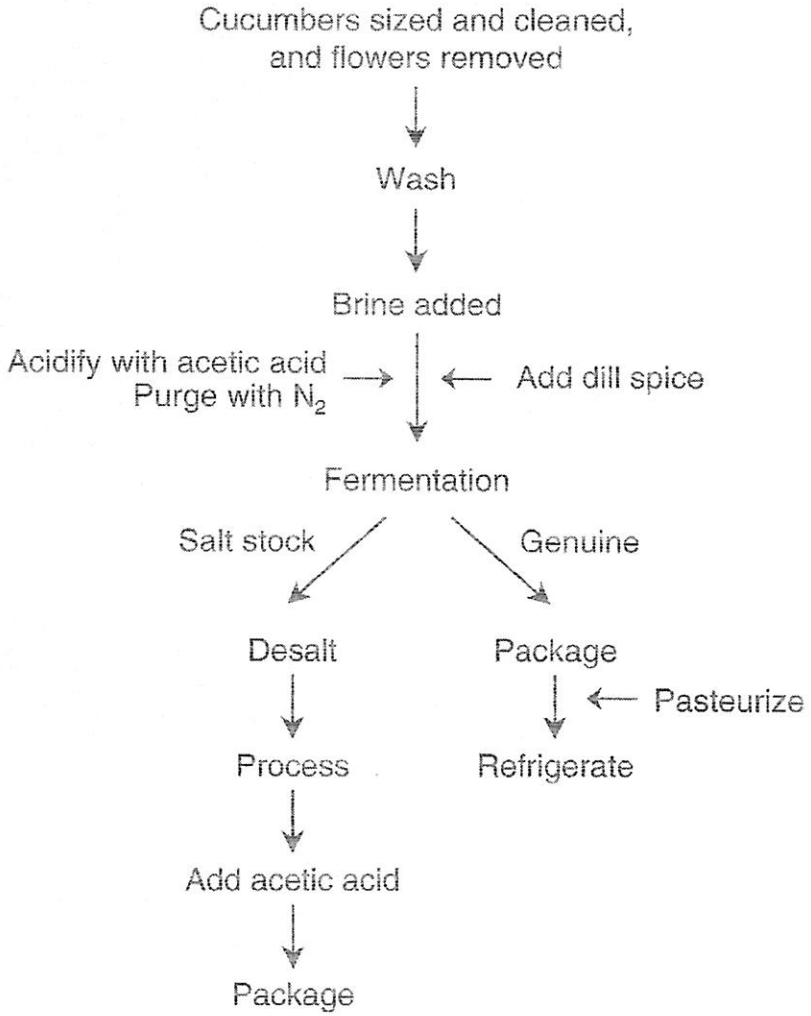


รูปที่ 6.5 ขั้นตอนการผลิต pickles โดยไม่ผ่านกระบวนการหมักดอง
ที่มา : Hutkins (2006)

กระบวนการหมักทำผักดอง

กระบวนการขั้นตอนของการทำผักดองจะคล้ายคลึงกับการทำกะหล่ำปลีดอง (sauerkraut) โดยใช้เกลือและกลุ่มจุลินทรีย์จำพวกแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีอยู่ในธรรมชาติเช่นเดียวกัน ความแตกต่างระหว่างผักดองและกะหล่ำปลีดองคือ ผักดองจะมีความเข้มข้นของเกลือสูงกว่ากะหล่ำปลีดอง ทำให้จุลินทรีย์ที่อยู่ในธรรมชาติมีจำนวนน้อยลง กระบวนการผลิตผักดอง (รูปที่ 6.6) เริ่มจากการคัดเลือกแตงกวา กระบวนการหมักจะขึ้นอยู่กับชนิดของผักและผลิตภัณฑ์ที่ต้องการเป็นหลัก การดองด้วยวิธีนี้จะมีเชื้อจุลินทรีย์พวกที่ใช้ออกซิเจนในการเจริญทำหน้าที่เปลี่ยนน้ำตาลที่อยู่ในผักหรือเติมลงไปให้เป็น

กรดแลคติก สามารถนำไปใช้ได้กับผักหลายชนิด เช่น แตงกวา กะหล่ำปลี (sauerkraut) ผักกาดดอง กิมจิ เป็นต้น ผลิตภัณฑ์จะเกิดจากการเปลี่ยนแปลง ด้วยเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตกรดแลคติค (Lactic acid bacteria) เพียงอย่างเดียว หรือเปลี่ยนแปลงด้วยเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตกรดแลคติคและเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ ในการดองด้วยวิธีนี้ควรรักษาอุณหภูมิของน้ำเกลือให้อยู่ที่ 21°C และให้ผักจมอยู่ในน้ำเกลือตลอดระยะเวลาที่ดอง หากมีเชื้อราที่ผิวหน้าของน้ำดองควรกำจัดออกทันที เนื่องจากเชื้อราจะย่อยสลายกรดและสร้างสภาวะที่ทำให้เชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียเจริญต่อไปได้ ปัจจัยที่ช่วยในการหมักดอง ได้แก่ ความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณออกซิเจน อุณหภูมิ ปริมาณเกลือ และเชื้อตั้งต้น ซึ่งเมื่อปัจจัยเหล่านี้อยู่ในสภาวะที่เหมาะสม จะทำให้จุลินทรีย์เจริญเติบโตได้เต็มที่ และผลิตเอนไซม์ในปริมาณที่พอเพียงในการทำปฏิกิริยาเคมีกับอาหาร ทำให้กิจกรรมการหมักดำเนินไปได้อย่างรวดเร็ว จนได้ผลิตภัณฑ์อาหารหมักดองที่มีคุณภาพ เป็นที่ต้องการ



รูปที่ 6.6 ขั้นตอนการผลิตผักดอง

ที่มา : Hutkins (2006)

จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในการหมัก

จุลินทรีย์ที่สำคัญและเกี่ยวข้องในการหมักนี้ จะมีบทบาทในการเปลี่ยนแปลงน้ำตาลในผักผลไม้ให้เป็นกรดแลคติค ได้แก่ แบคทีเรียใน Family Lactobacteriaceae มี 5 genus ที่สำคัญ คือ *Streptococcus*, *Pediococcus, Diplococcus, Leuconostoc* และ *Lactobacillus* แบคทีเรียเหล่านี้จัดอยู่ในประเภทแกรมบวก สร้างสปอร์ไม่ได้ ต้องการวิตามินบีรวมและกรดอะมิโนในการเจริญ ไม่สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีปริมาณกรดอะซิติกเข้มข้นเกินกว่า 3 - 6 % และหากต้องการให้แบคทีเรียในกลุ่มนี้ทำให้กระบวนการหมักได้รวดเร็วขึ้น สามารถทำได้โดยการเพิ่มปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในระบบ สามารถแบ่งแบคทีเรียกลุ่มนี้ออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ ได้แก่

1. Homofermentative เป็นกลุ่มที่ใช้น้ำตาล 85 - 95 % ในการผลิตกรดแลคติกเพียงอย่างเดียว ส่วนที่เหลือจะนำไปสร้างพลังงาน และสารประกอบที่ระเหยได้ (volatile compounds) ตัวอย่างแบคทีเรียในกลุ่มนี้ได้แก่ *Streptococcus faecalis, Pediococcus cerevisiae*

2. Heterofermentative เป็นกลุ่มที่ใช้น้ำตาลประมาณ 50 % ในการผลิตกรดแลคติก อีก 25 % ใช้ในการผลิตกรดอะซิติกและเอธานอล ส่วนที่เหลือจะใช้ผลิตก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ตัวอย่างแบคทีเรียในกลุ่มนี้ได้แก่ *Leuconostoc mesenteroides* , *Leuconostoc fermenti*

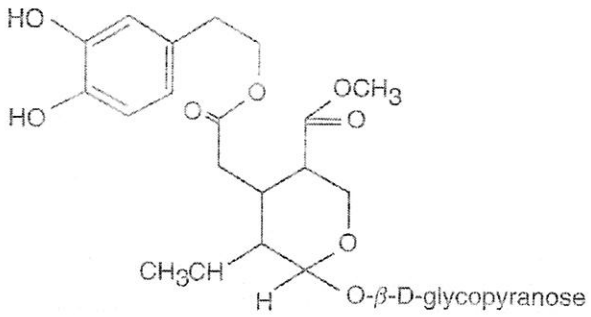
อาหารหมักดองจะมีกรดเป็นตัวควบคุมการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ เนื่องจากจุลินทรีย์แต่ละชนิดต้องการปริมาณกรดในการเจริญที่แตกต่างกัน สุดท้ายผลิตภัณฑ์อาหารหมักดองที่ได้จะมีเฉพาะแบคทีเรียชนิดที่ทนกรดสูงเท่านั้น จากนั้นสภาวะที่เป็นกรดที่สูงมากขึ้นจะเป็นตัวทำลายตัวเองในภายหลัง จึงมียีสต์และราที่ทนกรดเจริญต่อไป โดยราจะสามารถใช้กรดได้ส่วนยีสต์จะผลิตสารที่เป็นด่างทำให้สภาวะความเป็นกรดลดลงจนถึงระดับที่แบคทีเรียทำงานต่อไปได้

การเสื่อมเสียของผักดอง

ผักดองมีสาเหตุการเสื่อมเสียส่วนใหญ่มาจากจุลินทรีย์ ทำให้เกิดการเสื่อมเสียในลักษณะ bloaters และ floaters (ตารางที่ 6.5) โดยเกิดรูขึ้นภายในแตงกวาเนื่องจากฟองก๊าซที่ถูกสร้างขึ้นในระหว่างการหมัก มีลักษณะเนื้อสัมผัสนิ่ม และเมื่อมีการเจริญของยีสต์ที่สร้างแผ่นฟิล์ม (film yeast) ขึ้นที่ผิวหน้าของน้ำหมัก พีเอชของน้ำหมักสูงขึ้น ทำให้เกิดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ใน species *Penicilium, Fusarium, Alternaria, Aschyta* และ *Cladosporium* จนทำให้แตงกวาสูญเสียความกรอบ

4. มะกอกดอง

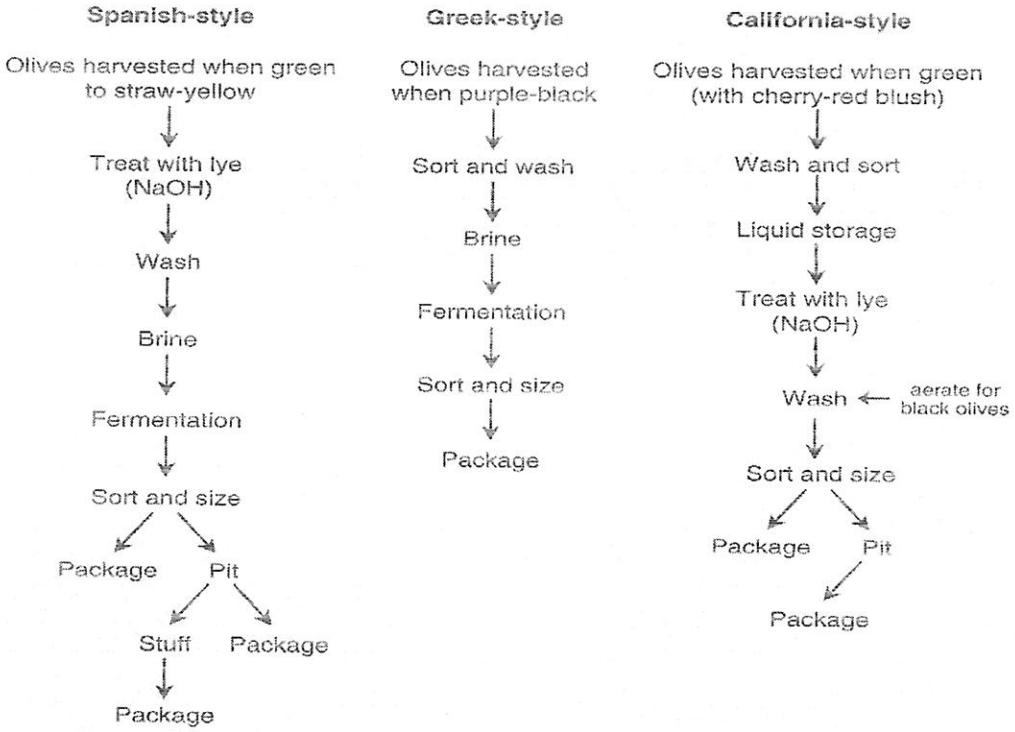
มะกอกจะมีองค์ประกอบของ phenol และ polyphenol ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญที่ทำให้เกิดสี ทำหน้าที่เป็น antimicrobial หรือ antioxidant และยังมีประโยชน์ทางคุณค่าทางโภชนาการอีกด้วย phenol ที่กล่าวถึงคือ oleuropein เป็นส่วนหนึ่งขององค์ประกอบ secoiridoids โครงสร้างของ oleuropein เป็นแบบ glucoside ester ของ 3,4-dihydroxytyrosol และ elenic acid ดังรูปที่ 6.7



รูปที่ 6.7 โครงสร้างของ oleuropein ที่ได้มาจากมะกอก
ที่มา : Hutkins (2006)

วิธีการทำมะกอกดอง

การผลิตมะกอกดองโดยหลักแล้วจะมีอยู่ 3 ชนิด แบ่งออกตามวิธีของการดอง ดังรูปที่ 6.8 ประกอบด้วย Spanish-style คือการนำมะกอกมาผสมกับ sodium hydroxide (lye) แล้วจึงนำมาดอง ชนิดต่อมาคือ Greek-style คือมีส่วนผสมของเกลือเท่านั้น แต่ไม่ผสม sodium hydroxide (lye) แล้วจึงนำมาดอง กระบวนการผลิตของทั้ง 2 ชนิดจะใช้จุลินทรีย์จากธรรมชาติ (microflora) ชนิดสุดท้ายคือ ripe black หรือ green-style คือนำมะกอกมาผสมกับ sodium hydroxide แต่จะไม่นำมาดอง ทำให้เกิด oxidation ของสีเปลี่ยนจากสีเขียวกลายเป็นสีดำ จึงเรียกมะกอกชนิดนี้ว่า California style



รูปที่ 6.8 ขั้นตอนการหมักผลิตภัณฑ์มะกอกดองชนิดต่างๆ
ที่มา : Hutkins (2006)

การเสื่อมเสียของมะกอกดอง

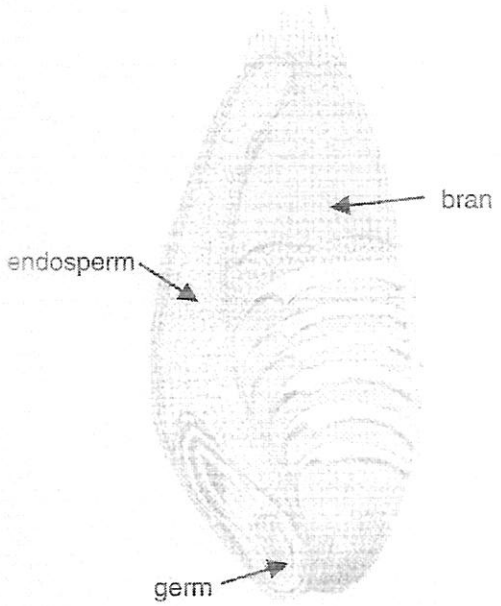
โดยทั่วไปแล้วมะกอกดองจะมีการเสื่อมเสียเร็วกว่าการหมักผักประเภทต่างๆ การเสื่อมเสียที่มีลักษณะ floating จะเกิดจากแบคทีเรีย *Enterobacter aerogenes* และ *E. cloacae* นอกจากนี้ยังทำให้สูญเสียความกรอบเนื่องจากเกิดการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในกลุ่ม *Penicillium, Fusarium, Aspergillus* และราบางชนิด

บทที่ 7
ผลิตภัณฑ์หมักจากธัญพืช

การหมักจากธัญพืชเป็นอาหารอีกกลุ่มหนึ่งที่ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลาย เป็นการหมักที่นอกเหนือจากผักและผลไม้ เชื้อจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการหมักธัญพืชมีหลายกลุ่มด้วยกัน เช่น ยีสต์ รา และแบคทีเรีย เป็นต้น วัตถุดิบที่นำมาใช้ในการหมักส่วนใหญ่ประกอบด้วย ถั่วเหลืองและข้าวสาลี นอกจากนี้ยังสามารถใช้เมล็ดธัญพืชประเภทต่างๆ ในการหมักได้อีกด้วย เช่น ข้าวไรย์ (rye) ข้าวบาร์เลย์ (barley) ข้าวโอ๊ต (oats) ข้าวโพด (corn) ข้าวฟ่าง (sorghum) และข้าวเดือย (millet) ซึ่งเป็นธัญพืชที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง

1. ขนมปัง (Bread)

การหมักที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักขนมปังมีความแตกต่างจากอาหารหมักประเภทอื่นๆ เพราะไม่ได้มีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มอายุการเก็บของวัตถุดิบ แต่เป็นการเปลี่ยนแปลงเมล็ดธัญพืชให้อยู่ในรูปที่สามารถนำมาบริโภคได้ โดยวัตถุดิบที่ใช้สำหรับทำขนมปังส่วนใหญ่จะเป็นแป้งสาลีซึ่งเป็นธัญพืชที่อยู่ในตระกูล Poaceae (หรือ Gramineae) ประเภทที่นิยมนำมาทำขนมปังคือ *Triticum aestivum* พืชจำพวกข้าวสาลีจะประกอบด้วย กลีบดอก (leaves) ก้านดอก (stems) และ ดอก (flowers) ทั้งนี้ดอกอาจหมายรวมถึงรวงเล็กๆ จะกลายเป็นเม็ดข้าวสาลี (wheat kernels) และเม็ดข้าวสาลี (wheat kernels) จะมีส่วนประกอบหลังอยู่ 3 ชนิด ได้แก่ germ, bran และ endosperm ดังรูปที่ 7.1 ในส่วนของ germ จะพบสารอาหารต่างๆ ประมาณ 2-3% ของน้ำหนักทั้งหมด ส่วนของ bran หรือเปลือกหุ้มมีอยู่ประมาณ 12-13% ของน้ำหนักเม็ดข้าวสาลี ประกอบด้วยเปลือกหุ้มที่มีลักษณะซับซ้อนกันหลายชั้น จะพบ cellulose มากรวมถึงคาร์โบไฮเดรต โปรตีน แร่ธาตุและวิตามินด้วย ส่วนที่เหลืออีก 85% เรียกว่า endosperm เป็นส่วนประกอบหลักของแป้งสาลี โดยเป็นส่วนของโปรตีนและสตาร์ช (starch) มาก มีน้ำอยู่ประมาณ 12-14% มีไขมันเล็กน้อย (ประมาณ 1%) ดังนั้นองค์ประกอบของแป้งสาลีส่วนใหญ่จะมีเพียง endosperm สำหรับ germ และ bran อาจจะมีเพียงเล็กน้อยหรือไม่มีเลย องค์ประกอบของแป้งสาลีจะมีลักษณะพิเศษโดยเฉพาะ เพราะจะส่งผลต่อการหมัก ทั้งในด้านลักษณะทางกายภาพของ dough และผลิตภัณฑ์ขนมปัง แป้งสาลีที่นำมาใช้สำหรับผลิตขนมปังในประเทศสหรัฐอเมริกา จะมีลักษณะสีขาวละเอียดประกอบด้วยส่วนของ endosperm เท่านั้น ซึ่งมีปริมาณโปรตีนและสตาร์ชมาก อาจจะมีปริมาณของ hemicellulose และไขมันปริมาณเพียงเล็กน้อย



รูปที่ 7.1 โครงสร้างของเมล็ดข้าวสาลี (wheat kernel)
ที่มา : Hutkins (2006)

แป้งสาลีจะมีโปรตีนประมาณ 8-15% ขึ้นอยู่กับชนิดและแหล่งของแป้ง ดังตารางที่ 7.1 ใน การผลิตขนมปัง ปริมาณของโปรตีนจะมีอิทธิพลต่อการขยายตัวของ dough และทำให้มีปริมาตรเพิ่มขึ้น

คาร์โบไฮเดรต เป็นส่วนประกอบหลักของแป้งสาลี มีประมาณ 75% ของน้ำหนักทั้งหมด ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของสตาร์ช (starch) ซึ่งสตาร์ชจะประกอบด้วยพอลิเมอร์กลูแคน 2 ชนิด ผสมกัน คือ อะไมโลส (amylase) เป็นพอลิเมอร์สายยาวของ α-(1$\rightarrow$4) กลูแคน และอะไมโลเพกติน (amylopectin) เป็นสายแขนงที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่และมีน้ำหนักโมเลกุลสูง ต่อกันด้วยพันธะ α-(1$\rightarrow$4) เป็นสายตรงและมีพันธะ α-(1$\rightarrow$6) เป็นสายแขนง

เม็ดสตาร์ชส่วนใหญ่จะมีอะไมโลสเป็นองค์ประกอบอยู่ในเม็ดสตาร์ชประมาณ 20-25% และมีอะไมโลเพกตินประมาณ 70-75% โดยอะไมโลสและอะไมโลเพกตินที่เป็นองค์ประกอบในเมล็ดสตาร์ชแต่ละชนิดจะแตกต่างกันที่น้ำหนักโมเลกุล degree of polymerization ของแต่ละสายตำแหน่งที่อยู่ในเม็ดสตาร์ช และสัดส่วนของอะไมโลสต่ออะไมโลเพกติน ดังนั้นคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของสตาร์ชจะแตกต่างกัน ดังตารางที่ 7.2

ตารางที่ 7.1 ชนิดของแป้งสาลีและการนำไปใช้ประโยชน์

Type	% Protein	Application
Hard winter	10 - 13	Bread
Hard spring	13 - 16	Bread
Soft winter	8 - 10	Cakes, cookies, pastries
Durum	12 - 14	Pasta

ที่มา : Hutkins (2006)

ตารางที่ 7.2 คุณสมบัติทางด้านกายภาพและเคมีของอะไมโลสและอะไมโลเพกติน

Property	Amylose	Amylopectin
Monomers per molecule	300 — 1,000	> 5,000
Linkage	α-1,4	α-1,4 and α-1,6
Conformation	Linear	Branched
% in wheat starch	25	75
Retrogradation rate	Fast	Slow
Products of:		
α-amylase	Dextrins	Limit dextrins
β-amylase	Maltose	Maltose, limit dextrins

ที่มา : Hutkins (2006)

กล้าเชื้อยีสต์ (Yeast Cultures)

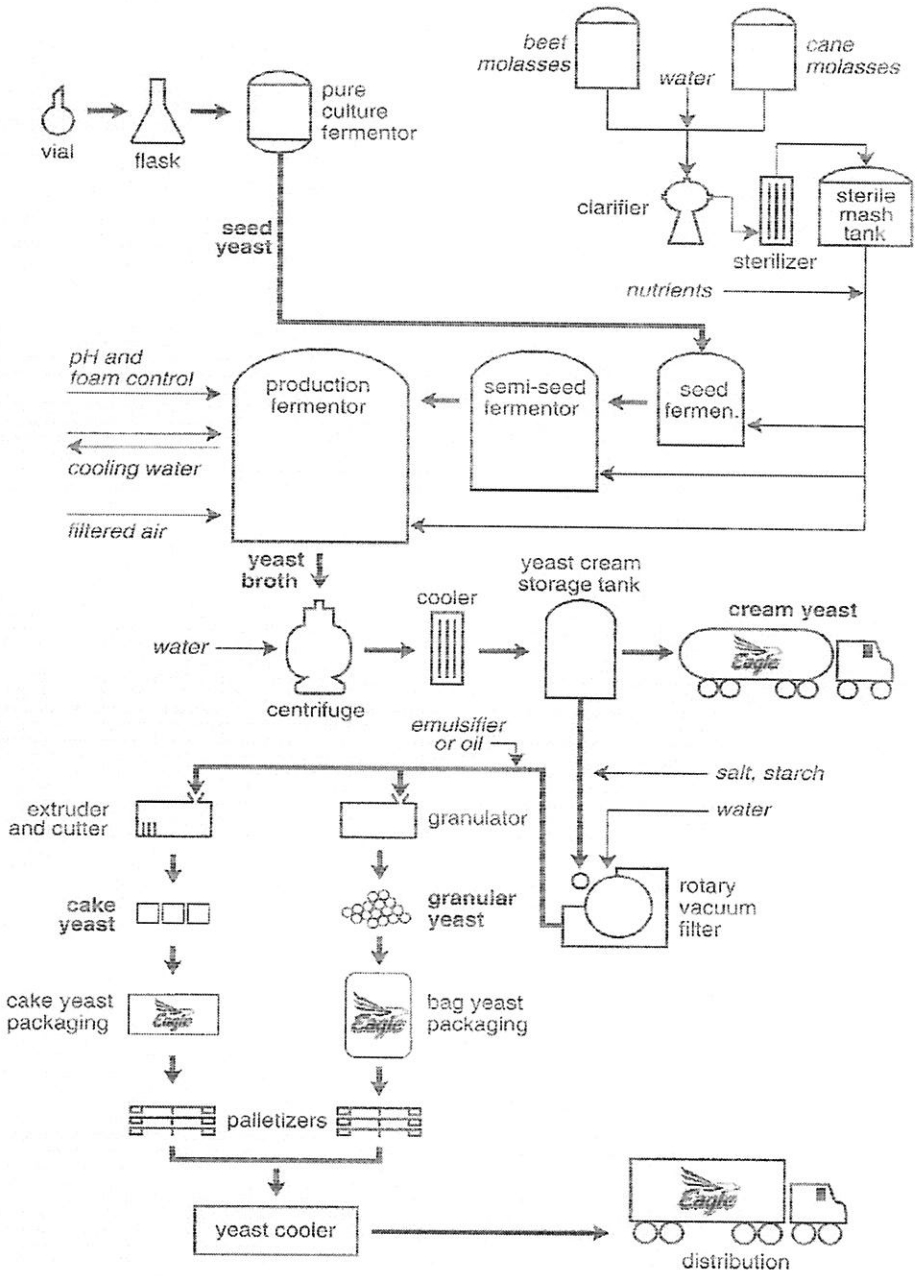
ยีสต์ที่นำมาใช้ในการผลิตขนมปังคือ *Saccharomyces cerevisiae* หรือนิยมเรียกว่า "bakers' yeast" ซึ่งมีคุณสมบัติและลักษณะเฉพาะเหมาะสำหรับการผลิตขนมปัง ดังตารางที่ 7.3 เช่น เชื้อที่คัดเลือกต้องมีความสามารถในการผลิต CO_2 ทำให้ขนมปังฟูมีปริมาตรเพิ่มขึ้นและมีรสชาติที่ดีด้วย

ตารางที่ 7.3 คุณสมบัติที่ต้องการของ bakers' yeast

Gassing power
Flavor development
Stable to drying
Stable during storage
Easy to dispense
Ethanol tolerant
Cryotolerant

ที่มา : Hutkins (2006)

ในอุตสาหกรรมการผลิต bakers' yeast เริ่มต้นจากการเก็บกล้าเชื้อให้บริสุทธิ์ หลังจากนั้นจึงเพิ่มปริมาณให้มีขนาดใหญ่ขึ้นในถังหมัก (Fermenter) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปริมาณเซลล์ที่ต้องการผลิต (รูปที่ 7.2) กล้าเชื้อเริ่มต้นจะทำการเลี้ยงให้มีปริมาณที่น้อยประมาณ 1-5 ลิตร หลังจากนั้นจึงขยายให้มีปริมาณมากขึ้นเป็น 250-1,000 ลิตร และเพิ่มขนาดให้มากขึ้นอีกในถังหมักที่มีขนาดใหญ่ถึง 250,000 ลิตร แหล่งอาหารที่ใช้ประกอบด้วย molass หรือแหล่งน้ำตาลอื่นๆ แต่มีข้อเสียคือราคาแพง สารอาหารอื่นๆ ประกอบด้วย ammonium phosphate, magnesium sulfate, calcium sulfate, zinc และ iron เป็นต้น



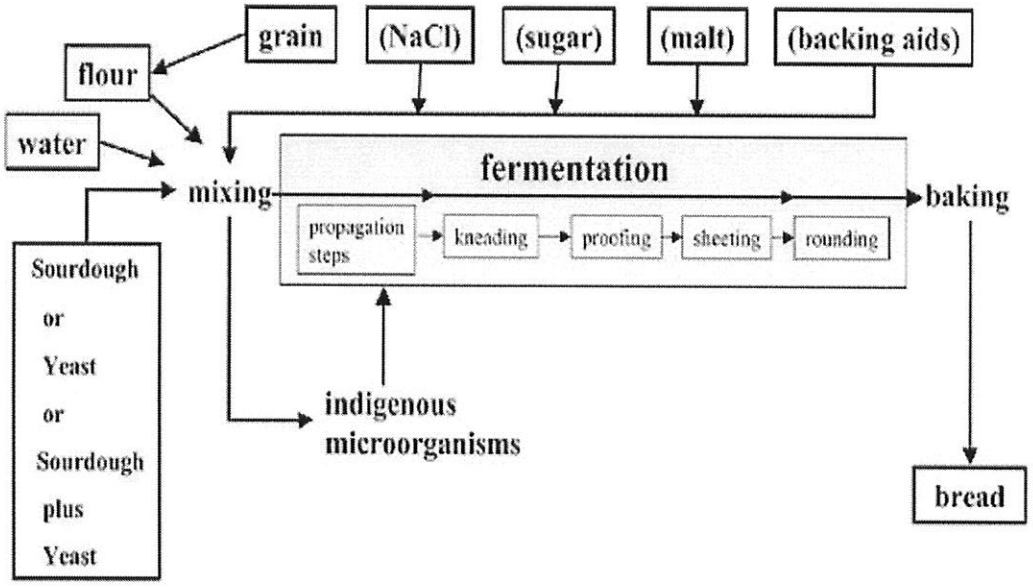
รูปที่ 7.2 อุตสาหกรรมการผลิต bakers' yeast

ที่มา : Hutkins (2006)

การหมักขนมปัง

โดยทั่วไปแล้วในการผลิตขนมปังจะมีขั้นตอนน้อย ขั้นตอนแรกเป็นการนำส่วนประกอบต่างๆ ชั่งน้ำหนัก แล้วทำการผสมกับแป้งและน้ำ ขั้นตอนที่สองเมื่อแป้งเกิดการหมักที่เหมาะสมแล้วให้แบ่งออกตามขนาดที่ต้องการแล้วจึงนำไปอบ (รูปที่ 7.3) หลังจากนั้นเฉือนให้เป็นแผ่นบางๆ แล้วจึงบรรจุ ขนมปังที่ผลิตในการทางค้าจะใช้ส่วนประกอบมากกว่า 30 ชนิด แต่ส่วนประกอบที่สำคัญมีเพียง 4 ชนิด เท่านั้น ได้แก่ แป้งสาลี น้ำ เกลือและ bakers' yeast โดยแป้งสาลีเป็นส่วนประกอบหลักในการทำขนมปังมีประมาณ 60-70% ขึ้นอยู่กับชนิดและอัตราส่วนที่ใช้ แป้งสาลีมีปริมาณโปรตีนที่จำเป็นสำหรับการทำให้เกิด dough และสตาร์ชจะดูดซึมน้ำเพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานสำหรับยีสต์ น้ำที่เติมลงไปประมาณ 30-40% ทำหน้าที่เป็นตัวทำละลายให้แป้งผสมกับส่วนประกอบอื่นๆ ได้ดี เกลือใช้ประมาณ 1-2% จะทำให้กลูเตน (โปรตีนของแป้งสาลี) มีลักษณะเหนียวและยืดหยุ่น สามารถควบคุมการหมักและทำให้ขนมปังมีรสชาติตามต้องการ สุดท้ายคือการเติมยีสต์ 1-2% เมื่อเกิดการหมักยีสต์ที่เติมลงไปในขนมปังเพื่อให้ขนมปังฟู เพราะยีสต์จะใช้น้ำตาลที่อยู่ในแป้งและผลิตก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกมา ทำให้ขนมปังมีรูปร่างเป็นก้อน

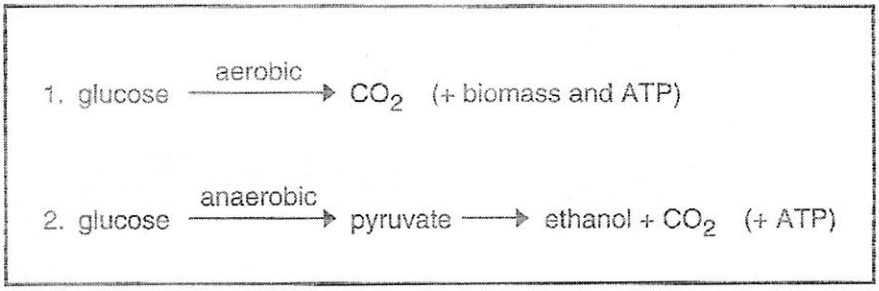
ส่วนประกอบอื่นๆ ที่เป็นทางเลือกในการนำมาใช้ผลิตขนมปังมีมากมาย ได้แก่ น้ำตาล เอนไซม์ ไขมัน สารอาหารสำหรับยีสต์ วิตามิน กลูเตนและอิมัลซิไฟเออร์ (emulsifier) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสูตรและความต้องการของผู้ผลิต

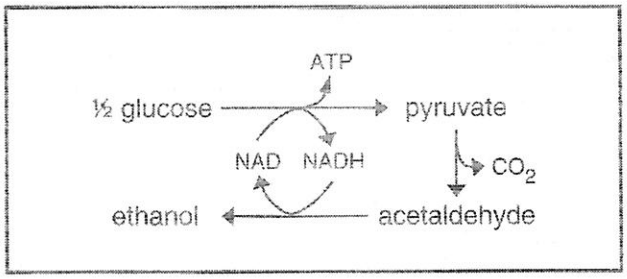


รูปที่ 7.3 กระบวนการหมักขนมปัง

ที่มา : Hammes et al. (2005)

เมื่อทำการผสมแป้งสาลี น้ำ ยีสต์และส่วนประกอบอื่นๆ เข้าด้วยกัน ยีสต์จะเริ่มต้นปรับตัวเพื่อให้มีความพร้อมในการเจริญ (lag phase) ระยะเวลาในช่วงนี้จะนานมากน้อยต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของยีสต์และการหมักน้ำตาล bakers' yeast (*S. cerevisiae*) เกิดการหมักแบบ facultative โดยการใช้น้ำตาลกลูโคสผ่าน TCA cycle (tricarboxylic acid) โดยการใช้ออกซิเจน ซึ่งจะทำให้เซลล์มีการเจริญเติบโตจนได้จำนวนเซลล์และ ATP มากกว่าการไม่ใช้ออกซิเจน ส่วนที่ไม่ใช้ออกซิเจน ซึ่งจะทำให้ได้ผลผลิตเป็นแอลกอฮอล์และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ดังรูปที่ 7.4 (บน) อย่างไรก็ตามปริมาณออกซิเจนในdoughระหว่างขั้นตอนการผสม ทำให้เกิดปฏิกิริยาการรวมตัวของออกซิเจนกับคาร์โบไฮเดรตเกิดขึ้น หลังจากนั้นจึงเกิดการ metabolized โดยวิถีการหมักของ glycolytic การเข้าร่วมของกลูโคสซึ่งจะไปขัดขวางการสังเคราะห์เอนไซม์ของ TCA cycle ผ่านทาง catabolite repression แต่เนื่องจากการเกิด dough อย่างรวดเร็วเกิดขึ้นจากปฏิกิริยาการไม่ใช้ออกซิเจน ทำให้เปลี่ยนเป็น CO_2 ดังรูปที่ 7.4 (รูปล่าง) และเกิดการสร้างเอทธานอลขึ้นมาด้วยปฏิกิริยารีดักชั่นก่อให้เกิดการออกซิไดซ์ NAD ตามมา ซึ่งจำเป็นสำหรับปฏิกิริยา glycolysis

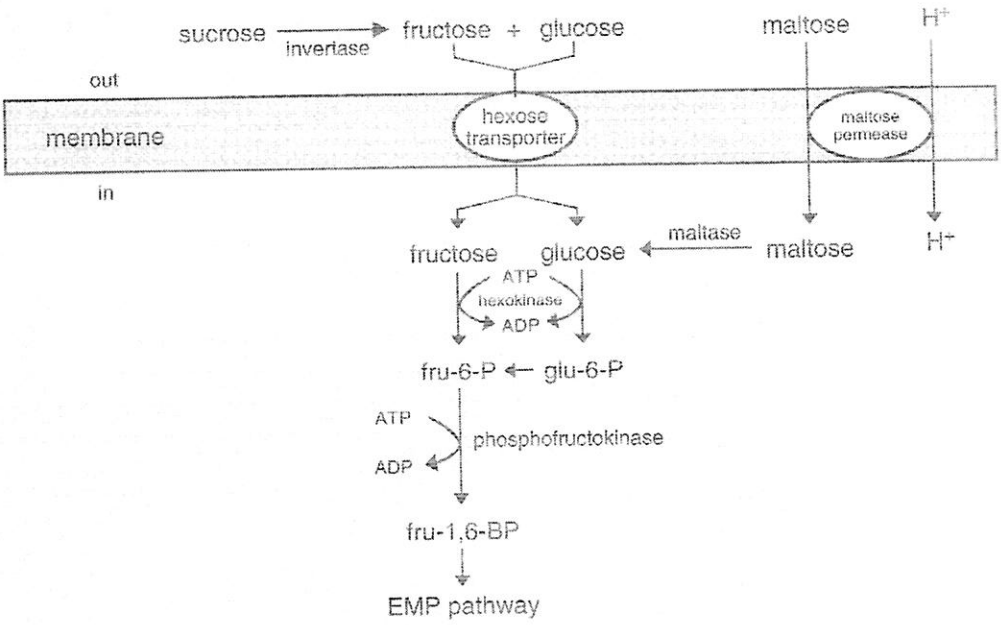




รูปที่ 7.4 ปฏิกิริยาทางชีวเคมีของ *Saccharomyces cerevisiae*
ที่มา : Hutkins (2006)

การเกิดการย่อยสลายน้ำตาลโดย bakers' yeast ผ่านกระบวนการไกลโลไลซีสนั้น ปกติแล้วจะมีการใช้น้ำตาลชนิดต่างๆ เช่น glucose และ maltose เติมลงใน dough แต่อาจใช้น้ำตาลชนิดอื่นแทนได้ เช่น sucrose, high fructose corn syrup จากนั้น *S. cerevisiae* (glucose represses genes) จะทำหน้าที่ขนส่ง maltose จนกระทั่งเอนไซม์ invertase เกิดการไฮโดรไลซ์ sucrose ไปเป็น glucose และ fructose

ได้หมด ดังรูปที่ 7.5 ดังนั้นใน dough ซึ่งประกอบด้วย glucose, sucrose และ maltose ซึ่งเป็นน้ำตาล disaccharides จะเกิดการหมักจนกระทั่งใช้น้ำตาล glucose หมด



รูปที่ 7.5 การขนส่งและ metabolism ของ glucose, fructose, maltose และ sucrose โดย *S. cerevisiae*
ที่มา : Hutkins (2006)

ผู้ผลิตเชื้อหมักเพื่อทำให้ขนมปังฟู (sourdough bread) จะคำนึงถึงกล้าเชื้อที่มีคุณสมบัติในการหมักแล้วทำให้ขนมปังมีคุณภาพ โดยกล้าเชื้อแต่ละชนิดจะแตกต่างกัน แต่ที่นิยมใช้ได้แก่ species *Lactobacillus* และแบคทีเรียกรดแลคติกอื่นๆ รวมถึงยีสต์บาง species ดังตารางที่ 7.4 ความแตกต่างของกล้าเชื้อที่ได้รับการยอมรับและนำมาใช้ในการทำขนมปัง จะขึ้นอยู่กับชนิดของขนมปังด้วย

การเสื่อมเสียของขนมปัง

จุลินทรีย์ที่มีความเกี่ยวข้องกับการเน่าเสียของขนมปังคือจำพวก เห็ด รา (fungi) เกิดจากการสร้าง mycelium ซึ่งผู้บริโภคสามารถสังเกตเห็นได้ นอกจากนี้บางสายพันธุ์ของ *Bacillus subtilis, Bacillus mesentericus* และ *Bacillus licheniformis* ทำให้เกิดการเสื่อมเสียได้ง่ายเมื่อขนมปังมีความชื้นสูง เห็นได้จากลักษณะเนื้อสัมผัสเหนียวเหนอะ (ropy)ของขนมปัง นอกจากนี้ยีสต์ยังเป็นสาเหตุของการเกิดรสชาติที่ไม่พึงประสงค์ในขนมปังหลังจากการอบ (ตารางที่ 7.5) เป็นกลุ่มของจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียในขนมปัง ส่วนใหญ่เป็นเพราะปริมาณน้ำอิสระ (Aw) น้อยกว่า 0.96 ซึ่งเหมาะสำหรับการเจริญของแบคทีเรียกลุ่มที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย ในการอบจึงสามารถทำลายแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเน่าเสียได้ ยกเว้นในกรณีที่แบคทีเรียเริ่มมีการสร้างสปอร์ขึ้นมา

ตารางที่ 7.4 จุลินทรีย์ที่แยกได้จาก sourdough

Bacteria	Yeast
Lactobacillus alimentarius	*Saccharomyces exiguus*
Lactobacillus brevis	*Saccharomyces cerevisiae*[1]
Lactobacillus casei	*Candida milleri*
Lactobacillus curvatus	*Candida humilis*
Lactobacillus delbrueckii	*Issatchenkia orientalis*
Lactobacillus fermentum	
Lactobacillus hilgardii	
Lactobacillus pentosus	
Lactobacillus plantarum	
Lactobacillus pontis	
Lactobacillus panis	
Lactobacillus reuteri	
Lactobacillus sanfranciscensis	
Pediococcus acidilactici	

[1] This species is now classified as *Saccharomyces cerevisiae*

ที่มา : Hutkins (2006)

ตารางที่ 7.5 จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียของขนมปัง

Organism	Appearance or defect
Fungi	
Aspergillus niger	Black
Aspergillus glaucus	Green, grey-green
Aspergillus flavus	Olive green
Penicillium sp.	Blue-green
Rhizopus nigricans	Grey-black
Mucor sp.	Grey
Neurospora sitophila	Pink
Yeasts	
Saccharomyces cerevisiae	Alcoholic-estery off-odors
Pichia burtonii	White, chalky appearance
Bacteria	
Bacillus subtilus	Ropy
Bacillus licheniformis	Ropy
Bacillus mesentericus	Ropy

ที่มา : Hutkins (2006)

2. ซีอิ้ว (soy sauce)

ซีอิ้วจัดเป็นเครื่องปรุงรสอาหารที่นิยมกันมาก ทำมาจากการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อรา แล้วตามด้วยแบคทีเรียและยีสต์ สำหรับวิธีการผลิตซีอิ้วและกล้าเชื้อที่ใช้มีอยู่หลายวิธี ซึ่งจะมีผลต่อลักษณะของซีอิ้วแต่ละชนิดแตกต่างกันออกไป ดังตารางที่ 7.6 การแบ่งซีอิ้วในประเทศไทย โดยสำนักงานมาตรฐานอุตสาหกรรม (สมอ) กระทรวงอุตสาหกรรมมีดังนี้

ซีอิ้วขาว หมายถึง ซีอิ้วที่มิได้แต่งรสและสี แบ่งออกเป็นชั้นพิเศษและชั้นที่หนึ่ง

ซีอิ้วดำเค็ม หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำซีอิ้วขาวแล้วนำมาเก็บต่อตามกรรมวิธีการผลิตจนกระทั่งได้ความเข้มข้นและสีตามเกณฑ์ที่กำหนด แบ่งออกเป็นชั้นพิเศษและชั้นที่หนึ่ง

ซีอิ้วดำ หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากซีอิ้วขาวผสมกับสารให้ความหวานในอัตราส่วนที่พอเหมาะ จนได้ความหวานและความเค็มตามเกณฑ์ที่กำหนด

ซีอิ้วดำหวาน หมายถึง ซีอิ้วขาวในปริมาณมากน้อยผสมกับสารให้ความหวานจนได้ความหวานตามเกณฑ์ที่กำหนด

ตารางที่ 7.6 ชนิดของซีอิ้ว

Product	Country	Description
Shoyu	Japan	Five types based on soybean and wheat content
Chiang-yiu	China	Similar to shoyu tamari (mostly soybeans)
Kecap	Indonesia	Two types, manis (sweetened) and asin (salty)
Kicap	Malaysia	Tamari type
Kanjang	Korea	Tamari type
See-iew	Thailand	Two types, sweetened and salty
Toyu mansi	Philippines	Lemon-like flavored

ที่มา : Hutkins (2006)

วัตถุดิบในการผลิตซีอิ้ว

วัตถุดิบที่ใช้ในการทำซีอิ้ว ได้แก่ ถั่วเหลือง แป้งและเกลือ

(1) ถั่วเหลือง ควรเป็นถั่วใหม่และใช้ถั่วเหลืองทั้งเมล็ด จึงจะได้ซีอิ้วที่มีคุณภาพดี ในประเทศญี่ปุ่นมีการนำกากถั่วเหลืองที่เหลือจากการสกัดน้ำมันออกแล้วมาผลิตซีอิ้ว ซึ่งเป็นการลดต้นทุนในการผลิตและระยะเวลาการหมักจะสั้นกว่าการใช้ถั่วทั้งเมล็ด แต่คุณภาพด้อยกว่า นอกจากนี้ยังมีการใช้ถั่วชนิดอื่นในการผลิตซีอิ้ว เช่น ในประเทศฟิลิปปินส์ใช้ถั่วเขียวในการผลิตซีอิ้ว

(2) แป้ง อาจใช้แป้งสาลี แป้งข้าวเจ้า แป้งข้าวโพด ฯลฯ โดยจะใช้แป้งชนิดใดชนิดหนึ่งหรือผสมกันก็ได้ เช่น ใช้แป้งสาลีผสมกับแป้งข้าวเจ้า เพื่อลดต้นทุนในการผลิต เป็นต้น ในการทำซีอิ้วถ้าใช้แป้งต่างชนิดกันจะทำให้ได้ซีอิ้วแตกต่างกันไป แป้งที่นิยมใช้มากที่สุดคือแป้งสาลี กลิ่นและสีของซีอิ้วจะดีหรือไม่อย่างไรขึ้นอยู่กับคุณภาพของแป้งสาลีเป็นหลัก

วัตถุประสงค์ของการใส่แป้งสาลีลงในถั่วเหลืองก่อนการหมักนั้นเพื่อ

- ทำให้วัตถุดิบมีความชื้นพอเหมาะสำหรับการเจริญของเชื้อรา ถั่วเหลืองที่นึ่งสุกใหม่ๆ จะมีความชื้น 60% แต่เมื่อคลุกกับแป้งความชื้นจะลดลงเหลือ 45%
- เป็นแหล่งคาร์บอน ช่วยให้จุลินทรีย์เจริญทำให้เกิดการหมักได้ดี และเป็นแหล่งของกรดกลูตามิค ซึ่งเพิ่มรสในซีอิ๊ว และยังเปลี่ยนไปเป็นแอลกอฮอล์และกรด

(3) เกลือ ทำหน้าที่ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่ไม่มีบทบาทในการหมักซีอิ๊ว เกลือที่ใช้ส่วนมากเป็นเกลือทะเล ซึ่งประกอบด้วย NaCl $MgCl_2$ $CaCl_2$ $MgSO_4$ $CaSO_4$ และ KCl ควรใช้เกลือเม็ดเพราะมีปริมาณเกลือมากกว่าเกลือป่น

ขั้นตอนการผลิตซีอิ๊ว

(1) การคัดเลือกถั่วเหลือง โดยเก็บเมล็ดที่เสียและเมล็ดอ่อนทิ้ง ล้างน้ำให้สะอาด แช่น้ำค้างคืนหรือประมาณ 6-12 ชั่วโมง แล้วนำไปต้มหรือนึ่งให้นิ่ม ต้มประมาณ 1-2 ชั่วโมง ถ้านึ่งด้วยหม้อนึ่งธรรมดาใช้เวลา 3-4 ชั่วโมง หรือใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ใช้เวลานาน 15 นาที ลักษณะของถั่วเหลืองที่นึ่งได้ที่จะมีสีน้ำตาลแดง กลิ่นหอม เมื่อบี้ด้วยนิ้วมือจะพบว่าถั่วถูกบี้แบน แต่เปลือกถั่วยังดีอยู่แสดงว่านึ่งได้ที่แล้ว

(2) นำถั่วมาผสมกับแป้งสาลี โดยใช้อัตราส่วนของแป้ง 1 ส่วนต่อน้ำหนักถั่ว 1 ส่วน ควรคลุกขณะที่ถั่วยังอุ่นๆ อยู่ และต้องคลุกให้ทั่วโดยสม่ำเสมอ (แป้งสาลีที่ใช้คลุกควรนำไปคั่วให้หอมหรือเอาไปอบที่อุณหภูมิ 160°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จนได้แป้งสาลีเป็นสีน้ำตาลก่อนนำมาคลุกกับถั่ว)

(3) นำถั่วที่คลุกแป้งแล้วมาคลุกกับสปอร์ของเชื้อรา *Aspergillus oryzae* หรือ *Aspergillus sojae* ผสมให้เข้ากันดีแล้วนำมาเกลี่ยใส่ถาดหรือภาชนะอื่นที่เหมาะสมให้มีความหนาประมาณ 3-4 เซนติเมตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องประมาณ 28-32°C คลุมด้วยผ้าขาวบาง เมื่อบ่มครบ 1 วัน ให้พลิกถั่วเพื่อระบายความร้อนและช่วยให้เชื้อราสัมผัสกับอากาศได้ทั่วถึง เพราะเชื้อราต้องการอากาศในการเจริญ บ่มไว้ประมาณ 3-5 วัน ถ้าเชื้อราเจริญดีจนเห็นเส้นใยของเชื้อรายึดถั่วและแป้งจับเป็นก้อนและมีสปอร์สีเหลืองแกมเขียวและขาว ขึ้นอยู่ทั่วก้อนถั่ว ลักษณะนี้เรียกว่า โคจิ (koji)

(4) นำโคจิใส่ลงในโหลหรือไหปากกว้างประมาณ 3 ใน 4 ส่วนของภาชนะ เติมน้ำเกลือความเข้มข้น 18-24% ในอัตราส่วน 1:1.5 ตั้งตากแดดทิ้งไว้ 3 ถึง 4 เดือน คนทุกวันในสัปดาห์แรก ช่วงการหมักในน้ำเกลือนี้เรียกว่า โมโรมี (Moromi)

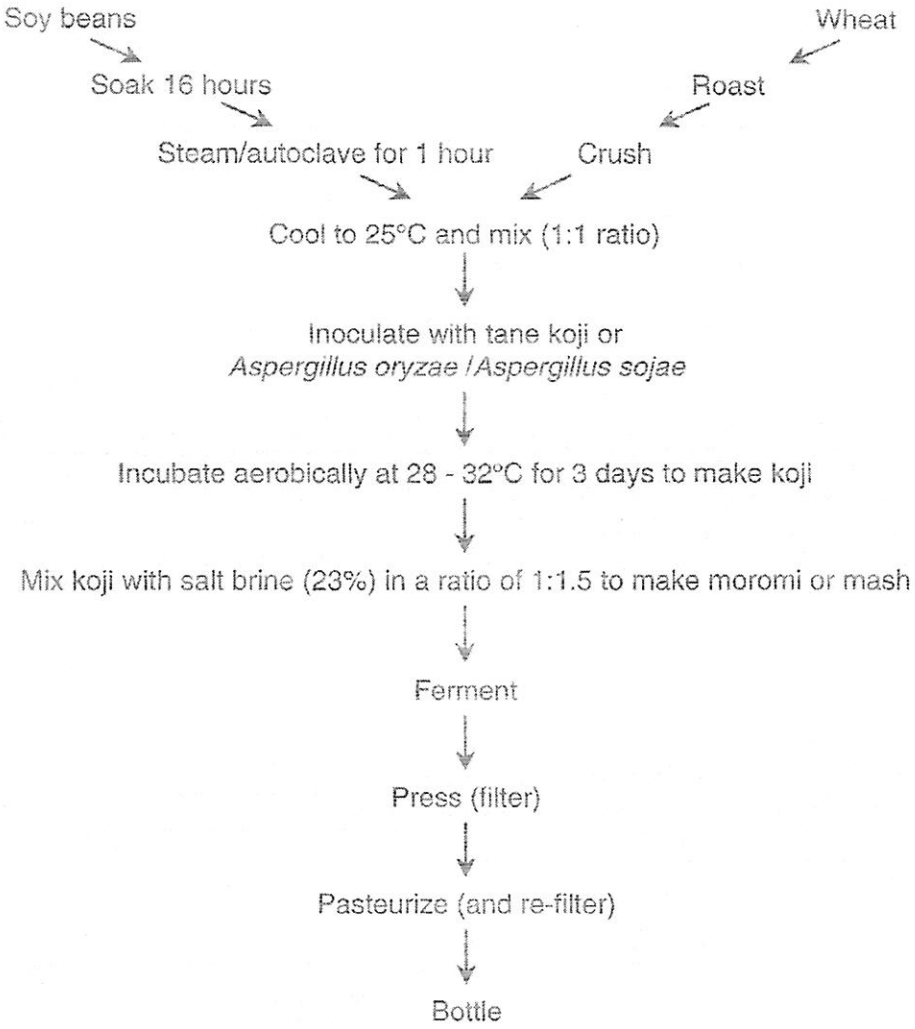
ในระหว่างการหมักเอนไซม์ต่างๆ เช่น โปรติเอส อะไมเลสและเอนไซม์อื่นๆ ในโคจิจะยังคงดำเนินต่อไป การหมักที่เกิดขึ้นในระหว่างนี้สามารถแบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน ได้แก่

- การหมักเพื่อผลิตกรดแลคติก โดยแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีอยู่ในกล้าเชื้อหรือโคจิ จากนั้นแบคทีเรีย *Pediococcus halophilus* จะสร้างกรดเพิ่มขึ้นอีก

- การหมักเพื่อผลิตแอลกอฮอล์โดยเชื้อยีสต์ เช่น *Saccharomyces rouxii* และ *Zygosaccharomyces sojae*

- การหมักขั้นสุดท้ายและช่วงการบ่ม เพื่อพัฒนากลิ่นและรสชาติที่จำเพาะของซีอิ้วแต่ละชนิด

(5) เมื่อการหมักสิ้นสุดลงจะได้ผลผลิตเป็นเต้าเจี้ยว กรองเอาเฉพาะของเหลวที่เป็นน้ำซีอิ้วเกรด 1 กากที่เหลือเติมน้ำเกลือหมักต่อไปอีกจะได้ซีอิ้วเกรดรองลงไป อาจทำซ้ำได้ 2-3 ครั้ง นำซีอิ้วใสที่ต้องการฆ่าเชื้อด้ววิธีพาสเจอร์ไรซ์โดยการต้มที่อุณหภูมิ 80-83°C 15 นาที ตั้งไว้เป็นเวลา 2-3 วัน การต้มเพื่อให้โปรตีนตกตะกอนและเป็นการฆ่าเชื้อในซีอิ้วดิบ นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มกลิ่น สี และความเข้มข้น สำหรับในอุตสาหกรรมการผลิตซีอิ้ว หลังการหมักสิ้นสุดจะกรองส่วนใสด้วยเครื่องและใช้สารช่วยในการกรองทำให้ได้ซีอิ้วใส หลังจากนั้นนำไปปรุงแต่งรสแล้วจึงบรรจุขวด ดังขั้นตอนการผลิตซีอิ้ว (รูปที่ 7.6)



รูปที่ 7.6 กระบวนการผลิตซีอิ้ว

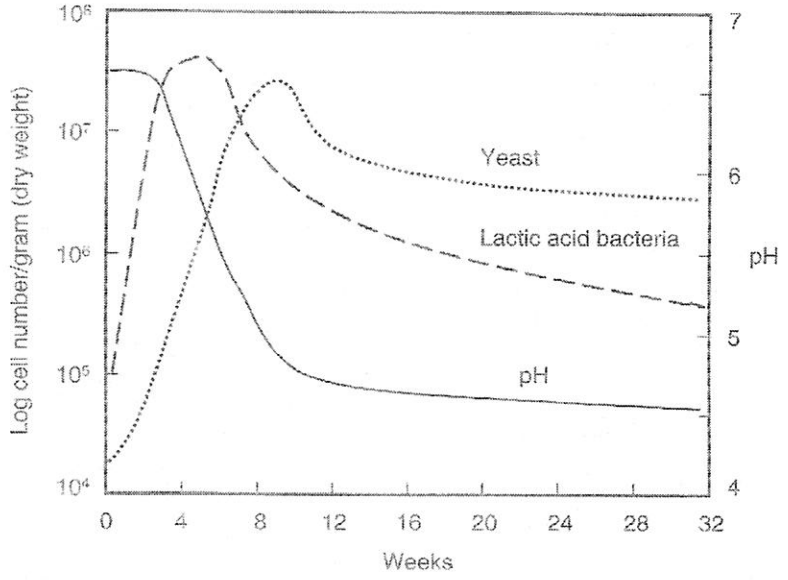
ที่มา : Hutkins (2006)

บทบาทของจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการทำซีอิ๊ว

การเตรียมโคจิ (koji) จุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญที่สุดในขั้นตอนนี้เป็นพวกเชื้อรา อาจเป็นเชื้อผสมที่เตรียมขึ้นมาจากการเตรียมครั้งก่อนหรือเตรียมจากเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกกัน โดยทำหน้าที่ในการผลิตเอนไซม์เพื่อย่อยโปรตีนในถั่วเหลืองและแป้ง ทำให้ได้สารโมเลกุลเล็กลงหลายชนิด เช่น พวกโปรตีนที่ละลายได้ (soluble protein) โพลีเพปไทด์ (polypeptide) เพปไทด์ (peptide) เพปโทน (peptone) กรดอะมิโน (amino acid) น้ำตาลไดแซคคาไรด์ (disaccharide) โมโนแซคคาไรด์ (monosaccharide) และสารอื่นๆ เอนไซม์ที่เชื้อราผลิตออกมาที่สำคัญๆ มีหลายชนิด มีทั้ง acid, alkaline proteinase, amylase cellulose lipase และ invertase เป็นต้น

ขั้นตอนโมโรมิ่ (Moromi) คือการหมักในน้ำเกลือ เชื้อจุลินทรีย์ที่เข้ามามีบทบาทสำคัญในขั้นตอนนี้เป็นพวกบักเตรีและยีสต์ที่สามารถเจริญในสภาพความเข้มข้นของเกลือสูงๆ ได้อย่างดี

แบคทีเรีย ที่มีบทบาทสำคัญในช่วงการหมักในน้ำเกลือเป็นพวกแบคทีเรียกรดแลคติก แบคทีเรียพวกนี้จะสร้างกรดแลคติกจากน้ำตาล ทำให้ pH ของน้ำหมักซีอิ๊วลดลงจาก 6-7 เป็น 4.5-5.0 การที่น้ำหมักซีอิ๊วมี pH ลดลงต่ำกว่า 5.0 นี้เป็นการป้องกันการเน่าเสียของซีอิ๊ว อันเนื่องจากแบคทีเรียรูปท่อนที่ทนเกลือและยังทำให้ pH ของน้ำหมักอยู่ในช่วงที่เหมาะสำหรับการเจริญเติบโตของยีสต์ (รูปที่ 7.7) นอกจากนี้แบคทีเรียกรดแลคติกยังมีคุณลักษณะที่สำคัญในการให้กลิ่นรส ทำให้กลิ่นคล้ายยาที่เกิดจากเชื้อราหายไปและยังให้เอนไซม์ proteinase และ peptinase ซึ่งสามารถย่อยทำลายพันธะเพปไทด์ที่เอนไซม์ proteinase จากเชื้อรา *Aspergillus* ย่อยไม่ได้ และทำให้โปรตีนที่แขวนลอยอยู่ในน้ำหมักซีอิ๊วหายไป ช่วยทำให้ซีอิ๊วใสขึ้น นอกจากนี้ยังให้เอนไซม์ transaminase ที่มีความสำคัญต่อการสร้างกรดกลูตามิคในซีอิ๊ว



รูปที่ 7.7 ความสัมพันธ์ของการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกและยีสต์ในระหว่างการหมักซีอิ๊ว
ที่มา : Hutkins (2006)

ยีสต์ ทำหน้าที่หมักต่อจากการหมักโดยแบคทีเรีย ยีสต์มีบทบาทสำคัญที่ทำให้ซีอิ้วมีกลิ่นรสดี โดยยีสต์จะใช้น้ำตาลในซีอิ้วผลิตเป็นแอลกอฮอล์ ซึ่งเมื่อรวมกับสารอื่นๆ แล้วจะเกิดเป็นสารที่ให้กลิ่นรสที่ดีแก่ซีอิ้ว

ในการหมักซีอิ้วนั้น จะต้องอาศัยกิจกรรมร่วมกับจุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด คือ เชื้อรา แบคทีเรียและยีสต์ ดังตารางที่ 7.7 เพื่อเปลี่ยนแปลงถั่วเหลืองกับแป้งสาลีไปเป็นน้ำหมักซีอิ้วที่มีกลิ่นรสน่ารับประทานและมีคุณภาพดี

ตารางที่ 7.7 จุลินทรีย์ที่มีความสำคัญในซีอิ้ว

Fungi	Bacteria	Yeast
Aspergillus oryzae	*Tetragenococcus halophilus*	*Zygosaccharomyces rouxii*
Aspergillus sojae	*Lactobacillus delbrueckii*	*Zygosaccharomyces soya*
Mucor sp.	*Leuconostoc mesenteroides*	*Candida versitalis*
Rhizopus sp.		*Torulopsis* sp.
		Hansenula sp.

ที่มา : Hutkins (2006)

การเสื่อมเสียของซีอิ้ว

จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในระหว่างการผลิตซีอิ้ว โดยเฉพาะขั้นการเตรียมโคจินั้น ทำให้คุณภาพของซีอิ้วไม่ดี หากเกิดการปนเปื้อนหลังการผลิตซีอิ้วจะทำให้ซีอิ้วเน่าเสีย จุลินทรีย์ที่ทำให้ซีอิ้วเสื่อมเสียมีดังนี้

(1) แบคทีเรีย ได้แก่ *Bacillus* sp. จะปนเปื้อนมากับวัตถุดิบและอากาศ ในขั้นตอนการเตรียมโคจิจะทำให้การย่อยสลายถั่วเหลืองไม่ดี และซีอิ้วที่ได้มีกลิ่นรสไม่ดีด้วย

(2) เชื้อรา เชื้อราหลายชนิดสามารถปนเปื้อนได้ทุกขั้นตอนการผลิตซีอิ้ว ถ้าหากปนเปื้อนในขั้นตอนการเตรียมโคจิจะทำให้การย่อยสลายถั่วเหลืองไม่ดี

(3) ยีสต์ กลุ่มที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย ได้แก่ กลุ่มที่สร้าง film forming yeast, ring forming yeast และกลุ่มที่เจริญแล้วตกตะกอน (bottom yeast)

บทที่ 8
ผลิตภัณฑ์นมหมัก

ผลิตภัณฑ์นมหมักเตรียมได้จากนมหลายชนิดอาจเป็นนมสด นมขาดมันเนย นมผงหรือนมข้นก็ได้ นำมาผ่านการโฮโมจีโนซ์เพื่อให้อนุภาคของไขมันเล็กลง แล้วนำมาฆ่าเชื้อด้วยการสเตอริไลซ์แล้วหมักต่อด้วยจุลินทรีย์ที่ผ่านการคัดเลือกแล้ว ซึ่งอาจเป็นแบคทีเรียหรือยีสต์หรือทั้งสองชนิดร่วมกัน โดยแบคทีเรียกรดแลคติกจะให้ผลผลิตเป็นกรดแลคติกจากกระบวนการหมักของกล้าเชื้อ ทำให้พีเอชลดลงและเกิดการจับตัวของโปรตีนหรือที่เรียกว่า curd มีผลทำให้เกิดรสเปรี้ยวของผลิตภัณฑ์ โดยทั่วไปแล้วกล้าเชื้อที่ใช้สำหรับหมักผลิตภัณฑ์นมแต่ละชนิด (ดังตารางที่ 8.1) จะให้สารประกอบของกลิ่นและรสชาติที่มีลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์

ตารางที่ 8.1 จุลินทรีย์ที่นำมาใช้เป็นกล้าเชื้อสำหรับผลิตภัณฑ์นมหมัก

Product	Organisms
Yogurt	*Streptococcus thermophilus* *Lactobacillus delbreckii* subsp. *bulgaricus*
Buttermilk	*Lactobacillus lactis* subsp. *lactis* *Lactobacillus lactis* subsp. *cremoris* *Leuconostoc lactis* *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum*
Sour Cream	*Lactobacillus lactis* subsp. *lactis* *Lactobacillus lactis* subsp. *cremoris* *Leuconostoc lactis* *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum*
Kefir	*Lactobacillus kefiri* *Lactobacillus kefiranofaciens* *Saccharomyces kefiri*

ที่มา : Hutkins (2006)

การบริโภคโยเกิร์ตในปัจจุบันมีปริมาณเพิ่มขึ้นมากในปัจจุบัน เพราะผู้บริโภคเชื่อว่าในผลิตภัณฑ์โกร์ตมีสารอาหารที่ให้ประโยชน์ต่อร่างกาย โยเกิร์ตเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักของจุลินทรีย์ผสมสองสายพันธ์ได้แก่ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* ซึ่งจะเปลี่ยนน้ำตาลแลคโทสในน้ำนมให้เป็นกรดแลคติกทำให้โยเกิร์ตมีรสเปรี้ยว และให้กลิ่นรสเฉพาะ นอกจากนี้โยเกิร์ตและผลิตภัณฑ์นมหมักบางชนิดอาจเติมเชื้อโพรไบโอติก *Lactobacillus acidophilus* และ *Bifidobacterium* ลงไปเพื่อกระตุ้นให้ระบบลำไส้สมดุลแก่จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารที่มีประโยชน์ต่อเจ้าบ้าน (host) ส่วนพรีไบโอติกซึ่งเป็นสารประเภทโอลิโกแซคคาไรด์ที่พบได้ทั่วไปในถั่ว

ชนิดต่างๆ จะเป็นสารตั้งต้นที่ดีแก่แบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้ใหญ่ เพิ่มจำนวนและทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ

แบคทีเรียในนมหมักมีความสามารถในการสร้างเอนไซม์หลายชนิด เช่น β-galactosidase ย่อยน้ำตาลแลคโตส หรือ protease ย่อยโปรตีน ส่งผลให้นมหมักมีสารอาหารโมเลกุลเล็กที่ร่างกายสามารถย่อยได้ง่ายและมีคุณค่าทางโภชนาการมากกว่านมสด นมหมักจำแนกตามลักษณะการหมักจากแบคทีเรียแลคติกได้ 4 ประเภท ดังนี้

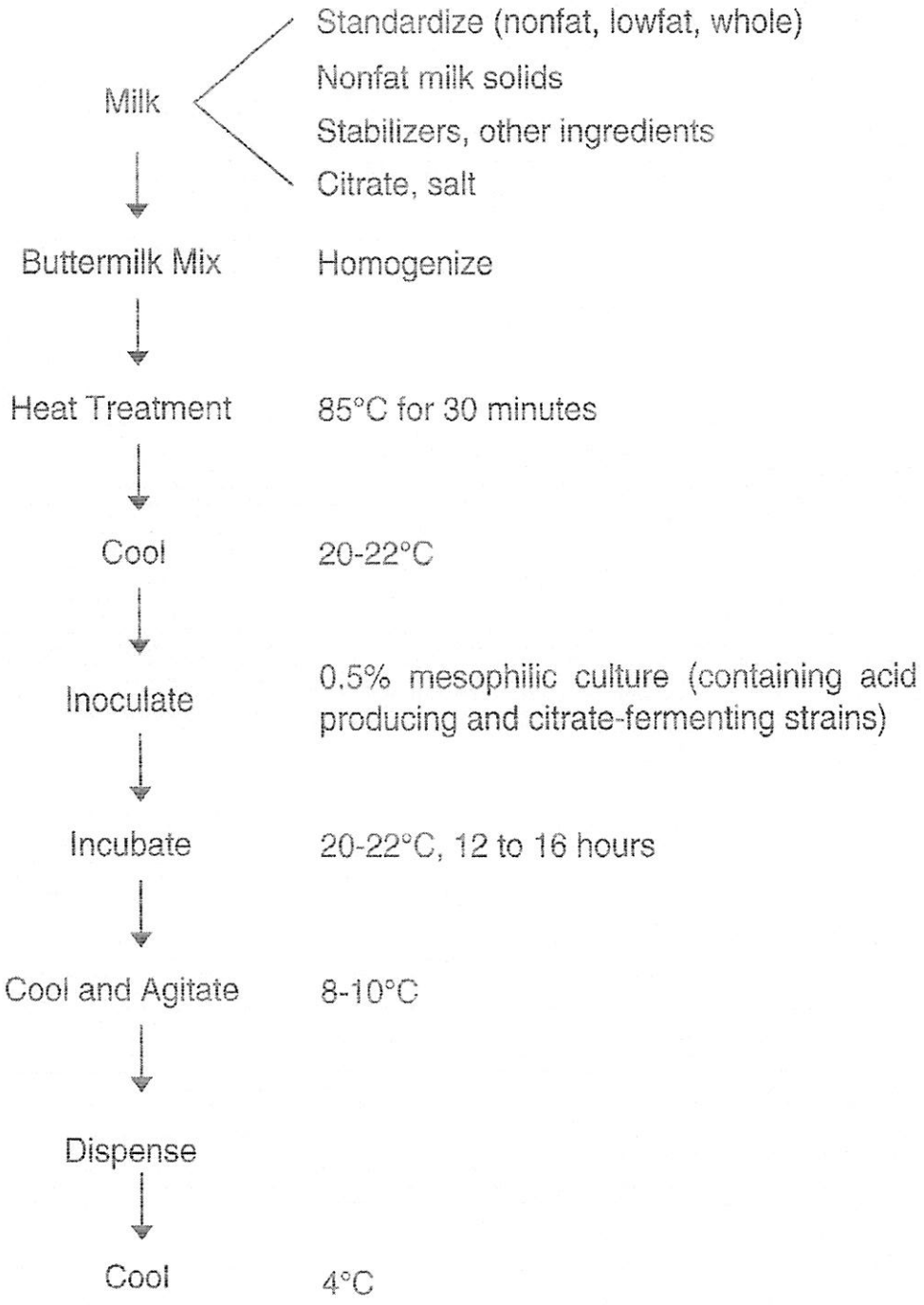
1. นมหมักจากบัตเตอร์มิลล์ (butter milk)

ส่วนของนมที่เป็นผลพลอยได้จากการทำเนยสด (butter) หรือเป็นซีรัมสดที่เหลือจากการตกตะกอนแยกครีมไปใช้ทำเนย บางประเทศมีการใช้บัตเตอร์มิลล์เป็นอาหารคน แต่บางประเทศมีการใช้เป็นอาหารสัตว์

การผลิตบัตเตอร์มิลล์เป็นอาหารคน หลังจากแยกครีมออกไปแล้วนำของเหลวที่เหลือมาพาสเจอร์ไรซ์ หรือเติมนมที่มีไขมันต่ำผสมเข้าไปก่อนการพาสเจอร์ไรซ์ บัตเตอร์มิลล์ก่อนหมักจะมีปริมาณไขมันประมาณ 1.7% หลังจากการพาสเจอร์ไรซ์ทิ้งให้อุณหภูมิเย็นลงที่ 22 °C จึงเติมกล้าเชื้อสำหรับหมัก 1% ตามขั้นตอนการผลิตดังรูปที่ 8.1

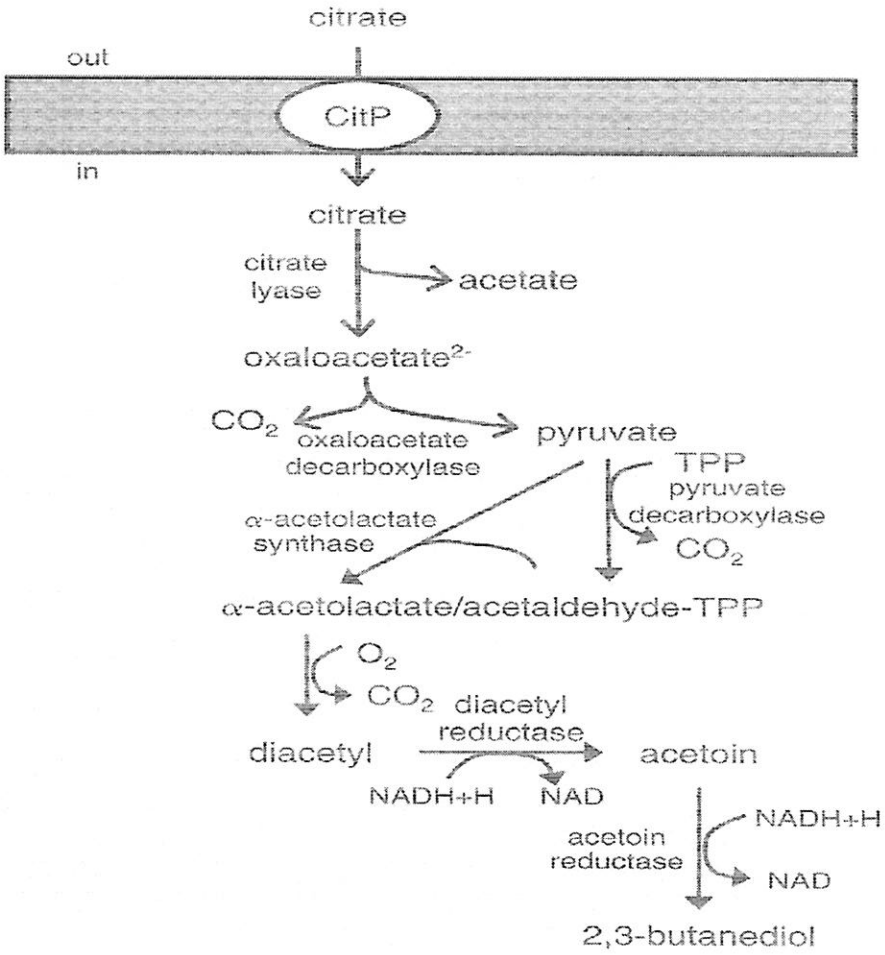
กล้าเชื้อประกอบด้วยแบคทีเรีย *Lactococci* ที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง บางครั้งอาจเติม *Leuconostoc* ลงไปด้วย ทางการค้านิยมใช้ *Lactococcus lactis* spp.*lactis* *Lactococcus lactis* spp.*cremoris* และ *Leuconostoc mesenteroides* spp.*cremoris* และ *Leuconostoc lactis* spp.*lactis* var. การผลิตบัตเตอร์มิลล์ที่มีรสชาติดี ต้องควบคุมอัตราส่วนของไดอะซิทิลต่ออะซิทิลดีไฮด์ให้อยู่ในอัตราส่วน 5:1 เพื่อควบคุมการเจริญของแบคทีเรียที่ให้กรดและแบคทีเรียที่ให้กลิ่นรสให้อยู่ในสัดส่วนที่สมดุลกัน ควรบ่มเชื้อที่อุณหภูมิไม่เกิน 24 °C แบคทีเรียที่ให้กรดจะเจริญได้เร็วกว่าแบคทีเรียที่ให้กลิ่นรส เป็นผลทำให้บัตเตอร์มิลล์ที่ได้มีแต่ความเปรี้ยว แต่ขาดกลิ่นรสเฉพาะของไดอะซิทิล นมที่ใช้ผลิตบัตเตอร์มิลล์ควรมีคุณภาพทางกายภาพและทางจุลชีววิทยาที่ดี เพราะปริมาณกรดซิตริกในนมไม่คงที่จะแปรผันตามฤดูกาล การเติมกรดซิตริกหรือเกลือโซเดียมซิเตรทอาจจำเป็น เพื่อให้ผลิตภัณฑ์บัตเตอร์มิลล์มีระดับของไดอะซีทิลที่เหมาะสม ดังรูปที่ 8.2 แสดงวิถีการหมักซิเตรท (citrate) โดยแบคทีเรียกรดแลคติก

นอกจากนี้อาจเติมสารที่ช่วยให้เกิดความคงตัว สารให้ความหวานจากคาร์โบไฮเดรต สี นมผงหางนมที่เป็นของแข็ง หลังจากที่บ่มเชื้อไว้ที่ 12-16 ชั่วโมง การตกตะกอนเป็นก้อนของนมจะเกิดขึ้นที่พีเอช 4.6-4.7 และได้กรดจากการไตเตรท 0.8% การเคลื่อนย้ายผลิตภัณฑ์อย่างไม่ระมัดระวังจะมีผลทำให้ตะกอนนมที่จับเป็นก้อนแตกออก หลังจากได้ผลิตภัณฑ์บัตเตอร์มิลล์แล้วจึงลดอุณหภูมิมาที่ 4 °C บรรจุและจำหน่ายภายใน 24 ชั่วโมง ผลิตภัณฑ์บัตเตอร์มิลล์ที่ดีต้องมีลักษณะเป็นก้อนหนา มีเนื้อเรียบเนียน มีความหนืดพอสมควร และไม่มีหางนมแยกตัวออกมา



รูปที่ 8.1 ขั้นตอนการผลิตบัตเตอร์มิลล์

ที่มา : Hutkins (2006)

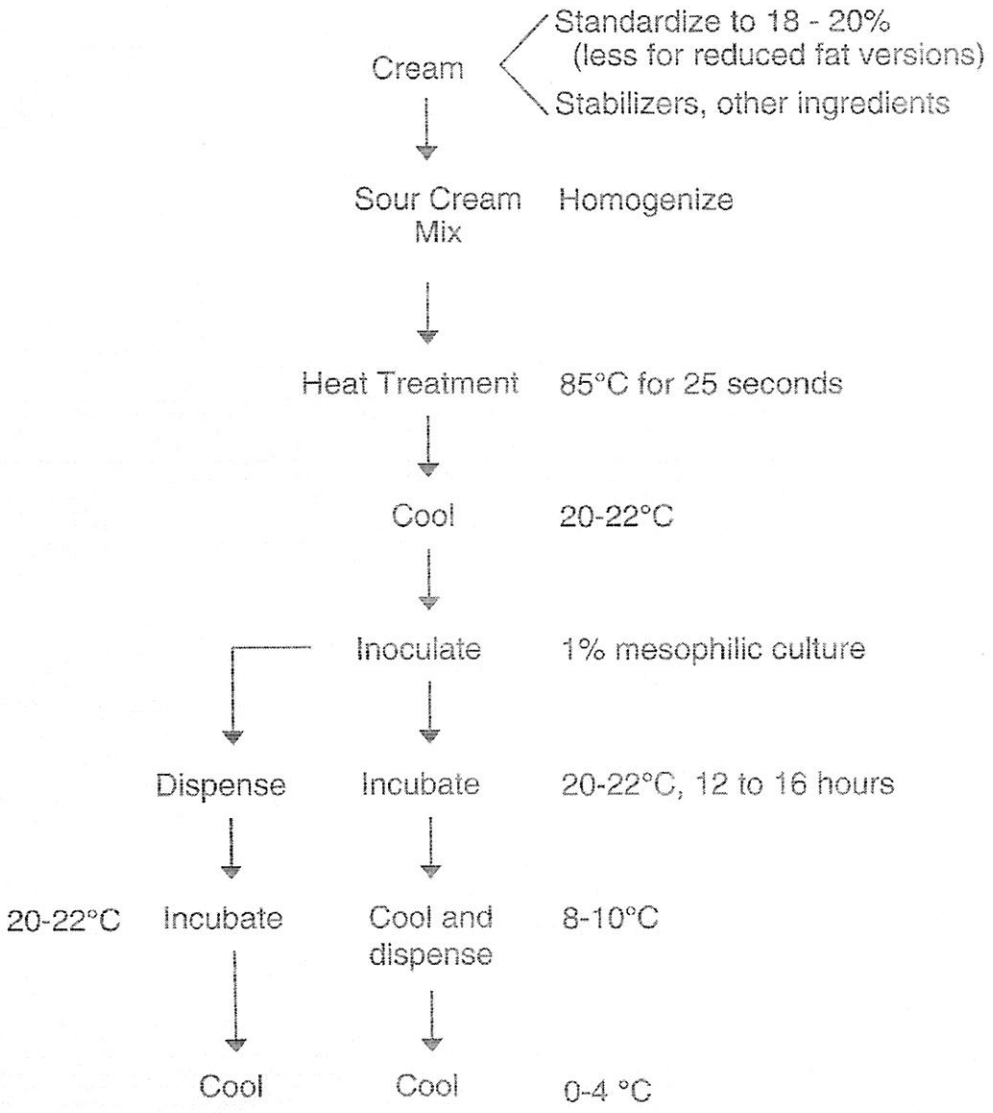


รูปที่ 8.2 วิถีการหมักซิเตรท (citrate) โดยแบคทีเรียกรดแลคติก
ที่มา : Hutkins (2006)

การใช้กล้าเชื้อผสม (mixed-strain starter cultures) ทำให้มีการเสริมประโยชน์เกิดขึ้น เช่น กรดแลคติกเป็นสารเมทาบอไลท์ทุติยภูมิของแบคทีเรียแลคติก นอกจากนี้ยังพบไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ แบคเทอริโอซินที่มีพิษต่อแบคทีเรียและแบคทีเรียแลคติกด้วย การใช้เชื้อผสมแบคทีเรียสายพันธุ์หลักจะถูกทำลายไป แต่ยังมีแบคทีเรียสายพันธุ์อื่นหลงเหลืออยู่ เป็นผลให้กิจกรรมการหมักยังดำเนินต่อไปและได้ผลผลิตสุดท้ายที่ไม่แตกต่างกันมากนัก การคัดเลือกเชื้อผสมที่เหมาะสมเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายตามที่ต้องการ

Sour cream

Sour cream หรือครีมเปรี้ยว มีลักษณะคล้ายคลึงกับบัตเตอร์มิลล์ ดังวิธีการผลิตรูปที่ 8.3 ในประเทศสหรัฐอเมริกาจะผลิต sour cream โดยใช้ครีม 18-20% ที่มีปริมาณไขมันต่ำ ทำการโฮโมจิไนซ์ให้เข้ากันและนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85°C 25 วินาที ทิ้งให้เย็นลงจนกระทั่งอุณหภูมิ 20-22°C หลังจากนั้นเติมกล้าเชื้อประเภท mesophile 1% ซึ่งเป็นกล้าเชื้อชนิดเดียวกับบัตเตอร์มิลล์ผสมให้เข้ากัน นำไปบ่มและทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิ 0-4°C ผลิตภัณฑ์ sour cream จะมีรสชาติเหมือนกับรสชาติของบัตเตอร์มิลล์



รูปที่ 8.3 ขั้นตอนการผลิต sour cream

ที่มา : Hutkins (2006)

2. นมหมักจากเชื้อแลคโตบาซิลลัส

การหมักนมของชาวบัลแกเรีย (bulgaria) ใช้ *Lactobacillus* ที่เจริญได้ที่อุณหภูมิปานกลางจนถึงอุณหภูมิสูง คือ *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus* นมหมักของชาวญี่ปุ่นที่มีชื่อการค้าว่า ยาคูลท์ ซึ่งใช้ *Lactobacillus casei* สายพันธุ์ใหม่ที่แยกได้จากอุจจาระของผู้ป่วยโรคท้องร่วง

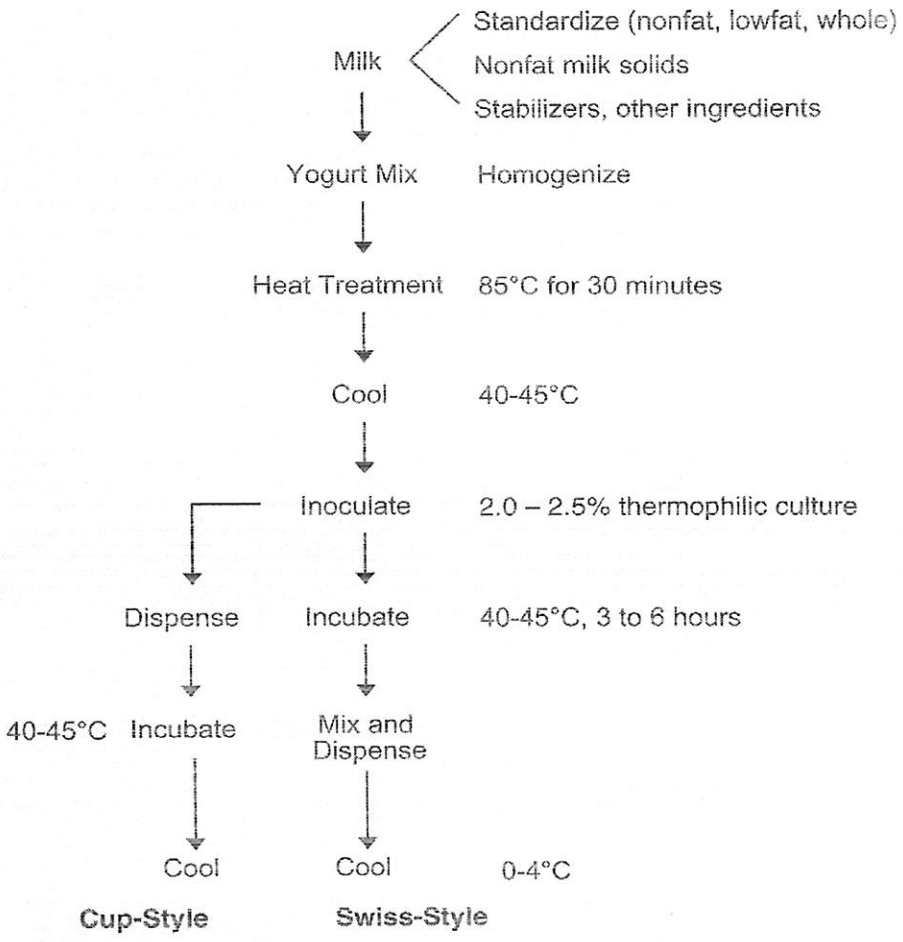
นมหมักของชาวบัลแกเรีย เป็นนมเปรี้ยวชนิดหนึ่งในตระกูลโยเกิร์ต เป็นการผลิตแบบดั้งเดิม ได้รับการถ่ายทอดมาจากนักผสมพันธุ์แกะที่อพยพมาจากเอเชียเข้ามาอยู่ในบัลแกเรีย นมหมักบัลแกเรียมีค่าความเป็นกรดค่อนข้างสูง โดยเตรียมจากนมวัวหรือนมแพะต้ม ใช้นมหมักรุ่นก่อนๆ เป็นเชื้อหมักบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 40-45°C สำหรับการหมักนมบัลแกเรียในปัจจุบันมีการใช้เชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus* อย่างเดียว หรือใช้เชื้อผสมสายพันธุ์ของสปีชีส์นี้ นอกจากนี้อาจเติม *Streptococcus thermophilus* ลงไปด้วย ก่อนเติมเชื้อต้องทำการพาสเจอร์ไรซ์นมที่ 85°C นาน 30 นาที ทิ้งให้อุณหภูมิเย็นจึงเติมกล้าเชื้อประมาณ 2% บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37°C จนผลิตภัณฑ์มีความเป็นกรด 4% ในกรณีนี้กรดแลคติกจะอยู่ในรูป D(-) จากนั้นหยุดปฏิกิริยาการหมักโดยการเก็บนมเปรี้ยวไว้ที่อุณหภูมิ 7°C นมหมักบัลแกเรียเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีกลิ่นรสไม่ชวนบริโภค สารที่เป็นตัวให้กลิ่นรสมาจากอะซิทัลดีไฮด์เพียงอย่างเดียวในระดับที่มีความเข้มข้นสูง 12 ppm ผลิตจากแบคทีเรีย *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus* ผู้ผลิตบางรายใช้ *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus* ร่วมกับแบคทีเรียแลคติกที่ใช้หมักบัตเตอร์มิลล์ (*Lactococcus lactis*) ในการผลิตนมหมักบัลแกเรีย

ยาคูลท์ เป็นนมหมักอีกประเภทหนึ่งของชาวญี่ปุ่นใช้เชื้อ *Lactobacillus casei* ผลิตจากหางนมที่เติมกลูโคสและสาหร่าย *Chlorella* ละลายในน้ำร้อน กรอง ฆ่าเชื้อและเติม *L. casei* หมักที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 4 วัน มีปริมาณของแข็งในนมต่ำกว่านมทั่วไปคือ มีโปรตีน 1.2% น้ำตาลแลกโตส 1.1% และไขมัน 1.1% ดังนั้นจึงมีการเติมแซคคาไรด์อื่นๆ จนทำให้ปริมาณของแข็งเพิ่มขึ้นเป็น 14.1 ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีสมบัติทางประสาทสัมผัสที่ดี ดังนั้นผู้ที่ดื่มยาคูลท์เป็นประจำจะมี *L. casei* ในอุจจาระเพิ่มขึ้นและมีจำนวน *E. coli* ลดลง และมีความต้านทานต่อโรคได้ดีกว่าผู้ที่ไม่ดื่มยาคูลท์ ปัจจุบันได้มีการปรับปรุงการผลิตยาคูลท์โดยการเติมน้ำผักต่างๆ เช่น มะเขือเทศ กะหล่ำปลี ผักชี และแครอท เป็นต้น

3. นมหมักจากแบคทีเรียแลคติกที่ชอบอุณหภูมิสูง

มีการใช้แบคทีเรียที่สามารถทนต่ออุณหภูมิสูงกว่า 40°C ในการหมักนมคือ *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus* ร่วมกับ *Streptococcus thermophilus* ซึ่งสามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 42-45°C และ 38-45°C ตามลำดับ แบคทีเรียทั้งสองชนิดมีความสามารถในการหมักนมได้แตกต่างกันทำให้นมหมักที่ได้มีคุณค่าทางอาหารและมีผลต่อสุขภาพที่แตกต่างกัน

โยเกิร์ต โยเกิร์ตแบบดั้งเดิมมีวิธีการผลิตคล้ายกับนมหมักบัลแกเรีย (รูปที่ 8.4) โดยการต้มนมวัวหรือนมแพะที่มีปริมาณของแข็งสูง เติมเชื้อหมักจากนมที่ผ่านการหมักในรุ่นก่อน บ่มที่อุณหภูมิ 40-45°C จนได้เป็นตะกอนนิ่ม เนื้อเนียน อาจมีน้ำจากหางนมแยกตัวออกมาด้วย ในปัจจุบันการผลิตโยเกิร์ตนิยมใช้กล้าเชื้อ *Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus* บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 40-45°C มีพีเอชประมาณ 4.2-4.3 ทำให้เกิดการหมักแบบ homofermentative ในขณะการหมักดำเนินอยู่จำนวนแบคทีเรียแลคติจะเพิ่มขึ้น การเก็บโยเกิร์ตไว้นานมีผลให้เชื้อแบคทีเรียแลคติกลดจำนวนลง แบคทีเรียที่พบในโยเกิร์ตเสริมประโยชน์ซึ่งกันและกัน การใช้เชื้อผสมจะมีผลให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีการเจริญเติบโตดีและให้กรดสูง เช่น *Streptococci* เจริญอย่างรวดเร็วในตอนเริ่มต้นของการหมัก ทำให้เกิดการสะสมของการหมักของกรดแลคติกและกรดอะซิติก อะซิทัลดีไฮด์ ไดอะซิติก และกรดฟอร์มิก (รูปที่ 5) แสดงองค์ประกอบของอะซิทัลดีไฮด์ นอกจากนี้กรดอะมิโนถูกปล่อยออกมาจากโปรตีนในนมจำนวนมากเกินกว่าแบคทีเรีย *Streptococcus thermophilus* ที่สามารถใช้หมด จึงมีกรดอะมิโนอิสระเหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต กรดอะมิโนที่มีมากได้แก่ กรดกลูตามิกและโฟลีน เป็นต้น



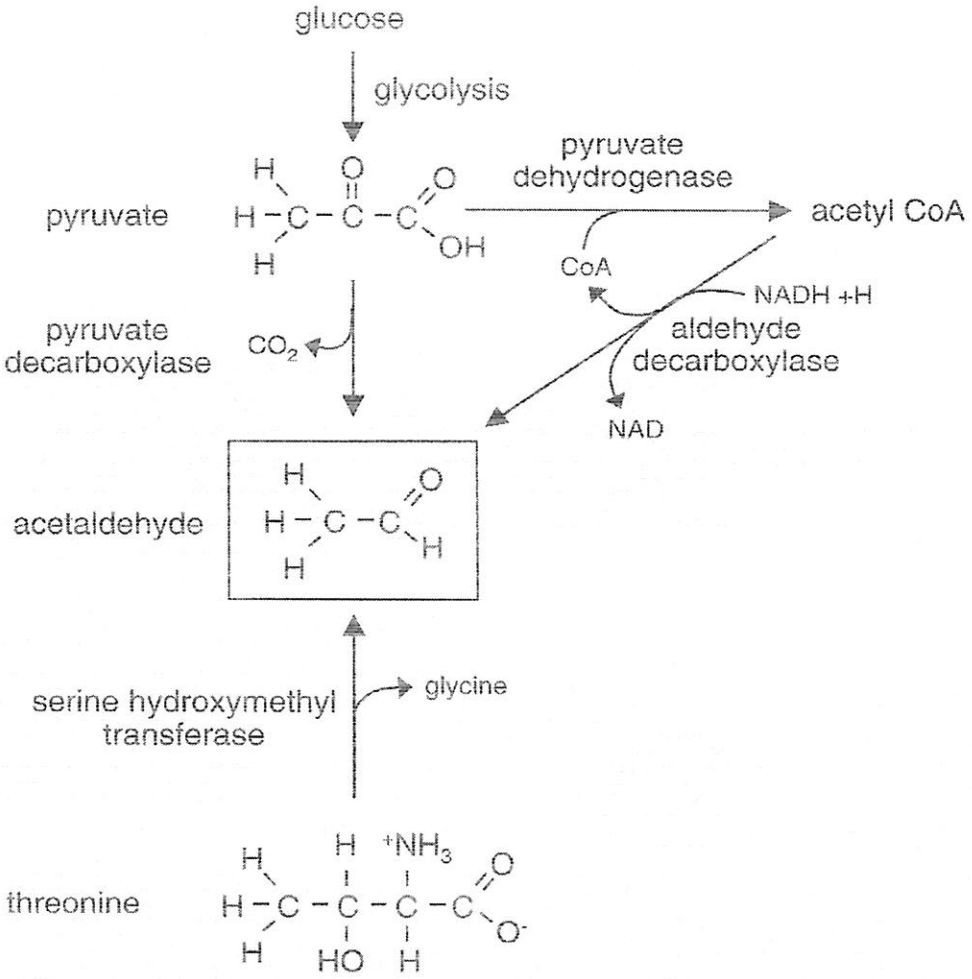
รูปที่ 8.4 ขั้นตอนการผลิตโยเกิร์ต

ที่มา : Hutkins (2006)

ชนิดของโยเกิร์ต

1. แบ่งตามกรรมวิธีการผลิต ได้แก่
   - โยเกิร์ตชนิดคงตัว (set yoghurt) ซึ่งผลิตโดยเพาะเชื้อจุลินทรีย์ในนม แล้วบรรจุในภาชนะบ่มจนกระทั่งมีลักษณะแข็งเป็นก้อน
   - โยเกิร์ตชนิดคน (stirred yoghurt) ใช้วิธีเติมเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำนม แล้วนำไปบ่มถังหมัก มีการแข็งตัวเป็นก้อน จึงนำไปปั่น เพื่อทำลายโครงสร้างตะกอนนม ต่อจากนั้นจึงบรรจุภาชนะ
2. แบ่งตามลักษณะกลิ่นรส ได้แก่
   - โยเกิร์ตชนิดธรรมดา (plain yoghurt)
   - โยเกิร์ตที่ปรุงแต่งด้วยผลไม้ (fruit yoghurt) มีการเติมผลไม้ต่างๆลงไปเพื่อเพิ่มรสชาติ
   - โยเกิร์ตที่ปรุงแต่งด้วยสารสังเคราะห์ต่างๆ (flavoured yoghurt) เพื่อให้มีกลิ่นรสต่างๆ

โยเกิร์ตประกอบด้วยเชื้อจุลินทรีย์หลายล้านตัว ซึ่งเป็นชนิดที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย หรือที่เรียกว่า โพรไบโอติก (probiotics) เป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิตและเมื่อรับประทานอาหารที่มีเชื้อจุลินทรีย์ชนิดนี้แล้วจะก่อให้เกิดผลดีต่อร่างกาย เนื่องจากสามารถทำให้มีการปรับจำนวนจุลินทรีย์ที่อยู่ในระบบทางเดินอาหารจนอยู่ในสภาพสมดุลย์ ปกติจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร มีประมาณ 400-500 ชนิด และมีปริมาณรวมกันประมาณร้อยล้านล้านตัว โดยในกระเพาะอาหารซึ่งมีสภาวะเป็นกรดจะมีน้อยกว่าในลำไส้เล็กปริมาณจุลินทรีย์เพิ่มจนเป็นหมื่นล้านตัว เมื่อถึงลำไส้ใหญ่ปริมาณจุลินทรีย์เพิ่มมากถึงล้านล้านตัว จุลินทรีย์ชนิดนี้ได้แก่ *Bifidobacterium* และ *Lactobacillus* ซึ่งจัดเป็นจุลินทรีย์สุขภาพ สามารถป้องกันโรคติดเชื้อ เนื่องจากสร้างกรดอะซิติกและกรดแลกติก ทำให้เกิดสภาวะเป็นกรดซึ่งมีผลยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่เกิดโรค (pathogens) เช่น โรคท้องเสีย โรคติดเชื้อ ภาวะเป็นพิษต่างๆ ไม่สามารถทำงานได้และยังไปแย่งอาหารของจุลินทรีย์เหล่านั้นด้วย



รูปที่ 8.5 องค์ประกอบของ acetaldehyde ที่เปลี่ยนแปลงมาจาก pyruvate และ threonine โดยแบคทีเรียในโยเกิร์ต

ที่มา : Hutkins (2006)

ประโยชน์ของโยเกิร์ตต่อสุขภาพ

1. แบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกในโยเกิร์ตจะผลิตเอนไซม์ เพื่อช่วยย่อยน้ำตาลแล็กโทสและโปรตีนเคซีนในนม เหมาะสำหรับผู้บริโภคที่ร่างกายไม่สามารถย่อยน้ำนมได้ ทำให้ร่างกายดูดซึมได้ง่ายขึ้น ช่วยลดอาการท้องอืดและท้องเฟ้อได้

2. ช่วยให้หายจากอาการท้องเสีย เนื่องจากโยเกิร์ตจะช่วยในการรักษาสภาพสมดุลของจุลินทรีย์ในท้องได้มากกว่าน้ำนมปกติ และยังช่วยป้องกันการขาดสารอาหาร โดยจะช่วยให้ได้รับสารอาหารอื่นๆ เพิ่มขึ้นจากการผลิตของจุลินทรีย์ที่หลากหลายในโยเกิร์ต

3. ช่วยกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันให้แก่ร่างกายและยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโทษในลำไส้ และมีคุณสมบัติในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันในร่างกายให้สูงขึ้นด้วย

4. ช่วยลดความเสี่ยงจากการเกิดโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่ โดยแลคโตบาซิลลัสสามารถจับตัวกับสารก่อมะเร็ง โลหะหนักและกรดน้ำดีซึ่งมีพิษ นอกจากนี้แลคโตบาซิลลัสยังช่วยในการยับยั้งกลุ่มแบคทีเรียในลำไส้ที่สร้างสารไนเตรทได้ (เป็นสารก่อมะเร็งตัวหนึ่ง) และยังช่วยในการเปลี่ยนสารฟลาโวนอยด์จากพืชให้เป็นสารต้านมะเร็งได้

5. ช่วยป้องกันการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร เนื่องจากโยเกิร์ตอุดมด้วยสารจากไขมันธรรมชาติที่มีฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนที่เรียกว่า โพรสตาแกลนดิน อี 2 (Prostaglandin E2) ซึ่งทำหน้าที่ป้องกันผนังกระเพาะอาหาร

6. ช่วยลดระดับคลอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ในเลือด ทำให้สามารถป้องกันโรคหลอดเลือดหัวใจตีบตันได้

7. เป็นแหล่งของวิตามินบี โดยเฉพาะวิตามินบี 1 (ไรโบฟลาวิน) ซึ่งแบคทีเรียในโยเกิร์ตสามารถสังเคราะห์วิตามินบีและวิตามินเคในลำไส้ได้

8. เป็นแหล่งโปรตีนชั้นดี ในโยเกิร์ตมีโปรตีนมากกว่าในน้ำนมถึง 20% และยังเป็นโปรตีนที่ย่อยง่าย ร่างกายสามารถดูดซึมได้ดี

9. ช่วยให้ร่างกายดูดซึมแคลเซียมดีขึ้น กรดแลคติกในโยเกิร์ตช่วยให้การย่อยแคลเซียมในนมดีขึ้นและทำให้ร่างกายดูดซึมแคลเซียมดีขึ้น

4. นมหมักจากแบคทีเรียแลคติกและยีสต์

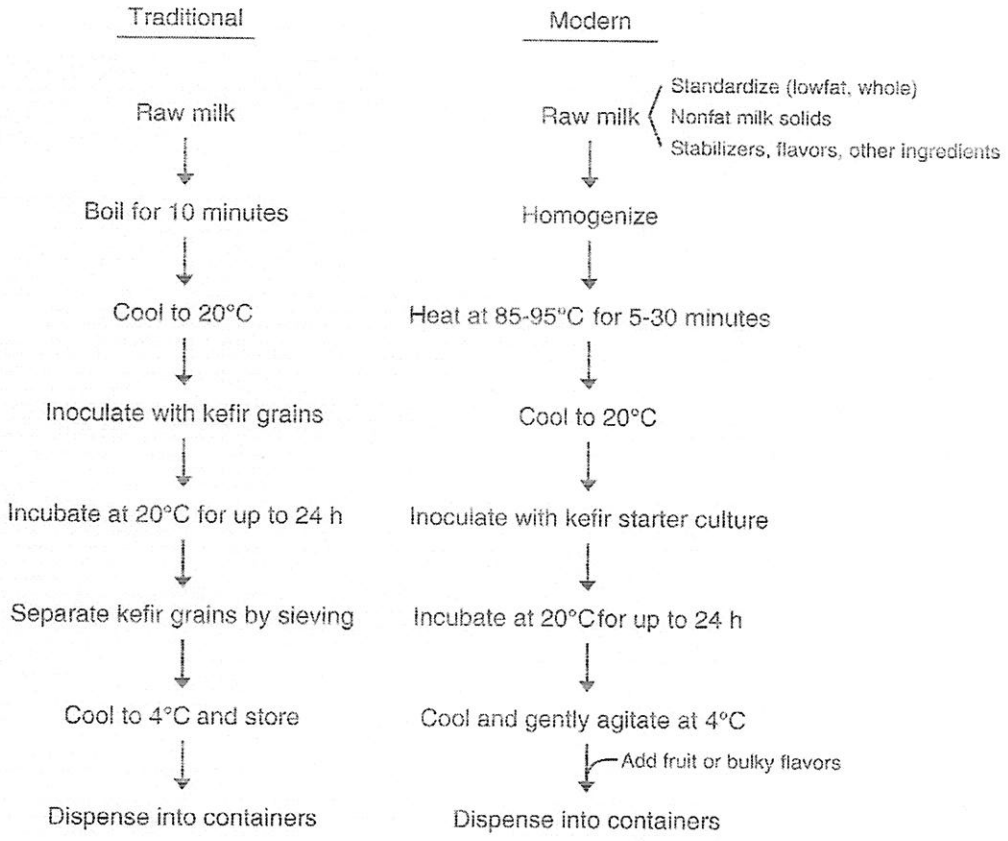
แบคทีเรียแลคติกที่ใช้หมักนมประเภทนี้เป็นแบคทีเรียที่เจริญได้ ณ อุณหภูมิปานกลางถึงอุณหภูมิสูง ยีสต์ที่ใช้ได้แก่ *Candida* และ *Saccharomyces* ผลผลิตที่ได้คือ กรดแลคติกและเอทธานอล ผลิตภัณฑ์ที่ได้จึงมีชื่อเรียกแตกต่างกันในแต่ละท้องถิ่น

คีเฟอร์ มีแถบกำเนิดในประเทศรัสเซียเป็นการหมักแบบพื้นบ้าน ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่นิยมกันในทวีปเอเชียและในตะวันออกกลาง ดังวิธีการผลิตในรูปที่ 8.6 กล้าเชื้อหมักคีเฟอร์ได้จากเมล็ดคีเฟอร์ มีลักษณะเป็นธัญพืชมีสีขาวจนถึงสีขาว หมักในถุงที่ทำด้วยหนังหรือถังไม้โอ๊กที่บรรจุนม หมักทิ้งไว้จนนมเปรี้ยว

เมล็ดคีเฟอร์ มีรูปร่างไม่สม่ำเสมอ ผิวนอกมักจะยับยู่ยี่ เกาะกันเป็นก้อนคล้ายข้าวสุก เมล็ดคีเฟอร์ที่ใช้ผลิตนมเปรี้ยวแบบดั้งเดิมได้จากธรรมชาติ สามารถใช้หมักซ้ำได้หลายครั้ง เมื่อเติมลงในนม เมล็ดจะพองออกและเปลี่ยนเป็นสีขาว เป็นเมือก ผลิตภัณฑ์ที่ได้ยืดหยุ่นคล้ายเจลลี่ โดยทั่วไป *Lactobacilli* จะมีอยู่ในเมล็ดคีเฟอร์ประมาณ 65-80% ของจุลินทรีย์ทั้งหมด โดยที่ *Lactococci* ทำให้เกิดกลิ่นรส

การหมักคีเฟอร์แบบพื้นบ้าน เริ่มต้มนมจนเดือด เมื่อนมเย็นลงเติมเมล็ดคีเฟอร์ลงไป บ่มทิ้งไว้ 1 คืน ที่อุณหภูมิ 23-25^{o}C จนได้ผลิตภัณฑ์ที่เป็นกรด (กรดแลคติก) กรองเมล็ดคีเฟอร์แยกออก ทำให้ผลิตภัณฑ์เย็นลงพร้อมที่จะใช้ดื่ม

การหมักคีเฟอร์ในระดับอุตสาหกรรม การผลิตกล้าเชื้อคีเฟอร์มี 2 ระยะคือ ระยะแรกใช้เมล็ดคีเฟอร์เป็นหัวเชื้อ เพื่อนำมาผลิตกล้าเชื้อจำนวนมาก ในระยะที่สองมีการใช้เมล็ดคีเฟอร์ต่อนมในอัตราส่วน 1:1 โดยน้ำหนัก เมล็ดคีเฟอร์หลังจากการกรองได้สามารถใช้เติมในนมสด เพื่อทำเชื้อหมักเก็บไว้หรือล้างน้ำเย็น และเก็บในน้ำที่ฆ่าเชื้อแล้ว หรือเก็บไว้ในสารละลายเกลือแกง 0.9% เมล็ดคีเฟอร์อาจเก็บไว้ในสภาพแห้งได้ สัดส่วนระหว่างแบคทีเรียและยีสต์ในคีเฟอร์ ขึ้นอยู่กับระยะเวลาในการหมัก เช่น หลังจาก 3 วันไปแล้ว จำนวนแบคทีเรียจะลดลง ในขณะที่ยีสต์มีจำนวนเพิ่มขึ้น



รูปที่ 8.6 ขั้นตอนการผลิตคีเฟอร์แบบพื้นบ้านและแบบปัจจุบัน
ที่มา : Hutkins (2006)

เครื่องดื่มคีเฟอร์ มีลักษณะเป็นลิ่ม เรียบ สม่ำเสมอ มีสีครีม รสเปรี้ยว และซ่าลิ้นเล็กน้อย ผลิตภัณฑ์คีเฟอร์ประกอบด้วยกรดแลคติก กรดฟอร์มิก กรดซักซินิก กรดโปรปิโอนิก ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ เอทิลแอลกอฮอล์ อัลดีไฮด์และไดอะซิทิล

สายพันธุ์ของแบคทีเรียแลคติก ที่นำมาใช้เป็นกล้าเชื้อสำหรับการผลิตนมหมักที่พัฒนาเทคนิคในการผลิต กล้าเชื้อที่ใช้เพาะเลี้ยงเพื่อนำมาผลิตนมประเภทนี้ เป็นแบคทีเรียจากทางเดินอาหารของมนุษย์ ได้แก่ *Bifidobacterium bifidum, B. infantis, B. adolasecens, B. langum, Lactobacillus acidophilus, L. casei* และ *Streptococcus faecium*

นอกจากนี้ยังมีผลิตภัณฑ์นมหมักอื่นๆ ที่ได้รับความนิยมจากผู้บริโภคอย่างกว้างขวาง ดังตารางที่ 8.2 ตัวอย่างเช่น Villi ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายในประเทศฟินแลนด์ เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะหนืดมากและกลิ่นรสชาติรุนแรง มีเนื้อสัมผัสเหนียวเหนอะ ซึ่งเกิดจาก exopolysaccharide (EPS) ที่ผลิตจาก *L. lactis* subsp. *lactis* และ *L. lactis* subsp. *cremoris* รวมทั้งรสชาติที่รุนแรงมีสาเหตุมาจากการเจริญของเชื้อรา *Geotrichum candidum* ผลิตภัณฑ์อื่นที่ได้รับความนิยมคือ Koumiss มีวิธีการหมักแบบพื้นบ้านผลิตจากนมม้า มีลักษณะคล้ายคลึงกับคีเฟอร์

ตารางที่ 8.2 กล้าเชื้อสำหรับผลิตภัณฑ์นมที่ได้รับความนิยมจากทั่วโลก

Product	Origin	Culture Organisms	Unique Features
Villi	Finland	*Lactococcus* spp. *Leuconostoc* spp. *Geotrichum candidum*	Ropy texture Musty flavor
Skyr	Iceland	*Lactobacillus delbreckii* subsp. *bulgaricus* *Streptococcus thermophilus*	Concentrated, high protein content
Dahi	India	*Lactobacillus delbreckii* subsp. *bulgaricus* *Streptococcus thermophilus* *Lactobacillus* spp.	Yogurt-like
Koumiss	Russia	*Lactobacillus delbreckii* subsp. *bulgaricus* *Lactobacillus acidophilus* *Kluyveromyces* spp.	Mare's milk > 1% ethanol
Bulgarian Milk	Bulgaria	*Lactobacillus delbreckii* subsp. *bulgaricus*	High acid (> 2% lactic acid)

ที่มา : Hutkins (2006)

เนยแข็ง (Cheese)

เนยแข็ง เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการตกตะกอนโปรตีนในนมที่เรียกว่า เคซีน (casein) โดยอาศัยกรดหรือเชื้อจุลินทรีย์เฉพาะและเอนไซม์เรนเนท (rennet) ช่วยให้เกิดการตกตะกอนเป็นลักษณะของกึ่งแข็งกึ่งเหลว คล้ายเต้าฮวยเรียกว่า ลิ่มนมหรือเคิร์ด (curd) หลังจากนั้นทำการตัดเคิร์ดเพื่อแยกส่วนที่เป็นของแข็งออกจากของเหลว แล้วจึงนำมาอัดให้เป็นรูปร่างเกิดเป็น "เนยแข็ง"

ไม่มีหลักฐานที่แน่ชัดว่า แหล่งกำเนิดในการทำเนยแข็งนั้นอยู่ที่ไหน แต่คาดว่าจะเกิดขึ้นในราว 3,000-8,000 ปี ก่อนคริสตศักราช ซึ่งเป็นช่วงเวลาเดียวกับการผลิตโยเกิร์ต โดยชนเผ่าเตอร์กิชเร่ร่อนในเอเชียกลาง หรือคนในตะวันออกกลาง มีเรื่องเล่าเกี่ยวกับการค้นพบเนยแข็งว่าเกิดจากชาวอาหรับที่ต้องเดินทางข้ามทะเลทรายได้บรรจุนมไว้ในกระเพาะของสัตว์ เอนไซม์เรนเนทในกระเพาะของสัตว์ทำให้นมเกิดการแยกตัวเป็นลิ่มนม (curd) และหางนม (whey)

ความแตกต่างของเนยแข็งนั้นขึ้นอยู่กับ ประเภทและชนิดของน้ำนมที่นำมาใช้ในการผลิต ขึ้นอยู่กับประเภทของแบคทีเรียที่นำมาใช้ในการหมัก ขึ้นอยู่กับระยะเวลาที่ใช้ในการเก็บและยังขึ้นอยู่กับขั้นตอนวิธีการผลิตที่แต่ละชนิดจะมีวิธีการผลิตแตกต่างกันไป นอกจากนี้การเพิ่มส่วนผสมเช่น สมุนไพร เครื่องเทศ ยังเป็นการเพิ่มความหลากหลายให้กับเนยแข็งด้วย เนยแข็งเป็นอาหารที่มีประโยชน์หลายประการอีกทั้งยังเหมาะสำหรับนักท่องเที่ยวในการใช้ประทังความหิว เพราะสะดวกในการพกพา สามารถเก็บรักษาได้นาน ให้สารอาหารที่จำเป็นต่อร่างกายโดยเฉพาะ โปรตีน แคลเซียม ไขมัน วิตามินบี 12 สังกะสีและฟอสฟอรัส นอกจากนี้เนยแข็งยังมีน้ำตาลแลคโตสในปริมาณที่ต่ำกว่าน้ำนม ดังนั้นการรับประทานเนยแข็งจึงส่งผลดีแก่ผู้ที่มีปัญหาในการดื่มนมอีกด้วย

ประเภทของเนยแข็ง

เนยแข็งมีมากกว่า 100 ชนิดทั่วโลก ดังนั้นเกณฑ์การแบ่งประเภทและชนิดของเนยแข็งจึงมีความหลากหลาย เนยแข็งบางประเภทแม้จะมีลักษณะเหมือนกันทุกประเภทแต่ก็มีชื่อเรียกต่างกันตามแต่ละท้องถิ่น วิธีการจำแนกประเภทของเนยแข็งจึงทำได้โดยอาศัยหลักเกณฑ์บางอย่าง เช่น ชนิดของน้ำนมที่ใช้ ระยะเวลาในการบ่ม เชื้อราที่ใส่ลงไปเพื่อแยกไขมันออกจากน้ำนม อุณหภูมิที่ใช้ในการหมักบ่ม พื้นผิวและความราบเรียบของเนยแข็ง ดังตารางที่ 8.3 แต่ทั่วไปเนยแข็งสามารถแยกออกเป็น 5 ประเภทใหญ่ๆ ดังนี้

1. เนยแข็งประเภท Fresh Cheese

เนยแข็งประเภท Fresh Cheese คือ เนยแข็งที่ไม่ต้องผ่านความร้อนและไม่ต้องหมักบ่ม มีกลิ่นรสไม่จัด ออกรสเปรี้ยวอ่อนๆ เนื้อในนิ่มเป็นครีม มีความชื้นสูง เช่น Cream Cheese, Feta, Mozzarella, Ricotta, Cottage Cheese, Mascarpone

2. เนยแข็งประเภท Soft-White Cheese

เนยแข็งประเภท Soft-White Cheese คือ เนยแข็งที่ทำจากนมที่มีความเข้มข้นของครีมสูง เนื้อในจึงมีลักษณะเป็นครีมแข็ง ผิวนอกค่อนข้างบาง เมื่อทานแล้วจะค่อยๆ ละลายในปาก มีความชื้นน้อยกว่าเนยแข็งประเภท Fresh Cheese และต้องผ่านกระบวนการบ่มด้วยราสีขาวก่อนนำมาบริโภค เช่น Brie, Camembert, Neufchatel

3. เนยแข็งประเภท Natural-Rind Cheese

เนยแข็งประเภท Natural-Rind Cheese คือ เนยแข็งที่ทำจากนมแพะตามแบบฝรั่งเศส มีพัฒนาการมาจากเนยแข็งประเภท Fresh Cheese แต่ต้องผ่านการขับน้ำทิ้งมากกว่าจึงมีความชื้นน้อยกว่า หลังจากการบ่มเนยแข็งประเภทนี้จะมีรอยย่นพื้นบนผิวรอบนอกมาก มีรสชาติที่เด่นขึ้น เนยแข็งประเภทนี้จะบ่มด้วยราสีฟ้าค่อนข้างเทา มีจุดสีน้ำเงินออกน้ำตาลที่ผิวเนยแข็ง เมื่อมีอายุมากขึ้นก็จะมีกลิ่นแรงขึ้นด้วย เช่น Crottin de Chavignol, Sainte-Maure de Touraine

4. เนยแข็งประเภท Wash-Rind Cheese

เนยแข็งประเภท Wash-Rind Cheese คือ เนยแข็งผิวนอกมีความเหนียว มีสีน้ำตาลส้มซึ่งเกิดจากการล้างด้วยน้ำเกลือระหว่างการบ่ม มีตั้งแต่กลิ่นหอมจากเครื่องเทศไปจนถึงกลิ่นฉุน เช่น Havarti, Limburger, Muenster

5. เนยแข็งประเภท Hard Cheese

เนยแข็งประเภท Hard Cheese คือ เนยแข็งที่เกิดจากการนำหางนมออกไปมากจนความชื้นในเนยแข็งเหลือเพียงเล็กน้อย Gouda เปลือกเนยแข็งจะหนา เนื้อแข็ง ใช้เวลาบ่มนาน เช่น Cheddar, Emmemtal Pecorino, Romano, Beaufort การแบ่งเนยแข็งออกเป็น 5 ประเภทที่ได้กล่าวไปนี้เป็นเพียงตัวอย่างของการแบ่งประเภทเนยแข็งเพียงคร่าวๆ เนยแข็งทั้ง 5 ประเภทยังสามารถแบ่งย่อยได้อีก เช่น การแบ่งตามกรรมวิธีการผลิตและวัตถุดิบที่ใช้ ซึ่งก็สามารถแบ่งได้เป็น 5 ชนิด ได้แก่ cream cheese, Whole milk cheese, Skimmed milk cheese, Processed cheese และ Named cheese
นอกจากนี้ยังแบ่งตามประเทศที่ผลิต แบ่งตามการกดอัดและการปรุงแต่ง แบ่งตามใยหุ้มเชื้อรา เป็นต้น

ตารางที่ 8.3 คุณสมบัติของเนยแข็งชนิดต่างๆ

Cheese	Starter Culture	Other organisms	Salt	Moisture	pH
Cheddar type					
Cheddar	mesophilic[1]		1.5	37	5.3
Cheshire	mesophilic		1.7	38	4.8
Colby	mesophilic		1.5	39	5.5
Dutch type					
Gouda	mesophilic	*Leuconostoc* sp.	2.0	41	5.8
Edam	mesophilic	*Leuconostoc* sp.	2.0	42	5.7
Cheese with eyes					
Emmenthal	thermophilic[2]	*Propionibacterium*	0.7	35	5.6
Gruyere	thermophilic	*Propionibacterium*	1.1	33	5.7
Grating type					
Parmesan	thermophilic		2.6	31	5.4
Romano	thermophilic		5.5	23	5.4
Pasta filata					
Mozzarella	thermophilic		1.2	53	5.2
Provolone	thermophilic		3.0	42	5.4
Blue mold					
Roquefort[3]	mesophilic	*Penicillium roqueforti*	3.5	40	6.4
Gorgonzola	mesophilic	*Penicillium roqueforti*	2.5	45	6.2
Stilton	mesophilic	*Penicillium roqueforti*	2.3	39	6.2
External mold					
Brie[4]	mesophilic	*Penicillium camemberti*	1.6	52	6.9
Camembert[4]	mesophilic	*Penicillium camemberti*	2.5	49	6.9
Surface ripened					
Havarti	mesophilic		1.9	43	6.4
Muenster	mesophilic	*Brevibacterium linens*	1.6	42	6.4
Limburger[5]	mesophilic	*Brevibacterium linens*	2.0	45	6.8
Brined					
Feta	mesophilic		3.0	53	4.5

[1]Mesophilic cultures = *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* and *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*

[2]Thermophilic cultures = *Streptococcus thermophilus, Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, and/or *Lactobacillus helveticus*

[3]Citate-fermenting *Leuconostoc* or *Lactococcus* sp. may be added

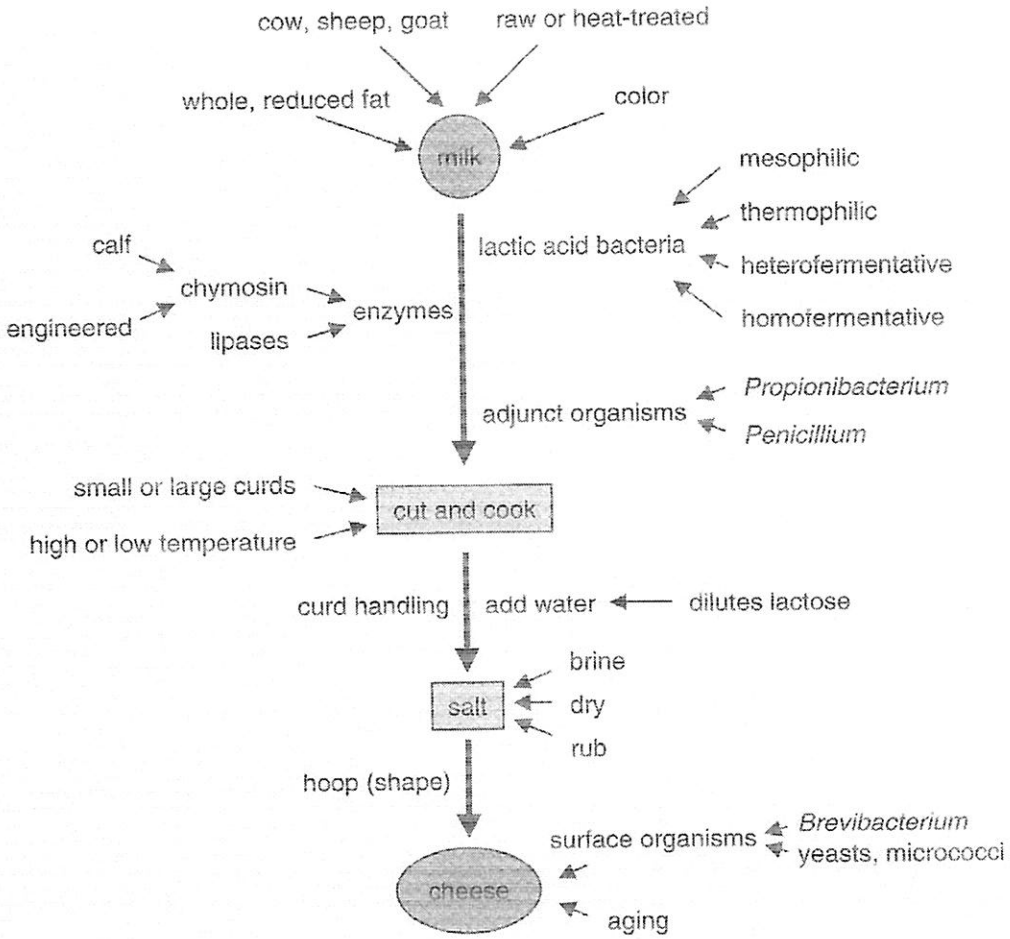
[4]*Streptococcus thermophilus* may be added

[5]For Limburger and other surface-ripened cheeses, species of *Arthrobacter, Micrococcus*, and yeasts may also be present.

ที่มา : Hutkins (2006)

การผลิตเนยแข็ง

การทำเนยแข็ง แต่ละชนิดจะมีขั้นตอนการผลิตคล้ายคลึงกัน (รูปที่ 8.6) แต่จะมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับการเติมกล้าเชื้อต่างชนิดกัน เช่น *Streptococcus lactis* เป็นตัวสร้างกรดแลคติกหรือ *Streptococcus cremoris* เป็นตัวสร้างก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ทำให้ได้เนยแข็งต่างชนิดกัน แต่ละชนิดมีรสชาติและเนื้อของเนยที่แตกต่างกัน กรดที่แบคทีเรียแต่ละชนิดสร้างขึ้นจะช่วยให้นมจับตัวเป็นก้อนเคิร์ด หลังจากนี้มีการเติมเอนไซม์เรนนิน เพื่อช่วยเร่งปฏิกิริยาการแข็งตัวของนม ทำให้แยกส่วนที่เป็นน้ำหรือหางนมออก ส่วนน้ำนี้เรียกว่าหางนม (Whey) แล้วจึงบีบเอาส่วนหางนมออก ทำให้เนยแข็งขึ้นโดยนำไปไล่ความชื้นและใส่เกลือ เพื่อดึงน้ำออกและช่วยป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ หลังจากนี้จึงไปบ่มด้วยแบคทีเรียหรือรา



รูปที่ 8.7 ขั้นตอนการผลิตเนยแข็ง

ที่มา : Hutkins (2006)

วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตเนยแข็ง

1. นมดิบ ควรผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์ และต้องดูองค์ประกอบทางเคมี ที่จะทำให้เกิดตกตะกอนเป็นเคิร์ด (curd)

2. กล้าเชื้อ (starter culture) ที่นำมาผลิตเนยแข็งส่วนใหญ่เป็นพวกแบคทีเรียกรดแลคติก เพราะนอกจากการคัดเลือกกล้าเชื้อที่ให้กลิ่นรสและเนื้อสัมผัสตามที่ต้องการแล้ว ลักษณะพิเศษของกล้าเชื้อคือสามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิที่เหมาะสม โดยกล้าเชื้อประเภท Mesophilic ประกอบด้วย *Lactobacillus lactis* subsp. *lactis* และ *Lactobacillus lactis* subsp. *cremoris* สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิในช่วงที่กว้างระหว่าง 10-40°C แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 28-32°C (ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของกล้าเชื้อ) สำหรับกล้าเชื้อประเภท Thermophilic ประกอบด้วย *Lactobacillus belveticus* และ *Streptococcus thermophilus* ซึ่งนิยมนำมาใช้กันอย่างกว้างขวาง สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 42-45°C ส่วนใหญ่กล้ากล้าเชื้อประเภท Mesophilic และ Thermophilic จะทำให้เกิดการหมักแบบ Homofermentative อย่างไรก็

ตาม อาจเติมกล้าเชื้อ Mesophilic บางประเภทที่ทำให้เกิดการหมักแบบ Heterofermentative ได้แก่ species *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* และ *Leuconostoc lactis* เป็นต้น

3. เอนไซม์ rennet เป็นเอนไซม์ที่อยู่ในกระเพาะที่ 4 ของลูกวัวที่อายุไม่เกิน 14 วัน เป็นสารที่ทำให้โปรตีนตกตะกอน แต่ปัจจุบันมีการผลิตจากจุลินทรีย์มากกว่าสกัดจากกระเพาะลูกวัว

4. สารปรุงแต่งใช้เติมลงไปเพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการตกตะกอนของโปรตีน เช่น $CaCl_2$ และช่วยป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ เช่น KNO_3 เป็นต้น

ส่วนประกอบที่สำคัญในเนยแข็ง

เนยแข็งเป็นอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงและมีกลิ่นรสเฉพาะตัว ตารางที่ 8.4 แสดงองค์ประกอบของรสชาติที่พบในเนยแข็ง นอกจากนี้ในเนยแข็งยังสารอาหารที่สำคัญได้แก่ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน แคลเซียมและฟอสฟอรัส เป็นต้น และเนยแข็งสามารถเก็บรักษาได้นานกว่านมสด

1. โปรตีน เนยแข็งเป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญของประเทศทางตะวันตก เนยแข็ง 100 กรัมมีโปรตีนร้อยละ 25.4 มีกรดอะมิโนจำเป็นที่สำคัญหลายชนิดเพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย โปรตีนที่อยู่ในรูปที่ผ่านการหมักจะทำย่อยง่ายและร่างกายสามารถนำไปใช้ได้

2. คาร์โบไฮเดรต เนยแข็งจะมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตต่ำ เนื่องจากถูกตักออกในระหว่างการผลิต เนยแข็งที่ทำใหม่อาจจะมีคาร์โบไฮเดรตประมาณ 1-3 กรัม/100 กรัม แต่เนยแข็งที่มีอายุ 21-28 วัน แลคโตสจะเปลี่ยนเป็น lactic acid ดังนั้นผู้ที่แพ้นมก็สามารถรับประทานเนยแข็งได้ โดยไม่ทำให้เกิดอาการท้องเสีย

3. ไขมัน เนยแข็ง 100 กรัมมีไขมัน 94 มิลลิกรัม ทั้งนี้ปริมาณไขมันจะแตกต่างไปตามชนิดของนมเริ่มต้นว่าเป็นนมชนิดใด ถ้าทำจากครีมก็จะมีไขมันสูงแต่ถ้าทำจากหางนมก็จะมีไขมันต่ำ

ตารางที่ 8.4 แหล่งขององค์ประกอบรสชาติ (flavor) ที่พบในเนยแข็ง

Protein (casein)	Carbohydrate	Lipid
peptides	lactate	fatty acids
amino acids	acetate	keto acids
sulfur compounds	pyruvate	esters
ammonia and amines	ethanol	methyl ketones
pyruvate	diacetyl	lactones
acetate	acetoin	
aldehydes	2,3-butanediol	
alcohols	acetaldehyde	
keto acids		

ที่มา : Hutkins (2006)

บทที่ 9
การผลิตกรดอินทรีย์โดยกระบวนการหมักจากจุลินทรีย์

กรดอินทรีย์ เป็นสารประกอบที่มีประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหารและอุตสาหกรรมอื่นๆ อีกหลายชนิด การผลิตกรดอินทรีย์อาจทำได้โดยการสกัดจากวัตถุดิบที่มีอยู่ในธรรมชาติ หรือโดยใช้วิธีการทางเคมีหรือกระบวนการหมัก การผลิตในระดับอุตสาหกรรมส่วนใหญ่นิยมใช้กระบวนการหมัก หรือวิธีการทางเคมี จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตกรดอินทรีย์ในกระบวนการหมักในอุตสาหกรรมนั้นมีหลายชนิดที่สำคัญ เช่น *Aspergillus niger* หรือ *Candida lipolytica* (ผลิตกรดซิตริก) *Acetobacter aceti*, *A. pasteuriarus*, *A. peroxidans, Gluconobacter oxydans* (ผลิตกรดอะซิติก) *Lactobacillus delbrueckii* หรือ *L. bulgaricus* (ผลิตกรดแลคติก) *Brevibacterium flavum* (ผลิตกรดมาลิก) *Rhizopus* sp., *Candida* (ผลิตกรดฟูมาริก) *Acetobacter suboxydans*, *Serratia marcescens* (ผลิตกรดกลูโคนิก) และ *Propionibacterium* sp. (ผลิตกรดโปรปิโอนิก) เป็นต้น

กระบวนการหมักผลิตกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ

1. การผลิตกรดซิตริก

กรดซิตริก เป็นสารมัธยันตร์ในวัฏจักรเครบส์ พบทั่วไปในผลไม้รสเปรี้ยว เช่น มะนาว ส้ม สับปะรด ฯลฯ กรดซิตริกได้รับการยอมรับว่าเป็นสารเคมีที่ปลอดภัย สามารถเติมลงในอาหารได้โดยปราศจากอันตราย (GRAS, generally regarded as safe) ไม่เป็นพิษและย่อยสลายได้ง่าย การผลิตกรดซิตริกในระยะแรกใช้วิธีการสกัดจากผลไม้รสเปรี้ยวโดยตรง เช่น มะนาว ซึ่งมีกรดซิตริกประมาณร้อยละ 7-9 แต่ในปัจจุบันนิยมผลิตโดยวิธีการหมักด้วยจุลินทรีย์ และมีปริมาณการผลิตสูงกว่า 400,000 ตันต่อปี

ประโยชน์ของกรดซิตริก

กรดซิตริกมีความสำคัญในอุตสาหกรรมต่างๆ หลายชนิด ในสหรัฐอเมริกากรดซิตริกที่ผลิตได้ส่วนใหญ่นำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร (62%) และผงซักฟอก (24%) นอกจากนี้ก็ยังมีการนำไปใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตยา (8%) และใช้ในอุตสาหกรรมอื่นๆ อีกด้วย (6%)

อุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่ม มีการใช้กรดซิตริกเป็นสารให้กลิ่นรสในผลิตภัณฑ์อาหารสำเร็จรูป และอาหารกึ่งสำเร็จรูปชนิดต่างๆ น้ำผลไม้ ลูกกวาด เจลลี่ ฯลฯ ใช้ช่วยลดความฝาด ควบคุม pH และป้องกันการเน่าเสียของเครื่องดื่ม ใช้เป็นสารป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในน้ำมันและไขมัน ใช้ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ในอาหารแช่แข็ง ใช้ป้องกันการตกผลึกของน้ำผึ้ง และป้องกันน้ำผลไม้ขุ่น เป็นต้น

อุตสาหกรรมผงซักฟอก มีการใช้โซเดียมซิเตรทแทนฟอสเฟตในการผลิตผงซักฟอก เนื่องจากย่อยสลายได้ง่ายกว่า ไม่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของวัชพืชในน้ำ และไม่เป็นพิษต่อปลา

อุตสาหกรรมยา มีการใช้กรดซิตริกช่วยปรับ pH ในยาบางชนิด ใช้ผสมในยาลดกรดในกระเพาะอาหาร ช่วยป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในการเตรียมวิตามิน และมีการใช้เกลือแคลเซียมซิเตรทในการเตรียมสารละลายเพื่อป้องกันการแข็งตัวของเลือดระหว่างการถ่ายเลือด เป็นต้น

อุตสาหกรรมอื่นๆ ในอุตสาหกรรมการผลิตเครื่องสำอางจะใช้กรดซิตริกเป็นตัวควบคุม pH ในครีมนวดผม น้ำยาดัดผม น้ำยาทำความสะอาดหน้า และโลชั่น ในอุตสาหกรรมโลหะมีการใช้กรดซิตริกเป็นส่วนผสมในน้ำยาขัดโลหะและน้ำยาล้างสนิม นอกจากนี้ยังมีการใช้สารละลายผสมของโซเดียมซิเตรท กรดซิตริก และโซเดียมไทโอซัลเฟต เป็นตัวดูดซับแก๊สซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นในเหมืองแร่โลหะและในโรงงานที่มีการใช้ถ่านหินเป็นแหล่งพลังงาน เป็นต้น

จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตกรดซิตริก

ในปี ค.ศ. 1893 Wehmer พบว่าจุลินทรีย์ในกลุ่ม *Mucor* และ *Penicillium* สามารถผลิตกรดซิตริกได้ ในระยะแรกจึงใช้ *Penicillium* ในการผลิตกรดซิตริก ต่อมาในปี ค.ศ. 1917 Currie และคณะพบว่า *Aspergillus niger* สามารถผลิตกรดซิตริกได้สูงกว่า ในปี ค.ศ. 1919 จึงได้มีการก่อตั้งโรงงานผลิตกรดซิตริกโดยใช้เชื้อรา *A. niger* แห่งแรกขึ้นประเทศเบลเยี่ยม ปัจจุบันอุตสาหกรรมการผลิตกรดซิตริกขนาดใหญ่ยังคงนิยมใช้ *A.niger* ในการผลิต ซึ่งส่วนใหญ่เป็นสายพันธุ์ที่ได้ผ่านการปรับปรุงความสามารถในการผลิตกรดซิตริกให้สูงขึ้นโดยการวิธีการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ อย่างไรก็ตามมีโรงงานบางแห่งใช้ยีสต์ในกระบวนการผลิตกรดซิตริก ได้แก่ *Candida lipolytica* อุตสาหกรรมการผลิตกรดซิตริกโดยใช้ยีสต์ส่วนใหญ่จะใช้ n-paraffins เป็นแหล่งคาร์บอน รายละเอียดปัจจัยการควบคุมจุลินทรีย์ที่ใช้การในการผลิต เช่น สภาวะในการเพาะเลี้ยงเชื้อ เทคนิคที่ใช้ในการหมัก และกระบวนการเก็บเกี่ยวผลผลิต แสดงในตารางที่ 9.1

ตารางที่ 9.1 ตัวอย่างการควบคุมพารามิเตอร์ต่างๆ ในกระบวนการหมักกรดซิตริกในอุตสาหกรรม

Parameter	*Aspergillus niger*	*Aspergillus niger*	*Candida guilliermondii*
Fermentation type	Surface culture, depth 0.05-0.2 m	Submerged culture 40-200 m^3 stirred tank reactor, 200-900 m^3 air-lift reactor	Submerged culture 40-200 m^3 stirred tank reactor, 200-900 m^3 air-lift reactor
Production fermenter inoculum	Conidia/ spores ca. 150 mg or 2×10^9 spores/m^3	Vegetative inoculum prepared in seed fermenter or direct spore inoculum	Inoculum prepared in seed fermenter

Parameter	*Aspergillus niger*	*Aspergillus niger*	*Candida guilliermondii*
Fermentation pH	Initially 5.0-7.0 for *A. niger* germination/ growth. Drops below 2.0 for citrate production phase.		pH 4.5-6.5 for growth. Can be allowed to fall to about 3.5 for citrate production
Temperature	30°C	30°C	25-37°C
Aeration (function)*	- (oxygen transfer, cooling)	0.5-1 vvm (oxygen transfer, mixing in air-lift reactor). High O_2 tension >140 m bar. Fermentation very sensitive to O_2	0.5-1 vvm (oxygen transfer, mixing in air-lift reactor).
Medium	Molasses or glucose syrup plus additional nutrients and salts		
	150 kg m^{-3}	140-220 kg m^{-3}	up to 280 kg m^{-3}
Medium pretreatments	Low manganese concentration requiring medium pretreatment with HCF or copper ions		No metal ion pre-treatment required
Other features	NH_4^+ stimulates citric acid production		Nitrogen limitation triggers acid accumulation
		Mycelial morphology as pellets	Thiamine required for acid accumulation

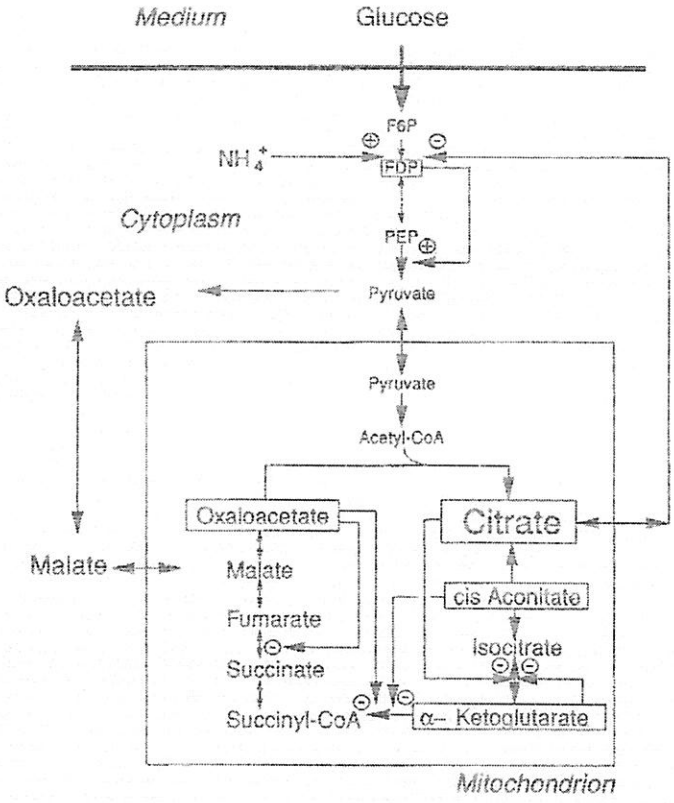
* vvm = volume of air per unit volume of medium per minute.

ที่มา : สมใจ (2550)

วิถีการสังเคราะห์กรดซิตริก

การสังเคราะห์กรดซิตริกจากน้ำตาลกลูโคส แบ่งได้เป็น 3 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนแรกเป็นการย่อยสลายกลูโคสผ่านวิถีไกลโคไลซิสได้ผลผลิตเป็น pyruvate และ Acetyl CoA ขั้นตอนถัดมาเป็นการทำงานของเอนไซม์ pyruvate carboxylase ซึ่งจะเร่งปฏิกิริยาการรวมตัวกันของ pyruvate กับ CO_2 ได้เป็น oxaloacetate ขั้นสุดท้ายเป็นการสะสมกรดซิตริก เนื่องจากเกิดความผิดปกติในวัฏจักรเครบส์ ทำให้เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการแคแทบอไลซ์กรดซิตริกทำงานได้น้อยมาก แต่เอนไซม์ citrate synthase ทำงานได้มากขึ้น

การควบคุมการสังเคราะห์กรดซิตริกใน *A. niger* มีลักษณะดังแสดงในรูปที่ 9.1 เอนไซม์หลักที่ทำหน้าที่ควบคุมการสังเคราะห์กรดซิตริกได้แก่ phosphofructokinase, pyruvate carboxylase, citrate synthase และ α–ketoglutarate dehydrogenase



รูปที่ 9.1 วิถีการสังเคราะห์และการควบคุมการสังเคราะห์กรดซิตริก
ที่มา : สมใจ (2550)

ในสภาวะที่มีกรดซิตริกปริมาณมาก จะทำให้เกิดการควบคุมแบบย้อนกลับที่เอนไซม์ phospho-fructokinase อย่างไรก็ตามการเพิ่มปริมาณ NH_4^+ ภายในเซลล์จะช่วยลดผลการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ phosphofructokinase เนื่องจากกรดซิตริก ทำให้มีการสังเคราะห์ pyruvate และ oxaloacetate ได้อย่างต่อเนื่อง ทำให้มีการผลิตกรดซิตริกปริมาณสูงได้ การทำให้ NH_4^+ ภายในเซลล์มีปริมาณสูงขึ้นภายใต้สภาวะการหมักกรดซิตริกในอุตสาหกรรม สามารถทำได้โดยการจำกัดความเข้มข้นของ Mn^{2+}

ในสภาวะที่มีน้ำตาลความเข้มข้นสูง เอนไซม์ puruvate carboxylase จะถูกกระตุ้นการทำงานทำให้การสังเคราะห์ oxaloacetate จำนวนมากและสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ในวัฏจักรเครบส์ โดยเฉพาะ α–ketoglutarate dehydrogenase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สำคัญในการควบคุมวัฏจักรเครบส์ได้ และจะส่งผลต่อเนื่องไปยับยั้งเอนไซม์ต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการแคแทบอไลซ์กรดซิตริก คือ isocitrate

dehydrogenase และ aconitase ทำให้เกิดการสะสมกรดซิตริก นอกจากนี้ oxaloacetate สามารถกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ citrate synthase มีผลให้เกิดการสังเคราะห์กรดซิตริกในปริมาณที่มากขึ้น

กระบวนการหมักกรดซิตริก

กระบวนการหมักกรดซิตริกที่ใช้ในอุตสาหกรรมทำได้ทั้งโดยวิธี surface fermentation และ submerged fermentation การเลือกใช้วิธีการที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ ได้แก่ ต้นทุนในการผลิต เครื่องมือและอุปกรณ์ แหล่งพลังงานที่ใช้ บุคลากร ค่าแรงงาน รวมทั้งเทคโนโลยีในการผลิตและควบคุมการผลิต

1. Surface fermentation เ ป็นกระบวนการหมักที่ทำโดยการเพาะเลี้ยงเชื้อให้เจริญบนผิวหน้าอาหารซึ่งอาจมีลักษณะเป็นของแข็งหรือของเหลวก็ได้

กระบวนการหมักบนผิวหน้าอาหารแข็ง (Koji process) เป็นวิธีการดั้งเดิมที่ใช้ในประเทศญี่ปุ่นและประเทศในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยการหมักในถาดตื้นๆให้มีความหนาของวัตถุดิบที่ใช้หมักประมาณ 3-5 เซนติเมตร วัตถุดิบที่ใช้ ได้แก่ รำข้าวสาลี และวัสดุเหลือใช้จากการเกษตรซึ่งมีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นแป้งและเซลลูโลส ปรับ pH ให้อยู่ในช่วง 4-5 ก่อนนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำ ความชื้นของอาหารหลังนึ่งฆ่าเชื้อมีค่าประมาณร้อยละ 70-80 ทำให้อุณหภูมิประมาณ 30-36 องศาเซลเซียส จากนั้นจึงเติมสปอร์ของเชื้อราให้กระจายทั่วผิวหน้าอาหาร บ่มที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4-5 วัน

กระบวนการหมักบนผิวหน้าอาหารเหลว เป็นวิธีการดั้งเดิมที่ใช้มานาน และยังคงใช้ในการผลิตกรดซิตริกในปัจจุบัน วิธีนี้มีข้อดีคือ ต้นทุนการผลิตต่ำ แม้ว่าค่าแรงงานจะสูงกว่าวิธี submerged fermentation ก็ตาม อาหารที่ใช้ในการหมักโดยทั่วไปมีส่วนประกอบดังแสดงในตารางที่ 9.2 ซูโครสที่นิยมใช้ในรูปกากน้ำตาลบีท หรือกากน้ำตาลอ้อย ปรับค่า pH เริ่มต้นให้อยู่ในช่วง 5-6 ฆ่าเชื้อโดยใช้ความร้อน แล้วใส่ในภาชนะก้นแบนที่ทำจากวัสดุทนการกัดกร่อน เช่น อะลูมิเนียมที่มีความบริสุทธิ์สูง หรือเหล็กกล้าไร้สนิม (stainless steel) ทำให้อุณหภูมิลดลงถึง 30-40 องศาเซลเซียส จากนั้นจึงเติมสปอร์ของเชื้อราให้กระจายทั่วผิวหน้าอาหารเหลว บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8-14 วัน ดังรูปที่ 9.2 แสดงขั้นตอนการผลิตกรดซิตริกโดยกระบวนการหมักบนผิวหน้าอาหารเหลว การผลิตกรดซิตริกด้วยวิธีนี้จะได้ผลผลิตในรูป citric acid monohydrate ประมาณ 1.2-1.5 กิโลกรัมต่อพื้นที่ 1 ตารางเมตรต่อชั่วโมง

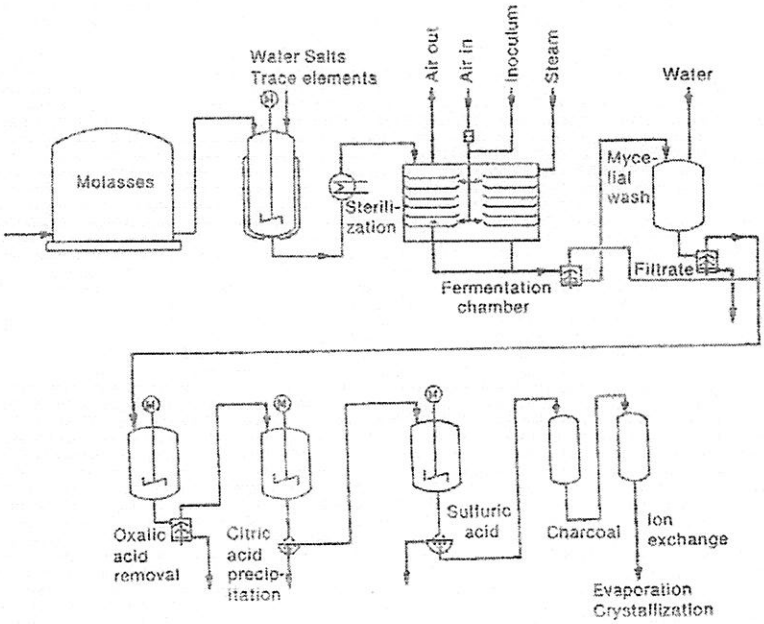
2. Submerged fermentation การผลิตกรดซิตริกจากเชื้อรา *A. niger* ส่วนใหญ่จะใช้วิธี submerged fermentation โดยใช้ถังหมักที่ทนการกัดกร่อนแบบที่มีใบพัด (stirred fermenter) หรือแบบ air-lift แต่ก็ยังคงมีการใช้วิธี surface fermentation อยู่ประมาณร้อยละ 20 อย่างไรก็ตามในประเทศอุตสาหกรรม การผลิตกรดซิตริกโดยวิธี surface fermentation เริ่มลดน้อยลงและหันมานิยมใช้วิธี

submerged fermentation มากขึ้น เนื่องจากเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงกว่าและใช้ระบบคอมพิวเตอร์ควบคุมได้แบบอัตโนมัติ

ตารางที่ 9.2 ส่วนประกอบของอาหารเหลวสำหรับกระบวนการหมักกรดซิตริกแบบ surface culture

Substrate	g/l Substrate
Sucrose	160-200, ca. 320-400 g molasses
NH_4NO_3	1.6-3.2, Not needed with molasses
$CaHPO_4$	0.3-1.0
$MgSO_4.7H_2O$	0.2-0.5, Not needed with molasses
$ZnSO_4$	0.01-0.10
Calcium hexacyanoferrate	0.4-2.0

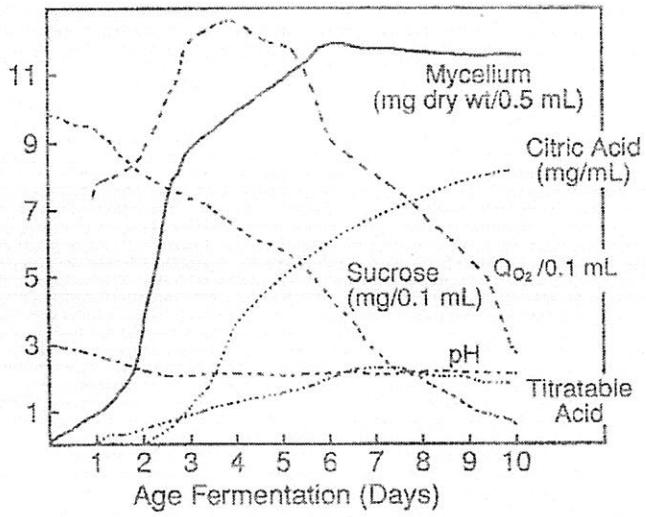
ที่มา : สมใจ (2550)



รูปที่ 9.2 ขั้นตอนการผลิตกรดซิตริกโดยกระบวนการหมักบนผิวหน้าอาหารเหลว

ที่มา : สมใจ (2550)

การผลิตกรดซิตริกโดยวิธี submerged fermentation โดยทั่วไปใช้ถังหมักขนาด 120-220 ลูกบาศก์เมตร กล้าเชื้อที่ใช้จะใช้ในรูปสปอร์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแบบ surface culture การควบคุมสภาวะในการหมัก *A. niger* ให้เหมาะสมจนกระทั่งได้ mycelial pellet ขนาดไม่เกิน 1 มิลลิเมตร ความสามารถในการผลิตกรดซิตริกจะขึ้นกับชนิดและความเข้มข้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ และที่สำคัญคือต้องควบคุมความเข้มข้นของ trace metal ชนิดต่างๆ โดยเฉพาะเหล็ก ทองแดง สังกะสี และแมงกานีสอย่างเคร่งครัด อุณหภูมิในการหมักอยู่ในช่วง 28-33 องศาเซลเซียส pH 1.5-2.8 อัตราการให้อากาศ 0.2-1 vvm เป็นระยะเวลา 5-8 วัน การเปลี่ยนแปลงต่างๆ ที่เกิดขึ้นในระว่างการหมักมีลักษณะดังรูปที่ 9.3 ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นกรดซิตริกค่อนข้างสูงประมาณร้อยละ 70-90



รูปที่ 9.3 การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักกรดซิตริกด้วยวิธี Submerged fermentation โดยกล้าเชื้อ *A. niger*

ที่มา : สมใจ (2550)

ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตกรดซิตริก

1. สายพันธุ์ของจุลินทรีย์ โดยทั่วไปจะต้องเลือกใช้สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการผลิตกรดซิตริกได้ปริมาณสูงและคงที่ มีความทนทานต่อโลหะหนักที่มีผลต่อการผลิตได้ดี ใช้เวลาในการหมักสั้น และใช้แหล่งคาร์บอนได้หลายชนิด

2. การเจริญของเชื้อรา ถ้ามีการเจริญเป็นเส้นใยกระจัดกระจายอย่างหลวมๆ จะผลิตกรดซิตริกได้น้อย จึงต้องควบคุมให้มีการเจริญในรูปแบบที่เป็น pellet ขนาดเล็กประมาณ 0.2-0.5 มิลลิเมตร จึงจะให้ผลผลิตกรดซิตริกได้ดี

3. สารอาหาร การผลิตกรดซิตริกต้องการจำกัดการเจริญของเชื้อรา โดยการจำกัดปริมาณสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญ เพื่อให้เชื้อราเกิดการสะสมกรดซิตริกและปลดปล่อยออกมานอกเซลล์

3.1 แหล่งคาร์บอน ประสิทธิภาพในการผลิตกรดซิตริกจะขึ้นกับชนิดและความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอน และความบริสุทธิ์ของคาร์โบไฮเดรตที่ใช้เป็นวัตถุดิบ โดยทั่วไปนิยมใช้สารละลายน้ำตาลที่ปราศจากแคทไอออน เช่น กากน้ำตาลอ้อย ซูโครส กลูโคส หรือฟรุกโตส ความเข้มข้นร้อยละ 15-25 กรณีที่วัตถุดิบที่ใช้มีไอออนของโลหะเจือปนอยู่ด้วยปริมาณสูง ต้องกำจัดออกก่อนโดยการใช้ cation-exchanger หรือโดยการตกตะกอนด้วย hexacyanoferrate นอกจากนี้ hexacyanoferrate ส่วนที่เหลือจากการกำจัดไอออนของโลหะออกแล้ว จะช่วยเพิ่มผลผลิตกรดซิตริกได้อีกด้วย

3.2 แหล่งไนโตรเจน การสะสมกรดซิตริกจะเกิดขึ้นในภาวะที่มีปริมาณไนโตรเจนจำกัด พบว่าการเติมแหล่งไนโตรเจนความเข้มข้น 50-5,000 ส่วนในล้านส่วน (ppm) ในระหว่างการหมัก จะทำให้อัตราการผลิตกรดซิตริกสูงขึ้น (Shephard, 1963) ในปี ค.ศ. 1978 Kristiansen และ Sinclair รายงานว่าเชื้อราจะเริ่มผลิตกรดซิตริกหลังจากใช้แหล่งไนโตรเจนเกือบหมด ดังนั้นจึงควรมีการจำกัดปริมาณไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งโดยทั่วไปจะใช้ไนโตรเจนในรูปของแอมโมเนียมซัลเฟตหรือแอมโมเนียมไนเตรท 0.1-0.4 กรัมต่อลิตร

3.3 แร่ธาตุ การผลิตกรดซิตริกต้องมีการควบคุมความเข้มข้นของ trace metal ชนิดต่างๆ โดยเฉพาะเหล็ก ทองแดง สังกะสี และแมงกานีสอย่างเคร่งครัด โดยทั่วไปอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดซิตริกต้องมีแร่ธาตุเหล่านี้อยู่ในระดับ ppm แต่ถ้าไม่สามารถควบคุมความเข้มข้นของ trace metal ให้อยู่ในระดับต่ำได้ ก็ต้องจำกัดความเข้มข้นของฟอสเฟตร้อยละ 0.1-0.2 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ

4. สภาพแวดล้อมในการหมัก ถ้ามีการควบคุมสภาพแวดล้อมในการหมักได้เหมาะสม จะทำให้มีผลผลิตอื่นที่ไม่ต้องการ เช่น กรดออกซาลิก และกรดกลูโคนิก เกิดขึ้นน้อย

4.1 อุณหภูมิ อุณหภูมิในการหมักที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 28-33 องศาเซลเซียส

4.2 pH ควบคุม pH ให้ต่ำกว่า 3 เพื่อยับยั้งการสังเคราะห์กรดออกซาลิกและกรดกลูโคนิก ยกเว้นในกรณีที่ใช้กากน้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอนอาจใช้ pH สูงกว่านี้ได้ แต่ถ้าใช้ pH สูงกว่า 4 จะได้กรดออกซาลิกและกรดกลูโคนิกแทนที่กรดซิตริก

4.3 การให้อากาศ ในระหว่างการหมักต้องให้มีปริมาณออกซิเจนละลายน้ำได้อย่างน้อยร้อยละ 20-25 ของค่าออกซิเจนอิ่มตัว

5. ระยะเวลาในการหมัก จะขึ้นกับวัตถุดิบที่ใช้ โดยเฉลี่ยจะใช้เวลา 5-8 วัน แต่ถ้าใช้ส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีคุณภาพต่ำอาจใช้เวลานานถึง 10-15 วัน

การเก็บเกี่ยวผลผลิตและการทำให้บริสุทธิ์

ในกรณีที่หมักในอาหารแข็ง การสกัดกรดซิตริกทำได้โดยเติมน้ำเพื่อละลายกรดซิตริกออกจากอาหารแข็ง จากนั้นทำการแยกส่วนของเหลวที่ได้ไปตกตะกอนกรดซิตริกในรูปแคลเซียมซิเตรท โดยใช้ $Ca(OH)_2$ ในกรณีที่หมักในอาหารเหลวหากการควบคุมสภาวะในการหมักไม่เหมาะสมทำให้เกิดการผลิตกรดออกซาลิกขึ้น จำเป็นต้องกำจัดกรดออกซาลิกอโดยการตกตะกอนในรูปแคลเซียมออกซาเลท

ที่ pH ต่ำกว่า 3 ซึ่งทำให้กรดซิตริกละลายอยู่ในรูป monocalcium citrate จากนั้นจึงกรองแยกไมซีเลียมและแคลเซียมออกซาเลทออก นำส่วนของเหลวที่ได้ไปปรับ pH เป็น 7.2 ทำให้ร้อนที่อุณหภูมิ 70-90 องศาเซลเซียส กรดซิตริกจะตกตะกอนออกมาในรูป tricalcium citrate tetrahydrate กรองแยกตะกอนซิเตรทออก นำไปใส่ในถังกรดซัลฟูริกเพื่อให้กรดซิตริกละลาย และเกิดตะกอน $CaSO_4$ แยกออกไปได้ จากนั้นนำสารละลายกรดซิตริกไปทำให้บริสุทธิ์โดยผ่าน activated carbon, cation และ anion exchange resin แล้วนำไประเหยน้ำออกและตกผลึก การตกผลึกกรดซิตริกที่อุณหภูมิที่อุณหภูมิแตกต่างกัน จะได้กรดซิตริกในรูปแบบต่างกัน เช่นการตกผลึกที่สูงกว่า 40 องศาเซลเซียส หรืออุณหภูมิต่ำกว่า 36.5 องศาเซลเซียส จะได้ anhydrous citric acid หรือ citric acid monohydrate ตามลำดับ

2. การผลิตกรดอะซิติก

กรดอะซิติก เป็นกรดอินทรีย์ที่เป็นส่วนประกอบสำคัญของน้ำส้มสายชู ซึ่งนำมาเป็นสารปรุงรสในอาหารกันอย่างกว้างขวาง และใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตอาหารชนิดต่างๆ เช่น การผลิตผักและผลไม้กระป๋อง น้ำสลัด ไส้กรอก ซอสมะเขือเทศ ซอสพริก ฯลฯ นอกจากนี้ยังมีการใช้กรดอะซิติกในอุตสาหกรรมอื่นๆ อีกหลายชนิด เช่น การผลิตสารประกอบอะซิเตทชนิดต่างๆ และการผลิตพลาสติกบางชนิด เป็นต้น

การผลิตกรดอะซิติกสามารถทำได้ทั้งโดยวิธีการทางเคมี และโดยวิธีการหมัก การผลิตกรดอะซิติกในแต่ละปีมีปริมาณสูงถึง 2.5 ล้านตัน การผลิตเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอื่นๆ ที่ไม่เกี่ยวข้องกับอาหารนิยมใช้วิธีการทางเคมี ส่วนการผลิตกรดอะซิติกเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหารจะผลิตโดยวิธีการหมัก ปัจจุบันวัตถุดิบหลักที่ใช้ในการผลิตกรดอะซิติกโดยวิธีการทางเคมี คือ เอทธิลีน (ethylene) ซึ่งมีราคาสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง ดังนั้นการผลิตกรดอะซิติกโดยวิธีอื่นรวมทั้งวิธีการหมักจึงมีบทบาทสำคัญในการผลิตกรดอะซิติก เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ มากขึ้นในอนาคต

จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิต

จุลินทรีย์ที่ผลิตกรดอะซิติกได้มีหลายชนิด ดังตารางที่ 9.3 และมีคุณสมบัติในการผลิตกรดอะซิติกดังตารางที่ 9.4 จุลินทรีย์ที่สำคัญได้แก่ แบคทีเรียในจีนัส *Gluconobacter* และ *Acetobacter* แบคทีเรียในจีนัส *Gluconobacter* มีความสามารถในการออกซิไดส์เอทธานอลได้เป็นกรดอะซิติกเพียงอย่างเดียว ในขณะที่ *Acetobacter* สามารถออกซิไดซ์เอทธานอลได้เป็นกรดอะซิติกและออกซิไดส์กรดอะซิติกต่อไปได้เป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ (overoxidation) แบคทีเรียที่นิยมใช้ในการผลิตกรดอะซิติกในอุตสาหกรรมการหมัก ได้แก่ *Acetobacter aceti, A. pasteurianus, A. peroxidans* และ *Gluconobacter oxydans* (ชื่อเดิมคือ *Acetomonas oxydans*) ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ผลิตกรดอะซิติกได้สูงและทนกรดได้ดี แต่แบคทีเรียพวกนี้ตายง่ายเมื่ออยู่ในสภาพขาดออกซิเจนหรือขาดเอทธานอล ดังนั้นการใช้แบคทีเรียเหล่านี้ในกระบวนการหมักกรดอะซิติก จึงต้องควบคุมสภาวะในการเพาะเลี้ยงเชื้ออย่าง

ระมัดระวัง และต้องมีเอทธานอลอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้ออย่างน้อยร้อยละ 0.2 การป้องกันการเกิด overoxidation ในกระบวนการหมักกรดอะซิติก สามารถทำได้โดยการรักษาระดับความเข้มข้นของกรดอะซิติกให้สูงกว่าร้อยละ 6 และให้มีเอทธานอลอยู่ด้วยเสมอ

ตารางที่ 9.3 Species ของ *Acetobacter* และ *Gluconoacetobacter* ที่แยกได้จากน้ำส้มสายชู

Acetobacter aceti	*Gluconoacetobacter xylinus*[1]
Acetobacter cerevisiae	*Gluconoacetobacter hansenii*[1]
Acetobacter cibinongensis	*Gluconoacetobacter europaeus*[1]
Acetobacter estunensis	*Gluconoacetobacter intermedius*[1]
Acetobacter indonesiensis	*Gluconoacetobacter liquefaciens*[1]
Acetobacter lovaniensis	
Acetobacter maiorum	
Acetobacter orleanensis	
Acetobacter orientalis	
Acetobacter pasteurianus	
Acetobacter peroxydans	
Acetobacter pomorum	
Acetobacter tropicalis	

[1]These species were previously classified as *Acetobacter*

ที่มา : Hutkins (2006)

ตารางที่ 9.4 คุณสมบัติทาง biochemical และ physiological ของ species แบคทีเรียกรดอะซิติก

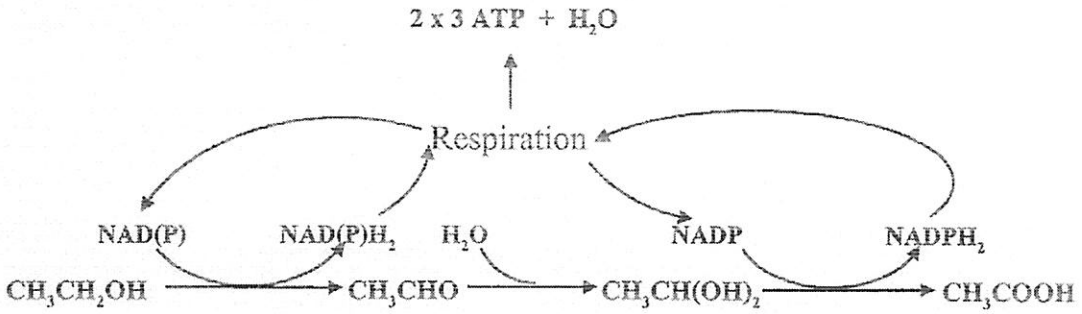
Property	*Acetobacter aceti*	*Acetobacter pasteurianus*	*Glucono-acetobacter diazotrophicus*	*Glucono-acetobacter europaeus*	*Glucono-acetobacter hansenii*	*Glucono-acetobacter liquefaciens*	*Glucono-acetobacter xylinus*	*Acidomonas methanolicus*
Growth on 3% ethanol in 4-8% acetic acid	–	–	–	+	–	–	–	–
Growth in absence of acetic acid	+	+	u[1]	–	+	+	+	+
Growth on acetate at pH 2.5 in absence of ethanol	–	–	–	+	–	–	–	–
Growth on 1.7 M glucose	–	–	+	–	–	–	–	–
Growth in presence of:								
lactic acid	+	d	w[2]	d[3]	d	+	u	–
ethanol	+	d	+	+	–	+	–	w
30% glucose	–	–	+	–	–	–	–	–
Biosynthesis of cellulose	–	–	–	d	–	–	+	–
DNA homology (%) with:								
G. europeus	<10	<25	u	70-100	<15	<15	30	<10
G. xylinus	u	<10	u	37	u	u	100	u
A. pasteurianus	u	100	u	17	u	u	<10	u
G + C content (%)	56-60	53-63	61-63	56-58	58-63	62-65	55-63	62

[1]undetermined
[2]weak
[3]some strains positive

ที่มา : Hutkins (2006)

กระบวนการสังเคราะห์กรดอะซิติก

กระบวนการหมักกรดอะซิติกมีลักษณะเป็น transformation process 2 ขั้นตอนหลัก ขั้นตอนแรก เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยเอนไซม์ alcohol dehydrogenase ซึ่งทำหน้าที่ออกซิไดส์เอทธานอลไปเป็น acetaldehyde ขั้นตอนที่ 2 acetaldehyde จะรวมตัวกับน้ำได้เป็น acetaldehyde hydrate ซึ่งจะถูกออกซิไดส์ต่อไปได้เป็นกรดอะซิติก ดังรูปที่ 9.4



รูปที่ 9.4 ปฏิกิริยาการออกซิไดส์เอทธานอลไปเป็นกรดอะซิติก
ที่มา : สมใจ (2550)

การออกซิไดส์เอทธานอลไปเป็นกรดอะซิติกนี้จะทำให้เกิด $NADPH_2$ ขึ้น 2 โมเลกุล ซึ่งจะถูกนำออกซิไดส์โดยออกซิเจนในกระบวนการหายใจ ทำให้ได้พลังงาน 6 ATP การออกซิไดส์เอทธานอล 1 โมลจะทำให้เกิดกรดอะซิติก 1 โมล ดังนั้นถ้าใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตรที่มีเอทธานอลร้อยละ 12 (v/v) ก็จะทำให้ได้น้ำส้มสายชู 1 ลิตรที่มีกรดอะซิติกร้อยละ 12.4 (w/v)

กระบวนการหมักกรดอะซิติก

การหมักกรดอะซิติก โดยใช้วัตถุดิบเริ่มต้นบางชนิดที่มีแอลกอฮอล์เจือจางไม่จำเป็นต้องมีการเติมสารอาหารเพิ่ม เช่น ไวน์ เวย์ มอลท์ หรือไซเดอร์ แต่ในกรณีที่ต้องใช้แอลกอฮอล์จากการหมักธัญพืชหรือมันฝรั่งหรือแอลกอฮอล์บริสุทธิ์เจือจางเป็นวัตถุดิบเริ่มต้น จำเป็นต้องเติมสารอาหารบางอย่างเพื่อให้เชื้อเจริญได้ดี ดังแสดงในตารางที่ 9.5

ตารางที่ 9.5 สารอาหารที่จำเป็นสำหรับกระบวนการหมักกรดอะซิติก

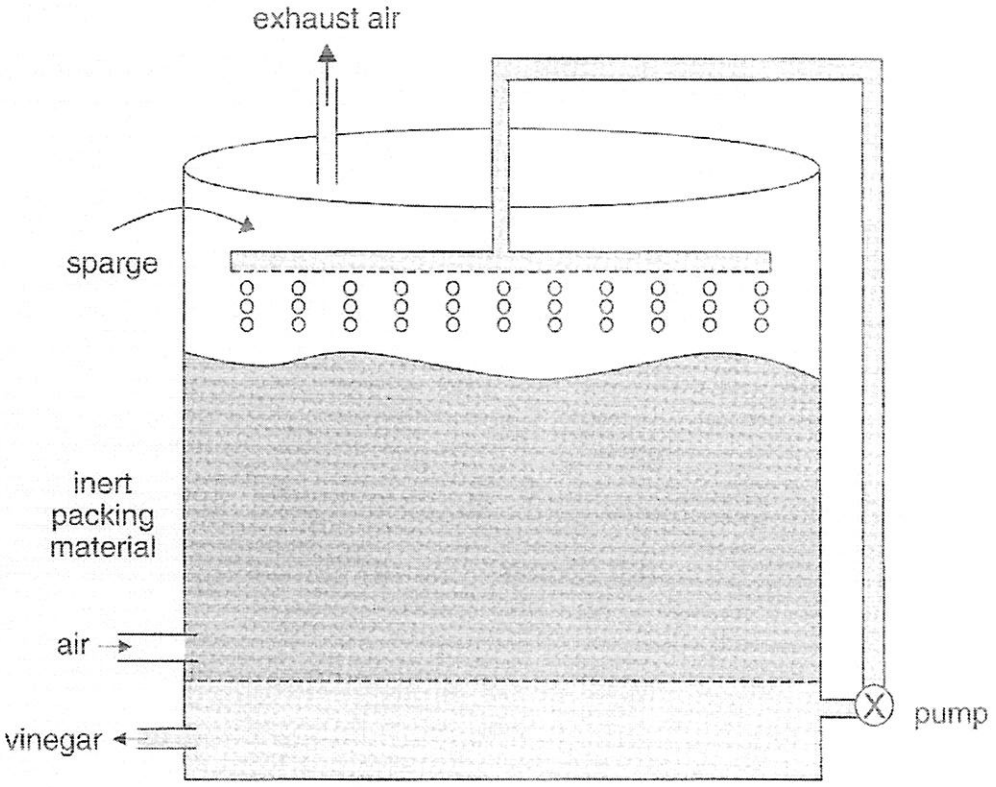
	Gram/m^3 nutrient solution	
	Surface process	Submerged process
Sugar solution from grain hydrolysate	200	1000
Ammonium phosphate	96	480
Magnesium sulfate	24	120
Calcium citrate	24	120
Calcium pantothenate	0.24	1.2

ที่มา : สมใจ (2550)

1. Surface process

1.1 Slow process (Orleans process) เป็นกระบวนการหมักแบบดั้งเดิมที่พัฒนาขึ้นที่บริเวณ Orleans ในประเทศฝรั่งเศส โดยการบรรจุไวน์ลงในถังบาร์เรลขนาดใหญ่ ตั้งทิ้งไว้ให้สัมผัสกับอากาศ ปล่อยให้จุลินทรีย์มีการเจริญลอยอยู่ที่ผิวหน้าของไวน์ การผลิตน้ำส้มสายชูด้วยวิธีนี้จะทำให้ได้น้ำส้มสายชูที่มีกลิ่นรสดี แต่ใช้เวลานานประมาณ 1-3 เดือน ปัจจุบันจึงไม่นิยมใช้ในการผลิตในระดับอุตสาหกรรม

1.2 Quick process (German process) เป็นกระบวนการหมักที่พัฒนาขึ้นในประเทศเยอรมนี โดยใช้ trickling generator ซึ่งมีลักษณะแสดงดังรูปที่ 9.5 ภายในถังหมักบรรจุด้วยตัวกลางเพื่อเป็นที่ยึดเกาะของแบคทีเรีย เช่น ขี้เลื่อย (beechwood shaving) กระบวนการหมักทำได้โดยสเปรย์อาหารลงทางด้านบนของถังหมัก ปล่อยให้ไหลหยดผ่านตัวกลางลงมาทางด้านล่าง ในระหว่างนี้แบคทีเรียที่ยึดเกาะอยู่ที่ตัวกลางจะออกซิไดส์เอทธานอลไปเป็นกรดอะซิติก โดยใช้ออกซิเจนที่ได้จากช่องให้อากาศทางด้านล่างที่สวนขึ้นมาทางด้านบนของถังหมัก เมื่ออาหารไหลลงมาถึงด้านล่างของถังหมัก จะถูกทำให้เย็นและสูบหมุนเวียนขึ้นไปสเปรย์ทางด้านบนของถังหมักซ้ำอีก ถ้ายังเกิดการออกซิไดส์ไม่สมบูรณ์ การผลิตกรดอะซิติกด้วยวิธีนี้จะใช้เวลาเร็วขึ้นมาก สามารถผลิตน้ำส้มสายชูที่มีกรดอะซิติกร้อยละ 12 ได้ภายในเวลาประมาณ 3 วัน จึงนิยมใช้วิธีการนี้ในการผลิตน้ำส้มสายชูในระดับอุตสาหกรรม

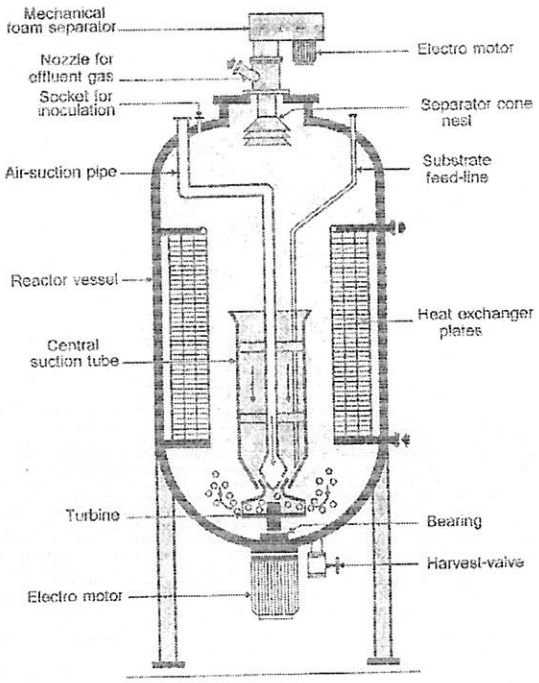


รูปที่ 9.5 ลักษณะของ trickling generator ที่ใช้ในการผลิตกรดอะซิติก
ที่มา : Hutkins (2006)

2. Submerged process

ในปี ค.ศ. 1949 ได้มีการพัฒนากระบวนการหมักน้ำส้มสายชูแบบ submerged process ขึ้น โดยบริษัท H. Frings ในประเทศเยอรมนี โดยใช้ถังหมักที่ออกแบบเป็นพิเศษสำหรับกระบวนการหมักกรดอะซิติก ถังหมักแบบนี้มีระบบการกวนและการให้อากาศอยู่ทางด้านล่าง กลางถังหมักมี suction tube ติดตั้งอยู่เพื่อช่วยให้ฟองอากาศกระจายตัวได้สม่ำเสมอทั่วถังหมัก มีระบบกำจัดฟอง โดยวิธีกลติดตั้งอยู่ทางด้านบน และมีระบบระบายความร้อนแบบ plate heat exchanger ติดตั้งอยู่ภายในถังหมัก แสดงดังรูปที่ 9.6

การผลิตกรดอะซิติกโดย submerged process นิยมใช้ระบบ semi-continuous ซึ่งควบคุมอย่างอัตโนมัติ โดยใช้อาหารเริ่มต้นที่มีกรดอะซิติกร้อยละ 7-10 เอทธานอลร้อยละ 5 ควบคุมอุณหภูมิในระหว่างการหมักให้อยู่ในช่วง 27-32 องศาเซลเซียส เมื่อเอทธานอลความเข้มข้มลดลงเหลือประมาณร้อยละ 0.1-0.3 (ใช้เวลาประมาณ 35 ชั่วโมง) จะมีการถ่ายอาหารออกร้อยละ 50-60 แล้วเติมอาหารใหม่เข้าไปแทนที่ โดยใช้อาหารใหม่ที่มีกรดอะซิติกร้อยละ 2 เอทธานอลร้อยละ 10-15 การใช้วิธีการนี้จะทำให้สามารถออกซิไดส์เอทธานอลไปเป็นกรดอะซิติกได้สูงถึงร้อยละ 98



รูปที่ 9.6 ลักษณะของ submerged fermenter ที่ใช้ในการผลิตกรดอะซิติก
ที่มา : สมใจ (2550)

ปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในการเกิดกรดอะซิติก

ปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในการเกิดกรดอะซิติก จากวัตถุดิบประเภทน้ำตาลมี 2 ขั้นตอนด้วยกัน คือ

1. การเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นเอทธานอลโดยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*var ภายใต้สภาพไร้อากาศ (Alcoholic fermentation) สำหรับปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นดังนี้

$$C_6H_{12}O_6 \xrightarrow{\text{yeast}} 2C_2H_5OH + 2CO_2$$

Glucose yeast ethyl alcohol carbon dioxide

2. การเปลี่ยนเอทธานอลเป็นกรดอะซิติกโดยแบคทีเรีย *Acetobacter* การเปลี่ยนแปลงแอลกอฮอล์ให้เป็นกรดแอซีติกโดยปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่ต้องการอากาศ และอาศัยแบคทีเรียที่สร้างกรดอะซีติก (Acetification fermentation) มีปฏิกิริยาดังนี้

$$C_2H_5OH + O_2 \longrightarrow CH_3COOH + H_2O$$

Alcohol acetic acid water

ถ้าวัตถุดิบที่ใช้เป็นแป้ง ต้องมีกระบวนการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลก่อนโดยผ่านกระบวนการไฮโดรไลซีสด้วยเอนไซม์หรือกรด

ขั้นตอนการเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์อาจมีการใช้ SO_2 ในการป้องกันการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่ไม่ต้องการ ดังนั้นเมื่อการหมักแอลกอฮอล์สิ้นสุดลงก่อนที่จะเริ่มการหมักน้ำส้มจะต้องกำจัด SO_2 นี้เนื่องจาก Acetobacter จะถูกทำลายด้วยก๊าซชนิดนี้ก่อนจะเข้าขั้นตอนถัดไป เช่น การพ่นด้วยอากาศหรือการใส่สารเคมีบางชนิด เพื่อรวมตัวกับ SO_2

3. การผลิตกรดแลคติก

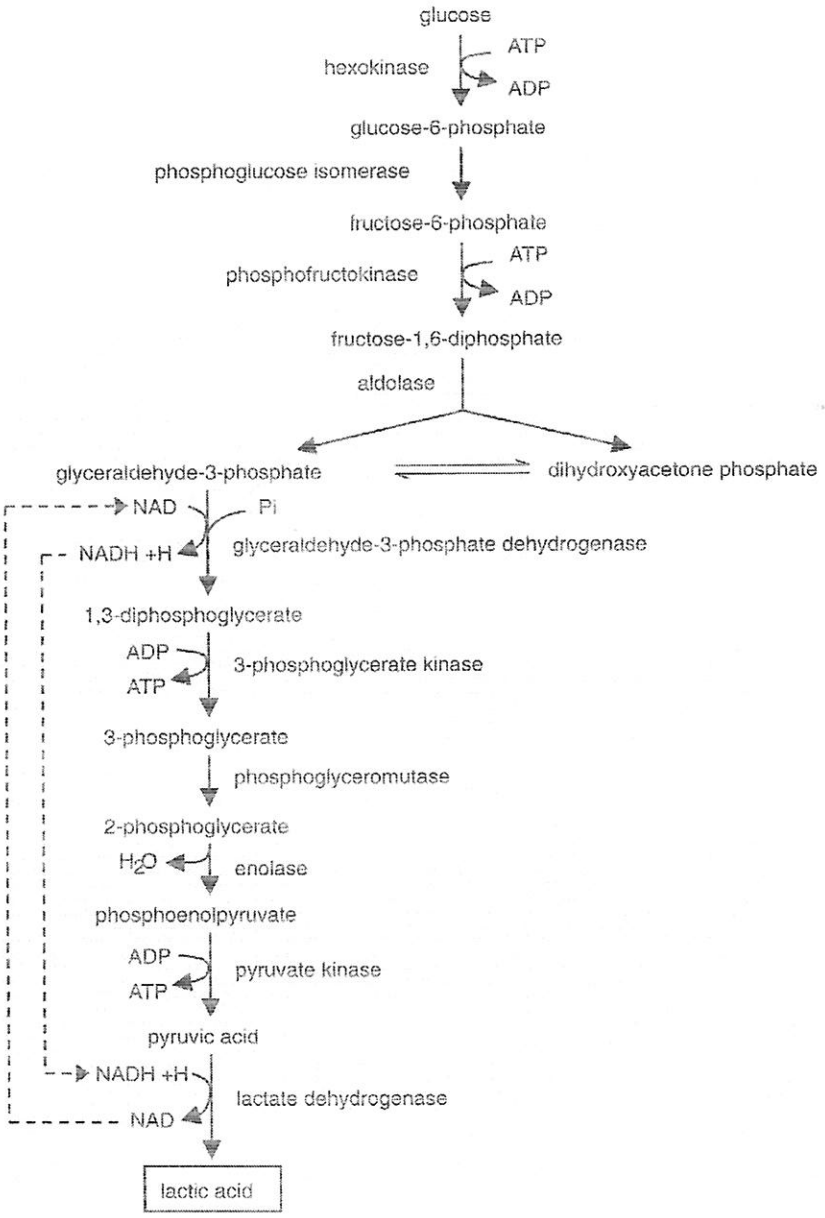
กระบวนการหมักกรดแลคติกเกิดในไซโทพลาสซึม มีการสร้างพลังงานแบบ substrate level phophorylation แบ่งเป็น 2 กลุ่ม ตามชนิดและผลผลิตที่เกิดขึ้น คือ

1. Homofermentative

เป็นการหมักกลูโคสซึ่งให้ผลผลิตเพียงชนิดเดียว (ดังรูปที่ 9.7) คือ กรดแลคติกมากกว่าหรือเท่ากับ 80% โดยผ่าน glycolysis (Embden Meyerhof pathway : EMP) และเรียกแบคทีเรียในกลุ่มนี้ว่า homofermentative bacteria เช่น *Pediococcus, Streptococcus* และ *Lactobacillus* บางสายพันธุ์

$$\underset{\text{Glucose}}{C_6H_{12}O_6} \longrightarrow \underset{\text{lactic acid}}{2\ CH_3CHOHCOOH}$$

กระบวนการหมักเริ่มจากการย่อยสลายกลูโคสที่มีคาร์บอน 6 อะตอม ด้วยเอนไซม์ phosphoglucose isomerase และ phophofructokinase ก่อนที่เอนไซม์อัลโดเลส (aldolase) จะเข้าทำปฏิกิริยา เป็นผลให้โมเลกุลกลูโคสแตกออกเป็นกลีเซอรัล-3-ฟอสเฟต (มีคาร์บอน 3 อะตอม) 2 โมเลกุล จากนั้นจะถูกเปลี่ยนเป็นไพรูเวต (pyruvate) โดยเกิด ATP ขึ้น 2 โมเลกุลจากการหมักน้ำตาลกลูโคส 1 โมเลกุล ในขั้นสุดท้ายเป็นการรีดิวซ์ไพรูเวทเป็นแลคเตท



รูปที่ 9.7 แสดง Embden-Meyerhoff pathway โดยใช้ Homofermentative lactic acid bacteria
ที่มา : Hutkins (2006)

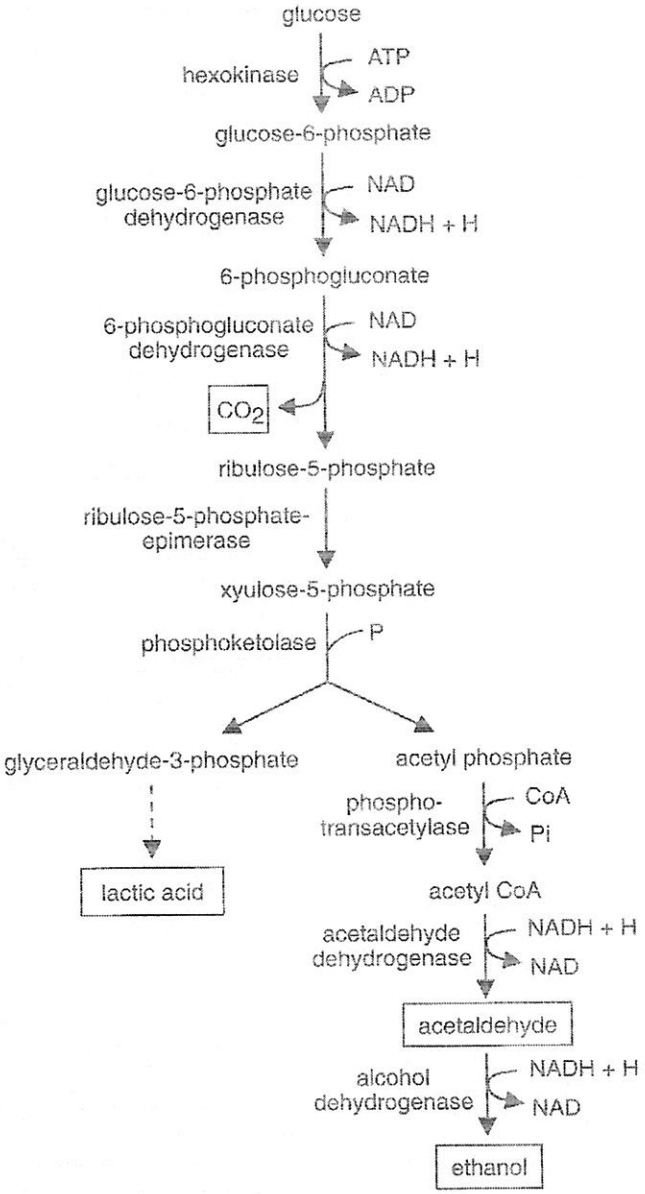
2. Heterofermentative หรือ mixed acid fermentation

เป็นการหมักกลูโคสซึ่งให้ผลผลิตหลายชนิด (รูปที่ 8) คือ เอทิลแอลกอฮอล์ กรดอะซิติก 20-25% กรดแลคติก 50% และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 20-25% โดยผ่าน phosphoglyconate หรือวิถี phosphoketolase pathway เรียกแบคทีเรียกลุ่มนี้ว่า heterofermentative bacteria เช่น *Leuconostoc* และ *Lactobacillus* บางสายพันธุ์

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow CH_3CHOHCOOH + C_2H_5OH + CO_2$$

Glucose lactic acid ethanol carbon dioxide

กระบวนการหมักเริ่มจากย่อยสลายกลูโคสที่มีคาร์บอน 6 อะตอมเปลี่ยนเป็นเพนโทส (ไรโบส) ซึ่งมีคาร์บอน 5 อะตอม ด้วยกิจกรรมของเอนไซม์ hexokinase, glucose-6-phosphate dehydrogenase,6-phophogluconate dehydrogenase จนได้น้ำตาลที่มีคาร์บอน 5 อะตอม ซึ่งต่อมาถูกย่อยสลายเป็นกลีเซอรัลดีไฮด์ฟอสเฟต ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีคาร์บอน 3 อะตอม และอะซิทิลฟอสเฟต (acetyl phosphate) โดยเอนไซม์ฟอสโฟคีโตเลส (phosphoketolase enzyme) กลีเซอรัลดีไฮด์ฟอสเฟต (glyceraldehydes phosphate) แล้วถูกเปลี่ยนแปลงไปเป็นแลคเตท (lactate) เช่นเดียวกับการเกิดไกลโคไลซีสในการหมักแบบ homofermentative แต่เนื่องจากการหมักแบบ heterofermentative มีกลีเซอรัลดีไฮด์ฟอสเฟตเพียง 1 โมเลกุลจึงเกิด ATP 1 โมเลกุล



รูปที่ 9.8 แสดง phosphoketolase pathway โดยใช้ Heterofermentative lactic acid bacteria

ที่มา : Hutkins (2006)

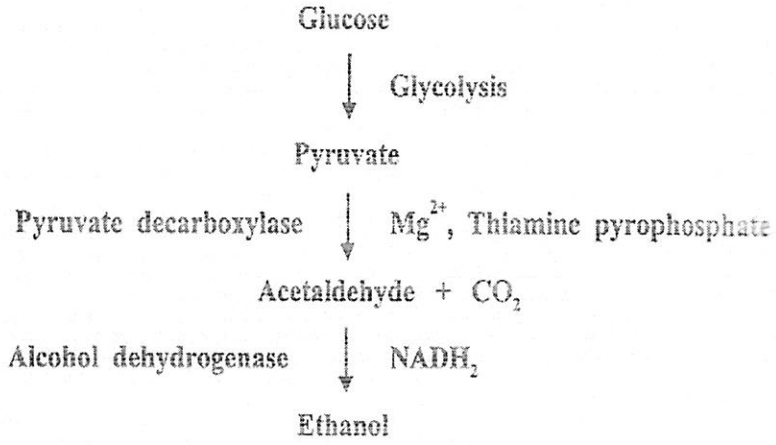
4. การผลิตเอทธานอล

เอทธานอล เป็นสารที่เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ ซึ่งผลิตได้จากกระบวนการหมักมาเป็นเวลานาน ปัจจุบันการผลิตเอทธานอลโดยกระบวนการหมักมีความสำคัญต่อการนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงาน ใช้ในห้องปฏิบัติการ ใช้ในทางการแพทย์ และใช้เป็นตัวทำละลายในอุตสาหกรรมการผลิตยาและเครื่องสำอางบางชนิดอีกด้วย

การผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์

กว่า 10,000 ปีมาแล้ว ที่มีการใช้กระบวนการหมักในการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ เชื่อกันว่ามนุษย์เริ่มรู้จักการผลิตไวน์มาตั้งแต่ 10,000 ปีก่อนคริสตศักราช และประมาณ 5,000-6,000 ปีก่อนคริสตศักราช ชาวอียิปต์เริ่มรู้จักการผลิตเบียร์ การผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์แต่เดิมใช้ยีสต์ที่มีอยู่ในธรรมชาติในวัตถุดิบ และได้มีการพัฒนามาเรื่อยจนกระทั่งปัจจุบันนิยมใช้ยีสต์บริสุทธิ์เป็นเชื้อเริ่มต้น โดยการผลิตกว่าร้อยละ 96 นิยมใช้ *Saccharomyces cerevisiae* หรือ *S. uvarum (carlsbergensis)*

เมื่อมีการเพาะเลี้ยงเชื้อ *S. cerevisiae* ในอาหารที่มีน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้นสูงภายใต้สภาวะที่มีอากาศ ยีสต์จะเจริญไปเป็นเซลล์โดยไม่สร้างแอลกอฮอล์ อย่างไรก็ตามเมื่อควบคุมการเพาะเลี้ยงเชื้อให้อยู่ภายใต้สภาวะที่ไม่มีอากาศ ยีสต์จะเจริญอย่างช้าๆ ด้วยวิถีไกลโคไลซีส จนได้ไพรูเวทและในที่สุดจะถูกเปลี่ยนไปเป็นเอทธานอล ดังรูปที่ 9.9 อย่างไรก็ตามเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่สำคัญที่มีการผลิตในระดับอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ อาจแบ่งได้เป็น 4 ประเภท คือ เบียร์ ไวน์ เหล้ากลั่น (distilled spirit) และสาเก



รูปที่ 9.9 วิถีการสังเคราะห์เอทธานอล
ที่มา : สมใจ (2550)

การผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่สำคัญในระดับอุตสาหกรรมขนาดใหญ่

1. เบียร์ (beer)

เบียร์ จัดเป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่เรียกว่า สุราแช่ หมายถึง มีแอลกอฮอล์เป็นส่วนผสมโดยที่แอลกอฮอล์นั้นได้มาจากการหมักบ่ม มิใช่โดยการกลั่น ดังขั้นตอนการผลิตรูปที่ 9.10 เบียร์ต่างจากไวน์ตรงที่การหมัก เบียร์เกิดจากการหมักน้ำตาลที่ได้จากการเปลี่ยนแปลงแป้งของเมล็ดธัญพืช หรือธัญชาติประเภทข้าวมอลต์ ส่วนไวน์จะเป็นการหมักน้ำตาลที่ได้จากผลองุ่นที่เรียกว่า ไวน์องุ่น หรือการหมักน้ำตาลที่ได้จากน้ำผลไม้ที่เรียกว่า ไวน์ผลไม้ ส่วนสุราประเภทเหล้า วิสกี้ บรั่นดีนั้นจะต้องนำแอลกอฮอล์ที่ได้จากการหมักน้ำตาลจากเมล็ดธัญชาติ หรือผลองุ่น หรือผลไม้อื่นมาทำการกลั่นแยกเอาแอลกอฮอล์ออกมาอีกครั้งหนึ่ง จึงเรียกสุราประเภทนี้ว่า สุรากลั่น ดังนั้น เบียร์จึงเป็นเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์น้อยที่สุด เมื่อเทียบกับไวน์ และเหล้าวิสกี้ หรือบรั่นดี

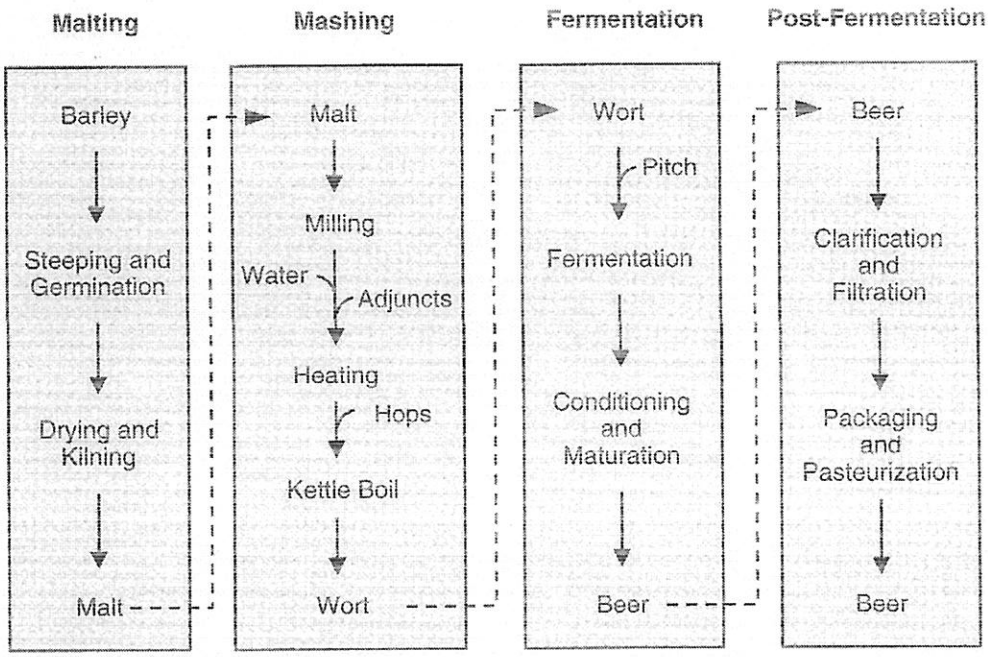
เบียร์จำแนกออกได้หลายชนิดตามลักษณะการหมัก คือ จำแนกตามชนิดของเชื้อยีสต์ที่ใช้ในการหมัก ซึ่งแบ่งออกเป็น การหมักโดยใช้ยีสต์ที่ลอยตัวอยู่เหนือผิวน้ำเบียร์เมื่อเสร็จสิ้นการหมักเรียกยีสต์ชนิดนี้ว่า ท็อปยีสต์ (Top yeast) เบียร์ที่ได้จากการหมักโดยใช้ยีสต์ประเภทนี้เป็นพวกวีทเบียร์ (Wheat beer) ไวท์เบียร์ (White beer) อัลท์เบียร์ (Alt beer) เคิลช์ (Koelsch) เอล (Ale) พอร์ทเทอร์ (Porter) และสเตาท์ (Stout)

เบียร์ จึงเป็นเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ ซึ่งได้จากการหมักธัญพืช เช่น ข้าวจ้าว ข้าวบาร์เลย์ โดยนำข้าวบาร์เลย์มาเพาะจนงอก จะได้ข้าวมอลต์ (malt) เป็นแหล่งของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ตามปกติเบียร์มีเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ราว 2-6% กลิ่น รสของเบียร์มาจากมอลต์และดอกฮอพที่ผ่านการสกัดด้วยความร้อนและเอนไซม์ เรียกว่า บริววิ่ง (Brewing) จากนั้นจึงเติมเชื้อยีสต์ลงไป ยีสต์ที่ใช้หมักเบียร์มี 2 ประเภท ทำให้ได้เบียร์ที่แตกต่างกัน ได้แก่ บอททอมยีสต์ (bottom yeasts) หมายถึง ยีสต์ที่จมลงก้นถังหลังจากการหมักสิ้นสุดลงแล้ว และจะได้เบียร์สีเหลืองอำพัน เรียกว่า **ลาเกอร์เบียร์** (lager beer) ส่วนเบียร์ที่ได้จากทอปยีสต์ (top yeasts) เรียก **เอล** (ale beer) เนื่องจากยีสต์จะลอยอยู่บนผิวหน้าของน้ำองุ่นหลังจากการหมักจบสิ้นลง โดยทั่วไปการหมักลาเกอร์เบียร์นิยมหมักที่อุณหภูมิต่ำ และใช้เวลานานกว่าการหมักเอล เบียร์ที่ได้จะมีสีคล้ำ (dark beer) เนื่องจากทำมาจากข้าวมอลต์ที่มีสีคล้ำ แต่ถ้าหากนำข้าวมอลต์ไปอบก่อน จะได้เบียร์อีกชนิดหนึ่ง เรียกว่า **สเตาท์** (stout beer) ซึ่งมีสีคล้ำมากกว่าเอล กระบวนการผลิตเบียร์ลาเกอร์แสดงในแผนภูมิ ซึ่งประกอบด้วยขั้นตอนต่างๆ ดังนี้

ขั้นที่ 1 การเพาะข้าวบาร์เลย์ (malting) วัตถุดิบที่ใช้ทำข้าวมอลต์คือ ข้าวบาร์เลย์ เป็นแหล่งของน้ำตาลและไนโตรเจน (กรดอะมิโน) ซึ่งเป็นอาหารของยีสต์ที่จำเป็นต้องใช้ในการเจริญเติบโต เพื่อสร้างแอลกอฮอล์ ในข้าวบาร์เลย์ดิบจะมีคาร์โบไฮเดรตอยู่ในรูปแป้ง และมีโปรตีนอยู่เพียงเล็กน้อย โดยยีสต์ไม่สามารถนำมาใช้ได้ จะต้องเปลี่ยนอยู่ในรูปโมเลกุลง่ายๆ เสียก่อน ดังนั้นการเปลี่ยนข้าวบาร์เลย์เป็นข้าวมอลต์ (malting) ก็เพื่อวัตถุประสงค์นี้ ในการเปลี่ยนดังกล่าวต้องอาศัยเอนไซม์เปลี่ยนให้เป็น

น้ำตาลที่มีโมเลกุลเล็กลง คือ มอลโตสและกลูโคส และอาศัยเอนไซม์ทำหน้าที่ย่อยโปรตีนให้อยู่ในรูปของกรดอะมิโนซึ่งยีสต์สามารถนำไปใช้ได้

เทคนิคเริ่มจากการนำข้าวบาร์เลย์มาทำให้เปียกน้ำจนชุ่มที่อุณหภูมิ 10-15 °C ทิ้งไว้ 1-3 วัน โดยทำการเปลี่ยนน้ำบ่อยๆ เมล็ดข้าวบาร์เลย์จะมีการชื้นเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 42-45 ทำให้เกิดการสังเคราะห์เอนไซม์ขึ้นอีกหลายชนิด เช่น เบตากลูคาเนส อะไมเลส โปรติเอส และเพปติเดส เอนไซม์เหล่านี้จะกระตุ้นให้เมล็ดข้าวบาร์เลย์งอก จากนั้นผึ่งเมล็ดข้าวพอหมาดๆ ทิ้งไว้ให้งอก 7 วัน โดยกลับเมล็ดข้าวให้อากาศถ่ายเทบ้าง ระหว่างนี้โพลีแซคคาไรด์และโปรตีนในเมล็ดข้าวบาร์เลย์จะถูกย่อยด้วยเอนไซม์อะไมเลส จะไฮโดรไลซ์แป้งได้ของผสมของเดกซ์ตริน โอลิโกแซคคาไรด์ น้ำตาลมอลโตส และกลูโคส การงอกทำให้ยุติลงด้วยการอบแห้ง (kilning) โดยการเพิ่มความร้อนขึ้นทีละน้อยกระทั่งอุณหภูมิ 85°C เมล็ดข้าวจะมีสีน้ำตาลเล็กน้อย เป็นผลให้เบียร์มีสีอำพัน ขั้นตอนการเพาะข้าวบาร์เลย์และการอบต้องควบคุมอย่างดีตามข้อกำหนดของผู้ชำนาญการผลิตเบียร์ เพื่อให้ได้ข้าวมอลต์ที่มีสัดส่วนของน้ำตาลและกรดอะมิโนเหมาะสม อันเป็นผลให้เกิดการพัฒนาสีของเบียร์ขึ้นได้ตามมาตรฐาน



รูปที่ 9.10 ขั้นตอนกระบวนการผลิตเบียร์

ที่มา : Hutkins (2006)

ขั้นที่ 2 การขัดสีและบดเมล็ดข้าวบาร์เลย์ (milling and mashing) เมล็ดข้าวมอลต์ที่ผ่านการเพาะอบแห้งแล้ว จะถูกส่งเข้ายังเครื่องสี (milling) เพื่อทำให้เปลือกแตกออก แล้วผสมกับน้ำเพื่อบดเมล็ดข้าวจนแหลก หน้าที่ของแมสชิ่งคือ การสกัดสารจากเมล็ดข้าวที่จะนำมาหมัก ช่วยให้เอนไซม์ทำหน้าที่ได้ดีขึ้น ในขั้นตอนนี้อาจเติมเอนไซม์ที่ผลิตขายเป็นการค้าลงไปด้วย ซึ่งได้เอนไซม์อะไมเลสในชื่อของสิ่งค้าต่างๆ เพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาลทำให้ได้เปอร์เซ็นต์น้ำตาล

สูงขึ้น เทคนิคแมสชิ่ง ได้รับการพัฒนาขึ้นเป็นลำดับ เป็นผลทำให้ไม่สามารถผสมธัญพืชอื่นๆ ที่มีอยู่ในท้องถิ่นได้มากขึ้น สามารถลดต้นทุนการผลิตเบียร์ ธัญพืชอื่นที่นำเติมเป็นซับสเตรทนี้เรียกว่า แอดจั๊ง (adjuncts) ทำให้ได้เบียร์ที่มีความหลากหลายตามสไตล์การผลิต (เช่น ประเทศไทยใช้ข้าวจ้าวเป็นแอดจั๊ง) หลังจากเติมแอดจั๊งแล้ว จะต้องควบคุมอุณหภูมิให้เหมาะสมแก่การทำงานของเอนไซม์ อยู่ระหว่าง (45-80°C) ใช้เวลา 1-2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ (45-50°C) เอนไซม์โปรติเอสทำงานได้ดี แต่ที่อุณหภูมิสูง (65°C) อะไมเลสที่เติมลงไปจะทำงานได้ดี และที่ 70°C เอนไซม์อะไมเลสจากข้าวจ้าวมอลต์จะทำงานได้ดี โดยการจัดการในการควบคุมเวลาและอุณหภูมิในขั้นตอนแมสชิ่งนี้ จะมีผลทำให้น้ำเวิร์ต (wort) ที่กรองออกมามีสัดส่วนของกลูโคส มอลโตส แป้ง เดกซ์ตริน และกรดอะมิโนเหมาะสมในการนำไปหมัก กระบวนการแมสชิ่งจบลงที่การเพิ่มอุณหภูมิ (75-80°C) พร้อมๆ กับการหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ หลังจากกระบวนการแมสชิ่งจบลงแล้ว กรองน้ำเวิร์ตผ่านกากของธัญพืช เรียกว่า สเปนเกรน (spent grain) เป็นเปลือกหรือกากของธัญพืชที่แยกออกมาในขั้นตอนของการขัดสี

ขั้นที่ 3 การต้มน้ำเวิร์ต (wort boiling) น้ำเวิร์ตที่ได้จากการกรองด้วยเปลือกข้าวมอลต์บริเวณส่วนบนของถังถูกถ่ายมาใส่กาต้ม (brewing kettle) ต้มจนเดือดเป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง พร้อมกับเติมฮอพในขั้นตอนนี้ และปรับปรุงความหวานของน้ำเวิร์ตด้วยน้ำเชื่อม

การต้มน้ำเวิร์ตมีข้อดีหลายประการ เช่น หยุดปฏิกิริยาขอ งเอนไซม์ ทำลายจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับวัตถุดิบและภาชนะ ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดสารออกมาจากฮอพและการเปลี่ยนรูปของกรด (isomerization of acid)ในน้ำเวิร์ต ทำให้เกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดเป็นผลทำให้เบียร์มีสีน้ำตาลและมีกลิ่นหอม อีกทั้งยังช่วยให้สารจำพวกโปรตีนรวมตัวกัน สามารถแยกออกมาได้ง่าย หากไม่แยกออกมาในขั้นตอนนี้จะมีผลทำให้เบียร์ขุ่นได้ หลังจากต้มและทิ้งน้ำเวิร์ตให้โปรตีนและสารแขวนลอยตกตะกอนแล้ว นำไปกรองหรือปั่น (centrifuge) เติมอากาศ แล้วถ่ายไปสู่ถังหมัก พร้อมที่จะเติมยีสต์ซึ่งเป็นเชื้อหมัก(pitching) ลงไป การเติมอากาศในขั้นนี้จะทำให้ระยะ lag phase สั้นลง เนื่องจากออกซิเจนกระตุ้นให้เกิดการสังเคราะห์สารสเตอรอล (sterols) และกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัว (ใช้ในการสร้างเยื่อหุ้มเซลล์) เป็นผลให้ยีสต์เจริญได้เร็ว

ขั้นที่ 4 การหมัก (farmentating) ถังหมักโดยทั่วไปมีความจุประมาณ 2-4 พันลิตร ทำด้วยวัสดุสเตนเลส ติดตั้งอุปกรณ์ควบคุมอุณหภูมิ เครื่องกวน และระบบทำความสะอาดแบบซีไอพี (Clean-In-Place หรือ CIP) เบียร์ลาเกอร์หมักที่อุณหภูมิต่ำ (5-12 °C) เป็นเวลา 7 วัน ส่วนเบียร์เอลหมักที่อุณหภูมิสูงกว่า (18-25 °C) เป็นเวลา 2-4 วัน การหมักขั้นตอนต้นจบลงที่การแยกน้ำเบียร์ออกจากยีสต์น้ำเบียร์ที่ดัอาจมีการนำไปหมักต่อในขั้นที่สอง เป็นการบ่ม (maturation) จะได้เบียร์ที่มีรสชาติดีขึ้น การหมักในขั้นตอนที่สองเพื่อปล่อยให้เซลล์ที่กรองออกไม่หมด ได้มีโอกาสใช้น้ำตาลที่เหลืออยู่ในน้ำเบียร์ต่อที่อุณหภูมิต่ำ (3-5 °C) ในขณะพักน้ำเบียร์เป็นเวลาหนึ่ง หากเบียร์ขุ่นเนื่องจากมีสารประกอบ

เชิงซ้อนประเภทโปรตีนและแทนนินแขวนลอยอยู่มาก แก้ไขโดยการเติมสารประเภท fining เสียก่อน จึงกรอง ทำให้ใสและเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ บรรจุในถัง หรือกระป๋อง

การควบคุมจุลินทรีย์ เริ่มตั้งแต่ข้าวบาร์เลย์จนเป็นน้ำเบียร์ ปฏิบัติดังนี้

(1) การควบคุมจุลินทรีย์ในข้าวบาร์เลย์ ข้าวบาร์เลย์อาจมีจุลินทรีย์อยู่ตามธรรมชาติ การควบคุมจึงเริ่มตั้งแต่การระมัดระวังในขณะเก็บเกี่ยว และเก็บเกี่ยวในระยะที่ข้าวบาร์เลย์มีความแก่พอเหมาะเก็บรักษาอย่างถูกสุขลักษณะ ควบคุมความชื้นไว้อย่างเกินร้อยละ 12.5 ทั้งนี้แบคทีเรีย ยีสต์และราที่สร้างเส้นใยจะเจริญได้ อาจมีปัญหาการปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อรา ซึ่งยากที่จะกำจัดออกไปได้

(2) การควบคุมจุลินทรีย์ในการเพาะเป็นข้าวมอลต์ จะต้องมีการฉีดน้ำให้ชุ่มเมล็ดข้าว ความชื้นที่เพิ่มขึ้นมีผลให้จุลินทรีย์หลายชนิดเจริญ

(3) การควบคุมจุลินทรีย์ในการอบแห้งข้าวมอลต์ (kilning) การอบมีผลทำให้จำนวนจุลินทรีย์ลดลง 1-2 log แต่จุลินทรีย์ที่มีชีวิตยังหลงเหลืออยู่ ความรู้เกี่ยวกับเทคนิคมอลติ้งและจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องจะช่วยให้เกิดการจัดการที่ดี สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ที่จะทำให้ข้าวมอลต์มีคุณภาพด้อยลงได้ และถ้าใช้ข้าวมอลต์คุณภาพดีในการผลิตเบียร์ ก็จะมีผลให้ได้เบียร์ที่มีคุณภาพดีด้วยเช่นกัน

(4) การควบคุมจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิต จุลินทรีย์อาจปนเปื้อนในน้ำเวิร์ตในระหว่างการถ่ายเบียร์ การสุขภิบาลภาชนะ อุปกรณ์ โดยเฉพาะอุปกรณ์ที่ติดตั้งอยู่กับที่ เช่น เครื่องบด หม้อต้ม ถังหมัก เครื่องกรอง ฯลฯ จะต้องทำความสะอาดด้วยระบบ CIP เพราะน้ำเวิร์ตเป็นอาหารที่อุดมด้วยสารอาหารซึ่งจุลินทรีย์นำมาใช้ในการเจริญเติบโตได้ทันที การผลิตต้องเป็นแบบต่อเนื่อง หากทิ้งไว้แบคทีเรียจะสร้องสปอร์ซึ่งทนความร้อน เช่น *B. coagulans, B. stearothermophilus* และ *Clostridium* บางสปีชีส์ที่ปนเปื้อนเข้ามาในข้าวมอลต์และแอดจั๊ง ณ ระดับอุณหภูมิที่ใช้ในขั้นตอนแมสชิ่ง แบคทีเรียเหล่านี้สามารถเจริญได้ ทำให้น้ำเวิร์ตมีความเป็นกรดเพิ่มขึ้น เป็นผลทำให้น้ำเวิร์ตมีกลิ่นรสผิดปกติ เนื่องจากเกิดกรดแลคติกและกรดบิวทิริกขึ้นนอกจากนี้เกิดสารก่อมะเร็งคือ ไนโตรซามีน เนื่องมาจากการรีดิวซ์ไนเตรทที่มีอยู่ในน้ำเวิร์ตมีความเป็นไนไตรท์ น้ำเวิร์ตที่ผ่านการต้มแล้ว แม้ว่าจะมีสารบางอย่างที่มีผลยับยั้งจุลินทรีย์ซึ่งสกัดออกมาจากฮอพ แต่มีปริมาณเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ประกอบกับน้ำเวิร์ตเป็นสารอาหารที่มีผลเร่งการเจริญของแบคทีเรียหลายชนิด เช่น แบคทีเรียแลคติก แบคทีเรียอะซิติก แบคทีเรียในตระกูล Enterobacteriaceae และแบคทีเรียในแกรมลบที่ไม่ต้องการอากาศ โดยเฉพาะแบคทีเรียแกรมลบประเภท cocci การที่มีแบคทีเรียในน้ำเวิร์ตก่อนเติมยีสต์จะมีผลให้เบียร์ที่ได้มีกลิ่นรสผิดปกติ และไม่สามารถแก้ไขให้เบียร์มีรสชาติกลับคืนมาเหมือนเดิมได้

ในขั้นตอนการหมัก ตามปกตินิยมใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* ซึ่งได้ชื่อว่าเป็นบริวเวอร์ยีสต์ (brewer's yeast) เนื่องจากมีสมบัติที่ดีหลายประการ คือ

- ทำให้การหมักดำเนินไปได้ดี และเกิดแอลกอฮอล์ขึ้นเร็ว

- เมื่อมีสารสกัดจากฮอพ ยีสต์จะใช้น้ำตาลมอลโตสและมอลโตไตรโอส เป็นผลทำให้ได้เบียร์ที่มีกลิ่นรสดีขึ้น
- บริวเวอร์ยีสต์มีสมบัติในการรวมตัว ทำให้การตกตะกอน(sedimentation) และการลอยตัว (flocculation) ขึ้นสู่ผิวหน้าหลังจากการหมักจบสิ้นลง
- สะดวกในการเคลื่อนย้าย เช่น สามารถเพาะขยายพันธุ์ เพิ่มจำนวนได้ง่าย

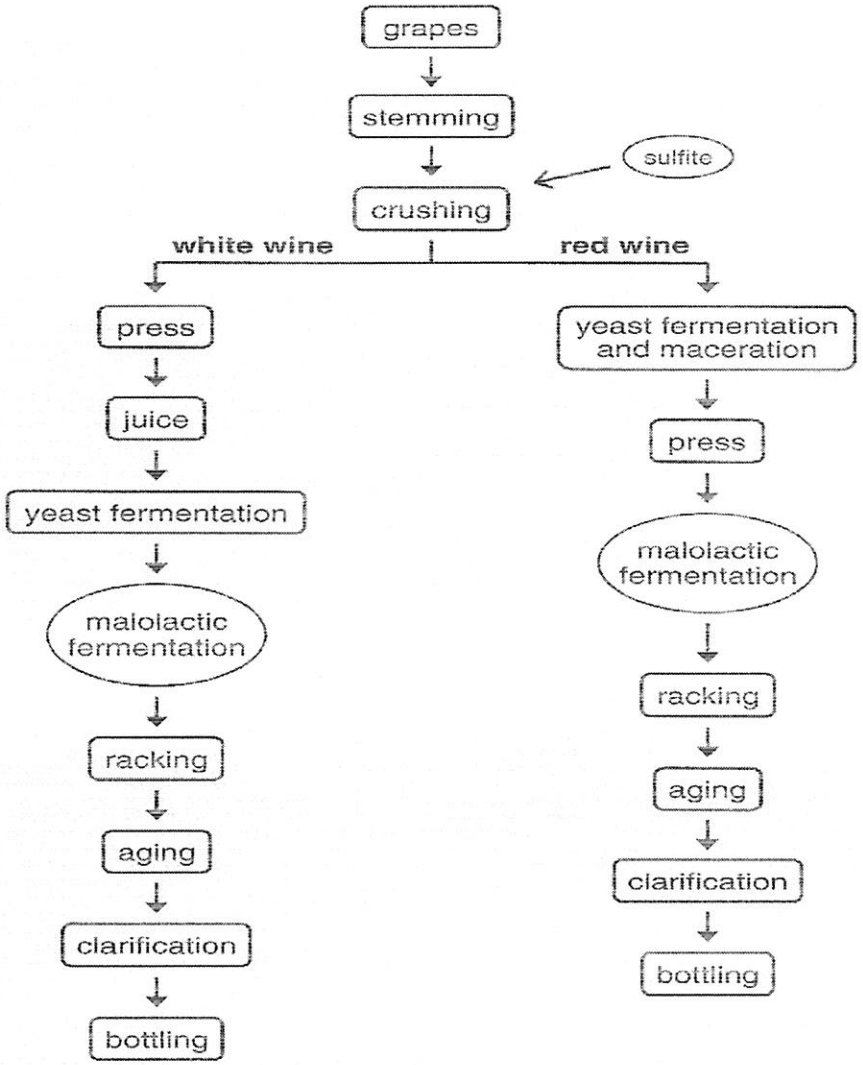
การรวมตัวของยีสต์ในการหมักลาเกอร์เบียร์ ยีสต์จะตกตะกอนจมลงสู่ก้นถัง ส่วนการหมักเอลเซลล์ของยีสต์จะรวมตัวกันจับกับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ลอยขึ้นผิวหน้าบริเวณส่วนบนของถังหมัก ด้วยเหตุนี้ไม่ว่าจะเป็นการหมักแบบใด จึงไม่มีปัญหาในการแยกยีสต์ออกจากน้ำเบียร์ หลังจากกระบวนการหมักจบสิ้นลง

คุณค่าของเบียร์

เบียร์เป็นเครื่องดื่มที่ปรุงแต่งมาจากวัตถุดิบหลายชนิดที่มาจากธรรมชาติ จึงทำให้เบียร์เป็นเครื่องดื่มที่มีคุณประโยชน์ทางด้านโภชนาการนอกจากจะช่วยดับกระหายแล้ว ยังช่วยกระตุ้นให้เจริญอาหาร ปริมาณแอลกอฮอล์และคาร์โบไฮเดรตที่มีอยู่ในเบียร์จะให้พลังงานต่อร่างกาย การดื่มเบียร์ 1 ลิตร จะได้รับพลังงานประมาณ 440 กิโลแคลอรี่ แอลกอฮอล์ยังช่วยกระตุ้นการหมุนเวียนของโลหิต จึงเหมาะสำหรับผู้ที่มีความดันโลหิตต่ำ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่มีอยู่ในเบียร์ยังช่วยกระตุ้นน้ำย่อยจากกระเพาะอาหารทำให้ช่วยย่อยอาหารได้ดี ส่วนประกอบจากดอกฮ็อพและเกลือโพแทสเซียมยังช่วยในการขับถ่ายปัสสาวะและชะล้างไต เบียร์ยังช่วยให้ผ่อนคลายความตึงเครียดทางประสาท ทำให้เกิดการตื่นตัว ในเบียร์ยังประกอบด้วยวิตามินที่มีคุณค่าหลายชนิด โดยเฉพาะวิตามินบี 1 และวิตามินบี 2 นอกจากนั้นเบียร์ยังมีโปรตีนเป็นส่วนประกอบอยู่ด้วย รวมทั้งเกลือแร่ต่างๆ เช่น แคลเซียมซึ่งช่วยป้องกันโรคหัวใจ แมกนีเซียม ซึ่งจะช่วยควบคุมระดับคอเลสเตอรอล และเสริมสร้างการทำงานของกล้ามเนื้อหัวใจ ฟอสเฟต ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญของกระดูก ฟัน และเป็นตัวช่วยสะสมพลังงาน นอกจากเกลือแร่ดังกล่าวแล้ว ยังมีพวกโซเดียมซัลเฟต โซเดียมคลอไรด์ และโซเดียมไนเทรต เป็นต้น

2. ไวน์ (wine)

ไวน์ เป็นเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ชนิดหนึ่ง โดยมากได้จากการหมักผลไม้คือ องุ่น แต่ในปัจจุบันมีการนำผลไม้ชนิดต่างๆ ที่มีตามฤดูกาลในแต่ละท้องถิ่นมาผลิตเป็นไวน์ การผลิตไวน์ตามแบบฉบับดั้งเดิมใช้องุ่นเป็นซับสเตรท และสามารถใช้ได้ทั้งองุ่นเขียวและองุ่นแดง วิธีการผลิตไวน์ขาวและไวน์แดงต่างกันเล็กน้อย ดังรูปที่ 9.11 ขั้นตอนในการผลิตไวน์ประกอบด้วย การบีบองุ่นให้ได้น้ำองุ่น (crushing) นำมาหมักให้เกิดแอลกอฮอล์ (alcoholic fermentation) หมักต่อเพื่อเปลี่ยนกรดมาลิกให้เป็นกรดแลคติก (malolactic fermentation) แล้วเก็บไวน์ไว้ระยะหนึ่ง เรียกว่า บ่ม (ageing หรือ maturation) จากนั้นนำไปทำให้ไวน์ใส (clarification) บรรจุ (packaging) และจำหน่าย (distribution)



รูปที่ **9.11** ขั้นตอนกระบวนการผลิตไวน์ขาวและไวน์แดง
ที่มา : Hutkins (2006)

ในการผลิตไวน์ขาว เตรียมองุ่นโดยการแยกเอาก้านออก บีบน้ำ แล้วแยกเอาเฉพาะน้ำมาหมัก ส่วนการผลิตไวน์แดงนั้น เตรียมน้ำองุ่นเช่นเดียวกับไวน์ขาว แต่ไม่ต้องแยกเปลือกและเนื้อหลังจากบีบเอาน้ำออกไปแล้ว กากที่ได้เรียกว่า มัสท์ (must) มีประโยชน์ในการทำให้ไวน์มีสีแดง ซึ่งเป็นเอกลักษณ์ประจำของผลิตภัณฑ์ เนื่องมาจากแอนโธรไซยานินที่อยู่ในเปลือกขององุ่นแดง นอกจากนี้องุ่นยังมีสารระเหยได้ประเภทเทอร์ปีนส์ ที่จะมีผลทำให้ไวน์มีรสชาติแตกต่างกันออกไป และมีกรดที่ไม่ระเหย เช่น กรดทาร์ทาริก และกรดมาลิก ซึ่งมีผลต่อกลิ่นรสของไวน์ด้วย ส่วนแทนนิน (tannins) ในองุ่นเป็นสารจำพวกฟลาโวนอยด์ฟีนอล (flavonoid phenols) จะทำให้ไวน์มีรสฝาดและขม

ในขั้นหมักแอลกอฮอล์ สารสกัดจากองุ่นจะเพิ่มความซับซ้อนในองค์ประกอบทางเคมี ซึ่งนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงที่เกิดกลิ่นรสอันพึงประสงค์ตามที่ผู้บริโภคต้องการ ดังนั้นในระดับอุตสาหกรรมไวน์จึงพยายามที่จะพัฒนาสายพันธุ์องุ่น เพื่อให้เกิดสารเมตาโบไลท์สุดท้ายที่ระเหยได้และระเหยไม่ได้จากกระบวนการหมักตามที่ผู้บริโภคต้องการ นอกจากสายพันธุ์องุ่นแล้ว สภาพดินฟ้าอากาศในการปลูกองุ่นยังมีอิทธิพลต่อสารสกัดขององุ่นและคุณภาพของไวน์ด้วย ในขั้นบ่มไวน์ปฏิกิริยาทางชีวเคมียังคงดำเนินอยู่ต่อไปอย่างช้าๆ ทั้งนี้อาศัยเอนไซม์ที่มีอยู่ในองุ่นและเอนไซม์ที่มาจากจุลินทรีย์ช่วยให้เกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องหลังการหมัก เป็นผลทำให้ได้ไวน์ที่มีรสชาติกลมกล่อม ไม่บาดคอ

แม้ว่ายีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* จะเป็นตัวการสำคัญ ทำให้เกิดการหมักแอลกอฮอล์ ดังปฏิกิริยาการเปลี่ยนจากกลูโคลไปเป็นเอทานอล แต่การหมักไวน์ไม่ได้เกิดขึ้นเพียงปฏิกิริยาเดียว กิจกรรมของจุลินทรีย์ต่างชนิดหรือต่างสายพันธุ์กัน มีผลให้เกิดปฏิกิริยาทางชีวเคมีต่างกัน และเกิดขึ้นตลอดช่วงอายุของไวน์ ความรู้และความเข้าใจต่อการเกิดปฏิกิริยาเหล่านี้จะช่วยให้สามารถผลิตไวน์มีคุณภาพสูงได้อย่างน่าพึงพอใจ จุลินทรีย์ที่ติดมากับองุ่นมีผลต่อการหมักไวน์ประกอบด้วย ยีสต์ ฟังไจที่เป็นเส้นใย แบคทีเรียแลคติก แบคทีเรียอะซิติก และแบคทีเรียกลุ่มอื่นๆ รวมทั้งแบคทีริโอฟาดจ์ (bacteriophages คือ ไวรัสที่เป็นเชื้อโรคของแบคทีเรีย) จุลินทรีย์เหล่านี้มีผลต่อคุณภาพของไวน์ในลักษณะต่างๆ กัน

3. สุรากลั่น (distilled beverage)

สุรากลั่นมีการผลิตมาเป็นเวลานานหลายพันปีในบริเวณต่างๆ ทั่วโลก การผลิตประกอบด้วยการหมักคาร์โบไฮเดรตโดยยีสต์และการกลั่นเพื่อแยกเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้นต่างๆ ออกมา นำมาผสมและใช้เป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ สุรากลั่นแบ่งเป็นหลายชนิดตามวัตถุดิบที่ใช้ผลิต ได้แก่ สุรากลั่นที่ผลิตจากธัญพืช เช่น วิสกี้ (whisky) และสุรากลั่นที่ผลิตจากน้ำผลไม้ เช่น บรั่นดี สุรากลั่นที่ผลิตจากสารสกัดที่มีคาร์โบไฮเดรตในรูปของน้ำตาลที่หมักได้ ซึ่งรวมทั้งกากน้ำตาลและแป้งที่ไฮโดรไลซ์อย่างสมบูรณ์ เช่น รัม (rum) นอกจากนั้นยังสามารถแบ่งได้ตามกระบวนการผลิตด้วย

สำหรับประเทศไทยตามพระราชบัญญัติสุรา พ.ศ. 2493 กำหนดว่า “สุรากลั่น” หมายถึงสุราที่ได้กลั่นแล้วและยังให้หมายความรวมถึงสุรากลั่นที่ได้ผสมกับสุราแช่ แต่มีเอทิลแอลกอฮอล์เกินกว่าสิบห้าดีกรีด้วย โดยแบ่งชนิดของสุรากลั่นได้ดังนี้

1. สุราสามทับคือ สุรากลั่นที่มีแรงแอลกอฮอล์ตั้งแต่แปดสิบดีกรีขึ้นไป

2. สุราขาวคือ สุรากลั่นที่ปราศจากเครื่องย้อมและสิ่งผสมปรุงแต่ง มีแรงแอลกอฮอล์ต่ำกว่าแปดสิบดีกรี

3. สุราผสมคือ สุรากลั่นที่ใช้สุราขาวหรือสุราสามทับมาปรุงแต่ง มีแรงแอลกอฮอล์ต่ำกว่าแปดสิบดีกรี

4. สุราปรุงพิเศษคือ สุรากลั่นที่ใช้สุราสามทับมาปรุงแต่ง มีแรงแอลกอฮอล์ต่ำกว่าแปดสิบดีกรี

5. สุราพิเศษคือ สุรากลั่นที่ทำขึ้นโดยใช้กรรมวิธีพิเศษ มีแรงแอลกอฮอล์ต่ำกว่าแปดสิบดีกรี แบ่งได้เป็น 2 ประเภท คือ

5.1 ประเภท วิสกี้ บรั่นดี รัม ยิน หรือสุราแบบต่างประเทศอย่างอื่น

5.2 ประเภทเกาเหลียง เชียงชุน ปุ้นกุ่ยโล่ว หรือสุราแบบจีนอย่างอื่น

ยีสต์ที่ใช้สำหรับการผลิตสุรากลั่นคือ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นสายพันธุ์ที่เหมาะสมสำหรับการผลิตสุรากลั่นแต่ละชนิด ทั้งนี้ยีสต์ทำหน้าที่ 2 อย่างคือ

1. ผลิตเอทิลแอลกอฮอล์โดยเมแทบอลิซึมน้ำตาลผ่านวิถี Embden-Meyerhof-Parnas ได้ไพรูเวต ซึ่งเปลี่ยนต่อไปได้แอซีทาลดีไฮด์และเอทิลแอลกอฮอล์ ตามลำดับ

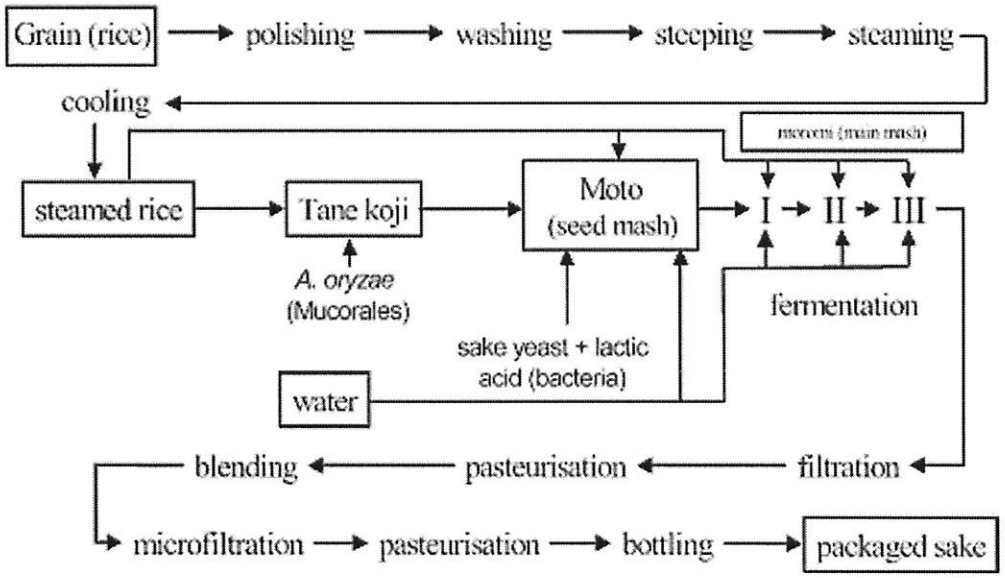
2. ผลิตสารคอนจีเนอร์ (congener) บางชนิด คอนจีเนอร์คือสารประกอบทั้งหมดในดิสทิลเลตที่มีผลต่อกลิ่นและรส คอนจีเนอร์อาจมาจากธัญพืชซึ่งใช้เป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรต สร้างขึ้นโดยยีสต์ในระหว่างการหมัก สร้างโดยแบคทีเรียกรดแลคติกในระหว่างการเจริญ ตลอดจนอาจสร้างขึ้นในระหว่างการกลั่นและการบ่ม สำหรับคอนจีเนอร์ที่สำคัญซึ่งสร้างในระหว่างการหมักคือ อัลดีไฮด์ กรด เอสเทอร์ และฟูเซลแอลกอฮอล์หรือฟูเซลออย์หลายชนิด

การบ่มเป็นปัจจัยสำคัญกับคุณภาพของสุรากลั่นมากที่สุด ปัจจุบันสุรากลั่นหลายชนิดทั้งวิสกี้ บรั่นดี รัมและลิเคียว มีการบ่มในถังไม้โอ๊กซึ่งให้รสชาติและกลิ่นหอมของผลิตภัณฑ์ ผลจากการบ่มแสดงให้เห็นโดยการเปลี่ยนสีและรสชาติของสุรากลั่น รวมทั้งลดปริมาณและความเข้มข้นของเอทิลแอลกอฮอล์ การเปลี่ยนแปลงของรสชาติของสุรากลั่นเกิดเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบและความเข้มข้นของสารประกอบที่มีอิทธิพลต่อรสและกลิ่น การเปลี่ยนแปลงนี้อาจมีสาเหตุมาจากสารประกอบจากไม้ถูกสกัดออกมา การย่อยสลายของสารโมเลกุลขนาดใหญ่ของไม้และผลิตภัณฑ์ที่ได้ถูกสกัดลงสู่สุรา ปฏิกิริยาต่างๆ ที่เกิดขึ้นมีความสำคัญต่อรสชาติสุดท้ายของสุรากลั่น

4. สาเก (Sake)

สาเกเป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่ผลิตมาจากการหมักข้าว ดังนั้นจึงเรียกอีกชื่อหนึ่งว่าไวน์ข้าว (rice wine) การผลิตสาเกมีขั้นตอนแสดงดังรูปที่ 9.12 ในขั้นแรกเริ่มจากการนำข้าวที่ขัดสีเอาโปรตีน ไขมันและแร่ธาตุต่างๆ ออกจนหมด ไปแช่ในน้ำที่อุณหภูมิ 20-25 ^{o}C ระยะหนึ่ง จากนั้นเทน้ำทิ้ง นำข้าวไปนึ่งนาน 30-60 นาที แล้วนำไปผสมกับโคจิ (koji) ซึ่งมีเชื้อรา *A. orizae* ที่สามารถสร้างเอนไซม์ α–amylase ย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลได้ และยังมีเอนไซม์อื่นๆ อีกหลายชนิดซึ่งมีความสำคัญในการบ่มสาเกในระยะหลัง ขั้นต่อไปเป็นการทำให้เกิดสภาพความเป็นกรดโดยการเติมแบคทีเรียแลคติกลงไป จากนั้นจึงเติมเชื้อยีสต์เพื่อให้เกิดกระบวนการหมักน้ำตาลไปเป็นแอลกอฮอล์ ยีสต์ที่ใช้ในกระบวนการหมักมี 2 ชนิดคือ *S. sake* และ *S. cerevisiae* ซึ่งเป็นยีสต์ที่ทนแอ ลกอฮอล์ได้สูง การหมักในระยะแรกจะทำในภาชนะเปิด โดยมีการเติมข้าวนึ่งและโคจิลงไปเป็นระยะๆ ทำให้ยีสต์ไม่ถูกยับยั้งโดยน้ำตาลความเข้มข้นสูง และสามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้สูงถึงร้อยละ 20-25

อุณหภูมิขณะเริ่มต้นการหมักประมาณ 7 °C และในระหว่างการหมักจะควบคุมอุณหภูมิไม่ให้สูงเกิน 18 °C ระยะเวลาที่ใช้ในการหมักประมาณ 25 วัน หลังจากนั้นกรองแยกสาเกไปบ่ม (muturation) นาน 5-10 วัน ในระหว่างนี้เอนไซม์จาก *A. orizae* และ *S. sake* จะทำให้สาเกมีคุณภาพดีขึ้น จากนั้นกรองผ่าน activated charcoal และอาจบ่มต่ออีกระยะหนึ่ง แล้วจึงนำไปพาสเจอไรส์และบรรจุภาชนะทึบแสง เพื่อป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน เนื่องจากแสง (photooxidation reaction)



รูปที่ 9.12 ขั้นตอนกระบวนการผลิตสาเก

ที่มา : Hammes et al. (2005)

บทที่ 10
อาหารหมักพื้นเมือง

ผลิตภัณฑ์อาหารหมักพื้นเมืองกว่า 100 ชนิด ที่เป็นที่รู้จักทั่วไปทั้งในประเทศจีน ญี่ปุ่น ฟิลิปปินส์ หรือประเทศในแถบทวีปเอเชียส่วนใหญ่ผลิตจากวัตถุดิบประเภทธัญพืชที่มีอยู่ในท้องถิ่น เช่น ถั่วเหลืองและข้าว เป็นต้น อย่างไรก็ตามการพัฒนากระบวนการหมักของผลิตภัณฑ์ในระดับอุตสาหกรรมก็ยังเป็นที่สนใจอยู่ ณ ปัจจุบัน

ผลิตภัณฑ์อาหารหมักพื้นเมืองที่ให้แอลกอฮอล์

1. เต้าเจี้ยว (Miso)

เต้าเจี้ยวจัดเป็นอาหารหมักพื้นเมืองในประเทศจีน เกาหลีและญี่ปุ่น ที่ได้จากการหมักถั่วเหลืองและธัญพืช มีกลิ่นรสคล้ายซีอิ้ว เต้าเจี้ยวที่ผลิตในประเทศญี่ปุ่นมีหลายชนิด (ตารางที่ 10.1) เช่น rice miso เต้าเจี้ยวที่ใช้ข้าวเจ้า ถั่วเหลืองและเกลือเป็นส่วนผสมในการหมัก barley miso หมักจากข้าวบาร์เลย์ ถั่วเหลืองและเกลือ สำหรับ soybean miso หมักจากถั่วเหลืองและเกลือเป็นหลัก ความแตกต่างของเต้าเจี้ยวทั้ง 3 ชนิด อยู่ที่ความเข้มข้นของเกลือ สีและกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้หากแบ่งชนิดของเต้าเจี้ยวตามลักษณะของรสชาติแล้ว จะแบ่งเป็น 3 ชนิด ได้แก่ sweet miso, semi-sweet miso และ salty miso

ตารางที่ 10.1 ชนิดและคุณสมบัติที่แตกต่างกันของเต้าเจี้ยว

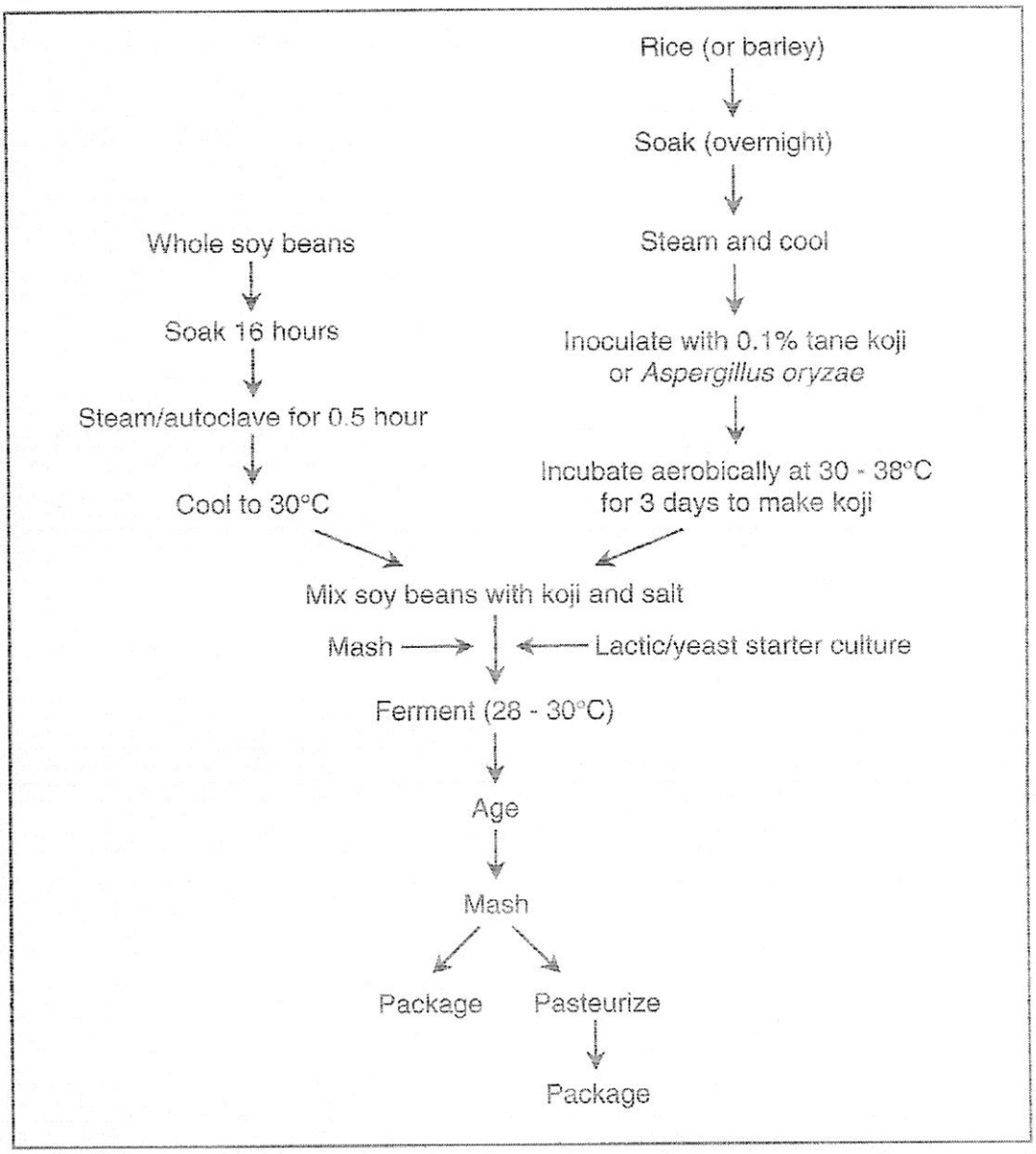
Product	Moisture (%)	Protein (%)	Reducing sugar (%)	Fat (%)	pH	Color
Rice miso						
Sweet	43-49	10-11	15	3-5	5.4	White or red
Salty	45	10-13	12	6	5.3	Yellow or red
Barley miso						
Sweet	44-47	10	17	4-5	5.2	Yellow
Salty	46-48	13	11	5-6	5.1	Red
Soy bean miso	45-46	17-20	9	11	5.0	Red or brown

ที่มา : Hutkins (2006)

วิธีการผลิตเต้าเจี้ยว

ขั้นตอนการผลิตเต้าเจี้ยวคล้ายกับการผลิตซีอิ้ว (รูปที่ 10.1) แตกต่างกันที่วิธีการผสมเกลือ โดยที่การผลิตเต้าเจี้ยวจะใช้เกลือแห้ง (dry salt) เติมลงไปในกล้าเชื้อ (โคจิ) โดยตรงแทนซึ่งต่างกับวิธีการในการผลิตซีอิ้วซึ่งใช้น้ำเกลือ โคจิที่ใช้ในการผลิตเต้าเจี้ยวคือ เชื้อรา *Aspergillus oryzae* และ *Aspergillus sojae* การเตรียมโคจิได้จากการให้เชื้อราดังกล่าวเจริญบนเมล็ดข้าวนึ่งที่เกลี่ยไว้ในภาชนะผิวหน้ากว้าง เช่น ถาด หรือบ่อซีเมนต์กว้าง บ่มที่อุณหภูมิ 35°C จนกระทั่งปรากฏเชื้อราเจริญกระจาย

ทั่วผิวหน้าของเมล็ดข้าว ทำการเก็บเพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อในการหมักต่อไป การผลิตโดยนำโคจิผสมกับส่วนผสมของถั่วเหลืองนึ่งและเกลือ ปล่อยให้เกิดการหมักที่อุณหภูมิ 28-30°C เป็นระยะเวลาประมาณ 1 สัปดาห์ เพื่อให้เกิดการย่อยสลายโดยเอนไซม์ที่ผลิตจากกล้าเชื้อและแบคทีเรียกลุ่มแลคติกและยีสต์ เมื่อสิ้นสุดการหมัก จะได้สารประกอบกลิ่นรส ตามมาตรฐานคุณลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์ จากนั้นทำการบ่มต่ออีก 2-3 สัปดาห์ที่อุณหภูมิห้องก่อนบรรจุ หรือบริโภค



รูปที่ 10.1 ขั้นตอนการผลิตเต้าเจี้ยว

ที่มา : Hutkins (2006)

การเสื่อมเสียของเต้าเจี้ยว

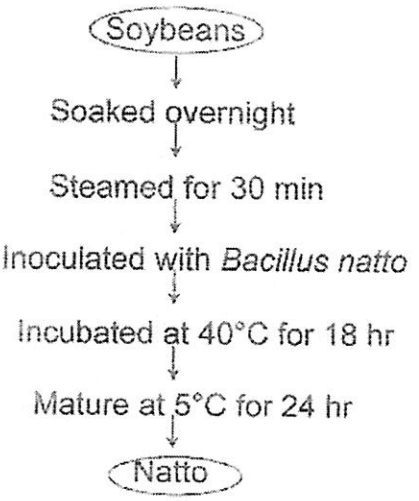
เต้าเจี้ยวจะมีความเข้มข้นของเกลือสูงและพีเอชค่อนข้างต่ำ เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียจากจุลินทรีย์ ลักษณะการเน่าเสียที่สังเกตุได้ เช่น การสร้างแก๊ส กลิ่นรสที่ไม่พึงประสงค์ และเกิดเมือกที่ผิวหน้าของผลิตภัณฑ์ ยีสต์และแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียประกอบด้วย *Hansenula* และ *Zygosaccharomyces rouxii, Pediococcus acidilactici* และ *Bacillus* sp. เกิดการเสื่อมเสียเมื่อความเข้มข้นของเกลือลดลงต่ำกว่า 12% การพาสเจอร์ไรซ์ทั้งก่อนและหลังบรรจุจะช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้

2. นัตโตะ (Natto)

นัตโตะเป็นอาหารหมักพื้นเมืองที่ได้จากถั่วเหลือง นิยมผลิตและบริโภคกันในประเทศญี่ปุ่น (รูปที่ 10.2) คล้ายคลึงกับผลิตภัณฑ์ถั่วหมักในประเทศจีน ไทยและฟิลิปปินส์ ขั้นตอนแรกของการหมักจะเหมือนกับการผลิตเต้าเจี้ยว (miso) แต่แตกต่างกันที่ชนิดของ จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการหมัก

ขั้นตอนการผลิตนัตโตะ

นำถั่วเหลืองแช่น้ำค้างคืน ลอกเปลือกออก จากนั้นทำการต้มหรือนึ่งให้สุก ปล่อยให้เย็นแล้วเติมเชื้อ *Bacillus subtilis* var. *natto* บรรจุถั่วที่ผสมกล้าเชื้อลงในภาชนะ เช่น ใบตอง หรือภาชนะก้นแบบ บ่มที่อุณหภูมิห้องทิ้งไว้ ประมาณ 2 วัน หรือที่อุณหภูมิประมาณ 40 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 16-20 ชั่วโมง จากนั้นทำให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิปกติ การเจริญของเชื้อ *B. subtilis* var. *natto* จะทำให้ถั่วมีสีเปลี่ยนแปลงไปจากสีเหลืองกลายเป็นสีขาว มีการสร้างโพลีแซคคาไรด์ผลิตภัณฑ์จึงมีลักษณะเนื้อสัมผัสเป็นเมือกเหนียวยืดติดกับเมล็ดถั่ว การใช้กล้าเชื้อบริสุทธ์ที่อุณหภูมิดังกล่าวมีผลต่อการลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้อีกด้วย



รูปที่ 10.2 ขั้นตอนการผลิตนัตโตะ
ที่มา : Liu (2004)

3. ถั่วเน่า (Thua-nao)

ถั่วเน่าเป็นอาหารหมักพื้นเมืองของทางภาคเหนือของประเทศไทย ทำจากถั่วเหลืองที่ผ่านการต้มจนสุกแล้วนำมาหมักด้วยจุลินทรีย์ในธรรมชาติจนมีกลิ่น สี รส และลักษณะเฉพาะตัว กรรมวิธีการหมักถั่วเน่านั้นเป็นภูมิปัญญาชาวบ้านที่ได้รับการถ่ายทอดมาจากบรรพบุรุษ ถั่วเน่าเป็นอาหารที่มีประโยชน์นอกจากใช้เป็นอาหารเสริมรสชาติแล้วยังมีคุณค่าทางโภชนาการสูงประกอบด้วย โปรตีน สารอาหารที่ย่อยสลายง่าย และสารอาหารอื่นๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย ซึ่งเชื่อว่ามีผลในการลดอัตราการเป็นโรคมะเร็งและโรคหัวใจอีกด้วย

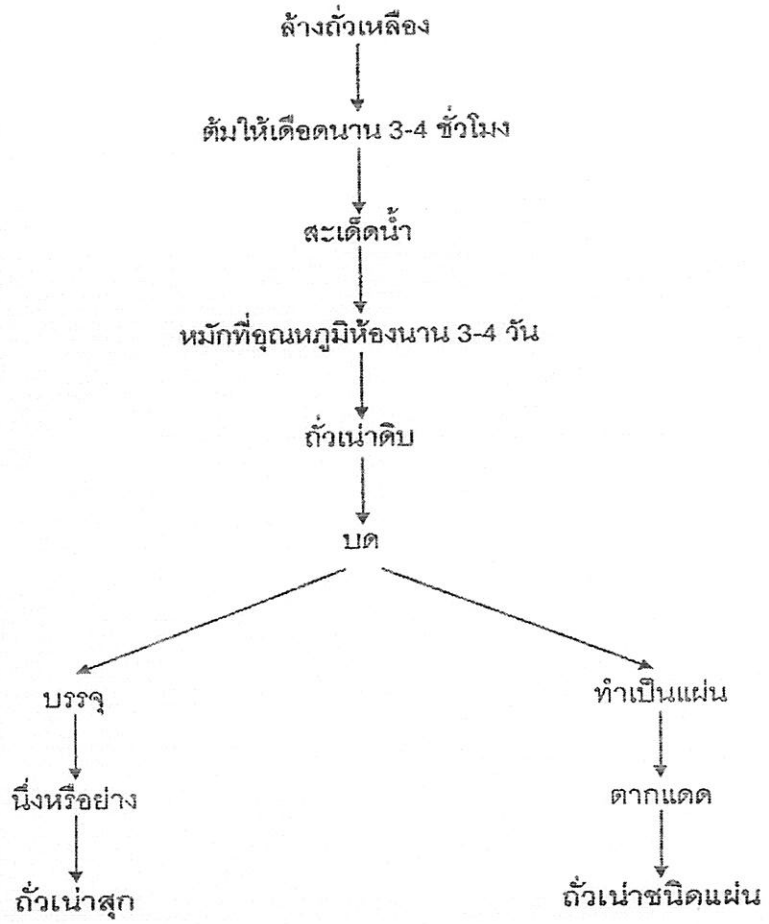
ถั่วเน่าของไทยมีความใกล้เคียงกับนัตโตะ (natto) ซึ่งเป็นอาหารพื้นเมืองของประเทศญี่ปุ่น ซึ่งได้รับการพัฒนาไปเป็นสารเพิ่มกลิ่นและรสในอาหาร และในอาหารขบเคี้ยวที่ได้รับการยอมรับอย่างแพร่หลาย นอกจากนี้ยังมีอาหารที่ทำจากถั่วเหลืองหมักที่มีลักษณะคล้ายถั่วเน่า คือ คีเนมา (kenema) ซึ่งเป็นอาหารพื้นเมืองที่ทำจากถั่วเหลืองหมักของชาวเนปาลและอินเดีย และ chungkookjang ซึ่งใช้เป็นเครื่องปรุงรสของประเทศเกาหลี

ขั้นตอนการหมักถั่วเน่า

ส่วนผสมที่สำคัญในการหมักถั่วเน่า คือ ถั่วเหลืองซึ่งเป็นแหล่งโปรตีน และจุลินทรีย์ กรรมวิธีการผลิตถั่วเน่าแบบพื้นเมือง ดังรูปที่ 10.3 ทำได้โดยการนำถั่วเหลืองมาต้มให้นิ่มแล้วหมักเป็นเวลา 3 - 4 วัน หลังจากนั้นนำมาบดและปรุงรสโดยใช้เกลือป่น เครื่องเทศ กระเทียม พริกป่น แล้วห่อด้วยใบตองนำไปนึ่งหรืออย่างก่อนรับประทาน วิธีนี้สามารถเก็บรักษา ถั่วเน่าไว้ได้นานประมาณ 2-3 วัน หรือนำถั่วเน่ามาจัดเป็นแผ่นวงกลม ผึ่งแดดให้แห้งจะเก็บไว้ได้นานเรียกเป็นภาษาเหนือว่า “ถั่วเน่าแค็บ” ใช้เป็นเครื่องปรุงรสแทนกะปิได้

บทบาทของจุลินทรีย์ในการหมักถั่วเน่า

จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องและมีบทบาทสำคัญในการหมักถั่วเน่าคือ แบคทีเรียในกลุ่มบาซิลลัส (*Bacillus* sp.) ซึ่งมีรูปร่างเป็นท่อนเห็นต่อกันเป็นสาย โดยแบคทีเรียดังกล่าวมีบทบาทสำคัญในกระบวนการหมัก คือ การผลิตเอนไซม์ย่อยสลาย (proteolytic enzymes) เพื่อย่อยสลายสารอาหารชนิดต่างๆ ในถั่วเหลืองให้มีลักษณะที่ดีหลายประการ ได้แก่ ทำให้เกิดกลิ่นรสที่ดี ช่วยย่อยสลายโครงสร้างที่ไม่พึงประสงค์ในถั่วเหลือง ช่วยเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ให้นานขึ้น เพิ่มคุณค่าทางโภชนาการและเพิ่มความสามารถในการย่อยสลายสารอาหารและการละลายช่วยให้ร่างกายดูดซึมเอาไปใช้ได้ง่ายขึ้น การเกิดลักษณะที่ดีในถั่วเหลือง ที่ผ่านการหมักจะทำให้ผู้บริโภคได้รับประโยชน์จากถั่วเหลืองมากที่สุด โดยเฉพาะประโยชน์ด้านคุณค่าทางโภชนาการ ทั้งนี้เนื่องจากการหมักจะช่วยทำลายโครงสร้างของสารที่ยับยั้งการทำงานของทริปซิน (trypsin Inhibitor) จึงทำให้ร่างกายย่อยสลายโปรตีนในถั่วเหลืองได้มากขึ้น



รูปที่ 10.3 ขั้นตอนการหมักถั่วเน่า

ที่มา : วารุณี (2545)

การผลิตถั่วเน่าแบบชาวพื้นบ้านจะควบคุมคุณภาพไม่ได้หรือประสิทธิภาพต่ำ มีการพัฒนาการใช้หัวเชื้อบริสุทธิ์ในการหมัก เพื่อทำให้คุณภาพของผลิตภัณฑ์สม่ำเสมอและปลอดภัย เนื่องจาก *Bacillus* spp. สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่ม bacteriocin , polymyxin และ urothin ซึ่งสามารถทำลายเชื้อ *Salmonella* และ *E.coli* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคทางเดินอาหารได้ ปี คศ. 2008 Awanwee et al. ทำการศึกษาคัดแยกเชื้อ *B.subtilis* จากผลิตภัณฑ์ถั่วหมัก พบว่าเชื้อ *Bacillus* spp. ที่คัดเลือกได้ 23 ไอโซเลท มี 12 ไอโซเลท มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* และ *A. westerdijkiae* NRRL 3174 และเชื้อ *Bacillus* spp. ทั้ง 23 ไอโซเลท มีความสามารถในการทำลายพิษ aflatoxin B1 (AFB_1) ได้ 74% และ ochratoxin A (OTA) ได้ 92.5% ซึ่งเป็นสารพิษที่เกิดจากเชื้อราในผลิตภัณฑ์

ปัจจุบันการผลิตถั่วเน่าแทบจะไม่ปรากฏให้เห็นในวิถีชีวิตของคนท้องถิ่น นับว่าเป็นเรื่องที่น่าเสียดายอย่างยิ่งที่ภูมิปัญญาชาวบ้านกำลังจะสูญหายไปจากท้องถิ่น อย่างไรก็ตามมีงานวิจัยที่เกี่ยวกับการหมักถั่วหลายประเภท เพื่อเป็นทางเลือกในการบริโภคโปรตีน หรือเป็นการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ให้ได้นานขึ้น อีกทั้งได้รับคุณค่าทางโภชนาการเพิ่มขึ้นอีกด้วย

4. เทมเป้ (Tempeh)

เทมเป้เป็นอาหารหมักพื้นเมืองของชาวอินโดนีเซีย ทำมาจากการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อรา *Rhizopus oligosporus* จนถั่วเหลืองมีเส้นใยสีขาวของเชื้อราปกคลุมอย่างหนาแน่น ทำให้เทมเป้มีโปรตีนที่มีคุณภาพสูง เนื่องจากผ่านการย่อยสลายโปรตีน โดย *R. oligosporus* ดังนั้นเมื่อบริโภคเทมเป้ ร่างกายจะได้รับโปรตีนที่ย่อยได้ง่ายกว่าโปรตีนในถั่วเหลือง เพราะมีองค์ประกอบที่แตกต่างกัน (ตารางที่ 10.2) แต่คนไทยไม่นิยมบริโภคเนื่องจากกลิ่นรสของเทมเป้ไม่เป็นที่ยอมรับ ดังนั้นจึงมีการนำเทมเป้ไปแปรรูปเป็นส่วนประกอบของอาหารคาวหลายชนิด

ตารางที่ 10.2 องค์ประกอบของถั่วเหลืองและเทมเป้

Constituent	Soybeans[1] (g/100 g)	Tempeh[2] (g/100 g)
Moisture	7–9	60–65
Protein	30–40	18–20
Soluble Nitrogen	<1	2–4
Carbohydrate	28–32	10–14
Fiber	4–6	1–2
Fat	18–22	4–12
pH	6–7	6–7

[1]Whole raw soybeans (prior to soaking)
[2]Fresh (wet) weight basis

ที่มา : Hutkins (2006)

ขั้นตอนการผลิตเทมเป้ (รูปที่ 10.4)

เริ่มจากการล้างถั่วเหลืองให้สะอาด นำไปต้มนานประมาณ 30 นาที จากนั้นแช่ถั่วเหลืองในน้ำที่ใช้ต้มค้างคืน ทำการลอกเปลือกถั่วเหลืองออกจนหมดแล้วล้างให้สะอาดอีกครั้ง นำไปนึ่งนาน 30-45 นาที ระยะเวลาการนึ่งขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของถั่วเหลือง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น ใส่เชื้อรา *R. oligosporus* คลุกเคล้าให้เชื้อกระจายทั่วถั่วเหลือง บรรจุใส่ถุงพลาสติกที่เจาะรูหรือใบตองให้แน่น บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง 25-30°C เป็นเวลา 24-36 ชั่วโมง จะได้ผลิตภัณฑ์เทมเป้ ที่มีลักษณะของเส้นใยของกล้าเชื้อราสีขาวขึ้นปกคลุมเมล็ดถั่ว ในขั้นตอนการผลิตนี้จะต้องระมัดระวังเรื่องความสะอาด เนื่องจากอาจมีการปนเปื้อนของเชื้อ *Bacillus* และ *Neurospora* โดย *Bacillus* ทำให้ถั่วเหลืองเน่าเสียเป็นเมือก ส่วน *Neurospora* ทำให้มีการเน่าเสียเป็นสีส้มบนถั่วเหลือง เนื่องจากเส้นใยมีสีส้ม

รูปที่ 10.4 ขั้นตอนการผลิตเทมเป้

ที่มา : Hutkins (2006)

ผลิตภัณฑ์หมักพื้นเมืองที่ให้แอลกอฮอล์จากข้าว

1. ข้าวหมาก

ข้าวหมาก จัดเป็นอาหารหมักพื้นเมืองของไทยซึ่งรับประทานเป็นของหวาน ทำจากข้าวเหนียวที่นึ่งสุกแล้ว หมักด้วยลูกแป้งข้าวหมาก จุลินทรีย์ในลูกแป้งจะเปลี่ยนแป้งในข้าวไปเป็นน้ำตาล ทำให้ข้าวมีลักษณะเละ เยิ้มน้ำและมีกลิ่นหอมเฉพาะตัว

ขั้นตอนการผลิตข้าวหมาก

(1) ข้าวเหนียว ควรใช้ข้าวเหนียวพันธุ์เขี้ยวงู เนื่องจากนึ่งสุกแล้วคงเมล็ดสวยและควรใช้ข้าวเก่าเพราะมีความชื้นน้อยกว่าข้าวใหม่

(2) ลูกแป้งข้าวหมาก เป็นแหล่งของจุลินทรีย์ที่สำคัญคือ รา *Amylomyces rouxii* ยีสต์ *Endomycopsis fibuligera* และ *Hansenula* ดังนั้นลูกแป้งที่ดีควรมีลักษณะขาวนวล น้ำหนักเบา มีกลิ่นหอม เมื่อบิลูกแป้งออกก้อนแป้งจะเป็นรูพรุน เนื่องจากเชื้อราและยีสต์ที่เจริญในลูกแป้งมีลักษณะเส้นใยสีขาวนวล และสร้างก๊าซทำให้ลูกแป้งฟู

(3) ล้างข้าวเหนียว น้ำที่ใช้ล้างควรเป็นน้ำที่สะอาด นิยมใช้น้ำต้มสุก ดังขั้นตอนการผลิตข้าวหมากรูปที่ 10.5

รูปที่ 10.5 ขั้นตอนการผลิตข้าวหมาก

ที่มา : วารุณี (2545)

ปฏิกิริยาเคมีที่เกิดขึ้นในขั้นตอนการผลิต

(1) ขั้นตอนการแช่น้ำจะทำให้ข้าวเก่ามีความชื้นเพิ่มขึ้น นึ่งสุกง่ายใช้เวลาน้อย ข้าวยังคงเมล็ดสวย

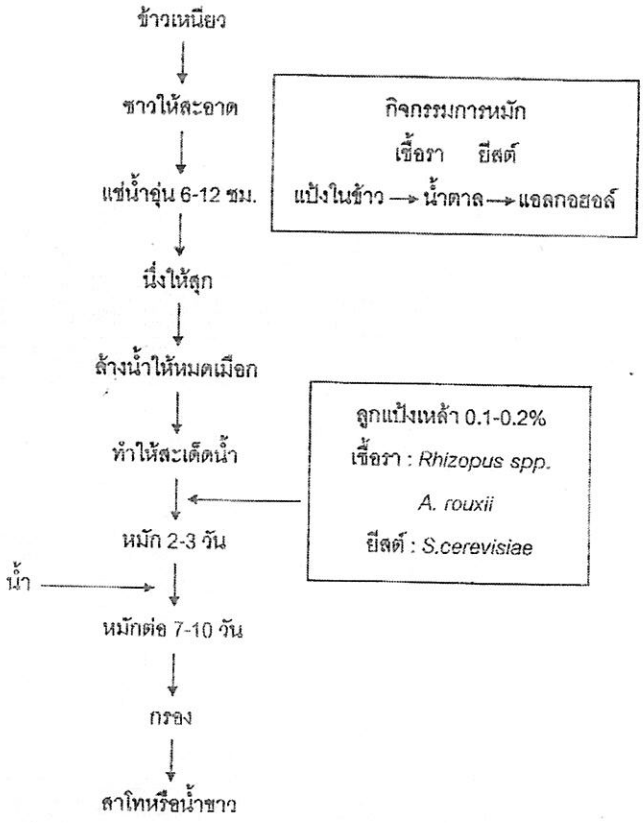
(2) ขณะนึ่งแป้งในข้าวจะเกิดสภาพ gelatinized เปลี่ยนจากสภาพแป้งดิบไปเป็นแป้งสุก

(3) การล้างเอาเมือกข้าวเหนียวออกนั้น เพื่อไม่ให้ข้าวเหนียวเกาะกันเป็นก้อน จุลินทรีย์จึงจะเจริญได้ทั่วเมล็ดข้าว

(4) เชื้อรา *A. rouxii* และยีสต์ *E. fibuligera* จะเจริญและสร้างเอนไซม์ α-amylase, β-amylase และ γ-amylaseเพื่อย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลมอลโตสและกลูโคส และ *Hansenula* จะเจริญและสร้างกลิ่นเฉพาะตัวของข้าวหมาก

2. สาโท

สาโท เป็นเครื่องดื่มประเภทแอลกอฮอล์พื้นบ้านของไทย ทำจากการหมักข้าวเหนียวนึ่งด้วยลูกแป้งเหล้า โดยหมักในโอ่งหรือไห สาโทเป็นชื่อที่เรียกกันทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลางเรียกว่าน้ำขาว เนื่องจากทำจากข้าวเหนียวขาว ถ้าทำมาจากข้าวเหนียวแดงเรียกว่า น้ำแดง บางท้องที่เรียกว่า กระแช่ แต่กระแช่บางท้องที่เรียกว่า “น้ำตาลเมา” ซึ่งทำมาจากน้ำตาลสดของต้นตาลโตนดหรือมะพร้าว สาโทตามความหมายในพระราชบัญญัติสุรา พ.ศ. 2493 จัดรวมอยู่ในสุราแช่ หมายถึงสุราที่ไม่ได้กลั่นและหมายความรวมถึงสุราแช่ที่ผสมกับสุรากลั่นแล้ว แต่ยังคงมีความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ไม่เกิน 15% โดยประมาณ ดังขั้นตอนการผลิตสาโทรูปที่ 10.6

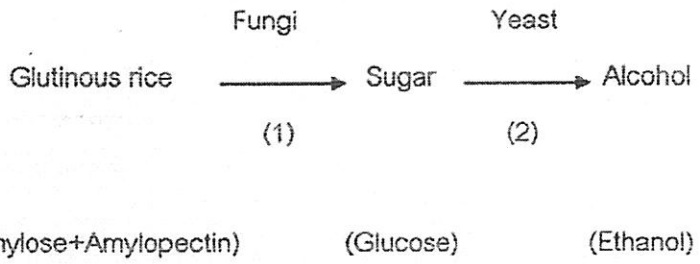


รูปที่ 10.6 ขั้นตอนการผลิตสาโท

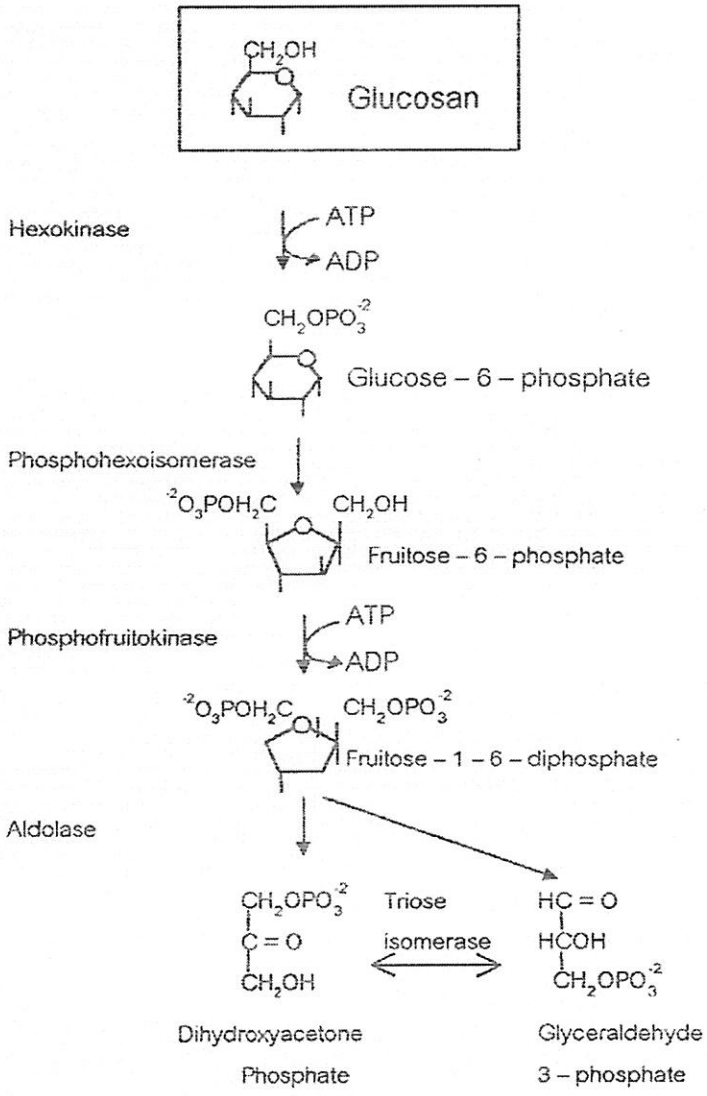
ที่มา : วารุณี (2545)

จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในการหมักสาโท

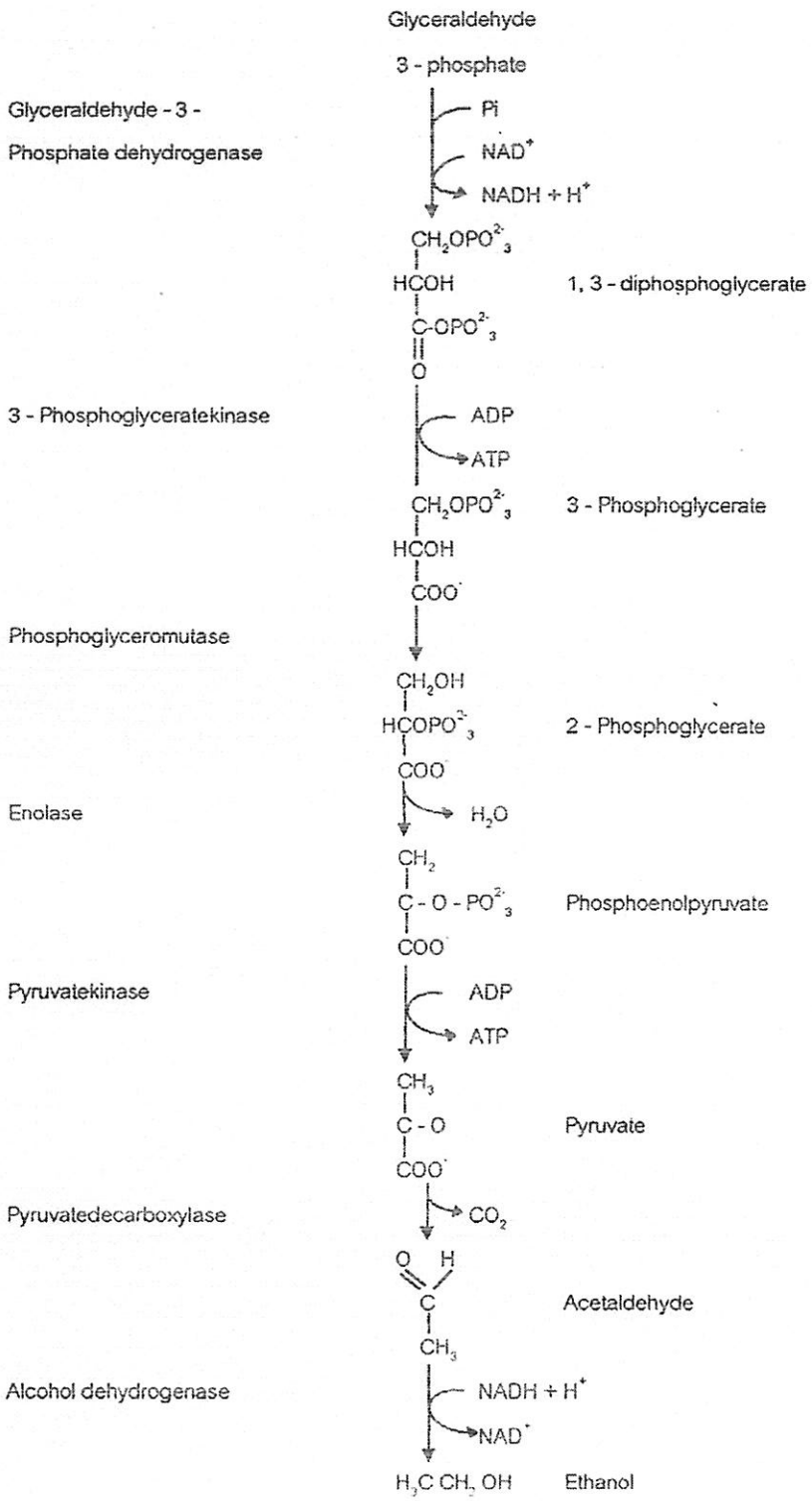
ประกอบด้วยจุลินทรีย์ยูคาริโอตในกลุ่มของฟังไจ 2 ประเภทคือเชื้อรา *A. rouxii* , *Rhizopus* spp. และยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* จุลินทรีย์เหล่านี้ได้รับสารอาหารสำหรับการเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนเซลล์ สำหรับปฏิกิริยาการหมัก ซึ่งมีอยู่อย่างครบถ้วนสมบูรณ์ในจากวัตถุดิบซึ่งเป็นข้าว ปฏิกิริยาในการหมักสาโทจัดเป็น Multiparallel fermentation หมายถึงกระบวนการหมักที่มีหลายปฏิกิริยาและจะเกิดขึ้นพร้อมๆ กัน ซึ่งแบ่งเป็นสองขั้นตอนตามสภาวะของการหมักและประเภทของจุลินทรีย์ ดังรูปที่ 10.7 เริ่มจากขั้นตอนที่หนึ่ง เป็นกระบวนการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล (Saccharification) โดยราสร้างเอนไซม์กลุ่มอะไมเลสออกมาย่อยแป้ง ขั้นตอนที่สองคือการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสไปเป็นแอลกอฮอล์ โดยยีสต์ *S. cerevisiae* ใช้เอนไซม์ผ่านวิธีการย่อยสลายโมเลกุลแบบ Embden Meyerhof Pathway ดังรูปที่ 10.8



รูปที่ 10.7 ขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงแป้งเป็นแอลกอฮอล์
ที่มา : วารุณี (2545)



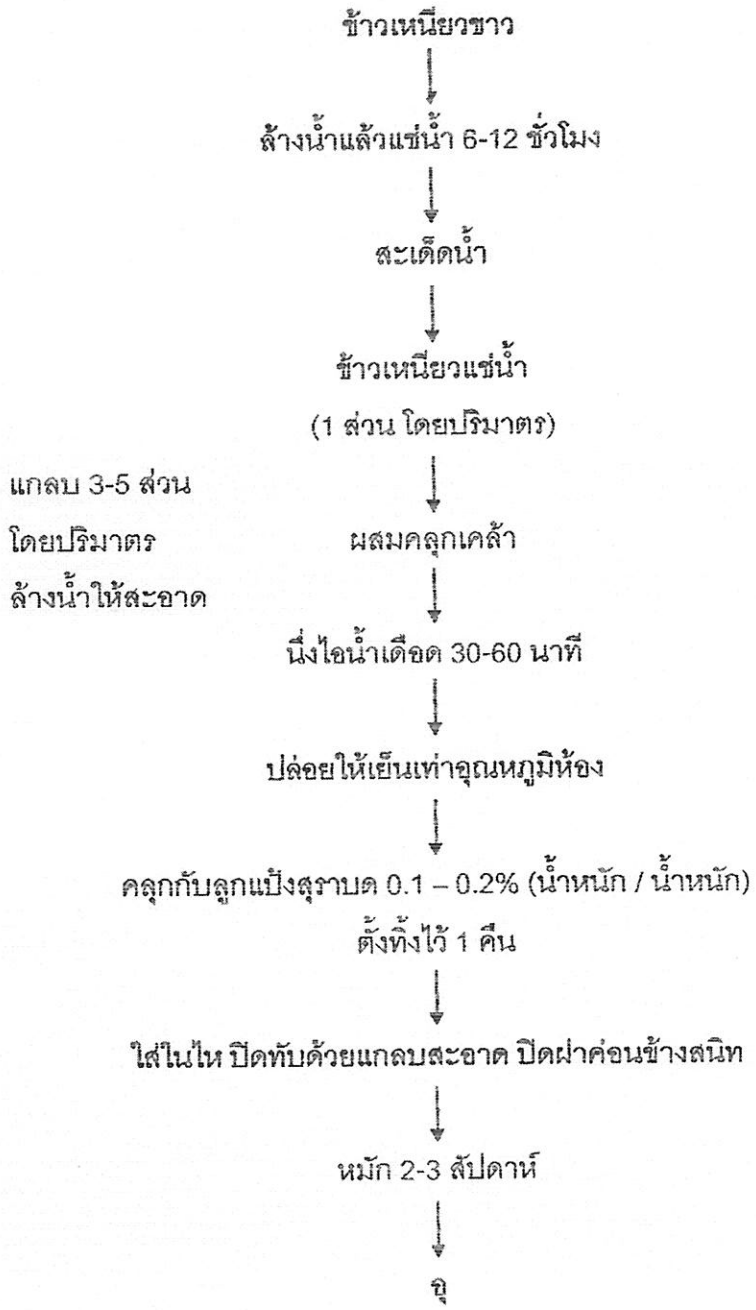
รูปที่ 10.8 ปฏิกิริยาเคมีที่เกิดขึ้นในขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงแป้งเป็นแอลกอฮอล์ในการหมักสาโท
ที่มา : วารุณี (2545)



รูปที่ 10.8 ปฏิกิริยาเคมีที่เกิดขึ้นในขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงแป้งเป็นแอลกอฮอล์ในการหมักสาโท (ต่อ)
ที่มา : วารุณี (2545)

3. อุ

อุ เป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์พื้นบ้านของไทย ซึ่งมีกระบวนการผลิตคล้ายกับสาโท แต่มีการเติมแกลบ ทำให้ได้รสชาติต่างจากสาโท ซึ่งกระบวนการผลิตดังรูปที่ 10.9



รูปที่ 10.9 กระบวนการผลิตอุ

ที่มา : วารุณี (2545)

บทที่ 11
ความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์อาหารหมัก

ผลิตภัณฑ์อาหารหมักเกิดจากการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของวัตถุดิบให้ได้ผลิตภัณฑ์อาหารที่มีคุณสมบัติตามที่ต้องการ โดยกระบวนการหมักซึ่งไม่ต้องผ่านกระบวนการให้ความร้อน ดังนั้นจึงมีความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นอันตรายในผลิตภัณฑ์อาหารนั้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งในอาหารหมักแบบวิธีดั้งเดิม ถ้าไม่มีการควบคุมให้ดีก็อาจจะทำให้อาหารหมักที่ได้ไม่ปลอดภัยต่อการบริโภค เช่น แหนม ส้มฟัก ซึ่งเป็นการหมักปลาหรือเนื้อโดยใช้เชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก ซึ่งมีโอกาสที่เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารที่มีความสามารถต่อสภาวะความเป็นกรดอยู่รอดในผลิตภัณฑ์ การหมักซีอิ้วอาจเสี่ยงต่อการปนเปื้อนของเชื้อ *Aspergillus flavus* มากับการเตรียมกล้าเชื้อ *Aspergillus oryzae* เป็นต้น อย่างไรก็ตามขั้นตอนในกระบวนการหมักอาหารแบบดั้งเดิมนี้ จะมีระบบป้องกันการป้องกันการปนเปื้อนโดยธรรมชาติ ซึ่งพบว่าในการผลิตกะหล่ำปลีดองของเกาหลีหรือกิมจิ สภาวะความเป็นกรดที่เพิ่มขึ้นและการสร้างสารแบคเทอริโอซิน (bacteriocin) ทำให้จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคที่ปนเปื้อนมาตายภายในหนึ่งสัปดาห์ของการหมัก จึงนับได้ว่าการหมักเป็นเทคนิคการถนอมอาหารที่ทำให้อาหารหมักปลอดภัยได้

การควบคุมการแปรรูปอาหาร ด้วยวิธีหมัก

เทคนิคการหมักได้รับการถ่ายทอดมาจากภูมิปัญญาของคนรุ่นเก่า ซึ่งอาศัยความชำนาญประสบการณ์ การสังเกตและลองผิดถูก คุณภาพผลิตภัณฑ์ที่ได้จึงไม่คงที่ ปัญหาเหล่านี้มีสาเหตุมาจากผู้ผลิตขาดความรู้ความเข้าใจในเชิงวิทยาศาสตร์ โดยเฉพาะบทบาทสำคัญของจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในอาหาร ไม่สามารถเข้าใจถึงขั้นตอนการเกิดกระบวนการหมัก ขาดเทคโนโลยีที่เหมาะสมในการผลิต รวมถึงข้อมูลการพัฒนากระบวนการหมักจากงานวิจัยที่ทำให้ได้กระบวนการผลิตมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น

ปัจจุบันได้มีการพัฒนาเทคนิคการหมัก โดยประยุกต์ความรู้ทางวิทยาศาสตร์มาใช้มากขึ้น เพื่อให้ประสิทธิภาพการหมักสูง ส่งผลต่อคุณภาพที่ดี คงคุณภาพการผลิตได้สม่ำเสมอ และสามารถผลิตได้ในระดับอุตสาหกรรม เทคนิคดังกล่าวเช่น การพัฒนากระบวนการหมัก การคัดเลือกสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ การใช้เอนไซม์ช่วยเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายสารบางชนิดที่มีในอาหาร รวมทั้งการจัดสภาวะแวดล้อมให้เหมาะสมกับกิจกรรมของจุลินทรีย์ เป็นต้น ทำให้อาหารหมักหลายชนิดมีคุณภาพสูงขึ้นและสม่ำเสมอปลอดภัยต่อผู้บริโภค จนสามารถผลิตเป็นอุตสาหกรรมใหญ่และส่งออกไปขายต่างประเทศได้ เช่น น้ำปลา ปลาร้า ไวน์ เป็นต้น

การหมักอาหารเป็นเทคนิคที่มีลักษณะเฉพาะและมีประสิทธิภาพสูงในการถนอมอาหาร ด้วยความแตกต่างของวัฒนธรรมและลักษณะทางภูมิศาสตร์ได้ทำให้อาหารหมักมีความหลากหลาย ทั้งด้าน

รสชาติและกลิ่นเฉพาะของผลิตภัณฑ์ อาหารหมักส่วนใหญ่จะมีการผลิตเพื่อการค้าในระดับครัวเรือนหรือผู้ประกอบการขนาดเล็ก แต่ก็มีหลายผลิตภัณฑ์ที่ได้รับความนิยมจนมีการผลิตในระดับอุตสาหกรรมภายในประเทศและส่งออกไปขายต่างประเทศ

ด้วยความก้าวหน้าทางวิทยาการและการพัฒนาการค้าระหว่างประเทศ ผู้ผลิตจึงให้ความสนใจต่อขั้นตอนการหมักและผลิตภัณฑ์อาหารหมักในมุมมองใหม่ๆ ซึ่งได้ส่งผลให้เกิดความร่วมมือในทางด้านการศึกษาและการค้า ขณะที่การผลิตอาหารหมักแบบดั้งเดิมให้ความสำคัญในเรื่องการถนอมอาหารให้มีอายุการเก็บรักษานาน แต่ความก้าวหน้าทางวิทยาศาสตร์แสดงให้เห็นถึงคุณประโยชน์อีกมากมายของอาหารหมัก เช่น การผลิตอาหารหมักเพื่อสุขภาพ การใช้ประโยชน์จากสารถนอมอาหารที่ผลิตจากจุลินทรีย์ (biopreservatives) เพื่อให้เกิดความปลอดภัยในผลิตภัณฑ์ เป็นต้น ปัจจุบันมีการศึกษาค้นคว้าและนำวิชาการแขนงต่างๆ มาใช้ในการพัฒนาเทคโนโลยีการหมักในประเทศด้อยพัฒนาหรือกำลังพัฒนามากขึ้นเป็นลำดับ ซึ่งเป็นต้นแบบของการใช้เทคโนโลยีชีวภาพในการพัฒนาและผลิตอาหารและผลิตภัณฑ์อย่างแพร่หลาย สำหรับประเทศไทยควรมีการศึกษาทั้งระดับพื้นฐานการหมักเพื่อให้เข้าใจในกระบวนการหมักอย่างลึกซึ้งและสามารถถ่ายทอดสู่ผู้สนใจทั่วไป ไม่ควรจำกัดอยู่เพียงระดับครัวเรือนหรือถ่ายทอดเฉพาะภายในครอบครัวเท่านั้น ซึ่งอาจจะทำให้ความรู้ด้านเทคโนโลยีที่มาจากภูมิปัญญาสูญไป นอกจากนี้ควรมีการศึกษาถึงเทคโนโลยีของกระบวนการหมักเพื่อพัฒนาให้สามารถผลิตอาหารหมักให้มีมาตรฐาน ปลอดภัยจากจุลินทรีย์ก่อโรคและสารพิษ จนสามารถพัฒนาไปสู่การพึ่งพาตัวเองได้อย่างยั่งยืน

การพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารที่ให้มีคุณภาพและปลอดภัยนั้น ต้องมีการควบคุมปัจจัยหลายอย่าง เช่น ปัจจัยที่มีต่อการควบคุมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และเมแทบอลิซึมของจุลินทรีย์ในการหมักอาหาร กรด แอลกอฮอล์ ชนิดและการใช้หัวเชื้อ อุณหภูมิ ออกซิเจน และเกลือ รายละเอียดของแต่ละปัจจัยมีดังนี้

1. กรด (Acid)

กรดมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ กรดที่กล่าวถึงนี้รวมถึงกรดที่เติมลงในอาหารหรือที่มีอยู่ในส่วนประกอบของอาหารหรือกรดที่เป็นผลจากการสร้างขึ้นในระหว่างการหมัก อย่างไรก็ตาม ประสิทธิภาพการทำลายจุลินทรีย์จะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของกรด ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดของกรดและชนิดของจุลินทรีย์ เช่น กรดอะซิติกความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ ทำลายแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ได้ภายในระยะเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ในขณะที่กรดแลกติกความเข้มข้นเพียง 0.75 เปอร์เซ็นต์ สามารถทำลายแบคทีเรียดังกล่าวในสภาพเดียวกัน

2. แอลกอฮอล์ (Alcohol)

แอลกอฮอล์มีคุณสมบัติที่เป็นสารถนอมอาหารได้ ส่วนประสิทธิภาพการทำลายจุลินทรีย์โดยแอลกอฮอล์ขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์และความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ กรณีของไวน์ เปอร์เซนต์ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ขึ้นกับความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มในผลองุ่น ชนิดของยีสต์ที่ใช้ อุณหภูมิ

ของการหมักและระดับของออกซิเจน เป็นต้น ยีสต์ไม่สามารถที่จะทนต่อแอลกอฮอล์และสารพลอยได้จากการหมักของตัวมัน โดยยีสต์หลายชนิดสามารถทนต่อแอลกอฮอล์ได้เพียง 12-15 เปอร์เซนต์โดยปริมาตร แต่ในไวน์ที่ผลิตโดยทั่วไปจะมีแอลกอฮอล์อยู่เพียง 9-13 เปอร์เซนต์เท่านั้น ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ในระดับนี้ไม่เพียงพอต่อการถนอมไวน์ไม่ให้เสื่อมเสีย จากการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ ดังนั้น จึงจำเป็นต้องใช้เทคนิคอื่นร่วมด้วยโดยการนำไวน์ไปผ่านการให้ความร้อนระดับพาสเจอไรซ์เพื่อความมั่นใจในความปลอดภัย

3. อุณหภูมิ (Temperature)

การหมักด้วยกล้าเชื้อผสม (mixed fermentation) เช่น การหมักผักกะหล่ำปลีดอง (sauerkraut) จุลินทรีย์ที่สร้างกรด ความเข้มข้นของกรดที่ได้จะขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการเจริญที่อุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการหมักนั้น ที่ส่งผลต่อความเข้มข้นของกรดสุดท้าย ของการหมัก

4. ออกซิเจน (Oxygen)

อากาศที่มีอยู่ในสภาพของการหมักเป็นตัวบ่งถึงชนิดของจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรีย *Acetobacter* ที่ใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชูต้องการออกซิเจนในระหว่างการหมัก ส่วนยีสต์ที่ใช้ในการผลิตแอลกอฮอล์จากน้ำตาลจะเกิดขึ้นได้ดีในสภาพที่ปราศจากออกซิเจน เป็นต้น ดังนั้นในการหมักจึงอาจใช้การแยกอากาศ หรือออกซิเจนออกจากสภาพแวดล้อมของการหมัก เกื้อหนุนหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

5. เกลือ (Salt)

เราสามารถจำแนกชนิดของจุลินทรีย์ได้อีกวิธีหนึ่ง โดยอาศัยคุณสมบัติในการทนเกลือ ความเข้มข้นของเกลือสามารถกำหนดชนิดของจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องได้ เช่น แบคทีเรียในกลุ่มที่สร้างกรดแลคติก (Lactic acid bacteria) ซึ่งใช้ในการหมักผักดองและไส้กรอกหมัก สามารถทนความเข้มข้นของเกลือได้ถึง 10-18 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่จุลินทรีย์ในกลุ่ม proteolytic organisms และจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเสื่อมเสียของผักดองสามารถทนเกลือได้ไม่เกิน 2.5 เปอร์เซ็นต์ แต่จะไม่สามารถทนเกลือได้ ถ้าในน้ำหมักนั้นมีทั้งกรดและเกลือ

แม้ว่าเทคโนโลยีการแปรรูปผลิตภัณฑ์อาหารหมักจะทำให้ผลิตภัณฑ์มีมาตรฐานคุณภาพสูงขึ้น แต่หลักการของกระบวนการหมักตั้งแต่ดั้งเดิมก็ยังคงไม่เปลี่ยนแปลง เมื่อนำเทคนิคมาประยุกต์ในระดับอุตสาหกรรม ทำให้มีความหลากหลายของผลิตภัณฑ์มากมาย ดังตารางที่ 11.1

ตารางที่ 11.1 ชนิดของอาหารหมักและวัตถุดิบที่ใช้ในการหมัก

Name of product	*Major ingredient(s)*	*Functional microorganisms*
quark	cows' milk	lactic acid bacteria (LAB)
yogurt	cows' milk	LAB
sauerkraut	white cabbage	LAB
cultured milk ("karnemelk")	cows' milk	LAB
treated black olives	olives	LAB
gouda cheese	cows' milk	LAB
raw fermented sausages	pork and/or beef meat	LAB
yeast-leavened bread	wheat flour	yeasts (Y)
lager beer	barley, hops	Y
white wine	grapes	Y
sherry	grapes	Y
lager beer	barley, hops	Y
gruyère cheese	cows' milk	LAB + propionibacteria
pumpernickel bread	rye flour	LAB + Y
mixed sourdough bread	rye + wheat flour	LAB + Y
camembert cheese	cows' milk	LAB + molds
raw fermented sausage	pork and/or beef meat	LAB + molds
soy sauce	soybeans and wheat	Molds + LAB + Y
tempeh	soybeans	LAB + Molds + Y

ที่มา : Nout (2001)

ทั้งนี้ในกระบวนการผลิตอาหารให้มีมาตรฐานคุณภาพความปลอดภัย ต้องมีการจัดการป้องกันอันตรายอย่างเป็นระบบโดยใช้หลักการของการวิเคราะห์จุดควบคุมอันตราย (HACCP) ซึ่งอันตรายที่กล่าวถึง คือสิ่งที่มีผลต่อสุขภาพของผู้บริโภคที่มีสาเหตุมาจากอันตรายทั้ง 3 ด้าน ด้านชีวภาพ เคมี หรือกายภาพ (ตารางที่ 11.2) ดังนั้นการใช้เทคนิคใดๆในกระบวนการหมักต้องทราบถึงขั้นตอนหรือกระบวนการหมักทุกขั้นตอน และต้องมีกระบวนการวิเคราะห์ความเสี่ยงของอันตรายทั้ง 3 ด้านในแต่ละขั้นตอน อุตสาหกรรมการหมักมีการใช้จุลินทรีย์เป็นหลัก ฉะนั้นการคัดเลือกจุลินทรีย์เพื่อนำมาใช้ในกระบวนการเป็นสิ่งสำคัญที่ต้องพิจารณาอย่างเข้มงวด ว่าเป็นสายพันธุ์ที่ไม่ก่อโรคหรือสร้างสารพิษ

จุลินทรีย์ที่ใช้เป็นกล้าเชื้อในการหมักอาหารจะมี 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มแบคทีเรีย ยีสต์และรา ดังตารางที่ 11.3

ตารางที่ 11.2 ตัวอย่างอันตรายที่มีผลต่อความปลอดภัยของผู้บริโภค

Nature	*Type of Causative Agents*	*Specific Examples*	*Illness*
Biological	Pathogenic microorganisms	Bacteria (*Salmonella* spp.)	Enteric infections
		Viruses (Rotavirus)	
		Parasites (*Cryptosporidium* spp.)	
	Toxigenic microorganisms	Mycotoxin-producing fungi (*Aspergillus flavus*)	Liver cancer
		Toxin-forming bacteria (*Clostridium botulinum*)	Respiratory failure
		Biogenic amine-forming bacteria (Enterobacteriaceae)	Hypertension
Chemical	Phytotoxins	Cyanogenic glycosides (linamarin) in cassava tubers	Cyanide intoxication
	Environmental contaminants	Pesticides	Intoxications
		Veterinary drugs	
		Heavy metals	
	Toxic metabolites	Biogenic amines (e.g., in fish)	Hypertension
	Food additives and ingredients	Preservatives	Allergies
		Colorants	
Physical	Foreign matter	Glass	Injuries (cuts, perforations)
		Metal	

ที่มา : Nout (2001)

ตารางที่ 11.3 ประเภทของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ที่พบในอาหารหมัก

Microbial Group	*Species*	*Fermented Foods*	*Importance of Fermentation for Product Characteristics*
Bacteria	Lactic acid bacteria: *Lactobacillus delbrückii* ssp. *bulgaricus* and *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*	Yogurt	Contribute to flavor, shelf life, structure, and consistency by the production of lactic acid, acetaldehyde, diacetyl, and polysaccharides
Yeasts	*Saccharomyces cerevisiae*	Alcoholic beverages (beers, wines)	Produce ethanol, CO_2, and flavor
Molds	*Aspergillus sojae*	Soy sauce	Form proteolytic and saccharolytic enzymes, enabling solubilization and flavor production

ที่มา : Nout (2001)

ความหลากหลายของผลิตภัณฑ์อาหารหมักขึ้นอยู่กับความแตกต่างขององค์ประกอบในวัตถุดิบที่ใช้ในการหมัก ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์และเอนไซม์ที่นำมาใช้ในการหมัก โดยหลักการแล้วการหมักจะหมายถึงกระบวนการย่อยสลายน้ำตาลโดยจุลินทรีย์ในสภาวะที่ไม่ต้องการออกซิเจน แต่ก็มีจุลินทรีย์บางกลุ่มต้องการเจริญภายใต้สภาวะที่ต้องการออกซิเจน เช่น การหมักโดยใช้กล้าเชื้อราที่ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโตเพื่อผลิตเอนไซม์และสารเมทาบอไลท์ตามต้องการ ดังตารางที่ 11.4 แสดงตัวอย่างชนิดของผลิตภัณฑ์อาหารหมักชนิดต่างๆ และจุลินทรีย์และเอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง รวมถึงปัจจัยความต้องการออกซิเจน ลักษณะทางกายภาพและการนำไปใช้ในระดับอุตสาหกรรม

ตารางที่ 11.4 ตัวอย่างของกระบวนการแปรรูปอาหารหมัก

Food Group	*Fermented Food*	*Mode of Consumption*	*Microorganisms and Major Products**	*Enzymic Modifications of The Product*	*Oxygen Requirement*	*Physical State*	*Industrialization†*
Starchy crops: cassava	Agbéli mawè	Cooked paste	Lactic acid bacteria forming lactic and acetic acid	Degradation of starch and cell walls	Aerobic	Solid	1–2
Cereals: wheat and rye	Sourdough	Bread	Lactic acid bacteria and yeasts forming lactic and acetic acid, and carbon dioxide	Degradation of starch and maltose	Anaerobic	Solid	1–4
Legumes: soybean	Tempeh	Fried snacks or cooked side dish	Molds forming mycelium and enzymes	Degradation of protein, cell walls, and lipids	Aerobic	Solid	1–3
Vegetables: cabbage	Sauerkraut	Vegetable dish or relish	Lactic acid bacteria forming lactic acid		Anaerobic	Immersed in liquid	1–4
Fruits: grape	Wine	Alcoholic beverage	Yeasts (and occasionally lactic acid bacteria) forming ethanol and flavor		Anaerobic	Liquid	1–4
Meats: pork and beef	Raw dried sausages	Hearty food ingredient or snack	Micrococcaceae, lactic acid bacteria (and occasionally molds) forming organic acids and flavor and stabilizing meat color	Degradation of lipids	Anaerobic	Solid	1–4
Milk: cow, buffalo	Yogurt	Breakfast or dessert	Lactic acid bacteria forming lactic acid, acetaldehyde, and diacetyl and providing structure	Degradation of proteins	Anaerobic	Liquid	1–4
Milk: cow, sheep, goat	Soft cheeses	Sandwiches and snacks	Lactic acid bacteria and molds forming acidity, release enzymes for ripening and flavor development	Degradation of proteins and lipids	Aerobic	Solid	1–4

*Mention is made only of functional groups of microorganisms.
†1, home-produced; 2, village style; 3, national market; 4, international market.

ที่มา : ดัดแปลงจาก Nout (2001)

การควบคุมอันตรายจากเชื้อแบคทีเรียในกระบวนการหมัก

การควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการในอาหารโดยใช้ความร้อน สามารถทำได้โดยการพาสเจอร์ไรซ์หรือสเตอริไรซ์ เช่น นม ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์และอาหารกระป๋อง หรือควบคุมโดยผ่านกระบวนการทำปลอดเชื้อตามธรรมชาติด้วยปัจจัยของกระบวนการหมัก เช่น การทำลายโครงสร้างของเซลล์ การใช้สภาวะความเป็นกรด-ด่างต่ำ หรือทำให้ค่า A_w ต่ำ ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารหรือสารพิษที่สร้างขึ้น วัตถุดิบที่ใช้ในกระบวนการหมักอาหาร เช่น ผลไม้ ผัก เนื้อ ปลา นมและไข่ สามารถปนเปื้อนจากแบคทีเรียได้จากธรรมชาติของสิ่งแวดล้อมของผักผลไม้นั้น ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของการหมัก (เช่น lactic acid, alcoholic หรือ mold) คุณภาพความปลอดภัยของอาหารหมักจะพิจารณาเกณฑ์การปนเปื้อนของแบคทีเรียก่อโรคชนิดต่างๆ เช่น *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus cereus*, *Campylobacter*, *Clostridium botulinum*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Shigella*, *Stapphylococcus aureus*, *Vibrio* spp. และ *Yersinia enterocolitica* ดังตารางที่ 11.5

ตารางที่ 11.5 สภาวะการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค

Organism	*Minimum pH*	*Minimum Temperature*	*Minimum A_w (Max % NaCl)*
Aeromonas hydrophila	< 4.5	> 0.0, < 4.0	–
			(5–6%)
Bacillus cereus	5.0	4.0	0.93
Campylobacter	4.9	30.0	> 0.987
			(1.5%)
Clostridium botulinum			
Group 1: Proteolytic	4.6	10.0–12.0	–
Group 2: Nonproteolytic	5.0	3.3	(10%)
			(5%)
Escherichia coli	4.4	7.0–8.0	0.95
Listeria monocytogenes	4.4	–0.4	0.92
Salmonella	3.8	5.2*	0.94
Shigella	4.9–5.0	6.1–7.9	–
			(3.78–5.18%)
Staphylococcus aureus			
Growth	4.0	7.0	0.83
Toxin production	4.5	10.0	0.87
Vibrio cholerae	5.0	10.0	0.97
			(4.0%)
Vibrio parahemolyticus	4.8	5.0	0.94
			(10%)
Yersinia enterocolitica	4.2	–1.3	–
			(> 5%,< 7%)

*Most serotypes fail to grow below 7 °C.

ที่มา : Beumer (2001)

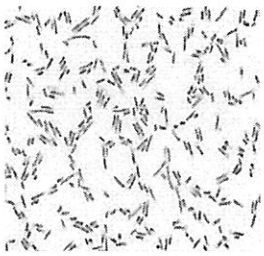
ความสามารถของจุลินทรีย์ในการทำให้เกิดโรค มี 2 วิธี

1. การเข้าทำลายเนื้อเยื่อโดยตรง ซึ่งจะใช้เวลาสั้นๆ จะตรวจพบได้ก็ต่อเมื่อเนื้อเยื่อของเจ้าบ้าน (host) เกิดความเสียหายแล้ว เช่น *Diplococcus pneumomiae*

2. สารพิษ จะปะปนไปกับน้ำเหลืองหรือโลหิตมีผลให้เกิดพิษต่อเซลล์ในส่วนต่างๆ ของร่างกายที่ห่างไกลจากบริเวณที่รับเชื้อ โดยจะใช้เวลานานกว่าอย่างน้อยต้องรอเวลาให้แบคทีเรียเพิ่มจำนวนในเนื้อเยื่อก่อน สารพิษโดยส่วนใหญ่สร้างจากแบคทีเรียแกรมบวก (บางชนิดสามารถสร้างโดยแบคทีเรียแกรมลบ) เรียกว่า **เอ็กโซทอกซิน (exotoxin)** จุลินทรีย์จะผลิตสารพิษแล้วปล่อยออกจากเซลล์ขณะที่เชื้อยังเจริญอยู่ โดยที่สารพิษไม่มีผลทำลายตัวเชื้อ (ไม่เกิด autolysis) exotoxin เป็นสารประกอบพวกโปรตีน ส่วนสารพิษที่สร้างจากแบคทีเรียแกรมลบ เรียกว่า **เอนโดทอกซิน (endotoxin)** เป็นสารพวก lipopolysaccharide ของผนังเซลล์จะปล่อยออกมานอกเซลล์ก็ต่อเมื่อเซลล์เกิด autolysis หรือเซลล์แตก เอนโดทอกซินจะมีความร้ายแรงและความจำเพาะน้อยกว่าเอ็กโซทอกซิน

ตัวอย่างของแบคทีเรียที่พบการปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์อาหารหมัก

Aeromonas

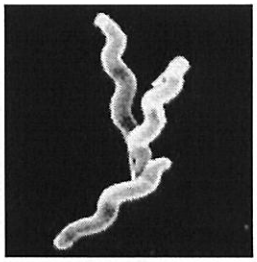


Aeromonas hydrophila

เป็นแบคทีเรียรูปแท่งแกรมลบ สามารถเจริญได้ในสภาพที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) ทำให้เกิดอาการท้องเสีย โดยพบเชื้อนี้ในแหล่งน้ำ ผลิตภัณฑ์จากอาหารทะเล เนื้อสัตว์ เนื้อสัตว์ปีก และผลิตภัณฑ์จากน้ำนม

Campylobacter jejuni

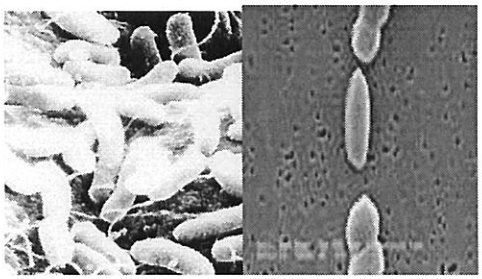
เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างแท่ง (rod) เซลล์มีขนาดเล็กแตกหักเป็นท่อนๆ บางครั้งเป็นรูปโค้ง หรือเป็นเกลียว ไม่สร้างสปอร์ เคลื่อนที่ได้ ต้องการอากาศเพียงเล็กน้อย (microaerophilic) ก่อให้เกิดโรค Campylobacteriosis จากการรับประทานอาหารที่มีเชื้อนี้อยู่ในปริมาณสูง ทำให้เกิดอาการท้องเสีย ปวดท้อง เป็นไข้ และวิงเวียน เป็นระยะเวลาประมาณตั้งแต่ 1 วันจนถึงหลายสัปดาห์ แต่มักไม่ทำให้เสียชีวิต อาหารที่ปนเปื้อนและทำให้เกิดการระบาดของโรค เช่น เครื่องในไก่ น้ำนมดิบหรือน้ำนมพาสเจอไรส์ที่ให้ความร้อนไม่เพียงพอ เนื้อสัตว์ปีกที่ดิบหรือไม่ทำให้สุก



Campylobacter jejuni

***Vibrio* spp.**

Vibrio cholerae เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปแท่งโค้ง (curve rod) ที่มี flagella ที่ขั้ว 1 เส้น (polar flagella) ช่วยการเคลื่อนที่และมีเอนไซม์ออกซิเดส จึงแตกต่างจากเชื้อในวงศ์ Enterobacteriaceae เชื้อนี้เป็นสาเหตุของอหิวาตกโรค *V. cholerae* แบ่งเป็นสองกลุ่ม คือ 01 และ non-01 เชื้อกลุ่มหลังสามารถทำให้เกิดโรคอุจจาระร่วงแบบอ่อน ๆ จนถึงที่มีอาการคล้ายอหิวาตกโรค

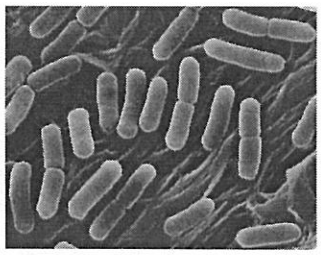


Vibrio cholerae *V. parahaemolyticus*

V. parahaemolyticus เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปแท่ง สามารถเจริญได้ในสภาพที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) ไม่สร้างสปอร์ มีแคปซูล เคลื่อนที่ได้ และไม่หมักน้ำตาล sucrose เจริญได้ที่อุณหภูมิระหว่าง 15-42°C แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตคือ 30-35°C ช่วงพีเอชที่เหมาะสมที่สุดในการเจริญเติบโตคือ 7.6-8.6 พบการปนเปื้อนในอาหารทะเลต่างๆ หรือมีการปนเปื้อนเชื้อภายหลังการปรุงอาหารทะเลที่ปรุงสุกแล้ว และมีการเก็บอาหารในอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสม

***Escherichia coli* O157:H7**

E. coli จัดเป็นพวกแบคทีเรีย โคลิฟอร์ม มีรูปร่างเป็นท่อนตรง ติดสีแกรมลบ ไม่สร้างเอนโดสปอร์ มีแคปซูลบางๆ ห่อหุ้ม สายพันธุ์ส่วนใหญ่เคลื่อนที่โดยใช้แฟลกเจลลาที่มีอยู่รอบตัว (peritricus flagella) สามารถเจริญได้ในสภาพที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) สามารถหมักแลคโตสได้ พบจำนวนมากในลำไส้ใหญ่ของคนและสัตว์เลือดอุ่น จึงนิยมใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ว่ามีอุจจาระปนเปื้อนในน้ำและอาหาร นอกจากนี้ยังพบได้บ่อยที่สุดในการติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ แผลติดเชื้อและโลหิตเป็นพิษ บางสายพันธุ์ของ *E.coli* เป็นเชื้อก่อโรคในลำไส้ ปัจจุบันพบ *E. coli* สายพันธุ์ใหม่ที่ทำให้เกิดโรค ชนิดที่สร้างสารพิษและชนิดที่ทำให้เกิดการทำลายเซลล์ คือ Enteropathogenic *E. coli* (EPEC), Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC), Entero-invasive *E. coli* (EIEC), Enterohaemorrhagic *E. coli* (EHEC)

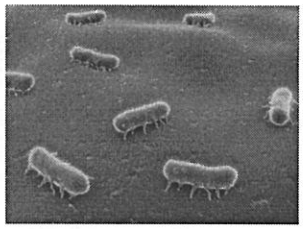


Escherichia coli O157:H7

E. coli ที่จัดอยู่ในกลุ่ม EPEC อาจสร้างสารพิษที่ทำให้เกิดโรคด้วย และต่างจากสารพิษที่กลุ่ม ETEC สร้าง ซึ่งพบว่า สารพิษที่กลุ่ม ETEC สร้างก่อให้เกิดการหลั่งของเหลวออกมามากในลำไส้เล็ก และบางสายพันธุ์สร้างสารพิษคล้ายกับสารพิษของ *Shigella* ที่ทำให้เกิดโรคบิด คือ การถ่ายเป็นมูกเลือด สำหรับ *E. coli* ที่จัดอยู่ในกลุ่ม EIEC ตอบสนองต่อปฏิกิริยาทางชีวเคมีคล้ายกับ *Shigella* และมีลักษณะของการทำลายและการเพิ่มจำนวนขึ้นในเซลล์เยื่อบุลำไส้เล็กคล้ายเชื้อบิดมาก ส่วน *E. coli* ในกลุ่ม ETEC และ EHEC นั้นเป็นที่แน่ชัดแล้วว่า สร้างสารพิษขึ้นและก่อให้เกิดอาการของโรคอาหารเป็นพิษ อาจพบการปนเปื้อนในการหมักเนื้อและชีส เป็นต้น

Salmonella

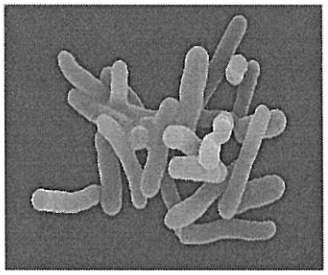
Salmonella เป็นแบคทีเรียที่มีรูปร่างเป็นแท่ง ย้อมติดสีแกรมลบ เคลื่อนที่โดยใช้แฟลกเจลลารอบเซลล์ (peritricus flagella) ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต ไม่สร้างสปอร์ สามารถย่อยสลายกลูโคสได้กรดกับก๊าซ แต่จะไม่ย่อยแลคโทสหรือซูโครส อุณหภูมิต่ำสุดสำหรับการเติบโตในอาหารอยู่ระหว่าง 6.7-7.8°C อุณหภูมิสูงสุดประมาณ 45.6°C อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตประมาณ 37°C ช่วงพีเอชที่เหมาะสมในการเติบโตอยู่ระหว่าง 4.1-9.0 มีความสามารถในการทนความร้อนแตกต่างกันขึ้นกับชนิด สายพันธุ์และผลจากสิ่งแวดล้อมในการเจริญเติบโต ปกติจะมีการใช้ความร้อนในการทำลาย *Salmonella* ที่อุณหภูมิ 66 °C นานอย่างน้อย 12 นาที การเกิดโรคติดเชื้อ *Salmonella* หรือที่เรียกว่าโรคซาลโมเนลโลสิส (Salmonellosis) นั้นขึ้นอยู่กับความต้านทานโรคของผู้บริโภค ความสามารถในการทำให้เกิดโรคของ



Salmonella

เชื้อและจำนวนเชื้อที่ถูกบริโภคเข้าไป การเจริญของ *Salmonella* ในอาหารมักไม่ทำให้ลักษณะของอาหารเปลี่ยนแปลงไปไม่ว่าจะเป็นกลิ่นหรือรส อาจพบการปนเปื้อนจากการหมักไส้กรอก (sausages)

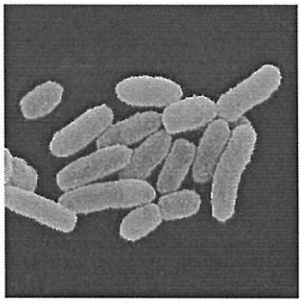
Shigella



Shigella

เป็นแบคทีเรียรูปแท่งแกรมลบ ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างแคปซูล ทำให้เกิดโรค Shigellosis โดยอาจไม่ปรากฏอาการหรือทำให้ท้องเสีย เป็นไข้ ปวดท้องและอาเจียน ในรายที่มีอาการรุนแรงเนื่องจากเชื้อนี้แทรกตัวในกระเพาะอาหารทำให้เป็นแผลและมีโลหิตออกมาทาง อุจจาระ เชื้อ *Shigella dysenteriae* จะมีความรุนแรงกว่า *Shigella sonnei* และ *Shigella flexneri*

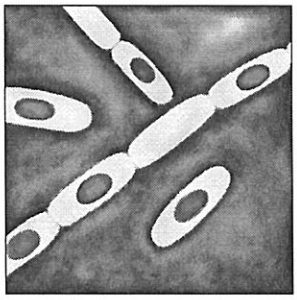
Yersinia enterocolitica



Yersinia enterocolitica

Y. enterocolitica เป็นเชื้อที่มีรูปร่างเป็นท่อนสั้น แกรมลบ เคลื่อนที่ได้ เจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 37 °C สามารถเจริญได้ในสภาพที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) พบการปนเปื้อนได้ในเนื้อสัตว์ประเภทต่างๆ เนื้อหมู เนื้อวัว เนื้อแกะในอาหารทะเล เช่น หอยนางรม ปลาและน้ำนมดิบ ไม่ควรรับประทานเนื้อหมูดิบหรือเนื้อหมูที่ปรุงไม่สุก ควรดื่มนมและรับประทานผลิตภัณฑ์นมที่ผ่านการฆ่าเชื้ออย่างถูกวิธี

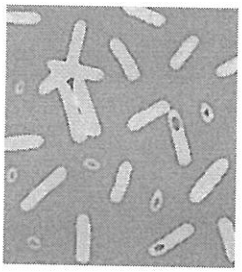
Bacillus cereus



Bacillus cereus

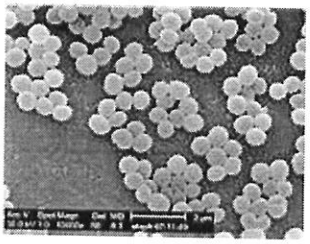
B. cereus เป็นแบคทีเรียรูปแท่ง ติดสีแกรมบวก สร้างสปอร์ สามารถทำให้เกิดอาการได้ 2 ลักษณะ คือ ถ้าบริโภคอาหารที่ปนเปื้อนด้วยสายพันธุ์ที่สร้างทอกซินที่ทำให้ท้องเสีย (diarrheal toxin) จึงเกิดอาการปวดท้อง ท้องเสีย แต่ถ้าบริโภคอาหารที่ปนเปื้อนด้วยสายพันธุ์ที่สร้างทอกซินที่ทำให้อาเจียน (vomiting หรือ emiting toxin) สร้างทอกซินนี้มีความทนทานต่อความร้อน (heat stable) อาการของสารพิษคือ มีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้องโดยทั่วไปจะพบ *Bacillus cereus* ในสิ่งแวดล้อม เช่น ดิน ฝุ่น และในอาหารต่างๆ เช่น น้ำนม ธัญชาติ ข้าว ผัก นมผง และอาหารทำแห้ง เช่น เครื่องเทศ สมุนไพร และผิวหน้าของเนื้อสัตว์และสัตว์ปีก อาหารที่เป็นแหล่งของโรคระบาด ได้แก่ ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ ซุป ซอสข้าวสุก และพาสต้า เป็นต้น

Clostridium botulinum


Clostridium botulinum

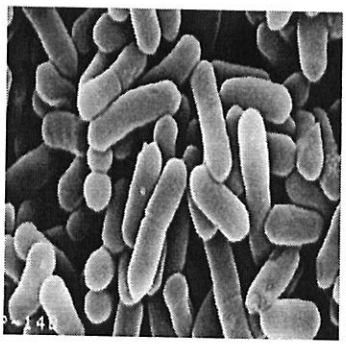
C. botulinum เป็นเชื้อแก รมบวกรูปแท่งขนาดใหญ่ เจริ ญได้ดีในอาหารกระป๋องหรืออาหารที่เก็บในถุงพลาสติกที่อยู่ในอุณหภูมิห้อง โดยไม่ได้เก็บไว้ในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่า เมื่อรับประทานอาหารที่มีสารพิษ Botulinum toxin เข้าไปแล้ว สารพิษ Botulinum toxin จะไปยับยั้งการหลั่ง Acetylcholine ทำให้ กล้ามเนื้ออัมพาต ได้แก่ กล้ามเนื้อบริเวณหน้า ทำให้กลืนลำบาก กล้ามเนื้อที่ตา ทำให้ตาพร่า กล้า มเนื้อเกี่ยวกับการหายใจ ทำให้หายใจติดขัด ดังนั้นในการช่วยเหลือผู้ป่วยให้หายใจได้เป็นอันดับแรก จากนั้นจึงให้ antitoxin

Staphylococcus aureus


Staphylococcus aureus

S. aureus เป็น แบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม (coccus) ที่มีการเรียงตัวคล้ายพวงองุ่น ไม่เคลื่อนที่ สามารถเจริญได้ในสภาพที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) สร้างสารพิษหลายชนิดในอาหาร เมื่อบริโภคอาหารที่มีสารพิษเข้าสู่ร่างกายก็จะเกิดโรคอาหารเป็นพิษขึ้น พบได้ในโพรงจมูกของคนปกติถึงร้อยละ 40 - 50 จึงมีโอกาสที่จะพบตามผิวหนัง เสื้อผ้าและเครื่องนอน และเข้าไปปนเปื้อนในอาหารขณะเตรียมหรือบรรจุ โรคติดเชื้อที่พบบ่อยได้แก่ ฝีชนิดต่างๆ ที่ผิวหนัง เชื้ออาจกระจายไปตามกระแสเลือดแล้วมีการติดเชื้อที่กระดูก ปอด เยื่อหุ้มหัวใจ และเยื่อหุ้มสมอง

Listeria monocytogenes


Listeria monocytogenes

L. monocytogenes เป็นแบคทีเรียรูปแท่ง ติดสีแกรมบวก และเคลื่อนที่ได้โดยอาศัย flagella ไม่สร้างสปอร์ เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรค Listeriosis ซึ่งส่วนใหญ่จะทำให้เกิดโรคได้ง่ายกับมารดาที่กำลังตั้งครรภ์ เด็กทารก และผู้สูงอายุรวมถึงผู้ที่ป่วยเป็นโรคเอดส์ เชื้อ *L. monocytogenes* สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส แต่ที่อุณหภูมิช่วง 2-45 องศาเซลเซียส เชื้อชนิดนี้ก็สามารถเจริญเติบโตได้เช่นกัน ซึ่งการแพร่กระจายของเชื้อชนิดนี้ส่วนใหญ่จะเป็นการแพร่ผ่านอาหารที่บริโภค หรือการสัมผัส หรือหายใจเอาเชื้อชนิดนี้เข้าไป เช่นการสัมผัสกับดิน น้ำ และวัสดุอุปกรณ์ที่มีการปนเปื้อน หรือแม้แต่การจับต้องสัตว์ที่เป็นโรคนี้

อย่างไรก็ตาม แบคทีเรียที่พบในวัตถุดิบหรือผลิตภัณฑ์อาหารทุกขั้นตอนการผลิตในห่วงโซ่อาหาร เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดการเน่าเสียและการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ (ตารางที่ 11.6) โดยเริ่มตั้งแต่วัตถุดิบที่มีการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ เช่น ดิน อุจจาระ น้ำ และสภาวะการเก็บรักษา การฆ่าสัตว์และการขนส่ง ในระหว่างกระบวนการผลิตอาหาร การปนเปื้อนขั้นต่อมาส่วนใหญ่เกิดจากสภาพโรงงาน ความสะอาดของอุปกรณ์และเครื่องมือ สุขลักษณะส่วนบุคคล น้ำ อากาศ สัตว์ แมลง และวัตถุที่ใช้สำหรับการบรรจุ

ตารางที่ 11.6 วัตถุดิบที่มีความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์

Pathogen	*Meat*	*Milk*	*Vegetables & Fruit*	*Fish & Shellfish*
Aeromonas	++	+	+++	++
Bacillus cereus	–	++	++	–
Campylobacter	+++	+	–	–
Clostridium botulinum	++	+	++	++
Escherichia coli O157:H7	++	++	+	–
Listeria monocytogenes	+	+	+	+
Salmonella	++	+	+	+
Shigella	–	–	+	+
Staphylococcus aureus	++	++	–	–
Vibrio	–	–	+	+++
Yersinia	+	+	–	–

+ = sometimes present (25%), ++ = likely to be present (25–50%), +++ = usually present (> 50%), and – = not likely to be found in these products.

ที่มา : Beumer (2001)

การควบคุมอันตรายจากปรสิต

ปรสิตจำนวนหลายชนิดเป็นสาเหตุของโรคในอาหาร (food-borne) คนเราสามารถได้รับการติดเชื้อหรือปนเปื้อนจากการบริโภคอาหารประเภทเนื้อ ปลา สัตว์จำพวกหอยและปลาหมึก ผักผลไม้ ส่วนใหญ่การติดต่อ parasitic เกิดขึ้นภายหลังจากการบริโภคอาหารดิบ หรืออาหารสุกๆ ดิบๆ หรืออาหารหมักดอง แต่หากมีการใช้ความร้อนเพียงพอในการเตรียมอาหารก็สามารถทำลายตัวเชื้อปรสิตได้ อาหารที่ได้จากเนื้อสัตว์หลายประเภท จะเป็นแหล่งกำเนิดของปรสิตจำนวนมากทั้งหนอนพยาธิ (helminth) และโปรโตซัว (protozoal) รวมถึงอาหารหมักที่ใช้ส่วนประกอบดิบอาจมีการปนเปื้อนจากปรสิตได้ ซึ่งทำให้เกิดโรคติดต่อในมนุษย์ แม้ว่า food-borne parasitic จากวัฒนธรรมการบริโภคอาหารเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดการติดเชื้อปรสิตได้ เช่น วัฒนธรรมการบริโภคอาหารของคนไทยที่นิยมบริโภคปลาหมัก เช่น ส้มฟัก (som fak) เป็นสาเหตุที่ทำให้ติดเชื้อปรสิตและเกิดโรคขึ้นจากปรสิตหนอนพยาธิ (ตัวกลม ตัวแบน ตัวตืด) พยาธิตัวจี๊ด เป็นต้น Gnathostoma ทำให้เกิดโรค Gnathostomosis เป็นโรคที่เกิดจากพยาธิเคลื่อนที่ไปตามเนื้อเยื่อของอวัยวะต่างๆ ของผู้ป่วย (พยาธิที่พบอาจเป็นตัวอ่อนในระยะติดต่อซึ่งติดต่อสู่คนโดยรับประทานปลาส้มฟักที่ปรุงไม่สุก) ทำให้เกิดการฉีกขาดของเนื้อเยื่อในอวัยวะนั้นๆ

ร่วมกับการที่พยาธิปล่อยเอนไซม์และสารต่างๆ ทำให้เกิดอาการอักเสบ บวมแดงในตำแหน่งที่พยาธิอยู่ มีการคั่งของเซลล์เม็ดเลือดขาวจำนวนมาก ถ้าอยู่ในผิวหนังทำให้บวมแดงเปลี่ยนที่เป็นพักๆ เจ็บและคันหรือปวดเล็กน้อยที่อวัยวะต่างๆ เช่น ตา ปาก ลิ้น ช่องท้อง ปอด เยื่อหุ้มปอด อวัยวะสืบพันธุ์ กระเพาะปัสสาวะและหู พยาธิอาจไปที่ระบบประสาท เช่น สมอง ไขสันหลัง ทำให้เกิดการตายเฉพาะส่วน หลังจากนั้นมักทำให้ผู้ป่วยมีโอกาสเสียชีวิตได้ถ้าเข้าสู่ระบบประสาท การติดเชื้อปรสิตอื่นๆ ได้แก่ การติดเชื้อพยาธิโปรโตซัว เช่น Giardia มีการรายงานว่าหลังจากการรับประทาน cheese dip ทั้งนี้ กระบวนการหมักเพียงอย่างเดียวไม่สามารถลดสาเหตุของการแพร่ระบาดหรือโรคติดเชื้อทางปรสิตในอาหารต่างๆ แต่การนำไปแช่แข็ง แช่เย็นเป็นเวลานานหรือทำให้สุกโดยการผ่านความร้อนสามารถทำลายปรสิตได้

ปรสิตจำนวนมากมายทำให้เกิดโรคติดต่อในมนุษย์ แต่ที่สำคัญจะมีเฉพาะปรสิตหนอนพยาธิ (helminth) และโปรโตซัว (protozoal) เท่านั้น เพราะเป็นต้นกำเนิดของการเกิดโรคติดต่อในอาหารหมัก (ตารางที่ 11.7)

ตารางที่ 11.7 แหล่งกำเนิดของปรสิตหนอนพยาธิ Food-Borne helminth

Parasite Class	*Parasite*	*Distribution*	*Main Hosts (final)*	*Source of Infection to Man*
Nematoda (Roundworms)	*Angiostrongylus*	Asia and Pacific Islands, Australia, India, Africa, Caribbean, parts of United States	Rodents (rats)	Molluscs (snails), shrimps, crabs, amphibians, contaminated vegetables and salads
	Anisakis simplex *Anisakis decipens*	North and South America, Pacific Islands, parts of northern Europe	Pinipeds (whales, dolphins, porpoises) Seals, sealions, walruses	Fish
	Capillaria phillipinensis	Phillipines, Thailand	Man (several species of birds)	Fish
	Dioctophyma renale	Worldwide (North and South America, southern Europe, Asia, Middle East)	Carnivores (mink, ferret, dogs, cats, jackals), man	Fish
	Gnathostoma spinigerum	Thailand, Japan, southeast Asia, China, Mexico (Middle East, Africa, Baltic States, Russia)	Carnivores (dogs and cats), man	Fish , frogs, chickens, ducks, snakes
	Gnathostoma hispidum		Pigs, man	
	Gongylonema pulchrum	United States, former USSR, parts of Europe, Middle East, China, North Africa, New Zealand	Ruminants, pigs, dogs, cats, horses, rodents, primates, man	Salads (insects)
	Trichinella spiralis	Worldwide (except Antartica)	Pigs, rodents, carnivores (mink, fox, badger, bears, walrus, seals), man	Meat
Cestoda (Tapeworms)	*Diphyllobothrium latum*	Northern Hemisphere (northern Europe, Russia, North America, South America, Asia, Africa)	Dog, fox, mink, cat, pig, bear, seals	Fish
	Taenia saginata (Cysticercus bovis)	Central Africa, Asia, South and West Africa, parts of Europe, southeast Asia, Central and South America; also reported in United States, Canada, Australia and Pacific Islands	Man	Meat (beef)
	Taenia solium (Cysticercus cellulosae)	Central and South America, central and east Africa, southeast Asia, southern Europe	Man	Meat (pork)

ที่มา : Taylor (2001)

พรีไบโอติก (Prebiotic)

พรีไบโอติก (Prebiotic) คือใยอาหารจากธรรมชาติซึ่งไม่ถูกย่อยที่ลำไส้ส่วนบน แต่สามารถผ่านไปยังลำไส้ใหญ่เพื่อเป็นอาหารของจุลินทรีย์สุขภาพ ทำให้จุ ลินทรีย์สุขภาพเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณมากขึ้น ในระบบนิเวศของจุลินทรีย์สุขภาพในทางเดินอาหารได้ ส่วนประกอบในอาหารจะเป็นส่วนสำคัญที่สุดจะบ่งถึงศักยภาพในการเป็นพรีไบโอติกว่ามีมากน้อยเพียงใด ได้แก่ โอลิโกแซคคาร์ไรด์ที่รวมทั้งอินนูลิน (inulin) และฟรุกโตโอลิโกแซคคาร์ไรด์ (fructooligosaccharide : FOS) ซึ่งเป็นสารประเภทคาร์โบไฮเดรตที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำพบได้ในธรรมชาติ เช่น โช้ค หัวหอม ชีคโอรี่ กระเทียม ลีค และในธัญญาหาร เป็นต้น ช่วยให้ผู้ที่บริโภคอาหารเสริมพรีไบโอติกมีสุขภาพที่ดีอยู่เสมอ

ประโยชน์ของพรีไบโอติก

ใยอาหารประเภทพรีไบโอติกจะช่วยให้แบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้ใหญ่ เช่น *Bifidobacteria* และ *Lactobacilli* เพิ่มจำนวนและทำงานได้อย่างเต็มประสิทธิภาพ แบคทีเรียเหล่านี้ช่วยในการทำงานของระบบย่อยอาหารและขับถ่าย ป้องกันท้องผูก ลดความรุนแรงของโรคติดเชื้อในทางเดินอาหาร ระงับการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรค เสริมสร้างภูมิคุ้มกันตามธรรมชาติและช่วยให้ร่างกายดูดซึมสารอาหารต่างๆ ที่รวมถึงแคลเซียมซึ่งจำเป็นต่อการสร้างกระดูกและฟันได้ดียิ่งขึ้น

โพรไบโอติก (Probiotic)

โพรไบโอติก (Probiotic) หมายถึง จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารที่มีประโยชน์ต่อเจ้าบ้าน (host) มีผลต่อความสมดุลของจุลินทรีย์ภายในลำไส้ ทนต่อสภาวะที่เป็นกรดในกระเพาะอาหาร และเกลือน้ำดีในลำไส้ สามารถผลิตกรดแลคติกและสร้างสารยับยั้งแบคทีเรียชนิดอื่นได้ อีกทั้งยังทำให้เกิดความสมดุลในระบบการย่อยอาหาร การขับถ่าย ช่วยในการพัฒนาสุขภาพของมนุษย์และสัตว์ให้ดีขึ้น จุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติในการเป็นโพรไบโอติกมีทั้ง แบคทีเรีย ยีสต์ และรา

กลุ่มแบคทีเรียที่เป็นโพรไบโอติก

1. *Bacillus* spp. สายพันธุ์ที่นิยมใช้ ได้แก่ *B. coagulan, B. subtilis, B. licheniformis, B. toysi* และ *B. stearothermophillus*

2. *Bacteroides* spp. สายพันธุ์ที่นิยมใช้ ได้แก่ *B. amylophilus, B. capillosus, B. ruminocola* และ *B. suis*

3. *Bifidocacterium* spp. สายพันธุ์ที่นิยมใช้ ได้แก่ *B. thermophilum, B. adolescentis, B. anamalis, B. bifidum, B. infantis* และ *B. longum*

4. *Lactobacillus* spp. สายพันธุ์ที่นิยมใช้ ได้แก่ *L. acidophilus, L. bifidus, L. brevis, L. bulgaricus, L. casei, L. rerterii, L. cellobiosus, L. colinoides, L. corvatus, L. delbruekii, L. fermentum, L. lactis, L. plantarum, L. ruminis* และ *L. vitulinus*

5. *Leuconostoc* spp. สายพันธุ์ที่นิยมใช้ ได้แก่ *L. cremoris, L. dextranicum, L. lactis* และ *L. mesenteroides*

6. *Pediococcus* spp. สายพันธุ์ที่นิยมใช้ ได้แก่ *P. acidophilus, P. halophilus, P. pentosaecus, P. cerevisiae* และ *P. acidilactici*

7. *Propionibacterium* spp. สายพันธุ์ที่นิยมใช้ ได้แก่ *P. fredenreichii* และ *P. shermanii*

8. *Streptococcus* spp. สายพันธุ์ที่นิยมใช้ ได้แก่ *S. cremoris, S. diacetylactis, S. faecium, S. intermedius, S. lactis* และ *S. thermophilus*

9. *Clostridium* spp. สายพันธุ์ที่นิยมใช้ ได้แก่ *C. butyridium*

10. *Enterococcus* spp.

11. *Escherichia coli*

กลุ่มยีสต์ที่เป็นโพรไบโอติก

1. *Saccharomyces cerevisiae*

2. *Candida pentoiepessi* (*Torulopsis bovina*)

กลุ่มราที่เป็นโพรไบโอติก

1. *Aspergillus oryzae*

2. *Aspergillus niger*

คุณสมบัติของโพรไบโอติก

1. สามารถสร้างกรดแลคติกทำให้กระเพาะอาหารมีสภาพเป็นกรดมากขึ้น จึงเกิดการย่อยและการใช้ประโยชน์จากสารอาหารต่างๆ ได้ดีขึ้น และปรับสภาพของระบบทางเดินอาหารให้อยู่ในสภาพที่แบคทีเรียโคลิฟอร์มเจริญได้ยาก

2. สามารถทนต่อน้ำดีที่มีหน้าที่ขับสารตกค้างในร่างกายได้

3. เมื่อเจริญร่วมกับจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร สามารถออกฤทธิ์ได้ดีในทางเดินอาหารทุกส่วน

4. สามารถสร้างเอนไซม์ pectinase, β-galactosidase, amylase, protease, lactase และ cellulose มีผลทำให้การย่อยและการใช้ประโยชน์ของสารอาหารต่างๆ ดีขึ้น

5. สามารถสร้างสารที่ต่อต้านเชื้อโรคทั้งที่เป็น primary metabolite เช่น กรดอินทรีย์ และ secondary metabolite เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เป็นต้น

6. ลดการสังเคราะห์เอมีนที่เป็นพิษในระบบทางเดินอาหาร เพื่อเพิ่มการใช้ประโยชน์ของสารต่างๆ ในร่างกาย

7. สร้างสารอาหารที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น โฟเลท (folate) ช่วยสร้างเม็ดเลือดแดง วิตามินบี 2 ช่วยบำรุงเส้นผมและเล็บ กรดไขมันและกรดอะมิโน

บรรณานุกรม

ช่อฟ้า ทองไทย และแอ็สบยอน กิลด์เบิร์ก. (2550).**น้ำปลา : แหล่งสารอาหารของชาวเอเชีย.** กรุงเทพ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ปิ่นมณี ขวัญเมือง. (2547). **แบคทีเรียกรดแลคติกในผลิตภัณฑ์อาหารหมักดอง.** วารสารครุศาสตร์อุตสาหกรรม ปีที่ 3 ฉบับที่ 1 เดือนตุลาคม 2546 – มีนาคม 2547

ภาณุวรรณ จันทวรรณกูร. (2543). **การศึกษาถั่วหมักอาหารพื้นบ้านในภาคเหนือ** [ออนไลน์]. ได้จาก : http://www.science.cmu.ac.th/jou7.html

ยุพกนิษฐ์ พ่วงวีระกุล. **กระบวนการผลิตสาโทและจุลชีววิทยาของสาโท** [ออนไลน์]. ได้จาก : http://www.nfi.or.th/current-trade-issues/pdffile/distillied_report.pdf

เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์. (2536). **เทคโนโลยีเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์** (พิมพ์ครั้งที่ 2). ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพ : เค.ยู.เพลส.

วราวุฒิ ครูส่ง. (2538). **จุลชีววิทยาในกระบวนการแปรรูปอาหาร.** ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพ : โอเดียนสโตร์.

วารุณี ประดิษฐ์ศรีกุล. (2545). **เทคโนโลยีการหมักดอง.** คณะวิชาเทคโนโลยีการเกษตร วิทยาเขตพระนครศรีอยุธยา หันตรา สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล. กรุงเทพ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิภาวรรณ ศรีมุข. (2550). **เนยแข็ง** [ออนไลน์]. ได้จาก : http://www.dss.go.th/dssweb/st-articles/files/bio_10_2550_Cheese.pdf

ศิริบุญ พูลสวัสดิ์. (2549). **โยเกิร์ต : อาหารดีมีคุณค่า** [ออนไลน์]. ได้จาก : http://www.dss.go.th/dssweb/st-articles/files/bsp_5_2549_yogurt.pdf

สุพรรณี เทพอรุณรัตน์. (2550). **อาหารหมัก** [ออนไลน์]. ได้จาก : http://lib3.dss.go.th/fulltext/dss_j/2550_55_175_P22_26.pdf

สุมณฑา วัฒนสินธุ์. (2545). จุลชีววิทยาทางอาหาร. กรุงเทพ : มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

สุรีลักษณ์ รอดทอง. (2549). **อนุกรมวิธานของแบคทีเรียกรดแล็กติก.** สาขาวิชาจุลชีววิทยา สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ : มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

สมใจ ศิริโภค. (2550). **จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม.** กรุงเทพ : ศูนย์สื่อเสริมกรุงเทพ.

อัจฉรา เพิ่ม. (2549). **แบคทีเรียแลคติก** (พิมพ์ครั้งที่ 1). คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา. กรุงเทพ : ภาพพิมพ์.

Adams, M.R. and Nout, M.J.R. (2001). **Fermentation and food safety.** Maryland : Aspen.

Awaisheh, S.S., Haddadin, M.S.Y. and Robinson, R.K. (2005). Incorporation of selected nutraceuticals and probiotic bacteria into a fermented milk. **International Dairy Journal.** 15 : 1184-1190.

Bamforth, C.W. (2005). **Food, fermentation and micro-organisms.** USA : Blackwell.

Battcock, M. and Azam-Ali, S. (1998). **Fermented fruits and vegetables** [On-line]. Available : http://www.fao.org/docrep/x0560E/x0560E00.htm

Beumer, R.R. (2001). Microbiological hazards and their control : bacteria. In M.R. Adams and M.J.R. Nout (eds.). **Fermentation and food safety** (pp 141-157). Maryland : Aspen.

Caplice, E. and Fitzgerald, G.F. (1999). Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. **International Journal of Food Microbiology.** 50 : 131-149.

Crittenden, R.G., Martinez, N.R. and Playne, M.J. (2003). Synthesis and utilisation of folate by yoghurt starter cultures and probiotic bacteria. **International Journal of Food Microbiology.** 80 : 217- 222.

Decock, P. and Cappelle, S. (2005). Bread technology and sourdough technology. **Trends in Food Science & Technology.** 16 : 113-120.

Eklund-Jonsson, C., Sandberg, A-S. and Alminger, M.L. (2006). Reduction of phytate content while preserving minerals during whole grain cereal tempe fermentation. **Journal of Cereal Science.** 44 : 154-160.

Eom, H-J., Seo, D.M. and Han, N.S. (2007). Selection of psychrotrophic *Leuconostoc* spp. producing highly active dextransucrase from lactate fermented vegetables. **International Journal of Food Microbiology.** 117 : 61-67.

Gildberg, A. (2001). Utilisation of male arctic capelin and atlantic cod intestines for fish sauce production-evaluation of fermentation conditions. **Bioresource Technology.** 76 : 119-123.

Gullo, M., Caggia, C., Vero, L.D. and Giudici, P. (2006). Characterization of acetic acid bacteria in traditional balsamic vinegar. **International Journal of Food Microbiology.** 106 : 209-212.

Hammes, W.P., Brandt, M.J., Francis, K.L., Rosenheim, J., Seitter M.F.H., and Vogelmann, S.A. (2005). Microbial ecology of cereal fermentations. **Trends in Food Science & Technology.** 16 : 4-11.

Hansen, E.B. (2004). Microorganisms. In Y.H. Hui, L. Meunier-Goddik, A.S. Hansen, J. Josephsen, W-K Nip, P.S. Stanfield and F. Toldra (eds.). **Handbook of food and beverage fermentation technology** (pp 9-21). New York : Marcel Dekker.

Hutkins, R.W. (2006). **Microbiology and technology of fermented foods.** USA : Blackwell.

Inatsu, Y., Kimura, K. and Itoh, Y., (2002). Characterization of *Bacillus subtilis* strains isolated from fermented soybean foods in Southeast Asia : comparison with *B.subtilis* (*natto*) starter strains. **Japan Agri. Res. Quart.** 36: 169-175

Josephsen, J. and Jespersen, L. (2004). Starter cultures and fermented products. In Y.H. Hui, L. Meunier-Goddik, A.S. Hansen, J. Josephsen, W-K Nip, P.S. Stanfield and F. Toldra (eds.). **Handbook of food and beverage fermentation technology** (pp 23-49). New York : Marcel Dekker.

Kobayashi, M. (2005). Immunological functions of soy sauce: hypoallergenicity and antiallergic activity of soy sauce. **Journal of Bioscience and Bioengineering.** 100 : 144-151.

Motarjemi, Y. (2002). Impact of small scale fermentation technology on food safety in developing countries. **International Journal of Food Microbiology.** 75 : 213-229.

Ostlie, H.M., Helland, M.H. and Narvhus, J.A. (2003). Growth and metabolism of selected strains of probiotic bacteria in milk. **International Journal of Food Microbiology**. 87 : 17-27.

Park, J-N., et al. (2001). Chemical composition of fish sauces produced in Southeast and East Asian countries. **Journal of food composition and analysis.** 14 : 113-125.

Petchkongkaew, A., Taillandier, P., Gasaluck, P., and Lebrihi1, A. (2008). Isolation of *Bacillus* spp. from Thai fermented soybean (Thua-nao): screening for aflatoxin B1 and ochratoxin A detoxification. **Journal of Applied Microbiology.** 104 : 1495-1502.

Ross, R.P., Morgan, S. and Hill, C. (2002). Preservation and fermentation: past, present and future. **International Journal of Food Microbiology.** 79 : 3-16.

Sahlin, P. (1999). **Fermentation as a method of food processing.** Lund Institute of Technology : Lund University.

Sanchez, S. and Demain, A.L. (2002). Metabolic regulation of fermentation processes. **Enzyme and Microbial Technology.** 31 : 895-906.

Shah, N.P. (2007). Functional cultures and health benefits. **International Dairy Journal.**

Srivastava, M.L. (2008). **Fermentation Technology.** U.K : Alpha Science.

Steinkraus, K.H. (1997). Classification of fermented foods: worldwide review of household fermentation techniques. **Food Control.** 8 : 311-317.

17 : 1262-1277.

Taylor, M. (2001). Microbiological hazards and their control : parasites. In M.R. Adams and M.J.R. Nout (eds.). **Fermentation and food safety** (pp 175-217). Maryland : Aspen.