

## บทที่ 2 วารสารปริทัศน์



### การหมักดองอาหาร

การหมักดองเป็นการถนอมอาหารแบบชั่วคราวอย่างหนึ่ง โดยใช้ความเข้มข้นของเกลือ น้ำส้ม และน้ำตาลควบคุมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และป้องกันไม่ให้จุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเสื่อมเสียเจริญเติบโต (Keith, 1996) การเสื่อมคุณภาพและการเน่าเสียของผักและผลไม้อาจมีสาเหตุมาจากการทำงานของเอนไซม์และการเจริญของจุลินทรีย์ ดังนั้นการยืดอายุการเก็บผักและผลไม้สด จึงต้องชะลอหรือหยุดการทำงานของเอนไซม์และยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ หลักการถนอมอาหารเพื่อให้เก็บรักษาผักผลไม้ให้ยาวนานทำได้ 6 วิธี ได้แก่ การใช้ความร้อนสูง การใช้อุณหภูมิแช่แข็ง การลดปริมาณน้ำ การใช้สารเคมี การใช้รังสี และการใช้การหมักดอง ซึ่งในที่นี้จะกล่าวถึงวิธีการหมักดอง

เทคนิคในการหมักดองเป็นที่รู้จักกันมานาน แต่ไม่ทราบว่าการถนอมอาหารโดยวิธีการหมักดองนั้นเกิดจากจุลินทรีย์ แม้แต่บรรพบุรุษของชาวยุโรป อเมริกาเหนือ หรือในทวีปเอเชีย ก็ไม่ทราบว่าการถนอมนม ผัก ผลไม้ ถั่วเหลือง เนย ซึ่งวิธีนั้นเกิดจากจุลินทรีย์ มนุษย์เราเพิ่งมาทราบว่าจุลินทรีย์มีประโยชน์ในการหมักอาหารเมื่อประมาณร้อยปีที่ผ่านมา (Merilanea, 1988)

### การหมักดองอาหารมีจุดมุ่งหมายดังนี้

1. เพื่อให้เกิดรสชาติ และลักษณะทางกายภาพที่น่าพอใจซึ่งจะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ชนิดใหม่ขึ้น
2. เพื่อช่วยถนอมอาหารเก็บได้นานขึ้น เช่น การผลิตนมเปรี้ยว มีจุดประสงค์เพื่อให้เก็บนานมได้นานขึ้น แต่ในขณะเดียวกันพบว่าทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีรสชาติใหม่ด้วย (Frazier and Westhoff, 1979)
3. ทำให้อาหารย่อยง่ายขึ้นและอาจทำให้คุณค่าทางสารอาหารเพิ่มขึ้น (Campbell-Platt, 1987)

การหมักดองผักและผลไม้ เป็นกระบวนการแปรรูปที่ใช้จุลินทรีย์ ซึ่งอาจแบ่งเป็น 2 ขั้นตอน คือ การหมัก (fermentation) และการดอง (pickling) (ศิริลักษณ์ สนิทวาลัย, 2525)

การหมักเป็นการทำผลิตภัณฑ์ใหม่และการถนอมอาหาร โดยนำวัตถุดิบตามธรรมชาติ มาเติมสารบางชนิด เช่น น้ำตาล และเกลือ พร้อมกับปรับสภาพแวดล้อม เช่น สภาวะที่มีอากาศหรือไม่มีอากาศ เพื่อให้เหมาะสมกับการเจริญของจุลินทรีย์ โดยจุลินทรีย์จะเปลี่ยน วัตถุดิบไปเป็นผลิตภัณฑ์ที่ต้องการระหว่างเจริญเติบโต หลังจากการเปลี่ยนแปลงวัตถุดิบมัก จะเปลี่ยนสภาพจนไม่เหมือนสภาพเดิม อาจแบ่งการหมักเป็นกลุ่มตามสภาวะที่ใช้ คือ การ หมักที่ไม่ต้องการอากาศและการหมักที่ต้องการอากาศ การหมักที่ไม่ต้องการอากาศที่สำคัญ คือ การหมักเพื่อให้เกิดกรดแล็กติก และการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์ ส่วนการหมักที่ ต้องการอากาศที่สำคัญ คือ การหมักให้เกิดกรดแอสติกเช่น การทำน้ำส้มสายชู (ศิริลักษณ์ สินธวาลัย, 2525)

ส่วนการคองเป็นกระบวนการเพื่อเก็บรักษาวัตถุดิบหลังจากการหมัก การคองอาจทำ โดยการเติมสารที่ช่วยในการเก็บรักษา เช่น การเติมน้ำส้มสายชูลงไปปริมาณมากพอ หรือ เติมเกลือลงไปอีกในปริมาณที่เหมาะสม เพื่อให้เชื้ออื่นหยุดการเจริญเติบโต เช่น ยีสต์ รา และคลอสทริเดียม เป็นต้น ทำให้สามารถเก็บผลิตภัณฑ์ไว้ได้นาน การคองเหมาะสำหรับผัก และผลไม้ที่มีรสชาติไม่ชวนบริโภค เช่น แปรี้ยว ขม หรือฝาดมากเกินไป การคองจะช่วยลด รสชาติเหล่านี้ได้

ดังนั้นกระบวนการหมักและการคองนั้นมีลักษณะใกล้เคียงกัน จึงมักเรียกว่า การหมัก คอง (Raymond et al., 1972) การผลิตอาหารโดยใช้จุลินทรีย์มีมาตั้งแต่โบราณกาล กระบวนการ ผลิตทำโดยเติมจุลินทรีย์ลงในอาหารที่มีสารที่เชื้อสามารถนำไปใช้ (substrate) จุลินทรีย์ จะปล่อยเอนไซม์ชนิดต่างๆ มาย่อยสลายสารนั้นทำให้ได้สารใหม่ที่มีกลิ่นรสตามที่ต้องการ ผลิตภัณฑ์อาหารที่ได้นี้เรียกว่า “อาหารหมัก” (fermented food) (Rehm and Reed, 1995 ; Tanasupawat et al., 1993)

## ประเภทของการหมักอาหาร

1. การหมักตามธรรมชาติ (natural fermentation) เป็นการหมักโดยอาศัยจุลินทรีย์ แล็กติกแอซิดแบคทีเรียตามธรรมชาติที่ปะปนมากับผักและผลไม้ การหมักตามธรรมชาตินี้ จะใช้เวลานานในการหมัก คุณภาพของผลิตภัณฑ์ไม่สม่ำเสมอ ถ้ามีแบคทีเรียชนิดอื่นปน เปื้อนมาระหว่างหมัก จะทำให้อาหารที่ได้มีคุณภาพไม่ดีพอ เนื่องจากแบคทีเรียที่จำเป็นใน

การหมักมีน้อย สร้างกรดไม่เพียงพอ ทำให้เชื้อที่ก่อโรคเจริญเติบโตซึ่งทำให้ผลิตภัณฑ์จากการหมักตามธรรมชาติอาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพผู้บริโภค (Nagazawa, 1991)

2. การหมักโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์ (starter culture) คือ การใช้เชื้อบริสุทธิ์ในการผลิตอาหารหมัก การใช้เชื้อบริสุทธิ์ในการหมักอาหารจะดีกว่าการหมักตามธรรมชาติ (นภา โล่ห์ทอง, 2534) สตาร์ทเตอร์ที่ผลิตแบ่งได้เป็น 2 วิธี

2.1 เชื้อเดี่ยว (Single culture) ใช้เชื้อเพียงชนิดเดียว เพื่อนำไปใช้การหมักอาหาร จะให้อาหารหมักคงมีคุณภาพที่ดีและสม่ำเสมอ การศึกษากลไกของการหมักทำได้ง่าย และถ้ามีการปนเปื้อนจากเชื้ออื่นสามารถตรวจสอบได้ง่าย

2.2 เชื้อผสม (Mixed cultures) ใช้เชื้อมากกว่า 2 ชนิด (อาจเป็นเชื้อยีสต์และรา หรือ แบคทีเรียในอาหารหมักบางชนิด เช่น โยเกิร์ต) การใช้เชื้อผสมจะให้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพดีขึ้น อัตราการอยู่รอดสูงขึ้น แต่ในการศึกษากลไกของการหมักในเชื้อผสมทำได้ยาก และถ้ามีการปนเปื้อนจากเชื้ออื่นยากที่จะตรวจสอบได้ (Daeshel et al., 1988)

### รูปแบบของสตาร์ทเตอร์สำหรับหมักอาหาร

#### 1. Freeze Dried Starter Culture (นภา โล่ห์ทอง, 2535)

หลักการทำแห้งแบบเยือกแข็ง (freeze drying) คือ การแช่แข็งสารละลายของเชื้อที่ต้องการเก็บรักษาอย่างรวดเร็ว แล้วใช้ระบบสุญญากาศระเหิดน้ำออกจากน้ำแข็งในรูปไอน้ำโดยไม่ผ่านสถานะของเหลวเลย วิธีการนี้สามารถทำได้ทั้งในปริมาณน้อยๆ โดยใช้ ampule และปริมาณมากๆ ได้ โดยใช้ภาชนะที่มีอัตราส่วนของพื้นที่ผิวต่อปริมาตรของภาชนะบรรจุ ประมาณ 0.15-0.25 ซม<sup>2</sup> ต่อ 0.1 - 0.2 มล.

ในการทำแห้งแบบเยือกแข็งจะต้องมีการเติมสารป้องกันการถูกทำลายของเซลล์ระหว่างขั้นตอนการ freeze drying ตัวอย่างสารเช่น แล็กโทส, เดกซ์โทรส แมนนิทอล ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความชื้นประมาณร้อยละ 5-10 ควรเก็บที่อุณหภูมิต่ำ การเพิ่มอัตราอยู่รอดของเชื้อสามารถทำได้หลายวิธี คือ การปรับปรุงอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ โดยเติมวิตามินซี และผงสกัดจากยีสต์ การเติม protective agent เช่น แล็กโทส หางนม การตรึงเซลล์ด้วยแคลเซียมแอลจินเททที่สามารถใช้เตรียม freeze dried starter

#### 2. เชื้อเหลว (Fluid)

เป็นการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อและเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง โดยระยะ

เวลาในการเก็บรักษาจะเก็บได้ 1-3 เดือน เมื่อเก็บใน deep freeze (-20 ถึง 40°ซ)

นอกจากนี้ในประเทศเนเธอร์แลนด์จะมีการผลิตสตาร์ทเตอร์สำหรับผลิตนมหมัก โดยแบ่งเป็น 2 ชนิด คือ

1. Mesophilic starter ได้แก่ *L. lactis* และ *Lc. cremoris* เชื้อนี้เจริญเติบโตที่อุณหภูมิ 10-40°ซ

2. Thermophilic starter ได้แก่ *L. bulgaricus*, *L. lactis*, *L. helveticus* *St. thermophilus* เชื้อนี้เจริญที่ 40-50°ซ ใช้ทำโยเกิร์ต ชีสที่หมักที่อุณหภูมิสูง (Ionel, 1995)

### ประเภทของอาหารหมักแบ่งตามชนิดของผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการหมัก

1) อาหารหมักประเภทปลา ได้แก่ น้ำปลา บูด ไตปลา และปลาร้า ซึ่งมีเกลือมากกว่าร้อยละ 8 จะพบเชื้อที่ชอบเกลือค่อนข้างสูงเช่น *T. halophilus*, *S. carnosus* และ *S. piscifermentans* กุ้งจ่อม (ปลาแป็งแดง) ปลาจ่อม ปลาแจ่ว ปลาต้ม และต้มผัก ซึ่งมีเกลือน้อยกว่าร้อยละ 8 จะพบชนิด rod-shaped homofermentative และ heterofermentative lactic acid bacteria ส่วน *L. pentosus*, *L. plantarum*, *L. sake* และ *L. fermentum* พบในปลาหมัก เช่น ปลาแจ่ว และปลาต้ม ซึ่งขึ้นกับความเข้มข้นของเกลือที่ใช้ (Tanasupawat et al., 1992)

2) อาหารหมักประเภทเนื้อสัตว์ ได้แก่ เนื้อหมู เนื้อวัว ที่ถูกเตรียมโดยการหมัก เช่น ไส้กรอกเปรี้ยวจะมีเกลือปริมาณน้อย แหนมซึ่งมีกระเทียมพริกไทยเป็นส่วนผสมจะพบเชื้อทั้งชนิด homo และ heterofermentative lactic acid bacteria ส่วนในไส้กรอกเยอรมันจะพบ *L. sake* (Phalip et al., 1993)

3) อาหารหมักประเภทผักและผลไม้ดอง ได้แก่ ผักดองชนิดต่างๆ เช่น กิมจิ กะหล่ำปลีดองเปรี้ยว ผักกาดเขียวปลีดองและหน่อไม้ดอง เป็นต้น แบคทีเรียที่ใช้ในการผลิตอาหารประเภทผักและผลไม้ดอง คือ *L. pentosus*, *L. plantarum*, *L. fermentum*, *L. brevis*, *P. cerevisiae* และ *L. sake* (Tanasupawat and Komagata, 1995)

4) อาหารหมักประเภทแป้ง ได้แก่ ขนมนจีนจะพบแบคทีเรีย *L. fermentum*, *St. lactis*, *P. acidilactici*, *L. acidophilus*, *L. plantarum*, และ *L. reuteri* เป็นต้น ขนมนปังรสเปรี้ยว (sour dough) พบแบคทีเรีย *L. sanfrancisco* (Elaine et al., 1994 ; Tanasupawat et al., 1993)

### แล็กติกแอซิดแบคทีเรียในกระบวนการหมักอาหาร

แล็กติกแอซิดแบคทีเรียที่เรียกรวมกันด้วยชื่อสกุล *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus* และ *Pediococcus* แบคทีเรียเหล่านี้กระจายทั่วไปตามธรรมชาติ โดยเฉพาะ *Lactobacillus* พบมากกว่าเชื้อสกุลอื่นที่กล่าวมา โดยพบว่าเกี่ยวข้องกับกระบวนการผลิตอาหาร และอุตสาหกรรมหมักหลายชนิด เช่น การผลิตเตงกวาดอง กะหล่ำปลีดอง ไข่รอกเปรี้ยว และนมเปรี้ยวจำพวก acidophilus milk, bulgarian butter milk, kefir, kumiss และ yoghurt (Pragna and Tanvi, 1977)

### การหมักของแล็กติกแอซิดแบคทีเรีย

1. Homofermentation เป็นการหมักของ homofermentative lactic acid bacteria โดยสามารถหมักน้ำตาลที่มีคาร์บอน 6 ตัว ให้กรดแล็กติกร้อยละ 85-95 ดังสรุปปฏิกิริยาทั้งหมด คือ

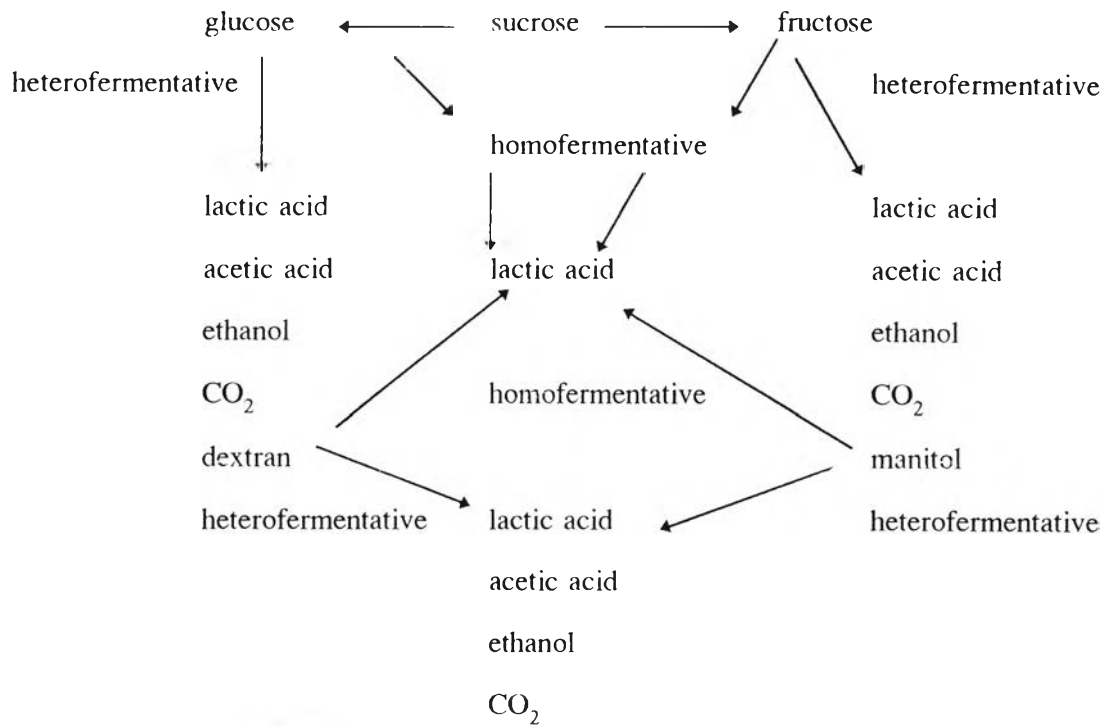
$$\text{กลูโคส} + 2\text{P}_i + 2\text{ADP} \longrightarrow 2 \text{กรดแล็กติก} + 2\text{ATP}$$

แล็กติกแอซิดแบคทีเรียที่มีการหมักแบบ homofermentative ได้แก่ *L. debrueckii*, *L. lactis*, *L. bulgaricus*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. carvatus*, *St. fecalis* และ "*P. cerevisiae*" (Seppo and Atte, 1993)

2. Heterofermentation เป็นการหมักของ heterofermentative lactic acid bacteria สามารถหมักน้ำตาลที่มีคาร์บอน 6 ตัว ให้กรดแล็กติกประมาณร้อยละ 50 ส่วนที่เหลือเป็นกรดแอซีติกและเอทานอลแอลกอฮอล์ร้อยละ 20-25 และสร้างคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 25 ดังสรุปปฏิกิริยาทั้งหมด คือ



แล็กติกแอซิดแบคทีเรียที่มีการหมักแบบ heterofermentative ได้แก่ *L. brevis*, *L. fermentum*, และ *Lc. mesenteroides* (Tamime, 1978)



รูปที่ 1 ผลผลิตทันทีที่ได้จากการหมักแบบ homofermentative และ heterofermentative (Pederson, 1971)

**บทบาทของแล็กติกแอซิดแบคทีเรีย**

ในช่วงต้นของศตวรรษที่ 19 นักวิทยาศาสตร์ พบว่า แล็กติกแอซิดแบคทีเรีย สามารถใช้ควบคุมเชื้อที่ทำให้อาหารเสื่อมเสีย (Biocontrol) หรือเชื้อก่อโรคที่ปนเปื้อนในอาหารนั้นไม่ให้เจริญเติบโต เนื่องจากเชื้อสามารถผลิตกรดหลายชนิดและสร้างสารจากการเมแทบอลิซึมหลายตัว เช่น กรดแล็กติก กรดแอซิดิก ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ และแบคทีริโอซิน (Fred and Henery, 1997) สามารถยับยั้งเชื้อ *Ls. monocytogenes* และ *S. aureus* (Catherine et al., 1991) ในสหรัฐอเมริกาคณะกรรมการอาหารและยา ได้ออกกฎหมายควบคุมเกี่ยวกับเนื้อสัตว์แช่เย็น ซึ่งสามารถรับประทานกึ่งดิบกึ่งสุกนั้น โดยต้องปราศจากเชื้อ *Ls. monocytogenes* และ *S. aureus* แม้ว่าการแช่ตู้เย็นจะหยุดการเจริญเติบโตของเชื้อบางชนิดได้ แต่พบว่า เชื้อ *Ls. monocytogenes* ยังสามารถเจริญที่ 5°C ส่วน *S. aureus* เจริญได้ที่ 5-12°C ดังนั้นอาหารแช่แข็งที่นิยมรับประทานกึ่งดิบกึ่งสุกในประเทศสหรัฐอเมริกา และยุโรปมักจะเติมเชื้อเพื่อเป็น Biocontrol โดยควบคุมหรือยับยั้งเชื้อก่อโรคไม่ให้เจริญเติบโต นอกจากนี้ยัง

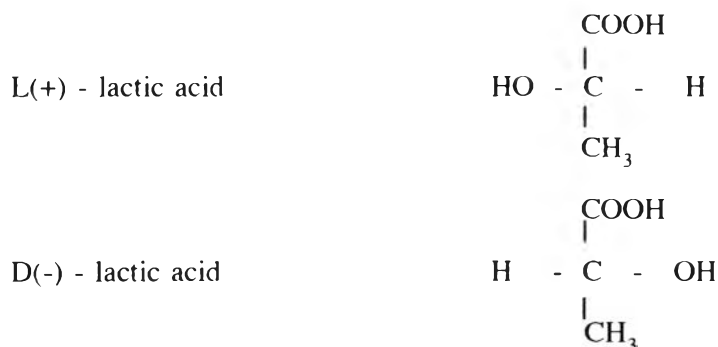
พบว่า *L. lactis* มีผลยับยั้งการสร้างพิษของเชื้อ *C. botulinum* ในไก่แจ้แข็งอีกด้วย (Schillinger and Karl, 1989) การคัดเลือกเชื้อเพื่อใช้เป็น Biocontrol ต้องคำนึงถึง

1. สามารถผลิตกรดอินทรีย์หรือแบคทีริโอซิน ที่ยับยั้งเชื้อที่ไม่ต้องการได้
2. การเจริญของเชื้อที่เป็น Biocontrol ต้องเร็วกว่าเชื้ออื่น
3. อัตราการสร้างสารเมแทบอลิท์ต้องเร็ว และมีผลต่อการเจริญของเชื้ออื่น
4. มีความปลอดภัยในการบริโภค
5. ทำให้เก็บอาหารได้นานขึ้น

### สารสำคัญที่ผลิตจากแล็กติกแอซิดแบคทีเรีย

1. กรดแล็กติกมีชื่อทางเคมีคือ  $\alpha$ -hydroxypropionic acid ( $\text{CH}_3\text{CHOHCOOH}$ ) มีคุณสมบัติไม่มีสีหรือสีเหลืองอ่อนและมีความหนาแน่น 1.294 กรัม/มล.ที่ 25°ซ ในปี 1780 Scheele สามารถผลิตกรดแล็กติกโดยการแยกจากอาหารเลี้ยงเชื้อที่หมักโดยเชื้อแล็กติกแอซิดแบคทีเรียสำเร็จเป็นครั้งแรก การผลิตกรดแล็กติกปัจจุบันจะมีทั้งผลิตโดยการสังเคราะห์และการหมักโดยใช้เชื้อ ในแต่ละปีทั่วโลกจะมีการผลิตประมาณ 100 ล้านปอนด์ ซึ่งสหรัฐอเมริกาต้องใช้กรดแล็กติกที่ผลิตได้ร้อยละ 40 ต่อปี (Rehm and Reed, 1995)

โรงงานอุตสาหกรรมต้องการให้เชื้อผลิตกรดแล็กติกให้ได้ปริมาณสูงๆ ถึง 90 กรัม/ลิตร จึงจำเป็นต้องควบคุมความเป็นกรด่าง เนื่องจากความเป็นกรด่างมีผลต่อการควบคุมการเจริญของเชื้อ เชื้อจะหยุดการเจริญเติบโตเมื่อมีการสร้างกรดแล็กติก 60-70 มิลลิโมล ที่ความเป็นกรด่างประมาณ 4.0 ดังนั้นในโรงงานอุตสาหกรรมจึงเติมแคลเซียมคาร์บอเนตหรือแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ หรือโซเดียมไฮดรอกไซด์เพื่อให้เกิดเป็นเกลือแล็กเตต กรดแล็กติกมี 2 ไอโซเมอร์ ดังรูปที่ 2



รูปที่ 2 สูตรโครงสร้างของ L(+) และ D(-)-lactic acid

ซึ่ง L(+)-lactic acid เป็น enantiomers ที่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมของมนุษย์ ส่วน D(-)-lactic acid ไม่สามารถถูกเมแทบอลิท์ (Phalip et al., 1993)

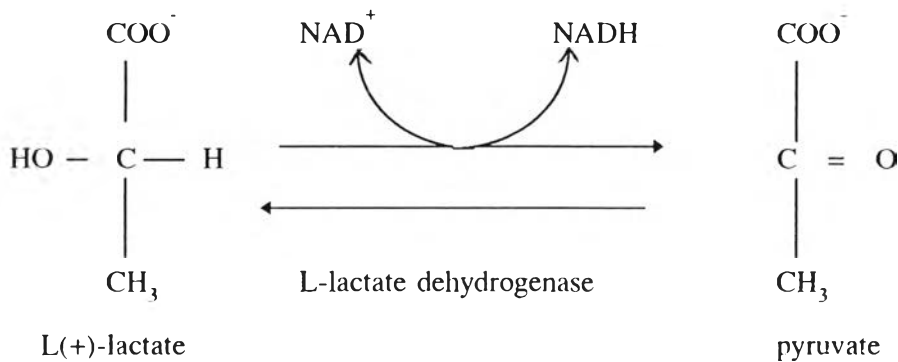
การที่เชื้อจะสร้างกรดแลกติกชนิด D(-) หรือ L(+) นั้น ขึ้นอยู่กับเอนไซม์ในตัวเชื้อ ถ้าเชื้อใดมีเอนไซม์ทั้ง D และ L-lactate dehydrogenase ก็จะสร้าง DL-lactic acid เช่น *L. plantarum* แต่ถ้าเชื้อมี L-lactate dehydrogenase ก็จะสร้าง L(+)-lactic เช่น *L. bavaricus* แต่ในบางครั้งไอโซเมอร์ของกรดแลกติกที่เชื้อสร้างขึ้นสามารถเปลี่ยนแปลงได้ เนื่องจากความเป็นกรดด่างและอุณหภูมิมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์เช่น ในเชื้อที่มีเอนไซม์ D และ L-lactate dehydrogenase เมื่อเชื้อเจริญที่ความเป็นกรดด่าง 7.5-8.5 ณ อุณหภูมิ 50° พบว่า D-lactate dehydrogenase ไม่สามารถทำงานได้ ขณะที่ L-lactate dehydrogenase ยังทำงานได้ร้อยละ 94 ดังนั้นจึงสามารถปรับให้เชื้อสร้าง L(+)-lactic acid ได้โดยไม่สร้าง D(-)-lactic acid (Rhem and Reed, 1995) ในอดีตแล็กติกแอซิดแบคทีเรียที่ทางโรงงานอุตสาหกรรมใช้สำหรับผลิตกรดแล็กติก คือ *L. delbrueckii* subsp. *delbrueckii*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. delbrueckii* subsp. *lactis* แต่ปัจจุบันพบว่ามักจะใช้ *L. casei*, *L. helveticus*, และ *L. acidophilus* ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ดี เพราะสามารถสร้าง L(+)-lactic acid ส่วน *L. delbrueckii* ผลิต D(-)-lactic acid (Knorr, 1987) ในปี 1960 พบว่า D(-) lactic acid ที่มีอยู่ในนมเปรี้ยวเป็นสาเหตุทำให้ทารกเกิดภาวะที่ร่างกายมีความเป็นกรดสูง (acidosis) โดยมีกรดในเลือดและเนื้อเยื่อในร่างกายสูง ดังนั้น คณะกรรมการอาหารและยาของสหรัฐอเมริกาได้ออกกฎหมายให้ใช้ D(-)-lactic acid ในอุตสาหกรรมอาหารแต่ให้ใช้ในรูป L(+)-lactic acid อย่างไรก็ตามยังอนุญาตให้ใช้ในรูป DL-lactic acid ซึ่งยังมีใช้ในอุตสาหกรรมขนมอบ และใช้เป็นสารปรุงแต่งรสในอาหาร (Phalip et al., 1993)

ในแต่ละปีประเทศสหรัฐอเมริกาสามารถผลิตกรดแล็กติกปีละประมาณ 30 ล้านปอนด์ โดย 16.8 ล้านปอนด์ที่ผลิตได้จะทำเป็นอิมัลซิไฟเออร์ (emulsifier) 9.5 ล้านปอนด์ใช้เป็นสารปรุงแต่งในอาหาร (Food additive) เช่น ใช้เป็นสารเพิ่มความเปรี้ยว สารแต่งกลิ่นในอาหาร เครื่องดื่ม เช่น เบียร์ เกล็ด ชีส ไข่ผง 3.7 ล้านปอนด์ใช้ในทางยา เครื่องสำอางค์ ในปัจจุบันกรดแล็กติกเป็นที่น่าสนใจมากสำหรับทำโพลีแล็กติก เพื่อผลิตพลาสติกและสารเคลือบ (polylactic acid plastic และ coatings) (Knorr, 1987)

เมื่อร่างกายได้รับ D(-), L(+) -lactate ร่างกายจะพยายามรักษาสมดุลของการเป็นกรดด่างของร่างกายให้เป็นปกติ โดย D(-)-lactate จะถูกขับออกทางปัสสาวะ ส่วน



L(+)-lactate ถูกออกซิไดซ์อย่างรวดเร็วเพื่อสร้างเป็นไพรูเวท (pyruvate) ดังรูปที่ 3



### รูปที่ 3 ปฏิริยาการออกซิไดซ์แล็กเทต

ในร่างกายคนเราพบว่ามีไมโทคอนเดรียจะมีเอนไซม์ L-lactate dehydrogenase เท่านั้น ไม่มีเอนไซม์ D-lactate dehydrogenase ดังนั้นเมื่อรับประทาน D(-)-lactate เข้าไปจึงไม่สามารถเปลี่ยนเป็นไพรูเวทได้ร่างกายจึงขับ D(-)-lactate ออกไป แต่ถ้าหากรับประทาน D(-)-lactate มากเกินไปจะทำให้เกิดภาวะ acidosis เนื่องจากร่างกายขับออกไม่ทัน (Concor et al., 1983)

ในเด็กปกติเมื่อตรวจเลือดจะต้องไม่พบ D(-)-lactate ส่วน L(+)-lactate ในเลือดจะมีระดับ 0.6-2.4 มิลลิโมล/ลิตร เด็กที่เกิดภาวะ acidosis เนื่องจาก D(-)-lactic acid มากกว่า  $0.08 \pm 0.046$  มิลลิโมล/ลิตร (Lawrence et al, 1982) การวิเคราะห์ระดับ D(-) หรือ L(+)-lactic acid ใช้ Lactate Kit ซึ่งจะบ่งถึงระดับ L-lactate โดยใช้เอนไซม์ L-lactate dehydrogenase และใช้ Nicotinamide adenine dinucleotide ( $\text{NAD}^+$ ) เป็นซับสเตรตในการทำปฏิกิริยาควรงัว 10 นาที เพื่อให้แน่ใจว่าปฏิกิริยาสมบูรณ์แล้วจึงวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตร ถ้าในร่างกายมี L(+)-lactate สูงจะสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้สูง เนื่องจาก NADH มี dihydropyridine ring ซึ่งมีพีคสูงที่ 340 นาโนเมตร แต่ถ้าร่างกายมี D(-)-lactate ก็จะไม่สามารถทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ L-lactate dehydrogenase ได้ ดังนั้น เมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงจะได้ค่าต่ำ เพราะ  $\text{NAD}^+$  ไม่มี dihydropyridine ring จึงไม่สามารถดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นนี้ได้ (Lawrence et al., 1982)

บทบาทในการป้องกันเชื้อของกรดแล็กติกในอาหารหมักพบว่า ผลของการหมักจะทำ

ให้เกิดการสะสมของกรดแล็กติก ซึ่งทำให้อาหารมีค่าความเป็นกรด่างลดลง จะมีผลต่อ จุลินทรีย์บางชนิดที่ไม่สามารถทนกรด เช่น *E. coli*, *Pseudomonas* sp. เป็นต้น กรด แล็กติกสามารถใช้ปริมาณไม่จำกัดในการถนอมอาหาร กลไกการยับยั้ง คือกรดแล็กติกที่อยู่ ในรูปไม่แตกตัวจะสามารถซึมผ่านเข้าสู่เซลล์ ทำให้เกิดการสะสมของกรดในไซโทพลาสซึม จึงทำให้กระบวนการเมแทบอลิซึมที่จำเป็นในการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์เสียไป (Harrigan and Bark, 1991)

2. ไดอะเซทิล (Diacetyl) มีชื่อทางเคมีว่า 2,3 -butanedione เป็นสารที่แล็กติกแอ ลิดแบคทีเรียบางสายพันธุ์สามารถขึ้นโดยสร้างมาจากตัวกลางคือ ไพรูเวท ไดอะเซทิลเป็น สารที่มีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมทำเนยเพราะเป็นสารที่มีกลิ่นหอมและยังจัดอยู่ในบัญชี GRAS (Generally Recognized as Safe) ของประเทศสหรัฐอเมริกา (Jay, 1982)

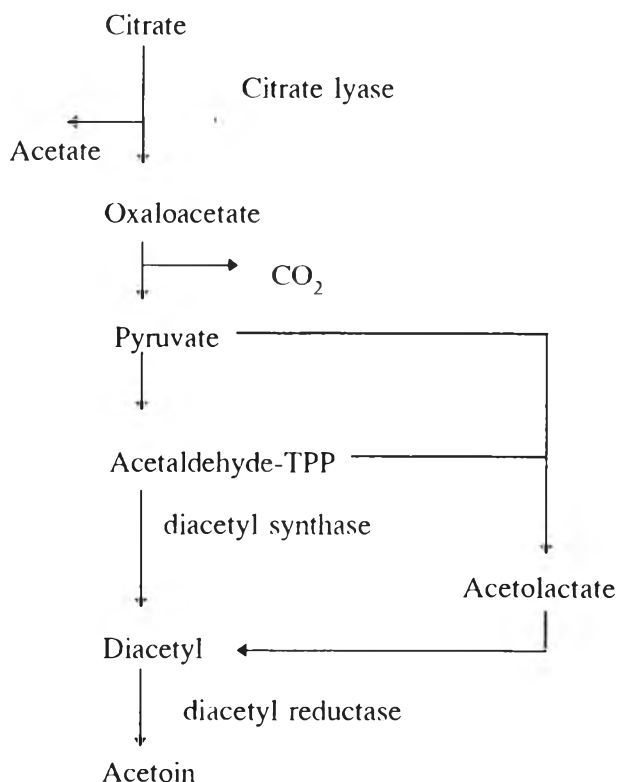
ไดอะเซทิลสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้หลายชนิด เช่น ยีสต์และแบคทีเรีย แกรมลบซึ่งจะมีความไวต่อไดอะเซทิลมากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก ไดอะเซทิลในระดับ ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบและยีสต์ ส่วนระดับ ความเข้มข้น 300 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรจะสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก อย่างไรก็ตาม ไม่นิยมใช้ไดอะเซทิลเป็นสารถนอมอาหาร เพราะถ้าใช้จำนวนมากจะให้กลิ่นที่รุนแรง ไดอะเซทิลสามารถใช้เป็นน้ำยาฆ่าเชื้อ (disinfectant) โดยใช้ทำความสะอาดเครื่องมือ เครื่องใช้ และพื้นผิวโต๊ะทำงานเนื่องจากไดอะเซทิลระเหยได้รวดเร็ว (Seppo and Atte, 1993) ไดอะเซทิล สามารถสร้างขึ้นโดยแล็กติกแอ ลิดแบคทีเรียบางสายพันธุ์ เช่น *L. lactis*, และ *Lc. cremoris* เป็นต้น (Lee, 1996)

ไดอะเซทิลถูกสร้างขึ้นเมื่อมีซิเทรต เมื่อให้ซิเทรตแก่เชื้อ *L. lactis* พบว่า เชื้อ สามารถสร้างไดอะเซทิล และอะซิโทอิน (ดังรูปที่ 4) โดยปกติซิเทรตไม่ถูกนำไปใช้สร้าง พลังงาน แต่การเติมซิเทรตในอาหารที่มีน้ำตาลจะทำให้น้ำตาลกลูโคสถูกนำไปใช้ได้มากขึ้น โดยการนำไปสร้างเป็นไพรูเวท และถ้ามีไพรูเวทมากพอก็จะนำไปสร้างเป็นไดอะเซทิล และอะซิโทอินตามลำดับ แม้ว่าไพรูเวทจะสร้างจากน้ำตาลกลูโคส แต่ถ้าในอาหารไม่มีซิ เทรตก็ไม่สามารถสร้างไดอะเซทิล และอะซิโทอิน (Harvey and Collins, 1963)

นอกจากนี้ยังพบว่าถ้ามีเหล็กหรือทองแดงในอาหารที่มีน้ำตาลกลูโคส ซิเทรตจะ กระตุ้นการสร้างไดอะเซทิลได้มากขึ้น การเพิ่มการสร้างไดอะเซทิล และอะซิโทอินมี

ผลไปลดการสร้างกรดแล็กติก กล่าวได้ว่าเหล็กและทองแดงจะกระตุ้นการใช้กลูโคส เพื่อนำไปสร้างโคอะเซตทิลและอะซิโทอิน โดยกระตุ้นการสร้างเอนไซม์โคอะเซตทิลซินเทส (diacetyl synthase) ส่วนการเติม lipoic acid ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาลกลูโคส พบว่าการสร้างโคอะเซตทิลลดลง เพราะจะไปลดการสร้างเอนไซม์โคอะเซตทิล ซินเทสและยับยั้ง acetyl CoA (Kempler and Mekay, 1980)

การเติมเหล็กเพียง 5 ไมโครโมลจะมีผลเพิ่มการสร้างโคอะเซตทิล 3.5 เท่า โดยจะทำให้การเจริญของเชื้อเพิ่มขึ้น การใช้กลูโคสมากขึ้น แต่การสร้างกรดแล็กติกลดลง ถ้าให้เหล็กและ lipoic acid แก่เชื้อพบว่า การสร้างแอซีติก โคอะเซตทิล และอะซิโทอิน ยังเพิ่มขึ้น เพราะอัตราการกระตุ้นการสร้างเอนไซม์โคอะเซตทิล ซินเทส เนื่องจากเหล็กมากกว่า อัตราการยับยั้งของ lipoic acid แต่ถ้าเติมโพแทสเซียมไซยาไนด์และเหล็กพบว่า อัตราการสร้างแอซีติก โคอะเซตทิล และอะซิโทอินลดลง เพราะโพแทสเซียมไซยาไนด์จับกับเหล็ก เกิดสารประกอบเชิงซ้อน (Kempler and Mekay, 1980)



รูปที่ 4 กระบวนการเมแทบอลิซึมของซิเทรตโดยแล็กติกแอซิดแบคทีเรีย

3. แบคทีริโอซิน (Bacteriocin) จัดเป็นสารต่อต้านจุลชีพ (antimicrobial substance) ที่สร้างโดยจุลินทรีย์ซึ่งสารต่อต้านจุลชีพต่างชนิดกันจะมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อต่างกัน สารต่อต้านจุลชีพเป็นสาร โมเลกุลใหญ่ที่มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบหรือโปรตีนที่มีคาร์โบไฮเดรตรวมอยู่ด้วยกัน

แบคทีริโอซินที่สร้างจากแบคทีเรียกรดแลคติกแบคทีเรียบางสายพันธุ์ ซึ่งจะมีผลในการยับยั้งแบคทีเรียในกลุ่มที่ใกล้เคียงกัน มีลักษณะทางชีวเคมี และพันธุศาสตร์ที่ใกล้เคียงกัน แต่ต่างกันในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ได้มีการศึกษาแบคทีริโอซินที่ชื่อว่า Sakacin ผลิตโดย *L. sake* ที่แยกได้จากเนื้อสัตว์ พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกแบคทีเรียและเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก แต่ไม่พบว่ามีผลต่อเชื้อแกรมลบ (Harvey and Collins, 1963) ได้มีการทดลองพบว่าเนื้อสัตว์จะเก็บได้นานขึ้นถ้าใส่สารที่เตอร์ของ "*P. cerevisiae*" และ *L. plantarum* เนื่องจากสามารถยับยั้ง *Ps. fluorescens*, *Ps. putrefaciens*, *Sn. typhimurium* และ *S. aureus* เพราะ "*P. cerevisiae*" และ *L. plantarum* สามารถยับยั้งเชื้อเหล่านี้โดยการสร้างแบคทีริโอซิน และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Schillinger and Karl, 1989)

แนวทางการใช้ประโยชน์จากแบคทีริโอซินที่สร้างขึ้นมีทั้งความพยายามคัดเลือกลายพันธุ์ที่สามารถสร้างแบคทีริโอซินต่อต้านแบคทีเรียที่ทำให้อาหารบูดเน่า เช่น *S. aureus*, *Ls. monocytogenes* เป็นต้น เพื่อผลิตเป็นสารที่เตอร์หรือสกัดเป็นวัตถุกันเสียเช่นเดียวกับไนซิน (Hammes and Tichazeak, 1991)

4. ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ( $H_2O_2$ ) ในสภาพที่มีอากาศแบคทีเรียกรดแลคติกแบคทีเรียสามารถสร้างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในระหว่างการเจริญเติบโต โดยใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอน ดังนั้นอาหารที่มีแบคทีเรียกรดแลคติกแบคทีเรียจะมีไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สะสมอยู่มาก เนื่องจากแบคทีเรียกรดแลคติกแบคทีเรียไม่มีเอนไซม์แคตาเลส การสะสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะสามารถยับยั้งเชื้อต่อไปนี้ได้ดีจากมากไปหาน้อยตามลำดับ คือ *S. aureus*, *Sn. typhimurim*, *E. coli* และ *C. perfringens* (Seppo and Atte, 1993)

5. กรดแอซิดิก heterofermentative lactic acid bacteria สามารถผลิตกรดแอซิดิกให้ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อดีกว่ากรดแลคติก และสามารถใส่ปริมาณไม่จำกัดในการถนอมอาหาร กรดแอซิดิกสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบและ *C. botulinum* (Harvey and Collins, 1963)

### อาหารหมักประเภทผักดอง

จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการหมักที่ผิวนอกของผักและผลไม้มีจุลินทรีย์หลายชนิดซึ่งแต่ละชนิดจะมีการเจริญเติบโตขึ้นกับสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไประหว่างการปลูก การเก็บเกี่ยวผักผลไม้ การสัมผัสกับดิน น้ำ อากาศ บริเวณผิวภายนอกของผักและผลไม้จึงมีจุลินทรีย์หลายชนิด เช่น *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Escherichia* และ *Bacillus* จุลินทรีย์เหล่านี้จะปนเปื้อนอยู่เป็นจำนวนมาก เช่น บนกานนอกของกะหล่ำปลีมีจุลินทรีย์ประมาณ  $3 \times 10^6$  เซลล์ต่อกรัม ผักที่เป็นหัวอยู่ใต้ดินจะมีปริมาณจุลินทรีย์มากกว่านี้ *L. plantarum* ที่ปนเปื้อนเหล่านี้จะเกี่ยวข้องกับการหมักดอง(ตารางที่ 3) ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มแล็กติกแอซิดแบคทีเรีย โดยใช้น้ำตาลและสารอาหารที่มีอยู่ในผักผลไม้เป็นแหล่งอาหารในการเจริญเติบโต ผลิตรกรดแล็กติก แบคทีเรียกลุ่มนี้จะมีปริมาณน้อยเมื่อเทียบกับจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศในการเจริญเติบโต เนื่องจากการดองส่วนมากจะใช้จุลินทรีย์ตามธรรมชาติ จึงต้องมีการปรับสภาวะแวดล้อมเพื่อให้เหมาะสม การบรรจุผักในภาชนะสำหรับดองต้องแน่น โดยเหลือช่องว่างให้มีอากาศน้อย นอกจากนั้นควรปิดด้วยพลาสติก เติมน้ำให้เต็มหรือลาดทับด้วยมินเนอร์ล้อยล์ ซึ่งภาวะเหล่านี้จะช่วยกำจัดการเจริญของจุลินทรีย์อื่นๆ และขณะเดียวกันจะช่วยส่งเสริมการเจริญของแล็กติกแอซิดแบคทีเรีย (Stamer et al., 1971)

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ระหว่างการดอง คือ สภาวะแวดล้อมของการดอง ปริมาณ ชนิดของจุลินทรีย์ที่ติดมากับวัตถุดิบ ปริมาณเกลือ และอุณหภูมิการหมัก เมื่อผักและผลไม้ถูกตัดระหว่างเก็บเกี่ยว น้ำภายในเซลล์ส่วนหนึ่งจะไหลออกมา ตรงรอยตัดของเหลวเหล่านี้เป็นแหล่งอาหารที่ดีสำหรับเชื้อ *Lc. mesenteroides* ซึ่งผลิตรกรดแล็กติก กรดแอซิดิก เอทานอล และคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งเชื้อนี้สามารถเจริญเร็วกว่าแบคทีเรียที่ผลิตรกรดแล็กติกชนิดอื่น กรดที่เชื้อผลิตขึ้นจะยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่ไม่ต้องการคาร์บอนไดออกไซด์ที่ผลิตขึ้นจะแทนที่อากาศในภาชนะ ทำให้สภาวะภายในมีออกซิเจนลดลง และช่วยปรับสภาวะให้เหมาะสม หลังจากการเจริญของ *Lc. mesenteroides* จะมีแล็กติกแอซิดแบคทีเรียสายพันธุ์อื่นเจริญ (ตารางที่ 4) ซึ่งแต่ละชนิดขึ้นกับปริมาณจุลินทรีย์ที่มีเริ่มต้นในวัตถุดิบ ความเข้มข้นของเกลือ น้ำตาล และอุณหภูมิ *L. plantarum* เป็นแบคทีเรียที่ผลิตรกรดในปริมาณสูง และกรดส่วนมากจะเป็นกรดแล็กติก (ศิริลักษณ์ สีนชวาลย์, 2525)

ตารางที่ 3 ปริมาณเชื้อ *L. plantarum* ในผักสด

(Rhem and Reed, 1995)

ชนิดของผัก	จำนวนของเชื้อ (เซลล์/กรัม)
กะหล่ำปลี	7.3
หอมแดง	2.3
ขิง	4.6
หัวหอม	1.82
กระเทียม	0
พริกไทย	4.3

ตารางที่ 4 ชนิดของแล็กติกแอซิดแบคทีเรียที่พบในผักดอง

(Rhem and Reed, 1995)

สายพันธุ์	ชนิดของการหมัก	สารที่ได้จากการหมัก	ไอโซเมอร์ของกรดแล็กติก
<i>Streptococcus faecalis</i>	Homofermentative	Lactate	L (+)
<i>Streptococcus lactis</i>	Homofermentative	Lactate	L(+)
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Heterofermentative	Lactate: acetate 1:1	D(-)
<i>Pediococcus pentosaceus</i>	Homofermentative	Lactate	DL, L(+)
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Heterofermentative	Lactate: acetate 1:1	D(-), L(+), DL
	Homofermentative	Lactate	D(-), L(+) DL
<i>Lactobacillus bavaricus</i>	Homofermentative	Lactate	L(+)

ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการดองเรียกว่าพิกเกิล (pickles) ผักดองสามารถรับประทานกับอาหารได้ทุกมื้อ โดยอาจรับประทานเป็นของว่าง เนื่องจากรสชาติและกลิ่นที่หอม การรับประทานอาจทำผักดองให้สุกก่อน ซึ่งจะทำให้ความกรอบของผักดองลดลง หรือรับประทานผักดองที่หมักแล้วได้เลย ผักดองมีหลายชนิดอาจแตกต่างกันบ้างเล็กน้อย ในที่นี้จึงยึดหลักในการแบ่งของ Fabian and Switzer, 1941 ซึ่งจำแนกผักดองได้เป็น 3 ชนิด คือ ผักดองผสมเครื่องเทศ (dill pickles) ผักดองหวาน (sweet pickles) และผักดองเปรี้ยว (sour pickles)

1. ผักดองผสมเครื่องเทศ คือ ผักดองที่ได้จากผักหลาย ๆ ชนิดผสมกันกับเครื่องเทศ เช่น กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก แดงกวา หัวหอม พริกหยวก พริกเขียว พริกแดง มะเขือเทศ ข้าวโพดอ่อน และถั่ว เป็นต้น โดยนิยมเตรียมเป็นผักชิ้นพอเหมาะ ซึ่งจะมีขนาดแตกต่างกันไปตามชนิด ตัวอย่าง เช่น กิมจิ

กิมจิ (kimchi) อาจกล่าวได้ว่ากิมจิคือ กะหล่ำปลีดองของโลกตะวันออก กิมจิเป็นอาหารจำพวกผักดองผสมเครื่องเทศ ที่หมักโดยเชื้อแล็กติกแอซิดแบคทีเรีย โดยเติมเกลือและน้ำตาลเล็กน้อย กิมจิที่ผลิตในประเทศเกาหลีมีมากกว่า 38 ชนิด การผลิตกิมจิสามารถผลิตได้ตลอดทั้งปี แต่มักนิยมหมักในช่วงฤดูหนาว กลางเดือนพฤศจิกายนถึงธันวาคม การผลิตในฤดูหนาวมีมากกว่า 10.1 ล้านตัน คนเกาหลีนิยมรับประทานกิมจิมากเป็นพิเศษในช่วงฤดูหนาว โดยกินกับเนื้อสัตว์ย่างซึ่งจะให้รสชาติดี ปกติในฤดูหนาวแต่ละคนจะรับประทานกิมจิเฉลี่ย 350-400 กรัม/วัน ส่วนฤดูร้อนจะรับประทานเฉลี่ย 200-300 กรัม/วัน ส่วนใหญ่ชาวเกาหลีจะทำกิมจิในครัวเรือน ไม่นิยมทำขาย ห้องครัวของชาวเกาหลีเกือบทุกครอบครัวจะมีที่สำหรับทำกิมจิ

การทำกิมจิจะต้องใส่ผักหลายชนิด เช่น กะหล่ำปลี หัวหอม แดงกวา หัวผักกาดหรือแครอทลงไปนึ่งในไห ประมาณร้อยละ 80-90 อัดให้แน่น ใส่เกลือร้อยละ 2.25 แล้วนำไปฝังดิน หลังจากหมักได้ 1-2 วันจะเทน้ำที่หมักออกเล็กน้อยแล้วใส่เครื่องเทศ เพื่อให้กลิ่นรสที่หอมของผักดอง การหมักกิมจิจะให้รสชาติดีขึ้นและหมักได้เร็วขึ้น ถ้าเติมน้ำที่ได้จากปลาหมัก เพราะในปลาหมักจะมีเชื้อแล็กติกแอซิดแบคทีเรีย ในการหมักกิมจิที่ 40°C พบว่าจะได้รสชาติที่ดี โดยใช้เวลาหมัก 1 วัน และได้กรดแล็กติกร้อยละ 0.4-0.8 เปรี้ยวเล็กน้อย ถ้าหมักที่ 20°C จะใช้เวลาหมัก 4 วัน แต่ถ้าหมักที่ 10°C จะใช้เวลาในการหมักนานถึง 30-60 วัน ช่วงแรกของการหมักจะพบเชื้อ *Lc. mesenteroides*, *Lc. dextranicum*, *Lc. leichmannii*,

*L. fermentum*. และ *L. plantarum* (Fleming, 1983; Frazier and Westhoff, 1979) การผลิตกิมจิจะต่างกับกะหล่ำปลีดองของชาวตะวันตก คือ อุณหภูมิในการหมักกิมจินิยมที่อุณหภูมิต่ำกว่าซึ่งทำให้กิมจิมีรสชาติเปรี้ยวน้อยกว่ากะหล่ำปลีดอง (sauerkraut) (June, 1976)

2. ผักดองหวาน ได้จากการนำผักดองที่ผ่านการหมักเรียบร้อยแล้วด้วยเกลือหรือน้ำส้มผสมเกลือ แล้วนำมาค่อยๆเติมน้ำตาล การเติมน้ำตาลจะเติมน้ำตาล 2 ครั้งจะใช้เวลาประมาณ 7-10 วัน ซึ่งจะได้ความเข้มข้นของน้ำตาล 20-40° ซาโลมิเตอร์ และเติมน้ำส้มประมาณ ร้อยละ 2 เพื่อให้ได้รสชาติเปรี้ยว ถ้าเติมน้ำตาลครั้งละมาก ๆ จะทำให้ผักเหี่ยว ตัวอย่างของผักดองชนิดนี้ เช่น แดงกวาดองหวาน

### 3. ผักดองเปรี้ยว มีวิธีการดอง 2 วิธี

3.1 Fresh packed pickles เป็นผักดองที่ใช้ น้ำส้มบริสุทธิ์ ในการหมักจะใช้น้ำส้มความเข้มข้นร้อยละ 4-6 เป็นวิธีการหมักที่ง่ายและรวดเร็วจึงเรียกว่า Quick processed pickles ผักดองที่ได้จะมีกลิ่นรสต่างจากผักดองที่ได้จากการดองตามธรรมชาติ ตัวอย่างเช่น แดงกวาดอง

แดงกวาดอง (*Cucumis sativus*) ที่ทำกันในครัวเรือนมักใช้ส่วนผสมน้ำส้มกับน้ำเกลือ น้ำเกลือที่ใช้มีความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ตั้งแต่ร้อยละ 1-10 เพื่อทำลายเชื้อที่ไม่ต้องการให้เหลือแต่เชื้อที่สร้างกรดเล็กน้อย ในกรณีที่หมักหลายวันจะเรียกว่า Genuine dill pickle ส่วนชนิด Fresh pack pickles หรือ Quick processed pickles ส่วนใหญ่จะใส่น้ำส้มร้อยละ 4-6 การหมักอย่างรวดเร็วจะทำให้เชื้อสร้างกรดเล็กน้อยเพียงร้อยละ 0.3-0.4 แดงกวาดองที่หมักเรียบร้อยแล้ว ถ้าต้องการให้เก็บได้นานหลาย ๆ เดือน หรือเป็นปีจะต้องค่อย ๆ เพิ่มปริมาณเกลือทุกสัปดาห์ (ค่อยเพิ่มสัปดาห์ละ 2° ซาโลมิเตอร์) จนถึง 50° ซาโลมิเตอร์ ความเป็นกรดค้างของน้ำหมักจะประมาณ 3.8 ถ้าต้องการให้เก็บได้หลาย ๆ ปี ก็อาจเพิ่มปริมาณเกลือถึง 70° ซาโลมิเตอร์ ซึ่งวิธีนี้เรียกว่า salt stock สามารถนำแดงกวาที่ได้จาก salt stock ไปทำแดงกวาดองชนิดหวาน (sweet pickles) หรือนำไปทำแดงกวาดองผสมเครื่องเทศ (Keith, 1996 ; Russel and Gould, 1991)

ในแต่ละประเทศอาจมีแดงกวาดองแตกต่างกันไป เนื่องจากวิธีที่ต่างกันบ้าง หรือส่วนผสมทำให้มีชื่อเรียกต่างกัน เช่น Polish dill pickles, Sweet picalli ส่วนในสหรัฐอเมริกาจะนิยมเรียกว่าพิกเกิล ซึ่งนิยมรับประทานกันมาก โดยจะใส่น้ำแดงกวาดองในแฮมเบอร์เกอร์ ซึ่งเป็นอาหารหลัก และยังเป็นประเทศที่ส่งออกมากประเทศหนึ่ง สถิติการผลิตแดง



กวาดองของสหรัฐอเมริกาในปี 1992 มีผลผลิตทั้งสิ้น 861.8 ตัน เป็นมูลค่า 120,813 พันดอลลาร์ (Rhem and Reed, 1995)

การหมักแตงกวาจะพบเชื้อแบคทีเรียหลายชนิดและปริมาณของเชื้อขึ้นอยู่กับสภาวะแวดล้อมของการหมัก เช่น อุณหภูมิ และความเข้มข้นของเกลือ เป็นต้น

ถ้าอุณหภูมิในการหมักต่ำจะพบ *Lc.mesenteroides* แต่ถ้าอุณหภูมิในการหมักสูงจะพบเชื้อ *S. faecalis* ทางการค้านิยมใช้เชื้อบริสุทธิ์ โดยจะลวกผักก่อน (blanching) เพื่อขจัดเชื้อที่ติดมากับผักให้ลดลง และลดการทำงานของเอนไซม์ในผัก แล้วจึงเติมเชื้อ เชื้อที่นิยม ได้แก่ *L. plantarum* "*P. cerevisiae*" และ *L. brevis* ซึ่งจะได้ผักดองที่มีคุณภาพดี และมีปริมาณกรดแล็กติกร้อยละ 1.5-2.0 ในการหมักอาจพบเชื้ออื่น เช่น *Aerobacter* ซึ่งสร้างแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ และแก๊สไฮโดรเจน และอาจพบยีสต์หรือรา ซึ่งสามารถเจริญได้ในอาหารที่เป็นกรด ตัวอย่างของเชื้อยีสต์ เช่น *Debaryomyces*, *Pichia*, *Mycoderma*, *Torulopsis* ซึ่งจะสร้างแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ และแอลกอฮอล์ (Daeschel et al., 1988)

อุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักแตงกวา คือที่ 21-27°C การหมักจะเกิดได้เร็ว น้ำตาลจะถูกเปลี่ยนเป็นกรดแล็กติกได้ดี ส่วนเกลือที่ใช้ควรใช้ร้อยละ 2-5 แต่ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.25 จะได้ผักดองที่มีรสชาติดี มีปริมาณกรดแล็กติกร้อยละ 0.5-1.5 ความเป็นกรดค้างของน้ำหมักประมาณ 3.5 (Rodrigo et al., 1968)

คุณภาพของแตงกวาดองที่ดีต้องกรอบ ใส และถ้ามีกลิ่นของโคมะเทศหิลได้จะดีมาก ซึ่งขึ้นกับสายพันธุ์ของแบคทีเรียแล็กติก ส่วนแตงกวาดองที่ได้จากการหมักของเชื้อ *L. plantarum* จะมีปริมาณกรดแล็กติกสูง รสชาติดี แต่เชื้อไม่สามารถสร้างโคมะเทศหิล (Fleming et al., 1995)

3.2 Brined pickles ความเปรี้ยวที่เกิดขึ้นโดยวิธีนี้ได้จากการหมักโดยใช้เกลือหรือน้ำเกลือจึงเรียกว่า Fermented pickles หรือ Brined pickles ในการดองผักควรจะต้องให้น้ำที่ใช้หมักท่วมผัก ใช้เวลาในการหมัก 3-5 วัน หรือนานกว่านั้น ขึ้นกับอุณหภูมิในการหมัก ในระหว่างหมักสีและเนื้อสัมผัสของผักจะจางลง ถ้าสภาวะต่างๆเหมาะสมจะทำให้มีรสเปรี้ยว ซึ่งรสเปรี้ยวนี้มาจากกรดแล็กติก ตัวอย่างเช่น กะหล่ำปลีดอง (Sauerkraut)

กะหล่ำปลีดอง (Sauerkraut)(มาจากภาษาเยอรมัน Sauerkohl) เป็นกะหล่ำปลีที่หั่นเป็นชิ้นๆใส่เกลือและน้ำตาล โดยจะหมักในที่ปราศจากอากาศหรือให้มีอากาศน้อยที่สุด (Leland and Richard, 1970) กะหล่ำปลีดองเป็นอาหารที่ชาวตะวันตกชอบรับประทาน โดย

เป็นที่แพร่หลายในเยอรมันตั้งแต่ ศตวรรษที่ 13 (Pederson, 1971) โดยสามารถรับประทาน  
กะหล่ำปลีคองกับเนื้อสัตว์ หรือนำกะหล่ำปลีคองไปทำให้สุกก่อน (Raymond et al., 1972)

ในสมัยก่อนประเทศเยอรมันนิยมผลิตกะหล่ำปลีคองในครัวเรือน แต่ปัจจุบัน  
พบว่าร้อยละ 90 ของกะหล่ำปลีคองผลิตจากโรงงานอุตสาหกรรมซึ่งจะบรรจุใส่ขวดหรือใส่  
ถุงพลาสติกไว้จำหน่าย นอกจากนี้ยังมีการขายน้ำหมักเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการหมักกะหล่ำ  
ปลีในครัวเรือน (Keith, 1996) ประเทศที่มีชื่อเสียงเกี่ยวกับการผลิตกะหล่ำปลีคอง คือ  
ประเทศเยอรมัน โดยร้อยละ 85 ของกะหล่ำปลีที่ปลูกได้จะผลิตเป็นกะหล่ำปลีคองปีละ  
ประมาณ 61,000 ตัน กะหล่ำปลีที่ผลิตจากเยอรมันจะใช้เวลาหมักของเกลือร้อยละ 0.7-4  
ใช้เวลาหมักประมาณ 1 สัปดาห์ ในการหมักจะหมักได้เร็วเนื่องจากใช้น้ำที่หมักแล้วมาหมัก  
ต่อ ประเทศที่ผลิตกะหล่ำปลีคองส่งออกมาได้แก่ สหรัฐอเมริกา แคนาดา และเนเธอร์แลนด์  
ตามลำดับ สถิติการผลิตกะหล่ำปลีคองของสหรัฐอเมริกาในปี 1992 มีผลผลิตทั้งสิ้น  
307.5 ตัน เป็นมูลค่า 12,225 พันดอลลาร์

แล็กติกแอซิดแบคทีเรียที่สามารถผลิตกรดแล็กติกได้ปริมาณสูงจะทำให้  
ผักคองมีคุณภาพดี โดยสามารถเรียงความสามารถในการผลิตกรดแล็กติกตามลำดับจากมากไป  
น้อย คือ *L. plantarum*, "*P. cerevisiae*", *L. brevis*, *Lc. mesenteroides* และ *St. faecalis*  
(Pederson, 1971) กะหล่ำปลีคองที่มีคุณภาพดี ควรจะมีกรดแล็กติกอย่างน้อยร้อยละ 0.7 ความ  
เป็นกรดค้างของน้ำหมักต่ำกว่า 4.1 ควรจะปราศจากฟิล์มยีสต์ ซึ่งป้องกันโดยใช้ของหนักวาง  
ทับ เพื่อให้แน่ใจว่าน้ำหมักท่วมผัก โดยเติมน้ำปริมาณร้อยละ 10-20 ของภาชนะที่บรรจุหรือ  
อาจใส่มีเนรัลลอยล์ทับเหนือน้ำหมัก

#### องค์ประกอบที่ใช้ในการทำผักและผลไม้คอง

1. ผักและผลไม้ที่ใช้เป็นวัตถุดิบ ต้องเลือกผักและผลไม้ที่มีคุณภาพดี สะอาด  
สด ไม่เน่าช้ำหรือมีแมลง การคองผักไม่นิยมใช้ดอกมาหมัก เนื่องจากในดอกปริมาณเชื้อ  
และเอนไซม์มีสูง (ตารางที่ 5)

## ตารางที่ 5 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ในผักก่อนการหมัก

(Knorr, 1987)

จำนวนเชื้อ (เซลล์/กรัม)		
ชนิดของเชื้อ	แตงกวา	
	ผล	ดอก
Total aerobes	$1.6 \times 10^4$	$1.8 \times 10^7$
Enterobacteriaceae	$3.9 \times 10^3$	$6.4 \times 10^6$
Lactic acid bacteria	$5 \times 10^0$	$2.6 \times 10^4$
Yeasts	$1.6 \times 10^0$	$3 \times 10^3$

ถ้าเป็นผักขนาดใหญ่ อาจตัดหรือหั่นให้ได้ขนาดตามที่ต้องการก่อนล้างผัก ผักที่หมักต้องล้างผักให้เหี่ยว เพื่อให้น้ำระเหยไปบางส่วน วัตถุประสงค์ที่นำมาใช้ดองนั้นส่วนมากมักจะเป็นผักชนิดต่างๆ ในต่างประเทศผักที่นิยมนำมาดอง คือ แตงกวา และกะหล่ำปลี ส่วนใหญ่ประเทศไทยนั้นนิยมผักพื้นบ้านชนิดต่าง ๆ นำมาดอง เช่น หน่อไม้ ถั่วงอก ต้นหอม ผักเสี้ยน ผักกาดเขียวปลี (Keith, 1996)

### 2. เครื่องปรุงที่ใช้ในการหมักดอง

2.1 เกลือที่ใช้ต้องสะอาด เกลือให้รสชาติและช่วยควบคุมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในการดองผัก ความเข้มข้นของเกลือที่เหมาะสมจะช่วยให้เกิดการหมักที่ดี ได้ผักดองที่มีคุณภาพซึ่งนิยมใช้เกลือร้อยละ 2.0-5.0ของน้ำหนักผัก(Laland and Richard, 1970) เกลือสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้ออื่น โดยการดึงน้ำออกจากตัวเชื้อ (osmosis) ซึ่งทำให้เชื้อขาดน้ำ และเกลือในปริมาณสูงจะสามารถป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus* แต่การใช้เกลือความเข้มข้นสูงเกินไปจะดึงน้ำออกจากเซลล์ผักด้วย ทำให้ผักดองที่ได้เหี่ยว ดังนั้นควรใช้เกลือในปริมาณที่เหมาะสม (Catherine et al., 1991)

นอกจากนี้ยังพบว่าถ้าใช้เกลือความเข้มข้นมากกว่าร้อยละ 10-15 การเพิ่มจำนวนของแล็กติกแอซิดแบคทีเรียจะช้า แต่ยีสต์จะเจริญได้เร็ว ซึ่งทำให้การผลิตกรดแล็กติกลดลง และเกิดแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์มากขึ้น (Albury and Pederson, 1961)

ส่วนการคงด้วยน้ำเกลือความเข้มข้นสูง จะใช้ความเข้มข้นของเกลือประมาณร้อยละ 15-20 โดยในการคงจะต้องค่อย ๆ เพิ่มความเข้มข้นของเกลือที่ใช้คง ซึ่งเกลือที่มีความเข้มข้นสูงจะสามารถป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเสื่อมเสียได้ แต่ยังไม่ยอมให้เชื้อแบคทีเรียที่สร้างกรดแล็กติกเจริญต่อไปได้อีก วิธีการคงที่เหมาะสมกับอาหารที่ต้องเก็บไว้นาน เกลือที่ใช้ควรมีความบริสุทธิ์ ไม่ควรนำเกลือที่มีเหล็กและทองแดง หรือโครเมียมปะปนอยู่มาใช้ เพราะจะทำให้ผักคงเกิดการเปลี่ยนสี เนื่องจากคลอโรฟิลล์ซึ่งมีสีเขียวจะเปลี่ยนเป็นฟิวโอฟิติน ซึ่งเป็นสีเขียวขี้ม้า หรือโลหะเหล่านี้จะรวมตัวกับแทนนินและแอนโทไซยานิน เกิดสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำตาล ทำให้ผักมีสีน้ำตาลหรือสีคล้ำ (ศิริลักษณ์ สันธวาลัย, 2525) ถ้าสภาวะต่างๆเหมาะสม และถ้ามีน้ำตาลเพียงพอ จะทำให้เกิดกรดแล็กติกในปริมาณมากพอ ขณะหมักเกลือและน้ำตาลจะดึงน้ำออกจากผัก นอกจากนี้สี รสชาติ และเนื้อสัมผัสของอาหารจะเกิดการเปลี่ยนแปลงอยู่ในสภาพของอาหารหมักคง (Leland and Richard , 1970)

2.2 น้ำส้ม ในการหมักคงนั้นอาจมีการเติมน้ำส้ม ซึ่งทำให้เกิดรสกรดแอซิดิก ซึ่งทำให้กลิ่นรสที่ได้แตกต่างจากกรดแล็กติก ปริมาณในการหมักคงด้วยน้ำส้มสายชู จะใช้ความเข้มข้นร้อยละ 4-6 ของน้ำส้มสายชูภาวะความเป็นกรดจะมีผลต่อรสชาติและความกรอบ น้ำส้มสายชูที่ไม่บริสุทธิ์จะมีผลต่อสีของอาหาร ดังนั้นควรใช้น้ำส้มสายชูบริสุทธิ์ (Catherine et al ., 1991)

2.3. น้ำตาลและเครื่องเทศ น้ำตาลนอกจากจะเป็นอาหารของเชื้อจุลินทรีย์ที่สร้างกรดแล็กติกแล้ว ยังพบว่าชนิดของน้ำตาลมีผลต่อการสร้างกรด การใช้น้ำตาลฟรุกโตสและซูโครสปริมาณสูงถึงร้อยละ 5 จะทำให้การสร้างกรดแอซิดิกโดยเชื้อ heterofermentative lactic acid bacteria เพิ่มขึ้นซึ่งมีผลต่อกลิ่นรสของอาหารหมักคง แต่ถ้าใช้น้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลชนิดอื่น พบว่าเชื้อกลุ่มนี้จะสร้างกรดแอซิดิกเพิ่มไม่มาก แต่จะสร้างกรดแล็กติกเพิ่มขึ้น (Christensen, 1958) ถึงแม้ว่าจะเป็นผักชนิดเดียวกัน น้ำตาลในส่วนต่างๆของลำต้นก็มีปริมาณน้ำตาลต่างๆ กัน (ดังตารางที่ 6) ซึ่งมีผลต่อการหมัก จึงทำให้การหมักที่ได้มีปริมาณกรดแล็กติกต่างกัน แม้จะใส่เชื้อแล็กติกแอซิดแบคทีเรียที่ใช้ในการหมักเท่ากัน นอก

จากนี้ยังพบว่าปริมาณน้ำตาลในผักแต่ละชนิดจะมีปริมาณต่างกัน (ดังตารางที่ 7) ดังนั้นในการหมักจะได้ปริมาณกรดแล็กติกต่างกัน

ตารางที่ 6 ปริมาณน้ำตาลชนิดต่างๆในส่วนของใบและต้นกะหล่ำปลี

(Henery et al., 1995)

ชนิดของน้ำตาล	ความเข้มข้นในใบ (มิลลิโมล)	ความเข้มข้นในลำต้น (มิลลิโมล)
ซูโครส	7.0	53.1
กลูโคส	132.5	75.7
ฟรุคโตส	114.2	60.3

ตารางที่ 7 ปริมาณความเข้มข้นของน้ำตาลชนิดต่างๆ กรดและเอทานอลในผักก่อนและหลังการหมัก

(Castrol et al., 1995)

ชนิดของผัก	ก่อนและหลังการหมัก	น้ำตาล (%)				กรดแล็กติก (%)	กรดแอสติก (%)	เอทานอล (%)
		ฟรุคโตส	กลูโคส	ซูโครส	รวม			
ถั่ว	ก่อน	0.51	0.47	-	0.98	-	0.05	-
	หลัง	-	-	-	-	1.23	0.12	0.03
หัวไชเท้า	ก่อน	-	-	3.88	3.88	-	0.04	-
	หลัง	-	-	2.88	2.80	0.91	0.07	-
แครอท	ก่อน	0.37	0.49	1.96	2.82	-	-	-
	หลัง	0.04	-	0.91	0.95	1.93	0.59	-
กะหล่ำปลี	ก่อน	0.38	0.40	-	0.78	-	0.04	-
	หลัง	-	-	-	-	0.98	0.08	-
พริกไทย (สีเขียว)	ก่อน	0.25	0.35	0.48	1.08	-	0.03	-
	หลัง	-	-	-	-	0.62	0.06	0.08
พริกไทย (สีแดง)	ก่อน	0.84	0.87	0.04	1.75	-	0.04	-
	หลัง	-	-	-	-	1.53	0.14	0.23
มะเขือเทศ	ก่อน	0.56	0.51	-	1.07	-	0.04	-
	หลัง	-	-	-	-	1.34	0.11	-

Castrol และคณะ 1995 พบว่าระยะเวลาในการหมักผักแต่ละชนิดจะใช้เวลาต่างกัน โดยพบว่าการหมักแตงกวาจะใช้ระยะเวลาสั้นที่สุด ส่วนการหมักแครอทจะใช้ระยะเวลาในการหมักนานที่สุด ผักดองที่ได้มีเชื้อแบคทีเรียมากกว่า  $1 \times 10^9$  เซลล์/มล. เมื่อการหมักสิ้นสุดลง และพบว่ามียีสต์เจริญทุกผลิตภัณฑ์ สำหรับเครื่องเทศ ซึ่งมีน้ำมันหอมระเหยที่ช่วยให้รสชาติ และกลิ่นชวนรับประทานยิ่งขึ้น เครื่องเทศควรเลือกชนิดที่ไม่มีราปนเปื้อน

3. น้ำ การเติมน้ำสำหรับดองมีหลายแบบ อาจลวกผักและผลไม้ที่ค่อนข้างแข็งก่อนดอง เพื่อให้อ่อนนุ่ม หรือเติมน้ำสำหรับดองในขณะที่ยังร้อน ส่วนผลไม้ที่มีเปลือกอ่อนเติมน้ำเย็นลงไปบนผักหรือผลไม้ ไม่ว่าวิธีใดจะต้องให้น้ำที่ใช้ดองท่วมอาหาร มิฉะนั้นผักและผลไม้ส่วนที่อยู่เหนือน้ำจะเสียและมีลักษณะเป็นเมือกกลิ่น (ศิริลักษณ์ สนิทวาลัย, 2525)

#### การเลือกวิธีการหมักดอง

การจะเลือกใช้วิธีใดในการหมักดองขึ้นอยู่กับลักษณะของผลิตภัณฑ์อาหารที่ต้องการอุปกรณในการหมัก และชนิดของอาหารที่จะนำมาหมักดอง

1) ลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ ในการดองกะหล่ำปลีอาจใช้วิธีการหมัก เป็น Sauerkraut หรืออาจใช้วิธีดองในส่วนผสมของน้ำส้มได้ Pickles cabbage ผักดองที่ได้จากการหมักจะให้สี รสชาติ และเนื้อสัมผัสต่างจากการดองด้วยน้ำส้ม (Lee, 1996)

2) อุณหภูมิที่ใช้ในการหมักนั้นมีความสำคัญ เช่น ในการทำกะหล่ำปลีหมักเปรี้ยวจะต้องใช้อุณหภูมิ 25-30°ซ เพื่อเร่งขบวนการหมักให้เกิดกรดแล็กติก และถ้าสภาวะอื่นๆเหมาะสมจะได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพสูง แต่ถ้าอุณหภูมิต่ำเช่น 15°ซ กระบวนการหมักก็จะเป็นไปได้ช้า (ศิริลักษณ์ สนิทวาลัย, 2525)

3) อุปกรณ์การทำและที่เก็บ อุปกรณ์ที่ใช้ในการหมักดองผักจะใช้อุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมอาหารทั่วไปได้ เช่น トラซังใช้บอกร้านักอาหาร สักส่วนของเกลือและน้ำอาจได้จากการชั่งตวง แต่อุปกรณ์ในการทำอาหารหมักดองจะต้องพิจารณาว่าทำมาจากวัสดุใด ไม่ควรใช้ภาชนะทำจากทองแดง ทองแดงสามารถทำปฏิกิริยากับน้ำส้มเกิดคอปเปอร์ แอซีเตต (copper acetate) ซึ่งมีผลต่อรสชาติ ภาชนะที่ทำจากเหล็กหรือหม้อที่มีรอยกระเทาะ อาจทำให้อาหารสัมผัสกับเหล็กข้างในได้จึงไม่เหมาะที่จะนำมา

ใช้ของอาหาร ภาชนะควรใช้ที่ทำจากอะลูมิเนียมหรือเหล็กไม่เป็นสนิม สำหรับการหมัก ควรใช้ภาชนะที่ทำจากดิน หรือแก้วจะดีกว่า (Raymond et al., 1972; Stamer et al., 1979)

4) วิธีที่เหมาะสมในการเตรียมอาหารนั้นๆปกติต้องเคล้าผักกับเกลือ ควรใช้เกลือแห้ง เกลือจะช่วยดึงน้ำออกจากผักได้มากทำให้ผักแน่น หลังจากนั้นเทศารละลายที่ใช้ดองท่วมอาหาร ตั้งทิ้งไว้จนหมักได้ที่ (ศิริลักษณ์ สันธวาลัย, 2525)

### สาเหตุการเสื่อมเสียของผักดอง

ในการทำอาหารหมักดองมักพบปัญหาว่าอาหารหมักดองมีลักษณะอ่อนเป็นเมื่อเกิดลักษณะดังกล่าวขึ้นแล้ว จะไม่สามารถทำให้ผักดองนั้นแข็งขึ้นได้ ลักษณะดังกล่าวเกิดเนื่องจากใช้น้ำเกลือเจือจางเกินไปหรืออาหารหมักดองสัมผัสกับอากาศ ทำให้จุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการเจริญเติบโตได้ ดังนั้นอาหารหมักดองต้องมีน้ำเกลือปิดท่วมตลอดเวลา (Margaret, 1979)

อาหารหมักดองจะเกิดการเสื่อมเสียเมื่อมีแผ่นฟิล์มหนาของเชื้อราหรือยีสต์เกิดขึ้นบนผิวของน้ำเกลือ จุลินทรีย์เหล่านี้จะใช้กรดแล็กติกที่เกิดจากการหมักทำให้จุลินทรีย์อื่นๆสามารถเจริญได้ในน้ำเกลือ ซึ่งทำให้อาหารเสีย และทำให้เกิดรสชาติและกลิ่นที่ไม่ต้องการ (Elaine et al., 1994) การเกิดกลิ่นรสผิดปกติและการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเนื้อเยื่อทำให้เกิดการเน่าเปื่อย จะเกิดขึ้นในช่วง 2-3 วันหลังจากเริ่มดอง ซึ่งเกิดจากเอนไซม์ในผักผลไม้หรือเอนไซม์จากจุลินทรีย์ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ คือ 31°C เอนไซม์ที่ว่านี้คือ โพลีกาแลคทูโรเนส เอนไซม์ (polygalacturonase) นอกจากนี้ราที่พบบนผิวของผลและดอกสามารถสร้างเอนไซม์นี้เช่นกัน (Harrigan and Park, 1991) ในการหมักอาหารช่วงแรกจะมีกรดต่ำ ต้องระวังการเจริญของรา โดยต้องระวังมิให้อาหารอยู่เหนือน้ำหมัก อาจใช้วิธีเติมกรดลงในน้ำเกลือ หรือเติมเกลือโซเดียมเบนโซเอท หรือกรดซอร์บิก เพื่อป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์โดยเฉพาะยีสต์ (Russel and Gould, 1991) ส่วนผักดองที่มีสีชมพูนั้นเกิดจากการเจริญของยีสต์ *Rhodotorula* sp. ที่ผลิตเม็ดสีแดง (red pigment) เชื้อนี้ทนต่อเกลือในปริมาณสูง แม้ว่ากรดแล็กติกทำให้อาหารมีความเป็นกรดต่างลดลง แต่เชื้อยีสต์และราสามารถใช้กรดนี้ได้

การรักษาความกรอบของผักคอง โดยใส่แคลเซียมคลอไรด์หรือแคลเซียมแอสซีเตท (calcium chloride หรือ calcium acetate) ทำให้ผักแข็งและกรอบ (Russel and Gould, 1991) ส่วนลักษณะการเหี่ยวของอาหารที่คองน้ำเกลือ หรือคองน้ำส้ม เกิดจากการใช้น้ำเกลือที่มีความเข้มข้นมากเกินไปในการคองตอนแรก ในระยะแรกจึงควรใช้สารละลายที่เจือจางในการคองแล้วค่อยๆเพิ่มความเข้มข้น (Lehnen and Luecke, 1994) อาหารหมักคองที่มีสีคล้ำ อาจมีสาเหตุจากการใช้เครื่องเทศมากเกินไปหรืออาจใช้ภาชนะหรืออุปกรณ์ที่ทำจากเหล็ก นอกจากนี้ผักและผลไม้คองที่มีสีคล้ำอาจเกิดจากการออกซิเดชันเมื่อสัมผัสกับอากาศ การใช้ภาชนะเหล็ก หรือใส่ในภาชนะที่มีแทนนิน เช่น ทำจาก chestnut ซึ่งมีแทนนินสูง ซึ่งถ้ามีเหล็กเป็นองค์ประกอบจะได้ Ferric tannates หรือ Ferric thiocyanates วิธีป้องกันการเกิดออกซิเดชันให้เติมวิตามินซี 20 มก. / 1 ก.ก. ของผักและเหล็กเลี้ยงการใช้ภาชนะที่ทำจากเหล็ก (Fleming et al., 1995) อาหารหมักคองที่มีรสขม เป็นเพราะใช้ผักหรือผลไม้คองที่สุก ในการคองผักนั้นกรดจะทำลายคลอโรฟิลล์ ดังนั้นสีเขียวของผักผลไม้ จึงเปลี่ยนสีไป แต่ก็เป็นที่ยอมรับในการทำผักคอง ผลไม้คอง

## โยเกิร์ต

โยเกิร์ตเป็นผลิตภัณฑ์นมหมักซึ่งมีลักษณะของแข็งกึ่งเหลวคล้าย custard ได้จากการหมักนํ้านมด้วยเชื้อแล็กติกแอซิดแบคทีเรียที่นิยมมากที่สุดใช้เชื้อผสมของ *St. thermophilus* และ *L. bulgaricus* อยู่ร่วมกันแบบได้ผลประโยชน์ร่วมกันเรียกว่า symbiosis (Vedamuthu, 1991) ผลิตภัณฑ์ที่ได้สุดท้ายมีลักษณะเนื้อที่แน่น เรียกว่า Thicked yoghurt และมีปริมาณกรดแล็กติกอยู่ในช่วงร้อยละ 0.7-1.1 ความเป็นกรดต่าง 4.0-4.2 ปริมาณเซลล์ทั้งหมด (total colony count)  $2-5 \times 10^9$  เซลล์/กรัม โยเกิร์ตอาจทำขึ้นจากนํ้านม นมพร้อมมันเนยหรือผสมกัน อย่างไรก็ตามโยเกิร์ตมีมากมายหลายประเภท ซึ่งแตกต่างกันด้วยคุณลักษณะทางกายภาพ เคมี และชีวภาพ ดังนั้นจึงเป็นการยากที่จะหาคำจำกัดความของความหมายของโยเกิร์ตที่ครอบคลุมโยเกิร์ตประเภทต่างๆได้หมด การแบ่งประเภทของโยเกิร์ต อาจแบ่งได้หลายวิธี (FAO/WHO, 1973) ดังนี้

1) แบ่งตามองค์ประกอบทางเคมี โดยแบ่งตามปริมาณไขมันในนมเพื่อเป็นมาตรฐานทางกฎหมายและให้การคุ้มครองแก่ผู้บริโภค แบ่งออกได้เป็น

1.1 Full fat yoghurt จะต้องมียังมีปริมาณไขมันนมไม่ต่ำกว่าร้อยละ 3.25



- 1.2 Medium fat yoghurt จะต้องมีปริมาณไขมันนมอยู่ในช่วงร้อยละ 2.0-3.0
- 1.3 Low fat yoghurt จะต้องมีปริมาณไขมันนมอยู่ในช่วงร้อยละ 0.5-2.0
- 1.4 Non fat yoghurt จะต้องมีปริมาณไขมันนมไม่เกินร้อยละ 0.5

2) แบ่งตามลักษณะทางกายภาพ โดยใช้ลักษณะปรากฏของ curd ซึ่งขึ้นกับกรรมวิธีในการผลิต ได้แก่

2.1 Set yoghurt เป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดการบ่มในภาชนะที่ใช้ในการขาย (retail container) ซึ่งมีลักษณะของ curd เป็นมวลเนื้อเดียวกัน และเป็นของแข็งกึ่งเหลวทางอุตสาหกรรมนิยมเติมผลไม้เชื่อมไว้ที่ก้นภาชนะ

2.2 Stirred yoghurt เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้หลังจากการหมักในถังเรียบร้อยแล้ว นำ curd ที่ได้ไปทำให้แตกหรือแยกกันก่อนที่จะผ่านการ cooling และบรรจุทางอุตสาหกรรมนิยมเติมผลไม้หรือผลไม้ปั่นผสมลงไปโยเกิร์ตก่อนการบรรจุ

2.3 Fluid yoghurt เป็นโยเกิร์ตที่มีความหนืดต่ำ ซึ่งความหนืดของโยเกิร์ตถูกควบคุมโดยระดับของของแข็งของส่วนผสมเริ่มต้น Fluid yoghurt สามารถทำขึ้นได้จากการทำ Stirred yoghurt โดยการเติมน้ำในปริมาณเท่ากับปริมาณของโยเกิร์ต ลักษณะหนึ่งที่สำคัญของโยเกิร์ตประเภทนี้ คือ การแยกระหว่างของแข็งและของเหลว ดังนั้นก่อนบริโภคโยเกิร์ตประเภทนี้จึงต้องเขย่าก่อน

2.4 Drinking yoghurt เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการโฮโมจีไนซ์จนมีลักษณะเป็นของเหลวดื่มได้ทันที ในทางอุตสาหกรรมมักนิยมเติมน้ำผลไม้ เพื่อให้มีรสชาติดีขึ้น นอกจากนี้ยังมีการเติมสารให้ความหวานและกลิ่นรส

3) แบ่งตามการเติมกลิ่นรสของโยเกิร์ต

3.1 Plain or Natural yoghurt เป็นโยเกิร์ตแบบดั้งเดิม ซึ่งมีกลิ่นรสแหลม บางครั้งอาจกลบกลิ่นรสโดยการเติมน้ำตาล

3.2 Fruit yoghurt ทำโดยการเติมผลไม้ ปกติจะเติมผลไม้ที่ผ่านการเชื่อมมาแล้ว เช่น แยม

3.3 Flavored yoghurt ทำโดยเติมน้ำตาลหรือสารให้ความหวาน สารให้กลิ่นรสสังเคราะห์และสารให้สีกับ Plain หรือ Natural yoghurt

#### 4) แบ่งตามกระบวนการแปรรูปหลังการหมัก

ทำให้ได้โยเกิร์ตประเภทต่างๆมากมายซึ่งมีความแตกต่างกัน ทางองค์ประกอบทางเคมี คุณสมบัติทางกายภาพ และคุณภาพทางประสาทสัมผัส ได้แก่

4.1 Pasteurized / UHT yoghurt คือ โยเกิร์ตที่ผ่านการให้ความร้อนหลังการบ่ม เพื่อจะทำลายเชื้อโยเกิร์ต และลดการสูญเสียกลิ่นรสของโยเกิร์ต

4.2 Concentrated / Condensed yoghurt ได้จากการแยกน้ำออกไปบางส่วน โยเกิร์ตมี total solid ประมาณร้อยละ 24 (Tamime, 1978) ซึ่งทำให้ลักษณะต่างๆของโยเกิร์ตแตกต่างจากโยเกิร์ตทั่วไป

4.3 Frozen yoghurt มีลักษณะคล้ายไอศกรีมซึ่งมีขั้นตอนการผลิตและองค์ประกอบเหมือนโยเกิร์ตโดยทั่วไปแล้วนำมาแช่แข็ง

4.4 Dried yoghurt การทำแห้งโยเกิร์ตอาจทำโดย Spray dried yoghurt และ Freeze-dried yoghurt เป็นการทำให้แห้งของโยเกิร์ตในอุตสาหกรรม (Robinson and Tamime, 1975) แต่การทำโยเกิร์ตแบบนี้จะทำให้สูญเสียกลิ่นรสและทำลายเชื้อโยเกิร์ต

นอกจากนี้ยังมีการแบ่งโยเกิร์ตออกเป็นชนิดต่างๆเพื่อใช้รับประทานตามความต้องการของผู้บริโภคได้อีก เช่น

Low calorie yoghurt ทำขึ้นเพื่อผู้ที่ต้องการควบคุมอาหาร ถ้าเป็น Plain yoghurt ทั่วไปปกติจะให้พลังงานประมาณ 250-335 กิโลจูล/100 กรัม สำหรับ Fruit yoghurt ปกติจะให้พลังงานประมาณ 420 กิโลจูล/100 กรัม ส่วน Low calorie yoghurt จะให้พลังงานเพียง 170 กิโลจูล/100 กรัม ผลผลิตจากน้ำมันที่มีไขมันต่ำ คือ มีไขมันนม และเติมสารให้ความหนืดร้อยละ 0.05 - 0.5 เช่น เพคติน

Low lactose yoghurt โดยใส่เอนไซม์  $\beta$ -D-galactosidase ไปไฮโดรไลซ์แล็กโทส ทำให้โยเกิร์ตที่ได้มีความหวานเพิ่มขึ้นโดยไม่ต้องเติมน้ำตาล

#### กระบวนการผลิตโยเกิร์ต (Production of yoghurt) (Early, 1995)

##### 1. ขั้นตอนในการเตรียมส่วนผสม การผสมและการโฮโมจีไนซ์

1.1 การเลือกส่วนผสมที่ดีจะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพ ปกติการผลิตโยเกิร์ตมักจะใช้นมสด (whole milk) แต่บางครั้งจะใช้หางนม (skim milk) น้ำตาลที่เติมในโยเกิร์ต ส่วนใหญ่จะใช้น้ำตาลซูโครส ในทางการค้ามีการเติมสารให้ความคงตัว (stabilizer)

ในปริมาณที่เหมาะสม เพราะถ้าเติมน้อยเกินไปก็จะเกิดการแยกตัวของเวย์ได้ แต่ถ้าเติมมาก อาจทำให้เป็นก้อน (lumping) สารให้ความคงตัว เช่น เจลลาติน คาราจีแนน และอาลาจินต

1.2 การผสม ผสมน้ำตาลประมาณร้อยละ 10 ลงในนมขณะที่อุ่น

1.3 โฮโมจิไนซ์เพื่อให้ fat globule แยกเป็นอนุภาคเล็กๆ ขนาดเท่าๆกัน ใช้ความดัน 3000 ปอนด์/ตารางนิ้ว ขนาดอนุภาคไขมันน้อยกว่า 0.2 ไมโครเมตร เพื่อป้องกันการแยกตัวของไขมันในระหว่างการหมัก การโฮโมจิไนซ์ช่วยให้ไขมันแขวนลอยและช่วยให้ส่วนผสมต่างๆ เข้าเป็นเนื้อเดียวกันมากขึ้น โยเกิร์ตที่ได้จะมีเนื้อเนียน

1.4 การใช้ความร้อนพาสเจอร์ไรส์ด้วยความร้อนที่ 180° ฟ นาน 30 นาที

2. การเติมหัวเชื้อ (Inoculation)

การเติมหัวเชื้อ โดยปกติจะเติมประมาณร้อยละ 2.5-5

3. การหมัก (Fermentation)

การหมักโยเกิร์ต จุลินทรีย์ในโยเกิร์ตจะเปลี่ยนน้ำตาลแล็กโทสหรือน้ำตาลอื่นในส่วนผสมให้กลายเป็นกรดแล็กติก และสารเมแทโบไลต์อื่น เช่น กรดอะซิติก อาซิทาลดีไฮด์ และโคอะเซตทิล การควบคุมอุณหภูมิเป็นปัจจัยสำคัญในการผลิตโยเกิร์ต เมื่อการหมักดำเนินต่อไปจนถึงระดับความเป็นกรดที่ต้องการ โดยปกติอยู่ในช่วง 4.0-4.3 จะหยุดการหมักโดยลดอุณหภูมิ เพื่อลดการผลิตกรดที่มากเกินไป สำหรับ Stirred yoghurt จะใช้วิธีกวนให้น้ำนมที่จับเป็นก้อนแตก โดยตอนแรกจะกวนอย่างช้าๆและกวนเร็วขึ้นในภายหลัง

4. การเก็บรักษาโยเกิร์ต ทำโดยแช่ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 7.2°ซ อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 4°ซ กระบวนการหลังจากทำให้เย็น เป็นสิ่งสำคัญในการประกันคุณภาพของผลิตภัณฑ์

**แบคทีเรียที่ใช้เป็นสตาร์ทเตอร์ในการผลิตโยเกิร์ต (Yoghurt starter bacteria)**

(Tamime and Deeth, 1980)

จุลินทรีย์ในโยเกิร์ตอาจประกอบด้วย *St. thermophilus* หรือ *L. bulgaricus* หนึ่งหรือมากกว่าหนึ่งสายพันธุ์ เนื่องจากเชื้อทั้งสองชนิดจะอยู่ร่วมกันแบบได้ผลประโยชน์ร่วมกัน ซึ่งถ้าคู่สายพันธุ์ต่างกันก็จะมีความสัมพันธ์ต่อกันต่างกันด้วย จึงมีการทดสอบหน้าที่เฉพาะของแต่ละตัว และความสามารถเมื่ออยู่ร่วมกันก่อนจะนำไปใช้ ได้แก่ อัตราเร็วในการผลิต

กรด การให้กลิ่นรสเฉพาะตัวในผลิตภัณฑ์สุดท้ายรวมทั้งความเนียน (smoothness) และความแน่นของเนื้อโยเกิร์ต (firmness) อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อและการผลิตกรดแล็กติกจากการหมักน้ำตาลแล็กโทสซึ่งกรดแล็กติกจะให้กลิ่นที่เป็นลักษณะเฉพาะตัวและกลิ่นรสเปรี้ยว (acidic Flavor) ในระหว่างการบ่มยังผลิตสารประกอบหอมระเหย (volatile compound) เช่น ไดอะเซตทิล และ อะซีทาลดีไฮด์ ซึ่งจะให้กลิ่นรสเฉพาะต่อโยเกิร์ตด้วย เนื่องจากสภาพความเป็นกรดในผลิตภัณฑ์จะช่วยป้องกันการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ก่อโรค (pathogen)

*St. thermophilus* สามารถเจริญและทำงานได้ที่ 42°ซ (120°ฟ) และทนได้ถึง 60°ซ (140°ฟ) นาน 30 นาที ลักษณะที่พบส่วนใหญ่เป็นทรงกลม (spherical shape) บางครั้งอาจมีลักษณะกลมยาวดูเหมือนแท่งอยู่เป็นคู่ๆ เมื่อเจริญอยู่ในนมจะสามารถสร้างกรดมากพอที่จะทำให้เนื้อมจับกันเป็นก้อน (coagulum) ได้ แต่เมื่อเทียบกับเชื้อแล็กติกแอซิดแบคทีเรียตัวอื่น พบว่าสร้างกรดได้น้อย เมื่อเจริญอยู่ในเนื้อมจะสามารถสลายยูเรียได้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์และแอมโมเนีย โดยเอนไซม์ยูเรียเอส (urease) และสลายน้ำตาลแล็กโทสในเนื้อมโดยใช้เอนไซม์แล็กเทส (lactase) หรือเอนไซม์เบตา-กาแล็กโตซิเดส ( $\beta$ -galactosidase) ซึ่งทนความร้อนได้ สามารถย่อยน้ำตาลแล็กโทสออกเป็นกลูโคสและกาแล็กโทส *S. thermophilus* จะใช้น้ำตาลกลูโคสได้ดี แต่จะใช้น้ำตาลกาแล็กโทสได้เพียงเล็กน้อย ดังนั้นจึงทำให้มีน้ำตาลกาแล็กโทสที่แตกตัวออกมาสะสมมากขึ้น มีการหมักน้ำตาลแบบ homofermentation และให้ผลผลิต คือ L-lactic acid เป็นเชื้อที่สามารถสร้างไดอะเซตทิลได้ และสามารถสร้าง exopolysaccharide ทำให้โยเกิร์ตมีเนื้อสัมผัสที่เนียนคงลักษณะของการจับเป็นก้อน

*L. bulgaricus* เป็นเชื้อรูปร่างเป็นแท่ง พบได้ทั่วไปในเนื้อม ทนความร้อนได้สูง อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตอยู่ที่ 45°ซ (113°ฟ) สร้างกรดได้ดีที่ 43-46°ซ (110-115°ฟ) (Vadamuthu, 1991) การหมักน้ำตาลแบบ homofermentation *L. bulgaricus* สามารถใช้น้ำตาลแล็กโทสได้ดีกว่า *St. thermophilus* มีเอนไซม์ บีตา-กาแล็กโตซิเดส ( $\beta$ -galactosidase) *L. bulgaricus* เป็นเชื้อที่ทนต่อออกซิเจนได้น้อย ในช่วงแรกของการหมักโยเกิร์ตจะมีออกซิเจนสูง เชื้อนี้จึงเจริญได้ช้า เมื่อมีออกซิเจนที่มีอยู่หมดไปจึงทำให้เชื้อเจริญได้ดีในช่วงหลังของการหมักโยเกิร์ตและสามารถผลิตกรดชนิด D(-)-lactic acid ผลิต exopolysaccharide ในระหว่างเจริญเติบโต ทำให้โยเกิร์ตมีลักษณะเนื้อแน่นและเนียน ความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อ *St. thermophilus* และ *L. bulgaricus* ในโยเกิร์ต เนื่องจาก *L. bulgaricus* เป็นเชื้อที่เจริญได้

ช้า และ *St. thermophilus* ผลิตกรดได้ต่ำไม่เป็นที่ต้องการในอุตสาหกรรม ซึ่งต้องการเจริญได้เร็วผลิตกรดเล็กน้อยได้สูง ปริมาณกรดที่ต้องการประมาณร้อยละ 0.7-1.1 ในการผลิตโยเกิร์ตจึงต้องใช้เชื้อทั้งสองผสมกัน โดยเชื้อตัวหนึ่งไปกระตุ้นการทำงานของเชื้ออีกตัว ทำให้สามารถใช้น้ำตาลได้มากขึ้นสร้างกรดเล็กน้อยเร็วขึ้นมากขึ้นมีผลในด้านกลิ่นรสที่ดี หัวเชื้อเริ่มต้นที่ใช้ในการผลิตโยเกิร์ตจำเป็นต้องมีแบคทีเรียจำนวนมากพอ และต้องมีจำนวนเซลล์ที่สมดุลด้วย ซึ่งจะใช้อัตราส่วนระหว่างจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดเริ่มต้นเท่ากับ 1:1 และอัตราส่วนนี้จะเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วเมื่อเริ่มการหมัก (Tamime and Deeth, 1980)

### คุณภาพของโยเกิร์ต (Yoghurt Quality)

ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง ได้แก่

1. ตัวเนื้อของโยเกิร์ต (body) คือ ลักษณะทางกายภาพ และความคงตัว โยเกิร์ตที่ดีควรมีความหนืดสูงพอมีเนื้อแน่นและเกาะตัวเพียงพอที่จะทนการกระทบกระเทือนในการขนส่ง
2. รสชาติ โยเกิร์ตที่ดีต้องเปรี้ยวแหลมของกรด รสหวานพอเหมาะ และไม่มีกลิ่นน้ำส้มสายชูจากกรดแอสติค
3. อายุในการเก็บโยเกิร์ต โดยทั่วไปจะสามารถเก็บได้ประมาณ 3 สัปดาห์ การปนเปื้อนเกิดจากจุลินทรีย์ที่สามารถทนกรดได้สูง เช่น ยีสต์และรา ซึ่งใช้บ่งถึงความสะอาดของโรงงานได้ (Laye et al., 1993)