

รายงานการวิจัย

เรื่อง

ผลของวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติกต่อคุณภาพ
และความปลอดภัยของเนื้อโค

Effect of Ageing Method Associate with Lactic Acid Application
on Beef Quality and Safety



โดย

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....**120306**
วัน, เดือน, ปี: **15 ก.พ. 2555**

ผศ.ดร. คมแข พิลาสมบัติ
รศ.ดร. จุฑารัตน์ เสรษฐกุล

b. **12/8986X**
i.

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน
ประจำปีงบประมาณ 2552 บัณฑิตวิทยาลัย
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รายงานการวิจัย
(ฉบับสมบูรณ์)

เรื่อง

ผลของวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลคติกต่อคุณภาพ
และความปลอดภัยของเนื้อโค

**Effect of Ageing Method Associate with Lactic Acid Application
on Beef Quality and Safety**

โดย

ผศ.ดร. คมแข พิลาสมบัติ

รศ.ดร. จุฑารัตน์ เศรษฐกุล

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน
ประจำปีงบประมาณ 2552 บัณฑิตวิทยาลัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ส่งสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รายละเอียดเกี่ยวกับโครงการ

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) ผลของวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติกต่อคุณภาพและความปลอดภัยของเนื้อโค

(ภาษาอังกฤษ) Effect of Ageing Method Associate with Lactic Acid Application on Beef Quality and Safety

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจาก เงินงบประมาณแผ่นดิน บัณฑิตวิทยาลัย
ประจำปีงบประมาณ 2552 จำนวนเงิน 199,890 บาท
ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2551 ถึง 30 กันยายน 2552

1) หัวหน้าโครงการวิจัย : สัดส่วนที่ทำวิจัย 50%

ผศ.ดร. คมแข พิลาสมบัติ (Assist.Prof.Dr. Komkhae Pilasombut)

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)

ถ.ฉลองกรุง เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร 10520

โทรศัพท์ : 0-2737-3000 ต่อ 3666 โทรสาร : 0-2326-4313

มือถือ : 085-064-2039 อีเมล : komkhae@yahoo.com

บทบาทในการทำวิจัย

- ศึกษาผลของวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติก ต่อจำนวนจุลินทรีย์บนเนื้อโค
- ศึกษาคุณสมบัติโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบทางเคมีของเนื้อโค โดยวิธี SDS-PAGE

2) ผู้ร่วมโครงการวิจัย : สัดส่วนที่ทำวิจัย 50%

รศ.ดร. จุฑารัตน์ เศรษฐกุล (Assoc.Prof.Dr. Jutarat Sethakul)

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)

ถนนฉลองกรุง เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร 10520

โทรศัพท์ : 0-2737-3000 ต่อ 3657 โทรสาร : 0-2326-4313

มือถือ : 081-9233801 อีเมล : ksejutar@kmitl.ac.th

บทบาทในการทำการวิจัย

- ศึกษาผลของวิธีการบ่มเนื้อ ร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติก ที่มีผลต่อคุณภาพเนื้อโค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลของวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติกต่อคุณภาพ และความปลอดภัยของเนื้อโค

กมลแข พิลาสมบัติ¹ และจุฑารัตน์ เศรษฐกุล¹

¹คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษา อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการฉีดพ่นสารละลายกรดแลกติก 2 เปอร์เซ็นต์ และระยะเวลาในการบ่มต่อคุณภาพและอายุการเก็บรักษาเนื้อโค โดยใช้กล้ามเนื้อสันนอกติดกระดูก 10 ชิ้น จากโคเนื้อพันธุ์กำแพงแสน ((โคพื้นเมือง x บราห์มัน) x ชาร์-โรเลต์) โดยตัดจากซากซีกซ้ายจำนวน 5 ชิ้น และขวา 5 ชิ้น แบ่งกล้ามเนื้อสันนอกเป็น 2 กลุ่ม โดยการสุ่มสำหรับวิธีการบ่ม (แบบบรรจุในถุงสุญญากาศและแบบดั้งเดิม) และแต่ละกลุ่มจะสุ่มเป็น 2 กลุ่ม (กลุ่มควบคุมและกลุ่มฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ที่ผิวหนังเนื้อ) สุ่มตัวอย่างในการบ่มเนื้อตามระยะเวลาการเก็บ 1, 7, 14, 21 และ 28 วัน ตามลำดับ การศึกษาทางด้านคุณภาพเนื้อใช้การวิเคราะห์ทางสถิติแบบ 2x2x5 factorial in CRD ยกเว้นเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา ไม่ได้ทำการศึกษาในวันแรกของการทดลอง ส่วนการศึกษาทางด้านจุลินทรีย์ใช้การวิเคราะห์ทางสถิติแบบ 2x2x6 factorial in CRD ผลการศึกษาพบว่าวิธีบ่มเนื้อที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา และค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (P<0.05) โดยการบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมทำให้การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา มากกว่าการบ่มเนื้อในถุงสุญญากาศ และมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำกว่าเนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศ ในขณะที่เดียวกันการฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก (ฉีดพ่นและไม่ฉีดพ่น) มีผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง และเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา (P<0.05) โดยเนื้อสันนอกโคที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก มีค่าความเป็นกรด-ด่างและเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษามากกว่ากลุ่มที่ไม่ฉีดพ่น ระยะเวลาในการบ่มมีผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าสีของเนื้อ (L*, a*, b*) และค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (P<0.05) อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มและการใช้สารละลายกรดแลกติก มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา (P<0.05) ขณะที่ระหว่างวิธีการบ่มและระยะเวลาการบ่มมีอิทธิพลต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่า b* และค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (P<0.05) นอกจากนี้พบว่าอิทธิพลร่วมระหว่างการใช้สารละลายกรดแลกติกและระยะเวลาการบ่ม มีผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง (P<0.05) อย่างไรก็ตามไม่พบอิทธิพลร่วมของปัจจัยทั้งหมดในการศึกษาครั้งนี้

จากการศึกษาพบว่าวิธีการบ่มเนื้อที่มีผลต่อจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลกติก และโคลิฟอร์มทั้งหมด โดยการบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมพบเชื้อดังกล่าวน้อยกว่าการบ่มเนื้อในถุงสุญญากาศ (P<0.05) ส่วนการฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติกมีผลต่อจุลินทรีย์ทั้งหมด จุลินทรีย์ที่สามารถ

เจริญในอุณหภูมิต่ำ และ โคลิฟอร์มทั้งหมด มีจำนวนน้อยกว่าเนื้อกลุ่มไม่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรด แลกดิก ($P < 0.05$) เมื่อระยะเวลาในการบ่มเนื้อมานานขึ้น พบการเพิ่มขึ้นของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด จุลินทรีย์ที่สามารถเจริญในอุณหภูมิต่ำ ในขณะที่จำนวนแบคทีเรียกรดแลกดิกพบมีค่าสูงสุดในการ บ่มเนื้อที่ 21 วัน และมีจำนวนลดลงเมื่อบ่มเนื้อมานาน 28 วัน ส่วนจำนวนเชื้อโคลิฟอร์มในวันแรก ของการทดลองมีจำนวนเชื้อมากกว่าทุกระยะเวลาการบ่มเนื้อ ($P < 0.05$) การศึกษาครั้งนี้พบอิทธิพล ร่วมระหว่างวิธีการบ่มและระยะเวลาในการบ่ม มีผลต่อจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และแบคทีเรียกรด แลกดิก ทุกระยะเวลาการบ่มเนื้อตรวจพบจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และแบคทีเรียกรดแลกดิก ใน เนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิมมีจำนวนน้อยกว่าเนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศ ($P < 0.05$) ในขณะที่อิทธิพลร่วม ระหว่างการใช้สารละลายกรดแลกดิกและระยะเวลาการบ่ม มีผลต่อจุลินทรีย์ทั้งหมด จุลินทรีย์ที่ สามารถเจริญในอุณหภูมิต่ำ และ โคลิฟอร์มทั้งหมด พบว่าเนื้อกลุ่มที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกดิก มีปริมาณเชื้อดั่งกล่าวต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่ฉีดพ่นทุกระยะเวลาการบ่ม ($P < 0.05$) นอกจากนี้พบ อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มรวมกับการใช้สารละลายกรดแลกดิก 2 เปอร์เซ็นต์ และระยะเวลาใน การบ่มมีผลต่อจำนวน โคลิฟอร์มทั้งหมด ($P < 0.05$) โดยการบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมพบจำนวน โคลิฟอร์ม ทั้งหมด น้อยกว่าการบ่มเนื้อในถุงสุญญากาศ เนื้อกลุ่มที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกดิก พบเชื้อ โคลิฟอร์มทั้งหมดน้อยกว่าเนื้อกลุ่มไม่ฉีดพ่น และพบว่าจำนวนเชื้อ โคลิฟอร์มในวันแรกของการ ทดลองมีจำนวนเชื้อมากกว่าทุกระยะเวลาการบ่มเนื้อ ส่วนเชื้อ *E. coli* มีจำนวนน้อยกว่ามาตรฐาน กำหนด

รูปแบบการสลายตัวของโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อ ในเนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิม และบ่มในถุง สุญญากาศที่ 1, 7, 14, 21 และ 28 วันของการบ่ม โดยการแยกโปรตีนตามน้ำหนักโมเลกุลด้วย กระจ่างไฟฟ้า (SDS-PAGE) พบว่าการบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมมีการย่อยสลายของโปรตีนขนาดประมาณ 55 kDa, troponin-T ขนาด 37-39 kDa และ troponin-T_{Product} ขนาด 30 kDa ได้ดีกว่าเนื้อที่บ่มในถุง สุญญากาศ ($P > 0.05$) ซึ่งผลดังกล่าวพบว่าเนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิมนุ่มกว่าเนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศ ระยะเวลาในการบ่มเนื้อมานานขึ้นพบการลดลงของปริมาณโปรตีนขนาด 55 kDa และ troponin-T ขนาด 37-39 ($P > 0.05$) และมีการเพิ่มขึ้นของโปรตีน troponin-T_{Product} ขนาด 30 kDa เมื่อระยะเวลา บ่มเนื้อมานานขึ้น ($P > 0.05$) ผลดังกล่าวพบว่าเนื้อที่ใช้ระยะเวลาในการบ่มเนื้อมานานขึ้นจะมีความนุ่มเพิ่มมา กขึ้น

Effect of Ageing Method Associate with Lactic Acid Application on Beef Quality and Safety

Komkhae Pilasombut¹ and Jutarat Sethakul¹

¹Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok

ABSTRACT

This research aimed to study the effect of ageing method, associated with 2 % of lactic acid spray and ageing times on beef quality and shelf life. Ten bone-in *Longissimus dorsi* (LD) whole muscles of Kampaengsaen beef cattle ((Thai native x Brahman) x Charolais) were cut from the left (n=5) and the right (n=5) of carcass sides. These LD muscles were randomly separated into 2 groups for ageing method (wet and dry ageing). The sample in each group was divided into 2 subgroups : control and the one sprayed with 2 % (v/v) lactic acid solution on the surface. Random samples were drawn at the ageing time of 1, 7, 14, 21 and 28 days, respectively. The beef quality study was statistically analyses as a 2x2x5 factorial in CRD, except percentage drip loss on the first day. The microbiological study was statistically analyses as a 2x2x6 factorial in CRD. The result showed that ageing method had effect on the percentage of drip loss and shear force value (P<0.05). The dry aged beef had more drip loss percentage than the wet aged in a vacuum package, and its shear force value was less than the wet aged one. Meanwhile the lactic acid solution treatments (sprayed and unsprayed) affected pH value and drip loss (P<0.05). The LD were sprayed with lactic acid have pH value and drip loss percentage higher than unsprayed group. Ageing times played an important role on pH value, meat colour (L*, a*, b*) and shear force value (P<0.05). The interaction between ageing method and lactic acid treatment affected only on the drip loss trait (P<0.05), while that between ageing method and ageing time influenced pH value, b* value and shear force value (P<0.05). In addition, the interaction between the lactic acid treatment and ageing time had an effect on pH value (P<0.05). No statistical significance of interactions among these factors for all the traits was detected.

That ageing method had an impact on the total microbial count, lactic acid bacteria and total coliform, the number of these bacterias in dry aged beef were less than in wet aged one in a vacuum bag (P<0.05). Meanwhile the lactic acid factor affected total microbial count, psychotropic bacteria and total coliform was less than the unsprayed ones (P<0.05). When ageing time increased, total microbial count and psychotropic bacteria were increased, while lactic acid

bacteria were highest at 21 day and its decreased at the 28 day of curing. The number of total coliform on the first day were higher than the other ageing time ($P < 0.05$). The interaction between ageing method and ageing times could affect the total microbial count and lactic acid bacteria, for all ageing time were found that total microbial count and lactic acid bacteria in dry ageing was lower than wet ageing in vacuum package ($P < 0.05$). While that between lactic acid treatment and ageing time had an influence on total microbial count, psychotropic bacteria and total coliform, the LD were sprayed with lactic acid have these 3 groups lower than unsprayed one for all ageing time ($P < 0.05$). In addition, the interaction between ageing method, associated with the use of 2 % lactic acid spray and ageing times had an influence on total coliform ($P < 0.05$). The number of total coliform in dry aged beef were less than in wet aged ones, the total coliform of the LD were sprayed with lactic acid were lower than the unsprayed groups and the number of total coliform on the first day were higher than the other ageing time. While number of *E. coli* was less than detection limit.

The protein degradation pattern of beef muscle fibers in conventional aging and vacuum aging for 1, 7, 14, 21 and 28 days of storage time were studied by SDS-PAGE. The decomposition products of conventional aging was protein bands at 55 kDa, troponin-T (37-39 kDa) and troponin-T (30 kDa) which was more than vacuum aging technique ($P > 0.05$). The results showed that the conventional aging beef was more tender. As the storage time was prolong, the observed reduction of in the size of protein 55 kDa and troponin-T and an increase in troponin-T_{Product} ($P > 0.05$). This finding indicated that the longer storage time could result in the more tender of beef.

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่อง ผลของวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติกต่อคุณภาพ และความปลอดภัยของเนื้อโค ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัย จากเงินงบประมาณแผ่นดินประจำปีงบประมาณ 2552 บัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง โดยมี ผศ.ดร. คมแข พิลาสมบัติ เป็นหัวหน้าโครงการ ซึ่งคณะวิจัยขอขอบพระคุณแหล่งทุนที่ให้โอกาสในการศึกษาครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ คุณสิทธิพร บุรณันท์ เลขธิการสมาคมโคเนื้อแห่งประเทศไทย และในขณะดำเนินการวิจัยท่านดำรงตำแหน่งผู้จัดการสหกรณ์โคนอมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ที่ให้ความสะดวกในการเก็บตัวอย่างเนื้อ และให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างเนื้อบางส่วนเพื่อให้การวิจัยในครั้งนี้มีข้อมูลที่น่าเชื่อถือมากขึ้น

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร. กัญญา ตันติวิสุทธิกุล ภาควิชาครุศาสตร์เกษตร คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม ที่ให้ความช่วยเหลือและให้คำปรึกษาในการวิเคราะห์ข้อมูลแก่ผู้วิจัย

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณผู้ร่วมงานทุกท่านที่ไม่ได้กล่าวถึงอีกจำนวนมาก ที่ให้ความช่วยเหลือในการทำงานวิจัยในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงลงได้ด้วยดี ผู้วิจัยหวังว่างานวิจัยฉบับนี้คงเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่สนใจและนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์ต่อไป

ผศ.ดร. คมแข พิลาสมบัติ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	III
กิตติกรรมประกาศ.....	V
สารบัญ.....	VI
สารบัญตาราง.....	X
สารบัญภาพ.....	XII
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของการวิจัย.....	1
1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา.....	2
1.3 สถานที่ดำเนินการ.....	2
1.4 ขั้นตอนการศึกษา.....	3
1.5 ระยะเวลาของการศึกษา.....	3
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 เนื้อเยื่อกล้ามเนื้อ (muscular tissue).....	4
2.2 กล้ามเนื้อ โครงร่างหรือกล้ามเนื้อตาย (skeletal muscle).....	5
2.2.1 การเรียงตัวของกล้ามเนื้อ โครงร่าง.....	5
2.2.2 การจัดเรียงของ myofibrils และออร์แกเนลล์ที่เกี่ยวข้องของเซลล์ กล้ามเนื้อโครงร่าง.....	6
2.2.3 ส่วนประกอบของ myofilaments ในเซลล์กล้ามเนื้อ โครงร่าง.....	6
2.3 คุณภาพและมาตรฐานเนื้อ โค.....	8
2.4 การบ่มและวิธีการบ่มเนื้อ.....	10
2.5 อุณหภูมิและระยะเวลาในการบ่มซาก.....	12
2.6 จุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์.....	16
2.7 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์.....	17
2.8 การเน่าเสียของเนื้อสัตว์.....	18
2.8.1 การเปลี่ยนแปลงทางเคมี.....	18

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์หรือการสงวนเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.8.2 การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ.....	19
2.8.2.1 การนำเสียของเนื้อสัตว์ในสถานะที่มีอากาศ.....	19
2.8.2.2 การนำเสียของเนื้อสัตว์ในสถานะที่ไม่มีอากาศ.....	21
2.8.3 ผลผลิตสุดท้ายที่จุลินทรีย์สร้างขึ้นในการทำให้เนื้อสัตว์เน่าเสีย.....	22
2.9 ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์และแหล่งการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อโค.....	24
2.10 การลดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์บนเนื้อสัตว์ โดยการ ใช้กรดแลกติก.....	25
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย.....	29
3.1 ตัวอย่างเนื้อโคทดลอง.....	29
3.2 อุปกรณ์.....	29
3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี.....	30
3.4 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	31
3.4.1 การเตรียมตัวอย่างเนื้อโค.....	31
3.4.1.1 การบ่มเนื้อแบบดั้งเดิม (dry ageing)	32
3.4.1.2 การบ่มเนื้อในถุงสุญญากาศ (wet ageing)	32
3.4.2 วิธีการสุ่มตัวอย่าง.....	34
3.5 ขั้นตอนการศึกษาและการเก็บข้อมูล.....	35
3.5.1 การศึกษาคุณภาพเนื้อ.....	35
3.5.2 การศึกษาทางด้านจุลินทรีย์.....	37
3.5.3 การวิเคราะห์กลุ่มเส้นใยโปรตีนของเนื้อโคด้วยวิธี SDS-PAGE.....	38
3.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ.....	40
บทที่ 4 ผลการทดลอง.....	43
4.1 อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาการบ่ม ต่อคุณภาพของเนื้อสันนอกโค.....	43
4.1.1 อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาการบ่ม ต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง ของเนื้อสันนอกโค.....	43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.1.2	อิทธิพลของวิธีการบ่มร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาการบ่ม ต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก ระหว่างการเก็บรักษา ของเนื้อสันนอกโค.....	46
4.1.3	อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาการบ่ม ต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่าง การปรุงสุก ของเนื้อสันนอกโค.....	47
4.1.4	อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาการบ่ม ต่อค่าสี ของเนื้อสันนอกโค.....	47
4.1.5	อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาการบ่ม ต่อค่าแรงตัดผ่าน ของเนื้อสันนอกโค.....	48
4.2	อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลา การบ่ม ต่อจำนวนจุลินทรีย์ ของเนื้อสันนอกโค.....	50
4.2.1	อิทธิพลของการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลา การบ่ม ต่อจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ของเนื้อสันนอกโค.....	50
4.2.2	อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาการบ่ม ต่อจำนวนแบคทีเรียกรดแลกติก ของเนื้อสันนอกโค.....	54
4.2.3	อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาการบ่ม ต่อจำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ ของเนื้อสันนอกโค.....	55
4.2.4	อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาการบ่ม ต่อจำนวน โคลิฟอร์มทั้งหมด ของเนื้อสันนอกโค.....	57
4.2.5	อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาการบ่ม ต่อจำนวนเชื้อ <i>E. coli</i> ของเนื้อสันนอกโค.....	59
4.3	อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อและระยะเวลาการบ่ม ต่อการเปลี่ยนแปลงของ myofibrillar proteins ในเนื้อสันนอกโค โดยเทคนิค SDS-PAGE.....	60
4.3.1	อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อและระยะเวลาการบ่ม ต่อการเปลี่ยนแปลงของ myofibrillar proteins ขนาด 55 kDa ในเนื้อสันนอกโค.....	62
4.3.2	อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อและระยะเวลาการบ่ม ต่อการเปลี่ยนแปลง	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์หรือการสงวนเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของโปรตีน troponin-T ขนาด 37-39 kDa ในเนื้อสันนอกโค.....	62
4.3.3 อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อและระยะเวลาการบ่ม ต่อการเปลี่ยนแปลง	
ของโปรตีน troponin-T _{Product} ขนาด 30 kDa ในเนื้อสันนอกโค.....	62
บทที่ 5 วิจัยผลการทดลอง.....	66
5.1 คุณภาพเนื้อโค.....	66
5.1.1 ค่าความเป็นกรด-ด่าง.....	66
5.1.2 เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา.....	67
5.1.3 เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการปรุงสุก.....	68
5.1.4 ค่าสีของเนื้อ.....	69
5.1.5 ค่าแรงตัดผ่านเนื้อ.....	70
5.2 จำนวนจุลินทรีย์บนเนื้อ โค.....	72
5.2.1 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด.....	72
5.2.2 จำนวนแบคทีเรียกรดแลกติก.....	74
5.2.3 จำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในอุณหภูมิต่ำ.....	76
5.2.4 โคลิฟอร์มทั้งหมด.....	77
5.2.5 จำนวนเชื้อ <i>E. coli</i>	79
5.3 การเปลี่ยนแปลงของ myofibrillar proteins ขนาด 55 kDa, troponin-T ขนาด	
37-39 kDa และ troponin-T _{Product} ขนาด 30 kDa ของเนื้อสันนอกโค.....	80
บทที่ 6 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	82
6.1 สรุปผลการทดลอง.....	82
6.2 ข้อเสนอแนะ.....	84
บรรณานุกรม.....	86
ภาคผนวก.....	93
ภาคผนวก ก.....	94
ภาคผนวก ข.....	100
ภาคผนวก ค.....	108
ภาคผนวก ง.....	120

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 มาตรฐานสารตกค้างและจุลินทรีย์ปนเปื้อนในเนื้อโค ของประเทศคู่ค้าสำคัญ.....	10
2.2 อิทธิพลของระยะเวลาการบ่มต่อคุณภาพเนื้อ โคนุน (n=30)	15
2.3 อิทธิพลร่วมระหว่างชนิดของเนื้อโค และระยะเวลาการบ่มต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (กก.)	16
2.4 แสดงสารอาหารที่เชื่อจุลินทรีย์ใช้เพื่อการเจริญเติบโต และผลผลิตสุดท้ายที่ เชื่อจุลินทรีย์สร้างขึ้นบนเนื้อสัตว์.....	23
4.1 อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาการบ่ม ต่อคุณภาพของเนื้อสันนอกโค (LSM)	44
4.2 อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อและระยะเวลาการบ่ม ต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของเนื้อสันนอกโค (LSM±SE)	45
4.3 อิทธิพลร่วมระหว่างการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาการบ่ม ต่อค่า ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของเนื้อสันนอกโค (LSM±SE)	45
4.4 อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อและการใช้สารละลายกรดแลกติก ต่อค่าเปอร์เซ็นต์ การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา (% drip loss) ของเนื้อสันนอกโค (LSM±SE)	46
4.5 อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อและระยะเวลาการบ่ม ต่อค่าสีเหลือง (yellowness, b*) ของเนื้อสันนอกโค (LSM±SE)	49
4.6 อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อและระยะเวลาการบ่ม ต่อค่าแรงตัดผ่าน (shear force ; kg.) เนื้อสันนอกโค (LSM±SE)	49
4.7 อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาการบ่ม ต่อจำนวนจุลินทรีย์ของเนื้อสันนอกโค (LSM)	51
4.8 อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อและระยะเวลาการบ่ม ต่อจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (total microbial count ; log cfu/g) ของเนื้อสันนอกโค (LSM±SE)	53
4.9 อิทธิพลร่วมระหว่างการใช้สารละลายกรดแลกติกและระยะเวลาการบ่ม ต่อจำนวนเชื้อ จุลินทรีย์ทั้งหมด (total microbial count ; log cfu/g) ของเนื้อสันนอกโค (LSM±SE)	53
4.10 อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อและระยะเวลาการบ่ม ต่อจำนวนแบคทีเรียกรดแลกติก (lactic acid bacteria ; log cfu/g) ของเนื้อสันนอกโค (LSM±SE)	55
4.11 อิทธิพลร่วมระหว่างการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาการบ่ม ต่อจำนวน จุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ (psychotropic bacteria ; log cfu/g) ของเนื้อสันนอกโค (LSM±SE)	56

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่เสียค่าใช้จ่าย
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.12 อิทธิพลร่วมระหว่างการใช้สารละลายกรดแลคติก และระยะเวลาการบ่ม ต่อจำนวน โคลิฟอร์มทั้งหมด (total coliforms ; log cfu/g) ของเนื้อสันนอกโค (LSM±SE)	58
4.13 อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลคติก และระยะเวลาการบ่ม ต่อจำนวน โคลิฟอร์มทั้งหมด (total coliforms ; log cfu/g) ของเนื้อสันนอกโค (LSM±SE)	59
4.14 อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลคติก และระยะเวลา การบ่ม ต่อจำนวนเชื้อ <i>E. coli</i> (log cfu/g) ของเนื้อสันนอกโค.....	60
4.15 อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อและระยะเวลาการบ่ม ต่อการเปลี่ยนแปลงของ myofibrillar proteins ขนาด 55 kDa, troponin-T ขนาด 37-39 kDa และ troponin-T _{Product} ขนาด 30 kDa ของเนื้อสันนอกโค (µg BSA-equivalent)	61

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 โครงสร้างและส่วนประกอบของกล้ามเนื้อโครงร่าง.....	6
2.2 แสดงกล้ามเนื้อ โครงร่างจากระดับกล้ามเนื้อถึงระดับ โมเลกุล.....	7
2.3 แสดงส่วนประกอบของ myofilaments ในเซลล์กล้ามเนื้อโครงร่าง.....	8
3.1 แสดงลักษณะในการเตรียมตัวอย่างเนื้อ โคททดลองในซ้ำที่ 1.....	33
3.2 แสดงขั้นตอนในการเตรียมตัวอย่างเนื้อ สำหรับทดลองการบ่มแบบดั้งเดิม (dry ageing) และการบ่มในถุงสุญญากาศ (wet ageing)	33
3.3 แสดงตำแหน่งของเนื้อ โคที่ใช้ในการทดลอง วิธีการบ่มแบบดั้งเดิม และการบ่มแบบบรรจุเนื้อในถุงสุญญากาศ ระยะเวลาในการบ่ม 1, 7, 14, 21 และ 28 วัน ของเนื้อ โคในแต่ละซ้ำ โดยการสุ่มอย่างง่าย.....	35
4.1 แสดงลักษณะของการเปลี่ยนแปลงของแถบ โปรตีนที่ 55 kDa, 37-39 kDa และ 30 kDa (troponin-product) ที่ระยะเวลาบ่ม 1, 7, 14, 21 และ 28 วัน ของเนื้อ โคทดลองตัวที่ 1 โดย (ก) เนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศ และ (ข) เนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิม M คือ Standard Marker (PageRuler™ Plus Prestained Protein Ladder, Fermentas), BSA คือ Bovine Cerum Albumin.....	63
4.2 แสดงลักษณะของการเปลี่ยนแปลงของแถบ โปรตีนที่ 55 kDa, 37-39 kDa และ 30 kDa (troponin-product) ที่ระยะเวลาบ่ม 1, 7, 14, 21 และ 28 วัน ของเนื้อ โคทดลองตัวที่ 2 โดย (ก) เนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศ และ (ข) เนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิม M คือ Standard Marker (PageRuler™ Plus Prestained Protein Ladder, Fermentas), BSA คือ Bovine Cerum Albumin.....	63
4.3 แสดงลักษณะของการเปลี่ยนแปลงของแถบ โปรตีนที่ 55 kDa, 37-39 kDa และ 30 kDa (troponin-product) ที่ระยะเวลาบ่ม 1, 7, 14, 21 และ 28 วัน ของเนื้อ โคทดลองตัวที่ 3 โดย (ก) เนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศ และ (ข) เนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิม M คือ Standard Marker (PageRuler™ Plus Prestained Protein Ladder, Fermentas), BSA คือ Bovine Cerum Albumin.....	64
4.4 แสดงลักษณะของการเปลี่ยนแปลงของแถบ โปรตีนที่ 55 kDa, 37-39 kDa และ 30 kDa (troponin-product) ที่ระยะเวลาบ่ม 1, 7, 14, 21 และ 28 วัน ของเนื้อ โคทดลองตัวที่ 4 โดย (ก) เนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศ และ (ข) เนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิม M คือ Standard Marker (PageRuler™ Plus Prestained Protein Ladder, Fermentas), BSA คือ Bovine	

Cerum Albumin.....	64
4.5 แสดงลักษณะของการเปลี่ยนแปลงของแถบโปรตีนที่ 55 kDa, 37-39 kDa และ 30 kDa (troponin-product) ที่ระยะเวลาบ่ม 1, 7, 14, 21 และ 28 วัน ของเนื้อ โคทคดอง ตัวที่ 5 โดย (ก) เนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศ และ (ข) เนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิม M คือ Standard Marker (PageRuler™ Plus Prestained Protein Ladder, Fermentas), BSA คือ Bovine Cerum Albumin.....	65



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของการวิจัย

จากการที่ประเทศไทยได้ทำข้อตกลงเขตการค้าเสรีกับประเทศต่างๆ เช่น ออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ และอินเดีย เป็นต้น จะส่งผลกระทบต่อให้เกิดการพัฒนาและแข่งขันในอาชีพการเลี้ยงโคเนื้อและผลิตภัณฑ์ค่อนข้างมาก ดังนั้นผู้ที่เกี่ยวข้องในการเลี้ยงโคเนื้อจะต้องมีการปรับตัว และใช้โอกาสดังกล่าวในการพัฒนาตนเองให้เข้มแข็ง โดยเฉพาะในด้านการเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตคุณภาพผลผลิต และลดต้นทุนการผลิต เพื่อเพิ่มช่องทางการตลาด

ตลาดการบริโภคเนื้อโคในประเทศไทยแบ่งได้ 3 กลุ่มได้แก่ ตลาดระดับสูง ตลาดระดับกลาง และตลาดระดับต่ำ ในตลาดระดับสูงผู้ที่ซื้อเนื้อจะเน้นความนุ่มเป็นสำคัญ เพื่อนำไปทำอาหารประเภท สเต็ก ผู้บริโภคมีตั้งแต่คนไทยที่รู้จักวิธีประกอบอาหารจากเนื้อแบบตะวันตก คนต่างชาติที่อยู่ในประเทศ โรงแรม ภัตตาคาร ร้านอาหาร ห้างสรรพสินค้าชั้นนำ เนื้อโคสำหรับตลาดระดับสูงมาจากโคขุนคุณภาพสูง ซึ่งมาจากโคขุนสหกรณ์ปศุสัตว์โพนยางคำ (Thai-French Beef) สหกรณ์โคเนื้อกำแพงแสน (KU-Beef) และสหกรณ์ปศุสัตว์หนองสูง ซึ่งสามารถผลิตเนื้อได้ประมาณ 1.4 เปอร์เซ็นต์ ของเนื้อโคที่ใช้บริโภคภายในประเทศทั้งหมด ซึ่งมีไม่เพียงพอต่อความต้องการภายในประเทศ จึงจำเป็นต้องนำเข้าเนื้อโคแช่เย็น แช่แข็ง จากต่างประเทศ ประมาณ 1.1 เปอร์เซ็นต์ ความต้องการของผู้บริโภคเนื้อโคในตลาดระดับสูงรวมประมาณ 2.5 เปอร์เซ็นต์ ของเนื้อโคที่ใช้บริโภคภายในประเทศทั้งหมด (สำนักพัฒนาการปศุสัตว์และถ่ายทอดเทคโนโลยี. 2010) ตลาดระดับกลาง ส่วนใหญ่เป็นเนื้อที่มาจากโคลูกผสมพื้นเมือง-บราห์มันที่สามารถยกระดับเป็นเนื้อโคคุณภาพสูงได้ หากมีการปรับปรุงเรื่องมาตรฐานการเลี้ยง มาตรฐานโรงฆ่า การจัดการหลังการฆ่า เช่น การเก็บรักษาและการบ่มเนื้อก่อนจำหน่าย (จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2548)

การบริโภคเนื้อโคของผู้บริโภคในตลาดชั้นสูงนั้น ผู้บริโภคจะคำนึงถึงความนุ่มของเนื้อเป็นสำคัญ ดังนั้นในการผลิตเนื้อคุณภาพสูงเพื่อป้อนตลาดจึงต้องมีวิธีการในการทำให้เนื้อนุ่มเข้ามาเกี่ยวข้อง การบ่มเนื้อเป็นวิธีการที่ทำให้เนื้อนุ่ม เนื้อที่ผ่านกระบวนการบ่ม นอกจากมีความนุ่มแล้วยังมีกลิ่นรสชาติที่ดีขึ้น (Lawrie and Ledward. 2006) มีนักวิจัยอีกจำนวนมากที่ยืนยันในเรื่องนี้

การบ่มเนื้อโคโดยทั่วไปมี 2 วิธีคือ การบ่มเนื้อแบบดั้งเดิม (dry ageing) คือ การนำชิ้นส่วนเนื้อโคขนาดใหญ่แช่เย็น โดยตรงภายใต้การควบคุมอุณหภูมิ ความชื้นและความเร็วลม (air flow) ทำการบ่มเนื้อเป็นระยะเวลา 21-28 วัน อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส การบ่มเนื้อแบบที่สองคือการบ่มเนื้อในถุงสุญญากาศ (wet ageing หรือ vacuum ageing) และเก็บเนื้อไว้ในห้องเย็นเป็นเวลา 7-10 วัน

วิธีนี้เป็นวิธีที่นิยมในปัจจุบัน เนื่องจากประหยัดพื้นที่ในการบ่มเนื้อในห้องเย็น เนื้อไม่สูญเสียความชื้นและน้ำหนัก แต่มีข้อเสียคือ เมื่อเนื้อมีความชื้นสูง ทำให้เชื้อจุลินทรีย์เจริญเติบโตได้ดี จึงทำให้อายุการเก็บรักษาเนื้อสั้นลง ในขณะที่การบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมมีข้อเสียคือ ค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูง เนื่องจากต้องใช้พื้นที่ในห้องเย็นมาก อัตราการสูญเสียน้ำหนักค่อนข้างสูง เนื่องจากบริเวณผิวเนื้อค่อนข้างแห้งทำให้ต้องตัดแต่งเนื้อในบริเวณดังกล่าวออกไป นอกจากนี้ยังสูญเสียน้ำหนักเนื่องจากมีการระเหยของน้ำบริเวณผิวเนื้อค่อนข้างมาก แต่การบ่มเนื้อวิธีนี้มีข้อดีคือ เนื่องจากบริเวณผิวหน้าของเนื้อค่อนข้างแห้ง จึงทำให้ไม่เหมาะต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ (Ahmström *et al.* 2006 ; Anonymous. 2007 ; Epley. 2007)

การใช้กรดอินทรีย์เป็นอีกวิธีหนึ่งที่ได้รับการนิยมนำมาใช้ เพื่อลดจำนวนจุลินทรีย์บนซากสัตว์ และบนเนื้อสัตว์ได้แก่ กรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ เช่น กรดอะซิติก กรดแลคติก กรดซิตริก กรดมาลิก กรดไพโรอิก และกรดทาร์ทริก เป็นต้น ในบรรดากรดอินทรีย์กรดแลคติกได้รับความนิยมเนื่องจากเป็นกรดอินทรีย์ที่ได้จากธรรมชาติ (Snijder *et al.* 1985) และได้รับการรับรองความปลอดภัยจากองค์การอนามัยโลก ประเทศสหรัฐอเมริกาในการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมเนื้อสัตว์ (FAO / WHO. 1974) โดยที่ร่างกายของคนเราและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมส่วนใหญ่สามารถรับได้มากกว่า 1500 mg/kg ซึ่งถือว่าเป็นปริมาณที่สูงมาก (Smulders *et al.* 1986)

ดังนั้นการศึกษาคั้งนี้จึงมุ่งที่จะศึกษานำกรดแลคติกมาใช้ร่วมกับการบ่มเนื้อ 2 วิธีการ เพื่อให้ได้เนื้อโคที่มีคุณภาพและปลอดภัย

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 เพื่อศึกษาผลของวิธีการบ่มเนื้อ ร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลคติก ที่มีผลต่อคุณภาพเนื้อ ในระหว่างกระบวนการบ่มเนื้อ โค

1.2.2 เพื่อศึกษาผลของวิธีการบ่มเนื้อ ร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลคติก ในการลดจำนวนจุลินทรีย์บนเนื้อโค ในระหว่างกระบวนการบ่มเนื้อ โค

1.2.3 เพื่อศึกษาผลของวิธีการบ่มเนื้อ ต่อการย่อยสลายของ myofibrillar proteins ด้วยเทคนิค SDS-PAGE ในระหว่างกระบวนการบ่มเนื้อโค

1.3 สถานที่ดำเนินการ

1.3.1 ห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเนื้อสัตว์ และห้องปฏิบัติการจุลินทรีย์เนื้อสัตว์ สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3.2 ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพทางสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

1.4 ขั้นตอนการศึกษา

1.4.1 ศึกษาวิธีการบ่มเนื้อ ร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลคติก ที่มีผลต่อคุณภาพเนื้อ ในระหว่างกระบวนการบ่มเนื้อ โคที่ 1, 7, 14, 21 และ 28 วัน

1.4.2 ศึกษาวิธีการบ่มเนื้อ ร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลคติก ในการลดจำนวนจุลินทรีย์บนเนื้อโค ในระหว่างกระบวนการบ่มเนื้อ โคที่ 1, 7, 14, 21 และ 28 วัน

1.4.3 ศึกษาผลของวิธีการบ่มเนื้อ ต่อการย่อยสลายของ myofibrillar proteins ด้วยเทคนิค SDS-PAGE ในระหว่างกระบวนการบ่มเนื้อ โคที่ 1, 7, 14, 21 และ 28 วัน

1.4.4 วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของลักษณะต่างๆ ที่ศึกษา สรุปและเขียนรายงาน

1.5 ระยะเวลาการศึกษา

ใช้เวลาในการศึกษาทั้งสิ้น 1 ปี เริ่มทำการศึกษาดังแต่เดือนตุลาคม พ.ศ. 2551 เสร็จสิ้นการศึกษาเดือนกันยายน พ.ศ. 2552

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.6.1 ทราบถึงวิธีที่เหมาะสมในการบ่มเนื้อ เพื่อให้ได้เนื้อโคที่มีคุณภาพและปลอดภัย

1.6.2 เพื่อเป็นแนวทางในการปรับปรุงคุณภาพ และความปลอดภัยของเนื้อโค สามารถขยายตลาดเนื้อโคคุณภาพสูง

1.6.3 หน่วยงานที่เกี่ยวข้อง เช่น โรงฆ่าสัตว์ โรงตัดแต่งเนื้อสัตว์ กรมปศุสัตว์ และเกษตรกรผู้เลี้ยงโคสามารถนำข้อมูลจากการศึกษาไปใช้ประโยชน์ได้

บทที่ 2

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เนื้อเยื่อกล้ามเนื้อ (muscular tissue)

เนื้อเยื่อกล้ามเนื้อเป็นเนื้อเยื่อพื้นฐานอีกชนิดหนึ่งที่ทำหน้าที่สำคัญเกี่ยวกับการหดตัว ซึ่งเป็นผลให้เกิดการเคลื่อนไหวของร่างกาย ทั้งนี้เพราะภายในไซโทพลาซึมของเซลล์กล้ามเนื้อ มีฟิลาเมนต์ที่หดตัวได้ (contractile filaments) บรรจุอยู่ เนื่องจากเซลล์กล้ามเนื้อมีรูปร่างยาว จึงเรียกว่าเส้นใยกล้ามเนื้อ (muscle fiber) ส่วนประกอบของเซลล์กล้ามเนื้อมีชื่อเรียกแตกต่างจากส่วนประกอบของเซลล์อื่นๆ เช่น sarcolemma (plasmalemma), sarcoplasm (cytoplasm), sarcoplasmic reticulum (endoplasmic reticulum) และ myofibril (contractile filament) กล้ามเนื้อมีกำเนิดมาจากเนื้อเยื่อชั้นเมโซเดิร์ม แบ่งชนิดของกล้ามเนื้อตามลักษณะโครงสร้างและการทำงานออกเป็น 3 ชนิด (กรรณิกา ชัชวาลวานิช. 2546) ได้แก่

1. กล้ามเนื้อโครงร่างหรือกล้ามเนื้อลาย (skeletal muscle หรือ voluntary striated muscle) เป็นกล้ามเนื้อที่ติดกับกระดูก หรือพังผืด (fascia) และพบเป็นส่วนประกอบของกล้ามเนื้อ บริเวณแขนขาและลำตัว การทำงานของกล้ามเนื้อชนิดนี้อยู่ภายใต้อำนาจจิตใจ
2. กล้ามเนื้อหัวใจ (cardiac muscle หรือ involuntary striated muscle) เป็นกล้ามเนื้อที่ไม่อยู่ในอำนาจจิตใจ พบที่ผนังของหัวใจ และยังพบที่ผนังของเส้นเลือดขนาดใหญ่ ที่ติดต่อกับหัวใจ
3. กล้ามเนื้อเรียบ (smooth muscle หรือ involuntary muscle) พบที่ผนังของอวัยวะภายใน ที่เป็นท่อกลวง และผนังของเส้นเลือดส่วนใหญ่

เนื้อสัตว์ (meat) หมายถึง กล้ามเนื้อ (muscle) โดยเฉพาะจากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม โดยเป็นส่วนของกล้ามเนื้อโครงร่าง (skeletal muscle) ที่มีการเปลี่ยนแปลงทางเคมี และชีวเคมีเกิดขึ้นภายหลังจากสัตว์ตายแล้ว คำว่ากล้ามเนื้อและเนื้อสัตว์ สามารถใช้แทนที่ซึ่งกันและกันได้ โดยกรณีที่กำลังกล่าวถึงกล้ามเนื้อสัตว์ จะเป็นช่วงที่สัตว์ยังมีชีวิต และมีบทบาทในการทำงานอยู่ในตัวสัตว์ แต่ถ้ากล่าวถึงเนื้อสัตว์จะหมายถึง กล้ามเนื้อที่ได้จากสัตว์ภายหลังจากสัตว์ตายแล้ว เช่น เนื้อจากวัว หมู ไก่ แพะ แกะ และไก่ เป็นต้น (บุษกร อุดรภิชาติ. 2552)

กล้ามเนื้อโครงร่าง (skeletal muscle) เป็นเนื้อเยื่อที่ถูกนำมาใช้บริโภค เป็นเนื้อสัตว์มากที่สุด (จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2539) ถ้าไม่นับรวมสัตว์ที่อ้วนมากๆ แล้ว โดยทั่วไป กล้ามเนื้อโครงร่างจะมีอยู่ในซากสัตว์ประมาณ 35-65 เปอร์เซ็นต์ซาก (ชัยณรงค์ คันธพนิต. 2529) ดังนั้นเมื่อกล่าวถึงเนื้อสัตว์ การกล่าวอย่างรวมๆ หมายถึงกล้ามเนื้อโครงร่างเสียเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งความรู้ในเรื่องโครงสร้าง ส่วนประกอบและหน้าที่ของกล้ามเนื้อ ในขณะที่สัตว์ยังมีชีวิตอยู่ และคาบเกี่ยวไปถึง

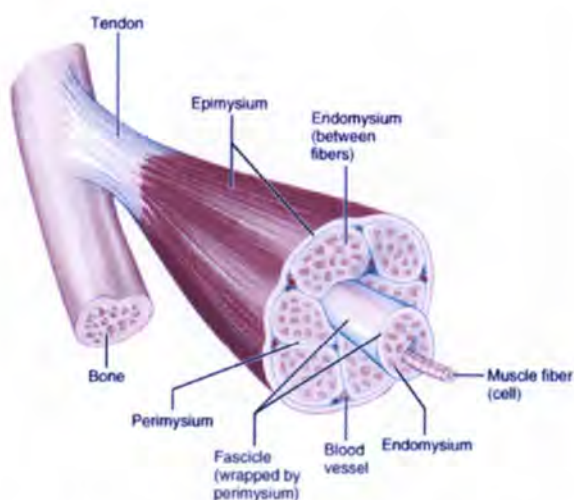
ขณะที่ตายไป และเป็นเนื้อสัตว์แล้วนั้น จึงมีความสำคัญต่อการศึกษาด้านวิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์เป็นอย่างมาก โดยเนื้อหาที่กล่าวดังต่อไปนี้ จะกล่าวถึงรายละเอียดของกล้ามเนื้อโครงร่างพอสังเขป

2.2 กล้ามเนื้อโครงร่างหรือกล้ามเนื้อลาย (skeletal muscle)

กล้ามเนื้อโครงร่างส่วนมาก จะติดอยู่กับกระดูกโดยตรง แต่ก็มีบางส่วนที่ติดอยู่กับเส้นเอ็น (ligament) กระดูกอ่อน และหนัง ซึ่งก็เหมือนกับว่ากล้ามเนื้อโครงร่างเหล่านี้ ติดอยู่กับกระดูกโดยทางอ้อมนั่นเอง (ชัยณรงค์ คันธพนิต. 2529) เซลล์กล้ามเนื้อโครงร่างมีรูปร่างเป็นทรงกระบอกมีความยาว 1-40 มิลลิเมตร หรือมากกว่านี้ และมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 10-100 ไมโครเมตร เซลล์มีนิวเคลียสหลายอัน (multinucleated cells) เพราะเกิดจากการรวมกันของ myoblast ในระยะที่เป็นตัวอ่อน จำนวนนิวเคลียสประมาณ 35 อันต่อความยาว 1 มิลลิเมตร นิวเคลียสมีรูปร่างไขว้ที่ขอบของเซลล์ ตำแหน่งของนิวเคลียสนี้ใช้แยกความแตกต่างของกล้ามเนื้อลาย ออกจากกล้ามเนื้อหัวใจและกล้ามเนื้อเรียบ ซึ่งมีนิวเคลียสอยู่ตรงกลางเซลล์ ภายใน sarcoplasm มีออร์แกเนลล์ต่างๆ เหมือนเซลล์ทั่วไป แต่ที่สำคัญคือมี myofibrils จำนวนมากที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1-2 μm เมื่อดูเซลล์กล้ามเนื้อลายที่ตัดตามยาว ด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา พบว่ามีแถบตามขวาง (cross banding หรือ cross striation) ซึ่งประกอบด้วยแถบสว่าง (light band) และแถบทึบ (dark band) สลับกัน แถบตามขวางนี้เกิดจากการเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบของ myofibrils ซึ่งเรียงขนานกับแกนยาวของเซลล์กล้ามเนื้อแถบทึบ เรียกว่า A band (anisotropic) เพราะมีคุณสมบัติหักเหสองแนว (birefringent) เมื่อดูด้วย polarizing microscope ส่วนแถบสว่างเรียก I band (isotropic) เพราะเป็น isotropic ในแสงโพลาไรซ์ (polarized light) เซลล์กล้ามเนื้อลายที่ตัดตามขวาง พบว่าเห็นเป็นจุดกลม หรือรูปหลายเหลี่ยมขนาดเล็กของ myofibrils ล้อมรอบด้วย sarcoplasm ที่ใส เรียกว่า Cohnheim's field (กรรณิกา ชัชวาลวานิช. 2546)

2.2.1 การเรียงตัวของกล้ามเนื้อโครงร่าง

เซลล์กล้ามเนื้อลายแต่ละเซลล์ มีเนื้อเยื่อประสานบางๆ หุ้มล้อมรอบเรียกว่า endomysium ซึ่งยึดเซลล์กล้ามเนื้อให้อยู่รวมกันเป็นกลุ่ม หรือเป็นมัดเล็ก เรียกว่า fascicle แต่ละ fascicle มี loose connective tissue หุ้มล้อมรอบเรียกว่า perimysium กล้ามเนื้อ โดยมากประกอบด้วย fascicule หลายอัน กลุ่มของกล้ามเนื้อทั้งหมดรวมกันเป็นมัดใหญ่ ถูกล้อมรอบด้วย dense connective tissue ที่เรียกว่า epimysium (ภาพที่ 2.1) เส้นเลือดเส้นน้ำเหลืองและเส้นประสาท จะแทรกตามเนื้อเยื่อประสานเหล่านี้ไปเลี้ยงเซลล์กล้ามเนื้อ (กรรณิกา ชัชวาลวานิช. 2546)



ภาพที่ 2.1 โครงสร้างและส่วนประกอบของกล้ามเนื้อโครงร่าง

ที่มา : Medicalook (2010)

2.2.2 การจัดเรียงของ myofibrils และออร์แกนลล์ที่เกี่ยวข้องของเซลล์กล้ามเนื้อโครงร่าง

Myofibrils ประกอบด้วย myofilaments 2 ชนิดคือ thick filament (myosin filament) ซึ่งเป็นส่วนประกอบของ A band และ thin filament (actin filament) ซึ่งเป็นส่วนประกอบของ I band เมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบว่า I band ถูกแบ่งออกเป็น 2 ส่วนด้วยเส้นที่บางๆ เรียกว่า Z line ส่วนของ myofibril ที่อยู่ระหว่าง Z line เรียกว่า sarcomere ซึ่งเป็นหน่วยการทำงาน (contractile unit) ที่เล็กที่สุดของเซลล์กล้ามเนื้อ ซึ่งมีความยาวประมาณ $2.5 \mu\text{m}$ ในขณะพัก (relax state) ส่วน A band พบว่ามีแถบเล็กสีจางอยู่ตรงกลางเรียก H band ซึ่งเป็นส่วนของ A band ที่ประกอบด้วย thick filaments เท่านั้น ตรงกลางของ H band พบว่ามีเส้นดำเรียกว่า M line ภายใน A band มีบางระยะที่มี thin และ thick filaments ซ้อนกัน ถ้าตัดตามขวางบริเวณนี้พบว่า thick filament แต่ละอันล้อมรอบด้วย thin filament 6 อันเป็นรูป 6 เหลี่ยม (ภาพที่ 2.2) ส่วน I band และ H band เป็นบริเวณที่ thin และ thick filament ไม่ซ้อนกัน (กรรณิกา ชัชวาลวานิช, 2546)

2.2.3 ส่วนประกอบของ myofilaments ในเซลล์กล้ามเนื้อโครงร่าง

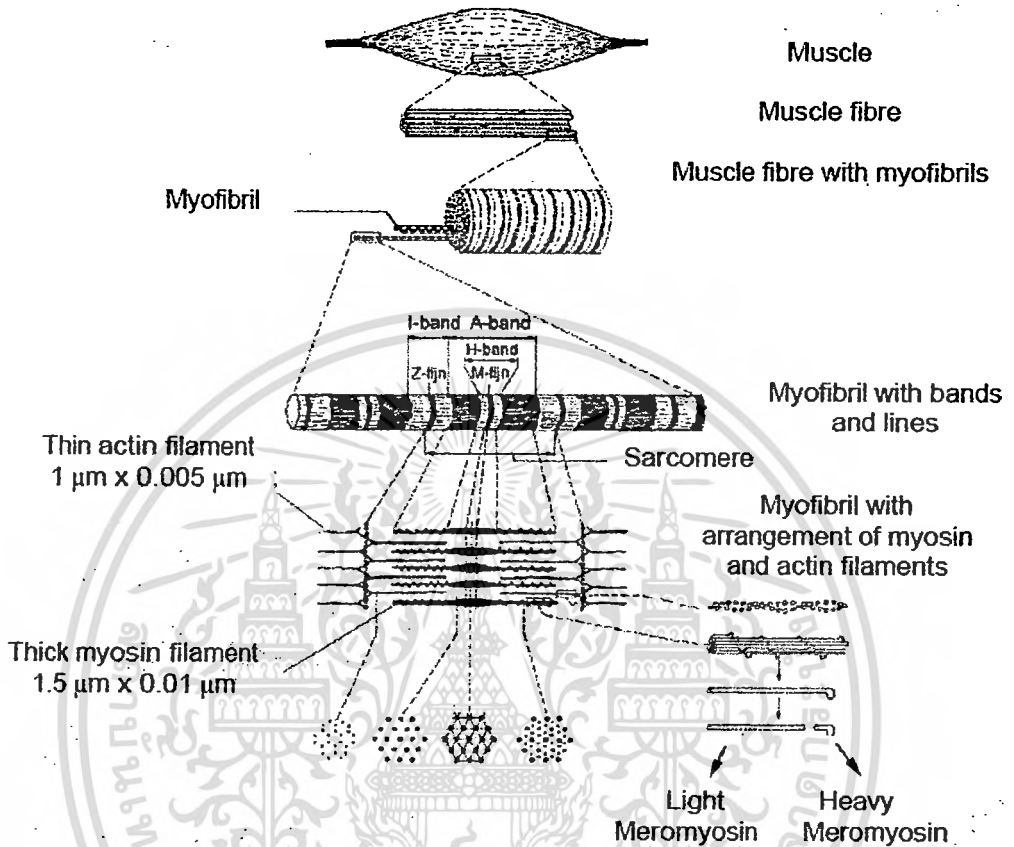
กรรณิกา ชัชวาลวานิช (2546) กล่าวว่า ในเซลล์กล้ามเนื้อโครงร่างประกอบด้วยโปรตีนอย่างน้อย 4 ชนิดคือ actin, tropomyosin, troponin และ myosin (ภาพที่ 2.3) โปรตีนทั้ง 4 ชนิดนี้รวมกันมี 55 เปอร์เซ็นต์ ของโปรตีนทั้งหมดที่มีอยู่ในเซลล์

Thin filament ประกอบด้วย โปรตีน 3 ชนิด คือ

1. Actin มีลักษณะเป็นสายยาว (filamentous) เรียกว่า F-actin ประกอบด้วย G-actin monomers 2 สาย เรียงตัวเป็นเกลียวคู่ (double helix) เวลาที่ G-actin มาต่อกันเป็น F-actin นั้นพบว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับกรใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ด้านหน้าของ G-actin อันหนึ่งจะต่อกับด้านหลังของ G-actin อีกอันหนึ่ง G-actin แต่ละอันมี binding site สำหรับ myosin



ภาพที่ 2.2 แสดงกล้ามเนื้อ โครงสร้างจากระดับกล้ามเนื้อถึงระดับ โมเลกุล

ที่มา : De Smet *et al.* (2004)

2. Tropomyosin เป็นโมเลกุลของโปรตีน ที่มีลักษณะเป็นเส้นยาวบาง ประกอบด้วย พอลิเพปไทด์ 2 สายเรียงตัวเป็นเกลียวแอลฟา (alpha helix) อยู่บนผิวข้างๆ ร่องของ F-actin tropomyosin 1 โมเลกุลอยู่บน G-actin 7 อัน

3. Troponin จากการรายงานของ Peason and Young (1989) กล่าวว่า troponin เป็นโปรตีนที่ประกอบด้วย 3 หน่วยย่อย คือ

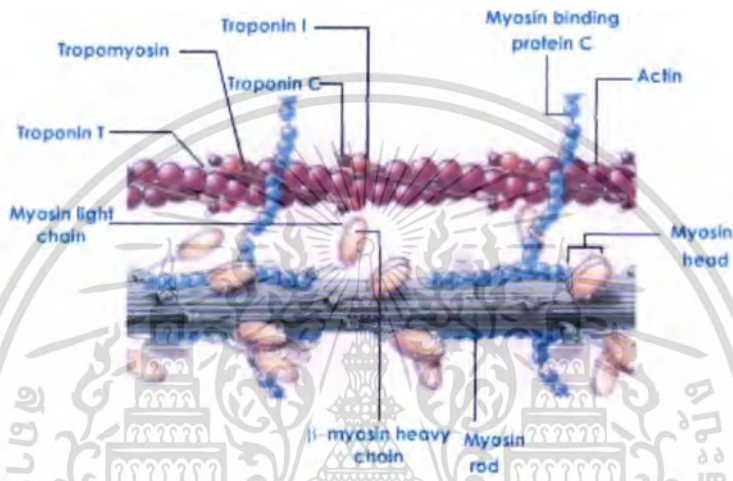
3.1 troponin T (TnT) เป็นส่วนที่ติดแน่นกับ tropomyosin มีความสามารถในการจับกับ tropomyosin เป็นอย่างดี และทำหน้าที่ช่วยยึดจับกับ myosin ในการเกิด crossbridge ของ actomyosin

3.2 troponin C (TnC) เป็นส่วนที่ทำหน้าที่จับกับแคลเซียมไอออน

3.3 troponin I (TnI) ทำหน้าที่ขัดขวางการจับกันระหว่าง myosin และ actin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สงวนเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ใดได้พิมพ์หรือเผยแพร่เอกสารนี้เป็นการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thick filament ประกอบด้วยโมเลกุลของ myosin รวมเข้าด้วยกัน myosin แบ่งออกเป็น 2 ส่วนคือ light chains และ heavy chains ปลายข้างหนึ่งของ heavy chains มี globular heads ซึ่งเป็นส่วนที่มี ATP binding sites มีเอนไซม์ ATPase และเป็น cross bridge ที่จับกับ actin ในขณะที่กล้ามเนื้อเกิดการหดตัว thick filament แต่ละอันประกอบด้วย myosin หลายร้อยโมเลกุล เรียงตัวตามยาวเป็นมัด ตรงกลางของ thick filament ซึ่งตรงกับ H band ไม่มี cross bridge อยู่ส่วนปลายของ thick filament มีส่วนหัวของ myosin ซึ่งเรียงตัวในลักษณะเป็นเกลียวหันออกจาก M line



ภาพที่ 2.3 แสดงส่วนประกอบของ myofilaments ในเซลล์กล้ามเนื้อโครงร่าง

ที่มา : Tutorvista (2010)

2.3 คุณภาพและมาตรฐานเนื้อโค

จุฑารัตน์ เศรษฐกุล (2552) กล่าวว่าคุณลักษณะที่สำคัญของคุณภาพเนื้อ โคแบ่งออกเป็น 5 ด้าน ดังนี้

1. คุณภาพด้านโภชนาการและสุขภาพ (nutritional and health value) เนื้อโคเป็นแหล่งอาหารประเภทโปรตีนและพลังงาน มีกรดอะมิโนจำเป็น กรดไขมันจำเป็นและแร่ธาตุที่จำเป็น ได้แก่ ธาตุเหล็ก ธาตุซิลิเนียม ธาตุสังกะสี นอกจากนี้ยังอุดมไปด้วยวิตามินบี และวิตามินอี
2. คุณภาพด้านการบริโภค หรือด้านที่ใช้ประสาทสัมผัสเป็นตัวตัดสินใจ (eating value หรือ sensory value) ได้แก่ คุณภาพที่เกี่ยวข้องกับ รสชาติ สี กลิ่น ความนุ่ม ลักษณะเนื้อสัมผัส ทั้งนี้ในเรื่องความนุ่มของเนื้อเป็นสิ่งที่ผู้บริโภคที่นำเนื้อสดไปประกอบอาหารโดยตรง ให้ความสำคัญมากที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. คุณภาพด้านความสะอาด ปลอดภัยจากสารตกค้าง (hygienic value) ซึ่งเป็นด้านที่เกี่ยวข้องโดยตรงกับความปลอดภัยของอาหาร (food safety) ได้แก่ ความปลอดภัยจากสารเคมีตกค้าง สิ่งปนเปื้อนในเนื้อและความสะอาดปลอดภัยจากเชื้อจุลินทรีย์สำคัญที่ก่อให้เกิดโรค

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (2547) ได้กำหนดคุณภาพขั้นต่ำของเนื้อโค โดยเนื้อโคตามมาตรฐานต้องผ่านการฆ่า และตัดแต่งจากโรงฆ่าสัตว์ที่ถูกตามลักษณะตามข้อกำหนดของกฎหมายที่เกี่ยวข้อง หรือมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ เรื่องการปฏิบัติที่ดีสำหรับโรงฆ่าโคกระบือ เนื้อโคต้องอยู่ในสภาพที่สะอาด มีสีแดงสดจนถึงสีแดงเข้มและสม่ำเสมอ ปราศจากกลิ่นที่นำรังเกียจ สิ่งแปลกปลอม ปราศจากปรสิตในเนื้อ ปราศจากสิ่งแปลกปลอมที่อาจเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค และปราศจากวัตถุเจือปนอาหาร ซึ่งข้อกำหนดด้านสุขลักษณะของเนื้อโค ได้หมายความรวมถึงการเก็บรักษาและการขนส่ง ต้องปฏิบัติอย่างถูกต้องทุกขั้นตอน เพื่อป้องกันการปนเปื้อนที่จะก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค

ข้อกำหนดด้านจุลินทรีย์ ที่อาจปนเปื้อนบนเนื้อโค ต้องเป็นไปตามเกณฑ์ของสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (2547) ที่ได้กำหนดไว้คือ

1. จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ต้องไม่เกิน 5×10^7 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม วิธีทดสอบให้ปฏิบัติตาม AOAC (2000) ข้อ 966.23C หรือวิธีการทดสอบที่เทียบเท่า

2. โคลิฟอร์ม (coliform organism) กำหนดค่า Most Probable Number (MPN) ต่อตัวอย่าง 1 กรัม ต้องไม่เกิน 5×10^3 โคโลนี วิธีทดสอบให้ปฏิบัติตาม AOAC (2000) ข้อ 966.24 หรือวิธีการทดสอบที่เทียบเท่า

3. ซาลโมเนลลา (*Salmonella sp.*) ต้องไม่พบในตัวอย่าง 25 กรัม วิธีทดสอบให้ปฏิบัติตาม AOAC (2000) ข้อ 967.26 หรือวิธีการทดสอบที่เทียบเท่า

4. สตาฟีโลคอคคัส ออเรียส (*Staphylococcus aureus*) กำหนดค่า Most Probable Number (MPN) ต่อตัวอย่าง 1 กรัม ต้องไม่เกิน 1×10^2 โคโลนี วิธีทดสอบให้ปฏิบัติตาม AOAC (2000) ข้อ 975.55 หรือวิธีการทดสอบที่เทียบเท่า

นอกจากนี้ ฝ่ายบริการข้อมูลและสารสนเทศ สถาบันอาหาร (2548) ได้กำหนดมาตรฐาน สารตกค้าง และจุลินทรีย์ปนเปื้อนในอาหารของประเทศคู่ค้าสำคัญ โดยได้กำหนดมาตรฐานของสารตกค้าง และจุลินทรีย์ปนเปื้อนในอาหารรวม 9 ประเภทคือ สารปฏิชีวนะ สารกำจัดแมลงและศัตรูพืช สารพิษจากเชื้อรา โลหะหนัก จุลินทรีย์ สารพิษที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม วัตถุเจือปนอาหาร สารพิษที่เกิดจากขบวนการผลิต และสารพิษที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ ซึ่งเป็นมาตรฐานที่บังคับใช้โดยประเทศคู่ค้าสินค้าอาหารที่สำคัญของไทย ได้แก่ สหรัฐอเมริกา สหภาพยุโรป ญี่ปุ่น และมาตรฐานโคเด็กซ์ แต่ในที่นี่จะกล่าวถึงมาตรฐานสารตกค้างและจุลินทรีย์ปนเปื้อนในเนื้อโค (ตารางที่ 2.1) ซึ่งจัดอยู่ในอาหารกลุ่มเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 มาตรฐานสารตกค้างและจุลินทรีย์ปนเปื้อนในเนื้อโค ของประเทศคู่ค้าสำคัญ

ประเภทสารตกค้าง/ จุลินทรีย์ปนเปื้อน	ชนิดสารตกค้าง/ จุลินทรีย์ปนเปื้อน	มาตรฐาน			
		สหภาพยุโรป	สหรัฐอเมริกา	ญี่ปุ่น	โคเด็กซ์
โลหะหนัก	Lead	0.1 mg/kg wet weight	-	-	0.1 mg/kg wet weight
โลหะหนัก	Cadmium	0.05 mg/kg wet weight	-	-	-
จุลินทรีย์	Total viable count (TVC)	m<3.5 cfu/cm ² M>5.0 cfu/cm ² *	-	-	-
จุลินทรีย์	Enterobacteriaceae	m<1.5 cfu/cm ² M>2.5 cfu/cm ³ *	-	-	-
สารพิษที่ปนเปื้อนใน สิ่งแวดล้อม	PCDD+PCDF	3 pg WHO- PCDD/ F-TEQ/g fat	-	-	-

หมายเหตุ * m เท่ากับ Acceptable -M เท่ากับ Unacceptable
- ไม่ระบุ

ที่มา : ฝ่ายบริการข้อมูลและสารสนเทศ สถาบันอาหาร (2548)

4. คุณภาพทางด้านกรนำเนื้อไปแปรรูป (technological value) ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ในเนื้อ ความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนในเนื้อ เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา (drip loss) และเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการปรุงสุก (cooking loss)

5. คุณภาพที่เกี่ยวข้องกับทางด้านมโนธรรมและจิตใจ (ethical value) ได้แก่ เนื้อโคที่เลี้ยงภายใต้ระบบปล่อยตามทุ่งหญ้าธรรมชาติที่มีความอุดมสมบูรณ์ตลอดทั้งปี ไม่ใช้ฮอร์โมนหรือการตอนเพื่อเร่งการเจริญเติบโต สอดคล้องกับการเลี้ยงโคพื้นเมืองตามธรรมชาติซึ่งถ้าได้มีการพัฒนาและปรับปรุงระบบการผลิตให้ถูกต้องตลอดห่วงโซ่การผลิตจะสามารถสร้างเอกลักษณ์ของเนื้อโคไทยที่มีคุณลักษณะของคุณภาพเนื้อครบทั้ง 5 ด้าน

2.4 การบ่มและวิธีการบ่มเนื้อ

การบ่มเนื้อเป็นวิธีการที่ทำให้เนื้อนุ่ม เนื้อที่อยู่ในสภาวะ rigor mortis จะมีความเหนียวมาก ดังนั้นจึงต้องนำมาบ่ม เพื่อให้เอ็นไซม์ภายในกล้ามเนื้อเนื้อออกมาทำการย่อยโปรตีนให้แตกออกเป็น กรดอะมิโนต่างๆ ซึ่งจะทำให้เนื้อนุ่มขึ้น และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โมเลกุลย่อย ปฏิกริยานี้จะเป็นไปได้ดีเมื่อเนื้อมีความเป็นกรดสูงขึ้นและอุณหภูมิของเนื้อสูงขึ้นด้วย (จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2540) เนื้อที่ผ่านกระบวนการบ่ม นอกจากจะมีความนุ่มแล้วยังมีกลิ่นรสชาติที่ดี ความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อก็ดีขึ้น ซึ่งในขณะที่เกิด rigor mortis นั้นความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อจะต่ำที่สุด (จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2540 ; Warren and Kastner. 1992 ; Ahnström *et al.* 2006) โดย calpain เป็นเอนไซม์ที่มีความสำคัญต่อการย่อยโปรตีนในเนื้อ เนื่องจากมีบทบาทในการย่อยสลายเส้นใยกล้ามเนื้อบริเวณ Z-line (Koochmaraie. 1994)

Troponin T (TnT) เป็นเส้นใยโปรตีนชนิด myofibrillar protein ซึ่งถูกทำลายในระหว่างกระบวนการบ่มเนื้อ โดยเมื่อ TnT ถูกทำลายจะทำให้เนื้อมีความนุ่มมากขึ้น และยังทำให้รสชาติของเนื้อดีขึ้นด้วย TnT ในกล้ามเนื้อ แบ่งได้ 2 กลุ่ม คือ slow type และ fast type การศึกษารูปแบบของ TnT ภายหลังจากบ่มเนื้อ สามารถใช้เป็นแนวทางในการบอกถึงคุณภาพของเนื้อได้ (Muroya *et al.* 2006) นอกจากนี้ Ho *et al.* (1997) รายงานว่า ผลจากการย่อยสลายของโปรตีนในกลุ่ม myofibrillar proteins ส่วนใหญ่แล้วมักพบการปรากฏของ polypeptides ที่มีขนาดประมาณ 30 kDa หรือ troponin-T product ซึ่ง polypeptides ขนาด 30 kDa นั้นสามารถพบได้ในกล้ามเนื้อโคทั่วไป ภายหลังจากตัดตัวตาย ในขณะเดียวกันพบว่า troponin-T จะมีปริมาณลดลง และมีความสัมพันธ์กับความนุ่มของเนื้อที่เพิ่มขึ้นเช่นกัน ซึ่ง Steen *et al.* (1997) กล่าวว่า การย่อยสลายของ โปรตีน troponin-T และการปรากฏขึ้นของ polypeptides ขนาด 30 kDa ในเวลาเดียวกันนั้น นับว่าเป็นตัวบ่งชี้ถึงการเกิดกระบวนการย่อยสลายโปรตีนในกล้ามเนื้อสัตว์ ที่เกิดขึ้น โดยการทำงานของเอนไซม์ calpains ได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้ยังมีความสัมพันธ์โดยตรงกับการเพิ่มขึ้นของความนุ่มของเนื้อ สอดคล้องกับการศึกษาของ Jirajaroenrat *et al.* (2007) จากการวิเคราะห์รูปแบบการสลายตัวของโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อสันนอกของโคกำแพงแสน โดยบ่มเนื้อในอุณหภูมิก๊าซที่อุณหภูมิ 2-4 องศาเซลเซียส 0, 1, 3, 5, 7, 10, 14, 17 และ 21 วันของการบ่ม โดยการแยกโปรตีนตามน้ำหนักโมเลกุลด้วยกระแสไฟฟ้า (SDS-PAGE) พบว่าแถบโปรตีนที่มีขนาด 37-39 kDa มีความเข้มลดลง ในขณะที่แถบโปรตีนขนาด 30 kDa ปรากฏความเข้มเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการบ่มเนื้อเพิ่มขึ้น และมีความสัมพันธ์กับค่าแรงตัดผ่านเนื้อที่ลดลง

Ahnström *et al.* (2006) รายงานว่า การบ่มเนื้อโคโดยทั่วไปมีอยู่ 2 วิธีคือ การบ่มเนื้อแบบดั้งเดิม (dry ageing) คือ การนำชิ้นส่วนขนาดใหญ่แช่เย็นโดยตรง ภายใต้อุณหภูมิความชื้นและความเร็วลม (air flow) ทำการบ่มเนื้อเป็นระยะเวลา 21-28 วัน อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส การบ่มเนื้อแบบที่สอง คือ การบ่มเนื้อในอุณหภูมิก๊าซ (wet ageing) และเก็บเนื้อไว้ในห้องเย็นอุณหภูมิก๊าซ 0-4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-10 วัน วิธีนี้เป็นวิธีที่นิยมในปัจจุบัน เนื่องจากประหยัดพื้นที่ในการบ่มเนื้อ ในห้องเย็น เนื้อไม่สูญเสียความชื้นและน้ำหนัก และมีข้อเสียคือ เนื้อเนื้อที่มีความชื้นสูงทำให้เชื้อจุลินทรีย์เจริญเติบโตได้ดี จึงทำให้อายุการเก็บรักษาเนื้อสั้นลง ในขณะที่การบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมมีข้อเสียคือ ค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูง เนื่องจากต้องใช้พื้นที่ในห้องเย็นมาก อัตราการ

สูญเสียน้ำหนักค่อนข้างสูง เนื่องจากบริเวณผิวเนื้อค่อนข้างแห้ง ทำให้ต้องตัดแต่งเนื้อบริเวณดังกล่าวออกไป นอกจากนี้ยังสูญเสียน้ำหนัก เนื่องจากมีการระเหยของน้ำบริเวณผิวเนื้อค่อนข้างมาก แต่การบ่มเนื้อวิธีนี้มีข้อดีคือ เนื่องจากบริเวณผิวหน้าของเนื้อค่อนข้างแห้ง จึงทำให้ไม่เหมาะต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

Smith *et al.* (2008) ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบวิธีการบ่มเนื้อแบบดั้งเดิม กับการบ่มแบบบรรจุถุงสุญญากาศที่อุณหภูมิ 1 องศาเซลเซียส โดยใช้เนื้อสันนอกจากซากซีกซ้ายและขวา และมีระยะเวลาบ่มที่ 14, 21, 28 และ 35 วัน พบว่าค่าแรงตัดผ่านเนื้อของการบ่มทั้งสองแบบ ไม่แตกต่างกัน ระยะเวลาบ่มที่นานขึ้น จะทำให้เนื้อ โคมีคความนุ่มเพิ่มขึ้น และนุ่มมากที่สุดเมื่อบ่มเป็นระยะเวลา 35 วัน ไม่พบความแตกต่างของลักษณะความน่ารับประทาน ของเนื้อที่บ่มทั้งสองวิธี ส่วนระยะเวลาบ่มมีผลต่อรสชาติและความฉ่ำน้ำ โดยเนื้อที่บ่มเป็นระยะเวลา 21 วัน มีคะแนนของรสชาติมากที่สุด และความฉ่ำน้ำของเนื้อก็มีคะแนนมากที่สุด เมื่อบ่มเป็นระยะเวลา 35 วัน

เมื่อพิจารณาถึงวิธีการบ่มเนื้อและระยะเวลา ต่อการสูญเสียน้ำหนักของเนื้อ พบว่ามีอิทธิพลต่อค่าการสูญเสียน้ำหนักเนื่องจากการหดตัวของเนื้อ (cooler shrink) การสูญเสียน้ำหนักระหว่างเก็บรักษา (purge) และการสูญเสียน้ำหนักจากการตัดแต่ง (cut loss) โดยการสูญเสียน้ำหนักจากการหดตัวของเนื้อ จะมีค่ามากที่สุดเมื่อทำการบ่มแบบดั้งเดิมเป็นระยะเวลา 35 วัน การสูญเสียน้ำหนักระหว่างเก็บรักษา จากการบ่มแบบบรรจุถุงสุญญากาศ จะมีค่ามากที่สุดเมื่อบ่มเป็นระยะเวลา 14 วัน ส่วนการบ่มแบบดั้งเดิมจะมีค่ามากที่สุดในวันที่ 28 สำหรับการสูญเสียน้ำหนักจากการตัดแต่งมีค่ามากที่สุด เมื่อบ่มแบบดั้งเดิมในวันที่ 28 และการบ่มแบบบรรจุถุงสุญญากาศจะมีค่ามากที่สุดในวันที่ 21

2.5 อุณหภูมิและระยะเวลาในการบ่มซาก

อุณหภูมิที่ใช้ในการบ่มซาก แบ่งออกเป็น 2 ระดับคือ cold temperature ageing หมายถึง การเก็บซากไว้ในห้องเย็น (cold room) ที่อุณหภูมิประมาณ 0-5 องศาเซลเซียส และ high temperature ageing หมายถึง การเก็บซากไว้ที่อุณหภูมิของห้องเก็บซาก (chilling room) ที่สูงกว่า 5 องศาเซลเซียส ซึ่งการเก็บรักษาซากไว้ที่อุณหภูมิสูง ก็จะใช้ระยะเวลาในการบ่มซากสั้นกว่าที่อุณหภูมิต่ำ แต่ทั้งนี้ก็ต้องระมัดระวังเรื่องการเน่าเสียของเนื้อเนื่องจากจุลินทรีย์ที่ไม่เป็นที่ต้องการ จะเข้าทำลายโปรตีนในเนื้อ (จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2540)

Pearson and Young (1989) กล่าวว่าโดยปกติจะทำการบ่มซากที่อุณหภูมิ 0-5 องศาเซลเซียส แต่บางกรณีจะทำการบ่มซากที่อุณหภูมิ 15-40 องศาเซลเซียส แม้ว่าการบ่มเนื้อที่อุณหภูมิสูง จะเป็นการกระตุ้นให้เอนไซม์ ที่ช่วยในการย่อยเส้นใยโปรตีนในกล้ามเนื้อทำงานได้ดีขึ้น แต่อาจเกิดปัญหาในการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ขึ้น ได้หากบ่มเนื้อไว้ที่อุณหภูมิดังกล่าว

Hwang *et al.* (2004) ได้ทำการศึกษาถึงอิทธิพลของอุณหภูมิในการบ่มเนื้อ ที่มีผลต่อคุณภาพเนื้อ โดยใช้เนื้อสันนอก (*m. longissimus*) ของโคพันธุ์ Hanwoo เพศผู้ตอน โดยบ่มเนื้อไว้ที่อุณหภูมิ 5, 15 และ 36 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า อุณหภูมิบ่มเนื้อที่สูงขึ้น ทำให้ค่าแรงตัดผ่านชิ้นเนื้อลดลง ($P < 0.05$) โดยเนื้อที่บ่มอุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส มีค่าแรงตัดผ่านชิ้นเนื้อเท่ากับ 4.12 กิโลกรัม ต่ำกว่าเนื้อที่บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 5 และ 15 องศาเซลเซียส ที่มีค่าแรงตัดผ่านชิ้นเนื้อเท่ากับ 9.12 และ 5.79 กิโลกรัม ตามลำดับ นอกจากนี้ ยังพบว่า เนื้อที่บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส จะมีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการปรุงสุก 24.6 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่าเนื้อที่บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 5 และ 15 องศาเซลเซียส ที่มีค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการปรุงสุกเท่ากับ 18.2 และ 17.7 เปอร์เซ็นต์ ($P < 0.05$)

ระยะเวลาที่ใช้ในการบ่มซากสัตว์ แต่ละชนิดจะไม่เท่ากัน เช่นในไก่จะใช้เวลาสั้นกว่าสุกร และในสุกรจะสั้นกว่าในโค การบ่มซากโคที่อุณหภูมิ 10-15 องศาเซลเซียส จะใช้เวลานานเพียง 2-3 วัน แต่ถ้าเก็บซากไว้ที่อุณหภูมิของห้องเย็น 1-2 องศาเซลเซียส จะใช้เวลานานถึง 8-14 วัน ในด้านความคุ้มทางเศรษฐกิจแล้ว ระยะเวลาที่เหมาะสมที่สุด หากใช้เวลากการบ่มซากแบบปกติธรรมดา ไม่ควรใช้เวลานานเกิน 9 วัน สำหรับซากสุกรการเก็บซากไว้ที่อุณหภูมิห้องเย็น 1-2 องศาเซลเซียส เพียง 1 วัน ก็เพียงพอแล้ว ทั้งนี้เพราะเนื้อสุกรส่วนใหญ่เป็นเนื้อที่มาจากสุกรขุนมีอายุไม่เกิน 7 เดือน ซึ่งเนื้อของสัตว์ที่อายุน้อย จะไม่เหนียวมาก ต่างกับเนื้อโคซึ่งได้มาจากโคขุนที่มีอายุ 2-3 ปี จำเป็นต้องใช้ระยะเวลาการบ่มซากให้นานขึ้น (จุฑารัตน์ เศรษฐกุล, 2539)

Acker and Cunningham (1991) กล่าวว่า การใช้ระยะเวลาในการบ่มซาก 7 วัน จะทำให้เนื้อมีความนุ่มเพิ่มขึ้นเป็นอย่างมาก แต่ถ้าใช้ระยะเวลาในการบ่มซากนาน 14 หรือ 21 วัน ความนุ่มจะเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย โดย Boehm *et al.* (1998) กล่าวว่า เป็นผลมาจากการลดลงของเอนไซม์ calpain ที่ทำหน้าที่ ย่อยโปรตีนในเนื้อระหว่างการบ่ม และพบว่าปริมาณเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยโปรตีนในเนื้อ m-calpain จะค่อยๆ ลดลงถึงประมาณ 63 เปอร์เซ็นต์ ในระหว่างการบ่มเนื้อ และ μ -calpain จะมีปริมาณลดลง 20 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 24 ชั่วโมงและหลังจากนั้นอีก 7 วัน จะมีปริมาณเหลืออยู่ไม่เกิน 4 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณตั้งต้น ในขณะที่เอนไซม์ calpastatin ที่ทำหน้าที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ calpain จะมีปริมาณลดลงอย่างรวดเร็วประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 24 ชั่วโมง หลังฆ่าและจะลดลงอีก 30 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังการฆ่า 7 วัน Shanckelford *et al.* (1997) ทำการศึกษา ถึงความนุ่มความเหนียว กล้ามเนื้อสันนอกของโคขุนลูกผสมอินเดียระดับ 62.5 เปอร์เซ็นต์ พบว่า เนื้อที่บ่มเป็นระยะเวลา 1 และ 2 วัน มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อ มากกว่าเนื้อที่บ่มเป็นเวลา 14 วัน นอกจากนี้ Jirajaroenrat *et al.* (2007) ทำการศึกษาค่าแรงตัดผ่านกล้ามเนื้อสันนอกของโคพันธุ์กำแพงแสน โดยบ่มเนื้อในอุ้งสุญญากาศที่อุณหภูมิ 2-4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1, 5, 7, 14 และ 21 วัน พบว่าเมื่อระยะเวลาการบ่มเนื้อเพิ่มขึ้นค่าแรงตัดผ่านเนื้อก็มีค่าลดลง โดยมีค่าเท่ากับ 7.39, 5.99, 4.99, 4.45 และ 3.82 ตามลำดับ ดังนั้นจะเห็นได้ว่าระยะเวลาที่บ่มเนื้อนานขึ้น

เอกลา... ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะทำให้เนื้อมีความนุ่มเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามจากการศึกษาของ Pitasombut *et al.* (2007) พบว่าระยะเวลาในการบ่มเนื้อนานขึ้น มีผลทำให้เชื้อจุลินทรีย์สามารถเจริญได้มากขึ้น โดยเนื้อที่บ่มในอุณหภูมิอากาศเกือบเน่าเสียเมื่อบ่มไวนาน 14 วัน (จำนวนจุลินทรีย์รวม 6.33 log cfu/g) และพบว่าเนื้อมีกลิ่นเน่าเสียเมื่อบ่มไวนาน 30 วัน (จำนวนจุลินทรีย์รวม 7.08 log cfu/g) โดยใช้กล้ามเนื้อสันนอกจากโคพันธุ์พื้นเมืองไทยในการทดลอง

จากการศึกษาของ วิจิต พรหมอินทร์ (2549) ถึงอิทธิพลของระยะเวลาการบ่ม ต่อคุณภาพเนื้อของโคเนื้อลูกผสมเลือดยุโรป ภายใต้ระบบการผลิตของสหกรณ์โคเนื้อกำแพงแสน (KU-beef) โดยใช้กล้ามเนื้อสันนอกส่วนหน้าระหว่างซี่โครงคู่ที่ 6-12 จำนวน 30 ตัวอย่าง โดยบ่มเนื้อในอุณหภูมิ 2-4 องศาเซลเซียส แบ่งระยะการบ่มเนื้อออกเป็น 5 ระยะคือ 1, 5, 7, 14 และ 20 วัน เมื่อครบระยะเวลาการบ่มเนื้อนำชิ้นเนื้อมาศึกษาทางด้านคุณภาพเนื้อ จากการศึกษาพบว่าระยะเวลาการบ่มมีผลต่อคุณภาพเนื้อของเนื้อโคขุน (ตารางที่ 2.2) ได้แก่ สีเนื้อเฉพาะค่า b^* (yellowness) เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา และค่าแรงตัดผ่านชิ้นเนื้อ โดยพบว่าเมื่อเนื้อที่บ่มนาน 14 วัน และ 20 วัน มีค่า b^* เท่ากับ 7.76 และ 7.94 สูงกว่า (สีของไขมันในเนื้อ ออกขาวนวลมากขึ้น มีผลต่อการหีนของไขมันในเนื้อ สูงขึ้นด้วย) เนื้อที่บ่มนาน 1 วัน และ 5 วัน เท่ากับ 5.01 และ 6.45 ($P \leq 0.05$) แต่ไม่แตกต่างกับเนื้อที่บ่ม 7 วัน ที่มีค่าสีเนื้อ 7.31 เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา (drip loss) เพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการบ่มเพิ่มขึ้น คือเนื้อที่บ่มนาน 20 วัน มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา 2.90 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่าเนื้อที่บ่มนาน 1, 5 และ 7 วัน เท่ากับ 1.61, 1.78 และ 2.18 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ($P \leq 0.05$) แต่ไม่แตกต่างกับชิ้นเนื้อที่บ่ม 14 วัน นอกจากนี้ยังพบว่าค่าแรงตัดผ่านชิ้นเนื้อลดลงเมื่อระยะเวลาการบ่มเพิ่มขึ้น คือ เนื้อที่บ่มนาน 20 วัน มีค่าแรงตัดผ่านชิ้นเนื้อ (3.82 กิโลกรัม) น้อยกว่าเนื้อที่บ่มนาน 1, 5, 7 และ 14 วัน โดยมีค่าเท่ากับ 7.39, 5.99, 4.99 และ 4.46 กิโลกรัม ตามลำดับ ($P \leq 0.05$) จากการศึกษาครั้งนี้ ต้องใช้ระยะเวลาในการบ่มเนื้อนานถึง 20 วัน เนื้อถึงจะนุ่มเป็นที่ยอมรับได้ของผู้บริโภค เนื่องจากเนื้อโคทดลอง มีปริมาณไขมันแทรกต่ำ จึงต้องใช้ระยะเวลาในการบ่มเนื้อนานขึ้น จากการศึกษาของ Morgan *et al.* (1991) กล่าวว่า ความนุ่มของเนื้อที่ผู้บริโภคยอมรับได้ มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อน้อยกว่า 3.9 กิโลกรัม

ฉันทวัฒน์ อาชวาคม (2552) ศึกษาการสลายตัวของโปรตีน troponin-T (Tn-T) และความนุ่มของเนื้อโคกำแพงแสนและเนื้อโคพื้นเมือง ที่ระยะเวลาการบ่มต่างกัน โดยใช้กล้ามเนื้อสันนอก (*Longissimus dorsi*) บริเวณซี่โครงคู่ที่ 6-12 จากซากซีกซ้าย ภายหลังจากเก็บเนื้อในห้องเย็นอุณหภูมิประมาณ 0-4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำก้อนเนื้อสันนอกมาตัดแบ่ง ให้ได้รูปแบบชิ้นเนื้อสเต็กหนา 2.5 เซนติเมตร 5 ชิ้น บรรจุในถุงสุญญากาศ เก็บที่ห้องเย็นอุณหภูมิประมาณ 0-4 องศาเซลเซียส เนื้อแต่ละชิ้นจะถูกนำมาตรวจวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (WBSF) และวิเคราะห์ปริมาณของโปรตีน Tn-T โดยเทคนิค western blot ที่ระยะเวลาการบ่มเนื้อ 1, 7, 14, 21

และ 30 วัน ภายหลังจากสัตว์ตาย พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของ โปรตีน Tn-T ในเนื้อ โคทั้ง 2 ชนิด ที่ระยะเวลาบ่ม 1, 7, 14, 21 และ 30 วัน โดยโปรตีน Tn-T 39 kDa และ 37 kDa มีการสลายตัวตามระยะเวลาการบ่มที่เพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้เนื้อมีความนุ่มเพิ่มขึ้นด้วย ทำให้มีการเพิ่มขึ้นของ โปรตีน Tn-T 30 และ 28 kDa เกิดขึ้น ตลอดช่วงระยะเวลาการบ่มเนื้อ ในขณะที่โปรตีน Tn-T 26 kDa จะพบเฉพาะในเนื้อ โคพื้นเมือง จำนวน 5 ตัวอย่างทดสอบในวันที่ 30 ของการบ่ม นอกจากนี้พบอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดของเนื้อ โคและระยะเวลาการบ่มเนื้อ ต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ โดยเนื้อโค กำแพงแสนและเนื้อโคพื้นเมืองที่ระยะเวลาบ่ม 1 วัน มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) เท่ากับ 10.81 และ 15.31 กิโลกรัม ตามลำดับ และที่ระยะเวลาบ่ม 30 วัน มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) เท่า 4.91 และ 7.49 กิโลกรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 2.3)

ตารางที่ 2.2 อิทธิพลของระยะเวลาการบ่มต่อคุณภาพเนื้อ โคขุน (n=30)

ลักษณะที่ศึกษา	ระยะเวลาการบ่ม (ageing time)					p-value
	1 วัน	5 วัน	7 วัน	14 วัน	20 วัน	
อุณหภูมิใจกลางชิ้นเนื้อ (°C)	7.96	7.61	7.50	7.34	7.16	0.9005
ความเป็นกรด-ด่าง สีเนื้อ	5.64	5.72	5.70	5.70	5.70	0.1294
L* (lightness)	38.08	38.58	38.71	40.56	40.02	0.1768
a* (redness)	16.99	17.01	18.48	17.67	18.80	0.1482
b* (yellowness)	5.01 ⁿ	6.45 ^u	7.31 ^{uk}	7.76 ⁿ	7.94 ⁿ	0.0001
เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก ระหว่าง การเก็บรักษา (drip loss)	1.16 ⁿ	1.78 ^{nu}	2.18 ^u	2.31 ^{uk}	2.90 ⁿ	0.0001
เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก ระหว่างการปรุงสุก (cooking loss)	29.49	33.00	30.84	29.80	30.77	0.0993
ค่าแรงตัดผ่านชิ้นเนื้อ (กิโลกรัม)	7.39 ^u	5.99 ^u	4.99 ⁿ	4.46 ^u	3.82 ⁿ	0.0001

^{กขคกง} ตัวอักษรต่างกันในแนวนอนแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq 0.05$)

ที่มา : วิจิต พรหมอินทร์ (2549)

ตารางที่ 2.3 อิทธิพลร่วมระหว่างชนิดของเนื้อโค และระยะเวลาการบ่มต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (กก.)

ปัจจัยที่ศึกษา		ค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (LSM±SE)	P-value		
ชนิดเนื้อโค	ระยะเวลาบ่ม (วัน)				
		1	10.81±0.176 ^c	0.0001	
		7	9.26±0.176 ^d	0.0001	
	กำแพงแสน		14	8.01±0.176 ^e	0.0001
			21	6.49±0.176 ^b	0.0001
			30	4.91±0.176 ^h	0.0001
พื้นเมือง			1	15.31±0.178 ^a	0.0001
		7	11.59±0.192 ^b	0.0001	
		14	8.97±0.196 ^d	0.0001	
		21	8.31±0.214 ^e	0.0001	
		30	7.49±0.197 ^f	0.0001	

^{a-h} อักษรที่แตกต่างกันในแต่ละปัจจัยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01)

ที่มา : ฉันทวัฒน์ อาชวาคม (2552)

2.6 จุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์

จุลินทรีย์เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก ที่มองไม่เห็นด้วยตาเปล่า ต้องอาศัยกล้องจุลทรรศน์ช่วยขยายให้เห็นรูปร่าง จุลินทรีย์จำแนกออกได้ 6 ชนิด คือ แบคทีเรีย ยีสต์ รา โปรโตซัว สาหร่าย และไวรัศ อาหารที่เรบริโภค ยากที่จะหลีกเลี่ยงจากจุลินทรีย์ แม้กระทั่งในร่างกายนมนุษย์และสัตว์ ก็ยังมีจุลินทรีย์อาศัยอยู่ในระบบทางเดินอาหาร โดยมีทั้งชนิดที่เป็นประโยชน์และเป็นโทษ สำหรับจุลินทรีย์แปลกปลอมที่ปนเปื้อนเข้ามาในอาหาร ถือว่าเป็นสิ่งที่ไม่พึงปรารถนา ตามปกติร่างกายของมนุษย์มีกลไกตามธรรมชาติ ที่จะทำลายหรือกำจัดจุลินทรีย์แปลกปลอมออกไป ถ้ากำจัดได้สำเร็จจุลินทรีย์เหล่านี้ ก็ไม่สามารถก่อโรคขึ้นมาได้ แต่ในกรณีที่ร่างกายอ่อนแอ หรือจุลินทรีย์แปลกปลอมมีจำนวนมาก เกินขีดความสามารถของร่างกายที่จะเอาชนะได้ ส่งผลทำให้จุลินทรีย์สามารถเข้าก่อกระบวนการทำงานของร่างกาย และก่อความผิดปกติขึ้น ทำให้เกิดอาการป่วย หรือเป็นโรค โรคที่เกิดจากการบริโภคนอาหารเรียกว่า “โรคอาหารเป็นพิษ” ซึ่งพบว่าร้อยละ 70 ของโรคนี้เกิดจากจุลินทรีย์ โดยเฉพาะเกิดจากแบคทีเรียเป็นสาเหตุสำคัญ (สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2549)

จากการสำรวจของ คมแห พิลาสมบัติ และคณะ (2551) ของการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์บนเนื้อโค ในเขตกรุงเทพมหานคร ทำการสุ่มตัวอย่างเนื้อสันนอกโคในดอนเขามืดจากตลาดสด 41 แห่ง พบว่าร้อยละ 92.68 ของตัวอย่างเนื้อโค มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเกินมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารที่กำหนดไว้ ไม่ว่าจะเป็นทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารแห่งชาติ ซึ่งผลดังกล่าวมีสาเหตุมาจากการฆ่าโคในโรงฆ่าที่ไม่ได้มาตรฐาน มีสุขลักษณะในการขนส่ง และจำหน่ายไม่ได้มาตรฐาน จากข้อมูลนี้แสดงให้เห็นปัญหาการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อคุณภาพเนื้อและสุขภาพผู้บริโภคได้

Rao *et al.* (1998) กล่าวว่า เนื้อสัตว์เป็นอาหารที่ประกอบด้วยสารอาหารสำคัญหลายชนิด ที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง และมีองค์ประกอบที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ จึงทำให้พบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์บนเนื้อสัตว์เป็นปัญหาที่สำคัญ โดย Gormley (2000) กล่าวว่าจุลินทรีย์ที่มักพบการปนเปื้อนบนเนื้อสัตว์ได้แก่ จุลินทรีย์ก่อโรค และจุลินทรีย์ที่ทำให้เนื้อสัตว์เน่าเสีย ดังนั้นการปนเปื้อนจุลินทรีย์บนเนื้อสัตว์จึงเป็นสิ่งที่ไม่พึงประสงค์ อาจทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษและโรคอื่นๆ กับมนุษย์ได้ นอกจากนี้ Podolak *et al.* (1996) รายงานว่า เชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนบนเนื้อสัตว์ เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เนื้อสัตว์เน่าเสีย คุณภาพของเนื้อต่ำลง ทำให้สูญเสียทางด้านเศรษฐกิจ ซึ่งจุลินทรีย์หลายชนิดมักอยู่ภายในระบบทางเดินอาหารสัตว์ รวมถึงอาจพบได้ที่ผิวหนังของสัตว์ด้วย ด้วยเหตุนี้ สุมณฑา วัฒนสินธุ์ (2549) กล่าวว่า กระทรวงเกษตรแห่งสหรัฐอเมริกา (USDA) จึงได้ออกกฎหมายให้กิจการผลิตอาหารประเภทเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ ต้องทำการผลิตด้วยระบบ HACCP ต้องทำการตรวจเชื้อ *E. coli* Type I เป็นประจำต้องจัดทำคู่มือว่าด้วยการปฏิบัติด้านการสุขาภิบาลตามมาตรฐานของโรงงาน (Sanitation Standard Operating Procedures-SSOPs) ระบบนี้ถูกนำมาใช้ในมาตรฐานการค้าอาหารระหว่างประเทศ (Codex General Principles of Food Hygiene) ด้วย

2.7 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์

1. ชนิดของจุลินทรีย์ ที่ปนเปื้อนมากับเนื้อ ตัวอย่างเช่น เนื้อที่เก็บแบบแช่เย็น (chilling) จะมีการเสียเร็วขึ้นถ้าหากมีแบคทีเรีย เช่น *Pseudomonas* หรือ *Achromobacter* ปนเปื้อน

2. คุณสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ของเนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อ เนื้อจะเป็นผลิตภัณฑ์อาหารที่ดีของจุลินทรีย์ เนื่องจากมีคุณค่าทางอาหารต่างๆ ครบถ้วน ความชื้นในอาหารจะเป็นตัวกำหนด ชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ด้วย เช่น ปริมาณผิวด้านนอกชั้นเนื้อค่อนข้างแห้ง อาจพบเชื้อราเติบโต ส่วนเนื้อที่อยู่ลึกเข้าไปภายในชั้นเนื้อ จะมีความชื้นมากขึ้น จึงพบแบคทีเรียเติบโต ดังนั้น การควบคุมความชื้นในห้องที่เก็บเนื้อ จึงมีความสำคัญมาก ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของเนื้อสด จะแตกต่างกันตั้งแต่ 5.7-7.2 ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปริมาณของไกลโคเจนที่มีอยู่ โดยแบคทีเรียจะสามารถเจริญเติบโตได้ดีในเนื้อ ที่มีช่วงค่าความเป็นกรด-ด่างเป็นกลาง

3. ปริมาณออกซิเจน จุลินทรีย์ประเภทยีสต์ เชื้อรา และแบคทีเรียที่ต้องการอากาศ ในการดำรงชีวิต จะสามารถเติบโตได้ดีในเนื้อสัตว์บริเวณพื้นผิวด้านนอก และหากพื้นที่ผิวเพิ่มขึ้นจะพบ

จุลินทรีย์บริเวณนั้นเพิ่มขึ้นด้วย ตัวอย่างเช่น บริเวณพื้นผิวของเนือบจะพบจุลินทรีย์ในปริมาณสูงกว่าบริเวณพื้นผิวของชั้นเนื้อทั้งก้อน

4. อุณหภูมิ อุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บเนื้อ ไม่ควรจะเป็นอุณหภูมิที่สูงกว่าจุดเยือกแข็ง มากนัก เพราะจะทำให้จุลินทรีย์ที่เติบโตได้ดีในอุณหภูมิต่ำเติบโตได้ โดยปกติแล้ว อุณหภูมิมีส่วนสำคัญในการกำหนดชนิดของจุลินทรีย์ที่พบในเนื้อ เช่น การเก็บเนื้อไว้ที่อุณหภูมิใช้สำหรับการแช่เย็น เนื้อสัตว์ จุลินทรีย์พวกไซโครไฟล์ จะเติบโตได้ดี จึงทำให้เกิดการเสียแบบเน่าเหม็น (putrefaction) ได้ ส่วนการเก็บเนื้อในที่อุณหภูมิห้องนั้น จะพบเชื้อมีโซไฟล์ ซึ่งสามารถสร้างแก๊สได้ เช่น เชื้อโคลิฟอร์ม *Bacillus* และ *Clostridium* เป็นต้น (บุษกร อุตริชาติ, 2552)

2.8 การนำเสียของเนื้อสัตว์

เนื้อสัตว์จะเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงตั้งแต่ขั้นตอนแรกของการฆ่าสัตว์ การเปลี่ยนแปลงนี้อาจมีสาเหตุมาจากสารย่อยของเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อเอง หรืออาจมาจากปฏิกิริยาอันเนื่องมาจาก สารย่อยของจุลินทรีย์ และแม้แต่การเกิด oxidation ของไขมันก็เป็นสาเหตุได้เช่นกัน ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นโดยสารย่อยในขบวนการ autolysis นั้นอาจรวมถึงการเกิด proteolysis ของกล้ามเนื้อและเนื้อเยื่อเกี่ยวพันด้วยก็ได้ ถ้าหากเกิด autolysis มากๆ แล้วก็อาจมีผลลัพท์ที่ทราบได้ง่าย คือ เนื้อเหม็นเปรี้ยวขึ้นมาได้ และการเหม็นเปรี้ยวนี้ก็อาจแยกออกจากการเหม็นเปรี้ยวเนื่องมาจากการเกิด autolysis ของจุลินทรีย์ได้ยาก

การนำเสียของเนื้อสัตว์นั้นเราอาจกล่าวได้โดยทั่วๆ ไปว่ามีขอบเขตอยู่ที่ว่า เนื้อขณะนั้นไม่เหมาะสมที่จะนำมาเป็นอาหารของมนุษย์ได้อีกต่อไปแล้ว และการนำเสียในที่นี้จึงมีความหมายลดลงไปอีกว่า เป็นเนื้อที่เกิดการ decomposition และ putrefaction อันมีจุลินทรีย์เป็นต้นเหตุ แต่อย่างไรก็ตาม การนำเสียนี้ อาจหมายรวมทั้งการนำเสีย ที่มีสาเหตุมาจากปัจจัยอื่นด้วยก็ได้ เช่น แมลง สารย่อยของเนื้อสัตว์เอง และปฏิกิริยา oxidative ดังได้กล่าวมาแล้วข้างต้น (ชัยณรงค์ คันรพินิต, 2529) โดยการเปลี่ยนแปลงในการนำเสียของเนื้อแบ่งออกได้เป็น 2 แบบ ได้แก่

2.8.1 การเปลี่ยนแปลงทางเคมี

การย่อยสลาย (degradation) ของโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และโมเลกุลอื่นๆ ในเนื้อสัตว์ไปเป็น โมเลกุลที่เล็กย่อย หรือส่วนประกอบอย่างย่อยลงไปในนั้น อาจเป็นผลมาจากปฏิกิริยาของสารย่อยที่มีอยู่ภายในเนื้อสัตว์เอง หรือจากสารย่อยที่ผลิตขึ้นมาโดยจุลินทรีย์ในเนื้อก็ได้ ในระยะแรกๆ ของการเปลี่ยนแปลงนี้อาจกล่าวได้ว่า สารย่อยภายในเนื้อสัตว์เองที่เป็นสาเหตุของการเกิด degradation แต่ในเวลาต่อมาเมื่อจำนวนจุลินทรีย์เหล่านี้มีมากขึ้น จึงทำให้มีกิจกรรมและสร้างสารย่อยออกมามากขึ้นตามไปด้วยและการเกิด degradation ต่อจากนี้ไป จึงมีสาเหตุมาจากจุลินทรีย์เป็นส่วนใหญ่ สารย่อยจากจุลินทรีย์เหล่านี้จะ ไฮโดรไลซ์โมเลกุลขนาดใหญ่ และมีโครงสร้างที่

ยุ่งยากของเนื้อสัตว์ไปเป็นโมเลกุลย่อยๆ และมีโครงสร้างแบบง่ายธรรมดา ซึ่งต่อมาก็จะกลายเป็นแหล่งโภชนาของจุลินทรีย์ต่อไป ทำให้จุลินทรีย์มีการเจริญเติบโต และเพิ่มกิจกรรมมากขึ้นไปเรื่อยๆ ได้ และถ้าหากสภาวะแวดล้อมมีออกซิเจนพอเพียงแล้ว สิ่งผลิตสุดท้ายของจุลินทรีย์ที่ได้ก็จะเป็นพวกเปปไทด์และกรดอะมิโน แต่ถ้าหากสภาวะแวดล้อมไม่มีออกซิเจนแล้ว โปรตีนก็จะถูก degrade ไปเป็นสารประกอบจำพวกกำมะถันหลากหลายชนิด ซึ่งสารประกอบเหล่านี้มีกลิ่นเหม็นรุนแรงของเนื้อเน่าเสีย ส่วนผลผลิตสุดท้ายของสารที่เป็น nonprotein ในโครงเจนนั่น ส่วนมากจะได้เป็นแอมโมเนียออกมา

สารย่อยที่จุลินทรีย์ผลิตออกมาส่วนใหญ่จะเป็นพวกไลเปส (lipases) ซึ่งสามารถไฮโดรไลซ์พวกไขมัน และฟอสโฟลิปิดส์ไปเป็นกลีเซอรอล และกรดไขมัน หรือในกรณีของฟอสโฟลิปิดส์ก็ได้ nitrogenous bases และฟอสฟอรัส การย่อยดังกล่าวเรียกว่าไลโปลิซิส (lypolysis) นี้ ถ้าเกิดขึ้นมากๆ ก็จะช่วยให้การเกิดออกซิเดชันของไขมันเป็นไปในอัตราเร็วขึ้นตามไปด้วย ดังนั้นจึงทำให้เหม็นหืนได้

ในเนื้อสัตว์มีคาร์โบไฮเดรตในระดับต่ำมาก และเป็นที่น่าทึ่งกันว่า ตามปกติจุลินทรีย์จะใช้คาร์โบไฮเดรตเพื่อเป็นแหล่งอาหารพลังงานมากกว่าอย่างอื่น ดังนั้นถ้ามีคาร์โบไฮเดรตในเนื้อก็จะถูกใช้หมดไปอย่างรวดเร็ว และผลผลิตสุดท้ายที่ติดตามมาจากการนี้ ก็จะเป็นพวกแอลกอฮอล์และกรดอินทรีย์ต่างๆ ซึ่งในไส้กรอกหรือผลิตภัณฑ์บางชนิด เช่น แหนม จุลินทรีย์จะหมักบูดน้ำตาล หรือแหล่งคาร์โบไฮเดรตอื่นๆ ที่เติมเข้าไป แล้วจึงผลิตกรดอินทรีย์ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นกรดแลกติกออกมาจึงทำให้ผลิตภัณฑ์นั้นมีรสเปรี้ยว (ชัยณรงค์ คันธพนิต. 2529)

2.8.2 การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ

การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพที่เกิดขึ้นเนื่องมาจากมีจุลินทรีย์เป็นสาเหตุนั้น ตามปกติแล้วจะมองเห็นได้ง่ายและปรากฏชัดเจนกว่าการเปลี่ยนแปลงทางเคมี การเปลี่ยนแปลงในที่นี้ ได้แก่ รูปร่าง สี กลิ่น รส และความนุ่มเหนียว เนื้อที่เน่าเสียนั้นส่วนมากจะถูกแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ การเน่าเสียของเนื้อสัตว์ภายใต้สภาวะที่มีอากาศ และการเน่าเสียของเนื้อสัตว์ภายใต้สภาวะที่ไม่มีอากาศ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมขณะนั้น และกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีเป็นส่วนใหญ่ ในขณะนั้นว่าจะ เป็นแบคทีเรีย รา หรือยีสต์ (ชัยณรงค์ คันธพนิต. 2529)

2.8.2.1 การเน่าเสียของเนื้อสัตว์ในสภาวะที่มีอากาศ

1. การเสียของเนื้อสัตว์ในสภาวะที่มีอากาศโดยแบคทีเรีย แบคทีเรียที่มักพบเป็นประจำ ในเนื้อที่เน่าเสียในสภาพที่มีอากาศ ได้แก่ *Pseudomonas*, *Moraxella* และ *Acinetobacter* เชื้อ *Pseudomonas* มีความสำคัญในการทำให้เนื้อแช่เย็นเน่าเสีย เนื่องจากแบคทีเรียชนิดนี้สามารถเจริญเติบโตได้ดี ในที่อุณหภูมิต่ำและค่า pH ของเนื้อสูง ส่วนเชื้อ *Moraxella* และ *Acinetobacter* ส่วนใหญ่ถูกยับยั้งการเจริญเติบโตในที่ที่มี pH ต่ำ และไม่สามารถเติบโตได้มากเท่ากับเชื้อ

Pseudomonas ในที่มีอุณหภูมิต่ำ ดังนั้น จะสามารถพบแบคทีเรียกลุ่มนี้ในเนื้อสัตว์ที่มี pH สูง ซึ่งเก็บที่อุณหภูมิห้อง นอกจากนี้ ในเนื้ออาจพบแบคทีเรียในวงศ์ *Enterobacteriaceae* และแบคทีเรียแกรมบวก *Brochothrix thermosphacta* ลักษณะการเน่าเสียของเนื้อสัตว์ในสภาวะที่มีอากาศมีดังนี้

- การเกิดเมือกบริเวณผิวหน้า (surface slime) การเสียแบบนี้ มักพบในเนื้อสัตว์แช่เย็นในที่มีความชื้นสูง เกิดจากแบคทีเรียพวก *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Lactobacillus* ส่วนการเสียของเนื้อสัตว์ที่แช่เย็นในที่มีความชื้นต่ำ จะพบเชื้อ *Micrococcus* และยีสต์เดิบโตมาก หากเนื้อสัตว์มีความชื้นต่ำมาก จะพบการเน่าเสียโดยเชื้อรา สำหรับเนื้อสัตว์ที่เก็บที่อุณหภูมิห้องจะพบเชื้อในกลุ่มมิโซฟายล์ เป็นจำนวนมาก

- การเปลี่ยนสีเนื้อ เนื้อสัตว์จะมีการเปลี่ยนสีจากสีแดงเป็นสีเขียวหรือน้ำตาลหรือเปลี่ยนเป็นสีเทาได้ โดยเชื้อ *Lactobacillus* และ *Leuconostoc* ซึ่งเชื่อดังกล่าวนี้สามารถผลิตไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ รวมทั้งไฮโดรเจนซัลไฟด์ ออกมา

- เนื้อเกิดการเรืองแสง (phosphorescence) เกิดจากเชื้อ *Photobacterium* เดิบโตบริเวณผิวหนัง และทำให้เกิดการเรืองแสง การเสียของเนื้อแบบนี้ จะเสียได้น้อยกว่าการเสียของเนื้อแบบอื่นๆ

- มีกลิ่นผิดปกติ มักเกิดจากการออกซิไดส์ไขมัน จากการผลิตสารในกลุ่มอัลดีไฮด์และกรดต่างๆ ที่ทำให้เกิดกลิ่นเหม็นหืน โดยเชื้อ *Achromobacter* และ *Pseudomonas*

Lactobacillus และ *Brochothrix thermosphacta* เป็นเชื้อที่สามารถผลิตกรดไขมันสายสั้นๆ (short-chain fatty acid) ซึ่งเป็นดัชนีบ่งชี้ว่ามีการเสียของเนื้อ ได้แก่ สารแอเซโทอิน (acetoin) และสาร ไดแอเซทิล (diacetyl) ซึ่งจะทำให้เนื้อที่เสียแล้วมีกลิ่นเหม็นนำผลจากการแยกเชื้อ *B. thermosphacta* จากเนื้อเน่า โดยการเพาะเลี้ยงเชื้อบนอาหารที่มีกลูโคส หรือน้ำตาลอื่นๆ ที่ย่อยง่าย โดยปรับ pH ของอาหารเพาะเชื้อให้เป็นกลางพบว่า เชื้อนี้จะผลิตสาร ไอโซบิวทริก (isobutyric) และ ไอโซวาเลอริก (isovaleric) ออกมา แต่ถ้าอาหารมี pH ต่ำ และมีกลูโคสมาก เชื้อจะผลิตสารแอเซโทอิน สาร 2, 3-บิวเทน ไดออล (2, 3-butanediol) สาร 3-เมทิลบิวทานอล (3-methylbutanol) และสาร 3-เมทิลโพรพานอล (3-methylpropanol) ออกมา

- มีจุดสีบนผิวหนัง เกิดจากแบคทีเรียชนิดที่มีสารสีต่างๆ เดิบโตบนเนื้อเช่น เชื้อ *Serratia marcescens* ทำให้เกิดจุดสีแดง *Pseudomonas synchyanae* ทำให้เกิดจุดสีฟ้า *Chromobacterium lividum* ทำให้เกิดจุดสีน้ำเงินแกมเขียว *Micrococcus* sp. และ *Flavobacterium* sp. ทำให้เกิดจุดสีเหลือง การเกิดกลิ่นหรือรสที่ไม่ดีมีกลิ่นตุๆ (taints) คือเนื้อหรือผลิตภัณฑ์เนื้อที่มีกลิ่นและรสไม่ดีที่เกิดขึ้น เนื่องจากมีแบคทีเรียเดิบโตที่ผิวหนังและมักจะเกิดขึ้นก่อนที่จะมีรสเปรี้ยวเกิดขึ้น (souring) เนื่องจากแบคทีเรียเดิบโตบนเนื้อ และสร้างกรดต่างๆ ออกมา เช่น กรดฟอร์มิก (formic acid) กรดอะซิติก (acetic acid) กรดบิวทริก (butyric acid) และกรดโพรพิโอนิก

(propionic acid) เป็นต้น สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การเสียของเนื้อสัตว์ในสภาวะที่มีอากาศโดยยีสต์ อาจเติบโตที่ผิวหนังของเนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อ ทำให้เกิดเมือก (sliminess) การย่อยไขมัน (lipolysis) ทำให้เกิดกลิ่นและรสไม่ดีและทำให้สีของเนื้อและผลิตภัณฑ์เปลี่ยนเป็นสีขาว

3. การเสียของเนื้อสัตว์ในสภาวะที่มีอากาศโดยเชื้อรา เมื่อเชื้อราเติบโตบนเนื้อสัตว์ในสภาวะที่มีอากาศทำให้เกิดการเน่าเสียดังนี้

- การเกิดเมือกบริเวณผิว (stickiness) การเติบโตของเชื้อราที่ผิวหนังของเนื้อและผลิตภัณฑ์ทำให้เกิดเมือกเหนียว ซึ่งถ้าเอามือสัมผัสเนื้อ หรือผลิตภัณฑ์จะรู้สึกเหนียวมือ

- มีเชื้อราสีขาวบนผิวหนังเนื้อ (whisker) มักพบการเสียแบบนี้ ในเนื้อซึ่งเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำ โดยเส้นใยราเติบโตไม่ดีนัก และไม่พบการสร้างสปอร์ จึงเห็นแต่เพียงเส้นใยฟูสีขาวบนผิวของเนื้อ เรียกการเน่าเสียแบบนี้ว่าวิสเกอร์ (whisker) เชื้อที่ทำให้เกิดการเสียแบบนี้ เช่น *Thamnidium chaetocladioides*, *T. elegans*, *Mucor mucedo*, *M. lusitanicus*, *M. racemosus* และ *Rhizopus* เป็นต้น

- มีจุดสีดำ (black spot) บนเนื้อ การเสียแบบนี้เกิดจาก *Cladosporium herbarum* ซึ่งเป็นเชื้อราที่สร้างสารสีดำในเนื้อสัตว์

- มีจุดสีขาว (white spot) บนเนื้อ เชื้อราที่ทำให้เกิดจุดสีขาว ส่วนใหญ่จะเป็นพวก *Sporotrichum carnis* นอกจากนี้อาจเกิดจากเชื้อ *Geotrichum*

- การเกิดแผ่นสีเขียวบนเนื้อสัตว์ (green patch) ส่วนใหญ่เกิดจากสปอร์สีเขียวของเชื้อ *Penicillium* เช่น *P. expansum*, *P. asperum* และ *P. oxalicum*

- มีการสลายตัวของไขมัน เชื้อราหลายชนิดสามารถสร้างเอนไซม์ลิเพสได้ ทำให้ไขมันถูกย่อยสลายและมีกรดไขมันเกิดขึ้น ทำให้เนื้อมีกลิ่นไม่ดี

การเสียของเนื้อแบบมีจุดสีเกิดขึ้น โดยเชื้อราและยีสต์ มักจะเกิดขึ้นเฉพาะแห่งเท่านั้น และมีการแพร่กระจายช้ามาก จึงสามารถตัดแต่งเนื้อส่วนที่เสียออกไปได้ ส่วนการเสียที่เกิดจากแบคทีเรีย ส่วนใหญ่มักมีการแพร่กระจายอย่างรวดเร็ว ทำให้ไม่สามารถตัดแต่งชิ้นเนื้อ จึงต้องทิ้งเนื้อนั้นทิ้งสิ้น โดยไม่สามารถนำไปใช้เป็นอาหารได้อีก (บุษกร อุดรภิชาติ. 2552)

2.8.2.2 การเน่าเสียของเนื้อสัตว์ในสภาวะที่ไม่มีอากาศ

แบคทีเรียมีบทบาทสำคัญ ในการทำให้เกิดการเน่าเสีย ในสภาวะที่ไม่มีอากาศ มักเป็นเชื้อที่เจริญเติบโตได้ ทั้งที่มีและไม่มีอากาศ (facultative anaerobe) รวมทั้งอาจเกิดจากแบคทีเรียชนิดที่ไม่ต้องการอากาศ หรือออกซิเจนในการเจริญเติบโต (anaerobe) แบคทีเรียเหล่านี้จะเจริญเติบโตภายในชิ้นเนื้อ จนทำให้เนื้อเกิดการเน่าเสียได้ หลายลักษณะดังนี้ (บุษกร อุดรภิชาติ. 2552)

1. การมีรสเปรี้ยว (souring) เป็นการเสียของเนื้อสัตว์ ที่เกิดจากแบคทีเรียใช้

เอ็กซอสาร์สารอาหารในเนื้อแล้วผลิตภัณฑ์ต่างๆ ออกมา เช่น กรดฟอร์มิก กรดอะซิติก กรดบิวทิริก กรดโพร- ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พิโอนิก กรดไขมัน กรดแลกติก และกรดซัคซินิก (succinic acid) เป็นต้น กรดดังกล่าวนี้เกิดจากปฏิกิริยาของเอนไซม์ในเนื้อสัตว์ระหว่างการบ่มเนื้อ หรือเกิดจากกรดไขมัน หรือกรดแลกติกที่ผลิตโดยแบคทีเรีย หรือเกิดจากการย่อยสลายของโปรตีน ซึ่งเกิดจากแบคทีเรียกลุ่ม แฟกคัลเททีฟ แอนแอโรบ หรือ แบคทีเรียกลุ่มแอนแอโรบบางชนิด ดังนั้นในบางครั้งจึงเรียกว่าการเกิดกลิ่นเหม็นเปรี้ยว (stinking sour fermentation) นอกจากนี้ยังมีการสร้างกรดและแก๊ส โดยแบคทีเรียพวก *Clostridium* sp. และแบคทีเรียโคลิฟอร์ม โดยเนื้อสัตว์ซึ่งบรรจุแบบสุญญากาศ มักเสียในลักษณะนี้มาก

2. การเน่าเหม็น (putrefaction) เป็นการเน่าเสียที่ทำให้เนื้อสัตว์มีกลิ่นเหม็นเน่า ซึ่งเกิดจากการสลายตัวของโปรตีน ภายใต้สภาวะที่ไม่มีอากาศ ทำให้เกิดสารที่มีกลิ่นเหม็นหลายชนิด ได้แก่ แอมโมเนีย (ammonia), เอมีน (amine), ไฮโดรเจนซัลไฟด์ (hydrogen sulfide), อินโดล (indole), เมอร์แคปแทน (mercaptans) และสเคทอล (skatol)

แบคทีเรียที่มีบทบาททำให้เกิดการเน่าเสียในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนส่วนใหญ่ ได้แก่ เชื้อ *Clostridium* ในบางครั้งอาจพบเชื้อในกลุ่มที่มีความต้องการออกซิเจนเพียงเล็กน้อย สามารถเติบโตได้ในเนื้อสัตว์ เช่น แบคทีเรียแลกติก ได้แก่ เชื้อ *Pediococcus*, *Lactobacillus* เป็นต้น หรืออาจพบเชื้อในกลุ่ม facultative anaerobe ได้แก่ เชื้อ *Achromobacter* sp., *Proteus* sp. และ *Pseudomonas* sp. เป็นต้น

2.8.3 ผลผลิตสุดท้ายที่จุลินทรีย์สร้างขึ้นในการทำให้เนื้อสัตว์เน่าเสีย

เชื้อจุลินทรีย์จะทำให้เนื้อสัตว์เน่าเสียและทำให้เนื้อมีลักษณะที่ไม่พึงประสงค์ เช่น สี กลิ่น รสชาติของเนื้อเปลี่ยนแปลง เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์เหล่านั้นได้สร้างสารบางชนิดในระหว่างการเจริญเติบโตบนเนื้อสัตว์ สารอาหารที่เชื้อจุลินทรีย์สามารถนำไปใช้เพื่อการเจริญเติบโตและสารที่เป็นผลผลิตสุดท้ายที่เชื้อจุลินทรีย์สร้างขึ้น แสดงดังตารางที่ 2.4 กลิ่นและรสชาติที่ไม่พึงประสงค์ที่พบในเนื้อสัตว์ ได้แก่ กลิ่นซัลเฟอร์ และกลิ่นเนยแข็ง สารประกอบซัลเฟอร์ ทำให้เนื้อสัตว์มีกลิ่น และกลิ่นซัลเฟอร์ เช่น ไฮโดรเจนซัลไฟด์ ซึ่งสร้างโดยเชื้อ *Enterobacteriaceae* ส่วนไดเมทิลซัลไฟด์จะสร้างโดยเชื้อ *Pseudomonas* sp. กลิ่นเนยแข็งมีสาเหตุมาจากอะซิโทอิน/ไดอะซิทิล และ 3-เมทิลบิวทานอล ซึ่งสร้างจากเชื้อ *Enterobacteriaceae*, *Br. thermophacta* และ *Lactobacillus* sp. เชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เนื้อสัตว์เน่าเสียสามารถสร้างสารประกอบไฮโดรเจนซัลไฟด์ ทำให้สีของเนื้อเปลี่ยนเป็นสีเขียว โดยไฮโดรเจนซัลไฟด์เป็นผลผลิตที่ได้จากการที่จุลินทรีย์ย่อยสลายกรดอะมิโน เชื้อ *Clostridium* sp. สามารถสร้างก๊าซไฮโดรเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะบรรจุแบบสุญญากาศ แบคทีเรียกรดแลกติกสามารถสร้างก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในเนื้อที่บรรจุแบบสุญญากาศแต่ไม่มีผลต่อกลิ่นของเนื้อ (คมเชา พิศาลสมบัติ. 2550)

ตารางที่ 2.4 แสดงสารอาหารที่เชื้อจุลินทรีย์ใช้เพื่อการเจริญเติบโตและผลผลิตสุดท้ายที่เชื้อจุลินทรีย์สร้างขึ้นบนเนื้อสัตว์

แบคทีเรีย	สารอาหารที่ใช้ในการเจริญเติบโต		ผลผลิตสุดท้ายที่เชื้อสร้างขึ้น	
	ต้องการอากาศ	ไม่ต้องการอากาศ	ต้องการอากาศ	ไม่ต้องการอากาศ
<i>Pseudomonas</i>	Glucose, Amino acids, Lactic acid		Slime, Sulphides, Esters, Acids, Amine	
<i>Acinetobacter/</i>	Amino acids,		Ester, Nitriles,	
<i>Psychrobacter</i>	Lactic acid		Sulphides	
<i>Shewannella putrefaciens</i>	Glucose, Amino acids, Lactic acid	Glucose, Amino acid	Volatine Sulphides	H ₂ S
<i>Brochohtrix thermosphacia</i>	Glucose, Ribose	Glucose	Acetic acid, Acetoin, Isovaleric acid, Isobuteric acid	Lactic acid, Volatile fatty acids, Ethanol
<i>Enterobacter</i>	Glucose, Glucose-6-phosphate, Amino acids, Lactic acid	Glucose, Glucose-6-phosphate, Amino acids	Sulphides amines	Lactic acid, CO ₂ , H ₂ , H ₂ S, Amines
<i>Lactobacillus</i>		Glucose, Amino acids		Lactic acid, Volatile fatty acids
<i>Leuconostoc</i>		Glucose		Lactic acid, Volatile fatty acids, Butanoic acid
<i>Carnobacterium</i>		Glucose		Lactic acid, Diacetyl, Acetate
<i>Clostridium estertheticum</i>		Glucose, Amino acids		Ethanol, Esters, Butanoic acid, Volatile sulphure containing compound

ที่มา : คมแข พิลาสสมบัติ (2550)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.9 ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์และแหล่งการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อโค

ปกติภายในกล้ามเนื้อของเนื้อสด ที่ได้จากสัตว์ที่มีสุขภาพสมบูรณ์ไม่เป็นโรค จะไม่มีจุลินทรีย์ใดปนเปื้อน จุลินทรีย์ส่วนใหญ่ที่พบในเนื้อสัตว์ เกิดจากการปนเปื้อนจากภายนอกตัวสัตว์ ในระหว่างการฆ่า การถลกหนัง ซ้ำแหละ ล้าง เลาะกระดูก เคลื่อนย้ายและเก็บรักษา หากมีการควบคุมกรรมวิธี ในการฆ่า การถลกหนัง ซ้ำแหละ ล้าง เลาะกระดูก เคลื่อนย้ายและเก็บรักษาให้ดี การปนเปื้อนจุลินทรีย์จะลดลง (สุมนทนา วัฒนสินธุ์. 2549 ; บุษกร อุดรภิชาติ. 2552 ; บุญศรี จงเสรี จิตต์. 2552)

การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์บนเนื้อโค ในระหว่างขบวนการฆ่าและการตัดแต่ง นับว่าเป็นความเสี่ยงที่สำคัญต่อการติดเชื้อ โรคอาหารเป็นพิษในผู้บริโภค เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคที่มักพบปนเปื้อนในเนื้อโค ได้แก่ *Salmonella* sp., *Campylobacter* sp., *Listeria* sp., *E. coli*, *E. coli* O157:H7 โดยเชื้อ *E. coli* O157:H7, *Campylobacter* sp. และ *Salmonella* sp. มักอาศัยอยู่ในระบบทางเดินอาหารของโค และแพร่กระจายไปยังสภาพแวดล้อม โดยทางอุจจาระของสัตว์เอง นอกจากนี้เชื้อที่เป็นสาเหตุสำคัญทำให้เนื้อเน่าเสีย ที่มักพบในเนื้อโค ได้แก่ แบคทีเรียกรดแลกติก, *Pseudomonas* sp., *Acinetobacter* sp. และ *Moraxella* sp. ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าวสามารถปนเปื้อนในเนื้อโคได้ในระหว่างขบวนการผลิต (คมแข พิลาสสมบัติ. 2550)

จุฑารัตน์ เศรษฐกุล (2539) กล่าวว่าสาเหตุการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในกระบวนการฆ่าโค มีดังต่อไปนี้

1. การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์สามารถพบได้ตั้งแต่อยู่ในฟาร์มจากสภาพแวดล้อม เช่น แหล่งน้ำ อาหารสัตว์ ตัวสัตว์ที่ติดเชื้อมาก ซึ่งเชื้อ *Salmonella* ส่วนใหญ่จะปนเปื้อนมาในอาหารสัตว์ ถ้าสามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อดังกล่าวในอาหารสัตว์ลงได้ จะสามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อในเนื้อสัตว์ได้อย่างเห็นผลมาก แหล่งอาหารสัตว์ที่พบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์มากที่สุดคือ ปลาป่น เนื้อกระดูกป่น เลือดป่น เป็นต้น Huffman (2002) และยังพบว่าน้ำยังเป็นแหล่งการปนเปื้อนเชื้อ *E. coli* O157:H7 นอกจากนี้ Dontorou *et al.* (2004) ยังกล่าวว่าในฟาร์มสัตว์เคี้ยวเอื้อง มักพบการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* O157:H7 และเชื้อมากกว่าจากฟาร์มสัตว์ นับว่าเป็นแหล่งสำคัญในการแพร่กระจายไปยังมนุษย์ และยังพบการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษที่เกิดจากเชื้อ *E. coli* O157:H7 หลายครั้งในประเทศสหรัฐอเมริกาและอีกหลายประเทศทั่วโลก บุษกร อุดรภิชาติ (2552) รายงานว่า พบการปนเปื้อนของเชื้อ *Listeria* ในหญ้าแห้งที่ใช้เป็นอาหารโค และพบการปนเปื้อนเชื้อชนิดนี้ในน้ำนม และคมแข พิลาสสมบัติ (2550) รายงานว่า อาหารโคจำพวกหญ้าหมัก (silage) เป็นแหล่งการปนเปื้อนที่สำคัญของเชื้อ *Listeria* ไปสู่ผิวหนังโค และสภาพแวดล้อม

2. การเคลื่อนย้ายสัตว์จากฟาร์มไปยังโรงฆ่าสัตว์ เป็นการนำสัตว์จากหลายๆ แหล่งมาอยู่รวมกัน จะทำให้เกิดการแพร่กระจายของเชื้อโรคจากสัตว์ตัวหนึ่งไปยังอีกตัวหนึ่งได้ เช่น จากมูลสัตว์ที่ถูกขับถ่ายออกมา นอกจากนี้ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (carbon dioxide) และแอมโมเนีย (ammonia) ที่เกิดขึ้นในคอกพักสัตว์จะมีผลต่อการเพิ่มการเคลื่อนตัวของสารในลำไส้ทำให้มีการขับถ่ายเพิ่มขึ้น ซึ่งในมูลสัตว์พบว่ามีเชื้อ Salmonella อยู่มาก

3. ขั้นตอนการทำให้สัตว์สลบ โดยการใช้ปืน (captive bolt) พบการปนเปื้อนที่บริเวณแท่งเหล็กที่ถูกขับออกมาจากการยิง ซึ่งเป็นทางหนึ่งที่ทำให้เชื้อเข้าสู่ร่างกาย

4. ขั้นตอนการแทงคอเอาเลือดออก จะเป็นโอกาสให้เชื้อเข้าสู่ร่างกายบริเวณบาดแผลซึ่งเชื้ออาจติดอยู่ที่บริเวณผิวหนังสัตว์ หรืออุปกรณ์ที่ใช้ไม่สะอาดและโดยเฉพาะอย่างยิ่งเข้าสู่บาดแผลที่อาจเปิดกว้างมาก ทำให้เชื้อเข้าสู่ร่างกายได้มาก

5. ขั้นตอนการถลกหนังในโค พบว่ามีส่วนทำให้ซากเกิดการปนเปื้อนได้ เนื่องจากบริเวณหนังสัตว์มีการปนเปื้อนเชื้อสูง และนอกจากนี้วิธีถลกหนังจากคอ ไล่ไปสู่อวัยวะ จะพบการปนเปื้อนของเชื้อสูงกว่าการถลกหนังในทิศทางกลับกัน เนื่องจากขณะหนังถูกถลกขึ้นจากบริเวณคอซึ่งมีบาดแผลและเลือดที่เกิดจากการแทงคอปนเปื้อนที่จะมีเชื้อจุลินทรีย์อยู่สูงกว่า จะเท่ากับเป็นการกระจายเชื้อไปสู่ซากบริเวณอื่นได้

6. การปนเปื้อนในขั้นตอนการเปิดซาก (evisceration) ในระยะของการผ่าท้องเพื่อล้างเอาเครื่องในออก ถ้ากระทำด้วยความไม่ระมัดระวังอาจทำให้เครื่องในแตกมีขนาดเล็ก มีผลทำให้จุลินทรีย์ที่อยู่ภายในทางเดินอาหารและลำไส้ปนเปื้อนบนเนื้อสัตว์ได้

7. ในระหว่างการเก็บซากแช่เย็นยังพบการปนเปื้อนของเชื้อที่เจริญได้ที่อุณหภูมิปานกลาง (mesophilic) และเชื้อที่เจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ (psychrotrophic) หรือซากที่รอการขนส่ง เชื้อสามารถเจริญและเพิ่มจำนวน โดยเฉพาะถ้าหากไม่สามารถควบคุมอุณหภูมิในระหว่างการขนส่ง (Gill and Badoni, 2004)

8. การปนเปื้อนในขั้นตอนการตัดแต่งและเลาะกระดูก (cutting and deboning) ขั้นตอนนี้จะพบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น เนื่องจากอุปกรณ์ไม่สะอาด ติดเชื้อโรคจากมือของผู้ปฏิบัติงาน หรืออุณหภูมิภายในห้องตัดแต่งสูงไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้

2.10 การลดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์บนเนื้อสัตว์ โดยการใช้กรดแลกติก

การใช้กรดอินทรีย์เป็นอีกวิธีหนึ่งที่ได้รับการนิยมนำมาใช้เพื่อลดจำนวนจุลินทรีย์บนซากสัตว์ และบนเนื้อสัตว์ ในบรรดากรดอินทรีย์ กรดแลกติกได้รับความนิยมเนื่องจากเป็นกรดอินทรีย์ที่ได้จากธรรมชาติ จากกระบวนการหมักน้ำตาล โดยเชื้อในตระกูล Lactobacillaceae (Snijder *et al.*, 1985) กรดแลกติกได้รับการรับรองความปลอดภัยจากองค์การอนามัยโลก ประเทศ

สหรัฐอเมริกา ในการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมเนื้อสัตว์ (FAO / WHO. 1974) ร่างกายของคนเรา และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมส่วนใหญ่สามารถรับได้มากกว่า 1500 mg/kg ซึ่งถือว่าเป็นปริมาณที่สูงมาก (Smulders *et al.* 1986) กรดแลกติกมีผลในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ โดยกรดทำให้ค่าความเป็นกรดต่ำลง ส่งผลให้สภาพแวดล้อมไม่เหมาะต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ซึ่งค่าความเป็นกรดต่ำที่ลดลงนั้นทำให้ช่วง lag phase มีระยะเวลาที่นานขึ้น ทำให้อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ช้าลง (Woolthuis and Smulders. 1985) ผลของการยับยั้งจุลินทรีย์โดยกรดนั้น เกิดจากส่วนที่เป็น lipophilic ของกรดที่ใช้ ซึ่งอยู่ในรูปโมเลกุลที่ไม่แตกตัวและซึมผ่านเข้าไปในผนังเซลล์ (plasma membrane) ของแบคทีเรีย ที่มีค่าความเป็นกรดต่ำกว่าค่อนข้างเป็นกลาง (pH 7) ซึ่งสูงกว่าค่าความเป็นกรดของไซโตพลาสซึม ดังนั้นกรดอยู่ในรูปที่ไม่แตกตัวเข้าไปก็จะเกิดสถานะแตกตัวในรูปของ protons และ conjugated base และมีผลในการทำลาย oxidative phosphorylation form ของ electron transport system รวมถึงการยับยั้งระบบขนถ่าย substrate molecule เข้าสู่เซลล์ ส่งผลให้การยับยั้งการเจริญเติบโต (Adam and Hall. 1988)

Smulders and Greer (1998) และ Nissen *et al.* (2001) ศึกษาการใช้สารละลายกรดแลกติกในการลดจำนวนจุลินทรีย์บนเนื้อสัตว์ พบว่าสารละลายกรดแลกติกสามารถลดจำนวน *E. coli* O157 : H7, *Yersinia enterocolitica* และ *Salmonella* sp. และ จุลินทรีย์ที่เจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำบนเนื้อสัตว์ โดยพบว่าเชื้อกลุ่มนี้ถูกทำลายได้มากกว่าเชื้อกลุ่มที่เจริญที่อุณหภูมิปานกลาง

จุฑารัตน์ เศรษฐกุล และคณะ (2540) ได้ทำการศึกษาถึงการใส่สารละลายกรดแลกติก เพื่อลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์บนผิวซากสุกร โดยใช้สารละลายกรดแลกติกที่ความเข้มข้น 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ฉีดพ่นบนผิวซากสุกร ทำการตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์รวม ก่อนการฉีดพ่นสารละลายกรดแลกติก หลังการฉีดพ่นสารละลายกรดแลกติก 5 และ 48 ชั่วโมง ผลการทดลองพบว่า จำนวนจุลินทรีย์รวมบนผิวซากสุกรภายหลังฉีดพ่นสารละลายกรดแลกติก 5 และ 48 ชั่วโมง ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนจุลินทรีย์บนผิวซากสุกรก่อนฉีดพ่นสารละลายกรดแลกติก และเมื่อความเข้มข้นของสารละลายกรดแลกติกเพิ่มขึ้น พบการลดลงของเชื้อจุลินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยลดลงมากที่สุดที่ระดับความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ (v/v) แต่ที่ระดับความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ดังนั้น ความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับนำไปใช้เมื่อคำนึงถึงประสิทธิภาพ และความคุ้มทางเศรษฐกิจคือ 2 เปอร์เซ็นต์ (v/v)

Pipek *et al.* (2005) ศึกษาการลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์บนซากโค โดยการประยุกต์ใช้ไอน้ำร้อนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ฉีดพ่นบนผิวซากโค แล้วตามด้วยการฉีดพ่นสารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ (v/v) อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส บนผิวซากโคภายหลังกระบวนการฆ่า 30 นาที ทำการศึกษาด้านจุลินทรีย์ psychrophilic และ mesophilic บนซากโคที่เก็บรักษาในห้องเย็น เป็นระยะเวลา 1, 4 และ 5 วัน พบว่าการใช้ไอน้ำร้อนร่วมกับสารละลายกรดแลกติก มีประสิทธิภาพ

ภาพในการลดการปนเปื้อน และชะลอการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งสองบนซากโค เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ระยะเวลา 1, 4 และ 5 วัน เมื่อครบ 5 วัน กลุ่มที่ฉีดพ่นไอน้ำร้อนกับสารละลายกรดแลกติก ยังคงมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งสองอยู่ในระดับที่ปลอดภัย แสดงให้เห็นว่าการใช้ไอน้ำร้อนร่วมกับสารละลายกรดแลกติกฉีดพ่น สามารถยืดระยะเวลาในการเก็บรักษาซากโคให้ยาวนานขึ้นได้ และเพิ่มความปลอดภัยให้แก่ผู้บริโภคเนื้อโคอีกด้วย

Özdemir *et al.* (2006) ทำการศึกษาโดยใช้สารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และการใช้น้ำร้อนอุณหภูมิ 82 องศาเซลเซียส ต่อการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* Typhimurium และ *Listeria monocytogenes* บนเนื้อโคระหว่างการเก็บรักษาในตู้เย็น ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่า การใช้สารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ และการใช้น้ำร้อนจุ่มเนื้อโคเป็นเวลา 15 วินาที สามารถลดปริมาณเชื้อ *S. Typhimurium* และ *L. monocytogenes* ในวันแรกของการศึกษา ให้อยู่ในช่วง 0.05-1.19 และ 0.09-1.14 log cfu/g ตามลำดับ และเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 5 วัน ลดจำนวนเชื้อให้อยู่ระหว่าง 0.43-1.78 และ 1.69-3.84 log cfu/g ตามลำดับ จากการศึกษาแล้วยังพบว่า การใช้น้ำร้อนแล้วตามด้วยการใช้สารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพในการลดการปนเปื้อนของเชื้อ *S. Typhimurium* และ *L. monocytogenes* ได้สูงสุด โดยสามารถลดปริมาณเชื้อได้ถึง 1.19 และ 1.14 log cfu/g ตามลำดับ ในวันแรกของการศึกษา และลดปริมาณเชื้อได้ถึง 1.78 และ 3.84 ตามลำดับ เมื่อเก็บรักษาในตู้เย็นถึง 5 วัน จากผลที่ได้แสดงให้เห็นว่า การใช้น้ำร้อนและสารละลายกรดแลกติกสามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อทั้งสองชนิดในกระบวนการผลิตเนื้อสัตว์ได้

Bosilevac *et al.* (2006) ศึกษาประสิทธิภาพการล้างซากโดยการฉีดพ่นสารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ก่อนกระบวนการเอาเครื่องในออก พบว่าสามารถลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้อากาศ (aerobic plate counts, APC) ให้ลดลงได้ถึง 1.6 log cfu/100 cm² และการฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติกสามารถลดจำนวนเชื้อ *Enterobacteriaceae* ให้ลดลงได้ 1.0 log cfu/100 cm² นอกจากนี้ยังพบว่าภายหลังการฉีดพ่นสารละลายกรดแลกติก สามารถลดจำนวน *E. coli* O157:H7 บนซากโคได้มากถึง 35 เปอร์เซ็นต์

Dorsa *et al.* (1998) ใช้สารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ฉีดพ่นซากโค และพบว่าจำนวน aerobic bacteria, pseudomonas, และแบคทีเรียกรดแลกติกมีจำนวนลดลง และ Baird *et al.* (2006) ศึกษาวิธีใช้สารละลายกรดแลกติก ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ฉีดพ่นผิวของซากโค ก่อนขบวนการเอาเครื่องในออก เพื่อลดการปนเปื้อนของแบคทีเรีย พบว่าสารละลายกรดแลกติกสามารถลดจำนวนเชื้อโคลิฟอร์มและ *E. coli* ซึ่งการฉีดพ่นสารละลายกรดแลกติกบนผิวซากโคสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ก่อนขบวนการเปิดซากโคได้

Pilasombut *et al.* (2007) ศึกษาการใช้สารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับเอ็กสาล์กการบ่มเนื้อ โดยใช้กัลลามเนื้อสันนอกโคพันธุ์พื้นเมืองไทย ที่เก็บภายใต้สูญญากาศแบบชั้นสติก ที่ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุณหภูมิ 0 - 4 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลา 0, 14 และ 30 วัน พบว่าเนื้อโคที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก เมื่อบ่มไว้ระยะเวลา 14 และ 30 วัน มีจำนวนจุลินทรีย์รวมลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้นานถึง 30 วัน ในขณะที่เนื้อกลุ่มควบคุมพบการเน่าเสียเมื่อเก็บไว้นาน 30 วัน นอกจากนี้ยังพบว่า เนื้อที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก สามารถลดจำนวนเชื้อโคลิฟอร์ม (coliform) และฟีคอลโคลิฟอร์ม (fecal coliform) ในขณะที่เมื่อศึกษาคุณภาพของเนื้อ เช่น สีของเนื้อ (ค่า L^* และ a^*) เปรอร์เซ็นต์สูญเสีย น้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา ค่าความเป็นกรดเป็นด่างในเนื้อ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันในกลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลกติก และกลุ่มที่ไม่ใช่ แต่พบว่า เปรอร์เซ็นต์สูญเสีย น้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา และสีของเนื้อ (ค่า L^* และ a^*) มีค่าสูงขึ้นเมื่อระยะเวลาการบ่มนานขึ้น ($P < 0.01$) ค่าแรงตัดผ่านเนื้อมีค่าลดลงเมื่อระยะเวลาในการบ่มเนื้อนานขึ้น ($P < 0.01$)

ผลจากการศึกษาดังกล่าวสามารถสรุปได้ว่า สารละลายกรดแลกติกเป็นสารละลายที่มีความเหมาะสม ในการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมเนื้อสัตว์ เพื่อลดจำนวนจุลินทรีย์บนเนื้อสัตว์ โดยเฉพาะประเทศไทยที่โรงฆ่าสัตว์ยังไม่ได้มาตรฐาน ทำให้มีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในปริมาณที่สูง และอาจพบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคอีกด้วย กรดแลกติกมีคุณสมบัติในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคหลายชนิด ถ้าหากมีการนำกรดแลกติกมาใช้ร่วมกับวิธีการบ่มเนื้อโคที่เหมาะสม จะช่วยให้ผู้บริโภคได้บริโภคเนื้อโคที่มีคุณภาพ และมีความปลอดภัยมากขึ้น นอกจากนี้ยังช่วยในการยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อโคให้นานยิ่งขึ้น

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 ตัวอย่างเนื้อโคทดลอง

ใช้กล้ามเนื้อสันนอกส่วนหน้า (*Longissimus thoracis*) ระหว่างซี่โครงซี่ที่ 6-12 และส่วนหลัง (*Longissimus lumborum*) จากซี่โครงซี่ที่ 13 จนถึงปลายกระดูกสันหลัง จากซากโคทั้งซีกซ้ายและซีกขวา ของโคเนื้อลูกผสมเลือดยุโรป ((โคพื้นเมือง x บราห์มัน) x ชาร์โรเลต์) ภายใต้ระบบการผลิตของสหกรณ์โคเนื้อกำแพงแสน (KU-beef) อายุ 2-4 ปี น้ำหนักมีชีวิตก่อนฆ่า 550-600 กิโลกรัม เลี้ยงโดยสมาชิก และขุนด้วยอาหารผสมเสร็จหรือที่เรียกกันว่า ที เอ็ม อาร์ (total mixed ration, TMR) และเลี้ยงด้วยหญ้าและฟางข้าวเป็นอาหารหยาบเป็นเวลา 12-13 เดือน จำนวน 5 ตัว เข้าฆ่าที่โรงฆ่าสัตว์ศูนย์วิจัยและพัฒนาผลิตผลจากสัตว์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

3.2 อุปกรณ์

3.2.1 อุปกรณ์ในการศึกษาคุณภาพเนื้อและจุลินทรีย์

1. เครื่องมือวัดค่าความเป็นกรด-ด่างในเนื้อ (Mettler Toledo model SG-2, Switzerland)
2. เครื่องมือวัดอุณหภูมิ (Mettler Toledo model SG-2, Switzerland)
3. เครื่องมือวัดสีของเนื้อ (Minolta Chromameter CR-300, Japan)
4. เครื่องมือวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (Instron model 1011, USA)
5. เครื่องบรรจุสุญญากาศ (Vacuum Package ; Ramon, Germany)
6. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven ; Memmert model CM 500, Germany)
7. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave ; Hirayama, Japan)
8. ตู้เขี่ยเชื้อแบบ Laminar Flow (Dwyer model Mark II, USA)
9. ตู้บ่มเพาะเชื้อ (WTB Binder model BD, Germany)
10. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath ; Memmert, Germany)
11. เครื่องชั่งแบบดิจิตอลทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Tanita model 1144, Tanita Corporation, Japan)
12. เครื่องชั่งแบบดิจิตอลทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Sartorius, Germany)
13. เครื่องเขย่าสาร (Vortex ; Vision Scientific co., Ltd. model KMC-1300V, Korea)
14. ไมโครปิเปต ขนาด 200-1000 ไมโครลิตร

15. ถุงสุญญากาศชนิด polyvinyl chloride (PVC)
16. เครื่องแก้วพร้อมอุปกรณ์ต่างๆ ที่จำเป็น

3.2.2 อุปกรณ์ในการวิเคราะห์กลุ่มเส้นใยโปรตีนของเนื้อโคด้วยวิธี SDS-PAGE

1. เครื่องชั่งน้ำหนักแบบดิจิทัล ขนาด 220 กรัม รุ่น CP2243 (Sartorius, Germany)
2. เครื่องบดละเอียด รุ่น minipimer MR 430 HC (Moulinex, France)
3. เครื่อง homogenizer (Ultra tarrax, Germany)
4. เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) รุ่น Universal 32R (Hettich, Germany)
5. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง รุ่น BioPhotometer plus (Eppendorf, Germany)
6. เครื่องสำหรับการแยกโปรตีน รุ่น Mini-PROTEAN[®] 3 Cell (Bio Rad, USA)
7. เครื่องถ่ายภาพเจล รุ่น gene genius bio imagine system (Syngeme, Germany)
8. เครื่องเขย่าสาร รุ่น incubated shaker KBLee 1001 (Daiki, Korea)
9. micropipet (Gilson, France)
10. micro tube (Eppendorf, Germany)
11. ตู้แช่แข็งควบคุมอุณหภูมิที่ -20 °C (Sandenintercool, Thailand)

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

3.3.1 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมีในการศึกษาด้านจุลินทรีย์

1. Peptone (Merck, Germany)
2. Plate Count Agar (Merck, Germany)
3. MRS broth (Merck, Germany)
4. Chromocult (Merck, Germany)
5. Agar (Criterion, USA)
6. CaCO₃ (Scharlau Chemie S.A., Spain)
7. สารละลาย Kovac (Merck, Germany)
8. กรดแลกติก (L (+) Lactic acid) ระดับความเข้มข้น 80 % (PURAC 80, 80 % PURAC Biochem, Gorinchem, Netherlands)
9. แอลกอฮอล์ 95 %

3.3.2 สารเคมีในการวิเคราะห์กลุ่มเส้นใยโปรตีนของเนื้อโคด้วยวิธี SDS-PAGE

1. น้ำกลั่น (distilled water)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. โปรตีนมาตรฐาน (protein marker) รุ่น PageRuler™ Plus Prestained Protein Ladder (Fermentas, Canada)
3. น้ำยาคัดโปรตีน (protein assay ; Bio-Rad, USA)
4. BSA (bovine serum albumin ; Fluka Biochemika, USA)
5. sucrose (Carlo Erba, Rodano)
6. EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt ; AnalaR NORMAPUR, Belgium)
7. tris (Vivantis, Malaysia)
8. hydrochloric acid (HCl ; Merck, Germany)
9. potassium chloride (KCl ; Ajax Finechem, Australia)
10. imidazol (Fluka Biochemika, USA)
11. SDS (sodium dodecyl sulfate ; Bio-Rad, USA)
12. Orthophosphoric acid 85% (AnalaR NORMAPUR, Belgium)
13. 2 – mercaptoethanol (Aldrich, USA)
14. 30% acrylamide-bis solution (29:1) (Bio-Rad, USA)
15. TEMED (tetramethylethylenediamine ; Bio Basic Inc., USA)
16. APS (ammoniumpersulfate ; Ajax Finechem, Australia)
17. isopropanol (Merck, Germany)
18. glycine (Vivantis, Malaysia)
19. coomassie blue R250 (Research organics, USA)
20. methanol (AnalaR NORMAPUR, Belgium)
21. bromophenol blue (Ajax Finechem, Australia)
22. ethanol (Merck, Germany)

3.4 วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.4.1 การเตรียมตัวอย่างเนื้อโค

ภายหลังกระบวนการฆ่าสัตว์แยกชิ้นส่วนกล้ามเนื้อบริเวณสันนอก โดยที่ยังมีกระดูกติดอยู่ และไม่แต่งเอาไขมันหุ้มเนื้อสันนอกออก จากซี่โครงซี่ที่ 6 จนถึงปลายกระดูกสันหลัง จากซากโคซีกซ้ายและขวา เก็บไว้ในห้องเย็นอุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส ประมาณ 6 ชั่วโมง เพื่อลดอุณหภูมิภายในเนื้อ จากนั้นบรรจุในถุงพลาสติกปิดสนิทแล้วบรรจุในถังน้ำแข็ง เพื่อรักษาอุณหภูมิของเนื้อ ในระหว่างการขนส่งมายังห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเนื้อสัตว์ และนำ

ตัวอย่างเนื้อดังกล่าวเก็บต่อในห้องเย็นอุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส ให้ครบ 24 ชั่วโมง โดยเริ่มจาก ภายหลังสัตว์ตาย เมื่อครบ 24 ชั่วโมง วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และอุณหภูมิเพื่อให้ทราบถึง คุณภาพเนื้อ หลังจากนั้นแบ่งกล้ามเนื้อสันนอกที่ติดกระดูก ออกเป็นสองส่วนคือ กล้ามเนื้อสันนอก ส่วนหน้า (*Longissimus thoracis*) ระหว่างซี่โครงซี่ที่ 6-12 และส่วนหลัง (*Longissimus lumborum*) จากซี่โครงซี่ที่ 13 จนถึงปลายกระดูกสันหลัง ทั้งซี่กซ้ายและซี่ขวา โดยกล้ามเนื้อสันนอกส่วนหน้า หรือส่วนหลัง จะนำไปศึกษาวิธีการบ่มแบบดั้งเดิม (แขวนซากไว้ในห้องเย็น) หรือบ่มในถุง สูญญากาศ โดยใช้วิธีการสุ่มจับผลาก ทั้งนี้การบ่มเนื้อทั้งสองวิธีมีการเตรียมตัวอย่างเนื้อที่แตกต่างกันดังต่อไปนี้

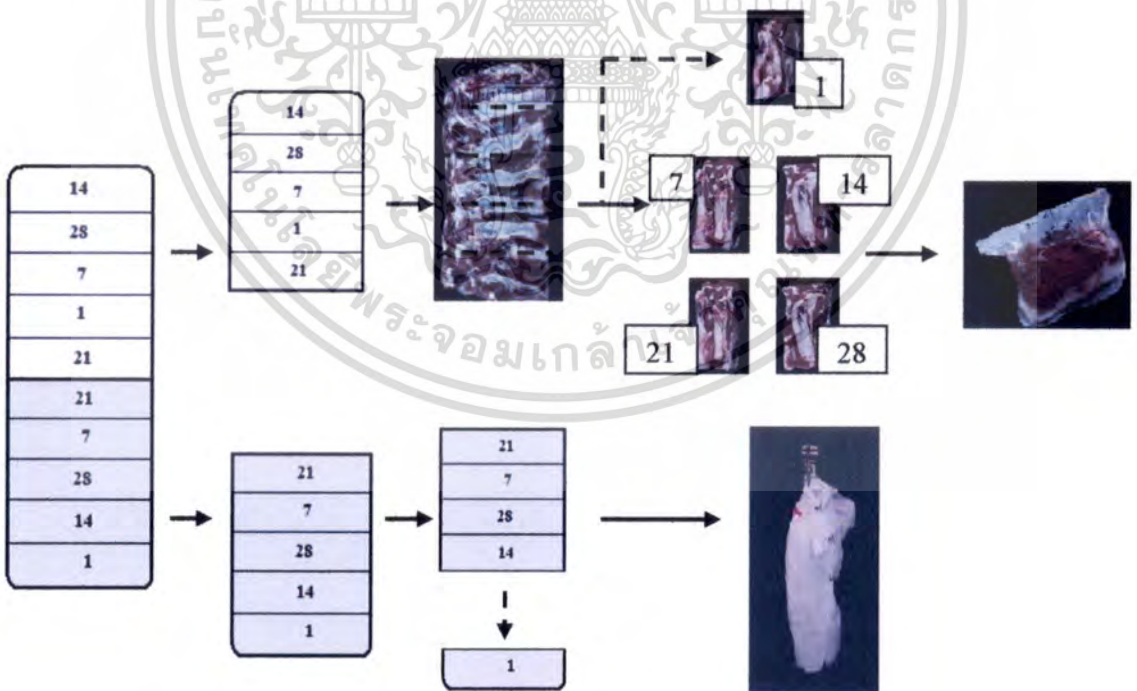
3.4.1.1 การบ่มเนื้อแบบดั้งเดิม (dry ageing) ชิ้นส่วนสันนอกส่วนที่ศึกษาการบ่มแบบ ดั้งเดิมจะไม่แกะกระดูกออก (เนื้อติดกับกระดูกทั้งชิ้น) และไม่แต่งเอาไขมันหุ้มเนื้อสันนอกออก ทำการสุ่มตัวอย่างเนื้อทั้งก้อนจากซี่กซ้ายและขวา 25 กรัม เพื่อตรวจปริมาณเชื้อเริ่มต้น หลังจากนั้น แบ่งชิ้นเนื้อเป็น 5 ส่วนเท่าๆ กัน โดยใช้มีดกรีดเนื้อให้เป็นรอย และใช้เข็มหมุดปักป้ายตามการสุ่ม จับผลาก เพื่อให้ทราบตำแหน่งของเนื้อที่จะสุ่มมาทดลองตามระยะเวลาการบ่ม 1, 7, 14, 21 และ 28 วัน ดังแสดงในภาพที่ 3.2 หลังจากนั้นฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ใน ซีกขวาโดยฉีดพ่นให้ทั่วผิวเนื้อ 20 วินาที (ปริมาตร 120 มิลลิลิตร) แล้วผึ่งให้สะเด็ดน้ำ โดยคว่ำ และหงายด้านละ 2 นาทีครึ่ง ส่วนซี่กซ้ายไม่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก จากนั้นตัดเลาะชิ้น เนื้อที่ใช้ศึกษาการบ่มระยะเวลา 1 วัน จากซี่กซ้ายและขวาออกมาจากเนื้อก้อนใหญ่ แล้วชั่งน้ำหนัก ชิ้นเนื้อที่ตัดออกมา จากนั้นสุ่มตัวอย่างเนื้อ 25 กรัม จากเนื้อชิ้นที่ทำการศึกษาในวันที่ 1 เพื่อ ตรวจหาเชื้อจุลินทรีย์หลังการฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก 30 นาที ดังต่อไปนี้คือ จุลินทรีย์ รวม (total bacterial count) แบคทีเรียกรดแลคติก (lactic acid bacteria) แบคทีเรียที่เจริญได้ที่ อุณหภูมิต่ำ (psychotropic bacteria) โคลิฟอร์มทั้งหมด (total coliform) และอีโคไล (*E. coli*) และ ศึกษาทางด้านคุณภาพเนื้อต่อไปนี้เป็นคือ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) อุณหภูมิ เปอร์เซ็นต์การสูญเสีย น้ำหนักระหว่างการทำให้สุก (% cooking loss) วัสดุโดยการบันทึกค่าความสว่าง (lightness, L*), ค่าสีแดง (redness, a*) และค่าสีเหลือง (yellowness, b*) และวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (warner-bratzler shear force) ส่วนชิ้นเนื้อก้อนใหญ่หลังจากเลาะเอาชิ้นเนื้อที่ใช้ศึกษาระยะเวลาการบ่ม 1 วันออกไป แล้ว นำไปชั่งน้ำหนักก่อนบ่ม แล้วห่อด้วยผ้าดิบที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นนำไปบ่มที่ห้องเย็น อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส เมื่อครบระยะเวลาการบ่ม 7, 14, 21 และ 28 วัน นำก้อนเนื้อมาชั่งน้ำหนัก หลังบ่ม เพื่อหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษา จากนั้นเลาะชิ้นเนื้อตามระยะเวลา การบ่ม มาศึกษาเช่นเดียวกับชิ้นเนื้อที่บ่มเป็นระยะเวลา 1 วัน

3.4.1.2 การบ่มเนื้อในถุงสูญญากาศ (wet ageing) เนื้อสันนอกส่วนที่ศึกษาการบ่มเนื้อ ในถุงสูญญากาศ จะแกะกระดูกออกแต่ไม่แต่งมันที่หุ้มเนื้อออก สุ่มเก็บตัวอย่างเนื้อ 25 กรัม จาก เนื้อทั้งก้อนหลังแกะกระดูกออกเพื่อดูปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น เมื่อแกะกระดูกออกแล้วแบ่งเนื้อ

เอกราช มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3.1 แสดงลักษณะในการเตรียมตัวอย่างเนื้อโคทดลองในซ้ำที่ 1



ภาพที่ 3.2 แสดงขั้นตอนในการเตรียมตัวอย่างเนื้อสำหรับทดลองการบ่มแบบดั้งเดิม (dry ageing) และการบ่มในถุงสุญญากาศ (wet ageing)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็น 5 ส่วนเท่าๆ กันทั้งซีกซ้ายและขวา ดังแสดงในภาพที่ 3.2 จากนั้นฉีดพ่นด้วยสารละลายกรด แลกติก บริเวณผิวของชิ้นเนื้อจากซากซีกขวา ส่วนซีกซ้ายไม่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก โดยฉีดพ่นชิ้นเนื้อนานประมาณ 10 วินาทีต่อชิ้น (ปริมาตร 60 มิลลิลิตร) หลังจากนั้นคว่ำและหงาย ชิ้นเนื้อบนตะแกรงด้านล่าง 2 นาทีครึ่ง เพื่อให้น้ำสะเด็ด แล้วนำชิ้นเนื้อที่สุ่มจับฉลากได้เพื่อเก็บ ข้อมูลที่เป็นตัวแทนของระยะการบ่ม 1 วัน ทั้งซีกซ้ายและขวา จากนั้นสุ่มเนื้อมา 25 กรัมเพื่อตรวจ เชื้อจุลินทรีย์หลังจากฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก 30 นาที ดังนี้คือ จุลินทรีย์รวม แบคทีเรีย กรดแลกติก แบคทีเรียที่เจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ โคลิฟอร์มทั้งหมด และ *E. coli* และศึกษาทางด้าน คุณภาพเนื้อต่อไปนี้คือ ค่าความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่าง การปรุงสุก วัตถุประสงค์ค่า L^* , a^* และ b^* และวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ส่วนชิ้นเนื้อที่เหลืออีก 4 ชิ้น ชั่ง น้ำหนักก่อนบ่มทุกชิ้นแล้วบรรจุถุงสุญญากาศ บ่มในห้องเย็นอุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส เมื่อครบ ระยะเวลาการบ่ม 7, 14, 21 และ 28 วัน นำเนื้อออกจากถุงสุญญากาศ ชั่งน้ำหนักหลังบ่มเพื่อหา เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างเก็บรักษา จากนั้นทำการศึกษาเช่นเดียวกับเนื้อที่บ่มเป็น ระยะเวลา 1 วัน

3.4.2 วิธีการสุ่มตัวอย่าง

ในการสุ่มตัวอย่างเนื้อ โศเพื่อที่นำมาทดสอบวิธีการบ่ม แบบดั้งเดิมและการบ่มแบบบรรจุ เนื้อในถุงสุญญากาศ ร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ และบ่มเนื้อ โดยใช้ระยะเวลาในการบ่มต่างๆ ดังนี้ คือ 1, 7, 14, 21 และ 28 วัน ในการสุ่มตำแหน่งของเนื้อที่ใช้ ในการทดลองโดยการสุ่มจับฉลาก ดังภาพที่ 3.3

ซีกที่ 1		ซีกที่ 2		ซีกที่ 3	
ซีกซ้าย	ซีกขวา	ซีกซ้าย	ซีกขวา	ซีกซ้าย	ซีกขวา
14	14	7	7	28	28
28	28	28	28	7	7
7	7	1	1	21	21
1	1	14	14	1	1
21	21	21	21	14	14
21	21	1	1	14	14
7	7	7	7	7	7
28	28	28	28	21	21
14	14	14	14	28	28
1	1	21	21	1	1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซ้ำที่ 4		ซ้ำที่ 5	
ซีกซ้าย	ซีกขวา	ซีกซ้าย	ซีกขวา
28	28	7	7
1	1	28	28
21	21	21	21
14	14	14	14
7	7	1	1
1	1	21	21
7	7	1	1
14	14	28	28
28	28	14	14
21	21	7	7

ตัวอย่างเนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศ (Wet ageing)

ตัวอย่างเนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิม (Dry ageing)

ภาพที่ 3.3 แสดงตำแหน่งของเนื้อ โคที่ใช้ในการทดลอง วิธีการบ่มแบบดั้งเดิมและการบ่มแบบบรรจุเนื้อในถุงสุญญากาศ ระยะเวลาในการบ่ม 1, 7, 14, 21 และ 28 วัน ของเนื้อ โคในแต่ละซ้ำ โดยการสุ่มจับฉลาก

3.5 ขั้นตอนการศึกษาและการเก็บข้อมูล

3.5.1 การศึกษาคุณภาพเนื้อ

1. ศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่าง ของตัวอย่างกล้ามเนื้อสันนอกใช้ probe แทงลงใจกลางชิ้นเนื้อโดยใช้เครื่องมือวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (Mettler Toledo model SG-2, Switzerland) เก็บข้อมูลทุกระยะเวลาการบ่มเนื้อ

2. ศึกษาค่าอุณหภูมิ ของตัวอย่างกล้ามเนื้อสันนอกโดยใช้เครื่องมือวัดอุณหภูมิ (Mettler Toledo model SG-2, Switzerland) แทงลงใจกลางชิ้นเนื้อเก็บข้อมูลทุกระยะเวลาการบ่ม

3. ศึกษาค่าสีของเนื้อ วัดสีผิวด้านในชิ้นเนื้อ โดยการตัดผิวสัมผัส หน้าตัดของชิ้นเนื้อและปล่อยให้สัมผัสกับอากาศประมาณ 45 นาที ก่อนทำการวัดสีเนื้อด้วยเครื่องมือวัดสี (Minolta Chromameter CR-300, Japan) เก็บข้อมูลทุกระยะเวลาของการบ่มเนื้อ บันทึกค่า L^* , a^* และ b^*

4. ศึกษาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา (% drip loss) นำตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ตัดแบ่งเพื่อบ่มตามระยะเวลาต่างๆ ชั่งน้ำหนัก จากนั้นบรรจุในถุงสุญญากาศด้วยเครื่องบรรจุสุญญากาศ (บ่มเนื้อในถุงสุญญากาศ) เพื่อบันทึกน้ำหนักเริ่มต้น (D1) นำไปบ่มไว้ในห้องเย็นที่อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส และบ่มตามระยะเวลาต่างๆ เมื่อครบระยะเวลาบ่มตามระยะต่างๆ นำ

เนื้อออกจากถุงสุญญากาศ ชั่งน้ำหนักชิ้นเนื้อ เพื่อบันทึกน้ำหนักเนื้อสุดท้าย (D2) ส่วนการบ่มแบบดั้งเดิมจะบ่มเนื้อโดยแขวนไว้ในห้องเย็นและห่อด้วยผ้าดิบ และมีการบันทึกข้อมูลก่อนบ่มและหลังบ่มเช่นเดียวกับการบ่มเนื้อในถุงสุญญากาศ การหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา ตามวิธีการของ Stolorski *et al.* (2006) โดยคำนวณได้จากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา} = \frac{(D1 - D2)}{D1} \times 100$$

5. ศึกษาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักจากการปรุงสุก (% cooking loss) นำตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ตัดแบ่งตามระยะเวลาบ่ม มาตัดเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด ประมาณ 2 X 3 นิ้ว หนาประมาณ 1.5 นิ้ว เพื่อให้เนื้อแต่ละชิ้นมีความสม่ำเสมอ ชั่งน้ำหนักเนื้อแต่ละชิ้นก่อนต้มโดยบันทึกเป็นน้ำหนักเริ่มต้น (C1) จากนั้นนำชิ้นเนื้อบรรจุและปิดปากถุง ต้มในอ่างน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส นาน 40-50 นาที หรือจนกระทั่งอุณหภูมิใจกลางชิ้นเนื้อประมาณ 70-75 องศาเซลเซียส นำเนื้อที่ผ่านการปรุงสุกแล้วแช่ในน้ำที่ไหลผ่านประมาณ 25-30 นาที เพื่อให้เนื้อเย็นลง นำเนื้อออกจากถุงและซับน้ำที่ติดชิ้นเนื้อด้วยกระดาษทิชชู แล้วชั่งน้ำหนักสุดท้าย (C2) คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักจากการปรุงสุก ตามวิธีการของ Devine *et al.* (1999) โดยใช้สูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักจากการปรุงสุก} = \frac{(C1 - C2)}{C1} \times 100$$

6. ศึกษาความนุ่มเหนียวของเนื้อ โดยการวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (warner-bratzler shear force) ใช้ตัวอย่างเนื้อสันนอกโคที่บ่มระยะเวลา 1, 7, 14, 21 และ 28 วัน ซึ่งผ่านขั้นตอนการทำเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักจากการปรุงสุก ตัดเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้ายาวประมาณ 2.5 เซนติเมตร กว้าง 1 เซนติเมตร โดยตัดตามลายของเส้นใยกล้ามเนื้อ ให้มีความหนาของชิ้นเนื้อประมาณ 1 เซนติเมตร จากนั้นนำชิ้นเนื้อไปวัดแรงตัดผ่านชิ้นเนื้อด้วยเครื่องมือวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (Instron model 1011, USA) โดยวางชิ้นเนื้อให้อยู่ในแนวตัดขวางเส้นใยกล้ามเนื้อ การวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อทำตามวิธีของ Van Moeseke and De smet (1999) โดยกำหนดหน่วยเป็นกิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร (kg/cm^2)

3.5.2 การศึกษาทางด้านจุลินทรีย์

1. การศึกษาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (total bacterial count)

กลุ่มตัวอย่างชิ้นเนื้อที่บ่มในระยะเวลาต่างๆ ตัวอย่างละ 25 กรัม ผสมด้วยสารละลาย peptone ปริมาตร 225 มิลลิลิตร จะได้สารละลาย peptone ที่มีความเข้มข้น 1 : 10 ทำงานได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสมในแต่ละช่วงเวลากการบ่มเนื้อ จากนั้นดูดสารละลาย peptone ที่ 3 ระดับความเจือจางสุดท้ายความเจือจางละ 1 มิลลิลิตร และถ่ายลงในจานเพาะเชื้อ เทอาหาร plate count agar ลงจานเพาะเชื้อปริมาตรจานละ 15-20 มิลลิลิตร ที่ระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ รอกอาหารแห้ง แล้วคว่ำจานเพาะเชื้อ นำจานเพาะเชื้อบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำมานับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด และรายงานผลเฉพาะจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนระหว่าง 30-300 โคโลนี (AOAC. 2006)

2. การศึกษาจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติก (lactic acid bacteria)

กลุ่มตัวอย่างชิ้นเนื้อที่บ่มในระยะเวลาต่างๆ ตัวอย่างละ 25 กรัม ผสมด้วยสารละลาย peptone ปริมาตร 225 มิลลิลิตร จะได้สารละลาย peptone ที่มีความเข้มข้น 1 : 10 ทำงานได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสมในแต่ละช่วงเวลากการบ่มเนื้อ จากนั้นดูดสารละลาย peptone ที่ 3 ระดับความเจือจางสุดท้ายความเจือจางละ 1 มิลลิลิตร และถ่ายลงในจานเพาะเชื้อ เทอาหาร MRS Agar ที่เติม CaCO_3 (0.5 เปอร์เซ็นต์) ลงจานเพาะเชื้อปริมาตรจานละ 15-20 มิลลิลิตรที่ระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ รอกอาหารแห้งแล้วคว่ำจานเพาะเชื้อ จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะที่ไม่มีอากาศ นับจำนวนโคโลนีที่มีบริเวณใส (clear zone) รอบ ๆ โคโลนี และรายงานผลเฉพาะจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนระหว่าง 30-300 โคโลนี (AOAC. 2006)

3. การศึกษาจำนวนแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ (psychotropic bacteria)

กลุ่มตัวอย่างชิ้นเนื้อที่บ่มในระยะเวลาต่างๆ ตัวอย่างละ 25 กรัม ผสมด้วยสารละลาย peptone ปริมาตร 225 มิลลิลิตร จะได้สารละลาย peptone ที่มีความเข้มข้น 1 : 10 ทำงานได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสมในแต่ละช่วงเวลากการบ่มเนื้อ จากนั้นดูดสารละลาย peptone ที่ 3 ระดับความเจือจางสุดท้ายความเจือจางละ 1 มิลลิลิตร และถ่ายลงในจานเพาะเชื้อ เทอาหาร plate count agar ลงจานเพาะเชื้อปริมาตรจานละ 15-20 มิลลิลิตร ที่ระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ รอกอาหารแห้งแล้วคว่ำจานเพาะเชื้อ นำจานเพาะเชื้อทั้งหมดไปบ่มที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน นำมานับจำนวน โคโลนีทั้งหมด และรายงานผลเฉพาะจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนระหว่าง 30-300 โคโลนี (AOAC. 2006)

4. การศึกษาโคลิฟอร์มทั้งหมด (total coliform) และอี โคไล (*E. coli*)

กลุ่มตัวอย่างชิ้นเนื้อที่บ่มในระยะเวลาต่างๆ ตัวอย่างละ 25 กรัม ผสมด้วยสารละลาย peptone ปริมาตร 225 มิลลิลิตร จะได้สารละลาย peptone ที่มีความเข้มข้น 1 : 10 ทำงานได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสมในแต่ละช่วงเวลากการบ่มเนื้อ จากนั้นดูดสารละลาย peptone ที่ 3 ระดับ

ความเจือจางสุดท้ายความเจือจางละ 1 มิลลิลิตร และถ่ายลงในจานเพาะเชื้อ เทอาหาร chromocult ลงจานเพาะเชื้อปริมาตรจานละ 15-20 มิลลิลิตร ที่ระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ รองอาหารแข็ง แล้วคว่ำจานเพาะเชื้อ นำจานเพาะเชื้อทั้งหมดไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นตรวจผล โดยโคโลนีที่ขึ้นบนอาหาร chromocult สีชมพูคือเชื้อ coliform ส่วนโคโลนีสีม่วงเข้มคาดว่าจะเป็นเชื้อ *E. coli* เพื่อทดสอบยืนยันโคโลนีที่คาดว่าจะเป็น *E. coli* โดยการหยดสารละลาย kovac ลงบนโคโลนีสีม่วงที่คาดว่าเป็น *E. coli* ถ้าโคโลนีสีม่วงเปลี่ยนเป็นสีชมพูแสดงว่าเป็นเชื้อ *E. coli* ถ้าไม่เปลี่ยนสีแสดงว่าไม่ใช่เชื้อ *E. coli* นับจำนวนโคโลนีทั้งหมด และรายงานผลเฉพาะจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนระหว่าง 30-300 โคโลนี (AOAC. 2006)

3.5.3 การวิเคราะห์กลุ่มเส้นใยโปรตีนของเนื้อโคด้วยวิธี SDS-PAGE

3.5.3.1 การสกัด myofibrillar proteins

นำตัวอย่างเนื้อสันนอกโคที่ได้จากการบ่ม 1, 7, 14, 21 และ 28 วัน จากวิธีการบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมและการบ่มในอุณหภูมิกากาสม่าหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วนำมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดละเอียด เก็บตัวอย่างเนื้อบดละเอียดตัวอย่างละ 2.5 กรัม นำเนื้อบดมา homogenized ด้วยเครื่อง homogenizer ที่ความเร็ว 13,500 รอบ/นาที ร่วมกับสารละลาย STE buffer จำนวน 2 มิลลิลิตร (0.25M sucrose 1mM EDTA และ 0.05M tris; pH 7.6) ทำการปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง ความเร็ว 3,500 รอบ/นาที นาน 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อแยกตะกอนเนื้อบดออกจากสารละลาย buffer นำตะกอนที่ได้มาเติมสารละลาย TE buffer 25 มิลลิลิตร (1mM EDTA และ 0.05M tris pH 7.6) คนให้เข้ากันนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 3,500 รอบ/นาที นาน 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แยกตะกอนอีกครั้ง เติมสารละลาย KCl buffer 25 มิลลิลิตร (0.15M KCl) คนให้เข้ากัน นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 3,500 รอบ/นาที นาน 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แยกตะกอนที่ได้ครั้งที่ 3 เติมสารละลาย Sample buffer 30 มิลลิลิตร (2% SDS 0.01M imidazol และ 2% 2-mercaptoethanol) คนให้เข้ากัน ทั้งไว้ข้ามคืน จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 3,500 รอบ/นาที นาน 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เก็บส่วนสารละลายทั้งหมด แบ่งใส่ใน micro tube ขนาด 1 มิลลิลิตร และนำไปเก็บที่ตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส สารละลายนี้คือส่วนของ myofibrillar proteins ที่ได้จากการสกัด (Claeys *et al.* 1995)

3.5.3.2 การหาความเข้มข้นของ myofibrillar proteins

1. การทำกราฟมาตรฐาน (standard curve) ของสารละลายโปรตีน BSA ทำได้โดยนำสารละลาย BSA ที่มีความเข้มข้น 1 ไมโครกรัม/1 ไมโครลิตร มาเจือจางด้วยน้ำกลั่น ให้ได้ความเข้มข้นของ BSA เท่ากับ 0.1, 0.2, 0.4, 0.6 และ 0.8 ไมโครกรัม/1 ไมโครลิตร จากนั้นนำสารละลายที่มีความเข้มข้นของ BSA ที่แตกต่างกันมาอย่างละ 10 ไมโครลิตร ผสมด้วยน้ำยาคู

เอกซาโปรตีน (protein assay) 300 ไมโครลิตร แล้วนำตัวอย่างทั้งหมดไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่นใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยาวคลื่นแสงเท่ากับ 595 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงของแต่ละตัวอย่างที่มีความเข้มข้นต่างๆ กันมาสร้างกราฟมาตรฐาน และคำนวณสมการถดถอย โดยกำหนดให้ค่า x เป็นค่าความเข้มข้นของ BSA และค่า y เป็นค่าการดูดกลืนแสง

2. หาความเข้มข้นของ myofibrillar proteins ที่สกัดได้จากแต่ละตัวอย่าง นำตัวอย่างสกัดมาตัวอย่างละ 10 ไมโครลิตร ผสมกับน้ำยาคัดโปรตีน 300 ไมโครลิตร นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสง ได้ค่าการดูดกลืนแสง (y) เท่าใดให้นำค่า y นั้นไปคำนวณเทียบกับสมการถดถอย เพื่อหาค่า x ที่คำนวณได้คือ ค่าความเข้มข้นของตัวอย่างที่จะต้องเตรียมสำหรับการหยอดลงในเจลต่อไป

3.5.3.3 การแยกโปรตีนด้วยเทคนิค SDS-PAGE มีขั้นตอนดังต่อไปนี้

1. การเตรียมเจล อุปกรณ์ที่ใช้ในการแยกโปรตีนคือเครื่อง รุ่น Mini-PROTEAN[®] 3 Cell (Bio Rad, USA) เจลสำหรับการแยกโปรตีนจะประกอบไปด้วย 2 ชั้น ชั้นล่างเรียกว่า separating gel มีความเข้มข้นเจลเท่ากับ 12.5 % ซึ่งประกอบไปด้วย (น้ำกลั่น, 1.5M tris pH 8.8, 30 % acrylamide-bis, 10% SDS, 10% APS และ TEMED) และเจลชั้นบนเรียก stacking gel มีความเข้มข้น 4% ประกอบด้วย (น้ำกลั่น, 0.5M tris pH 6.8, 30% acrylamide-bis, 10% SDS, 10% APS และ TEMED) คัดแปลงจาก (Claeys *et al.* 1995)

2. การหยอดโปรตีนตัวอย่าง (protein sample loading) เจลประกอบไปด้วยช่องใส่ตัวอย่างทั้งหมดจำนวน 10 ช่อง โดยมีรายละเอียดการใส่ตัวอย่างในแต่ละช่องดังต่อไปนี้

ช่องที่ 1 กำหนดให้เป็นช่องของโปรตีนมาตรฐาน (protein standard marker) เพื่อใช้สำหรับเปรียบเทียบน้ำหนักโมเลกุลของ myofibrillar protein

ช่องที่ 2 กำหนดให้เป็นช่องของสารละลาย BSA ที่มีความเข้มข้น 2 ไมโครกรัม/ไมโครลิตร มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 67 kDa เพื่อใช้เป็นโปรตีนมาตรฐาน อีกตัวหนึ่งในการเทียบปริมาณความเข้มข้นของแถบ myofibrillar proteins ที่ทำการศึกษา

ตั้งแต่ช่องที่ 3 เป็นต้นไป กำหนดให้เป็นช่องสำหรับตัวอย่างที่จะใช้หา myofibrillar proteins ที่ได้จากการสกัดตัวอย่างเนื้อโคแต่ละระยะเวลาการบ่มที่เทียบความเข้มข้นกับกราฟมาตรฐานแล้ว และปรับให้มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 20 ไมโครกรัม ซึ่งแต่ละช่องจะใส่ sample buffer ที่ประกอบด้วย (น้ำกลั่น, 0.5 M tris-HCl. pH 6.8, glycerol, 10% SDS, 0.5% bromophenol blue) ลงไปด้วยในอัตราส่วน myofibrillar proteins 1 : running buffer 3 เพื่อให้เห็นการเคลื่อนที่ของโปรตีน หลังจากใส่ตัวอย่างลงในแต่ละช่องเรียบร้อยแล้ว จึงทำการเปิดเครื่องแยกโปรตีน โดยใช้กระแสไฟฟ้าขนาด 100 โวลต์ (V) 80 มิลลิแอมแปร์ (mA) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง คัดแปลงจาก (Ho *et al.* 1997)

3.5.3.4 การหาปริมาณของโปรตีนขนาดประมาณ 55 kDa, troponin-T (39 และ 37 kDa) และ troponin-T_{Product} (30 kDa)

myofibrillar proteins จะถูกแยกเป็นแถบตามน้ำหนักโมเลกุล แล้วเทียบแถบน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนที่ถูกแยก กับโปรตีนมาตรฐานในช่องที่ 1 โดยทำการศึกษาแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 55 kDa ถ้าแถบโปรตีนที่อ่านได้มีน้ำหนักโมเลกุล ประมาณ 39 และ 37 kDa ถือได้ว่าเป็นโปรตีน troponin-T และแถบที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 30 kDa ถือได้ว่าเป็นโปรตีน troponin-T_{Product} (Ho *et al.* 1997) จากนั้นวัดความเข้มของแถบโปรตีนขนาดประมาณ 55 kDa, troponin-T และ troponin-T_{Product} แล้วเทียบความเข้มของแถบโปรตีนขนาดประมาณ 55 kDa, troponin-T และ troponin-T_{Product} กับความเข้มของแถบ BSA ในช่องที่ 2 โดยใช้โปรแกรม Quantity One สำหรับการคำนวณหาปริมาณของโปรตีนกำหนดหน่วยเป็น $\mu\text{g BSA-equivalent}$

3.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ปริมาณจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลคติก แบคทีเรียที่เจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ โคลิฟอร์มทั้งหมด และ *E. coli* ที่ตรวจนับได้จะถูกนำมาแปลงข้อมูลให้อยู่ในค่าลอการิทึม ($y = \log x$) จากนั้นนำข้อมูลจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลคติก แบคทีเรียที่เจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ โคลิฟอร์มทั้งหมด ค่าความเป็นกรด-ด่างของเนื้อ เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการทำให้สุก ค่าสีของเนื้อ ค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ปริมาณโปรตีนขนาดประมาณ 55 kDa, troponin-T และ troponin-T_{Product} ของเนื้อสันนอกโคที่ระยะเวลาในการบ่มต่างๆ มาวิเคราะห์ข้อมูลโดยวิธี General Linear Model (GLM) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Least Square Means ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูปทางสถิติ

3.6.1 ศึกษาอิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลคติก และระยะเวลาในการบ่ม ต่อคุณภาพของเนื้อสันนอกโค ลักษณะที่ศึกษาคือ ค่าความเป็นกรด-ด่าง เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการปรุงสุก ค่าสีของเนื้อ (L^* , a^* และ b^*) และค่าแรงตัดผ่านเนื้อ โดยมีแบบหุนทางสถิติที่ใช้ในการศึกษาอิทธิพลของแต่ละปัจจัยดังนี้

$$Y_{ijm} = \mu + M_i + L_j + A_k + M_i * L_j + M_i * A_k + L_j * A_k + M_i * L_j * A_k + E_{ijm}$$

เมื่อ Y_{ijm} = ค่าสังเกตของลักษณะที่ต้องการศึกษา ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง เปอร์เซ็นต์การการสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการปรุงสุก ค่าสีของเนื้อ (L^* , a^* และ b^*) และค่าแรงตัดผ่านเนื้อ

- μ = ค่าเฉลี่ยทั้งหมดของค่าสังเกตที่ต้องการศึกษา
- M_i = อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อที่ $i, i = 1$ และ 2 (1 คือ การบ่มแบบดั้งเดิม และ 2 คือ การบ่มในถุงสุญญากาศ)
- L_j = อิทธิพลของการใช้สารละลายกรดแลคติกที่ $j, j = 1$ และ 2 (1 คือ เนื้อกลุ่มที่ไม่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก และ 2 คือ เนื้อกลุ่มที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก)
- A_k = อิทธิพลของระยะเวลาการบ่มเนื้อที่ $k, k = 1, 2, 3, 4$ และ 5 (1, 2, 3, 4 และ 5 คือ ระยะเวลาการบ่มเนื้อที่ 1, 7, 14, 21 และ 28 วัน)
- $M_i * L_j$ = อิทธิพลร่วมของวิธีการบ่มเนื้อที่ i กับการใช้สารละลายกรดแลคติกที่ j
- $M_i * A_k$ = อิทธิพลร่วมของวิธีการบ่มเนื้อที่ i กับระยะเวลาการบ่มเนื้อที่ k
- $L_j * A_k$ = อิทธิพลร่วมของการใช้สารละลายกรดแลคติกที่ j กับระยะเวลาการบ่มเนื้อที่ k
- $M_i * L_j * A_k$ = อิทธิพลร่วมของวิธีการบ่มเนื้อที่ i กับการใช้สารละลายกรดแลคติกที่ j และระยะเวลาการบ่มเนื้อที่ k
- $E_{y\mu}$ = ค่าความคลาดเคลื่อน

3.6.2 ศึกษาอิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลคติก และระยะเวลาในการบ่ม ต่อจำนวนจุลินทรีย์ของเนื้อสันนอกโค ลักษณะที่ศึกษาคือ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลคติก แบคทีเรียที่เจริญได้ที่อุณหภูมิค่า และ โคลิฟอร์มทั้งหมด โดยมีแบบหุ่นทางสถิติที่ใช้ในการศึกษาอิทธิพลของแต่ละปัจจัยดังนี้

$$Y_{y\mu} = \mu + M_i + L_j + A_k + M_i * L_j + M_i * A_k + L_j * A_k + M_i * L_j * A_k + E_{y\mu}$$

เมื่อ $Y_{y\mu}$ = ค่าสังเกตของลักษณะที่ต้องการศึกษา ได้แก่ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลคติก แบคทีเรียที่เจริญได้ที่อุณหภูมิค่า และ โคลิฟอร์มทั้งหมด

μ = ค่าเฉลี่ยทั้งหมดของค่าสังเกตที่ต้องการศึกษา

M_i = อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อที่ $i, i = 1$ และ 2 (1 คือ การบ่มแบบดั้งเดิม และ 2 คือ การบ่มในถุงสุญญากาศ)

L_j = อิทธิพลของการใช้สารละลายกรดแลคติกที่ $j, j = 1$ และ 2 (1 คือ เนื้อกลุ่มที่ไม่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก และ 2 คือ เนื้อกลุ่มที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- A_k = อิทธิพลของระยะเวลาการบ่มเนื้อที่ k , $k = 1, 2, 3, 4, 5$ และ 6 (1, 2, 3, 4, 5 และ 6 คือ การสุ่มตัวอย่างในระยะเวลาการบ่มเนื้อครั้งนี้ ตรวจสอบเนื้อเริ่มคั่นก่อนฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติกทดลองในวันแรก, ตรวจสอบเนื้อเริ่มคั่นหลังฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก 30 นาที ทดลองในวันแรก, 7, 14, 21 และ 28 วัน ตามลำดับ)
- $M_i * L_j$ = อิทธิพลร่วมของวิธีการบ่มเนื้อที่ i กับการใช้สารละลายกรดแลกติกที่ j
- $M_i * A_k$ = อิทธิพลร่วมของวิธีการบ่มเนื้อที่ i กับระยะเวลาการบ่มเนื้อที่ k
- $L_j * A_k$ = อิทธิพลร่วมของการใช้สารละลายกรดแลกติกที่ j กับระยะเวลาการบ่มเนื้อที่ k
- $M_i * L_j * A_k$ = อิทธิพลร่วมของวิธีการบ่มเนื้อที่ i กับการใช้สารละลายกรดแลกติกที่ j และระยะเวลาการบ่มเนื้อที่ k
- E_{ijk} = ค่าความคลาดเคลื่อน

3.6.3 ศึกษาอิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อและระยะเวลาในการบ่ม ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของ myofibrillar proteins ของเนื้อต้นนอกโค ลักษณะที่ศึกษาคือ ปริมาณ โปรตีนขนาดประมาณ 55 kDa, troponin-T และ troponin-T_{Product} โดยมีแบบหุนทางสถิติที่ใช้ในการศึกษาอิทธิพลของแต่ละปัจจัย ดังนี้

- $Y_{ijk} = \mu + M_i + A_j + M_i * A_j + E_{ijk}$
- เมื่อ Y_{ijk} = ค่าสังเกตของลักษณะที่ต้องการศึกษา ได้แก่ ปริมาณ โปรตีนขนาดประมาณ 55 kDa, troponin-T และ troponin-T_{Product}
- μ = ค่าเฉลี่ยทั้งหมดของค่าสังเกตที่ต้องการศึกษา
- M_i = อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อที่ i , $i = 1$ และ 2 (1 คือ การบ่มแบบดั้งเดิม และ 2 คือ การบ่มในถุงสุญญากาศ)
- A_j = อิทธิพลของระยะเวลาการบ่มเนื้อที่ j , $j = 1, 2, 3, 4$ และ 5 (1, 2, 3, 4 และ 5 คือ ระยะเวลาการบ่มเนื้อที่ 1, 7, 14, 21 และ 28 วัน)
- $M_i * A_j$ = อิทธิพลร่วมของวิธีการบ่มเนื้อที่ i กับระยะเวลาการบ่มเนื้อที่ j
- E_{ijk} = ค่าความคลาดเคลื่อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาการบ่ม ต่อคุณภาพของเนื้อสันนอกโค

จากการศึกษาพบว่าวิธีการบ่มเนื้อ มีผลต่อค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา และค่าแรงตัดผ่านเนื้อ การใช้สารละลายกรดแลกติก มีผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง และค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา ส่วนระยะเวลาการบ่ม มีผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าสี (L^* , a^* , b^*) และค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ดังแสดงในตารางที่ 4.1

การศึกษาครั้งนี้พบอิทธิพลร่วม ระหว่างวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติก มีผลต่อค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อ และระยะเวลาการบ่ม มีผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าสี (b^*) และค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ส่วนอิทธิพลร่วมระหว่างการใช้สารละลายกรดแลกติกและระยะเวลาการบ่ม มีผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่างของเนื้อ แต่ไม่พบอิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาการบ่ม ต่อลักษณะต่างๆ ของคุณภาพเนื้อสันนอกโค ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการปรุงสุก ค่าสี (L^* , a^* , b^*) และค่าแรงตัดผ่านเนื้อที่ทำการศึกษา ($P>0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.1

4.1.1 อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาการบ่ม ต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง ของเนื้อสันนอกโค

วิธีการบ่มเนื้อ ไม่มีผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่างของเนื้อ โดยไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ระหว่างเนื้อกลุ่มที่บ่มแบบดั้งเดิม กับเนื้อกลุ่มที่บ่มแบบบรรจุถุงสุญญากาศ ส่วนเนื้อโคกลุ่มที่ไม่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก มีค่าความเป็นกรด-ด่างเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการบ่ม ต่ำกว่าเนื้อโคกลุ่มที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 5.47 และ 5.50 ตามลำดับ และเมื่อระยะเวลาในการบ่มเนื้อนานขึ้น พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้นเล็กน้อยจากวันที่ 1 ของการบ่มเนื้อ โดยมีค่าเท่ากับ 5.44 ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับวันที่ 7, 21 และ 28 ของการบ่มเนื้อที่มีค่าเท่ากับ 5.50, 5.50 และ 5.55 ตามลำดับ แต่เมื่อเปรียบเทียบกับวันที่ 1 และวันที่ 14 ของการบ่มเนื้อ พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างของเนื้อ ไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ($P>0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.1

การศึกษาครั้งนี้ พบอิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มและระยะเวลาการบ่มเนื้อ ต่อค่าความเป็นกรด-ด่างของเนื้อ โดยเนื้อกลุ่มที่บ่มแบบดั้งเดิมกับกลุ่มที่บ่มในถุงสุญญากาศ มีความแตกต่างไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาการบ่มต่อคุณภาพของเนื้อสันนอก โค (LSM)

ลักษณะที่ศึกษา	วิธีการบ่ม		การใช้สารละลายกรดแลกติก		ระยะเวลาการบ่ม (Ageing time, A)						P-Value					
	(Ageing method, M)		(Lactic acid solution, L)													
	Dry	Wet	NL	L	1	7	14	21	28	M	L	A	M*L	M*A	L*A	M*L*A
ค่า pH	5.50	5.47	5.47 ^z	5.50 ^y	5.44 ^b	5.50 ^a	5.43 ^b	5.50 ^a	5.55 ^a	0.1215	0.0229	<.0001	0.6678	0.0305	0.006	0.1043
Drip loss, %	1.67 ^w	1.28 ^x	1.30 ^z	1.65 ^y	-	1.22	1.35	1.58	1.76	0.0186	0.0288	0.0797	0.0299	0.4994	0.9672	0.9548
Cooking loss, %	27.98	28.45	27.99	28.44	29.34	28.15	27.97	27.82	27.81	0.5140	0.5349	0.6359	0.5385	0.5247	0.7494	0.7350
ค่าสีของเนื้อ																
L*	40.49	41.03	40.85	40.67	39.58 ^c	41.60 ^a	41.47 ^a	40.14 ^{bc}	41.01 ^{bb}	0.0768	0.5397	<.0001	0.4306	0.1793	0.9226	0.7225
a*	25.05	24.79	25.17	24.68	22.42 ^c	24.92 ^b	26.24 ^a	25.36 ^b	25.67 ^{bb}	0.3196	0.0604	<.0001	0.3148	0.1059	0.4206	0.4781
b*	7.48	7.37	7.48	7.37	5.08 ^d	7.45 ^c	8.37 ^{ab}	7.84 ^{bc}	8.39 ^a	0.5085	0.4923	<.0001	0.5443	0.0302	0.302	0.3511
WBSF (kg)	4.32 ^x	4.61 ^w	4.47	4.46	6.93 ^a	4.73 ^b	4.12 ^c	3.15 ^d	3.41 ^d	<.0001	0.8082	<.0001	0.2032	<.0001	0.108	0.6474

LSM คือ Least Squares Means

^{wx} ตัวอักษรที่ต่างกัน ในแถวเดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

^{yz} ตัวอักษรที่ต่างกัน ในแถวเดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

^{abcde} ตัวอักษรที่ต่างกัน ในแถวเดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

NL คือ เนื้อ โคกลุ่มที่ ไม่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก

L คือ เนื้อ โคกลุ่มที่ ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์

WBSF คือ Warner Bratzler shear force (ค่าแรงตัดผ่านเนื้อ, กิโลกรัม)

- คือ ไม่ได้ทำการศึกษา

อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในวันที่ 28 ของการบ่มเนื้อ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 5.60 และ 5.50 ตามลำดับ แต่เนื้อในกลุ่มที่บ่มแบบดั้งเดิมกับกลุ่มที่บ่มในสุญญากาศ ไม่มีความแตกต่าง ($P > 0.05$) ของค่าความเป็นกรด-ด่างในเนื้อที่บ่ม 1, 7, 14 และ 21 วัน ดังแสดงในตารางที่ 4.2 นอกจากนี้ยังพบอิทธิพลร่วมระหว่างการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาการบ่มเนื้อ ต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างของเนื้อ ($P < 0.05$) โดยเนื้อในกลุ่มที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก และบ่มเป็นระยะเวลา 21 วัน มีค่าความเป็นกรด-ด่างสูงที่สุด (5.58) ดังแสดงในตารางที่ 4.3 แต่ไม่พบอิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาการบ่ม ต่อค่าความเป็นกรด-ด่างในเนื้อที่ทำการศึกษา ($P > 0.05$) ดังแสดงในตารางภาคผนวก ค ที่ 2

ตารางที่ 4.2 อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อและระยะเวลาการบ่ม ต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของเนื้อสันนอกโค (LSM±SE)

ระยะเวลา (วัน)	วิธีการบ่ม	
	บ่มแบบดั้งเดิม	บ่มในถุงสุญญากาศ
1	5.43±0.03 ^{cd}	5.44±0.03 ^{cd}
7	5.52±0.03 ^b	5.48±0.03 ^{bc}
14	5.46±0.03 ^{bcd}	5.40±0.03 ^d
21	5.47±0.03 ^{bcd}	5.53±0.03 ^{ab}
28	5.60±0.03 ^a	5.50±0.03 ^{bc}

^{abcd} ตัวอักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

LSM = Least Squares Means, SE = Standard Error

ตารางที่ 4.3 อิทธิพลร่วมระหว่างการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาการบ่ม ต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของเนื้อสันนอกโค (LSM±SE)

ระยะเวลา (วัน)	การใช้สารละลายกรดแลกติก	
	ไม่ใช้กรดแลกติก	ใช้กรดแลกติก
1	5.42±0.03 ^d	5.46±0.03 ^c
7	5.50±0.03 ^{bc}	5.50±0.03 ^{bc}
14	5.44±0.03 ^{cd}	5.42±0.03 ^d
21	5.42±0.03 ^d	5.58±0.03 ^a
28	5.55±0.03 ^{ab}	5.55±0.03 ^{ab}

^{abcd} ตัวอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

LSM = Least Squares Means, SE = Standard Error

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.2 อิทธิพลของวิธีการบ่มร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาการบ่ม ต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการรักษา ของเนื้อสันนอกโค

อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อ มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการรักษา ซึ่งเนื้อโคกลุ่มที่บ่มแบบดั้งเดิม มีค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการรักษา สูงกว่าเนื้อโคในกลุ่มที่บ่มในถุงสุญญากาศอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 1.67 และ 1.28 ตามลำดับ และยังพบว่าเนื้อโคกลุ่มที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก มีค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการรักษา สูงกว่ากลุ่มที่ไม่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก ($P < 0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 1.65 และ 1.30 ตามลำดับ ส่วนอิทธิพลของระยะเวลาการบ่ม ไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการรักษา แต่มีแนวโน้มว่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก ในระหว่างการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาการบ่มนานขึ้น ($P = 0.0797$) โดยมีค่าเท่ากับ 1.22, 1.35, 1.58 และ 1.76 เปอร์เซ็นต์ ตามระยะเวลาการบ่มที่ 7, 14, 21 และ 28 วัน ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.1

การศึกษาครั้งนี้ พบอิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อและการใช้สารละลายแลกติก โดยเนื้อกลุ่มที่บ่มแบบดั้งเดิมและไม่ใช้สารละลายกรดแลกติก กลุ่มที่บ่มแบบดั้งเดิมและใช้สารละลายกรดแลกติก และเนื้อกลุ่มที่บ่มในถุงสุญญากาศและใช้สารละลายกรดแลกติก มีค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการรักษาไม่แตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$) ขณะที่เนื้อกลุ่มที่บ่มในถุงสุญญากาศและไม่ใช้สารละลายกรดแลกติก มีค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการรักษาต่ำที่สุด 0.93 เปอร์เซ็นต์ และมีค่าแตกต่างจากเนื้อกลุ่มที่ บ่มแบบดั้งเดิมและไม่ใช้สารละลายกรดแลกติก กลุ่มที่บ่มแบบดั้งเดิมและใช้สารละลายกรดแลกติก และเนื้อกลุ่มที่บ่มในถุงสุญญากาศและใช้สารละลายกรดแลกติก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.4 อย่างไรก็ตาม ไม่พบอิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาการบ่ม ต่อค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการรักษา ในเนื้อที่ทำการศึกษา ($P > 0.05$) ดังแสดงในตารางภาคผนวก ค ที่ 5

ตารางที่ 4.4 อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อและการใช้สารละลายกรดแลกติก ต่อค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการรักษา (% drip loss) ของเนื้อสันนอกโค (LSM±SE)

วิธีการบ่ม	การใช้สารละลายกรดแลกติก	
	ไม่ใช้กรดแลกติก	ใช้กรดแลกติก
บ่มแบบดั้งเดิม	1.66±0.16 ^a	1.67±0.16 ^a
บ่มในถุงสุญญากาศ	0.93±0.16 ^b	1.64±0.16 ^a

^{a,b} ตัวอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

LSM = Least Squares Means, SE = Standard Error

4.1.3 อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาการบ่ม ต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการปรุงสุก ของเนื้อสันนอกโค

อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อ การใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาการบ่ม ไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการปรุงสุก ($P>0.05$) สำหรับวิธีการบ่มเนื้อแบบดั้งเดิม และบ่มเนื้อในถุงสุญญากาศ ซึ่งอิทธิพลของการบ่มเนื้อ มีค่าเท่ากับ 27.98 และ 28.45 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ อิทธิพลของการใช้สารละลายกรดแลกติก และไม่ใช้สารละลายกรดแลกติก ซึ่งมีค่าเท่ากับ 28.44 และ 27.99 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนอิทธิพลของระยะเวลาการบ่ม มีค่าเท่ากับ 29.34, 28.15, 27.97, 27.82 และ 27.81 เปอร์เซ็นต์ ตามระยะเวลาการบ่มที่ 1, 7, 14, 21 และ 28 วัน ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.1

นอกจากนี้ยังไม่พบอิทธิพลร่วม ระหว่างวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาในการบ่ม ต่อค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการปรุงสุก ในเนื้อที่ทำการศึกษา ($P>0.05$) ดังแสดงในตารางภาคผนวก ค ที่ 9

4.1.4 อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาการบ่ม ต่อค่าสีของเนื้อสันนอกโค

4.1.4.1 ค่าความสว่าง (lightness, L^*)

อิทธิพลของวิธีการบ่ม และอิทธิพลการใช้สารละลายกรดแลกติก พบว่าไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่า L^* ของเนื้อ สำหรับในส่วนของระยะเวลาการบ่มที่แตกต่างกัน พบว่ามีอิทธิพลต่อค่า L^* โดยที่ระยะเวลาในการบ่มเนื้อมานานขึ้น ค่า L^* มีค่าเพิ่มขึ้น (เนื้อมีสีซีดมากขึ้น) ซึ่งในวันที่ 1 ของการบ่มเนื้อค่า L^* มีค่าเท่ากับ 39.58 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับวันที่ 7, 14 และ 28 ของการบ่มเนื้อที่มีค่าเท่ากับ 41.60, 41.47 และ 41.01 ตามลำดับ แต่เมื่อเปรียบเทียบกับวันที่ 1 กับวันที่ 21 ของการบ่มเนื้อค่า L^* ของเนื้อไม่แตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 39.58 และ 40.14 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.1 ส่วนอิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาการบ่ม ไม่มีผลต่อค่า L^* ของเนื้อสันนอกโค ($P>0.05$) ดังแสดงในตารางภาคผนวก ค ที่ 13

4.1.4.2 ค่าสีแดง (redness, a^*)

จากการศึกษาพบว่าอิทธิพลของวิธีการบ่ม และอิทธิพลของการใช้สารละลายกรดแลกติก ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่า a^* ($P>0.05$) ของเนื้อตลอดระยะเวลาการบ่ม ส่วนระยะเวลาการบ่มเนื้อ มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่า a^* ของเนื้อ พบว่าค่า a^* ของเนื้อ ที่บ่มในวันที่ 1 มีค่าต่ำสุด (22.42) เมื่อเทียบกับเนื้อที่บ่มเป็นระยะเวลา 7, 14, 21 และ 28 วัน โดยมีค่าเท่ากับ 24.92, 26.24, 25.36 และ 25.67 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ส่วนเนื้อที่บ่มเป็นระยะเวลา 14 วัน พบว่าค่า a^* ของเนื้อ มีค่าสูงสุด โดยมีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

($P < 0.05$) กับเนื้อที่บ่มเป็นระยะเวลา 1, 7 และ 21 วัน แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับเนื้อที่ บ่ม เป็นระยะเวลา 28 วัน นอกจากนี้ค่า a^* ของเนื้อที่บ่มเป็นระยะเวลา 7 วัน ไม่มีความแตกต่างในทาง สถิติ กับเนื้อที่บ่มเป็นระยะเวลา 21 วัน ($P > 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.1

การศึกษานี้ไม่พบอิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มร่วมกับการใช้สารละลายกรด แลกดก และระยะเวลาการบ่ม ต่อค่า a^* ของเนื้อที่ทำการศึกษา ($P > 0.05$) ดังแสดงในตาราง ภาคผนวก ค ที่ 17

4.1.4.3 ค่าสีเหลือง (yellowness, b^*)

อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อ และอิทธิพลของการใช้สารละลายกรดแลกดก ไม่มี ผลต่อค่า b^* ของเนื้อ ($P > 0.05$) ส่วนอิทธิพลของระยะเวลาการบ่ม มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่า b^* ของเนื้อ โดยพบว่าค่า b^* ของเนื้อ ที่บ่มเป็นระยะเวลา 28 วัน มีค่าสูงสุดโดยมีค่าเท่ากับ 8.39 ซึ่ง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับเนื้อที่บ่มเป็นระยะเวลา 1, 7 และ 21 วัน โดยมีค่าเท่ากับ 5.08, 7.45 และ 7.84 ตามลำดับ แต่เนื้อที่บ่มเป็นระยะเวลา 28 วัน ไม่พบความ แตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$) กับเนื้อที่บ่มเป็นระยะเวลา 14 วัน โดยมีค่าเท่ากับ 8.37 ค่า b^* ของเนื้อที่ บ่มในวันที่ 1 มีค่าต่ำที่สุด เมื่อเทียบกับระยะเวลาการบ่มเนื้อในวันอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ($P < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.1

นอกจากนี้ยังพบว่าอิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อและระยะเวลาการบ่ม มี ผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่า b^* ของเนื้อ โดยพบว่า ในวันที่ 1 ของการบ่มเนื้อค่า b^* มีค่าต่ำสุด ทั้งการ บ่มแบบดั้งเดิมและการบ่มในถุงสุญญากาศ แต่ค่า b^* ในการบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมและแบบในถุง สุญญากาศมีค่าสูงสุด ในระยะเวลาบ่มที่ 28 และ 14 วันของการบ่ม โดยมีค่าเท่ากับ 8.51 และ 8.58 สำหรับการบ่มเนื้อแบบดั้งเดิม และการบ่มแบบบรรจุในถุงสุญญากาศ ตามลำดับ ดังแสดงในตาราง ที่ 4.5 การทดลองครั้งนี้ไม่พบอิทธิพลร่วมระหว่าง วิธีการบ่มร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกดก และระยะเวลาการบ่ม ต่อค่า b^* ของเนื้อที่ทำการศึกษา ($P > 0.05$) ดังแสดงในตารางภาคผนวก ค ที่ 20

4.1.5 อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกดก และระยะเวลาการบ่ม

ต่อค่าแรงตัดผ่าน ของเนื้อสันนอกโค

อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อ มีผลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ เนื้อโคที่บ่มแบบดั้งเดิมมีความนุ่ม กว่าเนื้อกลุ่มที่บ่มในถุงสุญญากาศ โดยมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อ 4.32 กิโลกรัม ซึ่งมีค่าต่ำกว่าเนื้อที่บ่มใน ถุงสุญญากาศ 4.61 กิโลกรัม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่ในการศึกษาครั้งนี้ ไม่พบ อิทธิพลของการใช้สารละลายกรดแลกดกและไม่ใช่ ต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ($P > 0.05$) อย่างไรก็ตาม อิทธิพลของระยะเวลาการบ่ม มีผลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ โดยเนื้อนุ่มมากขึ้นเมื่อระยะเวลาการบ่ม เพิ่มขึ้น จากการทดลองพบว่า ค่าแรงตัดผ่านเนื้อมีค่าลดลง ตามระยะเวลาการบ่มจากวันที่ 1, 7, 14 เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และ 21 วัน โดยมีค่าเท่ากับ 6.93, 4.73, 4.12 และ 3.15 กิโลกรัม ตามลำดับ ซึ่งเนื้อที่บ่มเป็นระยะเวลา 28 วัน มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อเท่ากับ 3.41 กิโลกรัม สูงกว่าเนื้อที่บ่มเป็นระยะเวลา 21 วัน แต่เนื้อที่บ่มเป็นระยะเวลา 28 วัน มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำกว่าเนื้อที่บ่ม 1, 7 และ 14 วัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.5 อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อและระยะเวลาการบ่ม ต่อค่าสีเหลือง (yellowness, b^*) ของเนื้อสันนอกโค (LSM \pm SE)

ระยะเวลา (วัน)	วิธีการบ่ม	
	บ่มแบบดั้งเดิม	บ่มในถุงสุญญากาศ
1	5.28 \pm 0.27 ^d	4.88 \pm 0.27 ^d
7	7.15 \pm 0.27 ^c	7.76 \pm 0.27 ^{bc}
14	8.16 \pm 0.27 ^{ab}	8.58 \pm 0.27 ^a
21	8.32 \pm 0.27 ^{ab}	7.36 \pm 0.27 ^c
28	8.51 \pm 0.27 ^a	8.27 \pm 0.27 ^{ab}

^{abcd} ตัวอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

LSM = Least Squares Means, SE = Standard Error

ตารางที่ 4.6 อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อและระยะเวลาการบ่ม ต่อค่าแรงตัดผ่าน (shear force ; kg.) เนื้อสันนอกโค (LSM \pm SE)

ระยะเวลา (วัน)	วิธีการบ่ม	
	บ่มแบบดั้งเดิม	บ่มในถุงสุญญากาศ
1	6.50 \pm 0.11 ^b	7.36 \pm 0.11 ^a
7	4.62 \pm 0.11 ^c	4.84 \pm 0.11 ^c
14	4.24 \pm 0.10 ^d	3.99 \pm 0.10 ^d
21	3.06 \pm 0.11 ^f	3.23 \pm 0.11 ^f
28	3.20 \pm 0.10 ^f	3.61 \pm 0.10 ^c

^{abcdef} ตัวอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

LSM = Least Squares Means, SE = Standard Error

ในการศึกษาครั้งนี้พบอิทธิพลร่วมระหว่าง วิธีการบ่มเนื้อและระยะเวลาการบ่ม โดย วิธีการบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมและบ่มเนื้อในถุงสุญญากาศ มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำสุดในระยะเวลาบ่มที่ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาติให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

21 วัน โดยมีค่าเท่ากับ 3.06 และ 3.23 กิโลกรัม ตามลำดับ ($P<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับระยะเวลาการบ่มที่ 1, 7 และ 14 วัน ของทั้ง 2 วิธีการบ่ม แต่เมื่อบ่มเนื้อที่ 28 วัน ค่าแรงตัดผ่านของวิธีการบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมและการบ่มเนื้อในถุงสุญญากาศ มีค่าสูงกว่าเนื้อที่บ่ม 21 วัน โดยมีค่าเท่ากับ 3.20 และ 3.61 กิโลกรัม ตามลำดับ และเนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศที่ 28 วัน มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อสูงกว่าเนื้อที่บ่มเป็นระยะเวลา 21 วัน ($P<0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.6 ไม่พบอิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาการบ่ม ต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ($P>0.05$) ดังแสดงในตารางภาคผนวก ค ที่ 23

4.2 อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาการบ่ม ต่อจำนวนจุลินทรีย์ ของเนื้อสันนอกโค

จากการศึกษาพบว่า วิธีการบ่มเนื้อมีผลต่อจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลกติก และโคลิฟอร์มทั้งหมด การใช้สารละลายกรดแลกติก มีผลต่อจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด จุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในที่อุณหภูมิต่ำ และโคลิฟอร์มทั้งหมด ส่วนระยะเวลาการบ่มมีผลต่อ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลกติก จุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในที่อุณหภูมิต่ำ และโคลิฟอร์มทั้งหมด ดังแสดงในตารางที่ 4.7

การศึกษาค้นคว้าพบอิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อ และระยะเวลาการบ่มมีผลต่อจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และแบคทีเรียกรดแลกติก ส่วนอิทธิพลร่วมระหว่างการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาการบ่ม มีผลต่อจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด จุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในที่อุณหภูมิต่ำ และโคลิฟอร์มทั้งหมด จากการศึกษาค้นคว้ายังพบอิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาการบ่ม มีผลต่อจำนวนโคลิฟอร์มทั้งหมด ($P<0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.7

4.2.1 อิทธิพลของการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาการบ่ม ต่อจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ของเนื้อสันนอกโค

พบว่าวิธีการบ่มเนื้อ มีอิทธิพลต่อจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดของเนื้อสันนอกโค ซึ่งเนื้อโคกลุ่มที่บ่มแบบดั้งเดิม มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดต่ำกว่าเนื้อโคกลุ่มที่บ่มในถุงสุญญากาศ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 4.29 และ 5.23 log cfu/g ตามลำดับ การใช้สารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ (v/v) สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ในเนื้อสันนอกโคได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยในกลุ่มที่ไม่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ 5.12 log cfu/g ส่วนกลุ่มที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก มีค่าเท่ากับ 4.40 log cfu/g (ตารางที่ 4.7) และยังพบว่าอิทธิพลของระยะเวลาในการบ่มเนื้อ มีผลต่อจำนวน

ตารางที่ 4.7 อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลคติก และระยะเวลาการบ่มต่อจำนวนจุลินทรีย์ของเนื้อสันนอกโค (LSM)

ลักษณะที่ศึกษา	วิธีการบ่ม		การใช้สารละลายกรดแลคติก		ระยะเวลาการบ่ม (Ageing time, A)						P-Value						
	(Ageing method, M)		(Lactic acid solution, L)														
	Dry	Wet	NL	L	B	A	7	14	21	28	M	L	A	M*L	M*A	L*A	M*L*A
จุลินทรีย์ทั้งหมด	4.29 ^x	5.23 ^w	5.12 ^y	4.40 ^z	3.72 ^d	3.83 ^d	4.16 ^d	4.71 ^c	5.54 ^b	6.60 ^a	<.0001	<.0001	<.0001	0.9233	0.0023	0.0063	0.3333
แบคทีเรียกรดแลคติก	2.03 ^x	2.52 ^w	2.40	2.16	2.25 ^{bc}	2.19 ^{bc}	2.16 ^c	2.58 ^{ab}	2.72 ^a	1.76 ^d	<.0001	0.0500	0.0001	0.8992	0.0005	0.1712	0.9017
จุลินทรีย์อุณหภูมิต่ำ	6.11	6.27	6.40 ^y	5.98 ^z	4.24 ^d	3.69 ^a	5.80 ^c	7.04 ^b	7.98 ^a	8.39 ^a	0.2181	0.0017	<.0001	0.1655	0.1742	0.0093	0.2520
โคลิฟอร์มทั้งหมด	1.49 ^x	2.12 ^w	2.18 ^y	1.43 ^z	3.22 ^a	2.36 ^b	1.55 ^c	0.86 ^d	1.49 ^c	1.33 ^{cd}	0.0001	<.0001	<.0001	0.5304	0.0578	0.0340	0.0076
<i>E. coli</i>	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	<ld	-	-	-	-	-	-	-

LSM คือ Least Squares Means

< ld คือ < limit of detection

^x ตัวอักษรที่ต่างกันแถวเดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

^y ตัวอักษรที่ต่างกันแถวเดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

^{abcd} ตัวอักษรที่ต่างกันแถวเดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

NL คือ เนื้อ โคกลุ่มที่ไม่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก

L คือ เนื้อ โคกลุ่มที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์

B คือ สุ่มตรวจตัวอย่าง ก่อนฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก ในการทดลองวันที่ 1

A คือ สุ่มตรวจตัวอย่าง หลังฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก 30 นาที ในการทดลองวันที่ 1

- คือ ไม่ได้วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

จุลินทรีย์ทั้งหมดบนเนื้อสันนอกโค ซึ่งเมื่อระยะเวลาในการบ่มเนื้อมานานขึ้น ทำให้จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นตามไปด้วย โดยเนื้อกลุ่มที่สุ่มตรวจจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดก่อนการฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก ในวันแรกของการทดลองมีจำนวนจุลินทรีย์รวมต่ำที่สุด $3.72 \log \text{ cfu/g}$ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดของเนื้อที่บ่มในวันที่ 14, 21 และ 28 มีค่าเท่ากับ 4.71, 5.54 และ $6.60 \log \text{ cfu/g}$ ตามลำดับ แต่เมื่อเปรียบเทียบจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดของเนื้อกลุ่มที่สุ่มตรวจจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดก่อนการฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติกในวันแรกของการทดลอง โดยมีค่าไม่แตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$) กับเนื้อกลุ่มที่สุ่มหลังฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก 30 นาที และวันที่ 7 ของการบ่มเนื้อ ดังแสดงในตารางที่ 4.7

นอกจากนี้ยังพบอิทธิพลร่วม ระหว่างวิธีการบ่มและระยะเวลาในการบ่มเนื้อต่อ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด เมื่อเปรียบเทียบเนื้อโคทั้ง 2 วิธีการบ่ม พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในวันที่ 14, 21 และ 28 ของการบ่มเนื้อ โดยเนื้อกลุ่มที่บ่มแบบดั้งเดิมมีค่าเท่ากับ 4.01, 4.48 และ $6.04 \log \text{ cfu/g}$ ตามลำดับ ส่วนเนื้อกลุ่มที่บ่มในถุงสุญญากาศ มีค่าเท่ากับ 5.42, 6.60 และ $7.16 \log \text{ cfu/g}$ ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าเนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิมจะมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ต่ำกว่าเนื้อกลุ่มที่บ่มในถุงสุญญากาศทุกระยะเวลาการบ่ม ดังแสดงในตารางที่ 4.8

สำหรับอิทธิพลร่วมระหว่างการใช้สารละลายกรดแลคติก และระยะเวลาการบ่มเนื้อต่อ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด เมื่อเปรียบเทียบเนื้อโคทั้ง 2 กลุ่ม (กลุ่มที่ไม่ฉีดพ่นสารละลายกรดแลคติก และกลุ่มที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก) พบว่ามีค่าไม่แตกต่างทางสถิติในเนื้อที่สุ่มตรวจก่อนฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก แต่หลังจากฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก 30 นาที มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ระหว่างเนื้อกลุ่มที่ไม่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก มีค่าเท่ากับ $4.52 \log \text{ cfu/g}$ ซึ่งมีค่าสูงกว่าเนื้อกลุ่มที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก มีค่าเท่ากับ $3.13 \log \text{ cfu/g}$ ในวันที่ 14 และ 28 ของการบ่มเนื้อ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ระหว่างเนื้อกลุ่มที่ไม่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก มีค่า 5.14 และ $7.45 \log \text{ cfu/g}$ ตามลำดับ ส่วนเนื้อกลุ่มฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติกมีค่า 4.28 และ $5.75 \log \text{ cfu/g}$ ตามลำดับ แต่ในวันที่ 7 และ 21 ของการบ่มเนื้อ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$) ระหว่างเนื้อกลุ่มที่ไม่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก และเนื้อกลุ่มที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก (ตารางที่ 4.9) การศึกษาครั้งนี้ไม่พบอิทธิพลร่วม ระหว่างวิธีการบ่มเนื้อรวมกับการใช้สารละลายกรดแลคติก และระยะเวลาการบ่ม ต่อจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในเนื้อที่ทำการศึกษา ($P > 0.05$) ดังแสดงในตารางภาคผนวก ค ที่ 25

ตารางที่ 4.8 อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อและระยะเวลาการบ่ม ต่อจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (total microbial count ; log cfu/g) ของเนื้อสันนอก โค (LSM±SE)

ระยะเวลา (วัน)	วิธีการการบ่ม	
	บ่มแบบดั้งเดิม	บ่มในถุงสุญญากาศ
ก่อนฉีดพ่น	3.65±0.26 ^{ef}	3.79±0.26 ^{def}
หลังฉีดพ่น	3.59±0.25 ^f	4.06±0.25 ^{def}
7	3.96±0.26 ^{def}	4.36±0.29 ^{de}
14	4.01±0.26 ^{def}	5.42±0.27 ^c
21	4.48±0.30 ^d	6.60±0.24 ^{ab}
28	6.04±0.29 ^{bc}	7.16±0.29 ^a

^{abcdef} ตัวอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

LSM = Least Squares Means, SE = Standard Error

ก่อนฉีดพ่นและหลังฉีดพ่นเป็นการทดลองในวันที่ 1

ตารางที่ 4.9 อิทธิพลร่วมระหว่างการใช้สารละลายกรดแลคติกและระยะเวลาการบ่ม ต่อจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (total microbial count ; log cfu/g) ของเนื้อสันนอก โค (LSM±SE)

ระยะเวลา (วัน)	การใช้สารละลายกรดแลคติก	
	ไม่ใช้กรดแลคติก	ใช้กรดแลคติก
ก่อนฉีดพ่น	3.77±0.26 ^{ef}	3.67±0.26 ^{ef}
หลังฉีดพ่น	4.52±0.26 ^{cd}	3.13±0.24 ^f
7	4.14±0.27 ^{de}	4.19±0.28 ^{de}
14	5.14±0.25 ^{bc}	4.28±0.28 ^{de}
21	5.70±0.28 ^b	5.38±0.27 ^b
28	7.45±0.29 ^a	5.75±0.29 ^b

^{abcdef} ตัวอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

LSM = Least Squares Means, SE = Standard Error

ก่อนฉีดพ่นและหลังฉีดพ่นเป็นการทดลองในวันที่ 1

4.2.2 อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาการบ่ม ต่อจำนวนแบคทีเรียกรดแลกติก ของเนื้อสันนอกโค

จากการทดลองพบว่า อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อ การใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาบ่ม มีอิทธิพลต่อจำนวนแบคทีเรียกรดแลกติกของเนื้อสันนอกโค โดยเนื้อโคกลุ่มที่บ่มแบบดั้งเดิม มีจำนวนแบคทีเรียกรดแลกติกต่ำกว่า เนื้อโคกลุ่มที่บ่มในถุงสุญญากาศ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 2.03 และ 2.52 log cfu/g ตามลำดับ

พบว่าเนื้อกลุ่มที่ไม่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก มีจำนวนแบคทีเรียกรดแลกติกสูงกว่าเนื้อกลุ่มที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก โดยมีค่าเท่ากับ 2.40 และ 2.16 log cfu/g ตามลำดับ ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.7 ส่วนอิทธิพลของระยะเวลาการบ่มเนื้อพบว่าเนื้อในกลุ่มที่สุ่มตรวจแบคทีเรียกรดแลกติก ก่อนการฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก ในวันแรกของการทดลอง มีจำนวนแบคทีเรียกรดแลกติกเท่ากับ 2.25 log cfu/g ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับวันที่ 21 และ 28 ของการบ่มเนื้อ มีค่าเท่ากับ 2.72 และ 1.76 log cfu/g ตามลำดับ แต่ในกลุ่มที่สุ่มตรวจแบคทีเรียกรดแลกติก ก่อนการฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติกในวันแรกของการทดลอง มีค่าไม่แตกต่างทางสถิติกับเนื้อกลุ่มหลังฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก 30 นาที, วันที่ 7 และ 14 ของการบ่มเนื้อ มีค่าเท่ากับ 2.19, 2.16 และ 2.58 log cfu/g ตามลำดับ นอกจากนี้จำนวนแบคทีเรียกรดแลกติก มีค่าสูงที่สุดในวันที่ 21 ของการบ่มเนื้อ แต่ไม่แตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$) กับวันที่ 14 ของการบ่มเนื้อ ดังแสดงในตารางที่ 4.7

จากการศึกษาพบว่าเมื่ออิทธิพลร่วม ระหว่างวิธีการบ่มและระยะเวลาการบ่ม ต่อจำนวนแบคทีเรียกรดแลกติก ของเนื้อสันนอกโค มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบเนื้อกลุ่มที่บ่มแบบดั้งเดิม กับบ่มในถุงสุญญากาศ วันที่ 14, 21 และ 28 ของการบ่มเนื้อ โดยเนื้อกลุ่มที่บ่มแบบดั้งเดิมมีค่าเท่ากับ 2.28, 1.90 และ 1.38 log cfu/g ตามลำดับ ส่วนเนื้อกลุ่มที่บ่มในถุงสุญญากาศมีค่าเท่ากับ 2.88, 3.54 และ 2.14 log cfu/g ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าเนื้อกลุ่มที่บ่มแบบดั้งเดิม จะมีจำนวนแบคทีเรียกรดแลกติกต่ำกว่า เนื้อโคที่บ่มในถุงสุญญากาศ ในวันที่ 14, 21 และ 28 ของการบ่มเนื้อ แต่เมื่อเปรียบเทียบเนื้อกลุ่มที่บ่มแบบดั้งเดิม กับกลุ่มที่บ่มในถุงสุญญากาศ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$) ในเนื้อกลุ่มที่สุ่มตรวจจำนวนแบคทีเรียกรดแลกติกก่อนฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก, กลุ่มหลังฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก 30 นาที และ วันที่ 7 ของการบ่มเนื้อ (ตารางที่ 4.10) นอกจากนี้ยังไม่พบอิทธิพลร่วม ระหว่างวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาการบ่ม ต่อจำนวนแบคทีเรียกรดแลกติก ในเนื้อที่ทำการศึกษา ($P > 0.05$) ดังแสดงในตารางภาคผนวก ค ที่ 28

ตารางที่ 4.10 อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อและระยะเวลาการบ่ม ต่อจำนวนแบคทีเรียกรดแลกติก (lactic acid bacteria ; log cfu/g) ของเนื้อสันนอกโค (LSM±SE)

ระยะเวลา (วัน)	วิธีการบ่ม	
	บ่มแบบดั้งเดิม	บ่มในถุงสุญญากาศ
ก่อนฉีดพ่น	2.34±0.22 ^{bc}	2.17±0.22 ^c
หลังฉีดพ่น	2.16±0.23 ^c	2.21±0.21 ^c
7	2.13±0.21 ^c	2.19±0.20 ^c
14	2.28±0.21 ^c	2.88±0.20 ^b
21	1.90±0.22 ^{cd}	3.54±0.22 ^a
28	1.38±0.20 ^d	2.14±0.21 ^c

^{abc} ตัวอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

LSM = Least Squares Means, SE = Standard Error

ก่อนฉีดพ่นและหลังฉีดพ่นเป็นการทดลองในวันที่ 1

4.2.3 อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาการบ่ม

ต่อจำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ ของเนื้อสันนอกโค

จากตารางที่ 4.7 พบว่าวิธีการบ่มเนื้อไม่มีผลต่อ จำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ ของเนื้อสันนอกโค ($P > 0.05$) ระหว่างจำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในอุณหภูมิต่ำ ในเนื้อกลุ่มที่บ่มแบบดั้งเดิม และเนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศโดยมีค่าเท่ากับ 6.11 และ 6.27 log cfu/g ตามลำดับ การใช้สารละลายกรดแลกติกพบว่า มีผลต่อจำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในอุณหภูมิต่ำ โดยเนื้อกลุ่มที่ไม่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก มีจำนวนจุลินทรีย์สูงกว่าเนื้อกลุ่มที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก โดยมีค่าเท่ากับ 6.40 และ 5.98 log cfu/g ตามลำดับ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และยังพบว่าเมื่อระยะเวลาในการบ่มเนื้อนานขึ้น จำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ดีในอุณหภูมิต่ำเพิ่มสูงขึ้น แต่จำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในอุณหภูมิต่ำของเนื้อภายหลังฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก 30 นาที มีจำนวนลดลงมีค่าเท่ากับ 3.69 log cfu/g เมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อก่อนฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก ซึ่งมีค่าเท่ากับ 4.24 log cfu/g ($P < 0.05$) แต่เมื่อวันที่ 7, 14, 21 และ 28 ของการบ่ม มีค่าเท่ากับ 5.80, 7.04, 7.98 และ 8.39 log cfu/g ตามลำดับ มีค่าสูงกว่าเนื้อก่อนฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก ในวันแรกของการทดลอง ($P < 0.05$)

การทดลองนี้พบว่า มีอิทธิพลร่วมระหว่างการใช้สารละลายกรดแลกติกและระยะเวลาการบ่มเนื้อ ต่อจำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในอุณหภูมิต่ำของเนื้อสันนอกโค เมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อโค 2 กลุ่ม (กลุ่มที่ไม่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก และกลุ่มที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรด

แลกติก) พบว่าหลังจากฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก 30 นาที เนื้อในกลุ่มที่ไม่ฉีดพ่นด้วยเนื้อไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารละลายกรดแลคติก มีจำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในอุณหภูมิต่ำ สูงกว่าเนื้อกลุ่มที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก โดยมีค่าเท่ากับ 4.14 และ 3.24 log cfu/g ตามลำดับ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ส่วนในวันที่ 14 ของการบ่มเนื้อ กลุ่มที่ไม่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก มีจำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในอุณหภูมิต่ำ สูงกว่าเนื้อกลุ่มที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก ซึ่งมีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบเนื้อกลุ่มที่ไม่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก และเนื้อกลุ่มที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$) ในเนื้อกลุ่มก่อนฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก, 7, 21 และ 28 วันของการบ่มเนื้อ โดยเนื้อกลุ่มที่ไม่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก มีจำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในอุณหภูมิต่ำเท่ากับ 4.01, 5.92, 8.31 และ 8.46 log cfu/g ตามลำดับ และเนื้อกลุ่มที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก มีจำนวนจุลินทรีย์เท่ากับ 4.47, 5.67, 7.65 และ 8.32 log cfu/g ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าเมื่อระยะเวลาการบ่มเนื้อเพิ่มขึ้น จำนวนจุลินทรีย์อุณหภูมิต่ำมีค่าสูงขึ้น ตามระยะเวลาการบ่มในเนื้อทั้ง 2 กลุ่ม (กลุ่มที่ไม่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก และกลุ่มที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก) อย่างไรก็ตามเนื้อในกลุ่มที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก มีจำนวนจุลินทรีย์อุณหภูมิต่ำน้อยกว่า เนื้อกลุ่มที่ไม่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก ทุกระยะเวลาการบ่ม (ตารางที่ 4.11) ไม่พบอิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อพร้อมกับการใช้สารละลายกรดแลคติก และระยะเวลาการบ่ม ต่อจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในอุณหภูมิต่ำ ในเนื้อที่ทำการศึกษา ($P > 0.05$) ดังแสดงในตารางภาคผนวก ค ที่ 31

ตารางที่ 4.11 อิทธิพลร่วมระหว่างการใช้สารละลายกรดแลคติก และระยะเวลาการบ่มต่อ จำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ (psychotropic bacteria ; log cfu/g) ของเนื้อสันนอกโค (LSM \pm SE)

ระยะเวลา (วัน)	การใช้สารละลายกรดแลคติก	
	ไม่ใช้กรดแลคติก	ใช้กรดแลคติก
ก่อนฉีดพ่น	4.01 \pm 0.22 ^f	4.47 \pm 0.21 ^f
หลังฉีดพ่น	4.14 \pm 0.21 ^f	3.24 \pm 0.20 ^e
7	5.92 \pm 0.23 ^{dc}	5.67 \pm 0.21 ^e
14	7.54 \pm 0.23 ^c	6.53 \pm 0.22 ^d
21	8.31 \pm 0.22 ^{ab}	7.65 \pm 0.23 ^{bc}
28	8.46 \pm 0.26 ^a	8.32 \pm 0.27 ^{ab}

^{abcde f g} ตัวอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

LSM = Least Squares Means, SE = Standard Error

ก่อนฉีดพ่นและหลังฉีดพ่นเป็นการทดลองในวันที่ 1 เอกสารฉบับนี้จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการเรียนการสอนเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.4 อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาการบ่ม ต่อจำนวนโคลิฟอร์มทั้งหมด ของเนื้อสันนอกโค

พบว่าอิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อมีผลต่อจำนวนเชื้อโคลิฟอร์มทั้งหมดของเนื้อสันนอกโค โดยเนื้อกลุ่มที่บ่มแบบดั้งเดิม มีจำนวนเชื้อโคลิฟอร์มทั้งหมดต่ำกว่า เนื้อกลุ่มที่บ่มในถุงสุญญากาศ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) มีค่าเท่ากับ 1.49 และ 2.12 log cfu/g ตามลำดับ (ตารางที่ 4.7) อิทธิพลของการใช้สารละลายกรดแลกติก มีผลต่อจำนวนเชื้อโคลิฟอร์มทั้งหมดของเนื้อสันนอกโค เนื้อโคกลุ่มที่ไม่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก มีจำนวนเชื้อโคลิฟอร์มทั้งหมดสูงกว่าเนื้อโคกลุ่มที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 2.18 และ 1.43 log cfu/g ตามลำดับ (ตารางที่ 4.7)

อิทธิพลของระยะเวลาการบ่มเนื้อ มีผลต่อจำนวนเชื้อโคลิฟอร์มทั้งหมด โดยเนื้อกลุ่มที่สุ่มตรวจเชื้อโคลิฟอร์มทั้งหมดก่อนการฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติกในวันแรกของการทดลอง (สุ่มตรวจเชื้อเริ่มต้น) ตรวจพบจำนวนโคลิฟอร์มทั้งหมด 3.22 log cfu/g ซึ่งมีค่าสูงกว่าเนื้อกลุ่มที่สุ่มตรวจภายหลังจากฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก 30 นาที, 7, 14, 21 และ 28 วัน ของการบ่มเนื้อ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 2.36, 1.55, 0.86, 1.49 และ 1.33 log cfu/g เนื้อกลุ่มที่สุ่มตรวจภายหลังจากฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก 30 นาที มีค่าสูงกว่า วันที่ 7, 14, 21 และ 28 ของการบ่มเนื้อ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ส่วนเนื้อที่บ่ม 7, 21 และ 28 วัน ไม่มีความแตกต่างของจำนวนเชื้อโคลิฟอร์มทั้งหมด ($P > 0.05$) นอกจากนี้จำนวนเชื้อโคลิฟอร์มทั้งหมดมีค่าต่ำสุดในวันที่ 14 ของการบ่มเนื้อ แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$) กับวันที่ 28 ของการบ่มเนื้อ ดังแสดงในตารางที่ 4.7

อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มและระยะเวลาการบ่มเนื้อ ไม่มีผลต่อจำนวนเชื้อโคลิฟอร์มทั้งหมด ของเนื้อสันนอกโค แต่มีแนวโน้มว่า จำนวนเชื้อโคลิฟอร์มทั้งหมด ของเนื้อกลุ่มที่บ่มแบบดั้งเดิม มีค่าต่ำกว่าเนื้อกลุ่มที่บ่มในถุงสุญญากาศ ทุกระยะเวลาการบ่ม และเมื่อระยะเวลาในการบ่มเนื้อมานานขึ้น ตรวจพบเชื้อโคลิฟอร์มทุกระยะเวลาการบ่ม ต่ำกว่าเชื้อเริ่มต้นที่สุ่มตรวจในวันแรกของการทดลอง ($P = 0.0578$) เนื้อโคกลุ่มที่บ่มแบบดั้งเดิม จากการสุ่มตรวจเชื้อโคลิฟอร์มทั้งหมด ก่อนการฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก (สุ่มตรวจเชื้อเริ่มต้น), หลังจากฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก 30 นาที, 7, 14, 21 และ 28 วัน ของการบ่มเนื้อ มีค่าเท่ากับ 3.31, 2.18, 1.38, 0.46, 0.73 และ 0.88 log cfu/g ตามลำดับ ส่วนเนื้อกลุ่มที่บ่มในถุงสุญญากาศ จากการสุ่มตรวจเชื้อโคลิฟอร์มทั้งหมด ก่อนการฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก (สุ่มตรวจเชื้อเริ่มต้น), หลังจากฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก 30 นาที, 7, 14, 21 และ 28 วัน ของการบ่มเนื้อ มีค่าเท่ากับ 3.14, 2.54, 1.72, 1.26, 2.26 และ 1.77 log cfu/g ตามลำดับ ดังแสดงในตารางภาคผนวก ค ที่ 33

อิทธิพลร่วมระหว่าง การใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาการบ่มเนื้อ มีผลต่อจำนวนเชื้อโคลิฟอร์มทั้งหมด โดยเนื้อกลุ่มที่ไม่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก ตรวจพบเชื้อไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โคลิฟอร์มทั้งหมด สูงกว่าเนื้อกลุ่มที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติกทุกระยะเวลาการบ่ม จำนวนเชื้อโคลิฟอร์มทั้งหมด ของเนื้อกลุ่มที่ไม่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก และกลุ่มที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก จากการสุ่มตรวจเนื้อก่อนการฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก (สุ่มตรวจเชื้อเริ่มต้น), หลังจากฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก 30 นาที, 7, 14, 21 และ 28 วัน ของการบ่มเนื้อ โดยมีค่าเท่ากับ 3.50, 3.22, 1.59, 0.93, 1.91 และ 1.91 log cfu/g ตามลำดับ และมีค่าเท่ากับ 2.94, 1.50, 1.51, 0.79, 1.08 และ 0.75 log cfu/g ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบจำนวนเชื้อโคลิฟอร์มระหว่างกลุ่มที่ไม่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก กับกลุ่มที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในเนื้อกลุ่มหลังฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก วันที่ 21 และ 28 ของการบ่มเนื้อ ดังแสดงในตารางที่ 4.12

ตารางที่ 4.12 อิทธิพลร่วมระหว่างการใช้สารละลายกรดแลคติก และระยะเวลาการบ่ม ต่อจำนวนโคลิฟอร์มทั้งหมด (total coliforms ; log cfu/g) ของเนื้อสันนอกโค (LSM±SE)

ระยะเวลา (วัน)	การใช้สารละลายกรดแลคติก	
	ไม่ใช้กรดแลคติก	ใช้กรดแลคติก
ก่อนฉีดพ่น	3.50±0.28 ^a	2.94±0.28 ^a
หลังฉีดพ่น	3.22±0.29 ^a	1.50±0.28 ^{bcd}
7	1.59±0.28 ^{bc}	1.51±0.28 ^{bcd}
14	0.93±0.28 ^{cd}	0.79±0.28 ^d
21	1.91±0.28 ^b	1.08±0.28 ^{cd}
28	1.91±0.29 ^b	0.75±0.28 ^d

^{abcd} ตัวอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

LSM = Least Squares Means, SE = Standard Error

ก่อนฉีดพ่นและหลังฉีดพ่นเป็นการทดลองในวันที่ 1

การศึกษครั้งนี้พบอิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลคติก และระยะเวลาการบ่มเนื้อ มีผลต่อจำนวนเชื้อโคลิฟอร์มทั้งหมด โดยเนื้อสันนอกโคที่บ่มแบบดั้งเดิม กลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลคติก ภายหลังจากการฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก 30 นาที ปริมาณเชื้อโคลิฟอร์มทั้งหมดมีปริมาณลดลง จากเชื้อเริ่มต้น ($P < 0.05$) ส่วนเนื้อกลุ่มที่ไม่มีการฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก ปริมาณเชื้อไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) กับเชื้อเริ่มต้นแต่เมื่อระยะเวลาในการบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมนานขึ้น ทั้งกลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลคติก และไม่ใช่ ปริมาณเชื้อโคลิฟอร์มตรวจพบทุกระยะเวลาการบ่ม ต่ำกว่าเชื้อเริ่มต้นที่สุ่มตรวจเนื้อในวันแรกของการ

ทดลอง พบว่าเมื่อบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลคติก นานถึง 21 วัน ตรวจไม่
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พบเชื้อโคลิฟอร์มทั้งหมด แต่ตรวจพบปริมาณ โคลิฟอร์มทั้งหมด ในเนื้อกลุ่มที่ไม่ใช้สารละลายกรด แลกดก สูงกว่ากลุ่มที่ใช้ ($P < 0.05$) ส่วนเนื้อ โคที่บ่มในอุญสุญญากาศ ภายหลังฉีดพ่นด้วยสารละลาย 30 นาที ตรวจพบปริมาณเชื้อ โคลิฟอร์มทั้งหมด ต่ำกว่าเชื้อเริ่มต้น เนื้อที่บ่มในอุญสุญญากาศทั้งกลุ่ม ที่ไม่ใช้สารละลายกรดแลกดก และกลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลกดก จากการตรวจเชื้อ โคลิฟอร์ม ทั้งหมด ในแต่ละระยะเวลาการบ่ม พบปริมาณเชื้อ โคลิฟอร์มทั้งหมดต่ำกว่าเชื้อเริ่มต้น ทุก ระยะเวลาการบ่ม เมื่อเปรียบเทียบปริมาณเชื้อโคลิฟอร์มทั้งหมด ระหว่างการบ่มเนื้อแบบตั้งเคิมกับ การบ่มในอุญสุญญากาศ พบว่าปริมาณเชื้อโคลิฟอร์มทั้งหมด ของเนื้อที่บ่มในอุญสุญญากาศใน ระยะเวลาการบ่มต่างๆ มีปริมาณสูงกว่าเนื้อที่บ่มแบบตั้งเคิม ดังแสดงในตารางที่ 4.13

ตารางที่ 4.13 อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกดก และระยะเวลา การบ่ม ต่อจำนวน โคลิฟอร์มทั้งหมด (total coliforms ; log cfu/g) ของเนื้อ สันนอกโค (LSM±SE)

ระยะเวลา (วัน)	บ่มแบบตั้งเคิม		บ่มในอุญสุญญากาศ	
	ไม่ใช้กรดแลกดก	ใช้กรดแลกดก	ไม่ใช้กรดแลกดก	ใช้กรดแลกดก
ก่อนฉีดพ่น	3.82±0.40 ^a	2.79±0.40 ^{abcd}	3.18±0.40 ^{abc}	3.09±0.40 ^{abcd}
หลังฉีดพ่น	3.40±0.42 ^{ab}	0.95±0.40 ^{hijk}	3.05±0.42 ^{abcd}	2.04±0.40 ^{defgh}
7	1.10±0.40 ^{efhijk}	1.66±0.40 ^{efghi}	2.07±0.40 ^{defg}	1.37±0.40 ^{efghi}
14	0.74±0.40 ^{ijk}	0.19±0.40 ^{jk}	1.13±0.40 ^{fghij}	1.39±0.40 ^{efghi}
21	1.45±0.40 ^{efghi}	0±0.40 ^k	2.36±0.40 ^{bcdte}	2.17±0.40 ^{cdef}
28	0.97±0.40 ^{ghijk}	0.79±0.40 ^{ijk}	2.84±0.42 ^{abcd}	0.70±0.40 ^{ijk}

^{a-k} ตัวอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

LSM = Least Squares Means, SE = Standard Error

ก่อนฉีดพ่นและหลังฉีดพ่นเป็นการทดลองในวันที่ 1

4.2.5 อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกดก และระยะเวลาการบ่ม ต่อ จำนวนเชื้อ *E. coli* ของเนื้อสันนอกโค

จากการตรวจปริมาณของเชื้อ *E. coli* พบว่าเนื้อที่บ่มแบบตั้งเคิม และบ่มในอุญสุญญากาศ ตรวจพบปริมาณเชื้อ *E. coli* ต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนด อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ โดยตรวจพบ เฉพาะ ในการสุ่มตรวจเชื้อเริ่มต้นเพียงเท่านั้น ภายหลังจากการฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกดก 30 นาที และตรวจไม่พบเชื้อ *E. coli* ทุกระยะเวลาการบ่ม เมื่อบ่มเนื้อนานถึง 28 วัน ดังในตารางที่ 4.14

ตารางที่ 4.14 อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาการบ่ม ต่อจำนวนเชื้อ *E. coli* (log cfu/g) ของเนื้อสันนอกโค

ระยะเวลา (วัน)	บ่มแบบดั้งเดิม		บ่มในถุงสุญญากาศ	
	ไม่ใช้กรดแลกติก	ใช้กรดแลกติก	ไม่ใช้กรดแลกติก	ใช้กรดแลกติก
ก่อนฉีดพ่น	0.88	0.32	0.81	0.32
หลังฉีดพ่น	0	0	0	0
7	0	0	0	0
14	0	0	0	0
21	0	0	0	0
28	0	0	0	0

หมายเหตุ : ก่อนฉีดพ่นและหลังฉีดพ่นเป็นการทดลองในวันที่ 1

0 หมายถึง ตรวจไม่พบเชื้อ *E. coli* ในอาหาร chromocult

4.3 อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อและระยะเวลาการบ่ม ต่อการเปลี่ยนแปลงของ myofibrillar proteins ในเนื้อสันนอกโคโดยเทคนิค SDS-PAGE

จากการศึกษานำเนื้อสันนอกที่บ่มแบบดั้งเดิมและบ่มแบบบรรจุในถุงสุญญากาศ ที่ระยะเวลา 1, 7, 14, 21 และ 28 วันของการบ่มเนื้อ มาวิเคราะห์เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงของ myofibrillar proteins โดยเทคนิค SDS-PAGE ใช้เนื้อสันนอกของโคเนื้อลูกผสมเลือดยุโรป ((โคพื้นเมือง x บราห์มัน) x ชาร์โรเลส์) ภายใต้ระบบการผลิตของสหกรณ์โคเนื้อกำแพงแสน (KU-beef) จำนวน 5 ตัว จากการศึกษาเพื่อดูการเปลี่ยนแปลงของ myofibrillar proteins โดยเทคนิค SDS-PAGE (ภาพที่ 4.1, 4.2, 4.3, 4.4 และ 4.5) พบว่าการบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมและบ่มแบบบรรจุในถุงสุญญากาศมีความแตกต่างของ myofibrillar proteins ขนาด 55 kDa, troponin-T ขนาด 37-39 kDa และ troponin-T_{Product} ขนาด 30 kDa ในการศึกษาครั้งนี้จึงทำการวิเคราะห์เพื่อที่จะเปรียบเทียบปริมาณ โปรตีนขนาด 55 kDa, troponin-T ขนาด 37-39 kDa และ troponin-T_{Product} ขนาด 30 kDa ของการบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมและแบบบรรจุในถุงสุญญากาศ ที่ระยะเวลา 1, 7, 14, 21 และ 28 วันของการบ่มเนื้อ ดังผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.15

ตารางที่ 4.15 อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อและระยะเวลาการบ่ม ต่อการเปลี่ยนแปลงของ myofibrillar proteins ขนาด 55 kDa, troponin-T ขนาด 37-39 kDa และ troponin-T_{Product} ขนาด 30 kDa ของเนื้อสันนอกโค (µg BSA-equivalent)

ลักษณะที่ศึกษา	วิธีการบ่ม (Ageing method, M)		ระยะเวลาการบ่ม (Ageing time, A)					P-Value		
	Dry	Wet	1	7	14	21	28	M	A	M*A
55 kDa	0.67	0.73	0.74	0.71	0.71	0.68	0.67	0.6397	0.9960	0.7074
37-39 kDa	0.70	0.79	1.14	0.70	0.61	0.56	0.70	0.5934	0.1605	0.9983
30 kDa	1.19	1.49	1.16	1.37	1.28	1.43	1.49	0.3778	0.9758	0.9758

4.3.1 อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อและระยะเวลาการบ่ม ต่อการเปลี่ยนแปลงของ myofibrillar proteins ขนาด 55 kDa ในเนื้อสันนอกโค

จากการศึกษาพบว่าอิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อ และอิทธิพลของระยะเวลาการบ่ม ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณโปรตีนขนาด 55 kDa ($P>0.05$) แต่พบว่าวิธีการบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมมีปริมาณโปรตีนขนาด 55 kDa น้อยกว่าการบ่มแบบบรรจุในถุงสุญญากาศ โดยมีค่าเท่ากับ 0.67 และ 0.73 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ตามลำดับ และเมื่อระยะเวลาในการบ่มเนื้อมานานขึ้น พบว่ามีปริมาณโปรตีนขนาด 55 kDa ลดลง โดยมีค่าเท่ากับ 0.74, 0.71, 0.71, 0.68 และ 0.67 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ในเนื้อที่บ่มเป็นระยะเวลา 1, 7, 14, 21 และ 28 วัน ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.15

และไม่พบอิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อและระยะเวลาการบ่ม ต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณโปรตีนขนาด 55 kDa ในเนื้อที่ทำการศึกษา ($P>0.05$)

4.3.2 อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อและระยะเวลาการบ่ม ต่อการเปลี่ยนแปลงของโปรตีน troponin-T ขนาด 37-39 kDa ในเนื้อสันนอกโค

อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อ และอิทธิพลของระยะเวลาการบ่ม ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณโปรตีน troponin-T ขนาด 37-39 kDa ($P>0.05$) โดยเนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิมมีปริมาณโปรตีน troponin-T ขนาด 37-39 kDa น้อยกว่าการบ่มแบบบรรจุในถุงสุญญากาศ โดยมีค่าเท่ากับ 0.70 และ 0.79 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ตามลำดับ และพบว่าเนื้อที่บ่ม 1 วัน มีปริมาณโปรตีน troponin-T ขนาด 37-39 kDa มากที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 1.14 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ เมื่อเทียบกับเนื้อที่บ่มเป็นระยะเวลา 7, 14, 21 และ 28 วัน โดยมีค่าเท่ากับ 0.70, 0.61, 0.56 และ 0.70 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ตามลำดับ

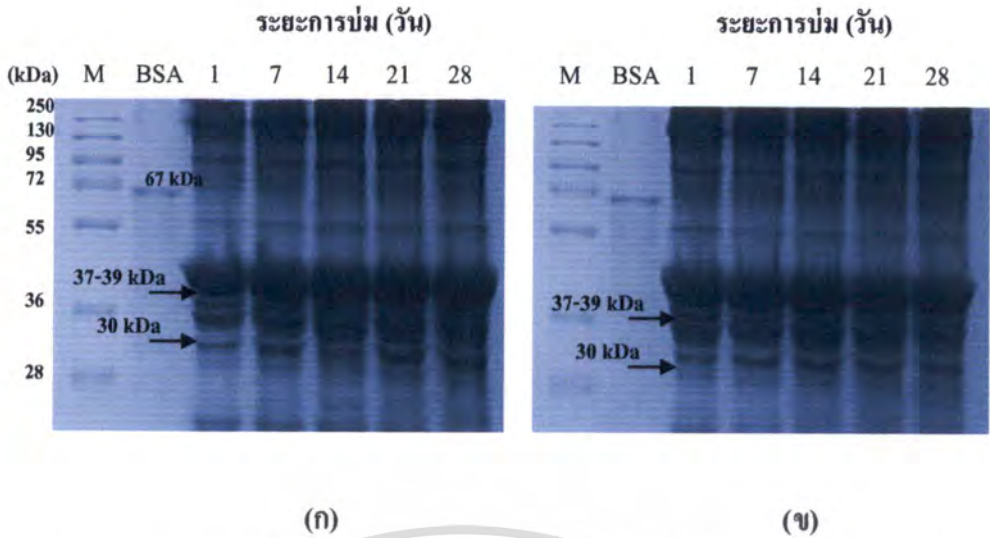
ไม่พบอิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อและระยะเวลาการบ่ม ต่อการเปลี่ยนแปลงของโปรตีน troponin-T ขนาด 37-39 kDa ในเนื้อที่ทำการศึกษา ($P>0.05$)

4.3.3 อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อและระยะเวลาการบ่ม ต่อการเปลี่ยนแปลงของโปรตีน troponin-T_{Product} ขนาด 30 kDa ในเนื้อสันนอกโค

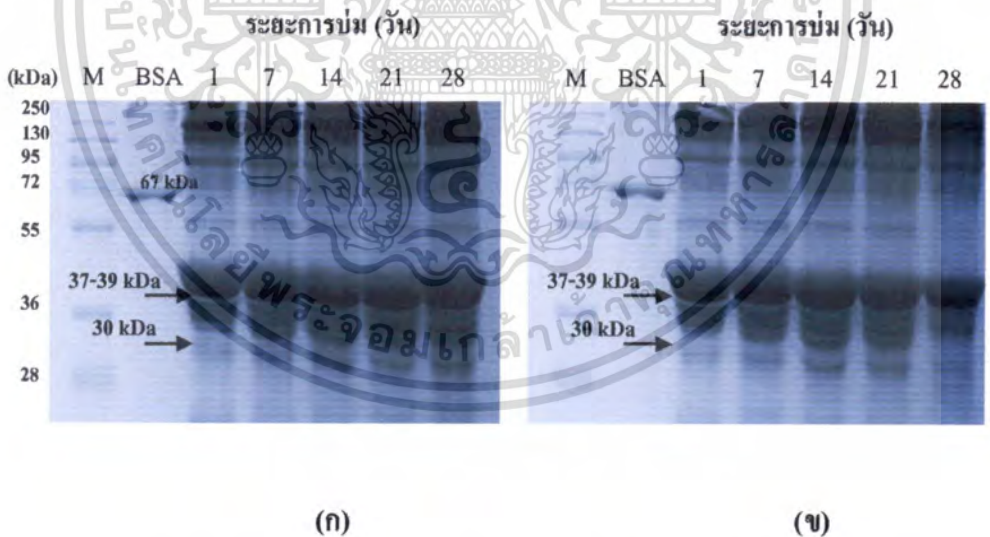
อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อ และอิทธิพลของระยะเวลาการบ่ม ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณโปรตีน troponin-T_{Product} ขนาด 30 kDa ($P>0.05$) แต่พบว่าเนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิมมีปริมาณของโปรตีน troponin-T_{Product} ขนาด 30 kDa น้อยกว่าเนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศ โดยมีค่าเท่ากับ 1.91 และ 1.49 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ตามลำดับ ระยะเวลาในการบ่มเนื้อที่นานขึ้นพบการเพิ่มขึ้นของปริมาณโปรตีน troponin-T_{Product} ขนาด 30 kDa โดยเนื้อที่บ่ม 1 วัน มีปริมาณโปรตีน troponin-T_{Product} ขนาด 30 kDa น้อยที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 1.16 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ เมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อที่บ่ม 7, 14, 21 และ 28 วัน ที่มีค่าเท่ากับ 1.37, 1.28, 1.43 และ 1.49 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ตามลำดับ

ไม่พบอิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อและระยะเวลาการบ่ม ต่อการเปลี่ยนแปลงของโปรตีน troponin-T_{Product} ขนาด 30 kDa ในเนื้อที่ทำการศึกษา ($P>0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่มอบไว้สำหรับศึกษาเท่านั้น ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

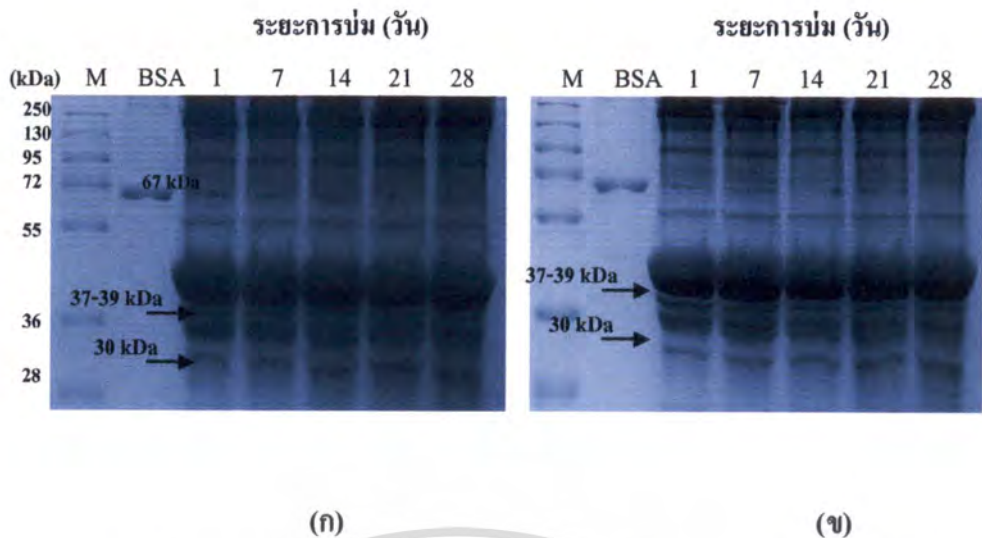


ภาพที่ 4.1 แสดงลักษณะของการเปลี่ยนแปลงของแถบโปรตีนที่ 55 kDa, 37-39 kDa และ 30 kDa (troponin-product) ที่ระยะเวลาบ่ม 1, 7, 14, 21 และ 28 วัน ของเนื้อโคททดลองตัวที่ 1 โดย (ก) เนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศ และ (ข) เนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิม M คือ Standard Marker (PageRuler™ Plus Prestained Protein Ladder, Fermentas), BSA คือ Bovine Cerum Albumin

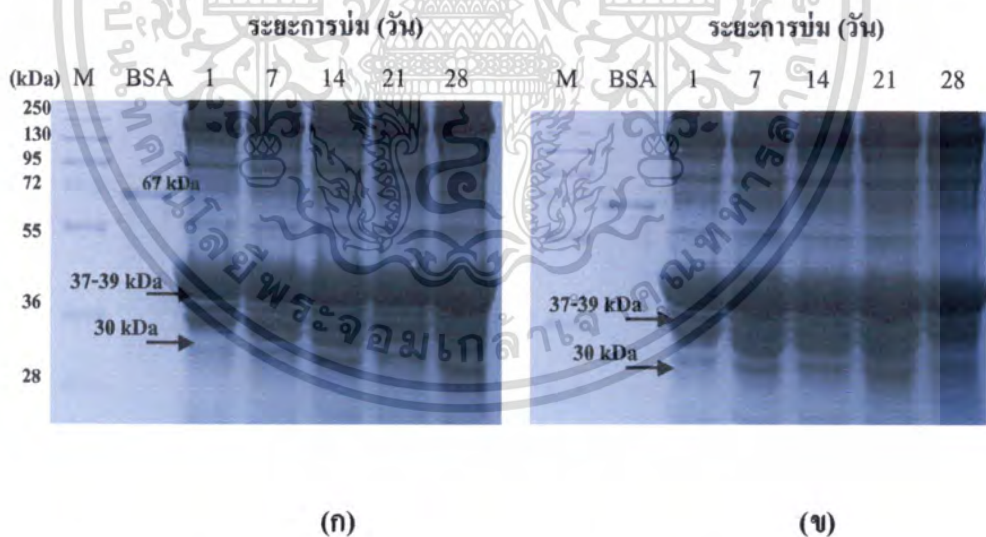


ภาพที่ 4.2 แสดงลักษณะของการเปลี่ยนแปลงของแถบโปรตีนที่ 55 kDa, 37-39 kDa และ 30 kDa (troponin-product) ที่ระยะเวลาบ่ม 1, 7, 14, 21 และ 28 วัน ของเนื้อโคททดลองตัวที่ 2 โดย (ก) เนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศ และ (ข) เนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิม M คือ Standard Marker (PageRuler™ Plus Prestained Protein Ladder, Fermentas), BSA คือ Bovine Cerum Albumin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

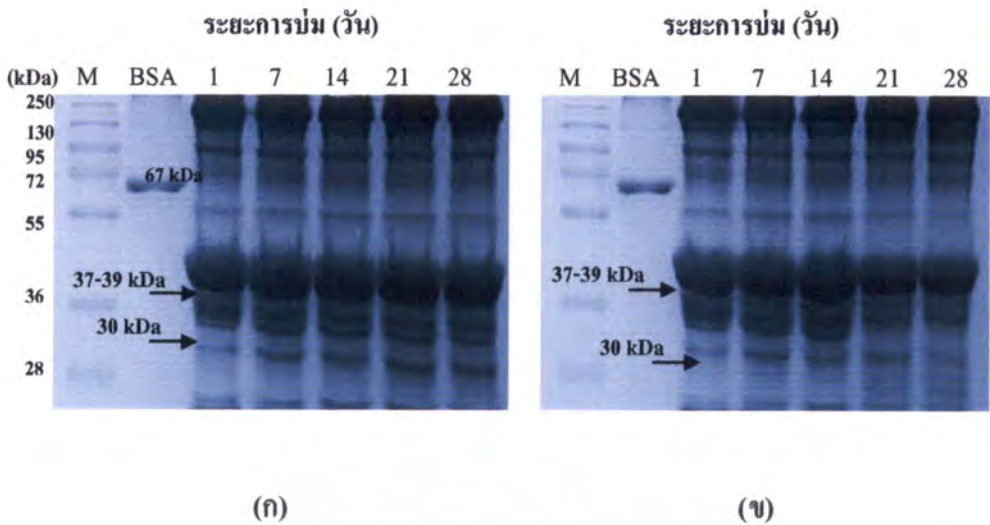


ภาพที่ 4.3 แสดงลักษณะของการเปลี่ยนแปลงของแถบ โปรตีนที่ 55 kDa, 37-39 kDa และ 30 kDa (troponin-product) ที่ระยะเวลาบ่ม 1, 7, 14, 21 และ 28 วัน ของเนื้อโคทดลองตัวที่ 3 โดย (ก) เนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศ และ (ข) เนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิม M คือ Standard Marker (PageRuler™ Plus Prestained Protein Ladder, Fermentas), BSA คือ Bovine Cerum Albumin



ภาพที่ 4.4 แสดงลักษณะของการเปลี่ยนแปลงของแถบ โปรตีนที่ 55 kDa, 37-39 kDa และ 30 kDa (troponin-product) ที่ระยะเวลาบ่ม 1, 7, 14, 21 และ 28 วัน ของเนื้อโคทดลองตัวที่ 4 โดย (ก) เนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศ และ (ข) เนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิม M คือ Standard Marker (PageRuler™ Plus Prestained Protein Ladder, Fermentas), BSA คือ Bovine Cerum Albumin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.5 แสดงลักษณะของการเปลี่ยนแปลงของแถบโปรตีนที่ 55 kDa, 37-39 kDa และ 30 kDa (troponin-product) ที่ระยะเวลาบ่ม 1, 7, 14, 21 และ 28 วัน ของเนื้อโคทดลองตัวที่ 5 โดย (ก) เนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศ และ (ข) เนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิม M คือ Standard Marker (PageRuler™ Plus Prestained Protein Ladder, Fermentas), BSA คือ Bovine Serum Albumin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 คุณภาพเนื้อโค

5.1.1 ค่าความเป็นกรด-ด่าง

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าอิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อ แบบดั้งเดิมหรือบ่มในถุงสุญญากาศ ไม่มีผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่างของเนื้อสันนอกโค แต่พบอิทธิพลของการใช้สารละลายกรดแลกติก มีผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่างของเนื้อสันนอกโค เนื้อสันนอกโคกลุ่มที่ไม่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก มีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่าเนื้อกลุ่มที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก โดยมีค่าเท่ากับ 5.47 และ 5.50 ตามลำดับ ($P < 0.05$) แม้ว่าค่าความเป็นกรด-ด่างจะมีความแตกต่างกันทางสถิติ ระหว่างเนื้อกลุ่มที่ไม่ใช้สารละลายกรดแลกติก และกลุ่มที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติกก็ตาม แต่ค่าความเป็นกรด-ด่างของเนื้อทั้งสองกลุ่มบ่งชี้ได้ว่า ไม่มีผลเสียต่อทางด้านคุณภาพเนื้อ เนื้อที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างปกติ ทั้งนี้ ชัยณรงค์ คันรพนิต (2529) กล่าวว่าโดยปกติค่าความเป็นกรด-ด่างของเนื้อจะลดลงต่ำสุดระหว่าง 5.3-5.7 ภายหลังจากสัตว์ตาย 24 ชั่วโมง ซึ่งผลการทดลองในครั้งนี้ขัดแย้งกับผลการทดลองของ Pitasombut *et al.* (2007) และ Pitasombut *et al.* (2008) ที่ใช้สารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับการทดลองครั้งนี้ ฉีดพ่นบนเนื้อสันนอกโคพื้นเมืองไทยร่วมกับการบ่มเนื้อในถุงสุญญากาศ พบว่าเนื้อกลุ่มที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติกมีค่าความเป็นกรด-ด่าง ไม่แตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

อิทธิพลของระยะเวลาการบ่มเนื้อ มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่างของเนื้อสันนอกโค ($P < 0.05$) ซึ่งค่าความเป็นกรด-ด่างของเนื้อภายหลังสัตว์ตาย 24 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 5.44 ซึ่งเป็นวันแรกของการศึกษา เนื้อที่บ่มเป็นระยะเวลา 7 วัน มีค่าเท่ากับ 5.50 ซึ่งค่าความเป็นกรด-ด่างมีค่าเพิ่มขึ้นจากวันแรกของการศึกษา เนื่องมาจากในกระบวนการบ่มเนื้อจะมีเอนไซม์ภายในเนื้อทำการย่อยสลายโปรตีน และพบว่าเนื้อที่บ่มเป็นระยะเวลา 14 วัน มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.43 ซึ่งมีค่าลดลงเมื่อเทียบกับเนื้อที่บ่มเป็นระยะเวลา 7 วัน อาจเนื่องมาจากกรดที่แบคทีเรียกรดแลกติกสร้างขึ้นมาในระหว่างการบ่มเนื้อ ทำให้เนื้อมีค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง ทั้งนี้จากการศึกษาครั้งนี้ตรวจพบแบคทีเรียกรดแลกติกในเนื้อที่บ่มเป็นระยะเวลา 7 วัน มีจำนวนน้อยกว่าเนื้อที่บ่ม 14 วัน อัจฉรา เพิ่ม (2550) รายงานว่าแบคทีเรียกรดแลกติกสามารถเปลี่ยนน้ำตาลในอาหารให้เป็นกรดแลกติก ส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารลดลง ภายหลังจากนั้นค่าความเป็นกรด-ด่างของเนื้อที่บ่มระยะเวลา 21 และ 28 วัน มีค่าเท่ากับ 5.50 และ 5.55 ตามลำดับ ซึ่งเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับเนื้อที่บ่ม 14 วัน เหตุผลที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากเอนไซม์ deaminase เข้าทำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนลิขสิทธิ์เพื่อการศึกษาค้นคว้า ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปฏิกิริยากับ adenosine monophosphate (AMP) ได้ inosine monophosphate (IMP) และ NH_3 ซึ่งแอมโมเนียมีผลทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างสูงขึ้น

5.1.2 เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา

การบ่มเนื้อแบบดั้งเดิม มีค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาสูงกว่าเนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 1.67 และ 1.28 ตามลำดับ เป็นเพราะเนื่องมาจากวิธีการบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมในการทดลองครั้งนี้ ใช้เนื้อสันนอกที่ไม่ถอดกระดูก ไม่เอาไขมันหุ้มเนื้อสันนอกออก และห่อด้วยผ้าขาวบาง จากนั้นแขวนขึ้นเนื้อไว้ในห้องเย็นอุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส ทำให้พื้นที่ผิวของเนื้อสัมผัสกับอากาศภายในห้องเย็นได้ดี ส่งผลให้ความชื้นระเหยออกจากชิ้นเนื้อได้มาก จึงทำให้มีค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาสูงกว่าการบ่มเนื้อในถุงสุญญากาศ เพราะการเก็บรักษาเนื้อในถุงสุญญากาศ นอกจากพื้นที่ผิวของเนื้อไม่ได้สัมผัสกับอากาศในห้องเย็นโดยตรงแล้ว ถุงพลาสติกยังมีคุณสมบัติป้องกันน้ำจากเนื้อไม่ให้ระเหยออกจากถุงสุญญากาศได้ มีเพียงน้ำบางส่วนที่สูญเสียออกมาจากชิ้นเนื้อที่อยู่ภายในถุง จากรายงานของ Ahnström *et al.* (2006) และ DeGeer *et al.* (2009) ว่าเนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิมจะมีความชื้นระเหยออกจากชิ้นเนื้อในระหว่างการเก็บรักษาในห้องเย็น ได้มากกว่าการบ่มเนื้อในถุงสุญญากาศ เช่นเดียวกับการศึกษาของ DeGeer *et al.* (2009) พบว่าเนื้อสันนอกโคที่บ่มแบบดั้งเดิม มีค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา สูงกว่าเนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) นอกจากนี้ Warren and Kastner (1992) พบว่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา ของเนื้อสันนอกโค ที่บ่มในถุงสุญญากาศมีการสูญเสียน้ำหนักน้อยกว่าการบ่มแบบดั้งเดิม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) อย่างไรก็ตามพบว่าเนื้อโคที่บ่มแบบดั้งเดิมมีความชื้นระเหยออกจากชิ้นเนื้อได้มาก ส่งผลให้เนื้อที่ผ่านการบ่มแบบดั้งเดิมมีลักษณะเนื้อที่แน่น และมีกลิ่นรสชาติที่ดีเมื่อนำไปปรุงหรือย่าง ส่วนเนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศ จะมีกลิ่นเปรี้ยวและมีกลิ่นของน้ำเลือด

เนื้อสันนอก โคกลุ่มที่ไม่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา ต่ำกว่าเนื้อกลุ่มที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก โดยมีค่าเท่ากับ 1.30 และ 1.65 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Gould (1995) กล่าวว่าการใช้สารละลายกรดจะทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างภายในเซลล์กล้ามเนื้อลดลง ซึ่งอาจทำให้เส้นใยกล้ามเนื้อหดตัว และเป็นผลให้มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นได้ แต่จากการศึกษาของ Pilasombut *et al.* (2007) และ Pilasombut *et al.* (2008) ไม่พบความแตกต่างของค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา ของเนื้อสันนอกโคพื้นเมืองระหว่างเนื้อกลุ่มที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก และกลุ่มควบคุมที่บ่มในถุงสุญญากาศ เช่นเดียวกับผลการทดลองของ อาณัติ อุณเรือน (2552) พบว่าเนื้อสันนอกโคลูกผสมซิมเมนทอล-บราห์มัน ที่ฉีดพ่น

ด้วยสารละลายกรดแลคติก มีค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการรักษาไม่แตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) กับเนื้อกลุ่มควบคุมที่บ่มในถุงสุญญากาศ

ระยะเวลาการบ่มมีแนวโน้มที่จะมีผล ต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการรักษา ($P=0.0797$) เมื่อระยะเวลาการบ่มเนื้อมานานขึ้น พบว่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการรักษาสูงขึ้นตามระยะเวลาการบ่ม สอดคล้องกับการศึกษาของ วิจิต พรหมอินทร์ (2549) ซึ่งทำการศึกษาใน โคพันธุ์เดียวกับการศึกษาครั้งนี้ พบว่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการรักษาของเนื้อจะสูงขึ้นตามระยะเวลาการบ่มเนื้อมานานขึ้น นอกจากนี้ DeGeer *et al.* (2009) รายงานว่าการสูญเสียน้ำหนักจะเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการบ่มเนื้อมานานขึ้น

พบอิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อและการใช้สารละลายกรดแลคติกต่อค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการรักษา ($P<0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.4 โดยเนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศและไม่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก มีค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการรักษาต่ำที่สุด มีค่าเท่ากับ 0.93 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับเนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลคติกมีค่าเท่ากับ 1.64 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่เนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิมร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลคติกและไม่ใช้ มีค่าเท่ากับ 1.67 และ 1.66 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ($P>0.05$) เนื่องมาจากการบ่มเนื้อในถุงสุญญากาศ ประกอบกับการไม่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก ทำให้มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการรักษาต่ำ ในขณะที่การบ่มแบบดั้งเดิมทั้งกลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลคติกและไม่ใช้ มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียไม่แตกต่างกัน ทั้งนี้เนื่องจากวิธีการบ่มเนื้อแบบดั้งเดิม ส่งผลให้น้ำระเหยออกจากชิ้นเนื้อได้สูงมาก แม้จะไม่มีอิทธิพลของกรดแลคติกเข้าร่วม ส่วนเนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลคติก มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการรักษา ไม่ต่างจากการบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมที่ใช้และไม่ใช้กรดแลคติก เนื่องมาจากถุงพลาสติกสุญญากาศมีคุณสมบัติป้องกันน้ำระเหยออกจากเนื้อ น้ำที่ออกมาจากเนื้อจึงเป็นผลมาจากอิทธิพลของการใช้สารละลายกรดแลคติก

5.1.3 เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการปรุงสุก

พบว่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการปรุงสุก ของเนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิมมีค่าต่ำกว่าเนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศ โดยมีค่าเท่ากับ 27.98 และ 28.45 ตามลำดับ แต่มีค่าที่ไม่แตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) อาจเนื่องมาจากการบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมในการศึกษาครั้งนี้ มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการรักษาสูงกว่าการบ่มเนื้อในถุงสุญญากาศ ทำให้น้ำที่อยู่ภายในชิ้นเนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิมมีน้อยกว่าเนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศ เมื่อนำชิ้นเนื้อไปทำให้สุกเนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศ จึงมีน้ำที่สูญเสียออกมาจากชิ้นเนื้อสูงกว่าเนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิม ส่งผลให้เนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิมมีค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการปรุงสุกต่ำกว่าเนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศ ผลการทดลองครั้งนี้เป็นไปในทำนองเดียวกับ การศึกษาของ DeGeer *et al.* (2009) พบว่าเนื้อสันนอกโคที่บ่มแบบ

ดั้งเดิมมีค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการปรุงสุก ต่ำกว่าเนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศอย่าง มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) อิทธิพลของการใช้สารละลายกรดแลกติก และอิทธิพลของระยะเวลา การบ่ม ไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการปรุงสุกของเนื้อสันนอกโค

5.1.4 ค่าสีของเนื้อ

อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อไม่มีผลต่อค่าสีแดง (a^*) และค่าสีเหลือง (b^*) แต่มีแนวโน้มที่จะมีผลต่อค่าความสว่าง (L^*) ของเนื้อสันนอกโค ($P = 0.0768$) พบว่าเนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิมมีค่า L^* ต่ำกว่าเนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศ โดยมีค่าเท่ากับ 40.49 และ 41.03 ตามลำดับ อาจเป็นผลเนื่องมาจากเนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิมสัมผัสกับออกซิเจนมาโดยตลอด ทำให้ออกซิเจนในอากาศสามารถแทรกเข้าไปในชิ้นเนื้อได้อย่างต่อเนื่อง ต่างกับเนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศชิ้นเนื้อไม่ได้สัมผัสกับออกซิเจนเมื่อนำชิ้นเนื้อออกจากถุงสุญญากาศจากนั้นตัดชิ้นเนื้อและปล่อยให้สัมผัสอากาศนาน 45 นาที ก่อนการวัด ทำให้ออกซิเจนสามารถจับกับไมโอโกลบินของเนื้อได้มีประสิทธิภาพดีกว่า ส่งผลให้ชิ้นเนื้อที่มีค่า L^* เพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้อาจเป็นไปได้ว่าเนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิม ชิ้นเนื้อจะแห้งกว่าการบ่มเนื้อในถุงสุญญากาศ ซึ่งเนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศจะมีความชื้นสูง และน้ำ เมื่อตัดชิ้นเนื้อแล้ววัดสีของเนื้อ ทำให้เกิดการสะท้อนแสงของน้ำบนชิ้นเนื้อ ส่งผลให้ชิ้นเนื้อที่มีค่า L^* เพิ่มขึ้นได้

การใช้สารละลายกรดแลกติกฉีดพ่นผิวเนื้อและไมใช่ ไม่มีผลต่อค่าสีของเนื้อ L^* และ b^* ของเนื้อสันนอกโค เนื่องจากการวัดสีของเนื้อ ทำการตัดชิ้นเนื้อและวัดผิวเนื้อด้านในไม่ได้วัดผิวเนื้อที่สัมผัสกับกรด แต่การใช้สารละลายกรดแลกติกฉีดพ่นผิวเนื้อและไมใช่ มีแนวโน้มที่จะมีผลต่อค่า a^* ของเนื้อสันนอกโค ($P = 0.0604$) โดยเนื้อกลุ่มที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก มีค่า a^* ต่ำกว่าเนื้อกลุ่มที่ไม่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก เนื่องมาจากสารละลายกรดแลกติกมีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำเมื่อฉีดพ่นบนผิวเนื้อทำให้เนื้อมีสีซีดจางลง Pipek *et al.* (2005) รายงานว่าการใช้สารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ฉีดพ่นบนซากโคและซากสุกร จะทำให้สีของเนื้อซีดจางลง ทำนองเดียวกันกับ Pitasombut *et al.* (2007) ที่ศึกษาผลของการใช้สารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ จุ่มเนื้อสุกร พบว่าค่า a^* เฉลี่ยของเนื้อที่จุ่มสารละลายกรดแลกติก กลุ่มควบคุม และกลุ่มจุ่มน้ำกลั่น จะมีค่าเท่ากับ 11.50, 14.76 และ 13.37 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าการใช้สารละลายกรดแลกติกมีผลต่อสีของเนื้อ โดยจะทำให้เนื้อสุกรซีดจางลง

ระยะเวลาการบ่มเนื้อไม่มีผลต่อค่าสีของเนื้อสันนอกโค ($P < 0.05$) ค่าสีของเนื้อ L^* , a^* และ b^* มีค่าเพิ่มสูงขึ้น ทุกระยะเวลาการบ่มเนื้อ เมื่อเทียบกับเนื้อที่ทำการศึกษาในวันแรกของการทดลอง สอดคล้องกับการศึกษาของ วิจิต พรหมอินทร์ (2549) ที่ทำการศึกษาในโคพันธุ์เดียวกัน พบว่าเนื้อสันนอกที่บ่มในถุงสุญญากาศ 1, 5, 7, 14 และ 20 วัน มีค่าสี L^* , a^* และ b^* เพิ่มสูงขึ้นทุกระยะเวลาการบ่มเนื้อ เมื่อเทียบกับเนื้อที่บ่มในวันแรกของการทดลอง Insausti *et al.* (2001) รายงานว่าเมื่อระยะเวลาในการบ่มเนื้อมานานขึ้น โปรตีนในกล้ามเนื้อจะเกิดการเสื่อมสภาพ ส่งผลให้

ความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนในกล้ามเนื้อลดลง ทำให้น้ำในเนื้อถูกปล่อยออกมาเป็นอิสระมากขึ้น เมื่อทำการวัดสีจึงเกิดการสะท้อนกลับของแสงได้มากหรือมีค่า L^* เพิ่มสูงขึ้น Boakye and Mittal (1996) อธิบายว่าค่า a^* ที่มีค่าสูงขึ้นตามระยะเวลาการบ่มที่นานขึ้น เป็นผลเนื่องมาจากกลุ่มของเอนไซม์ในเซลล์กล้ามเนื้อที่ต้องใช้ออกซิเจนในการทำงาน เกิดการเสื่อมสภาพไปตามระยะเวลาการบ่ม ดังนั้นไมโอโกลบินในเนื้อที่ผ่านการบ่มจึงมีโอกาสที่จะจับกับออกซิเจนได้ดีขึ้น นอกจากนี้ Warriss. (2000) อธิบายว่าระยะเวลาบ่มเนื้อมานานขึ้นค่า b^* ของเนื้อจะสูงขึ้น เนื่องจากการที่ไขมันในเนื้อ ได้สัมผัสกับอากาศที่มีออกซิเจนเป็นระยะเวลานานๆ จะทำให้ไขมันเกิดการ oxidation หรือเกิดการหืนขึ้น ส่งผลให้ไขมันที่เคยมีลักษณะอ่อนและมีสีเหลืองใส เปลี่ยนสภาพเป็นลักษณะแข็ง ขึ้น และสีมีความขุ่นขึ้นจึงเป็นเหตุให้ค่า b^* ของเนื้อเพิ่มขึ้น

อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มและระยะเวลาการบ่มมีผลต่อค่าสี b^* ของเนื้อสันนอกโค พบว่าระยะเวลาการบ่มที่เพิ่มขึ้นมีผลทำให้ค่า b^* เพิ่มขึ้นในเนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิม แต่เนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศพบว่า ค่า b^* มีค่าลดลงในวันที่ 21 และ 28 ของการบ่มเนื้อ เมื่อเทียบกับวันที่ 14 เหตุผลที่เป็นเช่นนี้เนื่องมาจากการบ่มเนื้อ ในถุงสุญญากาศออกซิเจนที่จะทำให้เกิดปฏิกิริยา oxidation หดลง

5.1.5 ค่าแรงตัดผ่านเนื้อ

การบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำกว่า เนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 4.32 และ 4.61 กิโลกรัม ตามลำดับ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า เนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิมมีความนุ่มมากกว่าเนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศ อาจเนื่องมาจากการศึกษาครั้งนี้พบว่า เนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิมมีค่าความเป็นกรด-ด่าง สูงกว่าเนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศ มีค่าเท่ากับ 5.50 และ 5.47 ตามลำดับ จึงทำให้สภาวะการบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมเหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ calpains ซึ่งสามารถทำงานได้ดีในสภาวะที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างที่สูง ทั้งนี้ Koochmaraie (1994) รายงานว่า calpains เป็นเอนไซม์ที่มีความสำคัญต่อการย่อยโปรตีน ในเนื้อเนื่องจากมีบทบาทในการย่อยสลายเส้นใยกล้ามเนื้อบริเวณ Z-line ในระหว่างการบ่มเนื้อ จึงทำให้เนื้อมีความนุ่มเพิ่มมากขึ้น ในทำนองเดียวกับการศึกษาของ Smith *et al.* (2008) พบว่าการบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมมีแนวโน้มของค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ต่ำกว่าเนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศ โดยเนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิมมีความนุ่มมากกว่าเนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศ

การใช้สารละลายกรดแลกติกและไม่ใช้สารละลายกรดแลกติก ไม่มีผลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ($P > 0.05$) แต่ระยะเวลาในการบ่มเนื้อมานานขึ้น มีผลทำให้ค่าแรงตัดผ่านเนื้อมีค่าลดลง โดยพบการลดลงอย่างเห็นได้ชัด ($P < 0.05$) จากเนื้อที่บ่มในวันแรกของการทดลองจนถึงระยะเวลาการบ่มเนื้อมานาน 21 วัน โดยเนื้อสันนอกโคที่บ่มเป็นระยะเวลานานถึง 21 วัน มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 3.15 กิโลกรัม เมื่อเปรียบเทียบกับระยะเวลาการบ่มอื่นๆ จากผลการทดลองนี้ทำให้

ทราบถึงระยะเวลาในการบ่มเนื้อสันนอกโคที่เหมาะสม โดยการบ่มเนื้อมานานเป็นระยะเวลา 21 วัน ก็เพียงพอต่อความนุ่มที่ผู้บริโภคสามารถยอมรับได้ จากผลการทดลองแม้ว่าจะบ่มเนื้อเป็นระยะเวลานานถึง 28 วัน โดยมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อเท่ากับ 3.41 กิโลกรัม เนื้อสันนอกโคก็ไม่ได้นุ่มไปกว่าเนื้อที่บ่มระยะเวลา 21 วัน อาจเนื่องมาจากเนื้อที่บ่มนานถึง 28 วัน มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษามากที่สุดเมื่อเทียบกับระยะเวลาการบ่มอื่นๆ เมื่อนำชิ้นเนื้อไปทำให้สุกก็มีน้ำที่สูญเสียระหว่างปรุงสุกออกมาจากชิ้นเนื้ออีก จึงทำให้หลังจากการปรุงสุกเนื้อที่บ่มนาน 28 วัน มีลักษณะแห้ง เมื่อนำชิ้นเนื้อไปหาค่าแรงตัดผ่านเนื้อจึงมีค่าที่สูงกว่าเนื้อที่บ่มเป็นระยะเวลา 21 วัน Koothmarai (1996) รายงานว่าการบ่มเนื้อจะมีผลทำให้ค่าแรงตัดผ่านเนื้อลดลง ระหว่างการเก็บรักษาเนื้อภายหลังสัตว์ตาย เป็นผลเนื่องมาจากกระบวนการ proteolysis ของ myofibrillar proteins โดยเอนไซม์ calpain จากการศึกษาของ วิจิต พรหมอินทร์ (2549) พบว่าค่าแรงตัดผ่านของเนื้อสันนอกโคขุนภายใต้ระบบการผลิตโคเนื้อกำแพงแสน ซึ่งเป็นโคพันธุ์เดียวกับการศึกษาครั้งนี้ มีค่าลดลงเมื่อระยะเวลาการบ่มนานขึ้น โดยมีค่าเท่ากับ 7.39, 5.99, 4.99, 4.46 และ 3.82 กิโลกรัมตามลำดับ ($P < 0.001$) สำหรับการทดลองในวันที่ 1, 5, 7, 14 และ 20 วัน ของการบ่มเนื้อ ในทำนองเดียวกับการศึกษาของ Jirajaroenrat *et al.* (2007) พบว่าค่าแรงตัดผ่านของกล้ามเนื้อสันนอกโคพันธุ์กำแพงแสน ที่บ่มในอุณหภูมิกาศอุณหภูมิตั้งแต่ 2-4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1, 5, 7, 14 และ 21 วัน พบว่าเมื่อระยะเวลาการบ่มเนื้อมานานขึ้นค่าแรงตัดผ่านเนื้อมีค่าลดลง โดยมีค่าเท่ากับ 7.39, 5.99, 4.99, 4.45 และ 3.82 ตามลำดับ นอกจากนี้ Acker and Cunningham (1991) กล่าวว่า ระยะเวลาในการบ่มซาก 7 วัน จะทำให้เนื้อมีความนุ่มเพิ่มขึ้นเป็นอย่างมาก แต่ถ้าใช้ระยะเวลาในการบ่มซากนาน 14 หรือ 21 วัน ความนุ่มจะเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยโดย Boehm *et al.* (1998) กล่าวว่า เป็นผลมาจากการลดลงของเอนไซม์ calpain นอกจากนี้ DeGeer *et al.* (2009) ศึกษาพบว่าคุณลักษณะทางการบริโภคของเนื้อที่บ่มระยะเวลา 21 และ 28 วัน ไม่มีความแตกต่างกัน แต่การบ่มเนื้อ 28 วัน จะมีการสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา สูงกว่าการบ่มที่ 21 วัน Morgan *et al.* (1991) รายงานว่า ความนุ่มของเนื้อที่ผู้บริโภคยอมรับได้ มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อน้อยกว่า 3.9 กิโลกรัม

จากการศึกษาครั้งนี้พบอิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มและระยะเวลาการบ่ม มีผลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อสันนอกโค ($P < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.6 เมื่อระยะเวลาการบ่มเนื้อมานานขึ้น ทั้งเนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิมและเนื้อที่บ่มในอุณหภูมิกาศตั้งแต่วันที่ 1 ถึงวันที่ 21 ของการบ่มเนื้อ มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อลดลงอย่างต่อเนื่อง เป็นผลเนื่องมาจากเอนไซม์ภายในกล้ามเนื้อย่อยสลายโปรตีนให้โมเลกุลที่เล็กลง จึงทำให้เนื้อมีความนุ่มเพิ่มมากขึ้นเมื่อระยะเวลาการบ่มนานขึ้น โดยเนื้อ โคที่บ่มระยะเวลา 21 วัน มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำที่สุด หรือเนื้อที่มีความนุ่มมากที่สุดนั่นเอง แต่ในทางกลับกันเนื้อ โคที่บ่มระยะเวลา 28 วัน กลับมีค่าสูงกว่าเนื้อ โคที่บ่มระยะเวลา 21 วัน เล็กน้อย อาจเนื่องมาจากเอนไซม์ที่มีบทบาทในการย่อยสลายโปรตีน ในกล้ามเนื้อมีปริมาณที่ลดลง หรือเนื้อที่

การบ่มอื่นๆ เมื่อนำชิ้นเนื้อไปทำให้สุกก็มีน้ำที่สูญเสียระหว่างปรุงสุกออกมาจากชิ้นเนื้ออีก จึงทำให้หลังจากการปรุงสุกเนื้อที่บ่มนาน 28 วัน มีลักษณะแห้ง เมื่อหาค่าแรงตัดผ่านเนื้อจึงมีค่าที่สูงกว่าเนื้อที่บ่มเป็นระยะเวลา 21 วัน โดยการบ่มเนื้อที่ระยะเวลา 21 วัน การบ่มแบบดั้งเดิมมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำกว่าเนื้อที่บ่มในอุณหภูมิกาศ มีค่าเท่ากับ 3.06 และ 3.23 ตามลำดับ จากการศึกษาของ Smith *et al.* (2008) เปรียบเทียบวิธีการบ่มเนื้อแบบดั้งเดิม กับการบ่มแบบบรรจุอุณหภูมิกาศที่อุณหภูมิ 1 องศาเซลเซียส โดยใช้เนื้อสันนอกโค และบ่มที่ 14, 21, 28 และ 35 วัน พบว่าค่าแรงตัดผ่านเนื้อของการบ่มแบบดั้งเดิม มีแนวโน้มต่ำกว่าเนื้อที่บ่มในอุณหภูมิกาศ ระยะเวลาบ่มที่นานขึ้นจะทำให้เนื้อโคมีความนุ่มเพิ่มขึ้น และนุ่มมากที่สุดเมื่อบ่มเป็นระยะเวลา 35 วัน แต่พบว่าเนื้อที่บ่ม 21 วัน มีความนุ่มไม่แตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) กับเนื้อที่บ่ม 28 วัน

5.2 จำนวนจุลินทรีย์บนเนื้อโค

5.2.1 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด

อิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อ มีผลต่อจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด โดยตรวจพบจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดของเนื้อสันนอกโคที่บ่มแบบดั้งเดิม มีปริมาณต่ำกว่าเนื้อที่บ่มในอุณหภูมิกาศอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เนื่องจากในสภาวะการบ่มเนื้อในอุณหภูมิกาศนั้น จะมีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาเพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาการบ่มที่นานขึ้น น้ำที่สูญเสียออกมาจากภายในชิ้นเนื้อจะอยู่ในอุณหภูมิกาศและไม่สามารถระเหยออกมาสู่ภายนอกได้ ทำให้ชิ้นเนื้อมีความชื้นสูงเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ โดยเฉพาะจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการอากาศ ส่วนการบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมจะแขวนชิ้นเนื้อไว้ในห้องเย็นและใช้ผ้าขาวบางห่อชิ้นเนื้อ ไม่ให้สูญเสีย น้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาสูงเกินไป และนอกจากนี้ผ้าขาวบางยังช่วยในการซับน้ำเลือดที่ออกมาจากชิ้นเนื้อ ทำให้การบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมผิวของเนื้อ ได้สัมผัสกับอากาศในห้องเย็น โดยตรง ส่งผลให้มีการระเหยของน้ำจากชิ้นเนื้อออกสู่ภายนอกสูง ซึ่งจากการศึกษาค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาในการทดลองครั้งนี้ พบว่าเนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิมมีค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสีย น้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา สูงกว่าการบ่มเนื้อในอุณหภูมิกาศ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ส่งผลให้การบ่มเนื้อแบบดั้งเดิม บริเวณผิวเนื้อแห้งไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ Warren and Kastner (1992) ; Ahnström *et al.* (2006) และ DeGeer *et al.* (2009) กล่าวว่า เนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิมจะมีความชื้นระเหยออกจากชิ้นเนื้อ ในระหว่างการเก็บรักษาในห้องเย็น ได้มากกว่าการบ่มเนื้อในอุณหภูมิกาศ Campbell *et al.* (2001) รายงานว่าในระหว่างการบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมในสภาวะอุณหภูมิทำให้ผิวเนื้อแห้ง จึงมีผลช่วยในการชะลอการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ นอกจากนี้ Ahnström *et al.* (2006) ยังกล่าวว่า วิธีการบ่มเนื้อในอุณหภูมิกาศเป็นวิธีที่นิยมในปัจจุบัน เนื่องจากประหยัดพื้นที่ในการบ่มเนื้อในห้องเย็น เนื้อไม่สูญเสียความชื้นและ

น้ำหนัก แต่มีข้อเสียคือ เนื้อมีความชื้นสูงทำให้เชื้อจุลินทรีย์เจริญเติบโตได้ดี ส่งผลให้อายุการเก็บรักษาเนื้อสั้นลง ในขณะที่การบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมมีข้อเสียคือ ค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูง เนื่องจากต้องใช้พื้นที่ในห้องเย็นมาก อัตราการสูญเสียน้ำหนักค่อนข้างสูง เนื่องจากบริเวณผิวเนื้อค่อนข้างแห้ง ทำให้ต้องตัดแต่งเนื้อบริเวณดังกล่าวออกไป นอกจากนี้ยังสูญเสียน้ำหนัก เนื่องจากมีการระเหยของน้ำบริเวณผิวเนื้อค่อนข้างมาก แต่การบ่มเนื้อวิธีนี้มีข้อดีคือ เนื่องจากบริเวณผิวหน้าของเนื้อค่อนข้างแห้ง จึงทำให้ไม่เหมาะต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

เนื้อกลุ่มที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดต่ำกว่าเนื้อกลุ่มที่ไม่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก ($P < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.7 จากผลการทดลองเห็นได้ว่า สารละลายกรดแลกติกมีประสิทธิภาพในการลดการปนเปื้อน และยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ทั้งหมดของเนื้อสันนอกโคในระหว่างกระบวนการบ่มได้ Woolthuis and Smulders (1985) กล่าวว่ากรดแลกติกมีผลในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ โดยกรดทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดต่ำลง ส่งผลให้สภาพแวดล้อมไม่เหมาะต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ซึ่งค่าความเป็นกรด-ด่างที่ลดลงนั้นทำให้ช่วง lag phase มีระยะเวลาที่นานขึ้น ทำให้อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ช้าลง นอกจากนี้ Adam and Hall (1988) รายงานว่า ผลของการยับยั้งจุลินทรีย์โดยกรดนั้น เกิดจากส่วนที่เป็น lipophilic ของกรดที่ใช้ซึ่งอยู่ในรูปโมเลกุลที่ไม่แตกตัวและซึมผ่านเข้าไปในผนังเซลล์ (plasma membrane) ของแบคทีเรียที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างค่อนข้างเป็นกลาง (pH 7) ซึ่งสูงกว่าค่าความเป็นกรด-ด่างของไซโตพลาสซึม ดังนั้นกรดอยู่ในรูปที่ไม่แตกตัวเข้าไปก็จะเกิดสถานะแตกตัวในรูปของ protons และ conjugated base และมีผลในการทำลาย oxidative phosphorylation form ของ electron transport system รวมถึงการยับยั้งระบบขนถ่าย substrate molecule เข้าสู่เซลล์ ส่งผลให้การทำลายหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ จากการศึกษาของ Pilasombut *et al.* (2007) และ Pilasombut *et al.* (2008) พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดของเนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติก ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ในเนื้อที่บ่ม 14 และ 30 วัน มีจำนวนลดลง ($P < 0.01$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดมีปริมาณสูงขึ้น เมื่อระยะเวลาในการบ่มเนื้อนานขึ้น ($P < 0.05$) จะเห็นได้ว่า การใช้ระยะเวลาในการบ่มเนื้อที่นานขึ้น ทำให้จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดมีการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนมากขึ้น ส่งผลต่อการเน่าเสียของเนื้อสัตว์ ในทำนองเดียวกับการศึกษาของ Pilasombut *et al.* (2007) และ Pilasombut *et al.* (2008) พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดมีจำนวนสูงขึ้นเมื่อระยะเวลาในการบ่มเนื้อนานขึ้น

พบอิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อและระยะเวลาการบ่ม ต่อจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ($P < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.8 จากการตรวจสอบจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดพบว่า เนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิมมีการเพิ่มขึ้นของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด อย่างต่อเนื่องจนถึงวันที่ 28 ของการบ่ม ในขณะที่

เอกสารการบ่มเนื้อในถุงสุญญากาศ จะมีการเพิ่มขึ้นของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ระยะเวลาการบ่ม 21 วันค่า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และที่ระยะเวลาการบ่ม 28 วัน ไม่แตกต่างกัน โดยมีค่าเท่ากับ 6.60 และ 7.16 log cfu/g ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าการบ่มเนื้อในอุณหภูมิกายไม่ควรเกิน 14 วัน เนื่องจากทำให้จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดใกล้เคียงจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ทำให้เนื้อสัตว์เน่าเสีย ซึ่งมีค่าเท่ากับ 10^7 - 10^8 cfu/g หรือ 7-8 log cfu/g (Nychas *et al.* 2008) โดยเนื้อสัตว์ที่มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ 10^7 cfu/g เนื้อจะเริ่มมีกลิ่น และเมื่อมีจำนวนถึง 10^8 cfu/g พบว่าบริเวณผิวของเนื้อเริ่มมีเมือกเกิดขึ้น (García-López *et al.* 1998)

นอกจากนี้ยังพบอิทธิพลร่วมระหว่างการใช้สารละลายกรดแลคติกและระยะเวลาการบ่มเนื้อ ($P < 0.05$) ต่อจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ดังแสดงในตารางที่ 4.9 ทั้งนี้กลุ่มที่ไม่ใช้สารละลายกรดแลคติก พบการเพิ่มขึ้นของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดอย่างต่อเนื่องจนถึงวันที่ 28 ของการบ่ม พบว่ามีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ 7.45 log cfu/g แต่พบว่าเนื้อกลุ่มที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก มีปริมาณจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ 5.75 log cfu/g แม้ว่า จะบ่มนาน 28 วัน แสดงให้เห็นว่าเนื้อกลุ่มที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้นานถึง 28 วัน

5.2.2 จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติก

จากการตรวจสอบแบคทีเรียกรดแลคติก พบว่าแบคทีเรียกรดแลคติกในสภาวะการบ่มเนื้อในอุณหภูมิกาย มีปริมาณสูงกว่าเนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 2.52 และ 2.03 log cfu/g ตามลำดับ เนื่องจากในสภาวะการบ่มเนื้อโคในอุณหภูมิกายภายในอุณหภูมิกายจะไร้ออกซิเจน หรือมีออกซิเจนในปริมาณที่น้อยมาก จึงเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียกรดแลคติก ซึ่งต่างกับการบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมที่แขวนเนื้อสัตว์นอกไว้ในห้องเย็น อากาศสามารถสัมผัสกับผิวเนื้อได้ดี จึงทำให้ในสภาวะการบ่มเนื้อในอุณหภูมิกายมีการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกได้ดีกว่าการบ่มเนื้อแบบดั้งเดิม สุมณฑา วัฒนสินธุ์ (2549) รายงานว่า แบคทีเรียกรดแลคติกส่วนใหญ่เจริญในสภาวะที่ไม่มีอากาศ แต่ในสภาวะที่มีอากาศก็มีชีวิตรอดได้ ซึ่งสอดคล้องกับ DeGeer *et al.* (2009) กล่าวว่า การบ่มเนื้อในอุณหภูมิกายจะช่วยส่งเสริมให้แบคทีเรียกรดแลคติกเจริญเติบโตได้ดี เนื่องจากแบคทีเรียกรดแลคติกเจริญได้ในสภาวะที่ไม่มีอากาศ อัจฉรา เพิ่ม (2550) ยังกล่าวว่า อุณหภูมิที่เชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกสามารถเจริญได้อยู่ในช่วง 2-53 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 30-40 องศาเซลเซียส และช่วงค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสม 5.58-6.20 แต่โดยทั่วไปเจริญได้ที่ค่าความเป็นกรด-ด่างน้อยกว่าหรือเท่ากับ 5 อัตราการเจริญเติบโตจะลดลงเมื่ออยู่ในสภาพที่เป็นกลางหรือเป็นด่าง

เนื้อกลุ่มที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก ตรวจพบจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกมีจำนวนน้อยกว่าเนื้อกลุ่มที่ไม่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก โดยมีแนวโน้มที่ค่าจะแตกต่างกันทางสถิติ ($P = 0.0500$) จะเห็นได้ว่าสารละลายกรดแลคติกมีประสิทธิภาพในการลดการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่ปนเปื้อนบนเนื้อโคได้ Woothuis and Smulders (1985) กล่าวว่ากรดแลคติก

มีผลในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ โดยกรดทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดต่ำลง ส่งผลให้สภาพแวดล้อมไม่เหมาะต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ซึ่งค่าความเป็นกรด-ด่างที่ลดลงนั้นทำให้ช่วง lag phase มีระยะเวลาที่นานขึ้น ทำให้อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ช้าลง Dorsa *et al.* (1998) พบว่าการใช้สารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ นีคพ่นซากโค สามารถลดจำนวนแบคทีเรียกรดแลกติกบนซากโคลงได้

ระยะเวลาในการบ่มเนื้อมีอิทธิพลต่อจำนวนแบคทีเรียกรดแลกติก ($P < 0.05$) ตรวจพบแบคทีเรียกรดแลกติกมีปริมาณที่สูง ในเนื้อที่สุ่มตรวจเชื้อเริ่มต้น โดยมีค่าเท่ากับ $2.25 \log \text{ cfu/g}$ และมีจำนวนลดลงเล็กน้อย เมื่อสุ่มตรวจเนื้อกลุ่มหลังฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก 30 นาที ปริมาณเชื้อยังคงไม่เพิ่มเมื่อบ่มเนื้อไว้เป็นระยะเวลา 7 วัน และเมื่อบ่มเนื้อนาน 14 วัน จำนวนแบคทีเรียกรดแลกติกมีปริมาณที่สูงขึ้นและเพิ่มจำนวนสูงที่สุดเมื่อบ่มเนื้อนาน 21 วัน และมีจำนวนลดลงเมื่อบ่มเนื้อนานถึง 28 วัน อาจเป็นไปได้ว่าจำนวนของเชื้อแบคทีเรียกรดแลกติกมีจำนวนต่ำที่สุดในเนื้อที่บ่ม 28 วัน เนื่องจากสารอาหารในเนื้อสัตว์ที่แบคทีเรียกรดแลกติกใช้ในการเจริญเติบโตมีปริมาณที่ลดน้อยลง จึงไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต จากการศึกษาของ Campbell *et al.* (2001) โดยการบ่มเนื้อสันนอกโคในอุณหภูมิก๊าซ พบว่าจำนวนแบคทีเรียกรดแลกติก มีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาบ่มที่นานขึ้น โดยมีจำนวนเท่ากับ 1.4, 0.6, 1.7 และ $2.4 \log \text{ cfu/g}$ ในวันที่ 0, 2, 9 และ 16 ของการบ่ม ตามลำดับ Ray (2004) รายงานว่า แบคทีเรียกรดแลกติกสามารถผลิตกรดแลกติก และกรดอะมิโนบางชนิด ขึ้นมาระหว่างการเก็บรักษาเนื้อสัตว์ โดยอาศัยกลูโคสในเนื้อสัตว์ ซึ่งเป็นสารที่แบคทีเรียกลุ่มนี้ใช้ประโยชน์ในการเจริญเติบโต แต่หลังจากกลูโคสในเนื้อหมดไปแบคทีเรียกลุ่มนี้จะมีจำนวนลดลง จากการศึกษาของ DeGeer *et al.* (2009) ตรวจพบแบคทีเรียกรดแลกติกในวันที่ 21 มีจำนวนสูงกว่า วันที่ 28 ของการบ่มเนื้อ ($P < 0.05$)

อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อและระยะเวลาการบ่ม มีผลต่อจำนวนแบคทีเรียกรดแลกติก ($P < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.10 ตรวจพบจำนวนแบคทีเรียกรดแลกติกของเนื้อที่บ่มในอุณหภูมิก๊าซและเนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิม มีจำนวนแบคทีเรียกรดแลกติกใกล้เคียงกัน ตั้งแต่จำนวนเชื้อเริ่มต้นจนถึงระยะเวลาในการบ่มเนื้อนานถึง 7 วัน แต่เนื้อที่บ่มในอุณหภูมิก๊าซนานถึง 14, 21 และ 28 วัน ตรวจพบจำนวนแบคทีเรียกรดแลกติกสูงกว่าเนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิม ซึ่งมีปริมาณแบคทีเรียกรดแลกติกมีแนวโน้มการลดลงอย่างต่อเนื่อง ในขณะที่พบการเพิ่มขึ้นของจำนวนแบคทีเรียกรดแลกติกในกลุ่มที่บ่มในอุณหภูมิก๊าซในวันที่ 21 และลดลงอย่างมากในวันที่ 28 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสภาพที่เหมาะสมภายในสภาพไม่มีอากาศ ทำให้ปริมาณแบคทีเรียกรดแลกติกเพิ่มขึ้นอย่างสูงสุดในวันที่ 21 และเมื่อนานถึง 28 วัน มีสารอาหารไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียกรดแลกติก จึงมีจำนวนน้อยลงเมื่อบ่มเนื้อนานถึง 28 วัน ส่วนการบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมพบว่ามีจำนวนแบคทีเรียกรดแลกติกไม่เปลี่ยนแปลง ตั้งแต่สุ่มตรวจเชื้อเริ่มต้นในวันแรกของการทดลองจนกระทั่งถึงเนื้อที่บ่มนาน 14 วัน จากนั้นมีจำนวนลดลงเมื่อบ่มเนื้อนานถึง 21 และ 28 วัน เนื่องมาจากการบ่มเนื้อไม่ทั่วถึงทุกชิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื้อแบบดั้งเดิมเป็นสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียกรดแลกติก เนื่องมาจากการบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมผิวของเนื้อสัมผัสกับอากาศในห้องเย็นโดยตรง ประกอบกับผิวเนื้อแห้งจึงไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียกรดแลกติก เพราะยิ่งระยะเวลาการบ่มนานขึ้นผิวสัมผัสของเนื้อที่บ่มยิ่งแห้งลง

5.2.3 จำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในอุณหภูมิต่ำ

การบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมตรวจพบจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในอุณหภูมิต่ำ มีจำนวนน้อยกว่าเนื้อที่บ่มในอุณหภูมิต่ำ มีค่าเท่ากับ 6.11 และ 6.27 log cfu/g แต่มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) เป็นผลเนื่องมาจากการบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมผิวเนื้อจะแห้งไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในอุณหภูมิต่ำ แต่การบ่มเนื้อในอุณหภูมิต่ำเนื้อจะมีความชื้นสูง จึงเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในอุณหภูมิต่ำ

เนื้อกลุ่มที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก ตรวจพบจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในอุณหภูมิต่ำ มีจำนวนน้อยกว่าเนื้อกลุ่มที่ไม่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก ($P<0.05$) เนื่องมาจากสารละลายกรดแลกติกมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในอุณหภูมิต่ำ Woolthuis and Smulders (1985) กล่าวว่ากรดแลกติกมีผลในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์โดยกรดทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดต่ำลง ทำให้สภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ซึ่งค่าความเป็นกรด-ด่างที่ลดลงนั้นทำให้ช่วง lag phase มีระยะเวลาที่นานขึ้น ทำให้อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ช้าลง จากการศึกษาของ Smulders and Greer (1998) และ Nissen *et al.* (2001) ใช้สารละลายกรดแลกติกในการลดจำนวนจุลินทรีย์บนเนื้อสัตว์ พบว่าสารละลายกรดแลกติก สามารถลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำบนเนื้อสัตว์ และยังพบว่าสารละลายกรดแลกติกสามารถลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ ได้ดีกว่าเชื้อกลุ่มที่เจริญในอุณหภูมิต่ำปานกลาง

จุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในที่อุณหภูมิต่ำ จากการตรวจสอบพบว่าภายหลังการฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก 30 นาที ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในอุณหภูมิต่ำ มีปริมาณลดลงจากการสุ่มตรวจเชื้อเริ่มต้น ($P<0.05$) เมื่อบ่มเนื้อไว้ที่อุณหภูมิต่ำ 0-4 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 7, 14, 21 และ 28 วัน ตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในที่อุณหภูมิต่ำสูงขึ้นตามระยะเวลาการบ่มเนื้อที่นานขึ้น เป็นเพราะว่าในการบ่มเนื้อที่อุณหภูมิต่ำ 0-4 องศาเซลเซียส เป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์กลุ่มนี้ ร่วมกับระยะเวลาในการบ่มเนื้อที่นานขึ้น ทำให้จุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนสูงขึ้น สุรีย นานาสมบัติ (2549) กล่าวว่าจุลินทรีย์ที่ชอบเจริญในสภาพที่อุณหภูมิต่ำ ซึ่งสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำระหว่าง 0-7 องศาเซลเซียส และเป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่สำคัญที่ทำให้อาหารแช่เย็นเน่าเสีย พบว่าชนิดที่ทำให้เนื้อสัตว์แช่เย็นเน่าเสีย ได้แก่ *Pseudomonas* และ *Enterococcus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พบอิทธิพลร่วมระหว่างการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาการบ่มเนื้อ ต่อจำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในอุณหภูมิต่ำ ($P < 0.05$) โดยตรวจพบจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในอุณหภูมิต่ำจากเนื้อกลุ่มที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก มีจำนวนน้อยกว่าเนื้อกลุ่มที่ไม่ใช้สารละลายกรดแลกติกที่ระยะเวลาการบ่ม 7 และ 14 วัน แต่ภายหลังจากนั้นที่ระยะเวลาการบ่ม 21 และ 28 วัน พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในอุณหภูมิต่ำ ในกลุ่มที่ใช้และไม่ใช้สารละลายกรดแลกติกไม่แตกต่างกัน แม้ว่าจะมีจำนวนสูงขึ้นตามระยะเวลาการบ่ม เนื่องมาจากการบ่มเนื้อที่อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส เป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์กลุ่มนี้ และเมื่อระยะเวลาในการบ่มเนื้อที่นานขึ้น ทำให้จุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนสูงขึ้น และการใช้สารละลายกรดแลกติก สามารถควบคุมจำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในอุณหภูมิต่ำที่ระยะเวลาการบ่มไม่เกิน 14 วัน

5.2.4 โคลิฟอร์มทั้งหมด

เนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิมตรวจพบจำนวนเชื้อ โคลิฟอร์มทั้งหมด มีจำนวนน้อยกว่าเนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศ โดยมีค่าแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$) เนื่องจากการบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมในห้องเย็น อุณหภูมิที่ต่ำ ผิวเนื้อจะแห้งไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ โคลิฟอร์ม แต่การบ่มเนื้อในถุงสุญญากาศชื้นเนื้อจะมีความชื้นสูงทำให้เชื้อ โคลิฟอร์มเจริญเติบโตได้ดี จึงมีจำนวนมากกว่าเนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิม Warren and Kastner (1992); Ahnström *et al.* (2006) และ DeGeer *et al.* (2009) กล่าวว่า เนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิมจะมีความชื้นระเหยออกจากชิ้นเนื้อ ในระหว่างการเก็บรักษาในห้องเย็น ได้มากกว่าการบ่มเนื้อในถุงสุญญากาศ Campbell *et al.* (2001) รายงานว่าในระหว่างการบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมในสภาวะอุณหภูมิต่ำ ส่งผลให้ผิวเนื้อแห้ง จึงมีผลช่วยในการชะลอการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

เนื้อกลุ่มที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก ตรวจพบเชื้อ โคลิฟอร์มทั้งหมดมีจำนวนน้อยกว่าเนื้อกลุ่มที่ไม่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก โดยมีค่าแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$) จากผลการทดลองเห็นได้ว่า สารละลายกรดแลกติกสามารถลดจำนวนเชื้อ โคลิฟอร์มทั้งหมด บนเนื้อสันนอกโคระหว่างการบ่มได้ สอดคล้องกับการศึกษาของ Pitasombut *et al.* (2007) ใช้สารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับการทดลองครั้งนี้ ร่วมกับการบ่มเนื้อสันนอกโคพันธุ์พื้นเมืองไทย ที่เก็บภายใต้สุญญากาศ พบว่าเนื้อกลุ่มที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติกสามารถลดจำนวนเชื้อ โคลิฟอร์ม และฟิคอล โคลิฟอร์ม ได้เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม จากการศึกษาของ Baird *et al.* (2006) ใช้สารละลายกรดแลกติก ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ฉีดพ่นผิวซากโค เพื่อลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ พบว่าสารละลายกรดแลกติก สามารถลดจำนวนเชื้อ โคลิฟอร์มบนผิวซากโคได้ นอกจากนี้ Woolthuis and Smulders (1985) กล่าวว่ากรดแลกติกมีผลในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ โดยกรดทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดต่ำลง ส่งผลให้สภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมต่อการ

เจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ซึ่งค่าความเป็นกรด-ด่างที่ลดลงนั้นทำให้ช่วง lag phase มีระยะเวลาที่นานขึ้น ทำให้อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ช้าลง นอกจากนี้ Adam and Hall (1988) รายงานว่า ผลของการยับยั้ง จุลินทรีย์โดยกรดนั้นเกิดจากส่วนที่เป็น lipophilic ของกรดที่ใช้ซึ่งอยู่ในรูปโมเลกุลที่ไม่แตกตัวและซึมผ่านเข้าไปในผนังเซลล์ (plasma membrane) ของแบคทีเรียที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างค่อนข้างเป็นกลาง (pH 7) ซึ่งสูงกว่าค่าความเป็นกรด-ด่างของไซโตพลาสซึม ดังนั้นกรดอยู่ในรูปที่ไม่แตกตัวเข้าไปก็จะเกิดสภาวะแตกตัวในรูปของ protons และ conjugated base และมีผลในการทำลาย oxidative phosphorylation form ของ electron transport system รวมถึงการยับยั้งระบบขนถ่าย substrate molecule เข้าสู่เซลล์ ส่งผลการทำลายหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

ระยะเวลาในการบ่มเนื้อก็มีผลต่อจำนวนเชื้อ โคลิฟอร์มทั้งหมดของเนื้อสันนอกโค พบว่าจำนวนเชื้อโคลิฟอร์มทั้งหมดมีปริมาณเชื้อลดลงต่ำลง ภายหลังจากฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก 30 นาที เมื่อเทียบกับเนื้อที่สุ่มตรวจเชื้อเริ่มต้น ($P < 0.05$) และเนื้อที่ผ่านการบ่มระยะเวลา 7, 14, 21 และ 28 วัน ตรวจพบจำนวนเชื้อ โคลิฟอร์มทั้งหมดมีจำนวนลดลงจากเชื้อเริ่มต้น ($P < 0.05$) จากผลการทดลองในครั้งนี้เห็นได้ว่า เนื้อที่ผ่านการบ่มในห้องเย็นจะมีจำนวนเชื้อ โคลิฟอร์มทั้งหมดลดต่ำลง เนื่องจากสภาวะในห้องเย็นอุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อโคลิฟอร์ม สอดคล้องกับการศึกษาของ Pitasombut *et al.* (2007) ตรวจพบเชื้อโคลิฟอร์มทั้งหมดของเนื้อสันนอกโค จากการตรวจเชื้อเริ่มต้น ก่อนการบ่มเนื้อในถุงสุญญากาศ มีปริมาณเชื้อโคลิฟอร์มสูงกว่าเนื้อที่บ่ม 14 วัน และเมื่อบ่มเนื้อนานถึง 30 วัน ตรวจไม่พบเชื้อชนิดนี้ (ต่ำกว่ามาตรฐานการตรวจพบ $< 3\text{MPN/g}$) บุญกร อุตรภินาติ (2552) กล่าวว่า เชื้อโคลิฟอร์มเป็นเชื้อที่เติบโตได้ดีในที่ที่มีอากาศและไร้อากาศ สามารถเติบโตได้ที่อุณหภูมิ 3-10 องศาเซลเซียส และเติบโตได้มากในที่ที่มีคาร์โบไฮเดรตและโปรตีน เป็นเชื้อที่ถูกทำลายด้วยความร้อนในระดับเดียวกับการพาสเจอร์ไรส์น้ำนม แสงอัลตราไวโอเลต และอุณหภูมิระดับแช่เยือกแข็ง นอกจากนี้ ศศิธร คณะรัตน์ และกาญจณี ธรรมาพิพัฒน์กุล (2534) กล่าวว่าเชื้อโคลิฟอร์มสามารถถูกทำลายได้ง่ายด้วยความร้อนและความเย็น

Eisel *et al.* (1997) กล่าวว่า การตรวจพบเชื้อโคลิฟอร์มในเนื้อโค บ่งชี้ให้เห็นว่าอาจมีการปนเปื้อนเชื้อจากของเหลวในระบบทางเดินอาหาร หรืออุจจาระบนเนื้อโค ในระหว่างกระบวนการฆ่า ศศิธร คณะรัตน์ และกาญจณี ธรรมาพิพัฒน์กุล (2534) กล่าวว่า ถ้าตรวจพบเชื้อนี้ปริมาณสูงในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ ที่ยังไม่ผ่านกระบวนการให้ความร้อน แสดงให้เห็นถึงสุขลักษณะในการผลิตที่ไม่ดี แต่ถ้ายังตรวจพบในผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ที่ผ่านความร้อนแล้ว แสดงว่าความร้อนที่ใช้ไม่เพียงพอ หรืออาจเกิดการปนเปื้อนของเชืวดังกล่าวภายหลังกระบวนการให้ความร้อนแล้ว เนื่องจากแบคทีเรียกลุ่มนี้ถูกทำลายง่ายด้วยความร้อนและความเย็น

จากการศึกษาในครั้งนี้พบอิทธิพลร่วมระหว่าง วิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติกและระยะเวลาการบ่ม ต่อจำนวนโคลิฟอร์มทั้งหมดของเนื้อสันนอกโค อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.13 พบว่าเนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิมและบ่มในถุงสุญญากาศภายหลังฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก 30 นาที จำนวนเชื้อโคลิฟอร์มทั้งหมดมีจำนวนลดลงจากเชื้อเริ่มต้น เนื่องจากกรดแลกติกมีผลในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ โดยกรดทำให้ค่าความเป็นกรดต่างลดต่ำลง ส่งผลให้สภาพแวดล้อมไม่เหมาะต่อการเจริญเติบโตของเชื้อโคลิฟอร์ม เมื่อบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมและบ่มในถุงสุญญากาศเป็นระยะเวลา 7, 14, 21 และ 28 วัน ตรวจพบจำนวนเชื้อโคลิฟอร์มทั้งหมด มีจำนวนลดลงเมื่อเทียบกับเชื้อเริ่มต้น เนื่องจากการบ่มเนื้อในห้องเย็นอุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส เป็นสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อโคลิฟอร์ม ส่งผลให้เนื้อที่บ่มในห้องเย็นมีจำนวนเชื้อโคลิฟอร์มทั้งหมดลดน้อยลงจากเชื้อเริ่มต้น ทั้งนี้ยังพบว่ากลุ่มที่ไม่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก มีจำนวนเชื้อโคลิฟอร์มทั้งหมดลดลงอย่างมาก ทั้งนี้เนื่องจากอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่ำ 0-4 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตามจากการตรวจเชื้อโคลิฟอร์มจากเนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิมและบ่มในถุงสุญญากาศ ภายหลังการฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก 30 นาที และเนื้อที่บ่มเป็นระยะเวลา 7, 14, 21 และ 28 วัน มีจำนวนเชื้อโคลิฟอร์มทั้งหมด ต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานของสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (2547) ระบุว่าตรวจพบเชื้อโคลิฟอร์มในเนื้อ โคต้อง ไม่เกิน 5×10^3 MPN/g หรือ $3.70 \log \text{ cfu/g}$ ในเนื้อ โคที่ได้มาตรฐานและถูกสุขอนามัยจากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า เนื้อโคที่ทำการศึกษาผ่านการฆ่าจากโรงฆ่าที่ได้มาตรฐานและมีสุขลักษณะในการปฏิบัติงานที่ดี นอกจากนี้การบ่มเนื้อในห้องเย็นอุณหภูมิต่ำ ยังช่วยลดจำนวนเชื้อโคลิฟอร์มทั้งหมดในเนื้อสันนอกโคให้น้อยลงด้วย

5.2.5 จำนวนเชื้อ *E. coli*

จากการตรวจสอบปริมาณของเชื้อ *E. coli* พบว่าเนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิมและบ่มในถุงสุญญากาศ ตรวจพบปริมาณเชื้อ *E. coli* ต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนด อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ โดยตรวจพบเฉพาะในการสุ่มตรวจเชื้อเริ่มต้นเพียงเท่านั้น ภายหลังจากการฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก 30 นาที และตรวจไม่พบเชื้อ *E. coli* ทุกระยะเวลาการบ่ม เมื่อบ่มเนื้อนานถึง 28 วัน จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า เนื้อโคที่ทำการศึกษาผ่านการฆ่าจากโรงฆ่าที่ได้มาตรฐานและมีสุขลักษณะในการปฏิบัติงานที่ดีจึงตรวจพบการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* ต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนด Eisel *et al.* (1997) รายงานว่าการตรวจพบเชื้อ *E. coli* ในเนื้อ โคบ่งชี้ให้เห็นว่าอาจมีการปนเปื้อนเชื้อจากของเหลวในระบบทางเดินอาหาร หรืออุจจาระบนเนื้อโคในระหว่างกระบวนการฆ่า

5.3 การเปลี่ยนแปลงของ myofibrillar proteins ขนาด 55 kDa, troponin-T ขนาด 37-39 kDa และ troponin-T_{Product} ขนาด 30 kDa ของเนื้อสันนอกโค

จากการศึกษารูปแบบการสลายตัวของ myofibrillar proteins ในเนื้อสันนอกโคที่บ่มในถุงสุญญากาศและแบบดั้งเดิมที่ 1, 7, 14, 21 และ 28 วันของการบ่ม โดยการแยกโปรตีนตามน้ำหนักโมเลกุลด้วยกระแสไฟฟ้า (SDS-PAGE) จากนั้นทำการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนขนาด 55 kDa, troponin-T ขนาด 37-39 kDa และ troponin-T_{Product} ขนาด 30 kDa จากการศึกษาพบว่า การบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมมีปริมาณโปรตีนขนาด 55 kDa, troponin-T ขนาด 37-39 kDa และ troponin-T_{Product} ขนาด 30 kDa น้อยกว่าการบ่มเนื้อในถุงสุญญากาศ ($P > 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.15 จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า เนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิมมีการย่อยสลายของโปรตีนขนาด 55 kDa, troponin-T ขนาด 37-39 kDa และ troponin-T_{Product} ขนาด 30 kDa ได้ดีกว่าการบ่มเนื้อในถุงสุญญากาศ ผลดังกล่าวพบว่าเนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิมมีความนุ่มมากกว่าเนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศ สอดคล้องกับการศึกษาครั้งนี้ที่ศึกษาอิทธิพลของวิธีการบ่มเนื้อที่มีผลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ โดยจากการศึกษาครั้งนี้พบว่า การบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ต่ำกว่าการบ่มเนื้อในถุงสุญญากาศ ($P < 0.05$) Koochmaraie and Geesink (2006) รายงานว่าปริมาณการย่อยสลายโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของโครงสร้างกล้ามเนื้อภายหลังจากสัตว์ตาย มีความสัมพันธ์กับความนุ่มของเนื้อ เมื่อมีการย่อยสลายโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของโครงสร้างกล้ามเนื้อมากขึ้น จะทำให้เนื้อมีความนุ่มเพิ่มมากขึ้น

ระยะเวลาในการบ่มเนื้อนานขึ้นพบการลดลงของปริมาณโปรตีนขนาด 55 kDa ($P > 0.05$) แสดงให้เห็นว่าเนื้อที่ใช้ระยะเวลาในการบ่มนานขึ้น จะมีการย่อยสลายของโปรตีนขนาด 55 kDa เพิ่มมากขึ้น เช่นเดียวกับปริมาณโปรตีน troponin-T ขนาด 37-39 kDa มีปริมาณโปรตีนมากที่สุดในเนื้อที่บ่ม 1 วัน โดยมีค่าเท่ากับ 1.14 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ และพบการลดลงของโปรตีน troponin-T ขนาด 37-39 kDa เมื่อระยะเวลาในการบ่มเนื้อนานขึ้นที่ 7, 14 และ 21 วันของการบ่มเนื้อ โดยมีค่าเท่ากับ 0.70, 0.61 และ 0.56 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ เมื่อบ่มเนื้อนานถึง 28 วัน พบว่าปริมาณโปรตีน troponin-T ขนาด 37-39 kDa มีปริมาณสูงกว่าเนื้อที่บ่ม 21 วัน โดยปริมาณโปรตีน troponin-T ขนาด 37-39 kDa ของเนื้อที่บ่ม 28 วัน มีค่าเท่ากับเนื้อที่บ่มระยะเวลา 7 วัน โดยมีค่าเท่ากับ 0.70 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ เห็นได้ว่าโปรตีน troponin-T ขนาด 37-39 kDa มีการย่อยสลายได้มากที่สุดภายในเนื้อที่บ่ม 21 วัน และเมื่อบ่มเนื้อนานถึง 28 วัน โปรตีน troponin-T ขนาด 37-39 kDa ก็ไม่ได้ย่อยสลายไปมากกว่าเนื้อที่บ่ม 21 วัน ส่วนปริมาณโปรตีน troponin-T_{Product} ขนาด 30 kDa มีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการบ่มเนื้อนานขึ้น โดยมีค่าเท่ากับ 1.16, 1.37, 1.28, 1.43 และ 1.49 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ซึ่งการลดลงของปริมาณโปรตีน troponin-T ขนาด 37-39 kDa และมีการเพิ่มขึ้นของปริมาณโปรตีน troponin-T_{Product} ขนาด 30 kDa นั้นมีความสัมพันธ์กับความนุ่มของเนื้อที่เพิ่มขึ้น สอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้พบว่าระยะเวลาการบ่ม

เอกสาร มีผลต่อค่าแรงตัดผ่านของเนื้อสันนอกโค ($P < 0.05$) โดยค่าแรงตัดผ่านเนื้อมีค่าลดลงตามระยะเวลาไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การบ่มจากวันที่ 1, 7, 14 และ 21 วัน โดยมีค่าเท่ากับ 6.93, 4.73, 4.12 และ 3.15 กิโลกรัม ตามลำดับ แต่เนื้อที่บ่มเป็นระยะเวลา 28 วัน มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อเท่ากับ 3.41 กิโลกรัม สูงกว่าเนื้อที่บ่มเป็นระยะเวลา 21 วัน Ho *et al.* (1997) รายงานว่า ผลจากการย่อยสลายของโปรตีนในกลุ่ม myofibrillar proteins ส่วนใหญ่แล้วมักพบการปรากฏของ polypeptides ที่มีขนาดประมาณ 30 kDa หรือ troponin-T_{product} ซึ่ง polypeptides ขนาด 30 kDa นั้นสามารถพบได้ในกล้ามเนื้อโคทั่วไปภายหลังจากสัตว์ตาย ในขณะที่เดียวกันพบว่า troponin-T จะมีปริมาณลดลง และมีความสัมพันธ์กับความนุ่มของเนื้อที่เพิ่มขึ้น สอดคล้องกับ Steen *et al.* (1997) รายงานว่าการย่อยสลายของโปรตีน troponin-T และปรากฏขึ้นของ polypeptides ขนาด 30 kDa ในเวลาเดียวกันนั้น นับว่าเป็นตัวบ่งชี้ได้อย่างดีถึงการเกิดกระบวนการย่อยสลายโปรตีนในกล้ามเนื้อสัตว์ โดยเอ็นไซม์ calpains และส่งผลให้เนื้อมีความนุ่มเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้ Jirajaroenrat *et al.* (2007) ทำการศึกษารูปแบบการสลายตัวของโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อสันนอกของโคกำแพงแสน ซึ่งเป็นโคพันธุ์เดียวกับการศึกษาในครั้งนี้ โดยบ่มเนื้อในถุงสุญญากาศที่อุณหภูมิ 2-4 องศาเซลเซียส 0, 1, 3, 5, 7, 10, 14, 17 และ 21 วันของการบ่ม จากนั้นทำการแยกโปรตีนตามน้ำหนักโมเลกุลด้วยกระแสไฟฟ้า (SDS-PAGE) พบว่าแถบโปรตีนที่มีขนาด 37-39 kDa มีความเข้มลดลง ในขณะที่แถบโปรตีนขนาด 30 kDa ปรากฏความเข้มเพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาในการบ่มเนื้อมานานขึ้น และมีความสัมพันธ์กับค่าแรงตัดผ่านเนื้อที่ลดลง

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

6.1 สรุปผลการทดลอง

การบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมและบรรจุถุงสุญญากาศ การใช้และไม่ใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาในการบ่ม เป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อคุณภาพเนื้อ ในขณะที่เดียวกันในการศึกษาครั้งนี้พบว่า ปัจจัยทั้ง 3 ที่มีผลต่อคุณภาพเนื้อและจำนวนจุลินทรีย์ในเนื้อดังนี้

คุณภาพเนื้อโค

1. เนื้อสันนอกโคที่บ่มแบบดั้งเดิมมีค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการรักษา สูงกว่าเนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศ แต่เนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิมมีความนุ่มมากกว่าเนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศ วิธีการบ่มเนื้อไม่มีผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการปรุงสุก ค่าความสว่าง (L^*) ค่าสีแดง (a^*) และค่าสีเหลือง (b^*) ของเนื้อสันนอกโค

2. เนื้อสันนอกโคที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติกมีค่าความเป็นกรด-ด่าง และค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการรักษา สูงกว่าเนื้อที่ไม่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก แต่การใช้สารละลายกรดแลกติกและไม่ใช้สารละลายกรดแลกติกฉีดพ่นผิวเนื้อ ไม่มีผลต่อค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการปรุงสุก ค่าความสว่าง ค่าสีแดง ค่าสีเหลือง และความนุ่มของเนื้อสันนอกโค

3. เนื้อสันนอกโคที่บ่ม 7 วัน มีค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้นจากเนื้อในวันแรกของการทดลอง และมีค่าลดลงเมื่อบ่มเนื้อ 14 วัน และมีค่าเพิ่มขึ้นอีกเมื่อบ่มเนื้อ 21 และ 28 วัน ค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการรักษา มีค่าสูงขึ้นเมื่อระยะเวลาในการบ่มเนื้อมานานขึ้น ($P=0.0797$) ค่าความสว่าง ค่าสีแดงและค่าสีเหลืองของเนื้อสันนอกโค มีค่าเพิ่มสูงขึ้นทุกระยะเวลาการบ่มเนื้อเมื่อเทียบกับเนื้อที่ทำการศึกษาในวันแรกของการทดลอง ค่าแรงตัดผ่านเนื้อมีค่าลดลงอย่างต่อเนื่องจากวันแรกของการทดลองจนถึงวันที่ 21 ของการบ่มเนื้อ เนื้อที่บ่มนาน 28 วัน ค่าแรงตัดผ่านเนื้อก็ไม่ได้ลดลงต่ำกว่าเนื้อที่บ่ม 21 วัน พบว่าเนื้อสันนอกโคที่บ่ม 21 วัน มีความนุ่มมากที่สุดเมื่อเทียบกับระยะเวลาบ่มอื่นๆ แต่ระยะเวลาการบ่มเนื้อไม่มีผลต่อค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการปรุงสุกของเนื้อสันนอกโค

4. เนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศ มีค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการรักษาต่ำที่สุด แต่ถ้าใช้สารละลายกรดแลกติกร่วมกับการบ่มเนื้อในถุงสุญญากาศ หรือร่วมกับการบ่มเนื้อแบบดั้งเดิม จะมีค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการรักษาที่สูงเท่ากัน

5. ระยะเวลาการบ่มเนื้อที่นานขึ้น มีผลทำให้ค่าสีเหลืองของเนื้อเพิ่มขึ้นในวิธีการบ่มแบบดั้งเดิม แต่เนื้อที่บ่มในอุณหภูมิกาศพบว่าค่าสีเหลืองของเนื้อ มีค่าลดลงในช่วงการบ่มที่ 21 และ 28 วัน เมื่อเทียบกับเนื้อที่บ่ม 14 วัน

6. เนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิมและเนื้อที่บ่มในอุณหภูมิกาศที่ระยะเวลาในการบ่ม 21 วัน มีความนุ่มมากที่สุด และเมื่อบ่มเนื้อนานถึง 28 วัน เนื้อทั้งสองวิธีการบ่มกลับเหนียวกว่าเนื้อที่บ่ม 21 วัน

จำนวนจุลินทรีย์บนเนื้อโค

1. เนื้อสันนอกโคที่บ่มแบบดั้งเดิมมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลกติก จุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในอุณหภูมิต่ำ และจำนวนเชื้อ โคลิฟอร์มทั้งหมดน้อยกว่าเนื้อที่บ่มในอุณหภูมิกาศ

2. เนื้อสันนอกโคที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ตรวจพบจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลกติก จุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในอุณหภูมิต่ำ และจำนวนเชื้อ โคลิฟอร์มทั้งหมดน้อยกว่าเนื้อที่ไม่ฉีดพ่นสารละลายกรดแลกติก

3. จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดและจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในอุณหภูมิต่ำ มีจำนวนเพิ่มสูงขึ้นเมื่อระยะเวลาการบ่มเนื้อนานขึ้น ส่วนแบคทีเรียกรดแลกติกมีจำนวนมากที่สุดในเนื้อที่บ่ม 21 วัน เมื่อบ่มเนื้อนาน 28 วัน แบคทีเรียกรดแลกติกมีจำนวนลดลงและมีจำนวนน้อยที่สุด พบว่าจำนวนเชื้อ โคลิฟอร์มทั้งหมดของเนื้อที่สุ่มตรวจเชื้อเริ่มต้น ในวันแรกของการทดลอง มีจำนวนเชื้อ โคลิฟอร์มทั้งหมดมากกว่าเนื้อทุกระยะเวลาการบ่ม

4. เนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิมมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดน้อยกว่าเนื้อที่บ่มในอุณหภูมิกาศ ทุกระยะเวลาการบ่ม โดยเนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิมสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้นานถึง 28 วัน ในขณะที่เนื้อที่บ่มในอุณหภูมิกาศ ปริมาณจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มมากขึ้น ใกล้เคียงกับจำนวนจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นเกณฑ์ในการกำหนดการเน่าเสียของเนื้อ ที่ระยะการบ่ม 21 และ 28 วัน

5. เนื้อที่บ่มในอุณหภูมิกาศมีจำนวนแบคทีเรียกรดแลกติก สูงกว่าเนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิมในวันที่ 14, 21 และ 28 ของการบ่ม

6. การบ่มเนื้อนานถึง 28 วัน ตรวจพบจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดของเนื้อกลุ่มที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก มีจำนวนต่ำกว่าเนื้อกลุ่มที่ไม่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก โดยเนื้อกลุ่มที่ไม่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดใกล้เคียงเกณฑ์ในการกำหนดการเน่าเสียของเนื้อ ในขณะที่เนื้อกลุ่มที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้นานถึง 28 วัน

7. เนื้อกลุ่มที่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก มีจำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญในอุณหภูมิต่ำ และจำนวนเชื้อ โคลิฟอร์มทั้งหมด น้อยกว่าเนื้อกลุ่มที่ไม่ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก ภายหลังการฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลกติก แต่เมื่อนำเนื้อไปเก็บไว้ในห้องเย็นพบว่าความเย็นจะเป็นตัวยับยั้งจุลินทรีย์ดังกล่าว

การย่อยสลายของ myofibrillar proteins ของเนื้อโค

ในการศึกษารุ่นนี้ยังได้ทำการศึกษาถึงวิธีการบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมและบรรจุถุงสุญญากาศ และระยะเวลาในการบ่ม ต่อการย่อยสลายของ myofibrillar proteins ด้วยเทคนิค SDS – PAGE โดยมีผลการทดลองดังต่อไปนี้

1. เนื้อสันนอกโคที่บ่มแบบดั้งเดิม มีการย่อยสลายของ myofibrillar proteins ขนาดประมาณ 55 kDa, troponin-T ขนาด 37-39 kDa และ troponin-T_{Product} ขนาด 30 kDa ได้ดีกว่าเนื้อที่บ่มแบบบรรจุถุงสุญญากาศ ทำให้เนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิมมีความนุ่มมากกว่าเนื้อที่บ่มแบบบรรจุถุงสุญญากาศ
2. ระยะเวลาในการบ่มเนื้อที่นานขึ้น ทำให้มีการย่อยสลายของ myofibrillar proteins ขนาดประมาณ 55 kDa เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการบ่ม
3. โปรตีน troponin-T ขนาด 37-39 kDa มีการย่อยสลายเพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาการบ่มที่นานขึ้น ตั้งแต่วันที่ 1 ถึง วันที่ 21 ของการบ่ม โดยในวันที่ 21 ของการบ่มเนื้อ มีการย่อยสลายของโปรตีน troponin-T ขนาด 37-39 kDa มากที่สุด เมื่อบ่มเนื้อนานถึง 28 วัน พบว่ามีการย่อยสลายของโปรตีน troponin-T ขนาด 37-39 kDa น้อยกว่า 21 วัน ซึ่งสอดคล้องกับค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ที่พบว่าเนื้อที่บ่ม 21 วันมีความนุ่มมากที่สุดเมื่อเทียบกับระยะเวลาการบ่มอื่นๆ
4. เมื่อระยะเวลาในการบ่มเนื้อนานขึ้น พบการเพิ่มขึ้นของปริมาณโปรตีน troponin-T_{Product} ขนาด 30 kDa ตามระยะเวลาการบ่ม ซึ่งการเพิ่มขึ้นของปริมาณ troponin-T_{Product} ขนาด 30 kDa จะมีความสัมพันธ์กับการย่อยสลายของโปรตีน troponin-T ขนาด 37-39 kDa ส่งผลให้เนื้อมีความนุ่มเพิ่มมากขึ้น

6.2 ข้อเสนอแนะ

1. การบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมจะมีข้อเสียคือ มีค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการรักษาสูงกว่าการบ่มเนื้อในถุงสุญญากาศ แต่ถ้าคำนึงถึงความนุ่มของเนื้อเป็นหลัก วิธีการบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมทำให้เนื้อนุ่มกว่าการบ่มเนื้อในถุงสุญญากาศ นอกจากนี้เนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิมมีจำนวนจุลินทรีย์ต่ำกว่าเนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศ และแม้ว่าในการทดลองครั้งนี้ไม่ได้ทำการศึกษาในเรื่องของกลิ่น รสชาติ และความชอบของผู้บริโภค แต่มีงานวิจัยที่ทำการทดลองพบว่าเนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิมมีกลิ่นรสชาติที่ดีกว่าเมื่อนำเนื้อไปบริโภค ส่วนเนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศจะมีกลิ่นเปรี้ยวและมีกลิ่นของน้ำเลือด การบ่มเนื้อในถุงสุญญากาศแม้ว่าความนุ่มจะน้อยกว่าเล็กน้อย แต่มีข้อดีคือ มีค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการรักษาต่ำ ส่งผลต่อกำไรที่ผู้ประกอบการได้รับมากขึ้น และการบ่มเนื้อในถุงสุญญากาศจะเหมาะสมกับการนำเนื้อไปประกอบอาหาร โดยตรง โดยไม่ควรถิ่นจะนำไปตัดแต่งเพื่อการวางจำหน่ายปลีกต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. สารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพในการลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียกรดแลกติก จุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในอุณหภูมิต่ำ เชื้อโคลิฟอร์มทั้งหมด และเชื้อ *E. coli* บนเนื้อสันนอกโคได้ แต่ควรใช้สารละลายกรดแลกติกฉีดพ่นผิวซาก ร่วมกับการบ่มแบบดั้งเดิม จะเหมาะสมกว่า เพราะถ้าใช้สารละลายกรดแลกติกร่วมกับการบ่มเนื้อในอุณหภูมิต่ำ จะทำให้มีค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาสูง ทั้งนี้ถ้าจะใช้ไม่ควรบ่มนานเกินกว่า 14 วัน

3. ระยะเวลาการบ่มเนื้อที่เหมาะสม ทั้งเนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิมและเนื้อที่บ่มในอุณหภูมิต่ำ คือ 21 วัน ทั้งนี้นอกจากการบ่มเนื้อที่นานจะมีผลเสียต่อค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษาที่สูงขึ้นแล้ว การบ่มเนื้อนานถึง 28 วัน ยังทำให้เนื้อมีความนุ่มลดลงกว่าเนื้อที่บ่ม 21 วัน นอกจากนี้การบ่มเนื้อในอุณหภูมิต่ำที่นานเกินกว่า 14 วัน จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดจะใกล้เคียงจำนวนจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นเกณฑ์ในการกำหนดเนื้อเน่าเสีย

4. งานวิจัยครั้งนี้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของ myofibrillar proteins ในวิธีการบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมและบรรจุอุณหภูมิต่ำ และระยะเวลาในการบ่ม โดยใช้เทคนิค SDS-PAGE เนื่องจากเทคนิค SDS-PAGE เป็นการแยกโปรตีนออกจากกันโดยอาศัยน้ำหนักโมเลกุลที่แตกต่างกันของโปรตีน ทั้งนี้ Negishi *et al.* (1996) รายงานว่าแถบโปรตีนที่เห็นในแต่ละตำแหน่งที่เกิดจากการศึกษาด้วยเทคนิค SDS-PAGE อาจไม่ได้มีแค่โปรตีนเพียงชนิดเดียวอยู่ ซึ่งโปรตีนคนละชนิดที่มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากัน หรือใกล้เคียงกัน อาจลงมาอยู่ ณ ตำแหน่งเดียวกันก็เป็นได้

ดังนั้นหากต้องการแยกโปรตีนแต่ละชนิดออกจากกันอย่างชัดเจน ควรเลือกใช้เทคนิคที่มีการบ่งชี้โปรตีนด้วย antibody ที่จับจำเพาะต่อ โปรตีนชนิดนั้นๆ เช่นการใช้เทคนิค Western blotting

บรรณานุกรม

- กรรณิกา ชัชวาลวานิช. 2546. **จุลกายวิภาคศาสตร์**. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- คมแข พิลาสมบัติ. 2550. **เอกสารประกอบการสอนวิชาสุขศาสตร์เนื้อสัตว์**. กรุงเทพฯ : ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- คมแข พิลาสมบัติ, อังคณา ทุมดี, พงศ์ศักดิ์ ศรีธเนศชัย และธำรงค์ เมฆโหรา. 2551. “การสำรวจการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์บนเนื้อโคในเขตกรุงเทพมหานคร.” หน้า 318-321. ใน การประชุมวิชาการสัตวศาสตร์ครั้งที่ 4. ขอนแก่น : คลังนานาวิทยา.
- จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2539. **เอกสารประกอบการสอนวิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์ขั้นสูง**. กรุงเทพฯ : ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2540. **การจัดการโรงฆ่าสัตว์**. กรุงเทพฯ : ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- จุฑารัตน์ เศรษฐกุล, คมแข พิลาสมบัติ และประภาพร ขอไพบุลย์. 2540. “การลดปริมาณการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์บนผิวซากสุกรที่ผ่านกระบวนการฆ่ามาตรฐาน และไม่ได้มาตรฐาน โดยใช้สารละลายกรดแลกติก และคลอรีน.” หน้า 222-231. ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 35 สาขาสัตว์ และสัตวแพทยศาสตร์. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2548. **บริโภคนิยมอย่างถูกวิธี ต้องรู้จักคุณภาพเนื้อ**. [Online]. Available : <http://elib.fda.moph.go.th/library/default.asp?page2=subdetail&id=896>. [16/01/52]
- จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2552. “การใช้ประโยชน์จากเนื้อโคไทย.” หน้า 5-34. ใน จุฑารัตน์ เศรษฐกุล และพรณิภา ศิวะพิรุฬห์เทพ (บรรณาธิการ). **คุณค่าเนื้อโคไทย**. กรุงเทพฯ : อมรินทร์พริ้นติ้ง แอนด์พับลิชชิ่ง.
- ฉันทวัฒน์ อาชวาคม. 2552. “การสลายตัวของโปรตีน Troponin-T และความนุ่มของเนื้อโคกำแพงแสนและเนื้อโคพื้นเมืองที่ระยะเวลาการบ่มต่างกัน.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาสัตวศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- ชัยณรงค์ คັນรพนิต. 2529. **วิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์**. กรุงเทพฯ : ไทยวัฒนาพานิช.
- บุญศรี จงเสรีจิตต์. 2552. **จุลชีววิทยาทางอาหาร**. นครปฐม : มหาวิทยาลัยศิลปากร.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บุษกร อุตริชาติ. 2552. จุลชีววิทยาทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 4 ฉบับปรับปรุง. สงขลา : นำสิลป์ โฆษณา.

ฝ่ายบริการข้อมูลและสารสนเทศ สถาบันอาหาร. 2548. มาตรฐานสารตกค้างและจุลินทรีย์ปนเปื้อนในอาหารของประเทศกัมพูชา. กรุงเทพฯ : ฝ่ายบริการข้อมูลและสารสนเทศ สถาบันอาหาร.

วิจิต พรหมอินทร์. 2549. “คุณภาพซากและคุณภาพเนื้อโคขุนภายใต้ระบบการผลิตของสหกรณ์โคเนื้อกำแพงแสน.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาสัตวศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ศศิธร คณรัตน์ และกาญจณี ธรรมมาพิพัฒนกุล. 2534. การตรวจวิเคราะห์เนื้อสัตว์ในห้องปฏิบัติการ. เอกสารประกอบการฝึกอบรมพนักงานตรวจเนื้อฝ่ายสัตวแพทย์. สาธารณะสุข. กรมปศุสัตว์.

ศุภมณฑา วัฒนสินธุ์. 2549. ตำราจุลชีววิทยาทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : จามจุรีโปรดักท์.

สุริย์ นานาสมบัติ. 2549. ปฏิบัติการจุลชีววิทยาที่เกี่ยวข้องกับขบวนการแปรรูปอาหาร. กรุงเทพฯ : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2547. มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช 6001-2547) : เนื้อโค. [Online]. Available : <http://www.acfs.go.th/standard/download/cow.pdf>. [28/10/53]

สำนักพัฒนาการปศุสัตว์และถ่ายทอดเทคโนโลยี. 2010. แผนยุทธศาสตร์การพัฒนาโคเนื้อ ปี 2554-2557 : การทบทวนปัจจัยแวดล้อมด้านการตลาด. [Online]. Available : http://www.dld.go.th/transfer/th/index.php?option=com_content&task=view&id=5365&Itemid=105. [19/05/54]

อัจฉรา เพิ่ม. 2550. แบคทีเรียกรดแลคติก. สงขลา : ภาพพิมพ์.

อาณัติ อุ่นเรือน. 2552. “ผลของการใช้สารละลายกรดแลคติกร่วมกับการบ่มเนื้อต่อคุณภาพเนื้อโค.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาสัตวศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

Acker, D. and Cunningham, M. 1991. *Animal science and industry*. Prentic-Hall Inc. New Jersey.

Adam, M.R. and Hall, C.A. 1988. “Growth inhibition of food-born pathogens by lactic acid and acetic acid and their mixture.” *J. Food Sci. Technol.* 23 : 287-292.

Ahnström, L.M., Seyfert, M., Hunt, M.C. and Johnson, D.E. 2006. “Dry aging of beef in a bag highly permeable to water vapour.” *Meat Sci.* 73 : 674-679.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Anonymous. 2007. **Meat quality and safety**. [Online]. Available : http://ag.ansc.purdue.edu/meat_quality/aging_meat.html. [12/11/51]
- AOAC. 2006. "Chaper 17 AOAC Official Method 966.23c-24." p. 5-6. In Horwitz, W. and Latimer, G.W. **Official methods of analysis of AOAC international**. Maryland : AOAC international.
- Baird, B.E., Lucia, L.M., Acuff, G.R., Harris, K.B. and Savell, J.W. 2006. "Beef hide antimicrobial intervention as a means of reducing bacterial contamination." **Meat Sci.** 73 : 245-248.
- Boakye, K. and Mittal, G.S. 1996. "Changes in colour of beef *M. longissimus dorsi* muscle during ageing." **Meat Sci.** 42 : 347-354.
- Boehm, M.L., Kendall, T.L., Thomson, V.F. and Goll, D.G. 1998. "Changes in the calpains and calpastatin during post mortem storage of bovine muscle." **J. Anim. Sci.** 76 : 2415-2434.
- Bosilevac, J.M., Nou, X., Barkocy-Gallagher, G.A., Arthur, T.M. and Koochmaraie, M. 2006. "Treatment using hot water instead of lactic acid reduce levels of aerobic bacteria and *Enterobacteriaceae* and reduce the prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 on previsceration beef carcasses." **J. Food Prot.** 69 : 1808-1813.
- Campbell, R.A., Hunt, M.C., Levis, P. and Chambers IV, E. 2001. "Dry-aging effects on palatability of beef Longissimus muscle." **J. Food Sci.** 66 : 196-199.
- Claeys, E., Uytterhaegen, L., Buts, B. and Demeyer, D. 1995. "Quantitation of beef myofibrillar protein by SDS – PAGE." **Meat Sci.** 39 : 177-193.
- DeGeer, S.L., Hunt, M.C., Bratcher, C.L., Crozier-Dodson, B.A., Johnson, D.E. and Stika, J.F. 2009. "Effects of dry aging of bone-in and boneless strip loins using two aging processes for two aging times." **Meat Sci.** 83 : 768-774.
- Devine, C.E., Wahlgren, N.M. and Tornberg, E. 1999. "Effect of rigor temperature on muscle shortening and tenderization of restrained and unrestrained beef *m. longissimus thoracicus et lumborum*." **Meat Sci.** 51 : 61-72.
- De Smet, S., Claeys, E. and Rase, K. 2004. **Workshop on quality and functionality of meat**. [Slide]. Gent : University of Gent.
- Dontorou, A., Papadopoulou, C., Filioussis, G., Apostolou, I., Economou, V., Kansouzidou, A. and Levidiotou, S. 2004. "Isolation of a rare *Escherichia coli* O157:H7 strain from farm animals in Greece." **Comp. Immunol., Microbiol. and Infect. Dis.** 27 : 201-207.

- Dorsa, W. J., Cutter, C. N. and Siragusa, G. R. 1998. "Long-term bacterial profile of refrigerated ground beef made from carcass tissue, experimentally contaminated with pathogens and spoilage bacteria after hot water, alkaline, or organic acid washes." **J. Food Prot.** 61 : 1615-1622.
- Eisel, W.G., Linton, R.H. and Muriana, P.M. 1997. "A survey of microbial levels for incoming raw beef environmental sources and ground beef in a red meat processing plant." **J. Food Microbiol.** 14 : 273-282.
- Epley, J.R. 2007. **Meat tenderness.** University of Minnesota. [Online]. Available : <http://www.extension.umn.edu/distribution/nutrition/DJ0856.html>. [28/02/52]
- FAO/WHO. 1974. "Toxicology evaluation of some food additive." 461-465. in **The 17th report of the joint FAO/WHO expert committee on food additive.** FAO nutrition meeting report series No. 53 Rome. Geneva. WHO technical report series.
- García-López, M.L., Prieto, M. and Otero, A. 1998. "The physio attributes of gram-negative bacteria associated with spoilage of meat and meat products." 1-28. in **The microbiology of meat and poultry.** London : Blackie Acadmic & Professional.
- Gill, C.O. and Badoni, M. 2004. "Effects of peroxyacetic acid acidified sodium chlorite or lactic acid solutions on the microflora of chilled beef carcasses." **J. Food Microbiol.** 91 : 43-50.
- Gormley, R. 2000. **Microbial Control in the Meat Industry.** [Online]. Available : http://www.teagasc.ie/ashtown/research/preparedfoods/microbial_control_meat_industry.pdf. [27/10/52]
- Gould, G.W., editor. 1995. "Preservation by microbial decontamination ; the surface treatment of meats by organic acids." **New methods of Food preservation.** Glasgow : Blackie academic and professional an imprint of Chapman & Hall.
- Ho, C.Y., Stromer, M.H., Rouse, G. and Robson, R.M. 1997. " Effects of electrical stimulation and postmortem storage on changes in Titin, Nebulin, Desmin, Troponin-T, and muscle ultrastructure in *Bos indicus* crossbred cattle." **J. Anim. Sci.** 75 : 366-376.
- Huffman, R.D. 2002. Current and future technologies for the decontamination of carcasses and fresh meat. **Meat Sci.** 62 : 285-294.

- Hwang, I.H., Park, B.Y., Cho, S.H. and Lee, J.M. 2004. "Effects of muscle shortening and proteolysis on Warner-Bratzler shear force in beef *longissimus* and *semitendinosus*." **Meat Sci.** 68 : 497-505.
- Insausti, K., Beriain, M.J., Purroy, A., Alberti, P., Gorraiz, C. and Alzueta, M.J. 2001. "Shelf life of beef from local Spanish cattle breeds stored under modified atmosphere." **Meat Sci.** 57 : 273-281.
- Jirajaroenrat, K., Opatpatanakit, Y., Srisuwan, L. and Sethakul, J. 2007. "Myofibrillar protein degradation over ageing period of Kampaengsaen Beef." 193-194. in **Proceeding of 53rd International Congress of Meat Science and Technology**. Beijing, China.
- Koohmaraie, M. 1994. "Muscle proteinases and meat aging." **Meat Sci.** 36 : 93-104.
- Koohmaraie, M. 1996. "Biochemical factors regulating the toughening and tenderization process of meat." **Meat Sci.** 43 : 193-201.
- Koohmaraie, M. and Geesink, G. H. 2006. "Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system." **Meat Sci.** 74 : 34-43.
- Lawrie, R.A. and Ledward, D.A. 2006. **Lawrie's meat science**. Cambridge : Woodhead Publishing.
- Medicalook. 2010. **Skeletal muscle fiber**. [Online]. Available : http://www.medicalook.com/human_anatomy/organs/Skeletal_muscle_fiber.html. [20/10/53]
- Morgan, J.B., Savell, J.W., Hale, D.S., Miller, R.K., Griffin, D.B., Cross, H.R. and Shackelford, S.D. 1991. "National beef tenderness survey." **J. Anim. Sci.** 69 : 3274-3283.
- Muroya, S., Nakajima, I., Oe, M. and Chikuni, K. 2006. "Different in post mortem degradation pattern among troponin T isoforms expressed in bovine *longissimus*, diaphragm and masseter muscles." **Meat Sci.** 72 : 245-251.
- Negishi, H., Yamamoto, E. and Kuwata, T. 1996. "The origin of the 30 kDa component appearing during post-mortem ageing of bovine muscle." **Meat Sci.** 42 : 289-303.
- Nissen, H., Maugesten, T. and Lea, P. 2001. "Survival and growth of *Escherichia coli* 0157 : H7 *Yersinia enterocolitica* and *Salmonella enteritidis* on decontaminated and untreated meat." **Meat Sci.** 57 : 291-298.
- Nychas, G.J.E., Skandamis, P.N., Tassou, C.C. and Koutsoumanis, K.P. 2008. "Meat spoilage during distribution." **Meat Sci.** 78 : 77-89.

- Özdemir, H., Yildirm, Y., Küplülü, Ö., Koliman, A., Göncüoğlu, M. and İnat, G. 2006. "Effects of lactic acid and hot water treatments on *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes* on beef." **Food Control**. 17 : 299-303.
- Pearson, A.M. and Young, R.B. 1989. **Muscle and meat biochemistry**. San Diego : Academic Press.
- Pilasombut, K., Ounruan, A., Opatpatanakit, Y. and Sethakul, J. 2007. "Influence of lactic acid on reduction of bacterial population of Thai native beef." 415-417. in **Proceeding of the international conference on integration of science and technology for sustainable development " biological diversity, food and agricultural technology."** Bangkok, Thailand.
- Pilasombut, K., Opatpatanakit, Y., Thumdee, A. and Sethakul, J. 2007. "Microbial decontamination by dipping lactic acid solution on pork stored at room temperature." 35-36. in **Proceedings of 53rd international congress of meat science and technology**. Beijing.
- Pilasombut, K., Ounruan, A., Ngamyeesoon, N. and Sethakul, J. 2008. "Effects of lactic acid solution associated with postmortem aging on *Longissimus M.* quality of Thai native beef." in : **Proceedings of the 13th animal science congress of the asian-australasian association of animal production societies**. Hanoi, Vietnam.
- Pipek, P., Houška, M., JeleníKová, J., Kýhos, K., Hoke, K. and Šikulová, M. 2005. "Microbial decontamination of beef carcasses by combination of steaming and lactic acid spray." **J. Food Eng.** 67 : 309-315.
- Podolak, R.K., Zayas, J.F., Kastner, C.L. and Fung, D.Y.C. 1996. "Reduction of bacteria populations on vacuum-pakaged ground beef patties with fumaric and lactic acids." **J. Food Prot.** 59 : 1037-1040.
- Rao, D.N., Nair, K.K.S. and Sakhare, P.Z. 1998. "Meat microbiology and spoilage in tropical countries." 220-265. in **The Microbiology of Meat and Poultry**. Blackie Academic and Professional, London.
- Ray, B. 2004. **Fundamental Food Microbiology**. 3rd ed. Florida : CRC Press LLC.
- Shanckelford, S.D., Wheeler, T.L. and Koohmaraie, M. 1997. "Tenderness classification of beef : I Evaluation of beef longissimus shear force at 1 or 2 day postmortem as a predictor of aged beef tenderness." **J. Anim. Sci.** 75 : 2417-2422.

- Smith, R.D., Nicholson, K.L., Nicolson, J.D.W., Harris, K.B., Miller, R.K., Griffin, D.B. and Savell, J.W. 2008. "Dry versus wet aging of beef : Retail cutting yields and consumer palatability evaluations of steaks from US choice and US select short loins." *Meat Sci.* 79 : 631-639.
- Smulders, F.J.M., Barendsen, P., Van Logtestijn, J.G., Mossel, D.A.A. and Vander Marel, G.M. 1986. "Lactic acid : consideration in flavor of its acceptance as a meat decontamination." *J. Food Technol.* 21 : 419-436.
- Smulders, F.J.M. and Greer, G.G. 1998. "Integrating microbial decontamination with organic acids in HACCP programmes for muscle foods : prospects and controversies." *Inter. J. Food Microbiol.* 44 : 149-169.
- Snijder, J.M.A., Walsh, J. and Scott, J. 1985. "Lactic acid as a decontamination in slaughter and processing product." *Vet. Quart.* 7 : 277-282.
- Steen, D., Claeys, E., Uytterhaegen, L., De Smet, S. and Demeyer, D. 1997. " Early post-mortem conditions and the calpain/calpastatin system in relation to tenderness of double-muscled beef." *Meat Sci.* 45 : 307-319.
- Stolowski, G.D., Baird, B.E., Miller, R.K., Savell, J.W., Sams, A.R., Taylor, J.F., Sanders, J.O. and Smith, S.B. 2006. "Factors influencing the variation in tenderness of seven major beef muscles from three Angus and Brahman breed crosses." *Meat Sci.* 73 : 475-483.
- Tutorvista. 2010. **Structure of Skeletal Muscle.** [Online]. Available : <http://www.tutorvista.com/content/biology/biology-iv/locomotion-animals/movement-locomotion-animals.php>. [20/09/53]
- Van Moeseke, W. and De Smet, S. 1999. "Effect of time of deboning and sample size on drip loss of pork." *Meat Sci.* 52 : 151-156.
- Warren, E.K. and Kastner, C.L. 1992. "A comparison of dry-aged and vacuum-aged beef strip loins." *J. Muscle Foods.* 3 : 151-157.
- Warriss, P.D. 2000. **Meat science an introductory text.** Wallinford : CABL.
- Woolthuis, C.H.J. and Smulders, F.J.M. 1985. "Microbiological contamination of calf carcasses by lactic acid sprays." *J. Food Prot.* 48 : 832-837.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

การเตรียมสารละลายกรดแลกติก

กรดแลกติกที่มีชื่อทางการค้าว่า PURAC 80 (กรดแลกติกมีความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์) ในการทดลองใช้ที่ระดับความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตรโดยปริมาตร (v/v) การเตรียมสารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ (v/v) สามารถทำได้โดย ละลายกรดแลกติก 25 มิลลิกรัม ใน น้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วให้ได้ 1 ลิตร จะได้สารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์

กรดแลกติกที่มีชื่อทางการค้าว่า PURAC 80 ราคาลิตรละ 90 บาท สารละลายกรดแลกติก ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ (v/v) คิดเป็นเงิน 2.25 บาท/ 1 ลิตร

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

Peptone

Peptone 1 g

น้ำกลั่น 1000 ml

ละลาย Peptone กับน้ำกลั่นให้เข้ากัน จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

Plate Count agar

Plate Count Agar 22.5 g

น้ำกลั่น 1000 ml

ละลายอาหาร Plate Count Agar กับน้ำกลั่นให้เข้ากัน จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

MRS agar + CaCO₃

MRS 52.2 g

Agar 1.5 %

CaCO₃ 0.5 %

น้ำกลั่น 1000 ml

ละลายอาหาร MRS, Agar และ CaCO₃ กับน้ำกลั่นให้เข้ากัน จากนั้นนำไปนึ่งฆ่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Chromocult

Chromocult	26.5 g
น้ำกลั่น	1000 ml

หมายเหตุ : ในการเตรียมอาหาร Chromocult โดยนำอาหารมาผสมกับน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นนำไปผ่านความร้อนให้อาหารละลาย โดยไม่ต้องนำอาหารไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เพราะจะทำให้ประสิทธิภาพของอาหารเปลี่ยนไปจากเดิม

การเตรียมสารเคมีในการวิเคราะห์กลุ่มเส้นใยโปรตีนของเนื้อโคด้วยวิธี SDS-PAGE

การเตรียมสารละลายสำหรับการสกัดโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อ

STE solution (1 L)

0.25M Sucrose	85.6 g
1mM EDTA	0.37 g
0.05M Tris	6.05 g
Distilled water	700 ml
HCl	

ละลาย Sucrose EDTA และ Tris ใน Distilled water จากนั้นปรับ pH ให้เป็น 7.6 ด้วย HCl และปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร ด้วย Distilled water เก็บในตู้เย็น 20 องศาเซลเซียส

TE solution (1 L)

1mM EDTA	0.37 g
0.05M Tris	6.05 g
Distilled water	700 ml
HCl	

ละลาย EDTA และ Tris ใน Distilled water จากนั้นปรับ pH ให้เป็น 7.6 ด้วย HCl และปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร ด้วย Distilled water เก็บในตู้เย็น 20 องศาเซลเซียส

KCl solution 0.15M (1 L)

KCl	11.20 g
Distilled water	

ละลาย KCl ใน Distilled water จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร ด้วย Distilled water เก็บในตู้เย็น 20 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Buffer solution (100 ml)

Imidazol	6.8 g
SDS	2 g
Distilled water	70 ml
H ₃ PO ₄	

ละลาย Imidazol และ SDS ใน Distilled water จากนั้นปรับ pH ให้เป็น 7.6 ด้วย H₃PO₄ และปรับปริมาตรให้ครบ 100 ml ด้วย Distilled water เก็บในตู้เย็น 20 องศาเซลเซียส

Sample buffer solution (1 L)

Buffer solution	100 ml (ได้จากการเตรียม buffer solution)
SDS	20 g
2 – mercapto – ethanol	20 ml
Distilled water	700 ml

ผสม buffer solution, SDS และ 2 – mercapto – ethanol ใน Distilled water จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 1 L ด้วย Distilled water เก็บในตู้เย็น 20 องศาเซลเซียส

การวิเคราะห์หาความเข้มข้นโปรตีน**เตรียมน้ำยาดโปรตีน**

เจือจางน้ำยาดโปรตีน (protein assay) 1 ส่วน : Distilled water 4 ส่วน (น้ำยาดโปรตีน 50 ml : Distilled water 200 ml)

เตรียม standard BSA ความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 mg/ml

- BSA 0.8 mg/ml = BSA 8 mg : Distilled water 10 ml ----- (1)

- BSA 0.6 mg/ml = จูด (1) มา 750 µl : Distilled water 250 µl

- BSA 0.4 mg/ml = จูด (1) มา 500 µl : Distilled water 500 µl

- BSA 0.2 mg/ml = จูด (1) มา 250 µl : Distilled water 750 µl

- BSA 0.1 mg/ml = จูด (1) มา 125 µl : Distilled water 875 µl

การวัดความเข้มข้นโปรตีน

การวัดความเข้มข้น ของ standard BSA

- น้ำยาดโปรตีน 300 µl

- Standard BSA ความเข้มข้นที่ 0.1, 0.2, 0.4, 0.6 และ 0.8 ตัวอย่างละ 10 µl

การวัดความเข้มข้นของ โปรตีนตัวอย่าง (myofibrillar protein solution)

- น้ำยาคัด โปรตีน 300 μ l

- myofibrillar protein solution ที่ได้จากการสกัดตัวอย่าง 10 μ l

การเตรียม Blank

- น้ำยาคัด โปรตีน 300 μ l

- Distilled water 10 μ l

การเตรียมสารละลายสำหรับเทคนิค SDS-PAGE

Tris 3 M pH 8.8 (1 L)

Tris 365 g

Distilled water 700 ml

HCl

ละลาย Tris ใน Distilled water จากนั้นปรับ pH ให้เป็น 8.8 ด้วย HCl และปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร ด้วย Distilled water เก็บในตู้เย็น 20 องศาเซลเซียส

Tris 1.5 M pH 8.8 (1 L)

Tris 3 M pH 8.8 500 ml

Distilled water 500 ml

Tris 0.5 M pH 6.8 (1 L)

Tris 60.6 g

Distilled water 700 ml

HCl

ละลาย Tris ใน Distilled water จากนั้นปรับ pH ให้เป็น 6.8 ด้วย HCl และปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร ด้วย Distilled water เก็บในตู้เย็น 20 องศาเซลเซียส

10 % SDS (10 ml)

SDS 1 g

Distilled water 10 ml

10 % Ammonium persulphate solution ; APS (1 ml) (เตรียมใหม่ทุกครั้งที่ใช้)

Ammonium persulphate 0.1 g

Distilled water 1 ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1 % Bromophenol blue (10 ml)

Bromophenol blue	0.01 g
Distilled water	10 ml

Running buffer (10 ml) (ใช้ผสม sample สำหรับ load ในอัตราส่วน running buffer 3 : sample 1)

Deionized water (dH ₂ O)	3.55 ml
0.5 M Tris – HCl pH 6.8	1.25 ml
Glycerol	2.50 ml
10% (w/v) SDS	2.00 ml
0.5 % (w/v) Bromophenol blue	0.20 ml
2 – mercapto – ethanol	0.50 ml

ละลายสารให้เข้ากันจากนั้นนำไปผ่านความร้อนที่ 95 องศาเซลเซียส 5 นาที เก็บไว้ในตู้เย็น 0-4 องศาเซลเซียส

Cathode buffer (5X) (1L) (เวลาใช้ ให้เจือจางเป็น 1X)

Glycine	144 g
Tris	30 g
SDS	5 g
Distilled water	700 ml

ละลาย Glycine, Tris และ SDS ใน Distilled water จากนั้นปรับ ปริมาตร ให้ครบ 1 ลิตร ด้วย Distilled water เก็บในตู้เย็น 20 องศาเซลเซียส

Anode buffer pH 8.9 (5X) (1L) (เวลาใช้ ให้เจือจางเป็น 1X)

Tris	121.15 g
Distilled water	700 ml
HCl	

ละลาย Tris ใน Distilled water จากนั้นปรับ pH ให้เป็น 8.9 ด้วย HCl และปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร ด้วย Distilled water เก็บในตู้เย็น 20 องศาเซลเซียส

Staining solution (2 L)

Distilled water	1,560 ml
Methanol	400 ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น ไม่ควรนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Coomassie blue 2 g

Destaining solution (3 L)

Distilled water 2,100 ml
Methanol 600 ml
Acetic acid 300 ml

BSA marker (2 µg / µl)(1 ml) (ใช้ 1 µl สำหรับ load)

Distilled water 1 ml
BSA 2 mg

Separating gel 12.5% (10 ml)

Distilled water 3,250 µl
1.5 M Tris pH 8.8 2,500 µl
30% Acrylamide – Bis 4,150 µl
10% SDS 100 µl
10% APS (fresh) 50 µl
TEMED 10 µl
Isopropanol 100 µl

ผสม Distilled water, 1.5 M Tris pH 8.8, 30% Acrylamide – Bis, 10% SDS, 10% APS และ TEMED ให้เข้ากัน จากนั้นเทสารละลายใส่ใน slap gel ที่เตรียมไว้ แล้วเติม Isopropanol ลงไป ปล่อยให้ทิ้งไว้ 20 นาที จากนั้นเทส่วนของ Isopropanol ทิ้ง แล้วจึงเทส่วนของ stacking gel ลง

Stacking gel 4% (5 ml)

Distilled water 3,050 µl
0.5 M Tris pH 6.8 1,250 µl
30% Acrylamide – Bis 650 µl
10% SDS 50 µl
10% APS (fresh) 25 µl
TEMED 5 µl

ผสมสารละลายทุกอย่างให้เข้ากัน จากนั้นเทใส่ใน slap gel ที่มี separating gel อยู่ จากนั้นเสียบ comb รอให้แข็ง (ประมาณ 2 ชั่วโมง) จึงสามารถนำไปใช้งานได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

ตารางวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ตารางภาคผนวก ข ที่ 1 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางด้านสถิติจากการศึกษาวิธีการบ่มเนื้อ ร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาการบ่มต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของเนื้อสันนอกโค

Source	DF	SS	MS	F	Pr>F
Model	19	0.96528550	0.05080450	3.72	<.0001
Error	180	2.45577000	0.01364317		
Corrected Total	199	3.42105550			

Source	DF	Type III SS	MS	F	Pr>F
Method	1	0.03302450	0.03302450	2.42	0.1215
Lactic	1	0.07182050	0.07182050	5.26	0.0229
Ageing	4	0.39830800	0.09957700	7.30	<.0001
Method*Lactic	1	0.00252050	0.00252050	0.18	0.6678
Method*Ageing	4	0.14912800	0.03728200	2.73	0.0305
Lactic*Ageing	4	0.20412200	0.05103050	3.74	0.0060
Method*Lactic*Ageing	4	0.10636200	0.02659050	1.95	0.1043

R-Square = 0.282160 Coeff Var = 2.129846 Root MSE = 0.116804 pH Mean = 5.484150

หมายเหตุ : Method หมายถึง วิธีการบ่มเนื้อ 2 วิธี คือ การบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมและการบ่มเนื้อแบบบรรจุในถุงสุญญากาศ

Lactic หมายถึง การใช้สารละลายกรดแลกติก 2 % และ ไม่ใช้สารละลายกรดแลกติก

Ageing หมายถึง ระยะเวลาการบ่มเนื้อที่ 1, 7, 14, 21 และ 28 วัน

ตารางภาคผนวก ข ที่ 2 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางด้านสถิติจากการศึกษาวิธีการบ่มเนื้อ ร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาการบ่มต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา (% drip loss) ของเนื้อสันนอกโค

Source	DF	SS	MS	F	Pr>F
Model	15	12.91503875	0.86100258	1.72	0.0686
Error	64	31.99956000	0.49999312		
Corrected Total	79	44.91459875			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ข ที่ 2 (ต่อ)

Source	DF	Type III SS	MS	F	Pr>F
Method	1	2.91466125	2.91466125	5.83	0.0186
Lactic	1	2.50278125	2.50278125	5.01	0.0288
Ageing	3	3.54016375	1.18005458	2.36	0.0797
Method*Lactic	1	2.46753125	2.46753125	4.94	0.0299
Method*Ageing	3	1.19734375	0.39911458	0.80	0.4994
Lactic*Ageing	3	0.12978375	0.04326125	0.09	0.9672
Method*Lactic*Ageing	3	0.16277375	0.05425792	0.11	0.9548

R-Square = 0.287547 Coeff Var = 47.94318 Root MSE = 0.707102 DL Mean = 1.474875

หมายเหตุ : Method หมายถึง วิธีการบ่มเนื้อ 2 วิธี คือ การบ่มเนื้อแบบคั้งเดิมและการบ่มเนื้อแบบ
บรรจุในถุงสุญญากาศ

Lactic หมายถึง การใช้สารละลายกรดแลคติก 2 % และไม่ใช้สารละลายกรดแลคติก

Ageing หมายถึง ระยะเวลาการบ่มเนื้อที่ 1, 7, 14, 21 และ 28 วัน

ตารางภาคผนวก ข ที่ 3 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางด้านสถิติจากการศึกษาวิธีการบ่มเนื้อ
ร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลคติก และระยะเวลาการบ่มต่อเปอร์เซ็นต์
การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการปรุงสุก (% cooking loss) ของเนื้อสันนอก
โค

Source	DF	SS	MS	F	Pr>F
Model	19	141.324819	7.438148	0.57	0.9139
Error	80	1036.031120	12.950389		
Corrected Total	99	1177.355939			

Source	DF	Type III SS	MS	F	Pr>F
Method	1	5.56488100	5.56488100	0.43	0.5140
Lactic	1	5.03104900	5.03104900	0.39	0.5349
Ageing	4	33.12470400	8.28117600	0.64	0.6359
Method*Lactic	1	4.94172900	4.94172900	0.38	0.5385
Method*Ageing	4	41.77446400	10.44361600	0.81	0.5247
Lactic*Ageing	4	24.93139600	6.23284900	0.48	0.7494
Method*Lactic*Ageing	4	25.95659600	6.48914900	0.50	0.7350

R-Square = 0.120036 Coeff Var = 12.75358 Root MSE = 3.598665 Cook Mean = 28.21690

หมายเหตุ : Method หมายถึง วิธีการบ่มเนื้อ 2 วิธี คือ การบ่มเนื้อแบบคั้งเดิมและการบ่มเนื้อแบบ

บรรจุในถุงสุญญากาศ เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lactic หมายถึง การใช้สารละลายกรดแลคติก 2 % และ ไม่ใช้สารละลายกรดแลคติก
Ageing หมายถึง ระยะเวลาการบ่มเนื้อที่ 1, 7, 14, 21 และ 28 วัน

ตารางภาคผนวก ข ที่ 4 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางด้านสถิติจากการศึกษาวิธีการบ่มเนื้อ
ร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลคติก และระยะเวลาการบ่ม ต่อค่าความ
สว่าง (lightness, L*) ของเนื้อสันนอกโค

Source	DF	SS	MS	F	Pr>F
Model	19	273.902533	14.415923	2.14	0.0043
Error	280	1888.341733	6.744078		
Corrected Total	299	2162.244267			

Source	DF	Type III SS	MS	F	Pr>F
Method	1	21.2693813	21.2693813	3.15	0.0768
Lactic	1	2.5428813	2.5428813	0.38	0.5397
Ageing	4	183.0972833	45.7743208	6.79	<.0001
Method*Lactic	1	4.2008333	4.2008333	0.62	0.4306
Method*Ageing	4	42.6639487	10.6659872	1.58	0.1793
Lactic*Ageing	4	6.1503220	1.5375805	0.23	0.9226
Method*Lactic*Ageing	4	13.9778833	3.4944708	0.52	0.7225

R-Square = 0.126675 Coeff Var = 6.371182 Root MSE = 2.596936 Lin Mean = 40.76067

หมายเหตุ : Method หมายถึง วิธีการบ่มเนื้อ 2 วิธี คือ การบ่มเนื้อแบบคั้งเดิมและการบ่มเนื้อแบบ
บรรจุในถุงสุญญากาศ

Lactic หมายถึง การใช้สารละลายกรดแลคติก 2 % และ ไม่ใช้สารละลายกรดแลคติก
Ageing หมายถึง ระยะเวลาการบ่มเนื้อที่ 1, 7, 14, 21 และ 28 วัน

ตารางภาคผนวก ข ที่ 5 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางด้านสถิติจากการศึกษาวิธีการบ่มเนื้อ
ร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลคติก และระยะเวลาการบ่มต่อค่าสีแดง
(redness, a*) ของเนื้อสันนอกโค

Source	DF	SS	MS	F	Pr>F
Model	19	627.262932	33.013839	6.66	<.0001
Error	280	1388.520840	4.959003		
Corrected Total	299	2015.783772			

ตารางภาคผนวก ข ที่ 5 (ต่อ)

Source	DF	Type III SS	MS	F	Pr>F
Method	1	4.9305720	4.9305720	0.99	0.3196
Lactic	1	17.6273280	17.6273280	3.55	0.0604
Ageing	4	524.6577753	131.1644438	26.45	<.0001
Method*Lactic	1	5.0284853	5.0284853	1.01	0.3148
Method*Ageing	4	38.2474313	9.5618578	1.93	0.1059
Lactic*Ageing	4	19.3742087	4.8435522	0.98	0.4206
Method*Lactic*Ageing	4	17.3971313	4.3492828	0.88	0.4781

R-Square = 0.311176 Coeff Var = 8.935191 Root MSE = 2.226882 ain Mean = 24.92260

หมายเหตุ : Method หมายถึง วิธีการบ่มเนื้อ 2 วิธี คือ การบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมและการบ่มเนื้อแบบ
บรรจุในถุงสุญญากาศ

Lactic หมายถึง การใช้สารละลายกรดแลคติก 2 % และ ไม่ใช้สารละลายกรดแลคติก

Ageing หมายถึง ระยะเวลาการบ่มเนื้อที่ 1, 7, 14, 21 และ 28 วัน

ตารางภาคผนวก ข ที่ 6 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางด้านสถิติจากการศึกษาวิธีการบ่มเนื้อ
ร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลคติก และระยะเวลาการบ่มเนื้อต่อค่าสีเหลือง
(yellowness, b*) ของเนื้อสันนอกโค

Source	DF	SS	MS	F	Pr>F
Model	19	497.884297	26.204437	11.80	<.0001
Error	280	622.021507	2.221505		
Corrected Total	299	1119.905804			

Source	DF	Type III SS	MS	F	Pr>F
Method	1	0.9735603	0.9735603	0.44	0.5085
Lactic	1	1.0502083	1.0502083	0.47	0.4923
Ageing	4	450.1753687	112.5438422	50.66	<.0001
Method*Lactic	1	0.8184963	0.8184963	0.37	0.5443
Method*Ageing	4	24.1357980	6.0339495	2.72	0.0302
Lactic*Ageing	4	10.8507167	2.7126792	1.22	0.3020
Method*Lactic*Ageing	4	9.8801487	2.4700372	1.11	0.3511

R-Square = 0.444577 Coeff Var = 20.07216 Root MSE = 1.490472 bin Mean = 7.425567

หมายเหตุ : Method หมายถึง วิธีการบ่มเนื้อ 2 วิธี คือ การบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมและการบ่มเนื้อแบบ
บรรจุในถุงสุญญากาศ

Lactic หมายถึง การใช้สารละลายกรดแลคติก 2 % และ ไม่ใช้สารละลายกรดแลคติก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยเท่านั้น ไม่ควรนำไปใช้ในเชิงพาณิชย์ การค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Ageing หมายถึง ระยะเวลาการบ่มเนื้อที่ 1, 7, 14, 21 และ 28 วัน

ตารางภาคผนวก ข ที่ 7 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางด้านสถิติจากการศึกษาวิธีการบ่มเนื้อ ร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาการบ่มต่อค่าความนุ่ม เหนียว โดยการวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (warner bratzler shear force) ของ เนื้อสันนอกโค

Source	DF	SS	MS	F	Pr>F
Model	19	2940.839787	154.781041	87.65	<.0001
Error	1563	2759.951081	1.765804		
Corrected Total	1582	5700.790868			

Source	DF	Type III SS	MS	F	Pr>F
Method	1	32.078119	32.078119	18.17	<.0001
Lactic	1	0.104066	0.104066	0.06	0.8082
Ageing	4	2811.122767	702.780692	397.99	<.0001
Method*Lactic	1	2.862049	2.862049	1.62	0.2032
Method*Ageing	4	51.254628	12.813657	7.26	<.0001
Lactic*Ageing	4	13.420293	3.355073	1.90	0.1080
Method*Lactic*Ageing	4	4.388304	1.097076	0.62	0.6474

R-Square = 0.515865 Coeff Var = 29.94304 Root MSE = 1.328835 SF Mean = 4.437877

หมายเหตุ : Method หมายถึง วิธีการบ่มเนื้อ 2 วิธี คือ การบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมและการบ่มเนื้อแบบ บรรจุนอกสุญญากาศ

Lactic หมายถึง การใช้สารละลายกรดแลกติก 2 % และ ไม่ใช้สารละลายกรดแลกติก

Ageing หมายถึง ระยะเวลาการบ่มเนื้อที่ 1, 7, 14, 21 และ 28 วัน

ตารางภาคผนวก ข ที่ 8 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางด้านสถิติจากการศึกษาวิธีการบ่มเนื้อ ร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาการบ่มต่อจำนวน จุลินทรีย์ทั้งหมด (total bacterial count) ของเนื้อสันนอกโค

Source	DF	SS	MS	F	Pr>F
Model	23	330.8967851	14.3868167	12.10	<.0001
Error	175	208.0419084	1.1888109		
Corrected Total	198	538.9386935			

ตารางภาคผนวก ข ที่ 8 (ต่อ)

Source	DF	Type III SS	MS	F	Pr>F
Method	1	43.3266536	43.3266536	36.45	<.0001
Lactic	1	25.1267415	25.1267415	21.14	<.0001
Ageing	5	192.4679239	38.4935848	32.38	<.0001
Method*Lactic	1	0.0110619	0.0110619	0.01	0.9233
Method*Ageing	5	23.0495420	4.6099084	3.88	0.0023
Lactic*Ageing	5	20.0198541	4.0039708	3.37	0.0063
Method*Lactic*Ageing	5	6.8662556	1.3732511	1.16	0.3333

R-Square = 0.613979 Coeff Var = 23.13708 Root MSE = 1.090326 TPC Mean = 4.712462

หมายเหตุ : Method หมายถึง วิธีการบ่มเนื้อ 2 วิธี คือ การบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมและการบ่มเนื้อแบบ
บรรจุในถุงสุญญากาศ

Lactic หมายถึง การใช้สารละลายกรดแลคติก 2 % และ ไม่ใช้สารละลายกรดแลคติก

Ageing หมายถึง สุ่มตรวจเชื้อเริ่มต้น, หลังฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก 30 นาที,
7, 14, 21 และ 28 วันของการบ่มเนื้อ (การสุ่มตรวจเชื้อเริ่มต้น และหลังฉีดพ่นด้วยสารละลายกรด
แลคติก 30 นาที ทำการทดลองในวันแรก)

ตารางภาคผนวก ข ที่ 9 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางด้านสถิติจากการศึกษาวิธีการบ่มเนื้อ
ร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลคติก และระยะเวลาการบ่มต่อจำนวน
แบคทีเรียกรดแลคติก (lactic acid bacteria) ของเนื้อสันนอก โค.

Source	DF	SS	MS	F	Pr>F
Model	23	62.7012296	2.7261404	3.42	<.0001
Error	193	153.8221040	0.7970057		
Corrected Total	216	216.5233336			

Source	DF	Type III SS	MS	F	Pr>F
Method	1	12.76743113	12.76743113	16.02	<.0001
Lactic	1	3.10072409	3.10072409	3.89	0.0500
Ageing	5	20.96885535	4.19377107	5.26	0.0001
Method*Lactic	1	0.01281649	0.01281649	0.02	0.8992
Method*Ageing	5	18.48349147	3.69669829	4.64	0.0005
Lactic*Ageing	5	6.24462899	1.24892580	1.57	0.1712
Method*Lactic*Ageing	5	1.26769538	0.25353908	0.32	0.9017

R-Square = 0.289582 Coeff Var = 39.51760 Root MSE = 0.892752 LAB Mean = 2.259124

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมายเหตุ : Method หมายถึง วิธีการบ่มเนื้อ 2 วิธี คือ การบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมและการบ่มเนื้อแบบ
บรรจุในถุงสุญญากาศ

Lactic หมายถึง การใช้สารละลายกรดแลคติก 2 % และ ไม่ใช้สารละลายกรดแลคติก

Ageing หมายถึง สุ่มตรวจเชื้อเริ่มต้น, หลังฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก 30 นาที,
7, 14, 21 และ 28 วันของการบ่มเนื้อ (การสุ่มตรวจเชื้อเริ่มต้น และหลังฉีดพ่นด้วยสารละลายกรด
แลคติก 30 นาที ทำการทดลองในวันแรก)

ตารางภาคผนวก ข ที่ 10 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางด้านสถิติจากการศึกษาวิธีการบ่มเนื้อ
ร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลคติก และระยะเวลาการบ่มต่อจำนวน
จุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในอุณหภูมิต่ำ (psychotropic bacteria) ของ
เนื้อสันนอกโค.

Source	DF	SS	MS	F	Pr>F
Model	23	675.1857969	29.3559042	36.66	<.0001
Error	173	138.5453584	0.8008402		
Corrected Total	196	813.7311553			

Source	DF	Type III SS	MS	F	Pr>F
Method	1	1.2236292	1.2236292	1.53	0.2181
Lactic	1	8.0950148	8.0950148	10.11	0.0017
Ageing	5	598.1707538	119.6341508	149.39	<.0001
Method*Lactic	1	1.5536253	1.5536253	1.94	0.1655
Method*Ageing	5	6.2414937	1.2482987	1.56	0.1742
Lactic*Ageing	5	12.6619234	2.5323847	3.16	0.0093
Method*Lactic*Ageing	5	5.3416469	1.0683294	1.33	0.2520

R-Square = 0.829741 Coeff Var = 14.88196 Root MSE = 0.894897 PB7 Mean = 6.013299

หมายเหตุ Method หมายถึง วิธีการบ่มเนื้อ 2 วิธี คือ การบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมและการบ่มเนื้อแบบ
บรรจุในถุงสุญญากาศ

Lactic หมายถึง การใช้สารละลายกรดแลคติก 2 % และ ไม่ใช้สารละลายกรดแลคติก

Ageing หมายถึง สุ่มตรวจเชื้อเริ่มต้น, หลังฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก 30 นาที, 7,
14, 21 และ 28 วันของการบ่มเนื้อ (การสุ่มตรวจเชื้อเริ่มต้น และหลังฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลค
ติก 30 นาที ทำการทดลองในวันแรก)

ตารางภาคผนวก ข ที่ 11 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางด้านสถิติจากการศึกษาวิธีการบ่มเนื้อ ร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลคติก และระยะเวลาการบ่มต่อจำนวน โคลิฟอร์มทั้งหมด (total coliforms) ของเนื้อสันนอกโค

Source	DF	SS	MS	F	Pr>F
Model	23	259.5551609	11.2850070	7.22	<.0001
Error	213	333.0599556	1.5636618		
Corrected Total	236	592.6151165			

Source	DF	Type III SS	MS	F	Pr>F
Method	1	23.3526552	23.3526552	14.93	0.0001
Lactic	1	33.2120977	33.2120977	21.24	<.0001
Ageing	5	143.1532550	28.6306510	18.31	<.0001
Method*Lactic	1	0.6174786	0.6174786	0.39	0.5304
Method*Ageing	5	17.0271810	3.4054362	2.18	0.0578
Lactic*Ageing	5	19.2597002	3.8519400	2.46	0.0340
Method*Lactic*Ageing	5	25.3591517	5.0718303	3.24	0.0076

R-Square = 0.437983 Coeff Var = 70.04659 Root MSE = 1.250465 TC Mean = 1.785190

หมายเหตุ Method หมายถึง วิธีการบ่มเนื้อ 2 วิธี คือ การบ่มเนื้อแบบดั้งเดิมและการบ่มเนื้อแบบ บรรจุนในถุงสุญญากาศ

Lactic หมายถึง การใช้สารละลายกรดแลคติก 2 % และไม่ใช้สารละลายกรดแลคติก

Ageing หมายถึง สุ่มตรวจเชื้อเริ่มต้น, หลังฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก 30 นาที, 7, 14, 21 และ 28 วันของการบ่มเนื้อ (การสุ่มตรวจเชื้อเริ่มต้น และหลังฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติก 30 นาที ทำการทดลองในวันแรก)

ภาคผนวก ก

ตารางผลการทดลอง

ตารางภาคผนวก ก ที่ 1 อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อและการใช้สารละลายกรดแลกติก ต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของเนื้อสันนอกโค (LSM±SE)

วิธีการบ่ม	การใช้สารละลายกรดแลกติก	
	ไม่ใช้กรดแลกติก	ใช้กรดแลกติก
บ่มแบบดั้งเดิม	5.48±0.02	5.51±0.02
บ่มในถุงสุญญากาศ	5.45±0.02	5.49±0.02

LSM = Least Squares Means, SE = Standard Error

ตารางภาคผนวก ก ที่ 2 อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อ ร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลกติก และระยะเวลาการบ่ม ต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของเนื้อสันนอกโค (LSM±SE)

ระยะเวลา (วัน)	บ่มแบบดั้งเดิม		บ่มในถุงสุญญากาศ	
	ไม่ใช้กรดแลกติก	ใช้กรดแลกติก	ไม่ใช้กรดแลกติก	ใช้กรดแลกติก
1	5.37±0.04	5.49±0.04	5.46±0.04	5.43±0.04
7	5.53±0.04	5.52±0.04	5.47±0.04	5.49±0.04
14	5.47±0.04	5.45±0.04	5.41±0.04	5.39±0.04
21	5.41±0.04	5.54±0.04	5.43±0.04	5.63±0.04
28	5.63±0.04	5.57±0.04	5.47±0.04	5.54±0.04

LSM = Least Squares Means, SE = Standard Error

ตารางภาคผนวก ก ที่ 3 อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อและระยะเวลาการบ่ม ต่อค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา (% drip loss) ของเนื้อสันนอกโค (LSM±SE)

ระยะเวลา (วัน)	วิธีการบ่มเนื้อ	
	บ่มแบบดั้งเดิม	บ่มในถุงสุญญากาศ
7	1.55±0.22	0.88±0.22
14	1.40±0.22	1.29±0.22
21	1.67±0.22	1.49±0.22
28	2.05±0.22	1.47±0.22

LSM = Least Squares Means, SE = Standard Error

ตารางภาคผนวก ค ที่ 4 อิทธิพลร่วมระหว่างการใช้สารละลายกรดแลคติกและระยะเวลาการบ่ม ต่อค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา (% drip loss) ของเนื้อสันนอกโค (LSM±SE)

ระยะเวลา (วัน)	การใช้สารละลายกรดแลคติก	
	ไม่ใช้กรดแลคติก	ใช้กรดแลคติก
7	0.99±0.22	1.44±0.22
14	1.23±0.22	1.46±0.22
21	1.40±0.22	1.76±0.22
28	1.58±0.22	1.95±0.22

LSM = Least Squares Means, SE = Standard Error

ตารางภาคผนวก ค ที่ 5 อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อพร้อมกับการใช้สารละลายกรดแลคติก และ ระยะเวลาการบ่ม ต่อค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการเก็บรักษา (% drip loss) ของเนื้อสันนอกโค (LSM±SE)

ระยะเวลา (วัน)	บ่มแบบดั้งเดิม		บ่มในถุงสุญญากาศ	
	ไม่ใช้กรดแลคติก	ใช้กรดแลคติก	ไม่ใช้กรดแลคติก	ใช้กรดแลคติก
7	1.56±0.32	1.54±0.32	0.42±0.32	1.35±0.32
14	1.44±0.32	1.35±0.32	1.02±0.32	1.57±0.32
21	1.60±0.32	1.73±0.32	1.20±0.32	1.78±0.32
28	2.06±0.32	2.04±0.32	1.09±0.32	1.85±0.32

LSM = Least Squares Means, SE = Standard Error

ตารางภาคผนวก ค ที่ 6 อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อและการใช้สารละลายกรดแลคติก ต่อค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักจากการปรุงสุก (% cooking loss) ของเนื้อสันนอกโค (LSM±SE)

เทคนิคการบ่ม	การใช้สารละลายกรดแลคติก	
	ไม่ใช้กรดแลคติก	ใช้กรดแลคติก
บ่มแบบดั้งเดิม	27.53±0.72	28.43±0.72
บ่มในถุงสุญญากาศ	28.45±0.72	28.45±0.72

LSM = Least Squares Means, SE = Standard Error

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ค ที่ 7 อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อและระยะเวลาการบ่ม ต่อค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักจากการปรุงสุก (% cooking loss) ของเนื้อสันนอก โค (LSM±SE)

ระยะเวลา (วัน)	วิธีการบ่ม	
	บ่มแบบดั้งเดิม	บ่มในถุงสุญญากาศ
1	29.44±1.14	29.25±1.14
7	26.83±1.14	29.46±1.14
14	28.54±1.14	27.40±1.14
21	27.85±1.14	27.79±1.14
28	27.25±1.14	28.37±1.14

LSM = Least Squares Means, SE = Standard Error

ตารางภาคผนวก ค ที่ 8 อิทธิพลร่วมระหว่างการใช้สารละลายกรดแลคติกและระยะเวลาการบ่ม ต่อค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักจากการปรุงสุก (% cooking loss) ของเนื้อสันนอก โค (LSM±SE)

ระยะเวลา (วัน)	การใช้สารละลายกรดแลคติก	
	ไม่ใช้กรดแลคติก	ใช้กรดแลคติก
1	29.61±1.14	29.08±1.14
7	26.97±1.14	29.32±1.14
14	27.75±1.14	28.19±1.14
21	27.79±1.14	27.85±1.14
28	27.85±1.14	27.77±1.14

LSM = Least Squares Means, SE = Standard Error

ตารางภาคผนวก ค ที่ 9 อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อ ร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลคติก และระยะเวลาการบ่ม ต่อค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักจากการปรุงสุก (% cooking loss) ของเนื้อสันนอก โค (LSM±SE)

ระยะเวลา (วัน)	บ่มแบบดั้งเดิม		บ่มในถุงสุญญากาศ	
	ไม่ใช้กรดแลคติก	ใช้กรดแลคติก	ไม่ใช้กรดแลคติก	ใช้กรดแลคติก
1	29.82±1.61	29.05±1.61	29.39±1.61	29.10±1.61
7	25.27±1.61	28.40±1.61	28.68±1.61	30.24±1.61
14	27.17±1.61	29.90±1.61	28.33±1.61	26.48±1.61
21	28.07±1.61	27.63±1.61	27.50±1.61	28.07±1.61
28	27.34±1.61	27.16±1.61	28.35±1.61	28.38±1.61

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ในการใช้งานและเผยแพร่เท่านั้น ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์อื่นใด
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ค ที่ 10 อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อและการใช้สารละลายกรดแลกติก ต่อค่าความสว่าง (lightness, L^*) ของเนื้อสันนอกโค (LSM \pm SE)

วิธีการบ่ม	การใช้สารละลายกรดแลกติก	
	ไม่ใช้กรดแลกติก	ใช้กรดแลกติก
บ่มแบบดั้งเดิม	40.70 \pm 0.30	40.28 \pm 0.30
บ่มในถุงสุญญากาศ	41.00 \pm 0.30	41.05 \pm 0.30

LSM = Least Squares Means, SE = Standard Error

ตารางภาคผนวก ค ที่ 11 อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อและระยะเวลาการบ่ม ต่อค่าความสว่าง (lightness, L^*) ของเนื้อสันนอกโค (LSM \pm SE)

ระยะเวลา (วัน)	วิธีการบ่ม	
	บ่มแบบดั้งเดิม	บ่มในถุงสุญญากาศ
1	39.54 \pm 0.47	39.62 \pm 0.47
7	40.66 \pm 0.47	42.54 \pm 0.47
14	41.36 \pm 0.47	41.58 \pm 0.47
21	40.28 \pm 0.47	40.00 \pm 0.47
28	40.64 \pm 0.47	41.39 \pm 0.47

LSM = Least Squares Means, SE = Standard Error

ตารางภาคผนวก ค ที่ 12 อิทธิพลร่วมระหว่างการใช้สารละลายกรดแลกติกและระยะเวลาการบ่ม ต่อค่าความสว่าง (lightness, L^*) ของเนื้อสันนอกโค (LSM \pm SE)

ระยะเวลา (วัน)	การใช้สารละลายกรดแลกติก	
	ไม่ใช้กรดแลกติก	ใช้กรดแลกติก
1	39.64 \pm 0.47	39.52 \pm 0.47
7	41.79 \pm 0.47	41.41 \pm 0.47
14	41.78 \pm 0.47	41.15 \pm 0.47
21	40.06 \pm 0.47	40.22 \pm 0.47
28	40.99 \pm 0.47	41.04 \pm 0.47

LSM = Least Squares Means, SE = Standard Error

ตารางภาคผนวก ค ที่ 13 อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลคติก และระยะเวลาการบ่ม ต่อค่าความสว่าง (lightness, L^*) ของเนื้อสันนอกโค (LSM±SE)

ระยะเวลา (วัน)	บ่มแบบดั้งเดิม		บ่มในถุงสุญญากาศ	
	ไม่ใช้กรดแลคติก	ใช้กรดแลคติก	ไม่ใช้กรดแลคติก	ใช้กรดแลคติก
1	39.95±0.67	39.12±0.67	39.33±0.67	39.91±0.67
7	41.06±0.67	40.26±0.67	42.52±0.67	42.57±0.67
14	41.85±0.67	40.87±0.67	41.71±0.67	41.44±0.67
21	39.92±0.67	40.65±0.67	40.21±0.67	39.79±0.67
28	40.75±0.67	40.53±0.67	41.23±0.67	41.56±0.67

LSM = Least Squares Means, SE = Standard Error

ตารางภาคผนวก ค ที่ 14 อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อและการใช้สารละลายกรดแลคติก ต่อค่าสีแดง (redness, a^*) ของเนื้อสันนอกโค (LSM±SE)

วิธีการบ่ม	การใช้สารละลายกรดแลคติก	
	ไม่ใช้กรดแลคติก	ใช้กรดแลคติก
บ่มแบบดั้งเดิม	25.16±0.26	24.94±0.26
บ่มในถุงสุญญากาศ	25.17±0.26	24.42±0.26

LSM = Least Squares Means, SE = Standard Error

ตารางภาคผนวก ค ที่ 15 อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อและระยะเวลาการบ่ม ต่อค่าสีแดง (redness, a^*) ของเนื้อสันนอกโค (LSM±SE)

ระยะเวลา (วัน)	วิธีการบ่ม	
	บ่มแบบดั้งเดิม	บ่มในถุงสุญญากาศ
1	22.78±0.41	22.06±0.41
7	24.72±0.41	25.12±0.41
14	25.99±0.41	26.48±0.41
21	26.07±0.41	24.66±0.41
28	25.69±0.41	25.65±0.41

LSM = Least Squares Means, SE = Standard Error

ตารางภาคผนวก ก ที่ 16 อิทธิพลร่วมระหว่างการใช้สารละลายกรดแลคติกและระยะเวลาบ่ม ต่อค่า สีแดง (redness, a*) ของเนื้อสันนอกโค (LSM±SE)

ระยะเวลา (วัน)	การใช้สารละลายกรดแลคติก	
	ไม่ใช้กรดแลคติก	ใช้กรดแลคติก
1	22.60±0.41	22.24±0.41
7	25.33±0.41	24.51±0.41
14	26.06±0.41	26.41±0.41
21	25.95±0.41	24.78±0.41
28	25.89±0.41	25.46±0.41

LSM = Least Squares Means, SE = Standard Error

ตารางภาคผนวก ก ที่ 17 อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลคติก และระยะเวลาการบ่ม ต่อค่าสีแดง (redness, a*) ของเนื้อสันนอกโค (LSM±SE)

ระยะเวลา (วัน)	บ่มแบบดั้งเดิม		บ่มในถุงสุญญากาศ	
	ไม่ใช้กรดแลคติก	ใช้กรดแลคติก	ไม่ใช้กรดแลคติก	ใช้กรดแลคติก
1	22.88±0.57	22.68±0.57	22.33±0.57	21.80±0.57
7	24.87±0.57	24.57±0.57	25.78±0.57	24.45±0.57
14	26.09±0.57	25.89±0.57	26.03±0.57	26.93±0.57
21	26.19±0.57	25.94±0.57	25.70±0.57	23.62±0.57
28	25.78±0.57	25.61±0.57	26.00±0.57	25.31±0.57

LSM = Least Squares Means, SE = Standard Error

ตารางภาคผนวก ก ที่ 18 อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อและการใช้สารละลายกรดแลคติก ต่อ ค่าสีเหลือง (yellowness, b*) ของเนื้อสันนอกโค (LSM±SE)

วิธีการบ่ม	การใช้สารละลายกรดแลคติก	
	ไม่ใช้กรดแลคติก	ใช้กรดแลคติก
บ่มแบบดั้งเดิม	7.49±0.17	7.48±0.17
บ่มในถุงสุญญากาศ	7.48±0.17	7.26±0.17

LSM = Least Squares Means, SE = Standard Error

ตารางภาคผนวก ค ที่ 19 อิทธิพลร่วมระหว่างการใช้สารละลายกรดแลคติก และระยะเวลาการบ่ม
ต่อค่าสีเหลือง (yellowness, b*) ของเนื้อสันนอก โค (LSM±SE)

ระยะเวลา (วัน)	การใช้สารละลายกรดแลคติก	
	ไม่ใช้กรดแลคติก	ใช้กรดแลคติก
1	5.13±0.27	5.02±0.27
7	7.59±0.27	7.32±0.27
14	8.12±0.27	8.62±0.27
21	8.18±0.27	7.50±0.27
28	8.40±0.27	8.37±0.27

LSM = Least Squares Means, SE = Standard Error

ตารางภาคผนวก ค ที่ 20 อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลคติก
และระยะเวลาการบ่ม ต่อค่าสีเหลือง (yellowness, b*) ของเนื้อสันนอก
โค (LSM±SE)

ระยะเวลา (วัน)	บ่มแบบดั้งเดิม		บ่มในถุงสุญญากาศ	
	ไม่ใช้กรดแลคติก	ใช้กรดแลคติก	ไม่ใช้กรดแลคติก	ใช้กรดแลคติก
1	5.35±0.38	5.21±0.38	4.92±0.38	4.84±0.38
7	7.02±0.38	7.28±0.38	8.16±0.38	7.35±0.38
14	8.13±0.38	8.18±0.38	8.11±0.38	9.05±0.38
21	8.41±0.38	8.22±0.38	7.95±0.38	6.78±0.38
28	8.54±0.38	8.48±0.38	8.27±0.38	8.27±0.38

LSM = Least Squares Means, SE = Standard Error

ตารางภาคผนวก ค ที่ 21 อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อและการใช้สารละลายกรดแลคติก ต่อ
ค่าแรงตัดผ่าน (shear force, kg.) เนื้อสันนอก โค (LSM±SE)

วิธีการบ่ม	การใช้สารละลายกรดแลคติก	
	ไม่ใช้กรดแลคติก	ใช้กรดแลคติก
บ่มแบบดั้งเดิม	4.29±0.07	4.36±0.07
บ่มในถุงสุญญากาศ	4.66±0.07	4.56±0.07

LSM = Least Squares Means, SE = Standard Error

ตารางภาคผนวก ก ที่ 22 อิทธิพลร่วมระหว่างการใช้สารละลายกรดแลคติกและระยะเวลาการบ่ม
ต่อค่าแรงตัดผ่าน (shear force, kg.) เนื้อสันนอกโค (LSM±SE)

ระยะเวลา (วัน)	การใช้สารละลายกรดแลคติก	
	ไม่ใช้กรดแลคติก	ใช้กรดแลคติก
1	7.03±0.11	6.84±0.11
7	4.64±0.11	4.82±0.11
14	4.13±0.10	4.11±0.10
21	3.27±0.11	3.02±0.11
28	3.31±0.10	3.51±0.10

LSM = Least Squares Means, SE = Standard Error

ตารางภาคผนวก ก ที่ 23 อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลคติก
และระยะเวลาการบ่มต่อค่าแรงตัดผ่าน (shear force, kg.) เนื้อสันนอกโค
(LSM±SE)

ระยะเวลา (วัน)	บ่มแบบดั้งเดิม		บ่มในถุงสุญญากาศ	
	ไม่ใช้กรดแลคติก	ใช้กรดแลคติก	ไม่ใช้กรดแลคติก	ใช้กรดแลคติก
1	6.49±0.15	6.51±0.16	7.56±0.15	7.17±0.15
7	4.43±0.15	4.81±0.15	4.85±0.15	4.84±0.15
14	4.26±0.15	4.22±0.15	4.00±0.15	3.99±0.15
21	3.14±0.15	2.98±0.15	3.40±0.15	3.06±0.15
28	3.13±0.15	3.28±0.15	3.49±0.15	3.74±0.15

LSM = Least Squares Means, SE = Standard Error

ตารางภาคผนวก ก ที่ 24 อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อและการใช้สารละลายกรดแลคติก ต่อ
จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (log cfu/g) ของเนื้อสันนอกโค (LSM±SE)

วิธีการบ่ม	การใช้สารละลายกรดแลคติก	
	ไม่ใช้กรดแลคติก	ใช้กรดแลคติก
บ่มแบบดั้งเดิม	4.66±0.16	3.92±0.16
บ่มในถุงสุญญากาศ	5.59±0.15	4.88±0.16

LSM = Least Squares Means, SE = Standard Error

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ค ที่ 25 อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลคติก และระยะเวลาการบ่ม ต่อจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (log cfu/g) ของเนื้อสันนอกโค (LSM±SE)

ระยะเวลา (วัน)	บ่มแบบดั้งเดิม		บ่มในถุงสุญญากาศ	
	ไม่ใช้กรดแลคติก	ใช้กรดแลคติก	ไม่ใช้กรดแลคติก	ใช้กรดแลคติก
ก่อนฉีดพ่น	3.53±0.36	3.77±0.36	4.02±0.39	3.56±0.36
หลังฉีดพ่น	4.30±0.36	2.88±0.34	4.74±0.36	3.38±0.34
7	3.92±0.36	4.00±0.39	4.36±0.41	4.37±0.41
14	4.38±0.36	3.63±0.39	5.90±0.34	4.93±0.41
21	4.48±0.45	4.47±0.41	6.92±0.34	6.29±0.34
28	7.31±0.45	4.77±0.39	7.58±0.39	6.74±0.45

LSM = Least Squares Means, SE = Standard Error

ก่อนฉีดพ่นและหลังฉีดพ่นเป็นการทดลองในวันที่ 1

ตารางภาคผนวก ค ที่ 26 อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อและการใช้สารละลายกรดแลคติก ต่อจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติก (log cfu/g) ของเนื้อสันนอกโค (LSM±SE)

วิธีการบ่ม	การใช้สารละลายกรดแลคติก	
	ไม่ใช้กรดแลคติก	ใช้กรดแลคติก
บ่มแบบดั้งเดิม	2.15±0.13	1.92±0.12
บ่มในถุงสุญญากาศ	2.65±0.12	2.39±0.12

LSM = Least Squares Means, SE = Standard Error

ตารางภาคผนวก ค ที่ 27 อิทธิพลร่วมระหว่างการใช้สารละลายกรดแลคติกและระยะเวลาการบ่ม ต่อจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติก (log cfu/g) ของเนื้อสันนอกโค (LSM±SE)

ระยะเวลา (วัน)	การใช้สารละลายกรดแลคติก	
	ไม่ใช้กรดแลคติก	ใช้กรดแลคติก
ก่อนฉีดพ่น	2.23±0.23	2.28±0.21
หลังฉีดพ่น	2.61±0.23	1.77±0.21
7	2.24±0.21	2.08±0.20
14	2.72±0.21	2.44±0.20
21	2.59±0.22	2.85±0.22
28	2.00±0.21	1.52±0.20

LSM = Least Squares Means, SE = Standard Error

เอกสารนี้เป็นลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี การศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ค ที่ 28 อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลคติก และระยะเวลาการบ่มต่อจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติก ($\log \text{cfu/g}$) ของเนื้อสันนอกโค (LSM \pm SE)

ระยะเวลา (วัน)	บ่มแบบดั้งเดิม		บ่มในถุงสุญญากาศ	
	ไม่ใช้กรดแลคติก	ใช้กรดแลคติก	ไม่ใช้กรดแลคติก	ใช้กรดแลคติก
ก่อนฉีดพ่น	2.37 \pm 0.34	2.31 \pm 0.28	2.09 \pm 0.32	2.25 \pm 0.30
หลังฉีดพ่น	2.67 \pm 0.34	1.65 \pm 0.32	2.54 \pm 0.32	1.89 \pm 0.28
7	2.11 \pm 0.30	2.15 \pm 0.28	2.37 \pm 0.28	2.02 \pm 0.28
14	2.47 \pm 0.30	2.09 \pm 0.28	2.96 \pm 0.28	2.80 \pm 0.28
21	1.70 \pm 0.34	2.10 \pm 0.28	3.48 \pm 0.30	3.60 \pm 0.34
28	1.54 \pm 0.28	1.22 \pm 0.28	2.47 \pm 0.30	1.81 \pm 0.28

LSM = Least Squares Means, SE = Standard Error

ก่อนฉีดพ่นและหลังฉีดพ่นเป็นการทดลองในวันที่ 1

ตารางภาคผนวก ค ที่ 29 อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลคติก ต่อจำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ ($\log \text{cfu/g}$) ของเนื้อสันนอกโค (LSM \pm SE)

เทคนิคการบ่ม	การใช้สารละลายกรดแลคติก	
	ไม่ใช้กรดแลคติก	ใช้กรดแลคติก
บ่มแบบดั้งเดิม	6.23 \pm 0.14	5.99 \pm 0.14
บ่มในถุงสุญญากาศ	6.57 \pm 0.13	5.97 \pm 0.12

LSM = Least Squares Means, SE = Standard Error

ตารางภาคผนวก ค ที่ 30 อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อและระยะเวลาการบ่มต่อจำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ ($\log \text{cfu/g}$) ของเนื้อสันนอกโค (LSM \pm SE)

ระยะเวลา (วัน)	วิธีการบ่ม	
	บ่มแบบดั้งเดิม	บ่มในถุงสุญญากาศ
ก่อนฉีดพ่น	4.13 \pm 0.21	4.35 \pm 0.22
หลังฉีดพ่น	3.68 \pm 0.20	3.70 \pm 0.21
7	6.08 \pm 0.23	5.51 \pm 0.21
14	6.87 \pm 0.22	7.20 \pm 0.23
21	7.75 \pm 0.25	8.21 \pm 0.20
28	8.13 \pm 0.30	8.65 \pm 0.22

LSM = Least Squares Means, SE = Standard Error

ก่อนฉีดพ่นและหลังฉีดพ่นเป็นการทดลองในวันที่ 1

ตารางภาคผนวก ก ที่ 31 อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อร่วมกับการใช้สารละลายกรดแลคติก และระยะเวลาการบ่ม ต่อจำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ (log cfu/g) ของเนื้อสันนอกโค (LSM±SE)

ระยะเวลา (วัน)	บ่มแบบดั้งเดิม		บ่มในถุงสุญญากาศ	
	ไม่ใช้กรดแลคติก	ใช้กรดแลคติก	ไม่ใช้กรดแลคติก	ใช้กรดแลคติก
ก่อนฉีดพ่น	3.62±0.30	4.64±0.30	4.41±0.32	4.29±0.30
หลังฉีดพ่น	4.14±0.28	3.23±0.28	4.14±0.32	3.26±0.28
7	5.92±0.34	6.24±0.30	5.93±0.32	5.10±0.28
14	7.19±0.32	6.56±0.30	7.89±0.34	6.51±0.32
21	8.21±0.34	7.30±0.37	8.41±0.28	8.01±0.28
28	8.28±0.40	7.99±0.45	8.64±0.32	8.66±0.32

LSM = Least Squares Means, SE = Standard Error

ก่อนฉีดพ่นและหลังฉีดพ่นเป็นการทดลองในวันที่ 1

ตารางภาคผนวก ก ที่ 32 อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อและการใช้สารละลายกรดแลคติก ต่อ จำนวนโคลิฟอร์มทั้งหมด (log cfu/g) ของเนื้อสันนอกโค (LSM±SE)

วิธีการบ่ม	การใช้สารละลายกรดแลคติก	
	ไม่ใช้กรดแลคติก	ใช้กรดแลคติก
บ่มแบบดั้งเดิม	1.91±0.16	1.06±0.16
บ่มในถุงสุญญากาศ	2.44±0.16	1.79±0.16

LSM = Least Squares Means, SE = Standard Error

ตารางภาคผนวก ก ที่ 33 อิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการบ่มเนื้อและระยะเวลาการบ่ม ต่อจำนวนเชื้อ โคลิฟอร์มทั้งหมด (log cfu/g) ของเนื้อสันนอกโค (LSM±SE)

ระยะเวลา (วัน)	วิธีการบ่ม	
	บ่มแบบดั้งเดิม	บ่มในถุงสุญญากาศ
ก่อนฉีดพ่น	3.31±0.28	3.14±0.28
หลังฉีดพ่น	2.18±0.29	2.54±0.29
7	1.38±0.28	1.72±0.28
14	0.46±0.28	1.26±0.28
21	0.73±0.28	2.26±0.28
28	0.88±0.28	1.77±0.29

LSM = Least Squares Means, SE = Standard Error

ก่อนฉีดพ่นและหลังฉีดพ่นเป็นการทดลองในวันที่ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ค ที่ 34 แสดงค่าอุณหภูมิ (temperature) ของเนื้อตันนอกโค

ระยะเวลา (วัน)	บ่มแบบดั้งเดิม		บ่มในถุงสุญญากาศ	
	ไม่ใช้กรดแลกติก	ใช้กรดแลกติก	ไม่ใช้กรดแลกติก	ใช้กรดแลกติก
1	11.85	12.15	13.26	13.14
7	4.53	3.98	3.86	3.84
14	6.27	7.33	4.84	5.23
21	6.92	5.79	4.30	5.16
28	6.38	5.75	5.73	5.05



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

ภาพประกอบงานทดลอง



ภาพภาคผนวก ง ที่ 1 โคเนื้อลูกผสมเลือดยุโรปภายใต้ระบบการผลิตของสหกรณ์โคเนื้อ
กำแพงแสน (KU-beef) ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้



ภาพภาคผนวก ง ที่ 2 เก็บซากโคไว้ในห้องเย็นอุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 6
ชั่วโมง ภายหลังกระบวนการฆ่า ก่อนแกะกล้ามเนื้อสันนอก จากซี่โครงซี่ที่
6 จนถึงปลายกระดูกสันหลัง ไปทำการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์เพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น มิอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพภาคผนวก ง ที่ 3 บรรจุตัวอย่างเนื้อทดลองในถุงพลาสติกปิดสนิท แล้วบรรจุในถังน้ำแข็ง เพื่อรักษาอุณหภูมิของเนื้อ ในระหว่างการขนส่งจากโรงฆ่ามายังห้องปฏิบัติการ



ภาพภาคผนวก ง ที่ 4 เมื่อถึงห้องห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์ นำตัวอย่างเนื้อทดลอง เก็บต่อในห้องเย็นอุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส เพื่อให้ครบ 24 ชั่วโมง ภายหลังสัตว์ตาย ก่อนทำการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพภาคผนวก ง ที่ 5 แบ่งกล้ามเนื้อสันนอกที่ติดกระดูก ออกเป็นสองส่วนคือ กล้ามเนื้อสันนอกส่วนหน้า (*Longissimus thoracis*) ระหว่างซี่โครงซี่ที่ 6-12 และส่วนหลัง (*Longissimus lumborum*) จากซี่โครงซี่ที่ 13 จนถึงปลายกระดูกสันหลัง



ภาพภาคผนวก ง ที่ 6 กล้ามเนื้อสันนอกส่วนหน้าหรือส่วนหลัง จะนำไปศึกษาวิธีการบ่มแบบดั้งเดิม หรือบ่มในถุงสุญญากาศ ขึ้นอยู่กับการสุ่มอย่างง่าย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพภาคผนวก ง ที่ 7 เนื้อสันนอกส่วนที่ทำการศึกษา การบ่มในถุงสุญญากาศ จะเลาะกระดูกออกแต่ไม่แต่งมันที่ผิวเนื้อออก



ภาพภาคผนวก ง ที่ 8 เมื่อเลาะกระดูกออกแล้วแบ่งเนื้อสันนอกเป็น 5 ชิ้น ขนาดเท่าๆ กัน เพื่อใช้ในการศึกษาการบ่มเนื้อในถุงสุญญากาศที่ระยะเวลาการบ่ม 1, 7, 14, 21 และ 28 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพภาคผนวก ง ที่ 9 เนื้อสันนอกส่วนที่ศึกษาการบ่มแบบดั้งเดิมจะไม่เกาะกระดูกออก และไม่
แต่งเอาไขมันหุ้มเนื้อสันนอกออก



ภาพภาคผนวก ง ที่ 10 ทำการสุมตัวอย่างเนื้อทั้งก้อน เพื่อตรวจปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพภาคผนวก ง ที่ 11 ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ บนตัวอย่างที่
ทำการศึกษาการบ่มเนื้อแบบดั้งเดิม



ภาพภาคผนวก ง ที่ 12 ฉีดพ่นด้วยสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ บนตัวอย่างที่
ทำการศึกษาการบ่มเนื้อในถุงสุญญากาศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพภาคผนวก ง ที่ 13 เนื้อที่จะทำการศึกษาการบ่มในอุณหภูมิก๊าซ หลังฉีดพ่นด้วยสารละลาย กรดแลกติก แล้วตั้งให้สะเด็ดน้ำ โดยคว่ำและหงายด้านละ 2 นาทีครึ่ง



ภาพภาคผนวก ง ที่ 14 เนื้อที่จะทำการศึกษาการบ่มแบบดั้งเดิม หลังฉีดพ่นด้วยสารละลาย กรดแลกติกแล้ว ตั้งให้สะเด็ดน้ำ โดยคว่ำและหงายด้านละ 2 นาทีครึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพภาคผนวก ที่ 15 การบ่มเนื้อแบบดั้งเดิม



ภาพภาคผนวก ที่ 16 การบ่มเนื้อในถุงสุญญากาศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพภาคผนวก ง ที่ 17 แสดงการแกะตัวอย่างชิ้นเนื้อที่บ่มแบบดั้งเดิม เมื่อถึงระยะเวลาบ่มต่างๆ เพื่อนำมาศึกษาทางด้านคุณภาพเนื้อและจุลินทรีย์



ภาพภาคผนวก ง ที่ 18 ตัวอย่างชิ้นเนื้อที่บ่มในถุงสุญญากาศ เมื่อถึงระยะเวลาบ่มต่างๆ นำมาศึกษาทางด้านคุณภาพเนื้อและจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพภาคผนวก ง ที่ 19 วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และอุณหภูมิของชิ้นเนื้อ ในแต่ละระยะเวลาการบ่มเนื้อ



ภาพภาคผนวก ง ที่ 20 วัดค่าสีของชิ้นเนื้อ (L^* , a^* และ b^*) ในแต่ละระยะเวลาการบ่มเนื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

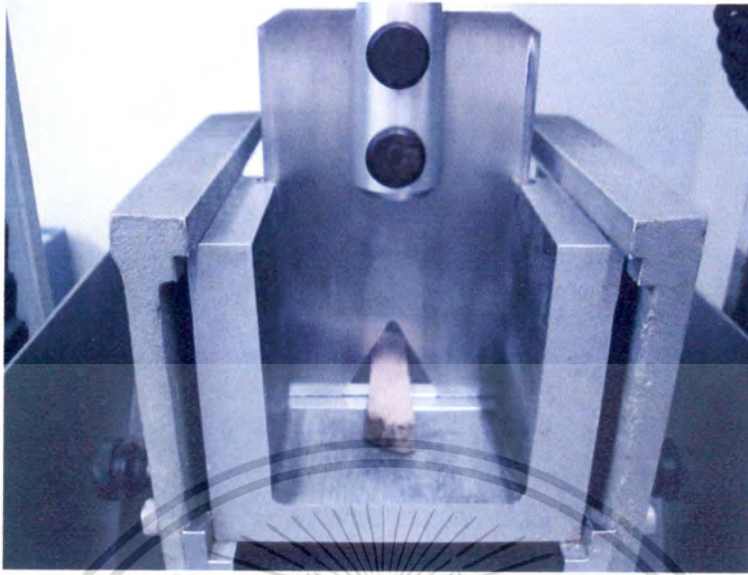


ภาพภาคผนวก ง ที่ 21 การศึกษาหาค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการปรุงสุก (% cooking loss) ของชิ้นเนื้อแต่ละระยะเวลาการบ่มเนื้อ

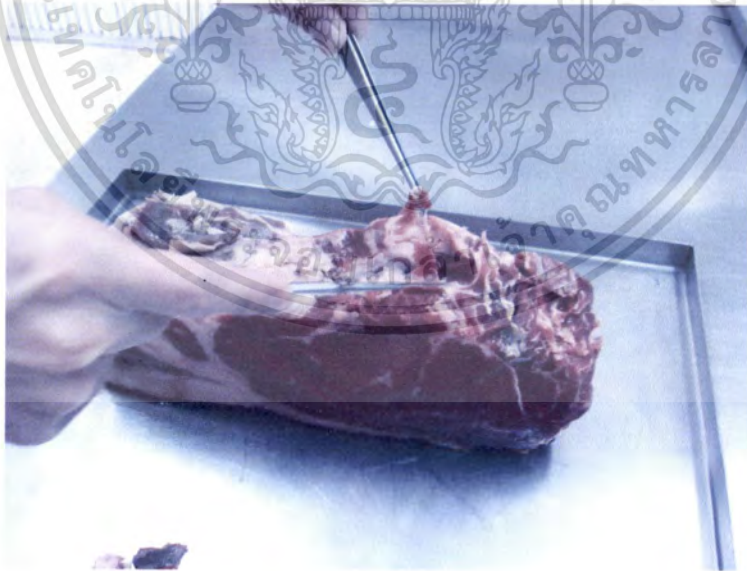


ภาพภาคผนวก ง ที่ 22 การเตรียมตัวอย่างชิ้นเนื้อ เพื่อศึกษาความนุ่มเหนียวของเนื้อ โดยการวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (warner-bratzler shear force)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพภาคผนวก ง ที่ 23 การวัดค่าแรงตัดผ่านชิ้นเนื้อ ด้วยเครื่องมือวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (Instron model 1011, USA)



ภาพภาคผนวก ง ที่ 24 การสุ่มตัวอย่างชิ้นเนื้อ แต่ละระยะเวลาการบ่ม เพื่อศึกษาทางด้านจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

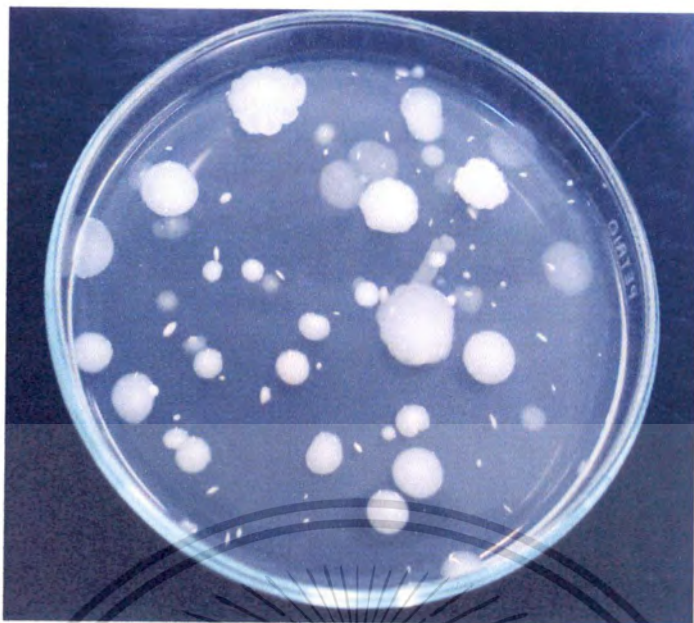


ภาพภาคผนวก ง ที่ 25 การตรวจเชื้อจุลินทรีย์

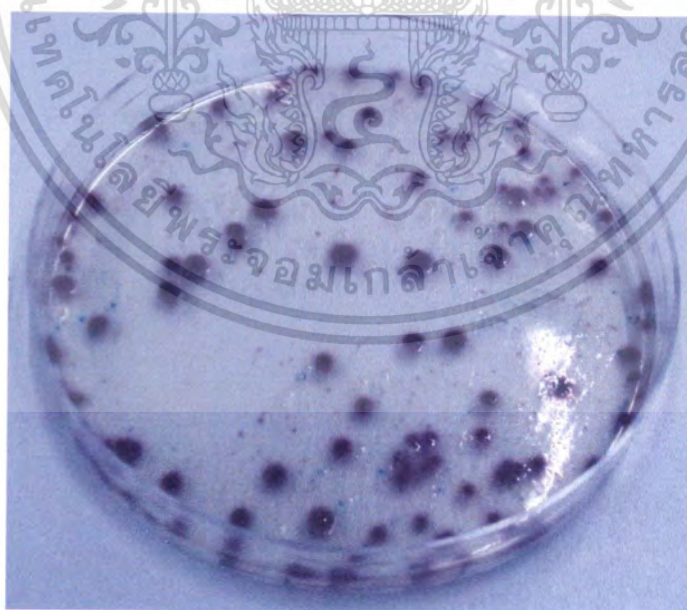


ภาพภาคผนวก ง ที่ 26 แบคทีเรียกรดแลคติก (lactic acid bacteria)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพภาคผนวก ง ที่ 27 จุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในอุณหภูมิต่ำ (psychotropic bacteria)



ภาพภาคผนวก ง ที่ 28 เชื้อโคลิฟอร์ม (coliforms) ที่ขึ้นในอาหาร Chromocult

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้